

Vol. 60 • Supplement 01 – April 2016

ARCHIVES OF ENDOCRINOLOGY AND METABOLISM SUPPLEMENT

OFFICIAL JOURNAL OF THE BRAZILIAN SOCIETY OF ENDOCRINOLOGY AND METABOLISM



XVII Encontro
Brasileiro
de Tireoide

21 a 23 de abril 2016

Wish Serrano Resort e SPA
Gramado - RS

PO.093 EFEITO DA SULFO-NHS-LC-BIOTINA NO BLOQUEIO DA ATIVIDADE DA DESIODASE TIPO 3 EM CÉLULAS INTACTAS: IMPLICAÇÕES NA DETERMINAÇÃO DO SÍTIO CATALÍTICO ENZIMÁTICOSimone Magagnin Wajner¹, Túlio Serrano¹, Ana Luiza Maia¹¹ Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Hospital de Clínicas de Porto Alegre

Introdução: A desiodase tipo 3 (D3) é a principal enzima inativadora dos hormônios tireoidianos. Estudos prévios demonstraram que essa enzima está localizada na membrana plasmática, mas a localização do seu sítio catalítico ainda é tema de debate. **Objetivo:** Determinar se a reação catalisada pela D3 ocorre no espaço intra ou extracelular. **Métodos:** Células HEK-293 expressando de modo transitório as desiodases D1 e D3 humanas (hD1 e hD3) foram incubadas por 6 ou 24 horas em meio contendo a molécula impermeabilizante extracelular sulfo-NHS-LC-biotina (1 mg/ml) ou a sonda intracelular biocitina (1 mg/ml). A atividade da D3 e da D1 foi medida em células intactas na presença de concentrações fisiológicas de T3 e cofator endógeno. Experimentos similares foram realizados utilizando linhagens de células com expressão endógena da D1 (HEP-G2) e D3 (MCF-7). A atividade das desiodases foi medida por cromatografia descendente em papel e/ou em coluna. **Resultados:** A adição de biotina no meio de cultura bloqueou a atividade da D3 em 6h (19.1 ± 2.2 vs. 5.8 ± 0.7 fmol/mg.prot), enquanto a atividade da D1 não foi afetada (21.2 ± 1.12 vs. 17.55 ± 1.07 pmol/mg.prot). O oposto ocorreu quando a sonda intracelular biocitina foi utilizada (D3, 19.1 ± 2.2 vs. 12.33 ± 0.7 fmol/mg.prot e D1, 21.2 ± 1.12 vs. 3.6 ± 0.7 pmol/mg.prot). O efeito da biotina e da biocitina desapareceu depois de 24h de incubação, indicando que a modificação covalente causa inativação enzimática reversível, tempo-dependente. Resultados similares foram observados quando experimentos similares foram realizados com homogenado de células e na presença do cofator artificial DTT. **Conclusão:** Esses resultados indicam que a porção catalítica da D3 está localizada no espaço extracelular. Essa localização externa da D3 na membrana plasmática facilita o acesso aos hormônios tireoidianos circulantes, possibilitando sua pronta inativação em condições fisiológicas e patológicas.

PO.094