UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS

ANA PAULA COMARELLA

POLIMORFISMOS DO *DIO2* NA DOENÇA DE GRAVES – São preditores da variação de peso pós-tratamento?

CAMPINAS

2017

ANA PAULA COMARELLA

POLIMORFISMOS DO *DIO2* NA DOENÇA DE GRAVES – São preditores da variação de peso pós-tratamento?

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas como parte dos requisitos exigidos para a obtenção do título de Mestra em Ciências, área de concentração em Clínica Médica.

ORIENTADOR: PROFA. DRA. LAURA STERIAN WARD
COORIENTADOR: PROF. DR. DANILO GLAUCO PEREIRA VILLAGELIN NETO

ESTE EXEMPLAR CORRESPONDE À VERSÃO
FINAL DA DISSERTAÇÃO DEFENDIDA PELA
ALUNA ANA PAULA COMARELLA, E ORIENTADA
PELA PROFA. DRA. LAURA STERIAN WARD.

CAMPINAS

2017

FICHA CATALOGRÁFICA

Agência(s) de fomento e nº(s) de processo(s): CAPES

Ficha catalográfica
Universidade Estadual de Campinas
Biblioteca da Faculdade de Ciências Médicas
Ana Paula de Morais e Oliveira - CRB 8/8985

C73p

Comarella, Ana Paula, 1974-
Polimorfismos do *DIO2* na doença de Graves - São preditores da variação de peso pós-tratamento? / Ana Paula Comarella. – Campinas, SP : [s.n.], 2017.

Orientador: Laura Sterian Ward.
Coorientador: Danilo Glauco Pereira Villagelin Neto.
Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Ciências Médicas.

1. Doença de Graves. 2. Iodotironina deiodinase. 3. Polimorfismo (Genética). I. Ward, Laura Sterian, 1956-. II. Villagelin Neto, Danilo Glauco Pereira. III. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas. IV. Título.

Informações para Biblioteca Digital

Título em outro idioma: DIO2 polymorphisms in Graves disease - Are predictors of post-treatment weight variation?
Palavras-chave em inglês:
Graves disease
Iodothyronine deiodinase
Polymorphisms, Genetics
Área de concentração: Clínica Médica
Titulação: Mestra em Ciências
Banca examinadora:
Laura Sterian Ward [Orientador]
Ronald Freire de Almeida
Icléia Siqueira Barreto
Natassia Helena Bufalo
Elaine Cristina Morari
Data de defesa: 22-08-2017
Programa de Pós-Graduação: Clínica Médica

BANCA EXAMINADORA DA DEFESA DE MESTRADO

ANA PAULA COMARELLA

ORIENTADOR: PROFA. DRA. LAURA STERIAN WARD

COORIENTADOR: PROF. DR. DANILO GLAUCO PEREIRA VILLAGELIN NETO

MEMBROS:

1. PROF. DR. Laura Sterian Ward

2. PROF. DR. Ronald Freire de Almeida

3. PROF. DR. Icléia Siqueira Barreto

Programa de Pós-Graduação em Clínica Médica da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas.

A ata de defesa com as respectivas assinaturas dos membros da banca examinadora encontra-se no processo de vida acadêmica do aluno.

Data: DATA DA DEFESA 22/08/2017

Dedico esta tese aos meus pais, Ana e Demerval (*in memorian*) e aos meus irmãos, Fernando, Paulo e Evandi e suas famílias. Na vida que trilhamos juntos, o amor e o respeito sempre presentes trouxeram luz para meus caminhos e a base para a minha jornada pessoal.

Ao meu esposo Sérgio, pelo amor construído em verdade, pela mão forte e segura estendida em minha direção, por sempre acreditar. Aos nossos filhos, Marina e Pedro por fazerem de nós uma família, onde nos renovamos constantemente. Amo vocês.

AGRADECIMENTOS

À presença Divina em mim, que é fonte de graça, me revigora e renova nos constantes movimentos da minha vida.

Aos pacientes, por me permitirem o gratificante exercício da medicina e por me motivarem na busca por aprendizado ao longo da vida profissional. Meu particular agradecimento a todos que contribuíram para este estudo.

À Professora Dra. Laura Sterian Ward, por me acolher e abrir as portas acadêmicas para que eu pudesse iniciar uma nova jornada, pelo ensino, amparo e orientação durante a elaboração e execução deste trabalho.

Ao Dr. Danilo Glauco Pereira Villagelin, pelo acolhimento, coorientação, aprendizado e colaboração com os casos envolvidos neste trabalho.

Ao Professor Dr. João Hamilton Romaldini, pela contribuição e inspiração em um momento de recomeço. Agradeço também pela colaboração com a casuística deste estudo.

Ao Professor Dr. Roberto Bernardo dos Santos, pela contribuição com os casos envolvidos neste trabalho.

A Dra. Natassia Helena Bufalo, meu muito obrigada pela mão estendida para o aprendizado durante estes anos, pelo respeito e paciência. Aprendi com você a amar o caminho!

Às minhas colegas de mestrado, Karina, Laís e Larissa e à aluna de doutorado Jaqueline pelo acolhimento e cooperação constantes nestes anos. Através de vocês aprendi a ver os desafios de forma mais simples.

À todos os alunos do laboratório Gemoca, meus agradecimentos pela colaboração. Em especial à Jéssica Euflauzino pelo auxílio com a parte prática deste trabalho.

À Elaine de Vargas Delpupo pela grande dedicação à minha família, em especial aos meus filhos Marina e Pedro.

Ao amigo Romildo Cássio Siloto, pelos tão significativos aprendizados que tenho vivenciado. Transcende o que sou capaz de expressar em palavras!

À minha amiga capixaba em terras campineiras, Dra. Paula Cristina Azevedo pelo carinhoso e edificante acolhimento, pela amizade e colaboração. Muito obrigada!

À Fundação CAPES, pelo apoio financeiro através de bolsa de estudos.

RESUMO

A Doença de Graves (DG) se caracteriza pela perda de tolerância imunológica à antígenos comuns à tireoide e outros órgãos afetados, desencadeando a produção de anticorpos que irão competir com o TSH e mimetizar suas ações, sustentando uma reação autoimune caracterizada por bócio e hipertireoidismo de elevada relação triiodotironina/tiroxina (T3/T4). Frente à doença ativa, a resposta adaptativa ao aumento da taxa metabólica basal é a perda ponderal, sendo o ganho de peso via de regra à medida que a função tireoidiana se restabelece. Contudo, há grande variabilidade na magnitude deste ganho e os fatores preditores ainda são pouco estudados. A deiodinase tipo 2 (D2) é uma enzima que contribui prioritariamente para a sinalização intracelular do hormônio tireoidiano e, por consequência, para as ações genômicas mediadas por T3. O AMP cíclico e o T3 são reguladores transcricionais do gene *DIO2*. O RNA mensageiro deste gene encontra se super expresso na tireoide afetada por DG e também expresso no pré adipócito humano, no tecido adiposo branco e marrom, no hipotálamo, na hipófise e no músculo esquelético; que são tecidos envolvidos na regulação do peso corporal e na patogênese da orbitopatia de Graves (OG). O T3 é capaz de modular a reposta imunológica. Os polimorfismos do gene *DIO2* rs225014, rs12885300 e rs225015 podem alterar funcionalmente esta enzima. Neste estudo foram genotipados 280 casos de DG e 297 indivíduos controle pela técnica de Taqman SNP Genotyping para investigar a relação entre os polimorfismos do *DIO2* rs225014, rs12885300 e rs225015 com as características clínicas exibidas pelos pacientes com DG (suscetibilidade, variação do peso corporal pós-tratamento, atividade da OG ao diagnóstico e anticorpos tireoidianos). Observamos que a herança polimórfica do *DIO2* rs225014 associou se com a menor variação do peso corporal após o tratamento da DG, sugerindo seu papel auxiliar para predizer o comportamento ponderal pós-tratamento.

Palavras chave: Doença de Graves, *DIO2*, polimorfismos.

ABSTRACT

Graves' disease (GD) is characterized by the loss of immune tolerance to antigens common to the thyroid and other affected organs, triggering the production of antibodies that will compete with TSH and mimic their actions, supporting an autoimmune reaction characterized by goiter and hyperthyroidism of high triiodothyronine to thyroxine ratio (T3/T4). In the face of active disease, the adaptive response to the increase in basal metabolic rate is weight loss, with weight gain being the rule as thyroid function reestablishes. However, there is great variability in the magnitude of this gain and the predictive factors are still poorly studied. Deiodinase type 2 (D2) is an enzyme that contributes primarily to the intracellular signaling of the thyroid hormone and, consequently, to the T3-mediated genomic actions. Cyclic AMP and T3 are transcriptional regulators of the *DIO2* gene. The mRNA of *DIO2* gene is overexpressed in the thyroid affected by GD and expressed in the human adipocyte, white and brown adipose tissue, hypothalamus, pituitary and skeletal muscle, which are tissues involved in the regulation of body weight and in the pathogenesis of Graves' orbitopathy (GO). T3 can modulate the immune response. The polymorphisms of the *DIO2* gene 225014, rs12885300 and rs225015 can functionally modify this enzyme. In this study 280 cases of DG and 297 control individuals were genotyped by the Taqman SNP Genotyping technique to investigate the relationship between *DIO2* polymorphisms rs225014, rs12885300 and rs225015 with the clinical characteristics exhibited by the patients with GD (susceptibility, post-treatment body weight variation, GO activity at diagnosis, and thyroid antibodies). We observed that the polymorphic inheritance of *DIO2* rs225014 was associated with the lower body weight variation after GD treatment, suggesting its auxiliary role in predicting post-treatment weight behavior.

Key words: Graves' Disease, *DIO2*, polymorphisms

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Página

Quadro 1. Fatores genéticos e ambientais associados à doença de Graves 19
Figura 1. Receptor do TSH 20
Figura 2. Etiopatogenia da Doença de Graves 20
Quadro 2. Avaliação da atividade da OG através do CAS 22
Figura 3. Reações catalíticas básicas das deiodinases 23
Figura 4. D2 – Papel fisiológico: homeostase intracelular de T3 26
Figura 5. Ativação do receptor do TSH e regulação intracelular da D2 26
Quadro 3. Resumo das propriedades das deiodinases 27
Figura 6. Produção tireoidiana de T3 no eutireoidismo 28
Figura 7. Produção tireoidiana de T3 no hipertireoidismo de Graves 28
Figura 8. Deiodinases (D2) para o metabolismo energético 32
Quadro 4. Achados clínicos associados ao polimorfismo *DIO2* rs225014 35
Quadro 5. Condições clínicas descritas em associação ao *DIO2* rs12885300 37
Figura 9. Descrição dos casos. 42
Quadro 6. Gene DIO2 com suas respectivas sondas 44
Figura 10. Exemplo de resultado da técnica TaqMan® SNP Genotyping: Homozigoto selvagem 45
Figura 11. Exemplo de resultado da técnica TaqMan® SNP Genotyping: Homozigoto polimórfico 45
Figura 12. Exemplo de resultado da técnica TaqMan® SNP Genotyping: Heterozigoto 46
Gráfico 1. Porcentagem de pacientes com disfunção tireoidiana ao longo do seguimento – grupo DG seguimento 49
Gráfico 2. Porcentagem de pacientes com disfunção tireoidiana ao longo do seguimento – grupo RAI 51
Gráfico 3. Porcentagem de pacientes com disfunção tireoidiana ao longo do seguimento – grupo DAT 53
Gráfico 4. Porcentagem de pacientes com disfunção tireoidiana ao longo do seguimento – Fase DAT do grupo DAT à RAI 55

Gráfico 5. Porcentagem de pacientes com disfunção tireoidiana ao longo do seguimento – Fase RAI do grupo DAT à RAI.....55

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Características clínicas e bioquímicas do grupo DG diagnóstico. 47
Tabela 2. Características clínicas e bioquímicas do grupo DG seguimento. 48
Tabela 3. Características clínicas e bioquímicas do grupo RAI 50
Tabela 4. Características clínicas e bioquímicas do grupo DAT 52
Tabela 5. Características clínicas e bioquímicas do grupo DAT à RAI 54
Tabela 6. Características demográficas dos casos (grupo DG diagnóstico) e controles (teste de *X^2 e **Mann-Whitney) 56
Tabela 7. Distribuição genotípica de todos os casos (grupo DG diagnóstico) e controles para o *DIO2* rs225014 (teste de X^2).....57
Tabela 8. Distribuição genotípica do *DIO2* rs225014 para os casos (grupo DG diagnóstico), quanto à idade, sexo, etnia, TSH, T4L e positividade do TRAb ao diagnóstico (teste de *Kruskal-Wallis e **X^2).....57
Tabela 9. Distribuição genotípica entre casos (grupo DG diagnóstico) e controles do *DIO2* rs225014 (regressão logística).....58
Tabela 10. Distribuição genotípica do *DIO2* rs225014 quanto à idade, sexo, etnia, TSH, T4L e positividade do TRAb ao diagnóstico - grupo DG seguimento (teste de *Kruskal-Wallis e **X^2).....59
Tabela 11. Distribuição genotípica do *DIO2* rs225014 para a variação ponderal em kg - grupo DG seguimento (ANOVA) 59
Tabela 12. Fatores associados à maior variação do peso corporal em kg - grupo DG seguimento (Regressão linear simples) 60
Tabela 13. Fatores associados à maior variação do peso corporal em kg - grupo DG seguimento (Regressão linear múltipla – Processo de seleção stepwise) 61
Tabela 14. Distribuição genotípica do *DIO2* rs225014 quanto à idade, sexo, etnia, TSH, T4L e positividade do TRAb ao diagnóstico - grupo RAI (teste de *Kruskal-Wallis e **X^2).....61
Tabela 15. Distribuição genotípica do *DIO2* rs225014 para a variação ponderal em kg - grupo RAI (ANOVA) 62
Tabela 16. Distribuição genotípica do *DIO2* rs225014 para o percentual de variação do IMC – grupo RAI (ANOVA) 62

Tabela 17. Distribuição genotípica do *DIO2* rs225014 quanto à idade, sexo, etnia, TSH, T4L e positividade do TRAb ao diagnóstico - grupo DAT (teste de *Kruskal-Wallis e **X^2) 63
Tabela 18. Distribuição genotípica do *DIO2* rs225014 para a variação ponderal em kg - grupo DAT (ANOVA) 63
Tabela 19. Distribuição genotípica do *DIO2* rs225014 para o percentual de variação do IMC – grupo DAT (ANOVA).....64
Tabela 20. Fator associado à maior variação do percentual do IMC – grupo DAT (Regressão linear simples).....64
Tabela 21. Fator associado à maior variação do percentual do IMC – grupo DAT (Regressão linear múltipla – processo de seleção stepwise).....65
Tabela 22. Distribuição genotípica do *DIO2* rs225014 quanto à idade, sexo, etnia e positividade do TRAb ao diagnóstico - grupo DAT à RAI (teste de X^2, *exato de Fisher e **Kruskal-Wallis).....65
Tabela 23. Distribuição genotípica do *DIO2* rs225014 para as concentrações séricas de TSH e T4L nos tempos zero e 24 de tratamento com DAT e zero e 54 de tratamento com RAI – grupo DAT à RAI (teste de Kruskal-Wallis).....66
Tabela 24. Distribuição genotípica do *DIO2* rs225014 para a variação ponderal em kg – Fase DAT do grupo DAT à RAI (ANOVA) 66
Tabela 25. Fator associado à maior variação do peso corporal em kg – Fase DAT do grupo DAT à RAI (Regressão linear simples e múltipla – Processo de seleção stepwise) 67
Tabela 26. Distribuição genotípica do *DIO2* rs225014 para o percentual de variação do IMC – Fase DAT do grupo DAT à RAI (ANOVA) 68
Tabela 27. Fatores associados à maior variação percentual do IMC – Fase DAT do grupo DAT à RAI (Regressão linear simples) 68
Tabela 28. Fatores associados à maior variação percentual do IMC – Fase DAT do grupo DAT à RAI (Regressão linear múltipla – processo de seleção stepwise) 69
Tabela 29. Distribuição genotípica do *DIO2* rs225014 para a variação ponderal em kg – Fase RAI do grupo DAT à RAI (ANOVA) 69
Tabela 30. Distribuição genotípica do *DIO2* rs225014 para o percentual de variação do IMC – Fase RAI do grupo DAT à RAI (ANOVA) 70
Tabela 31. Distribuição genotípica do *DIO2* rs225014 para a variação ponderal em kg – Todo o seguimento do grupo DAT à RAI (ANOVA) 70

Tabela 32. Fatores associados à maior variação do peso corporal em kg – Todo o seguimento do grupo DAT à RAI (Regressão linear simples) 71
Tabela 33. Fatores associadas à maior variação do peso corporal em kg – Todo o seguimento do grupo DAT à RAI (Regressão linear múltipla – critério de seleção stepwise) 71
Tabela 34. Distribuição genotípica do *DIO2* rs225014 para o percentual de variação do IMC – Todo o seguimento do grupo DAT à RAI (ANOVA) 72
Tabela 35. Fatores associados à maior variação percentual do IMC – Todo o seguimento do grupo DAT à RAI (Regressão linear simples) 72
Tabela 36. Fatores associados à maior variação percentual do IMC – Todo o seguimento do grupo DAT à RAI (Regressão linear múltipla – processo de seleção stepwise) 73
Tabela 37. Positividade do TRAb e variação do percentual do IMC – Fase DAT do grupo DAT à RAI (ANOVA) 73
Tabela 38. Fatores associados à maior variação percentual do IMC nos casos com registro de TRAb – Fase DAT do grupo DAT à RAI (Regressão linear simples) 74
Tabela 39. Distribuição genotípica do *DIO2* rs225014 para presença e a atividade da OG ao diagnóstico – grupo DG diagnóstico (teste de X^2) 74
Tabela 40. Distribuição genotípica do *DIO2* rs225014 para a positividade anticorpos (ATPO, ATg e TRAb) – grupo DG diagnóstico (teste de X^2) 75
Tabela 41. Distribuição genotípica dos casos (grupo DG diagnóstico) e controles para o *DIO2* rs12885300 (teste de X^2) 75
Tabela 42. Distribuição genotípica do *DIO2* rs12885300 quanto à idade, sexo, etnia e positividade do TRAb – grupo DG diagnóstico (teste de *Kruskal-Wallis e **X^2) 76
Tabela 43. Distribuição genotípica entre casos (grupo DG diagnóstico) e controles para o *DIO2* rs12885300 (regressão logística) 77
Tabela 44. Distribuição genotípica do *DIO2* rs12885300 para a variação ponderal em kg - grupo DG seguimento (ANOVA) 77
Tabela 45. Distribuição genotípica do *DIO2* rs12885300 para a variação ponderal em kg - grupo RAI (ANOVA) 78
Tabela 46. Distribuição genotípica do *DIO2* rs12885300 para a variação ponderal em kg - grupo DAT (ANOVA) 78
Tabela 47. Distribuição genotípica do *DIO2* rs12885300 para a variação ponderal em kg - grupo DAT à RAI (ANOVA) 79

Tabela 48: Distribuição genotípica do *DIO2* rs12885300 para a presença e a atividade da OG ao diagnóstico – grupo DG diagnóstico (teste de X^2) 79
Tabela 49: Distribuição genotípica do *DIO2* rs12885300 para a positividade anticorpos (ATPO, ATg e TRAb) – grupo DG diagnóstico (teste de X^2) 80
Tabela 50: Distribuição genotípica dos casos e controles para o *DIO2* rs225015 (teste de X^2) 81

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

µL	Microlitro
µM	Micromolar
3'UTR	do inglês - three prime untranslated region
5'UTR	do inglês - five prime untranslated region
AMP cíclico	Adenosina 3',5'-monofosfato cíclico
ATP	Trifosfato de adenosina
CAS	do inglês – Clinical Activity Score
CD25	Receptor de cadeia alfa da IL-2
CD40	do inglês – Cluster of differentiation 40
COS1	Linhagens de células derivadas da linhagem CV-1
CTLA4	Antígeno 4 do linfócito T citotóxico
D1	Deiodinase tipo 1
D2	Deiodinase tipo 2
D3	Deiodinase tipo 3
DAT	Drogas antitireoidianas
DG	Doença de Graves
DIO1	do inglês - Iodothyronine Deiodinase 1
DIO2	do inglês - Iodothyronine Deiodinase 2
DIT	Didiotironina
DM2	Diabetes Mellitus tipo 2
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DUOX2	do inglês – Dual oxidase 2
DUOXA2	do inglês - Dual oxidase maturation factor 2
EUGOGO	do inglês - European Group on Graves' Orbitopathy
FCM	Faculdade de Ciências Médicas
FCRL3	do inglês - Fc receptor like 3
GEB	Gasto energético basal
GEMOCA	Laboratório de Genética Molecular do Câncer
H_2O_2	Peróxido de hidrogênio
HEK-293	do inglês - Human Embryonic Kidney 293 cells

HLA-DRβ	do inglês - HLA class II histocompatibility antigen, DRB1 beta chain
HT	Hormônio tireoidiano
HW	Hardy Weinberg
IGF1R	do inglês - Insulin-like growth factor 1
IgG	Imunoglobulina G
IMC	Índice de massa corporal
KM	Constante de Michaelis
LRRS	Repetições ricas em leucina
LT4 ou T4L	Tiroxina livre
MCT10	Monocarboxilato 8
MCT8	Monocarboxilato 10
MIT	Monoiodotirosina
ng	Nanogramas
NIS	Co-transportador sódio-iodeto
nM	Nanomolar
OATP1C1	Transportador de anion orgânico 1C1
OG	Oftalmopatia de Graves
ORF	do inglês – Open reading frame
Pb	Pares de base
PCR	Reação em cadeia da polimerase
PTPN22	do inglês - Protein tyrosine phosphatase, non-receptor type 22
PTU	Propiltiuracil
PUCC	Pontifícia Universidade Católica de Campinas
RAI	Iodo radioativo
RE	Retículo endoplasmático
rT3	Triiodotironina reverso
RNA	Ácido ribonucleico
RNAm	Ácido ribonucleico mensageiro
SECIS	do inglês - selenocysteine insertion sequence
SNC	Sistema nervoso central
SNP	do inglês – Single nucleotide polymorphism
SOCS	do inglês - Suppressor of cytokine signaling
SORT	do inglês – Short open reading frames

T2	3,5-diiodo-l-tironina
T3	Triiodotironina
T4	Tiroxina
TA	Termogênese adaptativa
TAM	Tecido adiposo marrom
TBG	Globulina ligadora de tiroxina
TG	Tireoglobulina
TMB	Taxa metabólica basal
TO	Termogênese obrigatória
TPO	Tiroperoxidase
TRAb	Anticorpo anti receptor de TSH
TRH	Liberador de tireotrofina
TSH	Hormônio estimulante da tireoide
TSHR	Receptor de TSH
TSS	do inglês – Transcription start sites
TTF1	Fator de transcrição tireoidiano tipo 1
UCP-1	do inglês - Uncoupling protein 1
UNICAMP	Universidade Estadual de Campinas
UV	Ultravioleta
VDU1 e 2	Proteínas Von Hippel-Lindau tipo 1 e 2

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO 19
2. OBJETIVOS 39
3. MATERIAL E MÉTODOS 40
4. RESULTADOS 47
5. DISCUSSÃO 81
6. RESUMO DOS ACHADOS 85
7. CONCLUSÃO.....86
8. REFERÊNCIAS.....87

1. INTRODUÇÃO

1.1 A Doença de Graves

O aumento da síntese e secreção de hormônios tireoidianos pela glândula tireoide caracteriza o estado de hipertireoidismo (1). Em áreas iodo suficientes, a Doença de Graves (DG) é a principal causa desta hiperfunção (2). A incidência anual é de 20 a 50 casos para cada 100.000 habitantes. Embora possa acometer todas as idades, o pico de incidência concentra se na quinta à sexta décadas da vida. O risco de desenvolver DG ao longo da vida é de 3% em mulheres e 0,5% em homens (3). A etiologia envolve a interação entre fatores genéticos e ambientais (quadro 1) que levam à perda de tolerância imunológica a antígenos comuns à tireoide e a outros órgãos afetados, iniciando e sustentando uma reação autoimune (4, 5).

Quadro 1. Fatores genéticos e ambientais associados à DG (4, 5).

Fatores genéticos	Fatores ambientais
HLA-DRβ	Sexo feminino
CD40	Ingestão de iodo
CTLA4	Infecções
PTPN22	Agentes imunomoduladores
FCRL3	Períodos de reconstituição imune
TG	Estresse psicológico
TSHR	Exposição ao tabaco
CD25	

O receptor do TSH (TSHR) é um receptor acoplado à proteína G com sete domínios transmembrana, que tem o AMP cíclico por segundo mensageiro. Está presente na superfície da célula folicular tireoidiana e também em outros tipos celulares. É formado por uma subunidade extracelular maior (alfa) que contém nove repetições ricas em leucina (LRRs) e uma extremidade N terminal, constituindo a área de ligação do TSH; por um domínio ancorado à membrana celular e uma porção menor intracelular (beta) (figura 1) (6). A estrutura relativamente instável da subunidade alfa contribui para que este receptor seja reconhecido como o principal auto antígeno da DG, desencadeando nos indivíduos ora suscetíveis, a perda da tolerância imunológica e formação de anticorpos IgG estimuladores (TRAb), inicialmente pelas células B

intratireoidianas (6, 7). Estes anticorpos por sua vez, irão competir com o TSH pela ligação ao receptor, mimetizando seus efeitos e mantendo a ativação da resposta autoimune, resultando nas principais características tireoidianas da doença, o hipertireoidismo caracterizado por supressão do TSH e aumento da relação triiodotironina/tiroxina (T3/T4) (8) e também a hiperplasia das células foliculares (bócio) (7) (figura 2).

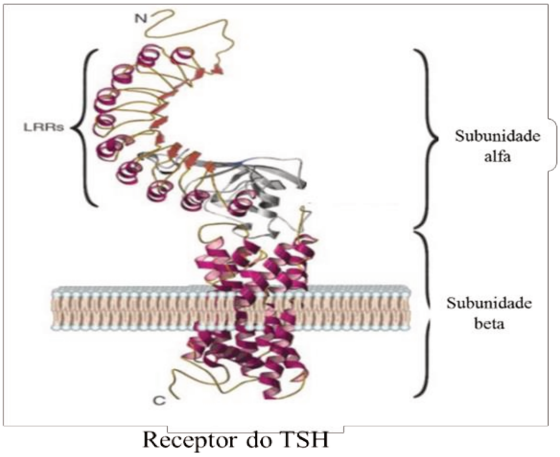

Figura 1. Receptor do TSH, modificado de: (6).

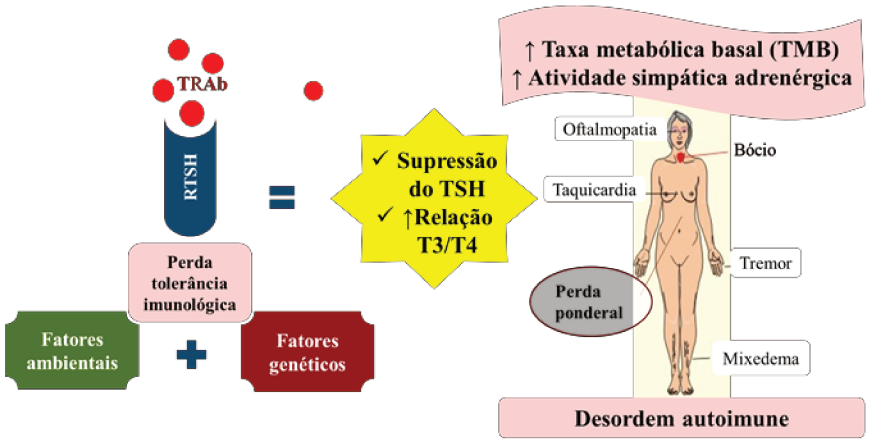

Figura 2. Etiopatogenia da Doença de Graves (7, 9, 10).

Em reposta adaptativa às concentrações elevadas de hormônio tireoidiano, ocorre aumento da taxa metabólica basal (11), que acarreta perda de peso corporal para 80 a 95% dos pacientes (12, 13), estimado em 15% do peso pré-morbidade (14). O ganho de peso na fase ativa da DG também é reportado, atingindo 5 a 10% dos acometidos, refletindo não só o aumento na

taxa metabólica basal, mas também o estímulo compensatório prolongado de aumento do apetite (12, 15) (13).

Em reposta ao tratamento da DG, as concentrações séricas dos hormônios tireoidianos (HT) tendem à normalização e o aumento do peso corporal é esperado. A literatura reporta que este ganho é estimado em 2,5 a 15% do peso pré-morbidade, embora com grande variabilidade entre os pacientes (14-16), o que pode também ser visto na prática clínica diária. Alguns estudos investigaram esta situação, atribuindo como fatores causais uma desregulação neuroquímica entre o controle do apetite e do peso corporal à medida que a função tireoidiana se restabelece (15), e também as modificações na taxa metabólica basal (TMB) em decorrência das flutuações do TSH resultantes do tratamento (17).

A manifestação extratireoidiana mais frequente da DG é a orbitopatia de Graves (OG), acometendo 25% dos pacientes. Outras são o mixedema pré-tibial e a acropatia, presentes em 1,5% e 0,3% dos portadores de DG, respectivamente (10). A OG é também uma desordem de natureza autoimune. A relação entre a tireoide e a órbita encontra sustentação através da presença de antígenos comuns à ambos (*TSHR*) no fibroblasto orbitário (18). Em adição, evidências apontam que o receptor *IGF1R* (insulin like growth factor 1) e também anticorpos a ele correlatos também podem estar envolvidos nesta patogênese (19). Linfócitos auto reativos alcançam a órbita, reconhecem os antígenos comuns apresentados pelos macrófagos e células B desencadeando ativação do fibroblasto orbitário, com subsequente produção de glicosaminoglicanos e diferenciação em miofibroblastos e adipócitos (20). Por consequência, os portadores apresentam sintomas relacionados ao aumento do conteúdo orbitário, que comumente incluem os relacionados à exoftalmia, exposição da córnea e diplopia (10). Exibem, em sua maioria, uma fase ativa inicial onde o processo inflamatório prevalece, evoluem para estabilização e fase final inativa, contudo quase sempre sem remissão completa das modificações oculares sofridas (21). Podemos avaliar clinicamente os portadores de OG através do cálculo do “Clinical Activity Score” (CAS) (quadro 2) e obter indicador da atividade da doença, bem como avaliar a severidade desta através das classificações EUGOGO ou NOSPECS (22).

Quadro 2. Avaliação da atividade da OG através do CAS (22).

Parâmetro	**Pontuação**
Dor retro bulbar espontânea	1
Dor ao desviar o olhar para cima ou para baixo	1
Vermelhidão das pálpebras	1
Vermelhidão das conjuntivas	1
Edema da carúncula	1
Edema das pálpebras	1
Edema da conjuntiva (quemose)	1
OG inativa = CAS menor que 3. **OG ativa** = CAS igual ou maior que 3.	

As opções terapêuticas da DG envolvem uso de drogas antitireoidianas (DAT) por longos períodos, terapia ablativa com iodo radioativo (RAI) ou tireoidectomia (1). A escolha por um deles é influenciada por potenciais benefícios diante das particularidades clínicas apresentadas pelo paciente, efeitos colaterais de cada terapêutica, além da expectativa de recorrência da doença (23). Quando consideramos o tratamento clínico, a taxa de recidiva da DG reportada após curso de 12 a 18 meses de DAT varia entre 30 a 70% (24) e, nesta condição, as mesmas opções terapêuticas iniciais serão ponderadas (1). Em recente estudo abordando este tema, Villagelin e Cols. evidenciaram maior frequencia de disfunção tireoidiana, de piora da OG (avaliada por CAS) e maior tendência ao ganho de peso corporal no grupo tratado com RAI quando comparado ao tratado com baixas doses de metimazol (25). No tocante à OG, estudos prévios também demonstraram associação de risco entre terapia com RAI e desenvolvimento ou piora da OG, quando comparado com o tratamento clínico (DAT) (26). Fatores como tabagismo, altos títulos de TRAb, concentração sérica de T3 pré tratamento, exposição ao hipotireoidismo pós RAI e a OG ativa pré existente potencialmente contribuem para aumentar este risco (27).

1.2 As Deiodinases

1.2.1 Aspectos fisiológicos

Os HT são fundamentais para o crescimento e desenvolvimento na infância e para metabolismo nos adultos; o produto tireoidiano mais copioso é o T4, contudo o T3 é o hormônio capaz de garantir a maior atividade biológica, pois tem dez à quinze vezes mais afinidade pelo receptor nuclear do hormônio tireoidiano, quando comparado ao T4 (28, 29). As enzimas envolvidas no processo de ativação e inativação destes hormônios são as deiodinases: tipo 1 (D1), 2 (D2) e 3 (D3) (30). São selenoenzimas, caracterizam se pela presença do aminoácido selenocisteína no sítio ativo da enzima (31). D1 e D2 são ativadoras do T4 à T3 e a D3 inativa ambos (figura 3) (30). Tem papel homeostático significativo para nossa fisiologia, contribuindo para manutenção das concentrações séricas e teciduais de T3, regulação da alça de "feedback" do hormônio liberador de tirotrofina (TRH) e tireoestimulante (TSH) e eliminação de iodotironinas (32). Estudos recentes reportam também a influência da sinalização do hormônio tireoidiano e; neste contexto, das deiodinases, para a modulação do gasto energético basal (9, 33).

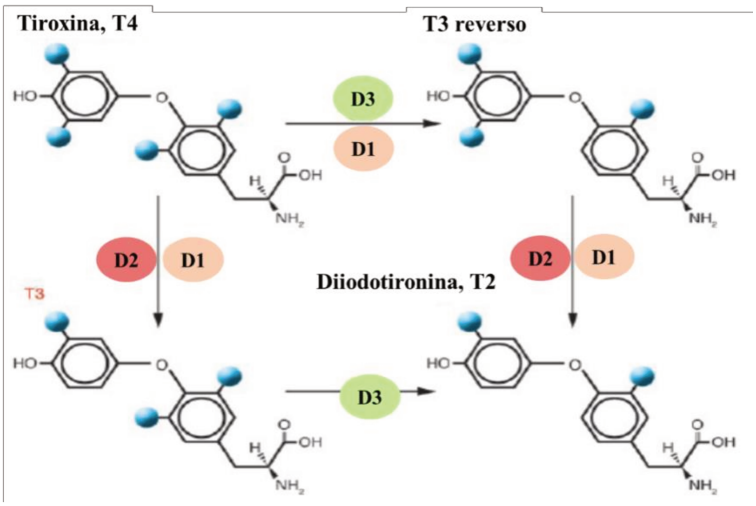

Figura 3. Reações catalíticas básicas das deiodinases, modificado de: (34).

Sob condições fisiológicas, a função tireoidiana inicia se com a ligação do TSH (pós-estímulo do TRH) ao receptor do TSH (acoplado à proteína G) na

célula folicular tireoidiana (35). A síntese dos HT envolve o transporte ativo do iodo na membrana basolateral da célula folicular através do co transportador sódio iodeto (NIS) e da pendrina (36). Os resíduos de tirosina da tireoglobulina são substratos para iodação e formação das iodotironinas (35). A enzima tiroperoxidase (TPO) catalisa a oxidação do iodo por peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e também a iodação dos resíduos tirosina (35). A enzima dual oxidase 2 e seu fator de maturação (*DUOX2* e *DUOXA2*) geram o H_2O_2 (37). Dois resíduos de diiodotironina (DIT) formam a tiroxina (T4) e, um DIT e um monoiodotironina (MIT) formam a triiodotironina (T3) (35). O T4 e o T3 são liberados da célula folicular para circulação por transportadores, como o monocarboxilato 8 (MCT8). Na circulação, 0,03% do T4 e 0,3% do T3 estão livres e o restante ligados à globulina ligadora de tiroxina (TBG), transtiretina e albumina (35). Em um indivíduo saudável, a produção diária de T3 é 80% decorrente da deiodinação periférica do T4 e 20% tireoidiana (30), esta através da proteólise da tireoglobulina (dois terços) e da deiodinação intra tireoidiana do T4 (um terço) (38).

Nas células, o T4 e T3 séricos podem ser captados através dos transportadores de membrana (transportador de ânion orgânico 1C1 - *OATP1C1*, transportadores monocarboxilato 8 e 10 - MCT8 e MCT10) (35, 39).

A D1 está presente nas células foliculares tireoidianas, hipofisárias, renais e hepáticas (35). É uma proteína com meia vida longa (8 horas); tem como estímulo regulatório mais potente o T3, que atua na região promotora do gene *DIO1* favorecendo sua transcrição (40). Sofre indução por TSH (via AMP cíclico), hormônio de crescimento e ácido retinóico e a repressão enzimática ocorre na deficiência de selênio (41). Promove deiodinação do anel interno (ou tirosil- 5 deiodinação) das iodotironinas, inativando o T4 à rT3 (T3 reverso) e também; no anel externo (ou fenólico- 5' deiodinação) ativando o T4 à T3, na proporção de 2:1 (34). Tem ainda como substrato o rT3, formando o metabólito inativo T2 (3,5-diiodo-l-tironina). Contribui para produção de aproximadamente 25% do T3 plasmático, uma condição favorecida pela localização desta enzima junto a membrana plasmática celular; tem um papel homeostático sobre as concentrações plasmáticas de T4, sendo via de drenagem em situações de elevação do T4 sérico e desta forma, limitando a oferta de substrato para

ativação via D2 (8, 35, 42). Como promove também a eliminação de rT3 e outros resíduos, favorece a recirculação do iodeto para síntese de T4 (43).

A D2 encontra se expressa na tireoide, hipófise, músculo esquelético, tecido adiposo branco e marrom, sistema nervoso central (SNC), placenta e coração (35, 44). É considerada a principal enzima ativadora do T4 à T3 (deiodinação do anel fenólico), devido à maior afinidade por este substrato quando comparada à D1 (D2: Km~2 nM e D1: Km ~1 µM para o T4; onde Km é a constante de Michaelis) (32). Também tem como substrato o rT3, convertendo o à T2 (30). A meia vida desta enzima é curta, aproximadamente 45 minutos (45, 46). Está localizada no retículo endoplasmático, o que permite que o T3 gerado no componente intracelular seja levado diretamente ao receptor nuclear do HT (TR), fazendo com que a produção de T3 através da D2 tenha efeito predominante sob a transcrição gênica dependente de T3 (32, 34, 47).

O papel fisiológico da D2 é o fornecimento de T3 intracelular, sendo para as células que a expressam, a principal fonte do T3 que está ligado ao receptor nuclear (figura 4); contribui para a produção diária de T3 plasmático (via deiodinação periférica do T4, gerado principalmente no músculo); na termogênese e no desenvolvimento (30, 34, 47). Esta enzima sofre indução em condições de exposição ao frio, catecolaminas, ácidos biliares, AMP cíclico e deubiquitinação (proteínas Von Hippel–Lindau 1 e 2 - VDU1 e 2) e inibição por concentrações elevadas de T3, a nível transcricional (redução na expressão gênica do *DIO2*) e pós translacional (ubiquitinação - catalisada por WSB-1) (34) (figura 5). A ubiquitinação e a deubiquitinação são processos intracelulares de inativação e reativação da D2 respectivamente, conforme maior ou menor concentração intracelular de T4; uma alça interna de retroalimentação que regulará a disponibilidade de T3, mediada por D2, dentro da célula (46).

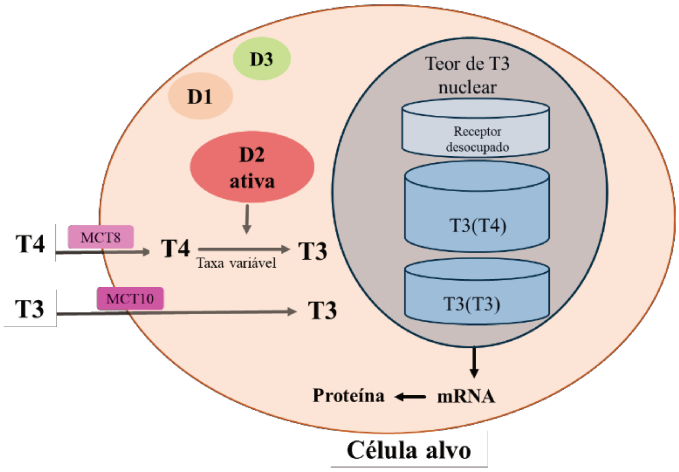

Figura 4. Deiodinase tipo 2 – Papel fisiológico: homeostase intracelular de T3, modificado de: (34).

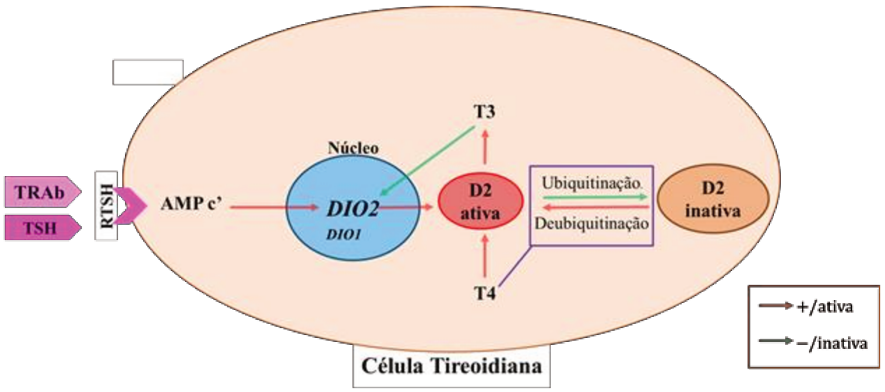

Figura 5. Ativação do receptor do TSH e regulação intracelular da D2, modificado de: (30, 34, 46).

D3 é uma enzima com atividade de inativação, converte T4 à T3r e T3 à T2 (42). Está presente no SNC e na pele de adultos e em vários tecidos placentários e fetais. Tem como principal papel proteger os tecidos do excesso de hormônios tireoidianos (35). As propriedades das D1, D2 e D3 estão sumarizadas no quadro 3.

As deiodinases podem amplificar ou reduzir a sinalização intracelular do hormônio tireoidiano em um dado tecido ao longo do tempo, ainda que as concentrações plasmáticas destes hormônios estejam estáveis, uma vez que várias moléculas sinalizadoras podem influenciar na expressão destas enzimas (11, 28). Uma vez no núcleo celular, o hormônio tireoidiano se ligará à receptores e desta forma regulará a transcrição de genes responsivos (29).

Quadro 3. Resumo das propriedades das deiodinases, modificado de: (34).

Parâmetro	D1	D2	D3
Substrato preferencial	T4, rT3 2(5):1(5')	T4, rT3	T4, T3
½ vida	Várias horas	Curta	Várias horas
Localização subcelular	Membrana plasmática	Retículo endoplasmático	Membrana plasmática
Localização tecidual	Fígado, rim, tireoide, hipófise	SNC, hipófise, tireoide, tecido adiposo branco e marrom, músculo esquelético, placenta e coração	Placenta, SNC, fígado fetal, hemangiomas
Função	Clarear T3 e rT3, fonte de T3 plasmático	Fornecimento de T3 intracelular, termogênese, desenvolvimento e contribuição para T3 plasmático	Desenvolvimento, clareamento de T3 e T4, evitar produção intracelular de T3

1.2.2. Na Doença de Graves

A DG se caracteriza por persistente estimulação tireoidiana, com evidente aumento na relação T3/T4 sérica (8). As enzimas D1 e D2 são amplamente expressas no tecido tireoidiano normal (48, 49) e também na DG (49); sendo que nesta condição, estudos demonstram que a expressão do RNA mensageiro (RNAm) da D1 é aparentemente constitutiva, enquanto que para a D2 esta expressão é variável conforme o grau de estimulação tireoidiana (49, 50).

Estudos posteriores demonstraram a presença do elemento responsivo ao AMP cíclico na região "5' flanking" do gene *DIO2*, permitindo compreender a estimulação da D2 através da via do receptor do TSH (51, 52); via também envolvida no aumento da transcrição do gene *DIO1* (30). Contudo, ambos os genes passarão também por regulação transcricional mediada pela alta disponibilidade de T3 intracelular, desencadeando expressão aumentada da D1 e reduzida da D2 (30, 40). De outra forma, à nível pós translacional, a enzima D2 será reajustada conforme o aumento nas concentrações T4 no meio intracelular, promovendo inativação enzimática por ubiquitinação (46) (figura 5).

Com objetivo de esclarecer sobre a produção de T3 no hipertireoidismo, Laurberg e cols. estudaram pacientes com diagnóstico recente de DG ou bócio multinodular tóxico, randomizados para tratamento com altas doses de propiltiuracil (PTU – bloqueando a ação da D1), PTU e iodeto de potássio ou PTU associado à iodato de sódio (para bloqueio adicional da D2) e demonstraram que a contribuição da D1 é três vezes maior que a da D2 (8); corroborando os achados de Maia, AL (53). Tendo por base as fontes de T3 plasmático em condições de normalidade e assumindo que a produção de T3 por deiodinação periférica permanece estável através de mecanismos regulatórios (30), os autores concluíram também que a deiodinação intratireoidiana é a principal fonte de T3 plasmático nas glândulas hiperestimuladas, contribuindo com 28 a 57% do T3 produzido em um dia, conforme maior severidade da doença (8). A síntese de Tg com teor T3 quase duas vezes acima do normal também contribui, em menor proporção, para a produção predominantemente tireoidiana de T3 na DG (54). As figuras 6 e 7 ilustram a produção de T3 no eutireoidismo e na DG, respectivamente.

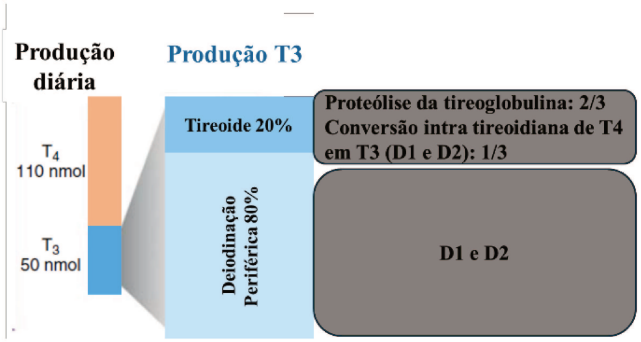

Figura 6. Produção tireoidiana de T3 no eutireoidismo, modificado de: (8, 30, 41).

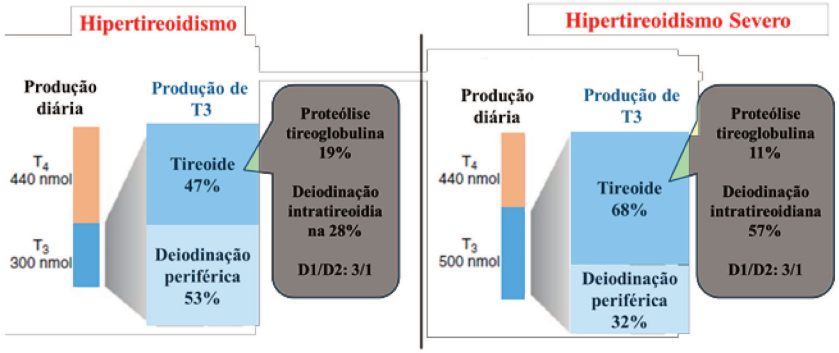

Figura 7. Produção tireoidiana de T3 no hipertireoidismo de Graves, modificado de: (8, 41).

O papel das D1 e D2 para a produção tireoidiana de T3, nos casos de DG comum e T3 dominante, também foi estudado por Ito e colaboradores (55). Neste estudo, os pacientes dos dois grupos foram tratados com metimazol até a normalização do T4 sérico, sendo que os com DG T3 dominante persistiram com T3 sérico elevado por pelo menos 3 meses; posteriormente todos foram submetidos à tireoidectomia, com avaliação da expressão do RNAm e atividade enzimática das D1 e D2 nas amostras de tecido. Os achados confirmaram a maior contribuição tireoidiana para produção diária de T3 também na DG T3 dominante; demonstraram a atividade aumentada de ambas enzimas (principalmente da D2) nos dois grupos, em concordância com a maior relação T3/T4 e com os títulos de TRAb (55). Ocorreu paralelismo entre a expressão do RNAm do *DIO1* e *DIO2* e os títulos de TRAb nestes grupos (embora mais fraco para a D2, $p<0,05$ em relação à D1, $p<0,01$); contudo, entre expressão do RNAm e atividade enzimática, apenas para a D1 ($p<0,01$) (55); sugerindo que não apenas o estímulo transcricional positivo por AMP cíclico (51, 52) (através do TRAb), mas também negativo mediado pelas concentrações de T3, regulam a transcrição do RNAm do *DIO2* (56). Uma vez que as concentrações de T4 estavam normalizadas na maioria destes casos, os autores ressaltam que outros fatores podem justificar o evidente aumento na atividade da D2 na DG T3 dominante, sendo o TRAb um potencial candidato, dada alta relação entre estes títulos e os de T3 (55).

Através de diferentes mecanismos, os estudos apontam que, embora a tireoide contribua de forma significativa para a produção de T3 na DG (8, 47, 55), a contribuição das D1 e D2 sofrerá marcada influência dos mecanismos regulatórios (51, 52, 56), que também serão modulados ao longo do curso da doença e opção de tratamento, trazendo à percepção o quão dinâmico é o curso desta doença.

O estado de hipertireoidismo é capaz de aumentar a produção linfocitária e pode induzir à intensificação da resposta imunológica e a produção de anticorpos (57). Uma vez que D2 tem contribuição para a produção de T3 no estado de hipertireoidismo (8, 55), sua influência na modulação da resposta imune é postulada (58).

Planck e cols. demostraram a expressão do RNAm do gene *DIO2* e a atividade da enzima D2 no tecido adiposo orbitário de indivíduos sem disfunção

tireoidiana e nos portadores de OG ativa e inativa (59). Em subsequente estudo, foi demonstrada a sub expressão do RNAm deste gene no tecido adiposo orbitário dos portadores de OG crônica em comparação aos indivíduos eutireoidianos saudáveis submetidos à plástica ocular; mas para os portadores de OG ativa não foi possível avaliar, dado o uso concomitante de corticoides e a potencial influência da inflamação para a expressão deste gene (60).

1.2.3 As deiodinases e o metabolismo energético

A disponibilidade imediata de substratos (glicose e ATP) para o metabolismo energético é necessária para a preservação da homeostase, abastecimento e funcionalidade do organismo (9). Durante o processo de oxidação celular destes substratos, 65% da energia liberada será canalizada para a fosforilação do ADP e estoque na forma de ATP, por mecanismo de acoplamento mitocondrial e 35% dela será perdida sob a forma de calor (9). Em alguns tecidos como o adiposo marrom, ocorre o mecanismo de não acoplamento mitocondrial, onde a oxidação celular do substrato é elevada, contudo sem síntese de ATP, sendo a maior parte da energia liberada sob a forma de calor (61). Num indivíduo em estado de repouso, o total de energia envolvida em todo este processo é conhecido como taxa metabólica basal (TMB), sendo o montante de calor produzido como resultado da transferência energética do substrato para a síntese do ATP descrito como termogênese obrigatória (TO) (9). Diante do aumento de atividade, ocorrerá mais quebra de moléculas de ATP e o provimento de calor como resultante deste aumento na TMB é descrito como termogênese adaptativa (TA) (9). O hormônio tireoidiano promove TO através da quebra do ATP e produção de calor, que em situações de hipertireoidismo severo pode promover gasto energético duas vezes maior; além da TA em alguns tecidos como adiposo marrom, através da proteína de não acoplamento mitocondrial, a UCP-1 (9).

Os achados de um estudo clínico realizado por Al-Adsani e cols. trazem evidências sobre o HT e o gasto energético basal. Neste estudo, realizado em pacientes hipotireoideos usuários de T4L, as mudanças no gasto energético basal (GEB) se correlacionaram com as concentrações séricas de TSH, mas não com as de T3 ou T4, sugerindo que mecanismos locais que regulam a disponibilidade de T3 na célula alvo devem estar relacionados a este gasto,

semelhante aos mecanismos que regulam o TSH, trazendo a importância da sinalização intracelular do HT, e portanto da D2, para este contexto (17).

Estudos posteriores confirmaram que a sinalização do hormônio tireoidiano é o principal regulador do gasto energético, através de vias tanto centrais quanto periféricas (33). Considerando o papel das deiodinases a nível central, os neurônios hipotalâmicos serão afetados pelas concentrações de T3 provenientes do plasma e também pelo conteúdo de T3 localmente disponibilizado pelas D2 e D3, expressas nas células gliais da parede do terceiro ventrículo e do hipotálamo (62). A produção do hormônio liberador de tirotrofina (TRH) definirá a regulação tireoidiana através da modulação que exerce sobre a secreção hipofisária do hormônio TSH (33), enquanto que também será regulada em todos os níveis pelas concentrações de T3 plasmática e tecidual (via D2 principalmente), garantindo desta forma a estabilidade das concentrações séricas de T3 e a homeostase energética (63). Além deste aspecto, no hipotálamo ventral medial, o T3 gerado pela D2 está relacionado à resposta adaptativa ao estado de jejum, aumentando o apetite e reduzindo da atividade simpática no tecido adiposo marrom, de forma a minimizar o gasto energético (64).

Perifericamente, as deiodinases podem amplificar (D2) ou reduzir (D3) a sinalização do HT em tecidos que são metabolicamente importantes como o músculo esquelético, o tecido adiposo marrom e o hipotálamo, influenciando no gasto energético a nível tecidual (9).

A D2 é necessária para que o pleno desenvolvimento e diferenciação do tecido adiposo marrom ocorra (65). Estudos recentes reportam a presença deste tecido ativo em adultos (66). A D2 tem papel na indução da UCP-1 que é responsável pelo mecanismo de termogênese adaptativa neste tecido (9, 33). Considerando se que a D2 encontra se também expressa no pré adipócito humano (44); que o T3 induz à expressão de UCP1 (via D2), à biogênese mitocondrial e ao aumento de consumo de oxigênio pelas células multipotentes do tecido adiposo (33, 67), há evidência da influência destes fatores para a conversão de uma população de adipócitos em tecido adiposo marrom (68). No músculo esquelético, o HT também regula a termogênese através do não acoplamento mitocondrial (69), sendo um importante mecanismo para o gasto energético em pacientes com tireotoxicose (70).

O papel da D2 para a sinalização do hormônio tireoidiano e metabolismo estão ilustrados na figura 8. Todos estes dados reforçam a contribuição da enzima D2 para a sinalização do hormônio tireoidiano e para o gasto energético basal.

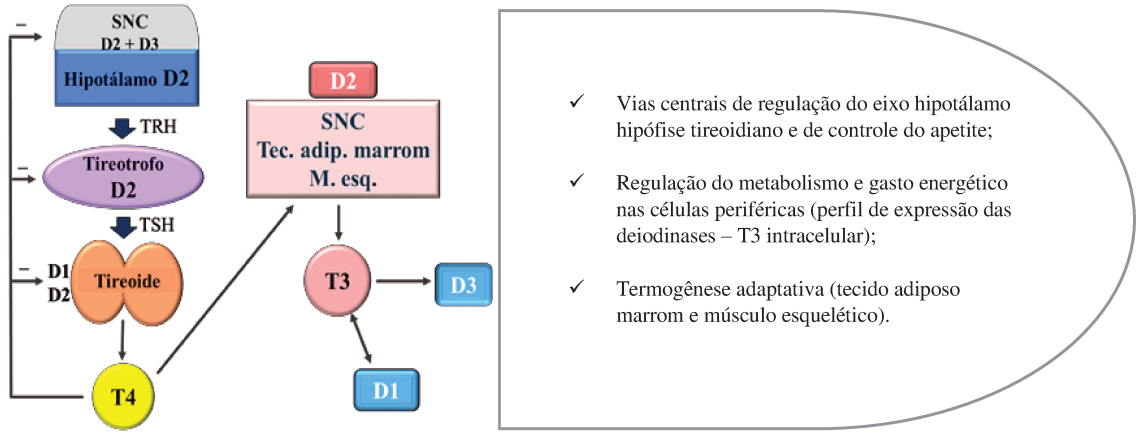

Figura 8. Deiodinases (D2) para o metabolismo energético, modificado de (9, 33).

1.3 O gene *DIO2*

O gene *DIO2* humano está localizado na posição 14q24.3 do braço longo do cromossoma 14 e tem 15 quilobases (71). Os componentes envolvidos na regulação transcricional são o AMP cíclico e o fator de transcrição tireoidiano tipo 1 (*TTF1*), que ao atuar na região promotora do gene (52, 72) controlam positivamente a expressão do RNAm da D2 e; também o T3, que em concentrações elevadas promove redução na expressão deste gene (34).

O RNAm das selenoproteínas, dentre elas o da D2 humana, tem 6 a 7 kb de comprimento (73). A região 3'UTR é longa (com aproximadamente 4,7 kb) (73); contém a sequência de inclusão do aminoácido selenocisteína, conhecida por elemento SECIS na região 3' terminal, que é necessária para que o códon UGA seja reconhecido como códon para inserção da selenocisteína ao invés de um códon de parada, um aspecto importante para formação de uma enzima ativa (32, 73). A região 5'UTR é menor, com cerca de 600 pb de comprimento, contém 3 regiões diferentes de iniciação da transcrição ("transcription start sites" ou TSS), três regiões codificadoras descritas como SORF ("short open reading frames"), e está envolvida na regulação da atividade da enzima (73).

A proteína codificada, a D2 humana, pertence à família das iodotironinas deiodinases, contém o aminoácido selenocisteína no sítio ativo da enzima, um aspecto considerado crítico para a efetividade da reação de deiodinação (29). É composta por um domínio na membrana do retículo endoplasmático (RE), uma porção amino terminal dentro do RE e uma região catalítica voltada para o citoplasma (45).

1.3.1. Os polimorfismos do gene *DIO2*

1.3.1.1 *DIO2* rs225014

O polimorfismo do *DIO2* Thr92Ala (rs225014) tem como característica a substituição do aminoácido treonina (Tre) por alanina (Ala) no códon 92 de uma alça responsável por controlar a ubiquitinação e a degradação pelos proteassomas (74). A incidência da herança homozigota polimórfica em população brasileira foi descrita em 12 a 16,4% (75).

Em população eutireoidiana saudável, Peeters e colaboradores avaliaram a relação entre os genótipos deste polimorfismo e as concentrações séricas de TSH e iodotironinas, e também com a atividade *"in situ"* da enzima D2 em células COS 1 transfectadas e incubadas com T4; não encontraram alteração significativa em ambos aspectos, contudo enfatizam que diante do papel principal da D2 em prover T3 intracelular, não é possível descartar que as concentrações intracelulares de T3 não sofram alterações por este polimorfismo (76). Outros grupos também reportaram que este polimorfismo do *DIO2* não está associado com as concentrações séricas dos hormônios tireoidianos e do TSH em diversas populações, com e sem disfunção tireoidiana (58, 77-79). As variantes deste polimorfismo quando expressas em células HEK-293, também não demonstraram diferenças significativas nas propriedades cinéticas da enzima D2 sob influência do genótipo polimórfico ou selvagem; contudo ao avaliar a atividade e a expressão do RNAm da D2 em amostras de tecido tireoidiano (pacientes eutireoidianos com doença nodular benigna ou maligna) e de músculo esquelético (proveniente de biópsia do estenocleodomastóideo ou reto abdominal de pacientes eutireoidianos e na ausência de diabetes ou pré diabetes), observaram a redução na velocidade da enzima nos com genótipo polimórfico Ala92Ala para o tecido tireoidiano ($p=0,05$) e para músculo

esquelético (p=0,04), sem alteração correspondente no RNAm da D2 (80). Como nenhuma propriedade bioquímica desta enzima foi significativamente modificada pela presença do genótipo polimórfico, não explica a redução da velocidade enzimática observada nos tecidos e, traz a possibilidade de que este achado possa estar relacionado ao desequilíbrio de ligação entre este polimorfismo e outro, neste gene ou em outro próximo ou ainda, que o genótipo polimórfico produza defeito na tradução ou na estabilidade da proteína, o que pode ser observado em tecidos, mas não *"in vitro"* (80); entretanto, estudos subsequentes evidenciaram que condições técnicas especiais, não consideradas neste estudo, são necessárias para avaliar a atividade da D2 no músculo, questionando parte destes achados (81).

De forma diferente, os achados de outros dois estudos sugerem, por métodos indiretos, que a herança polimórfica do *DIO2* rs225014, quando comparada à selvagem, está relacionada à menor atividade catalítica enzimática (82, 83). Num deles, Torlontano e colaboradores demonstraram que os pacientes tireoidectomizados homozigotos Ala/Ala requereram maior dosagem de T4L para alcançar o alvo de TSH (83), mas estes achados não foram replicados por outro estudo semelhante (84). Butler e cols. evidenciaram que voluntários eutireoidianos saudáveis homozigotos para este polimorfismo exibem atraso no aumento do T3 sérico pós-estímulo com TRH, quando comparados aos heterozigotos (resposta intermediária) e também ao genótipo selvagem (82).

Em recente estudo, Castagna e cols elucidaram o papel deste polimorfismo para atividade enzimática da D2 ao demonstrarem evidências biológicas de que a D2-Ala92 (herança polimórfica) se torna menos eficiente e, portanto acarreta produção reduzida de T3 no músculo esquelético e na hipófise (85).

Este polimorfismo foi estudado previamente no contexto da DG; um deles demonstrou a associação da herança polimórfica com maior susceptibilidade para DG na população russa (86), enquanto que outro descreve a relação de proteção deste genótipo quanto ao desenvolvimento, severidade e taxa de remissão da DG, em população de etnia semelhante (87).

Outras associações deste polimorfismo com condições clínicas encontram-se sumarizadas no quadro 4.

Quadro 4. Achados clínicos associados ao polimorfismo *DIO2* rs225014, modificado de: (35).

Contexto clínico	**Resumo dos achados**
Função neurocognitiva (função tireoidiana preservada)	Sem associação com a resposta ao tratamento da depressão maior com paroxetina (88).
	Não associado à maior resposta ao tratamento da depressão com sertralina associada à T3 (89).
	Aumento de risco para transtorno bipolar em população chinesa de meia idade (90).
	Não associado a marcadores de risco para doença de Alzheimer à ressonância nuclear magnética (RNM) em população alemã (77).
Função neurocognitiva em hipotireoideos tratados com levotiroxina (LT4)	Menor percepção de bem-estar psicológico na terapia com LT4 e melhora na terapia combinada com T3 e T4 (91).
	Não associado à bem-estar, função cognitiva e resposta à terapia combinada com T3 e T4, quando comparado à terapia isolada com T4 (92).
Retardo mental	Não associado a retardo metal em crianças chinesas residentes em área iodo deficientes (93, 94).
Osteoartrite e osteoporose	Associado à menor densidade mineral e maior "turnover" da massa óssea em pacientes hipotireoideos tratados com LT4 (tireoidectomizados por câncer de tireoide) (84).
	Associado com osteoatrite em população de origem asiática e caucasiana (95).
Diabetes e resistência à insulina	Associado a aumento do risco para diabetes em população de meia idade (75).
	Associado à resistência insulínica em pacientes diabéticos brasileiros (80) e europeus de meia idade (96).
	Em gestantes brasileiras, o genótipo polimórfico foi associado à menor atividade placentária da D2, mas

	não às alterações maternas no metabolismo da glicose ou resistência insulínica, TSH neonatal e desfechos gestacionais piores (97).
	Não associado à DM2 e resistência insulínica em população Dinamarquesa (98).
Pressão arterial	Associado à hipertensão arterial sistêmica (HAS) em indivíduos eutireoidianos de meia idade (população europeia) (99).
	Não associado à HAS (população do estudo Framingham) (100).
	Não associado à HAS em pacientes diabéticos brasileiros (80).
Dislipidemia	Não associado com triglicérides, colesterol total ou HDL em pacientes diabéticos (80, 96).
Índice de massa corpórea (IMC)	Não associado ao IMC em população brasileira diabética de meia idade (80).
	Associado à maior IMC em pacientes de meia idade hipotireoideos por tireoidite de Hashimoto em uso de LT4 (84).
	Não associado à obesidade em população Dinamarquesa (herança Ala92 menos frequente em obesos, p=0,005) (98).
Autoimunidade	Não associado com autoimunidade tireoidiana (anticorpo anti tiroperoxidase) (58).

1.3.1.2 *DIO2* rs12885300

Este polimorfismo corresponde a uma alteração no último códon da região ORFa na localização 5'UTR do *DIO2,* de glicina para ácido aspártico (101). Esta região 5'UTR tem 3 sORFs ("short open reading frames"), sendo que a ORFa é considerada a principal responsável pela inibição da transcrição do RNAm do gene *DIO2* (101).

Peeters e colaboradores descrevem a frequência de 34% para a herança polimórfica do *DIO2* rs12885300 em população eutireoidiana (doadores de sangue e idosos) e também a associação com menores concentrações plasmáticas de T4, T4L e rT3, mas não de T3 e TSH (gerando relação T3/T4 e T3/rT3 maiores), sugerindo a relação deste polimorfismo com maior atividade da D2 e também enfatizando que este efeito sofre modulação da idade, uma vez que se mostrou significativo apenas na população mais jovem, justificado pela significativa redução da massa muscular com o avançar da idade (101). Um estudo subsequente demonstrou a caracterização funcional desta variante D2-ORF-Gly3Asp, sugerindo aumento da transcrição do *DIO2* e da atividade da enzima D2, induzidos por este polimorfismo (102).

Peltsverger e colaboradores estudaram a relação deste polimorfismo ao estímulo agudo com TRH sobre a glândula tireoide e descreveram que a herança polimórfica está associada ao aumento embotado do LT4 pós-estímulo (sem alteração no pico de TSH ou de T3 séricos), sugerindo desequilíbrio na relação T3/T4 a favor do produto e, portanto, compatível com aumento na atividade da D2, quando comparada aos outros genótipos (103).

Este polimorfismo já foi estudado em associação a condições clínicas, sumarizadas no quadro 5.

Quadro 5. Condições clínicas descritas em associação ao *DIO2* rs12885300, modificado de: (35).

Contexto clínico	**Resumo dos achados**
Função neurocognitiva (função tireoidiana preservada)	Aumento do risco de transtorno bipolar em população chinesa de meia idade (90).
	Não associado a marcadores de demência à RNM em população idosa (77).
Função neurocognitiva (hipotireoidismo em uso de LT4)	Não associado à percepção de bem estar, função neurocognitiva e resposta à terapia combinada com T3 e T4,

	quando comparado à terapia isolada com T4 (92).
	Não associado à dose LT4 para alcançar supressão do TSH em pacientes com carcinoma diferenciado de tireoide (população brasileira) (104).
Osteoartrite	Associado ao maior risco de osteoartrite em população de etnia caucasiana e asiática (95).
Etilismo	Não associado (população chinesa) (105).
Sepse	Não associado ao risco de sepse e injúria pulmonar aguda (população europeia e americana) (106).
Pressão arterial	Não associado à HAS em amostra da população geral ("Rotterdam Scan Study") (107).

1.3.1.3 *DIO2* rs225015

Este polimorfismo é caracterizado por uma troca adenina por guanina região 3'UTR do gene *DIO2* (108). A incidência da herança homozigota polimórfica foi reportada em 3,6% em índios pima diabéticos e 7% em indivíduos controle (índios pima não diabéticos) e heterozigota de 32% para os casos e 24,3% para os controles (108).

A associação deste polimorfismo com as concentrações plasmáticas de hormônios tireoidianos foi estudada em coorte de pacientes com e sem hipotireoidismo e nenhuma alteração foi encontrada (79). Em estudo subsequente do mesmo grupo, a herança polimórfica do *DIO2* rs225015 foi associada à menor percepção de bem-estar psicológico (ao questionário geral

de saúde, versão 12) em pacientes com hipotireoidismo e em terapia com LT4 (91).

O genótipo polimórfico do *DIO2* rs225015 foi associado ao desenvolvimento precoce do diabetes mellitus tipo 2 (DM2) em índios pima americanos (p=0,03) no estudo de Nair e colaboradores, contudo não houve correlação com IMC, obesidade ou presença DM2 em qualquer idade (108).

Uma vez que a D2 encontra se super expressa na tireoide afetada por DG e também expressa no pré adipócito humano, no tecido adiposo branco e marrom, no hipotálamo, na hipófise e no músculo esquelético; que contribui significativamente para a sinalização intracelular do hormônio tireoidiano e por consequência para as ações genômicas medidas por T3 e; que os polimorfismos do gene *DIO2* podem alterar funcionalmente esta enzima, consideramos importante e elucidativo investigar as possíveis associações entre os polimorfismos do *DIO2* rs225014, rs12885300 e rs225015 com as características clínicas da DG. Ressaltamos particular interesse na relação destes polimorfismos com a variação do peso corporal associada ao tratamento da DG, uma situação que frequentemente extrapola o peso pré-morbidade, é clinicamente relevante e vem ao encontro da atual epidemia mundial de obesidade que vivenciamos também na prática médica diária.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Investigar a relação dos polimorfismos do gene *DIO2* rs225014, rs12885300 e rs225015 com a DG, em referência à incidência, suscetibilidade e características clínicas exibidas pelos pacientes.

2.2 Objetivos específicos

1. Qual a incidência dos polimorfismos do gene *DIO2* rs225014, rs12885300 e rs225015 nos casos com DG e nos indivíduos controles?

2. Os polimorfismos do gene *DIO2* rs225014, rs12885300 e rs225015 estão associados à suscetibilidade para DG?

3. Existe associação entre os polimorfismos do gene *DIO2* rs225014, rs12885300 e rs225015 com a variação de peso corporal pós-tratamento da DG?

4. Existe associação entre os polimorfismos do gene *DIO2* rs225014, rs12885300 e rs225015 com a atividade da OG ao diagnóstico?

5. Existe associação entre os polimorfismos do gene *DIO2* rs225014, rs12885300 e rs225015 com a positividade dos anticorpos tireoidianos (TRAb, ATPO e ATg)?

3. MATERIAL E MÉTODOS

Este projeto foi aprovado no Comitê de Ética da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP) – CAAE: 39705814.0.0000.5404, número do parecer 928.784. É um estudo retrospectivo, tipo caso-controle. Os 577 indivíduos envolvidos no estudo, 280 casos e 297 controles são provenientes do biorrepositório do Laboratório de Genética Molecular do Câncer (GEMOCA) da Faculdade de Ciências Médicas (FCM) da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP) e foram previamente descritos (109).

3.1 Casuística

3.1.1 Pacientes com doença de Graves

Os 280 pacientes com DG foram acompanhados no Ambulatório de Endocrinologia do Hospital da Pontifícia Universidade Católica de Campinas (PUCC) no período de 1997 a 2003. O diagnóstico foi definido através de sinais e sintomas de hipertireoidismo, dentre eles o bócio difuso, e confirmação laboratorial evidenciando TSH supresso associado às concentrações séricas elevadas de T4L e T3, TRAb positivo e/ou bócio difuso à ultrassonografia e

presença de captação de 24 horas de iodo (ou tecnécio) aumentada com distribuição difusa e homogênea.

Informes clínicos relacionados à identificação do paciente, idade, sexo, etnia, concentrações séricas de TSH, T4L e positividade de anticorpos (à saber: anti tiroperoxidase – ATPO, anti tireoglobulina – ATg e contra o receptor do TSH – TRAb), volume tireoidiano por ultrassonografia (ml) e pontuação da atividade clínica da oftalmopatia ou “clinical activity score” (CAS) ao diagnóstico foram coletados através da revisão dos prontuários médicos.

Foram excluídos deste estudo os pacientes que possuíam histórico de gestação e/ou lactação durante o período avaliado, os que usaram medicações ou tiveram outra condição de saúde (doença ou cirurgia) capaz de promover variação no peso corporal, e também as crianças e os adolescentes.

Dentre estes 280 casos, 69 foram tratados com DAT a partir do diagnóstico, 57 inicialmente com DAT e posteriormente RAI e 45 foram tratados com RAI. Os que usaram DAT foram acompanhados desde o diagnóstico por até 24 meses e, os com RAI a partir do momento desta indicação até 54 meses após. Estes cortes de tempo foram feitos com base na maior disponibilidade de informações clínicas ao longo do período de observação. Para 109 casos não houve disponibilidade de informações pertinentes ao seguimento clínico.

Em atenção à evolução clínica do paciente ao longo do tempo de seguimento e também em conformidade com a disponibilidade de dados nos prontuários médicos revisados, foram obtidos registros das concentrações séricas de TSH, T4L e TRAb, peso corporal, estatura, IMC e também medicações em uso e morbidades associadas, no momento do diagnóstico e a cada seis meses.

Diante do exposto, os casos foram agrupados conforme abaixo (figura 9):

1. Grupo DG diagnóstico: Todos os 280 casos ao diagnóstico:

2. Grupo DG seguimento: Todos os casos no seguimento, agrupados independente da opção de tratamento para DG. Contempla 171 casos acompanhados por até 24 meses.

3. Grupo RAI: Reúne os 102 pacientes que foram submetidos ao tratamento com RAI, a partir da indicação desta terapia por até 54 meses após. Para 23 pacientes esta indicação foi por recidiva da DG após tratamento clínico por 12 a 24 meses, para 39 casos foi por baixa adesão ao tratamento clínico, em

19 casos por apresentarem efeitos colaterais com drogas anti tireoidianas (9 tiveram alergia cutânea, 6 apresentaram aumento de transaminases séricas e 4 apresentaram leucopenia com neutropenia) e, em outros 21 casos foi por opção do médico assistente, no diagnóstico da DG.

4. Grupo DAT: Contempla os 126 pacientes a partir do diagnóstico, que foram tratados com metmazol (MMI), com variação na dose entre 10 a 60 mg dia até obtenção do eutireoidismo e 2,5 a 30 mg dia para manutenção deste estado por até 24 meses, conforme os resultados dos exames de função tireoidiana.

5. Grupo DAT à RAI: Inclui 57 pacientes onde temos uma visão horizontal de duas opções de tratamento ao longo do tempo. A partir do diagnóstico da DG o tratamento inicial foi com DAT (MMI – 10 a 60 mg/dia), neste período eles foram acompanhados de 6/6 meses durante 24 meses. Por diferentes indicações; dentre elas a recidiva após tratamento clínico por 12 a 24 meses (21 casos), baixa adesão ao tratamento clínico com DAT (25 casos), efeitos colaterais com DAT (4 casos alergia cutânea, 2 casos com elevação persistente transaminases séricas e 2 casos com leucopenia e neutropenia) e por escolha do paciente e/ou médico em 3 casos, foram posteriormente tratados com RAI. Nesta fase, os dados clínicos foram coletados semestralmente por até 54 meses.

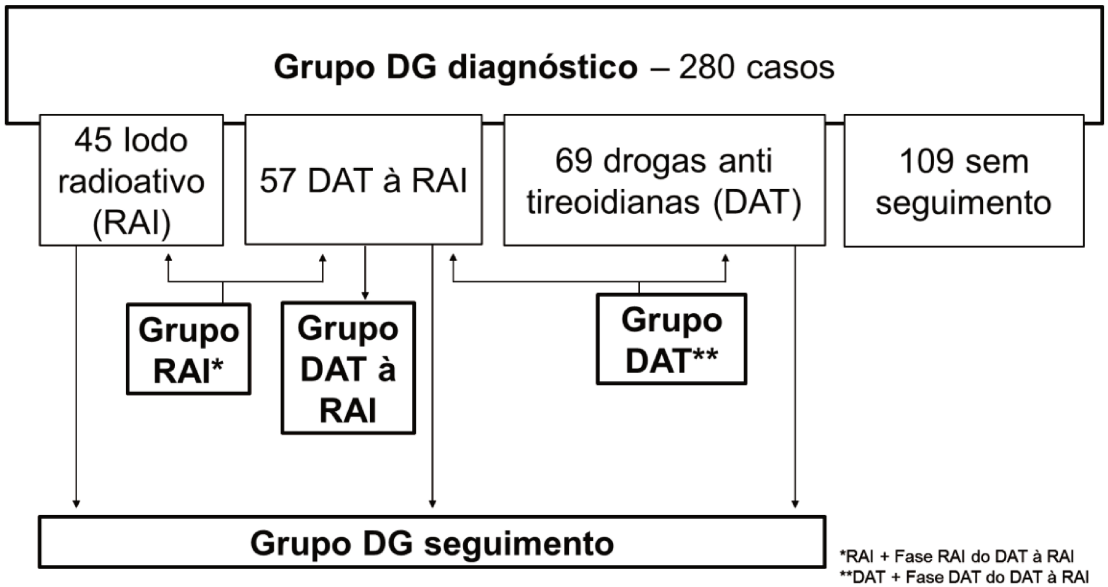

Figura 9. Descrição dos casos.

3.1.2 Controles

Selecionamos 297 indivíduos saudáveis domiciliados em Campinas e regiões próximas, com idade de 40,15 ± 11,21 anos, sendo 244 mulheres e 53 homens. As amostras de sangue periférico foram previamente coletadas através do Hemocentro (UNICAMP) e o material genético foi armazenado no biorrepositório do Laboratório GEMOCA da FCM (UNICAMP). Esta casuística foi descrita em estudo anterior (109). Ressaltamos que foram excluídos os indivíduos com histórico prévio de doenças tiroidianas.

3.2 Métodos

3.2.1 Extração do DNA

A extração do DNA nas amostras de sangue periférico dos pacientes e controles foi realizada tendo por base o método do fenol-clorofórmio, através de um protocolo adaptado pelo laboratório GEMOCA. Após a extração, o DNA na amostra foi quantificado por meio do espectrofotômetro UV – Visível, modelo PICODROP (marca Picodrop Limited - Cambridgeshire, UK) e posteriormente armazenado em congelador a –20º C.

3.2.2 Verificação dos polimorfismos gênicos do *DIO2* rs225014, rs12885300 e rs225015

A metodologia tem por base o fato de que a estabilidade do DNA de dupla fita é interrompida diante da exposição à altas temperaturas, promovendo quebra das pontes de hidrogênio e separando as duas cadeias. A tendência natural é de que cada cadeia associe se novamente à sua complementar, mantendo estrutura em dupla fita. Utilizando se uma sonda com sequencia complementar ao DNA alvo, a hibridização ocorre e ao promover condições de alta estringência, a estabilidade é suficiente para permitir que somente as sequências completamente homólogas permaneçam hibridizadas. Podem ser construídas sondas específicas para cada alelo. Neste estudo a verificação dos polimorfismos foi realizada através do TaqMan® SNP Genotyping (7500 Real Time PCR Systems, Applied Biosystems, CA), utilizando ensaio para genotipagem com sondas e primers TaqMan®; em uma combinação da hibridização e da atividade da DNA-polimerase, associada à detecção de

fluorescência (110, 111). No quadro 6 estão descritas sondas utilizadas para análise do gene *DIO2.*

Quadro 6. Gene *DIO2* com suas respectivas sondas.

Gene	Identificação do ensaio	rs	Concentração	Sonda VIC/FAM
DIO2	C-15819951-10	rs225014	40X	[C/T]
DIO2	C-31755153-30	rs12885300	40X	[C/T]
DIO2	C-568127-10	rs225015	40X	[A/G]

Para estas análises, foi utilizada uma solução de 5 µl, contendo: 20 ng de DNA da amostra, 2,5 µl de Taqman universal PCR Master Mix (com concentração final 1X), 0,25 µl do ensaio (sonda e primers) para a concentração de 20X e 0,125 µl para a concentração de 40X (mantendo concentração final de 1X), além de 2,25 µl de água milli-q®. Para todas as reações foi feito um controle negativo e outro positivo. Para a reação em cadeia da polimerase (PCR), foram utilizados ciclos de dez minutos a 95°C para a fase inicial de desnaturação, seguido de 50 ciclos à 92°C por 15 segundos e de 60°C por 90 segundos. Utilizamos o software “Sequence Detection”, versão 1.3 (Applied Biosystems, CA) para analisar os dados.

Nas figuras 10, 11 e 12 estão ilustrados os resultados da técnica TaqMan® SNP Genotyping. As curvas destacadas indicam respectivamente o genótipo homozigoto selvagem, homozigoto polimórfico e heterozigoto.

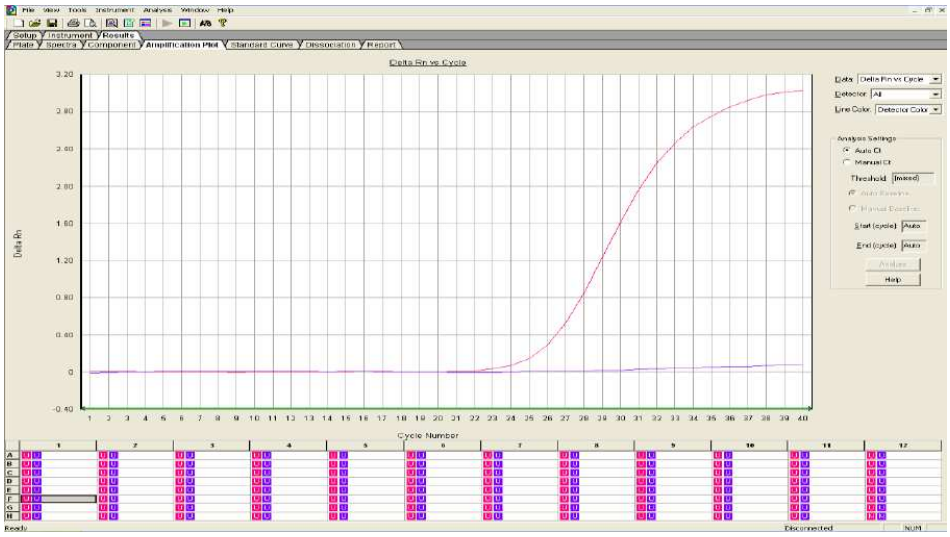

Figura 10. Exemplo de resultado da técnica TaqMan® SNP Genotyping – Homozigoto selvagem.

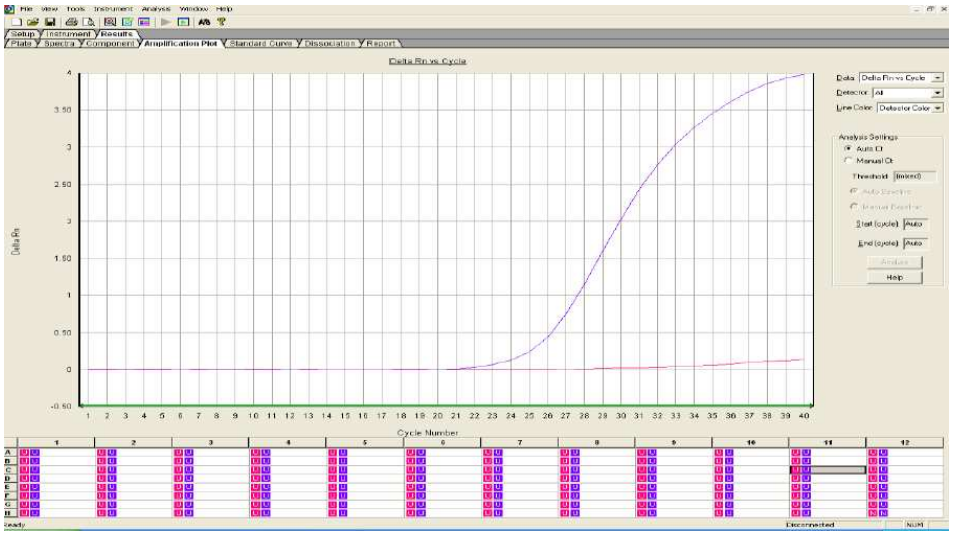

Figura 11. Exemplo de resultado da técnica TaqMan® SNP Genotyping – Homozigoto polimórfico.

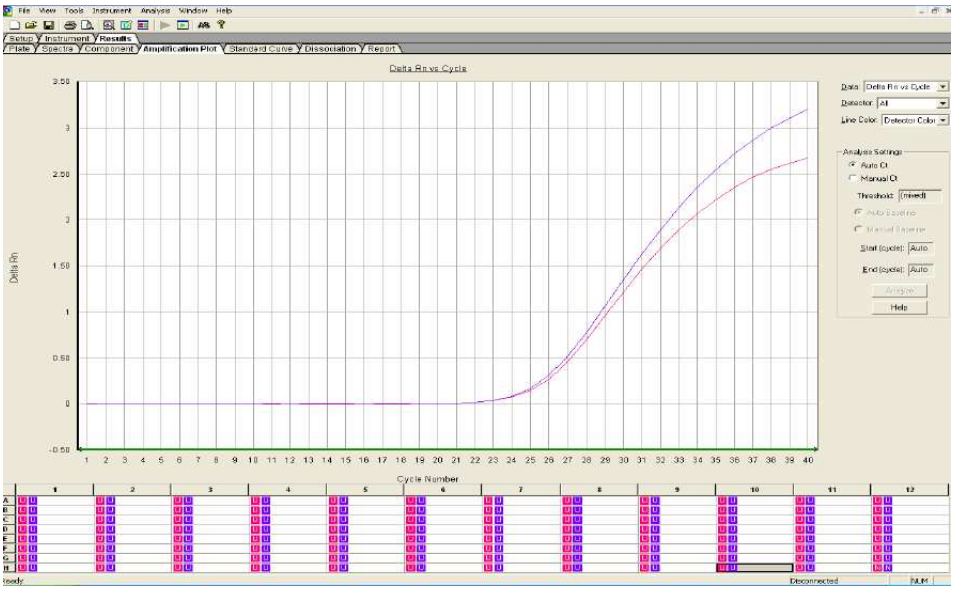

Figura 12. Exemplo de resultado da técnica TaqMan® SNP Genotyping – Heterozigoto.

3.2.3 Análise estatística

Para a análise estatística foi utilizado o software SAS (Statistical Analyses System), versão 9.4. SAS Institute Inc, 2002-2008, Cary, NC, USA. Foi realizada a análise exploratória dos dados através da frequência dos dados categóricos e das estatísticas descritivas dos dados quantitativos. Testes Qui-quadrado (X^2) e Mann- Whitney foram usados para examinar a homogeneidade entre os casos e os controles com relação ao sexo, etnia e idade. Os testes de Kruskal-Wallis, X^2 e exato de Fisher foram utilizados para comparar a idade, sexo, etnia, positividade do TRAb e médias das concentrações séricas de TSH e T4L entre os diferentes grupos genotípicos. Para avaliar a relação entre as médias de variação ponderal (em kg e IMC) nos diferentes genótipos foi utilizado ANOVA e, para verificar os fatores associados com a variação de peso corporal foi usada a regressão linear simples e múltipla (processo de seleção stepwise). A relação entre os diferentes genótipos com a presença e atividade da OG ao diagnóstico e também com os anticorpos tireoidianos (ATPO, ATg e TRAb) foi avaliada através do teste de X^2. Para avaliação de suscetibilidade foi utilizado o teste de regressão logística. O nível de significância adotado para os testes estatísticos foi de 5%.

4. RESULTADOS

4.1 Análises descritivas dos casos

4.1.1 Grupo DG diagnóstico

As características clínicas e bioquímicas deste grupo estão descritas na tabela 1.

Tabela 1. Características clínicas e bioquímicas do grupo DG diagnóstico.

Grupo DG diagnóstico (n 280)		
Idade (média ± DP - anos)		39,63 ± 11,52
Sexo	**Feminino** (n)	233
	Masculino (n)	47
Etnia	**Branca** (n)	202
	Não branca (n)	78
TSH inicial - VR 0,3 a 4,9 mIU/L (média ± DP)		0,01 ± 0,02
T4L inicial - VR 0,7 a 1,8 ng/dl (média ± DP)		4,29 ± 2,39
TRAb, % positividade		73
ATPO, % positividade		78
ATg, % positividade		53
Volume tireoidiano à USG (média ± DP - ml)		26,87 ± 19,40
Pontuação no CAS (n 267)	**Zero** (n)	109
	1 a 2 (n)	130
	3 a 7 (n)	28

4.1.2 Grupo DG seguimento

Reportamos as características clínicas e bioquímicas de 141 dos 171 casos deste grupo, conforme a disponibilidade dos informes clínicos para todo o período de seguimento proposto, tabela 2.

Tabela 2. Características clínicas e bioquímicas do grupo DG seguimento.

Grupo DG seguimento (n 141)		
Idade (média ± DP - anos)		39,84 ± 10,76
Sexo	**Feminino** (n)	119
	Masculino (n)	22
Tempo seguimento (média ± DP - meses)		18,94 ± 6,59
TSH inicial - VR 0,3 a 4,9 mIU/L (média ± DP)		0,01 ± 0,01
TSH final - VR 0,3 a 4,9 mIU/L (média ± DP)		2,61 ± 3,18
T4L inicial - VR 0,7 a 1,8 ng/dl (média ± DP)		4,87 ± 2,73
T4L final - VR 0,7 a 1,8 ng/dl (média ± DP)		2,19 ± 1,75
TRAb	**Positivo** (n)	74
	Negativo (n)	38
	Sem registro (n)	29
Peso inicial (média ± DP - kg)		60,29 ± 11,55
IMC ao diagnóstico (média ± DP) (n 135)		23,94 ± 3,74
IMC final do seguimento (média ± DP) (n 129)		26,00 ± 4,10
% de variação no IMC (média ± DP) (n 129)		9,21 ± 12,23
% de casos com ganho de peso (n 141)		81
Variação do peso (média ± DP - kg) (n 141)		5 ± 6,67

Descreveremos a variação da função tireoidiana ao longo de cada período de observação através do percentual de eventos de disfunção tireoidiana a cada

seis meses, tanto para este grupo de pacientes quanto para os demais, que serão assim representados: hipertireoidismo clínico (TSH suprimido e T4L acima do limite superior de normalidade), hipertireoidismo subclínico (TSH suprimido e T4L dentro dos limites de normalidade), eutireoidismo, hipotireoidismo subclínico (TSH elevado e T4L dentro dos limites de referência) e hipotireoidismo clínico (TSH elevado e T4L abaixo dos valores de referência laboratoriais). Esta variação para o grupo DG seguimento está ilustrada no gráfico 1.

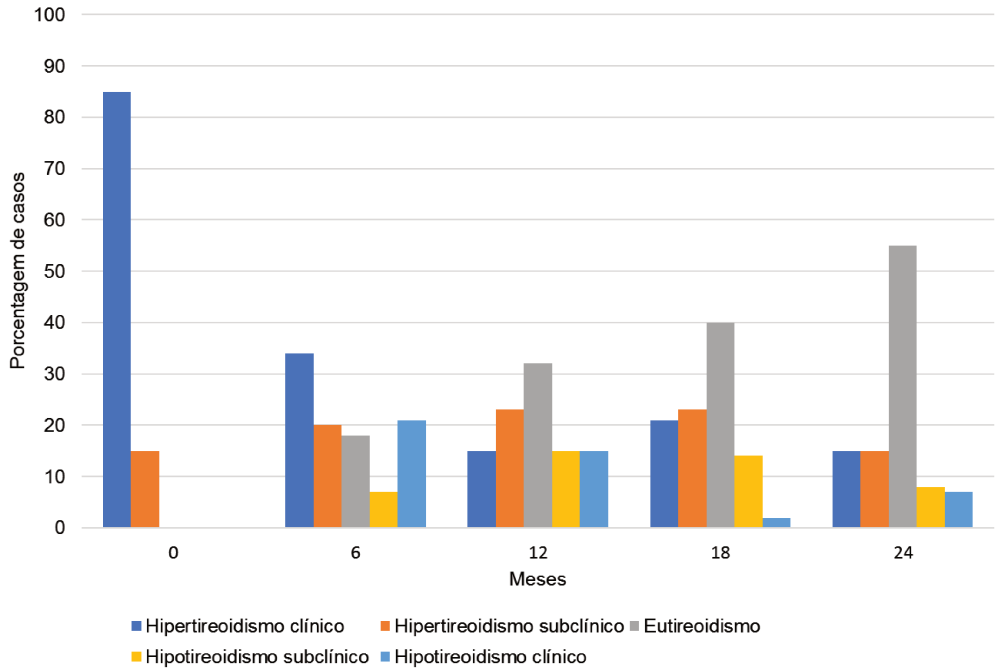

Gráfico 1. Porcentagem de pacientes com disfunção tireoidiana ao longo do seguimento – grupo DG seguimento.

4.1.3 Grupo RAI

Para 98 dos 102 pacientes tratados com RAI, reportamos as características clínicas e bioquímicas durante o período de seguimento, tabela 3.

Tabela 3. Características clínicas e bioquímicas do grupo RAI.

Grupo RAI (n 98)		
Idade (Média ± DP - anos)		39,16 ± 11,23
Sexo	**Feminino** (n)	81
	Masculino (n)	17
TSH ao diagnóstico - VR 0,3 a 4,9 mIU/L (Média ± DP)		0,01 ± 0,02
TSH final do seguimento - VR 0,3 a 4,9 mIU/L (Média ± DP)		3,74 ± 7,49
T4L ao diagnóstico - VR 0,7 a 1,8 ng/dl (Média ± DP)		4,11 ± 2,06
T4L final do seguimento - VR 0,7 a 1,8 ng/dl (Média ± DP)		1,34 ± 0,31
TRAb ao diagnóstico	**Positivo** (n)	49
	Negativo (n)	20
	Sem registro (n)	29
Tempo seguimento (Média ± DP - meses)		30,97 ± 11,41
Peso inicial (Média ± DP - kg)		61,48 ± 11,62
IMC inicial (Média ± DP)		24,38 ± 3,74
IMC ao final do seguimento (Média ± DP)		27,08 ± 4,16
% variação no IMC (Média ± DP)		11,56 ± 11,09
% casos com ganho de peso		83
Variação do peso (Média ± DP - kg)		6,89 ± 6,57

O percentual de eventos de disfunção tireoidiana a cada seis meses ao longo do período de observação do grupo RAI está descrito no gráfico 2.

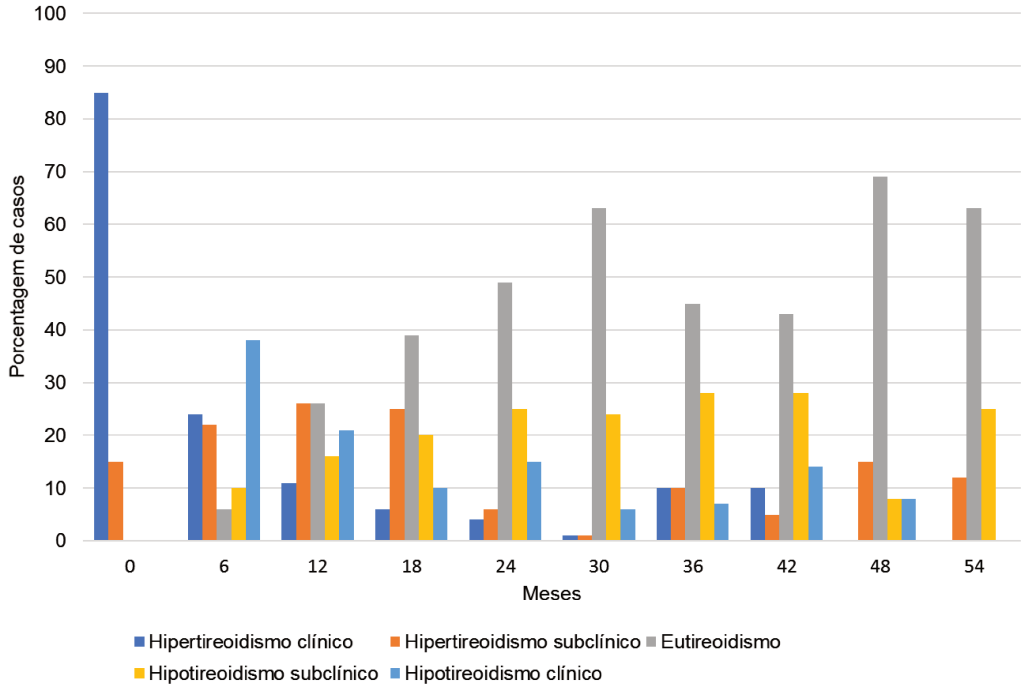

Gráfico 2. Porcentagem de pacientes com disfunção tireoidiana ao longo do seguimento – grupo RAI.

4.1.4 Grupo DAT

Dos 126 pacientes do grupo DAT, 75 contemplavam as características clínicas e bioquímicas pertinentes ao escopo deste estudo e estão descritas abaixo, tabela 4.

Tabela 4. Características clínicas e bioquímicas do grupo DAT.

Grupo DAT (n 75)		
Idade (Média ± DP – anos)		39,62 ± 11,31
Sexo	**Feminino** (n)	64
	Masculino (n)	11
TSH ao diagnóstico - VR 0,3 a 4,9 mIU/L (média ± DP)		0,01 ± 0,03
TSH final do seguimento - VR 0,3 a 4,9 mIU/L (Média ± DP)		0,79 ± 3,34
T4L ao diagnóstico - VR 0,7 a 1,8 ng/dl (Média ± DP)		4,39 ± 2,51
T4L final do seguimento - VR 0,7 a 1,8 ng/dl (Média ± DP)		2,83 ± 2,02
TRAb ao diagnóstico	**Positivo** (n)	35
	Negativo (n)	24
	Sem registro (n)	16
Tempo seguimento (Média ± DP - meses)		16,62 ± 7,49
Peso ao diagnóstico (Média ± DP - kg)		60,46 ± 13,11
IMC ao diagnóstico (Média ± DP)		24 ± 3,96
IMC ao final do seguimento (Média ± DP)		25 ± 4,28
% variação no IMC (Média ± DP)		5,46 ± 10,81
% casos com ganho de peso		74
Variação do peso (Média ± DP - kg)		2,90 ± 6,01

Descrevemos abaixo (gráfico 3) o percentual de eventos de disfunção tireoidiana exibidos pelos pacientes tratados com DAT, durante o período de avaliação proposto.

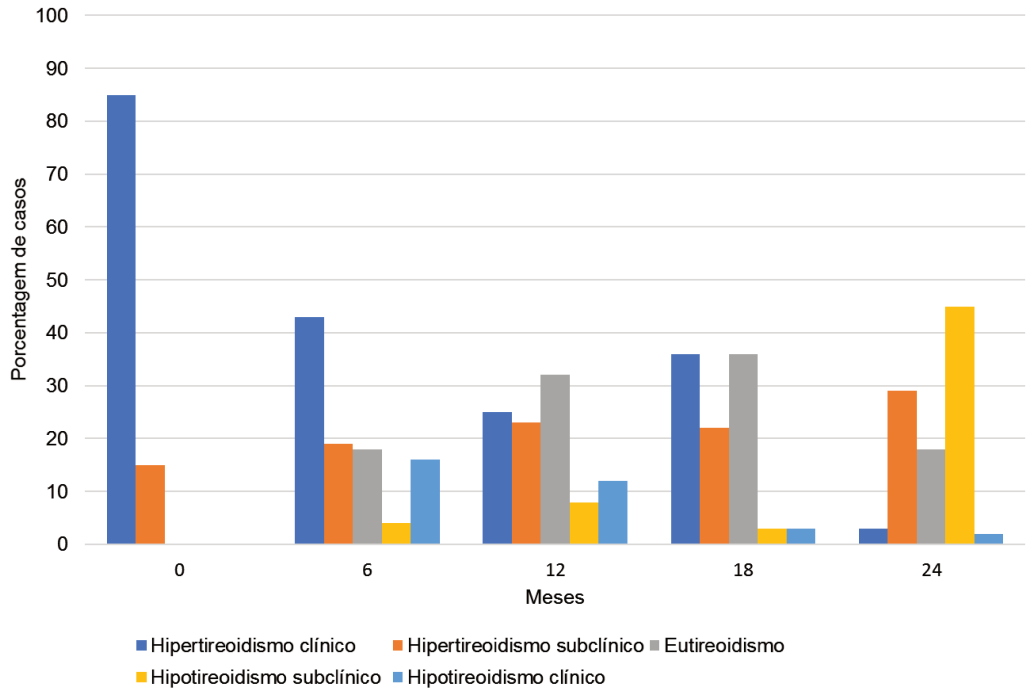

Gráfico 3. Porcentagem de pacientes com disfunção tireoidiana ao longo do seguimento – grupo DAT.

4.1.5 Grupo DAT à RAI

Para 55 dos 57 casos tratados com DAT e posteriormente com RAI, reportamos as características clínicas e bioquímicas na tabela 5, em conformidade com os prontuários revisados.

Tabela 5. Características clínicas e bioquímicas do grupo DAT à RAI.

Grupo DAT à RAI (n 55)		
Idade (Média ± DP – anos)		39,70 ± 11,87
Sexo	**Feminino** (n)	46
	Masculino (n)	9
TRAb ao diagnóstico	**Positivo** (n)	27
	Negativo (n)	15
	Sem registro (n)	13
TSH VR 0,3 a 4,9 mIU/L (Média ± DP)	**Ao diagnóstico**	0,01 ± 0,01
	Antes do RAI	0,01 ± 0,01
T4L VR 0,7 a 1,8 ng/dl (Média ± DP)	**Ao diagnóstico**	4,56 ± 1,97
	Antes do RAI	3,53 ± 1,94

Características	**Fase DAT** (n 54)	**Fase RAI** (n 55)	**Todo seguimento** (n 55)
TSH final do seguimento VR 0,3 a 4,9 mIU/L (Média ± DP)	0,83 ± 3,43	2,98 ± 4,02	2,98 ± 4,02
T4L final do seguimento VR 0,7 a 1,8 ng/dl (Média ± DP)	2,98 ± 2,04	1,34 ± 0,30	1,34 ± 0,30
Tempo seguimento (Média ± DP - meses)	14,21 ± 7,83	30 ± 11,67	44,56 ± 11,26
Peso ao início do seguimento (Média ± DP - kg)	59,35 ± 14,05	60,93 ± 12,88	59,35 ± 14,05
IMC ao início seguimento (Média ± DP) (n 54)	23,7 ± 4,33	24,37 ± 4,05	23,7 ± 4,33
IMC ao final do seguimento (Média ± DP) (n 54)	24,78 ± 4,53	26,96 ± 4,33	26,96 ± 4,33
Variação do peso (Média ± DP - kg)	2,73 ± 6,44	6,42 ± 5,50	8,63 ± 8,17
% variação no IMC (Média ± DP)	5,49 ± 11,84	11,01 ± 9,96	16,35 ± 17,68
% casos com ganho de peso	74	85	80

O percentual de eventos de disfunção tireoidiana ao longo da fase DAT está descrito no gráfico 4.

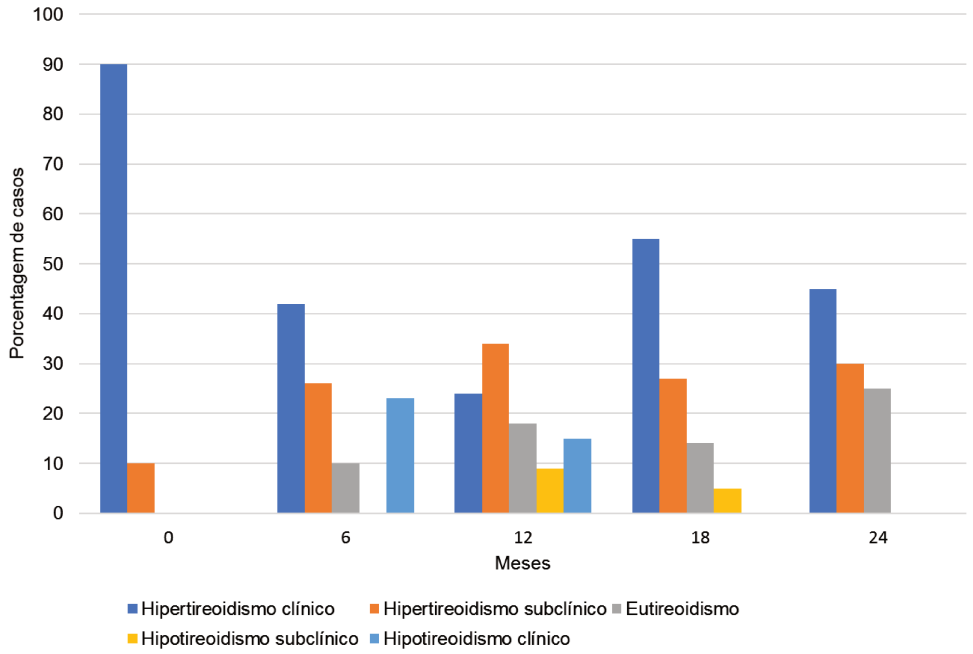

Gráfico 4. Porcentagem de pacientes com disfunção tireoidiana ao longo do seguimento – Fase DAT do grupo DAT à RAI.

Durante a fase RAI, o percentual de eventos de disfunção tireoidiana está descrito no gráfico 5.

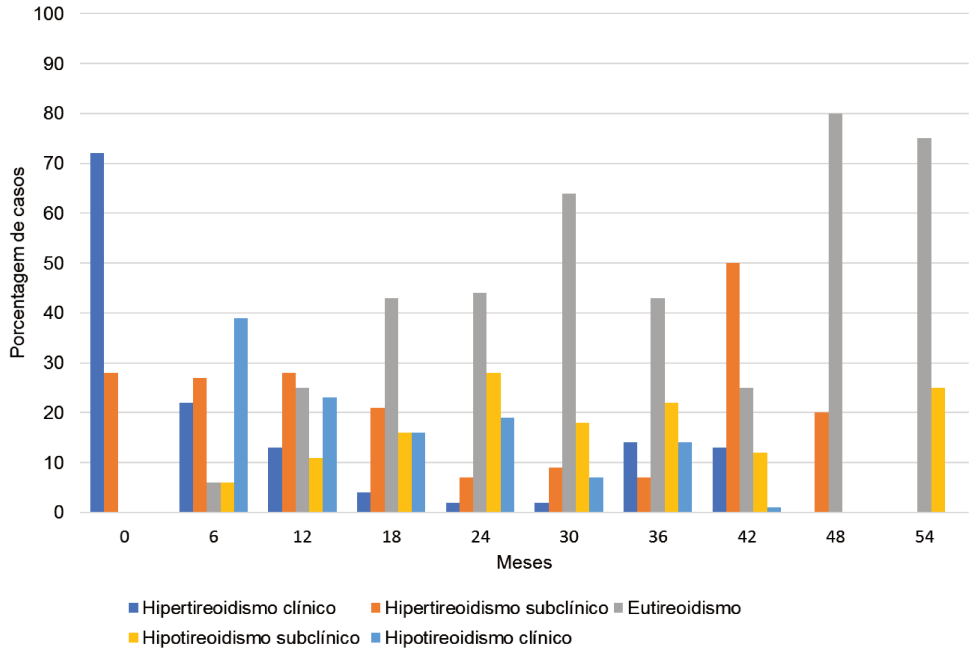

Gráfico 5. Porcentagem de pacientes com disfunção tireoidiana ao longo do seguimento – Fase RAI do grupo DAT à RAI.

4.2 Análises descritivas para os casos e controles

Na análise descritiva das associações não houve diferença entre casos (grupo DG diagnóstico) e controles quanto ao sexo, etnia e idade (p>0,05), tabela 6.

Tabela 6. Características demográficas dos casos (grupo DG diagnóstico) e controles (teste de *X^2 e **Mann-Whitney).

Características		Casos (n= 280)		Controles (n= 297)		p-valor
		n	%	n	%	
Sexo	Feminino	233	83	244	82	0,369*
	Masculino	47	17	53	18	
Etnia	Branca	202	72	223	75	0,4248*
	Não branca	78	28	74	25	
Idade (anos) (Média ± DP)		39,6 ± 11,5		40,2 ± 11,2		0,5565**

Descreveremos abaixo os resultados para os polimorfismos do *DIO2* rs225014 e rs1288530, cujas amostras genotípicas dos casos e controles estão em equilíbrio de Hardy Weinberg (HW). Para o polimorfismo *DIO2* rs225015 descreveremos apenas a distribuição genotípica, pois as amostras estão em desequilíbrio de HW e, portanto, invalidam as correlações clínicas.

4.3 Resultados para o polimorfismo *DIO2* rs225014

A distribuição dos genótipos do polimorfismo *DIO2* rs225014 para todos os casos de DG (denominado grupo DG diagnóstico) e o grupo controle não exibem diferenças significativas (p>0,05), tabela 7.

Tabela 7. Distribuição genotípica de todos os casos (grupo DG diagnóstico) e controles para o *DIO2* rs225014 (teste de X^2).

Genótipos*	Casos		Controles		p-valor
	n	%	n	%	
TT	98	35	93	31	
CT	132	47	135	46	0,2846
CC	49	18	67	23	

*TT, homozigoto selvagem; CT, heterozigoto; CC, homozigoto polimórfico.

Quando consideramos todos os casos (grupo DG diagnóstico), a distribuição entre os genótipos do polimorfismo do *DIO2* rs225014 não exibem diferenças significativas quanto ao sexo, idade, etnia, TSH, T4L e TRAb ao diagnóstico (p>0,05), permitindo análise comparativa entre eles. Dados ilustrados na tabela 8.

Tabela 8. Distribuição genotípica do *DIO2* rs225014 para os casos (grupo DG diagnóstico), quanto à idade, sexo, etnia, TSH, T4L e positividade do TRAb ao diagnóstico (teste de *Kruskal-Wallis e **X^2).

Genótipos § (n)	Idade (Anos) (Média ± DP)	Sexo (n)		Etnia (n)		TSH (Média ± DP)	T4L (Média ± DP)	TRAb +		TRAb –	
		F	M	B	NB			n	%	n	%
TT (98)	39,9 ± 10,9	78	20	69	29	0,03 ± 0,16	4,35 ± 1,92	45	30	25	43
CT (132)	39,5 ± 12,2	111	21	100	32	0,01 ± 0,04	4,04 ± 2,68	77	50	28	48
CC (49)	39,3 ± 11,3	43	6	33	16	0,03 ± 0,09	4,63 ± 2,61	31	20	5	9
p-valor	0,9776*	0,4251**		0,4572**		0,3023*	0,1026**	0,0564**			

§ TT, homozigoto selvagem; CT, heterozigoto; CC, homozigoto polimórfico.

4.3.1 Suscetibilidade para DG

Não foi significativa a relação entre os genótipos do *DIO2* rs225014 com a suscetibilidade para DG (considerando todos os casos - grupo DG diagnóstico) (p>0,05), tabela 9.

Tabela 9. Distribuição genotípica entre casos (grupo DG diagnóstico) e controles do *DIO2* rs225014 (regressão logística).

Genótipos*	Casos		Controles		p-valor
	n	%	n	%	
TT	98	35	93	31	
CT	132	47	135	46	0,1890
CC	49	18	67	23	
CC + CT	181	65	202	69	0,4568

*TT, homozigoto selvagem; CT, heterozigoto; CC, homozigoto polimórfico.

4.3.2 Variação do peso corporal pós-tratamento da Doença de Graves

4.3.2.1 Grupo DG seguimento

Os casos do grupo DG seguimento têm distribuição homogênea entre os genótipos do *DIO 2* rs225014 para sexo, idade, etnia, concentrações de TSH, T4L e TRAb ao diagnóstico, permitindo análise comparativa entre estes grupos, tabela 10.

Tabela 10. Distribuição genotípica do *DIO2* rs225014 quanto à idade, sexo, etnia, TSH, T4L e positividade do TRAb ao diagnóstico - grupo DG seguimento (teste de *Kruskal-Wallis e **X^2).

Genótipos § (n)	**Idade** (Anos) (Média ± DP)	**Sexo** (n)		**Etnia** (n)		**TSH** (Média ± DP)	**T4L** (Média ± DP)	**TRAb**			
								+		**–**	
		F	**M**	**B**	**NB**			**n**	**%**	**n**	**%**
TT (50)	39,48 ± 9,48	41	9	33	17	0,01 ± 0,02	4,12 ± 1,97	22	30	18	47
CT (68)	40,82 ± 11,40	57	11	48	20	0,01 ± 0,01	4,31 ± 3,18	38	51	17	45
CC (23)	37,73 ± 11,51	21	2	14	9	0,01 ± 0,01	5,15 ± 3,27	14	19	3	8
p-valor	0,4876*	0,5861**		0,6686**		0,1569*	0,4367*	0,1096**			

§ TT, homozigoto selvagem; CT, heterozigoto; CC, homozigoto polimórfico.

A distribuição genotípica do *DIO2* rs225014 para a variação ponderal nestes casos demonstra que a herança do genótipo homozigoto polimórfico (CC) somado ao heterozigoto (CT) exibe menor média de variação de peso (4,26 ± 6,25 kg) quando comparada ao genótipo selvagem (6,34 ± 7,26 kg; p=0,0456), ajustado para o tempo de seguimento, conforme evidenciado na tabela 11.

Tabela 11. Distribuição genotípica do *DIO2* rs225014 para a variação ponderal em kg - grupo DG seguimento (ANOVA).

Genótipos	**n**	**Variação do Peso Corporal em kg** (Média ± DP)	**p-valor***
TT	50	6,34 ± 7,26	
CT	68	4,05 ± 5,91	0,0760
CC	23	4,90 ± 7,27	
CC+CT	91	4,26 ± 6,25	**0,0456****

*Ajustado para tempo de seguimento.

**CC+CT (genótipos alterados) x TT (genótipo selvagem).

Na análise univariada (regressão linear simples), a maior variação do peso corporal está relacionada ao maior tempo de seguimento (p=0,0095), à maior idade (p=0,0458) e à opção de tratamento com iodo radioativo (p=0,0020), tabela 12. Não foram significativos (p>0,05) para o *DIO2* rs225014, sexo, etnia, positividade do TRAb, concentração sérica de T4L ao diagnóstico e tratamento com drogas antitireoidianas.

Tabela 12. Fatores associados à maior variação do peso corporal em kg - grupo DG seguimento (Regressão linear simples).

Variável	Número de casos	p-valor
Tempo de seguimento	141	**0,0095**
Idade	141	**0,0458**
Tratamento com RAI	141	**0,0020**

A análise multivariada (regressão linear múltipla – critério de seleção stepwise) demonstra que a herança do genótipo selvagem (TT) do *DIO2* rs225014 (p=0,0138) juntamente com a maior idade (p=0,0306), o maior tempo de seguimento (p=0,0228) e opção de tratamento com RAI (p-valor=0,0080), estão associados à maior variação do peso corporal neste grupo de pacientes, tabela 13. Também é verdadeiro dizer que a herança polimórfica do *DIO2* rs225014 (CC+CT) está associada à menor variação ponderal no período analisado.

Tabela 13. Fatores associados à maior variação do peso corporal em kg - grupo DG seguimento (Regressão linear múltipla – Processo de seleção stepwise).

Variável	Número de casos	p-valor
DIO2 rs225014 (TT)	136	**0,0138**
Tempo de seguimento	136	**0,0228**
Idade	136	**0,0306**
Tratamento com RAI	136	**0,0080**

Em decorrência do número reduzido de casos com registro de estatura (IMC) neste grupo de pacientes, não foi possível a análise da variação percentual do IMC. Para os demais grupos, reportaremos a variação ponderal em kg e também a variação percentual do IMC ao longo do período de seguimento.

4.3.2.2 Grupo RAI

Os casos deste grupo têm distribuição homogênea entre os genótipos do *DIO 2* rs225014 para sexo, idade, etnia, concentrações de TSH, T4L e TRAb ao diagnóstico, tabela 14.

Tabela 14. Distribuição genotípica do *DIO2* rs225014 quanto à idade, sexo, etnia, TSH, T4L e positividade do TRAb ao diagnóstico - grupo RAI (teste de *Kruskal-Wallis e **X^2).

Genótipos § (n)	**Idade** (Anos) (Média ± DP)	**Sexo** (n)		**Etnia** (n)		**TSH** (Média ± DP)	**T4L** (Média ± DP)	**TRAb**			
		F	**M**	**B**	**NB**			**+** **n**	**%**	**–** **n**	**%**
TT (39)	38,17 ± 9,95	34	5	26	13	0,01 ± 0,02	3,61 ± 2,03	17	33	12	54
CT (43)	41,14 ± 12,46	33	10	29	14	0,02 ± 0,01	4,03 ± 2,24	23	45	7	32
CC (20)	36,20 ± 11,28	18	2	12	8	0,01 ± 0,03	4,50 ± 2,12	11	22	3	14
p-valor	0,3214*	0,3013**		0,8343**		0,8294*	0,4089*	0,1096**			

§ TT, homozigoto selvagem; CT, heterozigoto; CC, homozigoto polimórfico.

a) Variação do peso corporal em kg

Não encontramos diferenças entre os genótipos do *DIO2* rs225014 e as médias de variação do peso corporal em kg exibidas pelos pacientes acompanhados pós-tratamento com RAI (p>0,05), tabela 15.

Tabela 15. Distribuição genotípica do *DIO2* rs225014 para a variação ponderal em kg - grupo RAI (ANOVA).

Genótipos	n	Variação de peso em kg (Média ± DP)	p-valor*
TT	37	7,32 ± 6,50	
CT	41	5,90 ± 6,17	0,3497
CC	20	8,13 ± 7,49	
CC + CT	61	6,63 ± 6,65	0,8388**

*Ajustado para tempo de seguimento

**CC+CT (genótipos alterados) x TT (genótipo selvagem).

b) Variação percentual do IMC

As médias de variação do percentual do IMC exibidas pelos pacientes do grupo RAI não apresentaram diferenças significativas entre os genótipos do *DIO2* rs225014 (p>0,05), tabela 16.

Tabela 16. Distribuição genotípica do *DIO2* rs225014 para o percentual de variação do IMC – grupo RAI (ANOVA).

Genótipos	n	Variação percentual IMC (Média ± DP)	p-valor*
TT	36	12,68 ± 12,00	
CT	39	9,67 ± 8,81	0,3497
CC	19	13,35 ± 11,77	
CC + TT	58	10,88 ± 10,53	0,4606**

*Ajustado para tempo de seguimento

** CC+CT (genótipos alterados) x TT (genótipo selvagem).

4.3.2.3 Grupo DAT

A distribuição para sexo, idade, etnia, concentrações de TSH, T4L e TRAb ao diagnóstico é homogênea entre os genótipos do *DIO2* rs225014, tabela 17.

Tabela 17. Distribuição genotípica do *DIO2* rs225014 quanto à idade, sexo, etnia, TSH, T4L e positividade do TRAb ao diagnóstico - grupo DAT (teste de *Kruskal-Wallis e **X^2).

Genótipos § (n)	**Idade** (Anos) (Média ± DP)	**Sexo** (n)		**Etnia** (n)		**TSH** (Média ± DP)	**T4L** (Média ± DP)	**TRAb**			
								+		**–**	
		F	**M**	**B**	**NB**			**n**	**%**	**n**	**%**
TT (31)	40,83 ± 13,30	25	6	17	14	0,01 ± 0,05	4,21 ± 2,11	15	43	11	46
CT (32)	39,59 ± 12,06	27	5	19	13	0,01 ± 0,01	3,94 ± 2,22	15	43	11	46
CC (12)	39,19 ± 9,98	12	0	8	4	0,01 ± 0,015	5,14 ± 4,28	5	14	2	8
p-valor	0,9408*	0,2799***		0,7747**		0,1043*	0,7516*	0,8672***			

§ TT, homozigoto selvagem; CT, heterozigoto; CC, homozigoto polimórfico.

a) Variação do peso do peso em kg

As médias de variação de peso em kg exibidas pelos casos tratados com DAT não foram diferentes entre os genótipos do *DIO2* rs225014 (p>0,05), tabela 18.

Tabela 18. Distribuição genotípica do *DIO2* rs225014 para a variação ponderal em kg - grupo DAT (ANOVA).

Genótipos	**n**	**Variação de peso em kg** (Média ± DP)	**p-valor***
TT	31	3,96 ± 6,03	
CT	30	2,43 ± 5,60	0,2630
CC	12	1,54 ± 7,42	
CC + CT	42	2,17 ± 6,09	0,1062**

*Ajustado para tempo de seguimento.

**CC+CT (genótipos alterados) x TT (genótipo selvagem).

b) Variação percentual do IMC

As médias de variação percentual do IMC não exibiram diferenças significativas entre os genótipos do *DIO2* rs225014 do grupo DAT (p>0,05), tabela 19.

Tabela 19. Distribuição genotípica do *DIO2* rs225014 para o percentual de variação do IMC – grupo DAT (ANOVA).

Genótipos	n	Variação percentual IMC (Média ± DP)	p-valor*
TT	28	7,10 ± 9,82	
CT	30	4,26 ± 9,67	0,2094
CC	12	4,34 ± 15,22	
CC + CT	42	4,29 ± 11,45	0,0767**

*Ajustado para tempo de seguimento.

** CC+CT (genótipos alterados) x TT (genótipo selvagem).

Na análise univariada deste grupo de pacientes, o sexo feminino associou se à maior variação percentual do IMC (p=0,0289), tabela 20. Não foram significativos (p>0,05) para *DIO2* rs225014, idade, etnia, positividade do TRAb, concentração sérica de T4L ao diagnóstico e média de eventos de hipertireoidismo ou hipotireoidismo durante o período.

Tabela 20. Fator associado à maior variação do percentual do IMC – grupo DAT (Regressão linear simples).

Variável	Número de casos	p-valor
Sexo Feminino	67	**0,0289**

A análise multivariada (regressão linear múltipla – processo de seleção stepwise) da variação percentual do IMC no grupo DAT foi significativa para a relação entre a herança selvagem do *DIO2* rs225014 (TT) (p=0,0090) e o sexo feminino (p=0,0025), tabela 21.

Tabela 21. Fator associado à maior variação do percentual do IMC – grupo DAT (Regressão linear múltipla – processo de seleção stepwise).

Variável	Número de casos	p-valor
DIO2 rs225014 (TT)	48	**0,0090**
Sexo feminino	48	**0,0025**

4.3.2.4 Grupo DAT à RAI

Os casos têm distribuição homogênea para idade, sexo, etnia e positividade do TRAb ao diagnóstico, tabela 22. O mesmo ocorre com as concentrações séricas de TSH e T4L ao diagnóstico e nos tempos 24 meses de tratamento com DAT (T24TT0), zero do iodo radioativo (T0RAI) e 54 meses pós-iodo radioativo (T54RAI), conforme tabela 23.

Tabela 22. Distribuição genotípica do *DIO2* rs225014 quanto à idade, sexo, etnia e positividade do TRAb ao diagnóstico - grupo DAT à RAI (teste de X^2, *exato de Fisher e **Kruskal-Wallis).

Genótipos § (n)	**Idade** (Anos) (Média ± DP)	**Sexo** (n)		**Etnia** (n)		**TRAb**			
						+		**-**	
		F	**M**	**B**	**NB**	**n**	**%**	**n**	**%**
TT (26)	37,58±10,08	22	4	14	12	11	52	9	56
CT (21)	41,29±13,77	16	5	11	10	9	33	5	31
CC (10)	38,90±13,44	10	0	6	4	4	15	2	13
p-valor	0,7539**	0,2786*		0,9212		1.000			

§ TT, homozigoto selvagem; CT, heterozigoto; CC, homozigoto polimórfico.

Tabela 23. Distribuição genotípica do *DIO2* rs225014 para as concentrações séricas de TSH e T4L nos tempos zero e 24 meses de tratamento com DAT e zero e 54 meses de tratamento com RAI – grupo DAT à RAI (teste de Kruskal-Wallis).

Genótipos* (n)	Fase DAT				Fase RAI			
	TSH (T0TTO) (Média±DP)	**T4L (T0TTO)** (Média±DP)	**TSH (T24TTO)** (Média±DP)	**T4L (T24TTO)** (Média±DP)	**TSH (T0RAI)** (Média±DP)	**T4L (T0RAI)** (Média±DP)	**TSH (T54RAI)** (Média±DP)	**T4L (T54RAI)** (Média±DP)
TT (26)	0,02±0,06	4,73±2,20	0,08±0,12	1,75±0,25	0,04±0,1	3,28±2,15	7,92±9,00	0,97±0,43
CT (21)	0,01±0,02	4,21±2,22	0,81±1,28	2,66±1,59	0,05±0,01	3,27±2,02	12,15±23,31	1,16±0,49
CC (10)	0,01±0,03	4,38±1,73	0,01±0,01	3,39±2,11	0,02±0,03	3,83±1,74	10,87±16,09	1,08±0,43
p-valor	0,0969	0,9943	0,9232	0,3772	0,5549	0,6170	0,8191	0,5962

*TT, homozigoto selvagem; CT, heterozigoto; CC, homozigoto polimórfico.

4.3.2.4 a) Fase DAT

a.1) Variação ponderal em Kg

Neste grupo de pacientes, quando consideramos apenas a fase de uso de DAT, a herança homozigota polimórfica do *DIO2* rs225014 (CC) somada à heterozigota (CT) exibe menor média de variação ponderal (1,48 ± 6,89 kg) quando comparada ao genótipo selvagem (TT) (média 4,17 ± 5,68 kg; p=0,0269), ajustado para o tempo de seguimento, tabela 24.

Tabela 24. Distribuição genotípica do *DIO2* rs225014 para a variação ponderal em kg – Fase DAT do grupo DAT à RAI (ANOVA).

Genótipos	n	Variação peso em kg (Média ± DP - kg)	p-valor*
TT	25	4,17 ± 5,68	
CT	20	1,96 ± 6,34	0,0748
CC	9	0,42 ± 8,30	
CC + CT	29	1,48 ± 6,89	**0,0269****

*Ajustado para tempo de seguimento.

**CC+CT (genótipos alterados) x TT (genótipo selvagem).

Na análise univariada (regressão linear simples), a herança do genótipo selvagem (TT) do *DIO2* rs225014 está associada à maior variação ponderal (p=0,0280), tabela 25. É também verdadeira a relação entre a herança homozigota polimórfica somada à heterozigota (CC + CT) com a menor variação ponderal. Os achados não foram significativos (p>0,05) para a variação ponderal e o sexo, a idade, a etnia, a positividade do TRAb, as concentrações séricas iniciais de T4L e com a média de eventos de hipertireoidismo ou hipotireoidismo durante o período.

Na análise multivariada (regressão linear múltipla – critério de seleção stepwise) para variação ponderal permanece significativa a relação entre a herança selvagem do *DIO2* rs225014 (TT) com a maior variação do peso corporal (p=0,0406), tabela 25.

Tabela 25. Fator associado à maior variação do peso corporal em kg – Fase DAT do grupo DAT à RAI (Regressão linear simples e múltipla – Processo de seleção stepwise).

Variável	Teste estatístico	n	p-valor
DIO2 rs225014 (TT)	Regressão linear simples	54	**0,0280**
	Regressão linear múltipla (stepwise)	49	**0,0406**

a.2) Percentual de variação do IMC

Durante a fase DAT, a herança polimórfica do *DIO2* rs225014 (homozigotos-CC e heterozigotos-CT somados) exibe menor média percentual de variação do IMC (3,35 $\pm$ 13,06%) quando comparada ao genótipo selvagem (TT) (7,80 $\pm$ 10,04%; p=0,0212) ajustado para o tempo de seguimento, tabela 26.

Tabela 26. Distribuição genotípica do *DIO2* rs225014 para o percentual de variação do IMC – Fase DAT do grupo DAT à RAI (ANOVA).

Genótipos	n	Variação percentual do IMC (Média ± DP)	p-valor*
TT	25	7,89 ± 10,04	
CT	19	3,53 ± 10,94	0,0643
CC	9	2,99 ± 17,51	
CC + CT	29	3,35 ± 13,06	**0,0212****

*Ajustado para tempo de seguimento.

**CC+CT (genótipos alterados) x TT (genótipo selvagem).

Na análise univariada (regressão linear simples), a maior variação percentual do IMC associou se à herança selvagem do *DIO2* rs 225014 (TT), ao TRAb negativo (p=0,0439) e ao sexo feminino (p=0,0379). Não foram significativos (p>0,05) para tempo de seguimento, idade, etnia, concentração sérica de T4L ao diagnóstico e para a média de eventos de hipotireoidismo ou hipertireoidismo, clínico e/ou subclínico. Dados na tabela 27.

Tabela 27. Fatores associados à maior variação percentual do IMC – Fase DAT do grupo DAT à RAI (Regressão linear simples).

Variável	Número de casos	p-valor
DIO2 rs225014 (TT)	53	**0,0210**
TRAb negativo	40	**0,0439**
Sexo feminino	53	**0,0379**

Na análise multivariada (regressão linear múltipla – processo de seleção stepwise) permanece significativa a relação entre a maior variação percentual do IMC para a herança selvagem do *DIO2* rs225014 (TT) (p=0,0133) e o sexo feminino (p=0,0057), tabela 28. Não foram significativos nesta análise (p>0,05) para o tempo de seguimento, idade, etnia, TRAb, concentrações séricas de T4L

ao diagnóstico e a média de eventos de hipotireoidismo ou hipertireoidismo, clínico e/ou subclínico.

Tabela 28. Fatores associados à maior variação percentual do IMC – Fase DAT do grupo DAT à RAI (Regressão linear múltipla – processo de seleção stepwise).

Variável	Número de casos	p-valor
DIO2 rs225014 (TT)	36	**0,0133**
Sexo feminino	36	**0,0057**

4.3.2.4 b) Fase RAI

b.1) Variação ponderal em kg

Durante a fase RAI, as médias de variação do peso corporal não exibiram diferenças significativas entre os genótipos do *DIO2* rs225014 (p>0,05), tabela 29.

Tabela 29. Distribuição genotípica do *DIO2* rs225014 para a variação ponderal em kg – Fase RAI do grupo DAT à RAI (ANOVA).

Genótipos	n	Variação de peso (Média ± SD)	p-valor*
TT	24	7,03 ± 5,46	
CT	21	5,71 ± 4,33	0,8195
CC	10	6,42 ± 7,85	
CC + CT	31	5,94 ± 5,57	0,6580**

*Ajustado para tempo de seguimento.

**CC+CT (genótipos alterados) x TT (genótipo selvagem).

b.2) Percentual de variação do IMC

Durante esta fase, as médias de variação percentual do IMC não exibiram diferenças significativas entre os genótipos do *DIO2* rs225014 (p>0,05), tabela 30.

Tabela 30. Distribuição genotípica do *DIO2* rs225014 para o percentual de variação do IMC – Fase RAI do grupo DAT à RAI (ANOVA).

Genótipos	n	% variação do IMC (Média ± DP)	p-valor*
TT	24	11,92 ± 10,02	
CT	20	9,79 ± 7,66	0,8894
CC	10	11,28 ± 14,11	
CC + CT	30	10,29 ± 10,04	0,6872**

*Ajustado para tempo de seguimento.

**CC+CT (genótipos alterados) x TT (genótipo selvagem).

4.3.2.4 c) Todo o período de seguimento

c.1) Variação ponderal em kg

Quando observamos todo o período de seguimento deste grupo a herança polimórfica (CC+CT) exibe menor média de variação ponderal (6,41± 8,21 kg) quando comparada ao genótipo selvagem (TT) (média 11,49 ± 7,32 kg; p=0,02950), ajustado para o tempo de seguimento, tabela 31.

Tabela 31. Distribuição genotípica do *DIO2* rs225014 para a variação ponderal em kg – Todo o seguimento do grupo DAT à RAI (ANOVA).

Genótipos	n	Variação de peso (Média ± DP)	p-valor*
TT	24	11,49 ± 7,32	
CT	21	6,57 ± 7,05	0,0935
CC	10	6,08 ±10,68	
CC + CT	31	6,41 ± 8,21	**0,0295****

*Ajustado para tempo de seguimento.

**CC+CT (genótipos alterados) x TT (genótipo selvagem).

Ao observar a análise univariada (regressão linear simples), a herança do genótipo selvagem do *DIO2* rs225014 (TT) (p=0,0259) e também ter concentrações mais elevadas de T4L ao diagnóstico (p=0,0138) estão

associados com a maior variação de peso corporal neste período de observação, tabela 32. A variação ponderal neste período não se correlacionou com o sexo, a idade, a etnia, a positividade do TRAb e com o número médio de eventos de hipertireoidismo ou hipotireoidismo durante o seguimento (p> 0,05).

Tabela 32. Fatores associados à maior variação do peso corporal em kg – Todo o seguimento do grupo DAT à RAI (Regressão linear simples).

Variável	Número de casos	p-valor
DIO2 rs225014 (TT)	53	**0,0259**
T4L ao diagnóstico	53	**0,0138**

A análise multivariada (regressão linear múltipla – processo de seleção stepwise) confirma a associação do genótipo selvagem do *DIO2* rs225014 (TT) (p=0,0332) e também as concentrações mais elevadas de T4L ao diagnóstico (p=0,0132) com a maior variação ponderal, tabela 33.

Tabela 33. Fatores associadas à maior variação do peso corporal em kg – Todo o seguimento do grupo DAT à RAI (Regressão linear múltipla – critério de seleção stepwise).

Variável	Número de casos	p-valor
DIO2 rs225014 (TT)	53	**0,0332**
T4L ao diagnóstico	53	**0,0132**

c.2) Percentual de variação no IMC

Quando consideramos todo o período e seguimento, a herança homozigota polimórfica (CC) somada à heterozigota (CT) do *DIO2* rs225014 exibe menor média percentual de variação do IMC (11,96 $\pm$ 17,77%) quando comparada ao genótipo selvagem (TT) (21,67 $\pm$ 16,40%; p=0,0260) ajustado para o tempo de seguimento, tabela 34.

Tabela 34. Distribuição genotípica do *DIO2* rs225014 para o percentual de variação do IMC – Todo o seguimento do grupo DAT à RAI (ANOVA).

Genótipos	n	% variação do IMC (Média ± DP)	p-valor*
TT	24	21,67 ± 16,40	
CT	20	11,49 ± 12,74	0,0830
CC	9	13,00 ± 26,80	
CC + CT	29	11,96 ± 17,77	**0,0260****

*Ajustado para tempo de seguimento.

**CC+CT (genótipos alterados) x TT (genótipo selvagem).

Na análise univariada (regressão linear simples) a maior variação percentual do IMC está associada a herança selvagem do *DIO2* rs225014 (TT) (p=0,0240) e às concentrações séricas elevadas de T4L ao diagnóstico (p=0,0111), tabela 35. Não foram significativos (p>0,05) para tempo de seguimento, idade, sexo, etnia, TRAb, e a média de eventos de hipotireoidismo ou hipertireoidismo, clínico e/ou subclínico.

Tabela 35. Fatores associados à maior variação percentual do IMC – Todo o seguimento do grupo DAT à RAI (Regressão linear simples).

Variável	Número de casos	p-valor
DIO2 rs225014 (TT)	53	**0,0240**
Concentração sérica de T4L ao diagnóstico	51	**0,0111**

Na análise multivariada (regressão linear múltipla – processo de seleção stepwise) permanece significativa a herança selvagem do *DIO2* rs225014 (TT) (p=0,0095) e as concentrações séricas elevadas de T4L ao diagnóstico (p=0,0111) com a maior variação percentual do IMC, tabela 36.

Tabela 36. Fatores associados à maior variação percentual do IMC – Todo o seguimento do grupo DAT à RAI (Regressão linear múltipla – processo de seleção stepwise).

Variável	Número de casos	p-valor
DIO2 rs225014 (TT)	53	**0,0095**
Concentração sérica de T4L ao diagnóstico	51	**0,0111**

4.3.2.4 d) Variação ponderal, TRAb e *DIO 2* rs225014

Quando consideramos os casos do grupo DAT à RAI (Fase DAT) para os quais os registros de TRAb estavam disponíveis nos prontuários médicos, podemos observar que os pacientes com TRAb negativo exibem uma maior média de variação percentual do IMC (9,50 $\pm$ 13,93%) quando comparada aos com registro de TRAb positivo (3,03 $\pm$ 11,02%; p=0,0465), tabela 37.

Tabela 37. Positividade do TRAb e variação do percentual do IMC – Fase DAT do grupo DAT à RAI (ANOVA).

TRAb	n	Variação percentual do IMC (Média ± DP)	p-valor*
Positivo	24	3,03 ± 11,02	**0,0465**
Negativo	16	9,50 ± 13,93	

*Ajustado para tempo de seguimento

Ao realizar a análise univariada (regressão linear simples) para variação percentual do IMC neste subgrupo de casos com registro de TRAb, foi significativa a relação entre a herança selvagem do *DIO2* rs225014 (TT) (p=0,0173) e também o sexo feminino (p=0,0174) para a maior variação percentual do IMC, tabela 38. Não foram significativos (p>0,05) para positividade e título de TRAb, tempo de seguimento, idade, etnia, concentrações séricas de T4L ao diagnóstico e a média de eventos de hipotireoidismo ou hipertireoidismo, clínico e/ou subclínico.

Os achados da análise univariada permaneceram significativos também na análise multivariada, conforme já exibido na tabela 28.

Tabela 38. Fatores associados à maior variação percentual do IMC nos casos com registro de TRAb – Fase DAT do grupo DAT à RAI (Regressão linear simples).

Variável	n	p-valor
DIO2 rs225014 (TT)	40	**0,0173**
Sexo feminino	40	**0,0174**

4.3.3 OG ao diagnóstico

Avaliamos a presença e a atividade da OG ao diagnóstico (através do CAS) em relação aos genótipos do *DIO2* rs 225014 nos 280 casos (grupo DG diagnóstico) deste estudo. Não encontramos relação entre os genótipos deste polimorfismo com a presença da OG (CAS ≥ 1 ao diagnóstico) ou a atividade da OG ao diagnóstico (onde, CAS 1 a 2 – OG inativa e 3 a 7- OG ativa) (p>0,05), tabela 39.

Tabela 39. Distribuição genotípica do *DIO2* rs225014 para presença e a atividade da OG ao diagnóstico – grupo DG diagnóstico (teste de X^2).

Genótipos*	Presença OG					Grau de atividade OG				
	CAS zero		CAS ≥ 1		p-valor	CAS 1 a 2		CAS 3 a 7		p-valor
	n	%	n	%		n	%	n	%	
TT	36	33	57	36		47	37	10	36	
CT	52	48	75	48	0,7359	61	47	14	50	0,9531
CC	21	19	25	16		21	16	4	14	

*TT, homozigoto selvagem; CT, heterozigoto; CC, homozigoto polimórfico.

4.3.4 Positividade dos anticorpos tireoidianos (ATPO, ATg e TRAb)

A herança polimórfica (CC+CT) do *DIO2* rs225014 associou se à positividade do anticorpo ATg quando comparada ao genótipo selvagem (TT) (p=0,0209), no grupo DG diagnóstico. Não encontramos relação entre os

genótipos do *DIO2* rs225014 com a positividade dos anticorpos ATPO e TRAb neste mesmo grupo de pacientes (p>0,05), tabela 40.

Tabela 40. Distribuição genotípica do *DIO2* rs225014 para a positividade anticorpos (ATPO, ATg e TRAb) – grupo DG diagnóstico (teste de X^2).

Genótipos	ATPO			ATg			TRAb		
	+ n/%	- n/%	p-valor	+ n/%	- n/%	p-valor	+ n/%	- n/%	p-valor
TT	73/34	22/37		41/28	54/42		45/29	25/43	
CT	102/47	29/48	0,7986	77/53	54/41	0,0631	77/51	28/48	0,0564
CC	40/19	9/15		27/19	22/17		31/20	5/9	
CC + CT	142/66	38/63	0,6960*	104/72	76/58	**0,0209***	108/71	33/57	0,0593*

*CC+CT (genótipos alterados) x TT (genótipo selvagem).

4.4 Resultados para o polimorfismo *DIO2* rs12885300

A distribuição dos genótipos do *DIO2* rs12885300 entre os casos (grupo DG diagnóstico) e controles não exibem diferenças significativas (p>0,05), tabela 41.

Tabela 41. Distribuição genotípica dos casos (grupo DG diagnóstico) e controles para o *DIO2* rs12885300 (teste de X^2).

Genótipos*	Casos		Controles		p-valor
	n	%	n	%	
CC	130	47	141	48	
CT	124	45	117	39	0,1969
TT	24	8	38	13	

*CC, homozigoto selvagem; CT, heterozigoto; TT, homozigoto polimórfico.

A distribuição genotípica do *DIO2* rs12885300 entre os casos de DG (grupo DG diagnóstico) quanto à idade, sexo, etnia, concentrações séricas de TSH, T4L e positividade do TRAb ao diagnóstico são homogêneas, conforme tabela 42.

Tabela 42. Distribuição genotípica do *DIO2* rs12885300 quanto à idade, sexo, etnia e positividade do TRAb – grupo DG diagnóstico (teste de *Kruskal-Wallis e **X^2).

Genótipos § (n)	**Idade** (Anos) (Média ± DP)	**Sexo** (n)		**Etnia** (n)		**TSH** (Média ± DP)	**T4L** (Média ± DP)	**TRAb**			
								+		**–**	
		F	M	B	NB			n	%	n	%
CC (130)	39,8 ± 11,5	118	12	85	45	0,01 ± 0,05	3,99 ± 1,84	73	48	26	45
CT (124)	39 ± 11,3	95	29	98	26	0,01 ± 0,028	4,36 ± 2,95	67	44	24	41
TT (24)	41,7 ± 13,4	18	6	18	6	0,01 ± 0,03	4,89 ± 1,90	12	8	8	14
p-valor	0,6275*	0,060**		0,056**		0,6025*	0,2016*	0,4284**			

§ CC, homozigoto selvagem; CT, heterozigoto; TT, homozigoto polimórfico.

4.4.1 Susceptibilidade para DG

A relação entre os genótipos do *DIO2* rs12885300 com a suscetibilidade para DG (grupo DG diagnóstico) não foi significativa (p>0,05), tabela 43.

Tabela 43. Distribuição genotípica entre casos (grupo DG diagnóstico) e controles para o *DIO2* rs12885300 (regressão logística).

Genótipos*	Casos		Controles		p valor*
	n	%	n	%	
CC	130	47	141	48	
CT	124	45	117	39	0,0639
TT	24	8	38	13	

*CC, homozigoto selvagem; CT, heterozigoto; TT, homozigoto polimórfico.

4.4.2 Variação do peso corporal pós-tratamento da Doença de Graves

Os genótipos do *DIO2* rs12885300 não exibem diferenças significativas entre as médias de variação do peso corporal pós-tratamento da DG (p>0,05) quando consideramos o grupo DG seguimento (tabela 44), o grupo RAI (tabela 45), o grupo DAT (tabela 46) e o grupo DAT à RAI (tabela 47).

Tabela 44. Distribuição genotípica do *DIO2* rs12885300 para a variação ponderal em kg - grupo DG seguimento (ANOVA).

Genótipos	n	Variação de peso (Média ± DP)	p-valor*
CC	62	5,28 ± 7,08	
CT	67	4,29 ± 6,25	0,0596
TT	12	7,48 ± 6,67	
TT + CT	79	4,78 ± 6,3	0,4906**

*Ajustado para tempo de seguimento.

**TT+CT (genótipos alterados) x CC (genótipo selvagem).

Tabela 45. Distribuição genotípica do *DIO2* rs12885300 para a variação ponderal em kg - grupo RAI (ANOVA).

Genótipos	n	Variação de peso (Média ± DP)	p-valor*
CC	48	6,85 ± 6,15	
CT	40	7,09 ± 7,56	0,7558
TT	10	6,31 ± 4,41	
TT + CT	50	6,93 ± 7,01	0,5778**

*Ajustado para tempo de seguimento.

**TT+CT (genótipos alterados) x CC (genótipo selvagem).

Tabela 46. Distribuição genotípica do *DIO2* rs12885300 para a variação ponderal em kg - grupo DAT (ANOVA).

Genótipos	n	Variação de peso (Média ± DP)	p-valor*
CC	31	3,03 ± 7,29	
CT	37	2,42 ± 4,81	0,4322
TT	7	4,91 ± 5,93	
TT + CT	44	2,81 ± 5,01	0,9979**

*Ajustado para tempo de seguimento.

**TT+CT (genótipos alterados) x CC (genótipo selvagem).

Tabela 47. Distribuição genotípica do *DIO2* rs12885300 para a variação ponderal em kg - grupo DAT à RAI (ANOVA).

Genótipos	n	Variação de Peso Fase DAT (Média ± DP)	p-valor*	Variação de Peso Fase RAI (Média ± DP)	p-valor*
CC	23	2,04 ± 7,44		5,91 ± 5,43	
CT	25	2,74 ± 5,62	0,4334	7,37 ± 6,04	0,3328
TT	7	4,91 ± 5,93		4,69 ± 3,15	
TT + CT	32	3,23 ± 5,67	0,3997	6,78 ± 5,61	0,7464**

*Ajustado para tempo de seguimento.

**TT+CT (genótipos alterados) x CC (genótipo selvagem).

4.4.3 OG ao diagnóstico

Não encontramos relação entre os genótipos deste polimorfismo com a presença da OG (CAS ≥ 1 ao diagnóstico) ou a atividade da OG ao diagnóstico (CAS 1 a 2 – inativa e 3 a 7- ativa) no grupo DG diagnóstico (p>0,05). Estes achados estão demonstrados na tabela 48.

Tabela 48: Distribuição genotípica do *DIO2* rs12885300 para a presença e a atividade da OG ao diagnóstico – grupo DG diagnóstico (teste de X^2).

Genótipos*	Presença OG					Grau de atividade OG				
	CAS zero		CAS ≥ 1		p-valor	CAS 1 a 2		CAS 3 a 7		p-valor
	n	%	n	%		n	%	n	%	
CC	54	50	70	45		58	45	12	43	
CT	45	41	73	47	0,6741	58	45	15	54	0,5235
TT	10	9	13	8		12	10	1	3	

*CC, homozigoto selvagem; CT, heterozigoto; TT, homozigoto polimórfico.

4.4.4 Positividade dos anticorpos tireoidianos (ATPO, ATg e TRAb)

Ao avaliar o grupo DG diagnóstico, não encontramos relação entre os genótipos do *DIO2* rs12885300 com a positividade dos anticorpos ATPO, ATg ou TRAb (p>0,05), tabela 49.

Tabela 49: Distribuição genotípica do *DIO2* rs12885300 para a positividade anticorpos (ATPO, ATg e TRAb) – grupo DG diagnóstico (teste de X^2).

	ATPO			ATg			TRAb		
Genótipos*	**+**	**-**	**p-valor**	**+**	**-**	**p-valor**	**+**	**-**	**p-valor**
	n/%	**n/%**		**n/%**	**n/%**		**n/%**	**n/%**	
CC	104/49	25/42		69/48	60		73/48	26/45	
CT	94/44	27/45	0,3126	63/44	58	0,9420	67/44	24/41	0,4284
TT	16/7	8/13		12/8	12		12/8	8/14	
TT + CT	110/51	35/58	0,3418	75/52	70	0,7704	79/52	32/55	0,6780

*CC, homozigoto selvagem; CT, heterozigoto; TT, homozigoto polimórfico.

4.5 Resultados para o polimorfismo *DIO2* rs225015

Descrevemos na tabela 50 a distribuição genotípica do *DIO2* rs225015 para os casos e controles, ressaltamos que amostras dos genótipos estão em desequilíbrio de HW e em decorrência disso os demais resultados não serão reportados.

Tabela 50: Distribuição genotípica dos casos e controles para o *DIO2* rs225015 (teste de X^2).

Genótipos*	Casos		Controles		p-valor
	n	%	n	%	
AA	172	61	59	59	
AG	36	13	23	8	0,0358
GG	72	26	99	33	

*AA, homozigoto selvagem; AG, heterozigoto; GG, homozigoto polimórfico.

5. DISCUSSÃO

5.1 Polimorfismo *DIO2* rs225014

A incidência da herança homozigota polimórfica em nosso estudo foi de 18% nos casos e 23% nos controles, e do genótipo heterozigoto foi 47% para os casos e 46% para os controles. Dora, J.M. e cols. reportaram uma incidência semelhante em população brasileira portadora de DM2, 16,4% de homozigotos polimórficos e 47,6% em heterozigotos; contudo menor que a incidência observada em nossa casuística para os indivíduos controles homozigotos polimórficos (12%) e, maior para os heterozigotos (50,2%) (75). Alina, B e cols. estudaram uma população russa de 180 indivíduos com DG e 135 indivíduos controles e descreveram uma menor incidência da herança polimórfica nos casos de DG em relação à nossa casuística (7,8% de homozigotos e 33,3% de heterozigotos); menor também para o grupo controle no caso da herança polimórfica (2,2%), e maior para os heterozigotos (58,9%) (87). Outro estudo realizado em população holandesa eutireoidiana saudável, a incidência da herança polimórfica foi de 14,7% e da heterozigota 48,1% (76). Estes dados encontram reforço nas diferenças étnicas entre as populações, mas também ilustram a miscigenação presente na população brasileira.

Em nossa casuística, o *DIO2* rs225014 não está associado à suscetibilidade para DG. Já no estudo de Chistiakov, DA e cols. este mesmo polimorfismo foi associado à suscetibilidade para DG em população russa

(p=0,031) (86), o que pode ser explicado por diferenças étnicas entre as populações, mas também ressaltamos o baixo poder de cálculo de nossa amostra para esta análise.

Quando observamos o comportamento do peso corporal ao longo do seguimento dos pacientes com DG, nossos resultados demonstram que a herança selvagem do *DIO2* rs225014, o maior tempo de seguimento, a maior idade e a opção de tratamento com iodo radioativo se relacionaram com a maior variação ponderal na análise multivariada (grupo DG seguimento). Foi demonstrada a importância da sinalização do AMP cíclico, e por consequência da sinalização do TRAb no receptor do TSH, como fator promotor para transcrição do RNA mensageiro do *DIO2*, de forma a amplificar a sinalização da enzima D2 e; também o estímulo transcricional negativo do T3 sobre a regulação deste gene (112). A herança polimórfica do *DIO2* rs225014 acarreta uma enzima D2 de menor atividade enzimática e uma menor disponibilidade de T3 em tecidos relevantes para o metabolismo como o músculo (85), mas, em paralelo, diferentes estudos não encontraram relação dele com as concentrações sérias de TSH, T4 ou T3 em pacientes eutireoidianos não tireoidectomizados (58, 76). No contexto da DG, Alina, B e cols demonstraram que os pacientes com a herança selvagem do *DIO2* rs225014 (TT) exibiram concentrações séricas mais elevadas de T3L ao diagnóstico, quando comparada aos demais genótipos (p<0,001) (87). Relembramos o papel principal da enzima D2 em prover T3 para o ambiente intracelular (30), bem como sua contribuição para o metabolismo e gasto energético através da regulação de vias centrais que controlam o apetite, do provimento de T3 para os tecidos periféricos e para os mecanismos de termogênese adaptativa no tecido adiposo marrom e no músculo esquelético (9, 33, 69). Diante disto, vislumbramos que perante estímulo do TRAb e na presença da herança selvagem do *DIO2* rs225014, a disponibilidade intracelular do T3 é maior do que na vigência da herança polimórfica e que, portanto, é possível uma maior influência dos fatores transcricionais negativos sobre o gene *DIO2,* acarretando uma menor disponibilidade de D2 aos tecidos, influenciando negativamente sobre a regulação metabólica e de gasto energético de forma a favorecer a maior variação do peso corporal nos pacientes com a herança selvagem deste polimorfismo. Neste estudo não dispomos das concentrações séricas de T3 ao diagnóstico e ao longo do seguimento, contudo o achado de

que as concentrações séricas elevadas de T4L ao diagnóstico juntamente com a herança selvagem do *DIO2* rs225014 se associaram à maior variação ponderal na análise multivariada de todo o seguimento do grupo DAT à RAI, pode ser uma evidência indireta para corroborar a contribuição do T3 sobre a regulação do gene *DIO2*. A contribuição do TRAb para a variação ponderal pôde ser demonstrada na fase DAT do grupo DAT à RAI, onde os casos com TRAb negativo e também os casos com a herança selvagem do *DIO2* rs225014 estão associados à maior variação percentual do IMC na análise univariada; porém não foi possível demonstrar a contribuição simultânea destes fatores na análise multivariada, um achado que pode ter sofrido influência do reduzido número de casos para a análise. A herança selvagem do *DIO2* rs 225014 (TT) também mostrou associação com a maior variação percentual do IMC à análise multivariada no grupo DAT.

Nosso estudo é inédito na avaliação da relação dos polimorfismos do *DIO2* com a variação do peso corporal pós-tratamento da DG, contudo outros já reportaram associações deste polimorfismo com o peso corporal (84, 98). Heemstra, KA e cols. descrevem a herança homozigota polimórfica associada ao IMC mais elevado em pacientes portadores de TH (p=0,026) (84), enquanto que Grarup, N e cols. descrevem uma menor frequência da herança polimórfica em obesos (p=0,05) (98).

Para discutir os outros aspectos associados à maior variação ponderal pós-tratamento da DG evidenciados na análise multivariada do grupo DG seguimento (maior tempo de seguimento, maior idade e tratamento com RAI), reportamos o estudo de Dale, J. e cols. onde são descritos os fatores preditores para o ganho de peso pós tratamento do hipertireoidismo (12). Neste estudo, a etiologia Graves (p=0,024) e o maior tempo de seguimento (p<0,001) foram variáveis independentes para o ganho de peso corporal pós-tratamento, contudo não houve diferença quanto a opção de tratamento com DAT ou iodo radioativo e, em relação à idade, os pacientes mais jovens é que exibiram maior ganho de peso (p=0,03) (12). Ainda em observação idade e ganho de peso pós-tratamento da DG, outro estudo reporta a importância da musculatura esquelética como reservatório para a D2 e, considerando que a massa muscular encontra se reduzida com o avançar da idade (101), é possível a correlação com a menor contribuição da D2 para sinalização intracelular do hormônio tireoidiano e para o

metabolismo, favorecendo o ganho de peso corporal. Villagelin e cols. reportaram o seguimento a longo prazo (60 meses) de pacientes com DG recidivada após tratamento inicial com DAT, foi observado o maior incremento no peso corporal no grupo de pacientes que foi tratado com iodo radiativo em comparação ao tratado com baixas doses de metmazol (p=0,001) (25), em conformidade com nossos achados. O sexo feminino também exibe relação significativa com a maior variação percentual do IMC na análise multivariada dos grupos DAT e DAT à RAI, contudo nestes grupos a herança polimórfica é marcadamente predominante neste sexo.

Não encontramos relação entre o polimorfismo *DIO2* rs225014 com a atividade da OG ao diagnóstico da DG. Embora a presença do RNA mensageiro do *DIO2* no tecido adiposo orbitário em pacientes com OG seja reportada (59), não encontramos relatos na literatura em referência à relação deste polimorfismo no contexto da OG.

Em nosso estudo, a herança polimórfica do *DIO2* rs 225014 (genótipo homozigoto somada ao heterozigoto) relacionou se com a positividade do anticorpo ATg, mas não com ATPO e TRAb. Tendo por base que a D2 é uma enzima importante para o provimento de T3 (30), e considerando a influência do T3 para a modulação imunológica em geral e também da produção de anticorpos (57), é possível justificar a correlação entre um polimorfismo capaz de modificar funcionalmente esta enzima (85) para consequente influência na resposta imunológica. Guerra, A e cols. não encontraram relação entre este polimorfismo e a autoimunidade tireoidiana, verificada através da positividade do ATPO, ao estudar população eutireoidiana (58). Contudo, no estudo de Grineva, E e cols. realizado em pacientes com DG, foi reportada uma correlação positiva entre os títulos de ATPO e ATg com a herança polimórfica do *DIO2* rs225014, em comparação com a selvagem (p<0,01) (113).

5.2 Polimorfismo *DIO2* rs12885300

A incidência da herança homozigota polimórfica neste estudo foi de 8% para os casos de DG e de 13% para os indivíduos controles e da heterozigota de 45% para os casos e 39% para os controles. Foi reportada a incidência de 3% para a herança homozigota polimórfica e 47% para a heterozigota em população brasileira de pacientes tireoidectomizados por carcinoma diferenciado

de tireoide (104), enquanto que em população holandesa com condição clínica semelhante a incidência foi de 8,83% para homozigotos polimórficos e de 43,53% para heterozigotos (114), semelhante aos achados deste estudo. Um recente estudo em população chinesa reportou a incidência da herança polimórfica homozigota em 24,8% em indivíduos com comprometimento cognitivo leve e 22,4% nos indivíduos controle, enquanto que da herança heterozigótica em 44,2% nos casos e 45% para os indivíduos controle (115), reforçando as diferenças étnicas entre as populações.

Este é um polimorfismo intrônico, localizado em uma região do gene responsável pela inibição da transcrição gênica (102); embora tenha sido associado ao aumento da transcrição do RNA mensageiro do gene *DIO2* e ao aumento da atividade enzimática da D2, influenciando para maior disponibilidade de T3 a nível tecidual (102); neste estudo, não está associado à suscetibilidade à DG, à variação ponderal pós-tratamento da DG, à atividade da OG ao diagnóstico e à positividade dos anticorpos tireoidianos (ATPO, ATg e TRAb). É possível que a baixa incidência da herança homozigota polimórfica tenha influenciado nos resultados para este polimorfismo. Não encontramos outros relatos na literatura no contexto das correlações feitas neste estudo para este polimorfismo.

5.3 Polimorfismo *DIO2* rs225015

As amostras genotípicas do *DIO2* rs225015 estão em desequilíbrio de HW.

6. RESUMO DOS ACHADOS

1. A incidência da herança polimórfica (homozigotos polimórficos somados aos heterozigotos) do *DIO2* rs225014 foi de 65% nos casos e 69% nos controles e do *DIO2* rs12885300 de 53% para os casos e 52% para os controles.

2. A herança polimórfica do *DIO2* rs225014 e rs12885300 não se associou à suscetibilidade para Doença de Graves, $p>0,005$.

3. A herança polimórfica (genótipo homozigoto polimórfico somado ao heterozigoto) do *DIO2* rs225014 está associada à menor variação ponderal pós-tratamento da DG, p=0,0138.

4. Não encontramos relação entre os genótipos do *DIO2* rs225014 e rs12885300 com a atividade da OG por CAS ao diagnóstico, p>0,05.

5. A herança polimórfica (genótipo homozigoto polimórfico somado ao heterozigoto) do *DIO2* rs225014 está associada com a positividade do anticorpo ATg em nossa casuística, p=0,0209. Não encontramos relação entre os genótipos do *DIO2* rs12885300 com a positividade dos anticorpos tireoidianos, p>0,005.

7. CONCLUSÃO

A herança polimórfica do *DIO2* rs225014 está associada à menor variação ponderal pós-tratamento da DG, em nossa casuística. Este achado pode estar relacionado aos reguladores transcricionais do gene *DIO2* (AMPc' e T3), ligados à fisiopatologia da Doença de Graves. Estudos adicionais são necessários para confirmar nossos dados, contudo a genotipagem do *DIO2* rs225014 pode ser uma ferramenta auxiliar para predizer o comportamento ponderal pós-tratamento da DG.

8. REFERÊNCIAS

1. Ross DS, Burch HB, Cooper DS, Greenlee MC, Laurberg P, Maia AL, et al. 2016 American Thyroid Association Guidelines for Diagnosis and Management of Hyperthyroidism and other causes of Thyrotoxicosis. Thyroid. 2016.
2. Bartalena L, Chiovato L, Vitti P. Management of hyperthyroidism due to Graves' disease: frequently asked questions and answers (if any). J Endocrinol Invest. 2016.
3. Smith TJ, Hegedüs L. Graves' Disease. N Engl J Med. 2016;375(16):1552-65.
4. Tomer Y, Huber A. The etiology of autoimmune thyroid disease: a story of genes and environment. J Autoimmun. 2009;32(3-4):231-9.
5. Tomer Y. Mechanisms of autoimmune thyroid diseases: from genetics to epigenetics. Annu Rev Pathol. 2014;9:147-56.
6. Davies TF, Ando T, Lin RY, Tomer Y, Latif R. Thyrotropin receptor-associated diseases: from adenomata to Graves disease. J Clin Invest. 2005;115(8):1972-83.
7. Marinò M, Latrofa F, Menconi F, Chiovato L, Vitti P. Role of genetic and non-genetic factors in the etiology of Graves' disease. J Endocrinol Invest. 2015;38(3):283-94.
8. Laurberg P, Vestergaard H, Nielsen S, Christensen SE, Seefeldt T, Helleberg K, et al. Sources of circulating 3,5,3'-triiodothyronine in hyperthyroidism estimated after blocking of type 1 and type 2 iodothyronine deiodinases. J Clin Endocrinol Metab. 2007;92(6):2149-56.
9. Bianco AC, McAninch EA. The role of thyroid hormone and brown adipose tissue in energy homoeostasis. Lancet Diabetes Endocrinol. 2013;1(3):250-8.
10. Bartalena L, Fatourechi V. Extrathyroidal manifestations of Graves' disease: a 2014 update. J Endocrinol Invest. 2014;37(8):691-700.
11. Bianco AC, Maia AL, da Silva WS, Christoffolete MA. Adaptive activation of thyroid hormone and energy expenditure. Biosci Rep. 2005;25(3-4):191-208.
12. Dale J, Daykin J, Holder R, Sheppard MC, Franklyn JA. Weight gain following treatment of hyperthyroidism. Clin Endocrinol (Oxf). 2001;55(2):233-9.
13. Gurney C, Hall R, Harper M, Owen SG, Roth M, Smart GA. Newcastle thyrotoxicosis index. Lancet. 1970;2(7686):1275-8.
14. Hoogwerf BJ, Nuttall FQ. Long-term weight regulation in treated hyperthyroid and hypothyroid subjects. Am J Med. 1984;76(6):963-70.
15. Jansson S, Berg G, Lindstedt G, Michanek A, Nyström E. Overweight--a common problem among women treated for hyperthyroidism. Postgrad Med J. 1993;69(808):107-11.
16. Alton S, O'Malley BP. Dietary intake in thyrotoxicosis before and after adequate carbimazole therapy; the impact of dietary advice. Clin Endocrinol (Oxf). 1985;23(5):517-20.
17. al-Adsani H, Hoffer LJ, Silva JE. Resting energy expenditure is sensitive to small dose changes in patients on chronic thyroid hormone replacement. J Clin Endocrinol Metab. 1997;82(4):1118-25.
18. Iyer S, Bahn R. Immunopathogenesis of Graves' ophthalmopathy: the role of the TSH receptor. Best Pract Res Clin Endocrinol Metab. 2012;26(3):281-9.

19. Smith TJ, Hegedüs L, Douglas RS. Role of insulin-like growth factor-1 (IGF-1) pathway in the pathogenesis of Graves' orbitopathy. Best Pract Res Clin Endocrinol Metab. 2012;26(3):291-302.
20. Smith TJ, Koumas L, Gagnon A, Bell A, Sempowski GD, Phipps RP, et al. Orbital fibroblast heterogeneity may determine the clinical presentation of thyroid-associated ophthalmopathy. J Clin Endocrinol Metab. 2002;87(1):385-92.
21. Bartalena L, Tanda ML. Clinical practice. Graves' ophthalmopathy. N Engl J Med. 2009;360(10):994-1001.
22. Bartalena L, Baldeschi L, Boboridis K, Eckstein A, Kahaly GJ, Marcocci C, et al. The 2016 European Thyroid Association/European Group on Graves' Orbitopathy Guidelines for the Management of Graves' Orbitopathy. Eur Thyroid J. 2016;5(1):9-26.
23. Brito JP, Castaneda-Guarderas A, Gionfriddo MR, Ospina NS, Maraka S, Dean DS, et al. Development and Pilot Testing of an Encounter Tool for Shared Decision Making About the Treatment of Graves' Disease. Thyroid. 2015;25(11):1191-8.
24. Abraham P, Avenell A, McGeoch SC, Clark LF, Bevan JS. Antithyroid drug regimen for treating Graves' hyperthyroidism. Cochrane Database Syst Rev. 2010(1):CD003420.
25. Villagelin D, Romaldini JH, Santos RB, Milkos AB, Ward LS. Outcomes in Relapsed Graves' Disease Patients Following Radioiodine or Prolonged Low Dose of Methimazole Treatment. Thyroid. 2015;25(12):1282-90.
26. Li HX, Xiang N, Hu WK, Jiao XL. Relation between therapy options for Graves' disease and the course of Graves' ophthalmopathy: a systematic review and meta-analysis. J Endocrinol Invest. 2016.
27. Stan MN, Bahn RS. Risk factors for development or deterioration of Graves' ophthalmopathy. Thyroid. 2010;20(7):777-83.
28. Gereben B, Zavacki AM, Ribich S, Kim BW, Huang SA, Simonides WS, et al. Cellular and molecular basis of deiodinase-regulated thyroid hormone signaling. Endocr Rev. 2008;29(7):898-938.
29. Marsili A, Zavacki AM, Harney JW, Larsen PR. Physiological role and regulation of iodothyronine deiodinases: a 2011 update. J Endocrinol Invest. 2011;34(5):395-407.
30. Bianco AC, Salvatore D, Gereben B, Berry MJ, Larsen PR. Biochemistry, cellular and molecular biology, and physiological roles of the iodothyronine selenodeiodinases. Endocr Rev. 2002;23(1):38-89.
31. Berry MJ, Banu L, Chen YY, Mandel SJ, Kieffer JD, Harney JW, et al. Recognition of UGA as a selenocysteine codon in type I deiodinase requires sequences in the 3' untranslated region. Nature. 1991;353(6341):273-6.
32. Arrojo E Drigo R, Bianco AC. Type 2 deiodinase at the crossroads of thyroid hormone action. Int J Biochem Cell Biol. 2011;43(10):1432-41.
33. McAninch EA, Bianco AC. Thyroid hormone signaling in energy homeostasis and energy metabolism. Ann N Y Acad Sci. 2014;1311:77-87.
34. Bianco AC, Kim BW. Deiodinases: implications of the local control of thyroid hormone action. J Clin Invest. 2006;116(10):2571-9.
35. Medici M, Visser WE, Visser TJ, Peeters RP. Genetic determination of the hypothalamic-pituitary-thyroid axis: where do we stand? Endocr Rev. 2015;36(2):214-44.
36. Portulano C, Paroder-Belenitsky M, Carrasco N. The Na+/I- symporter (NIS): mechanism and medical impact. Endocr Rev. 2014;35(1):106-49.

37. Fugazzola L, Muzza M, Weber G, Beck-Peccoz P, Persani L. DUOXS defects: Genotype-phenotype correlations. Ann Endocrinol (Paris). 2011;72(2):82-6.
38. Laurberg P. Mechanisms governing the relative proportions of thyroxine and 3,5,3'-triiodothyronine in thyroid secretion. Metabolism. 1984;33(4):379-92.
39. Visser TJ. Thyroid hormone transporters and resistance. Endocr Dev. 2013;24:1-10.
40. Toyoda N, Zavacki AM, Maia AL, Harney JW, Larsen PR. A novel retinoid X receptor-independent thyroid hormone response element is present in the human type 1 deiodinase gene. Mol Cell Biol. 1995;15(9):5100-12.
41. Maia AL, Goemann IM, Meyer EL, Wajner SM. Deiodinases: the balance of thyroid hormone: type 1 iodothyronine deiodinase in human physiology and disease. J Endocrinol. 2011;209(3):283-97.
42. Bianco AC, Larsen PR. Cellular and structural biology of the deiodinases. Thyroid. 2005;15(8):777-86.
43. Toyoda N, Kaptein E, Berry MJ, Harney JW, Larsen PR, Visser TJ. Structure-activity relationships for thyroid hormone deiodination by mammalian type I iodothyronine deiodinases. Endocrinology. 1997;138(1):213-9.
44. Nomura E, Toyoda N, Harada A, Nishimura K, Ukita C, Morimoto S, et al. Type 2 iodothyronine deiodinase is expressed in human preadipocytes. Thyroid. 2011;21(3):305-10.
45. Baqui MM, Gereben B, Harney JW, Larsen PR, Bianco AC. Distinct subcellular localization of transiently expressed types 1 and 2 iodothyronine deiodinases as determined by immunofluorescence confocal microscopy. Endocrinology. 2000;141(11):4309-12.
46. Gereben B, Goncalves C, Harney JW, Larsen PR, Bianco AC. Selective proteolysis of human type 2 deiodinase: a novel ubiquitin-proteasomal mediated mechanism for regulation of hormone activation. Mol Endocrinol. 2000;14(11):1697-708.
47. Maia AL, Kim BW, Huang SA, Harney JW, Larsen PR. Type 2 iodothyronine deiodinase is the major source of plasma T3 in euthyroid humans. J Clin Invest. 2005;115(9):2524-33.
48. Boye N, Laurberg P. Deiodination of T4 to T3 and rT3 by microsomes from normal human thyroid tissue. Mol Cell Endocrinol. 1984;37(3):295-9.
49. Salvatore D, Tu H, Harney JW, Larsen PR. Type 2 iodothyronine deiodinase is highly expressed in human thyroid. J Clin Invest. 1996;98(4):962-8.
50. Sugawara M, Lau R, Wasser HL, Nelson AM, Kuma K, Hershman JM. Thyroid T4 5'-deiodinase activity in normal and abnormal human thyroid glands. Metabolism. 1984;33(4):332-6.
51. Bartha T, Kim SW, Salvatore D, Gereben B, Tu HM, Harney JW, et al. Characterization of the 5'-flanking and 5'-untranslated regions of the cyclic adenosine 3',5'-monophosphate-responsive human type 2 iodothyronine deiodinase gene. Endocrinology. 2000;141(1):229-37.
52. Canettieri G, Celi FS, Baccheschi G, Salvatori L, Andreoli M, Centanni M. Isolation of human type 2 deiodinase gene promoter and characterization of a functional cyclic adenosine monophosphate response element. Endocrinology. 2000;141(5):1804-13.

53. Maia AL. Type 1 iodothyronine deiodinase is the major source of circulating T3 in hyperthyroidism: implications for therapy. Nature clinical practice Endocrinology & metabolism. 2007;3(11):740-1.
54. Laurberg P. Thyroxine and 3,5,3'-triiodothyronine content of thyroglobulin in thyroid needle aspirates in hyperthyroidism and hypothyroidism. J Clin Endocrinol Metab. 1987;64(5):969-74.
55. Ito M, Toyoda N, Nomura E, Takamura Y, Amino N, Iwasaka T, et al. Type 1 and type 2 iodothyronine deiodinases in the thyroid gland of patients with 3,5,3'-triiodothyronine-predominant Graves' disease. Eur J Endocrinol. 2011;164(1):95-100.
56. Kim SW, Harney JW, Larsen PR. Studies of the hormonal regulation of type 2 5'-iodothyronine deiodinase messenger ribonucleic acid in pituitary tumor cells using semiquantitative reverse transcription-polymerase chain reaction. Endocrinology. 1998;139(12):4895-905.
57. De Vito P, Incerpi S, Pedersen JZ, Luly P, Davis FB, Davis PJ. Thyroid hormones as modulators of immune activities at the cellular level. Thyroid. 2011;21(8):879-90.
58. Guerra A, Sapio MR, Carrano M, Di Stasi V, Volpe A, Murino A, et al. Prevalence of Dio2(T92A) polymorphism and its association with thyroid autoimmunity. J Endocrinol Invest. 2013;36(5):303-6.
59. Planck T, Parikh H, Brorson H, Mårtensson T, Åsman P, Groop L, et al. Gene expression in Graves' ophthalmopathy and arm lymphedema: similarities and differences. Thyroid. 2011;21(6):663-74.
60. Planck T, Parikh H, Groop L, Hallengren B, Lantz M. Intraorbital deiodinase type 2 expression is downregulated in chronic phase of Graves' ophthalmopathy. Clin Endocrinol (Oxf). 2012;77(3):486-7.
61. Cannon B, Nedergaard J. Brown adipose tissue: function and physiological significance. Physiol Rev. 2004;84(1):277-359.
62. Tu HM, Kim SW, Salvatore D, Bartha T, Legradi G, Larsen PR, et al. Regional distribution of type 2 thyroxine deiodinase messenger ribonucleic acid in rat hypothalamus and pituitary and its regulation by thyroid hormone. Endocrinology. 1997;138(8):3359-68.
63. Fonseca TL, Correa-Medina M, Campos MP, Wittmann G, Werneck-de-Castro JP, Arrojo e Drigo R, et al. Coordination of hypothalamic and pituitary T3 production regulates TSH expression. J Clin Invest. 2013;123(4):1492-500.
64. Coppola A, Liu ZW, Andrews ZB, Paradis E, Roy MC, Friedman JM, et al. A central thermogenic-like mechanism in feeding regulation: an interplay between arcuate nucleus T3 and UCP2. Cell Metab. 2007;5(1):21-33.
65. Hall JA, Ribich S, Christoffolete MA, Simovic G, Correa-Medina M, Patti ME, et al. Absence of thyroid hormone activation during development underlies a permanent defect in adaptive thermogenesis. Endocrinology. 2010;151(9):4573-82.
66. Sacks H, Symonds ME. Anatomical locations of human brown adipose tissue: functional relevance and implications in obesity and type 2 diabetes. Diabetes. 2013;62(6):1783-90.
67. Lee JY, Takahashi N, Yasubuchi M, Kim YI, Hashizaki H, Kim MJ, et al. Triiodothyronine induces UCP-1 expression and mitochondrial biogenesis in human adipocytes. Am J Physiol Cell Physiol. 2012;302(2):C463-72.
68. Peschechera A, Eckel J. "Browning" of adipose tissue--regulation and therapeutic perspectives. Arch Physiol Biochem. 2013;119(4):151-60.

69. Salvatore D, Simonides WS, Dentice M, Zavacki AM, Larsen PR. Thyroid hormones and skeletal muscle--new insights and potential implications. Nat Rev Endocrinol. 2014;10(4):206-14.
70. Lebon V, Dufour S, Petersen KF, Ren J, Jucker BM, Slezak LA, et al. Effect of triiodothyronine on mitochondrial energy coupling in human skeletal muscle. J Clin Invest. 2001;108(5):733-7.
71. Celi FS, Canettieri G, Mentuccia D, Proietti-Pannunzi L, Fumarola A, Sibilla R, et al. Structural organization and chromosomal localization of the human type II deiodinase gene. Eur J Endocrinol. 2000;143(2):267-71.
72. Gereben B, Salvatore D, Harney JW, Tu HM, Larsen PR. The human, but not rat, dio2 gene is stimulated by thyroid transcription factor-1 (TTF-1). Mol Endocrinol. 2001;15(1):112-24.
73. Gereben B, Kollár A, Harney JW, Larsen PR. The mRNA structure has potent regulatory effects on type 2 iodothyronine deiodinase expression. Mol Endocrinol. 2002;16(7):1667-79.
74. McAninch EA, Jo S, Preite NZ, Farkas E, Mohácsik P, Fekete C, et al. Prevalent polymorphism in thyroid hormone-activating enzyme leaves a genetic fingerprint that underlies associated clinical syndromes. J Clin Endocrinol Metab. 2015;100(3):920-33.
75. Dora JM, Machado WE, Rheinheimer J, Crispim D, Maia AL. Association of the type 2 deiodinase Thr92Ala polymorphism with type 2 diabetes: case-control study and meta-analysis. Eur J Endocrinol. 2010;163(3):427-34.
76. Peeters RP, van Toor H, Klootwijk W, de Rijke YB, Kuiper GG, Uitterlinden AG, et al. Polymorphisms in thyroid hormone pathway genes are associated with plasma TSH and iodothyronine levels in healthy subjects. J Clin Endocrinol Metab. 2003;88(6):2880-8.
77. de Jong FJ, Peeters RP, den Heijer T, van der Deure WM, Hofman A, Uitterlinden AG, et al. The association of polymorphisms in the type 1 and 2 deiodinase genes with circulating thyroid hormone parameters and atrophy of the medial temporal lobe. J Clin Endocrinol Metab. 2007;92(2):636-40.
78. Mentuccia D, Thomas MJ, Coppotelli G, Reinhart LJ, Mitchell BD, Shuldiner AR, et al. The Thr92Ala deiodinase type 2 (DIO2) variant is not associated with type 2 diabetes or indices of insulin resistance in the old order of Amish. Thyroid. 2005;15(11):1223-7.
79. Panicker V, Cluett C, Shields B, Murray A, Parnell KS, Perry JR, et al. A common variation in deiodinase 1 gene DIO1 is associated with the relative levels of free thyroxine and triiodothyronine. J Clin Endocrinol Metab. 2008;93(8):3075-81.
80. Canani LH, Capp C, Dora JM, Meyer EL, Wagner MS, Harney JW, et al. The type 2 deiodinase A/G (Thr92Ala) polymorphism is associated with decreased enzyme velocity and increased insulin resistance in patients with type 2 diabetes mellitus. J Clin Endocrinol Metab. 2005;90(6):3472-8.
81. Larsen PR. Type 2 iodothyronine deiodinase in human skeletal muscle: new insights into its physiological role and regulation. J Clin Endocrinol Metab. 2009;94(6):1893-5.
82. Butler PW, Smith SM, Linderman JD, Brychta RJ, Alberobello AT, Dubaz OM, et al. The Thr92Ala 5' type 2 deiodinase gene polymorphism is associated with a delayed triiodothyronine secretion in response to the thyrotropin-releasing hormone-stimulation test: a pharmacogenomic study. Thyroid. 2010;20(12):1407-12.

83. Torlontano M, Durante C, Torrente I, Crocetti U, Augello G, Ronga G, et al. Type 2 deiodinase polymorphism (threonine 92 alanine) predicts L-thyroxine dose to achieve target thyrotropin levels in thyroidectomized patients. J Clin Endocrinol Metab. 2008;93(3):910-3.
84. Heemstra KA, Hoftijzer HC, van der Deure WM, Peeters RP, Fliers E, Appelhof BC, et al. Thr92Ala polymorphism in the type 2 deiodinase is not associated with T4 dose in athyroid patients or patients with Hashimoto thyroiditis. Clin Endocrinol (Oxf). 2009;71(2):279-83.
85. Castagna MG, Dentice M, Cantara S, Ambrosio R, Maino F, Porcelli T, et al. DIO2 Thr92Ala Reduces Deiodinase-2 Activity and Serum-T3 Levels in Thyroid-Deficient Patients. J Clin Endocrinol Metab. 2017;102(5):1623-30.
86. Chistiakov DA, Savost'anov KV, Turakulov RI. Screening of SNPs at 18 positional candidate genes, located within the GD-1 locus on chromosome 14q23-q32, for susceptibility to Graves' disease: a TDT study. Mol Genet Metab. 2004;83(3):264-70.
87. Alina B, Daria P, Olga F, Vladislav S, Anna K, Elena G. Thr92Ala polymorphism of human type 2 deiodinase gene (hD2) affects the development of Graves' disease, treatment efficiency, and rate of remission. Clin Dev Immunol. 2012;2012:340542.
88. Brouwer JP, Appelhof BC, Peeters RP, Hoogendijk WJ, Huyser J, Schene AH, et al. Thyrotropin, but not a polymorphism in type II deiodinase, predicts response to paroxetine in major depression. Eur J Endocrinol. 2006;154(6):819-25.
89. Cooper-Kazaz R, van der Deure WM, Medici M, Visser TJ, Alkelai A, Glaser B, et al. Preliminary evidence that a functional polymorphism in type 1 deiodinase is associated with enhanced potentiation of the antidepressant effect of sertraline by triiodothyronine. J Affect Disord. 2009;116(1-2):113-6.
90. He B, Li J, Wang G, Ju W, Lu Y, Shi Y, et al. Association of genetic polymorphisms in the type II deiodinase gene with bipolar disorder in a subset of Chinese population. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry. 2009;33(6):986-90.
91. Panicker V, Saravanan P, Vaidya B, Evans J, Hattersley AT, Frayling TM, et al. Common variation in the DIO2 gene predicts baseline psychological well-being and response to combination thyroxine plus triiodothyronine therapy in hypothyroid patients. J Clin Endocrinol Metab. 2009;94(5):1623-9.
92. Appelhof BC, Peeters RP, Wiersinga WM, Visser TJ, Wekking EM, Huyser J, et al. Polymorphisms in type 2 deiodinase are not associated with well-being, neurocognitive functioning, and preference for combined thyroxine/3,5,3'-triiodothyronine therapy. J Clin Endocrinol Metab. 2005;90(11):6296-9.
93. Zhang K, Xi H, Wang X, Guo Y, Huang S, Zheng Z, et al. A family-based association study of DIO2 and children mental retardation in the Qinba region of China. J Hum Genet. 2012;57(1):14-7.
94. Guo TW, Zhang FC, Yang MS, Gao XC, Bian L, Duan SW, et al. Positive association of the DIO2 (deiodinase type 2) gene with mental retardation in the iodine-deficient areas of China. J Med Genet. 2004;41(8):585-90.
95. Meulenbelt I, Min JL, Bos S, Riyazi N, Houwing-Duistermaat JJ, van der Wijk HJ, et al. Identification of DIO2 as a new susceptibility locus for symptomatic osteoarthritis. Hum Mol Genet. 2008;17(12):1867-75.
96. Estivalet AA, Leiria LB, Dora JM, Rheinheimer J, Bouças AP, Maia AL, et al. D2 Thr92Ala and PPARγ2 Pro12Ala polymorphisms interact in the modulation

of insulin resistance in type 2 diabetic patients. Obesity (Silver Spring). 2011;19(4):825-32.
97. Dora JM, Wajner SM, Costa JD, Pinto Ribeiro RV, Leiria LB, Lopes MG, et al. Type 2 deiodinase Thr92Ala polymorphism is associated with disrupted placental activity but not with dysglycemia or adverse gestational outcomes: a genetic association study. Fertil Steril. 2014;101(3):833-9.
98. Grarup N, Andersen MK, Andreasen CH, Albrechtsen A, Borch-Johnsen K, Jørgensen T, et al. Studies of the common DIO2 Thr92Ala polymorphism and metabolic phenotypes in 7342 Danish white subjects. J Clin Endocrinol Metab. 2007;92(1):363-6.
99. Gumieniak O, Perlstein TS, Williams JS, Hopkins PN, Brown NJ, Raby BA, et al. Ala92 type 2 deiodinase allele increases risk for the development of hypertension. Hypertension. 2007;49(3):461-6.
100. Maia AL, Hwang SJ, Levy D, Larson MG, Larsen PR, Fox CS. Lack of association between the type 2 deiodinase A/G polymorphism and hypertensive traits: the Framingham Heart Study. Hypertension. 2008;51(4):e22-3.
101. Peeters RP, van den Beld AW, Attalki H, Toor H, de Rijke YB, Kuiper GG, et al. A new polymorphism in the type II deiodinase gene is associated with circulating thyroid hormone parameters. Am J Physiol Endocrinol Metab. 2005;289(1):E75-81.
102. Coppotelli G, Summers A, Chidakel A, Ross JM, Celi FS. Functional characterization of the 258 A/G (D2-ORFa-Gly3Asp) human type-2 deiodinase polymorphism: a naturally occurring variant increases the enzymatic activity by removing a putative repressor site in the 5' UTR of the gene. Thyroid. 2006;16(7):625-32.
103. Peltsverger MY, Butler PW, Alberobello AT, Smith S, Guevara Y, Dubaz OM, et al. The -258A/G (SNP rs12885300) polymorphism of the human type 2 deiodinase gene is associated with a shift in the pattern of secretion of thyroid hormones following a TRH-induced acute rise in TSH. Eur J Endocrinol. 2012;166(5):839-45.
104. Santoro AB, Vargens DD, Barros Filho MeC, Bulzico DA, Kowalski LP, Meirelles RM, et al. Effect of UGT1A1, UGT1A3, DIO1 and DIO2 polymorphisms on L-thyroxine doses required for TSH suppression in patients with differentiated thyroid cancer. Br J Clin Pharmacol. 2014;78(5):1067-75.
105. Lee MR, Schwandt ML, Bollinger JW, Dias AA, Oot EN, Goldman D, et al. Effect of Functionally Significant Deiodinase Single Nucleotide Polymorphisms on Drinking Behavior in Alcohol Dependence: An Exploratory Investigation. Alcohol Clin Exp Res. 2015;39(9):1665-70.
106. Ma SF, Xie L, Pino-Yanes M, Sammani S, Wade MS, Letsiou E, et al. Type 2 deiodinase and host responses of sepsis and acute lung injury. Am J Respir Cell Mol Biol. 2011;45(6):1203-11.
107. van der Deure WM, Peeters RP, Uitterlinden AG, Hofman A, Breteler MM, Witteman J, et al. Impact of thyroid function and polymorphisms in the type 2 deiodinase on blood pressure: the Rotterdam Study and the Rotterdam Scan Study. Clin Endocrinol (Oxf). 2009;71(1):137-44.
108. Nair S, Muller YL, Ortega E, Kobes S, Bogardus C, Baier LJ. Association analyses of variants in the DIO2 gene with early-onset type 2 diabetes mellitus in Pima Indians. Thyroid. 2012;22(1):80-7.

109. Bufalo NE, Santos RB, Cury AN, Andrade RA, Morari J, Morari EC, et al. Genetic polymorphisms associated with cigarette smoking and the risk of Graves' disease. Clin Endocrinol (Oxf). 2008;68(6):982-7.
110. Farah SB. DNA Segredos e Mistérios. Segunda edição ed2007.
111. De la Vega FM, Lazaruk KD, Rhodes MD, Wenz MH. Assessment of two flexible and compatible SNP genotyping platforms: TaqMan SNP Genotyping Assays and the SNPlex Genotyping System. Mutat Res. 2005;573(1-2):111-35.
112. Gereben B, Salvatore D. Pretranslational regulation of type 2 deiodinase. Thyroid. 2005;15(8):855-64.
113. Grineva E, Babenko A, Vahrameeva N, Bogdanova M, Kostareva A, Popcova D, et al. Type 2 deiodinase Thr92Ala polymorphism impact on clinical course and myocardial remodeling in patients with Graves' disease. Cell Cycle. 2009;8(16):2565-9.
114. Hoftijzer HC, Heemstra KA, Visser TJ, le Cessie S, Peeters RP, Corssmit EP, et al. The type 2 deiodinase ORFa-Gly3Asp polymorphism (rs12885300) influences the set point of the hypothalamus-pituitary-thyroid axis in patients treated for differentiated thyroid carcinoma. J Clin Endocrinol Metab. 2011;96(9):E1527-33.
115. Luo M, Zhou XH, Zou T, Keyim K, Dong LM. Type II deiodinase polymorphisms and serum thyroid hormone levels in patients with mild cognitive impairment. Genet Mol Res. 2015;14(2):5407-16.