

## СПОСОБ АКТИВАЦИИ ЙОДАККУМУЛИРУЮЩЕЙ ФУНКЦИИ И СЕКРЕТОРНЫХ ПРОЦЕССОВ В ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЕ

С.С. Обернихин, Н.В. Яглова, Е.П. Тимохина, С.В. Назимова, В.В. Яглов

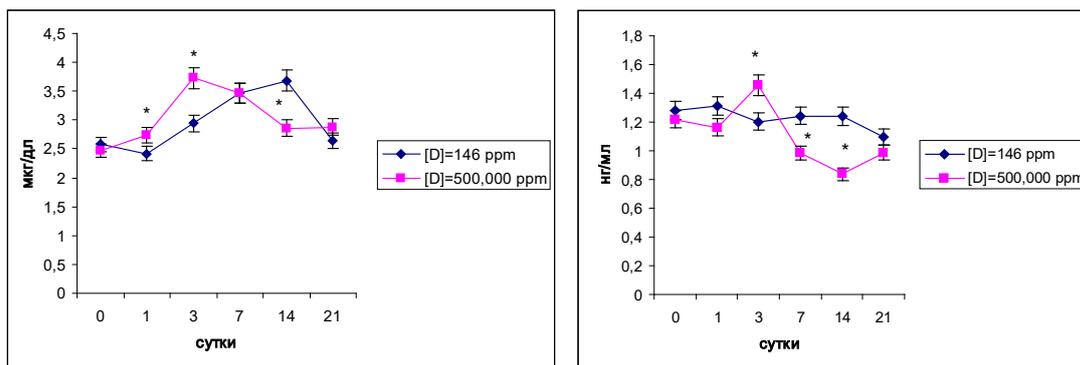
НИИ морфологии человека им. ак. А.П. Авцына ФГБНУ «РНЦХ им. акад. Б.В. Петровского, г. Москва, Россия

**Введение.** В последние годы наблюдается рост числа заболеваний щитовидной железы у взрослых и детей во многих странах. Щитовидная железа является жизненно важным эволюционно древним органом. Она играет центральную роль в реакциях метаболизма, а также участвует в процессе роста и развития. По мнению специалистов, существенный вклад в развитии патологических процессов в щитовидной железе могут вносить эндокринные дисрапторы, способные нарушать секреторную деятельность железы и ее гипоталамо-гипофизарную регуляцию [1], а также влиять на йодаккумуляционную функцию щитовидной железы. Ещё одна проблема, стоящая достаточно остро во многих странах, – это йододефицит, который часто усугубляется воздействием эндокринных дисрапторов [2]. Транспорт йодидов в тироцит происходит против градиента концентрации и обеспечивается работой ионного канала в наружной цитоплазматической мембране. Этот канал формируется натрий-йодный симпортером (НИС) – гликопротеином, осуществляющим транспорт йода через клеточную мембрану за счет электрохимического градиента, образуемого  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  АТФазой [3, 4]. Неблагоприятные факторы окружающей среды могут подавлять экспрессию фолликулярными тироцитами мембранного гликопротеина НИС, обеспечивающего йодаккумуляционную функцию щитовидной железы [5]. Несмотря на многочисленные исследования синтеза и секреции гормонов щитовидной железы, ее регуляция эндогенными и экзогенными факторами еще предстоит изучить. Одним из способов такой регуляции является изменение баланса стабильных изотопов водорода во внутренней среде организма. В целом роль стабильных изотопов основных биогенных элементов до сих пор мало изучена и представляет собой перспективное направление биофизических, биохимических, молекулярных, генетических и других исследований. Известно, что водород имеет два стабильных изотопа: дейтерий и протий. Несмотря на то, что содержание дейтерия в живых организмах достаточно велико [6,7], его роль в метаболизме до конца не изучена. Показано, что сдвиги баланса дейтерия/протия провоцируют метаболические изменения, влияют на пролиферацию клеток и апоптоз [8–11]. Сдвиги в содержании дейтерия в организме влияют на метаболические процессы и изменяют физиологию органов [10], а поскольку все метаболические реакции регулируются гормонами, то они могут быть результатом воздействия дейтериевых сдвигов в метаболических реакциях клеток, а также изменения физиологии эндокринных желез. Изменение содержания дейтерия в организме легко достигается простым и безопасным методом – путем замены питьевой воды на обогащенную или обедненную по дейтерию воду [12], что вызывает большой интерес со стороны исследователей и врачей, так как это даёт возможность использовать регуляцию содержания дейтерия в качестве инструмента для проведения различной терапии. Цель настоящего исследования – выявить изменения в йодаккумуляционной функции щитовидной железы и её секреторных процессах при повышении содержания дейтерия в организме.

**Материалы и методы.** Эксперимент выполнен на самцах крыс Вистар. Контрольная группа ( $n = 10$ ) употребляла дистиллированную водопроводную воду с нормальным содержанием дейтерия (146 ppm). Экспериментальная группа ( $n = 10$ ) потребляла обогащенную дейтерием воду с  $[D] = 500\ 000$  ppm (ПИЯФ им. Б.П. Константинова НИЦ «Курчатовский институт», Санкт-Петербург, Россия) ad libitum вместо водопроводной воды. Забор венозной крови и измерение веса проводили под золотиловым наркозом в 10–11 часов утра накануне эксперимента, а также в 1, 3, 7, 14 и 21 дни. После инкубации при комнатной температуре ткани крови отделяли и собирали сыворотку. Общее изменение массы тела подсчитывали на 21-е сутки. Объем потребляемой воды измеряли ежедневно в 1-й и 3-й сроки, затем каждые 3 дня в 7-й, 14-й и 21-й сроки. Рассчитывали количество потребляемой воды на 1 кг массы тела. Концентрацию общего тироксина (Т4), общий трийодтиронина (Т3), (Cusabio, Китай), тиреотропного гормона (ТТГ) (BioVendor, Чехия) и НИС (тест Fine, Китай) в сыворотке крови измеряли методом иммуноферментного анализа по протоколам производителя с использованием микропланшет-ридера «Anthos 2010» при длине волны 450 нм. Все образцы были измерены в двух экземплярах. Статистический анализ проводился с использованием программного пакета «Statistica 7.0» (StatSoft, Талса, Оклахома, США). Нормальность распределения была подтверждена критерием Шапиро-Уилка. Центральная тенденция и дисперсия количественных признаков с примерно нормальным распределением были представлены как среднее и стандартное отклонение ( $M \pm SEM$ ). Различия считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

**Результаты.** Поскольку в исследование были включены молодые крысы постпубертатного возраста, в конце эксперимента наблюдался физиологический прирост массы тела. У крыс контрольной группы к 21-му дню наблюдалось увеличение массы тела на 38 %. У крыс, потреблявших обогащенную дейтерием воду, наблюдалось увеличение массы тела всего на 9,7 %, а их масса на 21-й день эксперимента была значительно ниже, чем в контрольной группе. Потребление крысами обогащенной дейтерием воды было несколько ниже, чем в контроле, но различия были статистически недостоверны.

Суммарные концентрации Т3, Т4 и тиреотропного гормона измеряли за день до воздействия (день 0). Достоверных различий между группами не обнаружено (рис. 1а, б; рис. 2). Через сутки у крыс, потреблявших воду, обогащенную дейтерием, уровень Т4 был повышен, а Т3 незначительно снижен. ТТГ также был снижен по сравнению с контролем (рис. 3). На 3-и сутки эксперимента отмечалось увеличение продукции Т4 и Т3. Их концентрации значительно превышали значения контрольной группы (рис. 1а, б; рис. 2). Уровень ТТГ хотя и повысился, но всё же был ниже, чем в контрольной группе (рис. 3).



а

б

Рис. 1. Гормональный профиль щитовидной железы крыс, потреблявших воду с модифицированным содержанием дейтерия в течение 21 дня. а – концентрации Т4 в сыворотке; б – концентрации Т3 в сыворотке; \* –  $p < 0,05$  по сравнению с контролем

На 7-и сутки у крыс, опытной группы, концентрация Т4 не отличалась от контрольных значений. Наблюдалось достоверное снижение концентрации Т3 (рис. 1а, б). Уровень ТТГ также был ниже контрольных значений (рис. 2). На 14-е сутки эксперимента у крыс, потреблявших обедненную дейтерием воду, наблюдалось достоверное снижение концентрации всех гормонов щитовидной железы (рис. 1а, б; рис. 2). Содержание ТТГ в сыворотке крови было в три раза ниже контрольных значений (рис. 3). На 21-е сутки эксперимента у крыс, потреблявших обогащенную дейтерием воду, отмечено восстановление секреции гормонов щитовидной железы. Концентрация Т4 соответствовала контрольным значениям, а уровень Т3 был незначительно ниже, чем в контроле (рис. 1а, б; рис. 2). Уровень ТТГ был значительно снижен (рис. 3).

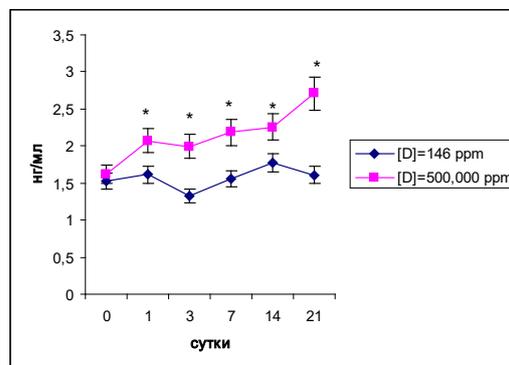
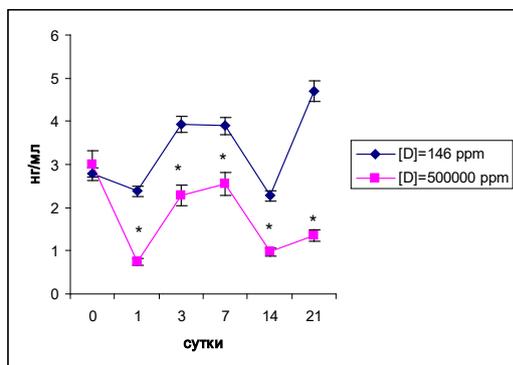


Рис. 2. Концентрация тиреотропного гормона у крыс, потреблявших воду с модифицированным содержанием дейтерия в течение 21 дня; \* –  $p < 0,05$  по сравнению с контролем

Рис. 3. Концентрация ТТГ в сыворотке крови у крыс, потреблявших воду с модифицированным содержанием дейтерия в течение 21 дня; \* –  $p < 0,05$  по сравнению с контролем

Оценка уровней НИС в сыворотке крови уже через сутки потребления тяжёлой воды выявила значительное повышение уровня у крыс опытной группы. В дальнейшем уровень НИС продолжал неуклонно расти и к 21-ым суткам был на 60 % выше исходных значений.

**Обсуждение.** Известно, что функция щитовидной железы зависит от поступления йода. Транспорт иодида из кровотока в цитоплазму посредством НИС является первым этапом синтеза тиреоидных гормонов [13]. Далее йодид транспортируется через апикальную мембрану с помощью пендрина и других белков в коллоид [14]. Затем йодид окисляется тиреопероксидазой которая также присоединяет йодид к тирозильным остаткам тиреоглобулина с образованием Т3 и Т4, которые хранятся в коллоиде, ковалентно связанном с тиреоглобулином. Снижение уровня NIS в крови обычно связано со снижением продукции гормонов щитовидной железы, а восстановление экспрессии NIS положительно влияет на активность щитовидной железы [15]. Существует несколько способов стимуляции НИС. Так для достижения увеличения поглощения радиоiodида достаточного для терапии рака щитовидной железы используется ТТГ, а при раке молочной железы мощным индуктором НИС является ретиноевая кислота [16]. В настоящем исследовании мы обнаружили стимулирующее влияние повышения содержания дейтерия в организме на продукцию тиреоидных гормонов. Однако затем у крыс наступало кратковременное снижение активности гипофиза, что приводило к значительному уменьшению синтеза гормонов щитовидной железой. На третьей неделе эксперимента функционирование гипофизарно-тиреоидной оси восстанавливалось. Оценивая уровни NIS в сыворотке мы обнаружили связь с изменениями концентрации гормонов щитовидной железы в течение трех первых суток и отсутствие таковой в дальнейшем. Более того, NIS не коррелировал с ТТГ, основным положительным регулятором экспрессии NIS [17].

Длительное употребление воды, обогащенной дейтерием, вызывало постепенное повышение уровня НИС в сыворотке крови. Это могло быть связано с изменением транспортной активности йодидного канала. Известно, что NIS транспортирует йодид с помощью электрохимического градиента, генерируемого Na, K-АТФазой [18, 19, 13]. Ранее было показано, что дейтерирование клеток замедляет скорость переносчиков ионов, ингибирует активность АТФ-синтазы и снижает продукцию АТФ [20]. Таким образом, повышение уровня НИС у крыс, потребляющих воду, обогащенную дейтерием, можно рассматривать как компенсаторный процесс и отражать изменения, вызванные градиентом крови / тканей и энергетически связанным снижением эффективности НИС. Однако эта гипотеза указывает на наличие нового неизвестного механизма регуляции синтеза НИС, который требует дальнейших исследований.

**Заключение.** На основании полученных данных можно рассматривать повышение содержания дейтерия в организме как способ повышения йодаккумулялирующей функции щитовидной железы.

*Исследование выполнено по госзаданию FGFZ-2022–0035.*

### Литература

1. Zoeller RT et al. Endocrine-disrupting chemicals and public health protection: a statement of principles from the endocrine society. *Endocrinology*. 2012; 153(9) : 4097–4110. DOI: 10.1210/en.2012–1422.
2. Zimmermann MB, Boelaert K. Iodine deficiency and thyroid disorders. *Lancet Diabetes & Endocrinology*. 2015; 3(4) : 286–295. DOI: 10.1016/S2213–8587(14)70225–6.
3. Carrasco N. Iodide transport in the thyroid gland. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Reviews on Biomembranes*. 1993; 1154(1) : 65–82. DOI: 10.1016/0304–4157(93)90017-I.
4. Darrouzet E, et al. The sodium/iodide symporter: state of the art of its molecular characterization. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Biomembranes*. 2014; 1838(1) : 244–253. DOI: 10.1016/j.bbmem. 2013.08.013.
5. Обернихин СС, и др. Изменения продукции мембранных белков, обеспечивающих йодаккумулялирующую функцию щитовидной железы, при воздействии эндокринного дисраптора ДДТ. *Журнал Белорусского государственного университета. Биология*. 2020; 3:3–12.
6. Podlesak, D.W.; Torregrossa, A. – M.; Ehleringer, J.R.; Dearing, M.D.; Passey, B.H.; Cerling, T.E. Turnover of oxygen and hydrogen isotopes in the body water, CO<sub>2</sub>, hair, and enamel of a small mammal. *Geochim. Cosmochim. Acta* 2008, 72, 19–35.
7. Somlyai, G.; Javaheri, B.; Davari, H.; Gyöngyi, Z.; Somlyai, I.; Tamaddon, K.A.; Boros, L.G. Pre-Clinical and Clinical Data Confirm the Anticancer Effect of Deuterium Depletion. *Biomacromol. J.* 2016, 2, 1–7.
8. Boros, L.G.; Somlyai, I.; Kovács, B.Z.; Puskás, L.G.; Nagy, L.I.; Dux, L.; Farkas, G.; Somlyai, G. Deuterium Depletion Inhibits Cell Proliferation, RNA and Nuclear Membrane Turnover to Enhance Survival in Pancreatic Cancer. *Cancer Control* 2021, 28, 1–12.
9. Zhang, X.; Wang, J.; Zubarev, R.A. Slight Deuterium Enrichment in Water Acts as an Antioxidant: Is Deuterium a Cell Growth Regulator? *Mol. Cell. Proteom.* 2020, 19, 1790–1804.
10. Kravtsov, A. et al. Reduction of Deuterium Level Supports Resistance of Neurons to Glucose Deprivation and Hypoxia: Study in Cultures of Neurons and on Animals. *Molecules* 2022, 27, 243.