



COMUNICAÇÃO

## Topologia do simportador tireoideano sódio/iodeto

### *Topology of the thyroid sodium-iodine symporter*

Wagner de Jesus PINTO<sup>1</sup>

Miguel Arcanjo ÁREAS<sup>2</sup>

José Eduardo de MARIALVA<sup>2</sup>

Silvana Maria Guida CARDOSO<sup>2</sup>

### RESUMO

A síntese de hormônios tireoideanos depende fundamentalmente da captação de iodo do meio extracelular para o interior do tireócito. Esse processo é mediado por uma glicoproteína transmembrânica denominada simportador sódio/iodeto, que transporta iodeto para o interior do tireócito, juntamente com dois íons sódio em um processo de cotransporte. Esse processo é orquestrado pelo potencial eletroquímico gerado pela bomba  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  ATPase dependente. O simportador sódio/iodeto também está envolvido no transporte ativo de iodeto em tecidos extratireoideos, tais como glândulas salivares, mucosa gástrica e a mama em lactação. A alta capacidade de acumular iodeto pelo tireócito constitui a base do diagnóstico cintilográfico e também da terapêutica com radioiodo em situações de hiperfunção tireoidea, como, por exemplo, na doença de Graves. Algumas mutações no simportador sódio/iodeto geram prejuízo no transporte de iodeto para o tireócito, resultando em hipotireoidismo congênito; além disso, o simportador sódio/iodeto pode tornar-se alvo de imunocomplexos, como, por exemplo, nas doenças tireoideanas autoimunes. Finalmente, o estudo molecular do simportador sódio/iodeto apresenta importância em muitas áreas, que compreendem desde proteínas transportadoras até o diagnóstico e tratamento de cânceres em tecidos tireoidianos e extratireoideos. Este artigo objetivou descrever o simportador sódio/iodeto presente na glândula

<sup>1</sup> Universidade Federal do Acre, Departamento de Ciências da Saúde e Educação Física. *Campus* Universitário Reitor Áulio Gélvio Alves de Souza, Rod. BR 364, Km 4, n. 6637, Distrito Industrial, Caixa Postal 500, 69915-900, Rio Branco, AC, Brasil. Correspondência para/Correspondence to: WJ. PINTO. E-mail: <wagnerjp70@gmail.com>.

<sup>2</sup> Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Biologia. Campinas, SP, Brasil.

tireoide, destacando sua sequência de resíduos de aminoácidos, topologia e todos os demais aspectos pertinentes a sua estrutura e função. Foi desenvolvido através de revisão sistemática da literatura nacional e internacional pelo indexador Medline/PubMed, utilizando os unitermos: iodeto, tireoide, transportador, topologia, sequência de resíduos de aminoácidos e estrutura.

**Termos de indexação:** Glândula tireoide. Iodo. Simportadores.

## ABSTRACT

*The synthesis of thyroid hormones depends essentially on the uptake of iodide by thyrocytes, which is mediated by an intrinsic membrane glycoprotein, the sodium-iodide symporter. The NIS actively cotransports a sodium cation and an iodide anion simultaneously. NIS-mediated transport of iodide is driven by the electrochemical sodium gradient generated by Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> ATPase. Sodium-Iodide Symporter also mediates active iodide transport in other tissues, including salivary glands, gastric mucosa, and lactating mammary gland. The ability of the thyroid to accumulate iodide via NIS has long provided the basis for diagnostic scintigraphic imaging of the thyroid with radioiodine and served as an effective means for therapeutic doses of radioiodide to target and destroy hyperfunctioning thyroid tissue, as seen in Graves' disease. Another relevant clinical aspect of Sodium-Iodide Symporter is the fact that some spontaneous mutations have been identified as the cause of congenital iodide transport defect, resulting in hypothyroidism. Furthermore, the sodium-iodide symporter can become the target of autoantibodies, resulting in autoimmune thyroid diseases. Finally, the molecular analysis of NIS clearly holds the potential of having an even greater impact on a wide spectrum of fields, ranging from the structure and function of transport proteins to the diagnosis and treatment of cancer, in thyroid and nonthyroid tissues. The aim of this paper is to describe the sodium/iodide symporter present in the thyroid gland, highlighting its sequence of amino acid residues, topology, and all other relevant aspects of structure and function. This study is based on a systematic review of the domestic and international literature found in Medline/ PubMed with the keywords: iodide, thyroid, carrier, topology, sequence of amino acid residues and structure.*

**Indexing terms:** Thyroid gland. Iodine. Symporters.

## INTRODUÇÃO

Os hormônios tireoideanos são essenciais para o pleno desenvolvimento de órgãos, sistemas e controle do metabolismo<sup>1</sup>. A glândula tireoide apresenta a propriedade de concentrar iodo e torna-o disponível para a síntese de hormônios tireoideanos 3,5,3'triiodotironina (T3) e tiroxina (T4), mas cerca de 80% do T3 plasmático provém da 5'-monodeiodinação do T4 nos tecidos-alvo. Assim, o iodo é parte integral da molécula dos hormônios tireoideanos, compondo 59% e 65% das moléculas de T3 e T4, respectivamente<sup>2</sup>. A relevância desse mecanismo pode ser verificada em regiões onde a carência de iodo na

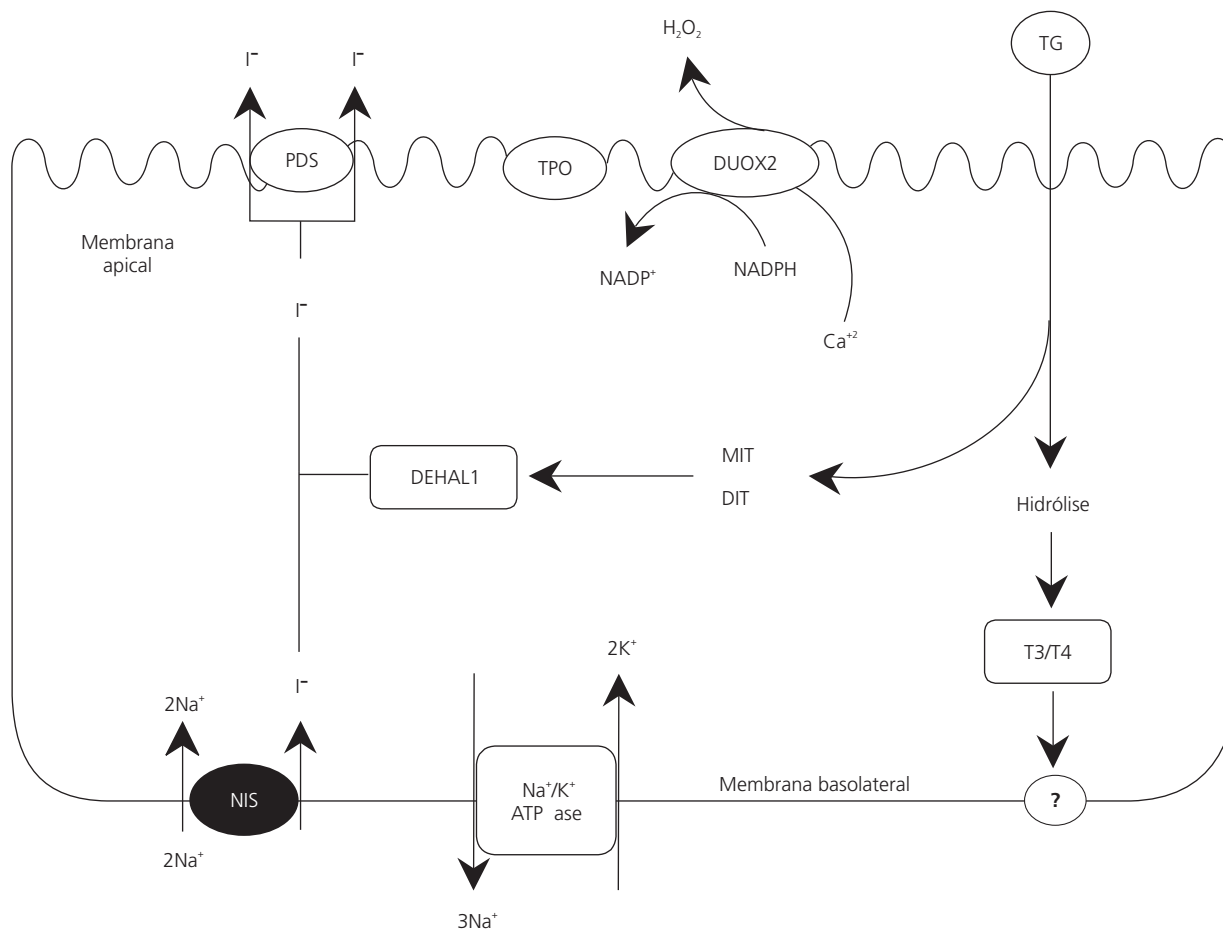
dieta representa um importante problema de saúde pública<sup>3</sup>.

A síntese de hormônios tireoideanos requer o desenvolvimento adequado da glândula tireoide, com o apropriado aporte dietético de iodo, seguido de uma série de reações bioquímicas que têm lugar nas células foliculares da glândula tireoide<sup>4</sup>. Cada folículo tireoideano consiste em uma única camada de células epiteliais, organizadas ao redor de um lúmen preenchido por coloide constituído predominantemente por tireoglobulina, uma grande glicoproteína que atua como suporte para a síntese de hormônios tireoideanos<sup>5</sup>.

A captação de iodo, através da membrana basolateral dos tireócitos, é necessária para a plena síntese de hormônios, sendo esse processo mediado pela proteína transportadora  $\text{I}^-/\text{Na}^+$  *Sodium iodine symporter* (NIS). Nesse processo de transporte, dois íons sódio são carregados para o interior do tireócito enquanto somente um íon de iodo é internalizado. Os íons sódio criam um gradiente que favorece o

transporte do iodo, e a energia necessária para gerar o gradiente de sódio é provida pela  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  ATPase sensível à oubaína<sup>1,3,6</sup> (Figura 1).

O iodo captado migra passivamente até a membrana apical e é transportado para o lúmen do folículo, onde é incorporado aos resíduos de tirosina da tireoglobulina, processo esse denominado organificação do iodo e catalizado pela enzima Tireope-



**Figura 1.** Principais passos envolvidos na síntese de hormônios tireoideanos.

Nota: O  $\text{I}^-$  é captado na membrana basolateral do tireócito pelo NIS, em função da energia gerada pelo gradiente eletroquímico produzido pela bomba  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  ATPase. Na membrana apical do tireócito, o influxo de  $\text{I}^-$  é mediado em parte pela pendrina (PDS ou SLC26A4). Na face colateral do tireócito, o  $\text{I}^-$  é oxidado pela tireoperoxidase (TPO) na presença de  $\text{H}_2\text{O}_2$ . O  $\text{H}_2\text{O}_2$  é produzido pela enzima pelo cofator  $\text{Ca}^{+2}$  da enzima DUOX2 e reduzido pelo cofator NADPH da mesma enzima. O DUOX2 exige maturação, convertendo-se em DUOX2A. A tireoglobulina, que é secretada para a luz do folículo, atua como matriz de suporte para a síntese de hormônios tireoideanos. Primeiramente, a TPO catalisa a iodinação dos resíduos de tirosina, processo esse denominado organificação, resultando na formação de MIT e DIT. Subsequentemente, duas moléculas de iodotirosina são acopladas para formar T3 ou T4, em uma reação também catalisada pela TPO. A tireoglobulina iodada é armazenada na luz do folículo na forma de coloide. A tireoglobulina é captada pelo tireócito pelo processo de pinocitose, sendo essa captação regulada de acordo com a demanda de secreção de hormônios. Posteriormente, a tireoglobulina sofre processamento no interior dos lisossomos, gerando T3 e T4, que, por sua vez, são liberados para a corrente sanguínea por um processo ainda não plenamente elucidado. As moléculas de MIT e DIT não utilizadas sofrem desiodação pela enzima DEHAL1 (iodotirosina desalogenase). O iodo, por sua vez, é secretado para a síntese de novos hormônios tireoideanos, sendo deslocado para o coloide.

roxidase (TPO) na presença de peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ), resultando na formação de Monoiodotirosina (MIT) e Diiodotirosina (DIT)<sup>7</sup>. A síntese de  $H_2O_2$  ocorre na membrana apical do tireócito através de uma via bioquímica que envolve dois membros da família da NADPH oxidase (Duox1 e Duox2)<sup>8,9</sup>. Recentemente<sup>10</sup>, foi identificada uma proteína relacionada à tioredoxina, chamada de *EF-Hand Binding Protein 1* (EFP1), tendo sido proposto que ela está relacionada à família de complexos proteicos tireoideos envolvidos com a síntese de  $H_2O_2$ . A tireoperoxidase catalisa ainda o acoplamento de duas moléculas de iodotirosina para formar T3 ou T4.

A liberação de hormônios tireoideanos ocorre por meio do engolfamento de uma porção de coloide pelo tireócito (pinocitose). Esse conteúdo coloidal sofre digestão no interior dos lisossomos, liberando o T3 e o T4 da tireoglobulina, os quais são posteriormente exportados para o plasma através da membrana basolateral do tireócito, por um mecanismo ainda não plenamente esclarecido<sup>4</sup>.

### SIMPORADOR DE IODO - NIS

O NIS é uma glicoproteína de membrana, inserida na membrana basal do tireócito<sup>11</sup>. Apresenta papel essencial no processo de captação de iodo por parte do tireócito, operação essa que é chave na biossíntese de hormônios tireoideanos. O NIS pertence à família dos carreadores solúveis 5A *Soluble Carrier 5A* (SLC5A), de acordo com o *Online Medelian Inheritance in Man* (*omim*), <<http://www3.ncbi.nlm.nih.gov/Omim/>>. A família apresenta mais de 60 membros, tanto de origem eucariótica quanto procarionótica, com alta homologia entre si, sendo SMVT (cotransportador sódio/mioinositol) aquele que apresenta maior homologia com o NIS (cerca de 35,9%)<sup>3</sup>. Todos os membros dessa família de transportadores solúveis necessitam de gradiente eletrogênico sodi-dependente para translocar ânions através da membrana plasmática<sup>12</sup>. Estudos com diversos membros da família de carreadores solúveis 5A, empregando diferentes métodos informatizados, tais como o *PredictProtein* (<http://www.embl.heidelberg.de/predictprotein>)<sup>13</sup>, sugerem que virtualmente todos os membros da família apresentam 13 hélices transmembrânicas com a porção aminoterminal orientada para o meio extracelular, enquanto a porção carboxiterminal do carreador situa-se no meio intracelular<sup>3</sup>. O NIS é expresso em outros tecidos além da glândula tireoide, como, por exemplo, glândulas mamárias em lactação, mucosa gástrica e glândulas salivares<sup>3</sup>. O NIS apresenta resíduos de asparagina capazes de sofrer glicosilação<sup>3</sup>, os quais parecem não ser necessários para estabilidade e atividade, nem servir como sítio para outras moléculas<sup>14</sup>. A captação de iodo por ser inibida pelo bloqueio da tireoide pela administração de perclorato, um sal que contém o ânion  $ClO_4^-$ , derivado do ácido perclórico  $HClO_4$ . Contém o cloro em estado de oxidação +7 ligado a quatro átomos de oxigênio em formação tetraédrica. Embora o perclorato tenha sido usado por muito tempo para tratamento de distúrbios da tireoide, sua utilização atual restringe-se praticamente à cintilografia diagnóstica, não sendo aplicado de maneira farmacológica em função de sua alta toxicidade.

A caracterização molecular do NIS iniciou-se em 1996, quando foi isolado o cDNA de ratos<sup>11</sup>. Subsequentemente o cDNA do NIS de glândula tireoide humana foi clonado por meio da técnica de PCR, mostrando grande homologia com o cDNA de ratos<sup>15</sup>. O NIS de ratos apresenta 618 resíduos de aminoácidos, com massa molecular aproximada de 65.196 Daltons, enquanto o NIS humano possui 643 resíduos de aminoácidos em sua sequência, apresentando 84% de identidade e 93% de similaridade com o NIS de ratos<sup>16</sup>.

O NIS humano difere do NIS de ratos principalmente em 5 resíduos de aminoácidos, inseridos entre os últimos dois domínios hidrofóbicos, e também em 20 resíduos presentes na porção carboxiterminal<sup>3</sup>. O porco e o camundongo tiveram seus cDNAs isolados e decodificados, apresentando 618 resíduos de aminoácidos em seus NIS<sup>11,17</sup>.

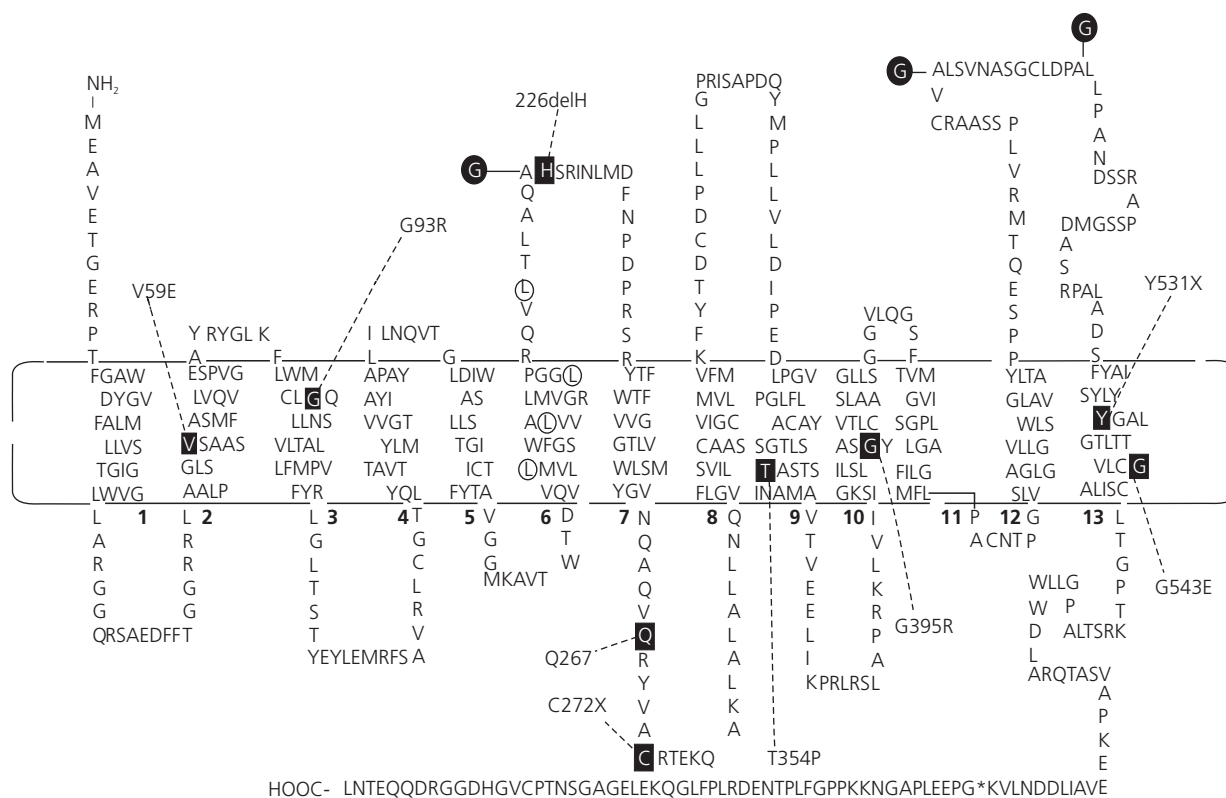
O NIS é inicialmente sintetizado como um pré-pró NIS que posteriormente sofre glicação no retículo endoplasmático em resíduos de Asn nas posições 225, 485 e 497. A seguir, a proteína vai

de/ predictprotein )<sup>13</sup>, sugerem que virtualmente todos os membros da família apresentam 13 hélices transmembrânicas com a porção aminoterminal orientada para o meio extracelular, enquanto a porção carboxiterminal do carreador situa-se no meio intracelular<sup>3</sup>. O NIS é expresso em outros tecidos além da glândula tireoide, como, por exemplo, glândulas mamárias em lactação, mucosa gástrica e glândulas salivares<sup>3</sup>. O NIS apresenta resíduos de asparagina capazes de sofrer glicosilação<sup>3</sup>, os quais parecem não ser necessários para estabilidade e atividade, nem servir como sítio para outras moléculas<sup>14</sup>. A captação de iodo por ser inibida pelo bloqueio da tireoide pela administração de perclorato, um sal que contém o ânion  $ClO_4^-$ , derivado do ácido perclórico  $HClO_4$ . Contém o cloro em estado de oxidação +7 ligado a quatro átomos de oxigênio em formação tetraédrica. Embora o perclorato tenha sido usado por muito tempo para tratamento de distúrbios da tireoide, sua utilização atual restringe-se praticamente à cintilografia diagnóstica, não sendo aplicado de maneira farmacológica em função de sua alta toxicidade.

lentamente (em um período que compreende 1 hora) adquirindo a sua forma madura e, após 12 horas, pode-se verificar transporte ativo de I<sup>-</sup>, indicando que o NIS atingiu forma funcional e está inserido à membrana plasmática do tireócito<sup>3,18</sup>. Observou-se que a tunicamicina, um inibidor da N-glicação de oligossacarídeos impediu tanto a síntese quanto a maturação do NIS tireoideano, sugerindo que a glicação do NIS seria um passo essencial para seu envelhecimento adequado e, conseqüentemente, para sua funcionalidade. No entanto, a tunicamicina não tem especificidade para o NIS, bloqueando assim a glicação em todas as proteínas da célula. No entanto, Levy *et al.*<sup>14</sup>, conduziram experimentos nos quais mutações genéticas foram promovidas no sentido de se obter

glicação parcial ou ausência dela no NIS. Esses experimentos mostraram que a meia vida do NIS não glicado é similar à do NIS selvagem, assim como a constante de Michaelis ( $K_m$ ) [valor para I<sup>-</sup> (~30 μM)], indicando claramente que a função e a estabilidade do NIS estão preservadas, tanto na proteína parcialmente glicada quanto naquela em que a glicação está completamente ausente.

A meia vida do NIS no tireócito é de cerca de 5 dias na presença do hormônio tireoideo estimulante (TSH), e de 3 dias na ausência dele. Na ausência do estímulo por TSH, o NIS sofre compartimentalização intracelular, sugerindo assim que é fator essencial na manutenção do NIS na membrana do tireócito.



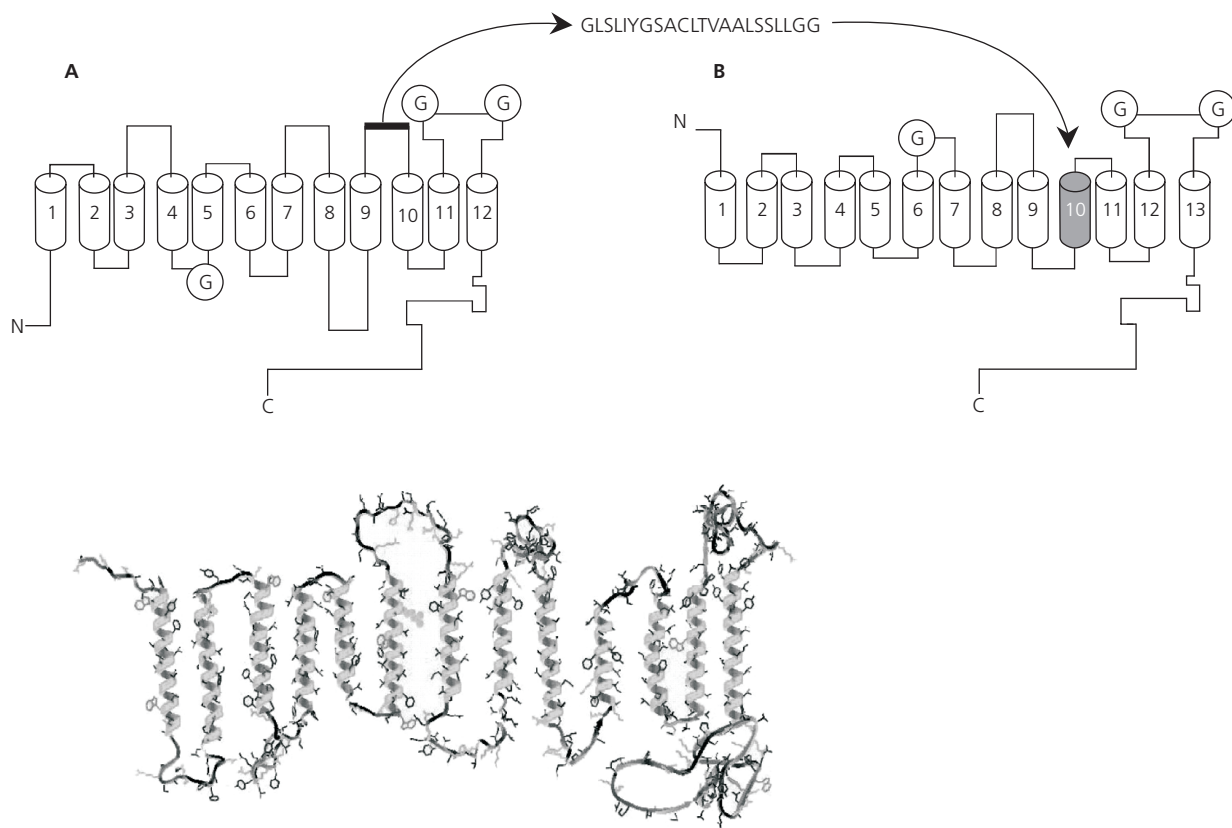
**Figura 2.** Topologia do NIS, proteína formada por 13 alças transmembranares, 6 alças projetadas para o meio extracelular e 6 para o meio intracelular.

Nota: Essas alças extra e intracelulares conectam as alças transmembranares, com a porção aminoterminar orientando-se para o meio extracelular, e a porção carboxiterminar, para o meio intracelular. Pelo menos 12 mutações no NIS já foram identificadas, das quais somente seis (V59E, G93R, 226delH, Q267E, T354P, G543E) e foram plenamente caracterizadas; os sítios de mutação estão destacados em negro no modelo. A mutação T354P é extremamente frequente no Japão e pode estar associada a outra mutação, como a V59E. A expressão do gene alterado resulta em mínima captação de iodeto pela célula folicular. A letra G contida nos círculos negros indica sítios de N-glicação que ocorrem nas posições 225, 485 e 497. Os círculos envolvendo as leucinas na hélice transmembranar 6, na alça hidrofílica que se projeta dessa hélice, indica o zipper de leucina, uma configuração que pode indicar a base estrutural da oligomerização do NIS.

Inicialmente, imaginou-se a estrutura secundária do NIS contendo 12 alças transmembrânicas, com a porção amino e carboxi-terminal projetando-se para o meio intracelular, sendo identificada ainda uma sequência de cerca de 70 resíduos de aminoácidos altamente hidrofílica na porção carboxi-terminal. Três resíduos de Asn passíveis de sofrer glicação foram identificados, nas posições 225, 485 e 497, sendo o primeiro localizado em uma alça hidrofílica no meio intracelular, e os outros dois na última alça hidrofílica que se projeta para o meio extracelular<sup>19</sup>. O tamanho das 12 alças transmembranosas no modelo inicial do simportador NIS era de cerca de 20 a 28 resíduos de aminoácidos, com

exceção da alça transmembranosas cinco, que continha somente 18 resíduos<sup>19</sup>. Quatro resíduos de leucina (posições 199, 206, 213 e 220) compõem o zíper de leucina presente na alça transmembranosas seis. Tem-se proposto que a configuração em zíper participa no processo de oligomerização de subunidades na membrana plasmática e apresenta-se conservado em todos os transportadores clonados até então<sup>11</sup>.

Atualmente, o modelo aceito para a estrutura secundária do NIS apresenta 13 alças transmembrânicas, com a porção aminoterminal orientada para o meio extracelular, ao invés de situar-se no meio intracelular como inicialmente pensado (Figura 2).



**Figura 3.** Em "A": Modelo esquemático da primeira estrutura secundária proposta para o NIS.

Nota: Nesse modelo há 12 alças transmembranosas com as porções amino e carboxi-terminal orientadas para o meio intracelular. Podem ser vistos 3 sítios de glicação, indicados no esquema pela letra G contida em um círculo, nas posições 485 e 487, na alça extracelular que comunica a hélice 11 com a hélice 12. O terceiro sítio de glicação situa-se na posição 225, na terceira alça intracelular.

Em "B": Modelo atual proposto para o NIS. Estão presentes 13 hélices transmembranosas.

A décima hélice (em destaque) é decorrente da sequência de resíduos que anteriormente fazia parte da alça extracelular que comunica as hélices transmembranosas 9 e 10.

Em "C": Modelo- Projeção computadorizada do NIS mostrando. Fonte: Dóhan *et al.*<sup>3</sup>.

A décima terceira hélice transmembranar decorre de uma sequência de aminoácidos, que anteriormente fazia parte de uma alça hidrofílica extracelular comunicando as hélices transmembranares nove e dez, ou seja, os resíduos compreendidos no intervalo 389 a 410<sup>3</sup>, na sequência que forma a alça dez<sup>3</sup> (Figura 3).

### Regulação da expressão do NIS

O hormônio TSH é o principal regulador da função tireoideana e leva à proliferação e diferenciação de tireócitos e captação de iodo<sup>20</sup>. O TSH desencadeia suas ações no tireócito por meio da formação intracelular de AMPc<sup>21</sup>. De fato, o AMPc promove aumento da expressão de RNAm do NIS<sup>22</sup>. A redução da expressão do NIS pode ser verificada, por exemplo, em tireócitos de ratos hipofisectomizados, sendo essa condição imediatamente revertida por meio da administração de TSH exógeno<sup>23</sup>. Em adição, ratos tratados com propiltiouracil, um inibidor da TPO capaz de bloquear a organificação do iodo e também seu acoplamento, apresentam altas concentrações plasmáticas de TSH, concomitante ao aumento da expressão do NIS nos tireócitos. Recentes estudos mostram que o TSH não só regula a expressão do NIS nos tireócitos, mas também está envolvido na mediação da atividade do NIS por meio de mecanismos pós-transducionais<sup>24</sup>.

Sabe-se também que o NIS apresenta diversos sítios para fosforilação para cinases, incluindo a cinase A e C<sup>3</sup>. Embora se tenha demonstrado *in vivo* que o NIS sofre fosforilação, o significado desse evento não foi até agora plenamente elucidado<sup>24</sup>. De fato, estudos recentes identificaram cinco resíduos de aminoácidos passíveis de sofrerem fosforilação *in vivo* no NIS. Contudo, a fosforilação desses resíduos não altera o estado do NIS na membrana celular. O NIS apresenta alguns resíduos de aminoácidos responsáveis pela endocitose de outras proteínas de membrana<sup>25</sup>, como a sequência PDZ, localizada na porção C-terminal e implicada na interação proteína-proteína<sup>3</sup>. O NIS apresenta ainda um resíduo de dileucina L<sup>557</sup> e L<sup>558</sup>, as quais interagem com a proteína clatrina,

conduzindo à incorporação da proteína integral de membrana em vesículas, que são contidas no meio intracelular e posteriormente seguem diferentes destinos dentro da célula<sup>26</sup>. Essa interação conduz à incorporação de proteínas integrais envolvidas em clatrina e que posteriormente segue diferentes destinos no interior da célula<sup>27</sup>.

Outro mecanismo que atua regulando a captação de I<sup>-</sup> por parte do NIS é a própria concentração de I<sup>-</sup> no interior do tireócito<sup>27</sup>. Esse mecanismo previne disfunções tireoideas iatrogênicas, tendo sido descrito por Wolff Chaikoff, em 1948<sup>27</sup>. De fato, drogas que contêm grandes quantidades de iodo, como a amiodarona, podem interferir na homeostase da tireoide. O efeito Wolff Chaikoff<sup>27</sup> é reversível, ou seja, quando as concentrações plasmáticas de I<sup>-</sup> retornam a valores de referência, o bloqueio tireoideo desaparece. Os mecanismos moleculares do efeito Wolff Chaikoff<sup>27</sup> envolvem a regulação de genes e proteínas-chave no interior do tireócito, além da redução da síntese de RNAm para tireoperoxidase do NIS<sup>28</sup>.

### A expressão do NIS em tecidos extratireoideos

Além da glândula tireoide, outros tecidos também apresentam a propriedade de acumular I<sup>-</sup>, e o fazem através do NIS. Esses tecidos incluem as glândulas salivares, a mucosa gástrica, as glândulas mamárias em lactação, o plexo coroide e os corpos ciliares dos olhos<sup>29</sup>.

O NIS de muitos desses tecidos apresenta forte similaridade com o NIS tireoideano, como, por exemplo, suscetibilidade a sofrer inibição pelo tiocianato e pelo perclorato.

Por outro lado, os tecidos extratireoideos também mostram importantes diferenças, tais como: a) não apresentam a capacidade de organificar o I<sup>-</sup> captado, enquanto o tecido tireoideano reage ao propiltiouracil; b) o TSH não exerce influência regulatória na captação de I<sup>-</sup> pelo NIS extratireoideo e, além disso, em células não tireoideas a inserção do

transportador na membrana celular independe do TSH. Já na tireoide o estímulo do TSH é condição necessária para a inserção do transportador na membrana do tireócito; c) as glândulas salivares e a mucosa gástrica concentram o tiocianato. Apesar de tais diferenças, Spitweg *et al.*<sup>30</sup>, relataram que o cDNA do NIS de todos os tecidos extratireoideos apresentam total identidade com o cDNA do NIS tireoideano.

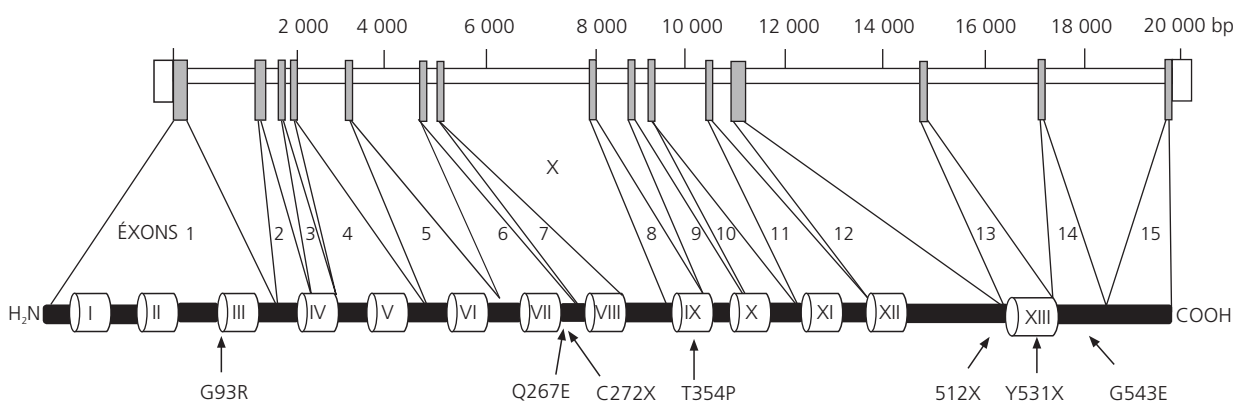
### Aspectos genéticos

As anormalidades congênitas da tireoide envolvem tanto o aumento da síntese de hormônios tireoideos quanto seu decréscimo, definindo assim o hipertireoidismo e o hipotireoidismo congênito, respectivamente<sup>31</sup>.

O hipotireoidismo congênito (HC) acomete cerca de 1/3.000-4.000 crianças nascidas, compondo um dos distúrbios pediátricos mais comuns<sup>32</sup>. Pode manifestar-se como primário, quando afeta a tireoide propriamente dita (condição que afeta a maioria das crianças); secundário, quando o distúrbio se situa na adeno-hipófise; e terciário, quando o hipotálamo é a área afetada, sendo essa última a patologia menos comum<sup>31</sup>.

As causas das anormalidades congênitas da tireoide incluem: a) mutações em fatores de transcrição como, por exemplo, TTF1, TTF2 e PAX8, que são indispensáveis ao desenvolvimento e migração da glândula tireoide<sup>31,33</sup>; b) mutações no receptor de TSH, caso em que as mutações causadoras do defeito comprometem os dois alelos, e o fenótipo caracteriza-se por altas concentrações plasmáticas de TSH; c) mutações que envolvem a síntese, secreção ou reciclagem de hormônios tireoideos (cerca de 15% dos casos de HC); e d) mutações que envolvem o NIS, sendo a causa mais rara de HC<sup>31</sup>.

O gene humano do NIS localiza-se no cromossomo 12 (12p12-13.2) e apresenta 14 íntrons e 15 éxons<sup>16</sup>, sendo que mutações bialélicas envolvendo esse gene causam HC com bócio (Figura 4). Pelo menos 12 mutações no NIS já foram identificadas<sup>34</sup>, das quais somente seis (226delH, T354P, G395R, Q267E, G543E e V59E) foram estudadas funcionalmente<sup>14,35</sup>. A mutação G543E conduz à retenção do NIS no compartimento intracelular, em função de alterações relacionadas a sua maturação e transporte. As demais mutações permitem a inserção do NIS na membrana do tireócito, porém com prejuízo de suas funções<sup>36</sup>. Estudos envolvendo a mutação T354P mostraram que os grupos hidroxil

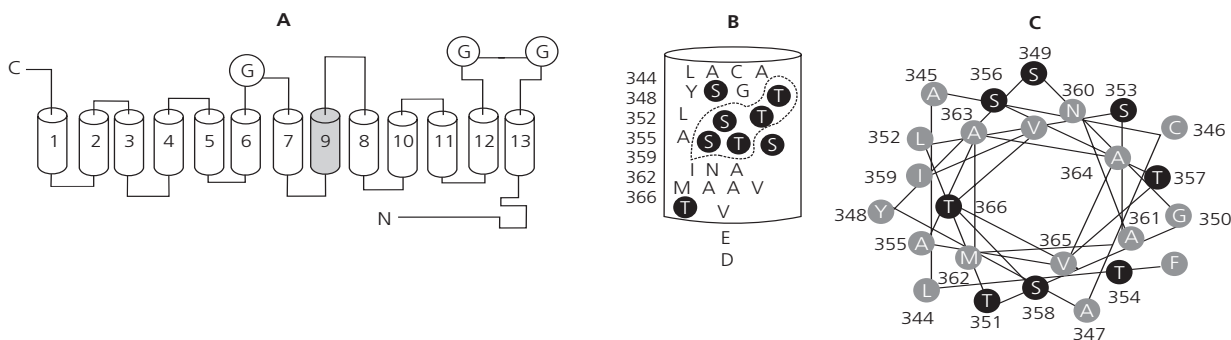


**Figura 4.** Correlação entre a organização estrutural do gene NIS humano da proteína NIS.

Nota: Os éxons são apresentados como caixas preenchidas, enquanto as regiões não codificáveis são representadas por caixas vazias. As 13 alças transmembrânicas são indicadas por cilindros numerados em algarismo romano. As linhas que se projetam dos éxons marcam as sequências de resíduos de aminoácidos correspondentes na proteína. As setas indicam as posições em que podem ocorrer mutações com prejuízo no transporte de I<sup>-</sup>.

Fonte: De la Vieja *et al.*<sup>29</sup>.





**Figura 5.** Topologia da hélice transmembrânica nove. Em "A" estrutura secundária mostrando as 13 alças transmembranares, as letras G no interior dos círculos indicam sítios de glicação.

Nota: Em "B" detalhe da hélice nove destacando círculos negros detidos pela linha descontinua os resíduos de aminoácidos que contem grupos OH nos carbonos  $\beta$ . Em "C" Projeção em roda da hélice transmembrânica nove, em destaque nos círculos negros os resíduos de aminoácidos que apresentam grupos OH no carbono  $\beta$ , note que esses resíduos de aminoácidos são Ser ou Thr.

de cinco resíduos de aminoácidos (Thr351, Ser353, Thr354, Ser356 e Thr357), presentes na alça transmembrânica nove, são essenciais para a plena função do NIS, uma vez que estão envolvidos no acoplamento com o íons sódio<sup>14</sup> (Figura 5). De fato, a alça transmembrânica nove é a porção do NIS que apresenta maior concentração de resíduos de aminoácidos com radicais OH (Ser e Thr)<sup>19</sup>.

A substituição dos resíduos Thr-351, Ser-353, Ser-356 ou Thr-357 por Ala, a qual não apresenta grupos hidroxil, promove significativa redução da atividade do NIS, enquanto a substituição de Thr-354 por Pro (que também não apresenta grupos OH) causa inibição completa da captação de I<sup>-</sup>. Já a substituição de Ser-349, Thr-354 e Thr-357 por Cis desencadeia redução da captação de I<sup>-</sup> de forma similar àquela causada pela Ala<sup>19</sup>. Contudo, quando se substitui individualmente Ser-349, Ser-358 ou Thr-366 por Ala, observa-se que função do NIS reduz modestamente, ou às vezes até aumenta, em cerca de 98%, 120% e 78% respectivamente<sup>19</sup>. Resultados similares podem ser obtidos supersaturando-se de I<sup>-</sup> o meio extracelular (160mM). Esses resultados sugerem que os resíduos de Ser-349 e Thr-366, as quais se localizam no meio extracelular e intracelular respectivamente, não apresentam um papel tão relevante quando comparados com Thr-351, Ser-353,

Thr-354, Ser-356 e Thr-357, os quais juntos formam um bolso na membrana do tireócito<sup>19</sup>. A única exceção é o resíduo de Ser-358, que se encontra inserido na membrana plasmática do tireócito. A substituição de Ser-358 por Ala não conduz à perda da função do NIS<sup>19</sup>. Assim sendo, essas substituições de resíduos de aminoácidos que não apresentam grupos OH causam prejuízo na função do NIS e, em alguns casos, a cessão absoluta do transporte de I<sup>-</sup>.

No sentido de manter a presença de grupos OH na alça transmembrânica nove, De La Vieja<sup>19</sup> e colaboradores substituíram cada Thr por Ser e cada Ser por Thr, ou seja, uma troca, gerando assim os mutantes T-351S, S-353T, T-354S, S-356T e T-357S. Nessa condição, a atividade do NIS sofreu prejuízo de 40% a 65%, valor muito maior do que aquele obtido com a substituição por Ala, Pro e Cis nas mesmas posições, com 10% de perda de função, ou menos. Esses dados sugerem que a presença dos grupos OH, dada pelos resíduos de Thr e Ser em suas devidas posições, é de fato necessária para a plena função do NIS como transportador de I<sup>-</sup>. A presença de grupos OH apresenta extrema relevância em diversos tipos de transportadores, tais como o cotransportador de Na<sup>+</sup>/dicarboxilato, transportador de glicose/Na<sup>+</sup>, bomba Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> ATPase dependente, transportador de glutamato (GLT1), entre outros.

## CONCLUSÕES

O profundo conhecimento relacionado à estrutura das proteínas envolvidas na síntese de hormônios tireoideanos pode trazer benefícios que envolvem a compreensão, em nível molecular, dos processos patológicos que acometem a glândula tireoide, tais como as neoplasias ou o hipotireoidismo congênito. Além disso, o NIS é alvo de medicamentos utilizados no diagnóstico e tratamento de morbidades tireoideanas, de modo que o estudo topológico desse simportador aumenta a eficiência no tratamento daquelas doenças.

## COLABORADORES

Todos autores participaram de todas as fases do artigo.

## REFERÊNCIAS

1. Bizhanova A, Kopp P. Minireview: the sodium-iodide symporter NIS and pendrin in iodide homeostasis of the thyroid. *Endocrinology*. 2009; 150(3):1084-90.
2. Dunn JT, Dunn AD. Update on intrathyroidal iodine metabolism. *Thyroid*. 2001; 11(5):407-14.
3. Dohan O, De la Vieja A, Paroder V, Riedel C, Artani M, Reed M, *et al.* The sodium/iodide symporter (NIS): characterization, regulation, and medical significance. *Endocr Rev*. 2003; (24):48-77.
4. Kopp P. Thyroid hormone synthesis: thyroid iodine metabolism. *In*: Braverman L, Utiger R, editors. *Werner and Ingbar's the thyroid: a fundamental and clinical text*. 9<sup>th</sup> ed. New York: Lippincott Williams Wilkins; 2005. p.52-76.
5. Arvan P, Di Jeso B. Thyroglobulin structure, function, and biosynthesis. *In*: Braverman L, Utiger R, editors. *Werner and Ingbar's the thyroid: a fundamental and clinical text*. New York: Lippincott Williams Wilkins; 2005. p.77-95.
6. Royaux IE, Wall SM, Karniski LP, Everett LA, Suzuki K, Knepper MA, *et al.* Encoded by the Pendred syndrome gene, resides in the apical region of renal intercalated cells and mediates bicarbonate secretion. *Proc Natl Acad Sci*. 2001; 98(7):4221-6.
7. Scott DA, Wang R, Kreman TM, Sheffield VC, Karniski LP. The Pendred syndrome gene encodes a chloride-iodide transport protein. *Nat Genet*. 1999; 21(4):440-3.
8. Dupuy C, Ohayon R, Valent A, Noël-Hudson MS, Dème D, Virion A. Purification of a novel flavoprotein involved in the thyroid NADPH oxidase. Cloning of the porcine and human cdnas. *J Biol Chem*. 1999; 274(52):37265-9.
9. De Deken X, Wang D, Many MC, Costagliola S, Libert F, Vassart G, *et al.* Cloning of two human thyroid cDNAs encoding new members of the NADPH oxidase family. *J Biol Chem*. 2000; 275(30):23227-33.
10. Wang D, De Deken X, Milenkovic M, Song Y, Pirson I, Dumont JE, *et al.* Identification of a novel partner of duox: EFP1, a thioredoxin-related protein. *J Biol Chem*. 2005; 280(4):3096-103.
11. Dai G, Levy O, Carrasco N. Cloning and characterization of the thyroid iodide transporter. *Nature*. 1996; 379(6564):458-60.
12. Reizer J, Reizer A, Saier Jr MH. A functional superfamily of sodium/solute symporters. *Biochim Biophys Acta*. 1994; 1197(2):133-66.
13. Rost B, Sander C. Combining evolutionary information and neural networks to predict protein secondary structure. *Proteins*. 1994; 19(1):55-72.
14. Levy O, De la Vieja A, Ginter CS, Riedel C, Dai G, Carrasco N. N-linked glycosylation of the thyroid Na<sup>+</sup>/I<sup>-</sup> symporter (NIS). Implications for its secondary structure model. *J Biol Chem*. 1998; 273(35):22657-63.
15. Smanik PA, Liu Q, Furminger TL, Ryu K, Xing S, Mazzaferri, *et al.* Cloning of the human sodium iodide symporter. *Biochem Biophys Res Commun*. 1996; 226(2):339-45.
16. Smanik PA, Ryu KY, Theil KS, Mazzaferri EL, Jhiang SM. Expression, exon-intron organization, and chromosome mapping of the human sodium iodide symporter. *Endocrinology*. 1997; 138(8):3555-8.
17. Perron B, Rodriguez AM, Leblanc G, Pourcher T. Cloning of the mouse sodium iodide symporter and its expression in the mammary gland and other tissues. *J Endocrinol*. 2001; 170(1):185-96.
18. Paire A, Bernier-Valentin F, Selmi-Ruby S, Rousset B. Characterization of the rat thyroid iodide transporter using anti-peptide antibodies. Relationship between its expression and activity. *J Biol Chem*. 1997; 272(29):18245-9.
19. De la Vieja A, Reed MD, Ginter CS, Carrasco N. Amino acid residues in transmembrane segment IX of the Na<sup>+</sup>/I<sup>-</sup> symporter play a role in its Na<sup>+</sup> dependence and are critical for transport activity. *J Biol Chem*. 2007; 282(35):25290-8.

20. Vassart G, Dumont JE. The thyrotropin receptor and the regulation of thyrocyte function and growth. *Endocr Rev.* 1992; 13(3):596-611.
21. Laglia G, Zeiger MA, Leipricht A, Caturegli P, Levine MA, Kohn LD, *et al.* Increased cyclic adenosine 3',5'-monophosphate inhibits G protein-coupled activation of phospholipase C in rat FRTL-5 thyroid cells. *Endocrinology.* 1996; 137(8):3170-6.
22. Weiss SJ, Philp NJ, Ambesi-Impimbato FS, Grollman EF. Thyrotropin-stimulated iodide transport mediated by adenosine 3,5-monophosphate and dependent on protein synthesis. *Endocrinology.* 1984; (114): 1099-107.
23. Levy O, Dai G, Riedel C, Ginter CS, Paul EM, Lebowitz AN, *et al.* Characterization of the thyroid Na<sup>+</sup>/I<sup>-</sup> symporter with an anti-COOH terminus antibody. *Proc Natl Acad Sci.* 1997; (94):5568-73.
24. Riedel C, Levy O, Carrasco N. Post-transcriptional regulation of the sodium/iodide symporter by thyrotropin. *J Biol Chem.* 2001; 276(24):21458-63.
25. Fanning AS, Anderson JM. PDZ domains: fundamental building blocks in the organization of protein complexes at the plasma membrane. *J Clin Invest.* 1999; 103(6):767-72.
26. Taurog A. Biosynthesis of iodoamino acids. *In:* Greep RO, Astwood EB, editors. *Handbook of physiology.* Washington, DC: American Physiological Society; 1974. v.3, p.101.
27. Marks MS, Ohno H, Kirchner T, Bonracino JS. Protein sorting by tyrosine-based signals: adapting to the Ys and wherefores. *Trends Cell Biol.* 1997; 7(3): 124-8.
28. Eng PH, Cardona GR, Fang SL, Previti M, Alex S, Carrasco N, *et al.* Escape from the acute Wolff-Chaikoff effect is associated with a decrease in thyroid sodium/iodide symporter messenger ribonucleic acid and protein. *Endocrinology.* 1999; 140(8):3404-10.
29. De La Vieja A, Dohan O, Levy O, Carrasco N. Molecular analysis of the sodium/iodide symporter: impact on thyroid and extrathyroid pathophysiology. *Physiol Ver.* 2000; 80(3):1083-105.
30. Spitzweg C, Joba W, Eisenmenger W, Heufelder AE. Analysis of human sodium iodide symporter gene expression in extrathyroidal tissues and cloning of its complementary deoxyribonucleic acids from salivary gland, mammary gland, and gastric mucosa. *J Clin Endocrinol Metab.* 1998; 83(5):1746-51.
31. Knobel M, Nogueira CR, Medeiros-Neto G. Genética molecular do hipotireoidismo. *Arq Bras Endocrinol Metab.* 2001; 45 (1):24-31.
32. Delom F, Lejeune PJ, Vinet L, Carayon P, Mallet B. Involvement of oxidative reactions and extracellular protein chaperones in the rescue of misassembled thyroglobulin in the follicular lumen. *Biochem Biophys Res Commun.* 1999; 255(2):438-43.
33. Kambe F, Seo H. Thyroid-specific transcription factors. *Endocr J.* 1997; 44(6):775-84.
34. Wu SL, Ho TY, Liang JA, Hsiang CY. Histidine residue at position 226 is critical for iodide uptake activity of human sodium/iodide symporter. *J Endocrinol.* 2008; 199(2):213-9.
35. De la Vieja A, Ginter CS, Carrasco N. Molecular analysis of a congenital iodide transport defect: G543E impairs maturation and trafficking of the Na<sup>+</sup>/I<sup>-</sup> symporter. *Mol Endocrinol.* 2005; 19(11):2847-58.
36. De la Vieja A, Ginter CS, Carrasco N. Molecular analysis of a congenital iodide transport defect: G543E impairs maturation and trafficking of the Na<sup>+</sup>/I<sup>-</sup> symporter. *Mol Endocrinol.* 2005; 19(11):2847-58.

Recebido em: 14/7/2009

Versão final reapresentada em: 3/2/2010

Aprovado em: 7/6/2010

