

ОРИГИНАЛЬНАЯ СТАТЬЯ

ВЗАИМОСВЯЗЬ ЙОДА И СЕЛЕНА ПРИ КРЕТИНИЗМЕ

THE RELATIONSHIP OF IODINE AND SELENIUM IN CREPINISM

Сяолинъ Хоу¹, Ли Чжу²
Xiaolin Hou¹, Li Zhu²

¹ Национальная лаборатория Рисо, Роскилле, Дания.

² Госпиталь Пекинского медицинского колледжа, Отделение ядерной медицины, Пекин, КНР.

¹ Risø National Laboratory, NUK-202, P.O.Box 49, DK-4000, Roskilde, Denmark; e-mail: xiaolin.hou@risoe.dk

² Department of Nuclear Medicine, Peking Union Medical College Hospital, Beijing, P.R.China.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: йоддефицитное заболевание, йод, селен, бром, крысы, нейтронно-активационный анализ, головной мозг, почки, печень, щитовидная железа.

KEY WORDS: iodine deficiency disorder, iodine, selenium, bromine, rats, neutron activation analysis, brain, kidney, liver, thyroid.

РЕЗЮМЕ: Кретинизм представляет собой йоддефицитное заболевание. В метаболизме йода важное место занимает фермент йодтиронин-5'-деиодиназа 1 типа, содержащий селен. В данной работе на крысах линии Wistar исследовалась взаимосвязь йода и селена при кретинизме. Показано, что концентрация йода в мозге, щитовидной железе, печени и почках крыс с модельным кретинизмом значительно ниже, чем у контрольных животных ($P < 0,01$). Добавка в корм йода или йода и селена значительно увеличивала концентрацию йода в этих тканях ($P < 0,01$). Содержание селена в мозге, печени и почках крыс с модельным кретинизмом было значительно ниже, чему контрольных животных ($P < 0,01$). Потребление больными крысами селена и Se+I в течение 5 недель повышало существенно уровень Se в почках, печени и щитовидной железе ($P < 0,01$), при этом уровень селена в мозге почти не менялся. Добавка йода в диету увеличивала аккумуляцию селена, особенно почками. Однако, симптомы кретинизма не исчезали при использовании Se, I или Se+I. Концентрация Br в мозге и печени крыс с модельным кретинизмом была ниже, чем у контрольных животных, в щитовидной железе выше, а в почках различий между этими группами животных не наблюдалось. I, Se или I+Se не изменяли существенно концентрацию Br в этих органах ($P < 0,1$).

ABSTRACT: Cretinism is an iodine deficient disorder. An important enzyme in iodine metabolism – I-type iodothyronine 5'-deiodinase is a seleno-enzyme. In this work, the relationship of iodine, selenium and cretinism was studied in Wistar rats. It was found that the concentration of iodine in brain, thyroid, liver and kidney in the rats with cretinism was significantly lower than

that in control rats ($p < 0.01$). Supplementation of iodine or I+Se significantly increases the iodine concentration in these tissues ($p < 0.01$). The Se concentration in the brain, liver and kidney of rats with cretinism was significantly lower than that in the control rats ($p < 0.01$). After 5 weeks supplementation of Se and Se+I to the cretinism rats, the selenium concentration in kidney, liver and thyroid was significantly increased ($p < 0.01$), whereas the increase in the brain was not very significant. Addition of iodine to the diet improved the Se absorption and combination of Se in the kidney. However, the symptoms of cretinism did not disappear after supplementation with Se, I or Se+I. The concentration of Br in the brain and liver in the rats with cretinism was lower than that in the control rats, while no significant difference was found in the kidney between two groups ($p < 0.1$). After supplementation with I, Se or Se+I, there were no significant changes of Br concentration in four selected tissues. The Br content in thyroid in the rats of cretinism was significantly higher than that in normal rats, whereas there were no significantly changes after supplementation with I, Se or Se+I ($p < 0.1$).

Введение

Кретинизм является эндемичным заболеванием, проявляющимся в районах критически низкого содержания йода в почве. К настоящему времени точная патология кретинизма не ясна. Отдельные работы указывают на существование другого фактора, влияющего, помимо йода, на развитие кретинизма, а именно — селена (Arthur et al., 1992; Arthur, 1993). Действительно, 3-йодтиронин (Т3) в 5–6 раз активнее, чем тироксин (Т4), и более 80 % Т3 образуется

путем дейодирования Т4 под действием селен-зависимой йодтиронин-5'-дейодиназы 1-го типа печени, почек и других органов, за исключением щитовидной железы (Behne et al., 1990). Так же как и в отношении йода, роль и метаболизм селена при кретинизме не ясны. В данной работе изучено влияние йода и селена на крыс с экспериментальным кретинизмом.

Материалы и методы

В работе использовались 50 гипотиреоидных крыс линии Wistar 2-го и 3-го поколений со средней массой тела 180 ± 30 г. Гипотиреоидизм индуцировали использованием йоддефицитной диеты по аналогии с потреблением йода во Внутренней Монголии (Китай), где кретинизм является эндемическим заболеванием. Аномалии в метаболизме тиреоидного гормона и поведении животных указывают на то, что эти крысы могут служить модельными объектами для изучения кретинизма (Liu et al., 2001). Дефицитная по йоду диета состояла из 40 % кукурузы, 30 % черных бобов и 30 % пшеницы, взятых из региона с типичным дефицитом йода (Чифенг, Внутренняя Монголия, Китай) с добавлением витаминов и минералов (Committee on Standards, 1977). Животные с модельным кретинизмом были разделены на 4 группы по 10 особей, получавших йоддефицитную диету. Животные получали в деионизованной воде: первая группа (Se-sup) — селенит натрия (Na_2SeO_3 , Merck, Германия) в концентрации 0,20 мкг Se/мл; вторая (I-sup) — йодистый калий (KI, Merck, Германия) из расчета 0,1 мкг I/мл, третья (I+Se-sup) — $\text{Na}_2\text{SeO}_3 + \text{KI}$ в количествах 0,1 мкг I/мл и 0,2 мкг Se/мл, четвертая (non-sup, «кретинизм») находилась на диете без добавок микроэлементов. Отдельную пятую группу животных составили 10 контрольных крыс, получавших стандартную диету без дефицита йода. Через 5 месяцев после начала эксперимента всех животных анестезировали эфиром и декапитуировали. Сразу же отбирали образцы крови для определения концентрации тиреоидного гормона (Committee on Standards, 1977). Мозг, почки, печень и щитовидную железу быстро отделяли и запаивали в полиэтиленовые пробирки (Китайский институт атомной энергии (CIAE), Пекин, КНР) и хранили в жидком азоте.

Подготовка образцов

Перед началом проведения анализа ткани размораживали, гомогенизировали и высушивали при 60°C в течение 24 часов. Для анализа отбирали навеску 100–150 мг. Одновременно отбирали 100–200 мг высушенной стандартной и йоддефицитной диеты для определения Se, I и Br.

В работе использовались 100–200 мг высушенных образцов референс-стандартов: бычья печень (NIST-SRM-1577a) и волосы человека (GBW-09101), производства соответственно Американского наци-

онального института стандартов и технологии (США) и Института атомного ядра Академии наук Китая. Стандартные растворы сравнения Se, I и Br готовили нанесением капли соответствующего раствора соли (Na_2SeO_3 , KIO_3 и KBr , h.p., Merck, Германия) на аналитическую фильтровальную бумагу Ш10 мм; последнюю высушивали при комнатной температуре. Все стандарты запаивали в полиэтиленовую пленку 5Ч5 см.

Нейтронно-активационный анализ (НАА)

Содержание селена определяли с помощью инструментального НАА для короткоживущих изотопов по нуклиду ^{77}Se с периодом полураспада 17,5 с. Образец, запаиваемый в полиэтиленовую капсулу (CIAE, Пекин), помещали в реактор с миниаторным источником нейтронов (РМИН) в CIAE для облучения нейтронным потоком 1×10^{12} нейтр./ $(\text{см}^2 \times \text{с})$ в течение 30 с. Облученный образец затем за 3 с переносили с помощью пневматической системы в детекторную камеру и производили измерения в течение 20 с., используя детектор из германия высокой чистоты (HPGe, Canberra Industries, США). Для расчета содержания селена использовали линию г-спектра ^{77}Se , соответствующую излучению 161,9 кэВ. Для анализа образцов с низким содержанием селена применяли циклический НАА. Подробно методика анализа была описана ранее (Hou, Das, 1997; Wang, Hou, 1994).

Для установления концентрации йода и брома в образцах использовали эпитеpmальный нейтронно-активационный анализ. Через 5 часов после определения селена образцы вынимали из полиэтиленовых капсул и помещали в пробирку с защитным слоем нитрида бора (CIAE, Пекин). Пробирку запаивали в новую полиэтиленовую капсулу и отправляли в РМИН (CIAE) для облучения потоком нейтронов 7×10^{11} нейтр./ $(\text{см}^2 \times \text{с})$ в течение 10 мин. Облученный образец переносили с помощью пневматической системы в специальную камеру, капсулу открывали и образец переносили в новую полиэтиленовую капсулу для измерений. Через 2–4 минуты разложения проводили измерения γ -излучения образца с помощью детектора HPGe в течение 20 мин., используя линии 442,9 кэВ и 616,3 кэВ соответственно для ^{128}I и ^{80}Br . Подробно методика описана ранее (Hou et al., 1996, 1997a,b).

Статистический анализ

Результаты обрабатывали с помощью программного пакета SPSS/PC. Достоверность различий между группами оценивали с помощью дисперсионного анализа (ANOVA) с последующим тестированием по критерию наименьшей значимой разности (LSD post hoc test).

Результаты и обсуждение

Данные анализа двух референс-стандартов, приведенные в таблице 1, указывают на хорошее совпа-

Таблица 1. Данные анализа референс-стандартов (мкг/г)*.

Элемент	NIST-SRM-1577a (бычья печень)		GBW-09101 (человеческие волосы)	
	Результаты измерения (n=4)	Паспортное значение	Результаты измерения (n=4)	Паспортное значение
Se	0,696 ± 0,127	0,71 ± 0,03	0,584 ± 0,045	0,58 ± 0,05
I	0,266 ± 0,028		0,908 ± 0,170	(0,875)
Br	8,68 ± 0,12	9,4 ± 0,4	0,665 ± 0,120	0,602

* Приведены значения M±SD; значение в скобках не является аттестованным; пустая клетка означает отсутствие данных в паспорте стандартного образца.

Таблица 2. Содержание Se, I и Br в корме крыс (M±SD, мкг/г сухой массы).

Корм	Se	I	Br
Стандартный	0,379 ± 0,105	1,465 ± 0,033	6,90 ± 0,58
Йоддефицитный	0,052 ± 0,007	0,100 ± 0,004	1,47 ± 0,30
Значение P*	<0,01	<0,01	<0,01

* Различия между содержанием в стандартном корме и корме йоддефицитных крыс.

Таблица 3. Содержание йода в органах крыс (M±SD, мкг/г сухой массы).

Орган		Контроль	Кретинизм (non-sup)	Se-sup	I-sup	I+Se-sup	
Мозг (n=10)	Концентрация	0,423 ± 0,260	0,067 ± 0,020	0,069 ± 0,042	0,069 ± 0,020	0,068 ± 0,029	
	P	С контролем		<0,01	<0,01	<0,01	<0,01
		С йоддефицитной группой			>0,1	>0,1	>0,1
Щитовидная железа (n=4)	Концентрация	4611 ± 118	314 ± 83	261 ± 48	1186 ± 63	1818 ± 98	
	P	С контролем		<0,01	<0,01	<0,01	<0,01
		С йоддефицитной группой			>0,1	<0,01	<0,01
Печень (n=10)	Концентрация	0,753 ± 0,184	0,138 ± 0,040		0,183 ± 0,040	0,177 ± 0,054	
	P	С контролем		<0,01		<0,01	<0,01
		С йоддефицитной группой				<0,05	<0,1
Почки (n=10)	Концентрация	0,364 ± 0,031	0,102 ± 0,020		0,215 ± 0,027	0,187 ± 0,041	
	P	С контролем		<0,01		<0,01	<0,01
		С йоддефицитной группой				<0,01	<0,01

дение результатов определения селена, йода и брома с регламентированными значениями.

Данные о содержании селена, йода и брома в корме и органах животных приведены в таблице 2 и таблицах 3–5 соответственно.

Уровень йода в мозге, щитовидной железе, печени и почках крыс с модельным кретинизмом был достоверно ниже соответствующего уровня микроэлементов у контрольных животных (P<0,01). Концентрация Se в мозге, печени и почках йоддефицитных животных также была ниже (P<0,01). Действительно, уровень как йода, так и селена в йоддефицитной диете был значительно ниже, чем в стандартном корме (P<0,01). Эти данные говорят о том, что низкий уровень йода в зерне из йоддефицитного региона обычно сопутствует низкой концентрации в этом зерне и селена. Однако, в щитовидной железе крыс с модельным кретинизмом и у здоровых жи-

вотных различий в содержании селена не наблюдалось (P<0,1). Этот факт может свидетельствовать о том, что щитовидная железа аккумулирует селен в большей степени, чем другие органы. Сравнение концентрации селена в органах больных и здоровых крыс указывает на меньшие различия в мозге и щитовидной железе, чем в печени и почках, причем самые большие различия наблюдались для печени.

Через 5 недель после начала использования добавок I и I+Se для йоддефицитных крыс концентрация йода практически не изменилась в мозге (P>0,1), немного увеличилась в печени (P<0,1) и значительно повысилась в щитовидной железе и почках (P<0,01), хотя в последнем случае уровень микроэлемента все равно оставался ниже, чем в контрольной группе (P<0,01). Это может свидетельствовать о том, что нарушения метаболизма, вызванные недостатком йода и селена в мозге во II-III поколе-

Таблица 4. Содержание селена в органах крыс ($M \pm SD$, мкг/г сухой массы).

Орган		Контроль	Кретинизм (non-sup)	Se-sup	I-sup	I+Se-sup	
Мозг (n=10)	Концентрация	0,983 ± 0,375	0,493 ± 0,121	0,534 ± 0,123	0,488 ± 0,081	0,601 ± 0,084	
	P	С контролем		<0,01	<0,01	<0,01	
		С йоддефицитной группой			>0,1	>0,1	<0,05
Щитовидная железа (n=4)	Концентрация	1,542 ± 0,324	1,045 ± 0,214	1,909 ± 0,452	1,030 ± 0,304	1,606 ± 0,362	
	P	С контролем		>0,1	<0,01	>0,1	>0,1
		С йоддефицитной группой			<0,01	>0,1	<0,05
Печень (n=10)	Концентрация	2,120 ± 0,293	0,205 ± 0,059		0,269 ± 0,084	2,228 ± 0,193	
	P	С контролем		<0,01		<0,01	>0,1
		С йоддефицитной группой				<0,1	<0,01
Почки (n=10)	Концентрация	3,069 ± 0,089	1,329 ± 0,364		2,150 ± 0,331	5,848 ± 0,885	
	P	С контролем		<0,01		<0,01	<0,01
		С йоддефицитной группой				<0,01	<0,01

Таблица 5. Содержание брома в органах крыс ($M \pm SD$, мкг/г сухой массы).

Орган		Контроль	Кретинизм (non-sup)	Se-sup	I-sup	I+Se-sup	
Мозг (n=10)	Концентрация	7,34 ± 2,50	1,56 ± 0,35	1,90 ± 0,44	2,17 ± 0,29	1,63 ± 0,26	
	P	С контролем		<0,01	<0,01	<0,01	<0,01
		С йоддефицитной группой			<0,1	<0,05	>0,1
Щитовидная железа (n=4)	Концентрация	3,69 ± 1,24	17,2 ± 3,60	19,2 ± 4,62	23,2 ± 3,82	21,2 ± 3,12	
	P	С контролем		<0,01	<0,01	<0,01	<0,01
		С йоддефицитной группой			>0,1	<0,1	>0,1
Печень (n=10)	Концентрация	3,42 ± 0,91	2,69 ± 0,72		3,08 ± 0,60	2,43 ± 0,65	
	P	С контролем		<0,1		>0,1	<0,01
		С йоддефицитной группой				>0,1	>0,1
Почки (n=10)	Концентрация	9,72 ± 0,84	10,38 ± 0,72		12,11 ± 1,04	9,47 ± 0,52	
	P	С контролем		<0,1		<0,01	>0,1
		С йоддефицитной группой				<0,1	>0,1

ниях необратимы и лишь частично могут быть восстановлены добавлением йода в корм. Результаты объясняют, почему сформировавшийся кретинизм не излечивается биодобавками йода и селена.

Добавка Se и Se+I в корм крыс с модельным кретинизмом в течение 5 недель приводила к значительному повышению уровня селена в щитовидной железе, печени и почках ($P < 0,05$ и $0,01$), причем наибольшее увеличение наблюдалось для почек ($P < 0,01$). У йоддефицитных крыс добавка селена в корм не влияла на концентрацию микроэлемента в мозге ($P > 0,1$), в то время как добавление Se+I повышало уровень селена ($P < 0,05$). Это может объясняться агонистическим действием йода на аккумуляцию селена мозгом. Введение в рацион йода может улучшать абсорбцию селена почками ($P < 0,01$). Однако, симптомы кретинизма при использовании Se, I или Se+I оставались прежними. Очевидно, что развитие кретинизма происходит в связи с дефицитом йода, и влияние последнего необратимо. Дефи-

цит селена, возможно, может стимулировать развитие кретинизма, поскольку низкий уровень селена сопровождается дефицитом йода в диете.

Щитовидная железа крыс с модельным кретинизмом содержала в 5 раз больше брома, чем железа контрольных животных, в то время как уровень брома в корме в первом случае был в 5 раз ниже, чем во втором (табл. 2). Добавки I, Se и Se+I в корм йоддефицитным животным не изменяли концентрацию брома в щитовидной железе ($P > 0,1$), хотя потребление йода больными животными (более 3 мкг в день) было существенно выше, чем здоровыми (менее 1,5 мкг в день). Вобецки (Vobecky, Babicky, 1994) сообщает, что увеличение уровня брома в диете может снижать концентрацию йода в щитовидной железе крыс. Наши результаты указывают на то, что щитовидная железа может замещать йод бромом при недостатке первого в пище. После аккумуляции брома щитовидной железой йод уже не в состоянии вытеснить бром. Концентрация бро-

ма в печени и почках у йоддефицитных и здоровых крыс не различались ($P < 0,1$), а добавление в корм I, Se и Se+I крысам с модельным кретинизмом не влияло на концентрацию брома в этих органах ($P > 0,05$). Напротив, концентрация брома в мозге крыс с кретинизмом была в 5 раз ниже, чем у здоровых крыс ($P < 0,01$). Добавки йода несколько увеличивали уровень брома у йоддефицитных животных ($P < 0,05$).

Введение в рацион больным крысам Se и Se+I не влияло на уровень брома в мозге ($P < 0,1$). Это говорит о том, что бром пищи аккумулируется прежде всего в щитовидной железе, а уровень брома в мозге соответствует его содержанию в диете. Бром является одним из микроэлементов, не эссенциальных для человека и животных. Сообщалось, что избыток потребления брома вызывает умственные расстройства (Kunugiyama et al., 1992). Наши результаты показывают, что кретинизм крыс не связан с высоким потреблением брома.

Литература

- Arthur J.R. 1993. Selenium deficiency thyroid hormone metabolism and thyroid hormone deiodase // *Am. J. Clin. Nutr.* Vol.57. No.2. P.236–239.
- Arthur J.R., Nicol F., Becktt G.J. 1992. The role of selenium in thyroid hormone metabolism and effect of selenium deficiency on thyroid hormone and iodine metabolism // *Biol. Trace Elem. Res.* Vol.33. P.37–42.
- Behne D, Kyriakopoulos A., Meinhold H. 1990. Identification of type-I iod-thyronine 5'-deiodinase as a selenoenzyme // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* Vol.173. P.1143–1149.
- Committee on Standards for Nutritional Studies. 1977. Report of the American Institute of Nutrition Ad Hoc Committee on standards for nutritional studies // *J. Nutr.* Vol.107. P.1340–1348.
- Hou X.L., Chai C.F., Chen Q., Qian Q.F., Li C.S. 1997a. Determination of normal tissues from adults of Beijing for iodine and bromine // *Biol. Trace Elem. Res.* Vol.56. No.2. P.225–230.
- Hou X.L., Chai C.F., Qian Q.F. 1997b. Determination of Br and I in biological and environmental materials with ENAA // *Fresenius J. Anal. Chem.* Vol.357. P.1106–1110.
- Hou X.L., Das A. 1997. Accuracy, precision and sensitivity in cyclic INAA with short-lived radionuclides // *J. Radioanal. Nucl. Chem.* Vol.223. P.67–72.
- Hou X.L., Wang K., Chai C.F. 1996. Epithelial neutron activation analysis and its application in MNSR // *J. Radioanal. Nucl. Chem. (Articles)*. Vol.210. P.137–148.
- Kunugiyama I., Ito N., Ishida T. 1992. On the bromine variation in mouse lymphoma // *J. Radioanal. Nucl. Chem. (Letters)*. Vol.165. No.5. P.309–317.
- Liu N.Q., Xu Q., Hou X.L., Liu P.S., Chai Z.F., Zhu L., Zhao Z.Y., Wang Z.H., Li Y.F. 2001. The distribution patterns of trace elements in the brain and erythrocytes in a rat experimental model of iodine deficiency // *Brain Research Bulletin*. Vol.55. P.309–312.
- Vobecky M., Babicky A. 1994. Effect of enhanced bromide intake on the concentration ratio I/Br in the rat thyroid gland // *Biol. Trace Elem. Res.* Vol.43. P.509–516.
- Wang K., Hou X.L. 1994. The determination of selenium content in selenium egg by neutron activation analysis in MNSR // *Chinese J. Isotopes.* Vol.7. P.47–50.