

P124 MECANISMOS MOLECULARES DESENCADADOS PELO EXCESSO CRÔNICO DE IODO

Jamile Calil Silveira¹, Caroline Serrano-Nascimento¹, Raquel Cardoso Laconca¹, Francemilson Goulart-Silva¹, Maria Tereza Nunes¹

¹ Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo (USP)

Apesar de ser fundamental para a função tireoidiana, o iodo, quando em excesso, é altamente deletério para a glândula, de maneira que diversos mecanismos são desencadeados para conter a ação tóxica desse oligoelemento. Estudos mostram que a administração aguda de excesso de iodo acarreta uma resposta molecular adaptativa na tireoide, que resulta em alteração na expressão de genes que codificam proteínas relacionadas ao seu transporte. Apesar de as disfunções tireoidianas causadas pelo excesso crônico de iodo serem amplamente descritas, os mecanismos moleculares envolvidos nessas disfunções são pouco conhecidos. Assim, foi objetivo deste trabalho avaliar os efeitos provenientes do excesso crônico de iodo na expressão de mRNAs que codificam proteínas relacionadas com o seu transporte (NIS e pendrina), armazenamento (tireoglobulina) e imunogenicidade (interferon- γ e IL-1 α) na tireoide. Objetivou-se, ainda, avaliar se o iodo seria capaz de promover alterações na organização do citoesqueleto de actina de células tireoidianas. Para tanto, ratos Wistar (~200 g) foram divididos em quatro grupos: Iodo 0,05%, que recebeu 0,05% de NaI na água de beber; Iodo 0,005%, que recebeu 0,005% de NaI na água de beber; I + P, que recebeu NaI e NaClO₄ a 0,05% na água de beber; Controle, que recebeu água de torneira. Os animais receberam tratamento por 60 dias, quando então as tireoides foram removidas, seguindo-se: 1) extração do RNA total para análise da expressão dos mRNAs de interesse por Real-Time PCR e 2) fracionamento de actina e sua detecção por Western Blotting, utilizando anticorpo específico. Nossos resultados mostraram que o excesso crônico de iodo diminuiu significativamente o conteúdo do mRNA de NIS, enquanto aumentou o de Pendrina, resultados que se assemelham aos dados obtidos em estudos agudos. Essas alterações parecem ser dose-dependentes e foram revertidas pelo tratamento concomitante com perclorato. Não houve alteração significativa na expressão dos mRNAs de tireoglobulina, interferon- γ e IL-1 α , indicando ações específicas do iodo sobre a expressão de genes na tireoide. Observou-se, ainda, aumento na fração polimerizada de actina, efeito que pode estar envolvido na regulação da estabilidade de transcritos e/ou na estrutura dos folículos tireoidianos. Em conjunto, esses dados indicam que diferentes mecanismos são desencadeados pela administração crônica de excesso de iodo, e que alguns genes são mais suscetíveis à regulação por esse oligoelemento do que outros. CNPq.

P125 NOVAS ALTERAÇÕES NO GENE DUOX2 EM PACIENTES COM DISORMONOGÊNESE POR DEFEITO NA ORGANIFICAÇÃO DO IODO

Ester Saraiva Brust¹, Cristine Barbosa Beltrão¹, Suemi Marui¹

¹ Unidade de Tireoide, Laboratório de Endocrinologia Celular e Molecular (LIM-25), Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (FMUSP), SP

A organificação do iodo é uma das principais etapas da síntese dos hormônios tireoidianos, ocorrendo no coloide na presença de um complexo de proteínas localizado na membrana apical das células foliculares tireoidianas. Neste complexo a TPO exerce papel fundamental, dependendo do peróxido de hidrogênio gerado pelo sistema DUOX. A DUOX2 é a principal das glicoproteínas DUOX, sendo a mais expressada no tecido tireoidiano e mais eficiente na produção do H₂O₂. Na maioria dos pacientes com hipotireoidismo congênito mutações no gene DUOX2 causam defeito na organificação do iodo (DOI), e até o momento foram descritas 24 mutações ao longo de todo o gene. **Objetivo:** Identificar mutações no gene DUOX2 em pacientes com disormonogênese por DOI. **Métodos:** Em estudo anterior avaliamos 40 pacientes com hipotireoidismo primário e permanente em acompanhamento na APAE São Caetano, SP. Após a avaliação clínico-laboratorial e de imagem, diagnosticamos sete pa-

cientes com suspeita de defeito na organificação do iodo. Realizamos o estudo molecular do gene TPO, e em quatro pacientes não foram identificadas alterações. Todos os pacientes apresentaram tireoide tóxica, captação de ¹³¹I aumentada, tireoglobulina sérica elevada, teste de perclorato positivo e audiometria normal. A região codificadora e as junções éxon/intron do gene DUOX2 foram estudadas a partir de DNA extraído de leucócitos periféricos, amplificado e sequenciado automaticamente (ABI Prism 3130xl), e resultados comparados com sequência normal (NM_014080). **Resultados:** Os pacientes estudados apresentaram idade ao diagnóstico etiológico entre 3 e 5 anos, sendo dois do sexo feminino. Nenhum paciente referia consanguinidade e não eram relacionados. Identificamos oito polimorfismos já descritos na literatura nos quatro pacientes estudados. Identificamos duas novas alterações (p.A1087V e p.G1518S) em dois pacientes: no primeiro apenas a mutação p.G1518S em heterozigose; no segundo as mutações p.A1087V e p.G1518S em heterozigose composta. Os outros dois pacientes não apresentaram mutações na região estudada. As novas alterações não foram identificadas nos alelos de 100 indivíduos controles sem doença tireoidiana. **Conclusão:** Mutações no gene DUOX2 foram identificadas em pacientes com DOI, sendo duas alterações inéditas na literatura, e podem contribuir para o melhor conhecimento da organificação do iodo. Fapesp 2011/02627-5 e 2012/00324-8.

P126 O SELÊNIO REDUZ PARCIALMENTE O EFEITO DO ESTRESSE OXIDATIVO MEDIADO PELA INTERLEUCINA-6 SOBRE A DESIODASE TIPO 3

Helena Cecin Rohenkohl¹, Simone Magagnin Wajner¹, Ana Luiza Maia¹

¹ Unidade de Tireoide, Serviço de Endocrinologia, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, Brasil

Introdução: A síndrome do T3 baixo se refere a anormalidades da função tireoidiana em pacientes com doença sistêmica e ausência de disfunção do eixo hipotálamo-hipófise-tireoide. A redução dos níveis de T3 está associada com aumento da mortalidade. Estudos em modelo de cultura celular demonstraram que a IL-6 inibe a função das desidases tipo 1 (D1) e tipo 2 (D2), responsáveis pela conversão do T4 em T3, enquanto induz a expressão da desidase tipo 3 (D3), que inativa os hormônios tireoidianos. Essas alterações são secundárias à geração de estresse oxidativo e bloqueadas pela N-acetilcisteína (NAC), precursora do GSH, potente antioxidante intracelular. **Objetivo:** Avaliar o efeito do selênio, outro agente antioxidante endógeno e essencial para a atividade das desidases como componente do centro catalítico, sobre a atividade da D2 e da D3 em condição de estresse oxidativo gerado por níveis elevados de IL-6. **Métodos:** Utilizamos células que expressam endogenamente a D2 ou D3 (MSTO e MCF-7, respectivamente) em um modelo que mimetiza as condições fisiológicas de cofator e T4. A desidase da D2 foi aferida a partir do I125 gerado no meio celular, enquanto a atividade da D3 foi medida por meio de cromatografia descendente em papel. **Resultados:** Como esperado, a IL-6 (500 ng/1) inibiu significativamente a produção de T3 pela D2 (81,8 ± 1,76 vs. 58,37 ± 5,2 fmol/mg.prot/24h, P < 0,001), enquanto a atividade da D3 foi induzida (5,7 ± 0,08 vs. 9,53 ± 0,7 fmol/mg.prot/24h, P < 0,001). A transcrição da D2 e da D3 foi induzida pela IL-6. A adição de selênio (100 nM) não foi capaz de reverter as alterações na atividade da D2 (106,46 ± 2,3 vs. 57,47 ± 3,5 fmol/mg.prot/24h, P < 0,001), mas atenuou o efeito indutor da IL-6 sobre a D3 (9,53 ± 0,7 vs. 6,9 ± 0,34 fmol/mg.prot/24h, P < 0,05). O efeito da IL-6 sobre o RNAm das enzimas não foi alterado pela presença do selênio. **Conclusão:** O selênio parece ter efeito distinto sobre as desidases em condições de estresse oxidativo. Essa diferença é provavelmente devida à maior suscetibilidade da D2 à diminuição intracelular dos níveis de cisteína, não corrigidos pelo selênio. A D3, no entanto, parece ter maior acesso ao efeito protetor do selênio provavelmente por causa da posição do seu sítio catalítico.