

# BIOLOGÍA MOLECULAR Y GENÉTICA DE LA HORMONA PARATIROIDEA Y LA PROTEÍNA RELACIONADA CON LA HORMONA PARATIROIDEA: UNA REVISIÓN HISTÓRICA HASTA LA ACTUALIDAD

Miguel Vassallo-Palermo\*, Iniara Rodríguez-Celis<sup>∞\*\*</sup>, Daniela Blanco-Echezuría\*\*\*

**RESUMEN:** Las glándulas paratiroides fueron descubiertas a finales del siglo XIX y su función a principios del siglo XX era controvertido. El rol fue definido posterior a experimentos realizados por Collip (1925) donde sometía el tejido paratiroideo a ácido clorhídrico a altas temperaturas obteniendo extractos capaces de disminuir la tetania en perros posterior a una paratiroidectomía total, dicho extracto sería denominado hormona paratiroidea 35 años después. Aurbach (1959) empleó solventes orgánicos para liberar el componente activo sin fragmentarlo, en combinación con técnicas de filtración por gel investigadores como Brewer (1970) lograron identificar las porciones indispensables para la función biológica. Además, el desarrollo de la biología molecular, inmunohistoquímica y tecnología de ADN recombinante, permitió deducir la secuencia de polipéptidos a partir de la copia reversa del ARNm y posteriormente sintetizar el polipéptido. En 1991, fue clonado el receptor de hormona paratiroidea. Se identifica una proteína relacionada a la hormona paratiroidea (PTHrP) cuya actividad biológica en la homeostasis del calcio y fósforo es indistinguible de la hormona paratiroidea, capaz de regular el crecimiento celular y la apoptosis por vía intracrina. Todo ello definido a partir experimentos de ablación genética y promovida por la búsqueda de la causa de la hipercalcemia maligna y el estudio de la enfermedad renal crónica.

**Palabras clave:** Hormona Paratiroidea, Proteína relacionada a hormona paratiroidea historia, Biología Molecular.

**ABSTRACT:** The parathyroid glands were discovered at the end of the 19th century and its role at the beginning of the 20th was controversial. Their role was defined later due experiments conducted by Collip (1925) where extracts of parathyroid tissue under high temperature hydrochloric acid decrease tetany in dogs with total parathyroidectomy. This substance 35 years later would be called parathyroid hormone. Aurbach (1959) used organic solvents to isolate the active unfragmented molecule. This combined with gel filtration techniques, allowed to researches like Brewer (1970) identify essential portions for biological activity. In addition, the development of molecular biology, immunohistochemistry and DNA recombinant technology, made possible identify the polypeptide sequence by reverse mRNA and synthesize parathyroid hormone polypeptide. In 1991, parathyroid hormone receptor was cloned. Protein related to parathyroid hormone (PTHrP) was identified due to biological activity on calcium and phosphate homeostasis indistinguishable from the parathyroid hormone. Through experiments of genetic ablation, the PTHrP was identified as cell growth and apoptosis regulator by an intracrine pathway. All these achievements were promoted by the research to find the cause of malignant hypercalcemia and study chronic kidney disease.

**Key words:** Parathyroid hormone, Parathyroid hormone protein related, Molecular biology, History.

Las glándulas paratiroides fueron descubiertas a finales del siglo XIX, donde la primera descripción anatómica de las mismas fue expuesta por Richard Owen en 1850 cuando realiza la disección de un Rinoceronte Indio, publicando su hallazgo en 1862<sup>(1)</sup>. Remak, en 1855<sup>(2)</sup>, evidencia estas estructuras en gatos y las asocia con un posible desarrollo embriológico relacionado con

\* Profesor Agregado. Cátedra de Clínica Terapéutica Quirúrgica "B".  
Escuela de Medicina "Luis Razetti". Universidad Central de Venezuela.

\*\* Médico Cirujano. Escuela de Medicina "Luis Razetti" Universidad Central  
de Venezuela

\*\*\* Estudiante de 4to año de Medicina. Escuela de Medicina "Luis Razetti",  
Universidad Central de Venezuela.

Recibido: 12-04-10.

Aceptado: 20-05-10.

el timo. Virchow en 1863 <sup>(2)</sup> describe estas glándulas como linfonódulos perdidos entre material conectivo en cara posterior de la tiroides. Sin embargo, el hallazgo e identificación de las paratiroides le es designado al sueco Ivar Sandström en 1880 <sup>(1)</sup> quien las describe primero en perros, luego en otros mamíferos y en el hombre, y además es el primero en describirlas histológicamente. Así reciben la nominación de “*glandulae parathyroidae*”.

Sin embargo, el interés en la función de las glándulas paratiroides aumentó durante los primeros 25 años del siglo XX. Gley en 1891 <sup>(3)</sup> es el primero en demostrar que la resección de todas las glándulas paratiroides en gatos, perros y roedores, se asociaba a la muerte por tetania <sup>(3,4)</sup>.

Entre 1907 – 1908 autores como Parhon, Urechie, MacCallum y Voegtlin <sup>(3-5)</sup> publicaron hallazgos sobre el efecto paliativo del calcio administrado a pacientes con tetania paratiroidea. Posteriormente en 1913 MacCallum y Vogel demostraron por medio del análisis directo el bajo contenido de calcio en la sangre de animales con tetania. Aunque fue solo en 1918 cuando Howland y Marriott evidenciaron que los valores normales de calcio en las personas variaban entre 9,2 y 11,3 mg/dL de suero, mientras que el calcio en pacientes con tetania de origen idiopático estaba reducido en 3,5 a 7,3 mg/dL con un promedio de 5,6 mg/dL <sup>(3-5)</sup>.

En 1921 Boothby realiza una de las primeras revisiones sobre el tema, donde resalta las controversias presentes para la época, momento en el cual se reconocían tres principios: 1) la función de la glándula era diferente y separada de la tiroides, donde su única relación era anatómica mas no funcional; 2) la preservación de pequeñas porciones del tejido glandular o el autotransplante de una sola glándula paratiroidea podría proteger de la tetania cuando las demás paratiroides eran removidas sin deliberación; 3) los pacientes llevados a extensa cirugía tiroidea ocasionalmente sufrían de tetania, presumiblemente producto de la remoción inadvertida de las glándulas paratiroides durante el procedimiento <sup>(3,4)</sup>.

En este período se produjo un intenso debate centrado en la etiología de la tetania, donde varios investigadores encontraron como causa la hipocalcemia severa; sin embargo, todos concluían que la principal función de las glándulas paratiroides era la detoxicación <sup>(4)</sup>. Tal como establecieron Dragstedt, Phillips y Sudan en 1923: “...la evidencia experimental se encuentra en armonía con la teoría de que las glándulas paratiroides forman parte de los mecanismos de detoxificación del cuerpo...” <sup>(3)</sup>.

Greenwald en 1924 no pudo demostrar la existencia de alguna toxina en sangre en animales paratiroidectomizados en estado de tetania, este investigador en otra publicación del mismo año comenta: “...existen solo dos cambios metabólicos bien definidos posterior a la paratiroidectomía, uno de ellos es la disminución en el contenido de calcio en el suero o el plasma, el otro es la disminución de la excreción de fósforo en orina. Ambos deben encontrarse íntimamente relacionados con la secuencia de síntomas observados. No existe teoría causal adecuada sobre la tetania que pueda tomar ambos cambios metabólicos en consideración...” <sup>(3)</sup>.

Es así como los estudios mencionados conformaron el comienzo de la descripción y el análisis de la función de las glándulas paratiroides.

### Hormona paratiroidea

El rol fisiológico de las glándulas paratiroides fue definido posterior a una serie de experimentos realizados y publicados por Collip en 1925 <sup>(3,4)</sup>, donde después de someter glándulas paratiroides a ácido clorhídrico a altas temperaturas obtenía ciertos extractos, los cuales administrados vía subcutánea, oral o endovenosa a diferentes dosis permitían disminuir la tetania en perros posterior a una paratiroidectomía total; aunque solo 35 años después tal extracto sería definido como hormona paratiroidea (PTH) <sup>(3)</sup>.

En 1954, Handler <sup>(4)</sup>, reportó sus fallidos esfuerzos en purificar el polipéptido de la PTH, estableciendo dos hipótesis: que el componente activo de la glándula puede ser una proteína larga que durante el proceso de aislamiento es fragmentada en múltiples productos de diferentes tamaños, donde cada uno posee actividad biológica; o que el componente activo es una molécula pequeña que se adhiere a cada uno de los fragmentos aislados <sup>(4)</sup>.

En 1959, Aurbach y posteriormente Rasmussen y Craig <sup>(4,6)</sup>, ante los efectos secundarios de la extracción con ácido clorhídrico caliente, emplearon solventes orgánicos liberando el componente activo sin fragmentarlo; utilizaron tejido paratiroideo porcino y humano, el tejido humano era obtenido a partir de tumores paratiroides removidos quirúrgicamente. Este descubrimiento llevó a múltiples grupos de investigadores como Brewer y Ronan (1970 y 1972), Niall (1970 y 1978), Sauer (1974) y Keutmann (1978<sup>(4)</sup>), al análisis secuencial de la PTH y la identificación de los diferentes fragmentos <sup>(4,6)</sup>.

Asimismo, Brewer (1970), Hamilton (1971), Kemper (1971), Arnaud (1973)<sup>(7)</sup>, entre otros, lograron identificar como la PTH es fragmentada en el aparato de Golgi a hormona pro-paratiroidea, que contiene 106 aminoácidos y un peso molecular de 12 500 daltons, siendo esta rápidamente almacenada y convertida en la forma glandular de la hormona constituida por 84 aminoácidos con un peso molecular de 9 500 daltons<sup>(7,8)</sup>; para lograr tales descubrimientos, los investigadores mencionados anteriormente usaron filtración por gel del suero de pacientes humanos hiperparatiroides, evidenciando gran heterogeneidad en la inmunohistoquímica de la hormona paratiroidea circulante. Entre los fragmentos aislados en bovinos evidenciaron que el polipéptido intacto de 84-aminoácidos no es necesario para obtener actividad biológica, definieron como indispensable a la porción amino-terminal del péptido, constituido por 30 residuos iniciales de la secuencia en cerdos o 34 residuos iniciales en bovinos<sup>(7)</sup>.

En la década de 1970, el desarrollo de la biología molecular, la inmunohistoquímica y la tecnología de ADN recombinante, permitió deducir la secuencia de polipéptidos a partir de la copia reversa del ARN m de la proteína y posteriormente sintetizar el polipéptido<sup>(4)</sup>.

Kronenberg (1979) y Hendy (1981) emplearon la secuencia de análisis del ADN humano y bovino de la PTH para confirmar la secuencia de aminoácidos previamente determinados por el análisis peptídico convencional<sup>(4,7)</sup>. El gen humano de la PTH se encuentra ubicado en el cromosoma 11, localizado en la porción 11p15.3<sup>(9)</sup>.

Adicionalmente, para la evaluación clínica de los pacientes con alteraciones del metabolismo mineral se emplearon radioinmunoensayos para determinar la PTH, presentando ciertas limitaciones: una de ellas la presencia de fragmentos no activos en la circulación periférica, con lo que los diferentes laboratorios y sus respectivos determinantes inmunológicos en los antisueros podían confundirse; la segunda dificultad era el empleo de anticuerpos contra la hormona bovina o porcina marcados radiactivamente, con lo que la sensibilidad dependiente de la actividad cruzada con el antisuero PTH humano era variable, ello producto de diferencias en 6 residuos en los bovinos y 5 residuos en porcinos, en relación con la PTH humana. Estas limitaciones llevaron a múltiples investigadores a profundizar en el estudio de los diferentes fragmentos y los anticuerpos diseñados sintéticamente, lo cual posteriormente colaboraría con el análisis de la

interacción ligando–receptor en situaciones fisiológicas y patológicas<sup>(7)</sup>.

Asimismo, en 1991, el receptor de la PTH fue clonado y con ello diversos estudios sobre la estructura–actividad del ligando PTH – receptor, lograron rápidos avances en el entendimiento de las acciones de la PTH a nivel celular, todo ello promovido por la búsqueda de la causa de la hipercalcemia maligna<sup>(4)</sup>.

### **Proteína relacionada a la hormona paratiroidea (PTHrP)**

La proteína relacionada a la hormona paratiroidea fue descrita por primera vez por Albright en 1940<sup>(10)</sup> cuando observó en un paciente hipercalcemia como consecuencia de un carcinoma renal, sugirió que el cuadro clínico del paciente era similar al hiperparatiroidismo primario, por lo propuso como etiología la existencia de una molécula similar a la PTH producida por el tumor<sup>(10)</sup>.

La PTHrP fue aislada por primera vez en 1988 por Broadus<sup>9</sup>, al demostrar en ratas como una disrupción en el gen PTHrP podía causar múltiples anomalías óseas, sugiriendo alguna actividad biológica en esta molécula, posteriormente se identificó el gen en el cromosoma 12, localizado en la porción 12p12.1-p11.2. La PTHrP es una molécula de  $\geq 144$  aminoácidos de longitud, de los cuales solo los 1 - 30 aminoácidos del segmento amino-terminal son similares a la PTH<sup>8</sup>. El ARNm de la proteína relacionada con la hormona paratiroidea se expresa regularmente en diversos tejidos de forma normal (tales como placenta, el amnios, la decidua, el cordón umbilical, la paratiroides fetal y las mamas). Además, puede actuar de forma endocrina, paracrina, autocrina e intracrina, de los cuales los tres primeros son mediados por la interacción de la PTHrP con receptores en las membranas celulares como el PTHR1 o receptor PTH/PTHrP<sup>(9,11)</sup>.

El segmento amino terminal 1-34 de la PTHrP se une eficazmente al PTHR1, activándolo, con lo que su actividad biológica en relación con la homeostasis del calcio y fosfato es indistinguible de la PTH<sup>(9,11)</sup>.

Por medio de diversos experimentos de ablación genética se ha definido su rol en el desarrollo normal del esqueleto. Es así como el PTHR1 se expresa altamente en los condrocitos prehipertróficos de las placas metafisiarias de crecimiento, donde la PTHrP actúa de forma autocrina y paracrina, activando a proteínas intracelulares pertenecientes a las familias de proteína BMP (*Bone morphogenetic proteins*, Proteínas morfogénicas óseas) y Wnt (gen *wingless*). La PTHrP

enlentece la diferenciación de los condrocitos en las placas metafisiarias evitando su hipertrofia, permitiendo el crecimiento y elongamiento normal del hueso <sup>(11)</sup>. Asimismo, la PTHrP participa en la morfogénesis arbórea de la glándula mamaria, en el desarrollo de la piel, el cabello, el páncreas y los dientes, y el transporte materno-fetal de calcio en la membrana placentaria <sup>(11,12)</sup>.

Varias líneas de evidencia farmacológica y molecular han evidenciado que los niveles elevados de calcio iónico al interactuar con los receptores de Calcio, promueve la síntesis y liberación de PTHrP en el cáncer de mama, cáncer de próstata y en células H-500 de tumor de Leydig en ratas, produciendo hipercalcemia y/o osteólisis <sup>(12)</sup>.

Adicionalmente, mediante una vía intracrina la PTHrP regula el crecimiento celular y la apoptosis, donde la PTHrP sintetizada es transportada al núcleo y/o al nucleolo celular. Existen dos mecanismos descritos que explican dicha vía intracrina: el primero definido por Lam (1999) <sup>(13)</sup>, donde la PTHrP puede ser fosforilada en el residuo Thr85 por la quinasa ciclina - dependiente p33cdk2 y la p34cdc2, en colaboración con un transportador saturable, importina -  $\beta$ , es regulada su importación al núcleo. El segundo mecanismo, descrito por Nguyen (1998) <sup>(14)</sup> refiere la presencia de una secuencia alternante en el sitio de iniciación de la traslación, uno de los cuales utiliza el codón AUG, entrando el PTHrP al retículo endoplasmático, luego al aparato de Golgi y posteriormente es secretada; mientras que al usar el codón CUG, la función del péptido de señalamiento se pierde y el PTHrP queda en el citoplasma, donde posteriormente es importado al nucleoplasma <sup>(14)</sup>.

Las múltiples investigaciones realizadas a través de la historia han permitido secuencialmente describir los mecanismos de regulación, función y lugares de acción de la PTH y la PTHrP, por medio de los cuales las glándulas paratiroideas ejercen su función en la homeostasis del calcio y fósforo en el organismo. Es mediante dichos estudios que posteriormente nuevos investigadores encontraran, diseñaran y elaboraran nuevos elementos útiles para diversas áreas de la medicina, biología molecular y genética, y al menos también para el manejo clínico y tratamiento de las enfermedades relacionadas a las glándulas paratiroides.

## REFERENCIAS

1. Modarai B, Sawyer A, Ellis H. The glands of Owen. *J R Soc Med.* 2004;97:494-495.
2. Hackett D, Kauffman G. Historical perspective of parathyroid disease. *Otolaryngol Clin N Am.* 2004;37:689-700.
3. Collip JB. The extraction of a parathyroid hormone which will prevent or control parathyroid tetany and which regulates the level of blood calcium. *J Biological Chem.* 1925:395-438.
4. Potts JT. Parathyroid hormone: past and present. *J Endocrinology.* 2005;187:311-325.
5. MacCallum W. G, Voegtlin C. On the relation of tetany to the parathyroid glands and to calcium metabolism. *Johns Hopkins Hosp Bull.* 1908:118-151.
6. Aurbach GD. Isolation of Parathyroid Hormone after Extraction with Phenol. *J Biological Chem* 1959;224(12):3179-81.
7. Brewer HB, Fairwell T, Ronan R, Sizemore G, Arnaud CD. Human Parathyroid Hormone: Amino-Acid Sequence of the Amino-Terminal Residues 1-34. *Proc Nat Acad Sci.* 1972;69(12):3585-3588.
8. Potts JT. Diseases of the parathyroid gland and other hyper- and hypocalcemic disorders. En: Kasper D, Braunwald E, Fauci A, Hauser S, Longo D, Jameson JL, editores. *Harrison's Principles of Internal Medicine* 16ª edición. Caracas. McGraw-Hill Medical; 2005.p.2249-2268.
9. Broadus AE, Mangin M, Ikeda K, Insogna KL, Weir EC, Burtis WJ, et al. Humoral hypercalcemia of cancer. Identification of a novel parathyroid hormone-like peptide. *N Engl J Med.* 1988;319(9):556-563.
10. Mundy G, Edwards J. PTH-Related Peptide (PTHrP) in Hypercalcemia. *J Am Soc Nephrol.* 2008;19:672-675.
11. Mannstadt M, Jüppner H, Gardella T. Receptors for PTH and PTHrP: Their biological importance and functional properties. *Am J Physiol Renal Physiol.* 1999;277:665-675.
12. Chattopadhyay N. Effects of calcium-sensing receptor on the secretion of parathyroid hormone-related peptide and its impact on humoral hypercalcemia of malignancy. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2006;290:E761-70.
13. Lam MH, House CM, Tiganis T, Mitchelhill KI, Sarcevic B, Cures A, et al. Phosphorylation at the cyclin-dependent kinases site (Thr85) of parathyroid hormone related protein negatively regulates its nuclear localization. *J Biological Chem* 1999;274:18559-18566.
14. Nguyen MT, Karaplis AC. The nucleus: A target site for parathyroid hormone-related peptide (PTHrP) action. *J Cell Biochem.* 1998;70:193-199.

**CORRESPONDENCIA:** Miguel Vassallo. Hospital Universitario de Caracas. Cátedra de Clínica Quirúrgica y Terapéutica "B". Servicio de Cirugía Dos. Piso 5. Oficina 158. Teléfono: 0212 - 6067878. Ciudad Universitaria. Caracas. Distrito Capital, 1040.

**E - mail:** miguelvassallo@gmail.com **Teléfono:** 04166187768