

ANDRÉ CRUZ DE OLIVEIRA

Identificação e caracterização de mecanismos celulares e moleculares envolvidos na regulação da massa muscular esquelética durante o hipertireoidismo experimental

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Biologia de Sistemas do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, para obtenção do Título de Doutor em Ciências.

São Paulo
2021

ANDRÉ CRUZ DE OLIVEIRA

Identificação e caracterização de mecanismos celulares e moleculares envolvidos na regulação da massa muscular esquelética durante o hipertireoidismo experimental

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Biologia de Sistemas do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, para obtenção do Título de Doutor em Ciências.

Área de concentração: Biologia Morfofuncional

Orientador: Prof. Dr. Anselmo Sigari Moriscot

Versão parcial corrigida

São Paulo
2021

CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO (CIP)
Serviço de Biblioteca e informação Biomédica
do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo

Ficha Catalográfica elaborada pelo(a) autor(a)

de Oliveira, André Cruz
Identificação e caracterização de mecanismos
celulares e moleculares envolvidos na regulação da
massa muscular esquelética durante o
hipertireoidismo experimental / André Cruz de
Oliveira; orientador Anselmo Sigari Moriscot. --
São Paulo, 2021.
164 p.

Tese (Doutorado) -- Universidade de São Paulo,
Instituto de Ciências Biomédicas.

1. Músculo Esquelético. 2. Hipertireoidismo. 3.
Rptor. 4. MDM2. 5. Miostatina. I. Moriscot, Anselmo
Sigari, orientador. II. Título.



Janus

Universidade de São Paulo

ATA DE DEFESA

Aluno: 42138 - 9756434 - 1 / Página 1 de 1

Ata de defesa de Tese do(a) Senhor(a) André Cruz de Oliveira no Programa: Biologia de Sistemas, do(a) Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo.

Aos 03 dias do mês de novembro de 2021, no(a) via remota realizou-se a Defesa da Tese do(a) Senhor(a) André Cruz de Oliveira, apresentada para a obtenção do título de Doutor intitulada:

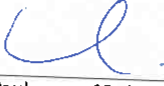
"Identificação e caracterização de mecanismos celulares e moleculares envolvidos na regulação da massa muscular esquelética durante o hipertireoidismo experimental"

Após declarada aberta a sessão, o(a) Sr(a) Presidente passa a palavra ao candidato para exposição e a seguir aos examinadores para as devidas arguições que se desenvolvem nos termos regimentais. Em seguida, a Comissão Julgadora proclama o resultado:

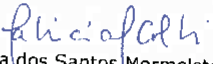
Nome dos Participantes da Banca	Função	Sigla da CPG	Resultado
Anselmo Sigari Moriscot	Presidente	ICB - USP	Não Votante
Francemilson Goulart da Silva	Titular	ICB - USP	<u>APROVADO</u>
Claudia dos Santos Mermelstein	Titular	UFRJ - Externo	<u>APROVADO</u>
Lucia Elvira Alvares	Suplente	UNICAMP - Externo	<u>APROVADO</u>

Resultado Final: APROVADO

Parecer da Comissão Julgadora *

Eu, Lucianna Vicente da Silva , lavrei a presente ata, que assino juntamente com os(as) Senhores(as). São Paulo, aos 03 dias do mês de novembro de 2021.

pl 
Francemilson Goulart da Silva

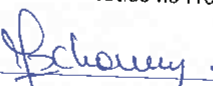
pl 
Claudia dos Santos Mermelstein

pl 
Lucia Elvira Alvares

pl 
Anselmo Sigari Moriscot
Presidente da Comissão Julgadora

* Obs: Se o candidato for reprovado por algum dos membros, o preenchimento do parecer é obrigatório.

A defesa foi homologada pela Comissão de Pós-Graduação em 09/11/2021 e, portanto, o(a) aluno(a) André Cruz de Oliveira jus ao título de Doutor em Ciências obtido no Programa Biologia de Sistemas - Área de concentração: Biologia Morfofuncional.


Presidente da Comissão de Pós-Graduação
Profa. Dra. Maria Luiza Moraes Baneto de Unaves
Presidente da Comissão de Pós-Graduação
ICB/USP

Dedico este trabalho a todos os seres que direta e indiretamente me possibilitaram o privilégio de dedicar a vida à busca do conhecimento.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a:

Maria Regina, por priorizar minha educação até nas horas mais difíceis.

Paula Alves, companheira de vida, por todo seu amor, paciência e colaboração. Seus ensinamentos foram alicerces essenciais para cada conquista. Sua força e alegria são um porto seguro na tempestade de minhas ideias.

Nilton Cruz, sua presença desde os primórdios da minha caminhada foi crucial para meu desenvolvimento emocional e intelectual. Sem cada um dos seus conselhos eu não chegaria até aqui, fazendo o mundo girar.

Heloí Cruz, por toda a ajuda em um dos momentos mais difíceis. Nosso reencontro foi o elixir para a mudança.

Talitha Érica, por me ensinar que a felicidade vem de dentro.

Moisés Henry, por colocar arte nos meus dias.

Rodrigo Bastos, por me mostrar, pela força do exemplo, que é possível superar os desafios.

Erivaldo Valério, que me fez observar o poder da disciplina.

Marcelo Meratti, por identificar e cultivar em mim o gosto pela ciência. Sempre me senti um verdadeiro biólogo quando juntos pelas matas aprendia de ti a cada relance com plantas e animais.

Anselmo Moriscot, pela oportunidade de trocar o facão por uma pipeta. Sou grato por sua paciência, confiança e pelos sábios conselhos compartilhados. Sua orientação ao longo desses anos foi indispensável para minha formação profissional e pessoal. Muito obrigado por sempre me instigar a evoluir.

William Silva, por me ensinar tanta coisa nos laboratórios científicos e da vida. Sua garra, humildade e incansável amizade me fizeram ter coragem de encarar os desafios, juntos alcançamos lugares que não imaginávamos. Sou grato por sua presença nos momentos bons e ruins.

Lucas Ariel, por sua energia contagiante que sempre me fez ver novas portas.

Jéssica Duarte, por sua sinceridade, amizade e cuidado com o desenvolvimento das pessoas.

Marcos Esteca, por todo o suporte no laboratório e por me inspirar a ter uma esperança incansável.

Luciano Leonel e Denício de Sousa, pela amizade, momentos de descontração e toda ajuda quanto ao estudo e ensino da anatomia humana. Vocês me ensinaram que é possível ter esforço com leveza e trabalho com alegria.

Afonso Melazzo, por sua amizade e todo auxílio no laboratório. Obrigado por renovar meu olhar sobre a ciência e influenciar a busca de um equilíbrio sustentável.

Andrei Rozanski, por seu auxílio essencial na base dos projetos e seu apoio diligente.

Aos colegas de laboratório João Silvestre, Mirella Bento, Flávia Graça, Andrea Ferrian, Gabriela Lima, Rita Rodrigues e Fernando Ribeiro, por todo suporte e conversas.

Siegfried Labeit, Volker Adams e as equipes das Universidades de Heidelberg e Dresden, pela paciência e colaboração produtiva.

Sou grato à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo financiamento #2017/09398-8 e # 2019/06819-8. Além disso, agradeço a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa emergencial de demanda social, crucial para minha manutenção no programa de pós-graduação.

“Her damos de nossos antepassados um profundo desejo por um conhecimento unificado e abrangente. (...) Por outro lado, tornou-se quase impossível para uma só mente dominar por completo mais que uma pequena porção especializada do conhecimento”.

(Erwin Schrödinger, 2007)

RESUMO

Oliveira AC. Identificação e caracterização de mecanismos celulares e moleculares envolvidos na regulação da massa muscular esquelética durante o hipertireoidismo experimental. São Paulo. Tese [Doutorado em Ciências] – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo; 2021.

Os hormônios tireoidianos são fundamentais no controle dos processos celulares, sobretudo através da regulação da transcrição gênica desencadeada pela triiodotironina (T3). Entretanto, níveis supra fisiológicos deste hormônio, hipertireoidismo, alteram o fenótipo dos tecidos-alvo estabelecendo patologias. No músculo esquelético o hipertireoidismo correlaciona-se com atrofia como a resultante de processos que podem englobar estímulo proteolítico e inibição da síntese proteica. Com o intuito de compreender de forma ampla a ação do T3 no músculo esquelético buscou-se identificar novos alvos da regulação hormonal por meio da análise da expressão global dos genes envolvidos nas vias de síntese e degradação proteica. Acerca do eixo catabólico, identificou-se a regulação positiva da proteína E3 ligase MDM2 exclusivamente nas fibras musculares rápidas. Nestas fibras o MDM2 encontra-se no citoplasma e núcleo, neste último, colocalizado com o fator de transcrição PAX7. Em resposta ao T3 há o aumento de translocação nuclear de MDM2 entretanto a co-marcação com PAX7 é diminuída. De forma semelhante, a elevação dos níveis de T3 inibem a translocação de FOXO3, um fator de transcrição passível de desativação por MDM2. Além disso, a inibição farmacológica de MDM2 em cultura de miotubos potencializou os efeitos do T3 ao gerar estruturas menores e com expressão elevada de atrogenes. Assim, nossos resultados indicam que o MDM2 pode estar envolvido em uma resposta pro-trófica ao T3 no músculo esquelético. Por outro lado, a análise dos componentes da via de síntese mTOR indicou queda rápida e expressiva de Rptor, uma subunidade fundamental para o pleno funcionamento de mTORC1. Surpreendentemente, não há elementos responsivos ao T3 na região promotora de Rptor, de forma que se explorou a hipótese da inibição indireta de Rptor por intermédio da via da miostatina. De fato, verificou-se elevados níveis de miostatina em resposta ao T3, contudo houve menor marcação nuclear de SMAD3. Além disso, os elevados níveis de T3 intensificaram a síntese proteica *de novo* apesar da

diminuta fosforilação de mTOR e P70S6K. Por fim, o silenciamento da miostatina ou a expressão ectópica de Rptor protegeram o músculo esquelético da atrofia induzida por T3. Dessa forma, concluímos que a inibição Rptor é essencial para o estabelecimento da atrofia induzida por T3, que por sua vez se estabelece a despeito dos elevados níveis de síntese proteica.

Palavras-chave: Músculo esquelético. Hipertireoidismo. Rptor. MDM2. Miostatina.

ABSTRACT

Identification and characterization of cellular and molecular mechanisms responsible for the regulation of skeletal muscle mass during experimental hyperthyroidism. São Paulo. Thesis [Doctorate in Sciences] - Institute of Biomedical Sciences, University of São Paulo, São Paulo; 2021.

Thyroid hormones are essential players on cellular signaling, primarily through the regulation of gene transcription by triiodothyronine (T3). However, supraphysiological levels of T3, also called hyperthyroidism, leads to pathological changes in target tissues. In skeletal muscle, hyperthyroidism is related to atrophy throughout mechanisms that may include proteolytic stimulation and inhibition of protein synthesis. To get new insights about T3 action upon skeletal muscle, we sought to identify new regulation targets by analyzing the global expression of genes involved on both protein synthesis and degradation pathways. Regarding the catabolic axis, we identified upregulation of the MDM2 E3 ligase exclusively in fast twitch fibers. Additionally, MDM2 is found in the cytoplasm and nucleus, in the latter colocalized with the transcription factor PAX7. In response to T3, there is augmented MDM2 nuclear translocation and reduced PAX7 colocalization. Similarly, T3 inhibits FOXO3 nuclear translocation suggesting a MDM2-dependent inactivation mechanism. Furthermore, pharmacological MDM2 inhibition in cell culture intensified T3 effects, resulting smaller myotubes with high atrogenes expression. Thus, our results indicate that MDM2 may integrate a protrophic response to T3 in skeletal muscle. On the other hand, the analysis of mTOR components showed a swift and strong downregulation of Rptor, a fundamental subunit of mTORC1 complex. Surprisingly, we did not find T3-responsive elements in the promoter region of Rptor, so we explored the hypothesis of indirect inhibition of Rptor by T3 through the myostatin pathway. In fact, we verified myostatin positive response to T3. However, we identified inhibited SMAD3 nuclear translocation. Furthermore, T3 level levels enhanced de novo protein synthesis despite the low phosphorylation of mTOR and P70S6K. Finally, myostatin silencing or Rptor ectopic expression protected skeletal muscle from T3-induced atrophy. Thus, we

conclude that Rptor inhibition is essential for the establishment of T3-induced atrophy, which in turn takes place regardless of the levels of protein synthesis levels.

Keywords: Skeletal muscle. Hyperthyroidism. Rptor. MDM2. Myostatin.

PREFÁCIO

Esta tese segue a estrutura e regras para depósito de coletânea de artigos segundo Resolução CoPGr 7617, de 21/02/2019. Desta forma, o tópico Introdução, precede os artigos que são apresentados na íntegra no tópico Resultados e por fim relacionados no tópico Discussão.

1 INTRODUÇÃO

1.1. Os hormônios tireoidianos e o processo evolutivo

Os hormônios tireoidianos (HTs) são moléculas constituídas pela associação do aminoácido tirosina e o elemento químico iodo. Nos mamíferos, classe que inclui os humanos e roedores, os hormônios tireoidianos são um heterogêneo de tetraiodotironina (T4) e triiodotironina (T3), estruturas formadas pela ligação de quatro ou três iodos, respectivamente. O arranjo dessas moléculas é amplamente conservado no subfiló dos vertebrados, denotando um caráter ancestral. De fato, é possível que moléculas precursoras dos hormônios tireoidianos tenham se organizado nos primórdios do planeta e contribuído para o desenvolvimento de funções biológicas desde o último ancestral unicelular comum, o LUCA¹[2].

O LUCA é uma aproximação teórica da primeira forma de vida celular ativa à 3.95 bilhões de anos, do qual derivou-se as bactérias, arqueias e eucariotos². Esse organismo primordial, possuía metabolismo anaeróbico autótrofo³ utilizando uma molécula precursora da acetilcoenzima A para fixar o abundante dióxido de carbono (CO₂) atmosférico e produzir energia (moléculas de adenosina trifosfato ou ATP). Na ausência de enzimas, essas reações ocorriam espontaneamente a partir dos elementos disponíveis na atmosfera e nos oceanos, dessa forma LUCA prosperou em correntes termais nas quais as altas temperaturas garantiam a efetividade das reações [3].

¹ Do inglês, Last Unicellular Common Ancestor.

² A posição desses táxons é fonte de grande discussão. Árvores filogenéticas colocam LUCA como precursor direto dos três táxons enquanto outras focam apenas na ancestralidade direta de bactérias e arqueias, tendo os eucariotos derivado das arqueias posteriormente na escala evolutiva. A capacidade desses organismos unicelulares transferirem genes lateralmente acrescenta mais uma camada de complexidade ao intuito de descobrir quais genes necessariamente vieram do ancestral comum [3].

³ Há argumentos na literatura defendendo o estilo de vida autótrofo e heterotrófico. Entretanto Weiss e colaboradores apresentam argumentos convincentes sobre o possível autotrofismo (3).

Além da obtenção de energia, o LUCA se ajustava ao ambiente. Ao ser extremamente adaptado à anaerobiose, o LUCA era sensível ao contato com oxigênio (O_2), dessa forma, este organismo gerou um gradiente de iodo reativo na sua região pericelular, protegendo seu conteúdo interno da oxidação. Posteriormente, a excessiva permeabilidade da membrana celular rudimentar permitiu a admissão do iodo reativo, por sua vez, esse novo componente intracelular permitiu a catalisação não enzimática da síntese de tirosina [2]. A tirosina é um aminoácido importante para o funcionamento da fotossíntese, mecanismo que utiliza a luz solar para fixar carbono e gerar energia [4,5], e sua disponibilidade pode ter sido central para a derivação deste processo biológico [2].

A fotossíntese derivou-se no Reino das bactérias mais especificamente nas cianobactérias, há 3.4 bilhões de anos⁴. Ao longo do tempo, a atividade desses organismos propiciou alterações profundas nas características do planeta. O oxigênio, subproduto da fotossíntese, acumulou-se na atmosfera acarretando diminuição nos níveis de metano e CO_2 , além de formar a camada de ozônio. Por fim, esses fatores propiciaram o resfriamento do planeta [6] e o carregamento de iodo para a atmosfera, gerando uma ciclagem global através das chuvas [2]. Nesse sentido, é importante observar que os primeiros registros de fotossíntese vegetal foram observados a 1.2 bilhões de anos [6], ou seja, após a estabilização da produção de tirosinas e o aumento da disponibilidade de iodo em ambiente terrestre.

⁴ Hipotetiza-se que o desenvolvimento da fotossíntese foi estabelecido inicialmente no Reino das bactérias e que a incorporação simbiótica de bactérias fotossintetizantes por células eucarióticas a derivação dos cloroplastos (6).

Dessa forma, expandiu-se a disponibilidade de iodotirosinas, precursoras dos hormônios tireoidianos, devido a reatividade espontânea entre iodo e tirosinas. Essas moléculas eram extremamente reativas e facilmente difundidas através da membrana celular rudimentar, tornando-se componentes ativos da sinalização celular e valiosas bioquimicamente. Essa sinalização foi essencial para a organização dos primeiros organismos multicelulares ancestrais, seu estabelecimento e conservação ainda é observado em animais e plantas [2].

A absorção de derivados do iodo é essencial para o crescimento e desenvolvimento das plantas. A presença de iodo orgânico, na forma dos precursores hormonais monoiodotirosina (MIT), diiodotirosina (DIT) e do próprio hormônio tireoidiano T3, foi constatada tanto em algas quanto em plantas superiores (na alface, por exemplo). Entretanto, são desconhecidos os processos de síntese e metabolismo desses compostos [7–10]. Além disso, é possível observar a conservação da sinalização dos hormônios tireoidianos através da resposta cruzada entre os animais e vegetais. Nesse sentido, demonstrou-se que o extrato de algumas plantas é capaz de estimular o receptor de hormônio tireoidiano beta (RHT β) em humanos [11], e o aporte exógeno (através da alimentação) de MIT e DIT é suficiente para desencadear processo de metamorfose em larvas de animais [12,13].

Nos animais, a responsividade as iodotironinas é observada em diversos grupos⁵. Nos filos⁶ *porífera* (esponjas-do-mar) e *cnidária* (águas-viva e corais), por exemplo, são bem descritas a síntese e armazenamento de iodotironinas, principalmente, MIT, DIT e

⁵ É importante ressaltar que os parágrafos abaixo descrevem o processo evolutivo de uma maneira linear, com o intuito de facilitar o entendimento do leitor. Entretanto, o processo de formação e especialização da sinalização dos hormônios tireoidianos podem ter ocorrido de maneira independente em diferentes grupos.

⁶ Filo é um nível de classificação taxonômica, encontrado abaixo de Reino e acima de Classe.

T4. Nestes animais, T4 induz o processo de diferenciação e reprodução assexuada para o desenvolvimento de formas livres em águas-viva, além disso provoca aumento na deposição de cálcio e crescimento de corais [14,15]. Esses efeitos, contudo, são provavelmente regulados por mecanismos não-gênicos do T4, pois não foram identificadas a presença de receptores de hormônio tireoidiano (RHT) ou homólogos no genoma desses animais [15]. Por sua vez, síntese e responsividade aos HTs e a presença de ortólogos de RHT é extremamente difundida nos diversos filos invertebrados de *Bilateria*⁷, nematódeos (vermes), moluscos (ostra, vieira), insetos (drosófila, barata), crustáceos (lagosta), equinodermos (ouriço-do-mar, bolacha-da-praia, estrela-do-mar) [2,14,15].

Entretanto, é no ramo dos cordados que identificamos a especialização de um órgão para a produção de HTs e a presença de RHTs conservados com grande impacto sobre o genoma. Nos cefalocordados (anfioxo), tanto as larvas quanto organismos adultos produzem HTs em um tecido chamado endóstilo, este tecido metaboliza T3 e T4 em 3,5,3'-ácido triiodotiroacético (TRIAC) que, ao interagir com os RHTs, induz a metamorfose dos animais [2,14,15]. Por outro lado, no grupo basal dos vertebrados chamado ciclostomados (lampreias), o endóstilo está presente na fase larval, sua atividade aumenta o aporte de HTs aos tecidos, induzindo a metamorfose da fase adulta e o desenvolvimento da glândula tireoide. Este novo órgão é mantido como componente de todos os organismos grupo dos vertebrados (peixes, aves, répteis, anfíbios, mamíferos) [2,15].

⁷ Agrupamento dos animais com simetria bilateral, em oposição a *Radiata* que apresentam simetria radial.

As primeiras hipóteses sobre o desenvolvimento da sinalização dos HTs propuseram que, as iodotironinas presentes nos animais basais e invertebrados eram oriundas inteiramente do aporte alimentar, fator crítico para o estabelecimento dos processos de metamorfose [14,16]. Entretanto, investigações atuais demonstram que esses organismos são capazes de produzir HTs [15], o que indica que o aporte alimentar era o fator limitante para atingir os níveis elevados de HT necessários para iniciar os processos de desenvolvimento. O surgimento da glândula tireoide nos vertebrados permitiu maior estabilidade na sinalização, reduzindo a dependência das iodotironinas provenientes da alimentação e das flutuações ambientais. Conjectura-se que a sinalização dos HTs permitiu amplo controle da regulação osmótica e adaptabilidade nos peixes, processo que desencadeou, primeiramente, a colonização dos corpos de água doce a partir dos oceanos e, posteriormente, o desenvolvimento do pulmão e regulação térmica, possibilitando à colonização do ambiente terrestre [2,13].

Por fim, no contexto do desenvolvimento humano, estudos sugerem que duas espécies do gênero *Homo* (*H. neandertalis* e *H. florencis*) sofriam os efeitos deletérios das flutuações patológicas dos HTs. Como consequência de seu modo de vida caçador-coletor, esses ancestrais humanos obtinham dieta pobre em iodo, o que prejudicava a síntese de HTs e causava severo hipotireoidismo. Esse quadro causava cretinismo, baixo desenvolvimento cerebral, rebaixamento mental, comprometimento do sistema imunológico e reprodutivo, e perda de função do músculo esquelético. Neste contexto, a espécie *Homo sapiens* apresentava maior capacidade de síntese de HTs, compatível com a dieta de baixo teor de iodo, característica que concedeu vantagem evolutiva e flexibilidade adaptativa à espécie [13]. Além disso, a formação em folículos da glândula

tireoide permite o armazenamento de iodo⁸ e tiroglobulinas, de forma que a sinalização hormonal não é comprometida por variações sazonais na ingestão de iodo [17].

Mesmo que muitas dessas hipóteses se enquadrem em um contexto amplo, com diversas explicações e outros mecanismos celulares e moleculares em curso, é pertinente ressaltar que a vida não seria como conhecemos hoje sem a participação das iodotironinas [2].

1.2. A glândula tireoide

1.2.1. Características anatômicas

A tireoide é a maior glândula estritamente endócrina do corpo humano [18], origina-se na quarta semana de gestação como uma projeção do tecido epitelial do assoalho da faringe na base da língua. Durante o desenvolvimento do trato digestório,⁹ este órgão se desloca à cavidade visceral do pescoço ao longo do desenvolvimento [19,20]. Após o nascimento, a glândula tireoide está localizada na base do pescoço, ao nível das vértebras cervical V e torácica I, em posição posterior aos músculos esteno-hióideo, esterno-tireóideo e omo-hióideo ocupando o espaço imediatamente anterior e lateral da traqueia. A glândula é composta por uma massa globular, em formato de H,

⁸ A glândula tireoide humana pode armazenar de 3 a 20 mg de iodo.

⁹ Após o nascimento o ponto de origem é marcado pelo forame cego da língua (19).

subdivida em dois lobos à direita e à esquerda¹⁰, conectados por um istmo na altura da segunda e terceira cartilagem da traqueia [18,19].

A extensa vascularização necessária para o estabelecimento das funções endócrinas da glândula tireoide é atendida principalmente por dois vasos, a artéria tireóidea superior e a artéria tireóidea inferior. A artéria tireóidea superior origina-se bilateralmente do primeiro ramo da artéria carótida externa, irrigando sobretudo a porção superior da glândula, já a artéria tireóidea inferior origina-se da artéria subclávia, irrigando principalmente a porção inferior da glândula tireoide. Entretanto, esses ramos inferiores e superiores bilaterais fazem extensas anastomoses no interior do tecido glandular, assegurando fluxo abundante e proporcionando potencial circulação colateral [18,19].

A drenagem do tecido ocorre por intermédio de três veias, a veia tireóidea superior que drena principalmente a área irrigada pela artéria tireóidea superior e as veias tireóideas média e inferior, que drenam o restante da tireoide. Por fim, as veias tireóideas superior e média desembocam na veia jugular interna e as tireóideas inferiores desembocam nas veias braquiocefálicas [19].

A inervação da glândula tireoide é derivada do sistema nervoso autônomo simpático. Ramificações dos gânglios cervicais superiores, médio e inferiores chegam ao tecido através dos plexos cardíaco e periarteriais tireóideos. Esses ramos são compostos por fibras vasomotoras, que controlam a constrição dos vasos sanguíneos presentes na

¹⁰ Aproximadamente metade da população possui uma variação anatômica com a presença do lobo piramidal. Nesta variação o tecido glandular se entende superiormente a partir do istmo (que pode ser incompleto ou ausente), podendo se inserir até o osso hioide (18).

glândula tireoide, o controle da secreção da glândula é feito hormonalmente pela hipófise, não possuindo componente secretomotor [18].

Por fim, ressalta-se que os aspectos anatômicos relativos à origem, localização e vascularização da glândula tireoide são semelhantes entre humanos e roedores (ratos e camundongos), entretanto, são notáveis as diferenças proporcionais entre as espécies. Em humanos a glândula tireoide tem cerca de 15-25 gramas¹¹ (g) de massa, com dimensões aproximadas de $5-6 \times 2-2.5 \times 2$ centímetros (cm); já nos roedores a massa varia entre 13-24 mg e 1,3-2,6 mg e dimensões de $7 \times 3 \times 3$ mm e $2 \times 1 \times 0,5$ mm, para ratos e camundongos, respectivamente [21].

1.2.2. Características Histológicas

O parênquima da glândula tireoide é formado por dois tipos de células, as células foliculares (também chamadas de “células principais”) e as células parafoliculares (também chamadas de “células C”) [20–22], sendo as últimas contribuintes com apenas 0.1% do conteúdo celular. Tanto a estrutura quanto origem histológica do tecido da glândula tireoide são semelhantes entre humanos e roedores (ratos e camundongos)[21].

As células foliculares são as produtoras dos hormônios tireoidianos, seu formato está relacionado ao nível de atividade, apresentando-se geralmente em formato cúbico, mas assumindo característica em escamas ou em colunas com a menor ou maior atividade, respectivamente [20–22]. Além disso, apresentam especializações que caracterizam as atividades de secreção e absorção, como por exemplo, a presença de

¹¹ A média de peso da glândula na população Humana decresceu discretamente até a atualidade, provavelmente devido a maior disponibilidade de iodo na alimentação (17).

microvilosidades em sua porção apical e a alta concentração de retículo endoplasmático rugoso em sua região basal [20].

A partir da 14^a semana de gestação, as células foliculares se organizam em uma estrutura circular na qual a face celular apical delimita um lúmen central, preenchido por uma solução gelatinosa chamada coloide e com o exterior abalizado pela face celular basal apoiada sobre a lâmina basal [20]. Essa estrutura circular chama-se folículo e compreende a menor unidade funcional da glândula tireoide. Neste tecido glandular, centenas de milhares de folículos são circundados por tecido conjuntivo, capilares sanguíneos e anastomoses que formam a matriz extra celular [20,22].

Por outro lado, as células parafoliculares, que produzem o hormônio calcitonina, localizam-se abaixo das células foliculares, apoiadas à lâmina basal, de forma que não possuem acesso ao lúmen[20,21]. Geralmente, as células parafoliculares apresentam maior presença do complexo de Golgi e menor densidade de retículo endoplasmático rugoso em comparação com as células foliculares. As células parafoliculares são incorporadas ao tecido da glândula tireoide durante a sétima semana de gestação a partir do último corpo branquial [20,21].

1.3. Hormônios Tireoidianos

1.3.1. Biossíntese dos hormônios tireoidianos T3 e T4

O iodo, juntamente com as tiroglobulinas, são os componentes básicos para a síntese dos hormônios tireoidianos nas células foliculares. Portanto, o consumo satisfatório de iodo é crucial para o funcionamento da glândula tireoide [20,23], uma vez

que o iodo consumido na alimentação é reduzido para iodeto, absorvido pela mucosa do estômago e do intestino delgado e disponibilizado na corrente sanguínea [17,24].

Oriundo da circulação, o iodeto é internalizado na região látero-basal das células foliculares por intermédio de proteínas cotransportadoras de sódio e iodo ATP-ase dependentes (*Na⁺/I⁻ symporters – NIS*), que ativamente bombeiam os íons para o citoplasma das células estabelecendo um transporte ativo secundário que gera uma concentração de aproximadamente quarenta vezes maior de iodeto no meio intracelular quando comparado com o sangue ou líquido extracelular (processo chamado de “*iodine trapping*”). Em seguida, os íons de iodo se difundem para a região apical das células, onde são transportados para o lúmen por intermédio de proteínas transportadoras de iodo e cloro (pendrinas). Ao iniciar sua difusão no coloide, ainda na região das microvilosidades apicais o iodeto é oxidado a iodo, sua forma mais ativa, na presença de peróxido de hidrogênio em uma reação catalisada pela atividade das peroxidases tireoidianas (“*thyroid peroxidase – TPO*”) [20,23–25].

Já as tireoglobulinas são homodímeros de glicoproteínas com aproximadamente 130 resíduos de tirosina. Essas proteínas são produzidas no retículo endoplasmático rugoso das células foliculares, posteriormente glicosiladas e empacotadas no complexo de Golgi e finalmente secretadas para o lúmen como componente do coloide [20,24,25]. Com a presença dos componentes individuais, a biossíntese dos hormônios tireoidianos segue os passos abaixo:

1. Iodação da tireoglobulina ou organificação do iodo: Na região das microvilosidades, os átomos de iodo são adicionados em unidade ou duplas aos resíduos de tirosina nas tireoglobulinas, formando MITs and DITs, respectivamente.

Dentre os 130 resíduos de tirosina presentes, apenas 25-30 deles são iodinados, essas reações são catalisadas pelas TPOs [20,23–25].

2. Formação dos hormônios tireoidianos: Os hormônios tireoidianos são formados pelo acoplamento oxidativo de pares de MITs e DITs dentro das tiroglobulinas. O acoplamento de duas DITs forma uma molécula de T4, já a ligação de uma MIT e uma DIT origina uma molécula de T3. Geralmente, cada tiroglobulina contém de 3-4 moléculas de T4, enquanto apenas 1/5 das tiroglobulinas apresentam uma molécula de T3 [20,23–25].
3. Reabsorção do coloide e secreção hormonal: As células foliculares absorvem a tiroglobulina por endocitose mediada por receptores, as vesículas internalizadas são transportadas para endossomos iniciais, que se maturam em lisossomos, fundindo-se e originando os corpos de reabsorção de coloide. Nessas estruturas, as tiroglobulinas são degradadas em aminoácidos e carboidratos pela ação de proteases catepsina-D e D-like Thiol proteinases, liberando seu conteúdo de T3, T4, DIT e MIT. As iodotirosinas DIT e MIT são rapidamente deiodinadas (com o auxílio de isoenzimas deiodinaseses Dhal1 e Dhal1b) e o iodeto reciclado [20,24,25].
4. Liberação de T3 e T4 – Por fim as células foliculares secretam os hormônios para a circulação em uma proporção de 20:1 de T4 para T3. Ao serem secretados, a maior parte dos hormônios é imediatamente ligada a proteínas plasmáticas globulina ligante de tiroxina (TBG) e transtirretina (também chamada de thyroxine-binding prealbumin - TBPA), sendo a ligação do T4 mais forte à TGB e a ligação do T3 à transtirretina e uma parte menor se liga à albumina, deixando apenas 1%

¹² dos hormônios livres para exercer suas funções biológicas. O controle do *feedback* hormonal e liberação do hormônio estimulante da tireoide (TSH) ocorre por intermédio dos hormônios tireoidianos livres, sendo que variações hormonais totais podem não necessariamente se correlacionar à proporção de hormônios ativos, como por exemplo na gravidez, onde a liberação de T4 aumenta, mas o T4 livre permanece normal [20,23]. Após a liberação na corrente sanguínea, a meia vida dos hormônios tireoidianos nos humanos é de aproximadamente 5-9 dias para o T4 e 1 dia para o T3, enquanto para ratos varia de 12-24 horas e 6 horas, respectivamente. Esse fenômeno pode estar relacionado ao fato de que os hormônios dos roedores encontram-se principalmente em sua forma livre, o que facilita seu processo de metabolismo e excreção [17,21].

1.3.2. Controle da secreção hormonal

Tanto a biossíntese quanto a liberação dos hormônios tireoidianos são controladas pelos hormônios TSH e liberador de tireotrofina¹³ (THR), secretados respectivamente pela pituitária anterior e hipotálamo, em um mecanismo regulatório envolvendo o eixo hipotálamo-pituitária-tireoide (HPT) [17,23,26]. Baixos níveis de T3 ou T4 estimulam a produção de THR no hipotálamo, que por sua vez, flui pela veia porta hipofiseal para a pituitária anterior estimulando os tireotrofos a produzirem TSH. O TSH então estimula praticamente todos os aspectos da atividade das células foliculares (sequestro de iodo, síntese hormonal, secreção e crescimento das células foliculares).

¹² Alguns autores citam diferentes proporções, como por exemplo: 0,04% de T4 e 0,4% de T3 (23).

¹³ Também chamado de tiro liberina.

Níveis altos de hormônios tireoidianos, principalmente T3¹⁴, inibem a liberação de THR e TSH em um *feedback* negativo [23,26]. Além disso, o controle da secreção pode ser realizado pelos elementos de autorregulação do iodo, como por exemplo excesso de iodo e lítio [23] e da sinalização da dopamina [17]. Esses mecanismos funcionam de maneira similar nos roedores [21,25].

Além disto, destaca-se que estímulos físicos e características ambientais influenciam os níveis internos dos hormônios tireoidianos. Por exemplo, no hemisfério Norte observa-se um aumento de aproximadamente 15% nos níveis de TSH e 5% nos níveis de T3 durante o inverno com redução similar durante o verão. Nesse sentido, regiões com frio extremo (-20°C/-24°C) induzem redução de aproximadamente 7% nos níveis de T3 e T4, mesmo com um aumento de 30% nos níveis de TSH. Com relação aos estímulos físicos, nota-se que o jejum e o envelhecimento induzem redução de TSH e T3, enquanto privação de sono afeta principalmente nos níveis de TSH [17].

1.3.3. Controle da sinalização hormonal nos tecidos-alvo

Visto o discutido nos aspectos evolutivos das iodotirosinas, não é surpresa verificar que os hormônios tireoidianos potencialmente regulam todas as células de um organismo. Seus efeitos passam pelo desenvolvimento e maturação de órgãos até manutenção tecidual e resposta a estímulos ambientais. Assim, torna-se claro que os níveis hormonais circulantes não permitem regulações teciduais e temporais específicas para cada tipo celular concomitantemente, de forma que a presença e proporção de T3 e T4 na corrente sanguínea é relativamente constante e, o ajuste específico da

¹⁴ Outros autores apontam que essa inibição ocorre principalmente em resposta ao T4 circulante (17).

intensidade da regulação hormonal ocorre de maneira mais ampla nos tecidos-alvo pelo controle de transportadores intracelulares dos hormônios (MCT8, MCT10, OATP1 e LAT) e pela atividade das desidases [27–29].

As desidases fazem parte do grupo das seleno proteínas com capacidade catalítica sobre os anéis aromáticos dos hormônios tireoidianos, resultando na diminuição do número de iodios na cadeia [28,29]. As desidases do tipo 1¹⁵ e 2 (Dio1 e Dio2, respectivamente), sendo que esta última apresenta maior afinidade ao T4, podem remover o anel exterior de T4, resultando em moléculas de T3, o que incrementa a sinalização hormonal devido ao maior papel biológico de T3. Já as desidases do tipo 3 (Dio 3), podem desidar T3 em T2 reduzindo a sinalização hormonal [29].

1.3.4. Mecanismos de Ação dos Hormônios Tireoidianos

Após sua admissão nas células, os hormônios tireoidianos exercem sua ação de duas formas principais envolvendo ou não o controle da expressão gênica, conhecidas respectivamente como ações genômicas e não genômicas. Em ambos os casos, os efeitos dos hormônios tireoidianos são mediados pelos receptores dos hormônios tireoidianos (RHT). Os RHTs fazem parte da família de receptores nucleares e suas isoformas alfa e beta são as principais mediadoras das ações genômicas do T3, enquanto formas truncadas de RHT α medeiam ações não genômicas [27,30,31].

Com relação à regulação da transcrição gênica pelos HTs, na ausência ou em níveis baixos do ligante, os RHTs estão associados a sequências específicas no DNA,

¹⁵ Quando a desidase do tipo 1 cliva o anel interior de T4 o resultado é T3 reverso, sem ação biológica descrita. As desidases do tipo 1 são pouco conhecidas, em humanos elas estão relacionadas à produção de níveis altos de T3 no soro durante o hipertireoidismo (29).

os elementos responsivos aos hormônios tireoidianos (THRE). Essa ligação pode ocorrer como monômeros, homodímeros ou heterodímeros que recrutam proteínas corepressoras que podem inibir ou ativar a transcrição basal de genes. Na presença de T3, os RHTs alteram sua conformação, acarretando na liberação dos corepressores e no assentamento de coativadores, que induzirão a transcrição dos genes positivamente regulados e a inibição dos genes negativamente regulados [30,32–34]. Além disso, é importante ressaltar que diferentes autores demonstram que parte dos genes responsivos aos HTs são associados aos RHTs apenas após sua ligação com o T3, indicando migração nuclear. Outro fator curioso é a atividade paradoxal dos corepressores e coativadores, que geram inibição ou ativação transcricional dependente de HTs de formas distintas nos diferentes tecidos e tipos celulares [27].

Enquanto os processos que envolvem a transcrição gênica podem levar várias horas até culminarem na modulação do conteúdo proteico, observa-se que os THs regulam vias celulares minutos após sua administração [35,36]. Esses processos não genômicos são mediados por integrinas e formas truncadas de TR α na membrana plasmática, que induzem a fosforilação de vias e ativação de quinases na presença de THs [35,37,38].

1.3.5. Desbalanço dos níveis hormonais

O extenso desenvolvimento ao longo do processo evolutivo e a ampla atividade dos hormônios tireoidianos no controle dos mecanismos celulares são refletidos na influência dos níveis hormonais ao longo da vida dos organismos. Durante o desenvolvimento, os HTs controlam o metabolismo e diferenciação de vários tecidos [39–

41]. Neste período, os HTs induzem o desenvolvimento dos somitos e dermomiótomo nas linhagens musculares, controlam a proliferação e migração de neurônios, e são essenciais para a maturação dos pulmões, do fígado e dos músculos esqueléticos [34,40–43]. Desta forma, distúrbios na sinalização do T3 podem causar graves patologias, tais como cretinismo, surdez, deficiências cognitivas, ossificação prematura e insuficiência cardíaca [39,41,44,45].

Após o nascimento, a sinalização do T3 é necessária para a homeostase do indivíduo e, alterações nos níveis fisiológicos do hormônio desencadeiam modificações marcantes nos tecidos alvo [46]. No tecido cardíaco, o hipertireoidismo inicialmente altera a velocidade e força da contração de maneira benéfica, mas culmina em hipertrofia do miocárdio, desarranjo sarcomérico e insuficiência cardíaca [46]. Já no músculo esquelético, o hipertireoidismo estabelece diminuição da força e resistência muscular, assim como degeneração das fibras musculares com redução na área de secção transversal e proteólise severa [43,47–49].

1.4. Músculo Esquelético

1.4.1. Processo Evolutivo

De forma semelhante aos hormônios tireoidianos, os primórdios do tecido muscular esquelético se estabelecem nos ramos basais do desenvolvimento evolutivo, com a marcante presença do movimento nos seres vivos. Em um nível microscópico é possível identificar movimentos intracelulares (alinhamento de organelas e movimentação cromossômica) [50–52] e celulares (produzidos por cílios ou flagelos como nas plânulas e protozoários, respectivamente). Posteriormente, em organismos

complexos, observa-se a movimentação das plantas, essenciais na busca de nutrientes e na dispersão de sementes que marcaram a vanguarda na colonização do ambiente terrestre.

No ramo dos animais, no grupo dos bilaterados, originou-se um aparato contrátil especializado na geração de movimentos rápidos e amplos. Esta apomorfia contribuiu para a sofisticação da interação dos organismos com o ecossistema, diversificando suas estratégias de caça e fuga de predadores [51–53]. Finalmente, nos vertebrados, as grandes células contráteis, chamadas de fibras, formam o tecido muscular esquelético que é especializado na geração de tensão por contração coordenada.

Nos humanos, o tecido muscular esquelético corresponde a aproximadamente 40% da massa corporal [54] e assume papéis centrais na homeostase do organismo. Nesse sentido o músculo esquelético está associado a regulação do metabolismo da glicose, participa da produção de calor e do retorno venoso, e é componente crucial no processo de ventilação e reserva nutricional [55–57]. Além disso, o músculo esquelético aprimorou-se em um tecido extremamente plástico, capaz de alterar suas características fenotípicas em resposta a alterações ambientais, garantindo vantagem na obtenção de alimentos e fuga de predadores. De tal forma que estas especializações foram um fator crucial no desenvolvimento da cognição e comportamentos sociais em humanos [52,53,58].

1.4.2. Plasticidade Muscular Esquelética

Como citado anteriormente, o músculo esquelético responde às demandas ambientais acomodando seu fenótipo ao novo equilíbrio fisiológico exigido por alterações

no estresse mecânico, aporte nutricional e sinalização hormonal [57]. Em resposta ao aumento da demanda mecânica e indução anabólica por ação hormonal, por exemplo, há o característico quadro de hipertrofia, com aumento da síntese de proteínas e maior área das fibras musculares que culmina no incremento de massa e força [59–61]. Por outro lado, diminuição da demanda muscular, restrição nutricional e ação anormal dos hormônios tireoidianos desencadeia elevada degradação de proteínas, perda de sarcômeros em série e organelas, culminando em menor área na secção transversal das fibras e perda de força muscular [62,63].

Apesar dos processos de atrofia e hipertrofia serem fenômenos bem estabelecidos, a forma que os mecanismos intracelulares se modulam e interagem ainda necessitam de esclarecimentos. Nesse sentido, o processo envolvendo o equilíbrio entre síntese e degradação proteica possui papel central nos processos de regulação da massa muscular. De maneira clássica, na hipertrofia, a síntese de proteínas prevalece em relação aos processos de degradação [64]. Por outro lado, nos quadros de atrofia, foi bem estabelecido que o aumento da degradação se sobressai à síntese basal de proteínas [65]. Contudo, a regulação do *turnover* de proteínas nos diferentes modelos de atrofia e hipertrofia demonstrou-se mais complexa, uma vez que as vias de síntese e degradação são moduladas de forma diferente. Por exemplo, a via de indução de síntese proteica encontra-se ativada em condições sarcopenicas. Além disso, o regulador negativo da massa muscular, miostatina, está relacionada à indução de condições atroficas ou hipertróficas de forma condicionada a quais vias *downstream* estão ativadas [66–68].

Os mecanismos moleculares que participam do *turnover* de proteínas foram extensivamente investigados e, são agora apreciados como vias de sinalização distintas

que regulam a massa muscular. Por exemplo, a sinalização anabólica para a síntese de proteínas é associada as via do IGF1-PI3K-AKT-mTOR [69], óxido nítrico [70], SRF [71], e β 2-adrenoceptores [72]. Por outro lado, a inibição da síntese proteica pode ser relacionada à via da miostatina [73] e a degradação proteica inclui os processos de autofagia, calpaínas [74] e do sistema ubiquitina proteassoma.

1.4.3. Vias intracelulares de Controle de Massa

A proteína mTOR é o componente central da atividade do complexo regulatório da síntese de proteínas, foi inicialmente identificada por grupos distintos que buscavam os mecanismos mediadores da atividade antiploriferativa da rapamicina [75,76]. Posteriormente, estabeleceu-se que a mTOR é conservada entre os seres vivos, controlando diferentes mecanismos celulares como crescimento, diferenciação, autofagia, sobrevivência e metabolismo em resposta a diferentes tipos de estímulo, entre os mais conhecidos como a resposta ao IGF-1 e a disponibilidade de aminoácidos através da via RAG [76].

Para exercer a resposta adequada, a mTOR, que é uma proteína quinase, funciona como a porção catalítica do complexo mTORC1, formado com as proteínas regulatórias RPTOR, PRAS40, DEPTOR e MLST8 [76,77]. O complexo então, controla a síntese proteica ao ativar por fosforilação P70S6K que, por sua vez, exerce controle da atividade ribossomal ao fosforilar o S6, componente da porção ribossomal 40S. Além disso, mTORC1 fosforila 4EBP1, enfraquecendo sua ligação com o fator transcricional EIF4 e assim, aumentando a tradução [76–78].

Por outro lado, a regulação negativa da atividade de mTORC1 está relacionada a via da miostatina [68,79–81]. A sinalização canônica dessa via inicia-se com sua ligação ao receptor de membrana ActRIIB, que desencadeia a fosforilação de SMADs, que migram para o núcleo e induzem ou inibem a transcrição gênica. Nesse sentido, são bem identificados os efeitos inibitórios da via canônica da miostatina sobre a atividade dos microRNAs 486 e 29, o que aumenta a atividade de PTEN e reduz atividade de Akt que, por sua vez, diminui a sinalização para via de síntese mTOR ao mesmo tempo que induz a degradação proteica ao aumentar transcrição dos genes atroficos Atrogin-1 e MuRF-1, via FoxO ou independentemente via NFκB [79,81–83].

Atrogin-1 e MuRF-1 são ubiquitina ligases, componentes do sistema proteolítico ubiquitina proteassoma. Esse sistema é o principal responsável pela degradação proteica no músculo esquelético e está implicado em diferentes processos atroficos [84–88]. Nesse sistema, as proteínas são marcadas para degradação através do processo de ubiquitinação. Primeiramente, a ubiquitina é ativada pela atividade das proteínas ativadoras de ubiquitina (E1), e então direcionada pelas proteínas carreadoras de ubiquitina (E2), para então ser conjugada às proteínas alvo pelas proteínas ubiquitina-ligases (E3) e degradadas no complexo 26S do proteassoma [89].

2 REFERÊNCIAS

- [1] Schrodinger E. O que é vida?: o aspecto físico da célula viva: Seguido de “Mente e matéria” e “Fragmentos autobiográficos.” 1ª edição. São Paulo: Editora Unesp; 2007.
- [2] Crockford SJ. Evolutionary roots of iodine and thyroid hormones in cell-cell signaling. *Integr Comp Biol* 2009;49:155–66. <https://doi.org/10.1093/icb/icp053>.
- [3] Weiss MC, Preiner M, Xavier JC, Zimorski V, Martin WF. The last universal common ancestor between ancient Earth chemistry and the onset of genetics. *PLoS Genet* 2018;14:e1007518. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1007518>.
- [4] Barry BA, Babcock GT. Tyrosine radicals are involved in the photosynthetic oxygen-evolving system. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1987;84:7099–103. <https://doi.org/10.1073/pnas.84.20.7099>.
- [5] Guo Z, He J, Barry BA. Calcium, conformational selection, and redox-active tyrosine YZ in the photosynthetic oxygen-evolving cluster. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2018;115:5658–63. <https://doi.org/10.1073/pnas.1800758115>.
- [6] Björn LO, Govindjee U. The evolution of photosynthesis and its environmental impact. *Photobiol — Sci Life Light 2nd Ed* 2008:255–87. https://doi.org/10.1007/978-0-387-72655-7_12.
- [7] Fenical W. Halogenation in the Rhodophyta a Review. *J Phycol* 1975;11:245–59. <https://doi.org/10.1111/j.1529-8817.1975.tb02775.x>.
- [8] Fowden L. Radioactive Iodine Incorporation into Organic Compounds of Various Angiosperms. *Physiol Plant* 1959;12:657–64. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1959.tb08900.x>.
- [9] La Barre S, Potin P, Leblanc C, Delage L. The halogenated metabolism of brown algae (Phaeophyta), its biological importance and its environmental significance. *Mar Drugs* 2010;8:988–1010. <https://doi.org/10.3390/md8040988>.
- [10] Smoleń S, Kowalska I, Halka M, Ledwożyw-Smoleń I, Grzanka M, Skoczylas Ł, et al. Selected Aspects of Iodate and Iodosalicylate Metabolism in Lettuce Including the Activity of Vanadium Dependent Haloperoxidases as Affected by Exogenous Vanadium. *Agronomy* 2020;10:1. <https://doi.org/10.3390/agronomy10010001>.
- [11] Reis LTC, Da Silva MRD, Costa SL, Velozo EDS, Batista R, Da Cunha Lima ST. Estrogen and Thyroid Hormone Receptor Activation by Medicinal Plants from Bahia, Brazil. *Medicines* 2018;5:8. <https://doi.org/10.3390/medicines5010008>.
- [12] Heyland A, Moroz LL. Cross-kingdom hormonal signaling: an insight from thyroid hormone functions in marine larvae. *J Exp Biol* 2005;208:4355–61. <https://doi.org/10.1242/jeb.01877>.
- [13] Sebastiano V. Evolutionary Significance of Iodine. *Curr Chem Biol* 2011;5:155–62.
- [14] Eales JG. Iodine Metabolism and Thyroid-Related Functions in Organisms Lacking Thyroid Follicles: Are Thyroid Hormones also Vitamins? 1997. <https://journals.sagepub.com/doi/abs/10.3181/00379727-214-44098> (accessed September 8, 2021).
- [15] Taylor E, Heyland A. Evolution of thyroid hormone signaling in animals: Non-genomic and genomic modes of action. *Mol Cell Endocrinol* 2017;459:14–20. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2017.05.019>.

- [16] Heyland A, Hodin J, Reitzel AM. Hormone signaling in evolution and development: a non-model system approaches. *BioEssays* 2005;27:64–75. <https://doi.org/10.1002/bies.20136>.
- [17] Nyström E, E.B. Berg G, K.G. Jansson S, Tarring O, V. Valdemarsson S. *Thyroid Disease in Adults*. 2011 edition. Heidelberg: Springer; 2011.
- [18] Moore K, Dalley AF, Agur AMR. *Anatomia Orientada Para A Clínica*. 7° edição. Rio de Janeiro, Brasil: Guanabara Koogan; 2014.
- [19] Drake RL, Vogl W, Mitchell AWM. *Gray's Anatomy For Student*. 1st Edition. Oxford, Reino Unido: Churchill Livingstone; 2004.
- [20] Ross MH, Pawlina W. *Histology: A Text and Atlas With Correlated Cell and Molecular Biology*. 7th Edition. Filadélfia, Estados Unidos Da América: Wolters Kluwer Health; 2015.
- [21] La Perle KMD, Dintzis SM. *Endocrine Sysem. Comp. Anat. Histol. Mouse Rat Hum. Atlas*. 2nd ed., Oxford, Reino Unido: Academic Press; 2017.
- [22] Lowrie DJ. *Histology: An Essential Textbook*. Nova Iorque, Estados Unidos Da América: Thieme; 2020.
- [23] Ilie IR. *Introduction to Endocrinology*. Cham, Suíça: Springer Nature; 2020.
- [24] Kronenberg HM, Melmed S, Polonsky KS, Larsen PR. *Williams Textbook of Endocrinology*. 11th Edition. Filadélfia, Estados Unidos Da América: Elsevier; 2007.
- [25] Carvalho DP, Dupuy C. Thyroid hormone biosynthesis and release. *Mol Cell Endocrinol* 2017;458:6–15. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2017.01.038>.
- [26] Tortora GJ, Derrickson B. *Principles of Anatomy & Physiology*. 14th Edition. Massachussets, Estados Unidos Da América: Wiley; 2014.
- [27] Mendoza A, Hollenberg AN. New insights into thyroid hormone action. *Pharmacol Ther* 2017;173:135–45. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2017.02.012>.
- [28] Cicatiello AG, Di Girolamo D, Dentice M. Metabolic Effects of the Intracellular Regulation of Thyroid Hormone: Old Players, New Concepts. *Front Endocrinol* 2018;9:474. <https://doi.org/10.3389/fendo.2018.00474>.
- [29] Gereben B, Zavacki AM, Ribich S, Kim BW, Huang SA, Simonides WS, et al. Cellular and molecular basis of deiodinase-regulated thyroid hormone signaling. *Endocr Rev* 2008;29:898–938. <https://doi.org/10.1210/er.2008-0019>.
- [30] Astapova I, Hollenberg AN. The in vivo role of nuclear receptor corepressors in thyroid hormone action. *Biochim Biophys Acta* 2013;1830:3876–81. <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2012.07.001>.
- [31] Cheng S-Y, Leonard JL, Davis PJ. Molecular aspects of thyroid hormone actions. *Endocr Rev* 2010;31:139–70. <https://doi.org/10.1210/er.2009-0007>.
- [32] Zhang J, Lazar MA. The Mechanism of Action of Thyroid Hormones. *Annu Rev Physiol* 2000;62:439–66. <https://doi.org/10.1146/annurev.physiol.62.1.439>.
- [33] Yen PM. Physiological and molecular basis of thyroid hormone action. *Physiol Rev* 2001;81:1097–142. <https://doi.org/10.1152/physrev.2001.81.3.1097>.
- [34] Salvatore D, Simonides WS, Dentice M, Zavacki AM, Larsen PR. Thyroid hormones and skeletal muscle--new insights and potential implications. *Nat Rev Endocrinol* 2014;10:206–14. <https://doi.org/10.1038/nrendo.2013.238>.
- [35] Cao X, Kambe F, Moeller LC, Refetoff S, Seo H. Thyroid hormone induces rapid activation of Akt/protein kinase B-mammalian target of rapamycin-p70S6K cascade through phosphatidylinositol 3-kinase in human fibroblasts. *Mol Endocrinol Baltim Md* 2005;19:102–12. <https://doi.org/10.1210/me.2004-0093>.

- [36] Irrcher I, Walkinshaw DR, Sheehan TE, Hood DA. Thyroid hormone (T3) rapidly activates p38 and AMPK in skeletal muscle in vivo. *J Appl Physiol Bethesda Md* 1985 2008;104:178–85. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00643.2007>.
- [37] Davis PJ, Leonard JL, Davis FB. Mechanisms of nongenomic actions of thyroid hormone. *Front Neuroendocrinol* 2008;29:211–8. <https://doi.org/10.1016/j.yfrne.2007.09.003>.
- [38] Hammes SR, Davis PJ. Overlapping nongenomic and genomic actions of thyroid hormone and steroids. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2015;29:581–93. <https://doi.org/10.1016/j.beem.2015.04.001>.
- [39] Grüters A, Biebermann H, Krude H. Neonatal thyroid disorders. *Horm Res* 2003;59 Suppl 1:24–9. <https://doi.org/10.1159/000067841>.
- [40] Buchholz DR. More similar than you think: Frog metamorphosis as a model of human perinatal endocrinology. *Dev Biol* 2015;408:188–95. <https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2015.02.018>.
- [41] Moog NK, Entringer S, Heim C, Wadhwa PD, Kathmann N, Buss C. Influence of maternal thyroid hormones during gestation on fetal brain development. *Neuroscience* 2017;342:68–100. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2015.09.070>.
- [42] Forhead AJ, Fowden AL. Thyroid hormones in fetal growth and parturition maturation. *J Endocrinol* 2014;221:R87–103. <https://doi.org/10.1530/JOE-14-0025>.
- [43] Lee J-W, Kim N-H, Milanesi A. Thyroid Hormone Signaling in Muscle Development, Repair and Metabolism. *J Endocrinol Diabetes Obes* 2014;2:1046.
- [44] Klein RZ, Mitchell ML. Maternal hypothyroidism and child development. A review. *Horm Res* 1999;52:55–9. <https://doi.org/10.1159/000023435>.
- [45] Préau L, Fini JB, Morvan-Dubois G, Demeneix B. Thyroid hormone signaling during early neurogenesis and its significance as a vulnerable window for endocrine disruption. *Biochim Biophys Acta* 2015;1849:112–21. <https://doi.org/10.1016/j.bbagra.2014.06.015>.
- [46] Kahaly GJ, Dillmann WH. Thyroid hormone action in the heart. *Endocr Rev* 2005;26:704–28. <https://doi.org/10.1210/er.2003-0033>.
- [47] Williams JE. Patients' early. *Med J Aust* 1969;2:54–5.
- [48] Al-Zubeidi H, Demeterco C, Jones KL. Thyrotoxic, hypokalemic periodic paralysis (THPP) in adolescents. *J Pediatr Endocrinol Metab JPEM* 2015;28:157–61. <https://doi.org/10.1515/jpem-2014-0016>.
- [49] Bahn RS. *Graves' Disease: A Comprehensive Guide for Clinicians*. 1st ed. Nova Iorque, Estados Unidos Da América: Springer; 2015.
- [50] Lee LA, Karabina A, Broadwell LJ, Leinwand LA. The ancient sarcomeric myosins found in specialized muscles. *Skelet Muscle* 2019;9:7. <https://doi.org/10.1186/s13395-019-0192-3>.
- [51] Lindstedt S, Nishikawa K. Huxleys' Missing Filament: Form and Function of Titin in Vertebrate Striated Muscle. *Annu Rev Physiol* 2017;79:145–66. <https://doi.org/10.1146/annurev-physiol-022516-034152>.
- [52] Steinmetz PRH, Kraus JEM, Larroux C, Hammel JU, Amon-Hassenzahl A, Houliston E, et al. Independent evolution of striated muscles in cnidarians and bilaterians. *Nature* 2012;487:231–4. <https://doi.org/10.1038/nature11180>.

- [53] Lee LA, Karabina A, Broadwell LJ, Leinwand LA. The ancient sarcomeric myosins found in specialized muscles. *Skelet Muscle* 2019;9:7. <https://doi.org/10.1186/s13395-019-0192-3>.
- [54] Janssen I, Heymsfield SB, Wang ZM, Ross R. Skeletal muscle mass and distribution in 468 men and women aged 18-88 yr. *J Appl Physiol Bethesda Md* 1985 2000;89:81–8. <https://doi.org/10.1152/jappl.2000.89.1.81>.
- [55] Gibala MJ. Using exercise training to understand control of skeletal muscle metabolism. *Appl Physiol Nutr Metab Physiol Appl Nutr Metab* 2017;42:108–10. <https://doi.org/10.1139/apnm-2016-0356>.
- [56] Béchet D, Tassa A, Combaret L, Taillandier D, Attaix D. Regulation of skeletal muscle proteolysis by amino acids. *J Ren Nutr* 2005;15:18–22. <https://doi.org/10.1053/j.jrn.2004.09.005>.
- [57] Hill JA, Olson EN. *Muscle: Fundamental Biology and Mechanisms of Disease*. vol. 1. 1st ed. Boston, Estados Unidos Da América: Academic Press; 2012.
- [58] Goodin AD-, Yelizarov D. Evolution of movement process as a key for human cognition. *Cuad Neuropsicol Panam J Neuropsychol* 2018;12.
- [59] Schoenfeld BJ. The mechanisms of muscle hypertrophy and their application to resistance training. *J Strength Cond Res* 2010;24:2857–72. <https://doi.org/10.1519/JSC.0b013e3181e840f3>.
- [60] Herbst KL, Bhasin S. Testosterone action on skeletal muscle. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2004;7:271–7. <https://doi.org/10.1097/00075197-200405000-00006>.
- [61] Goldspink G, Howells KF. Work-induced hypertrophy in exercised normal muscles of different ages and the reversibility of hypertrophy after cessation of exercise. *J Physiol* 1974;239:179–93. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.1974.sp010562>.
- [62] Sandri M. Signaling in muscle atrophy and hypertrophy. *Physiol Bethesda Md* 2008;23:160–70. <https://doi.org/10.1152/physiol.00041.2007>.
- [63] Zhang P, Chen X, Fan M. Signaling mechanisms involved in disuse muscle atrophy. *Med Hypotheses* 2007;69:310–21. <https://doi.org/10.1016/j.mehy.2006.11.043>.
- [64] Goldberg AL. Protein turnover in skeletal muscle. I. Protein catabolism during work-induced hypertrophy and growth induced with growth hormone. *J Biol Chem* 1969;244:3217–22.
- [65] Goldberg AL. Protein turnover in skeletal muscle. II. Effects of denervation and cortisone on protein catabolism in skeletal muscle. *J Biol Chem* 1969;244:3223–9.
- [66] Peris-Moreno D, Taillandier D, Polge C. MuRF1/TRIM63, Master Regulator of Muscle Mass. *Int J Mol Sci* 2020;21:E6663. <https://doi.org/10.3390/ijms21186663>.
- [67] Schiaffino S, Dyar KA, Ciciliot S, Blaauw B, Sandri M. Mechanisms regulating skeletal muscle growth and atrophy. *FEBS J* 2013;280:4294–314. <https://doi.org/10.1111/febs.12253>.
- [68] Vainshtein A, Sandri M. Signaling Pathways That Control Muscle Mass. *Int J Mol Sci* 2020;21:E4759. <https://doi.org/10.3390/ijms21134759>.
- [69] Egerman MA, Glass DJ. Signaling pathways controlling skeletal muscle mass. *Crit Rev Biochem Mol Biol* 2014;49:59–68. <https://doi.org/10.3109/10409238.2013.857291>.
- [70] Smith LW, Smith JD, Criswell DS. Involvement of nitric oxide synthase in skeletal muscle adaptation to chronic overload. *J Appl Physiol Bethesda Md* 1985 2002;92:2005–11. <https://doi.org/10.1152/japplphysiol.00950.2001>.

- [71] Aline G, Sotiropoulos A. Srf: A key factor controlling skeletal muscle hypertrophy by enhancing the recruitment of muscle stem cells. *Bioarchitecture* 2012;2:88–90. <https://doi.org/10.4161/bioa.20699>.
- [72] Gonçalves DA, Silveira WA, Manfredi LH, Graça FA, Armani A, Bertaglia E, et al. Insulin/IGF1 signalling mediates the effects of β 2 -adrenergic agonist on muscle proteostasis and growth. *J Cachexia Sarcopenia Muscle* 2019;10:455–75. <https://doi.org/10.1002/jcsm.12395>.
- [73] Lee SJ, McPherron AC. Regulation of myostatin activity and muscle growth. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2001;98:9306–11. <https://doi.org/10.1073/pnas.151270098>.
- [74] Bonaldo P, Sandri M. Cellular and molecular mechanisms of muscle atrophy. *Dis Model Mech* 2013;6:25–39. <https://doi.org/10.1242/dmm.010389>.
- [75] Sabatini DM. Twenty-five years of mTOR: Uncovering the link from nutrients to growth. *Proc Natl Acad Sci* 2017;114:11818–25. <https://doi.org/10.1073/pnas.1716173114>.
- [76] Weichhart T. mTOR. Nova Iorque, Estados Unidos Da América: Springer; 2012. <https://doi.org/10.1007/978-1-61779-430-8>.
- [77] Yoon M-S. mTOR as a Key Regulator in Maintaining Skeletal Muscle Mass. *Front Physiol* 2017;8:788. <https://doi.org/10.3389/fphys.2017.00788>.
- [78] Ben-Sahra I, Manning BD. mTORC1 signaling and the metabolic control of cell growth. *Curr Opin Cell Biol* 2017;45:72–82. <https://doi.org/10.1016/j.cceb.2017.02.012>.
- [79] Liu J, Pan M, Huang D, Guo Y, Yang M, Zhang W, et al. Myostatin-1 Inhibits Cell Proliferation by Inhibiting the mTOR Signal Pathway and MRFs, and Activating the Ubiquitin-Proteasomal System in Skeletal Muscle Cells of Japanese Flounder *Paralichthys olivaceus*. *Cells* 2020;9:E2376. <https://doi.org/10.3390/cells9112376>.
- [80] Trendelenburg AU, Meyer A, Rohner D, Boyle J, Hatakeyama S, Glass DJ. Myostatin reduces Akt/TORC1/p70S6K signaling, inhibiting myoblast differentiation and myotube size. *Am J Physiol Cell Physiol* 2009;296:C1258-1270. <https://doi.org/10.1152/ajpcell.00105.2009>.
- [81] Hitachi K, Nakatani M, Tsuchida K. Myostatin signaling regulates Akt activity via the regulation of miR-486 expression. *Int J Biochem Cell Biol* 2014;47:93–103. <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2013.12.003>.
- [82] Wang D-T, Yang Y-J, Huang R-H, Zhang Z-H, Lin X. Myostatin Activates the Ubiquitin-Proteasome and Autophagy-Lysosome Systems Contributing to Muscle Wasting in Chronic Kidney Disease. *Oxid Med Cell Longev* 2015;2015:684965. <https://doi.org/10.1155/2015/684965>.
- [83] Sriram S, Subramanian S, Juvvuna PK, Ge X, Lokireddy S, McFarlane CD, et al. Myostatin augments muscle-specific ring finger protein-1 expression through an NF- κ B independent mechanism in SMAD3 null muscle. *Mol Endocrinol Baltim Md* 2014;28:317–30. <https://doi.org/10.1210/me.2013-1179>.
- [84] Bodine SC, Latres E, Baumhueter S, Lai VK, Nunez L, Clarke BA, et al. Identification of ubiquitin ligases required for skeletal muscle atrophy. *Science* 2001;294:1704–8. <https://doi.org/10.1126/science.1065874>.
- [85] Lokireddy S, Wijesoma IW, Sze SK, McFarlane C, Kambadur R, Sharma M. Identification of atrogen-1-targeted proteins during the myostatin-induced skeletal muscle wasting. *Am J Physiol Cell Physiol* 2012;303:C512-529. <https://doi.org/10.1152/ajpcell.00402.2011>.

- [86] Baehr LM, Furlow JD, Bodine SC. Muscle sparing in muscle RING finger 1 null mice: response to synthetic glucocorticoids. *J Physiol* 2011;589:4759–76. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2011.212845>.
- [87] Bowen TS, Adams V, Werner S, Fischer T, Vinke P, Brogger MN, et al. Small-molecule inhibition of MuRF1 attenuates skeletal muscle atrophy and dysfunction in cardiac cachexia. *J Cachexia Sarcopenia Muscle* 2017;8:939–53. <https://doi.org/10.1002/jcsm.12233>.
- [88] Labeit S, Kohl CH, Witt CC, Labeit D, Jung J, Granzier H. Modulation of Muscle Atrophy, Fatigue and MLC Phosphorylation by MuRF1 as Indicated by Hindlimb Suspension Studies on MuRF1-KO Mice. *J Biomed Biotechnol* 2010;2010. <https://doi.org/10.1155/2010/693741>.
- [89] Hershko A, Ciechanover A. The ubiquitin system. *Annu Rev Biochem* 1998;67:425–79. <https://doi.org/10.1146/annurev.biochem.67.1.425>.
- [90] Taylor PN, Albrecht D, Scholz A, Gutierrez-Buey G, Lazarus JH, Dayan CM, et al. Global epidemiology of hyperthyroidism and hypothyroidism. *Nat Rev Endocrinol* 2018;14:301–16. <https://doi.org/10.1038/nrendo.2018.18>.