CAROLINE SERRANO DO NASCIMENTO

**EFEITO DA ADMINISTRAÇÃO AGUDA DE IODO NA
REGULAÇÃO DA EXPRESSÃO DO GENE DO CO-
TRANSPORTADOR DE SÓDIO-IODETO (NIS) –
ESTUDO *IN VIVO* E *IN VITRO***

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação do Departamento de Fisiologia e Biofísica do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, para obtenção do Título de Mestre em Ciências.

**São Paulo
2008**

RESUMO

SERRANO-NASCIMENTO, C. **Efeito da administração aguda de iodo na regulação da expressão do gene do co-transportador sódio-iodeto (NIS) – Estudos *in vivo* e *in vitro*.** Dissertação – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.

O iodo, fundamental para a síntese de HTs, quando em excesso, promove um bloqueio na função tireoidiana (efeito Wolff-Chaikoff), o qual ainda não está completamente elucidado. Considerando-se que a estabilidade de alguns mRNAs que codificam proteínas envolvidas com o transporte de oligominerais é modificada por alterações no aporte dos mesmos, tornou-se interessante avaliar se a administração aguda de iodo alteraria a expressão, o peso molecular e a taxa da tradução do mRNA da NIS, em curtos períodos de tempo, o que poderia indicar uma ação direta deste íon sobre a estabilidade do mRNA que codifica a proteína que o transporta. Para tal, foram realizados estudos *in vivo* e *in vitro*. Nos *in vivo*, ratos machos Wistar tratados com MMI 0,03% por quatro dias foram utilizados. Então, foram divididos em dois grupos – *controle* e *iodo* – que receberam injeção de salina ou NaI ($0,8 \times 10^{-3}$ M; i.p.), respectivamente. Seguiu-se a decapitação após 30 min, 1h, 2h, 12h, 24h da administração do iodo/salina. O RNA total das tireóides retiradas foi extraído e submetido à eletroforese em gel de agarose para avaliação da expressão gênica e da migração dos mRNAs da NIS, por *Northern Blot*. Nos estudos *in vitro* foi utilizada a linhagem PCCL3, tratada ou não com NaI (10^{-3} M). Após 30 min, 1h, 2h, 12h e 24h, extraiu-se o RNA total, e avaliou-se a expressão do mRNA da NIS por *Real Time PCR*. Para avaliar o comprimento da cauda poli-A do mRNA de NIS em ambos modelos, realizou-se a técnica de *RACE-PAT*. Realizou-se, ainda, o ensaio de perfil polissomal *in vitro*. Observou-se, tanto nos estudos *in vivo*, quanto nos *in vitro*, que o excesso de iodo promoveu diminuição da expressão e do peso molecular do mRNA de NIS, uma vez que, a partir da técnica de *RACE-PAT*, foi observada uma redução significativa do comprimento da cauda poli-A dos mRNAs de todos os grupos tratados com iodo. Ainda, *in vitro*, observou-se menor recrutamento do mRNA de NIS para os polissomos. É provável que esta diminuição da expressão gênica da NIS, observada *in vivo* e *in vitro* e em curto período de tempo, após administração aguda de iodo, se deva à redução do comprimento da cauda poli-A do mRNA de NIS, o que poderia promover aumento da instabilidade e da taxa de degradação deste mRNA, levando à diminuição da sua tradução. Esta também poderia resultar do fato de que transcritos com menor cauda poli-A ancoram-se com menor eficácia no aparelho ribossomal. Com base nestes dados conclui-se que o iodo exerce uma ação pós-transcricional na regulação da expressão gênica e tradução do mRNA da NIS, por meio da qual desempenha um papel fundamental nos processos moleculares que norteiam o efeito Wolff-Chaikoff. Ainda, os resultados presentes neste estudo aumentam as evidências que apontam para a importância do papel de oligoelementos na regulação de proteínas relacionadas com seu transporte.

Palavras-chave: Iodo; Regulação pós-transcricional; Cauda poli-A; Tratamento agudo; NIS; Expressão gênica.

ABSTRACT

SERRANO-NASCIMENTO, C. **Effect of acute iodine administration on the regulation of sodium-iodide symporter (NIS) gene expression – *In vivo* and *In vitro* studies**. Master Thesis – Institute of Biomedical Sciences, University of São Paulo, São Paulo, 2008.

Iodide transport in thyroid follicular cells is fundamental for thyroid hormone biosynthesis and is accomplished by the sodium-iodide symporter (NIS). Iodide in excess exerts downregulation of NIS expression and activity, and the mechanisms that guide the suppression of NIS by iodine were primarily related to TSH reduction, TGF-beta increase or to iodolipids production. The latter impairs TSH signaling pathways and depends on the integrity of thyroid peroxidase. Considering that some minerals can regulate the stability of mRNAs that code for proteins related to their transport, this study aimed to investigate if the acute administration of iodide excess could modify the expression, molecular weight and translation of NIS mRNA. MMI (0,03%)-treated rats (4 days) were treated with iodide ($0,8 \times 10^{-3} \text{M}$) or saline (control group) and killed 30 min up to 24h later. Thyroid gland was removed, total RNA was extracted and submitted to electrophoresis, for evaluation of NIS mRNA expression and migration by Northern Blotting. PCCl3 cells, treated or not with NaI (10^{-3}M) were also used in the study, in which mRNA NIS expression was evaluated by Real Time PCR, 30 min up to 24h after treatment. RACE-PAT assay was performed in thyroid gland or PCCl3 cells samples to determine the NIS mRNA poly-A tail length. The polysomal profile of PCCl3 cells was also evaluated to determine the NIS mRNA recruitment to polysome. Both *in vivo* and *in vitro* studies showed that the iodide treatment promoted a reduction in the expression and in the poly-A tail length of NIS mRNA, in all period of time studied. The *in vitro* studies also showed a reduction in the NIS mRNA recruitment to the polysome. These results suggest that the reduction of NIS mRNA expression observed in short period of time (30 min) is related to a decreased NIS mRNA stability, since poly-A tail length, that is extremely important to mRNA stability, was also reduced in these samples. Moreover, as the mRNA length is directly associated with its translation efficiency, the present data also indicated that NIS mRNA translation is impaired, as it was observed in the *in vitro* studies. Based on these evidences, it is possible to conclude that the iodine exerts a post-transcriptional regulation of NIS mRNA expression and translation, being essential in the molecular processes that guide the Wolff-Chaikoff effect. The data presented herein increase the body of evidence demonstrating that oligoelements have an extremely important role in the regulation of proteins related to their transport.

Key words: Iodine; Post-transcriptional regulation; Poly-A tail; Acute treatment; NIS; Gene expression.

1 INTRODUÇÃO

Os hormônios tireoideanos (HT) desempenham importante papel no crescimento, desenvolvimento e metabolismo de todos os vertebrados. A ação desses hormônios se manifesta desde o período embrionário, sendo o T_3 de fundamental importância no desenvolvimento de vários sistemas do organismo. Além disso, são fundamentais na regulação de diversas atividades metabólicas, participando dessa maneira, da manutenção da qualidade de vida nos indivíduos adultos (NUNES, 2003).

O T_3 e o T_4 são os únicos hormônios de vertebrados que possuem iodo em sua constituição molecular. Por esse motivo, fica claro que tanto os efeitos biológicos desses hormônios, como a própria função tireoideana sejam fundamentalmente dependentes de um suprimento adequado de iodo na alimentação (CARRASCO, 1993).

O iodo proveniente da alimentação é reduzido a iodeto e absorvido no trato gastro-intestinal atingindo a circulação sanguínea através da qual a glândula tireóide tem acesso a este ânion. As células tireoideanas são então capazes de capturá-lo através de um transportador específico existente na membrana basolateral, o co-transportador sódio-iodeto (NIS) (TAUROG *et al.*, 2000; DOHÁN *et al.*, 2003). Este vem sendo muito estudado, pois além de exercer um papel central no processo de biossíntese de HT, também oferece inúmeras perspectivas terapêuticas para o tratamento de tumores (DINGLI *et al.*, 2004).

Considerando que o interior das células foliculares tireoideanas mantém um potencial elétrico negativo e uma concentração de iodo maior do que aquela do plasma, a captação de iodeto pela tireóide, mediada pela NIS, somente é possível graças a um transporte ativo secundário de iodeto, o qual ocorre a favor do gradiente eletroquímico de Na^+ , gerado pela Na^+/K^+ ATPase (KAMINSKY *et al.*, 1994), sendo esse passo de importância crucial para a biossíntese de hormônios tireoideanos (VAISMAN *et al.*, 2004).

Estudos estequiométricos determinaram que o fluxo de íons para o interior das células foliculares tireoideanas ocorre numa proporção de dois íons sódio para um de iodeto, confirmando que a atividade da NIS é eletrogênica. Esse mecanismo de transporte ocorre simultaneamente e depende da ligação de dois íons sódio à NIS antes que o iodeto se ligue à mesma (SMANIK *et al.*, 1996; ESKANDARI, *et al.*, 1997).

A tireóide divide a capacidade de acumular iodeto com uma série de outros tecidos, como glândulas salivares, mamárias e lacrimais, rim, mucosa gástrica, pele e placenta, os quais também expressam NIS. Nesses tecidos, a molécula de NIS parece apresentar características funcionais diversas, no entanto, se observa que somente em alguns deles ocorre a organificação do iodeto (EVANS *et al.*, 1966; STRUM *et al.*, 1983; JHIANG *et al.*, 1998; SPITZWEG *et al.*, 1998; SPITZWEG *et al.*, 1999).

O gene da NIS foi clonado em 1996, e a partir de então, algumas informações mais específicas sobre a estrutura molecular dessa proteína, dotada de treze domínios transmembrana, com terminação amino extracelular e terminação carboxil intracelular, puderam ser obtidas (DAI *et al.*, 1996; SPITZWEG *et al.*, 2000; DOHÁN *et al.*, 2003).

Atualmente, sabe-se que o gene da NIS é constituído por 15 éxons separados por 14 íntrons. Esse gene, em humanos, codifica um mRNA de 3.9 kb, e em ratos, um mRNA de 2.9 kb (SMANIK *et al.*, 1997; SPITZWEG *et al.*, *op cit.*).

Mesmo antes da clonagem do gene da NIS, sua regulação já era intensamente investigada. Ainda que os mecanismos envolvidos nessa regulação não fossem claramente descritos, sabia-se que o TSH, principal hormônio regulador da função tireoideana, estimulava o transporte de iodeto nas células tireoideanas, via adenilil-ciclase e AMPc, provavelmente, por aumentar a atividade do co-transportador. Alguns estudos mostraram também que o TSH ativa o processo de transcrição do gene da NIS, promovendo um aumento dos níveis de mRNA dessa proteína (WEISS *et al.*, 1984; CARRASCO, 1993; KAMINSK *et al.*, 1994; KOGAI *et al.*, 1997; SPITZWEG *et al.*, 2000). O estímulo gerado por esse hormônio decorre

primordialmente de uma interação entre ele e seu receptor presente na membrana basolateral das células foliculares (VASSART e DUMONT, 1992).

Enquanto o TSH estimula a transcrição do gene da NIS e, por conseguinte, o transporte de iodeto para o interior da célula tireoideana, há evidências de que outros fatores, como as citocinas, inibem esse transporte, por mecanismos que parecem envolver a diminuição/bloqueio da transcrição do gene da NIS, levando, assim a uma diminuição do conteúdo desta proteína nessas células (SPITZWEG *et al.*, 2000; DOHÁN *et al.*, 2003). De fato, algumas citocinas (TNF- α , INF- γ e IL-1 α), bem como a dexametasona, já foram descritas como potentes supressoras da expressão do mRNA de NIS, assim como, do transporte de iodeto para o interior das células foliculares tireoideanas (PEKARY *et al.*, 1998; AJJAN *et al.*, 1998; AJJAN *et al.*, 1998; SPITZWEG *et al.*, 1999).

Além destes, muitos outros inibidores da expressão de NIS foram identificados e descritos na literatura. O TGF β 1, por exemplo, é um potente inibidor do crescimento/proliferação e síntese de DNA nas células tireoideanas. Ele suprime a ação do TSH, em células FRTL-5, promovendo inibição da expressão do mRNA da NIS, e redução do conteúdo dessa proteína (KAWAGUCHI *et al.*, 1997; PEKARI *et al.*, 1998).

O grupo de pesquisa de Kohn (SUZUKI *et al.*, 1998) propôs que a tireoglobulina (TG) também esteja relacionada com a regulação da expressão de NIS, à medida que age como uma potente supressora da expressão do mRNA desta proteína, assim como de genes expressos unicamente na tireóide: tireoglobulina (TG), tireoperoxidase (TPO) e receptor de TSH (TSHR). De acordo com este mesmo grupo, este efeito promovido pela TG pode estar relacionado a um contrabalanceamento do efeito do TSH sob os genes especificados acima.

Além dos agentes inibidores da expressão de NIS, existem os que inibem a atividade de transporte do iodeto por este co-transportador, como o tiocianato e o perclorato. Estas drogas, assim como outros inibidores do gênero, parecem interagir com o sítio de ligação do iodeto na molécula de NIS, competindo com este ânion, do que resulta a diminuição do seu transporte para a célula folicular tireoideana (HALMI

e SUELKE, 1956; WOLFF, 1964; CARRASCO, 1993; YOSHIDA *et al.*, 1997; YOSHIDA *et al.*, 1998).

Dentre os inibidores descritos, destaca-se a ação do próprio iodo como elemento capaz de inibir tanto a expressão quanto a atividade de NIS, o que o coloca como um importante agente regulador da atividade da glândula tireóide.

Numa perspectiva histórica indicativa do papel do excesso de iodo na regulação da função tireoideana, Plummer, em 1923, foi o primeiro a administrar altas doses deste íon para bloquear a atividade da tireóide. Posteriormente, Morton *et al.* (1944), demonstraram que altas doses de iodo inorgânico inibiam a biossíntese de hormônios tireoideanos em tireóides de ovelhas. Finalmente, em 1948, Wolff e Chaikoff relataram, que a organificação do iodeto é bloqueada quando este se encontra em níveis plasmáticos elevados (efeito agudo Wolff-Chaikoff).

Em 1949, Raben demonstrou que, bloqueando o transporte de iodeto com tiocianato, o efeito inibitório gerado a partir de seu excesso no plasma era suprimido. Sendo assim, comprovou que a inibição aguda provocada pelo excesso de iodeto, depende primariamente de mecanismos intratireoideanos desencadeados por esse íon no interior da glândula.

Todavia, é também sabido que se esta alta dose de iodeto for oferecida por um período de tempo mais prolongado – aproximadamente 48h – ocorre um escape desse efeito. Acredita-se que a glândula tireóide sofra uma adaptação ao excesso de iodeto, retomando a normalidade da sua síntese hormonal, demonstrando a transitoriedade desse bloqueio. Foi sugerido que este mecanismo de escape decorra da diminuição do transporte de iodeto para o interior da célula folicular, de modo que o conteúdo intratireoideano deste oligoelemento se tornaria insuficiente para sustentar o efeito de bloqueio de síntese de hormônios (WOLFF e CHAIKOFF *et al.*, 1949; BRAVERMAN e INGBAR, 1963).

Sob essa perspectiva, em 1999, Eng *et al.* demonstraram que este efeito de escape era causado pela diminuição do conteúdo da proteína NIS, com resultante decréscimo do transporte de iodo para o interior da tireóide, e conseqüente

diminuição dos níveis desse ânion no meio intracelular, o que, por sua vez, permitiria a retomada da organificação do iodo pelas células foliculares. Em 2001, este mesmo autor demonstrou, por meio de estudo *in vitro* com células da tireóide (FRTL-5), que o excesso de iodo reduziu a expressão da proteína NIS, sem que tivesse diminuído o conteúdo de mRNA da NIS, sugerindo que este efeito do iodo fosse resultante de uma ação pós-transcricional do mesmo.

Alguns autores demonstraram que a meia-vida da proteína NIS (aproximadamente cinco dias) é diminuída em células cronicamente tratadas com altas concentrações de iodeto, sugerindo que esse procedimento possa determinar um aumento do *turnover* dessa proteína nessas células, o que reforça ainda mais um efeito pós-transcricional para o escape do efeito agudo de Wolff-Chaikoff (PAIRE *et al.*, 1997; KOGAI *et al.*, 1997; RIEDEL *et al.*, 2001).

Mecanismos de regulação pós-transcricional da expressão de genes por oligoelementos já foram demonstrados na literatura. Sabe-se que o ferro (Fe^{+2}), participa do controle da síntese de transferrina (proteína que transporta esse íon na circulação), bem como do receptor celular da transferrina (proteína que transporta o Fe^{+2} do líquido extracelular para o interior das células), por interagir com elementos responsivos ao Fe^{+2} (*Iron Response Element: IRE*) presentes nas regiões não traduzíveis das extremidades 5' e 3', respectivamente, dos mRNAs que codificam essas proteínas, alterando a meia vida dos mesmos. (LODISH *et al.*, 1999; EISENSTEIN, 2000; ROUAULT, 2002; WALLANDER *et al.*, 2006).

Esses estudos demonstram que, além de modificações na meia-vida de proteínas, alguns procedimentos podem provocar alterações na estabilidade de moléculas de mRNAs e, portanto, na sua meia-vida (ROSS, 1995), o que é de fundamental importância no processo global de controle da expressão de um gene (GINGERICH *et al.*, 2004).

Desta maneira, fica evidente que o conteúdo de um determinado mRNA na célula depende não só da taxa de transcrição do gene que o codifica, mas também de sua estabilidade, processo que, na maioria das vezes, tem relação direta com o grau de adenilação da sua cauda poli-A. Sabe-se que quanto maior a cauda poli-A

de um determinado mRNA, maior é a sua estabilidade e eficiência de tradução na proteína que ele codifica, ocorrendo o oposto quando há redução do grau de poliadenilação do mesmo; isso acontece porque à cauda poli-A se associam proteínas que a protegem da clivagem por exoribonucleases e que participam do seu ancoramento à maquinaria de tradução (ROBINSON, 1988; ROSS, 1995).

Independentemente de qual mecanismo intracelular seja acionado pela presença do iodeto em excesso na célula, tanto o mecanismo de bloqueio da função tireoideana, quanto o de escape, parecem estar relacionados com um sistema intrínseco auto-regulatório altamente especializado, que protege a tireóide dos efeitos deletérios de doses elevadas de iodo, ao mesmo tempo em que garante o adequado suprimento de iodo na glândula para a biossíntese hormonal (WOLFF e CHAIKOFF, 1949; DOHÁN *et al.*, 2003).

2 CONCLUSÕES

O tratamento de ratos Wistar e da linhagem de células PCCI3, com excesso de iodo:

- ✓ Reduziu a expressão de mRNA de NIS;
- ✓ Reduziu o peso molecular do mRNA de NIS, por diminuir o comprimento de sua cauda poli-A, o que, possivelmente, aumentou sua instabilidade e taxa de degradação, justificando a menor expressão gênica de NIS observada em períodos de tempo muito curtos (30 min até 2h);
- ✓ Exerceu um controle pós-transcricional da expressão gênica de NIS, em curto período de tempo (30 min – 2h), que provavelmente foi seguido por um mecanismo de regulação transcricional da expressão do mRNA da NIS (grupos 12 e 24h);
- ✓ Diminuiu a quantidade de mRNA de NIS recrutada para os polissomos, podendo ser uma das justificativas para a menor expressão de proteína NIS frente ao tratamento com excesso de iodo, já observada em outros trabalhos.

O conjunto dos dados obtidos evidencia que uma série de mecanismos intracelulares de regulação da expressão gênica de NIS é acionada a partir do tratamento de animais ou células com excesso de iodo e confirma a importância deste oligoelemento nos processos moleculares que norteiam o efeito Wolff-Chaikoff. Nossos dados corroboram aqueles que já demonstraram o importante papel de oligoelementos, como o ferro e selênio, para a regulação pós-transcricional da expressão de genes, aumentando o rol de íons que “per se” atuam no controle da síntese de proteínas a eles relacionadas.

Acreditamos que estes mecanismos rapidamente acionados pelo iodo: 1) se enquadrem num complexo processo de fina regulação para manutenção da homeostase celular, e 2) façam com que, frente às variações no teor desse íon na circulação, variações concomitantes da expressão de NIS ocorram sem a necessidade de acionar o eixo hipófise-tireóide.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AJJAN, R.A.; KAMARUDDIN, N.A.; CRISP, M.; WATSON, P.F.; LUDGATE, M.; WEETMAN, A.P. Regulation and tissue distribution of the human sodium iodide symporter gene. **Clin. Endocrinol.**, v.49, p. 517-523, 1998.

AJJAN, R.A.; WATSON, P.F.; FINDLAY, C. METCALFE, R.A.; CRISP, M.; LUDGATE, M.; WEETMAN, A.P. The sodium iodide symporter gene and its regulation by cytokines found in autoimmunity. **J. Endocrinol.**, v. 158, p. 351-358, 1998.

BRAVERMAN, L.E.; INGBAR, S.H. Changes in Thyroidal Function During Adaptation to Large Doses of Iodide. **J. Clin. Invest.**, v. 42, p.1216-1231, 1963.

CARRASCO, N. Iodide transport in the thyroid gland. **Biochem. Biophys. Acta**, v. 1154, p. 65-82, 1993.

CHEBATH, J.; CHABAUD, O.; BECAREVIC, A.; CARTOUZOU, G.; LTSSITZKY, S. Thyroglobulin Messenger Ribonucleic Acid Translation in vitro. **Eur. J. Biochem.**, v. 77, p. 243-252, 1977.

CHIN, E.R.; OLSON, E.N.; RICHARDSON, J.A.; YANG, Q.; HUMPHRIES, C., SHELTON, J.M.; WU, H.; ZHU, W., BASSEL-DUBY, R.; WILLIAMS, R.S. A calcineurin-dependent transcriptional pathway controls skeletal muscle fiber type. **Genes Dev.**, v.12, p. 2499-2509, 1998.

DAI, G.; LEVY, O.; CARRASCO, N. Cloning and characterization of the thyroid iodide transporter. **Nature**, v. 379, n. 6564, p. 458-60, 1996.

DINGLI, D.; BERGERT, E.R.; BAJZER, Z.; O'CONNOR, M.K.; RUSSELL, S.J.; MORRIS, J.C. Dynamic iodide trapping by tumor cells expressing the thyroidal sodium iodide symporter. **Biochem. Biophys. Res. Commun.**, v. 325, p. 157-166, 2004.

* De acordo com:

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 6023**: Informação e documentação: referências: elaboração. Rio de Janeiro, 2002.

DOHÁN, O.; VIEJA, A.D.L.; PARODER, V.; RIEDEL, C.; ARTANI, M.; REED, M.; GINTER, C.; CARRASCO, N. The sodium/iodide symporter (NIS): Characterization, Regulation, and Medical Significance. **Endocr. Rev.**, v. 24, p. 48- 77, 2003.

DOHÁN, O.; PORTULANO, C.; BASQUIN, C.; , REYNA-NEYRA, A.; ANZEL, L.M.; CARRASCO, N. The Na⁺/I symporter (NIS) mediates electroneutral active transport of the environmental pollutant perchlorate. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, v.104, n. 5, p. 20250-5, 2007.

EISENSTEIN, R.S. Iron Regulatory Proteins and the Molecular Control of Mammalian Iron Metabolism. **Annu. Rev. Nutr.**, v.20, p. 627–62, 2000.

ENG, P.H.K.; CARDONA, G.R.; FANG, S-L; PREVITI, M.; ALEX, S. CARRASCO, N.; CHIN, W.W.; BRAVERMAN, L.E. Escape from the acute Wolff-Chaikoff effect is associated with a decrease in thyroid sodium/iodide symporter messenger ribonucleic acid and protein. **Endocrinology**, v. 140, p. 3404-3410, 1999.

ENG, P.H.K.; CARDONA, G.R.; PREVITI, M.; CHIN, W.W.; BRAVERMAN, L.E. Regulation of the sodium iodide symporter by iodide in FRTL-5 cells. **Eur. J. Endocrinol.**, v. 144, p. 139-144, 2001.

EVANS, E.S.; SCHOOLEY, R.A.; EVANS, A.B.; JENKINS, C.A., TAUROG, A. Biological evidence for extrathyroidal thyroxine formation. **Endocrinology**, v. 78, p. 983-1001, 1966.

ESKANDARI, S.; LOO, D.D.; DAI, G.; LEVY, O.; WRIGHT, E.M.; CARRASCO, N. Thyroid Na⁺/I- symporter. Mechanism, stoichiometry, and specificity. **J. Biol. Chem.**, v. 272, p. 27230-27238, 1997.

FARWELL, A.P.; BRAVERMAN, L.E. Thyroid and antithyroid drugs. In: HARDMAN, J.G.; LIMBIRD, L.E. (Ed.). **Goodman e Gilman's: The pharmacological basis of therapeutics**. 10 ed. New York: McGraw-Hill, 2001, p.1563-1596.

FERREIRA, A.C.F.; LIMA, L.P., ARAÚJO, R.L.; MULLER, G.; ROCHA, R.P.; ROSENTHAL, D.; CARVALHO, D.P. Rapid regulation of thyroid sodium-iodide symporter activity by thyrotrophin and iodine. **J. Endocrinol.**, v. 184, p. 69-76, 2005.

FUSCO, A.; BERLINGIERI, M.T.; DI FIORE, P.P.; PORTELLA, G.; GRIECO, M.; VECCHIO, G. One and two-step transformations of rat thyroid epithelial cells by retroviral oncogenes. **Mol. Cell. Biol.**, v. 7, p.3365-3379, 1987.

GINGERICH, T.J.; FEIGE, J.J.; LaMARRE, J. AU-rich elements and the control of gene expression through regulated mRNA stability. **Anim. Health Res. Rev.**, v. 5 (1), p. 49-63, 2004.

GROLLMAN, E.; SMOLAR, A.; OMMAYA, A.; TOMBACCINI, D.; SANTISTEBAN, P. Iodine suppression of iodide uptake in FRTL-5 thyroid cells. **Endocrinology**, v. 118, p. 2477–2482, 1986.

HALMI, N.S.; SUELKE, R.G. Problems of thyroidal self-regulation. **Metabolism**, v. 5, p. 646–651, 1956.

JHIANG, S.M.; CHO, K.Y.; RYU, K.Y.; DEYOUNG, B.R.; SMANIK, P.A.; McGAUGHY, V.R.; FISCHER, A.H.; MAZZAFERRI, E.L. An immunohistochemical study of Na⁺/I⁻ symporter in human thyroid tissues and salivary gland tissues. **Endocrinology**, v. 139, n. 10, p. 4416-9, 1998.

KAMINSKY, S.M.; LEVY, O.; SALVADOR, C.; DAÍ, G.; CARRASCO, N. Na⁽⁺⁾-I⁻ symport activity is present in membrane vesicles from thyrotropin-deprived non-I⁽⁻⁾-transporting cultured thyroid cells. **Biochemistry**, v. 91, p. 3789-3793, 1994.

KAWAGUCHI, A.; AKEDA, M.; ENDO, T.; KOGAI, T.; MIYAZAKI, A.; ONAYA, T. Transforming growth factor-beta1 suppresses thyrotropin-induced sodium/iodide symporter messenger RNA and protein levels in FRTL-5 rat thyroid cells. **Thyroid**, v. 7, p. 789-794, 1997.

KOGAI, T.; ENDO, T.; SAITO, T.; MIYAZAKI, A.; KAWAGUCHI, A., ONAYA, T. Regulation by thyroid-stimulating hormone of sodium/iodide symporter gene expression and protein levels in FRTL-5 cells. **Endocrinology**, v. 138, p. 2227–2232, 1997.

LARSEN, P.R.; DAVIES, T.F.; HAY, I.D. Thyroid Physiology and Diagnostic Evaluation of Patients with Thyroid Disorders. In: WILSON, J.D.; FOSTER, D.W.; KRONENBERG, H.M.; LARSEN, P.R. (Ed.). **Williams textbook of endocrinology**. 10 ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 2002. p. 331-373.

LEONI, S.G.; GALANTE, P.A.; RICARTE-FILHO, J.C.M.; KIMURA, E.T. Differential gene expression analysis of iodide-treated rat thyroid follicular cell line PCCL3. **Genomics**, v. 91, n. 4, p. 356-66, 2008.

LIVAK, K.J.; SCHMITTGEN, T.D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-delta delta C(T)) method. **Methods**, v. 25, p. 402-408, 2001.

LOGAN, A.; SMITH, C.; BECKS, G.P.; GONZALEZ, A.M.; PHILIPS, I.D.; HILL, D.J. Enhanced expression of transforming growth factor-beta 1 during thyroid hyperplasia in rats. **J. Endocrinol.**, v. 141, n. 1, p. 45-57, 1994.

LODISH *et al.* **Molecular Cell Biology**. 4 ed. New York: W. H. FREEMAN, 1999.

MANIATS, T.; FRITSCH, E. F.; SAMBROOK, J. **Molecular Cloning** - a Laboratory Manual. 2 ed. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989.

MORTON, M.E.; CHAIKOFF, I.L.; ROSENFELD, S. Inhibiting effect of inorganic iodide on the formation in vitro of thyroxine and diiodotyrosine by surviving thyroid tissue. **J. Biol. Chem.**, v. 154, p. 381-387, 1944.

MUNROE, D.; JACOBSON, A. mRNA poly(A) tail, a 3' enhancer of translational initiation. **Mol. Cell. Biol.**, v.10, p. 3441-3455, 1990.

NUNES, M.T. Hormônios tireoideanos: Mecanismo de Ação e Importância Biológica. **Arq. Bras. Endocrinol. Metab.**, v. 47, p. 639-643, 2003.

OHNO, M.; ZANNINI, M.; LEVY, O.; CARRASCO, N. ; DI LAURO, R. The paired-domain transcription factor Pax8 binds to the upstream enhancer of the rat sodium/iodide symporter gene and participates in both thyroid-specific and cyclic-AMP-dependent transcription. **Mol. Cell. Biol.**, v.19, p. 2051-2060, 1999.

PAIRE, A.; BERNIER-VALENTIN, F.; SELMI-RUBY, S.; ROUSSET, B. Characterization of the rat thyroid iodide transporter using anti-peptide antibodies. **J. Biol. Chem.**, v. 272, p. 18245-18249, 1997.

PEKARY, A.E.; LEVIN, S.R.; JOHNSON, D.G.; BERG, L.; HERSHMAN, J.M. Tumor necrosis factor-alpha (TNF-alpha) and transforming growth factor-beta 1 (TGF-beta 1) inhibit the expression and activity of Na⁺/K⁺ ATPase in FRTL5 rat thyroid cells. **J. Interferon Cytokine Res.**, v.17, p.185-195, 1997.

PEKARY, A.E.; HERSHMAN, J.M. Tumor necrosis factor, ceramide, transforming growth factor-beta1, and aging reduce sodium/iodide symporter messenger ribonucleic acid levels in FRTL-5 cell. **Endocrinology**, v. 139, p. 703-712, 1998.

PLUMMER, H.S. Results of administering iodine to patients having exophthalmic goiter. **JAMA**, v. 80, p. 1955, 1923.

RABEN, M.S. The paradoxical effect of thiocyanate and of thyrotropin on the organic binding of iodine by the thyroid in the presence of large amounts of iodide. **Endocrinology**, v. 45, p. 296–304, 1949.

RIEDEL, C.; LEVY, O.; CARRASCO, N. Post-transcriptional regulation of the sodium/iodide symporter by thyrotropin. **J. Biol. Chem.**, v. 276, p. 21458–21463, 2001.

ROBINSON, B.G.; FRIM, D.M.; SCHWARTZ, W.J.; MAJZOUN, J.A. Vasopressin mRNA in the suprachiasmatic nuclei: Daily regulation of polyadenylate tail length. **Science**, v. 24, p. 342–343, 1988.

ROSS, J. mRNA stability in mammalian cell. **Microbiol. Rev.**, v. 59, p. 423–450, 1995.

ROUAULT, T.A. Post-Transcriptional Regulation of Human Iron Metabolism by Iron Regulatory Proteins. **Blood Cells Mol. Dis.**, v. 29, n. 3, p. 309–314, 2002.

ROUSSET, B.; PONCET, C.; DUMONT, J.E.; MORNEX, R. Intracellular and extracellular sites of iodination in dispersed dog thyroid cells. **Biochem. J.**, v. 192, p.801–812, 1980.

SAAVEDRA, H.A.; KNAUF, J.A.; SHIROKAWA, J.M.; WANG, J.; OUYANG, B.; ELISEI, R.; STAMBROOK, P.J.; FAGIN, J.A.; The RAS oncogene induces genomic instability in PCCl3 cells via the MAPK pathway. **Oncogene**, v.19, p. 3948–3954, 2000.

SALLES, F.J.; STRICKLAND, S. Rapid and sensitive analysis of mRNA polyadenylation states by PCR. **PCR Methods Appl.**, v. 4, p. 317–321, 1995.

SANTORO, M.; MELILLO, R.M.; GRIECO, M.; BERLINGIERI, M.T.; VECCHIO, G.; FUSCO, A. The TRK and RET tyrosine kinase oncogene cooperate with RAS in the neoplastic transformation of a rat thyroid epithelial cell line. **Cell Growth Differ.**, v.4, p.77–84, 1993.

SMANIK, P.A.; LIU, Q.; FURMINGER, T.L.; RYU, K.; XING, S.; MAZZAFERRI, E.L.; JHIANG, S.M.. Cloning of the human sodium iodide symporter. **Biochem. Biophys. Res. Commun.**, v. 226, p. 339–345, 1996.

SMANIK, P.A.; RYU, K-Y.; THEIL, K.S.; MAZZAFERRI, E.L.; JHIANG, S.M. Expression, exon-intron organization, and chromosome mapping of the human sodium iodide symporter. **Endocrinology**, v. 138, p. 3555-3558, 1997.

SPITZWEG, C.; JOBA, W.; EISENMENGER, W.; HEUFELDER, A.E.. 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.**, v. 83, p. 1746-1751, 1998.

SPITZWEG, C.; JOBA W.; SCHRIEVER, K.; GOELLNER, J.R.; MORRIS, J.C.; HEUFELDER, A.E. Analysis of human sodium iodide symporter immunoreactivity in human exocrine glands. **J. Clin. Endocrinol. Metab.**, v. 84, p. 4178-4184, 1999.

SPITZWEG, C.; JOBA, W.; MORRIS, J.C.; HEUFELDER, A.E. Regulation of sodium iodide symporter gene expression in FRTL-5 rat thyroid cells. **Thyroid**, v. 9, p. 821-830, 1999.

SPITZWEG, C.; HEUFELDER, A.E.; MORRIS, J.C. Thyroid Iodine Transport. **Thyroid**, v. 10, p. 321-330, 2000.

STRUM, J.M.; PHELPS, P.C., McATEE, M.M. Resting human female breast tissue produces iodinated proteins. **J. Ultrastruct. Res.**, v. 84, p. 130-139, 1983.

SUZUKI, K.; LAVARONI, S.; MORI, A.; OHTA, M.; SAITO, J.; PIETRARELLI, M.; SINGER, D.S.; KIMURA, S.; KATOH, R.; KAWAOI, A.; KOHN, L.D. Autoregulation of thyroid-specific gene transcription by thyroglobulin. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, v. 95, p. 8251–8256, 1998.

TAUROG, A. Thyroid hormone synthesis. **The thyroid: A fundamental and clinical text**, 8 ed. New York: Lippincott-Raven, 2000.

VAISMAN, M.; ROSENTHAL, D.; CARVALHO, D.P. Enzimas envolvidas na organificação tireoideana do iodo. **Arq. Bras. Endocrinol. Metab.**, v. 48, p. 9-15, 2004.

VAN SANDE, J.; MASSART, C.; BEAUWENS, R.; SCHOUTENS, A.; COSTAGLIOLA, S.; DUMONT, J.E.; WOLFF, J. Anion Selectivity by the Sodium Iodide Symporter. **Endocrinology**, v. 144, n. 1, p. 247–252, 2003.

VASSART, G.; DUMONT, J.E. The thyrotropin receptor and the regulation of thyrocyte function and growth. **Endocr. Rev.**, v. 13, p. 596–611, 1992.

WALLANDER, M.L.; LEIBOLD, E.A.; EISENSTEIN, R.S. Molecular control of vertebrate iron homeostasis by iron regulatory proteins. **Biochem. Biophys. Acta**, v. 1763(7), p. 668–689, 2006.

WEISS, S.J.; PHILIP, N.J.; AMBESI-IMPIOMBATO, F.S.; GROLLMAN, E.F. Thyrotropin-stimulated iodide transport mediated by adenosine 3'5'-monophosphate and dependent on protein synthesis. **Endocrinology**, v. 114, p. 1099–1107, 1984.

WOLFF, J. Transport of iodide and other anions in the thyroid gland. **Physiol. Rev.**, v. 44, p. 45–90, 1964.

WOLFF, J. Perchlorate and the thyroid gland. **Pharmacol. Rev.**, v. 50, p. 89–115, 1998.

WOLFF, J.; CHAIKOFF, I.L. Plasma inorganic iodide as a homeostatic regulator of thyroid function. **J. Biol. Chem.**, v. 174, p. 555–564, 1948.

WOLFF, J.; CHAIKOFF, I.L.; GOLDBERG, R.C.; MEIER J.R. The temporary nature of the inhibitory action of excess iodide on organic iodine synthesis in the normal thyroid. **Endocrinology**, v. 45, p. 504–513, 1949.

YOSHIDA, A.; SASAKI, N.; MORI, A.; TANIGUCHI, S.; MITANI, Y.; UETA, Y.; HATTORI, K.; SATO, R.; HISATOME, I.; MORI, T.; SHIGEMASA, C.; KOSUGI, S. Different electrophysiological character of I, ClO₄, and SCN in the transport by Na/I symporter. **Biochem. Biophys. Res. Commun.**, v. 231, p. 731–734, 1997.

YOSHIDA, A.; SASAKI, N.; MORI, A.; TANIGUCHI, S.; UETA Y.; HATTORI, K.; TANAKA, Y.; IGAWA, O.; TSUBOI, M.; SUGAWA, H.; SATO, R.; HISATOME, I.; SHIGEMASA, C.; GROLLMAN, E.F.; KOSUGI, S. Differences in the electrophysiological response to I and the inhibitory anions SCN and ClO₄, studied in FRTL-5 cells. **Biochim. Biophys. Acta**, v. 1414, p. 231–237, 1998.