

# **Enzimas Envolvidas na Organificação Tiroideana do Iodo**

*atualização*

## RESUMO

A biossíntese dos hormônios da tireóide depende do funcionamento normal de uma série de proteínas que são necessárias tanto para a captação de iodeto através da membrana basolateral dos tireócitos como para sua incorporação à proteína aceptor, a tireoglobulina (Tg), o que ocorre na superfície apical da célula folicular. O co-transportador sódio-iodeto (NIS) é responsável pela captação tiroideana de iodeto, a primeira etapa da biossíntese hormonal tiroideana. No pólo apical dos tireócitos, o iodeto é transportado através da membrana celular pela pendrina (PDS) e subseqüentemente incorporado à Tg, uma proteína de alto peso molecular secretada no lúmen folicular. A oxidação do iodeto e sua organificação parecem ocorrer principalmente na superfície apical da célula folicular, e estas reações são catalisadas pela tireoperoxidase (TPO) na presença de peróxido de hidrogênio. Assim, a organificação tiroideana do iodo depende da atividade TPO, a qual é modulada pelas concentrações de substrato (tireoglobulina e iodeto) e cofator (peróxido de hidrogênio). A enzima responsável pela geração de peróxido de hidrogênio associada à hormonogênese tiroideana é a NADPH oxidase (ThOx), que encontra-se no pólo apical dos tireócitos, é estimulada pela tireotrofina e inibida pelo iodo. Aparentemente, a geração de peróxido de hidrogênio é o passo limitante da biossíntese dos hormônios da tireóide em condições de suficiência de iodo. (Arq Bras Endocrinol Metab 2004;48/1: 7-13)

**Descritores:** Tireoperoxidase; Oxidase tiroideana; Peróxido de hidrogênio; Iodo

## ABSTRACT

### **Enzymes Involved in Thyroid Iodide Organification.**

Thyroid hormone biosynthesis depends on iodide uptake and its incorporation into the acceptor protein thyroglobulin (Tg), a high molecular weight protein secreted into the follicular lumen. The sodium-iodide symporter (NIS) is responsible for thyroid iodide uptake, the first step in thyroid hormonogenesis. Iodide is subsequently transported through the cellular membrane by pendrin (PDS) and then incorporated into Tg. Iodide oxidation and organification occur mainly in the thyrocyte apical surface and these reactions are catalyzed by thyroperoxidase (TPO) in the presence of hydrogen peroxide. Thus, thyroid iodide organification depends on TPO activity, which is modulated by the concentration of substrates (thyroglobulin and iodide) and cofactor (hydrogen peroxide). Hydrogen peroxide generation is catalyzed by the thyroid NADPH oxidase (ThOx), which is present in the apical pole of thyrocytes, is stimulated by thyrotropin and is inhibited by iodide. Hydrogen peroxide generation is the limiting step in thyroid hormone biosynthesis under iodine sufficiency conditions. (Arq Bras Endocrinol Metab 2004;48/1: 7-13)

**Keywords:** Thyroperoxidase; Thyroid oxidase; Hydrogen peroxide; Iodide organification; Iodide

**Mário Vaisman  
Doris Rosenthal  
Denise P. Carvalho**

*Serviço de Endocrinologia,  
Hospital Universitário  
Clementino Fraga Filho/  
Faculdade de Medicina (MV); e  
Laboratório de Fisiologia  
Endócrina, Instituto de  
Biofísica Carlos Chagas Filho  
(DR, DPC), Universidade  
Federal do Rio de Janeiro,  
Rio de Janeiro, R.J.*

*Recebido em 05/11/03  
Aceito em 20/11/03*

**O** IODO É O ELEMENTO ESSENCIAL à biossíntese dos hormônios da tireóide. O iodeto proveniente da dieta é absorvido no trato gastro-intestinal, sendo captado pela tireóide a partir da corrente sanguínea, através de um transportador específico existente na membrana basolateral dos tireócitos, o co-transportador sódio-iodeto (NIS, Na<sup>+</sup>/I<sup>-</sup> Symporter) (1,2). Em áreas de deficiência de iodo na dieta, ocorre diminuição do conteúdo de iodo intra-tireoideano e conseqüente diminuição da produção dos hormônios da tireóide, causando graus variados de hipotireoidismo e alta prevalência de bócio. Muitas vezes, a deficiência hormonal já existe no período intra-uterino e permanece durante os primeiros meses ou anos de vida, podendo estar associada, em situações extremas, ao cretinismo.

A biossíntese hormonal é dependente da disponibilidade de iodo na região apical da célula folicular, da síntese adequada de tireoglobulina (Tg) e de enzimas envolvidas na incorporação do iodo a resíduos tirosila (Tyr) da molécula de Tg, etapa denominada organificação do iodo. A principal enzima relacionada à biossíntese hormonal é a peroxidase tireóidea (TPO). Dados da literatura indicam que a TPO é a responsável pela oxidação do iodeto e sua incorporação aos radicais tirosila da molécula de Tg (1,3). O H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> é essencial como oxidante na reação de oxidação do iodeto catalisada pela TPO e, quando os níveis intracelulares de iodeto são suficientes, a geração de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> passa a ser o passo limitante na biossíntese dos hormônios tireóideos (4). A enzima responsável pela geração tireóidea de peróxido de hidrogênio foi caracterizada em tireóides humanas e, posteriormente, clonada, tendo sido denominada oxidase tireóidea (ThOx ou DuOx) (5,6). Recentemente, foi demonstrado que outros genes expressos na tireóide originam proteínas importantes para a hormonogênese, como descrito na síndrome de Pendred, na qual há mutação na pendrina (PDS), normalmente expressa na membrana apical da célula folicular tireóidea (7). A PDS seria importante para a passagem do iodeto através da membrana apical, pois o sítio catalítico da TPO, região da enzima que interage com o iodeto, encontra-se na região extra-celular, voltado para o colóide. Portanto, a presença da PDS é importante para que o iodeto possa ser oxidado pela TPO e organificado na molécula de Tg.

A biossíntese hormonal requer a produção das proteínas envolvidas na organificação do iodo que são produzidas especificamente no tireócito. A expressão dessas proteínas é considerada marcador de diferenciação tecidual da tireóide e pode ser controlada por fatores de transcrição específicos como TTF-1, TTF-2 e Pax-8 (8-10). Esses fatores de transcrição são expres-

sos simultaneamente apenas na célula tireóidea. As regiões promotoras dos genes da Tg e da TPO são controladas pelo hormônio tireoestimulante (TSH) (11,12), e a expressão da Tg e da TPO se segue à interação dos fatores de transcrição TTF-1, TTF-2 e Pax-8 com a região promotora destes genes (8). Há interação de Pax 8 com a região promotora do gene do NIS. Entretanto, a combinação do fator Pax 8 com o TTF-1 não parece ser importante para a regulação da transcrição deste gene (13). As regiões promotoras dos genes da PDS e das ThOxs 1 e 2, assim como a sua regulação, ainda não foram estudadas.

O hipotireoidismo congênito permanente ocorre em cerca de 1:3000 a 1:4000 recém-natos. A principal causa está relacionada à disgenesia tireoideana (85%), que corresponde às agenesias, hipoplasias ou ectopias da tireóide (14,15). Mutações no gene do fator de transcrição tireoideano Pax 8 foram relacionadas a alguns casos de hipoplasia tireoideana (16), assim como mutações inativadoras no gene do receptor de TSH (17). Os demais casos de hipotireoidismo congênito estão relacionados a mutações que causam perda de função de proteínas envolvidas na biossíntese dos hormônios, como o NIS, a TPO, a ThOx2, a Tg e a PDS. Nesses casos, denomina-se dis-hormonogênese e há bócio, o qual pode estar presente ao nascimento ou se desenvolver durante a infância ou adolescência (14,15).

## ORGANIFICAÇÃO DO IODO

Os tireócitos são capazes de captar iodeto do plasma, através da sua membrana basolateral, contra gradiente eletro-químico.

O iodo entra na célula folicular tireóidea como iodeto, sendo transportado junto com o sódio por uma proteína transportadora de membrana - o NIS. O cDNA para o NIS foi clonado e codifica uma proteína transportadora clássica com treze domínios transmembrana (18). A atividade do NIS é eletrogênica e dependente do gradiente de Na<sup>+</sup> gerado pela bomba Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> ATPase; a estequiometria do co-transporte realizado pelo NIS é de 2 Na<sup>+</sup>: 1 I<sup>-</sup> (19). Como o interior da célula mantém um potencial elétrico negativo em relação ao interstício e à luz folicular, o iodeto é transportado para dentro da célula contra este potencial eletronegativo, mas a favor do gradiente eletroquímico gerado pelo Na<sup>+</sup>. Portanto, a atividade do NIS está intimamente relacionada à bomba Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> ATPase. Desta maneira, a captação de iodeto pela célula folicular ocorre por um mecanismo de transporte ativo se-

cundário (2). O transporte de iodeto através do NIS é estimulado pelo hormônio adeno-hipofisário tireotrofina (TSH). Além da concentração sérica de TSH, o transporte de iodeto é também regulado pelo mecanismo de auto-regulação do tireócito, no qual a atividade do NIS varia inversamente com o conteúdo glandular de iodo (21). No interior celular, o iodeto se difunde, segundo gradiente eletroquímico, em direção ao espaço luminal.

O iodeto é transportado através da membrana apical da célula folicular pela pendrina (PDS), uma proteína que se encontra mutada em pacientes com síndrome de Pendred, os quais apresentam bócio por defeito da biossíntese hormonal e surdez devido à malformação coclear (7,20).

A organificação do iodo à molécula de Tg depende da oxidação prévia do iodeto catalisada pela TPO na presença de peróxido de hidrogênio (figura 1).

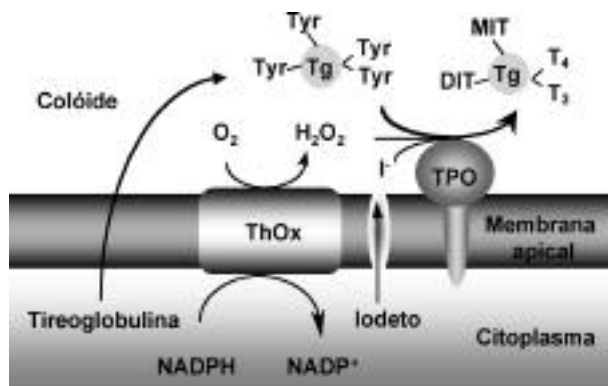


Figura 1. Esquema representando a organificação do iodo na membrana apical da célula folicular tireoideana. Tg - tireoglobulina, TPO - tireoperoxidase, ThOx - oxidase tireoideana.

## TIREOGLOBULINA

A Tg é a principal proteína produzida pela tireóide, correspondendo a 70-80% do conteúdo protéico da glândula, sintetizada no retículo endoplasmático e exportada para a luz folicular. Logo após a tradução do mRNA da Tg, ainda no retículo endoplasmático, resíduos glicídicos são adicionados à proteína. A Tg madura, presente no complexo de Golgi, contém 10% de carboidratos e o grau de glicosilação está associado à funcionalidade da proteína (22).

A Tg é uma glicoproteína dimérica de 660kDa e coeficiente de sedimentação de 19 S, quando normalmente iodada, que serve de suporte para a biossíntese dos hormônios tireóideos (23). O iodo é incorporado em regiões específicas da Tg - resíduos tirosil

hormonogênicos - e a proteína é clivada após endocitose, permitindo a liberação dos hormônios tireóideos formados (1,3,24).

O gene humano da Tg, possui 260kb (22) e se localiza no cromossomo 8. O mRNA da Tg possui 8-8,5kb e codifica uma sub-unidade com 330kDa e coeficiente de sedimentação 12 S (1,3).

## TIREOPEROXIDASE

A TPO é uma hemoglicoproteína com 933 aminoácidos e peso molecular de 103kDa, que se encontra na membrana plasmática apical da célula folicular com o seu domínio catalítico voltado para o colóide (1,25). A proteína está distribuída em diferentes localizações subcelulares, como retículo endoplasmático, aparelho de Golgi e vesículas próximas à membrana apical da célula folicular, na interface citoplasma-colóide. O gene da TPO humana, localiza-se no braço curto do cromossoma 2, está clonado e a seqüência completa possui 3048 nucleotídeos (26). A expressão da TPO é controlada pelo TSH através de um sistema dependente de 3', 5'-adenosina monofosfato cíclico (AMPC)/proteína cinase A (PKA) (12). A atividade TPO está aumentada no adenoma tóxico e no bócio difuso tóxico e é bastante variável em nódulos hipofuncionantes (26).

A TPO é o principal componente do antígeno microssomal que corresponde ao alvo dos auto-anticorpos presentes na tireoidite auto-imune, causando destruição da glândula, particularmente na tireoidite de Hashimoto (27).

Há outras isoformas de TPO em tireóides normais e na doença de Graves, como a TPO 2, que apresenta 876 aminoácidos, e a TPOzanelli, que tem 929 aminoácidos (28,29). O papel dessas TPOs menores, possivelmente produtos de clivagem da proteína ou de *splicing* alternativo do mRNA da TPO 1, ainda não foi elucidado.

Atualmente, acredita-se que a TPO seja responsável pela catálise de 3 reações da biossíntese hormonal: a oxidação de íons  $I^-$ , a iodação da tireoglobulina e o acoplamento de iodotirosinas, formando iodotironinas (1,3).

Foi proposta a existência de dois sítios catalíticos na TPO, um para ligar-se ao  $I^-$  e outro para ligar-se à tirosina, aminoácido presente na tireoglobulina. Esses dois substratos irão sofrer oxidação pela TPO, produzindo radicais livres a partir do iodeto e da tirosila, que se ligam formando monoiodotirosina (MIT). A MIT, ainda ligada à TPO, pode sofrer nova oxidação e reagir com outro radical do iodeto, produzindo

diiodotirosina (DIT). As iodotirosinas formadas são acopladas, formando os hormônios tireóideos tetraiodotironina (T4) ou 3,5,3'-triiodotironina (T3) (1,3).

#### SISTEMA GERADOR DE PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO

O  $H_2O_2$  é essencial nas reações catalisadas pela TPO, agindo como cofator enzimático na reação de oxidação do  $I^-$ . Há alguns anos, o estudo dos possíveis sistemas envolvidos na geração de  $H_2O_2$  na tireóide tem sido de especial interesse em tireoidologia. A geração de  $H_2O_2$  foi detectada na região apical da célula folicular tireóidea, e mostrou-se dependente de NADPH (30). Além disto, foi demonstrado que o aumento da produção de  $H_2O_2$  na tireóide parece ser mediado, pelo menos em algumas espécies, pelo aumento dos níveis de cálcio intracelular (31). *In vitro*, vários estudos foram feitos com o intuito de caracterizar a enzima responsável pela geração tireóidea de  $H_2O_2$ . Utilizando-se técnicas bioquímicas, os resultados obtidos *in vivo* foram confirmados, tendo sido determinado que o sistema gerador de peróxido de hidrogênio na tireóide é dependente de NADPH e de cálcio em concentrações micromolares. A enzima, denominada NADPH oxidase tireóidea, encontra-se nas frações microssomais e de membrana citoplasmática de tireóides (32-34).

Nos últimos anos, mostrou-se que a indução da geração de  $H_2O_2$  em culturas primárias de tireócitos caninos era modulada pelo hormônio tireotrófico (TSH) (35), e que a atividade NADPH oxidase era induzida por TSH, assim como os outros marcadores de diferenciação celular tireóideos, a Tg e a TPO. Além disto, assim como ocorre na regulação da expressão da TPO e da Tg, os efeitos do TSH sobre a atividade NADPH oxidase são dependentes de síntese protéica e reproduzidos por análogos do AMP cíclico (36). Dando prosseguimento a estes estudos, a sub-unidade dessa enzima responsável pela oxidação do NADPH foi solubilizada e foi demonstrado que a síntese desta porção, flavoprotéica, era induzida pelo TSH (37). Esses dados foram fundamentais para que a NADPH oxidase fosse finalmente considerada a enzima responsável pela geração de  $H_2O_2$ , sendo de extrema relevância para a biossíntese dos hormônios tireóideos, assim como a TPO, a Tg e o iodeto. Entretanto, apesar da relevância do  $H_2O_2$  na biossíntese dos hormônios tireóideos, a NADPH oxidase foi apenas recentemente caracterizada em glândulas humanas (33,34). Ainda mais recentemente, o cDNA da porção flavoprotéica relacionada à

atividade NADPH oxidase foi clonado em tireócitos porcinos e humanos, permitindo estudos futuros de expressão do mRNA para esta enzima em doenças tireóideas e diversos modelos experimentais. Dois genes que codificam flavoproteínas possivelmente relacionados à atividade NADPH oxidase foram clonados (5,6) e correspondem a enzimas denominadas oxidases tireóideas 1 e 2 (ThOx 1 e ThOx 2). As ThOx foram também denominadas *dual oxidases* (DuOx), pois apresentam um domínio ectoperoxidase na sua região extracelular (38,39) (figura 2).

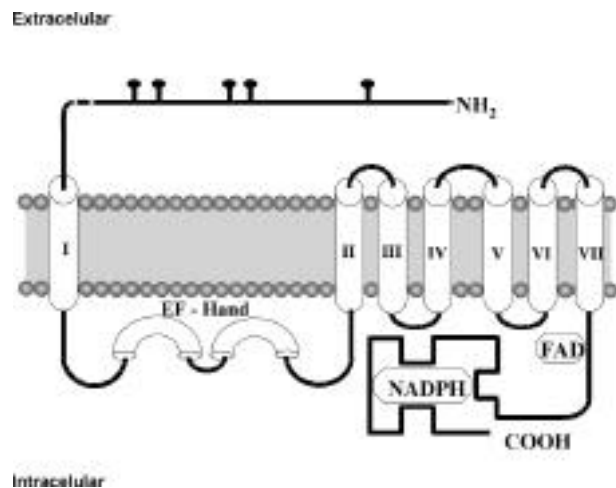


Figura 2. Estrutura da oxidase tireóidea (ThOx), conforme deduzida através da análise da seqüência de aminoácidos. Estão representados os domínios de ligação do NADPH e do FAD (flavina adenina dinucleotídeo). EF-hand – domínios de ligação do cálcio, I a VII – regiões transmembrana da proteína. Adaptado de De Deken e cols. (ref.6).

A caracterização deste sistema enzimático contribuiu para o melhor entendimento dos vários aspectos da regulação da biossíntese hormonal tireóidea e para o estudo do seu possível papel em alguns casos de disfunção glandular. Foram previamente descritos casos de bócio dis-hormonogênicos com defeito de organificação do iodo (teste do perclorato positivo), nos quais a atividade TPO *in vitro* encontrava-se normal. Desta maneira, suspeitava-se que o defeito genético nestes bócios seria a deficiência na geração de peróxido de hidrogênio *in vivo* (40-42). Entretanto, como o sistema gerador de  $H_2O_2$  não estava caracterizado em humanos, o estudo da possível alteração enzimática que seria a causa da dis-hormonogênese não pôde ser feito. Em 2001 (43), foi publicado um estudo pioneiro em uma família com dois irmãos afetados com bócio dis-hormonogênico, no qual se demonstrou pela primeira vez defeito na geração de peróxido de hidrogênio secundário à diminuição da

atividade NADPH oxidase como a causa destes bócios. Posteriormente, após a clonagem do cDNA das ThOX 1 e 2, Moreno e cols. (44) descreveram as primeiras mutações no gene da NADPH oxidase, a ThOX 2.

O aumento do *pool* de iodo intratireóideo diminui o transporte de iodeto, a resposta da célula tireóidea ao TSH e a organificação do iodo. O excesso de iodeto intracelular também bloqueia a secreção hormonal e inibe a síntese da TPO (21). O bloqueio da organificação do iodo ocorre na presença de altas concentrações de iodo e corresponde ao efeito Wolff-Chaikoff (45). A diminuição da captação de iodeto e da resposta tireóidea ao TSH parecem ser dependentes da formação de um intermediário iodado, ou seja, da organificação prévia do iodo. Há evidências de que este intermediário iodado seja um derivado lipídico, entretanto, existem controvérsias na literatura. O iodolípido pode ser derivado de plasmalogênios, como o 2-iodohexadecanal que representa o iodolípido mais abundante na tireóide (46), ou do ácido aracdônico, como os iodoaracdonatos (47). Anteriormente, demonstrou-se que os iodoaldeídos inibem a geração de  $H_2O_2$  na tireóide, e que a atividade NADPH oxidase é inibida pelo iodo-hexadecanal (48,49).

Como a organificação do iodo encontra-se bloqueada durante o efeito Wolff-Chaikoff, a regulação das atividades TPO e NADPH oxidase pelo iodo *in vivo* mereceu uma investigação mais cuidadosa. Cardoso e cols. (50,51) demonstraram que a atividade geradora de  $H_2O_2$  pela NADPH oxidase encontrava-se inibida em pacientes com bócio difuso tóxico que receberam iodo no período pré-operatório. Todavia, nesses pacientes, a atividade TPO não estava inibida. Assim, a inibição da biossíntese hormonal provocada pelo aumento de iodo no tireócito é devida à inibição

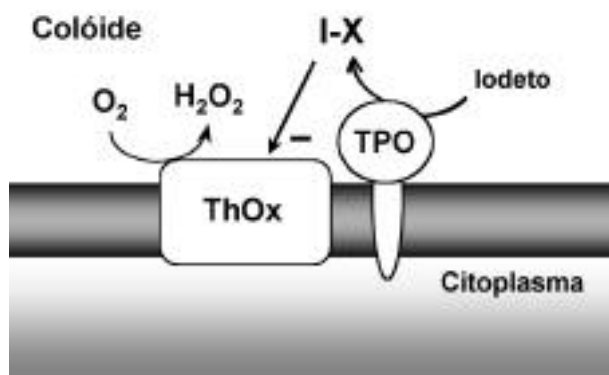


Figura 3. Mecanismo de bloqueio da organificação do iodo durante o efeito Wolff-Chaikoff. Inibição da oxidase tireoideana (ThOx) pelo iodo organificado. TPO – tireoperoxidase, IX – composto iodado de natureza química desconhecida.

da geração de  $H_2O_2$  e não da atividade TPO, como anteriormente sugerido (figura 3). Estudos em culturas primárias de tireócitos suínos corroboraram os achados em humanos, demonstrando, inequivocamente, que a atividade NADPH oxidase está bloqueada na presença de iodo em altas concentrações (52).

Portanto, os dados mais recentes da literatura indicam ser a ThOx a enzima bloqueada durante o efeito Wolff-Chaikoff, e não a TPO, conforme anteriormente sugerido na literatura.

## REFERÊNCIAS

1. Taurog A. Thyroid hormone synthesis. In: Braverman LE, Utiger RD, editors. *The thyroid: A fundamental and clinical text*, 8<sup>th</sup> ed. New York: Lippincott-Raven, 2000.p.85-91.
2. 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.
3. Larsen PR, Davies TF, Schlumberger MJ, Hay ID. Thyroid physiology and diagnostic evaluation of patients with thyroid disorders. In: Larsen PR, Kronenberg HM, Melmed S, Polonsky KS, editors. *Williams' textbook of endocrinology*. 10<sup>th</sup> ed. Philadelphia: W.B.Saunders, 2003.p.331-73.
4. Corvilain B, Van Sande J, Dumont JE. Inhibition by iodide of iodide binding to proteins: the "Wolff-Chaikoff" effect is caused by inhibition of  $H_2O_2$  generation. *Biochem Biophys Res Commun* 1988;154:1287.
5. Dupuy C, Ohayon R, Valent A, Noel-Hudson MS, Dème D, Virion A. purification of a novel flavoprotein involved in the thyroid NADPH oxidase. *J Biol Chem* 1999; 274:37265.
6. 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;275:23227-33.
7. Royaux IE, Suzuki K, Mori A, Katoh R, Everett LA, Kohn LD, et al. Pendrin, the protein encoded by the Pendred syndrome gene (PDS), is an apical porter of iodide in the thyroid and is regulated by thyroglobulin in FRTL-5 cells. *Endocrinology* 2000;141:839.
8. Civitareale D, Saiardi A, Falasca P. Purification and characterization of thyroid transcription factor 2. *J Biochem* 1994;304:981-5.
9. Zannini M, Francis-Lang L, Plachov D, Di Lauro R. Pax-8, a paired domain-containing protein, binds to a sequence overlapping the recognition site of a homeodomain and activates transcriptional from two thyroid-specific promoters. *Mol Cell Biol* 1992;12:4230-40.
10. Francis-Lang H, Price M, Polycarpou-Schwarz M, Di Lauro R. Cell-type-specific expression of rat thyroperoxidase promoter indicates common mechanisms for thyroid-specific gene expression. *Mol Cell Biol* 1992;12:576-88.
11. Aza-Blanc P, Di Lauro R, Santisteban P. Identification of a cis-regulatory element and a thyroid-specific nuclear factor mediating the hormonal regulation of rat thyroid

- peroxidase promoter activity. *Mol Endocrinol* 1993;7:1297-306.
12. Gérard CM, Lefort A, Christophe D, Libert F, Van Sande J, Dumont JE, et al. Control of thyroperoxidase and thyroglobulin transcription by cAMP: evidence for distinct regulatory mechanisms. *Mol Endocrinol* 1989;3:2110-8.
  13. Schmitt TL, Espinoza CR, Loos U. Transcriptional regulation of the human sodium/iodide symporter gene by Pax8 and TTF-1. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 2001;109:27-31.
  14. Kopp P. Perspective: genetic defects in the etiology of congenital hypothyroidism. *Endocrinology* 2002;143:2019-24.
  15. Calaciura F, Miscio G, Coco A, Leonardi D, Cisternino C, Regalbuto C, et al. Genetics of specific phenotypes of congenital hypothyroidism: a population-based approach. *Thyroid* 2002;12:945-51.
  16. Macchia PE, Lapi P, Krude H, Pirro MT, Missero C, Chiovato L, et al. PAX8 mutations associated with congenital hypothyroidism caused by thyroid dysgenesis. *Nat Genet* 1998;19:83-6.
  17. Abramowicz MJ, Duprez L, Parma J, Vassart G, Heinrichs C. Familial congenital hypothyroidism due to inactivating mutation of the thyrotropin receptor causing profound hypoplasia of the thyroid gland. *J Clin Invest* 1997;99:3018-24.
  18. Dai G, Levy O, Carrasco N. Cloning and characterization of the thyroid iodine transporter. *Nature* 1996;379:458-60.
  19. Eskandari S, Loo DDF, Dai G, Levy O, Wright EM, Carrasco N. Thyroid Na<sup>+</sup>/I<sup>-</sup> symporter - mechanism, stoichiometry, and specificity. *J Biol Chem* 1997;272:27230-8.
  20. Kopp P. Pendred's syndrome: identification of the genetic defect a century after its recognition. *Thyroid* 1999;9:65-9.
  21. Eng PH, Cardona GR, Fang SL, Previti M, Alex S, Carrasco N, et al. Escape from acute Wolff-Chaikoff effect is associated with a decrease in thyroid sodium/iodide symporter messenger ribonucleic acid and protein. *Endocrinology* 1999;140:3404-10.
  22. Medeiros-Neto G, Kim PS, Yoo SE, Vono J, Targovnik HM, Camargo R, et al. Congenital hypothyroid goiter with deficient thyroglobulin. Identification of an endoplasmic reticulum storage disease with induction of molecular chaperones. *J Clin Invest* 1996;98:2838-44.
  23. Carvalho DP, Rosenthal D, Breitenbach MMD. Analysis of thyroglobulin 27S and 19S and their hormonal content in human thyroid glands. *Braz J Med Biol Res* 1987;20:415-8.
  24. Di Lauro R, Obici S, Condliffe D, Ursini VM, Musti A, Moscatelli C, et al. The sequence of 967 amino acids at the carboxyl-end of rat thyroglobulin: location and surrounding of two thyroxine-forming sites. *Eur J Biochem* 1985;148:7-11.
  25. Medeiros-Neto GA, Billerbeck AE, Wajchenberg BL, Targovnik HM. Defective organification of iodide causing hereditary goitrous hypothyroidism. *Thyroid* 1993;3:143-59.
  26. Moura EG, Rosenthal D, Carvalho-Guimarães DP. Thyroid peroxidase activity in human nodular goiters. *Braz J Med Biol Res* 1989;22:31.
  27. McLachlan SM, Rapoport B. Autoimmune response to the thyroid in humans: thyroid peroxidase - the common autoantigenic denominator. *Int Rev Immunol* 2000;19:587-618.
  28. Zanelli E, Henry M, Charvet B, Malthiery Y. Evidence for an alternate splicing in the thyroperoxidase messenger from patients with Graves' disease. *Biochem Biophys Res Commun* 1990;170:735-41.
  29. Niccoli-Sire P, Fayadat L, Siffroi-Fernandez S, Malthiery Y, Franc JL. Alternatively spliced form of human thyroperoxidase, TPOzanelli: activity, intracellular trafficking, and role in hormonogenesis. *Biochemistry* 2001;40:2572-9.
  30. Bjorkman U, Ekholm R. Generation of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in isolated porcine thyroid follicles. *Endocrinology* 1984;115:392.
  31. Bjorkman U, Ekholm R. Hydrogen peroxide generation and its regulation in FRTL-5 and porcine thyroid cells. *Endocrinology* 1992;130:393.
  32. Dupuy C, Virion A, Ohayon R, Kaniewski J, Deme D, Pommier J. Mechanism of hydrogen peroxide formation catalyzed by NADPH oxidase in thyroid plasma membrane. *J Biol Chem* 1991;266:3739.
  33. Leseney AM, Dème D, Dupuy C, Ohayon R, Chanson P, Sales JP, et al. Biochemical characterization of a Ca<sup>2+</sup>/NAD(P)H-dependent H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> generator in human thyroid tissue. *Biochimie* 1999;81:373-80.
  34. Cardoso LC, Figueiredo MDL, Domingos MG, Vaisman M, Carvalho DP. Sistema enzimático gerador de peróxido de hidrogênio - NADPH oxidase - na tireóide humana. *Arq Bras Endocrinol Metab* 2000;44:352-7.
  35. Raspé E, Dumont JE. Tonic modulation of dog thyrocyte H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> generation and I<sup>-</sup> uptake by thyrotropin through the cyclic adenosine 3', 5'-monophosphate cascade. *Endocrinology* 1995;136:965.
  36. Carvalho DP, Dupuy C, Gorin Y, Legue O, Pommier J, Haye B, et al. The Ca<sup>2+</sup> - and reduced nicotinamide adenine dinucleotide phosphate-dependent hydrogen peroxide generating system is induced by thyrotropin in porcine thyroid cells. *Endocrinology* 1996;137:1007-12.
  37. Gorin Y, Ohayon R, Carvalho DP, Dème D, Leseney AM, Haye B, et al. Solubilization and characterization of a thyroid Ca<sup>2+</sup> and NADPH-dependent K<sub>3</sub>Fe(CN)<sub>6</sub> reductase: relationship with the NADPH-dependent H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> generating system. *Eur J Biochem* 1996;240:807-14.
  38. Edens WA, Sharling L, Cheng G, Shapira R, Kinkade JM, Lee T, et al. Tyrosine cross-linking of extracellular matrix is catalyzed by Duox, a multidomain oxidase/peroxidase with homology to the phagocyte oxidase subunit gp91phox. *J Cell Biol* 2001;154:879-91.
  39. Lambeth JD. Nox/Duox family of nicotinamide adenine dinucleotide (phosphate) oxidases. *Curr Opin Hematol* 2002;9:11-7.
  40. Kusakabe T. Deficient cytochrome b<sub>5</sub> reductase activity in nontoxic goiter with iodide organification defect. *Metabolism* 1975;24:1103.
  41. Niepomniscz H, Targovnik HM, Gluzman BE, Curutchet P. Abnormal H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> supply in the thyroid of a patient with goiter and iodine organification defect. *J Clin Endocrinol Metab* 1987;65:344.
  42. Carvalho DP, Rego KGM, Rosenthal D. Thyroid peroxidase in dysmorphogenetic goiters with organification and thyroglobulin defects. *Thyroid* 1994;4:421-6.

- 
43. Figueiredo MD, Cardoso LC, Ferreira AC, Campos DV, da Cruz Domingos M, Corbo R, et al. Goiter and hypothyroidism in two siblings due to impaired  $\text{Ca}^{2+}$ /NAD(P)H-dependent  $\text{H}_2\text{O}_2$ -generating activity. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86:4843-8.
  44. Moreno JC, Bikker H, Kempers MJ, van Trotsenburg AS, Baas F, de Vijlder JJ, et al. Inactivating mutations in the gene for thyroid oxidase 2 (THOX2) and congenital hypothyroidism. *N Engl J Med* 2002;347:95-102.
  45. Wolff J, Chaikoff IL. Plasma inorganic iodide as a homeostatic regulator of thyroid function. *J Biol Chem* 1948;174:555.
  46. Pereira A, Braekman JC, Dumont JE, Boeynaems JM. Identification of a major iodolipid from the horse thyroid gland as 2-iodohexadecanal. *J Biol Chem* 1990;265:17018.
  47. Pisarev MA, Chazenbalk GD, Valsecchi RM, Burton G, Krawiec L, Monteagudo E, et al. Thyroid autoregulation. Inhibition of goiter growth and of cyclic AMP formation in rat thyroid by iodinated derivatives of arachidonic acid. *J Endocrinol Invest* 1988;11:669.
  48. Ohayon R, Boeynaems JM, Braekman JC, Van den Bergen H, Gorin Y, Virion A. Inhibition of thyroid NADPH-oxidase by 2-iodohexadecanal in a cell-free system. *Mol Cell Endocrinol* 1994;99:133.
  49. Panneels V, Van den Bergen H, Jacoby C, Braekman JC, Van Sande J, Dumont JE, et al. Inhibition of  $\text{H}_2\text{O}_2$  production by iodoaldehydes in cultured dog thyroid cells. *Mol Cell Endocrinol* 1994;102:167.
  50. Cardoso LC, Martins DC, Figueiredo MD, Rosenthal D, Vaisman M, Violante AH, et al.  $\text{Ca}^{2+}$ /nicotinamide adenine dinucleotide phosphate-dependent  $\text{H}_2\text{O}_2$  generation is inhibited by iodide in human thyroids. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86:4339-43.
  51. Cardoso LC, Martins DC, Campos DV, Santos LM, Correa da Costa VM, Rosenthal D, et al. Effect of iodine or iopanoic acid on thyroid  $\text{Ca}^{2+}$ /NADPH-dependent  $\text{H}_2\text{O}_2$ -generating activity and thyroperoxidase in toxic diffuse goiters. *Eur J Endocrinol* 2002;147:293-8.
  52. Morand S, Chaaraoui M, Kaniewski J, Deme D, Ohayon R, Noel-Hudson MS, et al. Effect of iodide on nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidase activity and Duox2 protein expression in isolated porcine thyroid follicles. *Endocrinology* 2003;144:1241-8.

**Endereço para correspondência:**

Denise P. Carvalho  
Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho  
CCS - Bloco G, Cidade Universitária, Ilha do Fundão  
21949-900 Rio de Janeiro, RJ  
Fax: (21) 2280-8193  
e.mail: dencarv@biof.ufrj.br