

УДК 616.441-089.87-089.168-07:616.154:577.175.44-092.9

©Коллектив авторов

ВЛИЯНИЕ ДЛИТЕЛЬНОГО ВВЕДЕНИЯ ВЫСОКИХ ДОЗ ЙОДИДА КАЛИЯ НА МЕТАБОЛИЗМ ЙОДА В ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЕ КРЫС

С.В. Лупачик, Л.И. Надольник, З.В. Нецецкая, В.В. Виноградов

Институт биохимии НАН Беларуси, Республика Беларусь, 230017 г. Гродно, ул. БЛК-50; тел.: 8 0521 337761; факс: 8 0152 334121; эл. почта: grey2002@tut.by

Концентрация тиреоидных гормонов в крови после 14-дневного введения йодида калия (1, 3, 10, 100 и 500 физиологических суточных доз) не отличалась от контрольных значений. Увеличение потребления йодида калия сопровождалось повышением содержания йода в ткани щитовидной железы крыс на 60-121% и, соответственно, белково-связанной и свободной фракции на 35-108% и 94-128%, что свидетельствует об активации его поглощения и органификации. Длительное введение как малых, так и высоких доз йодида калия сопровождалось увеличением активности каталазы на 8-18% и СОД на 33-50% и повышением на 15-38% уровня токсичных продуктов ПОЛ, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой. Предполагается, что активные формы кислорода и усиление степени йодирования белков (в частности, тиреоглобулина), индуцируемые длительным потреблением повышенных доз йодида калия, могут играть важную роль в нарушении функции щитовидной железы и развитии аутоиммунных заболеваний.

Ключевые слова: щитовидная железа, йодид калия, поглощение йода, органификация, тиреоидные гормоны, окислительный стресс

ВВЕДЕНИЕ. Известно, что дефицит йода является причиной заболеваний щитовидной железы (ЩЖ). Полномасштабное йодирование пищевых продуктов было призвано решить данную проблему. Тем не менее, несмотря на улучшение йодной профилактики в Республике Беларусь продолжается рост числа тиреоидной патологии, особенно аутоиммунных заболеваний ЩЖ, что отражает общую картину увеличения числа больных с аутоиммунным тиреоидитом (АИТ) и в других странах мира [1]. Рост числа заболеваемости АИТ некоторые авторы связывают с усилением йодирования (т.е. иммуногенности) и презентации аутоантигена ЩЖ - тиреоглобулина [2].

Роль йода в гомеостатической регуляции функции ЩЖ впервые была показана более 50 лет назад, однако, ее тонкие механизмы остаются до конца не выясненными [3]. Острый эффект высоких доз йода (ВДЙ), т. н. эффект Вольфа-Чайкова, проявляется в подавлении функциональной активности тироцитов, а именно, в ингибировании йодирования белковой фракции ЩЖ (12-48 часов) и, как следствие, снижении концентрации тиреоидных гормонов в плазме [4]. Показано, что однократное введение ВДЙ может вызывать ингибирование биосинтеза тиреоидных гормонов на нескольких уровнях [5, 6]. Во-первых, происходит снижение чувствительности к стимулирующему действию тиреотропного гормона [7]. Во-вторых, - ингибирование экспрессии и активности тиреопероксидазы (ТПО), фермента использующего в качестве субстратов йодид и пероксид водорода для йодирования тиреоглобулина [8]. И, наконец, - супрессия активности

NADPH-оксидазы (генератора H_2O_2) - лимитирующего звена в метаболизме йода [9]. Впрочем, последний эффект может быть опосредован 2-йодогексадеканалом, йодированным липидом, концентрация которого резко возрастает, в противоположность йодированным белкам, с увеличением концентрации йода [10].

Механизмы метаболических процессов, протекающих в ЩЖ на фоне длительного введения повышенных доз йодида калия, изучены значительно хуже. В работе [11] отмечается восстановление уровня тиреоидных гормонов в плазме до нормальных значений, что объясняется снижением уровня мРНК и белка натрий-йодного симпортера. По-видимому, снижение транспорта йода в тироциты снимает ингибирование его органификации. Следует отметить, что смещение про/антиоксидантного равновесия играет крайне важную роль в функциональной активности ЩЖ. Показано, что тиреоидные глутатионпероксидаза [12] и каталаза [13] ингибируют, а супероксиддисмутаза (СОД) [14] усиливает степень йодирования тиреоглобулина в ЩЖ. Полагают, что цитотоксичность ВДЙ по отношению к тироцитам обусловлена действием активных форм кислорода и приводит, в зависимости от условий, к апоптозу и/или некрозу клеток [5, 15].

Цель проведенного исследования: оценить дозо-зависимость эффектов длительного введения йодида калия на его внутритиреоидный метаболизм.

МЕТОДИКА. Эксперименты проведены на самках крыс Wistar, массой 170-190 г., которых содержали на стандартной диете вивария. Йодид калия (КИ) вводили ежедневно интрагастралью в дозе 0,07, 0,21, 0,7, 7 и 35 мг/кг веса (1, 3, 10, 100 и 500 физиологических суточных доз йода (ФСДЙ)) в течение 14 дней, контрольные животные получали дистиллированную воду. Пробы мочи крыс собирали в обменных клетках через 24 часа после последнего введения йода. Через 2 недели после введения йода животных декапитировали, выделенные ЩЖ замораживали в жидком азоте и тот же день анализировали.

Содержание общего йода, его белково-связанной и свободной фракций в ткани ЩЖ, а также концентрацию йода в моче определяли с использованием церий-арсенитного метода Dunn [16]. Концентрацию йода рассчитывали по калибровочному графику и выражали в $мкг \cdot г \text{ ткани}^{-1}$ или $мкг \cdot мл^{-1}$. Для определения активности тиреопероксидазы использовали метод, в основе которого лежат реакции ферментативного окисления йодида, описанный Alexander [17]. Расчёт активности ТПО осуществляли с использованием молярного коэффициента экстинкции для образующегося продукта $\epsilon = 26000 \text{ M}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$ и выражали в $мкмоль \cdot мин^{-1} \cdot г \text{ ткани}^{-1}$. Уровень трийодтиронина (T_3) и тироксина (T_4) в крови определяли радиоиммунологическим методом с использованием наборов РИА- T_4 -СТ и РИА- T_3 -СТ (ХОП ИБОХ НАНБ, Республика Беларусь).

Содержание стабильных альдегидных продуктов ПОЛ, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой (ТБКРС), в ткани ЩЖ определяли по методу, описанному Стальной и Гаришвили [18]. Для расчета концентрации субстанций, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой (ТБКРС), использовали коэффициент молярной экстинкции для образующегося продукта $\epsilon = 1,56 \cdot 10^5 \text{ M}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$, и выражали в $нмоль \cdot г \text{ ткани}^{-1}$. Активность каталазы [19] в ЩЖ определяли спектрофотометрически по разложению H_2O_2 , которую определяли в реакции с молибдатом аммония ($\epsilon = 22,2 \text{ M}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$), активность фермента выражали в $ммоль \cdot мин^{-1} \cdot г \text{ ткани}^{-1}$. Активность (СОД) в ЩЖ определяли по методу Костюк и соавт. [20], основанному на реакции аутоокисления кверцетина, и выражали в $ед. акт. \cdot мин^{-1} \cdot г \text{ ткани}^{-1}$.

Статистическая обработка результатов межгрупповых различий проведена с использованием U-теста Манна-Уитни. Результаты представлены как среднее \pm ошибка средней.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ. Длительное введение КИ самкам крыс с нормальной йодной обеспеченностью сопровождалось значительной активацией метаболизма йода в ЩЖ (рис. 1, 2). Об этом свидетельствует повышение концентрации общего йода в ткани ЩЖ во всех экспериментальных группах

на 60-121% (рис. 1, I_o). Данное повышение отражает активацию двух важнейших этапов биосинтеза тиреоидных гормонов в ЩЖ. Во-первых, нами выявлено увеличенное поглощение йодида калия ЩЖ на 94-128% по сравнению с контролем (за исключением группы с наименьшей дозой KI, рис. 1, I_{св}). Во-вторых, рост концентрации белково-связанного йода (I_{бс}) во всех группах на 35-108% свидетельствует об усилении окисления и органификации йода в тироцитах экспериментальных крыс (рис. 1, I_{бс}). Экскреция йода с мочой резко повышалась в группах с самыми большими дозами йода в 3 (100 ФСДЙ) и 15 (500 ФСДЙ) раз и снижалась более чем в 2 раза у животных получавших 3 ФСДЙ (табл. 1).

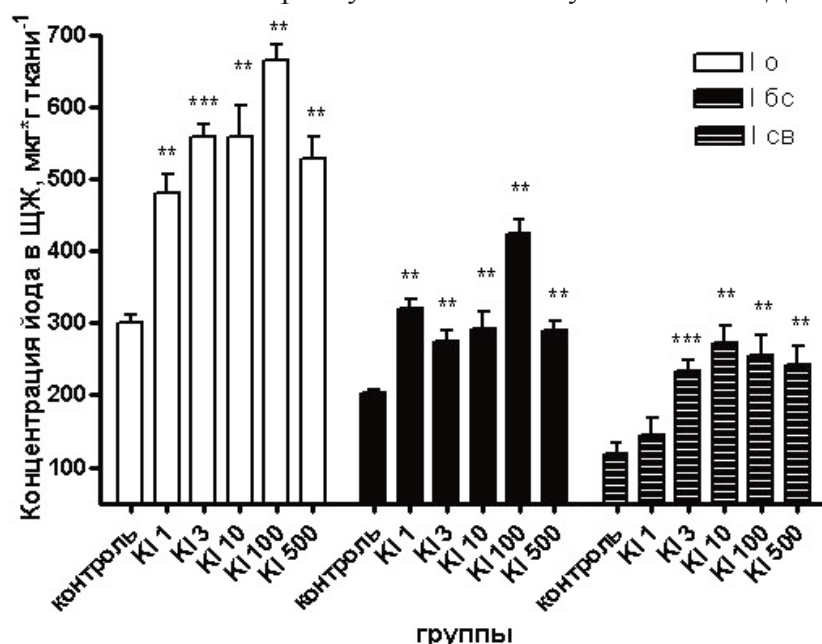


Рисунок 1.

Влияние длительного введения различных доз йодида калия на концентрацию общего (I_o), белково-связанного (I_{бс}) и свободного (I_{св}) йода (мкг×г ткани⁻¹) в щитовидной железе самок крыс Wistar. В каждой серии n=7-8; ** p<0,01, *** p<0,001 по сравнению с контролем.

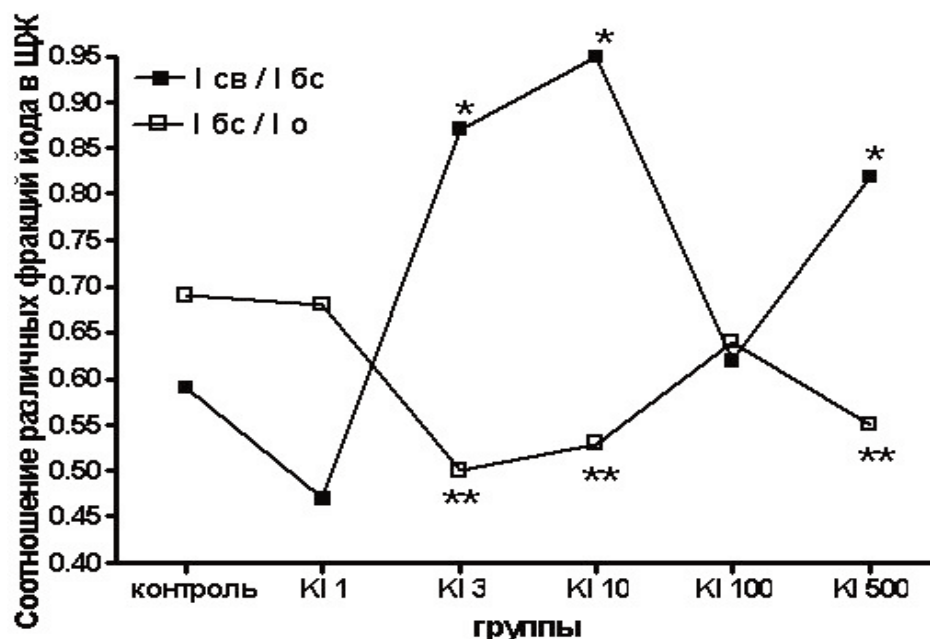


Рисунок 2.

Влияние длительного введения различных доз йодида калия на соотношение различных фракций йода в щитовидной железе самок крыс Wistar. В каждой серии n=7-8; * p<0,05, ** p<0,01 по сравнению с контролем.

КИ И МЕТАБОЛИЗМ ЙОДА В ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЕ

Таблица 1. Влияние длительного введения йодида калия на экскрецию йода с мочой и соотношение веса ЩЖ к весу тела у самок крыс Wistar в зависимости от дозы.

| Показатель | Контроль | КІ 1 | КІ 3 | КІ 10 | КІ 100 | КІ 500 |
|---|-----------------|-----------------|-------------------|-----------------|----------------------|------------------------|
| Концентрация йода в моче, $\text{мкг} \times \text{мл}^{-1}$ | $0,83 \pm 0,14$ | $0,53 \pm 0,09$ | $0,34 \pm 0,13^*$ | $0,49 \pm 0,04$ | $2,46 \pm 0,48^{**}$ | $12,39 \pm 2,58^{***}$ |
| Соотношение $\text{вс ЩЖ} \times \text{вс тела}^{-1} \times 10^4$ | $0,75 \pm 0,03$ | $0,81 \pm 0,02$ | $0,77 \pm 0,04$ | $0,82 \pm 0,03$ | $0,75 \pm 0,03$ | $0,82 \pm 0,03$ |

Примечание: в каждой серии $n=7-10$; * $p<0,05$, ** $p<0,01$, *** $p<0,001$ по сравнению с контролем.

Активность ключевого фермента биосинтеза тиреоидных гормонов - тиреопероксидазы зависела от дозы вводимого йода (рис. 3). Мы наблюдали возрастание активности данного фермента при использовании малых и средних доз КІ с максимумом на 10 ФСДЙ (405% от контрольного значения) и ее угнетением при более высоких дозах (42% от контрольного значения при введении 500 ФСДЙ).

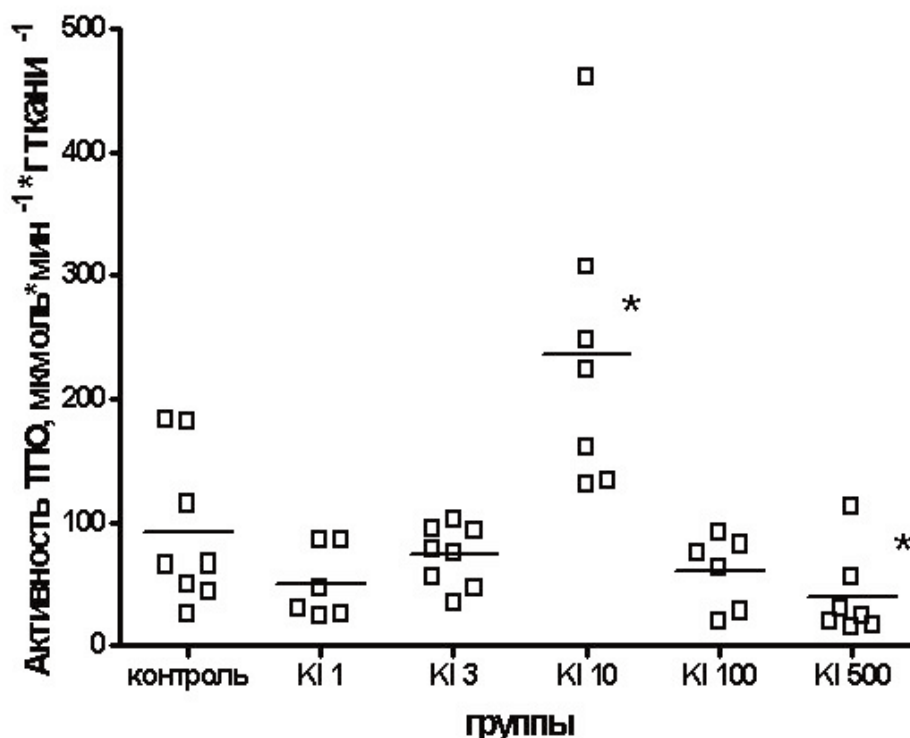


Рисунок 3.

Влияние длительного введения различных доз йодида калия на активность тиреопероксидазы ($\text{мкмоль} \times \text{мин}^{-1} \times \text{г ткани}^{-1}$) самок крыс Wistar (\bar{X} , * $p<0,05$ по сравнению с контролем).

При нагрузке йодидом калия самок крыс в течение 2-х недель общая концентрация тиреоидных гормонов (T_4 и T_3) в плазме практически соответствовала контрольным значениям (рис. 4). Тем не менее, в группе, получавшей 3 ФСДЙ, уровень T_4 был снижен на 39%. В ходе двухнедельного введения КІ соотношение веса щитовидной железы к весу тела не менялось в экспериментальных группах (табл. 1).

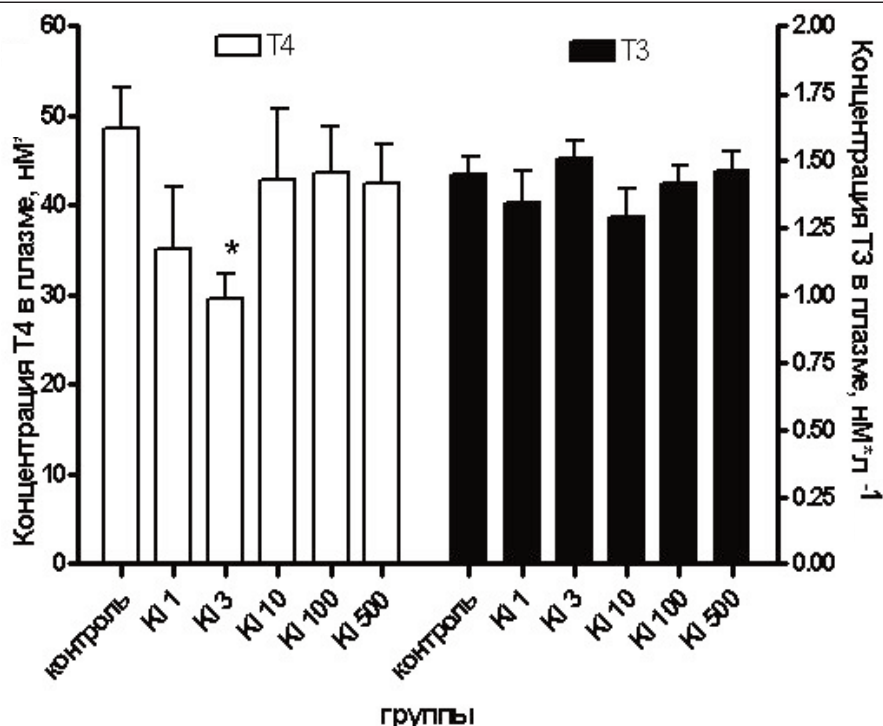


Рисунок 4.

Влияние длительного введения различных доз йодида калия на концентрацию тиреоидных гормонов (нМ) в плазме самок крыс Wistar. В каждой серии n=6-7, * p<0,05 по сравнению с контролем).

Введение KI также являлось причиной выраженной стимуляции окислительных процессов в тироцитах опытных животных. Уровень ТБКРС в ЩЖ увеличился на 15%, 53%, 23% и 38% в группах 1, 10, 100 и 500 ФСДЙ, соответственно (рис. 5). Наряду с накоплением стабильных альдегидных продуктов ПОЛ нами отмечается активация ферментативного звена антиоксидантной защиты ЩЖ. Активность каталазы увеличивается во всех группах получавших KI на 8% - 18%, а СОД на 34%, 50% и 33% при введении 3, 10 и 100 ФСДЙ, соответственно (Табл. 2).

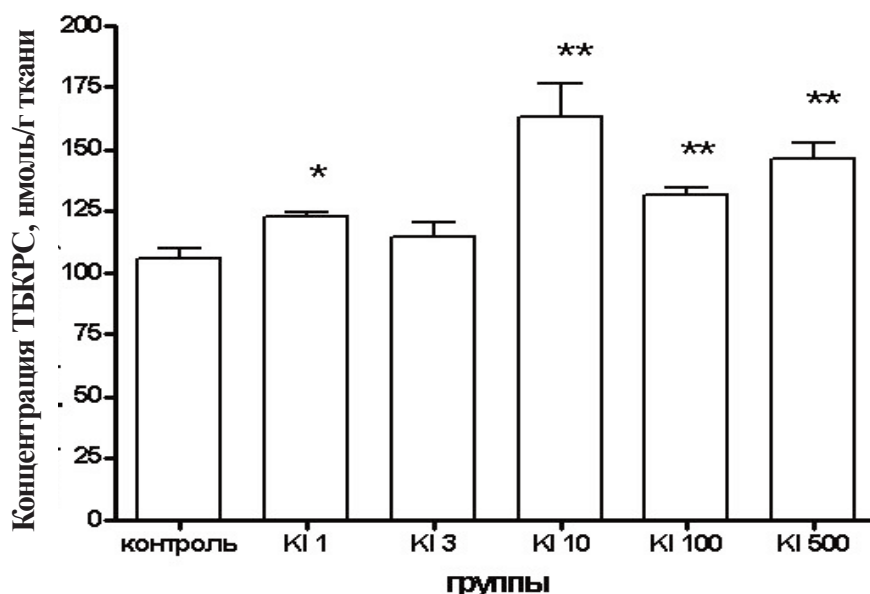


Рисунок 5.

Влияние длительного введения йодида калия на концентрацию ТБКРС (нмоль·г ткани⁻¹) в ткани ЩЖ. В каждой серии n=6-8, * p<0,05, ** p<0,01 по сравнению с контролем.

КИ И МЕТАБОЛИЗМ ЙОДА В ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЕ

Таблица 2. Действие йодида калия на активности антиоксидантных ферментов в щитовидной железе самок крыс Wistar в зависимости от дозы.

| Показатель | Контроль | КІ 1 | КІ 3 | КІ 10 | КІ 100 | КІ 500 |
|---|---------------|----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| Активность каталазы, ммоль×мин ⁻¹ ×г ткани ⁻¹ | 6,08± 0,14 | 6,56± 0,09* | 6,64± 0,11* | 6,76± 0,06** | 7,16± 0,08** | 6,86± 0,12** |
| Активность СОД, Ед. акт.×мин ⁻¹ ×г ткани ⁻¹ | 8,47± 0,48 | 10,69± 0,94 | 11,38± 0,75* | 12,72± 0,34* | 11,31± 0,70* | 9,24± 0,16 |

Примечание: в каждой серии n=6-8; * p<0,05, ** p<0,01 по сравнению с контролем.

Изучение метаболизма йода в ЩЖ и путей его регуляции имеет важное значение по нескольким причинам. С одной стороны, проблемы йодной эндемии и связанные с ней тиреоидные заболевания остаются все еще актуальными вопросами для многих стран мира [21]. С другой стороны, полномасштабное йодирование пищевых продуктов, как средство ликвидации йодной недостаточности, привело к росту числа йод-индуцируемых дисфункций ЩЖ и аутоиммунных заболеваний [22]. Последнее убедительно демонстрирует недостаточную изученность данной области тиреодологии. Согласно полученным нами результатам, поглощение йода при длительной нагрузке животных КІ увеличивается (см. Исв, рис. 1). Более того, повышение соотношения Исв/Ібс (на 47,5%, 61,1% и 39,9% в группах получавших 3, 10 и 500 ФСДІ соответственно) указывает на то, что при длительном введении средних и высоких доз КІ, активация поглощения йода выражена в большей степени, чем его органификация (рис. 2). Авторы работы [11] предполагают, что отмена острого эффекта Вольфа-Чайкова при длительном введении высоких доз йодида натрия связана с ингибированием экспрессии натрий-йодного симпортера и, следовательно, торможением поглощения йода и его более эффективной органификации. Не исключено, что данное расхождение вызвано методическими различиями проведения экспериментов (14 дней в нашем эксперименте против 6 дней введения йода в эксперименте Bravermana и соавт. [11]) и даже различными линиями и полом крыс (самки Wistar против самцов Sprague Dawley).

Интересно, что концентрация свободного йода (т.е. поглощения) при введении 3 ФСДІ и дальнейшем увеличении дозы вводимого йода практически не меняется. Совершенно неожиданным для нас явились данные по экскреции йода с мочой. Предполагаемое усиление выведения йода наблюдалось лишь в группах с наибольшими дозами йодида калия (100 и 500 ФСДІ, табл. 1). При использовании 1, 3 и 10 ФСДІ нами отмечается некоторое снижение экскреции йода, что, возможно, свидетельствует об усилении поглощения йода самой ЩЖ и/или торможением его экскреции. Рассматривая дозо-зависимую кривую органификации йода в зависимости от дозы (Ібс, рис. 1), можно отметить два максимума - 1 и 100 ФСДІ, причем второй количественно более выражен. Тем не менее, рассматривая в совокупности данные по соотношениям фракций поглощенного и органифицированного йода (см. соотношения Ібс/Іо и Исв/Ібс, рис. 2), а также его экскрецию с мочой, следует признать, что наиболее эффективное окисление и органификация субстрата в ЩЖ наблюдается при введении одной суточной нормы КІ. Длительная нагрузка животных йодидом калия не влияла на гормональный статус (Т₄ и Т₃) экспериментальных животных (рис. 4), в отличие от однократного введения [23]. По-видимому, причиной восстановления тиреоидного статуса является отмена ингибирующего действия повышенных доз КІ на органификацию внутритиреоидного йодида. С другой стороны, как уже

упоминалось выше, усиление степени йодирования тиреоглобулина формирует предпосылки развития аутоиммунного тиреоидита.

Хроническое введение высоких доз йода сопровождалось активацией окислительного стресса в ЩЖ, о чём свидетельствовало увеличение концентрации ТБКРС и активности ферментов антиоксидантной защиты. Особый интерес вызывает то, что даже одна дополнительная суточная доза йода была причиной статистически значимого повышения концентрации стабильных альдегидных продуктов (рис. 5) и активности тиреоидной каталазы (табл. 2). Дальнейшее увеличение дозы вводимого йодида калия явилось причиной еще более выраженной активации окислительного стресса и повышения в ткани ЩЖ концентрации высокотоксичных продуктов ПОЛ. Необходимо отметить, что увеличение концентрации МДА обнаружено в ЩЖ крыс, склонных к тиреоидиту [24]. Однако, согласно Allen [24], острое и хроническое введение высоких доз йода не сопровождалось повышением базального уровня малонового диальдегида в ЩЖ крыс, генетически предрасположенных к лимфоцитарному тиреоидиту и крыс линии Wistar.

Суммируя все вышесказанное, отметим, что введение малых доз йода (1 ФСДЙ) характеризовалось наиболее эффективной органификацией, а средних (3 ФСДЙ) - наиболее эффективным концентрированием йода. Хроническая активация окислительного стресса при введении высоких доз йода (10 ФСДЙ и выше), безусловно, может рассматриваться как фактор нарушения функции тироцитов, учитывая хорошо известные данные о цитотоксичности, канцерогенных [25] и мутагенных свойствах активных форм кислорода и продуктов ПОЛ. Таким образом, активация окислительного стресса и увеличение степени йодирования белковой фракции ЩЖ при хроническом потреблении высоких доз йода создает возможные предпосылки для развития в дальнейшем узловых и аутоиммунных патологий щитовидной железы, механизмы, развития которых до настоящего времени окончательно не установлены.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Хмара И.М., Матвейчик Т.В., Астахова Л.Н., Шемякина Е.В., Чайковский М.В.* (1996) *Здравоохранение Беларуси*, **2**, 15-18.
2. *Ruwhof C., Drexhage H.A.* (2001) *Thyroid*, **11**, 427-436.
3. *Wolff B.J., Chaikoff I.L.* (1948) *J. Biol. Chem.*, **174**, 555-560.
4. *Paul T., Meyers B., Witorsch R.J., Pino S., Chipkin S., Ingbar S.H., Braverman L.E.* (1988) *Metabolism*, **37**, 121-124.
5. *Vitale M., Di Matola T., D'Ascoli F., Salzano S., Bogazzi F., Fenzi G., Martino E., Rossi G.* (2000) *Endocrinology*, **141**, 598-605.
6. *Denef J.F., Many M.C., van den Hove M.F.* (1996) *Mol. Cell. Endocrinol.*, **121**, 101-103.
7. *Habermann J., Leisner B., Witte A., Pickardt C.R., Scriba P.C.* (1982) *J. Endocrinol. Invest.*, **5**, 153-156.
8. *Uyttersprot N., Pelgrims N., Carrasco N., Gervy C., Maenhaut C., Dumont J.E., Miot F.* (1997) *Mol. Cell. Endocrinol.*, **131**, 195-203.
9. *Cardoso L.C., Martins D.C., Figueiredo M.D., Rosenthal D., Vaisman M., Violante A.H., Carvalho D.P.* (2001) *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **86**, 4339-4343.
10. *Ohayon R., Boeynaems J.M., Braekman J.C., Van den B.H., Gorin Y., Virion A.* (1994) *Mol. Cell. Endocrinol.*, **99**, 133-141.
11. *Eng P.H., Cardona G.R., Fang S.L., Previti M., Alex S., Carrasco N., Chin W.W., Braverman L.E.* (1999) *Endocrinology*, **140**, 3404-3410.
12. *Ekholm R., Bjorkman U.* (1997) *Endocrinology*, **138**, 2871-2878.
13. *Kuliawat R., Arvan P.* (1994) *J. Biol. Chem.*, **269**, 4922-4927.
14. *Yamamoto K., DeGroot L.J.* (1975) *Endocrinology*, **96**, 1022-1029.

КИ И МЕТАБОЛИЗМ ЙОДА В ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЕ

15. *Mahmoud I., Colin I., Many M.C., Denef J.F.* (1986) *Exp. Mol. Pathol.*, **44**, 259-271.
16. *Dunn J.T., Crutchfield H.E., Gutekunst R., Dunn D.* (1993) *Thyroid*, **3**, 119-123.
17. *Alexander N.M.* (1962) *Anal. Biochem.*, **4**, 341-345.
18. *Стальная И.Д., Гаришвили Т.Г.* (1977) в: Методы современной биохимии (под ред. В.Н. Ореховича), М.: Медицина, с.66-68.
19. *Корольюк М.А., Иванова Л.И., Майорова И.Г., Токарева В.Е.* (1988) *Лаб. дело*, №1, 16-19.
20. *Костюк В.А., Потапович А.И., Ковалева Ж.В.* (1990) *Вопр. мед. химии*, **36**(2), 88-91.
21. *Zimmermann M.B.* (2004) *J. Nutr.*, **134**, 1673-1677.
22. *Rose N.R., Bonita R., Burek C.L.* (2002) *Autoimmun. Rev.*, **1**, 97-103.
23. *Lupachyk S., Niatetskaya Z., Nadolnik L.* (2003) *Acta Biochim. Pol.*, **50** (Suppl. 1), 50-51.
24. *Allen E.M.* (1992) *J. Endocrinol. Invest.*, **15**, 519-523.
25. *Ha H.C., Thiagalingam A., Nelkin B.D., Casero R.A.Jr.* (2000) *Clin. Cancer Res.*, **63**, 3783-3787.

Поступила: 17. 12. 2004.

EFFECTS OF CHRONIC HIGH POTASSIUM IODIDE DOSES TREATMENT ON IODINE METABOLISM OF RAT THYROID GLAND

S.V. Lupachyk, L.I. Nadolnik, Z.V. Niatetskaya, V.V. Vinogradov

Institute of Biochemistry, National Academy of Sciences of Belarus, BLK-50,
Grodno, 230017 Belarus; tel. 337761, fax. 8 0152 334121, e-mail: grey2002@tut.by

The effect of various doses of KI on iodine metabolism in rat thyroid gland was investigated. Treatment with 1, 3, 10, 100 and 500 physiological daily doses of KI for 14 days had no influence on blood level of thyroid hormones. However, increased administration of KI was accompanied by the increase of iodine in the thyroid gland tissue by 60-121% due to 35-108% and 94-128% increases of protein-bound and free fractions respectively.

Chronic treatment with both low and high doses of KI was accompanied by oxidative stress. It is suggested that reactive oxygen species and highly iodinated proteins (particularly thyroglobulin) induced by chronic ingestion of high doses of KI can play the important role in the development of thyroid dysfunctions and autoimmune diseases.

Key words: thyroid, potassium iodide, iodine uptake, iodine oxidation, thyroid hormones, oxidative stress