La Serie Universitaria de la Fundación Juan March presenta resúmenes, realizados por el propio autor, de algunos estudios e investigaciones llevados a cabo por los becarios de la Fundación y aprobados por los Asesores Secretarios de los distintos Departamentos.

El texto íntegro de las Memorias correspondientes se encuentra en la Biblioteca de la Fundación (Castello, 77. Madrid-6).

La lista completa de los trabajos aprobados se presenta, en forma de fichas, en los Cuadernos Bibliográficos que publica la Fundación Juan March.

Estos trabajos abarcan las siguientes especialidades: Arquitectura y Urbanismo; Artes Plásticas; Biología; Ciencias Agrarias; Ciencias Sociales; Comunicación Social; Derecho; Economía; Filosofía; Física; Geología; Historia; Ingeniería; Literatura y Filología; Matemáticas; Medicina, Farmacia y Veterinaria; Música; Química; Teología. A ellas corresponden los colores de la cubierta.

Edición no venal de 300 ejemplares, que se reparte gratuitamente a investigadores, Bibliotecas y Centros especializados de toda España.

Este trabajo fue realizado con una Beca de la Convocatoria: España, 1977, individual. Departamento de MEDICINA, FARMACIA Y VETERINARIA. Centro de trabajo: Instituto Gregorio Marañón del C. S. I. C. Madrid.

Fundación Juan March

FJM-Uni 82-Lam
Mecanismo de las reacciones de i
Lamas de León, Luis.
1031612
Biblioteca FJM

Mecanismo de las reacciones de iodación y acoplamiento en el tiroides/Luis Lamas de León

82

SERIE UNIVERSITARIA

Fundación Juan March

Mecanismo de las reacciones de iodación y acoplamiento en el tiroides

Luis Lamas de León

FJM
Uni-
82
Lam
82

Fundación Juan March (Madrid)

Fundación Juan March (Madrid)

Fundación Juan March

Serie Universitaria

FUNDACION JUAN MARCH
EX LIBRIS

82

Mecanismo de las reacciones de iodación y acoplamiento en el tiroides

Luis Lamas de León

Fundación Juan March
Castelló, 77. Teléf. 225 44 55
Madrid - 6

Fundación Juan March (Madrid)

La Fundación Juan March no se solidariza necesariamente con las opiniones de los autores cuyas obras publica.

Depósito Legal: M - 6423 - 1979
I.S.B.N.. 84 - 7075 - 117 - 4.
Ibérica , Tarragona,34. - Madrid -

Fundación Juan March (Madrid)

INDICE

	Página
INTRODUCCION	1
MATERIALES Y METODOS	3
2.1. Tiroglobulina	3
2.2 Iodación enzimática	4
2.3. Iodación con CLT	5
2.4. Acoplamiento enzimático	6
2.5. Acoplamiento con CLT	7
2.6. Presentación de resultados	7
RESULTADOS	8
3.1. Cinética de la reacción de acoplamiento	8
3.2. Eficiencia de la reacción de iodación LPO frente a CLT	10
3.3. Eficiencia de la reacción de acoplamiento: LPO frente a CLT	14
DISCUSION	18
BIBLIOGRAFIA	24

Fundación Juan March (Madrid)

Fundación Juan March (Madrid)

1.- INTRODUCCION

La composición de iodoaminoácidos de la tiroglobulina (Tgb) ha sido estudiada en diversos laboratorios *in vivo* e *in vitro* por iodación química o enzimática (1,2). La formación de hormonas iodadas es más eficiente *in vivo* que *in vitro* (3, 4) y por vía enzimática más que por vía química puesto que, para niveles comparables de iodación, la última da una mayor proporción de iodotirosinas (MIT y DIT) pero menor de iodotironinas (T_3 y T_4) (5,6). Se ha aislado peroxidasa a partir de tiroides y glándulas salivares de rata y actualmente ha sido purificada a partir de varias fuentes (7). Para estudiar las reacciones de iodación y acoplamiento, varios laboratorios (1,2,5,8) han utilizado un modelo experimental *in vitro* compuesto por: ioduro, una proteina aceptora, peroxidasa y peróxido de hidrógeno (o un sistema generador del mismo). En la actualidad es generalmente aceptado que tanto la reacción de iodación como la de acoplamiento en el tiroides son catalizadas por una peroxi-

Fundación Juan March (Madrid)

dasa pero el mecanismo exacto permanece aún oscuro (1,2). Pommier y colaboradores (8) y Gavaret y colaboradores (9) han estudiado el efecto de la concentración de ioduro sobre la síntesis de tiroxina (T_4) por la peroxidasa tiroidea (TPO). Más recientemente Dème y colaboradores (10,11) han descrito que la peroxidasa cataliza la reacción de acoplamiento en Tgb más lentamente que la reacción de iodación y que la formación de iodotironinas comienza tras un período de latencia constante cualquiera que sea el nivel de iodación de la proteina. También describieron que bajo sus condiciones experimentales se requiere la presencia de ioduro para que tenga lugar la formación de las hormonas iodadas.

El presente trabajo ha sido emprendido para aclarar si la peroxidasa simplemente suministra la forma activa de iodo, la cual a su vez cataliza por sí sola la reacción de iodación y de acoplamiento, o bien si el iodo y el enzima están ambos implicados. Para ello hemos comparado la

Fundación Juan March (Madrid)

eficiencia de lactoperoxidasa (LPO) y cloramina T (CLT), un agente oxidante conocido por catalizar la iodación de proteinas en presencia de ioduro. Hemos determinado el patrón de distribución de los distintos iodoaminoácidos en Tgb pobre en iodo a diversos tiempos de reacción.

Presentamos evidencia de que LPO es mucho más eficiente que CLT tanto en presencia como en ausencia de ioduro añadido mientras que CLT apenas cataliza la formación de iodotironinas a partir de las iodotirosinas preformadas.

2. MATERIALES Y METODOS

2.1. Tiroglobulina

Tgb procedente de un bocio humano nos ha sido gentilmente regalada por el Dr. Alvin Taurog, Health Science Center, Dallas, (USA). Fue preparada a partir de un bocio enorme mandado por el Dr. Geraldo Medeiros Neto, Universidad de Sao Paolo, Brasil, por filtración en columna de gel (biogel A-5, 200-400 mesh). Su contenido en iodo

Fundación Juan March (Madrid)

era del 0.04 %, correspondiendo aproximadamente a 2 átomos de iodo por mol de proteína. La concentración molar de Tgb era determinada midiendo la absorción a 280 nm. utilizando un coeficiente de extinción ($E_{280}^{1\%}$) de 10.0 y un peso molecular de 670.000 daltons.

2.2 Iodación enzimática

La mezcla de reacción contenía por ml.: 2.5-5 µg LPO ($A_{412}:A_{280}$ = 0.8) Sigma, 1 nmol Tgb, 50-100 nmoles de ioduro (I^{131}) de actividad específica conocida y constante, 50-60 nmoles de fosfato pH 7.0 y un sistema generador de H_2O_2 consistente en 0.5-1mg. de glucosa monohidrato Merck y 0.5-1.0 µg de glucosa oxidasa (G.O.) tipo IX (25000 unidades/g. sólido) Sigma. la incubación se hizo a temperatura ambiente (aproximadamente 20º C) o a 37º C durante intervalos crecientes de tiempo. Distintos grados de iodación de la proteina se obtuvieron modificando el tiempo de incubación, la concentración de ioduro, de peroxidasa y/o del sistema generador de

Fundación Juan March (Madrid)

H_2O_2. La reacción se paraba transfiriendo alícuotas de la mezcla de reacción a tubos mantenidos sobre hielo y conteniendo 1-metil-2 mercapto imidazol (MMI) a una concentración final de 15 mM. El iodo ligado a la proteina y el ioduro libre eran separados por cromatografía corta en butanol-etanol-amonio (5:1:2) (12). El número de átomos de iodo libres y ligados por mol de Tgb eran calculados a partir del iodo ligado por mol de la actividad específica del iodo y de la concentración de proteina. A partir de este valor y de la distribución porcentual se calculó el número de residuos de cada iodoaminoácido por mol de proteina.

2.3. Iodación con CLT

La mezcla de reacción contenía por ml: 5 µg de CLT Fluka AG, preparada extemporaneamente, 1 nmol de Tgb, 50-100 nmoles de ioduro (I^{131}) de actividad específica conocida, 50-70 nmoles de fosfato pH 7.0. La incubación se hizo a temperatura ambiente (20º C). Grados de iodación cre-

Fundación Juan March (Madrid)

cientes se obtuvieron variando el tiempo de incubación. La reacción era parada transfiriendo alícoutas de la mezcla de reacción a tubos mantenidos sobre hielo conteniendo metabisulfito sódico Merck preparado extemporáneamente (concentración final 15 nM). El número de átomos de iodo ligados por mol de proteina fueron calculados de la forma descrita anteriormente.

2.4. Acoplamiento enzimático

Experimentos de acoplamiento se realizaron de la forma descrita previamente (5,13,14). La mezcla de reacción contenía por ml.: 2.5-5 µg LPO, 1 nmol de Tgb iodada previamente por vía química, 0.5-1 mg. de glucosa, 0.5-1 µg de G.O. y 50-70 nmoles de fosfato pH 7.0. La incubación se llevó a cabo a 37º C por intervalos crecientes de tiempo. Tras la incubación, se determinaba la fracción del iodo total en forma libre y ligada a la proteina por cromatografía corta en BEA de la forma arriba descrita.

Fundación Juan March (Madrid)

2.5. Acoplamiento con CLT

En esencia la reacción era similar a la descrita para LPO, excepto en que la mezcla de reacción contenía 5 μg de CLT en vez del sistema peroxidasa y la reacción era parada con metabisulfito.

La digestión proteolítica de la Tgb marcada, la determinación de la distribución de iodoaminoácidos y el cálculo del número de residuos de MIT, DIT, T_3 y T_4 se hizo de la forma descrita previamente (5, 13, 14), pero la separación cromatográfica tras la digestión con pronasa se llevó a cabo en BEA en tiras de papel Whatmann 3 sobre las que se añadían MIT, DIT, I^-, T_3 y T_4 en metanol-amonio como transportadores para facilitar la separación e identificación de los distintos compuestos iodados (12).

2.6 Presentación de resultados

Cada experimento se ha realizado por lo menos tres veces y sólo se presentan resultados reproducibles.

Fundación Juan March (Madrid)

3.- RESULTADOS

3.1 Cinética de la reacción de acoplamiento

La figura 1 muestra la distribución de iodoaminoácidos en Tgb premarcada químicamente con I^{131} a un nivel de 22.2 átomos de iodo por mol de Tgb tras incubación en presencia del sistema peroxidasa por intervalos crecientes de tiempo. Las muestras controles tratadas con el sistema generador de agua oxigenada pero sin peroxidasa presentan un patrón de iodoaminoácidos relativamente constante. A medida que el tiempo de incubación aumenta, las muestras tratadas en presencia del sistema completo presentan un descenso progresivo en la proporción relativa de DIT y menor en la de MIT. Estos cambios van acompañados con un aumento de la proporción de I^{131} encontrado en forma de T_4 y uno menor en forma de T_3. Además como hemos descrito previamente (5) se observaba una proporción elevada del I^{131} en forma de material en el origen (Or) la cual aumentaba progresivamente con el tiempo de incubación.

Fundación Juan March (Madrid)

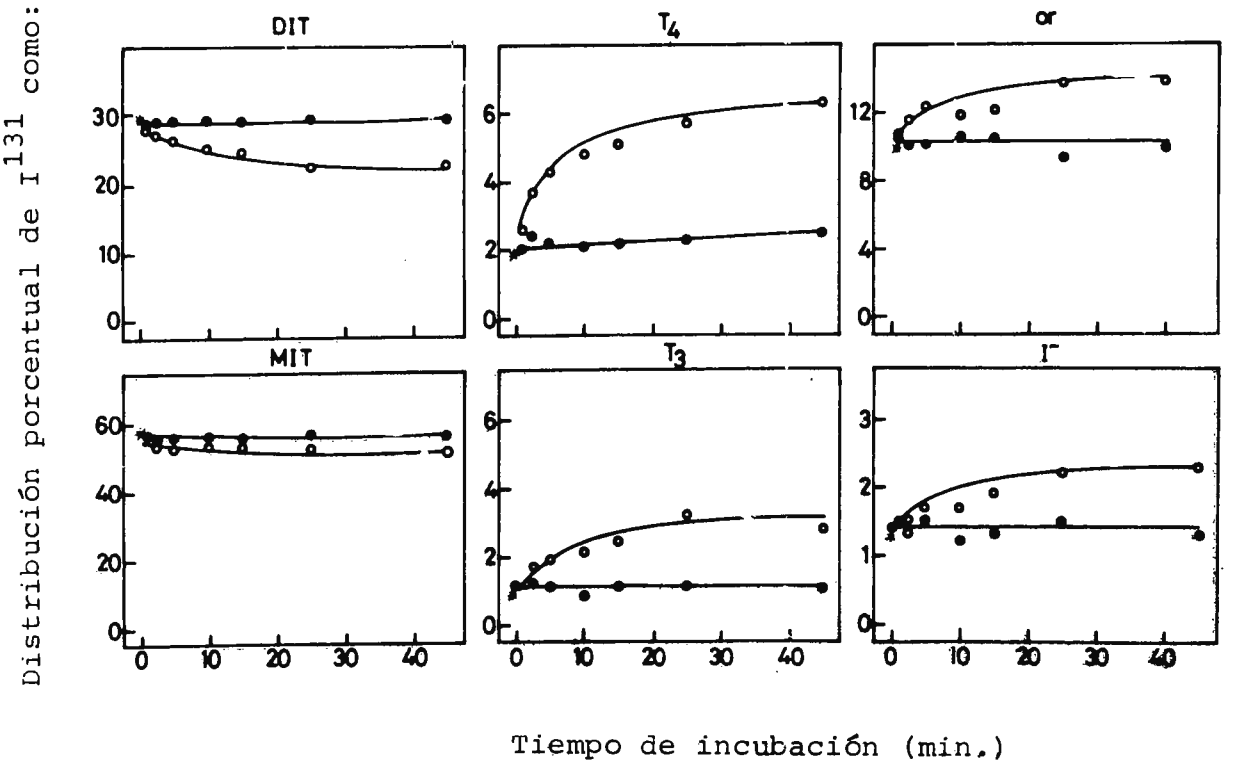

Figura 1. Patrón de distribución de iodoaminoácidos de Tgb iodada químicamente (22.2 at.I/mol) determinado antes (*) y después de acoplamiento con el sistema peroxidasa por intervalos crecientes de tiempo.
●——● muestras control H_2O_2 ; o——o muestras LPO+H_2O_2.

Fundación Juan March (Madrid)

La proporción de I^{131} encontrado en forma de ioduro también aumentaba en las muestras que contenían peroxidasa, pero no en los controles. La concentración de ioduro en forma libre en el medio de incubación aumentaba desde aproximadamente 1.3 x 10^{-7} M antes de la adición del sistema peroxidasa hasta alrededor de 2.5 x 10^{-7} M tras añadirlo.

3.2. Eficiencia de la reacción de iodación LPO frente a CLT.

La figura 2 muestra la distribución de iodoaminoácidos de Tgb iodada *in vitro* con LPO a 20 y 37º C y con CLT a 20º C correspondiente a distintos tiempos de incubación. Las muestras tratadas con LPO presentan una rápida disminución en la proporción de MIT mientras que la de DIT aumenta a intervalos tempranos alcanzando una meseta a tiempos más largos. La proporción de iodotironinas aumenta con el tiempo, siendo la de T_4 mayor siempre que la de T_3. Estos cambios son menos marcados a 20 que a 37º C.

Fundación Juan March (Madrid)

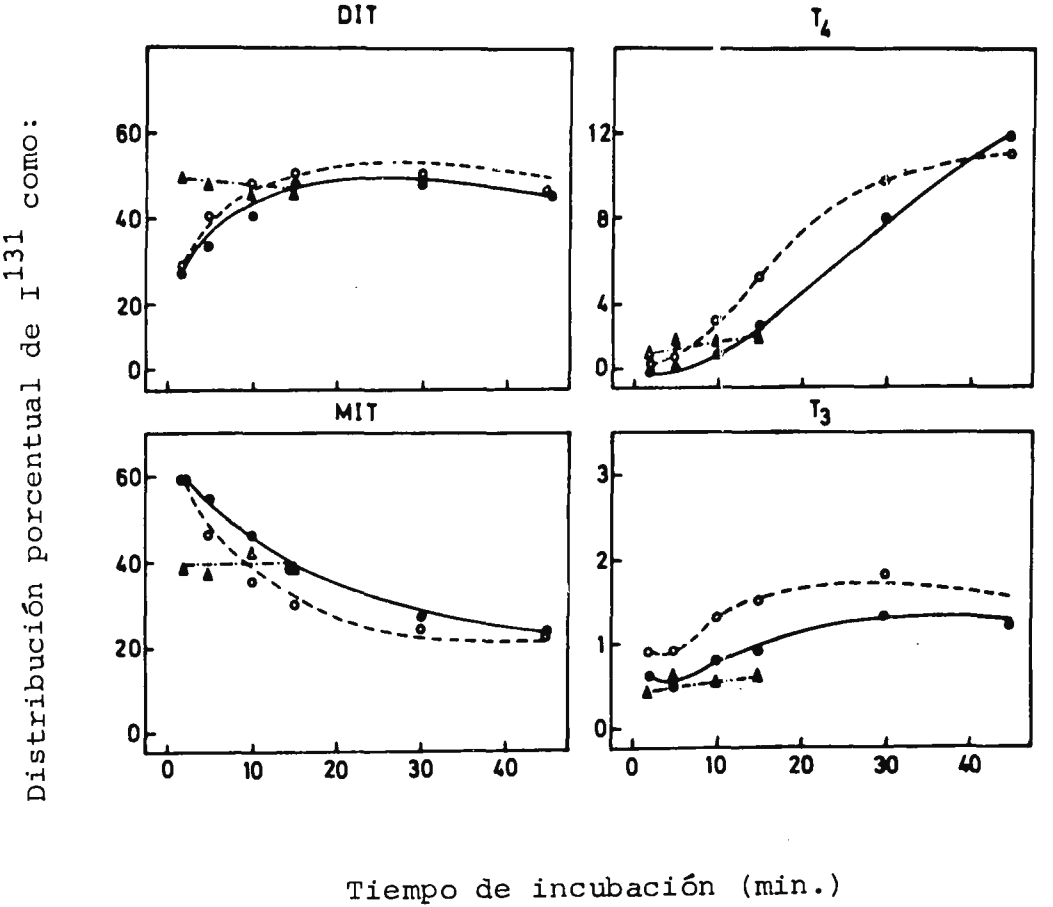

Figura 2. Patrón de distribución de iodoaminoácidos de Tgb pobre en iodo tras iodación a 20°C (●——●) y a 37°C (o----o) con el sistema peroxidasa y con CLT a 20°C (▲----▲). Concentración de ioduro 10^{-4}M.

Fundación Juan March (Madrid)

Inicialmente la CLT cataliza la reacción más rápidamente que LPO como puede verse por la mayor proporción de DIT, la menor de MIT, las proporciones similares de T_4 y menores de T_3 a intervalos de tiempo muy cortos. Sin embargo tras períodos más largos de incubación, la formación de T_3 y T_4 es menor que en las muestras tratadas con LPO, debido al mínimo aumento producido por CLT.

Bajo nuestras condiciones experimentales no hemos encontrado período de latencia dependiente del tiempo para la formación de iodotironinas (Fig. 2) incluso cuando las concentraciones standard fueron reducidas a 5: x 10^{-5}M ioduro, 2.5 µg/ml LPO, 0.5 mg/ml glucosa, 0.5 µg/ml G.O., manteniendo constante la concentración de Tgb. La figura 3 muestra los datos del experimento presentado en la figura 2, pero representados en forma de residuos de cada iodoaminoácido frente al número de átomos de iodo ligados por mol de proteina. Esta representación nos permite comparar la

Fundación Juan March (Madrid)

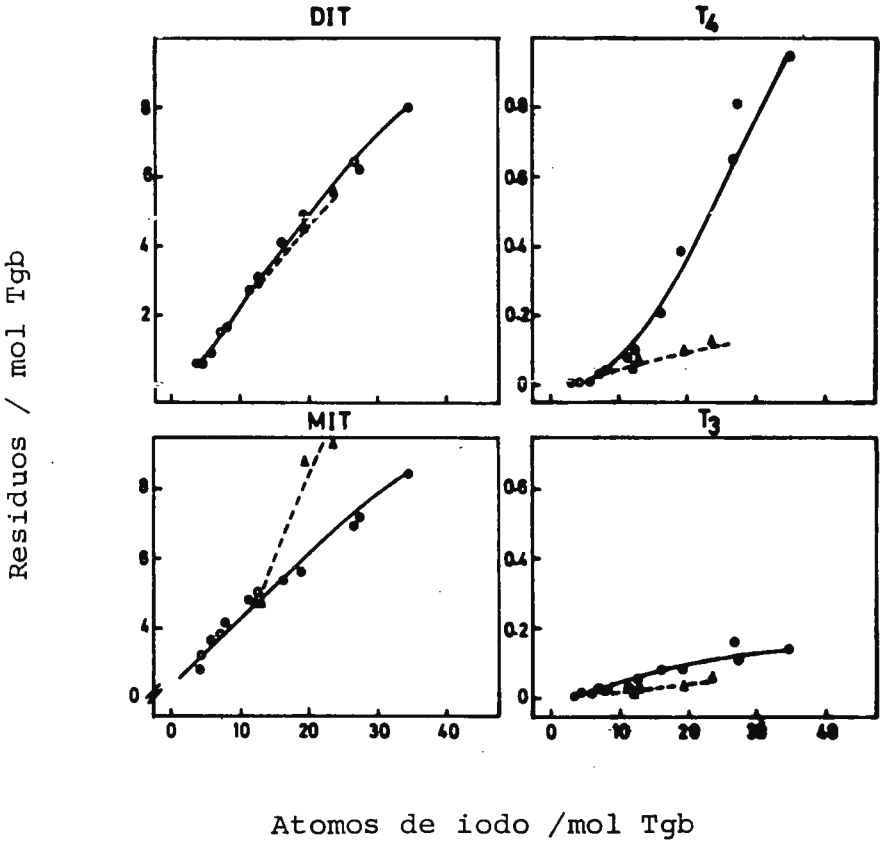

Figura 3. Número de residuos de MIT,DIT,T_3 y T_4 formados frente al número de átomos de iodo ligados por mol de Tgb correspondientes al experimento descrito en la fig.2

Fundación Juan March (Madrid)

eficiencia de la reacción independientemente de su velocidad. Al hacer esto, queda claro que LPO es más eficiente que CLT en cuanto a la formación de iodotironinas para niveles comparables de iodación. Más aún, los patrones de iodoaminoácidos distintos obtenidos a 20 y a 37 º C (Fig.2) para las muestras tratadas con LPO han desaparecido, sugiriendo que la temperatura de incubación afecta la velocidad, pero no la eficiencia de la reacción. La figura 4 muestra los resultados obtenidos utilizando una concentración de ioduro de 5×10^{-5}M con dos distintas concentraciones del sistema peroxidasa. Como puede verse, bajo estas condiciones la formación de iodotirosinas y de iodotironinas depende del nivel de iodación de la proteina y no de la concentración de peroxidasa y/o de la de glucosa-G.O.

3.3. Eficiencia de la reacción de acoplamiento: LPO frente a CLT.

A pesar de que ya de la figura 3 se podía adivinar que CLT no es un agente catalítico muy po-

Fundación Juan March (Madrid)

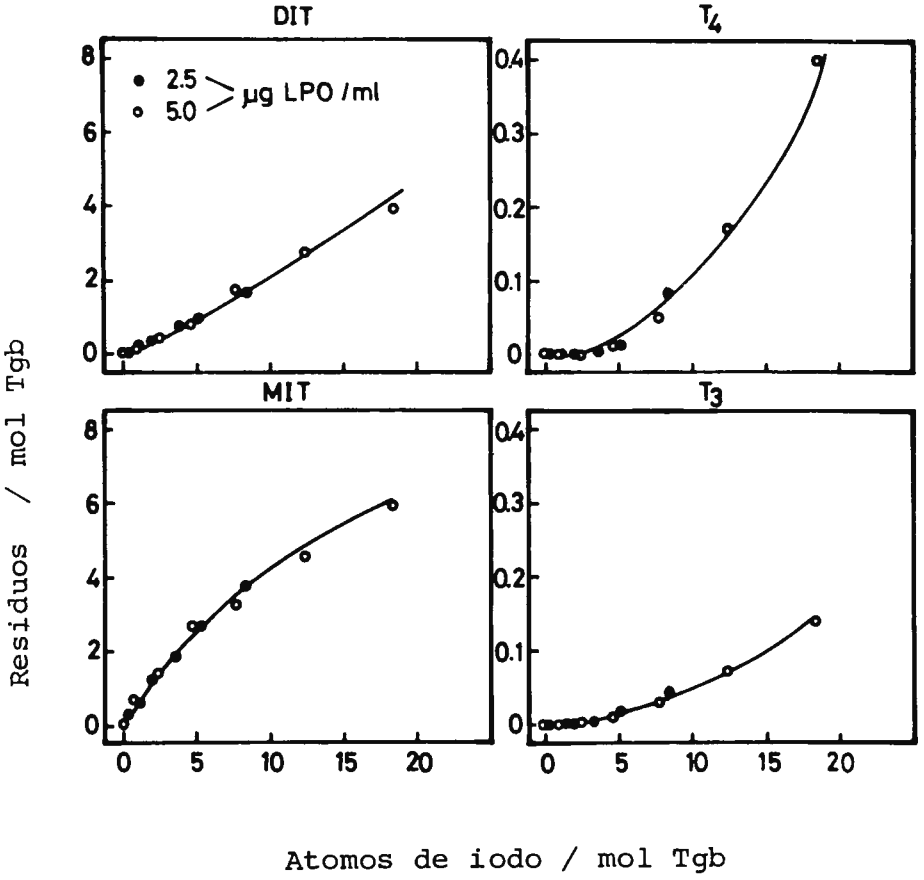

Figura 4. Número de residuos de iodotirosinas y de iodo tironinas formados por iodación enzimática (37°C) de Tgb pobre en iodo en presencia de 5 x 10^{-5}M I^- con 5 ug LPO/m 1 mg glucosa/ml y 1 ug G.O./ml (o----o) o con 2.5 ug LPO/' /ml,0.5 mg glucosa/ml y 0.5 ug G.O./ml (●----●).

Fundación Juan March (Madrid)

tente de la reacción de acoplamiento, diseñamos un experimento para comparar directamente su eficiencia con la de LPO en ausencia de reacción de iodación (5,13,14). La figura 5 muestra la distribución de iodoaminoácidos de Tgb iodada previamente por vía química a un nivel de 40 átomos de iodo por mol e incubada con el sistema peroxidasa o con CLT. Las muestras tratadas con LPO presentan una disminución gradual en la proporción de DIT, no se aprecian cambios en la proporción de MIT y la proporción de iodotironinas aumenta gradualmente en especial la de T_4. La proporción de Or y de ioduro también aumentan. Estos cambios son mayores a 37 que a 20 ª C. Con CLT no se aprecian cambios en la proporción de iodotironinas, Or ni ioduro. Al intervalo más corto de tiempo (1 min.) hay un aumento muy pequeño en la proporción de T_4 con respecto a las muestras controles pero tanto la proporción de T_4 como la de T_3 permanecen constantes a partir de ahí. Aunque no se muestra en la figura 5, hay un aumento en la con-

Fundación Juan March (Madrid)

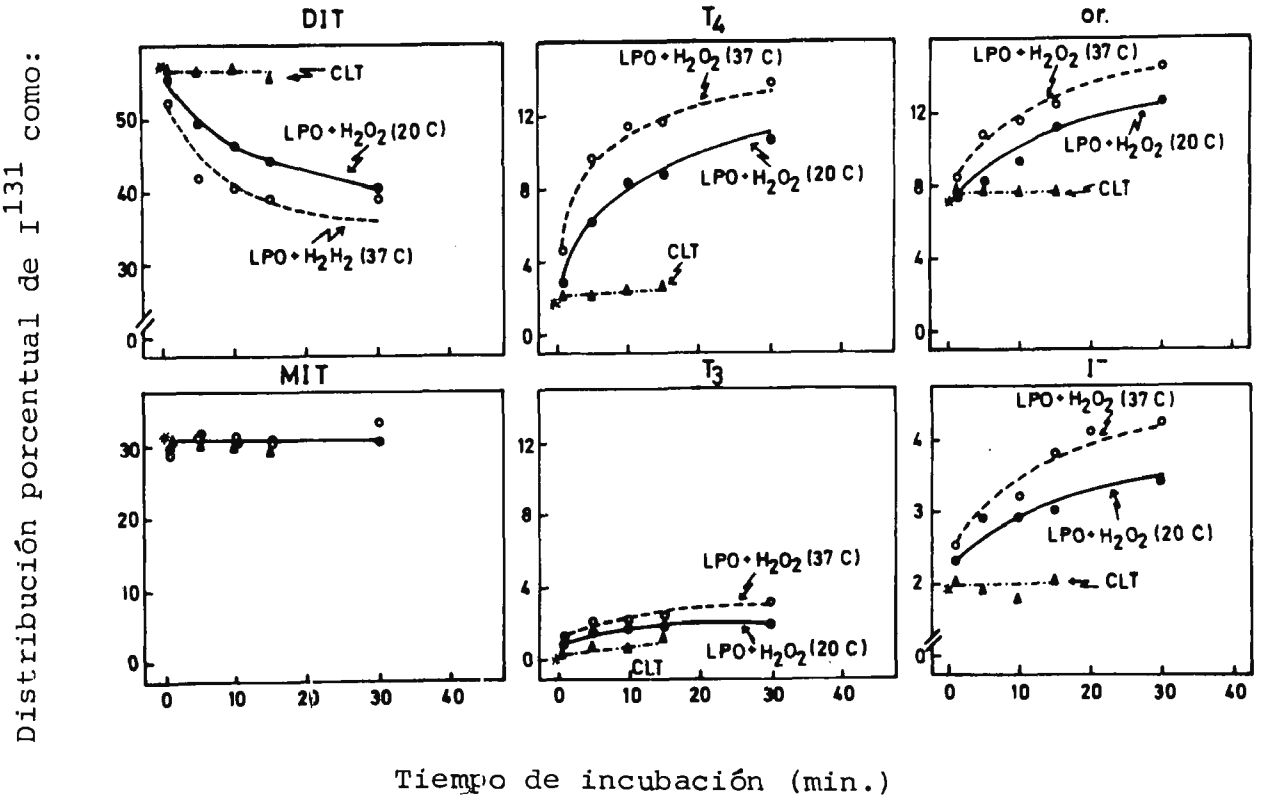

figura 5. Patrón de distribución de iodoaminoácidos de Tgb iodada químicamente (40 atomos I/mol) determinado antes (*) y después de acoplamiento con el sistema peroxidasa a 20°C (●----●) y a 37°C (o----o) y con CLT (Δ----Δ) a 20°C por intervalos crecientes de tiempo.

Fundación Juan March (Madrid)

centración de ioduro libre presente en la mezcla de reacción en las muestras tratadas con LPO pero no en las tratadas con CLT.

4.- DISCUSION

El ioduro tiene que ser oxidado a un estado más elevado de oxidación antes de poder actuar como agente iodante. Ha sido demostrado que la oxidación del ioduro es catalizada por la peroxidasa (1,2) y se ha descrito la formación de un complejo peroxidasa-ioduro (16). Sin embargo no se ha establecido de una forma concluyente la naturaleza exacta de la forma activa de iodo en en tiroides *in vivo* (1,2,17). La iodación de los residuos tiroideos de la Tgb en el tiroides podría ser llevada a cabo por el iodo formado por oxidación del ioduro por la peroxidasa o bien por un complejo enzima-ioduro oxidado. Taurog (18) ha presentado evidencia de que el iodo molecular (I_2) no es probable que sea la especie iodante en la iodación catalizada por TPO. Encontró que

Fundación Juan March (Madrid)

la formación enzimática de I_2 era más lenta que la iodación enzimática de proteinas y que la iodación no enzimática de proteinas con I_2 era mucho menos eficiente que la iodación enzimática. Morris y Hager (19) sugirieron que la reacción de iodación podría ocurrir en un complejo enzima-sustrato, implicando TPO, iodo oxidado (iodinio,I^+) y un sustrato aceptor. Los resultados de Nunez y Pommier (20) y de Yamamoto y Davis (21) están esencialmente de acuerdo con esta hipótesis. Más recientemente, Davidson y colaboradores (22) han presentado evidencia de un complejo intermedio formado por iodo unido al enzima en la iodación catalizada por TPO. Alexander (23) ha descrito recientemente que el iodo activo generado por la peroxidasa tiene un potencial de oxidación similar al de I^+ y que la CLT oxida el ioduro a monocloruro de iodo (ICl) (24). Según este autor esta especie molecular del iodo da origen probablemente a iodinio hidratado, con un potencial de oxidación muy próximo al del iodo activo generado por la peroxidasa.

Fundación Juan March (Madrid)

En vista de esta evidencia hemos comparado la eficiencia de LPO con la de CLT, utilizando Tgb pobre en iodo como sustrato, en un intento de contestar a la pregunta de si la reacción de iodación es o no llevada a cabo por el iodo activo tras ser generado por la peroxidasa o por el complejo iodo oxidado-enzima. La última alternativa podría ser concluyentemente excluida si, para concentraciones equivalentes de ioduro, la CLT catalizase la reacción de iodación al menos con la misma eficiencia de LPO. Sin embargo, bajo nuestras condiciones experimentales la CLT es mucho menos eficiente que LPO tanto en la reacción de iodación como en la de acoplamiento. Esto no significa necesariamente que el enzima esté implicado más allá de la formación de la forma activa de iodo adecuada y hay que considerar también otras alternativas. Cabe por ejemplo, la posibilidad de que el iodo activo generado por CLT no es tan eficiente como el formado por el enzima. Es también posible que el iodo activo generado

Fundación Juan March (Madrid)

por el enzima y CLT sean equivalentes con respecto a su potencial de oxidación, pero que en el sistema peroxidasa se forma gradual y continuamente, mientras que en el caso de CLT podría ser generado instantáneamente y/o es parcialmente desperdiciado. Se necesitan más trabajos experimentales para aclarar estos puntos aunque nuestros resultados son también compatibles con la hipótesis sugerida por Morris y Hager (19) de que la reacción de iodación tiene lugar en un complejo enzima-sustrato.

Aprovechando el que la iodación química de Tgb es muy ineficiente (5,6) hemos podido estudiar la reacción de acoplamiento en Tgb previamente iodada, independientemente de la reacción de iodación y en ausencia de ioduro añadido. Hemos observado que, al contrario que el sistema peroxidasa, la CLT a penas cataliza la reacción de acoplamiento. Hemos encontrado que la concentración de ioduro libre en la mezcla de reacción aumenta, alrededor del doble en presencia del

Fundación Juan March (Madrid)

sistema peroxidasa posiblemente por desiodación de la Tgb premarcada. La concentración de ioduro libre, sin embargo, no aumenta en presencia de CLT donde como ya hemos mencionado prácticamente no se detectaba reacción de acoplamiento. Por ello, es posible que esta concentración de ioduro juegue un papel muy importante en la reacción de acoplamiento como ha sido sugerido por Dème y colaboradores (10,11).

De nuevo, los presentes resultados, aunque compatibles con la hipótesis de que la reacción de acoplamiento es catalizada por el complejo iodo oxidado-enzima, no excluyen la posibilidad de que el ioduro liberador por desiodación de la proteína sea oxidado por el enzima y actúe como catalizador de la reacción.

Durante la iodación de Tgb catalizada por LPO y CLT no sólo se forman MIT y DIT sino también productos de acoplamiento, T_3 y T_4. Sin embargo, la velocidad de formación de iodotironinas era menor que la de iodotirosinas. Esto no es sor-

Fundación Juan March (Madrid)

prendente ya que no puede tener lugar la reacción de acoplamiento hasta que no se hayan formado 2 moléculas de iodotirosinas y según Van Zyl y Edelhoch (25) no todas las iodotirosinas pueden acoplarse para formar iodotironinas. Bajo nuestras condiciones experimentales y a pesar del hecho de que la velocidad de acoplamiento era ciertamente menor que la de iodación, la formación de iodotironinas tenía lugar casi inmediatamente. Contrariamente, Dème y colaboradores (10,11) han descrito que la formación de iodotironinas tiene lugar sólo tras un período constante de latencia, dependiente del tiempo. Nosotros no hemos encontrado este período de latencia cuando redujimos la concentración de ioduro y del sistema peroxidasa ni cuando la temperatura se redujo a 20º C. El mismo grupo de investigadores han descrito en forma preliminar (26) que la eficiencia para formar tiroxina depende de la relación H_2O_2/I^-, siendo óptima entre 1 y 2. Concluyeron que la relación entre la tasa de iodación y de acoplamiento puede estar regulada por la

Fundación Juan March (Madrid)

concentración de H_2O_2. No conocemos las causas de las diferencias entre nuestros resultados y los de Dème y colaboradores, aunque pueden estar relacionados con la utilización de distintas preparaciones y/o concentraciones de tiroglobulina, peroxidasa y/o glucosa-glucosa oxidasa.

En conclusión, a partir de los presentes resultados, está claro que la LPO es más eficiente que CLT en catalizar las reacciones de iodación y acoplamiento en Tgb. Es muy posible que la peroxidasa esté implicada en ambas reacciones más allá de suministrar simplemente la forma activa de iodo pero otras posibilidades no pueden ser excluidas por el momento.

5.- BIBLIOGRAFIA

1.- Taurog, A. (1974) in Handbook of Physiology, Endocrinology, R. O. Greep and E. B. Astwood eds. Sect. VII, vol III pp 101-134. American Physiol. Soc. Washington D.C.

Fundación Juan March (Madrid)

2.- DeGroot, L. J. & Niepomniszcze, J. (1977) Metabolism, 26, 665-718.

3.- Ogawara, H., Bilstad, J. M. & Cahnmann, J. (1972) Biochim. Biophys. Acta 257-339, 349.

4.- Rolland, M., Montfort, M. F. & Lissitzky, S. (1973) Biochim. Biophys. Acta 303, 338-347.

5.- Lamas, L., Dorris, M. L., & Taurog, A. (1972) Endocrinology, 90, 1417-1426.

6.- Lamas, L., Taurog, A., Salvatore, G. & Edelhoch, H. (1974). J. Biol. Chem. 249, 2732-2737

7.- Taurog, A. (1970) Recent Prog. Hormone Res. Vol. 26, pp 189-247. Academic Press, New York. London.

8.- Pommier, J., Dème, D. & Nunez, J. (1973) Eur. J. Biochem 37, 406-414.

Fundación Juan March (Madrid)

9.- Gavaret, J. M., Pommier, J., Dème, D., Julien, M. F. & Nunez, J. (1975) Horm. Metab. Res. 7, 166-172.

10.- Dème, D., Gavaret, J. M., Pommier, J. & Nunez, J. (1976 a) Eur. J. Biochem. 70, 7-13.

11.- Dème, D., Pommier, J. & Nunez, J. (1976 b) Eur. J. Biochem. 70, 435-440.

12.- Lamas, L. & Ingbar, S. H. (1978) Endocrinology 102, 188-197.

13.- Taurog, A., Dorris, M. L. & Lamas, L. (1974) Endocrinology, 92, 1286-1294.

14.- Lamas, L. & Taurog, A. (1977) Endocrinology, 100, 1129-1136.

15.- Mouriz, J., Morreale de Escobar, G. & Escobar del Rey, F. (1966) Endocrinology 79, 757-767.

Fundación Juan March (Madrid)

16.- Maguire, R. J., & Dunford, H. B. (1972) Biochemistry 11, 937, 941.

17.- Hughes, W. L. (1966) in Labelled Proteins in Tracer Studies, Eur 2950 d, f.e. Euratom Atomic Energy Community, EURATOM, October, pp 3-15.

18.- Taurog, A. (1970) Arch. Biochem. Biophys. 139, 212-220.

19.- Morris, D. R. & Hager, L. P. (1966) J. Biol. Chem. 241, 3582-3589.

20.- Nunez, J. & Pommier, J. (1968) Eur. J. Biochem. 5, 114-118.

21.- Yamamoto, K. and DeGroot, L. J. (1973) Endocrinology, 93, 822-

22.- Davidson, B., Neary, J. T., Strout, M. V., Maloof, F. & Soodak, M. (1976). In Thyroid Research, Robbins, J. and Braverman, L. (eds.) pp 143-146.

23.- Alexander, N. M. (1976) in Thyroid Research, Robbins, J. and Braverman, L. (eds.) pp. 134-138. Excerpta Medica, Amsterdam.

Fundación Juan March (Madrid)

24.- Alexander, N. M. (1973) Biochem Biophys. Res. Comman. 54, 614-621.

25.- Van Zyl, A. & Edelhoch, H. (1967) J. Biol. Chem. 242,2423-2427.

26.- Virion, A. & Pommier, J. (1978) Abstract 9 IX Meeting European Thyroid Association, Berlin, 4-8 September.

Fundación Juan March (Madrid)

FUNDACION JUAN MARCH
SERIE UNIVERSITARIA

Títulos Publicados:

1.– *Semántica del lenguaje religioso.* / *A. Fierro*
(Teología. España, 1973)

2.– *Calculador en una operación de rectificación discontinua.* / *A. Mulet*
(Química. Extranjero, 1974)

3.– *Skarns en el batolito de Santa Olalla.* / *F. Velasco*
(Geología. España, 1974)

4.– *Combustión de compuestos oxigenados.* / *J. M. Santiuste*
(Química. España, 1974)

5.– *Películas ferromagnéticas a baja temperatura.* / *José Luis Vicent López*
(Física. España, 1974)

6.– *Flujo inestable de los polímeros fundidos.* / *José Alemán Vega*
(Ingeniería. Extranjero, 1975)

7.– *Mantenimiento del hígado dador in vitro en cirugía experimental.* /
José Antonio Salva Lacombe (Medicina, Farmacia y Veterinaria. España, 1973)

8.– *Estructuras algebraicas de los sistemas lógicos deductivos.* / *José Plá Carrera*
(Matemáticas. España, 1974)

9.– *El fenómeno de inercia en la renovación de la estructura urbana.* /
Francisco Fernández-Longoria Pinazo (Urbanización del Plan Europa 2.000
a través de la Fundación Europea de la Cultura)

10.– *El teatro español en Francia (1935–1973).* / *F. Torres Monreal*
(Literatura y Filología. Extrajero, 1971)

11.– *Simulación electrónica del aparato vestibular.* / *J. M. Drake Moyano*
(Métodos Físicos aplicados a la Biología. España, 1974)

12.– *Estructura de los libros españoles de caballerías en el siglo XVI.* /
Federico Francisco Curto Herrero (Literatura y Filología. España, 1972)

13.– *Estudio geomorfológico del Macizo Central de Gredos.* /
M. Paloma Fernández García (Geología. España, 1975)

14.– *La obra gramatical de Abraham Ibn ᶜ Ezra.* / *Carlos del Valle Rodríguez*
(Literatura y Filología. Extranjero, 1970)

Fundación Juan March (Madrid)

15.– *Evaluación de Proyectos de Inversión en una Empresa de producción y distribución de Energía Eléctrica.* / *Felipe Ruíz López (Ingeniería. Extranjero, 1974)*

16.– *El significado teórico de los términos descriptivos.* / *Carlos Solís Santos (Filosofía. España, 1973)*

17.– *Encaje de los modelos econométricos en el enfoque objetivos-instrumentos relativos de política económica.* / *Gumersindo Ruíz Bravo (Economía. España, 1971)*

18.– *La imaginación natural (estudios sobre la literatura fantástica norteamericana).* / *Pedro García Montalvo (Literatura y Filología. Extranjero, 1974)*

19.– *Estudios sobre la hormona Natriurética.* / *Andrés Purroy Unanua (Medicina, Farmacia y Veterinaria. Extranjero, 1973)*

20.– *Análisis farmacológico de las acciones miocárdicas de bloqueantes Beta-adrenérgicos.* / *José Salvador Serrano Molina (Medicina, Farmacia y Veterinaria. España, 1970)*

21.– *El hombre y el diseño industrial.* / *Miguel Durán-Lóriga (Artes Plásticas. España, 1974)*

22.– *Algunos tópicos sobre teoría de la información.* / *Antonio Pascual Acosta (Matemáticas. España, 1975)*

23.– *Un modelo simple estático. Aplicación a Santiago de Chile.* / *Manuel Bastarreche Alfaro (Arquitectura y Urbanismo. Extranjero, 1973)*

24.– *Moderna teoría de control: método adaptativo-predictivo. Teoría y realizaciones.* / *Juan Manuel Martín Sánchez (Ingeniería. España, 1973)*

25.– *Neurobiología (I Semana de Biología. Conferencias-coloquio sobre Investigaciones biológicas 1977)*

26.– *Genética (I Semana de Biología. Conferencias-coloquio sobre Investigaciones biológicas 1977)*

27.– *Genética (I Semana de Biología. Conferencias-coloquio sobre Investigaciones biológicas 1977)*

28.– *Investigación y desarrollo de un analizador diferencial digital (A.D.D.) para control en tiempo real.* / *Vicente Zugasti Arbizu (Física. España, 1975)*

29.– *Transferencia de carga en aleaciones binarias.* / *Julio A. Alonso (Física. Extranjero, 1975)*

30.– *Estabilidad de osciladores no sinusoidales en el rango de microondas.* / *José Luis Sebastián Franco (Física. Extranjero, 1974)*

Fundación Juan March (Madrid)

31.– *Estudio de los transistores FET de microondas en puerta común./ Juan Zapata Ferrer. (Ingeniería. Extranjero, 1975).*

32.– *Estudios sobre la moral de Epicuro y el Aristóteles esotérico./ Eduardo Acosta Méndez. (Filosofía. España, 1973).*

33.– *Las Bauxitas Españolas como mena de aluminio./ Salvador Ordóñez Delgado. (Geología. España, 1975).*

34.– *Los grupos profesionales en la prestación de trabajo: obreros y empleados./Federico Durán López. (Derecho. España, 1975).*

35.– *Obtención de Series aneuploides (monosómicas y ditelosómicas) en variedades españolas de trigo común./Nicolás Jouve de la Barreda. (Ciencias Agrarias. España, 1975).*

36.– *Efectos dinámicos aleatorios en túneles y obras subterráneas./ Enrique Alarcón Alvarez. (Ingeniería. España, 1975).*

37.– *Lenguaje en periodismo escrito./Fernando Lázaro Carreter, Luis Michelena Elissalt, Robert Escarpit, Eugenio de Bustos. Víctor de la Serna, Emilio Alarcos Llorach y Juan Luis Cebrián. (Seminario organizado por la Fundación Juan March los días 30 y 31 de mayo de 1977).*

38.– *Factores que influyen en el espigado de la remolacha azucarera, Beta vulgaris L./José Manuel Lasa Dolhagaray y Antonio Silván López. (Ciencias Agrarias. España, 1974).*

39.– *Compacidad numerable y pseudocompacidad del producto de dos espacios topológicos. Productos finitos de espacios con topologías proyectivas de funciones reales./José Luis Blasco Olcina. (Matemáticas. España, 1975).*

40.– *Estructuras de la épica latina./Mª. del Dulce Nombre Estefanía Alvarez. (Literatura y Filología. España; 1971).*

41.– *Comunicación por fibras ópticas./Francisco Sandoval Hernández. (Ingeniería. España, 1975).*

42.– *Representación tridimensional de texturas en chapas metálicas del sistema cúbico./José Antonio Pero-Sanz Elorz. (Ingeniería. España, 1974).*

43.– *Virus de insectos: multiplicación, aislamiento y bioensayo de Baculovirus./Cándido Santiago-Alvarez. (Ciencias Agrarias. Extranjero, 1976).*

44.– *Estudio de mutantes de saccharomyces cerevisiae alterados en la biosíntesis de proteínas./Lucas Sánchez Rodríguez. (Biología. España, 1976).*

Fundación Juan March (Madrid)

45.– *Sistema automático para la exploración del campo visual. José Ignacio Acha Catalina. (Medicina, Farmacia y Veterinaria. España, 1975).*

46.– *Propiedades físicas de las variedades de tomate para recolección mecánica./Margarita Ruiz Altisent. (Ciencias Agrarias. España 1975).*

47.– *El uso del ácido salicílico para la medida del p^H intracelular en las células de Ehrlich y en escherichia coli./Francisco Javier García-Sancho Martín. (Medicina, Farmacia y Veterinaria. Extranjero, 1974).*

48.– *Relación entre iones calcio, fármacos ionóforos y liberación de noradrenalina en la neurona adrenérgica periférica./ Antonio García García. (Medicina, Farmacia y Veterinaria. España, 1975).*

49.– *Introducción a los espacios métricos generalizados./ Enrique Trillas y Claudi Alsina. (Matemáticas. España, 1974).*

50.– *Síntesis de antibióticos aminoglicosídicos modificados./Enrique Pando Ramos. (Química. España, 1975).*

51.– *Utilización óptima de las diferencias genéticas entre razas en la mejora./Fernando Orozco y Carlos López-Fanjul. (Biología Genética. España, 1973).*

52.– *Mecanismos neurales de adaptación visual a nivel de la capa plexiforme externa de la retina./Antonio Gallego Fernández. (Biología Neurobiología. España, 1975).*

53.– *Compendio de la salud humana de Johannes de Ketham./Mª. Teresa Herrera Hernández. (Literatura y Filología. España, 1976).*

54.– *Breve introducción a la historia del Señorío de Buitrago./Rafael Flaquer Montequi. (Historia. España, 1975).*

55.– *Una contribución al estudio de las teorías de cohomología generalizadas./Manuel Castellet Solanas. (Matemáticas. Extranjero, 1974).*

56.– *Fructosa 1,6 Bisfosfatasa de hígado de conejo: modificación por proteasas lisosomales./Pedro Sánchez Lazo. (Medicina, Farmacia y Veterinaria. Extranjero, 1975).*

57.– *Estudios sobre la expresión genética de virus animales./ Luis Carrasco Llamas.(Medicina, Farmacia y Veterinaria. Extranjero, 1975).*

58.– *Crecimiento, eficacia biológica y variabilidad genética en poblaciones de dípteros./Juan M. Serradilla Manrique. (Ciencias Agrarias. Extranjero, 1974).*

Fundación Juan March (Madrid)

59.– *Efectos magneto-ópticos de simetría par en matales ferromagnéticos.* / Carmen Nieves Afonso Rodríguez. (Física. España, 1975).

60.– *El sistema de Servet.* / Angel Alcalá Galve. (Filosofía. España, 1974).

61.– *Dos estudios sobre literatura portuguesa contemporánea.* / David Mourão-Ferreira y Vergilio Ferreira. (Literatura y Filología, 1977).

62.– *Sistemas intermedios.* /María Manzano Arjona. (Filosofía. España, 1975).

63.– *A la escucha de los sonidos cerca de T_λ en el ^4He líquido.* / Félix Vidal Costa.(Física. Extranjero, 1974).

64.– *Simulación cardiovascular mediante un computador híbrido.* José Ramón Farré Muntaner. (Ingeniería. España, 1976).

65.– *Desnaturalización de una proteína asociada a membrana y caracterización molecular de sus subunidades.* /José Manuel Andreu Morales. (Biología. España, 1976).

66.– *Desarrollo ontogénico de los receptores de membrana para insulina y glucagón.* / Enrique Blázquez Fernández. (Medicina, Farmacia y Veterinaria. España, 1976).

67.– *La teoría de los juegos semánticos. Una presentación.* / Juan José Acero Fernández. (Filosofía. Extranjero, 1974).

68.– *El problema de la tierra en el expediente de Ley Agraria.* / Margarita Ortega López. (Historia. España, 1976).

69.– *Razas vacunas autóctonas en vías de extinción. (Aportaciones al estudio genético).* / Miguel Vallejo Vicente. (Medicina, Farmacia y Veterinaria. España, 1976).

70.– *Desviaciones del sistema y de la norma de la lengua en las construcciones pronominales españolas.* / María Antonia Martín Zorraquino. (Literatura y Filología. España, 1974).

71.– *Sociología del ejército español en el siglo XIX.* / Fernando Fernández Bastarreche. (Historia. España, 1977).

72.– *La filosofía hegeliana en la España del siglo XIX.* / Juan Francisco García Casanova. (Filosofía. España, 1976).

Fundación Juan March (Madrid)

73.– *Procesamiento de datos lingüísticos. Modelo de traducción automática del español al alemán. /Montserrat Meya Llopart. (Literatura y Filología. Extranjero, 1976).*

74.– *La Constitución de 1931 y la autonomía regional. / Adolfo Hernández Lafuente. (Ciencias Sociales. España, 1976).*

75.– *El modelo constitucional español del siglo XIX. / Miguel Artola Gallego. (Historia, 1979).*

76.– *Estudio de la susceptibilidad magnetoeléctrica en el Cr_2O_3 policristalino, por el método de la constante dieléctrica. / Rafael C. Martín Pérez. (Ciencias Físicas. España, 1970).*

77.– *C-14 y Prehistoria de la Península Ibérica. / M. Almagro-Gorbea, F. Bernaldo de Quirós, G. A. Clark, R. de Balbín-Behrmann, G. Delibes, J. J. Eiroa, U. Espinosa, M. Fernández-Miranda, M. D. Garralda, A. González, M. González, F. Gusi, P. López, B. Martí, C. Martín de Guzmán, A. Morales, A. Moure, C. Olaria, M. Sierra y L. G. Strauss. (Reunión celebrada en la Fundación Juan March el día 14 de abril de 1978).*

78.– *Cultura en periodismo. / Manuel Martín Serrano, Juan Ramón Masoliver, Rafael Conte Oroz, Carlos Luis Alvarez, Amando de Miguel, Manuel Seco, José Luis Abellán, André Fontaine. (Seminario de "Cultura en periodismo", celebrado en la Fundación Juan March, los días 26 y 27 de junio de 1978).*

79.– *Las Giberelinas. Aportaciones al estudio de su ruta biosintética. / Braulio M. Fraga González. (Ciencias Agrarias. Extranjero, 1976).*

80.– *Reacción de Amidas con compuestos organoalumínicos. / María Dolores Guerra Suárez. (Química. España, 1976).*

81.– *Sobre Arquitectura Solar. / Guillermo Yáñez Parareda. (Arquitectura y Urbanismo. España, 1974).*

Fundación Juan March (Madrid)

Fundación Juan March (Madrid)

Fundación Juan March (Madrid)

Fundación Juan March (Madrid)