

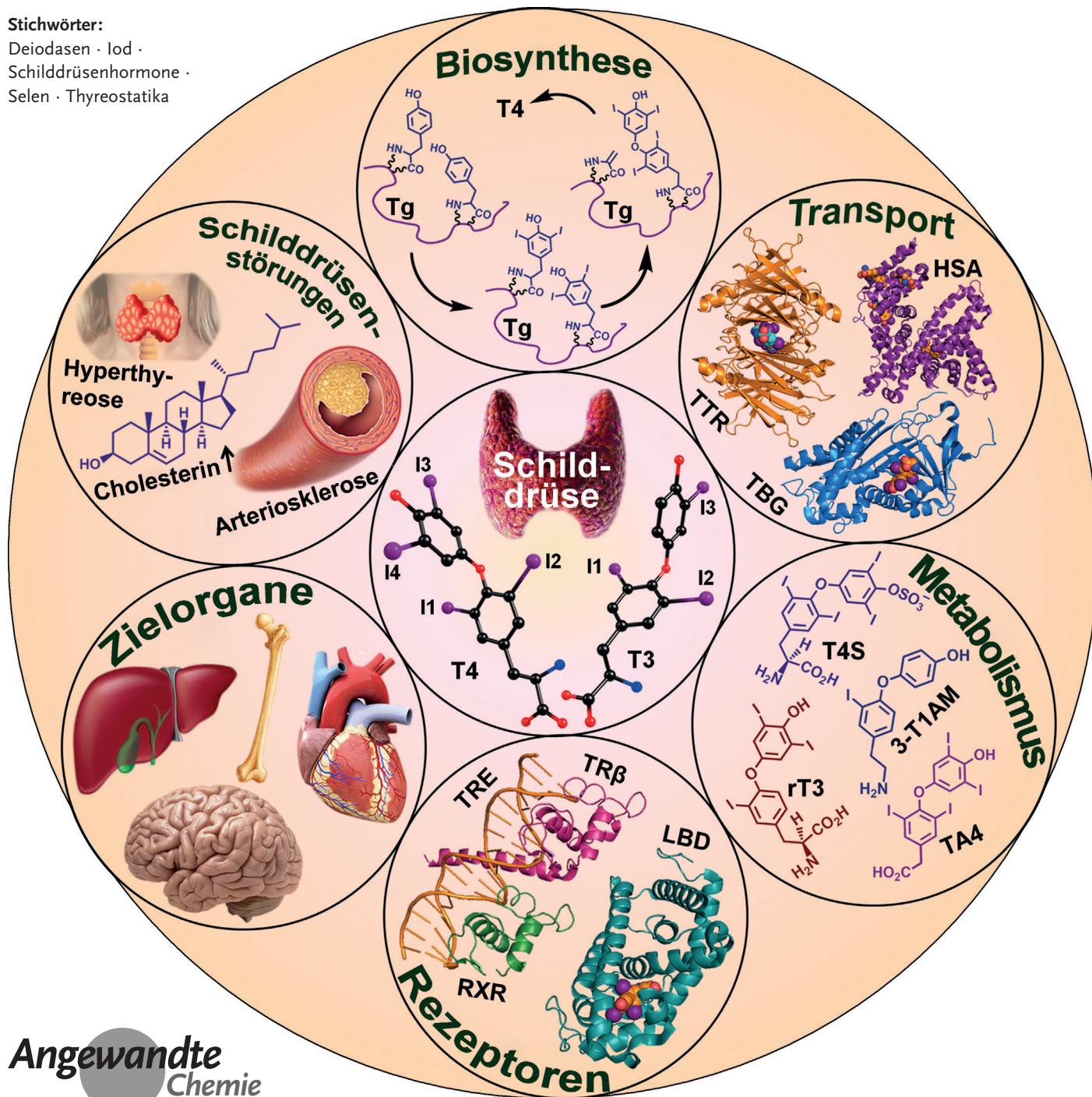


Chemie und Biologie der Schilddrüsenhormon-Biosynthese und -Wirkung

Santanu Mondal, Karuppusamy Raja, Ulrich Schweizer und Govindasamy Muges*^{*}

Stichwörter:

Deiodasen · Iod ·
Schilddrüsenhormone ·
Selen · Thyreostatika



Schildrüsenhormone (THs) werden von der Schilddrüse abgegeben. Sie kontrollieren Fett-, Kohlenhydrat- und Proteinmetabolismus, Herzfrequenz, neuronale Entwicklung sowie kardiovaskuläre, renale und neuronale Funktionen. Die Schilddrüse produziert überwiegend L-Thyroxin (T4), das als Prohormon fungiert. Durch 5'-Deiodierung, katalysiert von Iodthyronin-Deiodasen, wird aktives T3 gebildet, das an den nukleären Schilddrüsenhormon-Rezeptor bindet. In diesem Aufsatz fassen wir sowohl die grundlegende Chemie und Biologie als auch die neuesten Erkenntnisse zur TH-Biosynthese, zum Plasmatransport und zur Internalisierung der THs in die Zielorgane, zur Deiodierung und zu einer Vielzahl anderer Enzym-vermittelter Stoffwechselwege zusammen. Zudem erörtern wir Schilddrüsenhormon-Rezeptoren, verschiedene Schilddrüsen-bedingte Krankheiten und deren Therapien.

1. Einleitung

Schilddrüsenhormone (THs) spielen eine Schlüsselrolle im menschlichen endokrinen System und kontrollieren Grundumsatz, Proteinsynthese, Kohlenhydrat- und Fettmetabolismus, neuronale Entwicklung, Wachstum und Knochenreifung sowie kardiovaskuläre und renale Funktionen. THs werden von der Schilddrüse sezerniert, die hauptsächlich das Prohormon L-Thyroxin oder L-3,5,3',5'-Tetraiodthyronin (T4) und einen kleinen Anteil des biologisch aktiven Hormons L-3,5,3'-Triiodthyronin (T3) produziert (Abbildung 1).^[1] Innerhalb des endokrinen Systems kontrollieren Hypothalamus und Hypophyse die TH-Produktion durch die Schilddrüse. Neuronen im paraventrikularen Nukleus des Hypothalamus sekretieren Thyreoliberin (TRH), das die Hypophyse über G-Protein-gekoppelte Rezeptoren zur Ausschüttung von Thyrotropin (TSH) anregt. Die Bindung von TSH an spezifische G-Protein-gekoppelte Rezeptoren in der Schilddrüse stimuliert wiederum die Biosynthese von T4 und T3, die in das Plasma abgegeben werden und spezifische Funktionen in den Zielorganen, wie in Abbildung 1 dargestellt, ausüben. Der Sollwert des Plasma-TSH wird durch negative Rückkopplung der THs auf der Ebene des Hypothalamus und der Hypophyse (Abbildung 1) justiert. Die gemeinsame Aktivität von Hypothalamus, Hypophyse und Schilddrüse ist als Hypothalamus-Hypophysen-Schilddrüsen-Achse bekannt und reguliert die TH-Spiegel in Abhängigkeit vom physiologischen Zustand des Körpers.^[2]

Die Biosynthese von T4 in den Follikelzellen der Schilddrüse erfordert das Zusammenspiel einer Vielzahl von Komponenten, wie Thyreoglobulin (Tg), Thyreoperoxidase (TPO), Iodid und Wasserstoffperoxid. Nach abgeschlossener Biosynthese wird T4 durch spezifische Transferproteine, wie Thyroxin-bindendes Globulin (TBG), Transthyretin (TTR) und Albumin, zu den unterschiedlichen Zielorganen transportiert und dort durch Transmembrantransporter-Proteine, wie Monocarboxylattransporter 8 (MCT8) und MCT10, in die Zellen aufgenommen. In den Zielzellen wird T4 auf verschiedene Arten metabolisiert, wobei der regioselektiven Deiodierung des Phenol- und des Tyrosylrings eine heraus-

Aus dem Inhalt

1. Einleitung	7735
2. Biosynthese von Schilddrüsenhormonen	7736
3. Plasma-Schilddrüsenhormon-Bindeproteine und Transmembrantransporter	7740
4. Schilddrüsenhormon-Metabolismus	7744
5. Schilddrüsenhormon-Rezeptoren	7748
6. Schilddrüsenbedingte Erkrankungen	7749
7. Zusammenfassung und Ausblick	7753

gehobene Rolle bei der TH-Homöostase zukommt. Die Deiodierungsreaktion wird durch Iodthyronin-Deiodasen (DIOs) katalysiert, eine Gruppe von Selenoenzymen mit unterschiedlicher Regioselektivität. Durch Monodeiodierung am Phenolring wird T4 in T3, durch Deiodierung am Tyrosylring dagegen in den biologisch inaktiven Metaboliten L-3,3',5'-Triiodthyronin (rT3), umgewandelt. Die nukleären Schilddrüsenhormon-Rezeptoren (TR α und TR β) binden T3 mit hoher und T4 mit niedriger Affinität. TRs binden als Homo- und/oder Heterodimere, vorzugsweise mit dem Retinoid-X-Rezeptor (RXR) als TR/RXR-Komplex, an Schilddrüsenhormon-responsive Elemente (TREs), die als spezifische Nukleotidsequenzen in den Zielgenen definiert sind.

Die Bindung des TR/RXR-Komplexes an die TREs induziert die Aktivierung von Corepressoren und Coaktivatoren, was letztlich zur Regulation der Genexpression führt. Aufgrund ihrer gewebsspezifischen Expression hängt die Wirkung der TRs stark vom jeweiligen Gewebe ab. So hat beispielsweise TR α Auswirkungen auf das Herz, wohingegen TR β den Lipid- und Fettmetabolismus in der Leber kontrolliert und die negative Rückkopplung von THs in der Hypophyse vermittelt. Ein Ungleichgewicht der TH-Spiegel führt zu diversen Erkrankungen wie Hypothyreose, Hyper-

[*] S. Mondal, K. Raja, Prof. Dr. G. Mugesha
Department of Inorganic and Physical Chemistry
Indian Institute of Science
Bangalore (Indien)
E-Mail: mugesha@ipc.iisc.ernet.in

Prof. Dr. U. Schweizer
Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn
Institut für Biochemie und Molekularbiologie
Nussallee 11, 53115 Bonn (Deutschland)

 Die Identifikationsnummern (ORCIDs) einiger Autoren sind unter <http://dx.doi.org/10.1002/ange.201601116> zu finden.

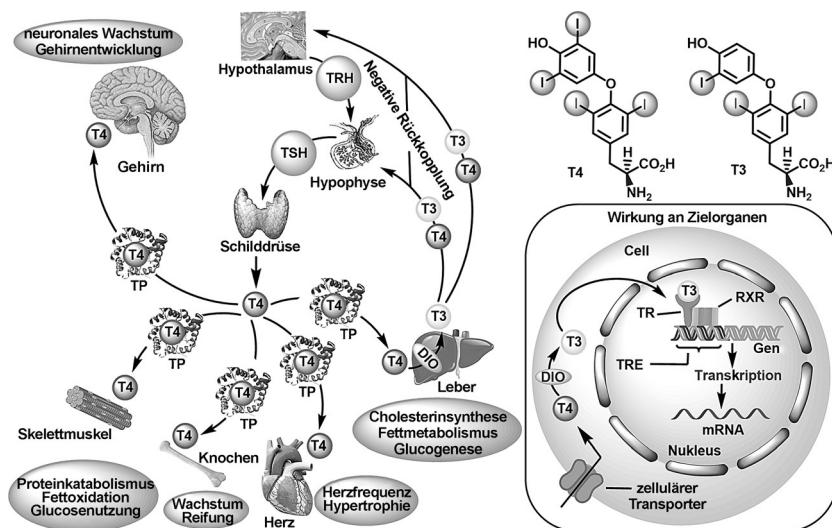


Abbildung 1. TH-Wirkung in verschiedenen Zielorganen. TRH: Thyroloberin, TSH: Thyrotropin, TP: Transferprotein, DIO: Iodthyronin-Deiodase, TR: Schilddrüsenhormon-Rezeptor, RXR: Retinoid-X-Rezeptor, TRE: Schilddrüsenhormon-responsives Element.

thyreose, kardiovaskuläre Dysfunktionen, Arteriosklerose und Diabetes. In diesem Aufsatz diskutieren wir sowohl die grundlegende Chemie und Biologie der TH-Wirkung als auch neueste Erkenntnisse im Bereich des TH-Metabolismus.

2. Biosynthese von Schilddrüsenhormonen

T4 wird in den Schilddrüsenvollikeln synthetisiert, welche die funktionellen Einheiten der ausgereiften Schilddrüse darstellen (Abbildung 2). Die sphärischen Follikel werden

von einer Schicht polarisierter Epithelzellen bedeckt, deren basolaterale Oberfläche dem Blutstrom und deren apikale Oberfläche dem Follikellumen zugewandt ist. Das Follikellumen ist mit einem Kolloid gefüllt, das hauptsächlich aus dem hochvernetzten Protein Thyreoglobulin (Tg), in einer Konzentration von 100–750 mg mL⁻¹, besteht.^[3] Die Biosynthese von T4 erfolgt am Tg über fünf Hauptschritte: a) Transfer von anorganischem Iodid (I^-) aus dem Blut in die Schilddrüsenfollikel durch den Natrium-Iodid-Symporter (NIS), b) Bildung von Wasserstoffperoxid (H_2O_2) durch Peroxidasen (DUOX1 und DUOX2), c) Iodierung von Tyrosylresten des Tg durch die Schilddrüsenperoxidase (TPO) unter Verwendung von H_2O_2 und Iodid, d) Phenolkupplung der Iodtyrosinreste an Tg durch TPO zur Bildung von T4 und e) proteolytische Freisetzung der THs aus Tg (Abbildung 2).^[4] Während dieses Prozesses wird zudem ein Anteil des biologisch aktiven T3 gebildet.

2.1. Iodidaufnahme und -abgabe in die Follikel

Der Transport von anorganischem Iodid in die Follikelzellen bildet den ersten Schritt der TH-Biosynthese. Da die Plasmakonzentration von Iodid in Säugetieren sehr niedrig ist (50–300 nM), verfügt die Schilddrüse über ein einzigartiges Transportsystem, um Iodid effizient aus dem Blut anzureichern.^[5] Der Natrium-Iodid-Symporter (NIS) ist ein in der basolateralen Membran der Schilddrüsenfollikel lokalisiertes



Santanu Mondal erhielt 2009 den B.Sc. an der Jadavpur Universität, Kalkutta, und 2011 den M.Sc. am Indian Institute of Science, Bangalore. Derzeit arbeitet er als Doktorand bei Prof. G. Mugesh über die biomimetische Dehalogenierung von THs und halogenierten Nukleosiden.



Ulrich Schweizer promovierte 2002 an der Julius-Maximilians-Universität Würzburg bei Prof. Sendtner. Er gründete die Juniorgruppe „Neurobiologie des Selens“ an der Charité-Universitätsmedizin Berlin und war als Arbeitsgruppenleiter am Institut für experimentelle Endokrinologie bei Prof. Köhrle tätig. 2013 wurde er als Professor für Biochemie an die Universität Bonn berufen. Er erforscht die Funktion und Biosynthese von Selenoproteinen und den Metabolismus von THs.



Karuppusamy Raja erhielt 2006 den B.Sc. von der Bharathiar University und 2008 den M.Sc. von der Anna University. Seit 2010 arbeitet er im Labor von Prof. G. Mugesh an seiner Dissertation. Er beschäftigt sich mit der Deiodierung von Thyroxin und synthetischen Deiodase-mimetika.



Govindasamy Mugesh promovierte 1998 am Indian Institute of Technology, Bombay, bei Prof. H. B. Singh. Nach Abschluss seiner Postdoktorate bei Prof. W.-W. du Mont und Prof. K. C. Nicolaou wechselte er 2002 als Assistentenprofessor ans Indian Institute of Science, Bangalore, an dem er heute als Professor tätig ist. Seine Forschungsinteressen umfassen den TH-Metabolismus, die Entwicklung neuer Therapeutika für Endothel-Dysfunktion und neurodegenerative Erkrankungen sowie Nanomaterialien für biologische Anwendungen.

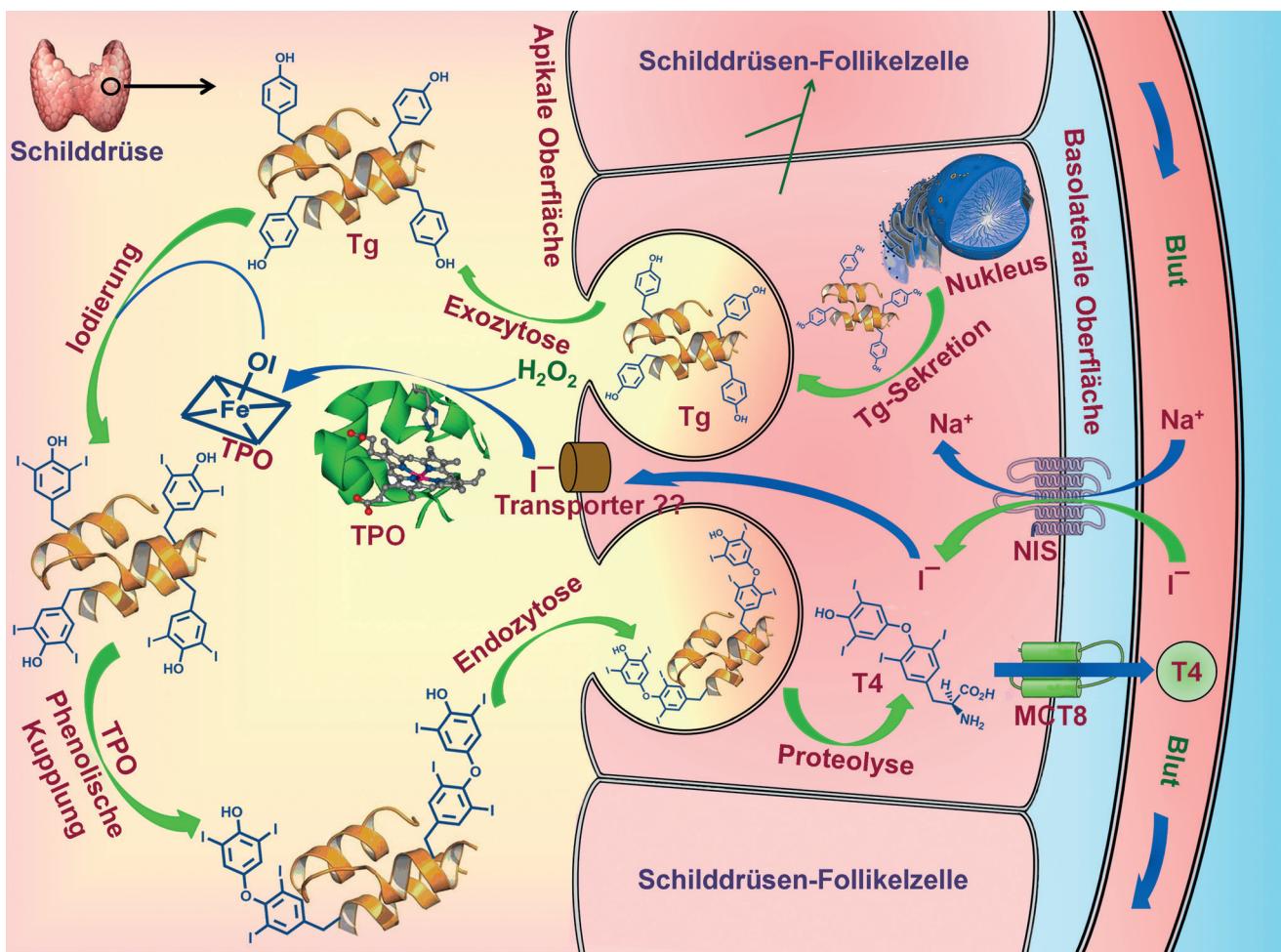


Abbildung 2. Biosynthese von Thyroxin (T4) in den Follikelzellen der Schilddrüse. Dabei wird auch eine geringere Menge T3 produziert. Die Identität des Proteins, das für den Transport von Iodid durch die apikale Membran der Thyreozyten verantwortlich ist, war Diskussionsthema der letzten Jahre. Die wahrscheinlichsten Kandidaten als Iodidtransporter sind Pendrin und neuerdings Anoctamin 1.

Transmembranprotein und vermittelt die Aufnahme von Iodid aus dem Blut. Die Sekundärstruktur des NIS-Modells impliziert, dass sich die 618 Aminosäuren des hydrophoben Proteins zu 13 Transmembransegmenten (TMSs) falten. Der N-Terminus ist extrazellulär und der C-Terminus intrazellulär lokalisiert (Abbildung 3 A).^[6] Der NIS ist ein hochglykoliertes Protein, und seine drei N-gekoppelten Glykosylierungsstellen sind im extrazellulären Abschnitt des Proteins positioniert: einer in der Schleife zwischen TMS VI und VII und die anderen beiden in der Schleife zwischen XII und XIII (Abbildung 3 A). Es wurde gezeigt, dass der Iodidtransport unabhängig von der Glykosylierung des Proteins ist.^[6] Mit K_m -Werten für Iodid- und Natriumionen von 10–30 μM bzw. 40–60 mM ist der NIS hochselektiv für Iodid.^[7] Es ist jedoch bekannt, dass der NIS auch die Translokation von anderen Ionen, z.B. Thiocyanat (SCN^-), Chlorat (ClO_3^-), Nitrat (NO_3^-) und Iodat (IO_4^-) vermittelt.^[8] Der NIS wird durch Perchlorat inhibiert, das daher zu den endokrinen Disruptoren gezählt wird. Die Funktion des NIS ist abhängig von der $\text{Na}^+/\text{K}^{+-}\text{ATPase}$ sowie vom Kaliumkanal KCNE2, die das Membranpotential der Zelle aufrecht erhalten.^[9] Im Zuge dieses Prozesses reichert der NIS 30–60-fach erhöhte Iodid-

Konzentrationen in den Schilddrüsenfollikeln im Vergleich zum Blut an. Iodidtransportdefizienz, bedingt durch Mutationen im NIS (V59E, G93R, T354P und G395R), verursacht kongenitale Hypothyreose. Biochemische Studien lieferten entscheidende Informationen über die Struktur und Funktion des NIS^[10] und halfen bei der Identifizierung von Gly 93 als wichtiger Aminosäure für die Substratspezifität des NIS.^[11]

Für die Hormonbiosynthese wird Iodid im Follikellumen benötigt. Pendrin (SLC26A4) wurde bisher als wahrscheinlichster Iodidtransporter in der apikalen Membran der Thyreozyten beschrieben, da die Mutation des Gens mit dem Pendred-Syndrom (PDS), einer erblichen Erkrankung mit Taubheit, Kropf und herabgesetzter Organifikation von Iod (Oxidation des Iodids und Bindung an Tyrosylreste des Thyreoglobulin), assoziiert ist.^[12] Taubheit durch PDS steht offenbar nicht mit THs in Verbindung, sondern wird durch Entwicklungsdefekte des Innenohrs hervorgerufen. Kürzlich wurde Anoctamin (ANO1, TMEM16A) als dominanter Iodidtransporter an der apikalen Membran der Thyreozyten vorgeschlagen.^[13] Dieses Protein wurde ursprünglich als Ca^{2+} -aktivierter Chloridkanal aus acht Transmembransegmenten charakterisiert, zeigt allerdings Spezifität für Iodid.

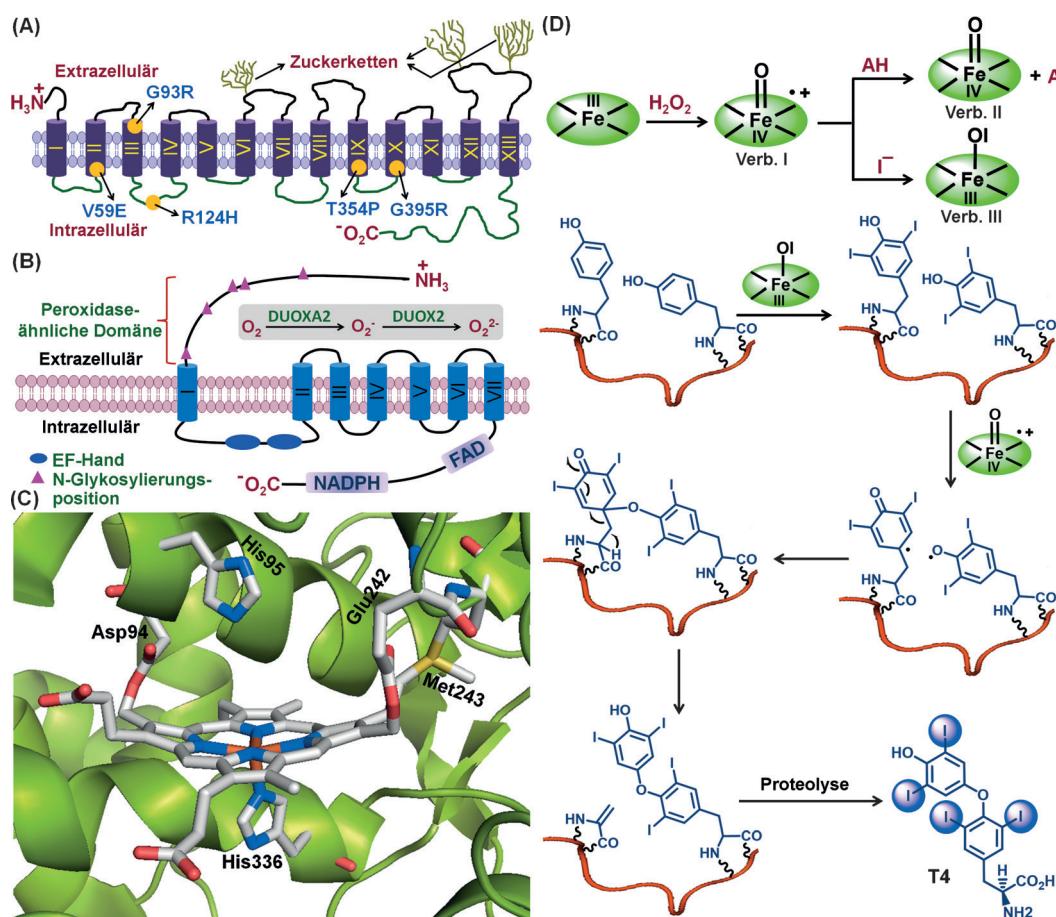


Abbildung 3. Sekundärstrukturmodell von A) NIS und B) DUOX2. Einige Mutationen im NIS führen zu Iodidtransportdefizienz (ITD) und sind durch orange Kreise markiert. Die N-Glykosylierungsstellen des NIS sind N225, N485 und N497. C) Das aktive Zentrum der humanen Myeloperoxidase (MPO) zeigt die kovalenten Bindungen zwischen Häm und Enzym durch Asp94, Glu242 und Met243, das distale Histidin (His95) und ein proximales Histidin (His336). PDB-Code: 1CXP.^[32] D) Mechanismus der Biosynthese von T4 an Thyreoglobulin (Tg) durch Thyreoperoxidase. Gezeigt ist der Radikalmechanismus der Ringkupplung zwischen zwei Iodtyrosinresten. Es wurde auch ein ionischer Mechanismus beschrieben.^[45]

2.2. Produktion von H_2O_2 durch duale Oxidasen

Wasserstoffperoxid (H_2O_2) ist wichtig für die Organifikation des Iodids, d.h. den Einbau von Iod in die Tyrosylreste von Tg und die Phenolkupplung der Iodtyrosinreste durch TPO. Die Bildung von H_2O_2 in den Schilddrüsenfollikeln wurde bereits 1971 beschrieben.^[14] Später fanden Björkman et al. heraus, dass die Follikel H_2O_2 mithilfe der in der apikalen Membran lokalisierten NADPH-Oxidase (NOX) produzieren.^[15] Die Gene, die den beiden NADPH-Oxidasen – duale Oxidase 1 (DUOX1) und duale Oxidase 2 (DUOX2) – entsprechen, wurden in menschlichen Schilddrüsen-cDNAs identifiziert.^[16] Die humanen DUOX1- und DUOX2-Proteine bestehen aus 1551 bzw. 1548 Aminosäuren und haben eine Ähnlichkeit von 83 % in ihren DNA-Sequenzen. DUOXs sind membran durchspannende Glykoproteine aus sieben Transmembranhelices, einer extrazellulären Peroxidase-ähnlichen Domäne, einer langen extrazellulären Schleife zwischen Helix I und II sowie einer NADPH-Oxidase 2 (NOX2)-ähnlichen Domäne, die sich von Helix II bis zum C-Terminus erstreckt (Abbildung 3B).^[16,17]

Die extrazelluläre Peroxidase-ähnliche Domäne hat 43 % Ähnlichkeit mit TPO, wobei die Peroxidaseaktivität dieser Domäne kontrovers gesehen wird.^[18] Die intrazelluläre Schleife zwischen Transmembranhelices I und II enthält zwei Ca^{2+} -bindende EF-Hand-Motive, und die Bindung von Calcium an DUOX2 erhöht die H_2O_2 -Produktion.^[19] Die NOX2-ähnliche Domäne der DUOXs enthält eine NADPH- und eine Flavin-Adenin-Dinukleotid (FAD)-Bindungsstelle und umfasst alle Strukturelemente, die von der Phagozyten-NOX2 für effektiven Elektronentransfer von NADPH auf FAD sowie die Bindung von Häm und molekularem Sauerstoff bekannt sind.^[20] Interessanterweise ist die Bildung von H_2O_2 durch DUOX2 unabhängig von TSH,^[21]

wird aber durch einen Anstieg der Iodkonzentration reduziert.^[22] Dennoch ist die DUOX2-mRNA-Expression in der Schilddrüse 1.5–5-mal höher als die Expression der DUOX1-mRNA.^[23] und Mutationen in der DUOX2 oder in ihrem Reifungsfaktor DUOXA2 können wegen insuffizienter H_2O_2 -Produktion Hypothyreose auslösen. Aufgrund der H_2O_2 -Bildung in der Schilddrüse wurde gemutmaßt, dass diese auf die Expression von Selen-abhängigen Peroxidasen angewiesen ist. Allerdings führt die Inaktivierung der Biosynthese sämtlicher Selenoproteine in den Thyreozyten der Maus weder zur Zerstörung der Schilddrüse noch zu verminderter TH-Produktion.^[24] Diese Beobachtungen lassen darauf schließen, dass die antioxidativen Selenoproteine möglicherweise die Thyreozyten vor oxidativem Stress schützen, jedoch nicht essenziell für deren Überleben sind.

2.3. Die Häm-abhängige Thyreoperoxidase

Die Thyreoperoxidase (TPO) gehört, wie auch Lactoperoxidase (LPO), Myeloperoxidase (MPO) und eosinophile

Peroxidase (EPO), zur Familie der Häm-abhängigen Säugert-Peroxidasen.^[25] Sie spielt eine entscheidende Rolle bei der Organifikation des Iodids (Iodierung von Tyrosin im Tg bildet 3-Iodtyrosin und 3,5-Diodtyrosin, MIT bzw. DIT) und bei der Phenolkupplung der Iodtyrosinreste im Tg zur Iodthyroninstruktur.^[26] Das TPO-Protein besteht aus 933 Aminosäuren und bildet Homodimere.^[27] Der Hauptteil des TPO-Moleküls, inklusive des aktiven Zentrums, befindet sich extrazellulär im Follikellumen, wohingegen eine kleine Transmembranregion am C-terminalen Ende (Aminosäuren 847–871) das Protein in der apikalen Thyrozytenmembran verankert.^[25b, 28] Im ausgereiften Protein ist die N-terminale Propeptidsequenz, welche die Aminosäuren 1–108 umfasst, abgespalten.^[29] Mutationen, welche die TPO-Produktion oder Reifung beeinträchtigen, reduzieren die TH-Bildung und verursachen kongenitale Hypothyreose.^[30]

TPO hat eine 47-prozentige Sequenzähnlichkeit mit der humanen MPO. Auf Grundlage der Röntgenstruktur der MPO wurde ein Homologiemodell der TPO erstellt.^[31] Die MPO fungiert auch als geeignetes Modell zum Verständnis der Häm-Chemie der TPO. Die 1.8-Å-Röntgenstruktur der MPO identifizierte die Häm-prosthetische Gruppe als ein Derivat von Protoporphyrin IX, in dem die Methylgruppen der Pyrrolringe A und C modifiziert sind, um die Bildung von Esterbindungen mit den Aminosäuren Glu 242 und Asp 94 zu ermöglichen (Abbildung 3C).^[32] Es wurde gezeigt, dass H_2O_2 die Modifikation der Methylgruppen an den Pyrrolringen (A und C) des Häm zu Hydroxymethyl- und Dihydroxymethylgruppen vermittelt. Dies begünstigt die Bildung von Esterbindungen zwischen Häm und LPO, ähnlich wie bei der MPO.^[33] Interessanterweise wurde in der Kristallstruktur der MPO eine weitere kovalente Bindung zwischen einer der Vinylgruppen des Häm und dem Schwefelatom von Met 243 der MPO beobachtet, die zur Bildung eines Sulfoniumions führt (Abbildung 3C). Diese kovalente Bindung ist wahrscheinlich spezifisch für MPO, da Met 243 in verwandten Peroxidasen nicht vorkommt. Im Unterschied dazu sind Asp 94 und Glu 242 in allen Peroxidasen konserviert, was darauf schließen lässt, dass eine Esterbindung zwischen Häm und Polypeptidkette in allen Peroxidasen auftritt.^[34] Das distale Histidin (His 95) fungiert während des katalytischen Zyklus der Peroxidasen als ein allgemeiner Säure-Base-Katalysator. Es entzieht dem H_2O_2 ein Proton und ermöglicht damit die Bindung an Fe^{III} im aktiven Zentrum. Infolgedessen durchläuft Fe^{III} eine Zwei-Elektronen-Oxidation und bildet ein Oxo-Ferryl-π-Kationenradikal (Verbindung I, Verb. I, Abbildung 3D) als Zwischenprodukt.^[35] Während dieses Prozesses wird ein Elektron vom Metallzentrum und das zweite Elektron vom Porphyrinring abgezogen. Verbindung I kann ein Elektron von einer Vielzahl von aromatischen Alkoholen oder Aminen (AH) abziehen und damit Verbindung II bilden (Verb. II; Abbildung 3D). In einer nachfolgenden Reaktion kann Verbindung II das aktive Zentrum des Enzyms durch Oxidation eines weiteren AH-Moleküls regenerieren.

Alternativ kann Verbindung I auch eine Zwei-Elektronen-Peroxidation von I^- vermitteln und damit eine Enzymgebundene, aktiv halogenierende Spezies, Verbindung III (Verb. III; Abbildung 3D) bilden. Der Mechanismus der

MPO-katalysierten Peroxidation von I^- scheint komplex zu sein, da H_2O_2 wie auch I^- als Inhibitoren fungieren. Allerdings wird vermutet, dass Verbindung III für die Iodierung der Tyrosylreste von Tg verantwortlich ist.^[26] Die Phenolkupplung von Tg-gebundenen Iodtyrosinen scheint, angeichts der sterischen Sperrigkeit und Komplexität von iodiertem Tg als Substrat, schwierig zu sein (siehe Abschnitt 2.4).

2.4. Thyreoglobulin und T4-Biosynthese

Mit der Hilfe von I^- , H_2O_2 und TPO findet die T4-Biosynthese an einem hochglykolierten, homodimeren Tg-Protein mit einer Größe von 660 kDa pro Polypeptid statt.^[36] Tg ist das häufigste Protein im Follikellumen der Schilddrüse, und beinahe 10 % seiner Masse machen Kohlenhydrate aus. Strukturanalysen von Tg sind wegen seiner Größe und Komplexität anspruchsvoll. Glykosylierung und andere heterogene posttranskriptionale Modifikationen wie Phosphorylierung, Sulfatierung und Tyrosiniodierung verkomplizieren die Strukturaufklärung. Von insgesamt 134 Tyrosinresten können nur 6–34 Tyrosinreste in vivo an ihrer 3- und 5-Position iodiert werden. Es werden nur 1–4 T4-Moleküle pro Tg-Molekül gebildet, was zeigt, dass nicht alle Iodtyrosylreste von Tg oxidative Ringkupplung durchlaufen und THs bilden.^[37] Im ausgereiften Tg sind nur vier Tyrosinreste an den Positionen 5, 2553, 2746 und 1290 an der Hormonsynthese beteiligt.^[38] Dementsprechend werden diese vier hormonogenen Positionen als A, B, C und D bezeichnet. Bei den meisten Arten entfallen auf Position A 40 % und auf Position B 25 % der TH-Produktion. Dagegen ist Position C bei manchen Arten wahrscheinlich eher mit der Produktion von T3 assoziiert, und TSH scheint die Hormonogenese an Position D zumindest bei Meerschweinchen und Kaninchen zu begünstigen.^[39] Eine detaillierte Studie unter Verwendung isotopenmarkierter Peptidfragmente entlang der Peptidkette von Tg zeigte, dass das iodierte Tyrosin an Position 130 mit dem an Position A kuppelt, um T4 zu bilden.^[40] Diese Erkenntnis wurde durch Mutationsanalysen an beiden Positionen bestätigt.^[41] Modellreaktionen der Biosynthese von T4 legten nahe, dass nur Iodtyrosylreste, die günstig im Raum orientiert sind, an Kupplungsreaktionen zur Bildung von T4 beteiligt sind.^[42] Kinetische Analysen der Iodierung und oxidativen Kupplung führten zur Schlussfolgerung, dass Tyrosylreste, die während den frühen Phasen der Reaktionen iodiert werden, bevorzugt die Phenolkupplung zur Bildung von T4 durchlaufen.^[43] Interessanterweise wurde ein Zeitabstand zwischen Iodierung und Kupplung beobachtet; die Kupplung startet dabei 3–5 min nach dem Beginn der Iodierung.^[44] Dies lässt vermuten, dass Tg möglicherweise nach der Iodierung Konformationsänderungen durchläuft, um die geeigneten Iodtyrosylreste in einer für die Kupplung günstigen Orientierung anzuordnen.

In Abbildung 3D ist ein Radikalmechanismus der Kupplungsreaktion gezeigt, jedoch wird außer diesem auch ein ionischer Mechanismus beschrieben.^[45] Der Hauptunterschied zwischen beiden Wegen ist, dass nach dem Radikalmechanismus ein Elektron von jedem der Iodtyrosylreste

während der Kupplung abgezogen wird, wohingegen beim ionischen Mechanismus zwei Elektronen von nur einem der an der Kupplung beteiligten Iodtyrosylreste abgezogen werden. Beide Mechanismen unterstützen die Bildung von Dehydroalanin (DHA) in Tg zusammen mit der von T4 (Abbildung 3D). Auch wenn die Bildung von DHA allgemein akzeptiert ist, haben verschiedene Forschungsgruppen das übrige Produkt nach Übertragung des Phenolrings auf T4 alternativ als Brenztraubensäure, Alanin, Serin, Hydroxypyruvat oder Aminomalonat-Semialdehyd charakterisiert.^[46] Nach Iodierung und Phenolkupplung wird das Tg, gebunden mit T4 und T3, im Follikellumen als Kolloid gespeichert. Wenn die Plasma-TSH-Konzentration ansteigt, wird Tg durch Endozytose an die Follikelzellen abgegeben. T4 und T3 werden durch die Proteolyse von Tg in Lysosomen freigesetzt.

Während der Proteolyse werden ungekuppeltes DIT und MIT vom Tg gelöst und durch das Flavoprotein Iodotyrosin-Dehalogenase (IYD), kodiert durch das Gen DEHAL1, deiodiert.^[47] IYD wird in Schilddrüse, Leber und Niere exprimiert und erfüllt die Funktion der Rückgewinnung von Iodid für die De-novo-Biosynthese von THs. Mutationen in DEHAL1 führen zu Hypothyreose, wenn der Iodverlust durch MIT und DIT nicht durch eine erhöhte Iodaufnahme kompensiert wird.^[48] Die Menge des rückgewonnenen Iodids in der Schilddrüse ist 3–5-mal höher als die Menge der mit der Nahrung aufgenommenen Iodidionen.^[49]

3. Plasma-Schilddrüsenhormon-Bindeproteine und Transmembrantransporter

Nach der Biosynthese in der Schilddrüse gelangen die Schilddrüsenhormone in den Blutstrom und binden an die Plasmabinde(transfer)proteine: Thyroxin-bindendes Globulin (TBG), Transthyretin (TTR) und humanes Serumalbumin (HSA).^[50] Die Kristallstrukturen der Komplexe zwischen diesen Proteinen und ihrem Liganden T4 haben verschiedene Arten der Ligandeninteraktion und -konformation offen gelegt. Unter den drei Transferproteinen zeigt TBG die höchste Affinität für THs. Allerdings ist die Plasmakonzentration von TBG ($0.27 \mu\text{M}$) wesentlich geringer als die von TTR ($4.6 \mu\text{M}$) und HSA ($640 \mu\text{M}$);^[50] daher sind die TH-Bindungskapazitäten von TTR und HSA viel größer als jene von TBG. Die Affinität ist dagegen niedriger, sodass die Bindung von T4 an TTR und HSA durch schnelle Dissoziation charakterisiert ist. Um genau zu sein, tragen TBG, TTR und HSA 74, 11 bzw. 15 % zur Gesamtmenge des an Transferproteine gebundenen Plasma-T4 bei.^[50a] Die hohe Affinität der Transportproteine für T4 und T3 führt zu einem langsameren Abbau und einer erhöhten Halbwertszeit der THs im Serum.

Schilddrüsenhormone sind berüchtigt für ihre Hydrophobie, und ohne Plasmabindeproteine würden THs sofort an die Innenseiten der Blutgefäße binden, statt über den Kreislauf verteilt zu werden. Dennoch handelt es sich bei THs um Aminosäurederivate mit Carboxy- und Amino-gruppen, weshalb sie Membrantransportproteine benötigen, um die Zellmembran zu überwinden. Unter Medizineren setzte sich dieses Konzept erst relativ spät durch, als

2004 Patienten mit schweren geistigen Behinderungen und ungewöhnlichen TH-Funktionstests identifiziert wurden, die Mutationen in Monocarboxylattransporter 8 (MCT8), einem Transmembrantransportprotein für THs, aufwiesen.^[51] Nicht nur der Transport in die Zelle, sondern auch der TH-Export ist von Transportern abhängig. MCT8 ist der wichtigste Transporter, durch den THs die Thyreozyten nach der Synthese verlassen.^[52]

3.1. Thyroxin-bindendes Globulin

Das 54 kDa große TBG wird in der Leber produziert und gehört wie das Cortisol-bindende Globulin der Serpinfamilie von Protease-Inhibitoren an. Entsprechend hat TBG die Struktureigenschaften einer reaktiven, zentralen Schleife (RCL) mit dem reaktiven Zentrum in der als P1 bezeichneten Position und dem Gelenk der Schleife an P17. Die Spaltung der RCL führt zu irreversiblen Konformationsänderungen innerhalb des Proteins.^[53] Die proteolytische Spaltung der RCL von TBG während einer Sepsis resultiert außerdem in einer annähernd dreifach reduzierten Affinität für T4.^[54] Im Blut wird T4 hauptsächlich von TBG transportiert, wobei die Dissoziationskonstante (K_d) für den TBG-T4-Komplex bei 0.1 nm liegt.^[50] Eine kürzlich veröffentlichte Kristallstruktur des TBG-T4-Komplexes zeigt, dass das Protein T4 in einer Oberflächenspalte zwischen Helix H und A und den Strängen 3–5 des β -Faltblatts trägt (Abbildung 4A).^[55] Die Kristallstruktur zeigt zwei TBG-Moleküle mit zwei identischen T4-Bindungsstellen (gekennzeichnet durch Pfeile in Abbildung 4A) in der Oberflächenspalte der asymmetrischen Einheit. T4 wird hauptsächlich durch eine Reihe von hydrophoben Wechselwirkungen mit verschiedenen Aminosäureseitenketten gebunden, wobei wenige Wasserstoffbrücken-

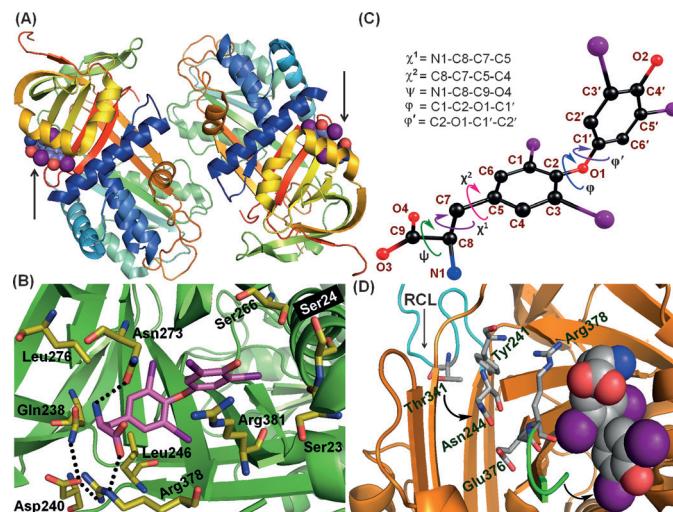


Abbildung 4. A) Kristallstruktur des Thyroxin-bindenden Globulins (TBG) komplexiert mit T4. Pfeile zeigen die beiden T4-Bindungsstellen (PDB-Code: 2CEO).^[55] B) H-Brücken und entscheidende Aminosäuren in der T4-Bindungsstelle von TBG. C) Verschiedene Torsionswinkel zur Definition der Konformationen von T4. D) Allosterischer Mechanismus und die beteiligten Aminosäuren für die Abgabe von T4 aus TBG. Die RCL und die s4B-5B-Schleife sind cyan bzw. grün gefärbt.

mit den Amino-, Phenol- und Carboxygruppen zur Spezifität beitragen (Abbildung 4B). Die Amino- und Carboxygruppen von T4 bilden H-Brücken mit der Carbonylgruppe von Asn273 und der NH-Gruppe von Arg378 von TBG. Die Seitenkette von Arg381 stapelt auf den Phenolring von T4. Diese Bindungsart könnte die verringerte Bindungsaaffinität, ausgelöst durch eine S23T-Mutation, erklären.^[56] Da Ser23 nahe an der T4-Bindungsstelle gelegen ist, könnte die Addition einer zusätzlichen Methylgruppe die T4-Bindung sterisch behindern. Interessanterweise bindet T4 in der weniger stabilen cisoiden Konformation in beiden Bindungsstellen von TBG. In dieser Konformation liegen die Aminosäure-Seitenkette und der Phenolring von T4 auf derselben Seite des Tyrosylrings (Abbildung 4B). Obwohl das T4-Diethanolaminsalz sowohl cisoide als auch transoide Konformationen einnimmt,^[57] wurde nur die transoide Konformation in der zwitterionischen Form des freien T4 beobachtet.^[58a] Es wurde gezeigt, dass T4 sowohl im festen Zustand als auch in Lösung verschiedene Konformationen einnehmen kann. Diese Konformationsunterschiede können die physikalischen und pharmakologischen Eigenschaften und vor allem die Reaktivität der C-I-Bindung von T4 beeinflussen.^[58] Ein Vergleich verschiedener Konformationsparameter zwischen freiem T4 und TBG-gebundenem T4, dargestellt in Abbildung 4C und Tabelle 1, zeigt deutlich, dass TBG die Konformation von T4 verändern kann, um es in die Bindungsstelle aufzunehmen. Die Konformationen werden durch die Winkel χ^1 und χ^2 beschrieben.

Unter den T4-Transportproteinen funktioniert einzig TGB nach einem allosterischen Mechanismus zur Bindung und Freigabe von T4.^[55,59] TBG wechselt zwischen zwei Zuständen mit hoher oder niedriger T4-Affinität durch freie Bewegung der RCL. Im Zustand hoher Affinität ist die RCL (cyanfarbene Schleife; Abbildung 4D) teilweise in die vierte Strangposition des Faltblatts A eingelassen. Zunächst ist die RCL nur bis zu Thr341 (auch als P14Thr bezeichnet, weil 14 Aminosäuren vor dem aktiven Zentrum P1 gelegen) in das Faltblatt eingefügt. Die weitere Insertion der Schleife verschiebt Tyr241, was die H-Brücken in der Bindungtasche stört, indem sich Asn244, Glu376, Arg378 und die s4B-5B-Schleife (grünfarbene Schleife; Abbildung 4D) nahe der T4-Bindungsstelle verlagern. Die Bewegung der s4B-5B-Schleife in die in Abbildung 4D angedeutete Richtung führt letztlich zur Verdrängung von T4. Dieser Mechanismus wurde bestätigt durch Deletion von vier oder Addition von drei zusätz-

lichen Aminosäuren in die RCL von TBG. Während die Deletion der vier Aminosäuren die vollständige Insertion der RCL in das A-Faltblatt verhinderte und in einer stabilen, hochaffinen Form von TBG resultierte, führte die Addition von drei Aminosäuren in die RCL zu einer stabilen Form mit komplett ins A-Faltblatt eingelagerter RCL und reduzierter Affinität für T4.^[60]

3.2. Transthyretin

Das Plasmaprotein TTR (auch bekannt als Präalbumin), wird hauptsächlich in der Leber synthetisiert. TTR wird vom Plexus choroideus in die Gehirnflüssigkeit sekretiert, wo es als einziges TH-Bindeprotein vorkommt.^[61] TTR bildet einen stabilen Komplex mit dem Retinol-bindenden Protein (RBP), das Vitamin A in einer Tasche innerhalb der Oberfläche des Proteins transportiert.^[61] Die Tertiärstruktur von TTR enthält vier identische Monomere (A–D), bestehend aus jeweils 127 Aminosäuren, die ein achtsträngiges (A–H) β -Fass bilden, das in zwei antiparallele β -Faltblätter zerfällt. Diese bilden einen zentralen hydrophoben Kanal im Protein.^[62] Jedes TTR-Molekül enthält zwei sterisch identische T4-Bindungsstellen im zentralen Kanal zwischen den Strängen A und C (AC-Stelle oder Bindungsstelle I) und zwischen den Strängen B und D (BD-Stelle oder Bindungsstelle II). Allerdings ist die Bindung von T4 an beiden Bindungsstellen unterschiedlich; die Bindungsaaffinität von Bindungsstelle I ($K_d = 10^{-8}$ M) ist 100-mal höher als die von Bindungsstelle II ($K_d = 10^{-6}$ M). Es wird ein negativer kooperativer Effekt für die Bindung von T4 und TTR angenommen, allerdings ist der Mechanismus noch unklar.^[63] Die deiodierten Metaboliten von T4 binden ebenfalls an TTR, jedoch mit einer geringeren Affinität. Wenn man die Bindung von T4 auf 100 % setzt, dann erhält man 0.7 % für 3,3'-T2 und weniger als 0.01 % für 3-T1.^[64]

Punktmutationen, die TTR destabilisieren, führen zur Aggregation des Proteins in Amyloidfibrillen und lösen die familiäre amyloide Polyneuropathie (FAP) sowie die senile systemische Amyloidose (SSA) aus. Die Akkumulation von Amyloidfibrillen in verschiedenen Geweben führt letztlich zu Organversagen.^[65] Es sind mehr als 70 destabilisierende Mutationen in TTR bekannt. Die Bindung von T4 an das TTR-Tetramer verhindert die Amyloidbildung durch Stabilisierung der nativen Struktur des Proteins. Zudem kann die Amy-

Tabelle 1: Konformationsparameter der häufigsten Formen von freiem T4, TBG-gebundenem T4, an humanes TTR gebundenem T4, an Ratten-TTR gebundenem T4, an Fisch-TTR gebundenem T4 und an HSA gebundenem T4.

[°]	freies T4 ^[a,b]	TBG-T4 ^[b]	TTR-T4 ^[b] (Mensch)	TTR-T4 ^[b] (Ratte)	TTR-T4 ^[b] (Fisch)	HSA-T4 ^[c]
χ^1	−158.6, 64.0	73.2, 72.1	−166.3, −105.8	60.9, 178.8	−123.0, −83.1	142.6, −102.1
χ^2	−97.1, −92.1	83.2, 84.0	−91.3, −104.1	−88.3, −99.7	−72.1, −164.3	67.5, −66.3
ψ	133.6, 169.2	175.1, 174.7	−98.8, 112.4	−166.0, 118.3	−131.1, −84.7	125.5, 126.5
φ	79.7, 109.1	99.2, 100.1	13.6, 59.3	96.5, 104.4	105.4, 96.7	86.1, 102.5
φ'	37.4, −35.5	−21.6, −21.6	60.9, 5.6	−8.6, −42.7	−16.6, −2.5	32.8, −19.7

[a] Werte der häufigsten Formen von T4 (Form I), reproduziert aus Lit. [58a]. [b] Zwei Werte für jeden Parameter entsprechen zwei unabhängigen Konformeren von T4 in der asymmetrischen Einheit oder zwei Molekülen von T4 in jedem Molekül des Proteins. [c] Zwei Werte für jeden Parameter entsprechen zwei T4-Molekülen an den beiden Bindungsstellen Tr1 und Tr2.

loidbelastung reduziert werden, indem man die Tetramere durch Medikamente stabilisiert.^[65a,66]

Die Kristallstruktur des menschlichen TTR mit T4 (in der monoklinen Form) zeigt T4 im zentralen Kanal des TTR gebunden, wobei die α -Aminosäureeinheit zur Öffnung und die Phenol-Hydroxygruppe zum Zentrum des Kanals ausgerichtet sind.^[67] Zusätzlich zu den Wasserstoff- und Salzbrücken der α -Aminosäureeinheit von T4 mit den benachbarten Lys 15 und Glu 54 an Stelle I geht eines der Iodatome des Phenolrings Halogenbrücken mit den Peptid-Stickstoffatomen von Leu 110 und Ala 109 bei N···I-Abständen von 3.21 bzw. 3.06 Å ein. Beide Abstände sind geringer als die Summe der Van-der-Waals-Radien von Stickstoff und Iod (3.53 Å; Abbildung 5 A); allerdings sind die N···I-Entferungen an Stelle II (Abbildung 5 B) größer als die Summe der Van-der-Waals-Radien von Stickstoff und Iod.^[67] Daher könnte die Abwesenheit einer N···I-Halogenbrücke auch zur schwachen Affinität der Bindungsstelle II beitragen. Im Unterschied zur cisoiden Konformation von T4 in TBG sind die Konformationen von T4 in beiden Bindungsstellen des TTR transoid. Dennoch sind die Werte für verschiedene Torsionswinkel, welche die Konformation von T4 definieren, signifikant unterschiedlich für TTR-gebundenes und freies T4 (Tabelle 1), obwohl beide eine transoide Ausrichtung von Phenolring und α -Aminosäureanteil in Bezug auf den Tyrosylring aufweisen. Interessanterweise bindet das TTR von anderen Spezies, z.B. von Ratte oder Fisch, T4 in anderen Konformationen als das humane Protein (Tabelle 1).^[68] Diese Beobachtungen zeigen, dass Transferproteine die Konformation von T4 verändern können, um die sterischen und nichtkovalenten Wechselwirkungen in der Bindungsstelle zu optimieren, was wiederum zu unterschiedlichen Affinitäten der Transferproteine für T4 führt. Die Cokristallstrukturen von TTR aus *Sparus aurata* und T3 oder T4 zeigen verschiedene Bindungsarten für T3 und T4 (Abbildung 5 C). Obwohl die Iodatome des Tyrosylrings von T3 und T4 dieselben Halogenbindungtaschen in *S. aurata*-TTR besetzen, nimmt das Iod des Phenolrings von T3 eine Position ein, die normalerweise von der Phenol-Hydroxygruppe von T4 belegt wird.^[68b] In ähnlicher Weise zeigt ein Vergleich der Cokristallstrukturen des humanen TTR mit T4 (orthorhombische Form) und 3,3'-T2, dass die Bindung von 3,3'-T2 im Kanal ca. 3.5 Å tiefer liegt als die von T4 (Abbildung 5 D).^[69] Der 3-Iodsubstituent von 3,3'-T2 besetzt die gleiche Position wie der 3'-Iodsubstituent von T4, und das 3'-Iodatom besetzt eine Position, die im T4-Komplex normalerweise durch Wassermoleküle eingenommen wird.

3.3. Humanes Serumalbumin

HSA transportiert nichtveresterte Fettsäuren, Bilirubin, Gallensäuren, Steroide und verschiedene hydrophobe Arzneimittel im Plasma. Die Affinität von HSA für T4 ($K_d \approx 2 \times 10^{-6}$ M) ist die niedrigste unter den drei Transportproteinen, sodass eine fettrreiche Mahlzeit vorübergehend die Konzentrationen freier THs erhöhen kann.^[50] HSA ist ein monomeres Protein mit drei homologen Domänen (I–III), die jeweils

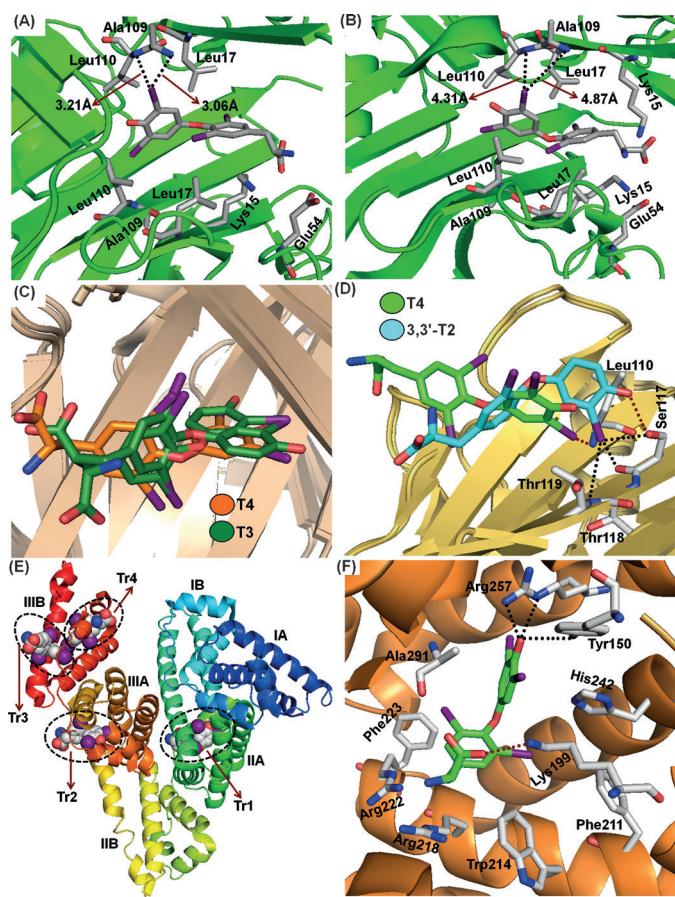


Abbildung 5. Nichtkovalente Wechselwirkungen zwischen T4 und den Aminosäureresten in A) Bindungsstelle I und B) Bindungsstelle II der monoklinen Form des humanen TTR (PDB-Code: 1ICT).^[67] N···I-Halogenbrücke an Bindungsstelle I, während an Stelle 2 die N···I-Abstände größer sind als die Summe der Van-der-Waals-Radien von N und I. C) Vergleich der Bindungsarten von T4 und T3 in einer der Bindungsstellen von TTR aus einem Fisch (PDB-Codes: 1SN0 und 1SN5).^[68b] Zwei Elektronendichte-karten für T3 entsprechen den beiden äquivalenten Positionen in der Bindungsstelle. D) Vergleich der Bindungsarten von T4 (PDB-Code: 3ROX) und 3,3'-T2 (PDB-Code: 1THA) in einer der Bindungsstellen in humanem TTR.^[69] E) Verschiedene Subdomänen in humanem Serumalbumin (HSA) zeigen vier T4-Bindungsstellen (Tr1, Tr2, Tr3 und Tr4; PDB-Code: 1HK1).^[70] F) H-Brücken zwischen T4 und den Aminosäuren der Bindungsstelle Tr1 in der Subdomäne IIA von HSA.

aus zwei Subdomänen bestehen (Abbildung 5 E). Die Cokristallstruktur von HSA und T4 zeigt vier T4-Bindungsstellen in den Domänen IIA, IIIA und IIIB, die als Tr1, Tr2, Tr3 und Tr4 bezeichnet werden.^[70] In der hochaffinen Bindungsstelle Tr1 zeigt T4 eine cisoide Konformation (Abbildung 5 F), wohingegen es in den übrigen drei Bindungsstellen in transoider Konformation bindet. Obwohl T4 überwiegend durch hydrophobe Wechselwirkungen an Tr1 gebunden ist, stabilisieren auch H-Brücken zwischen der 4'-OH-Gruppe und Arg 257/Tyr 150 sowie ähnliche Wechselwirkungen zwischen der Carboxylatgruppe von T4 und Lys 199 die Ligandenbindung (Abbildung 5 F). Die Präsenz von Phe 223, Arg 222, Arg 218 und Trp 214 mit langen Seitenketten zwingt T4, in Tr1 eine cisoide Geometrie einzunehmen.^[70] Mutationen von Arg 218 zu His oder Pro schaffen mehr Raum für den

Liganden und erhöhen so die Affinität für T4 um einen Faktor 10–15. Die resultierende erhöhte Plasmakonzentration von T4 verwirrt oft die Ärzte, ist jedoch mit keiner bekannten Krankheit assoziiert. Dieses erbliche Syndrom wird als familiäre dysalbuminämische Hyperthyroxinämie (FDH) bezeichnet.^[71] Die übrigen Bindungsstellen für T4 ermöglichen überwiegend hydrophobe Wechselwirkungen und werden *in vivo* wahrscheinlich durch andere hydrophobe Liganden besetzt.

3.4. μ -Crystallin bindet T3 intrazellulär

μ -Crystallin (CRYM) kommt in der Augenlinse von Vertebraten vor, wo es die Transparenz und den Brechungsindex der Linse aufrechterhält. CRYM findet sich auch in Ohr, Herz, Muskel und Gehirn von Menschen und Mäusen.^[72] Auch wenn CRYM nicht am extrazellulären Transfer von Schilddrüsenhormonen mitwirkt, bindet es T3 in der Gegenwart von NADPH, und Überexpression von CRYM in Zellen kann die T3-Akkumulation erhöhen.^[73] Die physiologische Funktion von CRYM für die TH-Signaltransduktion ist unklar, doch führen Mutationen in CRYM, welche die T3-Bindung inaktivieren, zu Taubheit.^[74] Kürzlich wurde die Kristallstruktur von homodimerem CRYM im Komplex mit NADPH und T3 gelöst (Abbildung 6 A).^[75] Das Binden von NADPH induziert eine Konformationsänderung, welche die Bindungstasche für die Bindung von T3 optimiert.

Interessanterweise nimmt T3 in CRYM eine weniger stabile, cisoide Konformation ein. Die Bindung wird hauptsächlich durch hydrophobe Wechselwirkungen vermittelt, z.B. durch Phe 58, Phe 79, Val 149 und den aliphatischen Teil von Arg 228 (Abbildung 6 B). Arg 47 und Ser 228 bilden direkte H-Brücken mit den Carboxy- und Aminogruppen von T3. Lys 75, Arg 118 und Leu 292 bilden über Wasser vermittelte H-Brücken mit den geladenen Gruppen von T3. Der Phenolring kann zwei verschiedene Konformationen in der Bindungsstelle von CRYM annehmen (Abbildung 6 B).^[75] In diesen Konformationen kann das 3'-Iodatom von T3 zwei alternative Positionen einnehmen, eine proximale sowie eine distale Position zum Tyrosylring, ähnlich wie in der Kristallstruktur von T3 beobachtet.^[76]

3.5. Monocarboxylattransporter 8 und andere Transporter

Transmembrantransportproteine sind notwendig, um THs in Zellen hinein und aus Zellen heraus zu transportieren.^[77] Transportproteine für THs gehören verschiedenen Proteinfamilien an und arbeiten alle nach dem „Kippschalter“-Mechanismus, bei dem sie eine Abfolge von Konformationen durchlaufen, die abwechselnd den Zugang zur zentralen Substratbindungsstelle von der extra- oder intrazellulären Oberfläche ermöglicht.^[78] Friesema et al. fanden, dass MCT8, ein Transporterprotein mit bis dahin unbekannter Funktion, dessen Gen auf dem X-Chromosom lokalisiert ist, ein aktiver TH-Transporter ist.^[79] Kurz darauf wurden Patienten mit inaktivierenden Mutationen im *MCT8*(*SLC16A2*)-Gen identi-

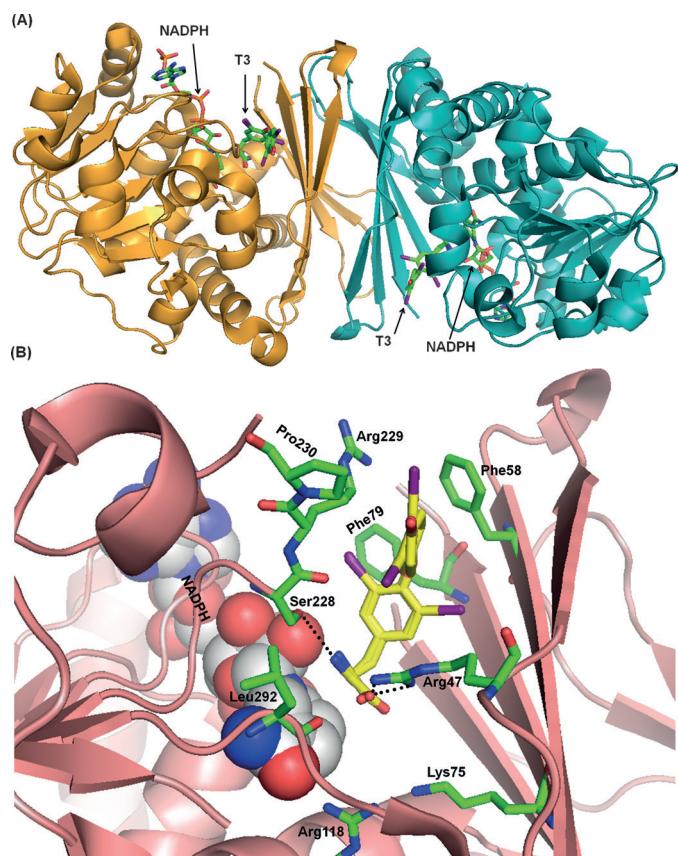


Abbildung 6. A) Dimer von CRYM mit den NADPH- und T3-Bindungsstellen der beiden Untereinheiten. Die Untereinheiten sind in verschiedenen Farben dargestellt. PDB-Code: 4BVA.^[75] B) Eine Nahansicht der T3-Bindungsstelle zeigt die H-Brücken und Aminosäuren (grün C, blau N, rot O), die für die hydrophobe Wechselwirkung mit T3 verantwortlich sind. Das in der Nähe von T3 gebundene NADPH-Molekül ist als Kugelmodell (grau C, blau N, rot O), T3 als Stabmodell (gelb C, violett I, blau N, rot O) dargestellt.

fiziert.^[51] Erst dann wurde klar, dass das Syndrom bereits 1944 als Erbkrankheit mit schwerer geistiger Behinderung beschrieben worden war, aber ohne Hinweis auf den veränderten TH-Transport.^[80] MCT8 wird in Neuronen exprimiert, und seine Inaktivierung führt zu ungewöhnlichen TH-Spiegeln im Mausmodell und bei Patienten.^[81] MCT8 und OATP1C1 (*SLCO1C1*) sind an der T3- und T4-Aufnahme entlang der Blut-Hirn-Schranke beteiligt.^[82] MCT10 ist ein mit MCT8 verwandter T3-Transporter, der im Muskel und anderen Geweben exprimiert wird, jedoch kein T4 transportiert.^[83]

Für MCT8 wurde ein Homologiemodell erstellt, das es anhand der Struktur ermöglichte nachzuvollziehen, wie pathogene Mutationen die Funktion des Transporters stören.^[84] Das Modell lässt darauf schließen, dass THs durch eine zentrale, trichterartige Vertiefung an der extrazellulären Oberfläche mit His415 und His192 wechselwirken.^[85] Auch Arg301 und Arg445 sind an der Substratbindung beteiligt, eine Erkenntnis, die an die T3-Bindung durch TRs erinnert (siehe Abschnitt 5). Es wird angenommen, dass sich nach der Substratbindung die beiden pseudosymmetrischen hexahelikalen Domänen von MCT8 um einige Grad neigen und ver-

biegen, sodass der extrazelluläre Zugang geschlossen und die Substratbindestelle nach innen geöffnet wird. Verschiedene pathogene MCT8-Mutanten reagieren auf chemische Chaperone (Chemikalien wie Dimethylsulfoxid, Genistein oder Phenylbuttersäure), die dazu beitragen, dass mutierte Membranproteine die Qualitätskontrollen umgehen und die Zelloberfläche trotz der Aminosäure-Austäusche oder -Deletionen erreichen. Interessanterweise sind einige dieser Mutanten bis zu einem gewissen Grad funktionell, wenn sie in die Plasmamembran gelangen.^[86] Dasselbe therapeutische Prinzip wurde mit einem Erfolg bei Mukoviszidose angewendet, einer schwerwiegenden Erkrankung, die durch die Inaktivierung des membranlokalisierten Chloridkanals CFTR ausgelöst wird. Eine Nebenwirkung der Behandlung von Patienten mit Tyrosinkinase-Inhibitoren ist die Erhöhung des TSH-Spiegels, vermutlich durch die Blockierung von MCT8.^[87]

4. Schilddrüsenhormon-Metabolismus

4.1. Verschiedene Stoffwechselwege

Nach erfolgter Lieferung zu den Zielgeweben und Aufnahme in die Zellen durchlaufen THs eine Reihe metabolischer Reaktionen im Zytosol.^[88] Diese Stoffwechselwege spielen unterschiedliche Rollen bei der TH-Wirkung. Der bedeutendste Stoffwechselweg ist die Deiodierung von T4 durch Iodthyronin-Deiodasen (DIO1–3) zu einer Vielzahl aktiver und inaktiver Metaboliten. Die regioselektive reduktive Eliminierung eines Iodids vom T4-Phenolring ergibt das aktive Hormon T3. Die Eliminierung eines Iodatoms vom Tyrosylring führt zur Bildung des biologisch inaktiven Metaboliten L-3,3',5'-Triiodthyronin (rT3; Abbildung 7). Diese aktivierenden und inaktivierenden Wege spielen eine wichtige Rolle beim Einstellen der lokalen T3-Konzentrationen im gesamten Körper.

Die Konjugation der Phenol-Hydroxygruppe (4'-OH) von T4 mit Schwefel- oder Glucuronsäure führt zum entsprechenden sulfatierten (T4S) oder glucuronidierten Hormon (T4G; Abbildung 7).^[89] Diese Metaboliten zeigen sehr geringe Affinität für die nukleären Rezeptoren, was dafür spricht, dass diese Stoffwechselwege die TH-Wirkung inaktivieren. Sulfatierung und Glucuronidierung erhöhen die Wasserlöslichkeit vieler hydrophober Verbindungen und verstärken deren Exkretion über den Urin und/oder die Galle.^[90] Beide Stoffwechselwege sind umkehrbar, und durch Hydrolyse der Konjugate kann T4 regeneriert werden. Daher könnten T4S und T4G als Reservoir für biologisch aktive THs fungieren. Die Sulfatierung von THs wird durch die cytosolischen Sulfotransferasen (SULTs), unter Verwendung von 3'-Phosphoadenosin-5'-phosphosulfat (PAPS) als Sulfatdonor, katalysiert.^[91] SULTs finden sich in vielen Geweben wie Leber, Niere und Gehirn. In Abhängigkeit von Aminosäuresequenz und Substratspezifität werden SULTs in vier Familien eingeteilt: SULT1, SULT2, SULT3 und SULT4. Einzig SULT1 akzeptiert THs als Substrate und katalysiert die Konjugation unterschiedlich gut für die verschiedenen Io-

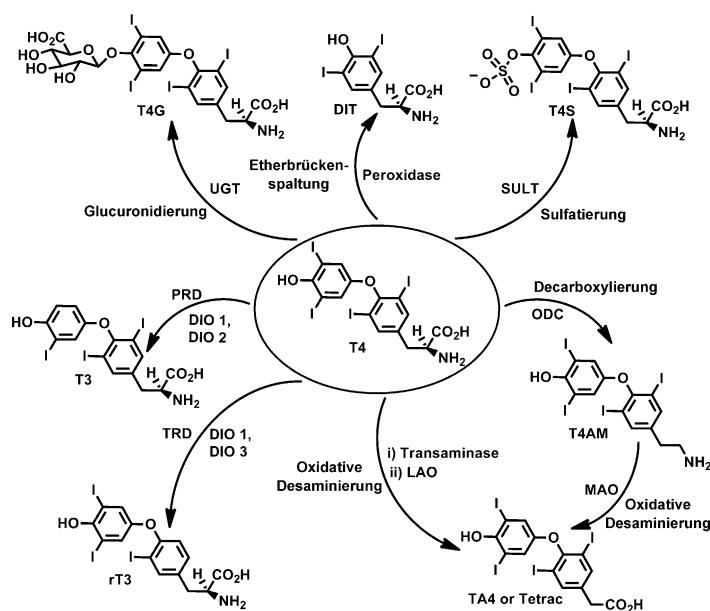


Abbildung 7. Stoffwechselwege von Thyroxin (T4). UGT: Uridin-5'-diphosphat-Glucuronyltransferase; SULT: Sulfotransferase; DIT: 3,5-Diiodtyrosin; PRD: Phenolring-Deiodierung; TRD: Tyrosylring-Deiodierung; DIO: Iodthyronin-Deiodase; ODC: Ornithin-Decarboxylase; LAO: L-Aminosäure-Oxidase; MAO: Monoaminoxidase.

dhyronine.^[92] In ähnlicher Weise wird die Glucuronidierung durch verschiedene Isoformen der Uridin-5'-diphosphat-Glucuronyltransferase (UGTs) katalysiert,^[88,93] unter denen nur UGT1A9, UGT2B7 und UGT1A1 an der Konjugation von T4, T3 und rT3 beteiligt sind.

Die Decarboxylierung der Carboxygruppe von THs produziert Iodthyronamine (TAMs; Abbildung 7). Kürzlich wurden 3-Iodthyronamin (3-T1AM) und Thyronamin (T0AM) aus dem Blutplasma verschiedener Spezies isoliert.^[94a] TAMs mit einem höheren Iodgehalt konnten bisher noch nicht in Plasma nachgewiesen werden. Da TAMs DIO-Substrate sind,^[95] ist es vorstellbar, dass TAMs mit einem höheren Iodgehalt unter Bildung von 3-T1AM und T0AM durch DIOs deiodiert werden. Die Aromatische-L-Aminosäure-Decarboxylase (AADC) wurde als Kandidat für die Decarboxylierung der THs vorgeschlagen, akzeptiert jedoch keine THs als Substrat.^[96] Kürzlich wurde die Konvertierung von T4 über 3,5-T2 und 3,5-T2AM zu 3-T1AM ex vivo im Dünndarm der Maus beobachtet. Ornithin-Decarboxylase (ODC) findet sich im Darm, und rekombinante ODC war in der Lage, 3,5-T2 zu decarboxylieren.^[97] 3-T1AM verhindert die neuronale Wiederaufnahme der Neurotransmitter Dopamin und Noradrenalin durch den Dopamintransporter DAT bzw. den Noradrenalintransporter NET.^[98a] 3-T1AM könnte zudem über die Modulation von α_2 -adrenergen Rezeptoren wirken.^[98b] 3-T1AM und T0AM haben einige interessante pharmakologische Eigenschaften, wenn man sie in Mäuse injiziert. Intraperitoneale (*i.p.*) Injektion von 3-T1AM induzierte Hypothermie (Senkung der Körpertemperatur), Bradykardie (Verlangsamung des Herzschlags) und Hyperglykämie (Anstieg des Blutzuckerspiegels) in Mäusen.^[94,99] Diese potenziell (neuro)protektiven Effekte könnten zur Behand-

lung von Schlaganfällen oder beim Transport von Organen zu Transplantationszwecken eingesetzt werden. Interessanterweise werden TAMs auch von SULTs als Substrate akzeptiert, weshalb die Sulfatierung der 4'-OH-Gruppe ein wichtiger TAM-Stoffwechselweg sein könnte.^[100]

TAMs können auch durch Monoaminooxidase (MAO) oxidativ desaminiert werden, was zur Bildung von Iodessigsäuren führt (Abbildung 7).^[101] Während nachgewiesen wurde, dass T4 und T3 eine oxidative Desaminierung durch Transaminase und L-Aminosäure-Oxidase (LAO) unter Bildung der entsprechenden Iodthyroacetate Tetrac (TA4) bzw. Triac (TA3) durchlaufen, konnte ein solcher Metabolismus für kein anderes Iodthyronin nachgewiesen werden.^[73,102] Tetrac (3,5,3',5'-Tetraiodthyroacetat) und Triac (3,5,3'-Triiodthyroacetat) binden an die nukleären TRs und üben so thyromimetische Funktionen aus. Sowohl In-vitro- als auch In-vivo-Studien belegen, dass TA3 schnell in die Hypophyse aufgenommen wird und die TSH-Sekretion hemmen kann.^[103] Triac hat gegenüber T3 eine fast 3.5- bzw. 1.5-fach höhere Affinität für die Schilddrüsenhormon-Rezeptoren β_1 ($TR\beta_1$) und $TR\alpha_1$. Die höhere Affinität von TA3 für $TR\beta_1$ gegenüber $TR\alpha_1$ erklärt, weshalb TA3 effizienter als T3 zur Behandlung von Schilddrüsenhormon-Resistenz (RTH), verursacht durch Mutationen im Gen für $TR\beta_1$, eingesetzt werden kann.^[104] TA3 wird bereits zur Behandlung von zentraler und hypophysärer TSH-Hypersekretion verwendet.^[105] Triac ist zudem effektiver bei der Reduktion der Struma (Kropf) als T4, bei geringeren Nebenwirkungen.^[106] Die Verwendung von Triac zur Behandlung von MCT8-defizienten Patienten wird zur Zeit klinisch getestet, da TA3 unabhängig von MCT8 in die Zellen gelangen kann.^[107] Ähnlich wie die TAMs durchlaufen auch TA4 und TA3 Konjugation durch SULTs und durch UGTs, sodass der Körper die Medikamente verstoffwechselt kann.^[88,102] Im Unterschied zu den erwähnten Modifikationen erscheint die Spaltung der Etherbindung (ELC) von untergeordneter Bedeutung zu sein. ELC wird meist durch Peroxidasen, wie Meerrettichperoxidase (HRP) und MPO, katalysiert, und selbst TPO kann die Konvertierung von T4 zu DIT durch ELC katalysieren (Abbildung 7).^[108]

4.2. Deiodierung von Schilddrüsenhormonen

Iodthyronin-Deiodasen (DIOs) sind membranassoziierte Selenoenzyme, welche die Deiodierung von THs katalysieren.^[109] In Abhängigkeit von der Aminosäuresequenz und der Substratspezifität unterscheidet man drei Isoformen – DIO1, DIO2 und DIO3 –, die alle ein gewebespezifisches Expressionsmuster aufweisen. Beispielsweise ist die DIO1 aktiv in Leber, Niere, Schilddrüse und Hypophyse, DIO2 in Gehirn, Innenohr, Hypophyse, Schilddrüse, Herz und Skelettmuskel und DIO3 in Plazenta, Gehirn und sich regenerierenden Geweben. Der cotranslationalen Einbau von Selenocystein (Sec) in DIOs ist ein komplizierter Prozess, da das Sec-Codon UGA (sonst ein Terminationscodon) in ein Elongationscodon umkodiert werden muss. Das dazu benötigte Signal wird als Selenocystein-Insertions-Sequenz(SECIS)-Element bezeichnet und befindet sich innerhalb der mRNA.^[109b,110] Während sich das SECIS-Element bei Bakterien im offenen Leseraster

unmittelbar hinter dem UGA befindet, liegt es bei Eukaryoten weiter entfernt im 3'-untranslatierten Bereich. Das UGA wird von der Sec-tRNA^{[Ser]Sec} gelesen, einer UGA-dekodierenden tRNA, die ihren eigenen Translationselongationsfaktor (SelB bei Bakterien und EF-Sec bei Säugetieren) benötigt. Das SECIS-Element wird durch SECISBP2 erkannt, ein Protein, das für die Rekodierung von UGA benötigt wird.^[111] Mutationen in SECISBP2, welche die SECIS-Bindung beeinträchtigen, führen zu veränderten Schilddrüsenhormon-Funktionstests, weil die DIO-Aktivitäten herabgesetzt sind.^[112]

DIO1 kann ein Iodatom vom Tyrosyl- wie auch vom Phenolring von THs entfernen, wohingegen DIO2 und DIO3 selektiv entweder am Phenol- oder am Tyrosylring wirken (Abbildung 8).^[113,114] DIO1 ist wichtig für die Aktivierung des Prohormons T4 zu T3, während DIO3 eine entscheidende Rolle beim Schutz des Gewebes vor einem Überschuss an THs spielt, indem T4 in rT3 und T3 in 3,3'-T2 umgewandelt werden.^[113–115] 3,3'-T2 kann zudem durch Deiodierung des Phenolrings von rT3 mittels DIO1 und DIO2 produziert werden. Tatsächlich ist rT3 gegenüber T4 und T3 das bevorzugte Substrat für die Deiodierung des Phenolrings durch DIO1.^[113b,c] 3,5-T2 zeigt selektive thyromimetische Aktivität und aktiviert TRs, allerdings ist die Biosynthese dieses Derivats noch unklar.^[116] Obwohl T3 laut vieler Studien kein potenzielles Substrat für die Deiodierung des Phenolrings durch DIO1 ist, wurde in Homogenaten von DIO1-exprimierenden NCLP-6E Affen-Hepatocarcinomzellen die enzymatische Umwandlung von T3 in 3,5-T2 nachgewiesen.^[117a,b] Interessanterweise wird 3'-T1 durch DIO1-vermittelte Deiodierung des Phenolrings in T0 umgewandelt, wo-

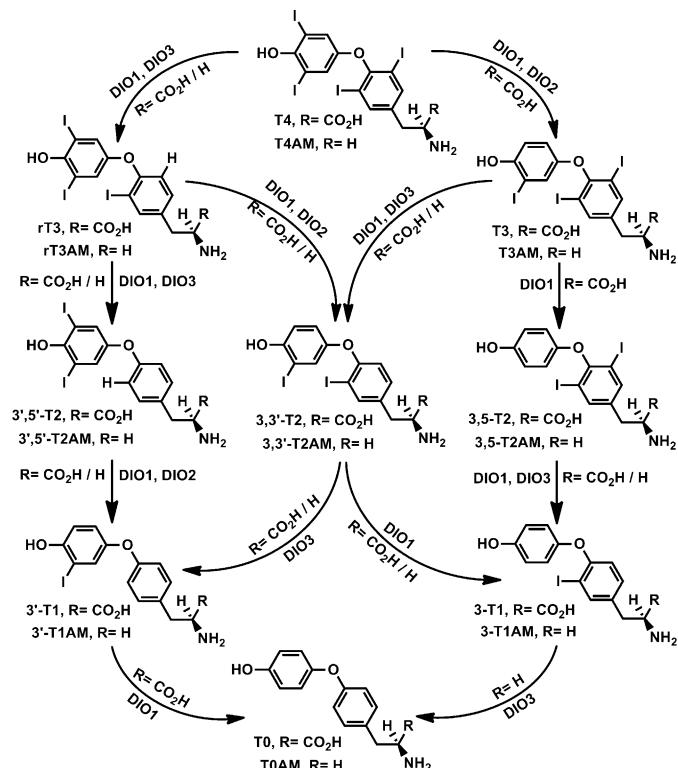


Abbildung 8. Deiodierung von Iodthyroninen und TAMs durch DIOs.

hingegen dies für 3-T1 nicht der Fall ist (Abbildung 8).^[117] Diese Beobachtung lässt darauf schließen, dass die dreidimensionale Struktur und Konformation von Hormonen durch die Gegenwart von Iodatomen in verschiedenen Ringen festgelegt wird und so die Substratbindung an das aktive Zentrum des Enzyms beeinflusst.

Ein signifikanter Anteil der Primärstruktur von DIO-Isoenzymen ist ähnlich, insbesondere im Bereich des aktiven Zentrums, was darauf hindeutet, dass der Grundmechanismus der Katalyse für die Deiodierung des Tyrosylrings und des Phenolrings vergleichbar ist. Die Position von Sec ist in allen drei Isoformen konserviert, und Sec spielt eine Schlüsselrolle bei der Deiodierung. Entsprechende Cystein(Cys)-Mutanten sind zwar funktionell aktiv, allerdings fällt ihre enzymatische Aktivität um ein Vielfaches geringer aus als bei den Wildtyp-Enzymen.^[118] Viele Studien haben den Mechanismus mittels Mutationen und kinetischen Studien untersucht, jedoch konnten diese nicht vor dem Hintergrund einer Proteinstruktur interpretiert werden. Vor kurzem konnte die Röntgenstruktur der katalytischen Domäne der murinen Dio3 (mDio3^{cat}) gelöst werden.^[119] Dem Konstrukt fehlen die N-terminale, membranassoziierte Domäne und der Linker, der sie mit der katalytischen Domäne verbindet, und das katalytische Sec170 wurde durch Cys ersetzt, um die Expression in Bakterien zu ermöglichen.^[120] Die Kristallstruktur zeigt, dass das Enzym die vorhergesagte Thioredoxin(Trx)-Faltung einnimmt und ein fünfsträngiges gemischtes β-Faltblatt, flankiert von vier α-Helices, enthält. Ein kurzes N-terminales β-Faltblatt, gefolgt von einer 3₁₀-Helix, verrät eine evolutionäre Verbindung zu Peroxiredoxinen (Abbildung 9 A,B).^[119] Die Deiodasen-spezifische Insertion (DIO-Insertion; Aminosäuren 201–225) umfasst eine große Schleife D, gefolgt von einer Helix αD und einem kurzen Strang βD, der das zentrale β-Faltblatt erweitert. Das entscheidende Sec170 ist in einer Schleife zwischen β1 und α1 lokalisiert, an der gleichen Position wie das primär aktive Cys im Thioredoxin. Die Substratbindungsstelle in mDio3^{cat} wurde modelliert, indem die His435-T3-Arg282-Klammer aus dem T3-TRβ-Komplex^[121] mit His202 und Arg275 in mDio3^{cat} überlagert wurde (Abbildung 9 C). Dieser Bindungsmodus platziert die 4'-OH-Gruppe von T3 so neben His202, dass die Bildung einer H-Brücke begünstigt wird. Die Amino- und Carboxylatgruppen von T3 könnten so mit den nahegelegenen Aminosäuren Arg275 und Glu259 wechselwirken, von denen man weiß, dass sie wichtig für die katalytische Aktivität sind.^[119,121] Die Homodimerisierung von DIOs ist essenziell für die katalytische Aktivität. Dazu tragen hauptsächlich der N-terminale Membrananker und der Linker sowie eventuell die katalytische Domäne bei.^[122] Die jetzt gelöste mDio3^{cat}-Struktur repräsentiert eine inaktive, monomere Konformation, in der das Phe 258 in der α2/β3-Schleife das aktive Zentrum sterisch blockiert und das Sec abschirmt. Die α2/β3-Schleife wird deshalb als auto-inhibitorische Schleife bezeichnet, und es wird angenommen, dass sie sich bei der Dimerisierung umlagert und dem Substrat den Zugang zum aktiven Zentrum ermöglicht.^[119]

Die molekularen Mechanismen, durch die DIOs die Deiodierung von THs katalysieren, sind seit mehreren Jahren Gegenstand der Diskussion. Um den chemischen Mechanis-

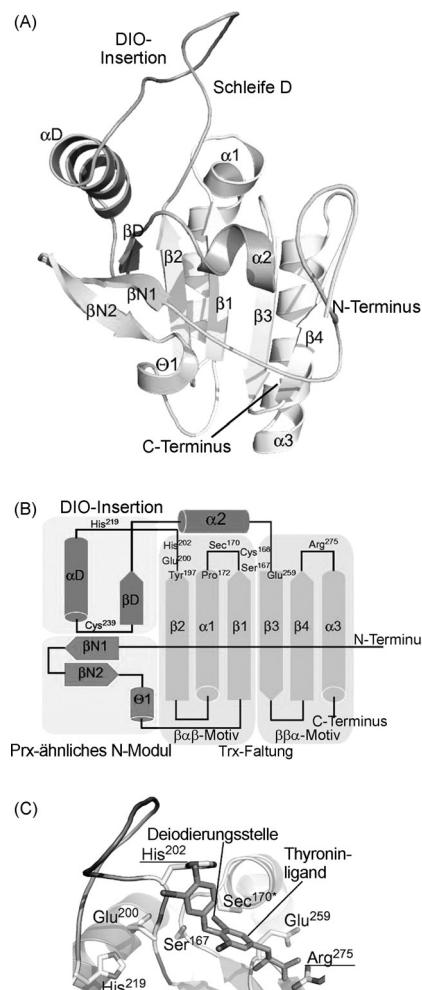


Abbildung 9. A) Röntgenkristallstruktur von mDio3^{cat} (PDB-Code: 4TR4).^[119] B) Schematische Darstellung der Topologie von mDio3^{cat} zeigt die an der Katalyse beteiligten Aminosäuren. C) Modellierter Substratkomplex in mDio3^{cat}. Wiedergabe aus Lit. [119] mit Genehmigung.

mus der Deiodierung besser zu verstehen, wurden niedermolekulare DIO-Mimetika entwickelt. Goto et al. zeigten, dass ein sterisch abgeschirmtes Organoselenol bei erhöhter Temperatur und in organischem Lösungsmittel selektiv Iod vom Phenolring eines T4-Derivates eliminieren kann.^[123] Sie schlugen vor, dass eine Keto-Enol-Tautomerie der 4'-OH-Gruppe von T4 wichtig für die Deiodierung ist (Abbildung 10A). Allerdings ist der Mechanismus nicht auf die Deiodierung des Tyrosylrings von T4 anwendbar. Bayse und Rafferty haben einen alternativen Mechanismus vorgeschlagen, bei dem zwischen dem Selen- und dem Iodatom eine Halogenbrücke gebildet wird.^[124,125] Kürzlich wurde die Deiodierung des Tyrosylrings von T4 und T3 durch ein Enzymmimetikum veröffentlicht.^[126] Das Naphthyl-basierte Diselenol **1** (Abbildung 10B) vermittelt die schnelle selektive Deiodierung am Tyrosylring von T4 und T3 unter physiologisch relevanten Bedingungen, wobei rT3 bzw. 3,3'-T2 gebildet werden. Während der Austausch von Selen durch Schwefel in **1** die Aktivität als Deiodase reduziert, ohne die Selektivität zu beeinflussen, hat der Austausch gegen Tellur

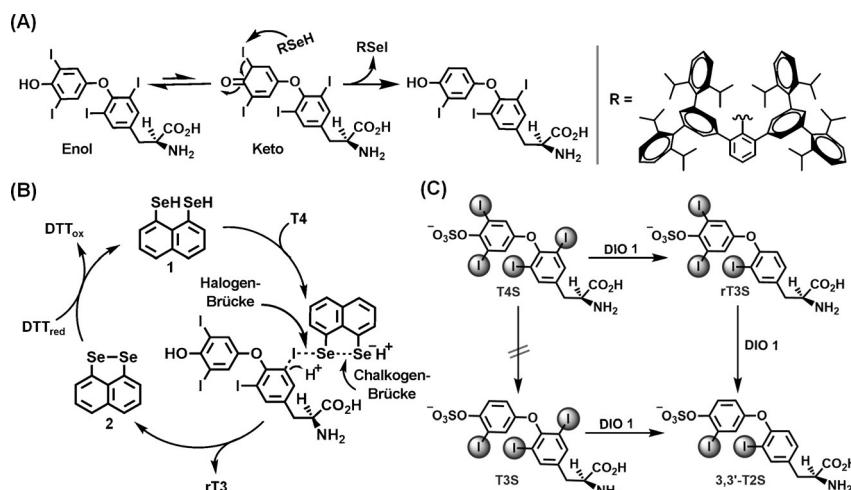


Abbildung 10. A) Potenzieller Mechanismus der Deiodierung des Phenolrings von T4 durch eine Keto-Enol-Tautomerie, die ein sperriges Selenol umfasst. B) Potenzieller Mechanismus der Halogenbrücken-vermittelten Deiodierung von T4 durch DIO3-Mimetikum 1. C) Deiodierung von Sulfokonjugaten der Schilddrüsenhormone durch DIO1.

nicht nur eine erhöhte Aktivität, sondern auch den Verlust der Selektivität zur Folge.^[126d] Die Naphthal-basierten Selenverbindungen vermitteln ebenfalls die Deiodierung von TH-Metaboliten – TAMs und TH-Sulfat-Konjugaten – sowie die Dehalogenierung von halogenierten Nukleosiden.^[127] Dabei gibt eines der Selenatome Elektronendichte an das (antibindende) σ^* -Orbital der C-I-Bindung ab und polarisiert diese. Außerdem stabilisiert die Bindung zwischen den beiden Selenatomen die $\text{Se}\cdots\text{I}$ -Halogenbrücke, was zur Spaltung der C-I-Bindung führt (Abbildung 10B). Da viele der Aminosäuren in allen drei Isoformen der Deiodasen hochkonserviert sind, könnte die Deiodierung des Phenol- und des Tyrosylrings einem ähnlichen Mechanismus folgen. Weil die Keto-Enol-Tautomerie, die für die Deiodierung des Phenolrings postuliert wurde, beim Tyrosylring nicht möglich ist, scheint eine über eine Halogenbrücke vermittelte Spaltung der C-I-Bindung der einleuchtendste Mechanismus der Deiodierung durch DIOs zu sein.^[128] Dazu passt die Position des 5-Iodatoms in 3–4 Å Abstand vom katalytischen Selenatom im modellierten Substratkomplex von mDIO3^{cat} mit T3, die konsistent mit dem beobachteten Se···I-Abstand in der theoretisch vorhergesagten Halogenbrückengeometrie ist.^[119,125–127]

Die Protonierung der 5-Position des Substrats könnte von der abgewandten Seite des Tyrosylrings mithilfe eines Wasserstoffbrücken-Netzwerks stattfinden. Ausgehend von His219 über Glu200 und Ser167 könnte das Proton vom Lösungsmittel ins hydrophobe aktive Zentrum weitergeleitet werden, wobei Tyr197 und Thr169 die richtige Ausrichtung der Seitenketten unterstützen.^[119] Cys168 und/oder Cys239 spielen vermutlich eine Rolle bei der Reduktion des oxidierten Enzyms; der genaue Mechanismus muss allerdings weiter aufgeklärt werden.

Modellstudien mit biomimetischen Verbindungen liefern wertvolle Informationen über den Deiodasemechanismus, allerdings bleiben die Gründe für die Regioselektivität der Isoenzyme schwer fassbar. Mondal und Mugesh haben ge-

zeigt, dass die Konformation von T4 im aktiven Zentrum die relative Reaktivität des 5- und 5'-Iodatoms beeinflussen kann.^[58a] Rechnungen ließen darauf schließen, dass das 5-Iodatom in der nativen Konformation ($\varphi \approx 90^\circ$, $\varphi' \approx 0^\circ$) reaktiver als das 5'-Iodatom ist, was die Möglichkeit einer selektiven Entfernung des 5-Iodsubstituenten eröffnet. Allerdings führen Änderungen bei der relativen Orientierung der beiden aromatischen Ringe von T4 bei bestimmten Konformationen (z.B. $\varphi \approx 0^\circ$, $\varphi' \approx 90^\circ$) zu nahezu identischer Reaktivität von 5- und 5'-Iodatom. Da die beiden aromatischen Ringe rechtwinklig zueinander stehen, sind die 5- und 5'-Iodatome relativ weit voneinander entfernt. Durch eine Änderung der relativen Orientierung zwischen beiden Ringen könnte das 5'-Iodatom nahe an das Sec in DIO1 heranrücken und so die Deiodierung ermöglichen. Des

Weiteren hat die Konformation der Amino- und Carboxylatgruppen relativ zu den Iodatomen einen signifikanten Effekt auf die Fähigkeit der Iodatome, Halogenbrücken mit Selen zu bilden.^[58] In bestimmten Konformationen kann das 5'-Iodatom stärkere Halogenbrücken als das 5-Iodatom bilden, was nahe legt, dass DIO2 das Substrat in einer derartigen Konformation bindet, um selektiv das 5'-Iodatom zu eliminieren. Zur Prüfung dieser Hypothese sind weitere Studien notwendig, um den Bindungsmodus der Iodthyronine an den aktiven Zentren aller drei Isoformen zu bestimmen.

Wie bereits in Abschnitt 4.1 beschrieben, werden einige der TH-Metaboliten ebenfalls durch DIOs deiodiert. So sind TAMs Isozym-spezifische Substrate der DIOs, lediglich T4AM und T3AM werden nicht durch DIO1 am Phenolring deiodiert (Abbildung 8).^[95] Die enzymatische Deiodierung von TAMs ist langsamer als die von THs. Gleichermaßen findet man bei den Naphthal-basierten Selenverbindungen, die ebenfalls TAMs langsamer als THs umsetzen.^[127a] Die Iodatome aus Tetrac und Triac können mittels Deiodierung wiedergewonnen werden. Tatsächlich sind Tetrac und Triac bessere Substrate von DIO1 als T4 und T3.^[88] Zum Beispiel ist die Tyrosylring-Deiodierung von Triac durch DIO1 fast 16-mal schneller als die von T3.^[129] Die Rolle von DIO1 als TH-abbauendes Enzym wird auch dadurch gestützt, dass dieses Enzym sehr gut sulfatierte THs umsetzt, wohingegen DIO2 und DIO3 diese Konjugate nicht als Substrate akzeptieren.^[130] Es ist auch interessant, dass DIO1 die Deiodierung des Phenolrings von T4, aber nicht desjenigen von T4S katalysiert (Abbildung 10C), den Tyrosylring von T4S aber annähernd 200-mal schneller deiodiert als den von T4.^[131a] In ähnlicher Weise sind die DIO1-vermittelte Deiodierung des Tyrosylrings von T3S zu 3,3'-T2S und die Deiodierung des Phenolrings von 3,3'-T2S zu 3-T1S 40- bzw. 50-mal schneller als die der unkonjugierten Iodthyronine.^[131b,c] Die Deiodierung von rT3 wird nicht durch Sulfatierung beeinflusst. Die Konjugation mit Glucuronsäure beeinflusst auch die Deiodierung. Aus Rattenleber bzw. hypothyreotem Gehirn präparierte

Mikrosomen mit DIO1- bzw. DIO2-Aktivität katalysieren die Deiodierung von T4-Glucuronat halb so schnell wie die von T4;^[132] allerdings wurde während der Reaktion auch etwas Dekonjugation von T4 beobachtet.

5. Schilddrüsenhormon-Rezeptoren

Schilddrüsenhormon-Rezeptoren (TRs) gehören zur Superfamilie der nukleären Rezeptoren (NRs), welche die Transkription von Genen abhängig von der Bindung an Hormone modulieren. Diese Rezeptoren binden an spezifische Nukleotidsequenzen in den Promotorregionen von Zielgenen (nukleäre responsive Elemente, NREs) und rekrutieren verschiedene Coaktivator- und Corepressorproteine zum Promotor, die ihrerseits die Genaktivität stimulieren oder hemmen.^[133] Außer Regulation auf Transkriptionsebene werden zunehmend auch „nichtgenomische“ Wirkungen durch TRs beobachtet.^[134] Die beiden Gene (THRA und THRB) für TRs kodieren für vier alternativ gespleißte Rezeptorisoformen, die als TR α_1 , TR α_2 , TR β_1 und TR β_2 bezeichnet werden.^[133c] Die Expression von TR-mRNA ist gewebsspezifisch: TR α_1 zeigt die höchste Expression in Herz und Skelettmuskel; TR β_1 die höchste Expression in Leber, Gehirn und Niere; TR β_2 ist spezifisch für den Hypophysenvorderlappen und bestimmte Regionen des Hypothalamus. Beide Rezeptoren sind an Knochenbildung und -umbau beteiligt.^[135] TR α_1 ist hauptsächlich mit der Aufrechterhaltung der kardiovaskulären Funktionen assoziiert, während TR β_1 den Cholesterin- und Lipoproteinmetabolismus kontrolliert.^[133c, 136] Ähnlich wie bei anderen NRs unterteilt man die Tertiärstruktur der TRs in vier Domänen: eine variable N-terminale A/B-Domäne (NTD), eine zentrale DNA-bindende Domäne (DBD), eine C-terminale Ligandenbindungsdomäne (LBD) und eine Gelenkregion (Hinge) zwischen LBD und DBD (Abbildung 11A).^[133c] Die TR-vermittelte Regulation der Genexpression beruht auf der abgestimmten Aktivität aller Domänen. Die LBD bindet den Liganden sowie die Coregulatorproteine, und es wurde gezeigt, dass eine ligandeninduzierte Konformationsänderung zum Austausch von Corepressorproteinen gegen Coaktivatorproteine führt. T3 ist der natürliche hochaffine Ligand ($K_d = 10^{-9}$ – 10^{-10} M) aller TR-Isoformen, wenngleich auch T4 mit niedrigerer Affinität binden kann.^[137] Röntgenstrukturen der LBDs beider Rezeptorisoformen im Komplex mit T3 sind bereits gelöst worden. Die Kristallstruktur der LBD von humanem TR α_1 zeigt, dass T3 vollständig in einer hydrophoben Tasche der LBD eingebettet ist (Abbildung 11B).^[138] Diese Hormonbindungstasche wird durch einige Helices und Schleifen der LBD gebildet, wie die Aminosäuren von Helix 5–6 (H5–6, Met256–Arg266), Helix 7–8 (H7–8), der Schleife aus Leu287–Ile299, Helix 3 (H3, Phe215–Arg228), Helix 11 (H11, His381–His387) und Helix 12 (H12, Phe401–Phe405). Sowohl bei TR α_1 als auch bei TR β_1 befindet sich T3 dabei weitgehend in einer hydrophoben Tasche, und spezifische Wasserstoffbrücken zwischen der Carboxygruppe von T3 und einem Arg sowie zwischen der 4'-Hydroxygruppe und einem His tragen zur Spezifität bei. Konservierte His- und Arg-Reste, die solche His-Arg-Klammern in der Hormonbin-

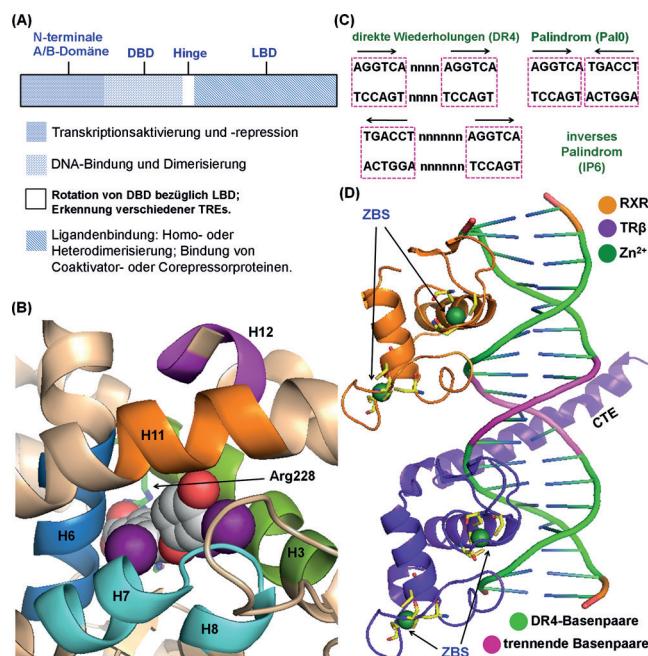


Abbildung 11. A) Schematische Darstellung verschiedener Domänen des Schilddrüsenhormon-Rezeptors und deren Rolle bei der Rezeptorvermittelten Genregulation. B) Cokristallstruktur von humanem TR α_1 und T3 zeigt die Helices und Schleifen, die für die Ligandenbindung verantwortlich sind (PDB-Code: 2H77).^[138] T3 ist als Kugelmodell dargestellt, und die Helices sind verschieden eingefärbt. C) Verschiedene Schilddrüsenhormon-responsive Elemente (TREs) haben unterschiedliche Orientierungen und Abstände der hexameren Sequenz 5'-AGGTCA-3' (Halbseite). Halbseiten sind durch Rechtecke hervorgehoben, und trennende Basenpaare sind als „n“ bezeichnet. D) Kristallstruktur eines Heterodimers aus DBDs von TR β und RXR, gebunden an ein TRE mit direkter Wiederholung, getrennt durch vier Basen (DR4; PDB-Code: 2NLL).^[144] Die Zink-Bindungsstellen in den DBDs von RXR und TR β sind als ZBS bezeichnet. Zn²⁺-Ionen sind als Kugelmodelle und umgebende Cysteine als Stabmodelle dargestellt. Die C-terminale Erweiterung von TR β ist als CTE abgekürzt. Die DBDs von RXR und TR β sind orange bzw. violett gefärbt. Die Basenpaare der Halbseiten in DR4 und die trennenden Basenpaare sind grün bzw. magenta eingefärbt.

dungsstelle bilden könnten, finden sich auch in MCT8 und DIOs.

T3 nimmt im Komplex eine transoide Geometrie an, und das Iodatom am Phenolring befindet sich in der distalen Position.^[138] Die Bindung von T3 an LBD induziert eine Konformationsänderung in H12, was zu einer kompakten Anordnung von Ligand und Rezeptor führt.^[139] Die Umlagerung von H12 ermöglicht die Exposition eines Coaktivator-Protein-Bindungsmotivs LXXLL an der Oberfläche des liganden gebundenen TR, was die transkriptionelle Aktivität der Aktivierungsfunktion-2(AF-2)-Domäne des TR erhöht. In Abwesenheit des Liganden hingegen werden Corepressoren zu den TRs rekrutiert. Die ligandeninduzierte Umlagerung der H12 bestimmt also die Wirkung des Liganden auf die Genexpression.^[140] Es ist zu beachten, dass, anders als Steroidrezeptoren, TRs nicht in einer ligandenabhängigen Weise zwischen Cytosol und Nukleus pendeln, sondern dass nukleäre TRs ihre Coregulatoren als Antwort auf eine Bindung von T3 lediglich austauschen.

Die DBD der TRs ist eine zentrale Domäne des Rezeptors und stellt die am höchsten konservierte Domäne bei den Mitgliedern der NR-Superfamilie dar.^[133c] Sie enthält zwei „Zinkfinger“, DNA-bindende Motive aus vier hochkonservierten Zn²⁺-koordinierenden Cys-Resten.^[141] Die DBD bindet an eine spezifische Nukleotidsequenz, genannt TH-responsives Element (TRE), das in den Promotorregionen von Zielgenen vorkommt. Die Konsensussequenz 5'-AGGTCA-3' bildet eine „Halbseite“, die von einem TR erkannt wird. Funktionelle TREs enthalten immer zwei Halbseiten und binden ein Dimer von NRs. Die TREs können unterschiedlich aufgebaut sein: in einer direkten Wiederholung (DRs) wie in DR4, einer palindromischen Anordnung (Pal) wie in Pal0 oder als inverses Palindrom (IP) wie in IP6 (Abbildung 11C). Die Halbseiten können durch eine Anzahl von dazwischenliegenden Basenpaaren getrennt sein, die durch eine Nummer am Ende der TRE-Klassifizierung vermerkt wird.^[142] Unter den drei Klassen von TREs sind DRs am häufigsten. Außer Homodimeren findet man auch regelmäßig Heterodimere von TRs mit dem 9-cis-Retinsäure-X-Rezeptor (RXR).^[143] Die Kristallstruktur des Komplexes aus den DBDs von RXR und TR β_1 , gebunden an ein DR4-TRE, ist in Abbildung 11D dargestellt.^[144] Diese Struktur offenbart, dass die α -helikale C-terminale Verlängerung (CTE) von TR β_1 eine wichtige Rolle bei der DNA-Bindung und Positionierung der TR β_1 -DBD im Komplex spielt. Die CTE geht umfassende Kontakte mit dem Phosphatrückgrat des Nukleotids zwischen den Halbseiten ein und definiert dadurch den Abstand zwischen den Halbseiten, die durch DBDs erkannt werden können.^[144] Die ebenfalls wichtige Kommunikation zwischen LBD und DBD wird durch die Gelenkregion vermittelt, die verschiedene Konformationen einnehmen kann und es dadurch den NRs ermöglicht, sich einer Vielzahl von TREs anzupassen.^[133c,138] Coaktivatoren und Corepressoren regulieren die Transkription durch die Rekrutierung Histon-modifizierender Proteine, welche die Chromatinstruktur z.B. durch Acetylierung von Lysinresten in Histonen öffnen oder schließen können.^[145]

Mutationen im THRB-Gen verursachen beim Menschen Schilddrüsenhormon-Resistenz, ein Syndrom, das vor vierzig Jahren entdeckt wurde. Die Patienten zeigen eine erhöhte TSH-Sekretion und erhöhte TH-Plasmaspiegel wegen einer gestörten Rückkopplungs-Regulation in der Hypophyse. Während einige Organe wie die Leber und das Herz Zeichen von Hyperthyreose aufweisen, scheinen andere Organe und Gewebe wie Hypophyse und Innenohr „resistent“ gegen T3 zu sein. Die zugrundeliegende Mutation beeinträchtigt meist die T3-Bindungsstelle oder die Bindung von Coaktivatoren.^[146] Erst kürzlich wurden Patienten mit Mutationen im THRA-Gen identifiziert. Diese Patienten haben keine veränderten TH-Werte, da die Rückkopplung in der Hypophyse über TR β_2 vermittelt wird, sondern zeigen einen Wachstumsdefekt der langen Röhrenknochen, andauernde Verstopfung und meist einen verringerten IQ. Diese Symptome korrelieren mit dem Expressionsmuster des TR α .^[147]

6. Schilddrüsenbedingte Erkrankungen

Schilddrüsenhormone kontrollieren viele Aspekte von Wachstum und Entwicklung, Regeneration und Metabolismus. Hypo- und Hyperthyreose betreffen daher viele Organsysteme und sind mit kardiovaskulären Erkrankungen, Adipositas und Typ-II-Diabetes assoziiert.^[1d,133c,148] Abweichungen von normalen TH-Spiegeln sind häufig, sehr unangenehm für die Patienten und ein Hauptproblem bei Autoimmun-Schilddrüsenerkrankungen und Schilddrüsenkrebs. Medikamente, die in der Lage sind, eine übermäßige TH-Funktion zu dämpfen oder THs zu ersetzen, gehören daher zu den meist verschriebenen Arzneimitteln. Diese haben jedoch Nebenwirkungen und sind seit Jahrzehnten auf dem Markt, weshalb ein aktuelles Interesse an neuen Leitsubstanzen und therapeutischen Prinzipien besteht.

6.1. Hypothyreose und Hyperthyreose

Während TH-Ersatztherapie bei Hypothyreose unkompliziert ist, bleibt die Behandlung von Hyperthyreose wesentlich schwieriger. So führt beispielsweise Morbus Basedow zur Bildung von agonistischen Autoantikörpern gegen den TSH-Rezeptor, die die Schilddrüse unkontrolliert stimulieren und dadurch erhöhte T4- und T3-Plasmaspiegel bewirken. Selbst wenn die Hypophyse ihre TSH-Ausschüttung reduziert, bleibt die Überproduktion an THs unter der Kontrolle der Antikörper bestehen.^[149] Ein Übermaß an THs führt zu erhöhter Herzfrequenz, Herzschlag, Schwitzen, Muskelschwund, Osteoporose und Müdigkeit. Es kann zu Kropfbildung kommen, und die TSH-ähnliche Stimulation der retro-orbitalen Fibroblasten führt zu deren Proliferation, was letztlich Druck von hinten auf die Augen erzeugt – die endokrine Orbitopathie, die zur Beschädigung des Sehnervs führen kann. Eine weitere häufige Schilddrüsen-Autoimmunerkrankung ist die Hashimoto-Thyreoiditis. Dabei attackieren und zerstören T-Zellen die Schilddrüse, und Phasen der Hyperthyreose, ausgelöst durch den Angriff des Immunsystems, werden später durch Funktionsverlust abgelöst.

Hyperthyreose wird mit Thiocarbamid-basierten Arzneimitteln wie Carbimazol (CBZ), Methimazol (MMI) und 6-n-Propylthiouracil (PTU) behandelt, die die Schilddrüse hemmen (Abbildung 12A).^[150,151] Da CBZ im Körper schnell in MMI umgewandelt wird, sind Dosen und Wirkungen von CBZ und MMI ähnlich.^[150] Die Nebenwirkungen der meist verwendeten Thyreostatika umfassen Hautausschlag, Arthralgie, Magenbeschwerden und Veränderungen des Geschmacks- und Geruchssinns.^[151] Es wurden verschiedene molekulare Mechanismen für die Wirkung von Thyreostatika vorgeschlagen. Beispielsweise könnten die Thiocarbamid-basierten Verbindungen die aktiven iodierten Spezies vom Tg ableiten, was zur bevorzugten Iodierung des Schwefelatoms des Medikaments anstatt der Tyrosylreste von Tg führen würde. Die Iodierung von MMI resultiert in der Bildung eines instabilen Sulfenyliodids, das Disproportionsreaktionen unter Bildung eines entsprechenden Disulfids durchlaufen kann. Das MMI-Disulfid wird spontan zersetzt und ein desulfuriertes Molekül, N-Methylimidazol, gebildet.^[152] Ein alterna-

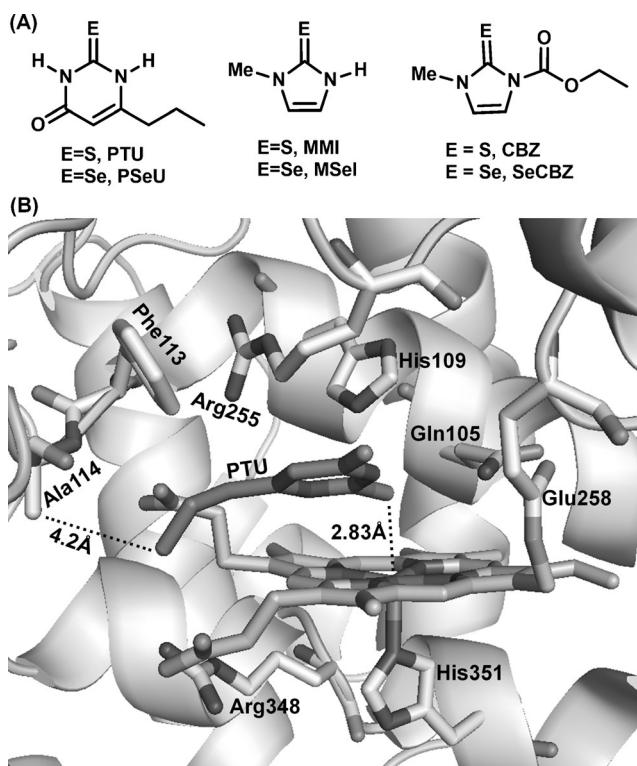


Abbildung 12. A) Chemische Struktur von Thyreostatika. B) Die Kristallstruktur von an PTU gebundener LPO zeigt, dass TPO mit dem Häm-Eisen der Substratbindungsdomäne wechselwirkt (PDB-Code: 4qyq).^[154]

tiver Mechanismus der thyreostatischen Wirkung umfasst eine kompetitive Hemmung der TPO durch Koordination des Thionrests am Fe^{III}-Zentrum.^[153]

Eine kürzlich veröffentlichte Cokristallstruktur der Lactoperoxidase (LPO) mit PTU zeigt, dass PTU an LPO in der Substratbindungsstelle an der distalen Hämposition bindet (Abbildung 12 B), und stützt damit den zweiten Mechanismus. Während die Entfernung zwischen dem PTU-Molekül und dem Häm 2.7 Å beträgt, liegt der Abstand zwischen PTU und dem distalen Histidin (His 109) bei 2.8 Å. Die Orientierung des PTU-Moleküls ermöglicht Van-der-Waals-Wechselwirkungen mit Gln 105, His 109, Phe 113, Ala 114, Arg 255, Glu 258 und Arg 248. Die Aminosäuresequenz neben der Substratbindungsstelle von TPO und LPO ist, bis auf Ala 114 in LPO (Thr 205 in TPO), identisch. Es wird vermutet, dass Thr 205 stärkere Van-der-Waals-Wechselwirkungen mit PTU eingeht, was mit dem berechneten IC₅₀-Wert für PTU übereinstimmt (37 µM für TPO und 47 µM für LPO).^[154]

Die Selenanaloga der Thyreostatika erregten besondere Aufmerksamkeit wegen der höheren Nukleophilie des Selenatoms gegenüber der von Schwefel. Das Selenanalogon von MMI, MSel (Abbildung 12 A), liegt in einer Zwitterionenform vor, wobei das Selenatom die negative Ladung trägt.^[155] Dennoch zeigten In-vivo-Studien, dass die Inhibition von TPO-katalysierten Oxidations- und Iodierungsreaktionen durch MSel 50-mal schwächer ist als im Fall von MMI. Die lässt darauf schließen, dass MMI und MSel unterschiedliche Mechanismen zur Inhibition von TPO nutzen.^[156] Die

Hemmung der LPO-katalysierten Iodierung von L-Tyrosin durch MSel ist reversibel, und die Enzymaktivität wird durch Erhöhung der H₂O₂-Konzentration vollständig wiederhergestellt. Diese Befunde legen nahe, dass das Selenanalogon von MMI eher als H₂O₂-Fänger statt als wirklicher Enzyminhibitor fungiert. Im Gegenteil führt im Fall von MMI eine erhöhte Konzentration von H₂O₂ nicht zur Wiederherstellung der Enzymaktivität, was vermuten lässt, dass MMI LPO durch Wechselwirkung mit dem Hämzentrum hemmt.^[155,157] Wenn gleich die Fähigkeit der Selenanaloga, H₂O₂ abzufangen, unter oxidativem Stress potenziell vorteilhaft ist, könnte die schlechte Akkumulation der Selenverbindungen in der Schilddrüse ihre Anwendbarkeit begrenzen.^[157,158]

Während bei ineffektiver Medikation letztlich eine Thyroidektomie zur Kontrolle des Morbus Basedow notwendig ist, bietet die Radioiod(RAI)-Therapie eine Alternative.^[159] RAI wird in den USA häufiger als in Europa oder Asien zur Behandlung von M. Basedow angewendet.^[160] Diese Therapie nutzt die NIS-vermittelte Akkumulation von ¹³¹I⁻, die zur Strahlenexposition der Schilddrüse führt und dabei andere Gewebe schont.^[161] RAI-Behandlung wird in 20 % der Fälle mit der Entwicklung von Orbitopathie in Verbindung gebracht, die aber nur bei 5 % der Thyreostatika-behandelten Patienten auftritt.^[162] Des Weiteren wurde ein erhöhtes Risiko für Darmkrebs bei Patienten mit einem multinodulären Kropf im Falle einer RAI-Behandlung registriert.^[163]

6.2. Schilddrüsenhormone bei kardiovaskulären Erkrankungen

Kardiovaskuläre Erkrankungen gehören weltweit zu den häufigsten Todesursachen und werden oft mit Statinen behandelt. Statine inhibieren die Hydroxymethyl-Glutaryl-Co-enzym-A(HMGCo-A)-Reduktase, welche die De-novo-Cholesterinbiosynthese katalysiert. Cholesterin-defiziente Zellen induzieren daher die Expression von LDL-Rezeptoren (LDL = Lipoprotein niederer Dichte), was letztlich zu einer Reduktion der Blutcholesterinspiegel führt.^[164] THs beeinflussen den Lipidstoffwechsel in der Leber, weshalb in den letzten Jahrzehnten verschiedene TH-Analoga und Thyromimetika entwickelt wurden, um den Lipidstoffwechsel zu modulieren. Verschiedene Thyromimetika, welche die Plasmacholesterinspiegel kontrollieren können, sind in klinischen Studien.^[165] Wie bereits in Abschnitt 5. diskutiert, vermitteln THs ihre biologische Wirkung durch Kupplung an die Ligandenbindungsdomäne von TR α und TR β , von denen hauptsächlich der TR β mit dem Lipidstoffwechsel assoziiert ist.^[148,166] THs fördern die Eliminierung von LDL durch vermehrte Expression von LDL-Rezeptoren (LDLRs) in der Leber.^[167] Erhöhtes Plasma-LDL ist verantwortlich für die Ablagerung von Cholesterin in den Arterienwänden in Form von arteriosklerotischen Plaques. THs unterstützen die Herabsetzung von Cholesterin- und Triglyceridspiegeln im Blut durch Hemmung der Transkription des Sterol-regulatorischen Element bindenden Proteins-1 (SREBP1), eines Transkriptionsfaktors, der die Fettsäurebiosynthese und die Herstellung von Lipoprotein sehr geringer Dichte (VLDL) reguliert.^[168] Cholesterin wird durch reversen Cholesterintransport (RCT) unter Einbindung von Lipoprotein hoher

Dichte (HDL) aus der Zirkulation entfernt. Eine Erhöhung von HDL kann somit eine Strategie zur Verringerung des Risikos einer kardiovaskulären Erkrankung sein.^[169]

THs induzieren die Expression des HDL-Rezeptors (Scavenger-Rezeptor Klasse B Typ 1, SRB1) in der Leber und erhöhen so die Geschwindigkeit des HDL-Rücktransports. Darüber hinaus steigern sie die HDL-Biosynthese durch vermehrte Produktion von Apolipoprotein A1 (APOA1), einem Bestandteil der HDL-Partikel.^[168, 170] THs induzieren zudem die Expression von Cholesterin-7- α -Hydroxylase (CYP7A1), dem Enzym, das die Konvertierung von Cholesterin in Gallensäuren einleitet, denn Cholesterin kann nur in Form von Gallensäuren ausgeschieden werden (Abbildung 13A).^[168]

Die Entwicklung von Thyromimetika für therapeutische Anwendungen, z.B. zur Behandlung von Dyslipidämie, ist anspruchsvoll, weil Nebenwirkungen wie erhöhte Herzfrequenz, Knochenabbau und Muskelschwund auftreten können.^[165] Das D-Enantiomer von T4 (D-Thyroxin) wurde getestet, um die Überlebenschance von Patienten nach einem Herzinfarkt zu erhöhen. Allerdings wurde das Arzneimittel wegen eines Anstiegs der Sterblichkeit abgesetzt, obwohl D-T4 die Blutcholesterinwerte verbesserte.^[171] Der endogene TH-Metabolit Triac wurde für die Behandlung von Dyslipidämie eingesetzt, jedoch wurden weitere Studien wegen der unerwünschten Nebenwirkungen auf Herzfrequenz, Sauer-

stoffverbrauch und Knochenumsatz abgebrochen.^[172] Eine Zusammenfassung der synthetischen thyromimetischen Verbindungen, die klinische Erprobungen durchlaufen haben, ist in Tabelle 2 dargestellt.

Aus den Kristallstrukturen der TRs (TR α und TR β) weiß man, dass sich die hochhomologen Ligandenbindungsstellen von TR α und TR β in nur einer Aminosäure (Ser277 bei TR α und Asn331 bei TR β) unterscheiden, die einen direkten Kontakt mit T3 eingeht (Abbildung 13B). Da TR β hauptsächlich den Lipidstoffwechsel reguliert, besteht die Aufgabe darin, ein TR β -selektives Thyromimetikum zu entwickeln, das keine über TR α vermittelten Nebenwirkungen aufweist.^[173] Thyromimetika mit TR β -Spezifität und Leberselektivität könnten die Absorption von Plasma-LDL durch die Expression von LDL-Rezeptoren fördern und den Blutcholesterinspiegel durch Beschleunigung des RCT-Wegs senken, indem sie die Expression von SRB1 und APOA1 erhöhen (Abbildung 13B).^[165, 166] TR β -spezifische Thyromimetika könnten auch die Cholesterin- und Triglyceridspiegel herabsetzen, ohne Tachykardie und Arrhythmie zu induzieren, die durch TR α vermittelt werden.^[165, 166] TR β - und Leber-selektive Thyromimetika sind GC-1 (5–20-fach selektiver für TR β), GC-24 (40–100-fach selektiver für TR β), KB141 (14-fach selektiver für TR β), KB2115 (TR β -Selektivität nicht bekannt), MB07811 (10-fach selektiver für TR β) sowie MGL3196 (28-fach selektiver für TR β) (Tabelle 2), die in klinischen Studien geprüft werden.^[166]

Die Selektivität von Thyromimetika für TR β hängt mit Wechselwirkungen mit Aminosäureseitenketten zusammen. Zum Beispiel interagiert Arg282 in TR β mit GC-1 und KB141 unter Bildung von stabilen Wasserstoffbrücken-Netzwerken.^[165, 166] Ein weiterer Grund für die Selektivität für TR β könnte in der Verschiebung von Helices liegen. Verbindungen mit großen Substituenten am äußeren Ring (z.B. GC-24) können direkt mit den Aminosäuren nahe der Ligandenbindungsstelle wechselwirken und zu umfangreichen Verschiebungen von Helices führen. Die Strukturumlagerungen in der Region (H3 und H11), um eine sperrige Phenylgruppe aufzunehmen, können im TR β besser realisiert werden als im TR α .^[165, 166] Der dritte Grund für die TR β -Selektivität könnte sich auch aus dem Beitrag der Entropie ergeben. Im Fall von Triac könnte die TR β -Selektivität an der Gegenwart einer Carboxygruppe liegen, die es mehr Wassermolekülen ermöglicht, in die Ligandenbindungsstelle zu gelangen. Die resultierenden Liganden-Wasser-Wechselwirkungen könnten eine erhöhte Ligandenmobilität begünstigen.^[165, 174]

Die Selektivität für die Leber wurde zunächst auf First-Pass-Metabolisierung zurückgeführt. Dies bedeutet, dass das aus dem Darm im Blut anflutende Arzneimittel direkt von der Leber aufgenommen wird. So wird das Propharmakon MB07811 von der Leber extrahiert und durch Cytochrome P450 in Methylphosphonsäure und MB07344 gespalten, welches das aktive Thyromimetikum ist.^[147, 175] Alternativ kann die Leberselektivität auch durch eine selektive Aufnahme durch spezifische Transporter erreicht werden. SLC10A1, ein luminaler Gallensäuretransporter (Natriumtaurocholat transportierendes Polypeptid, NTCP), der selektiv in der Leber exprimiert wird, trans-

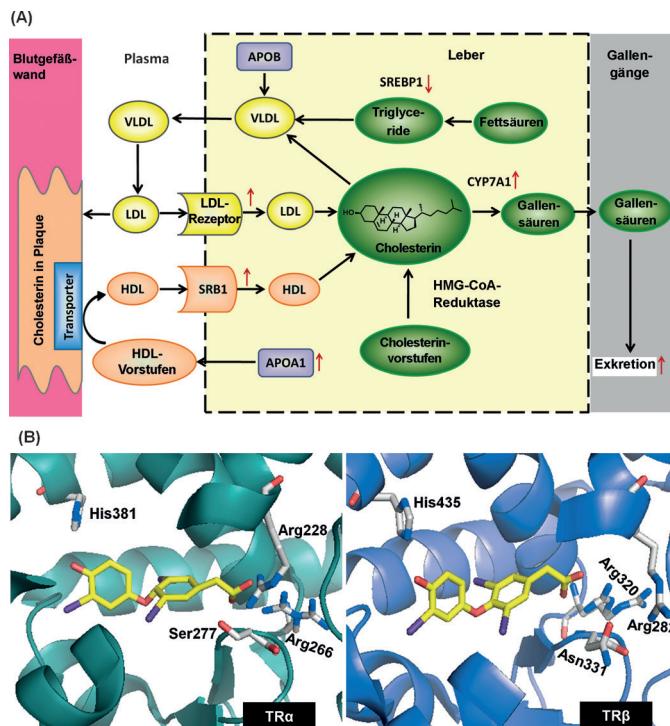
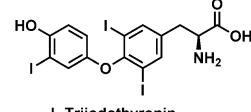
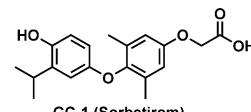
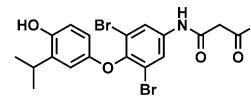
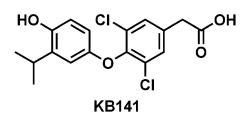
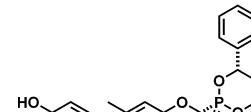
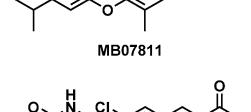
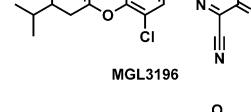


Abbildung 13. A) Cholesterinmetabolismus und Effekte von Thyromimetika. Die rotgefärbten Pfeile zeigen die Stoffwechselwege, die durch Thyromimetika beeinflusst werden, und die Richtung der Pfeile gibt Aufschluss über Hoch- und Herunterregulation (adaptiert aus Lit. [165]). B) Die Ligandenbindungsdomäne (LBD) von TR α (PDB-Code: 3jzb) und TR β (PDB-Code: 3jzc) zeigt, dass von den ligandenwechselwirkenden Aminosäuren nur jeweils eine Aminosäure unterschiedlich ist (Ser277 bei TR α entspricht Asn331 bei TR β).^[137c]

Tabelle 2: Thyromimetische Verbindungen, Indikationen und Ergebnisse aus Humanstudien.^{[a],[165,166]}

Verbindung	Indikation	klinische Studien
 L-Triiodothyronin	endogenes Hormon	entfällt
 GC-1 (Sorbetirom)	Dyslipidämie, hohe Cholesterin- werte, Obesitas, NAFLD	Phase Ia, LDL- Cholesterin↓
 KB2115 (Eprotirom)	Dyslipidämie, hohe Cholesterin- werte, FH	Phase II, LDL- Cholesterin↓, LPA und TG↓, Statin- Synergie
 KB141	keine, eingestellt	entfällt
 MB07811	Dyslipidämie, hohe Cholesterin- werte	Phase Ib, LDL- Cholesterin↓, TG↓
 MGL3196	Dyslipidämie, hohe Cholesterin- werte, NAFLD, FH	Phase Ib, LDL- Cholesterin↓, TG↓
 DITPA	Dyslipidämie, hohe Cholesterin- werte, Herzinsuf- fizienz	Phase Ib, LDL- Cholesterin↓, TG↓, Statin-Syn- ergie

[a] NAFLD: Nichtalkoholisches Fettlebersyndrom, FH: Familiäre Hypercholesterinämie, LPA: Apolipoprotein(a), LDL: Lipoprotein niederer Dichte, TG: Triglycerid.

portiert KB2115 selektiv in die Leberzellen. Im Herzen wird NTCP nicht exprimiert, und der dort exprimierte MCT8 akzeptiert KB2115 als Substrat, sodass keine kardialen Nebenwirkungen auftreten sollten.^[166]

6.3. Schilddrüsenhormone und Adipositas

Schilddrüsenhormone führen zu einer Senkung des Körperfanges durch Erhöhung des Grundumsatzes, des Sauerstoffverbrauchs und der Körpertemperatur sowie durch vermehrten Fettsäureabbau.^[176] Diese Effekte werden über den TR α vermittelt, weshalb ein Rückgang des Körperfanges an eine erhöhte Herzfrequenz und einen vermehrten Abbau von Muskeln und Knochen gekoppelt ist. Der Beitrag von TR β zur Regulation der Körpertemperatur und des Grund-

umsatzes ist geringer.^[177] TRs aktivieren die Thermogenese in braunem, beigem und weißem Fettgewebe durch Induktion der Transkription des Entkopplerproteins (UCP).^[178] DIO2 ist ein Zielgen der cAMP-abhängigen Transkription in braunem Fett und wird durch adrenerge Stimulation über das autonome Nervensystem aktiviert. DIO2 konvertiert danach lokal T4 in T3, das über TRs seinerseits das UCP2-Gen induziert. UCP entkoppelt den mitochondrialen Elektronentransport von der ATP-Synthetase und führt damit zu erhöhter Wärmeproduktion.^[178b] THs steigern auch die Biogenese von Mitochondrien und die oxidative Phosphorylierung.^[176] Die Erzeugung von Wärme wird weiterhin durch die TH-vermittelte Induktion von Substratzyklen bei Glucose- und Fettstoffwechsel gesteigert.^[179] Es ist bekannt, dass TR β -selektive Verbindungen den Sauerstoffverbrauch von mit Cholesterin gefütterten Mäusen (GC-1) und Ratten (GC-1 und KB141) erhöhen. Die Dosen sind höher als die für die Cholesterinreduktion benötigten, aber niedriger als die erforderliche Dosis für schädliche Effekte.^[177,180] Die Nichtalkoholische Fettlebererkrankung (NAFLD) oder hepatische Steatose wird durch Fetteinlagerung in der Leber hervorgerufen, und es wurde gezeigt, dass Thyromimetika (wie GC-1) und T3 in Cholin/Methionin-defizient ernährten Ratten NAFLD verhindern und umkehren konnten. In ähnlicher Weise reduzierte auch MB07811 die Fettleber bei normal und mit Cholesterin gefütterten Mäusen.^[181]

6.4. Schilddrüsenhormone und Typ-2-Diabetes

Im Jahr 2010 litten weltweit über 285 Millionen Menschen an Typ-2-Diabetes,^[182] einer Stoffwechselstörung, die aufgrund von Insulinresistenz zu erhöhten Blutglucosespiegeln führt.^[183] THs steigern die Glucoseaufnahme in Hepatozyten und in nichthepatischem Gewebe durch gesteigerte Expression von Glucosetransportern wie dem Glucosetransporter Typ 4 (GLUT4).^[184] Die Glucoseaufnahme wird durch Wechselwirkung von TR β und PI3-Kinase vermittelt.^[185] Die pankreatische β -Zellmasse wird durch das Gleichgewicht zwischen Zellproliferation und -tod kontrolliert, und Diabetes tritt auf, wenn die Anzahl der β -Zellen unter den Bedarf sinkt. Die Anzahl der pankreatischen β -Zellen wird durch THs über Proliferation erhöht und kann die Insulinsekretion erhöhen sowie die Glucosetoleranz in diabetischen Mäusen wiederherstellen. Dieser Effekt wird über TR α -abhängige Aktivierung des Cyclin-D1/CDK/Rb-Wegs vermittelt.^[186] TR β ist beteiligt an der T3-induzierten Proliferation von Hepatozyten und pankreatischen Acinuszellen.^[187] Die Glucosedynamik wurde bei Pferden verbessert, wenn diese mit THs behandelt wurden, ein Effekt, der mit einer Reduktion von Fettmasse assoziiert war.^[188] Ein Polymorphismus im DIO2-Gen (Thr92Ala) verringert die enzymatische Aktivität von DIO2 und ist mit der Entwicklung von Insulinresistenz assoziiert.^[189] Es ist bekannt, dass die Thyromimetika KB141 und MB07811 den Blutglucosespiegel reduzieren, ein Effekt von ähnlicher Größe wie bei der Therapie mit Metformin oder Rosiglitazon.^[190]

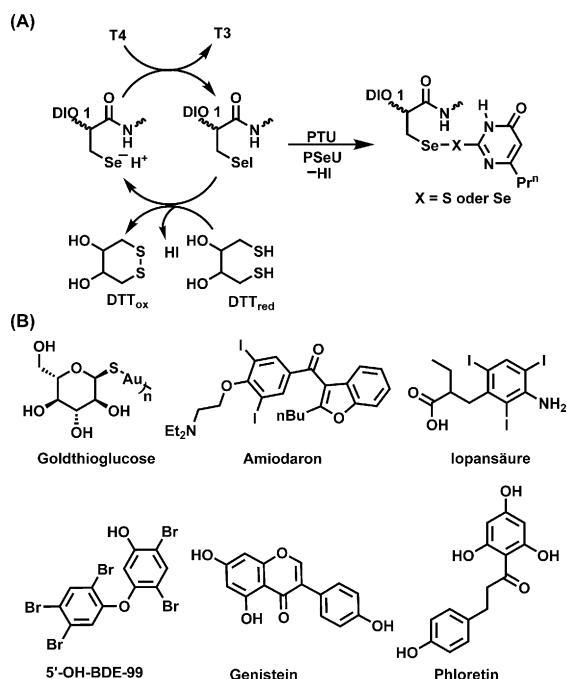


Abbildung 14. A) Reaktionen von Thyrostatika GTG mit Enzymen mit den enzymatisch aktiven Zentren Selenol und PTU/PEsU mit Selenyliodid. B) Literaturbekannte DIO-Inhibitoren.

6.5. Deiodasen als potenzielles therapeutisches Ziel

Eine Hyperthyreose könnte entweder durch die Hemmung der TH-Produktion in der Schilddrüse oder durch die Blockade der peripheren Konversion von T4 zu T3 durch DIO1 oder DIO2 kontrolliert werden. Unter normalen Bedingungen produziert die Schilddrüse nur 6 % T3, aber bei schwerer Hyperthyreose kann dieser Anteil auf 57 % ansteigen.^[191] DIO1 und DIO2 sind in der Schilddrüse hoch exprimiert. Das *DIO1*-Gen ist positiv durch T3 reguliert, was bedeutet, dass DIO1 durch eine positive Rückkopplung T3 weiter steigert und somit selbstverstärkend wirkt.^[192] Eine Inhibition von DIO1 könnte diesen Zyklus unterbrechen und so eine Möglichkeit zur Behandlung von Hyperthyreose bieten. Das Thyrostatikum PTU inhibiert nicht nur TPO, sondern auch auch DIO1, wahrscheinlich durch Reaktion mit einer oxidierten Zwischenstufe des Enzyms (Abbildung 14A). Die entsprechende Selenverbindung PSeU hemmt ebenfalls die DIO1-Aktivität (IC_{50} : 1.7 μM in Gegenwart von 20 mM DTT). Es wird vermutet, dass die inhibitorische Wirkung von PTU und PSeU auf der Bildung eines kovalenten Selenyliodid- bzw. eines Diselenidkomplexes mit dem Enzym beruht, der aufgrund von H-Brücken zwischen den Amino- und Carbonylgruppen des Inhibitors und Seitenketten im aktiven Zentrum der Enzyme ermöglicht wird.^[193] Die Einführung eines aromatischen Ringes in PTU erhöhte die Inhibition von DIO1 um mindestens das 10-Fache.^[128, 194] Ist die Konzentration von DTT niedrig (0.2 mM), kann PTU die DIO2 schwach inhibieren.^[194] Im Unterschied zu PTU sind die Imidazol-basierten Verbindungen MMI und MSel keine effektiven Inhibitoren von DIO1. Ein neu aufkommendes Konzept ist die Rolle von DIO3 beim Schutz

proliferierender Zellen (Stammzellen, während der Wundheilung oder in Tumoren) vor der differenzierenden Wirkung von THs. Stammzellen und Tumoren überexprimieren oftmals DIO3, und die Inhibition der Expression von DIO3 in bösartigen Tumoren schwächt das Tumorwachstum ab.^[195] Daher ist DIO3 ein vielversprechendes neues Ziel für Arzneimittel.

Goldkomplexe wie Goldthioglucose (GTG; Abbildung 14B) inhibieren sowohl die DIO1- als auch die DIO2-Aktivität durch Wechselwirkung mit dem katalytischen Sec unter Bildung von stabilen Gold-Selenolat-Komplexen.^[113d] Amiodaron, ein Medikament gegen Herzrhythmusstörungen, ist ein schwacher nichtkompetitiver Inhibitor von DIO1 und DIO2, und sein Metabolit Desethylamiodaron ist ein starker Inhibitor dieser Enzyme. Iopansäure, ein iodhaltiges Kontrastmittel, inhibiert ebenfalls alle drei DIO-Isoformen durch Kompetition mit dem Substrat.^[196] Viele weitere Verbindungen wurden als DIO-Inhibitoren beschrieben, wie halogenierte Farbstoffe,^[197] Pflanzenmetaboliten wie Phloretin,^[198] Flavonide wie Genistein^[199] und endokrine Disruptoren wie polychlorierte Biphenyle (PCBs) und polybromierte Diphenylether (PBDEs; z. B. 5'-OH-BDE-99)^[200] (Abbildung 14B). Es scheinen strukturelle Gemeinsamkeiten zwischen diesen Verbindungen und THs zu bestehen, da manche auch an TH-Transferproteine, Plasmamembrantransporter oder TRs binden.

7. Zusammenfassung und Ausblick

Schilddrüsenhormone (THs) – Triiodthyronin (T3) und sein Prohormon Thyroxin (T4) – regulieren fundamentale biologische Prozesse wie Entwicklung und Metabolismus. Die normale Entwicklung des Gehirns, der Cochlea, der Retina, der Knochen und des Darms hängt von T3 ab. Ebenso reguliert T3 die Herzfrequenz, die Körpertemperatur und die basale Stoffwechselrate. Darüber hinaus aktiviert T3 den Lipid-, den Kohlenhydrat- und den Proteinstoffwechsel. Wir haben hier verschiedene Aspekte der Chemie und der Biologie der TH-Biosynthese und TH-Wirkung diskutiert. Beide Aspekte haben wir hinsichtlich genetischer Erkrankungen erläutert, die in spezifischer Art einzelne Schritte der TH-Biosynthese und -Wirkung betreffen. Sowohl Hypo- als auch Hyperthyreose stellen schwerwiegende Beschwerden dar, die TH-Ersatztherapie ist jedoch in der Praxis einfacher als das Blockieren der Schilddrüsenfunktion bei Hyperthyreose. Wir haben daher verschiedene pharmakologische Grundkonzepte von thyreostatischen und thyromimetischen Arzneistoffen erklärt. Neuere Erkenntnisse lassen darauf schließen, dass die Modulation von TH-metabolisierenden Enzymen, z. B. von Deiodasen (DIOs), eine neue Strategie zur Behandlung von Schilddrüsenfunktionsstörungen sein könnte. Besonders DIO3 ist ein neues pharmakologisches Ziel für eine Vielzahl von Erkrankungen, einschließlich Krebs, und zukünftige Forschungen sollten sich auf die Entwicklung von Isoenzym-spezifischen Inhibitoren für DIOs konzentrieren. Die Bestimmung von Kristallstrukturen der DIOs könnte Aufschluss über die Selektivität und biochemischen Mechanismen der regioselektiven Deiodierung geben. Die Entwicklung und die

chemische Synthese von physiologisch relevanten Schwefel- und Selen-basierten DIO-Mimetika könnten dabei helfen, die Chemie der TH-aktivierenden und -inaktivierenden Stoffwechselwege besser zu verstehen.

Danksagung

Die Arbeit in unseren Laboratorien an der Chemie und Biologie von Schilddrüsenhormonen und ihrer Metaboliten wird unterstützt vom Science and Engineering Research Board (SERB), dem Department of Science and Technology, Government of India, New Delhi (G.M.) und der Deutschen Forschungsgemeinschaft Schw914/6-1, Bonn (U.S.). S. Mondal and K. Raja danken dem Indian Institute of Science (IISc), Bangalore, und der University Grants Comission, New Delhi, für Forschungsstipendien. G.M. dankt auch dem SERB für finanzielle Unterstützung durch die J. C. Bose National Fellowship (Grant No. SB/S2/JCB-067/2015).

Zitierweise: *Angew. Chem. Int. Ed.* **2016**, *55*, 7606–7630
Angew. Chem. **2016**, *128*, 7734–7759

- [1] „Biosynthesis and Secretion of Thyroid Hormones“: a) F. Gentile, R. DiLauro, G. Salvatore, in *Endocrinology*, 3. Aufl. (Hrsg.: L. J. DeGroot), WB Saunders Company, Philadelphia, **1995**, S. 517–542; b) „Hormone synthesis“: A. Taurog, in *The Thyroid*, (Hrsg.: L. E. Braverman, R. Utiger), Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, **2000**, S. 61–85; c) G. A. Brent, *J. Clin. Invest.* **2012**, *122*, 3035–3043; d) R. Mullur, Y.-Y. Liu, G. A. Brent, *Physiol. Rev.* **2014**, *94*, 355–382.
- [2] a) R. M. Lechan, C. Fekete, *J. Endocrinol. Invest.* **2004**, *27*, 105–119; b) C. Fekete, R. M. Lechan, *Front. Neuroendocrinol.* **2007**, *28*, 97–114.
- [3] Y. Saber-Lichtenberg, K. Brix, A. Schmitz, J. E. Heuser, J. H. Wilson, L. Lorand, V. Herzog, *FASEB J.* **2000**, *14*, 1005–1014.
- [4] a) „Thyroid hormone synthesis“: A. Taurog, in *Werner and Ingbar's the thyroid: a fundamental and clinical text* (Hrsg.: L. E. Braverman, R. D. Utiger, S. C. Werner, S. H. Ingbar), Lippincott, Philadelphia, **1991**, S. 51; b) R. Ekholm, *Int. Rev. Cytol.* **1990**, *120*, 243–288.
- [5] N. Carrasco, *Biochim. Biophys. Acta Rev. Biomembr.* **1993**, *1154*, 65–82.
- [6] O. Levy, A. Dela Vieja, C. S. Ginter, C. Riedel, G. Dai, N. Carrasco, *J. Biol. Chem.* **1998**, *273*, 22657–22663.
- [7] O. Dohán, A. De La Vieja, V. Paroder, C. Riedel, M. Artani, M. Reed, C. S. Ginter, N. Carrasco, *Endocr. Rev.* **2003**, *24*, 48–77.
- [8] S. Eskandari, D. D. Loo, G. Dai, O. Levy, E. M. Wright, N. Carrasco, *J. Biol. Chem.* **1997**, *272*, 27230–27238.
- [9] T. K. Roepke, E. C. King, A. Reyna-Neyra, M. Paroder, K. Purtell, W. Koba, E. Fine, D. J. Lerner, N. Carrasco, G. W. Abbott, *Nat. Med.* **2009**, *15*, 1186–1194.
- [10] C. Portulano, M. Paroder-Belenitsky, N. Carrasco, *Endocr. Rev.* **2014**, *35*, 106–149.
- [11] M. Paroder-Belenitsky, M. J. Maestas, O. Dohán, J. P. Nicola, A. Reyna-Neyra, A. Follenzi, E. Dadachova, S. Eskandari, L. Mario Amzel, N. Carrasco, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2011**, *108*, 17933–17938.
- [12] a) M. P. Gillam, A. R. Sidhaye, E. J. Lee, J. Rutishauser, C. W. Stephan, P. Kopp, *J. Biol. Chem.* **2004**, *279*, 13004–13010; b) P. Kopp, *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **2014**, *99*, 67–69.
- [13] a) J. C. Silveira, P. A. Kopp, *Curr. Opin. Endocrinol. Diabetes Obes.* **2015**, *22*, 374–380; b) L. Twyffels, A. Strickaert, M. Virreira, C. Massart, J. Van Sande, C. Wauquier, R. Beauwens, J. E. Dumont, L. J. Galieta, A. Boom, V. Kruys, *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* **2014**, *307*, C1102–C1112.
- [14] a) C. S. Ahn, I. N. Rosenberg *Father Advances in Thyroid Research*, Verlag der Wiener Medizinischen Akademie, Wien, **1971**, S. 825–837; b) B. Bénard, J. Brault, *Union Med. Can.* **1971**, *100*, 701–705.
- [15] a) U. Björkman, R. Ekholm, J. F. Denef, *J. Ultrastruct. Res.* **1981**, *74*, 105–115; b) U. Björkman, R. Ekholm, *Endocrinology* **1984**, *115*, 392–398.
- [16] X. De Deken, D. Wang, M. C. Many, S. Costagliola, F. Libert, G. Vassart, J. E. Dumont, F. J. Miot, *Biol. Chem.* **2000**, *275*, 23227–23233.
- [17] C. Dupuy, R. Ohayon, A. Valent, M. S. Noël-Hudson, D. Dème, A. Virion, *J. Biol. Chem.* **1999**, *274*, 37265–37269.
- [18] a) W. A. Edens, L. Sharling, G. Cheng, R. Shapira, J. M. Kin-kade, T. Lee, H. A. Edens, X. Tang, C. Sullards, D. B. Flaherty, G. M. Benian, J. D. Lambeth, *J. Cell Biol.* **2001**, *154*, 879–891; b) R. W. Harper, C. Xu, J. P. Eiserich, Y. Chen, C. Y. Kao, P. Thai, H. Setiadi, R. Wu, *FEBS Lett.* **2005**, *579*, 4911–4917; c) J. L. Meitzler, P. R. Ortiz de Montellano, *J. Biol. Chem.* **2009**, *284*, 18634–18643.
- [19] a) X. De Deken, D. Wang, J. E. Dumont, F. Miot, *Exp. Cell Res.* **2002**, *273*, 187–196; b) R. Ameziane-El-Hassani, S. Morand, J. L. Boucher, Y. M. Frapart, D. Apostolou, D. Agnandji, S. Gnidehou, R. Ohayon, M. S. Noël-Hudson, J. Francon, K. Lalaoui, A. Virion, C. Dupuy, *J. Biol. Chem.* **2005**, *280*, 30046–30054; c) S. Rigutto, C. Hoste, H. Grasberger, M. Milenkovic, D. Communi, J. E. Dumont, B. Corvilain, F. Miot, X. De De-ken, *J. Biol. Chem.* **2009**, *284*, 6725–6734.
- [20] a) T. Kawahara, M. T. Quinn, J. D. Lambeth, *BMC Evol. Biol.* **2007**, *7*, 109, 1–21; b) J. D. Lambeth, T. Kawahara, B. Diebold, *Free Radical Biol. Med.* **2007**, *43*, 319–331.
- [21] a) C. Dupuy, M. Pomerance, R. Ohayon, M. S. Noël-Hudson, D. Dème, M. Chaaraoui, J. Francon, A. Virion, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2000**, *277*, 287–292; b) S. Morand, O. F. Dos Santos, R. Ohayon, J. Kaniewski, M. S. Noël-Hudson, A. Virion, C. Dupuy, *Endocrinology* **2003**, *144*, 567–574; c) M. Milenkovic, X. De Deken, L. Jin, M. De Felice, R. Di Lauro, J. E. Dumont, B. Corvilain, F. Miot, *J. Endocrinol.* **2007**, *192*, 615–626.
- [22] S. Morand, M. Chaaraoui, J. Kaniewski, D. Dème, R. Ohayon, M. S. Noël-Hudson, A. Virion, C. Dupuy, *Endocrinology* **2003**, *144*, 1241–1248.
- [23] J. Pachucki, D. Wang, D. Christophe, F. Miot, *Mol. Cell. Endocrinol.* **2004**, *214*, 53–62.
- [24] a) J. Chiu-Ugalde, E. K. Wirth, M. O. Klein, R. Sapin, N. Fra-dejas-Villar, K. Renko, L. Schomburg, J. Köhrle, U. Schweizer, *Antioxid. Redox Signaling* **2012**, *17*, 902–913; b) U. Schweizer, J. Chiu, J. Köhrle, *Antioxid. Redox Signaling* **2008**, *10*, 1577–1592.
- [25] a) J. P. Merlie, D. Fagan, J. Mudd, P. Needleman, *J. Biol. Chem.* **1988**, *263*, 3550–3553; b) S. Kimura, M. Ikeda-Saito, *Proteins Struct. Funct. Genet.* **1988**, *3*, 113–120; c) M. M. Cals, P. Mail-lart, G. Brignon, P. Anglade, B. R. Dumas, *Eur. J. Biochem.* **1991**, *198*, 733–739.
- [26] A. Taurog, M. L. Dorris, D. R. Doerge, *Arch. Biochem. Biophys.* **1996**, *330*, 24–32.
- [27] a) J. R. Baker, P. Arscott, J. Johnson, *Thyroid* **1994**, *4*, 173–178; b) D. O. McDonald, S. H. Pearce, *J. Mol. Med.* **2009**, *87*, 971–980.
- [28] N. Yokoyama, A. Taurog, *Mol. Endocrinol.* **1988**, *2*, 838–844.
- [29] a) M. Godlewska, M. Gora, A. M. Buckle, B. T. Porebski, E. H. Kemp, B. J. Sutton, B. Czarnocka, J. P. Banga, *Thyroid* **2014**, *24*, 371–382; b) V. Le Fourn, M. Ferrand, J. L. Franc, *J. Biol. Chem.* **2005**, *280*, 4568–4577.

- [30] A. Grütters, B. Köhler, A. Wolf, A. Söling, L. de Vijlder, H. Krude, H. Biebermann, *Exp. Clin. Endocrinol. Diabetes* **1996**, *104*, 121–123.
- [31] S. N. Le, B. T. Porebski, J. McCoe, J. Fodor, B. Riley, M. Gołdewska, M. Góra, B. Czarnocka, J. P. Banga, D. E. Hoke, I. Kass, A. M. Buckle, *PLOS One* **2015**, *10*, e0142615.
- [32] T. J. Fiedler, C. A. Davey, R. E. Fenna, *J. Biol. Chem.* **2000**, *275*, 11964–11971.
- [33] G. D. De Pillis, S. I. Ozaki, J. M. Kuo, D. A. Maltby, P. R. Ortiz de Montellano, *J. Biol. Chem.* **1997**, *272*, 8857–8860.
- [34] J. Zeng, R. E. Fenna, *J. Mol. Biol.* **1992**, *226*, 185–207.
- [35] a) D. Dolphin, A. Forman, D. C. Borg, R. H. Felton, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1971**, *68*, 614–618; b) P. G. Furtmüller, C. Obinger, Y. Hsuanyu, H. B. Dunford, *Eur. J. Biochem.* **2000**, *267*, 5858–5864.
- [36] „Thyreoglobulin: chemistry and biosynthesis“: J. T. Dunn, in *The Thyroid*, 7. Aufl. (Hrsg.: L. E. Braverman, R. D. Utiger), Lippincott, Philadelphia, **1996**, S. 85–95.
- [37] M. Izumi, P. R. Larsen, *J. Clin. Invest.* **1977**, *59*, 1105–1112.
- [38] J. T. Dunn, A. D. Dunn, *Biochimie* **1999**, *81*, 505–509.
- [39] a) J. T. Dunn, P. C. Anderson, J. W. Fox, C. A. Fassler, A. D. Dunn, L. A. Hite, R. C. Moore, *J. Biol. Chem.* **1987**, *262*, 16948–16952; b) J. T. Dunn, P. S. Kim, A. D. Dunn, D. G. Heppner, R. C. Moore, *J. Biol. Chem.* **1983**, *258*, 9093–9099.
- [40] a) A. D. Dunn, C. M. Corsi, H. E. Myers, J. T. Dunn, *J. Biol. Chem.* **1998**, *273*, 25223–25229; b) C. Marriq, P. J. Lejeune, N. Venot, L. Vinet, *Mol. Cell. Endocrinol.* **1991**, *81*, 155–164.
- [41] M. T. Den Hartog, C. C. Sijmons, O. Bakker, C. Ris-Stalpers, J. J. M. De Vijlder, *Eur. J. Endocrinol.* **1995**, *132*, 611–617.
- [42] H. J. Cahnmann, J. Pommier, J. Nunez, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1977**, *74*, 5333–5335.
- [43] L. Lamas, A. Taurog, G. Salvatore, H. Edelhoch, *J. Biol. Chem.* **1974**, *249*, 2732–2737.
- [44] D. Dème, J. Pommier, J. Nunez, *Eur. J. Biochem.* **1976**, *70*, 435–440.
- [45] a) J. M. Gavaret, H. J. Cahnmann, J. Nunez, *J. Biol. Chem.* **1981**, *256*, 9167–9173; b) M. Nakamura, I. Yamazaki, T. Kotani, S. Ohtaki, *J. Biol. Chem.* **1989**, *264*, 12909–12913; c) A. Taurog, M. Dorris, D. R. Doerget, *Arch. Biochem. Biophys.* **1994**, *315*, 82–89.
- [46] a) M. Sela, S. Sarid, *Nature* **1956**, *178*, 540–541; b) R. Pitt-Rivers, *Biochem. J.* **1948**, *43*, 223–231; c) R. Pitt-Rivers, A. T. James, *Biochem. J.* **1958**, *70*, 173–176; d) T. B. Johnson, L. B. Tewkesbury, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1942**, *28*, 73–77; e) Y. A. Ma, C. J. Sih, A. Harms, *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 8967–8968; f) J. M. Gavaret, H. J. Cahnmann, J. Nunez, *J. Biol. Chem.* **1979**, *254*, 11218–11222.
- [47] a) J. C. Moreno, T. J. Visser, *Mol. Cell. Endocrinol.* **2010**, *322*, 91–98; b) I. N. Rosenberg, A. Goswami, *J. Biol. Chem.* **1979**, *254*, 12318–12325; c) J. B. Stanbury, M. L. Morris, *J. Biol. Chem.* **1958**, *233*, 106–108; d) S. R. Thomas, P. M. McTamney, J. M. Adler, N. LaRonde-LeBlanc, S. E. Rokita, *J. Biol. Chem.* **2009**, *284*, 19659–19667.
- [48] J. C. Moreno, W. Klootwijk, H. van Toor, G. Pinto, M. D'Alessandro, A. Lèger, D. Goudie, M. Polak, A. Grütters, T. J. Visser, *N. Engl. J. Med.* **2008**, *358*, 1811–1818.
- [49] L. J. DeGroot, *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **1966**, *26*, 149–173.
- [50] a) G. C. Schussler, *Thyroid* **2000**, *10*, 141–149; b) „Thyroid hormone transport proteins and the physiology of hormone binding“: J. Robbins in *The Thyroid* (Hrsg.: L. E. Braverman, R. D. Utiger), Lippincott-Raven, Philadelphia, **1996**, S. 96–110.
- [51] a) E. C. Friesema, A. Grueters, H. Biebermann, H. Krude, A. von Moers, M. Reeser, T. G. Barrett, E. E. Mancilla, J. Svensson, M. H. Kester, G. G. Kuiper, S. Balkassmi, A. G. Uitterlinden, J. Köhrle, P. Rodien, A. P. Halestrap, T. J. Visser, *Lancet* **2004**, *364*, 1435–1437; b) A. M. Dumitrescu, X. H. Liao, T. B. Best, K. Brockmann, S. Refetoff, *Am. J. Hum. Genet.* **2004**, *74*, 168–175; c) C. E. Schwartz, M. M. May, N. J. Carpenter, R. C. Rogers, J. Martin, M. G. Bialer, J. Ward, J. Sanabria, S. Marsa, J. A. Lewis, R. Echeverri, H. A. Lubs, K. Voeller, R. J. Simensen, R. E. Stevenson, *Am. J. Hum. Genet.* **2005**, *77*, 41–53.
- [52] a) C. Di Cosmo, X. H. Liao, A. M. Dumitrescu, N. J. Philp, R. E. Weiss, S. Refetoff, *J. Clin. Invest.* **2010**, *120*, 3377–3388; b) E. K. Wirth, S. Y. Sheu, J. Chiu-Ugalde, R. Sapin, M. O. Klein, I. Mossbrugger, L. Quintanilla-Martinez, M. H. de Angelis, H. Krude, T. Riebel, K. Rothe, J. Köhrle, K. W. Schmid, U. Schweizer, A. Grütters, *Eur. J. Endocrinol.* **2011**, *165*, 555–561.
- [53] a) H. Loebermann, R. Tokuoka, J. Deisenhofer, R. Huber, *J. Mol. Biol.* **1984**, *177*, 531–556; b) P. A. Pemberton, P. E. Stein, M. B. Pepys, J. M. Potter, R. W. Carrell, *Nature* **1988**, *336*, 257–258.
- [54] a) B. Jirasakuldech, G. C. Schussler, M. G. Yap, H. Drew, A. Josephson, J. Michl, *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **2000**, *85*, 3996–3999; b) S. A. Suda, P. G. Gettins, P. A. Patston, *Arch. Biochem. Biophys.* **2000**, *384*, 31–36; c) O. E. Janssen, H. M. Golcher, H. Grasberger, B. Saller, K. Mann, S. Refetoff, *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **2002**, *87*, 1217–1222.
- [55] A. Zhou, Z. Wei, R. J. Read, R. W. Carrell, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2006**, *103*, 13321–13326.
- [56] O. E. Janssen, S. T. Astner, H. Grasberger, S. K. Gunn, S. Refetoff, *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **2000**, *85*, 368–372.
- [57] V. Cody, *Acta Crystallogr. Sect. B* **1981**, *37*, 1685–1689.
- [58] a) S. Mondal, G. Mugesh, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2015**, *54*, 10833–10837; *Angew. Chem.* **2015**, *127*, 10983–10987; b) U. Schweizer, C. Steegborn, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2015**, *54*, 12856–12858; *Angew. Chem.* **2015**, *127*, 13048–13050.
- [59] X. Qi, F. Loiseau, W. L. Chan, Y. Yan, Z. Wei, L. G. Milroy, R. M. Myers, S. V. Ley, R. J. Read, R. W. Carrell, A. Zhou, *J. Biol. Chem.* **2011**, *286*, 16163–16173.
- [60] H. Grasberger, H. M. Golcher, A. Fingerhut, O. E. Janssen, *Biochem. J.* **2002**, *365*, 311–316.
- [61] a) G. Schreiber, S. J. Richardson, *Comp. Biochem. Physiol. Part B* **1997**, *116*, 137–160; b) D. M. Power, N. P. Elias, S. J. Richardson, J. Mendes, C. M. Soares, C. R. Santos, *Gen. Comp. Endocrinol.* **2000**, *119*, 241–255.
- [62] C. C. F. Blake, M. J. Geisow, S. J. Oatley, B. Rérat, C. Réat, *J. Mol. Biol.* **1978**, *121*, 339–356.
- [63] a) S. Y. Cheng, R. A. Pages, H. A. Saroff, H. Edelhoch, J. Robbins, *Biochemistry* **1977**, *16*, 3707–3713; b) R. N. Ferguson, H. Edelhoch, H. A. Saroff, J. Robbins, H. J. Cahnmann, *Biochemistry* **1975**, *14*, 282–289.
- [64] E. C. Jorgensen in *Hormonal Proteins and Peptides*, Bd. 6 (Hrsg.: Ch. H. Li), Academic Press, New York **1978**, S. 107–204.
- [65] a) G. J. Miroy, Z. Lai, A. Lashuel, S. A. Peterson, C. Strang, J. W. Kelly, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1996**, *93*, 15051–15056; b) J. W. Kelly, *Structure* **1997**, *5*, 595–600.
- [66] a) P. Hammarstrom, F. Schneider, J. W. Kelly, *Science* **2001**, *293*, 2459–2462; b) C. E. Bulawa, S. Connelly, M. Devit, L. Wang, C. Weigel, J. A. Fleming, J. Packman, E. T. Powers, R. L. Wiseman, T. R. Foss, I. A. Wilson, J. W. Kelly, R. Labaudinière, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2012**, *109*, 9629–9634.
- [67] A. Wojtczak, P. Neumannna, V. Cody, *Acta Crystallogr. Sect. D* **2001**, *57*, 957–967.
- [68] a) A. Wojtczak, V. Cody, J. R. Luft, W. Pangborn, *Acta Crystallogr. Sect. D* **2001**, *57*, 1061–1070; b) T. Eneqvist, E. Lundberg, A. Karlsson, S. Huang, C. R. A. Santos, D. M. Power, A. E. Sauer-Eriksson, *J. Biol. Chem.* **2004**, *279*, 26411–26416.
- [69] a) A. Wojtczak, V. Cody, J. R. Luft, W. Pangborn, *Acta Crystallogr. Sect. D* **1996**, *52*, 758–765; b) A. Wojtczak, J. Luft, V. Cody, *J. Biol. Chem.* **1992**, *267*, 353–357.

- [70] I. Petipas, C. E. Petersen, C. E. Ha, A. A. Bhattacharya, P. A. Zunszain, J. Ghuman, N. V. Bhagavan, S. Curry, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2003**, *100*, 6440–6445.
- [71] a) G. Hennemann, E. P. Krenning, M. Otten, R. Docter, G. Bos, T. J. Visser, *Lancet* **1979**, *313*, 639–642; b) D. Cartwright, P. O’Shea, O. Rajanayagam, M. Agostini, P. Barker, C. Moran, E. Macchia, A. Pinchera, R. John, A. Agha, H. A. Ross, V. K. Chatterjee, D. J. Halsall, *Clin. Chem.* **2009**, *55*, 1044–1046; c) S. M. Greenberg, A. M. Ferrara, E. S. Nicholas, A. M. Dumitrescu, V. Cody, R. E. Weiss, S. Refetoff, *Thyroid* **2014**, *24*, 945–950.
- [72] a) J. Graw, *Exp. Eye Res.* **2009**, *88*, 173–189; b) M. P. Vié, C. Evrard, J. Osty, A. Breton-Gilet, P. Blanchet, M. Pomerance, P. Rouget, J. Francon, J. P. Blondeau, *Mol. Endocrinol.* **1997**, *11*, 1728–1736.
- [73] a) S. Suzuki, N. Suzuki, J. Mori, A. Oshima, S. Usami, K. Hashizume, *Mol. Endocrinol.* **2007**, *21*, 885–894; b) M. P. Vié, C. Evrard, J. Osty, A. Breton-Gilet, P. Blanchet, M. Pomerance, P. Rouget, J. Francon, J. P. Blondeau, *Mol. Endocrinol.* **1997**, *11*, 1728–1736.
- [74] A. Oshima, S. Suzuki, Y. Takumi, K. Hashizume, S. Abe, S. Usami, *J. Med. Genet.* **2006**, *43*, e25.
- [75] F. Borel, I. Hachi, A. Palencia, M. C. Gaillard, J. L. Ferrer, *FEBS J.* **2014**, *281*, 1598–1612.
- [76] a) N. Camerman, A. Camerman, *Science* **1972**, *175*, 764–766; b) V. Cody, W. L. Duax, *Science* **1973**, *181*, 757–758.
- [77] a) J. Bernal, A. Guadaño-Ferraz, B. Morte, *Nat. Rev. Endocrinol.* **2015**, *11*, 406–417; b) E. C. H. Friesema, J. Jansen, C. Milici, T. J. Visser, *Vitam. Horm.* **2005**, *70*, 137–167.
- [78] U. Schweizer, J. Johannes, D. Bayer, D. Braun, *Eur. Thyroid J.* **2014**, *3*, 143–153.
- [79] E. C. H. Friesema, S. Ganguly, A. Abdalla, J. E. M. Fox, A. P. Halestrap, T. J. Visser, *J. Biol. Chem.* **2003**, *278*, 40128–40135.
- [80] W. Allan, C. N. Herndon, F. C. Dudley, *Am. J. Ment. Defic.* **1944**, *48*, 325–344.
- [81] a) E. K. Wirth, S. Roth, C. Blechschmidt, S. M. Höltter, L. Becker, I. Racz, A. Zimmer, T. Klopstock, V. Gailus-Durner, H. Fuchs, W. Wurst, T. Naumann, A. Bräuer, M. H. de Angelis, J. Köhrle, A. Grüters, U. Schweizer, *J. Neurosci.* **2009**, *29*, 9439–9449; b) D. López-Espíndola, C. Morales-Bastos, C. Grijota-Martínez, X. H. Liao, D. Lev, E. Sugo, C. F. Verge, S. Refetoff, J. Bernal, A. Guadaño-Ferraz, *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **2014**, *99*, E2799–E2804.
- [82] a) W. E. Visser, T. J. Visser, *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **2012**, *97*, 4362–4365; b) U. Schweizer, J. Köhrle, *Biochim. Biophys. Acta Gen. Subj.* **2013**, *1830*, 3965–3973.
- [83] E. C. H. Friesema, J. Jansen, J. W. Jachtenberg, W. E. Visser, M. H. A. Kester, T. J. Visser, *Mol. Endocrinol.* **2008**, *22*, 1357–1369.
- [84] a) A. Kinne, G. Kleinau, C. S. Hoefig, A. Grüters, J. Köhrle, G. Krause, U. Schweizer, *J. Biol. Chem.* **2010**, *285*, 28054–28063; b) G. Kleinau, U. Schweizer, A. Kinne, J. Köhrle, A. Grüters, H. Krude, H. Biebermann, *Thyroid Res.* **2011**, *4*, S4.
- [85] D. Braun, I. Lelios, G. Krause, U. Schweizer, *Endocrinology* **2013**, *154*, 2553–2561.
- [86] D. Braun, U. Schweizer, *Endocrinology* **2015**, *156*, 4720–4730.
- [87] a) F. Illouz, D. Braun, C. Briet, U. Schweizer, P. Rodien, *Eur. J. Endocrinol.* **2014**, *171*, R91–99; b) D. Braun, T. D. Kim, P. le Coutre, J. Köhrle, J. M. Hershman, U. Schweizer, *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **2012**, *97*, E100–105.
- [88] S. Y. Wu, W. L. Green, W. S. Huang, M. T. Hays, I. J. Chopra, *Thyroid* **2005**, *15*, 943–958.
- [89] „Sulfation and glucuronidation pathway of thyroid hormone metabolism“: T. J. Visser in *Thyroid Hormone Metabolism: Molecular Biology and Alternate Pathways* (Hrsg.: S. Y. Wu, T. J. Visser), CRC Press, Boca Raton, **1994**, S. 85–117.
- [90] a) B. A. Rikke, A. K. Roy, *Biochim. Biophys. Acta Gene Struct. Expression* **1996**, *1307*, 331–338; b) C. N. Falany, *FASEB J.* **1997**, *11*, 1–2.
- [91] M. Matsui, H. Homma, *Int. J. Biochem.* **1994**, *26*, 1237–1247.
- [92] a) R. M. Weinshilboum, D. M. Otterness, I. A. Aksoy, T. C. Wood, C. Her, R. B. Raftogianis, *FASEB J.* **1997**, *11*, 3–14; b) C. N. Falany, X. Xie, J. Wang, J. Ferrer, J. L. Falany, *Biochem. J.* **2000**, *346*, 857–864; c) M. H. Kester, E. Kaptein, T. J. Roest, C. H. van Dijk, D. Tibboel, W. Meinl, H. Glatt, M. W. Coughtrie, T. J. J. Visser, *Clin. Endocrinol. Metab.* **1999**, *84*, 1357–1364; d) M. H. Kester, C. H. van Dijk, D. Tibboel, A. M. Hood, N. J. Rose, W. Meinl, U. Pabel, H. Glatt, C. N. Falany, M. W. Coughtrie, T. J. J. Visser, *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **1999**, *84*, 2577–2586.
- [93] a) T. J. Visser, E. Kaptein, A. L. Gijzel, W. W. de Herder, T. Ebner, B. Burchell, *FEBS Lett.* **1993**, *324*, 358–360; b) H. Yamanaka, M. Nakajima, M. Katoh, T. Yokoi, *Drug. Metab. Dispos.* **2007**, *35*, 1642–1648; c) J. B. Beetstra, J. G. M. van Engelen, P. Karels, H. J. van der Hoek, M. de Jong, R. Docter, E. P. Krenning, G. Hennemann, A. Brouwer, T. J. Visser, *Endocrinology* **1991**, *128*, 741–746.
- [94] a) T. S. Scanlan, K. L. Suchland, M. E. Hart, G. Chiellini, Y. Huang, P. J. Kruzich, S. Frascarelli, D. A. Crossley II, J. R. Bunzow, S. Ronca-Testoni, E. T. Lin, D. Hatton, R. Zucchi, D. K. Grandy, *Nat. Med.* **2004**, *10*, 638–642; b) K. P. Doyle, K. L. Suchland, T. M. P. Ciesielski, N. S. Lessov, D. K. Grandy, T. S. Scanlan, M. P. Stenzel-Poore, *Stroke* **2007**, *38*, 2569–2576.
- [95] S. Piehl, T. Heberer, G. Balizs, T. S. Scanlan, R. Smits, B. Koksch, J. Köhrle, *Endocrinology* **2008**, *149*, 3037–3045.
- [96] C. S. Hoefig, K. Renko, S. Piehl, T. S. Scanlan, M. Bertoldi, T. Opladen, G. F. Hoffmann, J. Klein, O. Blankenstein, U. Schweizer, J. Köhrle, *Mol. Cell. Endocrinol.* **2012**, *349*, 195–201.
- [97] C. S. Hoefig, T. Wuensch, E. Rijntjes, I. Lehmpfuhl, H. Daniel, U. Schweizer, J. Mittag, J. Köhrle, *Endocrinology* **2015**, *156*, 4356–4364.
- [98] a) A. N. Snead, M. S. Santos, R. P. Seal, M. Miyakawa, R. H. Edwards, T. S. Scanlan, *ACS Chem. Biol.* **2007**, *2*, 390–398; b) J. Dinter, J. Mühlhaus, S. F. Jacobi, C. L. Wienchol, M. Cöster, J. Meister, C. S. Hoefig, A. Müller, J. Köhrle, A. Grüters, H. Krude, J. Mittag, T. Schöneberg, G. Kleinau, H. Biebermann, *J. Mol. Endocrinol.* **2015**, *54*, 205–216.
- [99] a) J. B. Regard, H. Kataoka, D. A. Cano, E. Camerer, L. Yin, Y. W. Zheng, T. S. Scanlan, M. Hebrok, S. R. Coughlin, *J. Clin. Invest.* **2007**, *117*, 4034–4043; b) L. J. Braulke, M. Klingenspor, A. DeBarber, S. C. Tobias, D. K. Grandy, T. S. Scanlan, G. Heldmaier, *J. Comp. Physiol. B* **2008**, *178*, 167–177.
- [100] C. A. Pietsch, T. S. Scanlan, R. J. Anderson, *Endocrinology* **2007**, *148*, 1921–1927.
- [101] W. J. L. Wood, T. Geraci, A. Nilsen, A. E. DeBarber, T. S. Scanlan, *ChemBioChem* **2009**, *10*, 361–365.
- [102] „Nondeiodonative pathways of thyroid hormone metabolism“: A. G. Burger in *Thyroid Hormone Metabolism* (Hrsg.: G. Hennemann), Dekker Marcel, New York, **1986**, S. 255–276.
- [103] a) M. E. Everts, T. J. Visser, E. P. C. M. Moerings, R. Docter, H. van Toor, A. M. P. Tempelaars, M. De Jong, E. P. Krenning, G. Hennemann, *Endocrinology* **1994**, *135*, 2700–2707; b) D. Bracco, O. Morin, Y. Schutz, H. Liang, E. Jequier, A. G. Burger, *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **1993**, *77*, 221–228.
- [104] a) P. A. Schueler, H. L. Schwartz, K. A. Strait, C. N. Mariash, J. H. Oppenheimer, *Mol. Endocrinol.* **1990**, *4*, 227–234; b) N. Messier, L. Laflamme, G. Hamann, M. F. Langlois, *Mol. Cell. Endocrinol.* **2001**, *174*, 59–69.
- [105] a) G. Radetti, L. Persani, G. Molinaro, D. Mannavola, D. Corbellazzi, V. K. Chatterjee, P. Beck-Peccoz, *Thyroid* **1997**, *7*, 775–778; b) P. Beck-Peccoz, G. Piscitelli, M. G. Cattaneo, G. Faglia, *J. Endocrinol. Invest.* **1983**, *6*, 217–223.

- [106] a) L. Alvarez, A. Burgueño, S. Zeni, A. S. Randi, S. Hernández, P. Hockl, M. A. Pisarev, D. L. Kleiman de Pisarev, *Horm. Metab. Res.* **2004**, *36*, 291–297; b) G. Brenta, M. Schnitman, O. Fretes, E. Facco, M. Gurfinkel, S. Damilano, N. Pacenza, A. Blanco, E. Gonzalez, M. A. Pisarev, *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **2003**, *88*, 5287–5292.
- [107] S. Kersseboom, S. Horn, W. E. Visser, J. Chen, E. C. H. Friesema, C. Vaurs-Barrière, R. P. Peeters, H. Heuer, T. J. Visser, *Mol. Endocrinol.* **2014**, *28*, 1961–1970.
- [108] a) K. Kubota, H. Uchimura, T. Mitsuhashi, S. C. Chiu, N. Kuzuya, K. Ito, S. Nagataki, *Life Sci.* **1985**, *36*, 1033–1039; b) A. G. Burger, D. Engler, U. Buergi, M. Weissel, G. Steiger, S. H. Ingbar, R. E. Rosin, B. M. Babior, *J. Clin. Invest.* **1983**, *71*, 935–949; c) T. Jolin, G. Morreale de Escobar, *Biochem. J.* **1971**, *125*, 869–878; d) A. Mayrargue-Kodja, S. Bouchilloux, S. Lissitzky, *Bull. Soc. Chim. Biol.* **1958**, *40*, 815–831.
- [109] a) D. Behne, A. Kyriakopoulos, H. Meinhold, J. Köhrle, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1990**, *173*, 1143–1149; b) M. J. Berry, L. Banu, P. R. Larsen, *Nature* **1991**, *349*, 438–440; c) P. R. Larsen, M. J. Berry, *Annu. Rev. Nutr.* **1995**, *15*, 323–352.
- [110] a) U. Schweizer, N. Dehina, L. Schomburg, *Curr. Opin. Pediatr.* **2011**, *23*, 429–435; b) D. L. Hatfield, B. A. Carlson, X. M. Xu, H. Mix, V. N. Gladyshev, *Prog. Nucleic Acid Res. Mol. Biol.* **2006**, *81*, 97–142.
- [111] a) P. R. Copeland, J. E. Fletcher, B. A. Carlson, D. L. Hatfield, D. M. Driscoll, *EMBO J.* **2000**, *19*, 306–314; b) S. Seeher, T. Atassi, Y. Mahdi, B. A. Carlson, D. Braun, E. K. Wirth, M. O. Klein, N. Reix, A. C. Miniard, L. Schomburg, D. L. Hatfield, D. M. Driscoll, U. Schweizer, *Antioxid. Redox Signaling* **2014**, *21*, 835–849.
- [112] a) A. M. Dumitrescu, X. H. Liao, M. S. Abdullah, J. Lado-Abeal, F. A. Majed, L. C. Moeller, G. Boran, L. Schomburg, R. E. Weiss, S. Refetoff, *Nat. Genet.* **2005**, *37*, 1247–1252; b) A. M. Dumitrescu, C. Di Cosmo, X. H. Liao, R. E. Weiss, S. Refetoff, *Antioxid. Redox Signaling* **2010**, *12*, 905–920.
- [113] a) A. C. Bianco, D. Salvatore, B. Gereben, M. J. Berry, P. R. Larsen, *Endocr. Rev.* **2002**, *23*, 38–89; b) J. Köhrle, *Methods Enzymol.* **2002**, *347*, 125–167; c) J. Köhrle, M. Aufmkolk, H. Rokos, R. D. Hesch, V. Cody, *J. Biol. Chem.* **1986**, *261*, 11613–11622; d) G. G. J. M. Kuiper, M. H. A. Kester, R. P. Peeters, T. J. Visser, *Thyroid* **2005**, *15*, 787–798.
- [114] a) T. J. Visser, C. H. H. Schoenmakers, *Acta Med. Austriaca* **1992**, *19*, 18–21; b) J. Köhrle, *Mol. Cell. Endocrinol.* **1999**, *151*, 103–119; c) J. Köhrle, F. Jakob, B. Contempré, J. E. Dumont, *Endocr. Rev.* **2005**, *26*, 944–984.
- [115] A. C. Bianco, B. W. Kim, *J. Clin. Invest.* **2006**, *116*, 2571–2579.
- [116] a) A. S. Padron, R. A. Neto, T. U. Pantaleão, M. C. de Souza dos Santos, R. L. Araujo, B. M. de Andrade, M. da S. Leandro, J. P. de Castro, A. C. Ferreira, D. P. de Carvalho, *J. Endocrinol.* **2014**, *221*, 415–427; b) S. G. Ball, J. Sokolov, W. W. Chin, *J. Mol. Endocrinol.* **1997**, *19*, 137–147; c) A. Lanni, M. Moreno, A. Lombardi, P. de Lange, E. Silvestri, M. Ragni, P. Farina, G. C. Baccari, P. Fallahi, A. Antonelli, F. Goglia, *FASEB J.* **2005**, *19*, 1552–1554; d) W. Jonas, J. Lietzow, F. Wohlgemuth, C. S. Hoefig, P. Wiedmer, U. Schweizer, J. Köhrle, A. Schürmann, *Endocrinology* **2015**, *156*, 389–399.
- [117] a) K. Sorimachi, H. J. Cahnmann, *Horm. Metab. Res.* **1979**, *11*, 233–237; b) K. Sorimachi, J. Robbins, *Biochim. Biophys. Acta Gen. Subj.* **1979**, *583*, 443–453; c) I. J. Chopra, *Endocrinology* **1981**, *108*, 464–471; d) M. H. Otten, G. Hennemann, R. Docter, T. J. Visser, *Endocrinology* **1984**, *115*, 887–894; e) R. C. Smallridge, N. E. Whorton, *Metabolism* **1984**, *33*, 1034–1038; f) K. Sorimachi, A. Niwa, Y. Yasumura, *Endocrinol. Jpn.* **1980**, *27*, 631–636.
- [118] a) M. J. Berry, A. L. Maia, J. D. Kieffer, J. W. Harney, P. R. Larsen, *Endocrinology* **1992**, *131*, 1848–1852; b) C. Buetner, J. W. Harney, P. R. Larsen, *Endocrinology* **2000**, *141*, 4606–4612; c) G. G. Kuiper, W. Klootwijk, T. J. Visser, *Endocrinology* **2003**, *144*, 2505–2513.
- [119] U. Schweizer, C. Schlicker, D. Braun, J. Köhrle, C. Steegborn, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2014**, *111*, 10526–10531.
- [120] G. G. Kuiper, W. Klootwijk, T. J. Visser, *J. Mol. Endocrinol.* **2005**, *34*, 865–878.
- [121] I. Callebaut, C. Curcio-Morelli, J. P. Mornon, B. Gereben, C. Buetner, S. Huang, B. Castro, T. L. Fonseca, J. W. Harney, P. R. Larsen, A. C. Bianco, *J. Biol. Chem.* **2003**, *278*, 36887–36896.
- [122] a) G. D. V. Sagar, B. Gereben, I. Callebaut, J. P. Mornon, A. Zeöld, W. S. da Silva, C. Luongo, M. Dentice, S. M. Tente, B. C. G. Freitas, J. W. Harney, A. M. Zavacki, A. C. Bianco, *Mol. Cell. Biol.* **2007**, *27*, 4774–4783; b) G. D. V. Sagar, B. Gereben, I. Callebaut, J. P. Mornon, A. Zeöld, C. Curcio-Morelli, J. W. Harney, C. Luongo, M. A. Mulcahey, P. R. Larsen, S. A. Huang, A. C. Bianco, *Mol. Endocrinol.* **2008**, *22*, 1382–1393.
- [123] K. Goto, D. Sonoda, K. Shimada, S. Sase, T. Kawashima, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, *49*, 545–547; *Angew. Chem.* **2010**, *122*, 555–557.
- [124] a) P. Metrangolo, F. Meyer, T. Pilati, G. Resnati, G. Terraneo, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 6114–6127; *Angew. Chem.* **2008**, *120*, 6206–6220; b) L. C. Gilday, S. W. Robinson, T. A. Barendt, M. J. Langton, B. R. Mullaney, P. D. Beer, *Chem. Rev.* **2015**, *115*, 7118–7195.
- [125] C. A. Bayse, E. R. Rafferty, *Inorg. Chem.* **2010**, *49*, 5365–5367.
- [126] a) D. Manna, G. Mugesh, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, *49*, 9246–9249; *Angew. Chem.* **2010**, *122*, 9432–9435; b) D. Manna, G. Mugesh, *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *133*, 9980–9983; c) D. Manna, G. Mugesh, *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134*, 4269–4279; d) K. Raja, G. Mugesh, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2015**, *54*, 7674–7678; *Angew. Chem.* **2015**, *127*, 7784–7788.
- [127] a) S. Mondal, G. Mugesh, *Chem. Eur. J.* **2014**, *20*, 11120–11128; b) D. Manna, S. Mondal, G. Mugesh, *Chem. Eur. J.* **2015**, *21*, 2409–2416; c) S. Mondal, D. Manna, G. Mugesh, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2015**, *54*, 9298–9302; *Angew. Chem.* **2015**, *127*, 9430–9434.
- [128] U. Schweizer, C. Steegborn, *J. Mol. Endocrinol.* **2015**, *55*, R37–R52.
- [129] M. Rutgers, F. A. Heusdens, T. J. Visser, *Endocrinology* **1989**, *125*, 424–432.
- [130] T. J. Visser, *Chem.-Biol. Interact.* **1994**, *92*, 293–303.
- [131] a) J. A. Mol, T. J. Visser, *Endocrinology* **1985**, *117*, 8–12; b) T. J. Visser, J. A. Mol, M. H. Otten, *Endocrinology* **1983**, *112*, 1547–1549; c) M. H. Otten, J. A. Mol, T. J. Visser, *Science* **1983**, *221*, 81–83.
- [132] M. T. Hays, R. F. L. Cavalieri, *Metabolism* **1992**, *41*, 494–497.
- [133] a) R. M. Evans, *Science* **1988**, *240*, 889–895; b) L. Nagy, J. W. Schwabe, *Trends Biochem. Sci.* **2004**, *29*, 317–324; c) P. Yen, *Physiol. Rev.* **2001**, *81*, 1097–1142.
- [134] P. J. Davis, F. Goglia, J. L. Leonard, *Nat. Rev. Endocrinol.* **2016**, *12*, 111–121.
- [135] G. R. Williams, *Eur. Thyroid J.* **2013**, *2*, 3–13.
- [136] a) J. Mittag, B. Davis, M. Vujoovic, A. Arner, B. Vennstrom, *Endocrinology* **2010**, *151*, 2388–2395; b) H. Gullberg, M. Rudling, C. Salto, D. Forrest, B. Angelin, B. Vennstrom, *Mol. Endocrinol.* **2002**, *16*, 1767–1777.
- [137] a) A. A. Joharapurkar, V. V. Dhote, M. R. Jain, *J. Med. Chem.* **2012**, *55*, 5649–5675; b) B. Sandler, P. Webb, J. W. Apriletti, B. R. Huber, M. Togashi, S. T. C. Lima, S. Juric, S. Nilsson, R. Wagner, R. J. Fletterick, J. D. Baxter, *J. Biol. Chem.* **2004**, *279*, 55801–55808; c) L. Martinez, A. S. Nascimento, F. M. Nunes, K. Phillips, R. Aparicio, S. M. Dias, A. C. Figueira, J. H. Lin, P. Nguyen, J. W. Apriletti, F. A. Neves, J. D. Baxter, P. Webb, M. S. Skaf, I. Polikarpov, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2009**, *106*, 20717–20722.

- [138] A. S. Nascimento, S. M. Gomes Dias, F. M. Nunes, R. Aparício, A. L. B. Ambrosio, L. Bleicher, A. C. M. Figueira, M. A. M. Santos, M. de Oliveira Neto, H. Fischer, M. Togashi, A. F. Craievich, R. C. Garratt, J. D. Baxter, P. Webb, I. Polikarpov, *J. Mol. Biol.* **2006**, *360*, 586–598.
- [139] R. V. Weatherman, R. J. Fletterick, T. S. Scanlan, *Annu. Rev. Biochem.* **1999**, *68*, 559–581.
- [140] C. K. Glass, M. G. Rosenfeld, *Genes Dev.* **2000**, *14*, 121–141.
- [141] a) M. J. Tsai, B. W. O’Malley, *Annu. Rev. Biochem.* **1994**, *63*, 451–486; b) T. Nagaya, L. D. Madison, J. L. Jameson, *J. Biol. Chem.* **1992**, *267*, 13014–13019.
- [142] a) M. Tini, G. Otulakowski, M. L. Breitman, L. C. Tsui, V. Giguère, *Genes Dev.* **1993**, *7*, 295–307; b) K. Umesono, K. K. Murakami, C. C. Thompson, R. M. Evans, *Cell* **1991**, *65*, 1255–1266; c) C. Carlberg, I. Bendik, A. Wyss, E. Meier, L. J. Sturzenbecker, J. F. Grippo, W. Hunziker, *Nature* **1993**, *361*, 657–660.
- [143] I. N. King, T. de Soyza, D. F. Catanzaro, T. N. Lavin, *J. Biol. Chem.* **1993**, *268*, 495–501.
- [144] F. Rastinejad, T. Perlmann, R. M. Evans, P. B. Sigler, *Nature* **1995**, *375*, 203–211.
- [145] a) A. P. Wolffe, *Nature* **1997**, *387*, 16–17; b) M. J. Pazin, J. T. Kadonaga, *Cell* **1997**, *89*, 325–328; c) J. Torchia, C. Glass, M. G. Rosenfeld, *Curr. Opin. Cell Biol.* **1998**, *10*, 373–383.
- [146] a) S. Refetoff, R. E. Weiss, J. R. Wing, D. Sarne, B. Chyna, Y. Hayashi, *Thyroid* **1994**, *4*, 249–254; b) A. M. Dumitrescu, S. Refetoff, *Biochim. Biophys. Acta Gen. Subj.* **2013**, *1830*, 3987–4003.
- [147] a) E. Bochukova, N. Schoenmakers, M. Agostini, E. Schoenmakers, O. Rajanayagam, J. M. Keogh, E. Henning, J. Reinemund, E. Gevers, M. Sarri, K. Downes, A. Offiah, A. Albanese, D. Halsall, J. W. Schwabe, M. Bain, K. Lindley, F. Munttoni, F. Vargha-Khadem, M. Dattani, I. S. Farooqi, M. Gurnell, K. Chatterjee, *N. Engl. J. Med.* **2012**, *366*, 243–249; b) A. van Mullem, R. van Heerebeek, D. Chrysis, E. Visser, M. Medici, M. Andrikoula, A. Tsatsoulis, R. Peeters, T. J. Visser, *N. Engl. J. Med.* **2012**, *366*, 1451–1453; c) A. A. van Mullem, T. J. Visser, R. P. Peeters, *Eur. Thyroid J.* **2014**, *3*, 17–24.
- [148] J. D. Baxter, W. H. Dillmann, B. L. West, R. Huber, J. D. Furlow, R. J. Fletterick, P. Webb, J. W. Apriletti, T. S. Scanlan, *Steroid Biochem. Mol. Biol.* **2001**, *76*, 31–42.
- [149] H. Kiyoshi, I. Kazuo, S. Akihiro, S. Satoru, T. Teiji, K. Mutsuhiro, M. Takahide, A. Miyuki, N. Takeshi, *N. Engl. J. Med.* **1991**, *324*, 947–953.
- [150] B. Nayak, S. P. Hodak, *Endocrinol. Metab. Clin. N. Am.* **2007**, *36*, 617–665.
- [151] D. Cooper, *N. Engl. J. Med.* **2005**, *352*, 905–917.
- [152] a) A. Taurog, M. L. Dorris, *J. Biol. Chem.* **1984**, *259*, 197–205; b) B. Davidson, M. Soodak, J. T. Nearly, H. V. Strout, J. D. Kieffer, H. Mover, F. Maloof, *Endocrinology* **1978**, *103*, 871–882.
- [153] R. Basosi, N. Niccolai, C. Rossi, *Biophys. Chem.* **1978**, *8*, 61–69.
- [154] R. P. Singh, A. Singh, G. S. Kushwaha, A. K. Singh, P. Kaur, S. Sharma, T. P. Singh, *Acta Crystallogr. Sect. F* **2015**, *71*, 304–310.
- [155] a) G. Roy, M. Nethaji, G. Mugesh, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 2712–2713; b) G. Roy, G. Mugesh, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 15207–15217; c) G. Roy, D. Das, G. Mugesh, *Inorg. Chim. Acta* **2007**, *360*, 303–316; d) D. Das, G. Roy, G. Mugesh, *J. Med. Chem.* **2008**, *51*, 7313–7317.
- [156] A. Taurog, M. L. Dorris, L. J. Guziec, F. S., Jr. Guziec, *Biochem. Pharmacol.* **1994**, *48*, 1447–1453.
- [157] K. P. Bhabak, G. Mugesh, *Inorg. Chim. Acta* **2010**, *363*, 2812–2818.
- [158] D. Manna, G. Roy, G. Mugesh, *Acc. Chem. Res.* **2013**, *46*, 2706–2715.
- [159] C. T. Sawin, D. V. Becker, *Thyroid* **1997**, *7*, 163–176.
- [160] P. Abraham, S. Acharya, *Ther. Clin. Risk Manage.* **2010**, *6*, 29–40.
- [161] J. A. Franklyn, *N. Engl. J. Med.* **1994**, *330*, 1731–1738.
- [162] S. Acharya, A. Avenell, S. Philip, J. Burr, J. S. Bevan, P. Abraham, *Clin. Endocrinol.* **2008**, *69*, 943–950.
- [163] C. H. Read, M. J. Tansey, Y. Menda, *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **2004**, *89*, 4229–4233.
- [164] a) P. H. Jones, J. A. Farmer, *Curr. Atheroscler. Rep.* **2008**, *10*, 142–148; b) P. M. Ridker, E. Dielson, F. A. H. Fonseca, J. Genest, A. M. Gotto, Jr., J. J. P. Kastelein, W. Koenig, P. Libby, A. J. Lorenzatti, J. G. MacFadyen, B. G. Nordestgaard, J. Shepherd, J. T. Willerson, R. J. Glynn, *N. Engl. J. Med.* **2008**, *359*, 2195–2207.
- [165] J. D. Baxter, P. Webb, *Nat. Rev. Drug Discovery* **2009**, *8*, 308–320.
- [166] S. Ayers, P. Webb, *J. Endocrinol. Diabetes Obes.* **2014**, *2*, 1042–1053.
- [167] D. Lopez, J. F. A. Socarrás, M. Bedi, G. C. Ness, *Biochim. Biophys. Acta* **2007**, *1771*, 1216–1225.
- [168] L. Johansson, M. Rudling, T. S. Scanlan, T. Lundåsen, P. Webb, J. Baxter, B. Angelin, P. Parini, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2005**, *102*, 10297–10302.
- [169] S. J. Nicholls, S. E. Nissen, *Curr. Opin. Lipidol.* **2007**, *18*, 421–426.
- [170] L. Calabresi, C. R. Sirtori, R. Paoletti, G. Franceschini, *Curr. Atheroscler. Rep.* **2006**, *8*, 163–167.
- [171] W. F. Young, Jr., C. A. Gorman, N. S. Jiang, D. Machacek, I. D. Hay, *Clin. Pharmacol. Ther.* **1984**, *36*, 781–787.
- [172] S. I. Sherman, M. D. Ringel, M. J. Smith, H. A. Kopelen, W. A. Zoghbi, P. W. Ladenson, *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **1997**, *82*, 2153–2158.
- [173] a) R. L. Wagner, J. W. Apriletti, M. E. McGrath, B. L. West, J. D. Baxter, R. J. Fletterick, *Nature* **1995**, *378*, 690–697; b) R. L. Wagner, B. R. Huber, A. K. Shiao, A. Kelly, S. T. C. Lima, T. S. Scanlan, J. W. Apriletti, J. D. Baxter, B. L. West, R. J. Fletterick, *Mol. Endocrinol.* **2001**, *15*, 398–410.
- [174] L. Martínez, A. S. Nascimento, F. M. Nunes, K. Phillips, R. Aparício, S. M. Dias, A. C. M. Figueira, J. H. Lin, P. Nguyen, J. W. Apriletti, F. A. R. Neves, J. D. Baxter, P. Webb, M. S. Skaf, I. Polikarpov, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2009**, *106*, 20717–20722.
- [175] M. D. Erion, E. E. Cable, B. R. Ito, H. Jiang, J. M. Fujitaki, P. D. Finn, B. H. Zhang, J. Hou, S. H. Boyer, P. D. aan Poelje, D. L. Linemeyer, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2007**, *104*, 15490–15495.
- [176] M. O. Ribeiro, *Thyroid* **2008**, *18*, 197–203.
- [177] G. J. Grover, K. Mellström, L. Ye, J. Malm, Y. Li, L. Bladh, P. G. Slep, J. Speelman, D. Egan, J. D. Baxter, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2003**, *100*, 10067–10072.
- [178] a) M. O. Ribeiro, S. D. C. Bianco, M. Kaneshige, J. J. Schultz, S. Cheng, A. C. Bianco, G. A. Brent, *Endocrinology* **2010**, *151*, 432–440; b) J. Wu, P. Cohen, B. M. Spiegelman, *Genes Dev.* **2013**, *27*, 234–250.
- [179] a) G. I. Shulman, P. W. Ladenson, M. H. Wolfe, E. C. Ridgway, R. R. Wolfe, *J. Clin. Invest.* **1985**, *76*, 757–764; b) K. F. Petersen, J. B. Blair, G. I. Shulman, *Metabolism* **1995**, *44*, 1380–1383; c) K. F. Petersen, G. W. Cline, J. B. Blair, G. I. Shulman, *Am. J. Physiol.* **1994**, *267*, E273–E277.
- [180] a) G. J. Grover, D. M. Egan, P. G. Slep, B. C. Beehler, G. Chiellini, N. Nguyen, J. D. Baxter, T. S. Scanlan, *Endocrinology* **2004**, *145*, 1656–1661; b) C. M. Villicev, F. R. S. Freitas, M. S. Aoki, C. Taffarel, T. S. Scanlan, A. S. Moriscot, M. O. Ribeiro, A. C. Bianco, C. H. A. Gouveia, *J. Endocrinol.* **2007**, *193*, 21–29.
- [181] a) A. Perra, G. Simbula, M. Simbula, M. Pibiri, M. A. Kowalik, P. Sulas, M. T. Cocco, G. M. Ledda-Columbano, A. Columbano, *FASEB J.* **2008**, *22*, 2981–2989; b) E. E. Cable, P. D. Finn, J. W.

- Stebbins, J. Hou, B. R. Ito, P. D. van Poelje, D. L. Linemeyer, M. D. Erion, *Hepatology* **2009**, *49*, 407–417.
- [182] S. Melmed, K. S. Polonsky, P. R. Larsen, H. M. Kronenberg in *Williams Textbook of Endocrinology*, 12th Aufl., Elsevier/Saunders, Philadelphia, **2011**, S. 1371–1435.
- [183] V. Kumar, N. Fausto, A. K. Abbas, R. S. Cotran, S. L. Robbins in *Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease*, 7. Aufl., Saunders, Philadelphia, **2005**, S. 1194–1195.
- [184] M. Potenza, M. A. Via, R. T. Yanagisawa, *Endocr. Pract.* **2009**, *15*, 254–262.
- [185] L. C. Moeller, M. Broecker-Preuss, *Thyroid Res.* **2011**, *4*, S6, 1–7.
- [186] F. Furuya, H. Shimura, S. Yamashita, T. Endo, T. Kobayashi, *J. Biol. Chem.* **2010**, *285*, 24477–24486.
- [187] M. A. Kowalik, A. Perra, M. Pibiri, M. T. Cocco, J. Samarut, M. Plateroti, G. M. Ledda-Columbano, A. Columbano, *J. Hepatol.* **2010**, *53*, 686–692.
- [188] N. Frank, S. B. Elliott, R. C. Boston, *Am. J. Vet. Res.* **2008**, *69*, 76–81.
- [189] L. H. Canani, C. Capp, J. M. Dora, E. L. S. Meyer, M. S. Wagner, J. W. Harney, P. R. Larsen, J. L. Gross, A. C. Bianco, A. L. Maia, *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **2005**, *90*, 3472–3478.
- [190] G. Bryzgalova, S. Effendic, A. Khan, S. Rehnmark, P. Barbouris, J. Boulet, G. Dong, R. Singh, S. Shapses, J. Malm, P. Webb, J. D. Baxter, G. J. Grover, *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* **2008**, *111*, 262–267.
- [191] a) A. L. Maia, B. W. Kim, S. A. Huang, J. W. Henry, P. R. Larsen, *J. Clin. Invest.* **2005**, *115*, 2524–2533; b) P. Laurberg, H. Vestergaard, S. Nielsen, S. E. Christensen, T. Seefeldt, K. Helleberg, K. M. Pedersen, *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **2007**, *92*, 2149–2156.
- [192] a) A. L. Maia, J. D. Kieffer, J. W. Harney, P. R. Larsen, *Endocrinology* **1995**, *136*, 4842–4849; b) S. W. Kim, J. W. Harney, P. R. Larsen, *Endocrinology* **1998**, *139*, 4895–4905.
- [193] a) A. Taurog, M. L. Dorris, W. X. Hu, F. S. Guziec, Jr., *Biochem. Pharmacol.* **1995**, *49*, 701–709; b) W. W. du Mont, G. Mugesh, C. Wismach, P. G. Jones, *Angew.* *Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 2486–2489; *Angew. Chem.* **2001**, *113*, 2547–2550; c) G. Mugesh, W. W. du Mont, C. Wismach, P. G. Jones, *ChemBioChem* **2002**, *3*, 440–447; d) G. Mugesh, L. O. Klotz, W. W. du Mont, K. Becker, H. Sies, *Org. Biomol. Chem.* **2003**, *1*, 2848–2852.
- [194] E. Rijntjes, P. M. Scholz, G. Mugesh, J. Köhrle, *Eur. Thyroid. J.* **2013**, *2*, 252–258.
- [195] a) S. A. Huang, H. M. Tu, J. W. Harney, M. Venihaki, A. J. Butte, H. P. Kozakewich, S. J. Fishman, P. R. Larsen, *N. Engl. J. Med.* **2000**, *343*, 185–189; b) M. Dentice, D. Antonini, D. Salvatore, *Expert Opin. Ther. Targets* **2013**, *17*, 1369–1379; c) M. A. Maynard, A. Marino-Enriquez, J. A. Fletcher, D. M. Dorfman, C. P. Raut, L. Yassa, C. Guo, Y. Wang, C. Dorfman, H. A. Feldman, M. C. Frates, H. Song, R. H. Jugo, T. Taguchi, J. M. Hershman, P. R. Larsen, S. A. Huang, *N. Engl. J. Med.* **2014**, *370*, 1327–1334; d) V. Catalano, M. Dentice, R. Ambrosio, C. Luongo, R. Carollo, A. Benfante, M. Todaro, G. Stassi, D. Salvatore, *Cancer Res.* **2016**, *76*, 1237–1244.
- [196] a) M. L. Rosene, G. Wittmann, R. A. Drigo, P. S. Singru, R. M. Lechan, A. C. Bianco, *Endocrinology* **2010**, *151*, 5961–5970; b) C. S. Hoefig, F. Hiller, L. Schomburg, J. Köhrle, *Endocrinology* **2012**, *153*, 2506–2513.
- [197] D. Fekkes, G. Hennemann, T. J. Visser, *FEBS Lett.* **1982**, *137*, 40–44.
- [198] M. Auf'mkolk, J. Köhrle, R. D. Hesch, S. H. Ingbar, V. Cody, *Biochem. Pharmacol.* **1986**, *35*, 2221–2227.
- [199] A. C. Ferreira, P. C. Lisboa, K. J. Oliveira, L. P. Lima, I. A. Barros, D. P. Carvalho, *Food Chem. Toxicol.* **2002**, *40*, 913–917.
- [200] a) C. M. Butt, D. Wang, H. M. Stapleton, *Toxicol. Sci.* **2011**, *124*, 339–347; b) R. Shimizu, M. Yamaguchi, N. Uramaru, H. Kuroki, S. Ohta, S. Kitamura, K. Sugihara, *Toxicology* **2013**, *314*, 22–29.

Eingegangen am 31. Januar 2016

Online veröffentlicht am 25. Mai 2016