



HAL
open science

Toxicologie de l'iode stable: Etude in vivo des effets biologiques associés à une prophylaxie répétée par l'iodure de potassium

Dalila Lebsir

► **To cite this version:**

Dalila Lebsir. Toxicologie de l'iode stable: Etude in vivo des effets biologiques associés à une prophylaxie répétée par l'iodure de potassium. Pharmacologie. Université Paris Saclay (COMUE), 2018. Français. NNT: 2018SACLS423 . tel-03691257

HAL Id: tel-03691257

<https://theses.hal.science/tel-03691257>

Submitted on 9 Jun 2022

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Toxicologie de l'iode stable : Etude *in vivo* des effets biologiques associés à une prophylaxie répétée à l'iodure de potassium

Thèse de doctorat de l'Université Paris-Saclay
préparée à l'université Paris Sud

École doctorale n°569 Innovation thérapeutique
Du fondamental à l'appliqué : Pharmacologie-toxicologie

Thèse présentée et soutenue à Fontenay Aux Roses, le 16 /11/2018, par

Dalila Lebsir

Composition du Jury :

François Coudore

Pr, Université Paris Sud

Armelle Baeza

Pr, Université Paris Diderot

France Massicot

Dr, Université Paris Descartes

Karine Gauthier-Vanacker

Dr, ENS de Lyon

Thierry Pourcher

Dr, Université Nice- Sophia- Antipolis

Philippe Lestaevel

Dr, Institut de radioprotection et de sureté nucléaire

Maâmar Souidi

Dr, Institut de radioprotection et de sureté nucléaire

Président

Rapporteur

Rapporteur

Examineur

Examineur

Examineur

Directeur de thèse

REMERCIEMENTS

Cette thèse est le fruit d'un travail auquel de nombreuses personnes ont participé par le biais de riches discussions et réflexions scientifiques, d'aides techniques et administratives ou bien seulement par leur présence et leur soutien moral. Ainsi je souhaite remercier tout le monde en espérant n'oublier personne (Si par malheur je vous avais oublié, n'hésitez pas à me contacter pour que je rétablisse cet oubli impardonnable).

Mes premiers remerciements sont adressés aux membres du jury, à savoir le Pr François Coudore pour avoir accepté de présider le jury de ma thèse, Pr Armelle Baeza et Dr France Massicot d'être rapporteurs de ma thèse et d'avoir évalué mes travaux dans un délai assez bref, et les Drs Karine Gauthier-Vanacker, Thierry Pourcher et Philippe Lestaevel pour avoir accepté de participer au jury et d'examiner mon travail. Je leur en suis très reconnaissante.

Je remercie Mr Antony Lebeau, membre de l'agence nationale de la recherche (ANR), pour le soutien qu'il a apporté à la réalisation de ce projet financé par l'ANR. Ainsi que Dr Marc Benderitter coordinateur du Projet et tous les partenaires du projet avec qui nous avons pu avoir des moments très sympathiques d'échange scientifique.

Je remercie Dr Karine Tack pour m'avoir accueilli au Laboratoire de Radiotoxicologie Expérimentale, et de m'avoir permis de réaliser ma thèse dans ce lieu de travail aussi convivial que plaisant.

Sans directeur de thèse, le thésard n'est rien ! Ainsi, J'adresse mes plus profonds remerciements à Maâmar Souidi, mon directeur de thèse, mon pilier durant ces années passées au labo pour la qualité de son encadrement, et sa grande qualité pédagogique, son organisation sans faille et surtout sa "no stress attitude". Je lui suis reconnaissante de m'avoir fait confiance pour mener à bien ce projet. Merci Maâmar pour ton soutien, ta patience, ta gentillesse ainsi que tes encouragements dans les moments difficiles. Travailler avec toi durant ces 3 années a été un réel plaisir. Je tiens également à remercier Philippe, merci de m'avoir souvent écoutée d'une oreille si attentive. Merci pour ton implication précieuse le long de la thèse, tes petites attentions, ta gentillesse et ton soutien. Je te souhaite le meilleur dans ta vie de chercheur, car t'es le meilleur :)

Je tiens également à remercier toutes les aides techniques dont j'ai pu bénéficier pendant ma thèse : merci David de m'avoir montré comment prélever une thyroïde, Amandine d'avoir été ma camarade des gavages, Line de m'avoir initié au Konelab « toujours un grand moment ! », Céline et Dimitri de m'avoir appris les bases de la BioMol, et qui ont toujours répondu OK lorsqu'il s'agissait de passer une commande, et en fin Victor pour son aide aux manip ELISA.

Je remercie David et Amine d'avoir toujours été présents lorsque j'avais des problèmes de statistique. Merci pour vos conseils et explications des notions de base et surtout les réponses aux reviewers.

Cette grande aventure, qu'est la thèse est également pleine de rencontres. J'ai vraiment rencontré des personnes formidables que je tiens à remercier pour leur aide, leur soutien ou tout simplement d'avoir fait partie de cette aventure. Je commence par ma chère Alice celle avec qui j'ai partagé le bureau, beaucoup de moments de stress, de déprime mais surtout de joie. Ma keltoum pour les discussions que nous avons partagées et pour son instinct maternel (tisane du thym). Audrey spécialiste de la numérotation ! Pour sa gentillesse et sa disponibilité. Stéphane pour ses conseils et sa gentillesse. Nicolas et Céline pour leurs encouragements. Et tous les membres du LRTOX : Jean Marc, Teni, Christelles (j'ai fait exprès de mettre le s y en a beaucoup EDI). Je souhaite bon courage pour les nouveaux arrivants Léo et Saloua.

Un grand merci pour les meilleurs stagiaires au monde Julien et Elsa c'était un vrai plaisir de travailler avec vous deux, ce travail n'aurait pas été pareil sans vous !

Et pour finir, je dédierai ces derniers remerciements aux personnes qui me sont les plus précieuses : j'adresse une pensée bien particulière à mon ange gardien « Tayeb » mon Bichou, j'aurais bien aimé que tu sois là, mais je suis sûre que tu es fier de moi là où tu es. Je remercie mes parents qui ont cru en moi lorsque j'ai perdue foi, qui m'ont soutenu tout au long de ce parcours, et qui ont toujours été là pour moi, vous êtes les meilleurs. Je remercie également Mohammed « Moha » mon petit frère chéri pour ses encouragements, Kaouter « ma Cookie » la meilleur des sœurs qui a comblé par sa gentillesse le manque de la famille et qui a supporté mon sale caractère cette dernière période, et en fin ma grand-mère adorable « Aziza » qui m'encourage à sa manière. Un grand merci pour tante Annette et oncle Claude pour leur accueil et leur bienveillance qui rappelle la famille. Sans oublier mes meilleurs amies Ghada, Ibtissem, Lamia, Nada et Marline vous êtes les étoiles qui illuminent mon ciel.

VALORISATION

Publications

1. Lebsir, D., L. Manens, et al. (2018). "Effects of repeated potassium iodide administration on genes involved in synthesis and secretion of thyroid hormone in adult male rat." *Molecular and Cellular Endocrinology journal*. 26 (18): 30077-30077.
2. Lebsir, D., D. Cohen, et al. (2018). "Toxicology of Repeated Iodine Thyroid Blocking in Adult Rat." *Journal of Pharmaceutical Research* (2018) Volume 3 | Issue 1 | 1 of 8.
3. Lebsir, D., J. Guemeri, et al. (2018). "Repeated potassium iodide exposure during pregnancy impairs progeny's brain development". *Neuroscience journal* (en revision).
4. Lebsir, D., E. Cantabella, et al. (2018). "Effect of repetitive potassium iodide on elderly rat's thyroid and cardiovascular function". *BBA journal* (en preparation).

Publications en collaboration

4. Benderitter M., Pourcher T., Martin JC., Darcourt J., Guigon P., Caire-Maurisier F., Pech A., Lebsir D., Guglielmi J., Rebière F., Tack K., Phan G., Lestaevel P., Souidi M., Jourdain JR. (2018). "Do multiple administrations of stable iodine protect population chronically exposed to radioactive iodine: what is 2014-2022 PRIODAC research program teaching us?" *Radiation Protection Dosimetry journal*, pp. 1–13.
5. Cohen, D., D. Lebsir, et al. (2018). "A Systems Biology approach to propose a new mechanism of regulation of repetitive prophylaxis of stable Iodide on Sodium/Iodide Symporter (NIS) ". *Heliyon journal* (soumis).

Communications orales

Lebsir D et al. (2017) Study of the effect of repeated potassium iodide prophylaxis in an adult rat model. Global conference on radiation topics, ConRad 2017. 22nd nuclear medical defense conference. Munich, Germany 08- 11 Mai 2017.

Lebsir D et al. (2017) Doctrine Iode : Etude in vivo des effets biologiques associés à une administration répétée d'iodure de potassium. 11^{ème} édition du congrès national de radioprotection SFRP 2017. Lille, France 07- 09 Juin 2017.

Lebsir D et al. (2018) Toxicology of repeated Iodine Thyroid Blocking (ITB) on adult's thyroid function and on the progeny's brain development. 14th World Congress on Toxicology and Pharmacology. Singapore 12 – 14 Mars 2018.

Lebsir D et al. (2018) Effect of repetitive potassium iodide on elderly rat's thyroid. 12th International Conference on the Health Effects of Incorporated Radionuclides (HEIR). Fontenay-aux-Roses, France 08 – 11 Octobre 2018.

Communication en collaboration

Cohen DPA, Lebsir D, Tack K, Benderitter M and Souidi M. (2018). A Systems Biology approach to discover the mechanism of regulation of repetitive prophylaxis of stable Iodide on Sodium/Iodide Symporter (NIS). CTDC10, Belgrade, Serbia, 18 – 21 Avril 2018. Communication affichée.

Cohen DPA, Lebsir D, Tack K, Benderitter, M and Souidi, M. (2018). A Systems Biology study of the effect of Iodide on the development of foetal brain development in rats. ICSB2018, Lyon, France, 28 October – 1 November 2018. Communication affichée.

Cohen DPA, Lebsir D, Tack K, Benderitter M and Souidi M. (2018). A putative mechanism of the sodium/iodide symporter regulation during repetitive administration of stable iodine described by a system biology approach. 12th International Conference on the Health Effects of Incorporated Radionuclides (HEIR). Fontenay-aux-Roses, France 08 – 11 Octobre 2018. Communication orale.

ABREVIATIONS

PRIODAC : Prophylaxie Répétée par l'IODE stable en situation Accidentelle

IRSN : Institut de Radioprotection et de Sureté Nucléaire

CEA : Commissariat à Energie Atomique

UNS : Université Nice-Sophia-Antipolis

AMU : Université d'Aix Marseille

PCA : Pharmacie Centrale des Armées

KI : iodure de potassium

AIEA : Agence Internationale de l'Energie Atomique

OCDE : Organisation de Coopération et de Développement Economiques

AEN : Agence Energie Nucléaire

INES : Echelle internationale des événements nucléaires et radiologiques

PBq : peta becquerel

TMI : Three Mile Island

mSv : millisievert

Cs : cesium

CPT : cancer papillaire de la thyroïde

CFT : cancer folliculaire de la thyroïde

CAT : cancer anaplasique de la thyroïde

CMT : cancer médullaire de la thyroïde

FMTC : cancer médullaire isolé familial

CT : calcitonine

NEM : néoplasie endocrinienne multiple

HPT : hyperparathyroïdie

RI : rayonnement ionisant

R-non-I : rayonnement non ionisant

PUI : plan d'urgence interne

PPI : plan particulier d'intervention

KI : iodure de potassium

CTG : canal thyroïdienne

CFT : cellules folliculaires thyroïdiennes

E : jour embryonnaire

Tg : thyroglobuline

TPO : thyroperoxydase

TSH : thyroestimuline

TSHR : récepteur de la TSH

NIS : symporteur d'iodure et de sodium

TTF : facteurs de transcription thyroïdiens

Hhex : hematopoietically expressed homeobox

Pax8 : paired box 8

I : iode

I⁻ : iodure

T4 : thyroxine (tetraiodothyronine)

T4L : thyroxine libre

T3 : triiodothyronine

rT3 : triiodothyronine inverse

TBG : globuline liant la thyroxine

PDS : pendrine

hCG : hormone chorionique gonadotrope humaine

TRH : hormone thyroïdienne

ROS : espèces réactives de l'oxygène

H₂O₂ : peroxyde d'hydrogène

DUOX 2 : dual oxidase 2

DUOXA2 : facteur de maturation de la dual oxidase 2

DEHAL1 : iododtyrosine deshalogenase

TR : récepteur des hormones thyroïdiennes

BMR : taux métabolique basale

REE : dépense énergétique au repos

Na⁺ : sodium

K⁺ : potassium

Ca²⁺ : calcium

SERCA : pompe Ca²⁺ ATPase du réticulum sarcoplasmique / endoplasmique

UCP : protéine découplant

BAT : tissu adipeux brun

SNS : système nerveux sympathique

NA : noradrénaline

TRE : élément de réponse aux hormones thyroïdiennes

WAT : tissu adipeux blanc

BMI : indice de masse corporelle

HPT : axe hypothalamo – hypophysaire – thyroïdien

LDL : lipoprotéines de basse densité

HDL : lipoprotéines de haute densité

SREBP : la protéine de liaison de l'élément de réponse aux stéroïdes

SOMMAIRE

Contenu

AVANT-PROPOS	14
INTRODUCTION.....	17
CHAPITRE I : Accident nucléaire et cancer de la thyroïde.....	18
1 Accidents nucléaires.....	19
1.1 Accident de Three Mile Island	20
1.1.1 Causes de l'accident	20
1.1.2 Rejets à l'environnement	20
1.1.3 Impact radiologique de l'accident.....	21
1.2 Accidents de Tchernobyl	21
1.2.1 Causes de l'accident	21
1.2.2 Rejets à l'environnement	22
1.2.3 Impact radiologique de l'accident.....	22
1.3 Accident de Fukushima	23
1.3.1 Causes de l'accident	23
1.3.2 Rejets à l'environnement	24
1.3.3 Impact radiologique de l'accident.....	24
2 Cancer de la thyroïde.....	25
2.1 Epidémiologie du cancer de la thyroïde	26
2.2 Principaux types du cancer de la thyroïde	26
2.2.1 Cancer papillaire de la thyroïde (CPT)	26
2.2.2 Cancer folliculaire de la thyroïde (CFT)	26
2.2.3 Carcinome à cellules oxyphiles de Hürthle.....	27
2.2.4 Carcinome anaplasique (CAT).....	27
2.2.5 Cancer médullaire de la thyroïde (CMT)	27
2.3 Facteurs de risque du cancer de la thyroïde.....	28
2.3.1 Exposition au rayonnement.....	28
2.3.2 Carence en iode	29
2.3.3 Prédisposition génique	30
2.3.4 Autres facteurs.....	30
CHAPITRE II : Les contremesures	32

1	Prophylaxie aiguë à l'iode stable	35
1.1	Les effets indésirables intra-thyroïdiens de la dose unique	36
1.2	Les effets indésirables extra-thyroïdiens de la dose unique	37
2	Prophylaxie répétée à l'iode stable	38
CHAPITRE III : Iode, Hormones Thyroïdiennes & Effet Wolff-Chaikoff 39		
1	La glande thyroïde	40
1.1	Embryologie de la glande thyroïde.....	41
1.2	Développement de la glande thyroïde	42
1.3	Contrôle du développement de la thyroïde.....	43
2	Iode	45
2.1	Histoire	45
2.2	Propriétés physico-chimique	46
2.3	Abondance et distribution.....	48
2.4	Pharmacologie	51
2.4.1	Absorption intestinale	51
2.4.2	Transport dans le sang.....	51
2.4.3	Métabolisme thyroïdien.....	52
2.4.4	Métabolisme extra-thyroïdien	52
2.4.5	Élimination	52
2.4.6	Stockage	53
2.5	Métabolisme de l'iode durant la grossesse	53
2.6	Interaction alimentaire	54
3	Hormones thyroïdiennes et effet Wolff-Chaikoff	55
3.1	Molécules impliquées dans la biosynthèse des hormones thyroïdiennes	56
3.1.1	Iode (I).....	56
3.1.2	Thyroglobuline (TG).....	57
3.1.3	Thyroïde peroxydase (TPO).....	58
3.1.4	Système générateur de H ₂ O ₂	58
3.2	Mécanismes associés à la synthèse des hormones thyroïdiennes.....	59
3.2.1	Oxydation de la TPO par H ₂ O ₂	59
3.2.2	Réaction d'iodation	60
3.2.3	Réaction de couplage	60
3.2.4	Recyclage de l'iodure	60

3.2.5	Sécrétion des hormones thyroïdiennes	61
4	Effet Wolff-Chaikoff et échappement	63
5	Mécanisme d'action des hormones thyroïdiennes	65
	CHAPITRE IV : Impact des hormones thyroïdiennes sur l'organisme.....	70
1	Impact des hormones thyroïdiennes sur l'organisme.....	71
1.1	Thermogénèse et poids corporel	71
1.1.1	Le métabolisme basal	71
1.1.2	La Thermogénèse	72
1.1.3	Muscle squelettique	72
1.1.4	Régulation du poids corporel	72
1.2	Métabolisme des lipides	73
1.2.1	Régulation de la synthèse du cholestérol	73
1.2.2	Efflux de cholestérol	74
1.2.3	Catabolisme du cholestérol : Synthèse des acides biliaires.....	74
1.3	Métabolisme des acides gras	75
1.4	Métabolisme des glucides.....	75
1.5	Développement du cerveau	78
1.5.1	Prolifération, survie et migration	78
1.5.2	Synaptogénèse	78
1.5.3	Myélinogénèse	79
1.5.4	Gliogénèse	79
1.6	Fonction cardiovasculaire.....	80
1.7	Croissance osseuse	83
	OBJECTIFS DE LA THESE & PROTOCOLES EXPERIMENTAUX.....	84
1	Objectifs de la thèse	85
2	Protocoles expérimentaux	87
2.1	Modèle de référence : rat <i>Wistar</i> adulte (3 mois)	89
2.2	Modèle à risque : rates <i>Wistar</i> gestantes (exposition <i>in utero</i>).....	90
2.3	Modèle à risque : rat <i>Wistar</i> âgé (12 mois)	91
	RESULTATS	92
1	Résultat I : modèle de référence	94
1.1	Résumé des deux articles modèle adultes.....	94

1.2	Article 1: Effects of repeated potassium iodide administration on genes involved in synthesis and secretion of thyroid hormone in adult male rat.....	95
1.3	Article 2: Toxicology of Repeated Iodine Thyroid Blocking in Adult Rat.....	104
2	Résultat II : modèle à risque (<i>in utero</i>)	113
2.1	Résumé de l'article modèle <i>in utero</i>	113
2.2	Article: Repeated potassium iodide exposure during pregnancy impairs progeny's brain development	114
3	Résultat III : modèle à risque (rat âgé).....	142
3.1	Résumé de l'article modèle âgé.....	142
3.2	Article : Effect of repetitive potassium iodide on elderly rat's thyroid and cardiovascular functions.....	143
	DISCUSSION GENERALE.....	162
	CONCLUSIONS & PERSPECTIVES.....	168
	REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	171
	ANNEXES.....	188
1	Annexe I: projet PRIODAC.....	190
1.1	Résumé de la revue projet PRIODAC	190
1.2	Revue: DO MULTIPLE ADMINISTRATIONS OF STABLE IODINE PROTECT POPULATION CHRONICALLY EXPOSED TO RADIOACTIVE IODINE: WHAT IS PRIODAC RESEARCH PROGRAM (2014–22) TEACHING US?.....	192
2	Annexe II : Etude mécanistique par approche de type biologie des systèmes	206
2.1	Résumé de l'article	206
2.2	Article: A Systems Biology approach to propose a new mechanism of regulation of repetitive prophylaxis of stable Iodide on Sodium/Iodide Symporter (NIS)	208

LISTE DES ILLUSTRATIONS

Figure 1 : INES, échelle internationale des évènements nucléaires et radiologiques (adaptée de (IAEA 2008)).	19
Figure 2 : Rejets de produits de fission radioactifs du noyau TMI-2 dans l'enceinte de confinement et dans l'environnement.	21
Figure 3 : Effet des rayonnements ionisants et non ionisants sur la glande thyroïde (Albi, Cataldi et al. 2017).	29
Figure 4 : Structure de la glande thyroïde.	40
Figure 5 : Embryologie et développement de la thyroïde.	41
Figure 6 : Développement de la glande thyroïde chez la souris.	43
Figure 7 : Chronologie de l'expression des gènes de la thyroïde en développement.	44
Figure 8 : Diode gazeux.	45
Figure 9 : Diode solide.	45
Figure 10 : Tableau de classification périodique des éléments, avec le symbole chimique et le numéro atomique (adaptée de (Sturza 2014)).	47
Figure 11 : Iode.	47
Figure 12 : Cycle biogéochimique de l'iode (E. Hazouard, S. Leroy et al. 2000).	50
Figure 13 : Devenir de l'iode dans l'organisme.	55
Figure 14 : Axe thyroïdienne.	62
Figure 15 : Schéma de la biosynthèse et libération des hormones thyroïdiennes au niveau du follicule thyroïdien.	63
Figure 16 : Effet Wolff-Chaikoff et le mécanisme d'échappement.	65
Figure 17 : T3 module l'expression des gènes chez pratiquement tous les vertébrés.	67
Figure 18 : Une représentation de la façon dont un récepteur nucléaire activé par un ligand (T3) pourrait modifier la structure de la chromatine.	68
Figure 19 : Aperçu des sites de régulation du métabolisme par les hormones thyroïdiennes.	77
Figure 20 : Chronologie du développement du système thyroïdien et du cerveau chez le rat.	80
Figure 21 : Effet des hormones thyroïdiennes sur la fonction cardiovasculaire.	82
Figure 22 : Effets génomiques des hormones thyroïdiennes (T3) sur les cardiomyocytes. (adaptée de (Jabbar, Pingitore et al. 2017)).	82
Figure 23 : Effet des hormones thyroïdiennes sur la croissance osseuse à différents stades de développement.	83
Figure 24 : Protocole expérimental modèle adulte.	89
Figure 25 : Protocole expérimental modèle in utero.	90
Figure 26 : Protocole expérimental modèle âgé.	91
Tableau 1 : Activité de l'I131 produite par des essais d'armes atmosphériques par rapport aux rejets signalés suite à des accidents ou à la production de carburants.	20
Tableau 2 : Inventaire de base et estimation de la libération totale des radionucléides les plus significatifs durant l'accident de Tchernobyl (adapté de (Cort 1998)).	22
Tableau 3 : Inventaire de base et estimation de la libération totale des radionucléides durant l'accident de Fukushima (Steinhauser, Brandl et al. 2014).	24

Tableau 4 : Niveau d'intervention (Papamichail and French 2000, P. SMEESTERS, L. VAN BLADEL et al. 2018).	33
Tableau 5 : Dose unique recommandée d'iode stable selon le groupe d'âge (WHO 2017).....	35
Tableau 6 : Effets indésirables extra-thyroïdiens après la prophylaxie à l'iodure de potassium.	37
Tableau 7 : Expression et fonctions établies des facteurs de transcription de la thyroïde dans les primordiums des organes dérivés de l'endoderme antérieur. (Nilsson and Fagman 2017).....	44
Tableau 8 : Propriétés physique de l'Iode (L'Abbé 2003).	48
Tableau 9 : Quantité d'iode en fonction de la région (L'Abbé 2003).	49
Tableau 10 : Troubles dus à une carence en iode par groupe d'âge.	50
Tableau 11 : Distribution tissulaire des récepteurs aux hormones thyroïdiennes.	67

AVANT-PROPOS

La production et la consommation d'énergie sont des facteurs essentiels pour le développement économique, la réduction de la pauvreté et l'amélioration des niveaux de vie, sans oublier toutes les questions relatives à la santé. L'électricité d'origine nucléaire est la principale énergie produite et consommée en France. Elle provient de 58 réacteurs de différents niveaux de puissance constituant un parc réparti sur l'ensemble du territoire.

L'énergie nucléaire dépend d'un combustible fissile l'uranium. La radioactivité issue des bombes d'Hiroshima et de Nagasaki, des campagnes d'essais atmosphériques des années 1950 et 1960 résulte d'actions hélas délibérées. Au contraire, les rejets incontrôlés de radioactivité de l'industrie nucléaire militaire ou civile sont bien des accidents. Le nucléaire civil dont le développement est venu après a bénéficié de l'expertise acquise. Une culture de la sécurité s'est développée et l'industrie nucléaire s'est longtemps enorgueillie d'une absence d'accidents majeurs. Mais l'accident de Three Mile Island (1979), celui de Tchernobyl (1986) et plus récemment celui de Fukushima (2011) sont venus bouleversé cette sérénité et la confiance du public.

Pendant un accident nucléaire, les iodes radioactifs produits de fission de l'uranium peuvent être libérés dans un panache ou un nuage, contaminant l'environnement (air, eau, sol...etc.) et se déposant sur la peau et les vêtements, entraînant ainsi une exposition externe. L'inhalation d'air contaminé et l'ingestion d'aliments et d'eau potable contaminés peuvent entraîner une exposition interne aux rayonnements et une capture d'iode radioactif principalement par la thyroïde. La glande thyroïde utilise l'iode pour produire des hormones dites « hormones thyroïdiennes » et ne différencie pas l'iode radioactif de l'iode stable. Par conséquent, après un accident nucléaire, si l'iode radioactif est inhalé ou ingéré, la glande thyroïde l'absorbe de la même manière que l'iode stable.

Si l'iode stable est administré avant ou au début de l'exposition à l'iode radioactif, l'absorption de ce dernier sera bloquée via la saturation de la glande thyroïde avec de l'iode stable, réduisant ainsi efficacement l'exposition interne de la thyroïde. Dans l'ensemble, l'administration orale d'iode stable (ainsi que la mise en œuvre de mesures de protection physiques) est considérée comme une stratégie appropriée pour réduire le risque de problèmes de santé chez les personnes exposées à un rejet accidentel d'iode radioactif.

L'exposition des populations aux iodes radioactifs peut être responsable en l'absence de mesures de protection adaptées de l'apparition de cancer de la thyroïde. Une administration unique d'iode stable, renouvelable une deuxième fois chez les adultes est recommandée par les autorités compétentes. Cependant, l'administration répétée peut s'avérer nécessaire en cas d'exposition prolongée (au-delà de 24 heures) ou répétée, d'ingestion inévitable d'aliments et d'eau potable contaminés, et lorsque l'évacuation n'est pas possible.

Les modalités et les effets de l'administration unique d'iode stable sont connus, par contre on dispose de peu de données en ce qui concerne l'administration répétée.

Pour combler ces lacunes, la France a lancé un projet de recherche « **PRIODAC : Prophylaxie Répétée par l'IODe stable en situation ACCidentelle** » en 2014. Ce projet est en collaboration entre l'institut de radioprotection et de sûreté nucléaire (IRSN), le commissariat à énergie

atomique (CEA), l'université Nice-Sophia-Antipolis (UNS), l'université d'Aix Marseille (AMU) et la pharmacie centrale des armées (PCA). Ce programme de recherche a pour objectifs de déterminer les modalités d'administration répétée d'iode stable, de faire évoluer l'actuelle autorisation de mise sur le marché des comprimés d'iodure de potassium (KI) dosés à 65 mg, d'évaluer les effets indésirables de l'administration répétée d'iode stable sur les grandes fonctions physiologiques de l'organisme, et de mieux comprendre les mécanismes moléculaires de la régulation du métabolisme de l'iode.

Les résultats issus des travaux mis en œuvre dans le cadre de ce projet permettront à termes de proposer aux autorités sanitaires de nouvelles solutions opérationnelles pour la prévention des expositions aux iodes radioactifs et contribuant ainsi à l'évolution de la « doctrine iode ». De plus, les nouvelles recommandations françaises issues de ces travaux scientifiques innovants pourront faire évoluer la « doctrine iode » au niveau international avec pour bénéfice une harmonisation des pratiques en la matière.

Le travail de thèse présenté ci-après est donc un projet exploratoire, qui s'inscrit dans la démarche d'acquisition de nouvelles données en radioprotection promu par le programme PRIODAC. Nous nous sommes focalisés sur l'évaluation et la description des effets biologiques associés à une prise répétée d'une dose optimale de KI chez un modèle expérimental le rat à différents stades de développement (*in utero* – adulte et âgé).

INTRODUCTION

CHAPITRE I : Accident nucléaire et cancer de la thyroïde

1 Accidents nucléaires

Les incidents et les accidents dans les installations nucléaires provoquent dans la société des questionnements sanitaires et attirent souvent l'attention des médias tant au niveau national qu'international. Par conséquent, l'Agence internationale de l'énergie atomique (AIEA) et l'Agence de l'organisation de coopération et de développement économique pour l'énergie nucléaire (OCDE / AEN) ont décidé, vers 1990, de coopérer à l'élaboration d'une échelle internationale ayant pour objectif de classer les événements nucléaires et radiologiques de manière cohérente et de communiquer leur signification en matière de sécurité au grand public, aux médias et à la communauté technique. Cela a abouti à INES « l'échelle internationale des événements nucléaires et radiologiques » (Figure 1) (IAEA 2008). Les événements sont classés sur l'échelle à sept niveaux : les niveaux 4 à 7 sont appelés «accidents» et les niveaux 1 à 3 «incidents». Les événements sans importance sur le plan de la sûreté nucléaire sont classés comme «niveau 0». Les événements sont considérés en fonction de leur impact sur trois domaines différents : l'impact sur les personnes et l'environnement ; impact sur les barrières radiologiques et les contrôles dans les installations ; et impact sur la défense en profondeur. Le niveau le plus élevé, le niveau 7, est défini comme suit :

Un événement industriel accidentel grave entraînant une libération de radioactivité dans l'environnement, radiologiquement équivalente à plusieurs dizaines de milliers de térabecquerels (TBq) d'I-131 (Hogberg 2013).

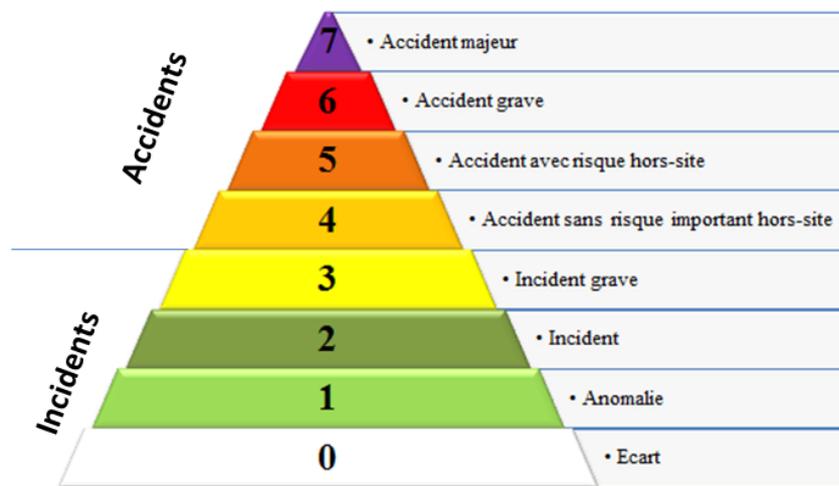


Figure 1 : INES, échelle internationale des événements nucléaires et radiologiques (adaptée de (IAEA 2008)).

Divers scénarios pourraient conduire à une exposition massive des populations aux rayonnements nucléaires (Tableau 1). Ces dernières décennies ont connus trois accidents majeurs de réacteurs qui ont entraînés de grands dommages à la centrale, et des expositions importantes des populations aux rayonnements en raison des rejets de matières radioactives dans l'environnement.

Tableau 1 : Activité de l'I131 produite par des essais d'armes atmosphériques par rapport aux rejets signalés suite à des accidents ou à la production de carburants.

Evènement	I131 (PBq)	Références
Tests d'armes	675.000	(Beck and Bennett 2002)
Site d'essai du Nevada	5400	
Accident de Tchernobyl	1800	(Schlumberger and Le Guen 2012)
Accident de Fukushima	130	
Rejet de Hanford	27	(Beck and Bennett 2002)
Accident Three Mile Island	0.74	

1.1 Accident de Three Mile Island

1.1.1 Causes de l'accident

L'accident s'est produit le 28 mars 1979 dans la centrale nucléaire de Three Mile Island (TMI) aux États-Unis. Cet accident a été classé au niveau 5 de l'INES. À la suite d'une chaîne d'événements accidentels dus à des erreurs mécaniques et humaines au niveau du réacteur N° 2 de la centrale. Deux défaillances se sont produites : la défaillance de l'alimentation normale en eau des générateurs de vapeur, car les vannes étaient fermées au lieu d'être ouvertes, suite à un oubli de l'opérateur. Ces vannes ont été réouvertes manuellement, huit minutes plus tard. Néanmoins, pendant ce laps de temps, l'eau du circuit primaire, insuffisamment refroidie, avait fait augmenter la pression de ce circuit jusqu'à déclencher l'ouverture de la vanne de décharge du pressuriseur, dont le rôle est d'évacuer l'excès de vapeur vers un réservoir et donc de diminuer la pression dans le circuit primaire. Lorsque le refroidissement par les générateurs de vapeur fut rétabli et que la pression du circuit primaire commença à descendre en-dessous du seuil d'ouverture de la vanne de décharge, une seconde défaillance se produisit : la vanne de décharge resta coincée en position ouverte, d'où l'apparition d'une brèche dans la partie supérieure du pressuriseur. Il s'est avéré qu'au moins 45% du cœur (62 tonnes) avaient fondu et que 19 tonnes s'étaient retrouvées dans la partie inférieure de la cuve du réacteur (Hogberg 2013).

1.1.2 Rejets à l'environnement

Bien que des fractions importantes de produits de fission gazeux et volatils aient été libérées du cœur endommagé dans le confinement du réacteur. Seules de très petites quantités de substances radioactives ont été rejetées dans l'environnement (Figure 2), à l'exception des gaz rares, car l'intégrité de l'enceinte a été préservée (Kemeny 1979). Les rejets dans l'environnement correspondent à peu près à une décennie de rejets opérationnels normaux. La plus grande partie des iodes radioactifs et du césium 137 libérés s'est retrouvée sous forme de divers composés chimiques dissous dans l'eau dans le système de refroidissement du réacteur et dans l'enceinte de confinement.

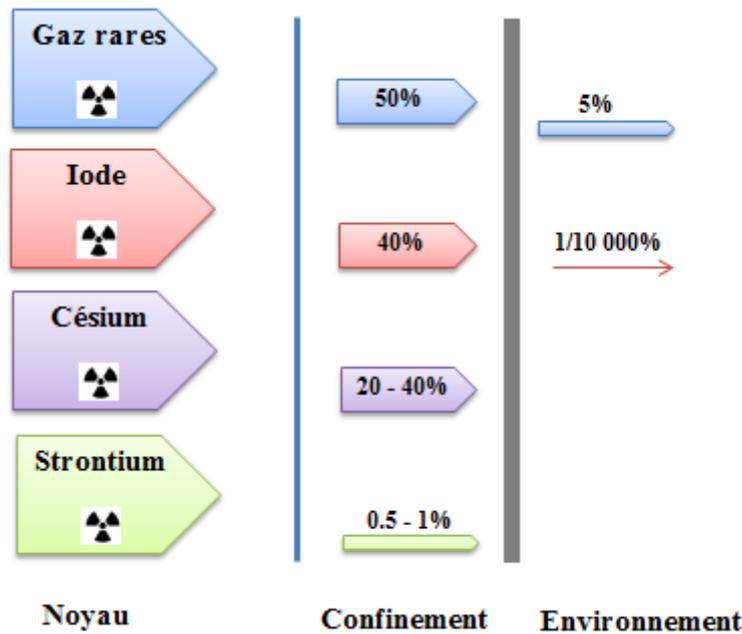


Figure 2 : Rejets de produits de fission radioactifs du noyau TMI-2 dans l'enceinte de confinement et dans l'environnement.

1.1.3 Impact radiologique de l'accident

Suite aux rejets limités décrits ci-dessus, les doses à la population autour de TMI étaient également limitées. La dose moyenne à environ deux millions de personnes dans la région a été estimée aux alentours 0,01 millisievert (mSv). La dose maximale à une personne à la limite du site aurait été inférieure à 1 mSv. Bien que quelques opinions divergentes aient été exprimées, des enquêtes approfondies et des évaluations menées par plusieurs organisations compétentes ont conclu qu'en dépit des graves dommages au réacteur, la libération réelle avait des effets négligeables sur la santé des individus ou de l'environnement (Hogberg 2013).

1.2 Accidents de Tchernobyl

1.2.1 Causes de l'accident

L'accident s'est produit le 26 avril 1986 au cours d'un essai technique dans l'unité 4 de la centrale suite à des déficiences dans la conception du réacteur aggravées par des erreurs commises par les opérateurs, y compris des infractions graves aux règles de sécurité. La centrale est située à 120 km au nord de Kiev, la capitale de l'Ukraine. Cet accident a été classé au niveau 7 de l'INES. L'unité 4 était un réacteur modéré au graphite, son noyau été composé de 1660 canaux de combustible. Chaque canal contient un élément combustible refroidi par l'eau pompée vers le haut à travers le canal. Au cours d'un programme d'essais mené du 25 au 26 avril, les exploitants ont mis le réacteur dans un état instable, violant les limites de fonctionnement prescrites à basse puissance et désactivant les systèmes de sûreté. Quand un opérateur a éteint le réacteur dans les premières heures du 26 avril, un très fort pic de puissance a été déclenché par des réactions de fission, provoquant la destruction explosive d'un nombre considérable de canaux de combustibles. La vapeur d'échappement et les gaz ont surpressurisé la cavité centrale, soulevant et renversant son couvercle de 1000 tonnes, soulevant également les tiges de contrôle hors du noyau. Une autre explosion s'est produite, le réacteur a été complètement détruit provoquant la

libération de produits de fission à très courte durée de vie, ce qui a entraîné des débits de dose très élevés dans les zones adjacentes. Un incendie s'est déclenché dans le graphite restant qui a brûlé pendant une dizaine de jours, causant d'autres rejets radioactifs (Hogberg 2013, Steinhauser, Brandl et al. 2014).

1.2.2 Rejets à l'environnement

À la suite du processus d'accident explosif décrit ci-dessus, une grande partie de l'inventaire de base des radionucléides, en particulier les nucléides gazeux et volatils, ont été dispersés dans l'environnement (Tableau 2). Ainsi, 100% des gaz rares, tels que Xe-133 ont été libérés. Environ 60% du contenu de base de l'I-131 ont été libérés dans l'atmosphère. Une fraction considérable des rejets a été soulevée à haute altitude par le caractère explosif de l'accident (Cort 1998).

Tableau 2 : Inventaire de base et estimation de la libération totale des radionucléides les plus significatifs durant l'accident du Tchernobyl (adapté de (Cort 1998)).

Groupe d'éléments	Radio-nucléides	Demi-vie	Inventaire de base (PBq)	Quantité libérée estimée (PBq)
Gaz rares	¹³³ Xe	5.3 jours	6500	6500
Eléments volatiles	¹³¹ I	8.04 jours	3200	≈ 1800
	¹³² Te	3.26 jours	2700	≈ 1200
	¹³⁴ Cs	2.06 ans	180	≈ 54
	¹³⁷ Cs	30.1 ans	280	≈ 85
Eléments avec volatilité intermédiaire	⁸⁹ Sr	50.6 jours	2300	≈ 120
	⁹⁰ Sr	28.5 ans	200	≈ 10
	¹⁰³ Ru	39.4 jours	4800	> 170
	¹⁰⁶ Ru	367 jours	2100	> 73
	¹⁴⁰ Ba	12.8 jours	4800	≈ 240
Eléments réfractaires	⁹⁵ Zr	64.0 jours	5600	200
	⁹⁹ Mo	2.75 jours	4800	> 170
	¹⁴¹ Ce	32.5 jours	5600	196
	¹⁴⁴ Ce	284 jours	3300	≈ 120
	²³⁸ Pu	86.4 ans	1	0.035
	²³⁹ Pu	24100 ans	0.85	0.03
	²⁴⁰ Pu	6553 ans	1.20	0.042
	²⁴¹ Pu	14.7 ans	170	≈ 6
	²⁴² Cm	162.8 jours	26	≈ 0.9

1.2.3 Impact radiologique de l'accident

Les grandes quantités de radioactivité libérées ont provoqué une grave contamination du sol à proximité de la centrale. De plus, des quantités importantes de radioactivité ont été soulevées très haut dans l'atmosphère et transportées dans toute l'Europe, entraînant une contamination locale importante du sol en fonction des facteurs de vent et de précipitation. Deux membres du personnel de la centrale ont été tués directement par l'explosion. 134 travailleurs des services

d'urgence ont été exposés à des doses suffisamment élevées pour provoquer un syndrome d'irradiation aiguë, causant la mort de 28 travailleurs en 1986. Dix-neuf autres sont décédés entre 1987 et 2004 de diverses causes qui peuvent ou non être attribuables à l'exposition aux rayonnements. Le nombre total de cas de cancer de la thyroïde enregistrés entre 1991 et 2015 avoisinait les 20 000, ce nombre est presque trois fois supérieur au nombre enregistré dans la même cohorte de 1991 à 2005 (Benderitter, Pourcher et al. 2018). Un groupe d'experts internationaux a prédit que parmi les 600 000 personnes recevant les expositions les plus importantes, généralement supérieures à 20 mSv il pourrait y avoir une augmentation de la mortalité par cancer radio-induit. Cela pourrait représenter jusqu'à 4000 cancers mortels, en plus des quelque 100 000 cancers mortels auxquels on peut s'attendre dans ce groupe de population, liés à toutes les autres causes. Il y a aussi des indications d'une augmentation de l'incidence de la leucémie et des cataractes chez ceux qui ont reçu des doses plus élevées dans ce groupe. Parmi les 5 millions de personnes vivants dans des zones où l'exposition se situe entre 10 et 20 mSv, les augmentations projetées de la mortalité par cancer sont plus incertaines mais devraient être inférieures à 1%. Parmi les centaines de millions de personnes en Europe exposées à des doses de quelques mSv ou moins, une augmentation serait encore plus difficile à détecter. Néanmoins, des estimations pour l'Europe ont été faites en utilisant le modèle linéaire sans seuil pour les risques de cancer liés à l'exposition au rayonnement. Ces estimations indiquent que jusqu'en 2065, environ 25 000 autres cas de cancer (autre que thyroïdien) pourraient être attribués à l'accident de Tchernobyl (Hogberg 2013).

1.3 Accident de Fukushima

1.3.1 Causes de l'accident

L'accident s'est produit le 11 mars 2011 suite à un tsunami provoqué par un tremblement de terre, qui a endommagé le système de refroidissement du réacteur (Bouville, Linet et al. 2014). La centrale nucléaire est située sur la côte est du Japon. Cet accident a été classé au niveau 7 de l'INES. La centrale était exploitée par la compagnie d'électricité de Tokyo (TEPCO), et comprenait six réacteurs à eau bouillante (Schwantes, Orton et al. 2012), tous mis en service dans les années 1970. le 11 mars, un séisme de magnitude 9,0 s'est produit à environ 200 km au nord-ouest de la station de Fukushima Daiichi (Thielen 2012). Au moment du tremblement de terre, les unités 1-3 étaient en fonctionnement normal, tandis que les unités 4-6 étaient fermées. La production d'énergie dans les unités 1-3 a été immédiatement arrêtée lorsque les premières vibrations ont été détectées. Les générateurs diesel de secours ont été conçus pour alimenter les systèmes essentiels de refroidissement et d'instrumentation, car l'énergie externe a été interrompue en raison des dommages causés par les tremblements de terre aux lignes de transmission et aux postes de commutation. Le tsunami a frappé l'usine avec des vagues qui ont temporairement inondé la station jusqu'à environ 14 m au-dessus du niveau de la mer, alors que les réacteurs étaient conçus pour résister à des vagues de 5,7 m. En conséquence, les étages inférieurs du réacteur et des bâtiments de la turbine ont été inondés d'eau salée, provoquant la défaillance des diesels de secours et de nombreux autres équipements de distribution, d'instrumentation et de contrôle de puissance ainsi que d'autres dommages. Le résultat final était que le refroidissement des noyaux de réacteur dans les unités 1-3 a été arrêté, du coup ils ont surchauffé et ont probablement fondu. De grandes quantités d'hydrogène et de produits de

fission ont été libérées dans les enceintes qui ont développé des fuites dues à la surpression et à d'autres mécanismes possibles. Les fuites d'hydrogène ont provoqué de violentes explosions qui ont détruit les parties supérieures des bâtiments du réacteur dans les unités 1, 3 et 4. Des quantités importantes de produits de fission se sont échappées dans l'environnement (Hogberg 2013).

1.3.2 Rejets à l'environnement

Les données du Tableau 3 montrent que la quantité d'I-131 libérée suite à l'accident de Fukushima représentait 10% par rapport à la celle rejetée lors de l'accident de Tchernobyl. Le Cs-137 deuxième produit de fission le plus important, représentait moins de 15% du total de Tchernobyl. Les rejets totaux de Fukushima Daiichi selon le tableau 3, étaient de 10% par rapport aux rejets de Tchernobyl. Une grande partie des produits de fission ont été rejetés dans les cuves sous pression du réacteur et dans les enceintes des unités 1-3. Par des fuites et d'autres mécanismes, environ 150 PBq d'I-131 et environ 12 PBq de Cs-137 se sont échappés dans l'atmosphère. Selon les estimations japonaises, environ 4 PBq de Cs-137 ont été déversés dans la mer au cours des premiers mois après l'accident (Hogberg 2013).

Tableau 3 : Inventaire de base et estimation de la libération totale des radionucléides durant l'accident de Fukushima (Steinhauser, Brandl et al. 2014).

Groupes	Radio-nucléides	Demi-vie	Quantité libérée estimée (PBq)
Gaz rares	¹³³ Xe	5.3 jours	14000
	⁸⁵ Kr	10.75 ans	44
Eléments volatiles	¹³¹ I	8.04 jours	150
	¹³² Te	3.26 jours	180
	¹³⁴ Cs	2.06 ans	11.8
	¹³⁷ Cs	30.1 ans	12
Eléments avec volatilité intermédiaire	⁸⁹ Sr	50.6 jours	≈ 0.2
	⁹⁰ Sr	28.5 ans	≈ 0.02
Eléments réfractaires	²³⁸ Pu	86.4 ans	2-5*10 ⁻⁶
	²⁴¹ Pu	14.7 ans	1.1-2.6*10 ⁻⁴

1.3.3 Impact radiologique de l'accident

En combinaison avec le temps pluvieux, les rejets de radioactivité dans l'air ont provoqué une contamination importante du sol, en particulier dans un panache s'étendant sur environ 40 km au nord-ouest de la centrale. Il était estimé que près de 1 800 km² de terres ont des niveaux de contamination entraînant une dose de rayonnement potentiellement cumulative d'environ 5 mSv / an. Aucun cas de syndrome d'irradiation aiguë n'a été signalé. Lors de l'accident, 167 travailleurs ont été exposés à plus de 100 mSv, et beaucoup d'autres devraient recevoir des

doses allant jusqu'à 100 mSv pendant les travaux de nettoyage continus. Une estimation de l'exposition externe cumulée au cours des quatre premiers mois suivant l'accident pour environ 14 000 résidents (à l'exclusion des travailleurs de la centrale) de trois villes et villages où les doses de rayonnement étaient relativement élevées montre que 0,7% des résidents ont été exposés à 10 mSv ou plus, 42% ont été exposés à moins de 10 mSv mais plus de 1 mSv, et 57% ont été exposés à 1 mSv ou moins. Des études épidémiologiques sur plusieurs décennies sont nécessaires pour déterminer si des augmentations de l'incidence du cancer attribuables à l'accident peuvent être détectées. Compte tenu du nombre de personnes exposées et des doses élevées, on ne peut guère s'attendre à des augmentations statistiquement significatives, sauf peut-être pour les cancers de la thyroïde chez les enfants des régions les plus exposées (Hogberg 2013).

En raison des préoccupations au sujet des risques potentiels sur la santé; deux questions verront probablement le jour après tout accident de réacteur nucléaire :

Immédiatement après l'accident, quels effets néfastes sur la santé devraient-ils avoir à la suite de l'accident ?

Des années après l'accident, quelles ont été les conséquences réelles pour la santé causées par l'accident ?

Suite au retour d'expérience des accidents cités ci-dessus, la plus grande inquiétude des autorités compétentes et de la population lors d'accidents nucléaires est le risque de développer des cancers de la thyroïde suite à l'exposition aux isotopes radioactifs de l'iode (Cardis, Kesminiene et al. 2005, Tsuda, Tokinobu et al. 2016).

2 Cancer de la thyroïde

Le cancer est une maladie décrite depuis l'Antiquité. Le mot cancer tire son origine du mot latin homonyme qui signifie crabe. Hippocrate (460-377 avant J-C) est le premier à avoir comparé le cancer à un crabe par analogie à l'aspect des tumeurs du sein avec cet animal. La tumeur est en effet centrée par une formation arrondie entourée de prolongements en rayons semblables aux pattes d'un crabe. Hippocrate utilisait les termes karkinos et karkinoma pour décrire les tumeurs. Karkinos était utilisé pour tout gonflement non cicatrisant ou formation ulcéreuse, même les hémorroïdes, alors que le karkinoma était réservé au «cancer» non cicatrisant (Papavramidou, Papavramidis et al. 2010).

Sur le plan biologique, le cancer résulte de la survenue d'un dysfonctionnement au niveau de certaines cellules de l'organisme. Celles-ci se mettent à se multiplier de manière anarchique et à proliférer de façon excessive. Ces cellules dérégulées finissent par former une masse qu'on appelle tumeur maligne d'abord localement, puis dans le tissu avoisinant, puis à distance où elles forment des métastases (Martincorena, Raine et al. 2017).

Le cancer est une cause majeure de morbidité et de mortalité, avec environ 14 millions de nouveaux cas et 8 millions de décès liés au cancer en 2012, affectant les populations dans tous

les pays et toutes les régions. Ces estimations normalisées selon l'âge correspondent à des taux d'incidence et de mortalité de 182 et 102 pour 100 000, respectivement (Forman 2014).

Selon le Centre international de recherche sur le cancer (CIRC 2012), les cancers les plus fréquemment diagnostiqués dans le monde sont ceux des poumons 13,0%, du sein 11,9% et du colorectum 9,7 %. Les causes les plus fréquentes de décès par cancer sont les cancers du poumon 19,4%, du foie 9,1% et de l'estomac 8,8%.

2.1 Épidémiologie du cancer de la thyroïde

Le cancer thyroïdien est relativement rare, environ 1% des cancers, toutefois il représente 88% des cancers des organes endocrines rencontrés en clinique (diMarco and Palazzo 2017). Environ 230 000 nouveaux cas de cancer de la thyroïde ont été estimés chez les femmes et 70 000 chez les hommes en 2012, avec un taux normalisé selon l'âge (population mondiale) de 6,10 / 100 000 femmes et de 1,90 / 100 000 hommes (La Vecchia, Malvezzi et al. 2015). En Europe la France est le second pays le plus marqué par cette forte progression après l'Italie (Lalmi, Sadoul et al. 2015).

2.2 Principaux types du cancer de la thyroïde

Les cancers thyroïdiens sont classés en fonction de leur cellule d'origine, et de leur niveau de différenciation. La glande thyroïde comporte deux types cellulaires, les cellules folliculaires à l'origine des cancers papillaires, folliculaires, à cellules oxyphiles de Hürthle et anaplasique tandis que les cellules C parafolliculaires sont à l'origine du cancer médullaire. Trois niveaux de différenciation existent : cancer de thyroïde différencié, peu différencié et dédifférencié (Kondo, Ezzat et al. 2006).

2.2.1 Cancer papillaire de la thyroïde (CPT)

Représente 75 à 85% des cancers de la thyroïde, touche tous les groupes d'âge, avec un âge moyen d'apparition de 30 à 50 ans. Au microscope, le carcinome papillaire est caractérisé par la présence de papilles, mais certaines variantes ne contiennent aucune zone papillaire, sont totalement folliculaires et sont classées comme variante folliculaire. Biologiquement, toutes ces tumeurs indépendamment de leur degré de structure folliculaire présentent des caractéristiques cliniques similaires. Le carcinome papillaire a tendance à envahir les espaces lymphatiques et par conséquent, conduit à des lésions multimodales microscopiques dans la glande ainsi qu'à une forte incidence de métastases ganglionnaires régionales. Cette dernière peut être le symptôme de présentation d'un carcinome papillaire thyroïdien parce que la tumeur primaire est très petite dans certains cas. Les carcinomes thyroïdiens papillaires de moins de 1 cm sont souvent appelés microcarcinomes (Krahenbuhl, Portmann et al. 2012, Carling and Udelsman 2014, diMarco and Palazzo 2017).

2.2.2 Cancer folliculaire de la thyroïde (CFT)

Représente 5 à 10% des cancers de la thyroïde, affecte un groupe d'âge plus avancé, il apparaît entre 40 et 60 ans. Avec un caractère agressif, le diagnostic nécessite une confirmation histologique de l'invasion capsulaire et vasculaire, la cytoponction à l'aiguille fine n'identifie que les néoplasmes folliculaires potentiels. Sa propagation vasculaire est plus fréquente que

lymphatique (< 5%). Avant l'introduction du sel iodé, ce carcinome était plus fréquemment diagnostiqué (Carling and Udelsman 2014, diMarco and Palazzo 2017).

2.2.3 Carcinome à cellules oxyphiles de Hürthle

Classifié comme des cancers thyroïdiens avec une différenciation intermédiaire, cette forme rare et agressive est un sous-type associé au cancer folliculaire de la thyroïde, semblable à un cancer papillaire agressif (Carling and Udelsman 2014, diMarco and Palazzo 2017).

2.2.4 Carcinome anaplasique (CAT)

Représente 1,6 à 5% des cancers de la thyroïde et atteint des patients âgés (> 65 ans). C'est une forme inhabituelle, dédifférenciée, dévastatrice et agressive. Les patients présentent habituellement une masse palpable dont la taille médiane (8-9 cm) augmente rapidement. L'invasion extracapsulaire et ganglionnaire est présente dans 90 % des cas, des métastases sont détectables chez 20 à 50 % des patients. Macroscopiquement, la tumeur est infiltrante, invasive, remaniée par des zones hémorragiques et nécrotiques. Histologiquement, la tumeur est constituée par la prolifération de cellules fusiformes, polygonales ou géantes. La présence de cellules épidermoïdes d'aspect ostéoclastique ou sarcomateux est possible. En immunohistochimie, la tumeur n'exprime plus la thyroglobuline ou les autres marqueurs de différenciation thyroïdienne (NIS, RTSH, TTF1). L'invasion de la trachée, du larynx ou du nerf laryngé récurrent entraîne des symptômes obstructifs, une hémoptysie, une dysphagie et un enrouement, qui sont souvent présents au moment du diagnostic. La survie médiane dans la plupart des cas est inférieure à 5 mois à compter du diagnostic (Wemeau and Do Cao 2008, Krahenbuhl, Portmann et al. 2012, Carling and Udelsman 2014, diMarco and Palazzo 2017).

2.2.5 Cancer médullaire de la thyroïde (CMT)

Représente 3 à 12% des cancers de la thyroïde, Il se présente sous deux formes : une forme sporadique dans la majorité des cas et une forme familiale dans près de 30–35 % des cas. Sa propagation est lymphatique.

Le CMT sporadique peut se révéler par un nodule thyroïdien avec euthyroïdie ou un goitre multinodulaire associé le plus souvent à des adénopathies satellites. Une calcitonine (CT) élevée (≥ 100 pg/ml) en préopératoire permet de confirmer le diagnostic, la cyto-ponction d'un nodule thyroïdien permet le diagnostic (immuno-marquage anti-CT positif) mais elle est mise en défaut dans plus de la moitié des cas. Une adénopathie cervicale ou des métastases à distance constituent le mode de révélation dans près de 20% des cas.

Les CMT familiales s'intègrent dans le syndrome de néoplasie endocrinienne multiple de type 2 (NEM2), héréditaire de transmission autosomique dominante. Il existe trois variantes phénotypiques de la NEM2 : NEM2A la forme la plus fréquente 60% associe au CMT un phéochromocytome dans 20–50% des cas et une hyperparathyroïdie primaire (HPT) dans 5–20% des cas, des infections cutanées peuvent être observées au niveau de la partie haute du dos de façon précoce. NEM2B forme plus rare 5% associe au CMT un phéochromocytome dans 50 % des cas, une dysmorphie de type Marfan, une ganglioneuromatose digestive et sous-muqueuse (lèvres, langue, paupières, tissu conjonctif), l'HPT est absente. Le CMT isolé familial (FMTC : syndrome de Farndon) représente 35% des NEM2 chez lequel les autres composantes de la maladie sont absentes. Une mutation germinale du gène RET est retrouvée

dans 99 % des NEM2B, 98 % des NEM2A et 95 % des FMTC. (Niccoli-Sire and Conte-Devolx 2007, Krahenbuhl, Portmann et al. 2012, Carling and Udelsman 2014, diMarco and Palazzo 2017).

Les études à posteriori ont montré que le cancer papillaire est la forme prédominante suite à l'accident nucléaire de Tchernobyl 88% des cas, les études de suivi des individus suite à l'accident de Fukushima ont démontré quelques cas de cancer de la thyroïde dont la majorité c'est la forme papillaire (Ron 2007, Tsuda, Tokinobu et al. 2016).

2.3 Facteurs de risque du cancer de la thyroïde

2.3.1 Exposition au rayonnement

Les antécédents d'irradiation médicale ou environnementale durant la période de croissance constituent le facteur de risque majeur dans la survenue du cancer de la thyroïde, en particulier le cancer papillaire (Kondo, Ezzat et al. 2006, Krahenbuhl, Portmann et al. 2012, Prokopakis, Kaprana et al. 2018).

Les rayonnements se divisent en deux catégories, ionisants (RI) et non ionisants (R-non-I). Dans le spectre des RI on distingue les rayonnements photoniques (rayons X et γ) et les rayonnements des particules (tels que les électrons, les protons, les neutrons, les ions carbone et les particules α et β). Les RI ont suffisamment d'énergie pour libérer les électrons des atomes ou des molécules, conduisant à leur ionisation. Les R-non-I comprennent les rayons ultraviolets (UV), les lasers à lumière visible, les infrarouges, les micro-ondes et les ondes radio. Pour les R-non-I l'énergie électromagnétique transportée par chaque quantum est insuffisante pour provoquer l'ionisation d'atomes ou de molécules (Albi, Cataldi et al. 2017).

Un grand nombre d'études épidémiologiques ont apporté des connaissances sur le cancer de la thyroïde radio-induit (Holm 2006). Une étude de dépistage de 11 970 habitants de Biélorussie âgés de ≤ 18 ans au moment de l'accident de Tchernobyl a montré un risque de nodules néoplasiques significativement élevé (Albi, Cataldi et al. 2017). Il a été estimé que les thyroïdes de plusieurs milliers d'enfants ont reçu des doses d'au moins 2 Gy d'I131. Avant l'accident, le taux d'incidence du cancer de la thyroïde chez les enfants était inférieur à un cas par million par an ; ce taux est passé à plus de 90 par million à Gomel, la région la plus contaminée de la Biélorussie (Cardis, Kesminiene et al. 2005). Les effets des rayonnements induisant des nodules thyroïdiens ont été démontrés chez les survivants des bombes atomiques jusqu'à 62 à 66 ans après l'exposition durant leur enfance. L'étude des survivants à Hiroshima et Nagasaki a démontré que le risque de cancer de la thyroïde était significativement plus élevé si l'exposition aux RI avait lieu à l'âge pédiatrique. L'exposition à des doses faibles ou modérées de RI semblait augmenter le risque de microcarcinome papillaire thyroïdien, même lorsque l'exposition se produisait à l'âge adulte (Albi, Cataldi et al. 2017, Yamashita, Suzuki et al. 2018).

L'analyse des conséquences thyroïdiennes de l'accident nucléaire de Fukushima en 2011 a montré que 35% des résidents développaient des nodules thyroïdiens et / ou des kystes (Tsuda, Tokinobu et al. 2016).

Les RI et les rayons UV induisent une production accrue de radicaux libres d'oxygène (ROS) et modifient l'état pro-oxydants. Cependant, les plus grands dommages aux protéines et aux acides nucléiques sont liés aux RI (Figure 3). Les effets des RI au niveau de la glande thyroïde ont été largement étudiés. L'exposition chronique de rats adultes à des rayons γ de faible intensité induisait une formation de micronoyaux trois fois plus élevée dans les thyrocytes irradiés par rapport aux thyrocytes des animaux témoins, indicateur sensible des dommages génétiques induits par le rayonnement dans l'épithélium folliculaire de la glande thyroïde. De plus, les RI retardaient la prolifération des cellules thyroïdiennes folliculaires. L'I131 a été montré pour déclencher l'apoptose dans les thyrocytes humains. L'irradiation d'une lignée de cellules épithéliales thyroïdiennes humaines non tumorigènes avec des particules α ou des rayons γ stimulait les mutations de la p53 (Albi, Cataldi et al. 2017).

De ce fait, l'exposition aux rayonnements est un facteur clé dans la survenue et la propagation du cancer de la thyroïde lors d'accident nucléaire, ce paramètre doit être géré avec précaution en situation accidentel.

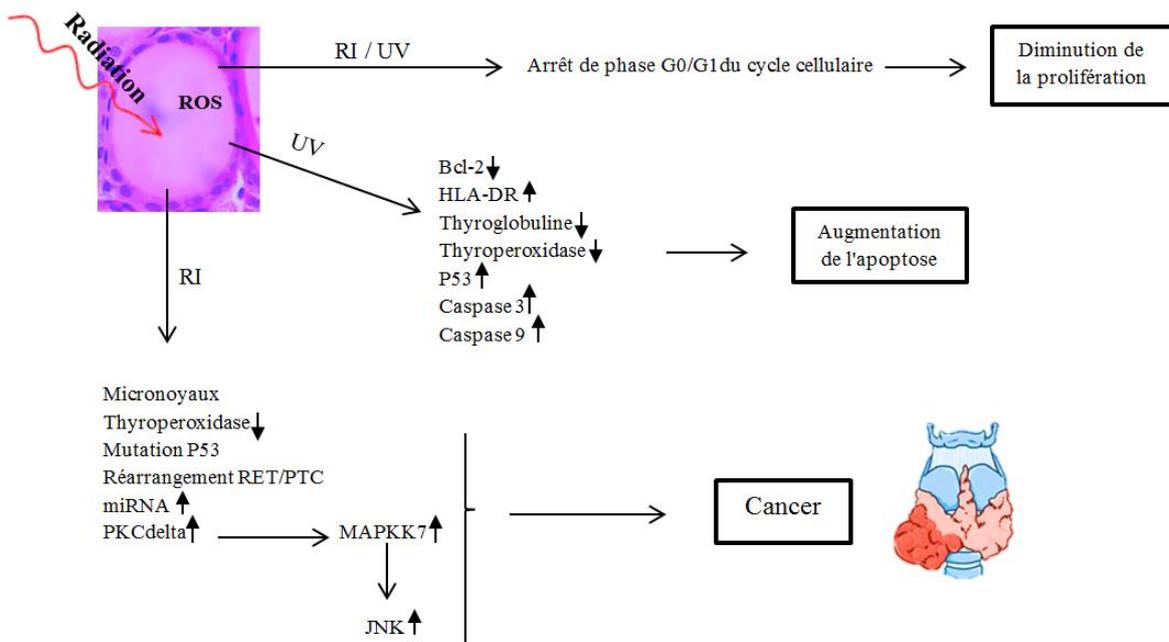


Figure 3 : Effet des rayonnements ionisants et non ionisants sur la glande thyroïde (Albi, Cataldi et al. 2017).

2.3.2 Carence en iode

L'iode est un oligo-élément indispensable à la fonction thyroïdienne qui consiste à la synthèse des hormones thyroïdiennes. Une carence alimentaire en iode entraîne une prolifération thyroïdienne connue sous le nom de goitre, en tant que mécanisme compensatoire. L'incidence du carcinome folliculaire dans les zones de carence en iode est plus élevée que dans les zones riches en iode. En revanche, le carcinome papillaire est plus fréquent dans les régions riches en

iode. Fait intéressant, dans les modèles animaux, la supplémentation en iode provoque le passage de la morphologie folliculaire à la morphologie papillaire, ce qui indique que le rôle de l'iode dans la carcinogenèse de la thyroïde est la modulation de la morphologie de la tumeur, plutôt que l'initiation du cancer (Kondo, Ezzat et al. 2006).

2.3.3 Prédisposition génique

Le cancer survient généralement suite à un changement, ou une lésion, qui se produit dans un ou plusieurs gènes. Des études épidémiologiques ont démontré un risque quatre à dix fois plus élevé de cancer de la thyroïde bien différencié chez les parents au premier degré de sujets atteints de cette pathologie. La fréquence des anomalies moléculaires, leur implication dans la genèse d'un type histologique tumoral mais aussi dans son degré de dédifférenciation sont mieux élucidés depuis l'avènement de la biologie moléculaire. Dans les cancers de souche folliculaire, des mutations ponctuelles activatrices d'oncogènes ainsi que des réarrangements chromosomiques sont impliqués le plus souvent. Dans une moindre proportion, il peut s'agir d'anomalies d'expression des miRNA ou de la méthylation. Dans la majorité des cas les atteintes sont somatiques, mutuellement exclusives, et font intervenir deux voies principales de signalisation, à savoir MAPK et PI3K. Les mutations ponctuelles de BRAF^{V600E} et RAS ainsi que les réarrangements chromosomiques RET/ PTC et PAX8/PPAR γ représentent près de 70 % des anomalies connues. Dans les cancers papillaires, les anomalies les plus fréquentes sont les mutations ponctuelles de BRAF et RAS ainsi que les réarrangements chromosomiques RET/ PTC. Toutes sont capables d'activer de façon constitutionnelle la voie de signalisation des MAPK régulant la prolifération et la différenciation cellulaire. En cas de cancers folliculaire, l'activation constitutive de la voie des PI3K, en rapport le plus souvent avec des mutations ponctuelles de RAS et des réarrangements PAX8/PPAR γ , est à l'origine d'une dérégulation de la migration et de l'apoptose cellulaires (Lalmi, Sadoul et al. 2015). La majorité des cancers anaplasiques semblent résulter de la dédifférenciation d'un cancer papillaire, mais aussi folliculaire. Les mutations du gène RAS sont détectées avec une fréquence analogue à celle des autres tumeurs différenciées. Mais la caractéristique génotypique des cancers anaplasiques est constituée par la haute prévalence des mutations du gène p53, conduisant soit à une perte d'expression de p53, soit à l'expression d'une protéine p53 anormale. Les mutations de ce gène suppresseur joueraient un rôle déterminant dans la perte de différenciation des tumeurs thyroïdiennes (Wemeau and Do Cao 2008).

Pour conclure la voie de signalisation MAPK peut être envisagée comme un moyen rapide et non invasif de diagnostic de cancer papillaire radio-induit en situation accidentel.

2.3.4 Autres facteurs

Dans la littérature il existe d'autres paramètres en lien avec la survenue du cancer de la thyroïde, tel que le rôle potentiel de l'obésité où différents mécanismes semblent impliquer, à savoir de plus hauts niveaux de TSH chez les sujets obèses, les interactions TSH/IGF1 dans l'activation de la voie des MAPK et PI3K, une activation des voies de signalisation de l'insuline ou encore le rôle de l'inflammation chronique (Lalmi, Sadoul et al. 2015). Les Maladies thyroïdiennes bénignes préexistantes induisant ou non une hausse des taux de TSH (Lalmi, Sadoul et al. 2015); le genre féminin et l'âge (Kondo, Ezzat et al. 2006). Et l'utilisation d'échographie qui a

peut être conduit à une surestimation des cas de cancer de la thyroïde suite à l'accident de Fukushima (Tsuda, Tokinobu et al. 2016).

CHAPITRE II : Les contremesures

En France, La prise en charge sanitaire d'un accident nucléaire relève de l'autorité préfectorale. Si un événement survient dans une installation nucléaire, son directeur doit mettre en œuvre le Plan d'Urgence Interne (PUI) et doit alerter immédiatement la préfecture. Le PUI précise l'organisation et les moyens à mettre en œuvre sur le site afin de ramener l'installation dans un état sûr. Son objectif est également de protéger le personnel et d'informer les pouvoirs publics et les populations. Dans la mesure où les conséquences pourraient dépasser les limites de l'installation, l'autorité préfectorale déclenche le Plan Particulier d'Intervention (PPI) établi par le préfet en concertation avec les élus et l'exploitant. Le PPI a pour objectifs de protéger les populations, de les informer et de prévoir les mesures et les moyens de secours à mettre en œuvre pour faire face au risque (moyens physiques : la mise à l'abri – restriction de la consommation de produits locaux contaminés et évacuation de la population. Et moyen pharmacologique : prise unique de comprimé de KI) (Schneider and Smith 2012). L'alerte est donnée par une sirène qui diffuse un signal prolongé, modulé pendant une minute ; il est émis trois fois, séparées par un court intervalle. Lorsque le danger est écarté, la sirène diffuse un signal sonore continu de 30 secondes. En cas d'alerte, la première mesure la plus efficace est la mise à l'abri qui a pour objectif de réduire l'exposition externe et l'absorption de substances radioactives. Afin de se tenir informé de la nature du risque et des consignes à appliquer, il est indispensable de suivre les médias. La décision de l'administration du KI est déterminée par le niveau de contamination atmosphérique en iode radioactif (Tableau 4). C'est le Préfet qui prend la décision de la prise d'iode stable. La consigne d'ingérer l'iode serait diffusée par tous les moyens appropriés, tel la radio. Pour avoir une efficacité maximale, le traitement doit être pris dès que l'alerte est donnée (Zanzonico and Becker 2000, Fanny 2004).

Tableau 4 : Niveau d'intervention (Papamichail and French 2000, P. SMEESTERS, L. VAN BLADEL et al. 2018).

Contremesure	France	Belgique
Recommandation de la prise d'iode stable	50 - 500 mSv (dose équivalente à la thyroïde)	- Enfant et jeunes jusqu'à 18 ans, ainsi que les femmes enceintes et allaitantes : 10*- 50 mSv - Adultes 50*- 100 mSv (dose équivalente à la thyroïde)
Recommandation de la mise à l'abri	5 - 50 mSv (dose efficace ingérée sur 24h)	5*-15 (dose efficace ingérée sur 24h)
Evacuation	50 - 500 mSv (dose efficace ingérée sur 7 jours)	50*- 150 (dose efficace ingérée sur 7 jours)

*Niveau d'intervention généralement justifié

Comme il est difficile, en cas d'accident de décider en toute sérénité du moment où une intervention s'avère justifiée. La plupart des pays jugent utile de réaliser à froid (c'est-à-dire préalablement et en dehors de toute situation d'urgence) un exercice de justification, sur la base de certaines hypothèses et de certains scénarios, en tenant compte des situations spécifiques auxquelles ils sont confrontés : type d'installation nucléaire, géographie, démographie... etc. En France, le gouvernement a décidé depuis 1997 d'organiser des distributions de comprimés de

KI pour les populations résidant autour des installations nucléaires concernées. Depuis 1997, la distribution a été renouvelée régulièrement en 2000, 2005 et 2009. La dernière campagne date de 2016. Les comprimés sont distribués de façon préventive autour des installations présentant un risque d'émission d'iodes radioactifs (centrales nucléaires, réacteurs de recherche et certaines installations de la défense), dans un rayon de planification défini dans les PPI ; cette distribution permet de répondre à des événements à déroulement rapide. Plusieurs instructions et circulaires ont été établis, à fin de mieux gérer les campagnes de distribution et de stockage des comprimés de KI.

La répartition des comprimés d'iode en France diffère selon la zone géographique des localités. Les zones situées à proximité des centrales doivent suivre le PPI, qui définit deux périmètres :

- De 0 à 5 km autour d'une centrale, il a été décidé une remise de comprimés à chaque foyer selon différentes manières décidées par les Préfets (envoi des comprimés par la poste, distribution au porte à porte par des secouristes volontaires ou envoi à chaque foyer d'une lettre avec un bon invitant la population à venir retirer les comprimés en pharmacie).
- De 5 à 10 km autour d'une centrale, des campagnes d'information ont été menées invitant les habitants à s'approvisionner gratuitement en comprimés d'iode dans leur pharmacie.

Au-delà de ces zones, les comprimés sont en vente sans ordonnance dans les pharmacies. Dans le périmètre de 10 km autour de la centrale, des stocks d'iode sont constitués dans les lieux prioritaires : crèches, établissements scolaires, centre de vacances, établissements de santé.

Au-delà des zones couvertes par les PPI, deux groupes de départements ont été définis :

- Départements du groupe I : constitution de stocks de première proximité afin de pouvoir prescrire l'ingestion de comprimés d'iode aux populations jeunes. Le stockage des comprimés se fait auprès des grossistes répartiteurs, des hôpitaux, des établissements sanitaires, mais surtout au plus près des lieux de séjour de la population jeune. Des lieux de mise à disposition des comprimés sont aussi définis : hôpitaux, pharmacies, bureaux de votes, mairie, casernes de pompiers, cabinets médicaux...
- Départements du groupe II (éloignés des installations nucléaires) : constitution de stocks de réserve pour répondre à la demande de la population et éviter l'effet de panique. Un seul lieu de stockage départemental est suffisant (grossiste répartiteur). Les lieux de mise à disposition des comprimés à la population peuvent être les hôpitaux ou les officines.

La distribution des comprimés dans les zones couvertes par les PPI est entièrement financée par l'exploitant de l'installation nucléaire concernée par le PPI (fabrication, livraison et distribution des comprimés). Le financement des stocks de proximité et de réserve constitués dans les départements est pris en charge sur le budget du ministère de la santé. La fabrication et le conditionnement des comprimés d'iode sont assurés par la PCA qui est aussi chargée d'assurer l'expédition vers chaque département en un point unique identifié par le Préfet. La livraison est

réglée par les directions départementales des affaires sanitaires et sociales qui doivent également financées les livraisons secondaires à l'intérieur du département vers les lieux définitifs de stockage. La durée de validité des comprimés est estimée en France à 6 ans. Au-delà de la date de péremption indiquée sur la boîte, les personnes détenant les comprimés d'iode devront aller les échanger chez leur pharmacien par de nouveaux comprimés (Fanny 2004). Le traitement consiste en une prise unique (Tableau 5), administrée préférentiellement 24h avant ou 2h après exposition à la radioactivité (Zanzonico and Becker 2000). La prise du KI ne doit être renouvelée que dans des cas exceptionnels, sur instruction formelle des autorités compétentes (Vidal 2018). Il faut souligner que le KI n'est qu'une des contre-mesures et qu'elle devrait être mis en œuvre parallèlement aux autres mesures physiques de protection (Reiners and Schneider 2013).

Tableau 5 : Dose unique recommandée d'iode stable selon le groupe d'âge (WHO 2017).

Age	Iode (mg)	KI (mg)	Fraction de comprimé
Nouveau-né (jusqu'à 1 mois)	12.5	16	1/8
Nourrisson (1 mois à 3 ans)	25	32	1/4
Enfant (3 à 12 ans)	50	65	1/2
Adulte et adolescent (>12 ans)	100	130	1

De la conception des centrales nucléaires à leur exploitation, tout est mis en œuvre pour prévenir et gérer le risque d'accident ; pour protéger la population, le devoir des pouvoirs publics est néanmoins d'anticiper une telle éventualité. La prophylaxie à l'iode stable, est le moyen par excellence pour protéger efficacement la thyroïde contre les effets des rejets d'iode radioactif qui pourraient intervenir en cas d'accident nucléaire.

1 Prophylaxie aigue à l'iode stable

Lors de l'accident de Tchernobyl 26 avril 1986, la prophylaxie au KI a été appliquée seulement en Pologne. La radioactivité atmosphérique en Pologne a été détectée pour la première fois dans la nuit du 27 au 28 avril. Les réserves de KI disponibles étaient suffisantes pour environ 90 millions de doses de 100 mg de KI chacune. Le but principal de la prophylaxie au KI est de réduire la charge thyroïdienne à un niveau acceptable. Cela pourrait se faire soit en obtenant un blocage précoce presque total de l'iode radioactif, jusqu'à ce que des niveaux élevés de contamination diminuent, soit par un traitement intermittent de KI après une dose initiale en fonction des niveaux de contamination ultérieurs. Cette dernière manœuvre était utilisée chez la population Polonaise. Compte tenu des quantités limitées de KI, il était suggéré qu'une telle procédure permettrait plus facilement de réinstaurer la prophylaxie au KI si le niveau de contamination devait augmenter à nouveau. Ainsi, à midi le 29 avril, le ministre de la santé a donné l'ordre de préparer la solution de KI dans la pharmacie centralisée pour distribuer dans les onze provinces les plus touchées. La commission a donné l'ordre de mettre en œuvre la distribution avec compte-gouttes ou pipettes automatiques de solution saturée de KI, en gros sur la base du poids et de l'hypothèse que la distribution et l'efficacité de blocage des iodures

étaient similaires à celles observées chez l'adulte, le protocole suivant a été utilisé : 15 mg pour les nouveau-nés, 50 mg pour les enfants de 5 ans ou moins, 70 mg pour tous les adultes. Comme le risque de cancer chez les adultes était considéré comme faible, la prophylaxie par iodure n'était pas recommandée chez les adultes, elle était recommandée chez les femmes enceintes et allaitantes. Les médias ont servi à annoncer l'action de protection (Nauman and Wolff 1993).

Les mesures de protection supplémentaires suivantes ont été instituées par la commission :

- L'alimentation des vaches dans les pâturages ou avec du fourrage frais a été interdite dans tout le pays jusqu'au 15 mai.
- Le lait frais avec une radioactivité supérieure à 1000 Bq / L a été interdit à la consommation par les enfants et les femmes enceintes ou allaitantes.
- Tous les enfants de moins de quatre ans ont reçu du lait en poudre dans de nombreux centres de distribution.
- Les enfants et les femmes enceintes ou allaitantes ont été invités à manger un minimum de légumes-feuilles frais jusqu'au 16 mai.

Un total de 10,5 et 7 millions de doses de KI ont été administrées aux enfants et aux adultes, respectivement. Les doses multiples, bien que non recommandées, ont été prises dans un certain nombre de cas. Vers le 3 mai, la contamination de l'air avait diminué d'environ quatre fois et il ne semblait pas y avoir d'autres dépôts d'iode radioactif sur le sol, il n'a donc pas été jugé nécessaire de distribuer une deuxième dose de KI. Cependant, certaines régions en Pologne auraient reçu suffisamment d'I131 pour dépasser le niveau d'intervention chez un nombre important d'enfants. En raison de l'incapacité de la direction de la centrale à fournir une notification ponctuelle sur l'accident (Nauman and Wolff 1993).

Grace à cette mesure de protection 90% des enfants de moins de 16 ans avec une dose efficace ingérée inférieur à 50 mSv (Nauman and Wolff 1993). Si cette mesure était appliqué correctement lors de l'accident de Tchernobyl dans les autres régions ça aurait évité la propagation du cancer de la thyroïde des années après l'accident (Schneider and Smith 2012, Reiners, Biko et al. 2013)

1.1 Les effets indésirables intra-thyroïdiens de la dose unique

Les données précliniques montrent que l'administration aigue de l'iode chez les rongeurs est caractérisée le plus souvent par une modification transitoire de l'expression des gènes impliqués dans la synthèse des hormones thyroïdiennes, cette modification peut être accompagnée ou non de changement du statut hormonal (niveaux circulants de T4, T3 et TSH) (Eng, Cardona et al. 1999, Calil-Silveira, Serrano-Nascimento et al. 2012, de Souza, Dias et al. 2015)

En Pologne lors de l'accident de Tchernobyl, 95 % des enfants ont reçus du KI, parmi les 12.084 enfants évalués, 91.4% avaient un taux normal de TSH (moyenne 1.5 mIU/L (0.3 -3.8 mIU/L)) mesurée entre 1989 et 1990. 4.7% avaient une valeur basse de TSH (0.19 mIU/L) et 3.9% avaient une valeur élevée de TSH (5.7mIU/L). On les comparant avec les 557 enfants qui n'ont pas reçus de KI aucune différence significative n'a été mise en évidence. L'évaluation des taux des hormones thyroïdiennes (T3 et T4) ainsi que les anticorps antithyroïdiens n'ont pas montré

de différence entre les enfants traités et non traités. Donc il a été conclu que la dose unique de KI n'a pas engendré des effets nocifs à long-terme sur la fonction thyroïdienne des enfants. La même conclusion était émise pour les femmes et les hommes sans antécédent de pathologies thyroïdiennes. En revanche des réactions liées à la thyroïde ont été remarquées chez 0.37% des nouveau-nés qui ont reçus le KI au 2^{ème} jour de la naissance, les réactions se résumer à une augmentation transitoire du taux de la TSH et une baisse du taux de la T4, qui n'avaient aucun impact sur le développement des nouveau-nés (Nauman and Wolff 1993).

1.2 Les effets indésirables extra-thyroïdiens de la dose unique

Les effets secondaires non thyroïdiens du KI sont survenus après une très petite fraction du nombre total de dose administrée, mais ils étaient néanmoins légèrement plus fréquents que prévu (Tableau6) (Nauman and Wolff 1993).

Tableau 6 : Effets indésirables extra-thyroïdiens après la prophylaxie à l'iodure de potassium.

Symptômes	Enfants		Adultes	
	Nombre	%	Nombre	%
Aucun	11.482	95.4	4.833	95.5
Oreillons	0	0	0	0
Parotidite	0	0	0	0
Mal de tête	22	0.18	35	0.69
Maux d'estomac	43	0.36	32	0.63
Diarrhée	23	0.19	6	0.12
Vomissement	286	2.38	43	0.85
Essoufflement	13	0.11	32	0.63
démangeaison de la peau	129	1.07	63	1.24
Autre	42	0.35	10	0.20
prophylaxie totale	12.040		5.061	

Lors de l'accident de la centrale nucléaire de Fukushima, plusieurs rejets de radioactivité ont eu lieu sur une longue période (Reiners and Schneider 2013). Au moment du tremblement de terre, le KI n'avait pas encore été distribué aux foyers au Japon. Quelques jours après le début de la crise, le gouvernement fédéral a recommandé la prise du KI dans les sites d'évacuation. Le KI n'a pas été administré à la population générale. Des travailleurs d'urgence de la centrale, du personnel militaire américain et des civils américains ont reçu le KI. La restriction alimentaire ainsi que l'évacuation ont été mis en œuvre (Schneider and Smith 2012). L'OMS a estimé la dose équivalente à la thyroïde en 2011 à 100-200 mSv dans les zones les plus contaminées et à 10-100 mSv dans le reste de la préfecture de Fukushima (Tsuda, Tokinobu et al. 2016). Cet accident a de nouveau mis en avant l'importance des contremesures appropriées, notamment le blocage de la thyroïde par l'iode. En situation d'exposition répétée aux iodures radioactifs, une administration répétée du KI peut s'avérer nécessaire pour assurer une protection adéquate (WHO 2017).

La doctrine actuelle de l'iode en France consiste en une prise unique de KI à raison de 130 mg chez l'adulte et des fractions de cette dose sont utilisées pour les autres tranches d'âge. En

situation d'exposition répétée aux iodes radioactifs, une seconde prise de KI est envisageable chez l'adulte seulement. Suite au retour d'expérience des accidents de Tchernobyl (libération continue d'iode radioactif pendant 10 jours) et Fukushima (plusieurs rejets de radioactivité sur une longue période). Cette doctrine doit être révisée, la prise répétée de KI peut apporter la meilleure solution de protection en cas d'accident réitéré.

2 Prophylaxie répétée à l'iode stable

Faute de manque de connaissances, les lignes directrices actuelles ne recommandent pas la prise répétée d'iodure de potassium dans des situations extrêmes d'exposition répétée aux isotopes radioactifs de l'iode. Une seconde prise peut être envisageable seulement pour les adultes (WHO 2017). Dans la littérature peu d'études se sont intéressées à ce mode de prophylaxie. En 1980, Sternthal et ses collègues ont effectué une étude clinique où ils ont testé l'efficacité de plusieurs doses de KI (10, 15, 30, 50 et 100 mg) sur plusieurs jours (12 jours), et ils n'ont pas rapporté d'effets toxiques de la prise répétée sur le bilan hormonal de la thyroïde des participants (Sternthal, Lipworth et al. 1980). En 1997, l'équipe de Noteboom a testé l'administration répétée de dose élevée de KI chez deux modèles de primates non humains, le modèle en gestation et le modèle jeune. Pour ces deux modèles la fonction thyroïdienne n'a pas été affectée par le traitement (Noteboom, Hummel et al. 1997, Noteboom, Hummel et al. 1997). Ces études malgré les différentes limites sont très encourageantes, et suggèrent la possibilité d'envisager une prophylaxie répétée en cas de catastrophe nucléaire de longue durée. D'autres études chez les rongeurs ont montré des résultats d'effet ou de non effet d'iode administré en répété sur la fonction thyroïdienne. Les différences de ces résultats peuvent être dues à la différence des conditions expérimentales, notamment la nature du composé d'iode utilisé, l'espèce et le sexe de l'animal ainsi que la durée du traitement (Eng, Cardona et al. 1999, Chen, Lin et al. 2015, de Souza, Dias et al. 2015, Serrano-Nascimento, Nicola et al. 2016). Sur la base des résultats de ces études il est bien évident que des études de bonne pratique de laboratoire dédiées à répondre à cette question de prophylaxie répétée sont indispensables pour trouver une solution définitive.

Dans sa nouvelle démarche de stratégie d'application de KI pour le blocage de la thyroïde en situation accidentelle, l'OMS a déclaré le besoin de recherche concernant la posologie, la chronologie optimale et le schéma posologique adapté pour les administrations multiples d'iode stable en cas de rejets prolongés ou répétés d'iode radioactif et les effets néfastes de l'administration d'iode stable sur la santé (WHO 2017, Benderitter, Pourcher et al. 2018).

Une attention particulière doit être accordée aux sous-populations à risque, notamment la femme enceinte et la personne âgée. Tenant compte de l'impact de l'iode sur la fonction thyroïdienne, et la conséquence de cette dernière sur le développement neuronal de la progéniture et sur le système cardiovasculaire en phase de vieillissement (Grais and Sowers 2014, Pearce, Lazarus et al. 2016).

CHAPITRE III : Iode, Hormones Thyroïdiennes & Effet Wolff-Chaikoff

1 La glande thyroïde

Le terme Français «thyroïde» est dérivé du mot grec ‘thyroeidís’ signifiant bouclier. La glande thyroïde est la plus grosse des glandes endocrines, son poids moyen varie entre 10 et 25 grammes. De consistance ferme, ayant une structure en forme de papillon, elle est de couleur rouge brunâtre - brune jaunâtre en raison de sa vascularisation élevée. La forme de la glande varie d'un «H» à un «U» formée de deux lobes (droit et gauche) latéraux réunis par un isthme, elle mesure 5 centimètres de haut et 4 centimètres de large, sa topographie est cervicale antérieure, dans la région sous-hyoïdienne, entre la partie inférieure du cartilage thyroïde et le troisième ou quatrième anneau trachéal (Monnier 1997, Liyanarachchi and Debono 2017). La glande thyroïde reçoit un débit sanguin élevé des artères thyroïdiennes supérieures (provenant des carotides externes) et des artères thyroïdiennes inférieures (provenant des artères sous-clavières), Le débit sanguin est de 100 ml/min un des plus élevés de l'organisme. On trouve également un riche réseau veineux composé de veines thyroïdiennes supérieure, moyenne et inférieure (Hillary and Balasubramanian 2017). L'unité fonctionnelle de la glande thyroïde est le follicule, un groupe de cellules grossièrement sphériques agencées autour d'un matériau de stockage riche en protéines appelé colloïde. Les cellules folliculaires sont orientées avec leurs bases près de l'apport sanguin capillaire et les apex près du colloïde (Figure 4). Les glandes parathyroïdiennes supérieures et inférieures sont situées respectivement à proximité des pôles médian et inférieur des lobes thyroïdiens (Nilsson and Fagman 2017).

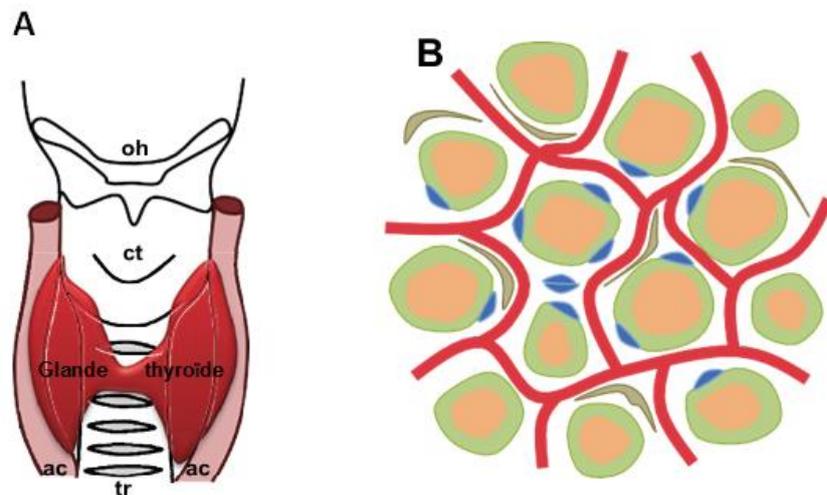


Figure 4 : Structure de la glande thyroïde.

(A) La glande thyroïde humaine (rouge) se compose de deux lobes latéraux reliés par l'isthme. oh : os hyoïde ; ct : cartilage thyroïdien ; tr : trachée ; ac : artère carotide. (B) Les follicules constitués majoritairement de thyrocytes, formant un épithélium monocouche (vert) qui renferme une cavité centrale remplie de colloïde (orange). Chaque follicule est entouré d'un réseau de capillaires (rouge). Les cellules C (bleu) et les fibroblastes (gris) (Nilsson and Fagman 2017).

1.1 Embryologie de la glande thyroïde

La glande thyroïde provient d'un diverticule situé dans la paroi ventrale médiane du pharynx. Vers la quatrième semaine du développement, un bourgeon endodermique apparaît dans le plancher médian du pharynx primitif entre la première et la deuxième poche pharyngienne dorsale (figure 5 A-B). La glande thyroïde primitive (primordium thyroïdien) dérive de ce diverticule. Pendant les trois semaines qui suivent, le tissu thyroïdien primitif pénètre dans le tissu mésenchymateux sous-jacent et descend vers l'os hyoïde et les cartilages laryngés pour atteindre la face antérieure du cou. La voie du diverticule se rétracte pour former le canal thyroglosse (CTG). Au début de la cinquième semaine de grossesse, la partie proximale du CTG se rétracte et peut être identifiée. Chez la plupart des adultes, il s'agit d'une fosse permanente à l'apex du sillon terminal sur le dos de la langue, connu sous le nom de foramen caecum. Sur la phase distale, le canal forme le lobe pyramidal de la glande thyroïde. Cette dernière est fonctionnelle à la fin du troisième mois de grossesse. Les cellules produisant les hormones thyroïdiennes sont dérivées de l'endoderme, ceux produisant la calcitonine proviennent de la fusion de la thyroïde avec les corps ultimo-branchiaux préalablement infiltrés par des cellules de la crête neurale, tandis que les vaisseaux sanguins et la capsule du tissu conjonctif proviennent du mésoderme splanchnique entourant le diverticule thyroïdien. La forme globale de la thyroïde varie considérablement d'une espèce à l'autre (Figure 5 C). Chez la plupart des mammifères, la glande thyroïde se compose de deux lobes reliés par un isthme. En revanche, chez les poissons cartilagineux et chez certains mammifères, la thyroïde est retenue en tant que masse unique centrale, alors que chez les amphibiens et les oiseaux, l'isthme est absent et les lobes séparés, formant ainsi des glandes bilatérales (Davies, Latif et al. 2011, Policeni, Smoker et al. 2012, Hillary and Balasubramanian 2017, Liyanarachchi and Debono 2017, Nilsson and Fagman 2017).

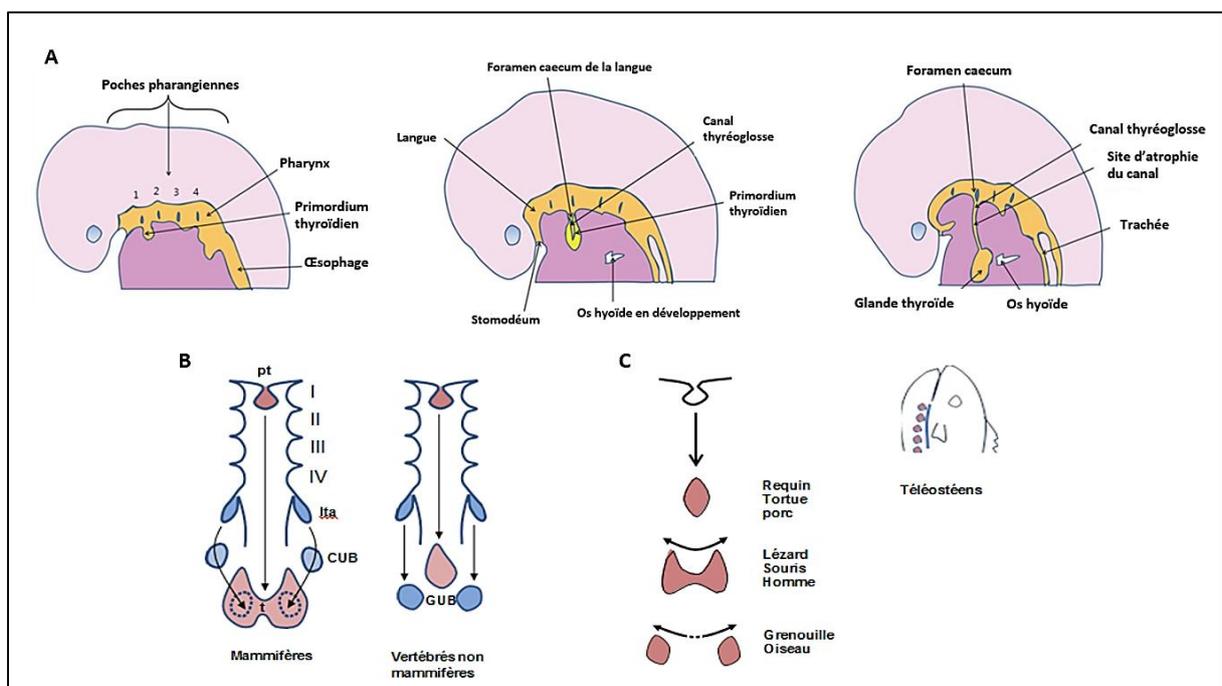


Figure 5 : Embryologie et développement de la thyroïde.

(A) Le primordium thyroïdien provient d'un épaissement endodermique qui forme un diverticule dans le plancher médian du pharynx primitif entre la 1^{ère} et la 2^{ème} poche du pharynx. Cela va se développer en thyroïde, qui va migrer caudalement le long du canal thyroïdienne. (B) La thyroïde embryonnaire (t) avec ses cellules progénitrices folliculaires (rouge) se développe à partir d'un primordium thyroïdien (pt) central ou médian du plancher pharyngien. Les corps ultimobranchiaux (CUB) et les précurseurs des cellules C (bleu) se développent à partir d'une paire thyroïdienne latérale (lta). Chez les mammifères, les primordiums fusionnent pour former une glande composite, alors que chez tous les autres vertébrés, les CUB se développent en organes distincts : les glandes ultimo-branchiales (GUB). I-IV, nombre d'arcs pharyngés. (C) La thyroïde des vertébrés apparaît principalement comme une glande compactée, bien que sa forme varie d'une seule masse à deux corps séparés, avec la glande bilobée comme intermédiaire suggéré. En revanche, chez les téléostéens les follicules faiblement associés sont dispersés le long de l'aorte (Nilsson and Fagman 2017, Bychkov 2018).

1.2 Développement de la glande thyroïde

Le développement d'un organe est généralement sous-tendu par deux phénomènes qui peuvent être concomitants. D'une part, la migration conduisant au positionnement de l'organe à sa place définitive, et d'autre part, l'organogenèse définissant sa forme définitive. La glande thyroïde subit ces deux phénomènes avec un phénomène de "relocalisation" unique depuis son site d'induction jusqu'à une position "espèce-spécifique" au sein du mésenchyme cervical (Mireille Castanet and Polak. 2007).

La glande thyroïde est constituée de cellules folliculaires thyroïdiennes (CFT) de structure sphérique servant de sites de stockage de la thyroglobuline (Tg) et permettant une libération contrôlée des hormones thyroïdiennes. Et de cellules para-folliculaires sécrétant la calcitonine. Ces deux types cellulaires ont des origines embryonnaires distinctes (Hoyes and Kershaw 1985) (figure 6). Lors de l'invagination dans le plancher pharyngien, le diverticule thyroïdien migre caudalement et finit par bifurquer, donnant naissance aux deux lobes thyroïdiens. Les corps ultimo-branchiaux fusionnent avec les lobes thyroïdiens, donnant naissance à la population mixte. La première manifestation de la sécrétion de l'hormone thyroïdienne survient chez la souris au jour embryonnaire 16.5 (E16.5) équivalent à (E75) chez l'homme, avec la différenciation terminale en CFT et l'expression de gènes spécifiques de la thyroïde nécessaires à la biosynthèse des hormones thyroïdiennes, vers E16 chez la souris et E70 chez l'homme. Les gènes spécifiques de la thyroïde apparaissent au cours du développement selon un schéma temporel spécifique : Tg, thyroperoxydase (TPO) et récepteur de la TSH (TSHR) sont exprimés à E14.5, et le symporteur d'iodure et de sodium (NIS) à E16 (Figure 7) (Postiglione, Parlato et al. 2002, De Felice, Postiglione et al. 2004). L'expression de ces gènes est nécessaire à la synthèse des hormones thyroïdiennes. La TSH est le principal régulateur de la biosynthèse et de la sécrétion des hormones thyroïdiennes et est synthétisée pour la première fois à E12.5 chez la souris (E14 chez le rat, 10-12^{ème} semaines chez l'homme) (Lin, Li et al. 1994). Après la liaison de la TSH à son récepteur couplé à la protéine G, elle active de multiples voies de signalisation qui régulent à la fois la différenciation et la prolifération des cellules thyroïdiennes ainsi que la formation d'hormones thyroïdiennes (Medina and Santisteban 2000, Kimura, Van Keymeulen et al. 2001).

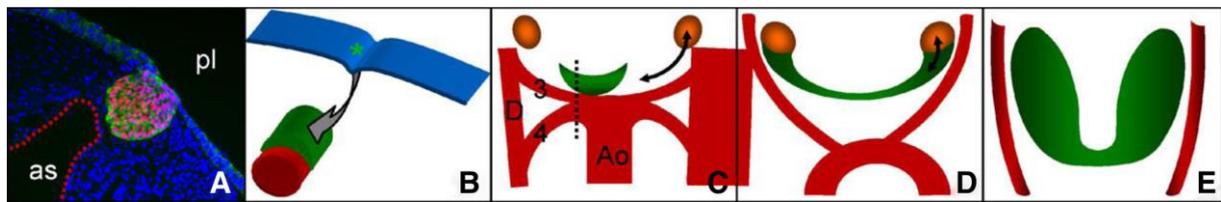


Figure 6 : Développement de la glande thyroïde chez la souris.

A, Le bourgeon thyroïdien (mis en évidence par la coloration *Titf-1* rouge) à E10.5 maintient l'association avec le sac aortique (ligne pointillée) qui a commencé à se rétracter (as : sac aortique, pl : lumière du pharynx). B, Après dissociation de l'endoderme (bleu), le bourgeon thyroïdien perd de manière transitoire le contact avec l'aorte caudale rétractée. Le primordium (vert) se repose sur la surface crânienne du sac aortique (rouge) à E11.5. C, le primordium s'étend bilatéralement le long de la troisième artère de l'arc pharyngien. Les extrémités latérales de la thyroïde et les corps ultimo-branchiaux (brun) se rapprochent (flèche) (Ao, aorte, D, aorte dorsale, 3, 3^{ème} artère de l'arc pharyngien, 4, 4^{ème} artère de l'arc pharyngien). D, à E13.5, les corps ultimo-branchiaux fusionnent avec les extrémités latérales du primordium thyroïdien (flèche). E, à E18.5, la forme finale de la thyroïde est établie avec des lobes bilatéraux près des artères carotides (Davies, Latif et al. 2011).

1.3 Contrôle du développement de la thyroïde

Les progéniteurs embryonnaires de CFT dérivent de l'endoderme définitif (Alt, Reibe et al. 2006). Les facteurs clés impliqués dans la spécification de l'endoderme sont régulés par la famille nodale des molécules de signalisation et leurs schémas complexes de glycosylation (Lowe, Yamada et al. 2001, Tam, Kanai-Azuma et al. 2003). Ainsi, l'induction de l'endoderme par la signalisation nodale et ses effecteurs en aval est une condition préalable au développement des CFT (Elsalini, von Gartzen et al. 2003). La survie et la croissance des progéniteurs thyroïdiens dépendent d'une signature thyroïdienne spécifique. Cette signature comprend : (*Pax8* : paired box gene 8), les facteurs de transcription thyroïdiens (TTF) 1 (également connu sous le nom de *Titf-1* / *Nkx2.1*) et le TTF2 (également connu sous le nom de *Foxe1*). En combinaison avec diverses molécules supplémentaires, notamment (*Hhex* : hematopoietically expressed homeobox), et les produits des gènes (*Hoxa3* : homeobox gene A3, *Eya1* : eyes absent homolog 1 gene, et *Fgfr2* : fibroblast growth factor receptor 2) (Plachov, Chowdhury et al. 1990, Lazzaro, Price et al. 1991, Zannini, Avantaggiato et al. 1997, Pellizzari, D'Elia et al. 2000, Dathan, Parlato et al. 2002, Xu, Zheng et al. 2002). L'expression combinée de *Titf-1*, *Pax8*, *Foxe1* et *Hhex* est unique à la thyroïde en développement (De Felice and Di Lauro 2004), Cela implique qu'un réseau de régulation parmi de nombreux facteurs de transcription contrôle les différents aspects du développement thyroïdien. Par exemple, *Hhex* joue un rôle essentiel dans le maintien de l'expression de *Titf-1*, *Pax8* et *Foxe1*, tandis que *Titf-1* et *Pax8* régulent ensemble la prolifération, la survie et la différenciation des CFT, et *Foxe1* leur migration (tableau 7). Bien que la TSH soit le principal stimulus de croissance de la glande thyroïde, la croissance et le développement précoces de la thyroïde fœtale semblent être généralement indépendants de la TSH, parce que sa sécrétion ne peut être démontrée avant E12.5 (10-12 semaine chez l'homme) (Lin, Li et al. 1994, Howdeshell 2002). Une analyse détaillée réalisée à la fin de l'organogenèse, à E17, a révélé qu'en l'absence de TSHR fonctionnel, la structure folliculaire de la thyroïde n'est pas affectée, et la Tg est produite, alors

INTRODUCTION – CHAPITRE III : Iode, Hormones Thyroïdiennes & Effet Wolff-Chaikoff

que l'expression de TPO et de NIS est fortement régulée à la baisse (Postiglione, Parlato et al. 2002). Ces données indiquent que, pendant la vie embryonnaire, la signalisation TSH / TSHR est nécessaire pour compléter le programme de différenciation des CFT mais n'est pas pertinente pour contrôler le développement de la glande (Davies, Latif et al. 2011).

Tableau 7 : Expression et fonctions établies des facteurs de transcription de la thyroïde dans les primordiums des organes dérivés de l'endoderme antérieur. (Nilsson and Fagman 2017).

Gene	Expression	Rôles de transcription
Hhex	Bourgeon thyroïdien	Survie
	Bourgeon de foie	Spécification, bourgeonnement
	Bourgeon pancréatique	Positionnement
	Pancréas endocrinien	Sécrétion d'insuline
Nkx2-1	bourgeon thyroïdien	Survie
	Cellules folliculaires	Différenciation
	Corps ultimo-branchiaux	Survie
	Cellules C	Différenciation
	Bourgeon de poumon	ramification
	Cellules de Clara	Spécification
	Cellules alvéolaires de type II	Différenciation
Pax8	Bourgeon thyroïdien	Survie
	Cellules folliculaires	Différenciation
Foxe1	Bourgeon thyroïdien	Survie, migration
	Cellules folliculaires	Synthèse des hormones

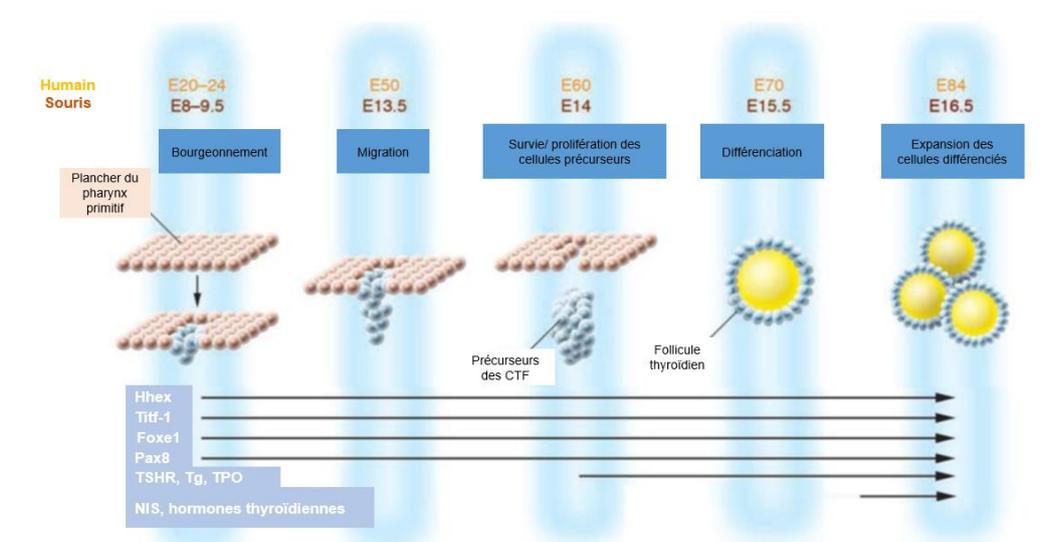


Figure 7 : Chronologie de l'expression des gènes de la thyroïde en développement.

Représentation schématique des stades de développement des cellules thyroïdiennes folliculaire (CTF) et de l'expression des gènes pertinents. Chez la souris E8 (E20 chez l'homme), expression d'une

combinaison de facteurs de transcription tels que PAX8, facteur de transcription essentiel à l'activation du promoteur des gènes TPO, Tg, NIS, Tf1 et Foxe1, responsables de la morphogénèse de la glande thyroïde. À environ E13,5 chez la souris et E50 chez l'homme, le diverticule thyroïdien commence sa migration depuis le plancher pharyngé et atteint sa position pré-trachéale définitive. Vers E14 (E60 chez l'homme), les précurseurs de CTF expriment le TSHR. Par E15.5, l'organisation folliculaire de la thyroïde apparaît avec l'expression d'une série de protéines essentielles à la biosynthèse des hormones thyroïdiennes, notamment TPO, Tg et NIS (Davies, Latif et al. 2011).

2 Iode

2.1 Histoire

En 1811, le salpêtrier et chimiste Français Bernard Courtois a fait la découverte de l'iode, cette découverte est l'objet de plusieurs versions. Selon les uns, c'était en ajoutant accidentellement une très grande quantité d'acide chlorhydrique à la solution d'extraction de cendre d'algues servant à préparer la potasse, qu'il provoquait un nuage de vapeur violette (Figure 8) qui se condensait en cristaux d'iode (Figure 9). Selon une autre version, c'était le fait que l'iode des algues corrodait ses récipients qui aurait attiré son attention sur cette substance. En effet, il aurait remarqué que les chaudières servant à la préparation du nitrate de soude étaient rapidement perforées. Il étudiait les causes et trouvait que le cuivre se combinait avec une substance inconnue. Il poursuivait ses recherches et obtint un corps simple « substance X ». Par manque de temps et d'argent, il délégua l'étude de cette nouvelle substance à deux chimistes Français Charles-Bernard Desormes et Nicolas Clément. Il a aussi donné de nombreux échantillons à d'autres chimistes. Deux ans plus tard, les deux hommes publiaient les résultats de leurs travaux. Louis-Joseph Gay-Lussac, qui en était le rapporteur, s'intéressait à cette substance, et a porté à l'attention l'analogie qui existait entre son comportement chimique et celui du chlore. Il lui attribua le nom de "iode", du grec «*ιώδης* = iodès » qui veut dire « violet » en raison des vapeurs violettes qu'elle dégage quand on la chauffe. Le 14 août 1814, il présentait à l'Institut une étude complète de ce nouveau corps simple de la famille des halogènes (Wisniak 2001, R. de Laeter, Bohlke et al. 2003).



Figure 8 : Diode gazeux.



Figure 9 : Diode solide.

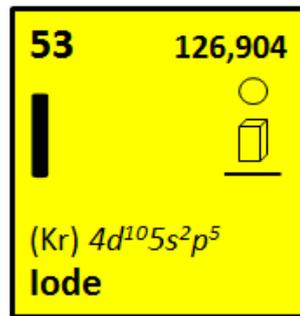
2.2 Propriétés physico-chimique

L'iode (I), numéro atomique 53, poids atomique 126,904, est un élément non métallique de la famille des halogènes groupe 17 (VIIA) après le fluor (F), le chlore (Cl) et le brome (Br) dans le tableau périodique (Figure 10). Parmi ceux-ci, l'iode est le plus lourd et le moins électronégatif, son électronégativité est de 2.66 sur l'échelle de Pauling. L'iode est un solide cristallin noir bleuté avec un éclat métallique sous la forme de flocons brillants qui peuvent être facilement broyés en une fine poudre. L'iode cristallise dans une structure orthorhombique et est disposée dans une cellule unitaire de huit atomes disposés en bipyramide symétrique (figure 11). L'iode solide se sublime facilement (Tableau 8), la vapeur est constituée de molécules d'iode diatomiques (I₂) qui se dissocient facilement à des températures élevées. La densité de la vapeur d'I₂ est environ neuf fois celle de l'air. L'iode solide est légèrement soluble dans l'eau et aucun hydrate ne se forme à la dissolution, alors qu'il se dissout facilement dans de nombreux solvants organiques. La couleur de l'iode en solution varie selon le solvant ; les hydrocarbures aliphatiques et le tétrachlorure de carbone donnent des solutions violettes, les hydrocarbures aromatiques donnent des solutions roses ou rose brunâtre, et les alcools, l'eau, les éthers et certaines amines donnent des couleurs brunes. Le seul isotope stable de l'iode a une masse de 127. L'iode (I) possède 37 isotopes connus, de nombre de masse variant entre 108 et 144. Le plus stable est I129 avec une demi-vie de 15,7 millions d'années. Tous les autres ont une demi-vie inférieure à 60 jours ; quatre d'entre eux sont utilisés comme traceurs radiogéniques et agents thérapeutiques : I123, I124, I125, et I131. La configuration électronique de l'atome d'iode est 4d¹⁰5s²5p⁵ (figure 11). La chimie de l'iode est assez complexe car il peut exister dans un certain nombre d'états de valence, ses principaux états d'oxydation étant - 1, +1, +3, +5 et +7 et un oxyde IO₂, avec un état d'oxydation de + 4. Toutes ces formes sont thermodynamiquement stables sauf l'état +4. L'iode se dissout sans réaction dans l'acide sulfurique concentré, et avec l'acide nitrique concentré il réagit pour former du pentoxyde d'iode; en solution acide, il a des propriétés oxydantes légère. L'iode forme facilement des iodures covalents tels que l'aluminium, l'étain, le titane et de nombreuses substances organiques, mais pas avec S, Se, et les gaz rares, et ne réagit qu'indirectement avec C, N, O et certains métaux nobles comme le Pt. l'iode sous forme vapeur ou solide réagit facilement avec Mg, Ca, Al, Zn, Sn, Ni et Fe, formant les iodures correspondants. les iodures métalliques et les polyiodures sont des bases, tandis que les halogénures d'iode sont des acides (L'Abbé 2003, Swietaszczyk and Pilecki 2012).

INTRODUCTION – CHAPITRE III : Iode, Hormones Thyroïdiennes & Effet Wolff-Chaikoff

Tableau de classification périodique des éléments avec le symbole chimique et le numéro atomique. L'élément Iode (I, numéro atomique 53) est entouré d'un cercle rouge.

Figure 10 : Tableau de classification périodique des éléments, avec le symbole chimique et le numéro atomique (adaptée de (Sturza 2014)).



- Fortement acide
- Solide
- ▭ Orthorhombique
- Halogène

Figure 11 : Iode.

Tableau 8 : Propriétés physique de l'Iode (L'Abbé 2003).

Propriétés	
Couleur	Noir bleuté (solide) Violet (gaz) Varie selon le solvant (liquide)
Point de fusion (°C)	113.6
Points d'ébullition (°C)	185
Structure en cristal (I ₂)	Orthorhombique
Densité (g.mL ⁻¹) à 20 °C	4.93
Pression de la vapeur (KPa) à 25 °C	0.04133
Pression de la vapeur (KPa) à 113.6°C	12.0655
Solubilité (g.Kg ⁻¹) à 25°C, eau	0.34
Solubilité (g.Kg ⁻¹) à 25°C, benzène	164.0
Solubilité (g.Kg ⁻¹) à 25°C, chloroforme	49.7
Solubilité (g.Kg ⁻¹) à 25°C, alcool éthylique	271.1
Solubilité (g.Kg ⁻¹) à 25°C, n-hexane	13.2

2.3 Abondance et distribution

L'iode est l'un des éléments les plus rares sur la terre. Bien que non abondant, l'iode est largement distribué dans les roches, les sols, les eaux, les plantes et les tissus des animaux (Tableau 9). Il se trouve en grandes quantités dans les algues, les éponges, le corail, les eaux souterraines et le salpêtre brut du Chili. Le principal réservoir naturel d'iode est constitué par les ions iodures présents en grande quantité dans l'eau des océans à raison de 50 à 60 µg.L⁻¹ (figure 12). Ces iodures sont transformés en iode élémentaire par oxydation sous l'action des rayonnements ultraviolets. En réagissant avec l'oxygène, l'iode est transformé en sa forme radicalaire IO*, qui compose le pool atmosphérique d'iode réactif. Ces radicaux participent à la synthèse des ions iodures et iodates présents au niveau des nuages et des particules atmosphériques en suspension. À la faveur de précipitations, les iodures et iodates se déposent sur le sol et sont véhiculés par les eaux de ruissellement qui transportent également l'iode libéré par l'érosion des roches vers les océans (figure 12). Cependant, le cycle de l'iode dans de nombreuses régions est lent et incomplet, se perdant en raison de la glaciation, des inondations fréquentes et de l'érosion. Par conséquent, les eaux souterraines deviennent facilement déficientes en iode. Les cultures pratiquées dans ces sols peuvent être dix fois plus pauvres en iode (jusqu'à 10 µg kg⁻¹ de poids sec) que celles originaires de régions riches en iode (environ

1 mg kg⁻¹ de poids sec) (E. Hazouard, S. Leroy et al. 2000, L'Abbé 2003, Osterc and Stibilj 2012, Ristic-Medic and Glibetic 2016).

La source unique d'iode pour l'organisme est l'alimentation. Les aliments les plus riches naturellement en iode sont les algues et les poissons marins, ainsi que certains aliments d'origine végétale. En raison des caractéristiques de son cycle naturel, l'iode est apporté aux populations d'une manière très variable selon différents paramètres tels que le lieu et la saison de production des aliments, le mode de vie et les habitudes alimentaires des populations. L'Organisation mondiale de la santé (OMS) a fixé l'apport minimal journalier souhaitable pour un adulte à environ 100 µg (Niwattisaiwong, Burman et al. 2017). Un apport iodé inférieur à 25 µg/j entraîne quasi systématiquement une symptomatologie d'hypothyroïdie. En cas d'apport insuffisant par l'alimentation, une supplémentation adaptée à l'intensité de la carence est souvent apportée aux populations. Dans les pays à faible risque de carence, un apport est proposé essentiellement sous forme de sel de consommation enrichi en iodures de potassium ou de sodium (15 mg/kg en France). Dans les régions en déficit plus important en iode, un apport est systématiquement instauré aux populations (iodures et iodates de potassium ou sodium, produits huileux iodés). En outre, l'iode peut être ajouté aux aliments, à partir de sources telles que les engrais, les compléments alimentaires pour animaux, les additifs et les colorants alimentaires contenant de l'iode (E. Hazouard, S. Leroy et al. 2000, L'Abbé 2003).

Tableau 9 : Quantité d'iode en fonction de la région (L'Abbé 2003).

Produits	Régions riches en iode	Régions déficientes en iode
Eau potable (µg. L ⁻¹)	5 – 15	0.1 – 2
Eau de mer (µg. L ⁻¹)	50	
Air (µg.Kg ⁻¹)	0.7	0.02
Sol (µg.Kg ⁻¹)	300	< 100
Apport alimentaire (µg.jours ⁻¹)	100 – 150	< 25
Lait (µg.Kg ⁻¹)	50 – 1000	< 25
Pain (µg.Kg ⁻¹)	15	< 5
Tissus des animaux (µg.Kg ⁻¹)	100 – 400	< 50

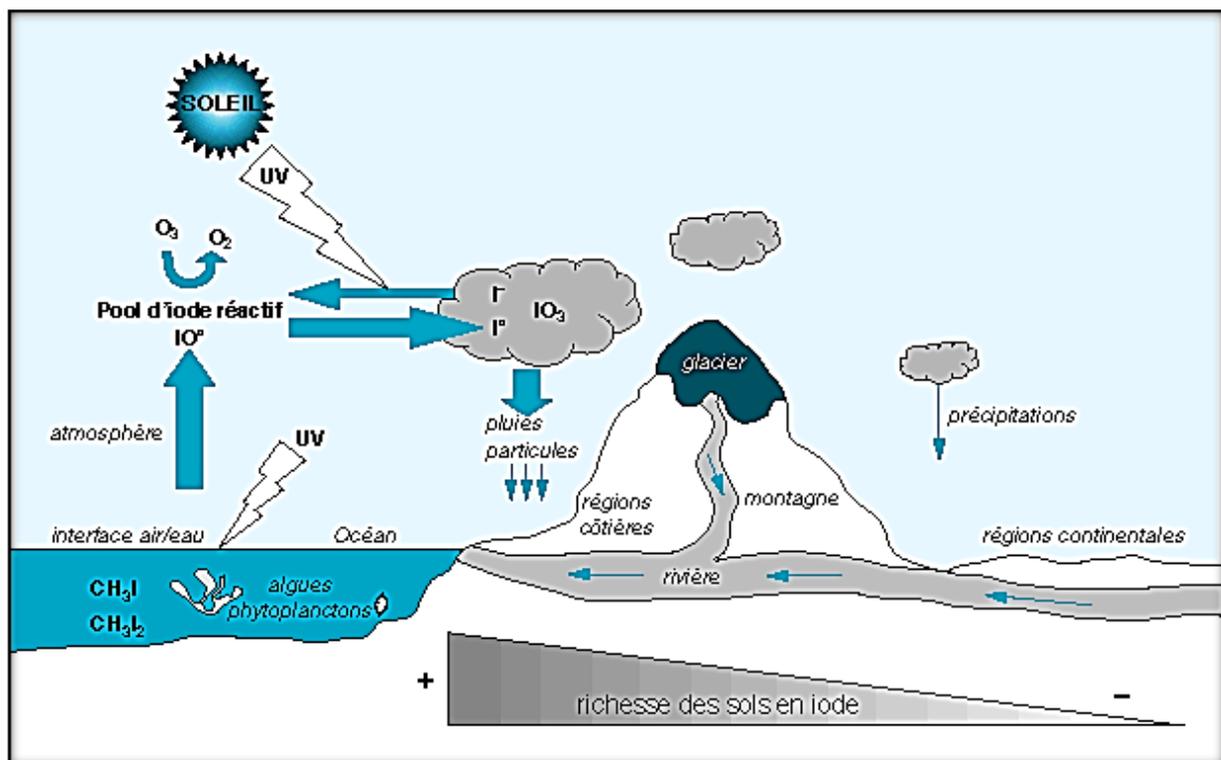


Figure 12 : Cycle biogéochimique de l'iode (E. Hazouard, S. Leroy et al. 2000).

L'iode est indispensable au bon fonctionnement de l'organisme, plusieurs anomalies âge dépendantes ont été liées à un régime déficient en iode (tableau 10) (Rohner, Zimmermann et al. 2014), la connaissance du devenir de l'iode dans l'organisme est primordial pour la compréhension du mode d'action de cet élément.

Tableau 10 : Troubles dus à une carence en iode par groupe d'âge.

Groupe	Conséquences sanitaires d'une déficience en iode
tout âge confondu	Goitre Sensibilité accrue de la glande thyroïde aux radiations nucléaires
Fœtus	Avortement Mortinaissance Anomalies congénitales Mortalité périnatale
Nouveau-né	Mortalité infantile Crétinisme endémique
Enfants et adolescents	Altération de la fonction mentale Retard de développement physique
Adulte	Altération de la fonction mentale Productivité de travail réduite Goitre nodulaire toxique Hyperthyroïdie induite par l'iode Augmentation de l'hypothyroïdie dans les cas de carence en iode modérée à sévère

	Fréquence accrue d'hypothyroïdie dans les cas de carence en iode légère à modérée
--	-----------------------------------------------------------------------------------

2.4 Pharmacologie

2.4.1 Absorption intestinale

L'iode est ingéré sous diverses formes qui sont réduites en iodure (I⁻) dans l'intestin avant absorption (Figure 13). L'absorption est extrêmement efficace et a lieu principalement dans l'estomac et l'intestin grêle supérieur (le duodénum). Dans des conditions normales, l'absorption d'iode alimentaire est supérieure à 90% (Ristic-Medic and Glibetic 2016). L'absorption intestinale commence dès que l'iode arrive dans l'estomac, via une protéine de transport actif NIS présente dans la bordure en brosse de la membrane. NIS co-transporte deux ions de sodium avec un ion iodure, ce transport fait appel à un gradient de sodium. L'énergie nécessaire pour produire le gradient de sodium est fournie par la pompe Na⁺ / K⁺ -ATPase (Verger, Aurengo et al. 2001, Nicola, Reyna-Neyra et al. 2012). Chez un sujet à jeun, un traceur radioactif est observé dans le cou environ 3 minutes après l'administration orale d'I131 (Myant, Pochin et al. 1949). La nourriture dans l'estomac retarde l'absorption d'environ 10 à 15 minutes. L'absorption est accomplie chez presque tous les sujets au bout de 2 heures après l'ingestion. Après, les iodures passent dans la circulation systémique et rejoignent le pool d'iodures plasmatiques; le volume de distribution correspond à 30 - 40 % du poids corporel (Vagenakis and Braverman 1975). La sortie de l'iode du compartiment plasmatique se fait par deux principaux mécanismes distincts intervenant de manière compétitive : la captation thyroïdienne (20 %) et l'élimination rénale (77 %) (E. Hazouard, S. Leroy et al. 2000).

Lors d'un accident nucléaire, l'inhalation peut être la principale voie d'exposition à l'iode radioactif. Il est présent dans le panache sous trois formes principales : l'iode moléculaire gazeux, l'iode organique gazeux et l'iode particulaire (Crocker 1984). L'iode moléculaire gazeux est déposé presque entièrement dans le tube digestif des voies respiratoires supérieures; avalé, il suit le métabolisme de l'iode ingéré (Morgan, Morgan et al. 1968); l'absorption du sang est rapide (demi-vie de 10 minutes) et complète. Pour l'iode organique gazeux, la rétention pulmonaire est d'environ 70% (Morgan, Morgan et al. 1967); il est absorbé très rapidement dans le sang (demi-vie de 5 secondes). L'iode particulaire est présent dans les aérosols, l'incorporation d'iode est complète indépendamment de la taille des particules, car ceux qui ne pénètrent pas dans les voies respiratoires sont avalés et absorbés par le système digestif, l'absorption du sang est rapide (demi-vie de 10 minutes).

2.4.2 Transport dans le sang

Les concentrations plasmatiques totales d'iode chez les sujets euthyroïdiens varient entre 40 et 80 µg.L⁻¹ (Figure 13). Dans des circonstances normales, l'iode absorbé a une demi-vie d'environ 10 heures dans le plasma. Cette demi-vie peut être raccourcie chez les patients présentant une carence en iode due à une capture plus rapide de la thyroïde. Dans le plasma sanguin, la concentration d'iodure inorganique est proportionnelle à l'apport alimentaire et varie entre 2 et

10 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ pour des apports moyens inférieurs à 200 $\mu\text{g}\cdot\text{jour}^{-1}$. La plus grande partie de l'iode organique est présente sous forme de T4, qui représente plus de 10 fois la teneur en iode de T3, de T3 inverse (rT3), de mono-iodo tyrosine (MIT) et de diiodo tyrosine (DIT). Moins de 1% de triiodothyronine (T3) et thyroxine (T4) est libre dans le plasma. La T4 est soit libre (T4L), soit liée à des protéines, principalement à la globuline liant la thyroxine (TBG) et, dans une moindre mesure, à la transthyrétine et à l'albumine (Ristic-Medic and Glibetic 2016).

2.4.3 Métabolisme thyroïdien

15 à 30 % de l'iode ingéré est activement absorbé par la membrane basale des cellules folliculaires thyroïdiennes à l'aide de NIS, dans les 24 heures suivant l'ingestion. L'activité spécifique de NIS dans les cellules thyroïdiennes est trois à quatre fois plus importante que dans les autres tissus du corps (Carrasco 1993, Dai, Levy et al. 1996, Smanik, Liu et al. 1996, Ristic-Medic and Glibetic 2016). Au sein du thyrocyte, l'iode participe par étapes successives à la production des hormones thyroïdiennes. Après leur incorporation dans le pool intracellulaire du thyrocyte, les iodures sont transloqués et organifiés, c'est-à-dire oxydés puis combinés avec les résidus tyrosine de la thyroglobuline, cette protéine constitue une matrice de synthèse et de stockage des iodotyrosines : MIT et DIT. Selon l'apport en iode, jusqu'à 25 % des résidus tyrosyls de cette protéine sont susceptibles d'être iodés (Schlienger, Goichot et al. 1997). Cette réaction apicale implique Pendrin (PDS), un transporteur de chlorure / iodure (Everett et al. 1997), et la TPO. Le couplage de deux molécules iodotyrosine aboutit à la formation des hormones thyroïdiennes : T4 et T3. Toutes ces étapes, depuis la captation des iodures jusqu'à la libération d'hormones thyroïdiennes, sont régulées par la TSH hormone hypophysaire de stimulation de la glande thyroïde, grâce à un système de bio-rétrocontrôle (Figure 14A) (Cavalieri 1997). La glande thyroïde stocke assez d'hormones thyroïdiennes pour durer plusieurs mois en cas de déficience en iode (Figure 13) (Pennington 2003). L'absorption thyroïdienne est plus élevée chez les adolescents que chez les adultes et diminue progressivement avec l'âge (Cuddihy 1966). Les anomalies thyroïdiennes peuvent modifier l'absorption thyroïdienne.

2.4.4 Métabolisme extra-thyroïdien

Au niveau périphérique, les hormones thyroïdiennes contenant 59 à 65 % d'iode sont soumises à des déiodinases spécifiques, notamment hépatique et rénale (Berry, Banu et al. 1991, Maia, Goemann et al. 2011). Les iodures ainsi libérés réintègrent le pool plasmatique des iodures. Cet iode plasmatique peut être également capté par d'autres organes (glandes salivaires, estomac, plexus choroïde, glandes mammaires) (Kogai and Brent 2012).

2.4.5 Elimination

Outre la thyroïde, les autres organes qui concentrent l'iodure comprennent les glandes salivaires, la muqueuse gastrique, les plexus choroïdes, les glandes mammaires et le placenta. La phase entérique consiste en l'iodure sécrété dans la salive et le suc gastrique, qui se déplace dans l'intestin grêle pour la réabsorption. L'apport en excès d'iode est excrété principalement par l'urine, l'excrétion rénale est rapide dans les premières heures, atteignant un plateau au bout de 24 à 48 heures (Myant, Pochin et al. 1949, Berson, Yalow et al. 1952). La clairance rénale de l'iode n'est pas influencée par l'apport en iode: elle n'est pas adaptative et n'est pas saturable.

Les reins représentent environ deux tiers de l'iodure éliminé du plasma et plus de 90% de l'iodure excrété par le corps (Cavalieri 1997), une réabsorption partielle se produisant dans les tubules rénaux. La clairance rénale de l'iodure diminue significativement chez les patients présentant une altération de la fonction rénale ou un myxœdème. Une augmentation de l'apport liquidien peut entraîner des pertes d'iode supplémentaires (Ristic-Medic and Glibetic 2016). Le lait maternel représente des fractions variables de la perte d'iodure, lorsque la production de lait est importante, il s'agit d'une voie majeure d'excrétion, la concentration d'iode dans le lait étant de 20 à 50 fois plus élevée que dans le plasma. Le transfert d'iode dans le lait maternel est saturable par une surcharge en iode (Rubow and Klopper 1988, Cavalieri 1997). Il a été rapporté que l'iodure est sécrété du sang dans le gros intestin, ce qui peut expliquer en partie pourquoi le côlon est souvent vu dans les scintigraphies à l'iode radioactif chez les patients après une thyroïdectomie. Cependant, Les pertes de matières fécales sont généralement faibles (10 à 30 $\mu\text{g. jour}^{-1}$). De petites quantités constantes sont également perdues par la peau 35-40 $\mu\text{g.L}^{-1}$ (Hays 1993, Ristic-Medic and Glibetic 2016). Dans le colostrum, la concentration en iode varie de 200 à 400 $\mu\text{g.L}^{-1}$ (Ristic-Medic and Glibetic 2016).

2.4.6 Stockage

L'iode est un oligo-élément correspondant à environ 0,00002 % du poids corporel soit 10 à 20 mg pour un adulte, la plus grande partie étant concentré dans la thyroïde ce qui représente en moyenne 8-15 mg (Pennington 2003, Ristic-Medic and Glibetic 2016). La fonction principale de la glande thyroïde est de stocker l'iodure et de le rendre disponible pour la biosynthèse des hormones thyroïdiennes. En cas de carence chronique en iode, la teneur en iode de la thyroïde pourrait chuter à moins de 20 μg . Dans les zones riches en iode, la thyroïde adulte piège environ 60 μg d'iode par jour pour équilibrer les pertes et maintenir la synthèse des hormones thyroïdiennes. Le cycle de l'iodure consiste en une série d'étapes de transport, d'oxydation et de couplage dans les cellules folliculaires thyroïdiennes pour produire des hormones thyroïdiennes. La teneur en iode thyroïdienne à la naissance est de l'ordre de 100 à 300 μg et augmente progressivement pour atteindre environ 374 mg à l'âge de 4 à 6 ans. En même temps, les besoins en hormones thyroïdiennes d'un nourrisson en développement sont à leur plus haut poids corporel par kilogramme par rapport aux périodes de croissance subséquentes et sont également à un moment où une hormone thyroïdienne adéquate est essentielle pour le développement neurologique en cours. L'absorption et le stockage par le placenta dépendent de l'apport en iode maternel. Le placenta a une teneur en iode de 30 ng.g^{-1} par rapport à la teneur inférieure à 2 ng.g^{-1} pour le myomètre. La concentration d'iode dans le liquide amniotique est d'environ 15 $\mu\text{g.L}^{-1}$ (Ristic-Medic and Glibetic 2016).

2.5 Métabolisme de l'iode durant la grossesse

Les femmes en bonne santé maintiennent des réserves d'iode de 15-20 mg dans la thyroïde, et pendant la grossesse, l'iode stocké peut être utilisé pour aider à répondre à l'augmentation d'environ 50% des besoins en iode maternelle. Les besoins en iode augmentent pendant la grossesse en raison d'une variété de changements physiologiques. En début de gestation, la production d'hormones thyroïdiennes maternelles augmente normalement d'environ 50% en réponse à l'augmentation des taux sériques de TBG (résultant de l'augmentation des taux

d'œstrogènes) et à la stimulation des récepteurs de la TSH par l'hormone chorionique gonadotrope humaine (hCG) (Serrano-Nascimento, Salgueiro et al. 2017). Chez les femmes enceintes, la production de T4 endogène augmente en moyenne de $37 \mu\text{g}\cdot\text{jour}^{-1}$, ce qui correspond à une demande supplémentaire en iode de $25 \mu\text{g}\cdot\text{jour}^{-1}$. Le taux de filtration glomérulaire de l'iodure augmente de 30 à 50% en début de grossesse, ce qui entraîne une augmentation de l'excrétion de l'iode urinaire chez la mère et une diminution de la masse circulante d'iode plasmatique (Serrano-Nascimento, Salgueiro et al. 2017). La production d'hormones thyroïdiennes fœtales ne commence pas avant 14-16^{ème} semaines de grossesse (Howdeshell 2002). L'iode nécessaire à la synthèse fœtale des hormones thyroïdiennes conduit à un apport additionnel total de $50 \mu\text{g}$ d'iode par jour. La production d'hormones thyroïdiennes fœtales augmente au cours de la seconde moitié de la grossesse, ce qui contribue à l'augmentation des besoins en iode chez la mère car l'iodure traverse facilement le placenta. Ainsi, la demande en hormones thyroïdiennes augmente, ce qui nécessite un apport en iode adéquat. Si la mère est exposée à l'iode radioactif pendant cette période, sa concentration sera plus élevée dans la thyroïde fœtale que dans la thyroïde maternelle car, le fœtus a une réserve d'iode beaucoup plus faible que la mère (Vanmiddlesworth 1963).

2.6 Interaction alimentaire

Certains aliments contiennent des goitrogènes (thiocyanates, perchlorate...), c'est-à-dire des substances qui entrent en compétition avec l'iode, bloquant son absorption par la thyroïde. Il faut reconnaître que les goitrogènes ne sont généralement actifs que si l'apport en iode est limité et / ou si l'ingestion du goitrogène est de longue durée. Les carences en sélénium, fer, zinc et vitamine A peuvent altérer le métabolisme de l'iode, d'autres recherches sont nécessaires pour établir une relation concluante entre l'iode et d'autres micronutriments (Ristic-Medic and Glibetic 2016).

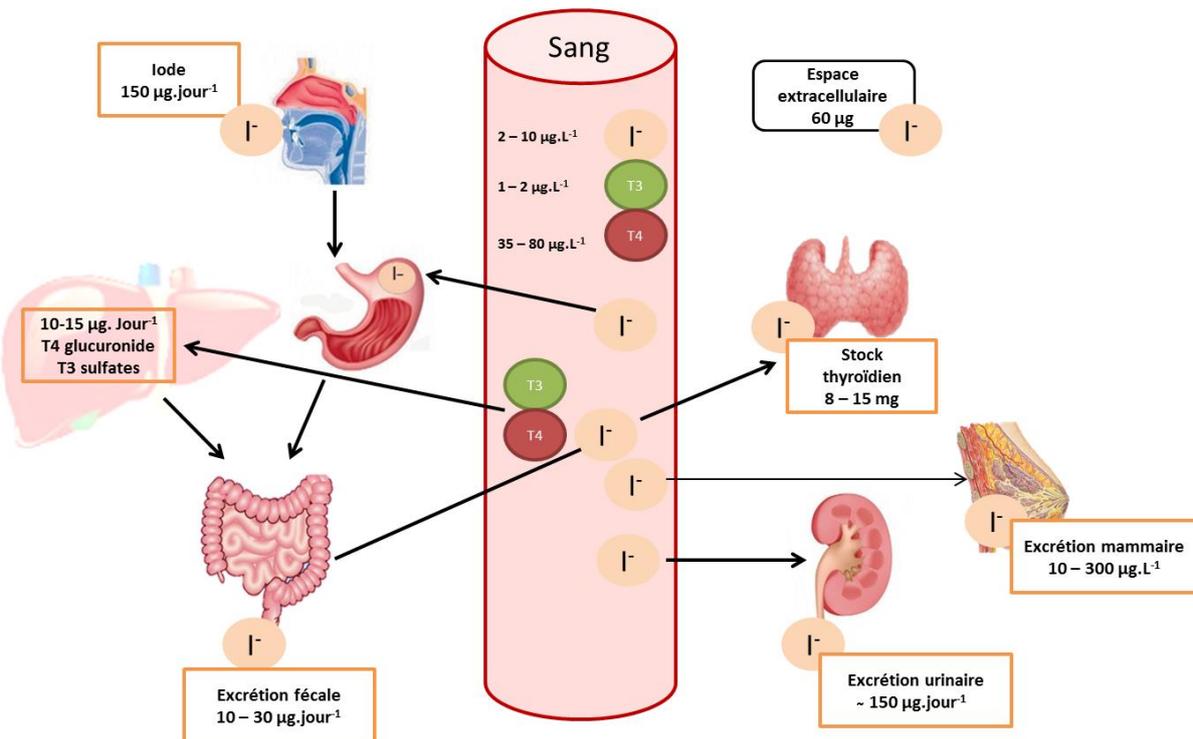


Figure 13 : Devenir de l'iode dans l'organisme.

3 Hormones thyroïdiennes et effet Wolff-Chaikoff

La biosynthèse des hormones thyroïdiennes (Figure 15) comprend une série de réactions biochimiques spécifiques, étroitement liées à l'organisation histologique du tissu thyroïdien. Les follicules thyroïdiens unités fonctionnelles de la thyroïde, sont formés par une monocouche de cellules épithéliales folliculaires polarisées, appelées thyrocytes, organisées dans une structure tridimensionnelle ovoïde entourant la lumière du follicule (Figure 15A) (Carvalho and Dupuy 2017). L'intérieur du follicule contient principalement de la thyroglobuline (TG) iodée et est appelé "colloïde" en raison de sa teneur élevée en protéines, qui sont en contact étroit avec la membrane plasmique apicale. L'extérieur du follicule est délimité par la membrane plasmique basolatérale et est en contact avec un large réseau de capillaires sanguins où se produit un échange intense avec le sang. Les hormones thyroïdiennes contiennent des atomes d'iode dans leur structure moléculaire (figure 14B). Leur biosynthèse est réalisée grâce à un ensemble de gènes codant pour des facteurs de transcription dont l'expression commune est caractéristique et spécifique du tissu thyroïdien. Au total, ces facteurs de transcription sont fondamentaux pour l'expression des marqueurs de différenciation thyroïdienne, tels que la TG et autres protéines permettant l'iodation des résidus tyrosyles de la TG. Les iodotyrosine formés dans la TG sont ensuite couplés pour former la T4 et la T3. Il existe au moins quatre molécules qui doivent interagir pour que la biosynthèse des hormones thyroïdiennes se produise : iodure, TG, peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) et TPO. L'iodure est absorbé dans le tractus gastro-intestinal et atteint la membrane plasmique basolatérale à travers la circulation sanguine. La sécrétion des hormones thyroïdiennes dépend de la réabsorption des TG iodées, de leur protéolyse et de la

libération ultérieure de T4 et de T3 dans le sang via des transporteurs situés dans la membrane plasmique basolatérale. Le principal mode de régulation de la sécrétion des HT est l'axe thyroïdien, lorsque la concentration plasmatique en HT est faible, l'hypothalamus sécrète l'hormone thyroïdienne (TRH) pour stimuler la sécrétion de la TSH par l'anté-hypophyse. La TSH entraîne une augmentation de l'expression de NIS pour accroître la captation de l'iode dans le thyrocyte, et une augmentation de l'expression des gènes responsables de la synthèse des hormones thyroïdiennes (Postiglione, Parlato et al. 2002). En quantité suffisante, la T3 et la T4 inhibent la sécrétion de la TRH et de la TSH permettant un rétrocontrôle négatif de la sécrétion des HT (Figure 14 A).

3.1 Molécules impliquées dans la biosynthèse des hormones thyroïdiennes

3.1.1 Iode (I)

La glande thyroïde concentre l'iodure du plasma par un facteur de 20-40 (Carvalho and Dupuy 2017). En 1996, les gènes qui codent la protéine responsable du transport de l'iodure dans les thyrocytes ont été séquencés chez le rat et l'homme (Dai, Levy et al. 1996, Smanik, Liu et al. 1996, Smanik, Ryu et al. 1997). Le gène humain (hNIS) est situé sur le chromosome 19p13.2-p12 et présente une identité d'acides aminés de 84% et une similarité de 93% avec le gène du rat (rNIS) (Smanik, Ryu et al. 1997). Le gène rNIS a une taille nettement inférieure (9260 bases) à celle de son homologue humain (22 116 bases), bien que les tailles de leurs ARNm respectifs soient similaires. NIS est un membre de la famille 5 des transporteurs de solutés (SLC5), et sa structure secondaire prédit une protéine avec 13 segments transmembranaires, l'extrémité amino faisant face au milieu extracellulaire et l'extrémité carboxy faisant face au cytosol (Levy, Dai et al. 1997, Levy, De la Vieja et al. 1998). Le transport de l'iodure par NIS est déterminé par le gradient transmembranaire Na^+ généré activement par la pompe Na^+ / K^+ ATPase sensible à la ouabaine présente à la membrane plasmique basolatérale (Figure 15). Ainsi, NIS est un transporteur actif qui couple le transport interne de deux ions Na^+ et d'un ion iodure contre le gradient électrochimique. Le rôle de la protéine NIS dans la capture de l'iodure et la biosynthèse des hormones thyroïdiennes a été confirmé après la description des mutations présentes chez les patients présentant des goitres dyshormonogénétiques (Dohán, De la Vieja et al. 2003, De la Vieja, Ginter et al. 2005, De la Vieja, Reed et al. 2007). De plus, la présence des canaux K^+ voltage-dépendants, KCNQ1 et KCNE2 au niveau de la membrane plasmique basolatérale est également importante pour l'absorption de l'iode (Figure 15). Puisque la perturbation du gène *kcne2* chez la souris entraîne une diminution de l'accumulation d'iodure, le goitre et l'hypothyroïdie (Roepke, King et al. 2009, Purtell, Paroder-Belenitsky et al. 2012). Dans les cellules thyroïdiennes, le transport des iodures est stimulé par la TSH et inhibé par des inhibiteurs compétitifs tels que le thiocyanate (SCN^-) et le perchlorate (ClO_4^-) (Dai, Levy et al. 1996, Smanik, Liu et al. 1996, Dohán, Baloch et al. 2001). La TSH agit dans les thyrocytes via un récepteur couplé aux protéines G (TSHR) présent dans la membrane plasmique basolatérale (Figure 15). La TSH stimule l'expression du gène NIS et augmente l'absorption d'iodure par les thyrocytes via l'activation de l'adénylate cyclase par la protéine Gs alpha (Riedel, Levy et al. 2001), alors qu'elle diminue l'expression de NIS par la voie PI3K activée par les sous-unités beta / gamma de la protéine Gs (Zaballos, Garcia et al. 2008). La TSH joue également un rôle

possible dans la régulation post-transcriptionnelle des NIS. Outre la TSH et l'iode, d'autres facteurs peuvent influencer l'expression de NIS, tels que l'insuline, le facteur de croissance analogue à l'insuline, TGF- β 1, TNF α , l'interféron γ , IL-1 α , IL-1 β , IL-6 et 3-Iodothyronamine (3-T₁AM). De nouvelles connaissances sur la régulation de l'expression du gène NIS impliquent des mécanismes épigénétiques (Galvão, Sodr  et al. 2013, Galvão, Camargo et al. 2014). De plus, l'activation de la voie mTOR régule à la baisse l'expression de NIS (De Souza, Padrón et al. 2010). L'activation de la voie AMPK entraîne également une diminution de la teneur en protéines NIS (Andrade, Araujo et al. 2011), en partie à cause de sa dégradation lysosomale, processus lié à l'autophagie (Cazarin, Andrade et al. 2014). Plus récemment, le rôle des espèces réactives de l'oxygène (ROS) sur la régulation négative de NIS après une surcharge en iode a été décrit par différents groupes (Leoni, Kimura et al. 2011, Serrano-Nascimento, da Silva Teixeira et al. 2014, Arriagada, Albornoz et al. 2015). Il est intéressant de noter que la TSH et le sélénium ont également montré une coopération et une régulation positive de l'expression de NIS, probablement par l'augmentation de l'activité de liaison de Pax8 sur le promoteur NIS (G., Ana et al. 2016). Après son afflux dans les thyrocytes, l'iode est ensuite transféré à travers la membrane plasmique apicale vers la lumière folliculaire par un processus appelé «efflux d'iode», qui peut être médié par plusieurs canaux apicaux (De la Vieja and Santisteban 2018). Pendrin était la première protéine impliquée dans l'efflux d'iode apical (Scott, Wang et al. 1999). Par la suite, il a été démontré que le canal chlorure ClC5 joue aussi un rôle dans l'efflux (van den Hove, Croizet-Berger et al. 2006). Plus récemment, un autre transporteur apical l'anoctamine-1 impliqué dans l'efflux d'iode a été identifié (Iosco, Cosentino et al. 2014).

3.1.2 Thyroglobuline (TG)

La TG exerce deux fonctions principales dans le métabolisme de l'iode : elle sert de matrice pour la biosynthèse des hormones thyroïdiennes, et elle permet le stockage intrathyroïdien de l'iode, qui revêt une importance critique pour l'homéostasie thyroïdienne (Dunn and Dunn 1999). La TG 19S se trouve principalement sous forme d'un homodimère de glycoprotéine (660 kDa) composé de deux sous-unités. Les monomères sont codés par le gène TG, qui est situé sur le chromosome 8q24.2 et comprend 48 exons répartis sur environ 270 000 paires de bases (Mendive, Rivolta et al. 2001). L'ARNm de la TG est le plus long transcrit majeur dans les cellules thyroïdiennes et produit une protéine de 2767 acides aminés (Malthiery and Lissitzky 1987) La stimulation de l'adénylate cyclase thyroïdienne par la TSH est importante pour maintenir un certain niveau d'expression de l'ARNm de TG. La TG subit de nombreuses modifications post-traductionnelles avant sa sécrétion et son iodation par la TPO. La N-glycosylation de la TG se produit dans le réticulum endoplasmique. La TG est également phosphorylée sur les résidus sérine / thréonine et sur les unités glucidiques. Les protéines TG non iodées nouvellement synthétisées sont sécrétées dans la lumière folliculaire par exocytose à travers la membrane plasmique apicale. La TSH, via une augmentation de l'AMPc cellulaire, induit une stimulation rapide de l'exocytose (Ericson 1981). L'iodation de certains résidus d'acides aminés de la TG nouvellement sécrétée est catalysée par la TPO, une protéine transmembranaire présente dans la membrane plasmique apicale. Suite à l'oxydation de l'iode et à l'iodation qui se produit dans l'interface membrane colloïdale-plasmique apicale, La TG 19S est modifiée en protéines plus stables par la formation d'une liaison croisée covalente de

TG (ponts disulfure et autres ponts inter-chaînes) (Herzog, Berndorfer et al. 1992, Berndorfer, Wilms et al. 1996). L'augmentation de la teneur en iode par mole de TG semble être liée à la formation de TG 27S et TG 37S (Carvalho, Rosenthal et al. 1987).

3.1.3 Thyroïde peroxidase (TPO)

La TPO est considérée comme l'enzyme clé de l'hormonogénèse thyroïdienne, elle catalyse l'oxydation de l'iodure nécessaire à l'iodation des résidus tyrosyl de la TG (la réaction d'organification). La TPO est également fondamentale pour le couplage oxydatif des iodotyrosines en iodothyronines (T4 et T3). Les mutations du gène TPO sont responsables de goitres hypothyroïdiens congénitaux, dus à des anomalies de l'organification de l'iode (Ris-Stalpers and Bikker 2010). Le gène TPO est situé sur le chromosome 2p25. Le principal ARN présent dans la thyroïde contient 17 exons et code pour la protéine TPO1, une hémoprotéine composée de 933 acides aminés (Kimura, Kotani et al. 1987). Les autres transcrits présents dans la thyroïde subissent l'épissage des exons 10, 16, 14 ou 8 et codent respectivement pour les protéines TPO2, TPO3, TPO4 et TPO5 (Ferrand, Le Fourn et al. 2003). La TSH stimule l'expression du gène TPO via la voie AMPc (Gerard, Lefort et al. 1988), et augmente les taux de TPO au niveau de la membrane plasmique apicale en stimulant l'exocytose. L'iodure, sous sa forme oxydée catalysée par la TPO, semble exercer un contrôle négatif sur le taux d'ARNm de la TPO (Morand, Chaaoui et al. 2003). Les protéines TPO1, TPO3 et TPO4 sont actives, contrairement aux TPO2 et TPO5 qui sont rapidement dégradées (Ferrand, Le Fourn et al. 2003). Les protéines matures de la TPO sont des dimères glycosylés au niveau de la région N terminale, qui est homologue à celle de la myéloperoxydase et contient un groupe hémique situé ensuite à l'extérieur du thyrocyte (Godlewska, Gora et al. 2014). La majorité des molécules TPO sont détectables dans le thyrocyte et seulement environ 20% sont ancrées dans la membrane plasmique apicale. Le ciblage de la TPO sur la membrane plasmique apicale est effectué après l'acquisition du groupe hémique, la glycosylation des résidus d'asparagine dans le réticulum endoplasmique et une nouvelle conception des unités glucidiques dans l'appareil de Golgi. Le clivage de la TPO par une endoprotéase semble être nécessaire au traitement de la protéine (Le Fourn, Ferrand et al. 2005). La liaison covalente du groupe hémique à l'apoprotéine est autocatalytique, nécessite le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) et favorise son ciblage sur la membrane plasmique apicale (Fayadat, Niccoli-Sire et al. 1999).

3.1.4 Système générateur de H₂O₂

Comme toute hème-peroxydase, la TPO ne peut pas oxyder ses substrats sans avoir été préalablement oxydée par une molécule de H₂O₂. Le système générateur de H₂O₂ lié à la synthèse hormonale est actif à la surface apicale et seules les molécules de TPO présentes à cette surface sont activées. Il est maintenant bien établi que l'enzyme produisant H₂O₂ est une NADPH oxydase dépendante du calcium (Deme, Virion et al. 1985) qui correspond à la double oxydase 2 (DUOX2) (Ameziane-El-Hassani, Morand et al. 2005). DUOX2 a été identifié comme étant l'enzyme impliquée dans la synthèse des hormones thyroïdiennes, du fait que des mutations du gène DUOX2 étaient associées à des cas d'hypothyroïdie congénitale due à des anomalies de l'organification de l'iode (Grasberger 2010). Le gène DUOX2 est situé sur le chromosome 15, en 15q15.3-q21.1. Il génère un ARNm de 6532 nucléotides, contenant 34

exons et codant une protéine de 1548 acides aminés. Le gène DUOX1, orienté symétriquement par rapport à DUOX2, est situé à 17 kb de ce dernier, il code pour une protéine de 1551 acides aminés, dont 77% sont identiques à ceux de DUOX2. Le rôle de DUOX1 dans la biosynthèse des hormones est hypothétique (Aycan, Cangul et al. 2017). DUOX2, comme son isoenzyme DUOX1, est une protéine membranaire à sept domaines transmembranaires. L'ectodomaine N-terminal et le premier segment transmembranaire sont spécifiques de DUOX1 / 2 et sont absents des cinq autres NADPH oxydases décrites à ce jour (Ameziane-El-Hassani, Schlumberger et al. 2016). La région contenant les six derniers segments transmembranaires et la région C-terminale intracellulaire est homologue dans les cinq autres NADPH oxydases. En particulier, cette région contient les sites de liaison de deux groupes hémiques, l'un pour le FAD et l'autre pour le NADPH, et constitue la région catalytique de DUOX. La maturation de la protéine DUOX2 implique la N-glycosylation de l'ectodomaine dans le réticulum endoplasmique et une nouvelle conception des motifs de sucre dans l'appareil de Golgi. Une interaction fonctionnelle entre DUOX et TPO est essentielle pour réguler le niveau extracellulaire de H₂O₂ (Fortunato, Lima de Souza et al. 2010). Les protéines DUOX nécessitent un facteur de maturation DUOXA pour être actives. Les gènes DUOXA1 / DUOXA2 sont situés sur le chromosome 15 dans la région inter-génique des gènes DUOX1 / DUOX2 et codent respectivement deux protéines transmembranaires de 320 et 343 acides aminés, chacune ayant 5 segments transmembranaires. Les souris déficientes en facteurs de maturation DUOXA ou en activité DUOX2 sont gravement hypothyroïdiennes (Donkó, Morand et al. 2014). L'activité de la TSH, via la voie AMPc, est nécessaire pour maintenir un taux élevé d'ARNm de DUOX2 dans les cultures primaires de thyrocytes de porc et de chien (De Deken, Wang et al. 2000). Les protéines kinases PKA et PKC, qui activent respectivement DUOX1 et DUOX2 via la phosphorylation, sont toutes les deux régulées par la TSH via des voies de signalisation couplées à la protéine Gs et à la protéine Gq (Rigutto, Hoste et al. 2009). Bien que ces voies modulent l'activité intrinsèque des DUOX, le Ca²⁺ est l'activateur principal des deux enzymes.

3.2 Mécanismes associés à la synthèse des hormones thyroïdiennes

Une fois qu'elles sont présentes ensemble à l'interface de la lumière folliculaire, les molécules impliquées dans l'hormonogénèse interagissent pour produire des hormones thyroïdiennes dans un ordre chronologique, H₂O₂ oxyde la TPO, qui peut ensuite oxyder les ions iodures et permettre leur liaison aux résidus tyrosyle de la TG. Ensuite, l'oxydation et le couplage d'iodotyrosines se produisent pour former les iodothyronines T₄ et T₃

3.2.1 Oxydation de la TPO par H₂O₂

Le centre d'oxydoréduction de TPO est constitué d'un groupement hème situé dans une cavité de la protéine et de quatre résidus adjacents, qui sont conservés dans toutes les peroxydases d'origine animale : l'histidine 239 (distale) et l'arginine 396, située "au-dessus" du plan de l'hème vers l'extérieur de la protéine, et de l'histidine 494 (proximale) et de l'asparagine 579, située sous l'hème (Taurog 1999). La molécule de H₂O₂ entrant dans la poche de l'hème interagit avec l'histidine 239, l'arginine 396 et l'atome de fer de l'hème. Deux électrons sont ensuite retirés de l'hème, conduisant au "composé I" de TPO et à une molécule d'eau. Le composé I est réduit en TPO native par deux électrons extraits de l'iodure, entraînant la formation d'un ion (I⁺) ou

(IOH), une espèce très réactive d'iode, qui se lie aux résidus tyrosyles de TG. Le composé I peut également retirer un électron d'une molécule iodotyrosine pour produire un radical iodotyrosine, générant le composé II de la TPO, avec un seul électron manquant sur l'hème. Le retour à la forme native de la TPO se fait par oxydation monovalente d'une seconde iodotyrosine.

3.2.2 Réaction d'iodation

L'iodation de TG est un processus séquentiel dans lequel TPO et TG sont impliqués. Dans la glande thyroïde, les molécules de TG ont divers degrés d'iodation résultant de l'hétérogénéité fonctionnelle des follicules et des thyrocytes qui composent le même follicule. La TPO oxyde l'iodure de manière divalente pour produire IOH ou I⁺ (Taurog 1999). En effet, les molécules TG qui sont chimiquement iodées, sans la participation de la TPO, n'ont pas la même composition en iodoaminoacides que les TG enzymatiquement iodée, ce qui suggère que la TPO interagit avec les résidus tyrosyles spécifiques. L'iodation enzymatique se produit dans un maximum de 25-30 des 132 résidus de tyrosyle. L'iodation séquentielle des résidus tyrosyle de TG est dictée par sa structure qui détermine leur réactivité. Comme la TG est présente sous forme de dimère, plus d'un résidu de tyrosine peut être iodé à la fois.

3.2.3 Réaction de couplage

La synthèse de T3 et T4 est réalisée par le transfert d'un groupement iodophénoxy d'un résidu MIT ou DIT appelé "donneur" sur un résidu DIT appelé "accepteur" (Gavaret, Cahnmann et al. 1981). Cela conduit à un dérivé d'éther de quinol instable qui se décompose en résidus iodothyronines T3 ou T4 au site accepteur et de résidu déhydroalanine au site donneur. La formation du dérivé d'éther de quinol nécessite une oxydation monovalente préalable des résidus donneurs et accepteurs. Comme mentionné ci-dessus, la TPO semble être principalement responsable de la catalyse des oxydations des iodotyrosines. Il est suggéré que le couplage des iodothyrosines dépend du pH (de Vijlder and den Hartog 1998). In vivo, c'est principalement T4 qui se forme dans la thyroglobuline. La structure de TG est critique pour la réaction de couplage, car elle permet de positionner les donneurs et les accepteurs dans une position antiparallèle, ce qui est critique pour la formation du dérivé d'éther de quinol (Cahnmann, Pommier et al. 1977). Parmi les 25 à 30 résidus de tyrosine pouvant être iodés par la TPO, seuls cinq à seize peuvent être couplés pour former 2 à 8 molécules de T4 et de T3. Dans des conditions normales d'approvisionnement en iode, la thyroglobuline contient en moyenne 2,5 résidus de T4 et 0,7 résidus de T3 (Dunn and Dunn 2001).

3.2.4 Recyclage de l'iodure

Avant relargage des hormones thyroïdiennes dans la circulation sanguine, elles doivent être libérées de la matrice TG par protéolyse. La protéolyse libère non seulement la T4 et la T3, mais aussi les iodotyrosines qui sont désiodés par l'iodotyrosine déshalogénase (DEHAL1) qui semble être présente dans la membrane plasmique apicale et probablement dans les vésicules endocytotiques (Gnidehou, Caillou et al. 2004). Après la protéolyse MIT et DIT sont libérés, la désiodation de ces molécules par DEHAL1 est importante pour fournir une source soutenue d'iodure intrathyroïdien. On pense que le site catalytique de DEHAL1 pourrait faire face à la surface apicale extracellulaire des thyrocytes, suggérant un recyclage rapide de l'iodure à

proximité du site d'organification (Gnidehou, Caillou et al. 2004). L'importance du recyclage de l'iodure par DEHAL1 a été confirmée vu que des mutations homozygotes de perte de fonction dans le gène DEHAL1 entraînent des niveaux élevés d'excrétion urinaire de MIT et de DIT, et les patients peuvent développer un goitre en présence d'une carence relative en iode (Afink, Kulik et al. 2008).

3.2.5 Sécrétion des hormones thyroïdiennes

Le processus de libération des hormones thyroïdiennes commence par la protéolyse de la TG. Les cathepsines de la cystéine sont localisées dans l'espace extracellulaire de la membrane plasmique apicale et dans le système endolysosomal des cellules thyroïdiennes (Jordans, Jenko-Kokalj et al. 2009). L'endocytose de la TG de la lumière folliculaire se produit par macro- et micropinocytose à la surface apicale. Les molécules de TG sont intériorisées par une endocytose (Lisi, Pinchera et al. 2003). Lorsque les phagolysosomes se forment, la protéolyse de la TG se produit à un faible pH à l'intérieur de ces structures subcellulaires, en particulier par les cathepsines endopeptidases et exopeptidases (Jordans, Jenko-Kokalj et al. 2009). Les produits protéolytiques de TG sont le MIT, le DIT, la T4 et la T3, d'autres iodocomposés pouvant être formés dans une moindre mesure, et les acides aminés. La TSH stimule l'endocytose des TG et les activités de l'iodothyronine déiodinase, augmentant ainsi la sécrétion d'hormones thyroïdiennes. T4 et T3 sont libérés de la cellule thyroïdienne par des transporteurs présents au niveau de la membrane plasmique basolatérale. Le transporteur le plus important est le SLC16A2, transporteur de monocarboxylate 8 (MCT8) (de Souza, Dias et al. 2015). De plus, la thyroïde du rat exprime également d'autres transporteurs, tels que LAT2 (de Souza et al. 2015). Il a été montré qu'une surcharge en iode réduisait significativement l'expression de la MCT8 chez le rat, un mécanisme sous-tendant la diminution aiguë de la libération de T4 qui se produit après une surcharge en iode (de Souza et al. 2015).

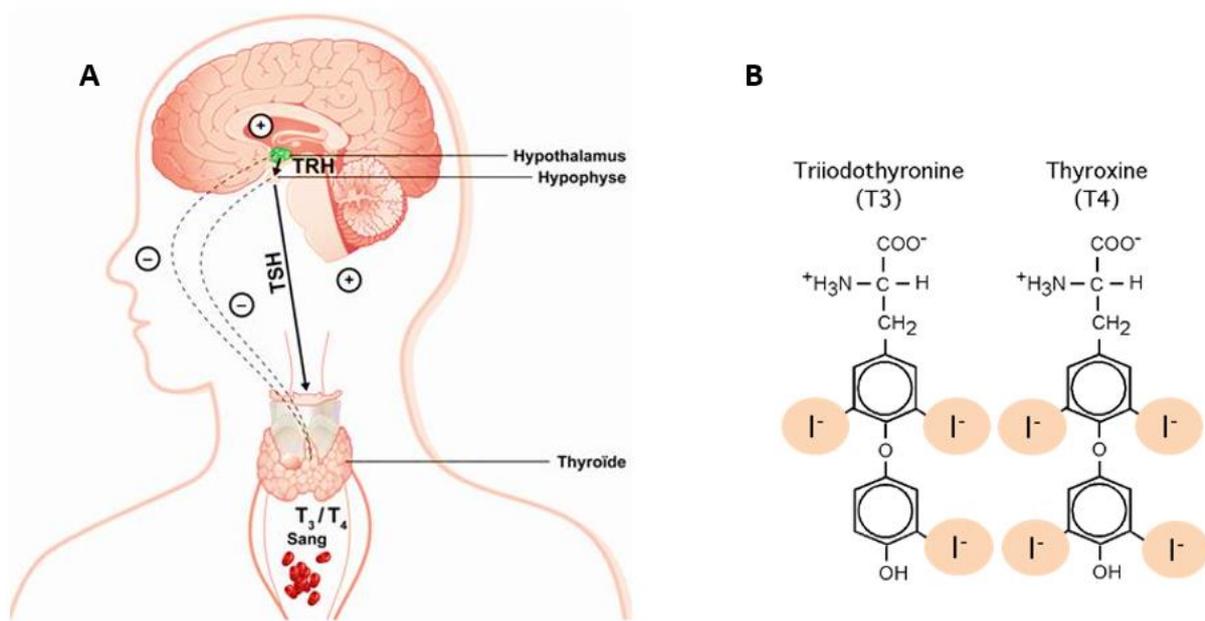


Figure 14 : Axe thyroïdienne.

A : Régulation de la synthèse des hormones thyroïdiennes : induite par la TSH, une hormone synthétisée dans l'hypophyse sous l'action de la TRH. Le taux circulant des hormones thyroïdiennes exerce un rétrocontrôle négatif sur l'expression de la TSH et de la TRH. B : structure chimique des hormones thyroïdiennes.

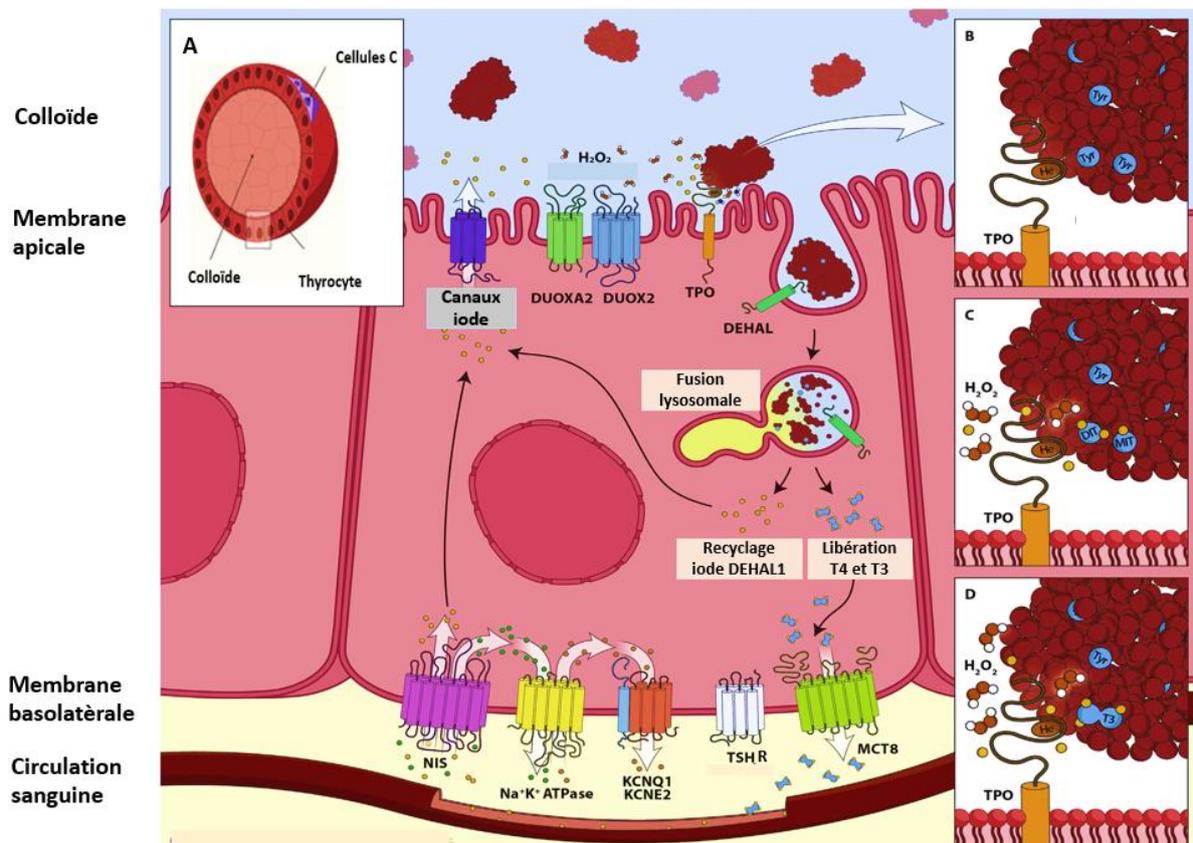


Figure 15 : Schéma de la biosynthèse et libération des hormones thyroïdiennes au niveau du follicule thyroïdien.

A : Structure tridimensionnelle du follicule thyroïdien entouré de cellules thyroïdiennes folliculaires épithéliales (thyrocytes). Les cellules C sont des cellules parafolliculaires produisant de la calcitonine. Au centre le colloïde. Les protéines impliquées dans la biosynthèse et la libération des hormones thyroïdiennes sont : NIS: symporteur sodium / iodure; KCNQ1 et KCNE2: canaux K^+ voltage dépendant; TSHR: récepteur de thyrotropine; MCT8: transporteur de monocarboxylate 8; DUOX2: oxydase double 2; DUOXA2: facteur de maturation de l'oxydase double 2; TPO: thyroperoxydase; DEHAL: iodotyrosine déshalogénase. B : Thyroglobuline non iodée, He : groupement hème, tyr : résidus tyrosine de la thyroglobuline. C : l'oxydation de l'iodure et son incorporation dans la thyroglobuline (organification) dépendent de la présence de TPO et de peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) produits par DUOX2, DIT: diiodotyrosine, MIT: monoiodotyrosine. D : Le couplage oxydant des iodotyrosines (MIT et DIT), dépend de la présence de TPO et de peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et conduit à la formation des HT (principalement T4) qui restent liées à la molécule de thyroglobuline. (Adaptée de (Carvalho and Dupuy 2017)).

4 Effet Wolff-Chaikoff et échappement

Découvert par les docteurs Jan Wolff et Israel Lyon Chaikoff, de l'Université de Californie, cet effet est caractérisé par une réduction des taux d'hormones thyroïdiennes provoquée par l'ingestion d'une grande quantité d'iode. En 1948, Wolff et Chaikoff ont remarqué que l'injection d'iode chez le rat inhibait presque complètement l'organification (Wolff and Chaikoff 1948). Dans les thyrocytes de porc, l'excès d'iodure inhibe sa propre organification on inhibant la

génération de H₂O₂ (Corvilain, Van Sande et al. 1988), et donc l'activité de la TPO. L'effet Wolff-Chaikoff est connu comme un phénomène transitoire (24h à 48h) d'autorégulation qui inhibe le fonctionnement de la glande thyroïde, la formation des hormones thyroïdiennes et leur libération (Figure 16B). Cela devient évident suite à des taux élevés d'iodure circulant ($\geq 18-25$ mg.dL⁻¹). L'effet Wolff-Chaikoff est un moyen efficace de rejeter une grande quantité d'iodure ingérée, empêchant ainsi la thyroïde de synthétiser de grandes quantités d'hormones thyroïdiennes. Chez les individus ayant une thyroïde normale, la glande finit par s'échapper à cet effet inhibiteur et l'organification de l'iode reprend (Figure 16C) ; cependant, chez les patients présentant une maladie thyroïdienne auto-immune sous-jacente, l'action suppressive de l'iodure élevé peut persister. Il est suggéré que le "phénomène d'échappement" est dû à la diminution de la concentration en iode inorganique à l'intérieur du follicule thyroïdien inférieure à un seuil critique secondaire à la régulation négative du symporteur d'iodure et du sodium (NIS). Eng et al. (1999) ont proposé qu'une diminution significative des taux d'ARNm et de protéine de NIS après exposition des rats à un excès d'iode, ait pu être impliquée dans le mécanisme conduisant à l'échappement à l'effet Wolff-Chaikoff. Plus tard, l'activité de la TPO s'est révélée importante pour qu'une telle inhibition se produise. En effet, le même traitement est incapable de réduire le transport de l'iode radioactif lorsque l'activité de la TPO est inhibée de manière concomitante par le MMI (Arriagada, Albornoz et al. 2015, de Souza, Dias et al. 2015). Ces résultats corroborent l'idée selon laquelle l'iode organifié, et non l'iodure lui-même, est responsable de l'inhibition du transport basolatéral d'I⁻. Le fœtus est plus sensible à l'effet Wolff-Chaikoff que l'adulte, car ce système d'échappement n'apparaît qu'à partir de la 36^{ème} semaine de gestation (Wolff 1969). Ce système de régulation n'est donc pas opérationnel chez le fœtus.

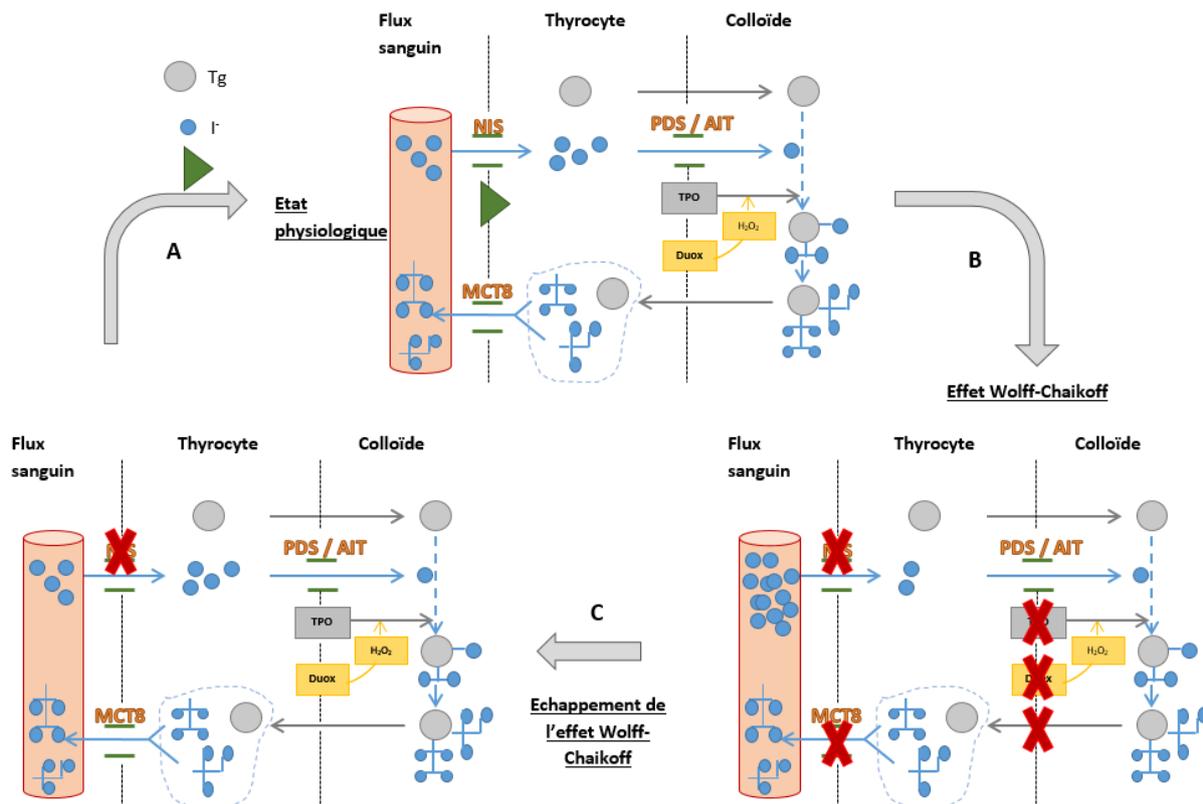


Figure 16 : Effet Wolff-Chaikoff et le mécanisme d'échappement.

A : synthèse d'hormones thyroïdiennes en condition physiologique. B Effet Wolff-Chaikoff, l'excès d'iode induit un blocage des acteurs clés de la synthèse des HT. C : Echappement à l'effet Wolff-Chaikoff implique le retour de la synthèse des HT sans entrée d'iode dans le thyrocyte par blocage permanent de NIS.

5 Mécanisme d'action des hormones thyroïdiennes

Les hormones thyroïdiennes sont majoritairement des fractions liées aux protéines dans la circulation sanguine, trois protéines plasmatiques ont été identifiées chez l'homme. Il s'agit de la TBG, la transthyréline (TTR) et l'albumine (ALB) (figure 17) (Mendoza and Hollenberg 2017). L'affinité de la T4 est forte pour la TBG (environ 1×10^{-10} M), intermédiaire pour la TTR (approximativement 7×10^{-7} M) et faible pour l'ALB (environ 7×10^{-5} M). Leur affinité pour la T3 est dans le même ordre mais dans chaque cas est inférieure à celle de T4, soit environ 5×10^{-8} M pour TBG, 1×10^{-7} M pour TTR et 1×10^{-5} M pour ALB (Hulbert 2000). Cependant, la concentration plasmatique de chacune de ces protéines est dans l'ordre opposé, étant la plus élevée pour l'ALB (640 μ M), l'intermédiaire pour la TTR (4,6 μ M) et la plus basse pour la TBG (0,27 μ M). La combinaison de l'abondance et de l'affinité conduit à la distribution hormonale suivante dans le plasma ; TBG contient 65% de T4 et 80% de T3, tandis que la TTR contient 15% de T4 et 9% de T3, et ALB 20% de T4 et 11% de T3. L'absorption rapide de T4 et T3 est probablement liée à leur forte hydrophobicité (Hulbert 2000). Ces dernières années, il est devenu évident que les T4 et T3 circulantes ne traversent pas passivement les membranes cellulaires. Plusieurs protéines de transport de T4 et T3 ont été identifiées, notamment : les

transporteurs de monocarboxylates (MCT8 et MCT10) ; Le transporteur d'acide aminé organique (OATP1) et les transporteurs d'acides aminés de type L (LAT) (figure 17). MCT8 a une préférence pour T3, tandis que T4 et T3r sont transportées préférentiellement par OATP1. LAT transporte à la fois T4 et T3 mais avec une affinité relativement faible (Mendoza and Hollenberg 2017). Le transporteur d'hormones thyroïdiennes le plus pertinent sur le plan clinique est le MCT8 (Friesema, Visser et al. 2010). Des mutations dans ce transporteur ont été retrouvées chez des patients atteints du syndrome d'Allan-Herndon Dudley (AHDS), caractérisés par des complications neurologiques potentiellement graves, notamment un retard mental et des troubles du mouvement. Les patients ayant un AHDS présentent également une fonction thyroïdienne anormale, notamment une TSH normale avec une faible T4 libre et des taux élevés de T3 circulante. Il est très probable que le trouble neuronal soit secondaire à l'incapacité de T3 à accéder aux neurones pendant le développement. De nouvelles idées ont également déterminé que le transport des HT peut être réglé. En effet, l'expression de MCT8 et d'OATP1 dans le cerveau de souris est diminuée de manière transitoire en réponse à une provocation inflammatoire aiguë par le LPS lipopolysaccharides (Wittmann, Szabon et al. 2015). En particulier, l'état thyroïdien module l'expression de MCT8, MCT10 et OATP1 dans le cerveau des téléostéens. Des niveaux élevés de T3 régulent à la baisse l'expression de ces transporteurs. Les HT intracellulaires subissent diverses transformations métaboliques, trois iodothyronine déiodinases catalysent l'élimination stéréospécifique de l'iode de T4 et T3, la déiodinase de type 2 (D2) agit sur la T4 par déiodination du cycle externe pour produire la T3, la déiodinase de type 3 (D3) désactive T4 et T3 par déiodination du cycle interne pour produire respectivement T3r ou 3', 3-T2, tandis que la déiodinase de type 1 (D1) catalyse à la fois la déiodination du cycle externe et interne (Gereben, McAninch et al. 2015). Les rongeurs dérivent la T3 circulante principalement par l'action de la D1, tandis que les humains dépendent principalement de la D2.

L'action de la T3 dépend complètement de ses récepteurs apparentés (TR) (figures 17-18). Membres de la superfamille des récepteurs nucléaires, Il existe deux gènes TR (THRA et THRB), qui codent pour les trois isotypes de TR (TR α 1, TR β 1 et TR β 2) (Tata 2011). Les trois isotypes se lient tous à T3 et à l'ADN et stimulent l'action des hormones thyroïdiennes intracellulaires. Plusieurs isoformes du TR provenant d'un épissage alternatif de l'ARN sont également observées. Deux d'entre elles sont les TR α 2 (c-erbA α 2) et les TR β 3 tronquées (DTR β 3), appelées protéines non réceptrices. TR α 2 a une région conservée de liaison à l'ADN mais est incapable de se lier à T3. À l'inverse, DTR β 3 est capable de se lier à T3 mais pas à l'ADN. Le rôle fonctionnel de chaque isoforme de TR semble être orienté par son expression tissulaire spécifique (Tableau 11) (Brent 2012). Les TR médient leurs actions après l'homodimérisation ou l'hétérodimérisation avec les récepteurs de l'acide rétinoïque (RXR), qui se lient ensuite à des séquences spécifiques appelées éléments de réponse thyroïdiens dans les régions régulatrices des gènes cibles. Une multitude de facteurs de transcription sont impliqués. Sans la présence de T3, le récepteur sans ligand (aporeceptor) recrute des corépresseurs, tels que les corépresseurs des récepteurs nucléaires (NCoR) ou les médiateurs inhibiteurs des récepteurs rétinoïques et thyroïdiens (SMRT) et des histones désacétylases, qui retiennent la chromatine en position réprimée compacte. Cependant, en présence de T3, la liaison de l'hormone à TR initie la transcription par la libération de corépresseurs et recrutement de

INTRODUCTION – CHAPITRE III : Iode, Hormones Thyroïdiennes & Effet Wolff-Chaikoff

coactivateurs (coactivateurs du récepteur stéroïdien 1, SRC-1), histone acétylases (protéine liant CREB, CBP; p300, GCN5, pCAF) et d'autres médiateurs, qui contribuent tous à l'accès de l'appareil de transcription aux régions promotrices (figure 18) (Tata 2011, Mendoza and Hollenberg 2017)

Tableau 11 : Distribution tissulaire des récepteurs aux hormones thyroïdiennes.

Isoformes	Distribution	Rôle
TR α 1	Cœur – OS – Muscles	Activation cardiaque chronotrope et inotrope
TR β 1	Cerveau – Foie	Développement du cerveau – augmentation de l'élimination du LDL
TR β 2	Hypophyse – Hypothalamus	Rétrocontrôle négatif

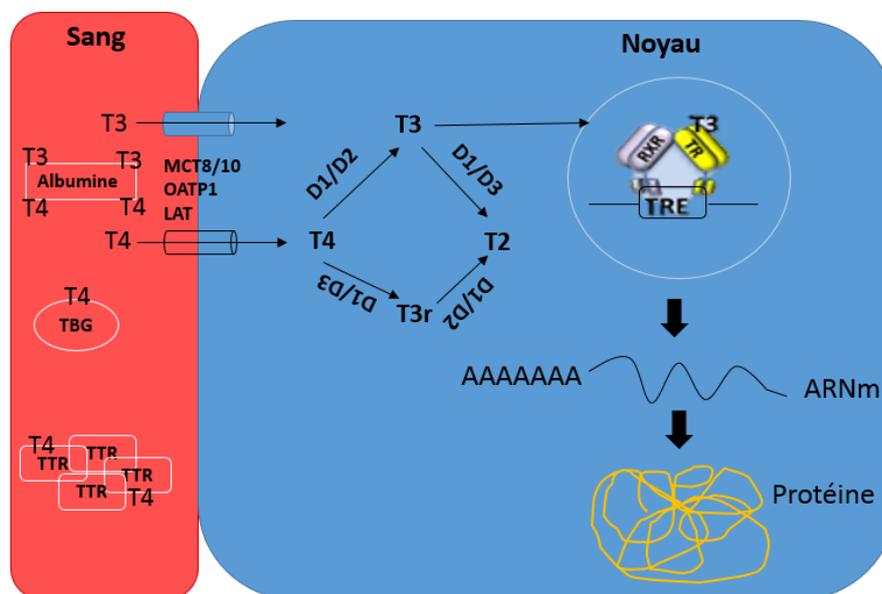


Figure 17 : T3 module l'expression des gènes chez pratiquement tous les vertébrés.

T4 / T3 circule attaché aux protéines sériques (la globuline liant la thyroxine (TBG), la transthyrétine (TTR) et l'albumine). Une fraction de la T4 circulante peut être transportée dans le cytoplasme, où elle est activée en T3 par la déiodation du cycle externe catalysée par D1 ou D2. La T3 résultante est diffusée dans le noyau pour se lier aux récepteurs des hormones thyroïdiennes (TR). En se liant aux récepteurs des hormones thyroïdiennes, T3 module le taux de synthèse de l'ARNm et, finalement, les taux de protéines de milliers de gènes dans pratiquement toutes les cellules (adaptée de (Mendoza and Hollenberg 2017)).

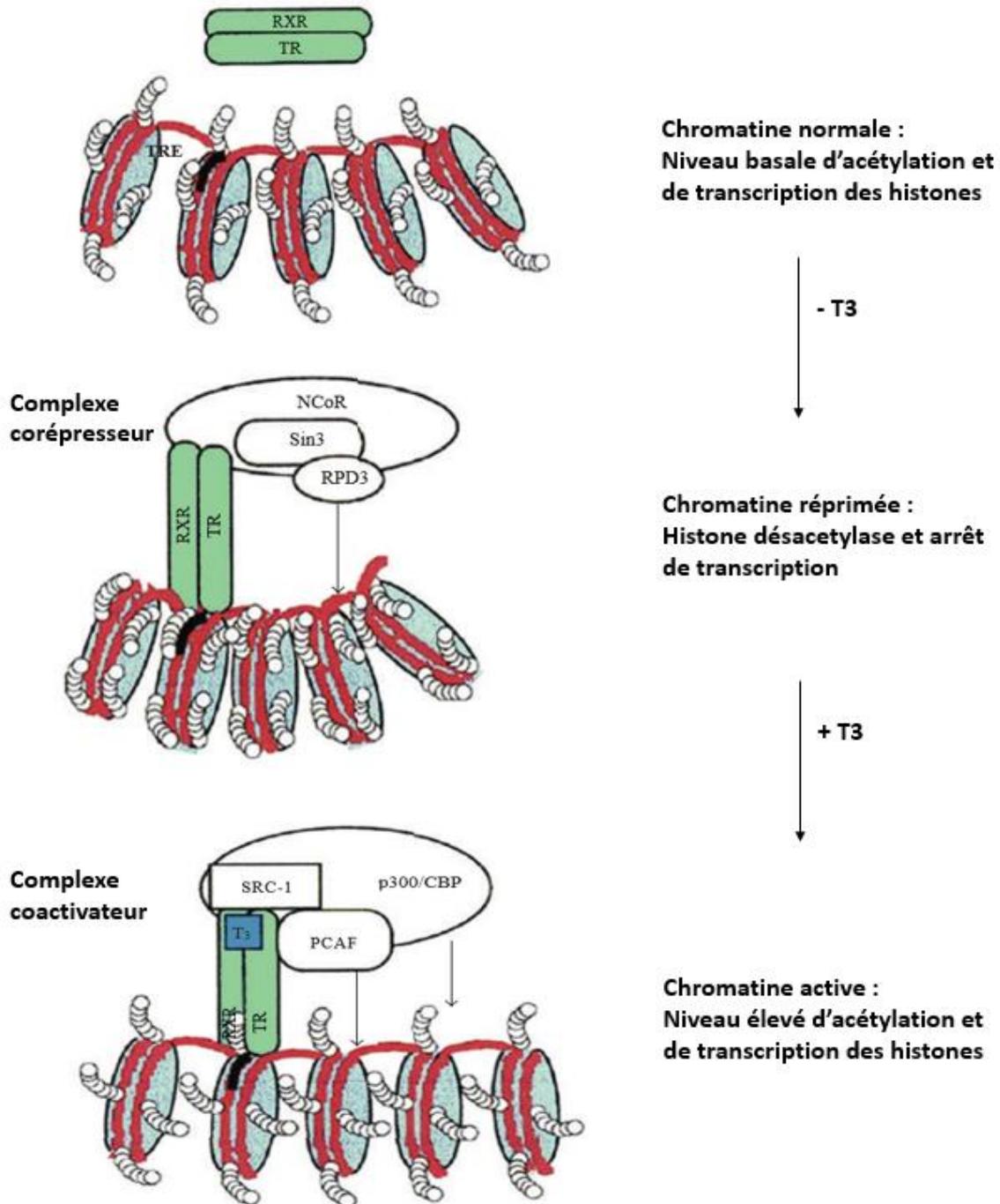


Figure 18: Une représentation de la façon dont un récepteur nucléaire activé par un ligand (T3) pourrait modifier la structure de la chromatine.

L'emballage de l'ADN en chromatine est visualisé dans trois états actifs sur le plan transcriptionnel : normal, répressif et actif. La région de chromatine choisie contient le récepteur hétérodimère d'hormone thyroïdienne TR / RXR, avec ou sans son ligand (T3), lié à l'élément de réponse thyroïdien (TRE) dans le gène cible. Dans la chromatine normale, l'acétylation des histones est à son niveau basal, de même que l'activité transcriptionnelle. En l'absence de T3, la chromatine existe sous sa forme condensée et transcriptionnellement répressive, les histones étant dans un état largement désacétylé sans transcription des gènes cibles de TR. En présence de T3, la chromatine est active avec des taux élevés

INTRODUCTION – CHAPITRE III : Iode, Hormones Thyroïdiennes & Effet Wolff-Chaikoff

d'acétylation et de transcription des histones. Les autres composants sont des protéines qui forment des complexes «corepresseurs» et «coactivateurs» avec l'hétérodimère TR / RXR (adaptée de (Tata 2011)).

CHAPITRE IV : Impact des hormones thyroïdiennes sur l'organisme

1 Impact des hormones thyroïdiennes sur l'organisme

1.1 Thermogenèse et poids corporel

Les hormones thyroïdiennes (HT) jouent un rôle important dans la dépense énergétique à travers des actions centrales et périphériques (Figure 19). Elles maintiennent le taux métabolique de base, facilitent la thermogenèse adaptative, modulent l'appétit et la prise alimentaire et régulent le poids corporel.

1.1.1 Le métabolisme basal

Le taux métabolique basal (BMR) est la principale source de dépense énergétique chez l'homme, sa réduction peut entraîner l'obésité et la prise du poids (Ravussin, Lillioja et al. 1988). Les HT sont des régulateurs clés du BMR, la dépense énergétique au repos (REE) est remarquablement sensible aux HT, en particulier chez les individus athyréotiques (al-Adsani, Hoffer et al. 1997). Les HT stimulent le BMR en augmentant la production d'ATP pour les processus métaboliques et en générant et maintenant les gradients ioniques (Silva 2006). Tel que, le gradient Na^+/K^+ à travers la membrane cellulaire et le gradient Ca^{2+} entre le cytoplasme et le réticulum sarcoplasmique (Awais, Shao et al. 2000, de Meis 2001). Les HT peuvent modifier les niveaux de Na^+ dans la cellule et K^+ à l'extérieur de la cellule, nécessitant ainsi une consommation d'ATP et régulent également l'expression de la pompe Ca^{2+} ATPase du réticulum sarcoplasmique / endoplasmique (SERCA) dans le muscle squelettique (Simonides, Thelen et al. 2001). La stimulation de la Ca^{2+} -ATPase produit de la chaleur lors de l'hydrolyse de l'ATP. Les HT augmentent la quantité et l'activité des récepteurs de la ryanodine dans le cœur et le muscle squelettique, ce qui stimule ensuite le flux de Ca^{2+} dans le cytosol, nécessitant plus d'ATP pour ramener le Ca^{2+} dans le réticulum sarcoplasmique. Les HT maintiennent le BMR en découplant la phosphorylation oxydative dans les mitochondries ou en réduisant l'activité des molécules navettes qui transfèrent des équivalents réducteurs dans les mitochondries. Dans le muscle squelettique, les HT augmentent la fuite de protons à travers la membrane mitochondriale interne, stimulant davantage l'oxydation pour maintenir la synthèse de l'ATP. Le traitement par les HT produit une régulation des protéines découplantes UCP2 et UCP3 (Barbe, Larrouy et al. 2001).

La T3 régule l'induction de la glycérol-3-phosphate déshydrogénase mitochondriale (mGPD), une enzyme navette qui contribue à la production d'ATP en transférant des équivalents réducteurs générés dans le cytoplasme à la membrane mitochondriale (DosSantos, Alfadda et al. 2003). Les souris homozygotes pour un gène GPD inactivé présentent des taux plus élevés de T4 et de T3 et une capacité altérée à maintenir la température corporelle, ce qui concorde avec un défaut de thermogenèse. L'induction de l'UCP3 dans le muscle squelettique peut jouer un rôle dans la thermogenèse. Chez les souris dépourvues de récepteurs adrénergiques bêta 1, 2 et 3, qui présentent une intolérance au froid, le traitement par T3 lors de l'exposition au froid a entraîné un maintien de la température corporelle. Le traitement par T3 des souris UCP3-KO, comparé au type sauvage, engendrait moins de thermogenèse, ce qui indique que l'induction de l'UCP3 par T3 peut être importante pour la thermogenèse (Flandin, Lehr et al. 2009).

1.1.2 La Thermogénèse

Les espèces homéothermes ont développé une thermogénèse facultative pour maintenir la température corporelle après exposition au froid et augmenter la dépense énergétique après avoir mangé. Le site principal de cette thermogénèse adaptative chez les rongeurs est le tissu adipeux brun (BAT) (Figure 19D) (Cannon and Nedergaard 2004). Le système nerveux sympathique (SNS) et les HT sont tous les deux nécessaires au maintien de la température corporelle centrale. Les rongeurs hypothyroïdiens développent une hypothermie marquée avec une exposition au froid, et le traitement par T4 renverse cette tendance par induction de l'activité des BAT. L'expression d'UCP1 est nécessaire pour la thermogénèse, l'UCP1 est régulée de manière synergique à la fois par la noradrénaline (NA) et la T3. Alors que la NA augmente l'expression de UCP1 de 3 à 4 fois, T3 amplifie 4 à 5 fois la réponse transcriptionnelle à la NA (Bianco, Sheng et al. 1988). Le gène UCP1 contient plusieurs éléments de réponse à l'AMPc (CRE) qui améliorent la réactivité des éléments de réponse (TRE) adjacents à la T3. Il est important de noter que TR β régule l'expression d'UCP1 dans BAT, tandis que TR α induit une sensibilité à la stimulation adrénérgique (Ribeiro, Carvalho et al. 2001). Cela démontre la spécificité de l'isoforme TR dans la régulation métabolique dans un seul tissu, et les deux isoformes TR sont nécessaires pour une réponse thermogénique normale. Il a été montré que les HT induisaient l'expression d'UCP1 dans le tissu adipeux blanc (WAT) via TR β et augmentaient à la fois la biogénèse mitochondriale et le taux de consommation d'oxygène (Lee, Takahashi et al. 2012).

1.1.3 Muscle squelettique

Le muscle squelettique a été reconnu comme une cible clé des HT pour la fonction contractile, la régénération et le transport, ainsi que pour le métabolisme et l'élimination du glucose (Simonides and van Hardeveld 2008). La stimulation des HT favorise la transition vers les fibres à contraction rapide et la transition vers une forme plus rapide des chaîne lourde de la myosine (MHC). La régulation significative de D2 est un facteur clé qui module les taux de T3 dans le muscle squelettique. Dans le développement et la régénération des muscles squelettiques après une blessure, FoxO3 stimule l'expression de D2 (Figure 19G) (Marsili, Tang et al. 2011). Les lésions des muscles squelettiques sont associées à une augmentation de deux fois les taux de T3 locaux, non observés chez les animaux D2-KO. Les taux de D2 sont plus élevés dans les fibres musculaires à contractions lentes que dans les fibres musculaires à contraction rapide et sont stimulés par l'hypothyroïdie (Marsili, Ramadan et al. 2010).

1.1.4 Régulation du poids corporel

Il est bien établi que l'état thyroïdien, qu'il s'agisse d'hypothyroïdie ou d'hyperthyroïdie, est associé à des variations du poids et de la REE. Chez les individus en bonne santé, les variations de la TSH sérique, même dans la plage de référence, sont associées à un changement de poids chez les hommes et les femmes (Fox, Pencina et al. 2008). Les individus avec des taux sériques de TSH dans les quintiles supérieurs ont un indice de masse corporelle (BMI) plus élevé, et ceux dans les quintiles inférieurs ont un BMI inférieur. Fait intéressant, le rétablissement de l'euthyroïdie avec le traitement par T4 est associé à une réduction du poids corporel et à une augmentation de REE chez les sujets hypothyroïdiens, mais la masse grasse est inchangée et la

perte de poids est principalement due à l'excrétion de l'excès d'eau corporelle (Karmisholt, Andersen et al. 2011). Il est possible qu'une prise accrue de calories, stimulé par les HT, soit responsable de cette divergence. De plus, compte tenu de l'impact de la régulation centrale des HT sur les neuropeptides orexigènes, une régulation variable de l'axe HPT avec des taux de leptine altérés pourrait également être responsable de cette anomalie métabolique (Blum, Englaro et al. 1998). Les patients hyperthyroïdiens ont une consommation accrue de glucides, qui s'inverse après le traitement de l'hyperthyroïdie. Il est suggéré que la stimulation d'une préférence pour l'apport en glucides est due à une stimulation adrénérergique centrale. Une étude comparant le traitement des patients hypothyroïdiens avec une monothérapie T3 ou T4 a montré que le traitement par T3 entraînait une perte significative du poids et une réduction du cholestérol total et de l'apolipoprotéine B par rapport au traitement T4, sans conséquences cardiovasculaires indésirables (Celi, Zemskova et al. 2011). Cette étude a également noté une tendance non significative de la diminution de la masse grasse avec la thérapie T3. Bien qu'il n'y ait pas eu de changement significatif dans la REE, il est probable que la réduction du poids observée lors du traitement par T3 résulte d'une augmentation du taux métabolique. Le plus grand changement du poids associé à une maladie de la thyroïde est l'augmentation du poids corporel observée après le traitement de l'hyperthyroïdie (Lonn, Stenlof et al. 1998). La plupart des patients reprennent plus de poids qu'avant la maladie de Graves, en maintenant un apport énergétique plus élevé associé à l'hyperthyroïdie, même s'ils deviennent euthyroïdiens. La perte du poids dans l'hyperthyroïdie est due à la perte de masse grasse et maigre.

1.2 Métabolisme des lipides

La régulation du métabolisme lipidique par les HT dépend principalement des actions spécifiques de la T3, des TR et des récepteurs nucléaires au niveau hépatique. L'activité métabolique des graisses est également de plus en plus reconnue et constitue un site important pour l'action des HT.

1.2.1 Régulation de la synthèse du cholestérol

Les HT régulent la synthèse du cholestérol à travers de multiples mécanismes. Une voie majeure est la stimulation de la transcription du gène du récepteur de LDL (LDL-R) par les HT entraînant une augmentation de l'absorption du cholestérol et une synthèse accrue du cholestérol (Lopez, Abisambra Socarras et al. 2007). Un autre régulateur du gène LDL-R est la protéine de liaison de l'élément de réponse aux stérols (SREBP) -2 (Goldstein, DeBose-Boyd et al. 2006). SREBP-2 fait partie d'une famille de facteurs de transcription qui régulent le métabolisme du glucose, la synthèse des acides gras et le métabolisme du cholestérol. Spécifiquement, les HT induisent l'expression du gène SREBP-2 qui à son tour module l'expression du LDL-R. Chez les rats hypothyroïdiens, l'ARNm de SREBP-2 est inhibé, mais ceci est inversé lorsque les taux de T3 sont rétablis (Shin and Osborne 2003). D'autres récepteurs des hormones nucléaires, tels que les PPAR α , ont des effets opposés sur la synthèse du LDL et du cholestérol, ce qui souligne le rôle de la diaphonie nucléaire dans la régulation du métabolisme par les HT (Konig, Koch et al. 2007). Les HT réduisent également le cholestérol par des voies indépendantes de la voie LDL-R (Goldberg, Huang et al. 2012). Des souris présentant une hypercholestérolémie due à un gène LDL-R KO ont été traitées avec une dose élevée de T3 ou de 3,5-diiodo-L-thyronine

(T2). Dans ces conditions, la réduction du cholestérol LDL était liée à une diminution de l'apolipoprotéine (apo) B48 et de l'apoB11. La production de triglycérides hépatiques a augmenté. Les fortes doses de T2 utilisées étaient associées à une toxicité cardiaque et à une augmentation du poids cardiaque, mais ces résultats suggèrent des mécanismes pour la T3, en plus de la stimulation du récepteur LDL, pour la réduction du cholestérol.

1.2.2 Efflux de cholestérol

Le transport inverse du cholestérol est un processus complexe qui entraîne le transfert du cholestérol vers le foie en vue de son élimination sous forme d'acides biliaires ou de stéroïdes neutres (Figure 19F). Le transporteur ABCA1 est requis pour l'assemblage des lipoprotéines de haute densité (HDL) et le transport du cholestérol estérifié vers le foie pour l'excrétion. ABCA1 utilise deux promoteurs distincts qui réagissent au récepteur X du foie (LXR) et au SREBP-2, tous les deux augmentant la transcription du ABCA-1 (Tamehiro, Shigemoto-Mogami et al. 2007). L'élément de réponse LXR (LXRE) permet également la liaison au TR. TR est en compétition avec LXR pour la liaison, entraînant une inhibition induite par T3 de l'ABCA-1 et une diminution des taux de HDL (Huuskonen, Vishnu et al. 2004).

1.2.3 Catabolisme du cholestérol : Synthèse des acides biliaires

La conversion du cholestérol en acides biliaires est nécessaire pour maintenir l'homéostasie du cholestérol. Cette voie d'élimination du cholestérol est régulée par un certain nombre de récepteurs nucléaires qui contrôlent l'expression du cholestérol 7-hydroxylase (CYP7a1), étape limitante de la synthèse des acides biliaires (Figure 19F) (Chen, Owsley et al. 2001). Les CYP7a1 humains et murins sont régulés par différents récepteurs nucléaires et leurs ligands. Dans les modèles murins où l'action de TR est altérée, LXR est induit par un régime riche en cholestérol qui stimule l'expression du gène CYP7a1 et la synthèse des acides biliaires. LXR n'a aucun effet sur les taux d'ARNm du CYP7A1 humain ; cependant, le traitement par T3 réduit l'ARNm du CYP7A1 et la synthèse de l'acide cholique et de l'acide chénodésoxycholique dans les hépatocytes humains. Bien que LXR n'ait pas d'effet sur l'expression de la CYP7A1 humaine, PPAR α et le facteur nucléaire hépatique (HNF) 4 α ont des éléments de réponse situés à proximité du TRE. En outre, HNF4 α régule positivement l'expression du gène CYP7A1, alors que PPAR α inhibe l'activité de HNF4 α . Les acides biliaires sont maintenant reconnus comme une voie de régulation, stimulant à la fois le récepteur membranaire TGR5 et le récepteur nucléaire FXR, ainsi que d'autres récepteurs nucléaires associés, notamment VDR, PXR et CAR. Les acides biliaires se lient au récepteur TGR5 sur les cellules L entéroendocrines dans l'intestin grêle, ce qui stimule la production de l'incrétine GLP-1 améliorant la sensibilité à l'insuline et augmentant la satiété. Dans les BAT, les acides biliaires se lient à TGR5 et stimulent l'expression de D2, ce qui augmente la dépense énergétique et favorise la résistance à l'obésité induite par l'alimentation. Les acides biliaires se combinent au récepteur nucléaire FXR et stimulent les gènes cibles régulant le métabolisme du cholestérol et des acides biliaires. Une étude clinique chez des sujets sains et cirrhotiques a révélé que la synthèse des acides biliaires présentait une corrélation positive avec la dépense énergétique et que post-prandialement, la TSH sérique diminuait dans les deux groupes. Suggérant que le niveau sérique des acides biliaires influe sur le point de consigne de l'axe hypophysaire de la thyroïde. Les acides biliaires

sont de plus en plus liés à l'homéostasie du glucose médiée par les récepteurs TGR5 et FXR. L'activation de FXR par les acides biliaires améliore également le diabète chez les modèles animaux (Mullur, Liu et al. 2014).

1.3 Métabolisme des acides gras

Les HT stimulent à la fois la lipolyse et la lipogénèse, bien que l'action directe soit la lipolyse (Figure 19), la lipogénèse pouvant être stimulée pour restaurer les réserves de graisse. Une étude chez le rat a mesuré soigneusement la teneur en lipides et la thermogénèse après le traitement par T3 et a conclu que la lipogénèse induite par les HT était principalement destinée à maintenir la perte de graisse associée à la lipolyse. Les acides gras produits à partir de la lipolyse induite par les HT sont le substrat de l'augmentation de la thermogénèse. La régulation T3 de ces voies métaboliques divergentes est soumise à la diaphonie des récepteurs nucléaires, à la liaison des ligands, à l'état nutritionnel et à la compétition pour les hétérodimères RXR. Les HT jouent un rôle important dans la conversion des pré-adipocytes en adipocytes. La production de malonyl-CoA dans le foie favorise la lipogénèse et inhibe directement la carnitine-palmitoyl-transférase (CPT)-I α , qui convertit les acyl-CoA gras en acylcarnitines, pour la translocation du cytosol dans la matrice mitochondriale interne où la β -oxydation se produit. T3 induit également la transcription de l'acétyl-CoA carboxylase (ACC) -1, qui génère le malonyl-CoA à partir de l'acétyl-CoA. ACC-1 est régulé par TR, LXR et SREBP-1. Alors que LXR peut stimuler directement ACC-1, TR et SREBP1 doivent former un complexe qui stabilise SREBP-1 sur le site de liaison. L'action de SREBP-1 est également renforcée par un agoniste de PPAR α , qui peut potentialiser l'activité nucléaire de SREBP-1. L'activité de l'ARNm et de l'enzyme CPT-I α est accrue dans le foie des animaux hyperthyroïdiens. Les éléments de réponse PPAR α et TR sont proches du gène CPT-I α . Un agoniste de PPAR α peut induire l'ARNm de CPT-I α et réduire les taux de triglycérides sériques après une alimentation riche en graisses. PGC-1 α le coactivateur de PPAR γ augmente l'induction de CPT-I α par PPAR α et TR. Des études *in vivo* d'un modèle de souris TR α mutant ont démontré une diaphonie entre les signaux PPAR α et T3 dans la régulation CPT-I α . Le modèle de souris mutant TR-P398H a une oxydation altérée des acides gras, car le TR α mutant occupe le PPRE CPT-I α et inhibe l'expression de CPT-I α induite par PPAR α . Une autre étude *in vivo* a démontré une diaphonie nucléaire *via* un traitement avec des acides gras polyinsaturés. Ces acides gras induisent une expression hépatique de TR β et diminuent le cholestérol et les triglycérides sériques ; cependant, à l'état hypothyroïdien, les acides gras polyinsaturés n'ont pas induit de TR β , mais ont stimulé l'expression des PPAR α , entraînant une diminution du cholestérol sérique, mais une hypertriglycéridémie persistante. Enfin, la mobilisation effective des gouttelettes lipidiques dans l'hépatocyte, appelée «lipophagie», s'est avérée réguler par T3. La déficience de ce processus est associée à la stéatose hépatique et à la résistance à l'insuline. L'autophagie médiée par T3 est étroitement couplée à une β -oxydation pour favoriser la cétose, est dépendante de T3, et à l'état non ligandé, est réprimée par NCoR (Mullur, Liu et al. 2014).

1.4 Métabolisme des glucides

La maladie thyroïdienne a des effets bien documentés sur l'homéostasie du glucose. Les actions de la thyroïde dans le foie, le tissu adipeux blanc, le muscle squelettique et le pancréas

influencent les taux de glucose plasmatique, la sensibilité à l'insuline et le métabolisme des glucides. L'activité réduite des mitochondries a été un lien entre une action bien décrite de l'hormone thyroïdienne et un diabète de type 2. Il a été établi que la T3 stimule la néoglucogénèse, en particulier à l'état hyperthyroïdien, et que l'hypothyroïdie est associée à une néoglucogénèse réduite. Le traitement par T4 augmente le transport de l'alanine dans les hépatocytes, augmentant la production de l'intermédiaire métabolique de la voie de néoglucogénèse, et finalement, la conversion de l'alanine en glucose. L'évaluation du traitement par T3 sur les gènes cibles dans le foie révèle une augmentation des gènes régulant la glycolyse et la néoglucogénèse. Plus précisément, la régulation de la phosphoénolpyruvate carboxykinase (PEPCK), étape limitante de la néoglucogénèse, est essentielle à l'homéostasie du glucose et s'est avérée réguler par TR β et CCAAT protéines liant les activateurs dans le foie. Chez les rats thyrotoxiques, l'ARNm de la PEPCK hépatique a été stimulée, et ils étaient résistants à l'insuline induisant la suppression de la production hépatique du glucose par rapport aux rats euthyroïdiens. La résistance à l'insuline hépatique était médiée par une stimulation sympathique. Dans une étude de suivi, l'administration de T3 au noyau paraventriculaire hypothalamique, par interaction avec le SNS, augmente la production de glucose *via* une voie sympathique dans le foie, montrant que l'effet de T3 était central (Mullur, Liu et al. 2014).

INTRODUCTION – CHAPITRE IV : Impact des hormones thyroïdiennes sur l'organisme

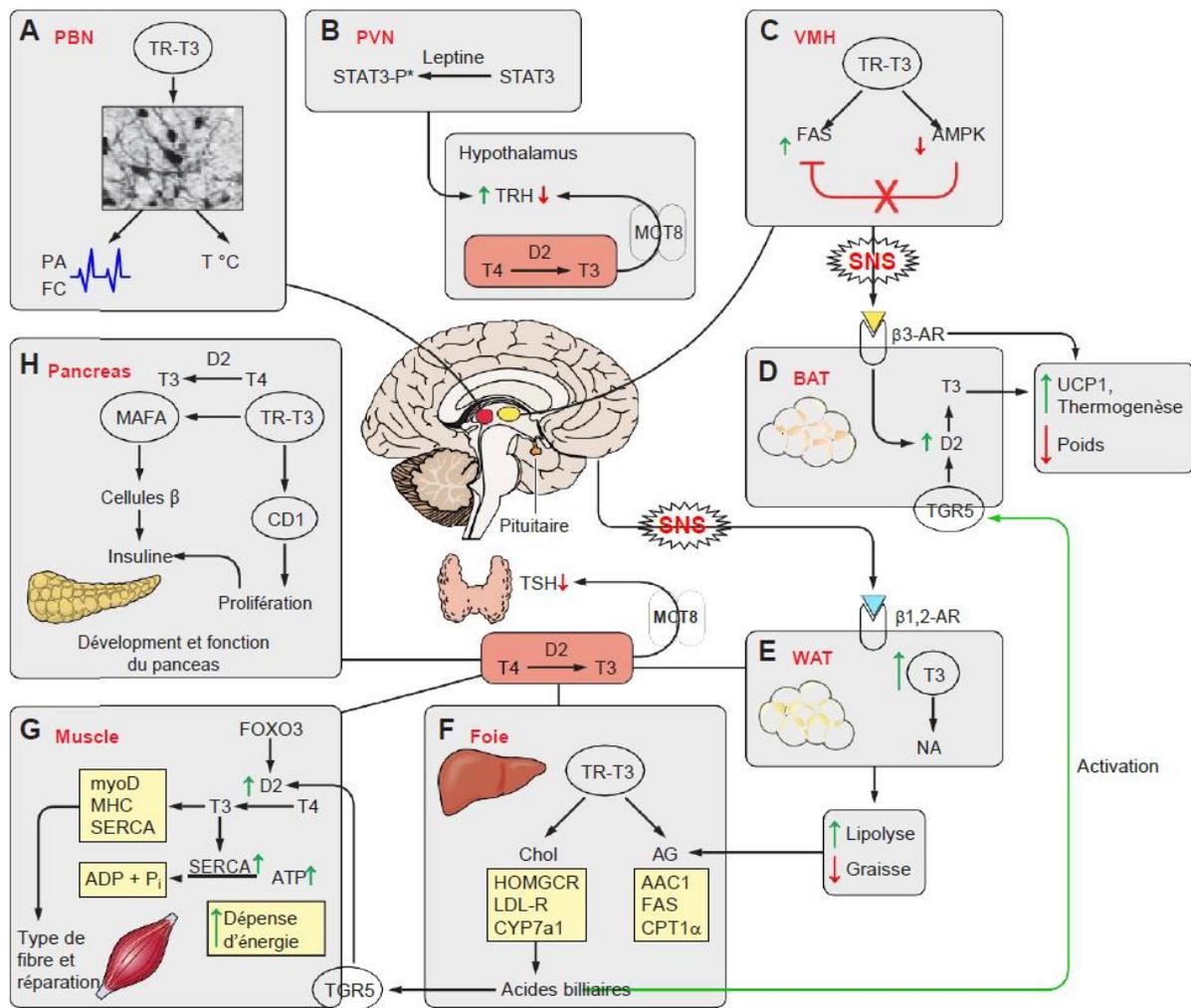


Figure 19 : Aperçu des sites de régulation du métabolisme par les hormones thyroïdiennes.

Axe hypothalamo-hypophyso-thyroïdien : la TRH et la TSH répondent principalement à la T4 plasmatique circulante converti dans l'hypothalamus et la glande pituitaire en T3 par la 5-déiodinase de type 2 (D2). MCT8 est nécessaire pour le transport de T3 dans l'hypophyse et l'hypothalamus. A, neurones parvalbuminergiques (PBN) : la PBN est une population de neurones dans l'hypothalamus antérieur qui sont directement liés à la régulation de la fonction cardiovasculaire. La signalisation du récepteur de l'hormone thyroïdienne est nécessaire au développement normal des neurones PBN reliant l'hormone thyroïdienne à la régulation cardiaque et thermique. B, noyau paraventriculaire de l'hypophyse (VPN) : la leptine, produite dans le tissu adipeux périphérique, fournit un rétrocontrôle du VPN, stimule le signal transducteur et activateur de la transcription (STAT) 3 phosphorylation (STAT3-P*), stimulant directement l'expression de TRH. C, noyau ventromédial de l'hypothalamus (VMH) : l'hyperthyroïdie ou traitement par T3 stimule la synthèse de novo d'acides gras dans le VMH, qui inhibe la phosphorylation de l'AMPK et augmente l'activité des acides gras synthases (FAS). L'augmentation de la synthèse des lipides hypothalamiques est associée à l'activation du système nerveux sympathique (SNS) qui stimule le tissu adipeux brun (BAT). D, BAT : la signalisation adrénérgique par le récepteur β_3 -adrénérgique (AR) stimule l'expression du gène UCP1, stimule l'activité D2 par la deubiquitination et favorise la thermogénèse et la perte de poids. Le signal métabolique de l'acide biliaire via le récepteur aux acides biliaires membranaires couplés aux protéines G (TGR5) a été montré dans un modèle pour stimuler l'activité D2 et la production locale de T3, stimulant davantage la lipolyse de BAT, l'expression UCP1 et la thermogénèse. E, tissu adipeux blanc (WAT) : les signaux SNS via β_1 - et β_2 -AR stimulent la lipolyse de WAT. T3 stimule la production locale de noradrénaline (NA), augmentant la lipolyse et réduisant la graisse corporelle. F, foie : T3 est

impliquée dans le métabolisme du cholestérol et des acides gras (HMGCR : 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase ; ACC1, acétyl-CoA carboxylase 1 ; CYP7a1, cytochrome P-450 7A1; CPT-1a, carnitine palmitoyltransférase 1a; LDL-R, récepteur de lipoprotéine de basse densité). G, muscle : (FoxO3 : Forkhead box O3) induit l'expression de D2, augmente la T3 locale dans le muscle squelettique et favorise l'expression des gènes cible de la T3 ; myoD : chaîne lourde de myosine ; SERCA. La T3 locale détermine également le niveau d'expression relatif des isoformes MHC et SERCA. Le niveau d'expression de ces isoformes détermine les types de fibres musculaires et l'initiation de la réparation. T3 stimule SERCA, qui hydrolyse l'ATP et augmente la dépense énergétique. H, pancréas : T3 et TR sont nécessaires pour le développement et la fonction pancréatique. Dans les cellules β pancréatiques du rat, l'expression de TR et D2 est activée pendant le développement normal. Le traitement par T3 augmente l'expression génique du facteur de transcription de Mafa et augmente la teneur en protéines MAFA, le facteur clé de la maturation des cellules β pour qu'elles sécrètent de l'insuline en réponse au glucose. T3 stimule l'expression du gène de la cycline D1 (CD1) et le niveau de protéines et favorise la prolifération. L'augmentation de la cycline D1 active la voie cyclin D1/kinase dépendante de la cycline / protéine de rétinoblastome /E2F. (adaptée de (Mullur, Liu et al. 2014)).

1.5 Développement du cerveau

1.5.1 Prolifération, survie et migration

L'hormone thyroïdienne est essentielle au développement du cerveau (Figure 20) (Dussault and Ruel 1987, Oppenheimer and Schwartz 1997, Thompson and Potter 2000). Dans le cervelet, elle joue un rôle important dans la prolifération et la survie des cellules granulaires (Nicholson and Altman 1972, Xiao and Nikodem 1998). Les effets directs de l'hormone thyroïdienne sur l'expression de gènes codant pour des facteurs de croissance et des gènes anti-apoptotiques peuvent être à l'origine de ces effets. Il a été constaté que l'hypothyroïdie réduisait fortement l'expression des ARNm codant la neurotrophine 3 et le BDNF dans le cervelet (Neveu and Arenas 1996). La disponibilité de l'hormone thyroïdienne influence la migration neuronale, comme en témoignent la diminution du poids du cerveau entier et la densité des neurones dans le cervelet de rat hypothyroïdien (Balazs, Kovacs et al. 1968, Nicholson and Altman 1972).

Il a été rapporté que l'hormone thyroïdienne augmente l'expression de l'ARNm et la traduction de la reelin (Alvarez-Dolado, Ruiz et al. 1999), qui code pour une protéine extracellulaire cruciale pour la régulation des processus de migration neuronale et du positionnement dans le cerveau en développement et qui reste active dans le cerveau adulte, en modulant la plasticité synaptique par le renforcement de l'induction et la maintenance de la potentialisation à long terme. À l'inverse, les conditions d'hypothyroïdie réduisent considérablement l'abondance des cellules contenant de la reelin. La migration neuronale est également influencée par les effets des hormones thyroïdiennes sur les astrocytes, un type de cellules gliales qui sécrètent de la laminine, un signal de direction clé pour la migration des neurones (Farwell and Dubord-Tomasetti 1999). Chez le rat en développement, le déficit en hormone thyroïdienne retarde l'expression de la laminine, sa concentration totale est 35% moins intense que chez les témoins (Farwell and Dubord-Tomasetti 1999).

1.5.2 Synaptogénèse

La synaptogénèse est affectée négativement dans le cerveau hypothyroïdien en raison de la diminution de la longueur axonale et de la ramification des neurones, réduisant ainsi les connexions neuronales. L'hypothyroïdie diminue la densité axonale neuronale et la croissance du cortex cérébral et réduit la ramification des dendrites des cellules de Purkinje du cervelet,

des cellules pyramidales du cortex cérébral et des neurones corticaux du corps calleux. Un retard dans la synaptogenèse de l'hippocampe a été rapporté dans des conditions d'hypothyroïdie. Dans le cervelet, les cellules granulaires matures de la couche granulaire interne expriment un gène associé à la synaptotagmin (Srg1). L'hormone thyroïdienne régule à la hausse l'ARNm de Srg1, alors que l'hypothyroïdie diminue son expression (Howdeshell 2002).

1.5.3 Myélinogénèse

La réduction de la myélinisation est un phénotype commun du cerveau néonatal hypothyroïdien. C'est dû en partie à la diminution de la longueur et de la ramification des excroissances neurales. L'hormone influence également la myélinisation en stimulant la différenciation des oligodendrocytes, qui sont les cellules gliales responsables de la production des protéines de la myéline. Il a été rapporté que l'hypothyroïdie provoque l'expression retardée de quatre gènes majeurs de la myéline: la protéine basique de la myéline (MBP), la protéine protéolipidique (PLP), la 2 '3'-nucléotide cyclique 3'-phosphodiesterase (CNP), et la glycoprotéine associée à la myéline (MAG) ; l'expression retardée entraîne une diminution globale de la production de la myéline. En revanche, l'hyperthyroïdie augmente l'ARNm de la MBP et de la PLP, et cet effet est probablement dû à une plus grande abondance d'oligodendrocytes matures (Howdeshell 2002).

1.5.4 Gliogénèse

La gliogénèse et sa réactivité à l'hormone thyroïdienne se concentrent le plus souvent sur le développement et la maturation des astrocytes et des oligodendrocytes, qui se développent bien après la fin de la majeure partie de la neurogenèse. Cependant, les cellules gliales et microgliales radiales sont présentes beaucoup plus tôt dans le développement du cerveau et sont également influencées par les hormones thyroïdiennes. Les cellules radiales fournissent un cadre pour la migration neuronale et constituent la lignée cellulaire précurseur des cellules astrogliales. Chez la souris, des cellules gliales radiales sont présentes dans le tube neural en développement dès GD 9,5 et chez le rat estimé à GD 11. Les cellules microgliales sont des cellules macrophages, qui phagocytent les cellules mortes et les débris cellulaires après l'apoptose au cours du développement du cerveau. Chez la souris, les cellules progénitrices de la microglie sont dérivées du sac vitellin et sont présentes dans les tissus cérébraux à GD8 et les microglies matures sont détectées à GD13 ; chez le rat les temps estimés sont respectivement GD9.5 et GD14. Les cellules radiales et microgliales sont également présentes très tôt dans la gestation humaine. L'hypothyroïdie prénatale inhibe la maturation des cellules gliales radiales dans la région CA1 de l'hippocampe du rat GD21, telle que mesurée par l'abondance de la protéine GFAP. Une carence en GFAP au cours du développement inhibe la ramification nécessaire aux connexions astrocytes-neurones et diminue la capacité de potentialisation à long terme, facteur essentiel à l'apprentissage et à la mémoire. Les cellules microgliales expriment les isoformes TR α 1 et TR β 1 et sont influencées par l'hormone thyroïdienne. La densité des cellules microgliales est réduite dans le cortex pariétal de rats nouveau-nés exposés à des conditions hypothyroïdiennes de GD16 jusqu'à l'allaitement. En revanche, l'hyperthyroïdie induite par les injections de T3 chez les rats euthyroïdiens et hypothyroïdiens prénataux a augmenté la survie des cellules microgliales et la ramification des faisceaux de fibres axonales du corps calleux en développement. Bien que la première semaine postnatale chez le rat est identifiée

comme une fenêtre critique pour l'influence des hormones thyroïdiennes, il est suggéré que l'hormone thyroïdienne maternelle pourrait influencer le développement précoce des cellules microgliales fœtales. Le fait que les conditions hypothyroïdiennes affectent négativement les cellules gliales et microgliales, indique que les hormones thyroïdiennes peuvent influencer très tôt les stades du développement cérébral (Howdeshell 2002).

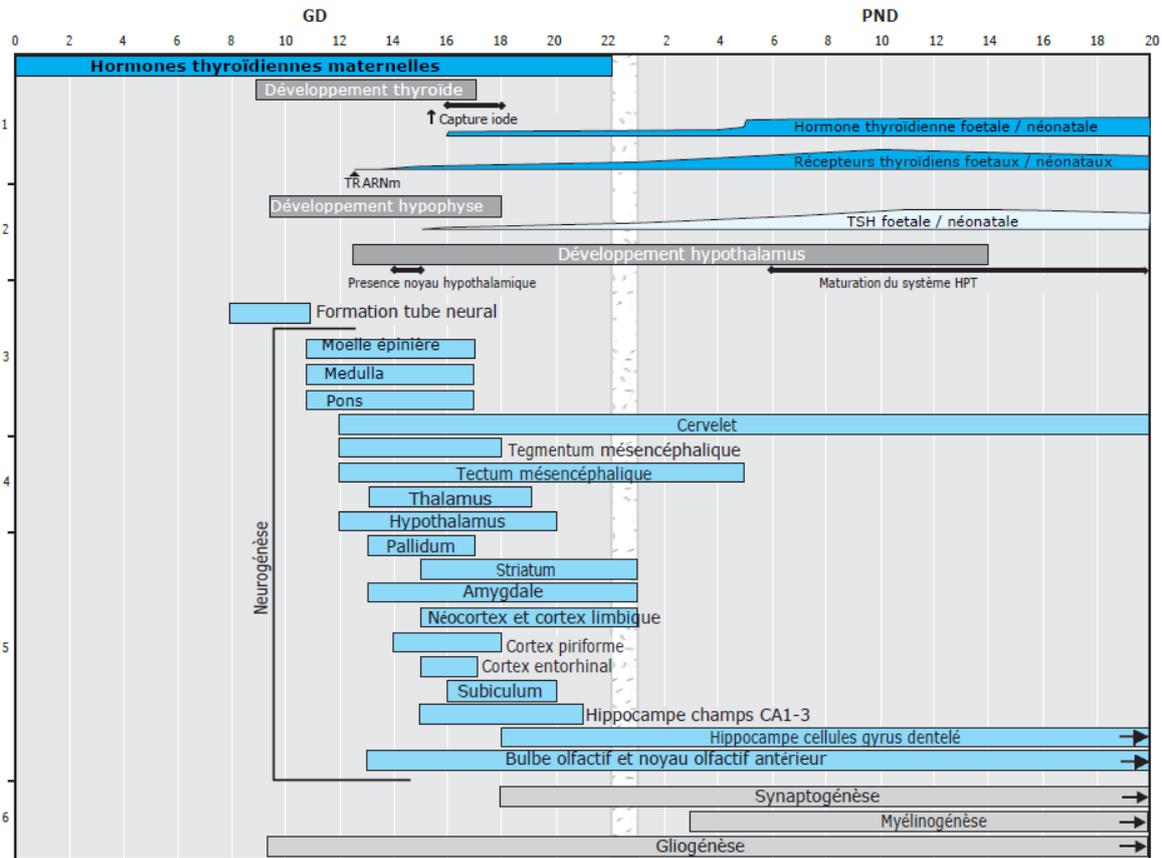


Figure 20 : Chronologie du développement du système thyroïdien et du cerveau chez le rat.

De la conception à PND20. GD : jour embryonnaire, PND : jour post-natal. (Howdeshell 2002).

1.6 Fonction cardiovasculaire

La fonction thyroïdienne influence chaque structure du cœur et son système conducteur spécialisé. De plus, les hormones thyroïdiennes, outre leurs effets directs sur la fonction cardiovasculaire, ont également des effets indirects induits par le système nerveux autonome, le système rénine-angiotensine-aldostérone, la vasoréactivité et la fonction rénale (Figure 21). Les effets majeurs des hormones thyroïdiennes sur le cœur sont médiés par la T3 (Figure 22). En effet, T3 augmente la force et la vitesse de la contraction systolique ainsi que la vitesse de relaxation diastolique. En outre, T3 diminue la résistance vasculaire, y compris le tonus vasculaire coronaire, et augmente l'angiogenèse artériolaire coronaire (Klein and Ojamaa 2001). Ces effets multiples des hormones thyroïdiennes sont largement dus à l'action des récepteurs nucléaires aux hormones thyroïdiennes (TR). Le TR α est l'isoforme prédominant dans le cœur (Bassett, Harvey et al. 2003). T3 induit la croissance et la maturation des

cardiomyocytes par la phosphorylation / activation de la phosphoinositol 3-kinase (PI3K), de la protéine kinase B (PKB) et de la cible mammalienne de la rapamycine (mTOR). Ces effets sur la croissance sont modulés par l'augmentation du peptide natriurétique auriculaire et la diminution de la protéine kinase C. L'activation médiée par T3 de ces voies de signalisation provoque des modifications de l'expression des gènes compatibles avec le phénotype d'hypertrophie cardiaque physiologique. T3 régule les gènes de la chaîne lourde de la myosine (MHC), T3 exerce un effet positif sur la transcription du gène MHC α et un effet négatif sur l'expression du gène MHC β . Les hormones thyroïdiennes peuvent favoriser une hypertrophie myocardique à la fois physiologique et pathologique. À cet égard, l'hypertrophie cardiaque, dans ses phases initiales, présente un processus physiologique qui comprend une augmentation de l'ATP et de l'expression génique de SERCa2 et une diminution de l'expression de MHC β . Les effets cardiaques des TR activés par T3 incluent également la régulation du transport des cations. La régulation de Ca²⁺ intracellulaire ([Ca²⁺]_i) est importante à la fois pour une fonction systolique et diastolique normale. Par exemple, T3 favorise l'augmentation de SERCa2 ATPase et du canal de la ryanodine et diminue la phosphorylation / l'activation du phospholamban, qui inhibe la pompe SERCa2. La fonction diastolique du cœur est fortement influencée par le statut thyroïdien. La vitesse de relaxation diastolique dans le cœur est fortement influencée par la diminution des taux de [Ca²⁺]_i. Dans les cardiomyocytes, la baisse de [Ca²⁺]_i est obtenue majoritairement en pompant [Ca²⁺]_i dans le réticulum sarcoplasmique par la pompe SERCa2. Des résultats expérimentaux dans des modèles animaux d'hypothyroïdie indiquent que le niveau et l'activité de la pompe SERCa2 sont nettement diminués et que celui du phospholamban augmente. Ces changements de SERCa2 et de phospholamban peuvent être liés à une diminution du taux de relaxation diastolique. Le récepteur de la ryanodine est également diminué dans les cœurs hypothyroïdiens. Enfin, les récepteurs adrénergique β 1 et TR α sont régulés de manière positive et négative par T3, respectivement, ce qui favorise une modulation optimale des effets cardiaques inotropes et chronotropes du TR activé par T3. Les hormones thyroïdiennes exercent des effets sur le système vasculaire, elles entraînent généralement une réduction du tonus vasculaire et le maintien d'un remodelage artériolaire normal. T3 exerce des effets directs sur les cellules musculaires lisses vasculaires pour favoriser la relaxation. Il a été démontré que la T3 réduit de manière significative l'expression du récepteur de type 1 de l'angiotensine (Ang) II et réduit l'augmentation de [Ca²⁺]_i et la réponse contractile à l'Ang II. De plus, T3 stimule la production d'oxyde nitrique (NO) *via* l'activation de la voie de signalisation de la NO synthase endothéliale médiée par la PI3K / PKB. L'augmentation de la biodisponibilité de NO est associée à une diminution de la phosphorylation des chaînes légères de la myosine en réponse à l'Ang II et à la phényléphrine. Collectivement, ces données suggèrent que la T3 réduit la contraction des cellules musculaires lisses vasculaires en diminuant la [Ca²⁺]_i ainsi que la sensibilisation au Ca²⁺. Des études ont montré que la T3 favorise également l'angiogenèse et augmente la densité des petits artérioles, y compris les artérioles coronaires (Grais and Sowers 2014).

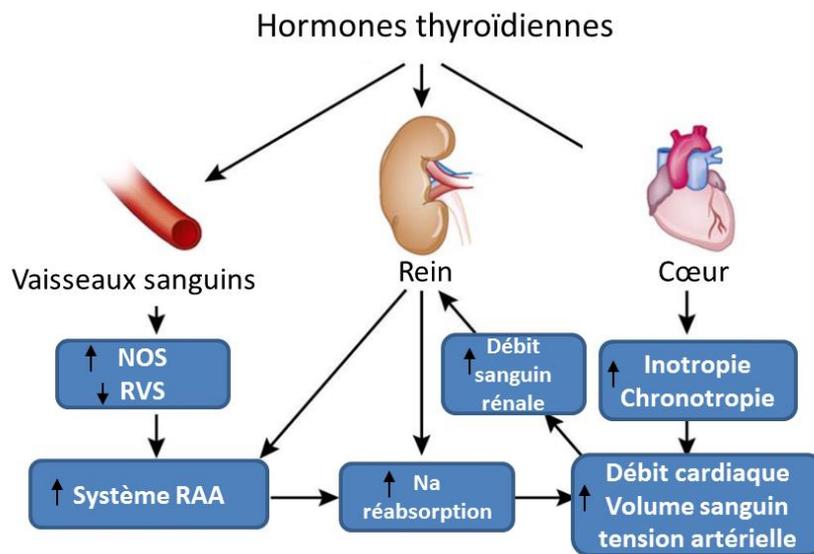


Figure 21 : Effet des hormones thyroïdiennes sur la fonction cardiovasculaire.

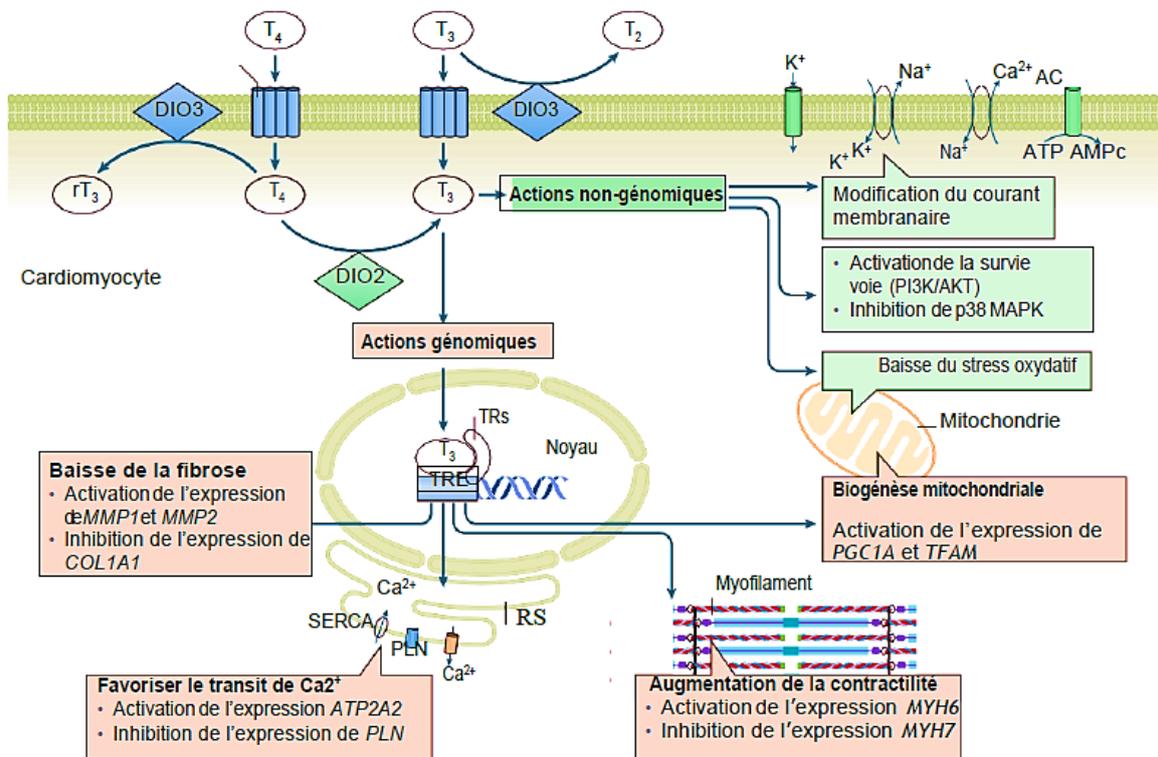


Figure 22 : Effets génomiques des hormones thyroïdiennes (T₃) sur les cardiomyocytes. (adaptée de (Jabbar, Pingitore et al. 2017)).

1.7 Croissance osseuse

L'hormone thyroïdienne est nécessaire à la croissance et la maturation osseuse normale chez les enfants. L'hypothyroïdie juvénile entraîne une formation osseuse retardée et une petite taille, alors que la thyrotoxicose entraîne une croissance accrue et un développement squelettique avancé. Chez l'adulte, cependant, l'excès d'hormones thyroïdiennes favorise la résorption osseuse. L'excès d'hormones thyroïdiennes peut entraîner une ostéoporose, en particulier chez les femmes ménopausées (Figure 23) (Bassett and Williams 2016).

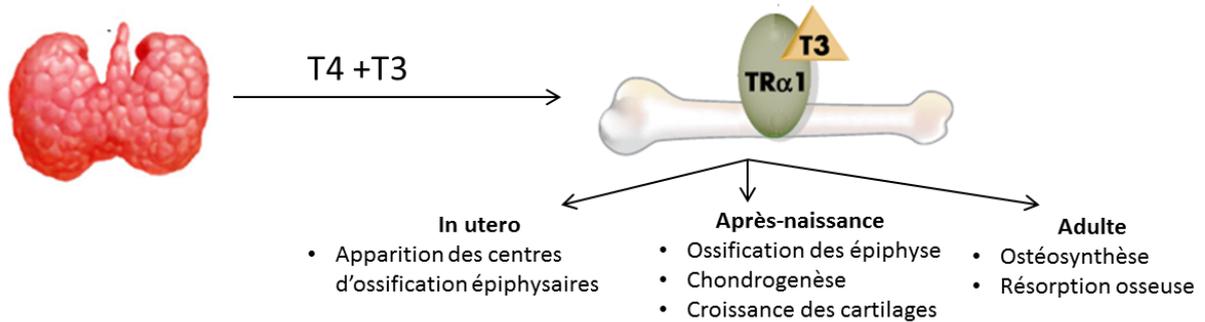


Figure 23 : Effet des hormones thyroïdiennes sur la croissance osseuse à différents stades de développement.

OBJECTIFS DE LA THESE & PROTOCOLES EXPERIMENTAUX

1 Objectifs de la thèse

Les accidents nucléaires ont pour conséquence principale le rejet dans l'environnement de fortes quantités de particules et de gaz radioactifs pouvant être inhalés et / ou ingérés par les populations exposées au panache radioactif. Parmi les isotopes présents dans les rejets, figurent l'iode 131 et d'autres isotopes à vie courte de l'iode. L'exposition des populations aux iodures radioactifs peut être responsable en l'absence de mesures de protection adéquates de l'apparition de cancer de la thyroïde (Cardis, Kesminiene et al. 2005).

Une augmentation spectaculaire de l'incidence du cancer de la thyroïde a été observée depuis 1991 dans les territoires les plus contaminés par les retombées de l'accident de Tchernobyl en Biélorussie, Ukraine et Russie. Suite à l'accident de Fukushima, des études de suivi ont été effectuées pour estimer l'impact de l'accident sur la population. Trois ans après l'accident, des cas de cancer et d'anomalies de la thyroïde ont été rapportés. Néanmoins, il est difficile d'établir un lien de causalité entre cette incidence et l'accident, vu la précocité de l'incidence et la méthode ultra-sensible (échographie) utilisée pour le dépistage (Tsuda, Tokinobu et al. 2016).

Les conséquences sanitaires liées à l'exposition aux iodures radioactifs peuvent être limitées par la mise en œuvre de mesures de protection physiques, telles que la mise à l'abri, la restriction de la consommation des produits contaminés, l'évacuation ainsi qu'une mesure pharmacologique qui consiste à l'ingestion de comprimés d'iodure de potassium. Cette dernière a pour objectif de saturer la glande thyroïde par de l'iode stable qui joue le rôle de bouclier contre les iodures radioactifs. Cette mesure a été appliquée avec succès lors de l'accident de Tchernobyl en Pologne (Nauman and Wolff 1993).

Selon les «Directives pour la prophylaxie à l'iode à la suite d'un accident» (WHO 2017), l'iodure de potassium doit être administré à une dose unique de 130 mg chez l'adulte, 65 mg chez l'enfant de 3 à 12 ans, 32.5 mg chez les nourrissons de 1 mois à 3 ans et 16,25 mg chez les nouveau-nés de moins d'un mois.

Décidée en France sous l'autorité du préfet, l'administration de comprimés d'iodure de potassium a un enjeu majeur. En effet, pour être pleinement efficace, l'ingestion doit intervenir idéalement deux heures avant l'exposition au panache radioactif ou à défaut, au plus tard dans un délai de 24 heures.

Dans le cas d'exposition aiguë et brève (quelques heures), une seule administration d'iodure de potassium, correspondant aux recommandations des autorités de santé publique (Vidal 2018) est considérée comme suffisante.

En cas d'exposition prolongée (au-delà de 24 heures) ou répétée, d'ingestion inévitable d'aliments contaminés et d'eau potable et lorsque l'évacuation est impossible, l'administration répétée d'iode stable peut être nécessaire. Les nouveau-nés, les femmes enceintes et allaitantes et les personnes âgées (plus de 60 ans) ne devraient pas recevoir de prise répétées d'iodure de potassium (WHO 2017).

Suite au retour d'expérience de l'accident de Tchernobyl avec la libération continue d'iode radioactif pendant 10 jours, et de l'accident de Fukushima où plusieurs rejets de radioactivité se sont produits sur une quinzaine de jours, il a été conclu qu'une dose unique d'iodure de potassium n'était manifestement pas adaptée au blocage de la thyroïde (Reiners and Schneider 2013). Reste à savoir si et quand il faut répéter l'administration d'iodure de potassium pour saturer la thyroïde par de l'iode stable et donc la protéger contre l'iode radioactif.

Dans la littérature, les effets biologiques de la prise unique ont été bien documentés suite à l'étude à postériori des habitants de la Pologne ayant reçus l'iodure de potassium lors de l'accident de Tchernobyl (Nauman and Wolff 1993). Par contre, on dispose de peu de données quant à la prise répétée d'iodure de potassium. Quelques études se sont intéressées à ce sujet (Sterntal, Lipworth et al. 1980, Noteboom, Hummel et al. 1997, Noteboom, Hummel et al. 1997), mais leur résultats n'ont pas été exploités dans le domaine de la radioprotection pour aboutir à la modification de la doctrine iode actuelle et à l'évolution des lignes directrices de l'utilisation de l'iodure de potassium en situations accidentelles.

De ce fait, comment procéder en cas de libération répétée d'iode radioactif ? La question reste ouverte générant dans le domaine de la radioprotection des questionnements d'ordre scientifique :

- Quel sont les modalités (dose –fréquence) d'administration d'iodure de potassium en cas d'exposition répétée aux iodes radioactifs ?
- Quels sont les effets biologiques (effets secondaires) associés à une prise répétée du KI chez les différentes tranches d'âge de la population générale ?

Pour répondre à ces questions le programme Français PRIODAC « prophylaxie répétée à l'iode stable en situation accidentelle », dont fait partie cette thèse a été lancé.

Ainsi, un schéma prophylactique de prise répétée d'iodure de potassium sur 8 jours a été établi à l'Institut de Radioprotection et de Sureté Nucléaire (IRSN), suite à des études expérimentales de pharmacocinétique (Phan, Rebiere et al. 2017).

Suite à ces travaux de pharmacologie, dans ce travail de thèse, nous nous sommes intéressés à l'impact toxicologique du nouveau schéma prophylactique sur les différentes tranches d'âge de la population (*in utero* - adulte et âgé), en établissant des protocoles expérimentaux adaptés pour chaque modèle.

Nos résultats à terme sont destinés à faire l'objet de données d'entrées à la Pharmacie Centrale des Armées (PCA), organisme détenant l'AMM pour le KI. L'objectif finale dans le cadre de PRIODAC est de lancer des études de bonne pratique de laboratoire, de faire évoluer la doctrine de l'iode et l'autorisation de mise sur le marché des comprimés d'iodure de potassium, et d'harmoniser les pratiques de prophylaxie à l'échelle nationale et internationale.

2 Protocoles expérimentaux

Pour répondre à la problématique, un modèle expérimental de prise répétée d'iodure de potassium a été développé *in vivo*, l'administration se fait *via* gavage gastrique. Les deux solutions (NaCl au pH 7.4 et KI à concentration 0.35 g/L) utilisées dans l'expérimentation ont été fournies par la pharmacie centrale des armées. Chaque groupe traité possède son groupe témoin propre. Toutes les expérimentations étaient effectuées chez le modèle rongeur rat *Wistar*.

La durée et la dose du traitement ont été déterminées à 1 mg/kg/24h pendant huit jours suite à des études de pharmacologie (Phan, Rebiere et al. 2017). La dose de 1 mg/kg /24h représente la moitié de la dose utilisée actuellement en cas d'accident qui est de 1.8 mg/kg/24h (130 mg chez l'adulte). Les huit jours sont estimés comme une durée suffisante pour l'organisation et la mise en œuvre de toutes les mesures de protection de la population.

Pour mimer les différentes tranches d'âges de la population, ce travail de thèse a été conçu autour de trois modèles animaux :

- ✓ Un modèle de référence : le rat à l'âge adulte (3 mois)
- ✓ Deux modèles à risque /sensibles : la rate gestante âgée de 3 mois (modèle *in utero*) et le rat à un âge avancé (12 mois / modèle âgé)

Le modèle adulte vise à mimer l'impact de la prise répétée d'iodure de potassium chez les personnes adultes. Pour ce modèle, nous avons effectué une cinétique d'administration, prise unique (24h), quatre prises consécutives ou huit prises consécutives. Pour le groupe prise unique et quatre prises l'euthanasie a été effectuée 24h après (groupes 24h et 4j/j5). Et pour le groupe de huit prises, l'euthanasie était effectuée 24h, 48h ou 30 jours après (groupes : 8j/j9, 8j/j10 et 8j/j30) (Figure 24).

Les modèles à risques visent à mimer des tranches d'âge plus sensibles de la population. A savoir la femme enceinte avec un métabolisme modifié et l'impact sur la progéniture en plein développement et croissance, ainsi que les personnes âgés de plus de 60 ans présentant parfois des anomalies des grandes fonctions physiologiques de l'organisme notamment la fonction cardiovasculaire.

Le modèle *in utero* consiste en l'administration de huit prises consécutives d'iodure de potassium chez des rates gestantes à partir du jour embryonnaire 9 (E9) jusqu'au jour embryonnaire 17 (E17) qui correspond à une fenêtre de développement très critique pour les fœtus (couvre la phase du développement de la glande thyroïde et plusieurs étapes du développement du cerveau). Dans cette étude, trente jours post-sevrage l'impact du traitement répété au KI *in utero* a été évalué sur la progéniture mâle (Figure 25).

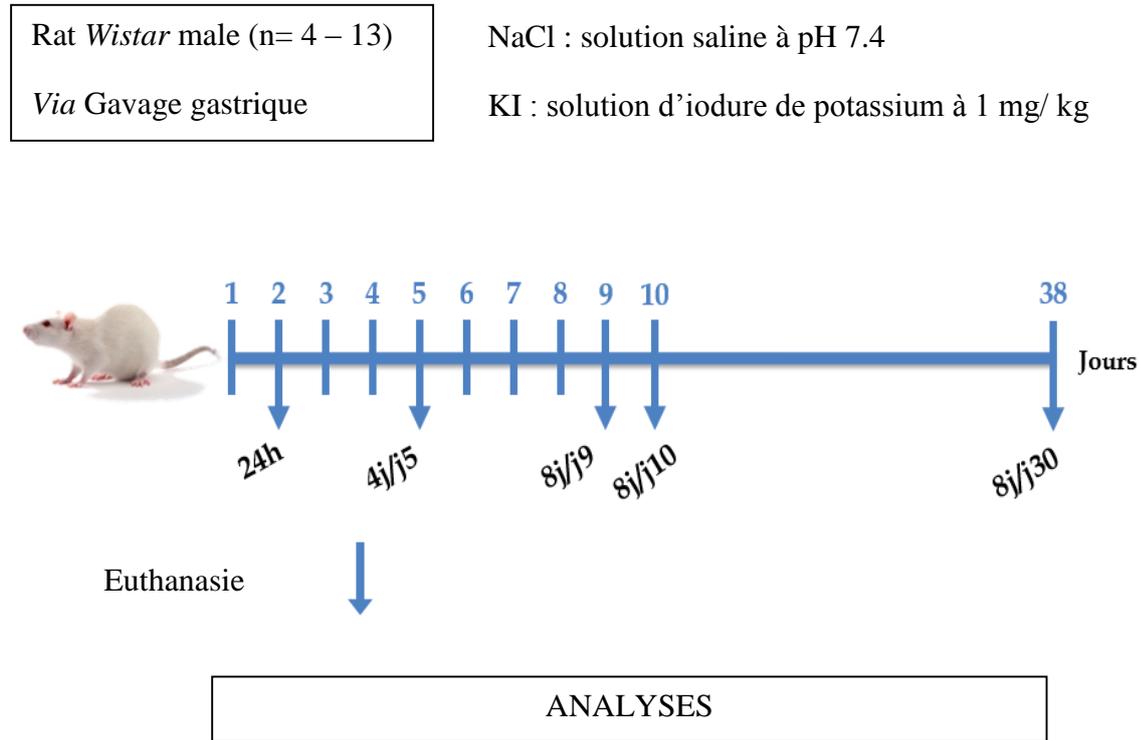
Le modèle âgé consiste en l'administration de huit prises consécutives d'iodure de potassium chez des rats âgés de 12 mois. L'euthanasie a eu lieu 24h ou 30 jours après la prophylaxie répétée (Figure 26).

Un jour (24h) avant l'euthanasie, les animaux sont transférés dans des cages métaboliques individuelles pour le prélèvement des urines. Lors de l'euthanasie les animaux sont anesthésiés

par inhalation d'isoflurane, le sang est prélevé par ponction intracardiaque. Les organes cibles sont prélevés et congelés dans l'azote liquide puis stockés à -80°C jusqu'au moment de l'analyse.

Pour les trois modèles, l'état général des animaux (poids corporel, poids des organes, consommation hebdomadaire de nourriture), les paramètres biochimiques, le statut hormonal de l'axe hypophyso-thyroïdien ainsi que l'expression des gènes cibles de la thyroïde et le transcriptome de la thyroïde ont été évalués. Un suivi particulier du développement cérébral et de la fonction cardiaque ont été effectués pour le modèle *in utero* et âgé respectivement.

2.1 Modèle de référence : rat *Wistar* adulte (3 mois)



Sang :

- ✚ Bilan biochimique
- ✚ Dosage des hormones (TSH – T4L et T3L)
- ✚ Dosage des anticorps antithyroïdiens (anti-Tg et anti-TPO)

Urine :

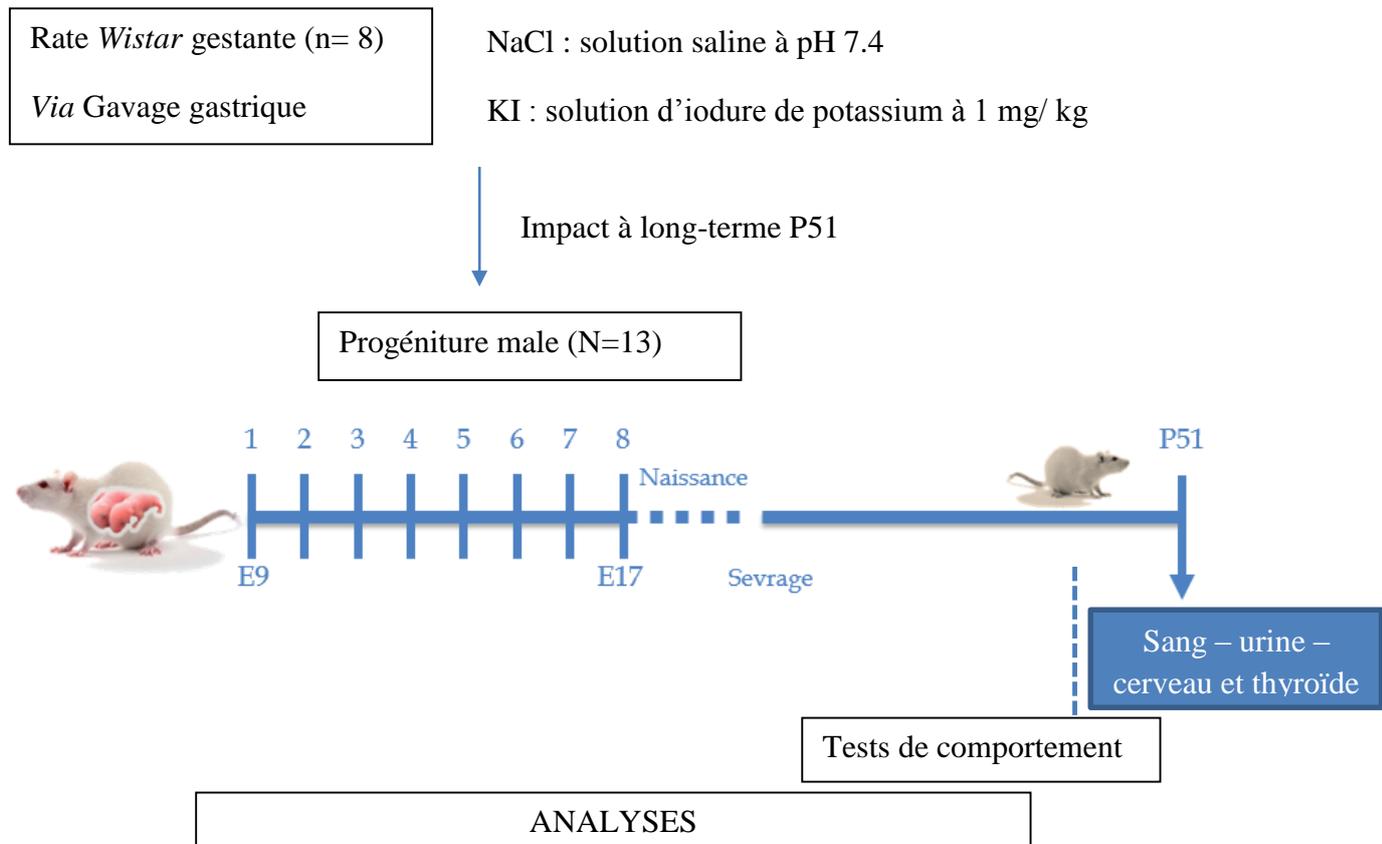
- ✚ Bilan biochimique
- ✚ Dosage de la concentration de l'iode

Thyroïde :

- ✚ Expression des gènes impliqués dans la synthèse des hormones thyroïdiennes (qPCR)
- ✚ Histopathologie
- ✚ Transcriptomique (microarray)

Figure 24 : Protocole expérimental modèle adulte.

2.2 Modèle à risque : rates *Wistar* gestantes (exposition *in utero*)



Tests de comportement :

- ✚ Mémoire spatiale (test du labyrinthe en Y)
- ✚ Anxiété - dépression (test de la nage forcé)
- ✚ Coordination motrice (test du rotarod)

Sang :

- ✚ Dosage biochimique
- ✚ Dosage des hormones (TSH – T4L et T3L)
- ✚ Dosage des anticorps antithyroïdiens (anti-Tg et anti-TPO)

Urine :

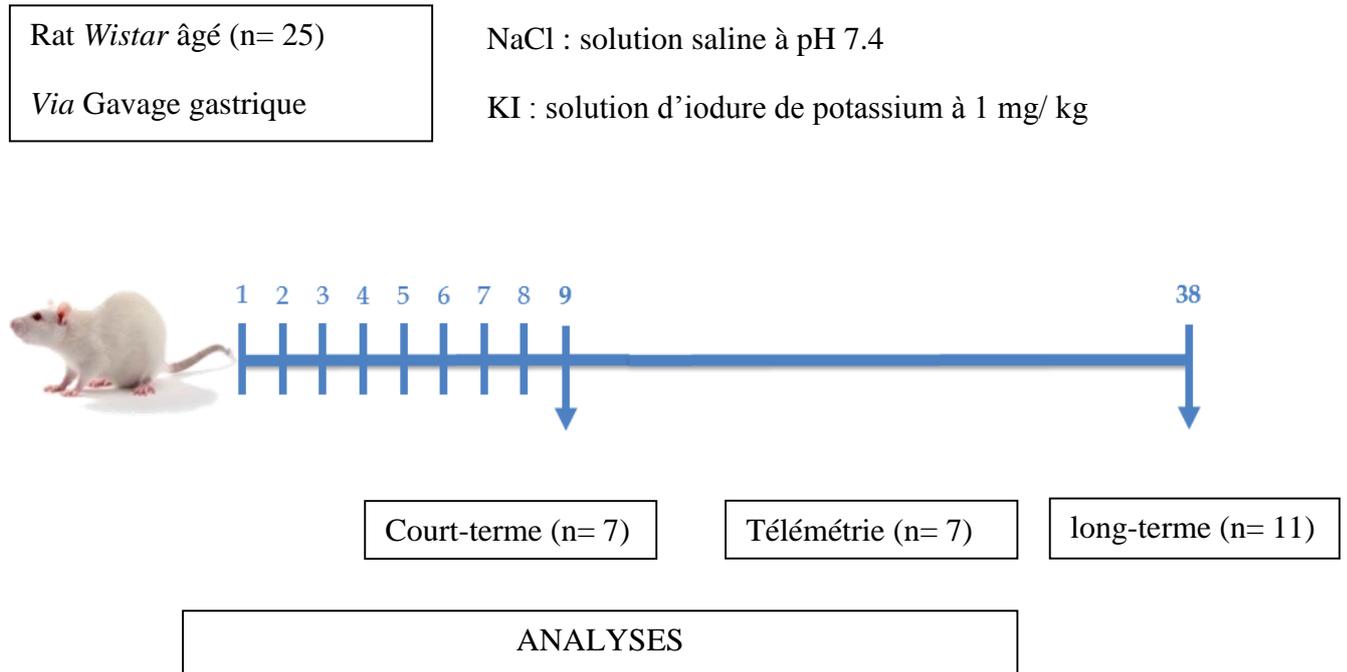
- ✚ Dosage biochimique

Cervelet – cortex et thyroïde :

- ✚ Expression des gènes cibles (qPCR)
- ✚ Histopathologie
- ✚ Transcriptomique (microarray)

Figure 25 : Protocole expérimental modèle *in utero*.

2.3 Modèle à risque : rat *Wistar* âgé (12 mois)



Sang :

- ✚ Dosage biochimique
- ✚ Dosage des hormones (TSH – FT4 et FT3)
- ✚ Dosage de rénine – angiotensine et aldostérone

Urine :

- ✚ Dosage biochimique

Cœur – Aorte et thyroïde :

- ✚ Expression des gènes cibles (qPCR)
- ✚ Histopathologie

Evaluation de la fonction cardiaque (ECG et arythmies)

Figure 26 : Protocole expérimental modèle âgé.

RESULTATS

Deux articles N°1 et N°2 pour le modèle adulte (publiés), un article N°3 pour le modèle *in utero* (en révision) et un article N°4 pour le modèle âgé (en préparation).

ARTICLE 1

« Effects of repeated potassium iodide administration on genes involved in synthesis and secretion of thyroid hormone in adult male rat »

« Effets de l'administration répétée d'iodure de potassium sur les gènes impliqués dans la synthèse et la sécrétion d'hormones thyroïdiennes chez le rat adulte »

D LEBSIR, L MANENS, S GRISON, P LESTAEVEL, T EBRAHIMIAN, D SUHARD, G PHAN, I DUBLINEAU, K TACK, M BENDERITTER, A PECH, JR JOURDAIN and M SOUIDI.

[Molecular and Cellular Endocrinology 474 \(2018\) 119-126](#)

ARTICLE 2

« Toxicology of Repeated Iodine Thyroid Blocking in Adult Rat »

« Toxicologie du blocage répété de la thyroïde par l'iode chez le rat adulte »

D LEBSIR, D COHEN, LMANENS, S GRISON, K TACK, M BENDERITTER, A PECH, P LESTAEVEL and M SOUIDI.

[Journal of Pharmaceutical Research \(2018\) Volume 3 | Issue 1 | 1 of 8](#)

1 Résultat I : modèle de référence

1.1 Résumé des deux articles modèle adultes

Ces deux premiers articles s'inscrivent dans le volet "Scientifique" du programme PRIODAC, qui s'attache à évaluer les effets toxicologiques d'une prise répétée d'iodure de potassium sur différents systèmes biologiques. Cette problématique de recherche répond au manque de connaissances sur les conséquences biologiques de la prise répétée.

En cas d'exposition continue aux iodes radioactifs, le blocage de la thyroïde par de l'iode stable est la solution la plus adaptée. Tandis que, la prise unique de dose supra-physiologique d'iode provoque un mécanisme d'adaptation au niveau de la thyroïde « effet Wolff-Chaikoff » qui consiste en un blocage transitoire de la fonction thyroïdienne, quelques heures plus tard ce mécanisme disparaît « échappement à l'effet Wolff-Chaikoff » et la fonction thyroïdienne est restaurée. Une prise répétée d'iode stable pourrait en revanche provoquer un effet Wolff-Chaikoff persistant. Il est bien admis que la thyroïde exerce un impact sur la plupart des grandes fonctions physiologiques de l'organisme *via* les hormones thyroïdiennes (T4 et T3). Toute variation des taux hormonaux peut avoir comme conséquence un déséquilibre de l'homéostasie de l'organisme.

Les données précliniques dans la littérature de l'impact de la prise répétée de l'iode sont parfois contradictoires et varient selon l'espèce, le sexe et l'âge de l'animal ainsi que la durée, la dose et la forme chimique de l'iode. Ces études n'étaient pas établies dans un cadre de radioprotection mais plutôt dans un cadre d'étude fondamentale pour la compréhension des mécanismes moléculaires (Serrano-Nascimento, Calil-Silveira et al. 2010, Solis, Villalobos et al. 2011, Chen, Lin et al. 2015, de Souza, Dias et al. 2015, Calil Silveira, Serrano do Nascimento et al. 2016).

Afin de fournir des données précliniques à la pharmacie centrale des armées, pour faire évoluer l'autorisation de mise sur le marché du KI, des rats *Wistar* mâles adultes (âgés de 3 mois) ont été divisés en 5 groupes : le 1^{er} groupe recevant une dose unique d'iodure de potassium (1 mg/kg /h) et euthanasié 24h après le traitement, le 2^{ème} groupe recevant quatre prises d'iodure de potassium (1mg/kg/24h) et euthanasié 24 h après le traitement, et les trois autres groupes recevant huit prises d'iodure de potassium (1 mg/kg/24h) et euthanasiés 24h, 48h ou 30 jours après le traitement. L'organe cible de cette étude est la thyroïde.

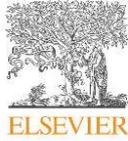
L'état général des animaux a été suivi *via* l'évaluation hebdomadaire de leur poids corporel et leur prise alimentaire, ces deux paramètres n'ont pas été impactés par le traitement. Le poids des organes cibles du métabolisme de l'iode et des hormones thyroïdiennes (thyroïde – foie et rein) ainsi que la biochimie des paramètres plasmatique et urinaire en liaison avec ces organes n'ont pas été impactés par la prise répétée de l'iode. L'expression des gènes impliqués dans le métabolisme de l'iode et la synthèse des hormones thyroïdiennes (NIS – AIT – PDS – TPO – Tg – DUOX2/A2 et MCT8) a montré un effet Wolff-Chaikoff séquentiel sur deux phases : précoce (baisse de l'expression de NIS et MCT8 dès 24h), et tardive (augmentation de l'expression de PDS avec une baisse de l'expression de TPO à 8 jours). Cet effet est réversible car à 30 jours post-prophylaxie l'expression de tous les gènes retourne à la normale. Cet effet

Wolff-Chaikoff est sans modification endocrinologique, les taux plasmatiques circulants des hormones hypophyso-thyroïdiennes ainsi que des anti-coprs antithyroïdiens étant comparables à ceux des contrôles. L'analyse histopathologique ainsi que l'analyse transcriptomique au niveau des organes cibles (thyroïde – foie et rein) n'a pas révélé de signature attribuable à la prise répétée de l'iodure de potassium.

On se basant sur ces résultats très encourageants et rassurants, nous pouvons à priori conclure à l'innocuité de la prise répétée de l'iodure de potassium à 1 mg/kg/24h sur huit jours chez le rat *Wistar* adulte.

Ces résultats ont fait l'objet de données d'entrée pour la pharmacie centrale des armées qui a initié des études de bonne pratiques de laboratoire afin de confirmer nos constatations et de faire évoluer l'autorisation de mise sur le marché des comprimés du KI.

1.2 Article 1: Effects of repeated potassium iodide administration on genes involved in synthesis and secretion of thyroid hormone in adult male rat



Contents lists available at ScienceDirect

Molecular and Cellular Endocrinology

journal homepage: www.elsevier.com/locate/mce



Effects of repeated potassium iodide administration on genes involved in synthesis and secretion of thyroid hormone in adult male rat



Dalila Lebsir^a, Line Manens^a, Stephane Grison^a, Philippe Lestaevel^a, Teni Ebrahimian^a, David Suhard^b, Guillaume Phan^b, Isabelle Dublineau^c, Karine Tack^a, Marc Benderitter^c, Annick Pech^d, Jean-Rene Jourdain^c, Maâmar Souidi^{a,*}

^a Institut de Radioprotection et de Sûreté Nucléaire (IRSN), PRP-HOM, SRBE, LRTOX, 92262 Fontenay-aux-Roses, France

^b Institut de Radioprotection et de Sûreté Nucléaire (IRSN), PRP-HOM, SDI, LRC, 92262 Fontenay-aux-Roses, France

^c Institut de Radioprotection et de Sûreté Nucléaire (IRSN), PRP-HOM, 92262 Fontenay-aux-Roses, France

^d Pharmacie centrale des armées, Direction des Approvisionnement en produits de Santé des Armées, 45000 Orléans, France

ARTICLE INFO

Article history:

Received 12 June 2017
Received in revised form 23 February 2018
Accepted 23 February 2018
Available online 26 February 2018

Keywords:

Potassium iodide
Repeated prophylaxis
Thyroid gland
Wolff-chaikoff effect
Thyroid hormones

ABSTRACT

Background: A single dose of potassium iodide (KI) is recommended to reduce the risk of thyroid cancer during nuclear accidents. However in case of prolonged radioiodine exposure, more than one dose of KI may be necessary. This work aims to evaluate the potential toxic effect of repeated administration of KI. **Methods:** Adult *Wistar* rats received an optimal dose of KI 1 mg/kg over a period of 1, 4 or 8 days. **Results:** hormonal status (TSH, FT4) of treated rats was unaffected. Contrariwise, a sequential Wolff-Chaikoff effect was observed, resulting in a prompt decrease of NIS and MCT8 mRNA expression (–58% and –26% respectively), followed by a delayed decrease of TPO mRNA expression (–33%) in conjunction with a stimulation of PDS mRNA expression (+62%). **Conclusion:** we show for the first time that repeated administration of KI at 1 mg/kg/24h doesn't cause modification of thyroid hormones level, but leads to a reversible modification of the expression of genes involved in the synthesis and secretion of thyroid hormones.

© 2018 Elsevier B.V. All rights reserved.

1. Introduction

The use of nuclear technology has always been accompanied by the risk of radioactivity releases into the environment, since 1990 a dramatic increase in the incidence of pediatric thyroid cancer, ensued in Belarus and Ukraine, following the Chernobyl nuclear reactor accident (Cardis et al., 2005; Jargin, 2011; Reiners et al., 2013), also four years after Fukushima accident an excess of thyroid cancer has been detected among children and adolescents in the Fukushima prefecture (Tsuda et al., 2016), these incidences are presumably due to ingestion and inhalation of radioiodine in particular ¹³¹I a gamma and beta emitter with a physical half-life of 8 days (Reiners and Schneider, 2013). To prevent radioactive contamination, the responsible authorities implement series of physical measures like sheltering, evacuation and food restriction, in addition to pharmacologic thyroid blockade by oral potassium

iodide (KI) at a dose of 130 mg (2 tablets of KI at 65 mg), fractions of this quantity are used in specific population groups (130 mg in adults, pregnant and lactating women, if necessary; 65 mg in children; 32.5 mg in infant and 16.25 mg in newborn) (Zanzonico and Becker, 2000; Dreger et al., 2015). The Polish government successfully applied iodine thyroid blocking (ITB) and as result about 90% of children under the age of 16 years showed thyroid dose commitment below 50 mSv (Nauman and Wolff, 1993). In case of a single release of radioiodine, a single administration of KI is regarded as sufficient (WHO, 1999) it approximately blocks the thyroid 24 h–36 h, the blocking capacity decreases when time after administration increases (Dreger et al., 2015). Currently, in extreme situations, the responsible authorities order a second administration of KI only for adults (WHO, 1999). Based on experiences from the Chernobyl accident with the prolonged release of radioiodine over 10 days and Fukushima accident where several releases of radioactivity have occurred over many days (Reiners and Schneider, 2013), it was clear that a single dose of KI is not adequate for thyroid blocking, in similar situations repeated administration of KI may be required to ensure adequate protection, unfortunately studies

* Corresponding author.
E-mail address: maamar.souidi@irsn.fr (M. Souidi).

<https://doi.org/10.1016/j.mce.2018.02.017>
0303-7207/© 2018 Elsevier B.V. All rights reserved.

regarding the effects of repeated administration of KI are scarce and consequently the scientific evidence to apply repeated prophylaxis is weak. In 1980, a clinical trial was performed using different doses of KI over 12 days, the study showed a significant level of protection without major effect on the hormonal status of participants (Sterntal et al., 1980). Since 1948, it was demonstrated that an excess of iodide may transiently disrupt thyroid function, the well-known Wolff-Chaikoff effect characterized by decreased and delayed iodide organification (Wolff and Chaikoff, 1948), this effect is complex and encompasses multiple steps including iodide entrance and organification (Eng et al., 1999), iodide efflux through the colloid (Calil-Silveira et al., 2016a), intrathyroidal iodide pool regeneration (Solis et al., 2011), and thyroid hormones transport (de Souza et al., 2015). This effect could lead to a temporary variation of thyroid hormones level (Eng et al., 1999; de Souza et al., 2015), which exert a major impact on development, growth, and metabolism (Calil-Silveira et al., 2016b). Both the Wolff-Chaikoff effect and its escape are necessary to maintain thyroid hormone synthesis under tight control (Eng et al., 1999). Recently, a new prophylactic design, implying the administration of KI at 1 mg/kg/24h over a period of 8 days, was developed (Phan et al., 2017). To go further, the present work aims to apply this design and to assess the toxic effects on the hormonal and biochemical homeostasis in adult Wistar rat, also the impact on the main steps of thyroid hormones synthesis (iodide transport, iodide organification and thyroid hormones transport) was investigated.

2. Materials and methods

2.1. Experimental procedure

2.1.1. Materials

Saline solution (pH 7.4) and potassium iodide solution (0.35 g/L), were kindly provided by central pharmacy of armies (Orleans, France).

2.1.2. Animals

Adult male Wistar rats, aged 3 months, weighing 335 ± 17 g, were purchased from Charles River Laboratories (L'Arbresle, France); and housed under controlled conditions of temperature (21 ± 2 °C), humidity ($50 \pm 10\%$) and regular dark/light cycle (12h/12h). Normal-iodized pellet diet 0.3 mg I/kg of pellet (SAFE A04-10, Augy, France) and tap water were available *ad-libitum*. All experimental procedures were approved by the Animal Care Committee of the Institute of Radioprotection and Nuclear Safety, and complied with French regulation for animal experimentation (Ministry of agriculture Act No.87–848, October 19th 1987, modified May 20th 2001).

2.1.3. Experimental groups

In order to evaluate the effect of repeated administration of the optimal dose of potassium iodide, rats were divided into five groups as follows:

Group 1: (d1): 4 rats/group receiving single administration of KI or saline solution, and sacrificed 24 h later, Group 2: (d4): 8 rats/group receiving repeated administration of KI or saline solution over four consecutive days, and sacrificed 24 h later, Group 3: (d8): 8 rats/group receiving repeated administration of KI or saline solution over eight consecutive days, and sacrificed 24h later, Group 4: (d10): 4 rats/group receiving repeated administration of KI or saline solution over eight consecutive days, and sacrificed 48h later and Group 5: (d30): 13 rats/group receiving repeated administration of KI or saline solution over eight consecutive days, and sacrificed 30 days post-prophylaxis.

As shown in Fig. 1, the treatment was carried out by gastric

gavage; treated rats received 1 mL of KI (0.35 g/L) whereas their matched control groups were given 1 mL of saline solution (pH7.4).

2.1.4. Organs and biofluids collection

Before sacrifice, rats were placed in metabolic cages for 24h, with free access to diet and water. Urine was collected twice a day, and refrigerated at + 4 °C to limit bacterial growth, fractions were pooled, mixed, and centrifuged (3000 rpm/10 min); supernatants were frozen at - 80 °C. After that, rats were anesthetized by inhalation of 5% isoflurane (Abbott France, Rungis, France) and euthanized by intracardiac puncture with blood collected in heparinized tubes. Whole blood was centrifuged (3000 rpm/10min) and plasma supernatants were immediately frozen at - 80 °C. Thyroid was dissected on ice, weighed, deep-frozen in liquid nitrogen, and stored at -80 °C.

2.2. Technical procedure

2.2.1. Urinary iodine concentration (UIC) measurement

After slow thawing of samples at (+21 °C), the urines were diluted 1/10 000th with 2% ammonia solution (solution made from the Suprapur® 25% ammonia solution, Merck) and then stabilized with a sodium thiosulfate solution at 184 mg/l in 2% ammonia. The total iodine content was determined by direct measurement of three aliquots of each sample by inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS, X Series II, Thermo Electron, Courtaboeuf, France) using the standard addition method. The internal calibration range consists of a standard solution of stable iodide at 1000 mg/L (Iodides AVS Titrimorm IC Standard, Prolabo). Tellurium Te-125, used as the second internal standard, was added to the samples at a concentration of 1.25 mg/L from a standard 1000 mg/L solution (Tellurium ICP standard Certipur, Merck). The internal calibration range was constituted in each sample by the following concentrations: 0; 2; 4; 6; 8; 10 and 12 µg/L of stable iodide (Phan et al., 2017).

2.2.2. Biochemical assays

Plasma concentrations of total proteins, urea, creatinine, alanine aminotransferase (ALAT), aspartate aminotransferase (ASAT), and urine concentrations of uric acid, urea, creatinine, proteins, were measured by an automated spectrophotometric system Konelab 20i (from thermo electron corporation, Cergy-Pontoise, France) using the manufacturer's biological chemistry reagents (Manens et al., 2016).

2.2.3. Hormonal parameters assay

2.2.3.1. TSH. The TSH rat ELISA test kit (MP Biomedicals Germany GmbH) is a solid phase enzyme immunometric assay in the microplate format, designed for the quantitative measurement of TSH in rat plasma; the microplate is coated with a monoclonal antibody specific for TSH. Calibrators and samples are pipetted into the antibody coated microplate. Afterwards, a polyclonal horseradish peroxidase-labelled antibody is added. The optical density of the colored solution is measured with a microplate reader at 450 nm. Bi-chromatic measurement with 600–690 nm reference filters is recommended. The analytical sensitivity of TSH was 0.1 ng/mL.

2.2.3.2. FT3 and FT4. Assay was performed at Vebio laboratory (Arcueil, France), using the IMMULIT®2000 Systems Analyzers (Siemens healthcare diagnostics, Saint-Denis, France), a solid phase enzyme-labelled chemiluminescent competitive immunoassay, for the quantitative measurement of free thyroxine and free triiodothyronine in heparinized plasma. The CV% was lower than 12% for FT3 and lower than 6% for FT4, the analytical sensitivity of FT4 and

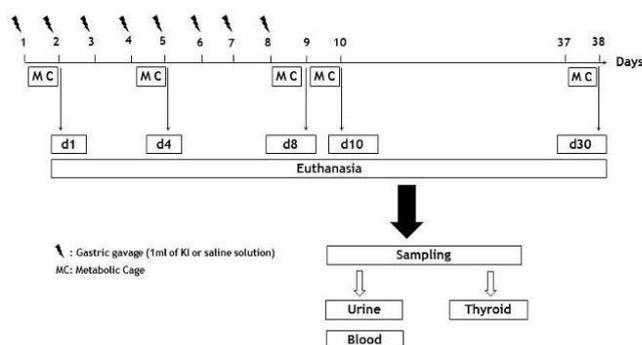


Fig. 1. Prophylactic design, three regimens of KI prophylaxis: one administration (group d1), 4 administrations (group d4), and 8 administrations (group d8, d10 and d30).

FT3 are 2.83 pmol/L and 1.5 pmol/L respectively.

2.2.4. Real-time PCR

Total RNA was extracted from the entire thyroid sample, using mirVana™ miRNA Isolation Kit (Ambion, cat.no.1560). The Nano-Drop apparatus (ThermoFisher Scientific, Cergy Pontoise, France) was used to determine the concentration of RNA ng/μL. 1 μg of total RNA was reversely transcribed using High-Capacity cDNA Reverse Transcription Kit (Applied Biosystems, Courtaboeuf, France) according to the manufacturer's instructions. Real-time qPCR was performed with QuantStudio 12K Flex Real-Time PCR System (ThermoFisher Scientific, Cergy Pontoise, France) using Taqman (applied biosystems, Courtaboeuf, France), to analyse the mRNA levels of thyroid genes, involved in iodine metabolism and thyroid hormones synthesis: Na⁺/I⁻ symporter NIS (4331182, Rn00583900_m1), Apical iodide transporter AIT (4331182, Rn01503812_m1), Pendrin PDS (4331182, Rn00570082_m1), Thyroid peroxidase TPO (4331182, Rn00571159_m1), Thyroglobulin Tg (4351372, Rn00667257_g1), Dual oxidase 2 DUOX2 (4331182, Rn00666512_m1), Dual oxidase maturation factor 2 DUOX a2 (4351372, Rn01512829_g1), mono-carboxylate transporter 8 MCT8 (4331182, Rn00596041_m1). Relative changes in genes mRNA expression in iodide treated thyroids were calculated using 2^{-ΔΔCt} method; GAPDH (4331182, Rn01775763_g1) and ACTB (4331182, Rn00667869_m1) were used as internal controls. All RT-qPCR results are expressed as mean ± SEM, and compared to expression levels of non-exposed group.

2.3. Statistical analysis

Results are expressed as mean ± SEM, Student's t-test was routinely performed for statistical analysis of data, and was replaced by Mann-Whitney Rank Sum Test when the equal variance test failed (determined by GraphPad Prism software). Differences were considered statistically significant when p ≤ 0.05.

3. Results

3.1. Repeated administration of KI increases UIC

Urinary iodine concentration was dramatically increased in group of rats that received KI 1 mg/kg/24h for 1 day, 4 days and 8 days by a factor of 13, 14 and 15 respectively in comparison to their controls (P < 0.001). In the group d10 and d30 where the treatment

was stopped for 48 h and 30 days respectively, we did not notice a significant difference between controls and treated rats (Fig. 2).

3.2. Repeated administration of KI did not affect the general health parameters and the biochemical status

Body weight was not affected by the treatment; thyroid organ coefficient judged by thyroid weight/body weight was similar between treated and control groups. Liver integrity represented by ALAT and ASAT concentrations, and renal function reflected by urea, total proteins and creatinine concentration in plasma, were not affected either. Also concerning renal function, urinary parameters such as urinary proteins, uric acid, creatinine and urea, were unaffected by the repeated administration of KI (Table 1).

3.3. Repeated administration of KI did not affect the activity of the pituitary-thyroid axis

Data presented in Fig. 3, showed that repeated iodide administration resulted in non-significant modification of TSH, free T4 and free T3 concentration in all groups.

3.4. Repeated administration of KI generates a sequential genic variation associated to Wolff-Chaikoff effect

The effect of repeated administration of KI on the major actors involved in iodide metabolism and thyroid hormones synthesis; has been studied in rats using 1 mg/kg/24h of KI over different

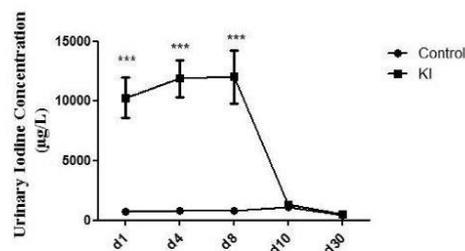


Fig. 2. Urinary iodine concentration at different time. Data are expressed as Mean ± SEM.

Table 1
Physiological and biochemical parameters of rats subjected or not to KI administration. Data are expressed as Mean ± SEM. *, p < 0.05.

Propylaxis	KI mg	General status		Plasma parameters				Urine parameters				
		Weight		Renal function		Liver integrity		Renal function		Proteins		
		Body g	Tw/BW Ratio mg/g	Creatinine μM	Urea mM	Proteins g/L	ALATU/L	ASATU/L	Uric acid μM/24h	Creatinine μM/24h	Urea mM/24h	Proteins mg/24h
d1	0	331.50 ± 177	0.068 ± 0.005	4771 ± 211	5.59 ± 0.04	55.20 ± 0.71	31.44 ± 1.21	80.90 ± 1.47	1721 ± 156	95.36 ± 10.26	5.5 ± 1.82	11.18 ± 3.6
	1	330.25 ± 102.7	0.073 ± 0.009	4534 ± 253	6.11 ± 0.16	56.33 ± 1.24	32.08 ± 0.28	80.57 ± 1.62	1710 ± 169	92.08 ± 10.2	8.31 ± 0.59	7.08 ± 1.17
d4	0	342.78 ± 468	0.065 ± 0.002	4304 ± 652	4.73 ± 0.14	52.73 ± 1.25	26.13 ± 1.43	80.49 ± 6.35	1234 ± 0.88	96.07 ± 3.28	8.28 ± 0.27	6.11 ± 2.22
	1	338.94 ± 339	0.071 ± 0.003	4259 ± 056	4.80 ± 0.29	53.17 ± 1.03	25.82 ± 1.56	74.99 ± 5.51	1639 ± 2.71	115.82 ± 15.13	10.44 ± 1.42	4.36 ± 2.26
d8	0	360.23 ± 570	0.060 ± 0.003	4336 ± 089	5.20 ± 0.23	53.56 ± 1.00	29.59 ± 1.60	84.25 ± 6.07	1217 ± 1.28	97.73 ± 4.52	9.73 ± 0.76	5.00 ± 2.57
	1	350.91 ± 459	0.065 ± 0.002	4192 ± 083	4.98 ± 0.33	52.31 ± 0.40	23.70 ± 1.34*	68.48 ± 4.62	1238 ± 0.90	91.22 ± 3.11	8.98 ± 0.50	6.54 ± 2.95
d10	0	368.09 ± 10.45	0.064 ± 0.003	4248 ± 074	4.89 ± 0.50	54.83 ± 1.71	25.86 ± 3.17	78.59 ± 1.53	1373 ± 1.28	105.56 ± 11.32	9.14 ± 1.32	13.69 ± 1.38
	1	362.81 ± 7.60	0.073 ± 0.005	4254 ± 074	5.04 ± 0.18	53.36 ± 0.99	25.10 ± 0.70	65.08 ± 3.07*	1463 ± 0.82	108.89 ± 5.43	11.11 ± 0.39	15.06 ± 6.30
d30	0	437.80 ± 427	0.073 ± 0.006	4454 ± 393	5.46 ± 0.72	57.25 ± 1.67	30.83 ± 1.46	124.51 ± 12.69	1705 ± 0.82	126.27 ± 8.76	11.22 ± 0.55	11.99 ± 3.32
	1	427.73 ± 517	0.058 ± 0.005	44.99 ± 1.99	5.62 ± 0.83	56.10 ± 2.09	30.58 ± 1.35	112.18 ± 8.29	1728 ± 1.08	129.94 ± 6.18	10.40 ± 0.49	10.16 ± 2.26

Tw/BW: thyroid organ coefficient, ALAT: alanine aminotransferase, ASAT: aspartate aminotransferase.

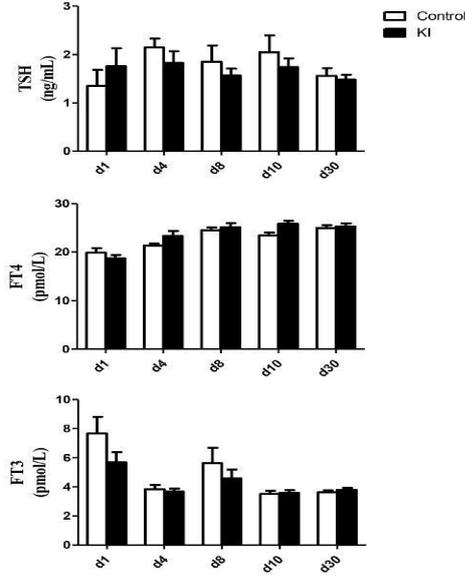


Fig. 3. Plasmaic levels of thyrotropine (TSH) and, thyroid hormones free thyroxine (FT4) and free triiodothyronine (FT3). Data are expressed as Mean ± SEM. triiodothyronine (FT3). Data are expressed as Mean ± SEM.

periods of time. After a single administration of KI, the expression of NIS and MCT8 mRNA was significantly decreased by 59% and 26% respectively. After 4 days of KI administration, only the NIS mRNA expression was still decreased by 60% whereas MCT8 mRNA expression was resumed. Then after 8 days of KI administration, NIS and TPO mRNA expression was significantly decreased by 75% and 33% respectively, and PDS mRNA expression was significantly increased by 62%. Two days after the interruption of treatment, NIS mRNA expression was always decreased by 48%, while TPO mRNA expression was resumed. Thirty days later, NIS mRNA expression was returned to normal.

The expression of AIT, Tg, DUOX2 and DUOXa2 involved in iodide efflux and organification, was unaffected by repeated iodide administration, no significant difference was observed compared to the control groups (Fig. 4).

4. Discussion

Thyroid function can be modulated by many factors, such as TSH, thyroglobulin, and availability of iodine (de Souza et al., 2015; Ishido et al., 2015). It was demonstrated that an acute excess of iodide could lead to a down-regulation of thyroid hormones level, which play an important role in the regulation of body metabolism

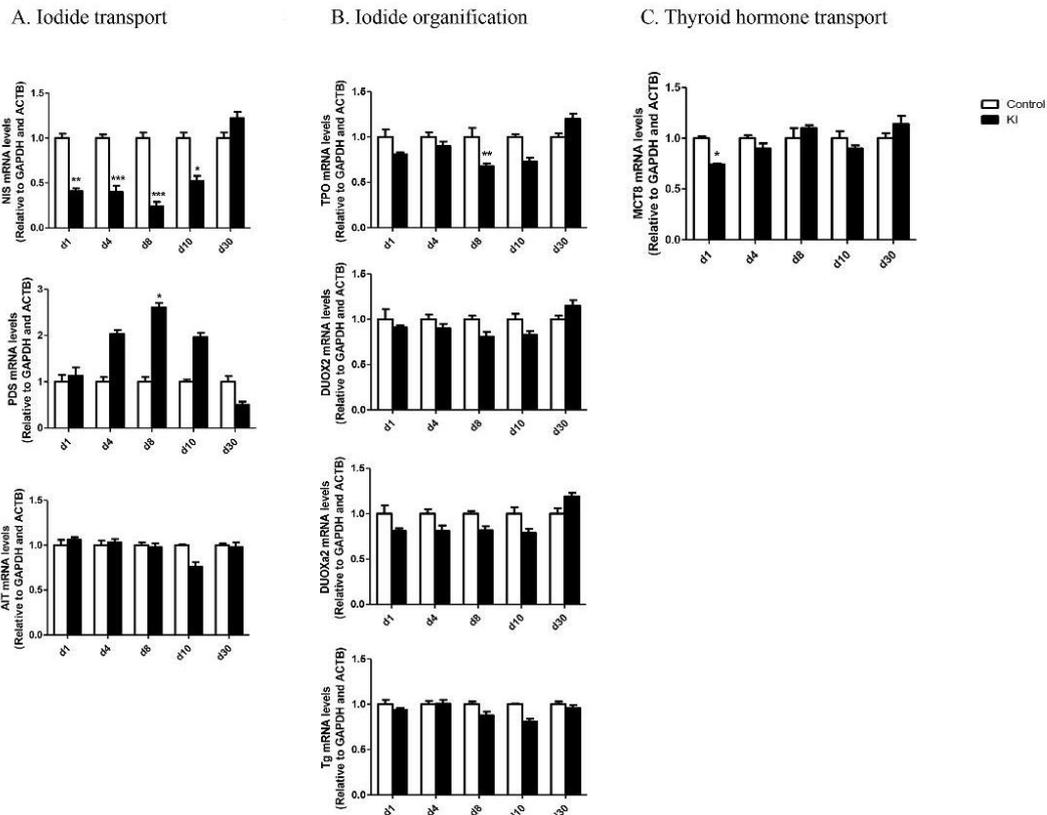


Fig. 4. mRNA expression levels of gene involved (A) in iodide transport (NIS: sodium/iodide symporter, PDS: pendrin and AIT: apical iodide transporter), (B) iodide organization (TPO: thyroid peroxidase, Tg: thyroglobulin, DUOX2: dual oxidase 2, DUOX2: Dual Oxidase Maturation Factor 2), (C) thyroid hormones transport (MCT8: monocarboxylate transporter 8). Measured by real-time PCR in the thyroid of controls (saline solution) and KI-treated rats at 1 mg/kg for 1, 4 or 8 days in the adult model. The results are expressed as a ratio to GAPDH and B-actin mRNA level. Data are expressed as Mean \pm SEM. *, p < 0.05, **, p < 0.01, ***, p < 0.001 significantly different from model-matched control rats.

(Eng et al., 1999; Maia et al., 2011). The down-regulation of thyroxine led to the up-regulation of TSH, itself affecting thyroid genes expression (Zaballos et al., 2008). These effects could be most pronounced in case of repeated iodide intake.

Urinary iodine concentration was used as a biomarker for iodine status, since it reflects very recent iodine intake in epidemiological studies (Zhang et al., 2016). Compared to control groups, KI groups showed a significant increase in terms of urinary iodine level and this was maintained throughout the treatment duration. When evaluated 48 h or 30 days after the end of the treatment, UIC returns to the basal level. This measurement is of major importance to confirm the adequate ingestion of KI by rats.

Despite the prolonged exposure to iodide over 8 days, rats were in good general status: their final body and thyroid weight did not differ from those of untreated rats for all time points. Yoshida et al., 2014 showed that male *Wistar* rats subjected to more than 3 mg/day of KI over 4 weeks didn't show body and thyroid weight variation (Yoshida et al., 2014). Zhang et al., 2016 demonstrated that prolonged KI intake in male *Wistar* rats has no effect on overall weight (Zhang et al., 2016). By contrast others studies,

demonstrated that females BALB/c and SJL/J mice exposed to chronic iodide administration showed a significant increase of thyroid organ coefficient (Chen et al., 2015) and developed goiter and hypothyroidism (Li and Carayanniotis, 2007). These differences could be explained by the species and the sex difference, also mice were exposed to different iodide doses for a relatively long period of time.

The macroscopic evaluation was confirmed by the levels of routine biochemical parameters: plasma concentration of ALAT and ASAT was similar between treated and control rats; this result is in accordance with the result published by Yoshida et al. (2014). Which indicates that hepatic integrity was not affected by the repeated administration of KI 1 mg/kg/24h, especially that the liver plays an important part in thyroid hormones metabolism (van der Spek et al., 2017). Urea, protein, creatinine and uric acid were unchanged in the treated groups. These parameters are important biomarkers of renal function which account for about two third of iodide clearance from the plasma and more than 90% of iodide excretion from the body (Cavalieri, 1997; Ristic-Medic and Gliabetic, 2016).

The negative effect of iodine on serum TH level has been discussed in many studies in human and mice (Vagenakis et al., 1973; Markou et al., 2001; Miyai et al., 2008). In our study, we demonstrated that plasma levels of thyrotropine, free thyroxine and free triiodothyronine were not significantly different between treated and control groups at all-time points. This result is in accordance with other studies that did not report an impact of iodide on the pituitary-thyroid axis activity in rats (Serrano-Nascimento et al., 2010; Solis et al., 2011; Calil-Silveira et al., 2012; Arriagada et al., 2015). By contrast, other experiments showed that an acute or a chronic intake of iodide has an impact on thyroid hormones and TSH level in rat (Eng et al., 1999; de Souza et al., 2015; Calil-Silveira et al., 2016b). These differences may be due to the differences between studies regarding iodide concentration, the route of administration as well as the duration of treatment.

Since thyroid organ coefficient, biochemical and hormonal status, were unaffected by the repeated administration of KI 1 mg/kg/24h over 8 days, we suggest that this dose is well tolerated by adult *Wistar* rats. Based on these data, we approved the safety of repeated administration of KI at 1 mg/kg/24h in adult rats.

The fact that general health, biochemical and hormonal status remained unchanged did not ensure that repeated iodide administration did not have an impact on thyroid function at the molecular level. It is well known that the Wolff-Chaikoff effect and its escape occur during the exposure of the normal thyroid to high level of plasma iodide (Eng et al., 1999). Most studies focused on the impact of iodide on NIS expression. Herein a large panel of target genes involved in iodide transport (NIS, PDS, and AIT), iodide organification (TPO, Tg, DUOX2 and DUOXa2) and thyroid hormones transport (MCT8) was assessed.

Repeated iodide administration lead to a down-regulation of NIS mRNA expression at all-time points, which is in agreement with other studies; a significant decrease of NIS mRNA expression due to sodium or potassium iodide administration was described (Eng et al., 1999; Anguiano et al., 2007). Serrano-Nascimento et al. (2010) showed an acute reduction of NIS mRNA content since 30 min to 24 h after administration; they suggested the involvement of post-transcriptional mechanisms. Another team demonstrated a decrease of NIS mRNA expression after one day and seven days of KI (0.05%) administration (Solis et al., 2011). Also Chen et al. (2015) noted a decrease of NIS mRNA expression after seven months of KIO₃ administration in BALB/c mice. It was also suggested that excess iodide down-regulates NIS expression by transcriptional mechanisms through the activation of PI3K/AKT pathway (Serrano-Nascimento et al., 2016).

In conjunction with the inhibition of iodide entrance in thyrocyte, the expression of MCT8 mRNA, the main TH transporter expressed in rats was acutely decreased one day after administration of KI. Our results are in agreement with the study published by de Souza et al. (2015); they reported an impact of NaI (0.05%) on MCT8 mRNA expression and a major effect on MCT8 protein. They suggested that iodide could stimulate MCT8 lysosomal degradation. We propose that this prompt effect of KI on iodide entrance and TH transport after 24 h of administration prevents the occurrence of hyperthyroidism.

Although repeated iodide administration did not affect AIT mRNA level, PDS mRNA expression was increased after 8 days of iodide administration. This probably plays an important role in reduction of intracellular iodine content and prevents deleterious effects on thyroid cells. Calil-Silveira et al. (2012) observed an acute increase of PDS mRNA expression since 30 min that was maintained until 48 h, the same team demonstrates an increase of PDS mRNA expression in male *Wistar* rats after 60 days of NaI (0.005% and 0.05%) administration (Calil-Silveira et al., 2016b). By contrast,

Anguiano et al. (2007) demonstrated a decrease of PDS mRNA expression after one day and six days of iodide administration. Chen et al. (2015) also demonstrated a decrease of PDS mRNA expression after seven months of iodide administration in BALB/c mice (Chen et al., 2015). The mechanisms that underlie the impact of iodide on PDS expression are not well elucidated, it has been demonstrated that PDS activity is increased through cAMP/PKA pathway in kidney (Azroyan et al., 2012), also in PCCL-3 rat thyroid cells TSH increases Pendrin abundance through PKA-dependent pathway (Pesce et al., 2012). Calil-Silveira et al., (2016b) found that iodide excess led to an increase of level of TSH and pendrine mRNA expression, on the other hand it decreased the TSH receptor mRNA and protein levels, so they suggested that increased pendrine mRNA expression is mainly mediated by iodine per se. Another possible explanation is that NIS inhibition over 8 days could lead to a slight deplete of thyroidal iodide store (McLanahan et al., 2009), which could stimulate the expression of PDS that mediates the efflux of iodide to the colloid.

TPO plays a major role in iodide organification, and in the formation of T3 and T4 (Ruf and Carayon, 2006). In our experiment TPO mRNA expression was decreased only after 8 days of KI administration, Eng et al. (1999) demonstrated a decrease of TPO mRNA expression after one day of iodide intake, the delayed effect of iodide on TPO mRNA expression in our case can be related to the stimulation of PDS mRNA expression only after 8 days. The well elucidate mechanism underlying the down-regulation of TPO mRNA expression is the production of an iodo-lipid element 2-IHDA (Ohayon et al., 1994). This down-regulation may also be interpreted as protection against iodide efflux by PDS.

These stimulatory and inhibitory effects on PDS and TPO respectively, were transient, and help to maintain the homeostasis of thyroid function as demonstrated by the level of thyroid hormones, which was unchanged, and perhaps prevents the occurrence of hypothyroidism. The expression of DUOX2, DUOXa2 and Tg was unaffected by repeated iodide administration. Mori et al. (1998) reported a slight decrease of Tg mRNA expression after one month and two months of iodide administration in BB/Wor rats.

Based on these data, a tight Wolff-Chaikoff effect was noticed at the genic level. This effect was produced in two steps: Firstly we observed an early Wolff-Chaikoff effect marked by an acute down-regulation of NIS and MCT8, and then a late Wolff-Chaikoff effect was observed especially marked by a down-regulation of TPO and up-regulation of PDS.

One month after the treatment withdrawal, the expression of genes involved in TH synthesis returned to normal (Fig. 5).

To conclude, we have shown that potassium iodide administered to adult rats at 1 mg/kg/24h over a period of 8 days did not modify general health parameters, hormonal status and biochemical homeostasis. We observed a sequential genic variation associated to the Wolff-Chaikoff effect, without any endocrinological perturbations. These prominent data gives the base evidence of the safety of repeated iodide prophylaxis in adult rat model. This is of great interest in the field of radiation protection especially in case of prolonged exposure to radioiodine. These results may contribute as input data for new studies on other species, in order to evolve the current guidelines as well as the marketing authorization of potassium iodide.

Conflicts of interest

The authors do not report conflict of interests regarding the publication of this paper.

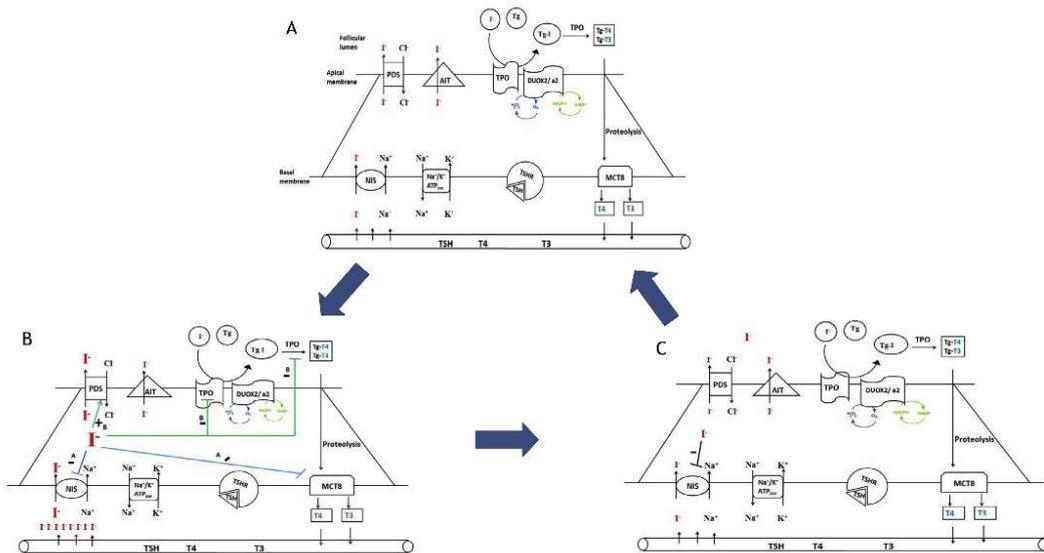


Fig. 5. Hypothetical sequence of Wolff-Chaikoff effect in response to repeated potassium iodide administration, A: thyrocyte in basal state, B: a sequential Wolff-Chaikoff effect following 24h to 8 days KI intake, in blue a prompt Wolff-Chaikoff effect and in green a late Wolff-Chaikoff effect, C: escape from Wolff-Chaikoff effect 48 h after the end of the treatment. 30 days after the end of treatment thyrocyte return to basal state.

Acknowledgments

This study was part of the PRIODAC research program supported by ANR-RSNR. The authors thank F. VOYER, A. SACHE and R. GRANGER for animal's care; and D COHEN for grammatical correction.

References

Anguiano, B., García-Solis, P., et al., 2007. Uptake and gene expression with antitumoral doses of iodine in thyroid and mammary gland: evidence that chronic administration has no harmful effects. *Thyroid* 17 (9), 851–859.

Arriagada, A.A., Albornoz, E., et al., 2015. Excess iodine induces an acute inhibition of the sodium/iodide symporter in thyroid male rat cells by increasing reactive oxygen species. *Endocrinology* 156 (4), 1540–1551.

Azroyan, A., Morla, L., et al., 2012. Regulation of pendrin by cAMP: possible involvement in beta-adrenergic-dependent NaCl retention. *Am. J. Physiol. Ren. Physiol.* 302 (9), 18.

Calil-Silveira, J., Serrano-Nascimento, C., et al., 2016a. Iodide excess regulates its own efflux: a possible involvement of pendrin. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* 20 (00210).

Calil-Silveira, J., Serrano-Nascimento, C., et al., 2012. Iodide treatment acutely increases pendrin (SLC26A4) mRNA expression in the rat thyroid and the PCC13 thyroid cell line by transcriptional mechanisms. *Mol. Cell. Endocrinol.* 350 (1), 118–124.

Calil Silveira, J., Serrano do Nascimento, C., et al., 2016b. Underlying mechanisms of pituitary-thyroid axis function disruption by chronic iodine excess in rats. *Thyroid* 26, 26.

Cardis, E., Kesminiene, A., et al., 2005. Risk of thyroid cancer after exposure to 131I in childhood. *J. Natl. Cancer Inst.* 97 (10), 724–732.

Cavalieri, R.R., 1997. Iodine metabolism and thyroid physiology: current concepts. *Thyroid* 7 (2), 177–181.

Chen, X.Y., Lin, C.H., et al., 2015. The effect on sodium/iodide symporter and pendrin in thyroid colloid retention developed by excess iodide intake. *Biol. Trace Elem. Res.* 11, 11.

de Souza, E.C., Dias, G.R., et al., 2015. MCT8 is downregulated by short time iodine overload in the thyroid gland of rats. *Horm. Metab. Res.* 47 (12), 910–915.

Dreger, S., Pfänder, M., et al., 2015. The effects of iodine blocking following nuclear accidents on thyroid cancer, hypothyroidism, and benign thyroid nodules: design of a systematic review. *Syst. Rev.* 4 (126), 015–0106.

Eng, P.H., Cardona, G.R., et al., 1999. Escape from the acute Wolff-Chaikoff effect is associated with a decrease in thyroid sodium/iodide symporter messenger ribonucleic acid and protein. *Endocrinology* 140 (8), 3404–3410.

Ishido, Y., Luo, Y., et al., 2015. Follicular thyroglobulin enhances gene expression necessary for thyroid hormone secretion. *Endocr. J.* 62 (11), 1007–1015.

Jargin, S.V., 2011. Validity of thyroid cancer incidence data following the Chernobyl accident. *Health Phys.* 101 (6), 754–757.

Li, H.S., Carayanniotis, G., 2007. Induction of goitrous hypothyroidism by dietary iodide in SJL mice. *Endocrinology* 148 (6), 2747–2752.

Maia, A.L., Goemann, L.M., et al., 2011. Deiodinases: the balance of thyroid hormone: type 1 iodothyronine deiodinase in human physiology and diseases. *J. Endocrinol.* 209 (3), 283–297.

Manens, L., Grison, S., et al., 2016. Chronic exposure of adult, postnatal and in utero rat models to low-dose 137Cesium: impact on circulating biomarkers. *J. Radiat. Res.* 57 (6), 607–619.

Markou, K., Georgopoulos, N., et al., 2001. Iodine-induced hypothyroidism. *Thyroid* 11 (5), 501–510.

McLanahan, E.D., Andersen, M.E., et al., 2009. Competitive inhibition of thyroidal uptake of dietary iodide by perchlorate does not describe perturbations in rat serum total T(4) and TSH. *Environ. Health Perspect.* 117 (5), 731–738.

Miyai, K., Tokushige, T., et al., 2008. Suppression of thyroid function during ingestion of seaweed Kombu (*Laminaria japonica*) in normal Japanese adults. *Endocr. J.* 55 (6), 1103–1108.

Mori, K., Mori, M., Stone, S., Braverman, L.E., DeVito, W.J., 1998. Increased expression of tumor necrosis factor-alpha and decreased expression of thyroglobulin and thyroid peroxidase mRNA levels in the thyroids of iodide-treated BB/Wor rats. *Eur. J. Endocrinol.* 139, 539–545.

Nauman, J., Wolff, J., 1993. Iodide prophylaxis in Poland after the Chernobyl reactor accident: benefits and risks. *Am. J. Med.* 94 (5), 524–532.

Ohayon, R., Boeynaems, J.M., et al., 1994. Inhibition of thyroid NADPH-oxidase by 2-iodohexadecanal in a cell-free system. *Mol. Cell. Endocrinol.* 99 (1), 133–141.

Pesce, L., Bizhanova, A., et al., 2012. TSH regulates pendrin membrane abundance and enhances iodide efflux in thyroid cells. *Endocrinology* 153 (1), 512–521.

Phan, G., Rebierre, F., et al., 2017. Optimal KI prophylactic dose determination for thyroid radiation protection after a single administration in adult rats. *Dose Response* 15 (4), Oct-Dec.

Reiners, C., Biko, J., et al., 2013. Twenty-five years after Chernobyl: outcome of radioiodine treatment in children and adolescents with very high-risk radiation-induced differentiated thyroid carcinoma. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 98 (7), 3039–3048.

Reiners, C., Schneider, R., 2013. Potassium iodide (KI) to block the thyroid from exposure to I-131: current questions and answers to be discussed. *Radiat.*

- Environ. Biophys. 52 (2), 189–193.
- Ristic-Medic, D., Glibetic, M., 2016. Iodine: Physiology. Encyclopedia of Food and Health. Academic Press, Oxford, pp. 444–451.
- Ruf, J., Carayon, P., 2006. Structural and functional aspects of thyroid peroxidase. Arch. Biochem. Biophys. 445 (2), 269–277.
- Serrano-Nascimento, C., Galil-Silveira, J., et al., 2010. Posttranscriptional regulation of sodium-iodide symporter mRNA expression in the rat thyroid gland by acute iodide administration. Am. J. Physiol. Cell Physiol. 298 (4), 27.
- Serrano-Nascimento, C., Nicola, J.P., et al., 2016. Excess iodide downregulates Na⁺/I⁻ symporter gene transcription through activation of PI3K/Akt pathway. Mol. Cell. Endocrinol. 426, 73–90.
- Solis, S.J., Villalobos, P., et al., 2011. Inhibition of intrathyroidal dehalogenation by iodide. J. Endocrinol. 208 (1), 89–96.
- Sternthal, E., Lipworth, L., et al., 1980. Suppression of thyroid radioiodine uptake by various doses of stable iodide. N. Engl. J. Med. 303 (19), 1083–1088.
- Tsuda, T., Tokinobu, A., et al., 2016. Thyroid cancer detection by ultrasound among residents ages 18 Years and younger in Fukushima, Japan: 2011 to 2014. Epidemiology 27 (3), 316–322.
- Vagenakis, A.G., Downs, P., et al., 1973. Control of thyroid hormone secretion in normal subjects receiving iodides. J. Clin. Invest. 52 (2), 528–532.
- van der Spek, A.H., Fliers, E., et al., 2017. The classic pathways of thyroid hormone metabolism. Mol. Cell. Endocrinol. 18 (17), 30029–30021.
- WHO, 1999. Guidelines for iodine prophylaxis following Nuclear Accident. World Health Organization, Geneva.
- Wolff, J., Chaikoff, I.L., 1948. Plasma inorganic iodide as a homeostatic regulator of thyroid function. J. Biol. Chem. 174 (2), 555–564.
- Yoshida, M., Mukama, A., et al., 2014. Serum and tissue iodine concentrations in rats fed diets supplemented with kombu powder or potassium iodide. J. Nutr. Sci. Vitaminol. 60 (6), 447–449.
- Zaballos, M.A., Garcia, B., et al., 2008. Gbetagamma dimers released in response to thyrotropin activate phosphoinositide 3-kinase and regulate gene expression in thyroid cells. Mol. Endocrinol. 22 (5), 1183–1199.
- Zanzonico, P.B., Becker, D.V., 2000. Effects of time of administration and dietary iodine levels on potassium iodide (KI) blockade of thyroid irradiation by ¹³¹I from radioactive fallout. Health Phys. 78 (6), 660–667.
- Zhang, X., Jiang, Y., et al., 2016. Effect of prolonged iodine overdose on type 2 iodothyronine deiodinase ubiquitination-related enzymes in the rat pituitary. Biol. Trace Elem. Res. 174 (2), 377–386.

1.3 Article 2: Toxicology of Repeated Iodine Thyroid Blocking in Adult Rat

ISSN: 2573-962X

Research Article

Journal of Pharmaceutical Research

Toxicology of Repeated Iodine Thyroid Blocking in Adult Rat

Dalila LEBSIR¹, David COHEN¹, Line MANENS¹, Stephane GRISON¹, Karine TACK¹, Marc BENDERITTER², Annick PECH³, Philippe LESTAEVEL¹ and Maâmar SOUIDI^{1*}¹Institut de Radioprotection et de Sécurité Nucléaire (IRSN), PSE-SANTE, SESANE, 92262 Fontenay-aux-Roses, France²Institut de Radioprotection et de Sécurité Nucléaire (IRSN), PSE-SANTE, SERAMED, 92262 Fontenay-aux-Roses, France³Pharmacie centrale des armées, Direction des Approvisionnement en produits de Santé des Armées / 45000Orléans, France

*Corresponding author

Maâmar SOUIDI, Institut de Radioprotection et de Sécurité Nucléaire (IRSN), PSE-SANTE, SESANE, 92262 Fontenay-aux-Roses, France; Tel: +33 (0)158359194; Fax: +33 (0)158358467; E-mail: maamar.souidi@irsn.fr

Submitted: 28 Mar 2018; Accepted: 21 Apr 2018; Published: 30 Apr 2018

Abstract

Radioactive iodines emitted following nuclear accidents are responsible for the dramatic increase of the late-onset thyroid cancer. Until the Fukushima disaster, a single dose of potassium iodide (KI) has been considered as an efficient countermeasure. Indeed, recently it has been suggested that repeated administration of KI may be necessary to ensure adequate protection in case of protracted exposure. Whereas, the effect of a single dose of KI has largely been studied ensuring its safety, studies regarding adverse effects of repeated iodine thyroid blocking (ITB) administration are scarce. Our objective was to assess the long term overall impact of KI in adult rats after repeated intake. Adult Wistar rats were subjected to either KI or saline solution over eight days. Biochemical homeostasis, hormones level, autoimmunity status, thyroid morphology and thyroid transcriptome profile were analyzed thirty days after the discontinuation of KI administration. Biochemical parameters, plasma levels of TSH; thyroid hormones; anti-TPO and anti-Tg did not differ between treated and control rats, the thyroid histology was not affected by the treatment and no long term transcriptome signature attributable to the treatment was noticed. Based on these data, we conclude the safety of repeated KI intake in adult rats; these data are prominent and may contribute to the ongoing development of KI guidelines and marketing authorization.

Keywords: Potassium iodide, Nuclear accident, Thyroid gland, Repeated ITB.

Introduction

Exposure to external radiation is associated with harmful effects to the thyroid, such as hypothyroidism, thyroid autoimmunity, thyroid nodules and thyroid cancer [1, 2]. The carcinogenic effect of exposure to ¹³¹I was considered to be small compared with that of external photon exposure, until the Chernobyl accident which involved the release of about 1.760 PBq of ¹³¹I into the environment [3, 4]. Before the accident, incidence rates of thyroid cancer was less than 1 case per million per year, in the period from 1991 through 1994 this rate increased to more than 90 per million per year in Gomel the most contaminated region of Belarus particularly among young population [5]. Concerns regarding carcinogenic consequences of exposure to ¹³¹I arose after the damage to the Fukushima plant, between 2011 and 2014, a survey using ultrasound screening was done among individuals who were under 19 years of age at the time of accident, further long-term follow-up seems necessary to conclude [6-10].

In the event of a nuclear reactor accident and when radioactive material is released into the atmosphere, ¹³¹I will be concentrated in the thyroid gland by 10 to 30% through inhalation or ingestion of contaminated food and milk [11-13]. As a part of ¹³¹I decay process, β - radiation is emitted and affects the thyroid and its

surrounding tissue, and may lead to adverse health outcomes such as thyroid dysfunctions and thyroid cancer [12]. The administration of potassium iodide (KI) is a practical and effective countermeasure to protect the thyroid by preventing the uptake of radioactive isotopes of iodine and thereby reducing the subsequent risk of thyroid cancer [14]. In a clinical trial, KI given prior to exposure reduced the accumulation of ¹³¹I in the thyroid gland from an average of 20% to less than 2% [15]. During the Chernobyl reactor accident, the Polish government distributed KI to 95% of Polish children and 23% of the total population. It was estimated that the amount of exposure of the thyroid of individuals who were given KI to ¹³¹I was reduced by nearly 40% [12, 14].

There is limited evidence of adverse effects of KI administration from experiences in other contexts. For example, doses between 100 and 200 μ g KI/d (rarely up to 500 μ g KI/d) are used for treatment of endemic goiter; this treatment is usually continued for years and has occasionally been linked to hyperthyroidism. Nutritional iodine supply is being discussed as playing an important role in changes of thyroid function after administration of additional iodine, e.g. by introducing goiter prophylaxis programs with iodized salt. Here, thyroid autoimmunity and subsequent hypothyroidism are expected as adverse effects. Furthermore, it is suggested that additional iodine in case of iodine deficiency increases the risk for hyperthyroidism, whereas an excess of iodine in case of sufficient iodine supply

increases the risk of autoimmunity and hypothyroidism [16, 17].

Wolff and Chaikoff demonstrated in 1948 that an excess of iodide in rats may transiently disrupt thyroid function, the well-known Wolff-Chaikoff effect is characterized by a decrease in and delayed iodide organification [18]. This affects many steps of thyroid hormone synthesis and secretion: such iodide entrance and organification, iodide efflux through the colloid, intra-thyroidal iodide pool regeneration, and thyroid hormones transport [19-22]. This effect could lead to a temporary variation in thyroid hormones level, which exerts a major impact on development, growth, and metabolism [19, 22]. Normally after a few days, thyroid hormone levels return to normal the so-called escape phenomenon. Both the Wolff- Chaikoff effect and its escape are necessary to keep thyroid hormone synthesis under tight control [19].

The accident of Fukushima, where several releases of radioactivity have occurred over many days, highlighted the limits of the current KI policy which recommends a unique intake of KI tablets; it cannot protect in a satisfactory way the populations repeatedly exposed to radioactive iodine over many days [11, 23]. Repeated administration of KI may be required to ensure adequate protection. Nowadays, the health authorities are unable to face such situations; scientifically sound studies regarding the effects of repeated administration of KI are scarce and consequently the evidence for the application of repeated prophylaxis is weak [15, 24, 25].

The guidelines for the use in planning for and responding to radiological and nuclear emergencies by WHO 2017, identify as one of the four research priorities that need “More data on the dosage, optimal timing and regimens for multiple administrations of stable iodine in case of repeated or protracted releases of radioactive iodine and the adverse health effects of stable iodine administration”. In the hope to find an answer to these queries, our work aims to assess the effects of repeated administration of an optimal dose of KI in an experimental model “adult rat”, different parameters : general health status, endocrinology parameters, structure and molecular pathways, were assessed in the long term one month after the treatment discontinuation.

Materials and Methods

Animals and KI administration

Potassium iodide and saline solutions were kindly provided by the central pharmacy of armed forces (Orleans, France).

The study included 3-months old male *Wistar* rats (Charles River Laboratories, L’arbresle, France) divided into KI-exposed and control groups, the treatment was carried out by gastric gavage over 8 days. Each group consisted of 13 animals (Figure 1).

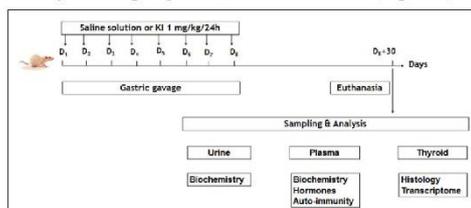


Figure1 : prophylactic design, rats (n = 13) were subjected to saline solution or KI over 8 days, then euthanized thirty days later.

The animals were housed and maintained under controlled conditions of temperature (21 ± 2°C), humidity (50 ± 10%) and regular dark/light cycle (12h / 12h). Normal-iodized pellet diet 0.3 mg I / kg of pellet (A04-10 SAFE, Augy, France) and tap water were freely accessible, and their weight and their intakes were monitored on a weekly basis. Thirty days after the treatment discontinuation, rats were placed in metabolic cages for 24h, with free access to diet and water. Urine was collected and centrifuged (3000 rpm / 10 min); supernatant was frozen at - 80°C. Blood was collected by intracardiac puncture under isoflurane anesthesia (Abbot France, Rungis, France) and then centrifuged (3,000 rpm / 10 min); the plasma supernatant was immediately frozen at - 80°C. Thyroid was dissected on ice, instantly deep-frozen in liquid nitrogen and then stored at - 80°C.

All experimental procedures were approved by the Animal Care Committee of the Institute (IRSN) and complied with French regulations for animal experimentation (Ministry of Agriculture Act No. 87-848, October 19, 1987, modified May 29, 2001).

Biochemical parameters assessment

Most biochemical indicators were measured in plasma and urine samples with an automated spectrophotometric system (Konclab 20i from Thermo Fisher Scientific, Cergy-Pontoise, France), with the manufacturer’s biological chemistry reagent (Brahms, Asnières sur Seine, France). The plasma biomarkers measured were lipids (cholesterol, triglycerides, and phospholipids B), substrates (total protein), electrolytes (calcium, phosphorus, iron, chlorine, potassium and sodium), cardiac markers (creatine kinase (CK) and its isoform CK-MB), liver markers (alanine aminotransferase (ALAT), aspartate aminotransferase (ASAT)), and kidney markers (creatinine and urea). In the urine sample, we measured kidney markers (creatinine, urea and uric acid), substrates (urinary proteins) and electrolytes (calcium, phosphorus, chlorine, potassium and sodium). Phospholipid B (Diagnostic partners, Bormes Les Mimosas, France) indicators was adapted on the spectrophotometric system.

Thyroid markers assessment

Plasma thyroid-stimulating hormone (TSH) was determined with the TSH rat ELISA kit from MP Biomedicals (Illkirch-Graffenstaden, France). Plasma free triiodothyronine (FT3) and free thyroxine (FT4) levels were determined by immunoassay on an IMMULITE® 2000 system from Siemens (Saint-Denis, France). Plasma anti-thyroid antibodies were determined with anti-thyroid peroxidase antibody (Anti TPO) bioassayTM ELISA kit (Rat) and anti-thyroglobulin antibody (ATGA/ TGAB) bioassayTM ELISA kit (Rat), from USBiological life science (Swampscott, Massachusetts, USA). The analytical sensitivities of TSH, FT4, FT3, Anti-TPO and Anti-Tg are 0.1ng/mL, 2.83 pmol/L, 1.5 pmol/L, 1 ng/mL and 1 ng/mL respectively.

Thyroid histology and immunohistochemistry

Histological and immunohistochemistry analysis were done by an independent laboratory (Biodoxis, Romainville, France). Thyroid glands were excised and incubated in 4 % formaldehyde solution (VWR Chemicals, Fontenay-sous-Bois, France); each individually fixed sample was then intersected and placed in a histological cassette, embedded in paraffin and cut into sections of 3 µm thick, then stained with hematoxylin and eosin.

Ki67, NIS and TPO detection was performed by immunohistochemistry on all the samples. Paraffin sections were first deparaffinized and

antigen retrieval was carried out with the Dako Target Retrieval Solution in a water bath. Then, immunohistochemical staining procedure was performed. After blocking endogenous peroxidase activity (Dako EnVision[®]+ System-HRP (DAB), Peroxydase Block), the slides were incubated with diluted primary antibody for 1 hour at room temperature. The tissue sections were then washed and incubated with appropriate secondary antibodies for 30 minutes. Immunoreactive signals were detected using DAB substrate solution (Dako EnVision[®]+ System-HRP (DAB), DAB+ Substrate buffer / Liquid DAB+ chromogen, 5 minutes incubation). Finally, the sections were lightly counterstained with Mayer's hematoxylin. Negative controls were obtained by substitution of the primary antibodies with isotype control immunoglobulin or with antibody diluent alone (negative buffer control) in the immunohistochemical staining procedure.

The approach used for the histomorphometric analysis was adapted from that used by Kot et al. 2013; the first step consisted in selecting stereologically fifty follicles for morphometric analysis. An image of each stereologically selected follicle was then analyzed using image Pro-Premier software (version 9.1) from Media Cybernetics (Rockland, MD, USA). For each follicle, the total area of the follicle (FOLL_t), the area of the colloid (Colloid Area), and the respective area of each nucleus were measured. Then, the combined total area of the cytoplasm and nuclei (A_n), the total cytoplasmic area (A_c), the ratio of the nuclei area to the cytoplasmic area (N / C ratio), the mean nuclear area, as well as the ratio of Colloid area to total follicular area (C / F ratio) were calculated [26].

The nuclei of the follicular epithelium were individually segmented and classified into positive or negative nuclei for the Ki67 cell proliferation marker. This classification was performed by a threshold for the positive or negative nuclei combined with a set of filters based on the morphology and size of the segmented objects. Images from the scans of the thyroid section were analyzed with the Image Pro-Premier software.

Histomorphometric analysis of TPO and NIS abundance was performed using the Image Pro Premier software. Images were analyzed for each thyroid. The optical density has also been measured.

Thyroid transcriptome profile

The DNA micro array was performed by an independent laboratory (CRIBIOM, Marseille, France), the samples were divided into two populations according to the experimental treatment applied to the rats, and labeled with either Cyanine 3 or Cyanine 5. Cyanine incorporation was assessed by Nanodrop. The labeled samples were hybridized at 65 ° C, 10 rpm over 17 h, on 3 slides Agilent SurePrint G3 catalog according the supplier's recommendations (Two-Color Microarray protocol-Based Gene Expression Analysis, Low Input Quick Amp Labeling version 6.9.1). The slides were scanned using DNA Microarray Scanner SureSelect (Agilent). The fluorescence data was measured from the images using the software Feature Extraction version 10.7.3.1 (Agilent) and the Quality Control was performed using the GeneSpring software version 12.5 (Agilent). Statistical analysis was performed using R version 3.3.2 in combination with R-studio version 1.0.136. The R-package Limma was used to normalize and to analyze the microarrays [27]. An in-house script was used to run the same normalization method, filtering, and t-tests for all micro arrays after three microarrays have been excluded due to technical problems. Genes were considered differently expressed if the adjusted p-value was below 0.05. A heat map was constructed with all probes obtained from the statistical results and using the R-package gplots.

Statistics

Significance was assessed using Student's t-test or Mann-Whitney Rank Sum Test when Student's test failed, determined by GraphPad Prism (GraphPad Software). Differences were considered significant when p < 0.05. Results are expressed as means ± SEM.

Results

General and biochemical parameters

Table 1 shows that the treated rats were in a good general status: their final body weight as well as thyroid weight was not different than the control group. The plasma lipids profile (including levels of total cholesterol, triglycerides, and phospholipids) was statistically similar in both groups. This was also the case for the plasmatic markers of liver integrity (ALT and AST), kidney integrity (Creatinine and urea) and heart integrity (CK and CK-MB). After 30 days of KI discontinuation, the levels of the investigated biomarkers of homeostasis in the urine of rats subjected to KI did not differ from those of controls.

Table 1: General and biochemical parameters 30 days post-prophylaxis

Function		Control	KI 1mg/kg
General indicators	Final body weight (g)	391 ± 2.08	392 ± 2.08
	TW/BW Ratio	0.08 ± 0.006	0.06 ± 0.005
Plasma biomarkers			
1. Miscellaneous	Cholesterol (mmol/L)	1.73 ± 0.07	1.65 ± 0.09
	Phospholipids B (g/L)	1.21 ± 0.04	1.19 ± 0.04
	Triglycerides (mmol/L)	1.39 ± 0.18	1.17 ± 0.16
	Total proteins (g/L)	57.25 ± 1.67	56.10 ± 2.09
2. Electrolytes	Calcium (mmol/L)	2.80 ± 0.01	2.79 ± 0.01
	Phosphorus (mmol/L)	2.09 ± 0.05	2.07 ± 0.04
	Iron (µmol/L)	43.01 ± 1.25	40.56 ± 1.17
	Chlorine (mmol/L)	101.48 ± 0.24	101.31 ± 0.28
	Potassium (mmol/L)	4.36 ± 0.08	4.34 ± 0.05
	Sodium (mmol/L)	136.70 ± 0.36	136.62 ± 0.41

3. Thyroid markers	TSH (ng/mL)	1.56 ± 0.17	1.48 ± 0.10
	Free T4 (pmol/L)	24.98 ± 0.61	25.29 ± 0.68
	Free T3 (pmol/L)	3.63 ± 0.12	3.80 ± 0.13
	Anti-TPO (ng/mL)	34.29 ± 4.30	32.65 ± 5.00
	Anti-Tg (ng/mL)	369.31 ± 22.00	328.47 ± 18.00
4. Liver markers	ALAT (U/L)	30.63 ± 1.46	30.58 ± 1.35
	ASAT (U/L)	124.51 ± 12.69	112.18 ± 8.29
	ASAT/ALAT	4.02 ± 0.28	3.71 ± 0.25
5. Kidney markers	Creatinine (µM)	44.54 ± 3.93	44.99 ± 1.99
	Urea (mM)	5.46 ± 0.72	5.62 ± 0.83
6. Heart markers	CK (U/L)	579.46 ± 90.62	533.60 ± 57.54
	CK-MB (U/L)	741.88 ± 225.22	843.36 ± 198.07
Urine biomarkers			
1. Electrolytes	Chlorine (mmol/24h)	4.80 ± 0.5	4.80 ± 0.3
	Potassium (mmol/24h)	1.80 ± 0.08	1.70 ± 0.09
	Sodium (mmol/24h)	0.90 ± 0.08	0.90 ± 0.05
	Phosphorus (mmol/24h)	0.10 ± 0.02	0.10 ± 0.02
	Calcium (µmol/24h)	23.10 ± 3.50	19.70 ± 3.40
2. Miscellaneous	Urinary proteins (mg/24h)	11.99 ± 3.32	10.16 ± 2.26
	Uric acid (µM/24h)	17.05 ± 0.82	17.28 ± 1.08
	Urea (Mm/24h)	11.22 ± 0.55	10.40 ± 0.49
	Creatinine (µM/24h)	126.27 ± 8.76	129.94 ± 6.18

Data are expressed as mean ± SEM (n = 13 /group), ALAT: alanine aminotransferase, ASAT: aspartate aminotransferase, TW: thyroid weight, BW: body weight, TSH: thyroid stimulating hormone, T4: thyroxine, T3: triiodothyronine, Anti-TPO: thyroid peroxidase antibody, Anti-Tg: thyroglobulin antibody, CK: creatine kinase, CK: creatine kinase myocardial band.

Pituitary- thyroid axis

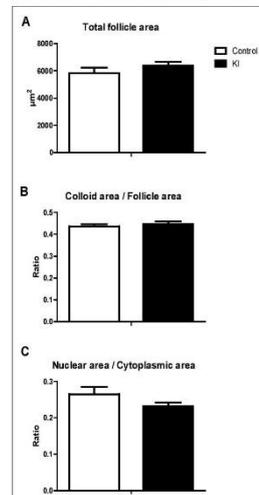
Table 1 shows that repeated potassium iodide administration resulted in non-long-term significant modification of TSH, free T4 and free T3 concentration compared to control rats. Also the treatment did not show a long-term effect on thyroid autoimmune status: the plasma level of anti-thyroid antibodies (Anti-TPO and Anti-Tg) did not differ between control and treated rats 30 days after the KI treatment discontinuation.

Histological and immunohistochemical characterization of thyroid tissue

Follicular histomorphometry

A total of nine histomorphometric parameters of the thyroid follicles were measured or calculated. First, the mean surface area of the fifty follicles measured individually is $6379.47 \pm 852.62 \mu\text{m}^2$ for the treated rats vs $5826.18 \pm 1325.06 \mu\text{m}^2$ for the untreated rats (Fig 2A). The mean area of the nuclei / follicle is $597.96 \pm 84.98 \mu\text{m}^2$ and $600.97 \pm 84.70 \mu\text{m}^2$ for treated and untreated rats, respectively. On the other hand, the mean cytoplasm / follicle area is $2700.85 \pm 486.59 \mu\text{m}^2$ and $2438.11 \pm 542.71 \mu\text{m}^2$ for treated and control groups, respectively. The ratio of nuclear area / cytoplasmic area (N / C ratio) was then calculated for each follicle analyzed, the average N / C ratio is also comparable between the two groups 0.232 ± 0.032 for treated rats vs 0.265 ± 0.059 for controls (Fig 2C). The average number of nuclei per follicle is 21.50 ± 2.34 for treated rats vs 21.42 ± 2.45 for controls. Regarding the average size of the follicular nuclei, treated rats have an average size of $28.05 \pm 3.18 \mu\text{m}^2$ whereas the average size in control group is $28.28 \pm 2.90 \mu\text{m}^2$ (Fig 2D, 2E). The average colloidal area of the individual follicles was also measured and the

ratio of the colloidal area to the total area (C / F ratio) was calculated for each follicle analyzed. The results of these two parameters show that the average colloid / follicle area is $3080.67 \pm 522.64 \mu\text{m}^2$ in treated animals vs $2787.11 \pm 789.48 \mu\text{m}^2$ in control animals. The calculated C / F ratios have an average of 0.448 ± 0.045 for treated rats vs 0.436 ± 0.030 for control rats (Fig 2B).



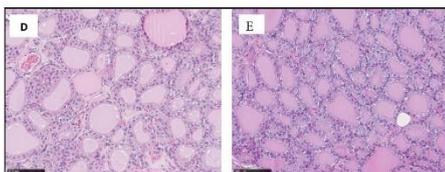


Figure 2 (A): The mean surface area of the fifty follicles, (B): The ratio of colloid /follicle area, (C): The ratio of nuclear/ cytoplasm area, (D) and (E): Histological sections of the thyroid illustrating follicles (H&E) in control and treated rats, respectively (scale bar 100 μ m).

Histomorphometry of follicular protein abundance of Thyroid peroxidase

The mean positive signal, as determined by the integrated optical density for TPO in immunohistochemistry is $64.12 \pm 8.52 \text{ lum} / \text{mm}^2$ in treated group vs $67.32 \pm 16.95 \text{ lum} / \text{mm}^2$ in untreated group (Fig 3B).

Histomorphometry of follicular protein abundance of sodium / iodide symporter

The mean integrated immunohistochemistry optical density for NIS is $40.78 \pm 16.74 \text{ lum} / \text{mm}^2$ in treated group vs $40.16 \pm 17.57 \text{ lum} / \text{mm}^2$ in untreated group (Fig 3B).

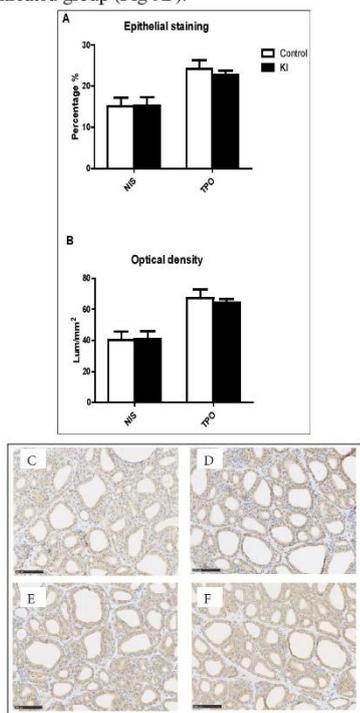


Figure 3:(A) The percentage of sodium iodide symporter (NIS) and thyroid peroxidase (TPO) positive cells, (B) The mean integrated

optical density of NIS and TPO in the thyroid of control and treated rats. Immunohistochemical expression of biochemical pathways of thyrocytes in thyroid tissue (scale bar 100 μ m): (C) and (D) Sodium/Iodide symporter (NIS) staining in control and treated rats respectively. (E) and (F) thyroid peroxidase cytoplasmic staining in control and treated rats, respectively.

Epithelial proliferation index

The proliferation rate is significantly not different for both groups: an average of $2.66 \pm 1.01\%$ and $2.70 \pm 0.81\%$ of Ki67 positive nuclei for treated and untreated rats, respectively (Fig 4).

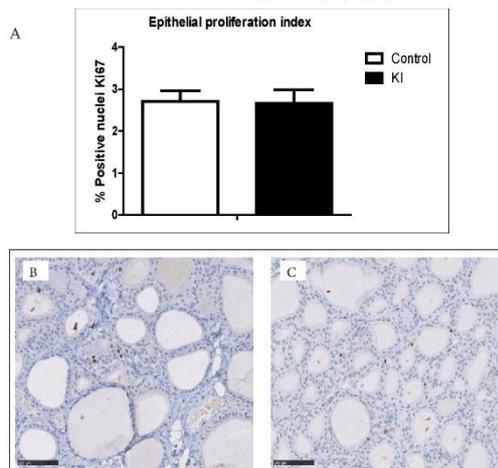


Figure 4: (A) The percentage of positive nuclei to Ki67. (B) and (C): Immunohistochemical expression of Ki67 positive nuclei in control and treated rats respectively (scale bar 100 μ m).

Thyroid Transcriptome signature

The statistical analysis showed no significant difference in gene expression between the control and the KI-administered group among 31951 transcripts assessed (Fig 5A). We choose several genes implicated in the thyroid hormone biosynthesis, oxidative stress, apoptosis and immune system and looked in more detail at their gene expression pattern (Fig 5B). The heat map showed that no clear distinguishable profile in gene expression can be observed between the two groups.

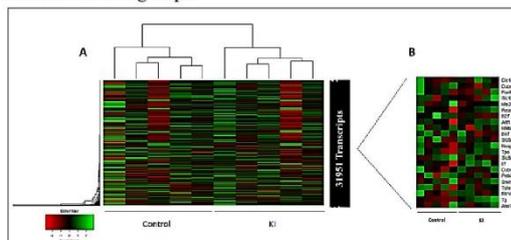


Figure 5: (A) Heat map analysis of the transcriptome (31951 transcripts) for treatment effect, (B) heat map analysis of selected transcripts involved in thyroid hormone metabolism (Dio1:

iodothyronine deiodinase 1, Duoxa2: dual oxidase maturation factor 2, Pax8: Paired-box gene 8, Slc16a2: monocarboxylate transporter 8 MCT8, Tshr: thyrotropin receptor, Tg: thyroglobulin, Ano1: anoctamine1, Slc5a8: apical iodide transporter, Slc5a5: sodium iodide symport (NIS), Tpo: thyroid peroxidase, Rela: p65, Akt1: protein kinase B, oxidative stress (Nfe2l2: nuclear factor (erythroid-derived 2)-like 2, Keap1: Kelch-like ECH-associated protein 1, Srxn1: Sulfiredoxin 1, Prdx3: Peroxiredoxin 3), apoptosis and inflammation (Ifitm1: Interferon Induced Transmembrane Protein 1, Ifi27: Interferon Alpha Inducible Protein 27, Nfkbia: Nuclear factor-kappa-B-inhibitor alpha, Il7: Interleukin-7, Ifi47: interferon gamma inducible protein 47). The genes were clustered using linkage hierarchical cluster with Euclidean distance, and the expression of each of the transcripts are shown with red for low, black for middle, and red for low expression.

Discussion

Thyroid cancer is considered as the most severe health consequence of a nuclear reactor emergency with release of radioiodine into the atmosphere [16]. Thyroid gland is mainly regulated by two systems: iodine and TSH [28]. The ability of the thyroid to concentrate iodine is essential for the synthesis of thyroid hormones (TH), a complex mechanism involving several genes (i.e. NIS, PDS, TPO, DUOX, Tg, MCT8...) [29, 30], circulating TH levels is tightly regulated under physiological circumstances and exert a major impact on the body homeostasis. Acute excess of iodine could lead to a transient down-regulation of thyroid hormones level, the so-called Wolff-Chaikoff effect, this down-regulation leads to the up-regulation of TSH, thereby affecting gene expression in the thyroid [19, 22, 31, 32].

During the Fukushima nuclear power plant emergency due to the earthquake, KI was not administered to the general population [33]. Repeated administration of potassium iodide could be used as an option in case of prolonged exposure to radioiodine, but there is real gap of knowledge concerning the repeated intake of stable iodide and the long-term sanitary consequences related to it. Nowadays, according to the WHO 2017 guidelines, the authorities recommend a single intake of potassium iodide.

In our study to mimic experimentally a such prophylaxis, we have chosen a dose of 1 mg/kg/day as it has been demonstrated to be an optimal dose [34]. The concentration of iodine in urine (UIC) was measured at the end of the treatment and thirty days after the end of the treatment to evaluate iodine status, we observed that after the end of the treatment UIC was significantly higher in the treated group, but thirty days after we didn't notice a significant difference between treated and control groups [35]. Thirty days post-prophylaxis, rats were in good general health status; their final body weight and thyroid weight didn't differ from those of no treated rats. Our results are in accordance with other preclinical studies where excess iodide for relatively long period of time didn't alter the overall body weight of *Wistar* rats [36-38]. Regarding the thyroid weight, our result is in accordance with other studies [36, 38]. In contrast to our results, Chen et al. 2015 has demonstrated that a higher iodine concentration is associated with a greater thyroid organ coefficient in female BALB/c mice [39]. The difference could be due to various parameters (animal species and sex and treatment dose and duration). Moreover, plasma and urine biochemical parameters didn't differ between rats subjected to iodide and controls. Yoshida and colleagues has also demonstrated that after the administration of iodide more than 3 mg/day in rats for 4 weeks, no change in some

targeted serum biochemical parameters (alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase, total cholesterol and triglyceride) has been observed [36].

To evaluate thyroid functioning, we have assessed the blood TSH and free thyroid hormone levels as relevant biomarkers. There has been no difference in neither TSH concentration nor plasma thyroid hormone levels observed between treated and control groups, respectively; this may suggest that the thyroid function has not been affected by the repeated administration of iodide. These results are in accordance with other clinical and preclinical studies that reported no impact of iodide on the pituitary-thyroid axis activity [15, 21, 33, 37, 39-43].

Since it has been suggested that excess iodine is associated with thyroid autoimmunity, we selected two biomarkers of thyroid autoimmunity status anti-TPO and anti-Tg, our result show that 30 days post-prophylaxis anti-thyroid antibodies level didn't differ between treated and control rats [17].

The histological analysis of thyroid showed no modification attributable to iodide intake, the shape and the size of follicles and cell proliferation index did not show difference between treated and control rats. In a previous study in rats, thyroid histological analysis showed a significant enlargement of thyroid follicles and an increased amount of extracellular matrix around them in response to excess iodine treatment [38]. Mice subjected to an excess of iodine were characterized by an increased follicles area and a small of follicular cavity, their thyroid cells became flat [39]. Thyrocytes are polarized cells, with a basal membrane in contact with blood vessels and an apical membrane in contact with the follicular lumen that contains the colloid. Two proteins play an important role in iodine transport and TH synthesis, i.e. NIS and TPO. In our study, the immunohistochemical characterization of thyroid tissues indicates that the protein abundance and localization of these two important proteins have not been affected 30 days after the discontinuation of KI intake, our results are in accordance with Faggiano and colleagues [44]. Under normal physiological conditions, NIS staining is heterogeneous and restricted to the basolateral membrane, whereas TPO staining is homogenous in the cytoplasm of the majority of thyroid cells. The results of histological analysis, proliferation assessment and immunohistochemical characterization show no adverse effect of KI 1mg/kg/ day over 8 days on thyroid cytoarchitecture and function.

To elaborate further, we have evaluated the long-term impact of repeated administration of iodide on thyroid function at the molecular level. It is well known that the Wolff-Chaikoff effect and its escape occur during the exposure of the normal thyroid to supraphysiological iodide concentrations [19]. Leoni and colleagues have analyzed the transcriptome profile of rat follicular cell lineage PCC13 under normal and excess iodine conditions; they have found that 84 transcripts (especially classified in a protein metabolic category) were differentially expressed in response to iodide [45]. In our experimental conditions, we have analyzed the transcriptome profile of rat thyroid under treated and untreated conditions. Among 31951 transcripts we have not been able to observe a distinguishable profile of gene expression between treated and control groups. Furthermore, even the expression of the genes involved in iodide metabolism and thyroid hormone synthesis was similar between treated and control group 30 days post-prophylaxis. This indicates that the KI treatment with

a dose of 1 mg/kg/day does not affect important cellular processes. In summary, the results obtained from the current study shows that repetitive intake of potassium iodide with a dose of 1 mg/kg/day for eight days has no long-term harmful impact on the general health status, thyroid structure and function in rat experimental model. In addition, transcriptomic analysis of gene expression shows no significant signature between treated and control groups. In order to evolve the marketing authorization of KI and to update the current iodine guidelines, our data can be used in the future as input data for additional studies on other animal species. In the near future, our perspective is to assess the effect of this prophylactic design in more sensitive individuals like pregnant and elderly populations, in order to fill the gap of knowledge and improve the KI marketing authorization in case of prolonged exposure to radioactive particle [46].

Acknowledgment

This study was part of the PRIODAC research program supported by ANR-RSNR. The authors thank F. VOYER, A. SACHE and R. GRANGER for animal care.

References

- Brent GA, LE Bravenman, RT Zoeller (2007) Thyroid health and the environment: *Thyroid* 17: 807-809.
- Grant EJ, Brenner A, Sugiyama H, Sakata R, Sadakane A, et al. (2017) Solid Cancer Incidence among the Life Span Study of Atomic Bomb Survivors: 1958-2009. *Radiat Res* 187: 513-537.
- Shore RE (1992) Issues and epidemiological evidence regarding radiation-induced thyroid cancer. *Radiat Res* 131: 98-111.
- Ron E (2007) Thyroid cancer incidence among people living in areas contaminated by radiation from the Chernobyl accident. *Health Phys* 93: 502-511.
- Cardis E, Kcsminicne A, Ivanov V, Malakhova I, Shibata Y, et al. (2005) Risk of thyroid cancer after exposure to 131I in childhood. *J Natl Cancer Inst* 97: 724-732.
- Nagataki S (2016) Minimizing the Health Effects of the Nuclear Accident in Fukushima on Thyroids. *Eur Thyroid J* 5: 219-223.
- Tsuda T, Tokinobu A, Yamamoto E, Suzuki E (2016) Thyroid Cancer Detection by Ultrasound Among Residents Ages 18 Years and Younger in Fukushima, Japan: 2011 to 2014. *Epidemiology* 27: 316-322.
- Tsuda T, L Lindahl, A. Tokinobu (2017) Ethical Issues Related to the Promotion of a "100 mSv Threshold Assumption" in Japan after the Fukushima Nuclear Accident in 2011: Background and Consequences. *Curr Environ Health Rep* 4: 119-129.
- Wakeford R (2016) Chernoby Fukushima-where are we now?: *J Radiol Prot.* 2016 Jun. Epub 36(2): E1-5..
- Shimura H, Sobue T, Takahashi H, Yasumura S, Ohira T, et al. (2018) Findings of Thyroid Ultrasound Examination Within 3 Years After the Fukushima Nuclear Power Plant Accident: The Fukushima Health Management Survey. *J Clin Endocrinol Metab* 103: 861-869.
- Sumito Yoshida, Mayo Ojino, Takayoshi Ozaki, Takushi Hatanaka, Kaori Nomura, et al. (2014) Guidelines for iodine prophylaxis as a protective measure: information for physicians. *Japan Med Assoc J* 57: 113-123.
- Steffen Dreger, Manuela Pfänder, Lara Christianson, Stefan K Lhachimi, Hajo Zeeb (2015) The effects of iodine blocking following nuclear accidents on thyroid cancer, hypothyroidism, and benign thyroid nodules: design of a systematic review. *Syst Rev* 4: 126.
- Braverman ER, Blum K, Locffke B, Baker R, Kreuk F, et al. (2014) Managing terrorism or accidental nuclear errors, preparing for iodine-131 emergencies: a comprehensive review. *Int J Environ Res Public Health*. 2014. 11: 4158-4200.
- Nauman J, Wolff J (1993) Iodide prophylaxis in Poland after the Chernobyl reactor accident: benefits and risks. *Am J Med* 94: p. 524-32.
- Sternthal E, Lipworth L, Stanley B, Abreau C, Fang SL, et al. (1980) Suppression of thyroid radioiodine uptake by various doses of stable iodide. *N Engl J Med* 303: 1083-1088.
- Spallek L, Krille L, Reiners C, Schneider R, Yamashit, et al. (2012) Adverse effects of iodine thyroid blocking: a systematic review. *Radiat Prot Dosimetry* 150: 267-277.
- Luo Y, Kawashima A, Ishido Y, Yoshihara A, Oda K, et al. (2014) Iodine excess as an environmental risk factor for autoimmune thyroid disease. *Int J Mol Sci* 15: 12895-12912.
- Wolff J and IL Chaikoff (1948) Plasma inorganic iodide as a homeostatic regulator of thyroid function. *J Biol Chem.* 174: 555-564.
- Eng PH, Cardona GR, Fang SL, Previti M, Alex S, et al. (1999) Escape from the acute Wolff-Chaikoff effect is associated with a decrease in thyroid sodium/iodide symporter messenger ribonucleic acid and protein. *Endocrinology* 140: 3404-3410.
- Calil-Silveira J, Serrano-Nascimento C, Kopp PA, Nunes MT (2016) Iodide excess regulates its own efflux: a possible involvement of pendrin. *Am J Physiol Cell Physiol* 310:C576-582.
- Solis-S JC, Villalobos P, Orozco A, Delgado G, Quintanar-Stephano A, et al. (2011) Inhibition of intrathyroidal dehalogenation by iodide. *J Endocrinol* 208: 89-96.
- de Souza EC, Dias GR, Cardoso RC, Lima LP, Fortunato RS, et al. (2015) MCT8 is Downregulated by Short Time Iodine Overload in the Thyroid Gland of Rats. *Horm Metab Res* 47: 910-915.
- Reiners C, R. Schneider (2013) Potassium iodide (KI) to block the thyroid from exposure to I-131: current questions and answers to be discussed. *Radiat Environ Biophys* 52: 189-193.
- Noteboom JL, Hummel WA, Broerse JJ, de Vijlder JJ, Vulsma T, et al. (1997) Protection of the maternal and fetal thyroid from radioactive contamination by the administration of stable iodide during pregnancy. An experimental evaluation in chimpanzees. *Radiat Res* 147: 691-697.
- Noteboom JL, Hummel WA, Broerse JJ, de Vijlder JJ, Vulsma T, et al., (1997) Protection of the infant thyroid from radioactive contamination by the administration of stable iodide. An experimental evaluation in chimpanzees. *Radiat Res* 147: 698-706.
- Kot BC, TY Lau, SC Cheng (2013) Stereology of the thyroid gland in Indo-Pacific bottlenose dolphin (*Tursiops aduncus*) in comparison with human (*Homo sapiens*): quantitative and functional implications. *PLoS One* 8: e62060.
- Ritchie ME, Phipson B, Wu D, Hu Y, Law CW, et al. (2015) limma powers differential expression analyses for RNA-sequencing and microarray studies. *Nucleic Acids Res* 43: e47.
- Panneels V, G. Juvenal, JM Boeynaems, JE Dumont, J. Van Sande (2009) Iodide Effects on the Thyroid: Biochemical, Physiological, Pharmacological, and Clinical Effects of Iodide in the Thyroid, in *Comprehensive Handbook of Iodine*, Academic Press: San Diego. p. 303-314.
- Pesce L, P. Kopp (2014) Iodide transport: implications for health and disease. *Int J Pediatr Endocrinol* 1: 1687-9856.
- Portulano C, M. Paroder-Belenitsky, N. Carrasco (2014) The

- Na⁺/I⁻ symporter (NIS): mechanism and medical impact. *Endocr Rev* 35: 106-149.
31. Maia AL, Goemann IM, Meyer EL, Wajner SM (2011) Deiodinases: the balance of thyroid hormone: type 1 iodothyronine deiodinase in human physiology and disease. *J Endocrinol* 209: 283-297.
 32. Zaballos MA, B. Garcia, P. Santisteban (2008) Gbetagamma dimers released in response to thyrotropin activate phosphoinositide 3-kinase and regulate gene expression in thyroid cells. *Mol Endocrinol* 22: 1183-1199.
 33. Schneider AB, J.M. Smith (2012) Potassium iodide prophylaxis: what have we learned and questions raised by the accident at the Fukushima Daiichi Nuclear Power Plant. *Thyroid* 22: 344-346.
 34. Phan G, Rebière F, Suhard D, Legrand A, Carpentier F, et al. (2017) Optimal KI Prophylactic Dose Determination for Thyroid Radiation Protection After a Single Administration in Adult Rats. *Dose Response* 15: 1559325817746558.
 35. Lebsir D, Manens L, Grison S, Lestaevcl P, Ebrahimian T, et al. (2018) Effects of repeated potassium iodide administration on genes involved in synthesis and secretion of thyroid hormone in adult male rat. *Mol Cell Endocrinol* 26: 30077-7.
 36. Yoshida M, Mukama A, Hosomi R, Fukunaga K, Nishiyama T (2014) Serum and tissue iodine concentrations in rats fed diets supplemented with kombu powder or potassium iodide. *J Nutr Sci Vitaminol* 60: 447-449.
 37. Zhang X, Jiang Y, Han W, Liu A, Xie X, et al. (2016) Effect of Prolonged Iodine Overdose on Type 2 Iodothyronine Deiodinase Ubiquitination-Related Enzymes in the Rat Pituitary. *Biol Trace Elem Res* 174: 377-386.
 38. Calil-Silveira JI, Serrano-Nascimento CI, Laconca RC1, Schmiedecke LI, Salgueiro RB, et al. (2016) Underlying mechanisms of pituitary-thyroid axis function disruption by chronic iodine excess in rats. *Thyroid* 26: 1488-1498.
 39. Chen XY, Lin CH, Yang LH, Li WG, Zhang JW, et al. (2016) The Effect on Sodium/Iodide Symporter and Pendrin in Thyroid Colloid Retention Developed by Excess Iodide Intake. *Biol Trace Elem Res* 172: 193-200.
 40. Theodoropoulou AI, Vagenakis AG, Makri M, Markou KB (2007) Thyroid hormone synthesis and secretion in humans after 80 milligrams of iodine for 15 days and subsequent withdrawal. *J Clin Endocrinol Metab* 92: 212-214.
 41. Serrano-Nascimento C, J. Calil-Silveira, MT Nunes (2010) Posttranscriptional regulation of sodium-iodide symporter mRNA expression in the rat thyroid gland by acute iodide administration. *Am J Physiol Cell Physiol* 298: C893-9.
 42. Calil-Silveira J, C. Serrano-Nascimento, MT Nunes (2012) Iodide treatment acutely increases pendrin (SLC26A4) mRNA expression in the rat thyroid and the PCC13 thyroid cell line by transcriptional mechanisms. *Mol Cell Endocrinol*, 2012. 350: 118-124.
 43. Arriagada AA1, Albormoz E, Opazo MC, Becerra A, Vidal G, et al. (2015) Excess iodide induces an acute inhibition of the sodium/iodide symporter in thyroid male rat cells by increasing reactive oxygen species. *Endocrinology* 156: 1540-1551.
 44. Faggiano A, Caillou B, Lacroix L, Talbot M, Filetti S, et al. (2007) Functional characterization of human thyroid tissue with immunohistochemistry. *Thyroid* 17: 203-211.
 45. Leoni SG, Galante PA, Ricarte-Filho JC, Kimura ET (2008) Differential gene expression analysis of iodide-treated rat thyroid follicular cell line PCC13. *Genomics* 91: 356-366.
 46. WHO (2017) Iodine thyroid blocking. Guidelines for use in planning for and responding to radiological and nuclear emergencies.

Copyright: ©2018 Maâmar SOUIDI, et al. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

ARTICLE 3

« Repeated potassium iodide exposure during pregnancy impairs progeny's
brain development»

« L'exposition répétée à l'iodure de potassium pendant la grossesse altère le
développement cérébral de la progéniture»

D LEBSIR, JGUEMRI, D KERESSELIDZE, S GRISON, M BENDERITTER, A PECH, P
LESTAEVEL and M SOUIDI

Neurosciences journal (en révision)

2 Résultat II : modèle à risque (*in utero*)

2.1 Résumé de l'article modèle *in utero*

Les groupes de population présentant le risque le plus élevé de développer un cancer de la thyroïde après l'accident de Tchernobyl sont les nouveau-nés, les nourrissons et les enfants de moins de 10 ans au moment de l'exposition. La protection de ces sous-populations en plein croissance représente un vrai défi en terme de balance bénéfice / risque pour les autorités compétentes.

Suite aux résultats très encourageants qui montraient l'innocuité de la prise répétée de l'iodure de potassium (KI) chez le modèle adulte, nous avons voulu évaluer les effets chez un modèle en croissance plus sensible, le modèle *in utero* qui implique l'exposition indirecte du fœtus au traitement répété *via* l'exposition de la mère en phase de gestation. La carence ainsi que l'excès en iode sont des causes potentielles de modification du métabolisme des hormones thyroïdiennes maternelles.

Il est bien établi que durant la phase de gestation, le fœtus ne synthétise les hormones thyroïdiennes qu'à partir du jour embryonnaire E17 chez le rat (équivalent à la 10 - 12ème semaine chez l'homme), en absence d'hormono-synthèse fœtale le fœtus est entièrement dépendant de l'apport maternelle en hormones thyroïdiennes. Ces dernières jouent un rôle primordial dans de nombreux processus fondamentaux du développement et de la maturation du cerveau (neurogènese – myélinisation – synaptogènese et gliogènese). Les altérations de la fonction thyroïdienne au cours du développement humain sont connues pour causer des dommages importants au système nerveux central (SNC), dont le crétinisme, ensemble de troubles physiques et de retard mental est l'une des conséquences majeur.

Plusieurs études chez les rongeurs ont mis en évidence une large gamme d'anomalies cérébrales chez la progéniture, dues à une déficience d'hormones thyroïdiennes maternelles au cours des différents stades de la gestation, ces anomalies touchent plusieurs structures du cerveau, tel l'hippocampe qui est cruciale pour les processus d'apprentissage et de mémoire et le cortex pariétal et occipital, qui sont associés à des fonctions motrices, visuelles et auditives. Le déficit en hormone thyroïdienne pendant la période critique du développement cérébral est donc associée à des altérations morphologiques, électrophysiologiques et biochimiques de ses structures, entraînant des troubles cognitifs et neurologiques graves.

Pour ce faire, des rates gestantes ont reçus huit prises consécutives de KI à partir du jour embryonnaire 9 (E9). Et trente jours après le sevrage, la progéniture a été soumise à différents tests de comportement (rotarod, nage forcé et labyrinthe en Y). Par la suite, les rats ont été euthanasiés et différentes analyses (biochimique, hormonale, génique, histopathologique) ont été effectués sur les échantillons d'intérêt (plasma, urine, thyroïde, cortex et cervelet). La prise répétée du KI en phase de gestation a généré plusieurs effets sur la descendance mâle. Nous avons obtenu un profil hormonal atypique avec une baisse de T4 et de TSH sans modification de l'expression génique au niveau de la thyroïde, une modification de l'expression de plusieurs gènes clés du cervelet et du cortex et une atteinte de la coordination motrice. Suite à ces résultats, on peut conclure que la prise répétée du KI *in utero* engendre une neurotoxicité sur la

progéniture. Vu le profil hormonal atypique et la non modification de l'expression génique au niveau thyroïdien de la progéniture, on propose l'hypothèse de l'impact du traitement répété sur la fonction thyroïdienne maternelle qui s'est traduit par une hypothyroïdie congénitale et une atteinte cérébrale chez la progéniture. Cette hypothèse reste à confirmer dans le future par une étude de toxicocinétique à la fois chez les rates en gestation et chez les fœtus.

Sur la base de ces résultats, le schéma prophylactique répété n'est pas adapté pour cette sous-population sensible, d'autres alternatives doivent être explorées.

2.2 Article: Repeated potassium iodide exposure during pregnancy impairs progeny's brain development

Repeated potassium iodide exposure during pregnancy impairs progeny's brain development

Dalila LEBSIR^a, Julien GUEMRI^a, KERESSELIDZE Dimitri^a, Stephane GRISON^a, Marc BENDERITTER^b, Annick PECH^c, Philippe LESTAEVEL^a, Maâmar SOUIDI^{b*}

^a Institut de Radioprotection et de Sûreté Nucléaire (IRSN), PSE-SANTE, SESANE, 92262 Fontenay-aux-Roses, France

^b Institut de Radioprotection et de Sûreté Nucléaire (IRSN), PSE-SANTE, SERAMED, 92262 Fontenay-aux-Roses, France

^c Pharmacie centrale des armées, Direction des Approvisionnement en produits de Santé des Armées, 45000 Orléans, France

*** Corresponding author:**

Dr. Maâmar SOUIDI

Phone: +33 (0)158359194

Fax : +33 (0)158358467

Email : maamar.souidi@irsn.fr

ABSTRACT

Background: In case of protracted exposure to radioactive iodine, repeated intake of potassium iodide (KI) may be necessary. It is well established that iodine excess inhibits transiently the thyroid function. As developing foetus is dependent on maternal thyroid hormones (TH) supply, more knowledge are needed about the plausible effects that repeated KI intake can cause in this sensitive population, especially that even moderate variation of maternal thyroid function may have long-lasting consequences on progeny brain development. **Objective:** This work aims to evaluate the consequences of repeated KI intake during pregnancy on the progeny's thyroid function and brain development. **Methods:** pregnant *Wistar* rats received KI over eight days, and then thirty days after the weaning, male progeny was subjected to behaviour test. Pituitary and thyroid hormones level, antithyroid antibodies level, organs morphology, genes expression and global DNA methylation were assessed. **Findings:** Thirty days after the weaning KI-exposed male progeny have an uncommon hormonal status characterized by a significant decrease of both TSH (-28%) and FT4 (-7%) levels. Motor coordination was altered in KI-exposed male progeny, at the cerebellum level we obtained a significant decrease of mRNA expression of DCX (-42%) and RC3 (-85%), on the other hand at the cortex level we observed a significant increase of mRNA expression of MBP (+71%), MOBP (+90%) and Kcna1 (+42%). **Conclusion:** Repeated KI prophylaxis is not adequate during pregnancy since it led to long-term irreversible neurotoxicity in the male progeny.

KEY WORDS: Behaviour test – potassium iodide – gestation – neurodevelopment – thyroid hormones – progeny.

HIGHLIGHTS:

- This study evaluates the effect of *in utero* exposure to KI on the progeny brain development.
- *In utero* exposure to KI impairs progeny motor coordination
- Our results will contribute to the evolution of iodine guidelines in case of pregnancy.

1. INTRODUCTION

Electric power production generates large amounts of radioactive isotopes of iodine (I-129, I-133, I-131...) as a by-product of uranium fission. In the case of nuclear reactor emergency which involves the release of radioactive material into the atmosphere, radioactive iodine can be incorporated into the thyroid gland mainly through inhalation or ingestion of contaminated food and milk (Braverman, Blum et al. 2014). Following the Chernobyl reactor accident, that generates a large release of I-131, significantly increased numbers of thyroid cancer and thyroid dysfunctions such as hypothyroidism were observed in individuals from highly contaminated regions (Ron 2007). These effects are due to β radiation emitted during I-131 decay process. It's suggested that radiation exposure during the prenatal phase is associated with an increased risk for thyroid cancer in the progeny (Hatch, Brenner et al. 2009). The oral intake of potassium iodide (KI) is recommended by competent authorities as an efficient countermeasure. KI essentially saturates the iodide transport mechanism of the thyroid by inhibiting the intrathyroidal organification of iodide (Wolff-Chaikoff effect), by dilution and by promoting excretion and thus reducing the amount of committed radioactive dose to the thyroid (Sternthal, Lipworth et al. 1980). World health organization (WHO) recommends a unique administration of KI at 130 mg in adult, pregnant and breastfeeding; fractions of this quantity are considered in other sub-populations. In extreme situations, KI intake can be renewed one more time only for adult (WHO 2017). Both Chernobyl and Fukushima nuclear reactor accidents highlighted the limits of the current iodine thyroid blocking (ITB) policy. It is clear that a unique administration of KI cannot protect in satisfactory way the population. In the situations of protracted exposure to radioactive iodine, repeated administration of KI may be required to ensure adequate protection of the thyroid gland responsible for the production of the thyroid hormones. Thyroid hormones (TH) are crucial for foetal development and maturation of central nervous system (T. and J. 2004). Their production is mainly regulated by thyroid-stimulating hormone (TSH), and requires a complex process; firstly iodide transport through sodium-iodide symporter (NIS) and pendrin (PDS), after that iodide organification which involves thyroid peroxidase (TPO), and H_2O_2 produced by dual oxidase (DUOX), and finally TH transport through monocarboxylate transporter 8 (Carvalho and Dupuy 2017). In summary, TH synthesis and secretion involve several actors, but iodide uptake is the first and limiting step of this process. Iodine is scarce in the environment, its consumption through exogenous sources (seafood, iodinated salt...) guarantees an adequate supply of this trace element for TH synthesis (Rasmussen, Andersen et al. 2009). According to the WHO, the daily iodine consumption should be around 150 μ g in adults (Zimmermann and Andersson 2012). Otherwise, in specific

situations as pregnancy, daily iodine consumption should be around 250 µg (Zimmermann 2012); this increase is due to a 30 – 50 % increase in renal clearance, the rise of T4-binding proteins levels, the stimulatory effects of chorionic gonadotropin hormone on thyroid as well as the placental transfer of TH to the foetus (Serrano-Nascimento, Salgueiro et al. 2017). Indeed, adequate maternal TH production is essential to the initial steps of foetal development that depend on TH action (Howdeshell 2002), especially because the foetal thyroid gland is fully developed only in the second trimester of gestation. The deleterious effects of maternal iodine deficiency (ID) on the foetus development are clearly reported including cretinism and growth retardation (Cao, Jiang et al. 1994, Niwattisaiwong, Burman et al. 2017, Farebrother, Naude et al. 2018). However, the effects of maternal ingestion of iodine excess (IE) on foetal development are still controversial, recent studies have reported that iodine excess (IE) consumption during pregnancy increases the maternal susceptibility to develop hypothyroidism, subclinical hypothyroidism or hypothyroxinemia, as well as promoted deleterious effects on the offspring development (Shi, Han et al. 2015, Pearce, Lazarus et al. 2016). In our previous work, we demonstrated the safety of repeated administration of KI in adult *Wistar* rats (Lebsir, Manens et al. 2018), Studies regarding the effect of repeated iodine intake during pregnancy are scarce (Noteboom, Hummel et al. 1997), this work aims to characterize the effects of repeated KI intake during pregnancy on the thyroid function and on the neuromotor development of the progeny using female *Wistar* rats.

2. MATERIALS AND METHODS

2.1. EXPERIMENTAL PROCEDURE

2.1.1. Ethical approval

All experimental procedures were approved by the Animal Care Committee of the Institute of radiation protection and nuclear safety (IRSN) and complied with French regulations for animal experimentation (Ministry of Agriculture Act No. 87-848, October 19, 1987, modified May 29, 2001)

2.1.2. Animals and treatment

Saline solution pH 7.4 and KI solution 1 mg/kg were kindly provided by Central Pharmacy of Armed forces (Orleans, France).

The study included sixteen pregnant *Wistar* rats from Charles River laboratories (L'arbresle, France), divided into two groups, controls receiving saline solution, and treated group receiving KI 1 mg/kg over eight days since the 9th gestational day. The animals were maintained under controlled conditions of temperature ($21 \pm 2^{\circ}\text{C}$), humidity ($50 \pm 10\%$) and 12:12-h light dark cycle schedule. Normal-iodized pellet diet 0.3 mg I / kg of pellet (A04-10 SAFE, Augy, France) and tap water were freely accessible. After the birth and the weaning, male pups were separated from their mothers; after that, they were divided into controls progeny not exposed *in utero* to KI, and treated progeny exposed *in utero* to KI, each group include thirteen animals (figure 1).

2.1.3. *Organs and biofluids collection*

Thirty days after the weaning, progeny were placed in metabolic cages for 24 h, with free access to diet and water. Urine was collected and centrifuged (3,000 rpm / 10 min); supernatant was frozen at -80°C . Blood was collected by intracardiac puncture under isoflurane anesthesia (Abbot France, Rungis, France) and then centrifuged (3,000 rpm / 10 min); the plasma supernatant was immediately frozen at -80°C . Thyroid, cortex and cerebellum were dissected on ice, instantly deep-frozen in liquid nitrogen and then stored at -80°C .

2.2. TECHNICAL PROCEDURE

2.2.1. *Biochemical parameters assessment*

Most biochemical indicators were measured in plasma and urine samples with an automated spectrophotometric system Konelab 20i (Thermo Fisher Scientific, Cergy-Pontoise, France), with the manufacturer's biological chemistry reagent (Brahms, Asnières sur Seine, France). The plasma biomarkers measured were lipids (cholesterol, triglycerides, and phospholipids B), substrates (total protein), electrolytes (calcium, phosphorus, iron, chloride, potassium and sodium), cardiac markers (creatine kinase (CK) and its isoform (CK-MB)), liver markers (alanine aminotransferase (ALAT), aspartate aminotransferase (ASAT)), and kidney markers (creatinine and urea). In the urine sample, we measured kidney markers (creatinine, urea and

uric acid), substrates (urinary proteins) and electrolytes (calcium, phosphorus, chloride, potassium and sodium). Phospholipid B (Diagnostic partners, Bormes Les Mimosas, France) indicators were adapted on the spectrophotometric system.

2.2.2. *Thyroid markers*

Plasma thyroid-stimulating hormone (TSH) was determined with the TSH rat ELISA kit from MP Biomedicals (Illkirch-Graffenstaden, France). Plasma free triiodothyronine (FT3) and free thyroxine (FT4) levels were determined by immunoassay on an IMMULITE® 2000 system from Siemens (Saint-Denis, France). Plasma anti-thyroid antibodies were determined with anti-thyroid peroxidase antibody (Anti TPO) bioassay™ ELISA kit (Rat) and anti-thyroglobulin antibody (ATGA/ TGAB) bioassay™ ELISA kit (Rat), from US Biological life science (Swampscott, Massachusetts, USA). The analytical sensitivities of TSH, FT4, FT3, Anti-TPO and Anti-Tg are 0.1 ng/mL, 2.83 pmol/L, 1.5 pmol/L, 1 ng/mL and 1 ng/mL respectively.

2.2.3. *Real-time PCR*

Total RNA was extracted from the entire thyroid sample, and from an amount around 25 mg of cortex and cerebellum, using mirVana™ miRNA Isolation Kit (Ambion, cat.no.1560). The NanoDrop apparatus (ThermoFisher Scientific, Cergy Pontoise, France) was used to determine the concentration of RNA (ng/μL). 1 μg of total RNA was reversely transcribed using High-Capacity cDNA Reverse Transcription Kit (Applied Biosystems, Courtaboeuf, France) according to the manufacturer's instructions. Real-time qPCR was performed with quantStudio 12K Flex Real-Time PCR System (Thermo Fisher scientific, Cergy Pontoise, France). Taqman primers (applied biosystems, Courtaboeuf, France) were used to analyse the mRNA levels (table1). Relative changes of genes mRNA expression in KI exposed samples were calculated using $2^{-\Delta\Delta Ct}$ method; GAPDH and ACTB were used as internal controls. All RT-qPCR results are expressed as mean ± SEM, and are compared to expression levels of non-exposed group.

2.2.4. *Global DNA methylation*

Cerebellum and cortex were deep-frozen in liquid nitrogen, and stored at -80 C° . DNA from 25 mg of samples was extracted using the QIAmp Mini kit (Qiagen, France) according to the manufacturer's instructions. The difference in methylation profile in the cerebellum and cortex samples was identified using 5-mC DNA ELISA kit (Zymoresearch, California, USA). The methylation level of gDNA samples was elucidated as a percentage. The negative and positive controls consisting of 100 ng/ μL double-stranded DNA were included in each run. The standard curve was prepared using multiple combinations of negative and positive controls according to manufacturer's instruction. The absorbance was measured at 405 – 450 nm using TECAN reader (Infinite® 200 PRO NanoQuant Plate Reader). The results were validated using duplicate samples.

2.2.5. *Histology and immunohistochemistry*

Histological and immunohistochemistry analyses were done by an independent laboratory (Biodoxis, Romainville, France). Thyroids, and brains collected at necropsy were placed in a neutral 10% formalin solution to allow immersion fixation. Each individually fixed tissue was then trimmed, placed in a histological cassette, and impregnated with paraffin. For each sample, three 4 μm thick sections spaced by more than 250 μm from each other were then stained with hematoxylin and eosin. Detection of Ki67 by immunohistochemistry was performed on thyroids. Paraffin sections were deparaffinized and antigen retrieval was performed in a water bath using the "DAKO Target Retrieval Solution". Immunohistochemical staining was then performed, after blocking endogenous peroxidases (Dako EnVision® + System-HRP (DAB), Peroxidase Block), slides were incubated with the primary antibody Rabbit polyclonal anti-Ki67 (Abcam ab15580) for 1 hour at room temperature. Slides were then rinsed and incubated with secondary antibody (EnVision® +/HRP Rabbit (DAB+) (Dako K4011) for 30 minutes. The signal was then revealed using a DAB solution (Dako EnVision® + System-HRP (DAB), DAB + Substrate Buffer / Liquid DAB + chromogen, 5 min incubation). Finally, counter-

staining with Mayer's hematoxylin was performed. Negative controls were performed by substituting the primary antibody by a control isotype IgG rabbit polyclonal (Dako, X0936) or by using diluent alone.

The complete digitization of the tissue sections was performed by the Hamamatsu Nanozoomer. Follicular epithelium nuclei were individually segmented and classified as positive or negative nuclei for the Ki67 cell proliferation marker. This classification was done through thresholding for positive or negative kernels combined with a set of filters based on the morphology and size of segmented objects, thus preserving only objects with a distinctive morphology. A minimum of more than 6000 nuclei were analysed for each thyroid. The percentage of positive nuclei was reported for each animal.

2.2.6. Behaviour tests

2.2.6.1. Rota-rod test

This apparatus is a test of motor coordination and motor learning, thirty days after the weaning rats were put on the rotating rod of a rota-rod (Ugo Basile, Italy), rotation was set at a constant speed of 5 rpm for 3 min. Latency to fall off was scored automatically with infrared sensors. This trial was repeated twice again with a lapse-time of one hour between each trial (Marques, Stigger et al. 2014).

2.2.6.2. Forced swim test

The apparatus used for this test was a white plastic tub (diameter = 40 cm, height = 60 cm) filled to a height of 48 cm with water at a temperature of 24 – 26 C°. One swim session lasting ten minutes was conducted. The animal's behaviour was assessed each minute but only the immobile time during the last five minutes was recorded and then analysed, (the animal was judged to be immobile when it floated in an upright position and made only minimal movements to keep its head above water) (Bourin, Chenu et al. 2005).

2.2.6.3. Y maze test

The maze consisted of polyvinyl plastic and had three arms (70 cm in length, 50 cm in height, 10 cm wide at the bottom, and 20 cm wide at the top); the maze was equipped with both intra and extra cues. This test was performed to assess the spatial memory of the rats. Rats were placed in the centre of the maze, and then allowed to move freely for ten minutes. The sequences of arm entry were counted manually to calculate the total number of entries and the alternation percentage (Srivastava, Dhuriya et al. 2018).

2.3. Statistical analysis

Results are expressed as mean \pm SEM, Student's t-test was routinely performed for statistical analysis of data, and was replaced by Mann-Whitney Rank Sum Test when the equal variance test failed (determined by GraphPad Prism software). Differences were considered statistically significant when $p \leq 0.05$.

3. RESULTS

3.1. In-utero repeated exposure to KI did not impair the general health parameters and the biochemical status of the progeny

At PND51, body weight of male progeny was not affected by the *in utero* exposure to KI. Thyroid organ coefficient judged by thyroid weight / body weight as well as brain organ coefficient judged by brain weight / body weight were similar between KI exposed and not exposed groups. Plasma markers of liver, kidney and heart functions were equal between treated and control rats. Urine markers reveal an increase of potassium level in the treated group (Table 2).

3.2. In-utero repeated exposure to KI impaired the activity of the pituitary-thyroid axis of the progeny

As shown in the table 2, we observed a significant decrease of TSH and FT4 levels in the KI-exposed group in comparison to control group ($p < 0.05$). FT3 level was similar between both

groups. Antithyroid antibodies (Anti-TPO and Anti-Tg) levels were not affected by the treatment.

3.3. In-utero repeated exposure to KI did not impair the expression of thyroid genes

The expression of genes involved in iodide metabolism and thyroid hormones synthesis did not differ between the male progeny exposed and non-exposed to KI during pregnancy (Figure 2).

3.4. In-utero repeated exposure to KI impaired the expression of brain genes

At the cerebellum level, we observed a significant decrease of the mRNA expression of DCX and RC3 in the KI-exposed group compared to control group ($p < 0.01$) (Figure 3A). On the other hand, at the cortex level we get a significant increase of the mRNA expression of MBP, MOBP ($p < 0.05$) and Kcna1 ($p < 0.01$) in comparison to controls (Figure 3B).

3.5. In-utero repeated exposure to KI did not impair the global DNA methylation

The percentage of DNA methylation of cerebellum ($4.07 \pm 0.15\%$ vs $4.01 \pm 0.18\%$) and cortex ($3.79 \pm 0.13\%$ vs $3.81 \pm 0.09\%$) was similar between KI-exposed group and control group (Figure 4).

3.6. In-utero repeated exposure to KI did not impair thyroid and brain histology of the progeny

Hematoxylin and eosin staining revealed no alteration attributable to *in utero* exposure to KI in thyroid (figures 5) and brain (figure 6). Ki-67 staining showed that the proliferation rate was not significantly different for both groups (figure 5), an average of $3.51 \pm 0.60\%$ and $2.70 \pm 0.52\%$ of Ki-67 positive nuclei for treated and untreated rats respectively.

3.7. In-utero repeated exposure to KI impaired motor coordination of the progeny

The data showed that the KI-exposed group spent less time on the rota-rod compared to control group. Rats from control group spent more time on the apparatus in the second trial compared to the first trial and in the third trial in comparison to the first and second trial ($p < 0.05\%$). On the other hand, rats from the KI exposed group spent more time on the rota-rod only in the third

trial compared to the first trial ($p < 0.05\%$); we did not notice a difference neither between the second and the first trials, nor between the third and the second trials (Figure 7).

3.8. In-utero repeated exposure to KI did not impair spatial memory and depressive-like behaviour of the progeny

KI exposed rats explored the arms of the Y maze in the same way as control rats; the percentage of alteration between different arms was similar between both groups (73.99 ± 3.08 vs 69.21 ± 2.70), (Figure 8A). The immobile time in the forced swim test did not differ between treated rats and controls (33.36 ± 3.11 s vs 31.21 ± 6.51 s), (Figure 8B).

Table1: Taqman primers used for genes expression analysis through Real-Time PCR.

Genes	Assay ID number
A. Thyroid	
NIS : Na ⁺ /I ⁻ symporter	Rn00583900_m1
AIT : Apical iodide transporter	Rn01503812_m1
PDS : Pendrin	Rn00570082_m1
TPO : Thyroid peroxidase	Rn00571159_m1
Tg : Thyroglobulin	Rn00667257_g1
DUOX2 : Dual oxidase 2	Rn00666512_m1
DUOXA2 : Dual oxidase maturation factor 2	Rn01512829_g1
MCT8 : Monocarboxylate transporter 8	Rn00596041_m1
B. Cerebellum	
TNC : Tenascin C	Rn01454948_m1
RELN : Reelin	Rn00589609_m1
DCX : Doublecortin	Rn00670390_m1
RC3 : Neurogranin	Rn01531573_g1

RESULTAT II : Modèle à risque (Rat *in utero*)

Calm2 : Calmodulin 2	Rn04418658_g1
Camk2d : Calcium/calmodulin-dependent protein kinase II delta	Rn00560913_m1
BDNF : Brain-derived neurotrophic factor	Rn02531967_s1
Hr : hairless	Rn00577605_m1
C. Cortex	
Tbr2 : T-box brain protein 2	Rn01746545_m1
ARPC5 : Actin related protein 2/3 complex, subunit 5	Rn01759260_m1
Arc : Activity-regulated cytoskeleton-associated protein	Rn00571208_g1
MBP : Myelin basic protein	Rn01399619_m1
MOBP : myelin-associated oligodendrocyte basic protein	Rn01445606_g1
MAG : Myelin-associated glycoprotein	Rn01457782_m1
PLP1 : Proteolipid protein 1	Rn01410490_m1
Kcna1 : shaker related potassium channel 1	Rn00597355_s1
CamkIV : Calcium/calmodulin-dependent protein kinase IV	Rn00664802_m1
D. Housekeeping genes	
GAPDH:Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase	Rn01775763_g1
ACTB: Actin, beta	Rn00667869_m1

Table 2: Progeny's general and biochemical parameters 30 days post-weaning

Function	Control	KI 1mg/kg
-----------------	----------------	------------------

RESULTAT II : Modèle à risque (Rat *in utero*)

General indicators	Final body weight (g)	273.90 ± 14.00	276.80 ± 33.00
	TW/BW Ratio	0.065 ± 0.006	0.063 ± 0.009
	BW/BW Ratio	0.007 ± 0.001	0.007 ± 0.001
Plasma biomarkers			
1. Miscellaneous	Cholesterol (mmol/L)	1.77 ± 0.06	1.80 ± 0.05
	Phospholipids B (g/L)	1.53 ± 0.05	1.54 ± 0.05
	Triglycerides (mmol/L)	1.58 ± 0.20	1.52 ± 0.24
	Total proteins (g/L)	65.66 ± 3.43	67.39 ± 3.17
2. Electrolytes	Calcium (mmol/L)	2.95 ± 0.07	3.17 ± 0.08
	Phosphorus (mmol/L)	2.86 ± 0.07	3.02 ± 0.10
	Iron (µmol/L)	47.13 ± 3.00	46.21 ± 2.38
	Chloride (mmol/L)	106.20 ± 1.73	107.19 ± 1.60
	Potassium (mmol/L)	5.10 ± 0.17	5.05 ± 0.15
	Sodium (mmol/L)	138.14 ± 2.40	140.05 ± 2.17
3. Thyroid markers	TSH (ng/mL)	4.80 ± 0.50	3.47 ± 0.30*
	Free T4 (pmol/L)	21.98 ± 0.38	20.48 ± 0.44*
	Free T3 (pmol/L)	6.03 ± 0.31	6.84 ± 0.28
	Anti-TPO (ng/mL)	35.86 ± 5.00	41.43 ± 4.07
	Anti-Tg (ng/mL)	556.88 ± 87.04	377.78 ± 42.32
4. Liver markers	ALAT (U/L)	29.63 ± 2.31	30.44 ± 3.40
	ASAT (U/L)	91.66 ± 9.64	91.17 ± 3.15
	ASAT/ALAT Ratio	3.29 ± 0.41	3.36 ± 0.33
5. Kidney markers	Creatinine (µM)	46.01 ± 1.81	45.33 ± 0.87
	Urea (mM)	4.47 ± 0.14	4.86 ± 0.23
6. Heart markers	CK (U/L)	517.24 ± 255.53	30.1.03 ± 60.63
	CK-MB (U/L)	375.04 ± 35.05	437.54 ± 16.93
Urine biomarkers			
1. Electrolytes	Chloride (mmol/24h)	5.11 ± 0.85	5.40 ± 0.88
	Potassium (mmol/24h)	0.96 ± 0.08	1.36 ± 0.15*
	Sodium (mmol/24h)	0.96 ± 0.07	1.12 ± 0.08
	Phosphorus (mmol/24h)	0.06 ± 0.03	0.10 ± 0.03
	Calcium (µmol/24h)	66.73 ± 12.40	48.77 ± 5.63
2. Miscellaneous	Urinary proteins (mg/24h)	15.15 ± 1.87	11.06 ± 1.80
	Uric acid (µM/24h)	11.68 ± 0.82	13.67 ± 1.08
	Urea (Mm/24h)	6.57 ± 0.48	8.24 ± 0.77
	Creatinine (µM/24h)	73.63 ± 5.84	81.90 ± 8.60

ALAT: alanine aminotransferase, ASAT: aspartate aminotransferase, TW: thyroid weight, BW: body weight, TSH: Thyroid-stimulating hormone, FT4: free thyroxine, FT3: free

triiodothyronine, Anti-TPO: thyroid peroxidase antibody, Anti-Tg: thyroglobulin antibody, CK: creatine kinase, CK: creatine kinase myocardial band. TW/BW: thyroid organ coefficient, BW/BW: brain organ coefficient. Data are expressed as mean \pm SEM (n = 13 /group), * p < 0.05 vs control.

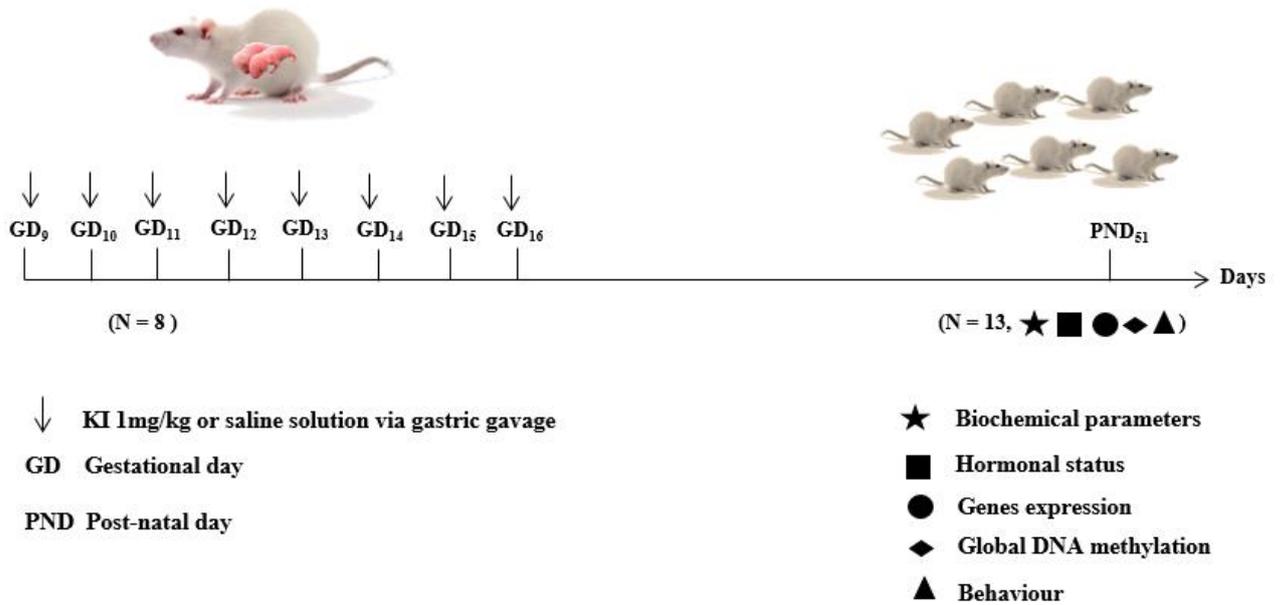


Figure1: experimental timeline. Pregnant rats received potassium iodide or saline solution from gestational day 9 until gestational day 16. The progeny were under normal iodine diet.

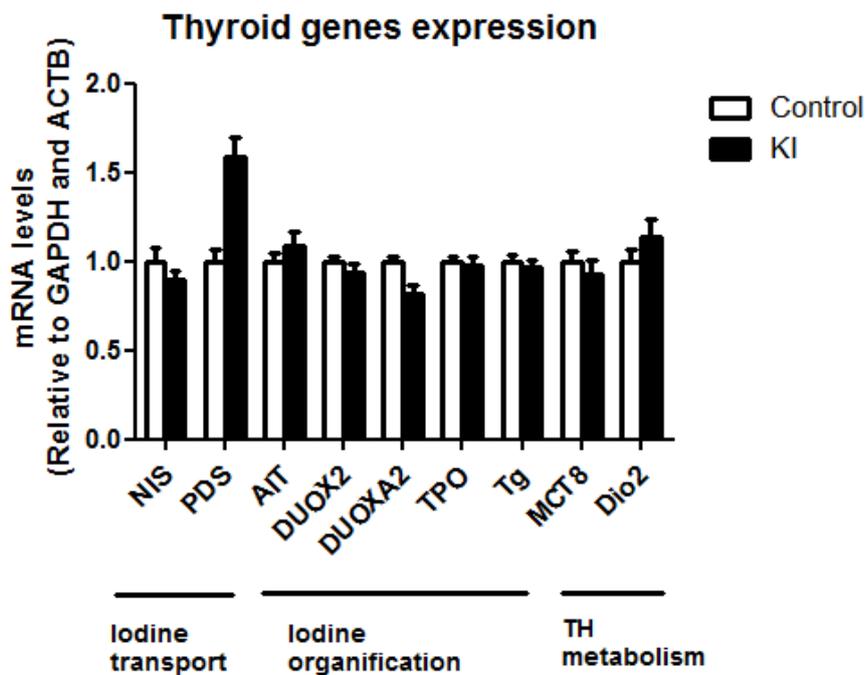


Figure 2: mRNA expression level of thyroid genes. Measured by real-time PCR in controls (saline solution), and KI exposed male progeny. The results are expressed as a ratio to GAPDH and ACTB mRNA level. Data are expressed as Mean \pm SEM.

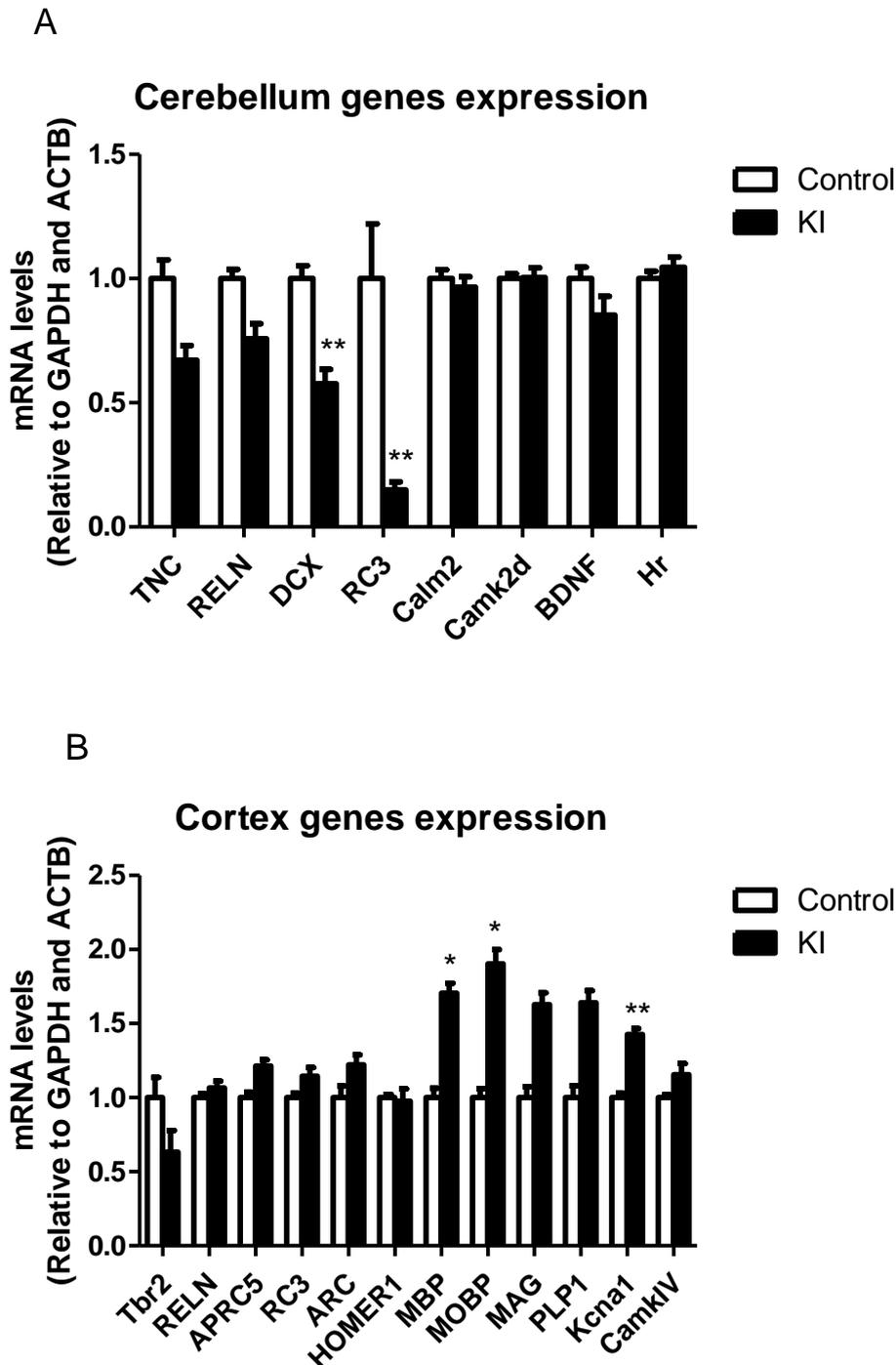


Figure 3: (A) mRNA expression level of genes involved in granular cell migration (TNC and RELN), setting up the cerebellum (DCX – RC3 – Calm2 – Camk2d and BDNF), and transcriptional regulation (Hr) at the cerebellum. (B) mRNA expression level of genes involved in transcriptional regulation (Tbr2), myelination (MBP – MOBP – MAG and PLP1), synaptogenesis (ARC – Kcna1 – RC3 – HOMER1 and APRC5), maturation (CamkIV), and

neuronal cell migration (RELN) at the cortex. Measured by real-time PCR in the cortex of controls (saline solution), and KI-exposed progeny. The results are expressed as a ratio to GADPH and ACTB mRNA level. Data are expressed as Mean \pm SEM. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ vs control.

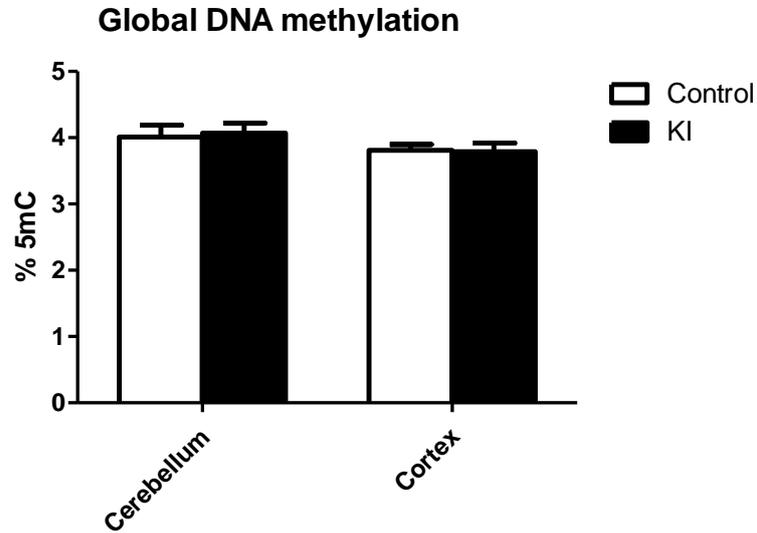


Figure 4: percentage of global DNA methylation assessed with ELISA in the cerebellum and cortex of the progeny. Data are expressed as mean \pm SEM.

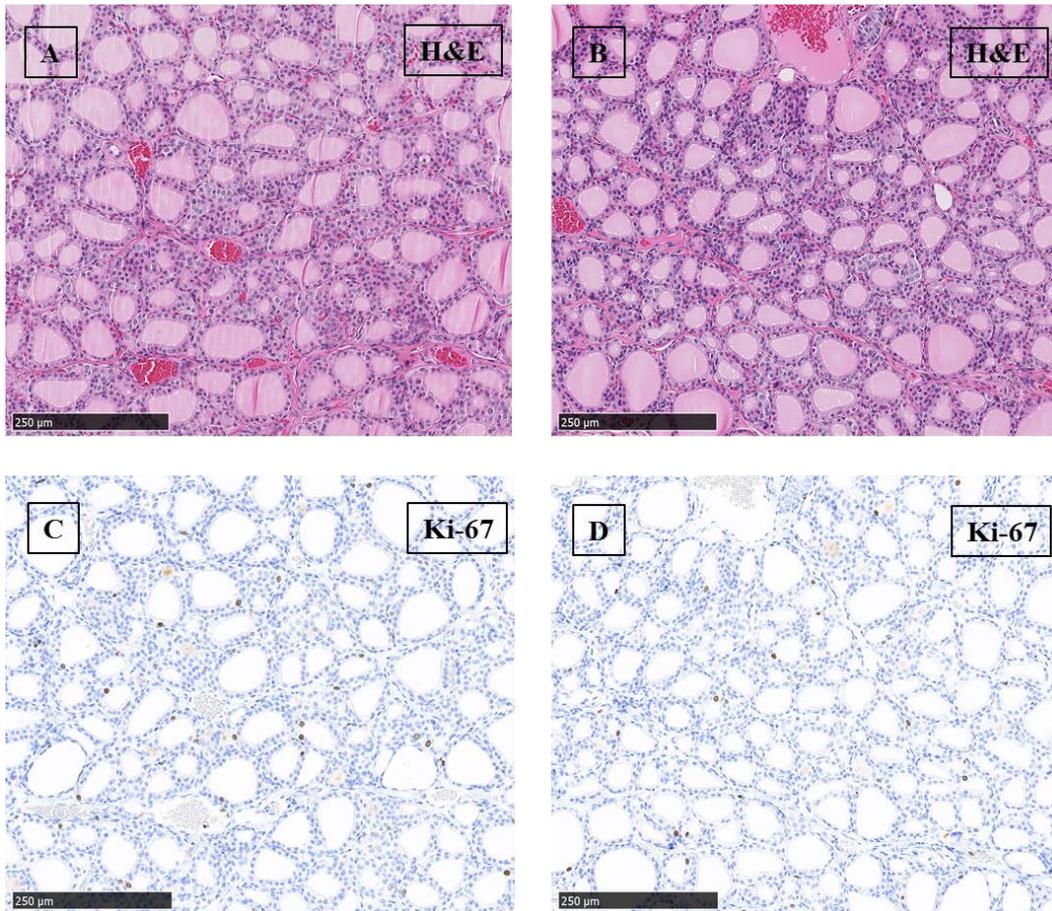


Figure 5: (A) and (B): Histological sections of the thyroid illustrating follicles (H&E), (C) and (D): Immunohistochemical expression of Ki67 positive nuclei in control and KI-exposed rats, respectively (scale bar 250 µm).

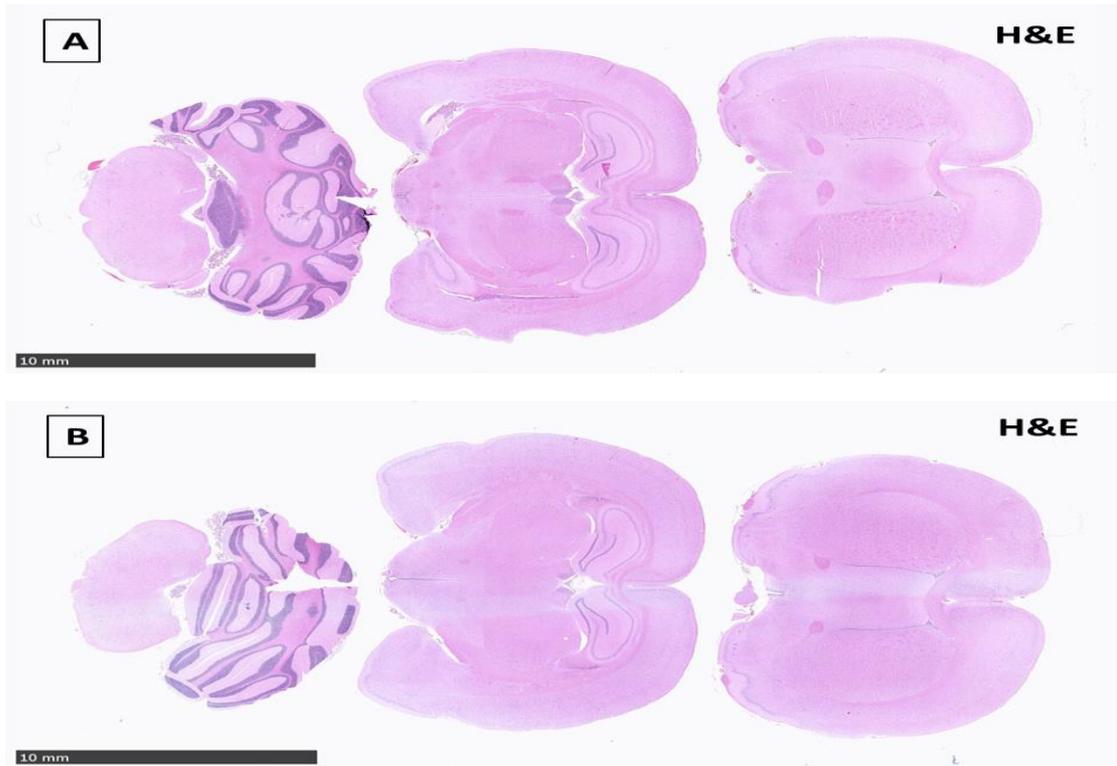


Figure 6: (A) and (B): Histological sections of the brain (H&E) in control and KI-exposed rats, respectively (scale bar 10 mm).

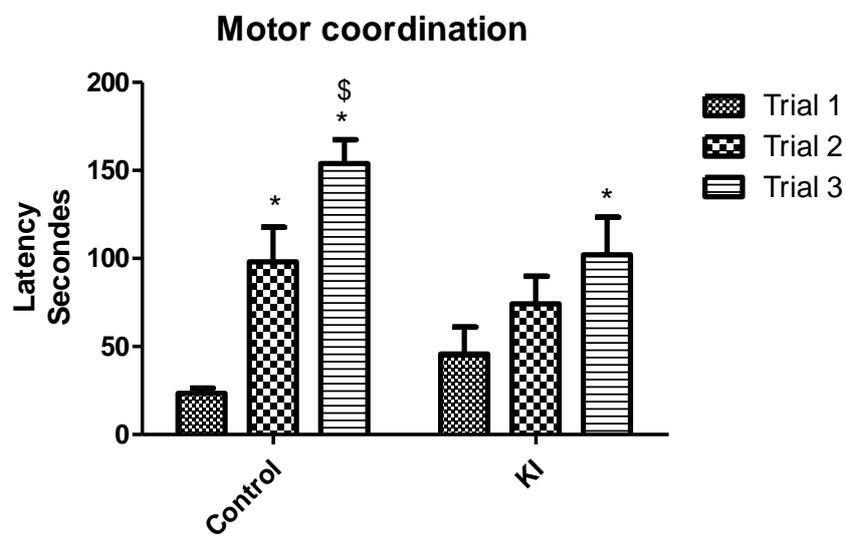


Figure 7: Rota-rod experiment including three trials for the assessment of motor coordination and learning. Data are expressed as mean \pm SEM. * $p < 0.05$ vs trial 1, \$ $p < 0.05$ vs trial 2.

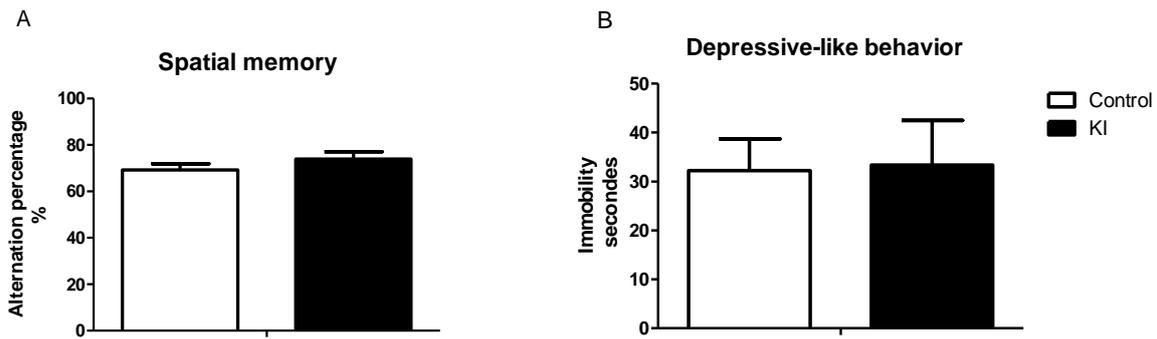


Figure 8: (A) Y maze test to assess the spatial memory and (B) forced swim test to assess the anxiety and depression status. Data are expressed as mean \pm SEM.

4. DISCUSSION

The protection of the foetal thyroid from radioactive iodine has priority in case of nuclear emergency (Verger, Aurengo et al. 2001). Clinical studies have demonstrated that children are at higher risk of inhibition of thyroid function in response to pharmacological dose of stable iodine (Chabrolle and Rossier 1978, Smerdely, Lim et al. 1989), as the degree of prematurity of new-borns is related to an increased sensitivity to iodide-induced hypothyroidism; the foetus are expected to be more sensitive to this effect. The safety of repeated administration of potassium iodide during gestation is not very-well documented (Noteboom, Hummel et al. 1997). In the present study, to deal with situation of protracted exposure to radioactive iodine, we developed an experimental model to evaluate the impact of *in utero* repeated exposure to KI on the male foetal brain development. Thirty days after the weaning, KI-exposed male progeny have a good general health status; their final body weight and thyroid weight were similar to that of non-exposed progeny. This result is in accordance with other studies that did not report an impact of intrauterine exposure to high iodine levels (I 0.01%, NaI 0.6 mg/L) on foetus body and thyroid weights (Colzani, Alex et al. 1999, Serrano-Nascimento, Salgueiro et al. 2017). The global biochemical parameters assessed at plasma and urine levels were

comparable between KI-exposed and non-exposed groups. We observed only a slight increase of urinary potassium amount, which does not exceed the biological range, and probably does not have a pathological significance. On the other hand, both TSH and FT4 levels were decreased in the KI-exposed group. This atypical hormonal pattern may indicate a trend to develop a central hypothyroidism in this group owing to hypothalamic or pituitary failure, because TSH level inappropriately decreased instead of increased in response to the low FT4 level (Clemens, Payne et al. 2011). The data from literature regarding the effect of excess iodine on the progeny hormonal status are controversial. Serrano-Nascimento et al (2017) found a decrease of T3 and T4 levels and an increase of TSH level of the progeny at post-natal day 90 (PND90) in response to excess exposure to iodine during pregnancy and lactation. Whereas Zhang et al (2012) did not report any modification of thyroid hormones and TSH level of the progeny at PND 45 in response to high iodine exposure (KIO_3 460 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) during pregnancy and lactation (Zhang, Teng et al. 2012). Colzani et al (1999) also did not report an impact of excess iodine exposure (I 0.01%) during pregnancy on the TSH level in term foetus. Since it has been described that excess iodine is associated with thyroid autoimmunity (Luo, Kawashima et al. 2014), we selected two biomarkers of thyroid autoimmunity status anti-TPO and anti-Tg. Our results showed that anti-thyroid antibodies level of KI-exposed progeny did not differ from that of non-exposed ones. To go further, we assessed the impact of *in utero* repeated exposure to KI on the expression of genes involved in thyroid hormones synthesis and secretion; our results did not show a variation of the progeny thyroid genes expression. By contrast, Serrano-Nascimento et al (2017) found that high iodine exposure during pregnancy and lactation reduced the expression of differentiation genes in the thyroid of the progeny. Moreover, in our conditions progeny's thyroid follicles size, shape and cells proliferation index were similar between KI-exposed and non-exposed groups. These results are in agreement with the genes expression result as we did not report any variation of thyroid differentiation genes

especially thyroglobulin. On the other hand, Serrano-Nascimento et al (2017) reported a reduction of the thyroid follicle's diameter and decreased colloid content within the follicles of iodine-exposed progeny.

Thyroid auto-immunity status, genes expression and morphology results reinforced our hypothesis and suggest that the reduction of thyroid hormone FT4 level is not related to an impact of iodine exposure during pregnancy on the foetus thyroid. We suspect an impact on the progeny's brain. We selected PND51 as crucial time point in the brain development of the rat (Babikian, Prins et al. 2010) to explore the effect of excess iodine exposure during pregnancy on the expression of genes in two key structures of the brain, the cerebellum and the cortex. The rat brain at PND51 is considered developmentally equivalent to the late teenager stage. Our results at cerebellum level demonstrated a significant decrease of the mRNA expression of DCX a microtubule-associated protein essential for normal neural development, widely expressed in migrating neurons during embryonic and postnatal development (Francis, Koulakoff et al. 1999, Gleeson, Lin et al. 1999). Dcx is considered as an important marker of new neurons, which mediates neuronal migration by regulating the organization and stability of microtubules (Horesh, Sapir et al. 1999, Friocourt, Koulakoff et al. 2003). Reduced DCX expression during development is related to the appearance of brain pathologies (Piens, Muller et al. 2010). It was demonstrated that iodine deficiency and hypothyroidism reduced DCX expression in rats hippocampus from PND14 onward (Gong, Dong et al. 2010). On the other hand, it was demonstrated that iodine deficiency and hypothyroidism had a biphasic effect on the expression of DCX in the cerebellum regarding the developmental window, with a reduction of DCX expression on PND 14, and an increase of its expression on PND 21 and PND 28 (Wang, Zhong et al. 2012). We also reported a significant decrease of the mRNA expression of RC3, a brain-specific gene involved in synaptic plasticity as well as learning and memory (Singec, Knoth et al. 2003). The RC3 expression clearly depends on thyroid hormones and is

regulated *via* the genomic molecular mechanism of thyroid hormone in the rat brain (Royland, Parker et al. 2008). RC3 is expressed in the cerebellar purkinje cells (Larouche, Che et al. 2006). Other studies found a relationship between the maternal or foetal hypothyroidism and a decrease of the expression of RC3 in the cortex and hippocampus of rat progeny (Dowling and Zoeller 2000, Dong, Liu et al. 2010, Sawano, Takahashi et al. 2013). At the cortex level, we surprisingly found a significant increase of mRNA expression of MBP, MOBP and Kcna1. MBP and MOBP are the foremost constituent elements in CNS myelin, and they supposedly function in myelin sheath compaction (Montague, McCallion et al. 2006), and Kcna1 plays a role in setting resting membrane potential; Neurons in Kcna1 knockout mice are more excitable and have a lower threshold for potassium currents (Brew, Hallows et al. 2003). It was suggested that the down-regulation of Kcna1 might impede the process of activity-dependent neural wiring during development, subsequently impairing the capacity for learning and memory after maturation (Kobayashi, Akune et al. 2009). Contrary to our findings, rat perinatal exposure to propylthiouracil (PTU), a potent thyroid hormone inhibitor, induced a significant decrease in the expression of MBP, MOBP and Kcna1 in the progeny cortex (Kobayashi, Akune et al. 2009). The present study demonstrate for the first time that the intrauterine repeated exposure to potassium iodide can regulate the expression of well-characterized thyroid hormone responsive genes in the progeny brain. It has been described that maternal environment during intrauterine period has a critical role in the programming of gene expression mainly through epigenetic pathway. Our data demonstrated that the global DNA methylation at the cerebellum and the cortex levels was not affected by the intrauterine repeated exposure to KI, also the expression of genes responsible of the process of methylation (Dnmt1 and Dnmt3) and demethylation (TET1 – TET2 – TET3 and TGD) was not affected by the exposure to KI (data not shown). We hypothesised that either the variation of genes expression is not due to epigenetic effect or it is due to another epigenetic mechanism that the global DNA methylation.

The haematoxylin eosin staining did not show a difference between the histology of the brain of KI-exposed and no-exposed progeny. On the other hand, the intrauterine exposure to KI led to an impairment of motor coordination evaluated by the rota-rod test, indicating the functional defect of the cerebellum. This data is consistent with the decrease of cerebellum genes expression, and in accordance with other studies that related congenital hypothyroidism to motor incoordination and to alteration of cerebellum development (Hasebe, Matsumoto et al. 2008, Shimokawa, Yousefi et al. 2014). In our conditions, spatial memory and depressive like-behavior, evaluated through Y maze and forced swim test respectively were not affected by the KI exposure. By contrast, Zhang et al. 2012 found that maternal excessive iodine intake impaired spatial memory of pups.

Based on literature data (Zhang, Teng et al. 2012, Serrano-Nascimento, Salgueiro et al. 2017) we hypothesised that the maternal repeated exposure to KI led to maternal hypothyroidism or hypothyroxinaemia, which probably led to a pups congenital hypothyroidism and impact the expression of brain TH responsive genes (figure 9).

To conclude, in our experimental conditions repeated administration of KI during pregnancy is not safe for rat male progeny; and induced an irreversible neurotoxicity. Maybe the duration of the treatment was too long or the chosen pregnancy window was not adequate. For that, in the future we will investigate the effect of repeated KI intake during pregnancy at different developmental windows, maternal data will be assessed to verify our hypothesis. Effect on female progeny will also be assessed in the future. Finally, the result of this study will contribute to the evolution of the current KI marketing authorisation, and to the update of the current iodine thyroid blocking guidelines in the case of protracted radioiodine exposure.

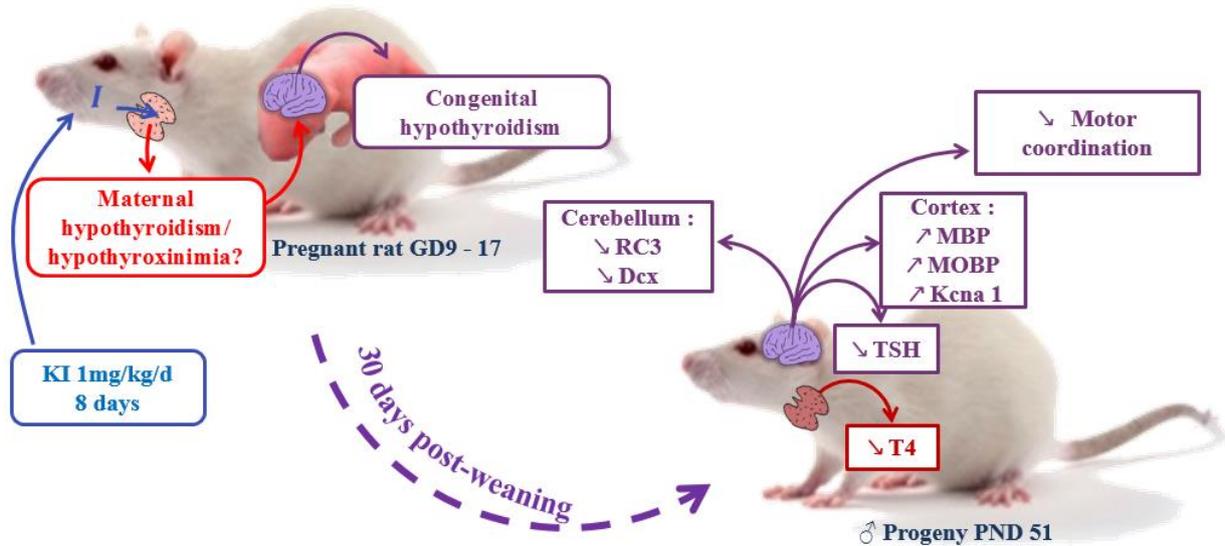


Figure 9: hypothetical mechanism of the effect of *in utero* repeated exposure of potassium iodide on the male progeny.

DECLARATION OF INTERESTS

The authors do not report conflict of interests regarding the publication of this paper.

FUNDING

This study is a part of the PRIODAC research program supported by National Research Agency.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors thank F. VOYER, A. SACHE and R. GRANGER for animal care.

REFERENCES

- Babikian, T., M. L. Prins, et al. (2010). "Molecular and physiological responses to juvenile traumatic brain injury: focus on growth and metabolism." Dev Neurosci **32**(5-6): 431-441.
- Bourin, M., F. Chenu, et al. (2005). "A proposal of decision tree to screen putative antidepressants using forced swim and tail suspension tests." Behav Brain Res **164**(2): 266-269.
- Braverman, E. R., K. Blum, et al. (2014). "Managing terrorism or accidental nuclear errors, preparing for iodine-131 emergencies: a comprehensive review." Int J Environ Res Public Health **11**(4): 4158-4200.
- Brew, H. M., J. L. Hallows, et al. (2003). "Hyperexcitability and reduced low threshold potassium currents in auditory neurons of mice lacking the channel subunit Kv1.1." J Physiol **548**(Pt 1): 1-20.
- Cao, X. Y., X. M. Jiang, et al. (1994). "Timing of vulnerability of the brain to iodine deficiency in endemic cretinism." N Engl J Med **331**(26): 1739-1744.
- Carvalho, D. P. and C. Dupuy (2017). "Thyroid hormone biosynthesis and release." Mol Cell Endocrinol **458**: 6-15.
- Chabrolle, J. P. and A. Rossier (1978). "Goitre and hypothyroidism in the newborn after cutaneous absorption of iodine." Arch Dis Child **53**(6): 495-498.
- Clemens, K., W. Payne, et al. (2011). "Central hypothyroidism." Can Fam Physician **57**(6): 677-680.
- Colzani, R. M., S. Alex, et al. (1999). "Effects of iodine repletion on thyroid morphology in iodine and/or selenium deficient rat term fetuses, pups and mothers." Biochimie **81**(5): 485-491.
- Dong, J., W. Liu, et al. (2010). "Hypothyroidism following developmental iodine deficiency reduces hippocampal neurogranin, CaMK II and calmodulin and elevates calcineurin in lactational rats." Int J Dev Neurosci **28**(7): 589-596.
- Dowling, A. L. and R. T. Zoeller (2000). "Thyroid hormone of maternal origin regulates the expression of RC3/neurogranin mRNA in the fetal rat brain." Brain Res Mol Brain Res **82**(1-2): 126-132.
- Farebrother, J., C. E. Naude, et al. (2018). "Effects of Iodized Salt and Iodine Supplements on Prenatal and Postnatal Growth: A Systematic Review." Adv Nutr **9**(3): 219-237.
- Francis, F., A. Koulakoff, et al. (1999). "Doublecortin is a developmentally regulated, microtubule-associated protein expressed in migrating and differentiating neurons." Neuron **23**(2): 247-256.
- Friocourt, G., A. Koulakoff, et al. (2003). "Doublecortin functions at the extremities of growing neuronal processes." Cereb Cortex **13**(6): 620-626.
- Gleeson, J. G., P. T. Lin, et al. (1999). "Doublecortin is a microtubule-associated protein and is expressed widely by migrating neurons." Neuron **23**(2): 257-271.
- Gong, J., J. Dong, et al. (2010). "Developmental iodine deficiency and hypothyroidism impair neural development, up-regulate caveolin-1 and down-regulate synaptophysin in rat hippocampus." J Neuroendocrinol **22**(2): 129-139.
- Hasebe, M., I. Matsumoto, et al. (2008). "Effects of an anti-thyroid drug, methimazole, administration to rat dams on the cerebellar cortex development in their pups." Int J Dev Neurosci **26**(5): 409-414.

- Hatch, M., A. Brenner, et al. (2009). "A screening study of thyroid cancer and other thyroid diseases among individuals exposed in utero to iodine-131 from Chernobyl fallout." J Clin Endocrinol Metab **94**(3): 899-906.
- Horesh, D., T. Sapir, et al. (1999). "Doublecortin, a stabilizer of microtubules." Hum Mol Genet **8**(9): 1599-1610.
- Howdeshell, K. L. (2002). "A model of the development of the brain as a construct of the thyroid system." Environ Health Perspect **3**: 337-348.
- Kobayashi, K., H. Akune, et al. (2009). "Perinatal exposure to PTU decreases expression of Arc, Homer 1, Egr 1 and Kcna 1 in the rat cerebral cortex and hippocampus." Brain Res **6**: 24-32.
- Larouche, M., P. M. Che, et al. (2006). "Neurogranin expression identifies a novel array of Purkinje cell parasagittal stripes during mouse cerebellar development." J Comp Neurol **494**(2): 215-227.
- Lebsir, D., L. Manens, et al. (2018). "Effects of repeated potassium iodide administration on genes involved in synthesis and secretion of thyroid hormone in adult male rat." Mol Cell Endocrinol **26**(18): 30077-30077.
- Luo, Y., A. Kawashima, et al. (2014). "Iodine excess as an environmental risk factor for autoimmune thyroid disease." Int J Mol Sci **15**(7): 12895-12912.
- Marques, M. R., F. Stigger, et al. (2014). "Beneficial effects of early environmental enrichment on motor development and spinal cord plasticity in a rat model of cerebral palsy." Behav Brain Res **263**: 149-157.
- Montague, P., A. S. McCallion, et al. (2006). "Myelin-associated oligodendrocytic basic protein: a family of abundant CNS myelin proteins in search of a function." Dev Neurosci **28**(6): 479-487.
- Niwattisaiwong, S., K. D. Burman, et al. (2017). "Iodine deficiency: Clinical implications." Cleve Clin J Med **84**(3): 236-244.
- Noteboom, J. L., W. A. Hummel, et al. (1997). "Protection of the maternal and fetal thyroid from radioactive contamination by the administration of stable iodide during pregnancy. An experimental evaluation in chimpanzees." Radiat Res **147**(6): 691-697.
- Pearce, E. N., J. H. Lazarus, et al. (2016). "Consequences of iodine deficiency and excess in pregnant women: an overview of current knowns and unknowns." Am J Clin Nutr **104**(3): 17.
- Piens, M., M. Muller, et al. (2010). "A short upstream promoter region mediates transcriptional regulation of the mouse doublecortin gene in differentiating neurons." BMC Neurosci **11**(64): 1471-2202.
- Rasmussen, L. B., A. Andersen, et al. (2009). "Iodine intake and food choice." Comprehensive handbook of iodine: nutritional, biochemical, pathological and therapeutic aspects: 333-338.
- Ron, E. (2007). "Thyroid cancer incidence among people living in areas contaminated by radiation from the Chernobyl accident." Health Phys **93**(5): 502-511.
- Royland, J. E., J. S. Parker, et al. (2008). "A genomic analysis of subclinical hypothyroidism in hippocampus and neocortex of the developing rat brain." J Neuroendocrinol **20**(12): 1319-1338.
- Sawano, E., M. Takahashi, et al. (2013). "Thyroid hormone-dependent development of the GABAergic pre- and post-synaptic components in the rat hippocampus." Int J Dev Neurosci **31**(8): 751-761.

- Serrano-Nascimento, C., R. B. Salgueiro, et al. (2017). "Maternal Exposure to Iodine Excess Throughout Pregnancy and Lactation Induces Hypothyroidism in Adult Male Rat Offspring." Sci Rep **7**(1): 017-15529.
- Serrano-Nascimento, C., R. B. Salgueiro, et al. (2017). "Iodine excess exposure during pregnancy and lactation impairs maternal thyroid function in rats." Endocr Connect **6**(7): 510-521.
- Shi, X., C. Han, et al. (2015). "Optimal and Safe Upper Limits of Iodine Intake for Early Pregnancy in Iodine-Sufficient Regions: A Cross-Sectional Study of 7190 Pregnant Women in China." The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism **100**(4): 1630-1638.
- Shimokawa, N., B. Yousefi, et al. (2014). "Altered cerebellum development and dopamine distribution in a rat genetic model with congenital hypothyroidism." J Neuroendocrinol **26**(3): 164-175.
- Singec, I., R. Knoth, et al. (2003). "Neurogranin expression by cerebellar neurons in rodents and non-human primates." J Comp Neurol **459**(3): 278-289.
- Smerdely, P., A. Lim, et al. (1989). "Topical iodine-containing antiseptics and neonatal hypothyroidism in very-low-birthweight infants." Lancet **2**(8664): 661-664.
- Srivastava, P., Y. K. Dhuriya, et al. (2018). "PI3K/Akt/GSK3beta induced CREB activation ameliorates arsenic mediated alterations in NMDA receptors and associated signaling in rat hippocampus: Neuroprotective role of curcumin." Neurotoxicology **30**(18): 018.
- Sternthal, E., L. Lipworth, et al. (1980). "Suppression of thyroid radioiodine uptake by various doses of stable iodide." N Engl J Med **303**(19): 1083-1088.
- T., Z. R. and R. J. (2004). "Timing of Thyroid Hormone Action in the Developing Brain: Clinical Observations and Experimental Findings." Journal of Neuroendocrinology **16**(10): 809-818.
- Verger, P., A. Aurengo, et al. (2001). "Iodine kinetics and effectiveness of stable iodine prophylaxis after intake of radioactive iodine: a review." Thyroid **11**(4): 353-360.
- Wang, Y., J. Zhong, et al. (2012). "Perinatal iodine deficiency and hypothyroidism increase cell apoptosis and alter doublecortin and reelin protein expressions in rat cerebellum." Arch Med Res **43**(4): 255-264.
- Zhang, L., W. Teng, et al. (2012). "Effect of maternal excessive iodine intake on neurodevelopment and cognitive function in rat offspring." BMC Neurosci **13**(121): 1471-2202.
- Zimmermann, M. B. (2012). "The effects of iodine deficiency in pregnancy and infancy." Paediatr Perinat Epidemiol **1**: 108-117.
- Zimmermann, M. B. and M. Andersson (2012). "Assessment of iodine nutrition in populations: past, present, and future." Nutrition Reviews **70**(10): 553-570.

ARTICLE 4

« Effect of repetitive potassium iodide on elderly rat's thyroid and
cardiovascular function»

« Effet de l'administration répétée de l'iodure de potassium sur la fonction
thyroïdienne et cardiovasculaire chez le rat âgé»

D LEBSIR, E CANTABELLA, T EBRAHIMIAN, D KERESLIDZE, A SACHE, S
GRISON, M BENDERITTER, A PECH, P LESTAEVEL and M SOUIDI

BBA journal (en préparation)

3 Résultat III : modèle à risque (rat âgé)

3.1 Résumé de l'article modèle âgé

Les recommandations de la prise du KI varient d'un pays à l'autre, en ce qui concerne la posologie en fonction de l'âge, le principal écart observé dans l'UE concerne les personnes âgées de plus de 40 à 45 ans : sept pays (Danemark, Allemagne, Hongrie, Pays-Bas, Roumanie, Slovénie et Suède) ne recommandent pas l'administration de KI au-delà de cette limite d'âge. Le risque d'induction d'un cancer de la thyroïde est négligeable chez les personnes âgées de 18 ans et plus. Par contre le risque de développement de pathologie cardiovasculaire est connu pour augmenter chez la population âgée. Ce risque peut être accentué suite à un dysfonctionnement de la thyroïde. D'où la difficulté de l'application du traitement répété du KI chez cette tranche d'âge.

Le vieillissement est associé à des modifications complexes de la fonction thyroïdienne, notamment une modification significative du taux des hormones thyroïdiennes et de la TSH. Ainsi qu'une augmentation de la production d'anticorps dirigés contre différents organes, dont la glande thyroïde. La baisse des taux circulants de T3 est un facteur de risque de décès chez les patients atteints d'insuffisance cardiaque.

Les hormones thyroïdiennes agissent directement sur le cœur et le système circulatoire, ceci par une majoration de l'effet inotrope myocardique, du rythme cardiaque et une vasodilatation périphérique entraînant une augmentation du débit cardiaque. La T3 intervient dans la régulation de la transcription des gènes dont ceux de la Ca²⁺ adénosine triphosphatase (ATPase) et du phospholamban dans le réticulum sarcoplasmique, de la myosine, des récepteurs β -adrénergiques, de l'adénylcyclase, de l'échangeur Na⁺/Ca²⁺ et des canaux potassiques voltage-dépendants. Les effets extranucléaires de la T3 sur les canaux ioniques représentent une voie alternative de l'action des hormones thyroïdiennes. De nombreuses anomalies électriques ont été rapportées dans l'hyperthyroïdie. La fibrillation auriculaire est fréquente dans l'hyperthyroïdie prédisposant à un risque emboligène. L'hypothyroïdie déclarée est quant à elle susceptible d'entraîner une insuffisance coronarienne, un épanchement péricardique, une hypertension artérielle diastolique, une myocardiopathie et une insuffisance cardiaque.

Pour évaluer les effets de la prise répétée de l'iodure de potassium sur des individus âgés, 36 rats âgés de 12 mois ont reçus huit prises consécutives soit d'une solution saline ou d'une solution d'iodure de potassium à 1mg/kg/24h. Deux temps d'évaluation ont été choisis 24h après la dernière prise (évaluation à court-terme des effets), ou 30 jours après la dernière prise (évaluation à long-terme des effets). Les échantillons d'intérêt ont été prélevés (urine - sang - thyroïde - cœur et aorte) pour effectuer diverses analyses (biochimique - hormonale - génique). Les résultats ont montré une modification du profil biochimique des paramètres urinaires de la fonction rénale, au niveau hormonal une forte tendance à la baisse du niveau de la TSH a été observée sans modification du taux de T4 et T3 libres. Au niveau génique, le traitement a engendré des modifications de l'expression de gènes clés de la fonction thyroïdienne et de la fonction cardiovasculaire. Le taux circulant des acteurs clés du système rénine angiotensine aldostérone aussi a été modifié dans le groupe traité avec une augmentation significative du taux de la rénine, une baisse significative du taux de l'aldostérone et une angiotensine II non

modifiée. Ces modifications ont été plus prononcées 30 jours après l'arrêt du traitement. On peut conclure que le traitement répété au KI chez le modèle rat âgé engendre plusieurs signatures d'effet toxicologique à long-terme. A priori ce schéma prophylactique n'est pas adapté pour ce modèle car la balance bénéfice/risque semble défavorable. Avant d'émettre un jugement définitif, les résultats des analyses fonctionnelles (ECG et arythmies) ainsi que ceux de l'analyse histopathologique pourront confirmer la nocuité de ce schéma prophylactique.

3.2 Article : Effect of repetitive potassium iodide on elderly rat's thyroid and cardiovascular functions

Effect of repetitive potassium iodide on elderly rat's thyroid and cardiovascular functions

Dalila LEBSIR^a, Elsa CANTABELLA^a, Teni EBRAHIMIAN^a, Dimitri KERESLIDZE^a,
Amandine SACHE^a, Stephane GRISON^a, Marc BENDERITTER^b, Annick PECH^c, Philippe
LESTAEVEL^a, Maâmar SOUIDI^{a*}

^a Institut de Radioprotection et de Sûreté Nucléaire (IRSN), 92262 Fontenay-aux-Roses, France

^c Pharmacie centrale des armées, Direction des Approvisionnement en produits de Santé des Armées / 45000 Orléans, France

*** Corresponding author:**

Dr. Maâmar SOUIDI

Phone: +33 (0)158359194

Fax: +33 (0)158358467

E-mail: maamar.souidi@irsn.fr

ABSTRACT

Background: To date, thyroid cancer has been the most important medical consequence of Chernobyl accident, caused by radioactive iodine (^{131}I). A single dose of potassium iodide (KI) is recommended to reduce this risk. Following Fukushima accident, it became obvious that more than one dose of KI are necessary. Knowledge about the effects of repeated KI intake are scarce and controversial. Thyroid hormones are crucial for the cardiovascular function; myocardial and vascular endothelial tissues are sensitive to subtle changes in the concentration of circulating pituitary and/or thyroid hormones. The treatment of subclinical thyroid diseases improves cardiovascular risk factors. **Objective:** In this study, we aimed to assess the effects of repeated KI intake in elderly male rats. **Methods:** A twelve months old male rats were subjected to either KI or saline solution over 8 days. Analysis were done 24h and 30 days after the treatment discontinuation. **Findings:** We reported a significant increase of some urinary parameters related to renal function, a subtle decrease of plasma TSH level, a significant increase of renin and a significant decrease of aldosterone. At the molecular level, the expression of thyroid and cardiovascular genes was significantly affected by the treatment. **Conclusion:** Our results indicate that repeated KI intake has side effects on the physiologic homeostasis of elderly rats. To go further this data should be completed by functional analysis (electrocardiogram and histopathology) to confirm the harm of the treatment. This study will contribute to the evolution of the current iodine policy and KI guidelines.

KEY WORLD: thyroid hormone – cardiovascular function – inflammation – Wolff-Chaikoff effect – repeated prophylaxis – potassium iodide.

HIGHLIGHT:

Repeated KI intake impairs the expression of genes involved thyroid and cardiovascular functions

Repeated KI intake alters biochemical profile and Renin – Angiotensin – Aldosterone – System

The risk benefit balance of repeated KI intake in elderly model is unfavorable

Introduction

Ionizing radiation is still the only established etiologic factor for thyroid cancer in humans, and the thyroid gland is one of the organs most susceptible to the carcinogenic effect of radiation. A large number of epidemiological studies have contributed knowledge on radiation induced thyroid cancer (Holm 2006). The Chernobyl nuclear power plant (NPP) released about 1.760 PBq of ¹³¹I into the environment; people were exposed to internal radiation from ingesting local milk and to external radiation from radionuclides deposit on the ground. Greater than 90% of the thyroid dose was from ingested ¹³¹I which has an 8 days half-life, and <10 % was from shorter lived radioisotopes, ¹³²I, ¹³³I and ¹³⁵I. Within few years after the accident, an increase in the occurrence of thyroid cancer was reported in the contaminated regions (Ron 2007). In the 2011 the Fukushima NPP accident raised public health concerns about an increased incidence of thyroid cancer (Reiners, Biko et al. 2013). To protect the population from this risk authorities implement a series of physical countermeasures (sheltering – food restriction and evacuation). In conjunction with a pharmacologic countermeasure which implies the intake of a single dose of potassium iodide (130 mg for adult over 12 years; 65 mg for children 3 to 12 years; 32 mg for infant 1 month to 3 years and 16 mg for neonates birth to 1 month) (WHO 2017). The optimal period of the intake of stable iodine is less than 24 hours prior to, and up to two hours after, the expected onset of exposure (Verger, Aurengo et al. 2001). It would still be reasonable to administer KI up to eight hours after the estimated onset of exposure (Zanzonico and Becker 2000). Commencing KI intake later than 24 hours following the exposure may do more harm than benefit. A single administration of stable iodine is usually sufficient. However, in the case of prolonged (beyond 24 hours) or repeated exposure, unavoidable ingestion of contaminated food and drinking water, and where evacuation is not feasible, repeated administration of stable iodine may be necessary (Reiners and Schneider 2013, WHO 2017). Neonates, pregnant and breastfeeding women and older adults (over 60 years), should not receive repeated KI intake (WHO 2017). Elderly individual over 60 years are at higher risk to develop atrial fibrillation in association with a subclinical hyperthyroidism (Delitala 2017). TH signalling is critical for proper heart function by regulating the expression of myosin heavy chain α and β . Moreover, T3 stimulates nearly all of the enzyme systems involved in Ca²⁺ and ion fluxes. TH also exerts important effects on the electrophysiological properties of cardiac myocytes and markedly affects the peripheral vascular tone (Iervasi and Nicolini 2013). Both diastolic and systolic function are strictly dependant on the thyroid hormone action. Further, the ventricular contractile function is significantly influenced by the changes of hemodynamic condition secondary to the TH-induced reduction in peripheral vascular tone. The observed rapid changes in systolic pump efficiency after TH administration strongly depends on central and peripheral hormonal effects that act synergically to improve systolic performance. In addition, the TH-induced reduction in diastolic blood pressure activates the renin-angiotensin-aldosterone axis with consequent increase in renal sodium resorption and in circulating blood volume. TH homeostasis preserves a positive ventricle-arterial coupling, thus leading to a more favourable balance to heart working (Iervasi and Nicolini 2013).

In our previous work, we demonstrated the safety of repeated administration of KI in adult *Wistar* rats (Lebsir, Manens et al. 2018). Studies regarding the effect of repeated iodine intake in elderly are scarce; and limited to the effect of the antiarrhythmic amiodarone (Bogazzi, Bartalena et al. 2010, Costache, Mogos et al. 2014, Tauveron, Batisse-Lignier et al. 2018). To our knowledge, we are the first to investigate the effect of repeated potassium iodide intake in elderly rats for the purpose of radiation protection. This work aims to characterize the effects of repeated KI intake on the thyroid function and on the cardiovascular homeostasis of the elderly using aged *Wistar* rats.

2. MATERIALS AND METHODS

2.1 Experimental procedure

2.1.1 Materials

NaCl (pH 7.4) and potassium iodide solution (0.35 g/L), were kindly provided by central pharmacy of armies (Orleans, France)

2.1.2 Animals

Male *Wistar* rats, aged 12 months, weighing 547.24 ± 5.69 g, were purchased from Charles River Laboratories (L'arbresle, France); and housed under controlled conditions of temperature ($21 \pm 2^\circ\text{C}$), humidity ($50 \pm 10\%$) and regular dark/light cycle (12h/12h). Normal-iodized pellet diet 0.3 mg I/Kg pellet (A04-10 SAFE, Augy, France) and tap water were available *ad-libitum*. All experimental procedures were approved by the Animal Care Committee of the institute of radioprotection and nuclear safety, and complied with French regulation for animal experimentation (Ministry of agriculture Act No.87-848, October 19th 1987, modified May 20th 2001).

2.1.3 Experimental groups

In order to evaluate the effect of repeated administration of potassium iodide, rats were divided into two groups, and each group has its own control group as follows:

Group 1 (d9): 7 rats / condition, receiving eight consecutive administrations of KI (1mg/kg/24h) or saline solution, and euthanized 24 h later.

Group 2 (d38): 11 rats / condition, receiving eight consecutive administrations of KI (1mg/kg/24h) or saline solution, and euthanized 30 days post-prophylaxis.

As shown in figure 1, the treatment was carried out by gastric gavage; treated rats received 1mL of KI solution whereas their matched control groups were given 1 mL of saline solution.

2.1.4 Organs and biofluids collection

Before euthanasia, rats were placed in individual metabolic cages for 24h, with free access to food and water. Urine was collected twice a day, and refrigerated at + 4°C to limit bacterial growth, fractions were pooled, mixed, and centrifuged (3000 rpm/10 min); supernatants were frozen at - 80°C. After that, rats were euthanized by intracardiac puncture under isoflurane 5% (Abbot France, Rungis, France), blood was collected in heparinized tubes after that centrifuged (3,000 rpm/10min) and the supernatant was immediately frozen at - 80°C. Thyroid, heart and aorta were dissected on ice, deep-frozen in liquid nitrogen, and then stored at -80°C.

2.2 Technical procedure

2.2.1 Biochemical assays

Biochemical indicators were measured in plasma and urine samples with an automated spectrophotometric system Konelab 20i (Thermo Fisher Scientific, Cergy-Pontoise, France), with the manufacturer's biological chemistry reagent (Brahms, Asnières sur Seine, France). The plasma biomarkers measured were lipids (cholesterol, triglycerides, and phospholipids B), substrates (total protein), electrolytes (calcium, phosphorus, iron, chloride, potassium and sodium), cardiac markers (creatine kinase (CK), its isoform (CK-MB) and lactate dehydrogenase (LDH)), liver markers (alanine aminotransferase (ALAT), aspartate aminotransferase (ASAT)), and kidney markers (creatinine and urea). In the urine sample, we measured kidney markers (creatinine, urea and uric acid), substrates (urinary proteins) and electrolytes (calcium, phosphorus, chloride, potassium and sodium). Phospholipid B (Diagnostic partners, Bormes Les Mimosas, France) and LDH (Diagam, Lille, France) indicators were adapted on the spectrophotometric system.

2.2.2 Hormonal parameters assay

Plasma thyroid-stimulating hormone (TSH) was determined with the TSH rat ELISA kit from MP Biomedicals (Illkirch-Graffenstaden, France). Plasma free triiodothyronine (FT3) and free thyroxine (FT4) levels were determined by immunoassay on an IMMULITE[®] 2000 system from Siemens (Saint-Denis, France).

2.2.3 Renin – angiotensin – aldosterone system (RAA)

The hormonal assays for renin and angiotensin II were performed using the "Enzyme-Linked Immunosorbent Assay Kit for Renin" and "Enzyme-Linked Immunosorbent Assay kit for Angiotensin II" kits (Cloud-Clone Corp. USA) which include the test protocols. Absorbance reading was performed at 450 nm. The dosage of aldosterone was made from the kit "ALDOSTERONE Chemiluminescent Immunoassay Kit" (Arbor assays, USA) whose detection limit was determined at 2.35 pg / mL. The apparatus used for reading the absorbance is Tecan (France). For aldosterone, the use of the Berthold automaton (Technoogies, Germany) allowed the reading of the absorbance at a rate of 0.1 seconds per well.

2.2.4 Real-time PCR

Total RNA was extracted from both thyroid lobes, heart and aorta (≈ 25 mg), using mirVana™ miRNA Isolation Kit (Ambion, cat.no.1560). 1 μ g of total RNA was reversely transcribed using High-Capacity cDNA Reverse Transcription Kit (Applied Biosystems, Courtaboeuf, France) according to the manufacturer's instructions. Real-time qPCR was performed with quantStudio 12K Flex Real-Time PCR System (Thermo Fisher scientific, Cergy Pontoise, France). Taqman primers (applied biosystems, Courtaboeuf, France) were used to analyse the mRNA levels in thyroid, heart and aorta (table1). Relative changes of genes mRNA expression in KI exposed samples were calculated using $2^{-\Delta\Delta Ct}$ method; GAPDH and ACTB were used as internal controls. Results are expressed as mean \pm SEM.

2.3 Statistical analysis

Results are expressed as mean \pm SEM, Student's t-test was routinely performed for statistical analysis of data assuming that the data are normally distributed with equal variance. Otherwise, the non-parametric Mann-Whitney Rank Sum Test was performed. Differences were considered statistically significant when $p \leq 0.05$.

3. RESULTS

3.1 Repeated potassium iodide intake impairs biochemical status

At short-term 24h post-prophylaxis, repeated KI intake, induce a decrease of plasma proteins level. On the other hand, at long-term repeated KI intake induces a significant increase of plasma creatinine level and urinary (chlorine, potassium, sodium, uric acid, urea, creatinine and glucose) levels (table2).

3.2 Repeated potassium iodide intake does not impair hormonal status

The figure 2 shown that repeated KI induce à slight trend to downregulation of plasma TSH level 30 days post-prophylaxis, free T4 and T3 levels were similar to those of controls.

3.3 Repeated potassium iodide intake impairs renin – angiotensin – aldosterone system

At short-term, plasma (renin, angiotensin and aldosterone) levels were similar between treated and control groups, after 30 days we observe a significant increase of renin and a significant decrease of aldosterone. Angiotensin remains unchanged.

3.3 Repeated potassium iodide intake impairs thyroid genes expression

As shown in figure 4, 24h post-prophylaxis, repeated KI intake induces a significant decrease of NIS – TPO – DUOXa2 – Tg and MCT8 mRNA expression. After thirty days, we observe a significant increase of AIT and Tg mRNA expression and a significant decrease of TSHR mRNA expression.

3.3 Repeated potassium iodide intake impairs cardiovascular genes expression

At cardiac level, we do not observe any modification of cardiac genes expression at 24 h post-prophylaxis (figure 5A). Thirty days after we observe a significant decrease of MHC α – SERCA2 and Kv4.2 mRNA expression (figure 5B).

At endothelial level, 24h post-prophylaxis we have a significant increase of ICAM1 and VCAM1 mRNA expression and a significant decrease of TGFB mRNA expression. Thirty days after, we observe a significant decrease of ICAM1 and VCAM1 mRNA expression and a significant increase of IL1B mRNA expression.

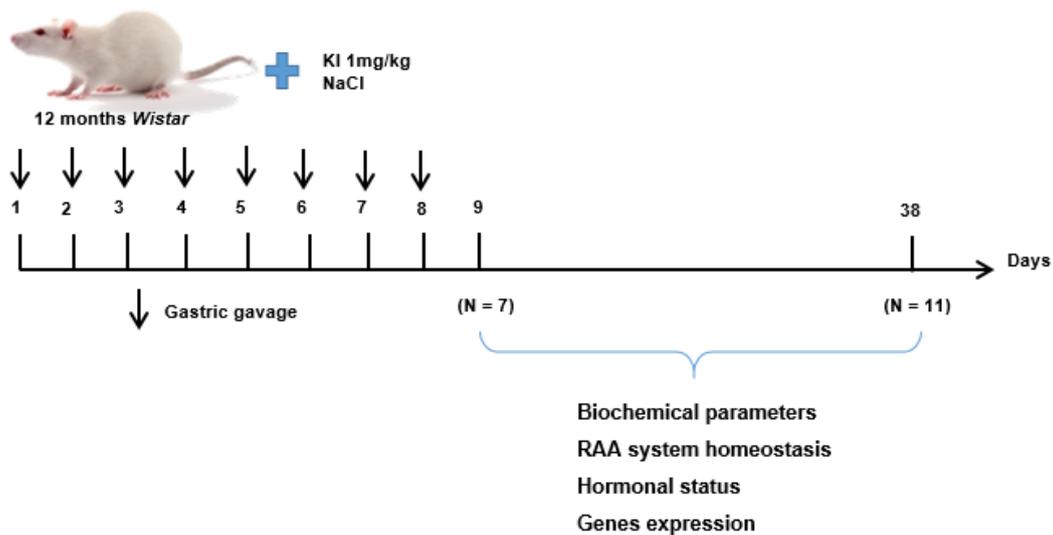


Figure 1: Prophylactic design of repeated intake of KI in elderly rat.

Table 1 : Taqman primers.

Genes	Assay ID number	Gènes	Référence des amorces
Oxidative stress		Cardiac function	
Cat	Rn00560930_m1	Atp2a2-SERCA2	Rn00568762_m1
Sod1	Rn00566938_m1	Pln	Rn01434045_m1
Sod2	Rn00690588_g1	MHC β	Rn01488777_g1
Inflammation		MHC α	Rn00691721_g1
IL6	Rn01410330	Kv4.2	Rn00581941_m1
Tnf	Rn99999017_m1	Kv4.3	Rn04339183_m1
Tgfb1	Rn00572010_m1	KChIP2	Rn01411450_g1
IL18	Rn01422083	Thyroid function	
		TSHR	Rn00563612_m1
IL1b	Rn00580432_m1	NIS	Rn00583900_m1
Endothelial function		AIT	Rn01503812_m1
VEGFa	Rn01511602_m1	PDS	Rn00570082_m1
		Tg	Rn00667257_g1
		TPO	Rn00571159_m1
Vcam1	Rn00563627_m1	MCT8	Rn00596041_m1
Icam1	Rn00564227_m1	DUOX2	Rn00666512_m1
eNOS	Rn02132634_s1	DUOXa2	Rn01512829_g1

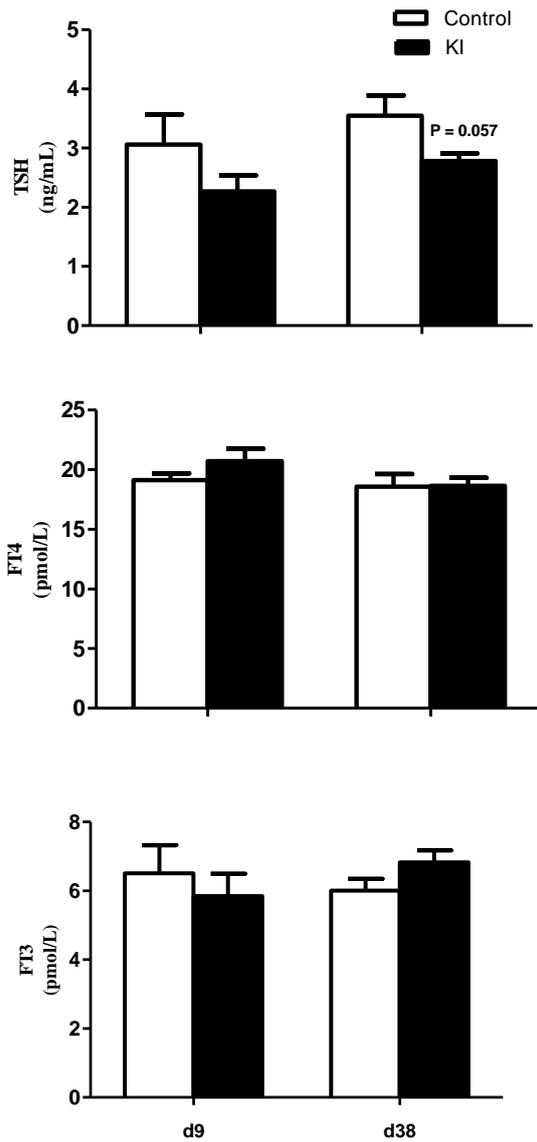


Figure 2: Plasmatic levels of thyrotropine (TSH) and, thyroid hormones free thyroxine (FT4) and free triiodothyronine (FT3). Data are expressed as Mean \pm SEM. Triiodothyronine (FT3). Data are expressed as Mean \pm SEM.

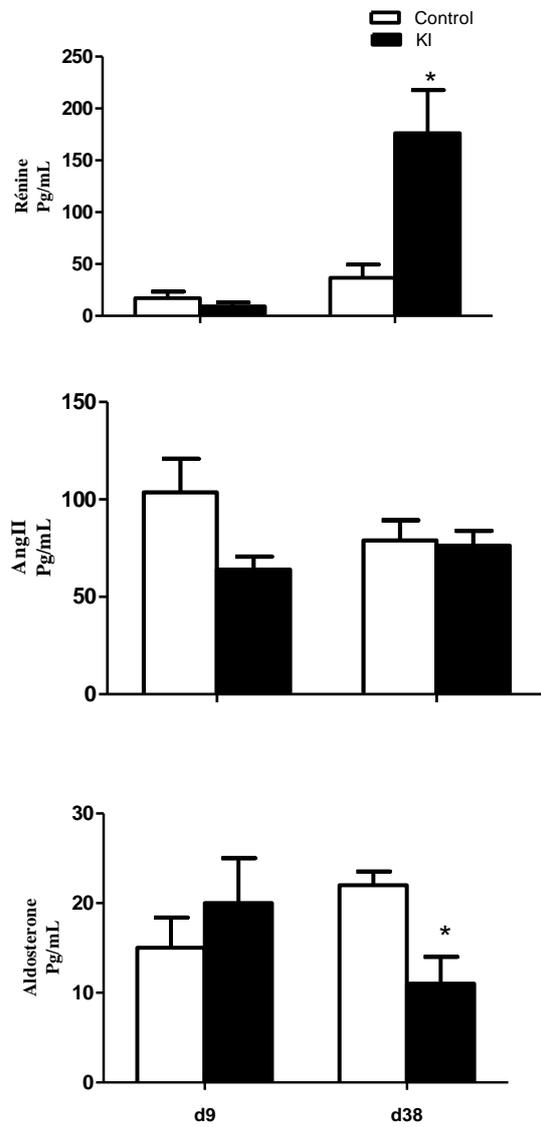


Figure 3: plasmatic level of renin, angiotensin II and aldosterone. Data are expressed as mean \pm SEM. * $p < 0.05$ vs control.

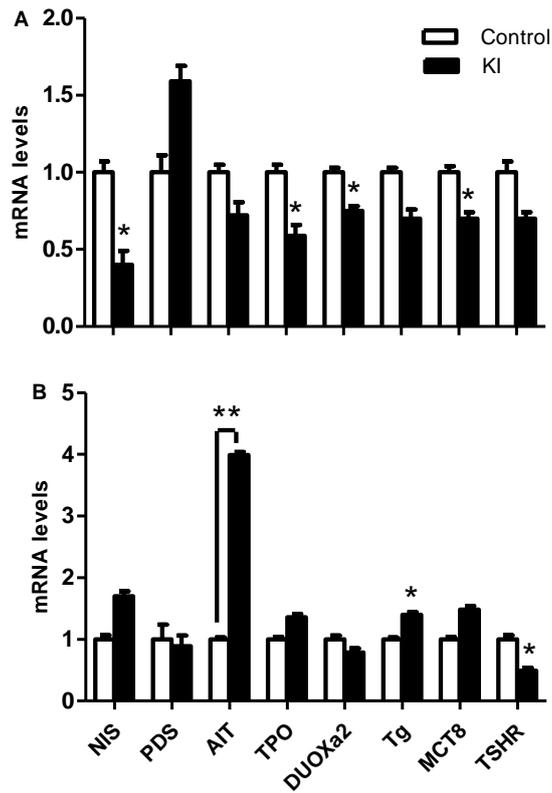


Figure 4: mRNA expression level of thyroid genes involved in iodine transport (NIS – PDS and AIT), iodine organification (TPO – DUOX2 and Tg), thyroid hormone transport (MCT8) and thyroid control (TSHR). (A): d9, 24h post-prophylaxis, (B): d38, 30 days post-prophylaxis. The results are expressed as a ratio to GAPDH and ACTB mRNA level. Data are expressed as Mean \pm SEM.

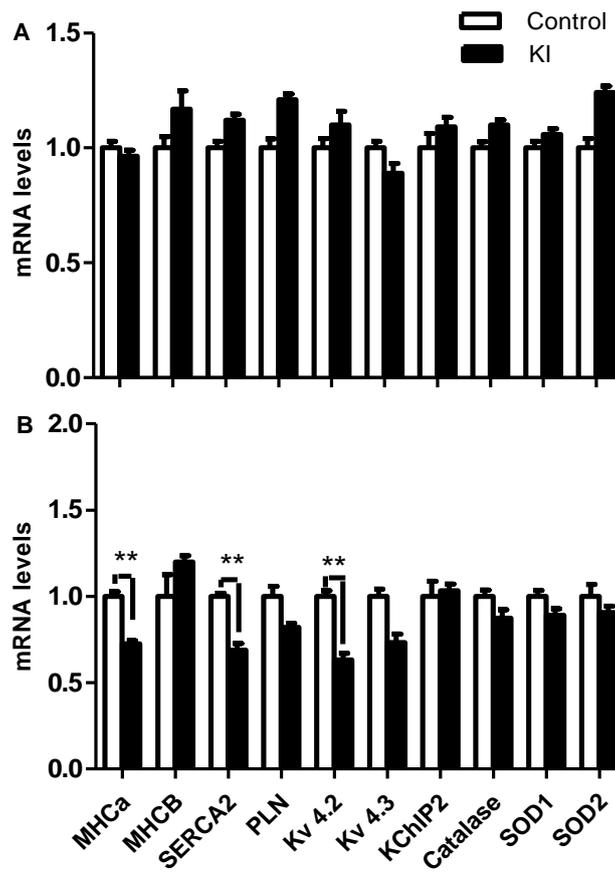


Figure 5: mRNA expression level of heart genes involved in cardiac function (MHCa – MHCB – SERCA2 – PLN – Kv 4.2 – Kv 4.3 and KCHIP2) and oxidative stress (Catalase – SOD1 and SOD2). (A): d9, 24h post-prophylaxis, (B): d38, 30 days post-prophylaxis. The results are expressed as a ratio to GADPH and ACTB mRNA level. Data are expressed as Mean \pm SEM.

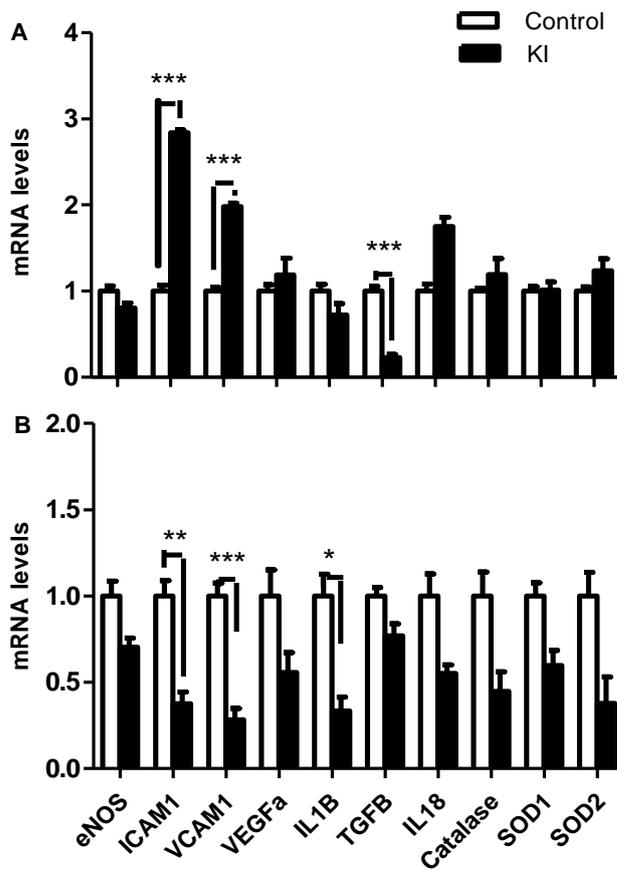


Figure 6: mRNA expression level of heart genes involved in endothelial function (eNOS – ICAM1 – VCAM1 and VEGFa), inflammation (IL1B – TGFb and IL18) and oxidative stress (Catalase – SOD1 and SOD2). (A): d9, 24h post-prophylaxis, (B): d38, 30 days post-prophylaxis. The results are expressed as a ratio to GADPH and ACTB mRNA level. Data are expressed as Mean \pm SEM.

Table2: general status and biochemical parameters

parameters	d9		d38	
	Control	KI (1mg/kg/24h)	Control	KI (1mg/kg/24h)
General indicators				
Final body weight (g)	532.00 ± 26.50	561.00 ± 82.73	556.88 ± 21.82	555.92 ± 21.22
TW/BW Ratio	5.23 ^{E-05} ± 2.05 ^{E-06}	5.54 ^{E-05} ± 8.70 ^{E-06}	6.18 ^{E-05} ± 5.88 ^{E-06}	6.39 ^{E-05} ± 3.42 ^{E-06}
HW/BW Ratio	2.51 ^{E-03} ± 1.16 ^{E-04}	2.41 ^{E-03} ± 3.71 ^{E-04}	2.58 ^{E-03} ± 5.09 ^{E-05}	2.50 ^{E-03} ± 6.02 ^{E-05}
Plasma biomarkers				
Cholesterol (mmol/L)	1.92 ± 0.14	1.73 ± 0.13	2.61 ± 0.09	2.69 ± 0.23
HDL cholesterol (mmol/L)	1.69 ± 0.22	1.91 ± 0.15	1.47 ± 0.12	1.42 ± 0.10
LDL cholesterol	0.43 ± 0.08	0.35 ± 0.06	0.28 ± 0.05	0.34 ± 0.05
Phospholipids B (g/L)	1.35 ± 0.07	1.26 ± 0.12	2.15 ± 0.21	2.03 ± 0.15
Triglycerides (mmol/L)	1.15 ± 0.15	0.94 ± 0.30	2.13 ± 0.52	1.88 ± 0.45
Total proteins (g/L)	65.82 ± 1.81	59.90 ± 2.94*	78.81 ± 2.88	86.45 ± 4.62
Calcium (mmol/L)	3.13 ± 0.08	3.11 ± 0.09	3.40 ± 0.05	3.52 ± 0.16
Phosphorus (mmol/L)	1.74 ± 0.08	1.51 ± 0.05	1.58 ± 0.07	1.81 ± 0.10
Iron (µmol/L)	9.33 ± 0.29	8.37 ± 0.67	10.62 ± 0.87	12.47 ± 0.92
Chlorine (mmol/L)	108.75 ± 3.68	113.27 ± 2.86	106.08 ± 1.36	97.61 ± 2.40 *
Potassium (mmol/L)	5.07 ± 0.34	4.59 ± 0.23	4.68 ± 0.09	4.18 ± 0.35
Sodium (mmol/L)	161.99 ± 3.80	158.61 ± 3.90	142.02 ± 1.26	148.36 ± 5.74
ALAT (U/L)	24.03 ± 1.31	26.70 ± 2.85	30.45 ± 4.32	34.57 ± 3.00
ASAT (U/L)	68.74 ± 5.44	84.66 ± 5.74	100.06 ± 5.93	112.61 ± 6.24
Creatinine (µM)	53.74 ± 2.00	56.45 ± 1.63	65.92 ± 3.35	77.83 ± 3.35 *

RESULTAT III : Modèle à risque (Rat âgé)

Urea (mM)	5.77 ± 0.33	6.27 ± 0.43	6.89 ± 0.35	7.52 ± 0.40
CK (U/L)	133.21 ± 21.51	148.64 ± 23.45	154.47 ± 20.10	142.36 ± 14.11
CK-MB (U/L)	336.18 ± 38.04	321.53 ± 54.26	264.17 ± 35.72	284.99 ± 23.87
Glucose (µmol/L)	10.19 ± 0.43	10.75 ± 0.67	13.21 ± 0.94	15.74 ± 0.87
Urine biomarkers				
Chlorine (mmol/24h)	1.50 ± 0.32	2.04 ± 0.25	1.91 ± 0.13	2.45 ± 0.19 *
Potassium (mmol/24h)	1.90 ± 0.24	2.16 ± 0.33	2.23 ± 0.09	2.71 ± 0.17 *
Sodium (mmol/24h)	1.06 ± 0.12	1.02 ± 0.15	1.32 ± 0.08	1.71 ± 0.11 *
Phosphorus (mmol/24h)	0.18 ± 0.05	0.26 ± 0.07	0.39 ± 0.05	0.47 ± 0.09
Calcium (µmol/24h)	56.27 ± 19.30	62.90 ± 12.25	90.37 ± 8.93	101.30 ± 13.11
Urinary proteins (mg/24h)	5.81 ± 1.97	4.58 ± 1.56	29.36 ± 16.55	13.06 ± 2.67
Uric acid (µM/24h)	14.97 ± 1.93	13.78 ± 1.00	15.21 ± 1.00	20.08 ± 1.56 *
Urea (Mm/24h)	11.78 ± 1.32	13.51 ± 1.25	14.83 ± 0.87	18.67 ± 1.02 **
Creatinine (µM/24h)	133.82 ± 13.80	155.74 ± 13.08	147.04 ± .48	199.63 ± 11.44 **
Glucose (µmol/24h)	10.58 ± 1.7	9.69 ± 0.78	14.92 ± 1.80	21.15 ± 1.78 *

4. DISCUSSION

Proper management of chronic diseases is a priority for the various healthcare systems around the world, due to their significant economic burden and because these diseases are the main cause of death and overall disability. Heart failure (HF) is one of these conditions, The lifetime risk of HF at 55 years of age is 33% in males and 28% in females. Also, the proper function and maintenance of thyroid hormones (THs) is of biological and medical significance (Vargas-Uricoechea and Bonelo-Perdomo 2017). TH is a critical regulator of cardiac growth and development, and its homeostasis is essential for optimal function of cardiovascular system (Mitchell, Hellkamp et al. 2013, Grais and Sowers 2014). Thyroid hormones synthesis depends on a iodine availability as major substrat (van der Spek, Fliers et al. 2017), any variation in iodine level could led to thyroid dysfunction and by the way impairs other body function as cardiovascular homeostasis (Vargas-Uricoechea and Bonelo-Perdomo 2017).

In situation of repeated radioactive iodine release during nuclear accident, it is suggested that repeated intake of stable iodine could be a good solution to protect against the incidence of thyroid cancer. It has been clearly demonstrated that excess of iodine inhibit transiently thyroid function and thyroid hormones synthesis (Wolff and Chaikoff 1948). In adult population, the safety of repeated potassium iodide intake was demonstrated in different species (Sterthal, Lipworth et al. 1980, Kunii, Uruno et al. 2016, Lebsir, Manens et al. 2018). However, the data regarding the use of stable iodine in elderly are scarce and imply the use of antiarrhythmic amiodarone to deal with cardiovascular dysfunction, the repeated use of amiodarone (200 mg contains 75 mg of iodine) lead to multiple thyroid dysfunctions (Bogazzi, Bartalena et al. 2010, Costache, Mogos et al. 2014, Tauveron, Batisse-Lignier et al. 2018). Indeed, in this elderly population, one concern is the benefit / risk balance between avoiding thyroid cancer and developing cardiovascular dysfunction. For the first time, our work allows the evaluation of repeated stable iodine prophylaxis in 12-months-old male *Wistar* rats, model mimicking the elderly population.

In our experimental conditions, elderly rats were in good general status: their final body and organs weight does not differ from those of untreated group; this result is in accordance with our previous study and other studies that did not report an impact of repeated iodine intake on the body and / or organs weight (Yoshida, Mukama et al. 2014, Zhang, Jiang et al. 2016, Lebsir, Manens et al. 2018). Routine biochemical evaluation reveals a significant long-term impact of repeated treatment on plasmatic and urinary biochemical status; thirty days after the treatment discontinuation, we observe a significant increase of plasma creatinine level and (Cl⁻, Na⁺, k⁺, uric acid, creatinine, urea and glucose) levels in the urine. In the literature, elevation of creatinine is largely used as a biomarker of kidney dysfunction, which is associated with increased risk of adverse outcomes, including cardiovascular events (Peralta, Shlipak et al. 2011). In addition to renal biomarkers, Na⁺ variations leads us to think about a disturbance of renin – angiotensin – aldosterone system. The evaluation of plasma level of the key actors of this system reveals a significant increase of renin concertation and significant decrease of aldosterone, whereas, angiotensin II level was not modified. This profile is atypical, we hypothesis a regulation through angiotensin conversion enzyme or the contribution of an independent renin pathway.

It is well described, that an excess of iodine may transiently inhibit the thyroid function, the well-known Wolff-Chaikoff effect (Wolff and Chaikoff 1948), in our study the evaluation of thyroid hormones level show that free T4 and T3 levels were similar to those of controls. On the other hand, we get a slight trend to the downregulation of TSH level at thirty days after treatment discontinuation, this trend can be related to a trend to develop a subclinical hyperthyroidism. Contrariwise, in the literature it has been reported that aging caused a decrease in serum or plasma levels of T3 and T4 (Tang 1985, Buttrick, Malhotra et al. 1991).

To go further, we investigated the effect of repeated KI intake at the molecular level. In the thyroidal level we observe a reversible Wolff-Chaikoff effect, at 24 h post-prophylaxis we get a significant decrease of the mRNA expression of key actors of thyroid hormone synthesis (NIS, TPO, DUOXa2 and MCT8) this result is in accordance with our previous study (Lebsir, Manens et al. 2018). And thirty days post-prophylaxis the expression of these genes resumed, we get

essentially a significant decrease of TSH receptor mRNA expression, this result comply with the hormonal trend to TSH down-regulation.

At the cardiac level, we do not observe any short terme effect of KI, but thirty days post-prophylaxis we observe a sinificant downregulation of main genes involved in cardiac contactility and calcium homeostasis. This down-regulation may be the result of repeated KI intake as well as aging factor (Iemitsu, Miyauchi et al. 2004).

Finally, at the endothelial level, we observe an opposit effect of repeated traitement time-dependant. At 24h post-prophylaxis, we observe a significant increase of ICAM1 and VCAM1 Mrna expression level, on the other hand, thirty days post-prophylaxis we get a significant increse of the mRNA expression of these genes. We suggest that the effect was reversible.

According to these data, we can conclude that the benifit /risk balance of repeated KI intake in elderly model rat is defavorable. Before issuing a final jugement it will be intersted to assess functional parameters as electrocardiogram and to do histopathological analysis of the target organs, to get more certainty about our findings. Our study will contribute to the evolution of the current iodine policy.

ACKNOWLEDGMENTS

This study was part of the PRIODAC research program supported by ANR-RSNR. The authors thank F. VOYER and A. SACHE for animal care.

Conflict of Interests

The authors do not report conflict of interests regarding the publication of this paper.

REFERENCES

- Bogazzi, F., L. Bartalena and E. Martino (2010). "Approach to the patient with amiodarone-induced thyrotoxicosis." J Clin Endocrinol Metab **95**(6): 2529-2535.
- Buttrick, P., A. Malhotra, S. Factor, D. Greenen, L. Leinwand and J. Scheuer (1991). "Effect of aging and hypertension on myosin biochemistry and gene expression in the rat heart." Circ Res **68**(3): 645-652.
- Costache, L., V. Mogos, C. Preda, C. Vulpoi and M. C. Ungureanu (2014). "Therapeutic particularities in amiodarone induced thyroid disorder in patients with underlying cardiac condition." Rev Med Chir Soc Med Nat Iasi **118**(4): 959-964.
- Delitala, A. P. (2017). "Subclinical Hyperthyroidism and the Cardiovascular Disease." Horm Metab Res **49**(10): 723-731.
- Grais, I. M. and J. R. Sowers (2014). "Thyroid and the heart." Am J Med **127**(8): 691-698.
- Holm, L.-E. (2006). "Thyroid cancer after exposure to radioactive ¹³¹I." Acta Oncologica **45**(8): 1037-1040.
- Iemitsu, M., T. Miyauchi, S. Maeda, T. Tanabe, M. Takanashi, M. Matsuda and I. Yamaguchi (2004). "Exercise training improves cardiac function-related gene levels through thyroid hormone receptor signaling in aged rats." Am J Physiol Heart Circ Physiol **286**(5): H1696-1705.
- Iervasi, G. and G. Nicolini (2013). "Thyroid hormone and cardiovascular system: from basic concepts to clinical application." Intern Emerg Med **8 Suppl 1**: S71-74.
- Kunii, Y., T. Uruno, K. Mukasa, K. Sekiya, K. Iwaku, A. Suzuki, K. Sugino, J. Yoshimura Noh and K. Ito (2016). "Inhibitory effect of low-dose inorganic iodine on thyroidal radioactive iodine uptake in healthy Japanese adults." Endocr J **63**(1): 21-27.
- Lebsir, D., L. Manens, S. Grison, P. Lestaevel, T. Ebrahimian, D. Suhard, G. Phan, I. Dublineau, K. Tack, M. Benderitter, A. Pech, J. R. Jourdain and M. Souidi (2018). "Effects of repeated potassium iodide administration on genes involved in synthesis and secretion of thyroid hormone in adult male rat." Mol Cell Endocrinol **26**(18): 30077-30077.
- Mitchell, J. E., A. S. Hellkamp, D. B. Mark, J. Anderson, G. W. Johnson, J. E. Poole, K. L. Lee and G. H. Bardy (2013). "Thyroid function in heart failure and impact on mortality." JACC Heart Fail **1**(1): 48-55.
- Peralta, C. A., M. G. Shlipak, S. Judd, M. Cushman, W. McClellan, N. A. Zakai, M. M. Safford, X. Zhang, P. Muntner and D. Warnock (2011). "Detection of chronic kidney disease with creatinine, cystatin C, and urine albumin-to-creatinine ratio and association with progression to end-stage renal disease and mortality." Jama **305**(15): 1545-1552.
- Reiners, C., J. Biko, H. Haenscheid, H. Hebestreit, S. Kirinjuk, O. Baranowski, R. J. Marlowe, E. Demidchik, V. Drozd and Y. Demidchik (2013). "Twenty-five years after Chernobyl:

outcome of radioiodine treatment in children and adolescents with very high-risk radiation-induced differentiated thyroid carcinoma." J Clin Endocrinol Metab **98**(7): 3039-3048.

Reiners, C. and R. Schneider (2013). "Potassium iodide (KI) to block the thyroid from exposure to I-131: current questions and answers to be discussed." Radiat Environ Biophys **52**(2): 189-193.

Ron, E. (2007). "Thyroid cancer incidence among people living in areas contaminated by radiation from the Chernobyl accident." Health Phys **93**(5): 502-511.

Sternthal, E., L. Lipworth, B. Stanley, C. Abreau, S. L. Fang and L. E. Braverman (1980). "Suppression of thyroid radioiodine uptake by various doses of stable iodide." N Engl J Med **303**(19): 1083-1088.

Tang, F. (1985). "Effect of sex and age on serum aldosterone and thyroid hormones in the laboratory rat." Horm Metab Res **17**(10): 507-509.

Tauveron, I., M. Batisse-Lignier and S. Maqdasy (2018). "[Challenges in the management of amiodarone-induced thyrotoxicosis]." Presse Med.

van der Spek, A. H., E. Fliers and A. Boelen (2017). "The classic pathways of thyroid hormone metabolism." Mol Cell Endocrinol **18**(17): 30029-30021.

Vargas-Uricoechea, H. and A. Bonelo-Perdomo (2017). "Thyroid Dysfunction and Heart Failure: Mechanisms and Associations." Curr Heart Fail Rep **14**(1): 48-58.

Verger, P., A. Aurengo, B. Geoffroy and B. Le Guen (2001). "Iodine kinetics and effectiveness of stable iodine prophylaxis after intake of radioactive iodine: a review." Thyroid **11**(4): 353-360.

WHO (2017). "Iodine thyroid blocking : Guidelines for use in planning for and responding to radiological and nuclear emergencies." Geneva: World Health Organization; 2017. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.

Wolff, J. and I. L. Chaikoff (1948). "Plasma inorganic iodide as a homeostatic regulator of thyroid function." J Biol Chem **174**(2): 555-564.

Yoshida, M., A. Mukama, R. Hosomi, K. Fukunaga and T. Nishiyama (2014). "Serum and tissue iodine concentrations in rats fed diets supplemented with kombu powder or potassium iodide." J Nutr Sci Vitaminol **60**(6): 447-449.

Zanzonico, P. B. and D. V. Becker (2000). "Effects of time of administration and dietary iodine levels on potassium iodide (KI) blockade of thyroid irradiation by ¹³¹I from radioactive fallout." Health Phys **78**(6): 660-667.

Zhang, X., Y. Jiang, W. Han, A. Liu, X. Xie, C. Han, C. Fan, H. Wang, H. Zhang, S. Ding, Z. Shan and W. Teng (2016). "Effect of Prolonged Iodine Overdose on Type 2 Iodothyronine Deiodinase Ubiquitination-Related Enzymes in the Rat Pituitary." Biol Trace Elem Res **174**(2): 377-386.

DISCUSSION GENERALE

L'accident de la centrale nucléaire de Fukushima au Japon en 2011, où les rejets d'éléments radioactifs (I131) ont eu lieu sur plusieurs jours (Reiners and Schneider 2013) a de nouveau mis la lumière sur les limites de la contremesure pharmacologique appliquée en situation accidentelle.

Suite à cet accident, plusieurs questions d'ordre scientifique ont été évoquées au niveau national, afin de trouver des solutions pour mieux gérer des accidents du même scénario.

Une des questions majeures est la prophylaxie à l'iodure de potassium. La doctrine et les lignes directrices actuelles de la prise de l'iodure de potassium consistent en une prise unique, renouvelable éventuellement une seconde fois chez la population adulte (WHO 2017, Vidal 2018). Face à un accident où le relargage d'éléments radioactifs est répété comme celui de Fukushima, les autorités compétentes se trouvent démunies et ne peuvent pas recommander une prise répétée d'iodure de potassium à cause du manque de données pharmacologiques et toxicologiques sur ce sujet.

Pourtant, on prenant en compte la pharmacocinétique et l'efficacité de l'iodure de potassium pour la protection de la glande thyroïde (24h) (Verger, Aurengo et al. 2001, Phan, Rebiere et al. 2017), ainsi que le retour d'expérience des accidents précédents comme celui de Tchernobyl (relargage d'I131 sur plusieurs jours), une administration répétée d'iodure de potassium est sans aucun doute indispensable pour la protection adéquate de la glande thyroïde durant la période du relargage.

De ce fait, et en ayant très peu d'études spécifiques en radioprotection sur la prophylaxie répétée, il est nécessaire d'entreprendre des recherches scientifiques pour faire évoluer la doctrine, les lignes directrices et l'autorisation de mise sur le marché des comprimés de KI.

En effet, quelques études se sont intéressées à cette problématique de prise répétée de l'iode stable, en 1980 suite à l'accident de Three Mile Island, l'équipe de Strenthal et ses collègues a montré que la prise journalière de 100 mg de KI pendant 12 jours chez des adultes protégée adéquatement la thyroïde sans modification du statut hormonal (T4 – T3 et TSH) (Strenthal, Lipworth et al. 1980). Suite à l'accident de Fukushima, une équipe japonaise a montré que la prise journalière de 10 mg de KI pendant 15 jours chez des adultes protège adéquatement la glande thyroïde, mais avec comme conséquence une baisse du taux de la TSH et des taux normaux de T4 et T3 (Kunii, Uruno et al. 2016). En terme d'études précliniques, l'équipe de Noteboom et ses collègues a montré l'innocuité de prise répétée de KI chez deux modèles de primate non humain (*in utero* et jeune) (Noteboom, Hummel et al. 1997, Noteboom, Hummel et al. 1997). Les autres études précliniques chez les modèles rongeurs à différents stades de développement ont montré des effets controversés. Tandis que quelques études montrent un effet toxique de la prise répétée (Eng, Cardona et al. 1999, de Souza, Dias et al. 2015, Calil Silveira, Serrano do Nascimento et al. 2016), d'autres assurent l'innocuité de la prise répétée (Serrano-Nascimento, Calil-Silveira et al. 2010, Solis, Villalobos et al. 2011, Calil-Silveira, Serrano-Nascimento et al. 2012, Arriagada, Albornoz et al. 2015).

Globalement, ces études montrent dans certaines conditions que la prise répétée d'iodure de potassium pourrait être une bonne option en terme de bénéfice / protection à envisager en cas d'exposition répétée aux iodes radioactifs.

C'est ainsi, suite à l'accident de Fukushima au Japon en mars 2011, qu'en France le programme de recherche PRIODAC (ANR/RSNR) «prophylaxie répétée à l'iode stable en situation accidentelle » a été lancé en 2014. Les objectifs de ce projet consistaient à apporter de nouvelles données précliniques concernant les modalités d'administration répétée de KI en situation accidentelle réitérée, les conséquences biologiques attribuables à l'administration répétée du KI et les mécanismes moléculaires du métabolisme de l'iode. Ce projet comprend également des études de bonne pratique de laboratoire. Les résultats des études précliniques et des études de bonne pratique de laboratoire sont dédiés à fournir des éléments de preuve pour faire évoluer l'autorisation de mise sur le marché des comprimés de KI. Le fait de pouvoir prolonger la période de la prise de KI permettra en situation extrême (eg : accident nucléaire + catastrophe naturelle) une meilleure gestion de l'accident et le temps nécessaire pour mettre les autres mesures de protection en œuvre, en particulier l'évacuation.

Des études pharmacocinétique / pharmacodynamique effectuées à l'Institut de Radioprotection et de Sureté Nucléaire ont abouti à la détermination d'une dose optimale (dose minimale efficace/saturation de la thyroïde par le KI) de KI à 1 mg/kg/ 24h (Phan, Rebiere et al. 2017) et d'un nouveau schéma prophylactique sur huit jours.

Au cours de ce travail de thèse, nous nous sommes attachés à évaluer et décrire les conséquences biologiques d'une administration répétée de cette dose optimale de KI sur la fonction thyroïdienne chez le rat.

Les analyses étaient effectuées à court-terme (24 h post-prophylaxie) et à long-terme (30 jours post-prophylaxie) pour évaluer la réversibilité des effets qui peuvent avoir lieu à court terme ou les signatures à long-terme attribuables au traitement.

Suite à l'application du traitement répété chez le modèle de référence « rat *Wistar* adulte », à court-terme nous avons obtenu un effet Wolff-Chaikoff au niveau génique sans modifications endocrinologiques, le niveau plasmatique de T3 – T4 et TSH été identique à celui des témoins. Le poids des animaux et des organes cibles n'a pas été affecté par le traitement. A long-terme, nous avons remarqué un échappement à l'effet Wolff-Chaikoff, et aucune signature transcriptomique ou histopathologique n'a été attribuée au traitement répété au niveau de la thyroïde (Lebsir, Cohen et al. 2018, Lebsir, Manens et al. 2018). Ces résultats sont en accord avec d'autres études qui n'ont pas rapporté d'effet sur la fonction thyroïdienne après traitement répété au KI (Serrano-Nascimento, Calil-Silveira et al. 2010, Solis, Villalobos et al. 2011, Calil-Silveira, Serrano-Nascimento et al. 2012, Arriagada, Albornoz et al. 2015). Nos résultats du modèle de référence ont servi de données d'entrée à la Pharmacie Centrale des Armées (PCA), qui à son tour a lancé des études de bonne pratique de laboratoire (BPL) chez deux espèces, le rat et le chien. Ces études ont confirmé nos constatations quant à l'innocuité de la prise répétée chez le modèle adulte. Ainsi, avec les résultats obtenus suite aux études BPL, une marge de

sécurité est établie entre les doses animales sans effet toxique et les posologies humaines envisagées. L'évolution du dossier de l'AMM du KI est en cours.

Ces résultats obtenus en pré-clinique sur le modèle adulte nous ont encouragés à s'intéresser à d'autres tranches de populations dites sensibles tels que la femme enceinte et particulièrement le fœtus. En effet dans la littérature, il a bien été décrit que le risque majeur de développement du cancer de la thyroïde est constaté chez la sous-population jeune de moins de 18 ans au moment de l'accident (Cardis, Kesminiene et al. 2005). Un des groupe les plus à risque est celui des femmes enceintes et leur progénitures. Le fœtus durant la phase de gestation dépend essentiellement de l'apport maternel en hormones thyroïdiennes (Howdeshell 2002). La thyroïde fœtale n'est opérationnelle qu'à partir de la 10-12^{ème} semaine (jour embryonnaire 17 chez le rat) (Choksi, Jahnke et al. 2003). La moindre perturbation de la fonction thyroïdienne maternelle peut avoir un impact sur l'apport des hormones au fœtus et notamment sur le développement du système nerveux central (SNC) de ce dernier. Donc, le défi est de protéger la maman sans impacter son métabolisme thyroïdien et de ce fait protéger d'une manière adéquate le fœtus et assurer le bon développement de son SNC. Dans notre étude, l'administration répétée du KI aux rates gestantes (E9 à E17 : fenêtre critique de développement de la thyroïde et du SNC du fœtus) (Howdeshell 2002), a provoqué une modification atypique du profil hormonal avec une baisse simultanée du niveau de la T4 et de la TSH. Dans la littérature, il est bien décrit qu'un tel profil est associé à une atteinte hypothalamique ou hypophysaire (Clemens, Payne et al. 2011). L'expression des gènes impliqués dans la synthèse des hormones thyroïdiennes au niveau de la thyroïde n'a pas été modifiée par l'exposition *in utero* au traitement répété au KI, ce qui favorise l'hypothèse que l'atteinte a probablement eu lieu au niveau cérébrale. L'expression d'un large panel de gènes impliqués dans un certain nombre de fonctions de deux structures clés du cerveau (cervelet et cortex) a montré une modification de l'expression à la hausse ou à la baisse d'un nombre considérable de gènes. Ces modifications au niveau hormonal et au niveau génique ont abouti à un phénotype modifié. Les rats issus de rates traitées durant la gestation ont développé un déséquilibre de la coordination motrice. Certaines données de la littérature ont montré l'innocuité sur le plan hormonal de la prise répétée du KI chez la progéniture de primates traités durant la gestation (Noteboom, Hummel et al. 1997). En revanche, nos résultats s'accorde avec d'autres études qui ont montré un effet du traitement durant la gestation sur le développement du SNC de la progéniture (Zhang, Teng et al. 2012, Serrano-Nascimento, Salgueiro et al. 2017). Ainsi, nos résultats montrent la nocuité de la prise répétée du KI chez cette sous-population sensible, la balance bénéfice /risque est défavorable. L'hypothèse qu'on peut émettre est la survenue d'une hypothyroïdie ou d'une hypothyroxinémie maternelle qui a causé l'hypothyroïdie congénitale chez la progéniture, la variation du statut hormonal maternelle durant la gestation a probablement impacté le développement du SNC fœtal. Pour vérifier cette hypothèse, une étude de toxicocinétique est indispensable sur les rates gestantes et sur leurs fœtus. Les résultats de cette étude ont fait l'objet dans le cadre de l'ANR/RSNR d'une demande d'extension du projet PRIODAC, qui été approuvée et acceptée par l'agence nationale de recherche Française. Durant la phase d'extension, d'autres fenêtres de développement seront envisagées et l'hypothèse

émise sera vérifiée. Ces résultats seront utilisés comme données d'entrée par la PCA pour lancer les études BPL. Ils serviront à alimenter la doctrine de l'iode et à l'évolution de l'autorisation de mise sur le marché des comprimés du KI spécifique aux femmes enceintes.

Durant les accidents nucléaires en terme de radioprotection de l'Homme, il existe un groupe pour lequel les recommandations de la prise de KI diffèrent d'un pays à un autre. Au-delà d'une limite d'âge de 40 – 45 ans, contrairement à la France, sept pays au niveau Européen ne recommandent pas l'administration de KI pour cette tranche d'âge (Reiners, Schneider et al. 2016). D'une part car le risque de développement du cancer est négligeable (Reiners and Schneider 2013), et d'autre part car le risque de développement de dysfonctions thyroïdiennes et cardiovasculaire est plus récurrent (Goichot B and F. 2011). En prenant en compte le facteur psychologique, il s'avère nécessaire de trouver des réponses concernant la balance bénéfique / risque d'une prise répétée de KI chez cette sous-population à risque à fin de fournir une protection adéquate et d'harmoniser les pratiques entre les différents pays.

À notre connaissance, nous sommes les premiers à étudier les effets de l'administration répétée du KI chez la population âgée dans le cadre de contres mesures suite à un accident nucléaire. Dans la littérature, les études combinant prise répétée d'iode et population âgée se limitent essentiellement à la prise de l'anti-arythmique amiodarone chez les personnes âgées manifestant des dysfonctions cardiovasculaires. L'amiodarone contient 75 mg d'iode dans sa constitution et il est administré sur une longue période. Cela conduit au développement de pathologie thyroïdiennes (hypo ou hyperthyroïdie) chez la majorité des patients (Bogazzi, Bartalena et al. 2010, Costache, Mogos et al. 2014, Tauveron, Batisse-Lignier et al. 2018). Sur la base de ces données de littérature, on peut déduire qu'il existe une forte relation entre âge, problèmes cardiovasculaires et atteinte thyroïdienne.

Dans cette thèse, nous avons développé un modèle expérimental d'étude consistant à une prise répétée de la dose optimale du KI 1mg/kg/24 pendant huit jours chez des rats âgés de 12 mois. Nos résultats montrent que la prophylaxie répétée a provoqué une tendance à la baisse du taux de la TSH sans modification des taux de T4 et T3. Un déséquilibre du statut biochimique urinaire, essentiellement des paramètres rénaux a été mis en évidence. Le système Rénine-angiotensine- aldostérone plasmatique a été significativement impacté par le traitement. Enfin au niveau génique, l'expression de plusieurs gènes impliqués dans la fonction thyroïdienne et la fonction cardiovasculaire a été modifiée par le traitement répété au KI. Sur la base de ces résultats, il est clair que la balance bénéfique / risque du traitement répété est défavorable pour le modèle expérimental âgé. Etant donné la susceptibilité et la sensibilité de ce modèle, la prise répétée du KI ne semble pas adéquate. Il semble nécessaire que cette sous-population « sensible » ait la priorité en terme de contremesures vu la nocuité de la mesure pharmacologique au KI. Mais avant d'émettre un jugement définitif, il est nécessaire de compléter ces résultats par des analyses fonctionnelles (électrocardiogramme et évaluation des arythmies) et par une analyse histopathologique des organes cibles (thyroïde – cœur et aorte). Ces analyses sont actuellement en cours de traitement. Comme pour les études précédentes de

cette thèse, les résultats du modèle âgé seront utilisés comme données d'entrée par la PCA et serviront à alimenter la doctrine de l'iode.

CONCLUSIONS & PERSPECTIVES

Cette thèse a permis d'effectuer un travail exploratoire dans le cadre du programme PRIODAC visant à évaluer et à décrire les effets toxicologiques d'une prise répétée d'iodure de potassium sur la fonction thyroïdienne et des fonctions physiologiques majeurs tel que le système nerveux central et le système cardiovasculaire, chez le rat à différents stades de développement (*in utero* – adulte et âgé). Les différentes études expérimentales réalisées ont permis de mettre en évidence les points suivants :

- ✓ La prophylaxie répétée à l'iodure de potassium à 1mg/Kg/24h est bien adaptée pour le modèle rat adulte, ces résultats étant confirmés par les études BPL. Ces deux études précliniques amènent la preuve de principe d'une prophylaxie adaptée sur le plan pharmacologique et toxicologique et donc pourrait être appliquée afin de protéger pendant plusieurs jours la population adulte en situation d'accident nucléaire avec des rejets d'iodes radioactifs réitérés. Cela permettra une bonne gestion en terme organisationnel de l'accident nucléaire en complémentarité avec les autres contremesures (mise à l'abri, restriction alimentaire et évacuation). Ainsi, à partir de ces études fondamentales et expérimentales, les résultats du modèle adulte seront mis en application afin de faire évoluer l'autorisation de mise sur le marché des comprimés de KI, démontrant ainsi l'importance du projet PRIODAC dans le cadre de la radioprotection de l'Homme.
- ✓ La prophylaxie répétée à l'iodure de potassium à 1mg/Kg/24h n'est pas adaptée au modèle à risque en croissance (*in utero*). Probablement, une variation du statut hormonal maternelle (en cours de gestation) a conduit à une hypothyroïdie congénitale qui a perturbé le développement du SNC fœtale.
- ✓ La prophylaxie répétée à l'iodure de potassium à 1mg/Kg/24h n'est pas adaptée au modèle à risque en phase de vieillissement (âgé). La toxicité observée dans notre étude est probablement associée à des effets biologiques thyroïdiens et cardiovasculaires infra-cliniques pouvant conduire à un dysfonctionnement cardiovasculaire.

Dans cette thèse, le traitement répété à l'iodure de potassium à 1mg/Kg/24h est adapté pour le modèle expérimental adulte, en revanche la balance bénéfice / risque est défavorable pour les modèle sensible à risque tels que le fœtus et l'individu âgé.

Ces études précliniques auront vraisemblablement un rôle primordial dans la réflexion national et international quant à l'usage de comprimés de KI en situation accidentelle, et participeront à l'évolution de la doctrine et des lignes directrices de l'iode.

Il convient toutefois de préciser que ces observations découlent directement de conditions expérimentales effectuées chez l'animal et qu'elles ne peuvent pas être extrapolées à l'Homme telles quelles. Des études de bonne pratique de laboratoire établissant une marge de sécurité entre la dose animale (deux espèces au minimum) sans effets toxiques et les posologies humaines

envisagées, indiqueraient dans quelle mesure les résultats de cette thèse pourraient être transposés du rongeur à l'Homme.

Les études réalisées au cours de cette thèse ont permis de répondre à la problématique posée. En effet, nous avons décrit les effets biologiques induits après une administration répétée d'une dose optimale du KI.

Ainsi, les résultats de ce travail de thèse ouvrent plutôt des perspectives à long-terme. Nous pouvons d'ors et déjà définir deux perspectives spécifiques aux deux modèles à risque :

- ✓ Concernant le modèle *in utero*, durant la phase d'extension du projet PRIODAC, il serait intéressant :
 - D'évaluer l'effet du traitement répété à différentes fenêtres du développement fœtal ;
 - De modifier le schéma prophylactique en raccourcissant la durée du traitement, à fin d'aboutir à une protection adéquate de la progéniture sans perturbation du développement du SNC ;
 - D'effectuer une étude toxico-cinétique sur les mères et la progéniture, afin de vérifier l'hypothèse de l'hypothyroïdie congénitale.

- ✓ Concernant le modèle âgé, avant de transmettre les données à la pharmacie centrale des armées dans le but de lancer les études BPL et faire évoluer l'AMM, il serait nécessaire :
 - D'analyser les données fonctionnelles (électrocardiogramme et arythmies), ainsi que les données de l'étude histopathologique au niveau thyroïdien et cardiovasculaire. Ces analyses, actuellement en cours, permettront de confirmer ou pas nos constatations sur la nocuité de la prise répétée du KI chez cette population ;
 - D'effectuer des études de bonne pratique de laboratoire pour avoir une idée plus précise quant à l'effet de la prise répétée du KI chez d'autres espèces, afin de faire évoluer l'AMM de KI et de pouvoir harmoniser les pratiques de la mesure pharmacologique pour cette tranche d'âge.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Afink, G., W. Kulik, H. Overmars, J. de Randamie, T. Veenboer, A. van Cruchten, M. Craen and C. Ris-Stalpers (2008). "Molecular characterization of iodotyrosine dehalogenase deficiency in patients with hypothyroidism." *J Clin Endocrinol Metab* **93**(12): 4894-4901.
- al-Adsani, H., L. J. Hoffer and J. E. Silva (1997). "Resting energy expenditure is sensitive to small dose changes in patients on chronic thyroid hormone replacement." *J Clin Endocrinol Metab* **82**(4): 1118-1125.
- Albi, E., S. Cataldi, A. Lazzarini, M. Codini, T. Beccari, F. S. Ambesi-Impiombato and F. Curcio (2017). "Radiation and Thyroid Cancer." *Int J Mol Sci* **18**(5).
- Alt, B., S. Reibe, N. M. Feitosa, O. A. Elsalini, T. Wendl and K. B. Rohr (2006). "Analysis of origin and growth of the thyroid gland in zebrafish." *Dev Dyn* **235**(7): 1872-1883.
- Alvarez-Dolado, M., M. Ruiz, J. A. Del Rio, S. Alcantara, F. Burgaya, M. Sheldon, K. Nakajima, J. Bernal, B. W. Howell, T. Curran, E. Soriano and A. Munoz (1999). "Thyroid hormone regulates reelin and dab1 expression during brain development." *J Neurosci* **19**(16): 6979-6993.
- Ameziane-El-Hassani, R., S. Morand, J. L. Boucher, Y. M. Frapart, D. Apostolou, D. Agnandji, S. Gnidehou, R. Ohayon, M. S. Noel-Hudson, J. Francon, K. Lalaoui, A. Virion and C. Dupuy (2005). "Dual oxidase-2 has an intrinsic Ca²⁺-dependent H₂O₂-generating activity." *J Biol Chem* **280**(34): 30046-30054.
- Ameziane-El-Hassani, R., M. Schlumberger and C. Dupuy (2016). "NADPH oxidases: new actors in thyroid cancer?" *Nature Reviews Endocrinology* **12**: 485.
- Andrade, B. M., R. L. Araujo, R. L. S. Perry, E. C. L. Souza, J. M. Cazarin, D. P. Carvalho and R. B. Ceddia (2011). "A novel role for AMP-kinase in the regulation of the Na⁺/I⁻-symporter and iodide uptake in the rat thyroid gland." *American Journal of Physiology-Cell Physiology* **300**(6): C1291-C1297.
- Arriagada, A. A., E. Albornoz, M. C. Opazo, A. Becerra, G. Vidal, C. Fardella, L. Michea, N. Carrasco, F. Simon, A. A. Elorza, S. M. Bueno, A. M. Kalergis and C. A. Riedel (2015). "Excess iodide induces an acute inhibition of the sodium/iodide symporter in thyroid male rat cells by increasing reactive oxygen species." *Endocrinology* **156**(4): 1540-1551.
- Awais, D., Y. Shao and F. Ismail-Beigi (2000). "Thyroid hormone regulation of myocardial Na/K-ATPase gene expression." *J Mol Cell Cardiol* **32**(11): 1969-1980.
- Aycan, Z., H. Cangul, M. Muzza, V. N. Bas, L. Fugazzola, V. K. Chatterjee, L. Persani and N. Schoenmakers (2017). "Digenic DUOX1 and DUOX2 Mutations in Cases With Congenital Hypothyroidism." *J Clin Endocrinol Metab* **102**(9): 3085-3090.
- Babikian, T., M. L. Prins, Y. Cai, G. Barkhoudarian, I. Hartonian, D. A. Hovda and C. C. Giza (2010). "Molecular and physiological responses to juvenile traumatic brain injury: focus on growth and metabolism." *Dev Neurosci* **32**(5-6): 431-441.
- Balazs, R., S. Kovacs, P. Teichgraber, W. A. Cocks and J. T. Eayrs (1968). "Biochemical effects of thyroid deficiency on the developing brain." *J Neurochem* **15**(11): 1335-1349.
- Barbe, P., D. Larrouy, C. Boulanger, E. Chevillotte, N. Viguerie, C. Thalamas, M. Oliva Trastoy, M. Roques, H. Vidal and D. Langin (2001). "Triiodothyronine-mediated up-regulation of UCP2 and UCP3 mRNA expression in human skeletal muscle without coordinated induction of mitochondrial respiratory chain genes." *Faseb j* **15**(1): 13-15.
- Bassett, J. H. and G. R. Williams (2016). "Role of Thyroid Hormones in Skeletal Development and Bone Maintenance." *Endocr Rev* **37**(2): 135-187.
- Bassett, J. H. D., C. B. Harvey and G. R. Williams (2003). "Mechanisms of thyroid hormone receptor-specific nuclear and extra nuclear actions." *Molecular and Cellular Endocrinology* **213**(1): 1-11.
- Beck, H. L. and B. G. Bennett (2002). "Historical overview of atmospheric nuclear weapons testing and estimates of fallout in the continental United States." *Health Phys* **82**(5): 591-608.

- Benderitter, M., T. Pourcher, J. C. Martin, J. Darcourt, P. Guigon, F. Caire-Maurisier, A. Pech, D. Lebsir, C. Rosique, J. Guglielmi, F. Rebiere, K. Tack, G. Phan, P. Lestaevel, M. Souidi and J. R. Jourdain (2018). "DO MULTIPLE ADMINISTRATIONS OF STABLE IODINE PROTECT POPULATION CHRONICALLY EXPOSED TO RADIOACTIVE IODINE: WHAT IS PRIODAC RESEARCH PROGRAM (2014-22) TEACHING US?" Radiat Prot Dosimetry.
- Berndorfer, U., H. Wilms and V. Herzog (1996). "Multimerization of thyroglobulin (TG) during extracellular storage: isolation of highly cross-linked TG from human thyroids." J Clin Endocrinol Metab **81**(5): 1918-1926.
- Berry, M. J., L. Banu and P. R. Larsen (1991). "Type I iodothyronine deiodinase is a selenocysteine-containing enzyme." Nature **349**(6308): 438-440.
- Berson, S. A., R. S. Yalow, J. Sorrentino and B. Roswit (1952). "The determination of thyroidal and renal plasma I131 clearance rates as a routine diagnostic test of thyroid dysfunction." J Clin Invest **31**(2): 141-158.
- Bianco, A. C., X. Y. Sheng and J. E. Silva (1988). "Triiodothyronine amplifies norepinephrine stimulation of uncoupling protein gene transcription by a mechanism not requiring protein synthesis." J Biol Chem **263**(34): 18168-18175.
- Blum, W. F., P. Englaro, A. M. Attanasio, W. Kiess and W. Rascher (1998). "Human and clinical perspectives on leptin." Proc Nutr Soc **57**(3): 477-485.
- Bogazzi, F., L. Bartalena and E. Martino (2010). "Approach to the patient with amiodarone-induced thyrotoxicosis." J Clin Endocrinol Metab **95**(6): 2529-2535.
- Bourin, M., F. Chenu, N. Ripoll and D. J. David (2005). "A proposal of decision tree to screen putative antidepressants using forced swim and tail suspension tests." Behav Brain Res **164**(2): 266-269.
- Bouville, A., M. S. Linet, M. Hatch, K. Mabuchi and S. L. Simon (2014). "Guidelines for exposure assessment in health risk studies following a nuclear reactor accident." Environ Health Perspect **122**(1): 1-5.
- Braverman, E. R., K. Blum, B. Loeffke, R. Baker, F. Kreuk, S. P. Yang and J. R. Hurley (2014). "Managing terrorism or accidental nuclear errors, preparing for iodine-131 emergencies: a comprehensive review." Int J Environ Res Public Health **11**(4): 4158-4200.
- Brent, G. A. (2012). "Mechanisms of thyroid hormone action." J Clin Invest **122**(9): 3035-3043.
- Brew, H. M., J. L. Hallows and B. L. Tempel (2003). "Hyperexcitability and reduced low threshold potassium currents in auditory neurons of mice lacking the channel subunit Kv1.1." J Physiol **548**(Pt 1): 1-20.
- Buttrick, P., A. Malhotra, S. Factor, D. Greenen, L. Leinwand and J. Scheuer (1991). "Effect of aging and hypertension on myosin biochemistry and gene expression in the rat heart." Circ Res **68**(3): 645-652.
- Bychkov, A. (2018). "Thyroid gland General Embryology." PathologyOutlines.com website. <http://www.pathologyoutlines.com/topic/thyroidembryology.html>.
- Cahnmann, H. J., J. Pommier and J. Nunez (1977). "Spatial requirement for coupling of iodotyrosine residues to form thyroid hormones." Proc Natl Acad Sci U S A **74**(12): 5333-5335.
- Calil-Silveira, J., C. Serrano-Nascimento and M. T. Nunes (2012). "Iodide treatment acutely increases pendrin (SLC26A4) mRNA expression in the rat thyroid and the PCCL3 thyroid cell line by transcriptional mechanisms." Mol Cell Endocrinol **350**(1): 118-124.
- Calil Silveira, J., C. Serrano do Nascimento, R. Cardoso Laconca, L. Schmiedecke, R. Barrera Salgueiro, A. Kimidi Kondo and M. T. Nunes (2016). "Underlying mechanisms of pituitary-thyroid axis function disruption by chronic iodine excess in rats." Thyroid **26**: 26.
- Cannon, B. and J. Nedergaard (2004). "Brown adipose tissue: function and physiological significance." Physiol Rev **84**(1): 277-359.

- Cao, X. Y., X. M. Jiang, Z. H. Dou, M. A. Rakeman, M. L. Zhang, K. O'Donnell, T. Ma, K. Amette, N. DeLong and G. R. DeLong (1994). "Timing of vulnerability of the brain to iodine deficiency in endemic cretinism." *N Engl J Med* **331**(26): 1739-1744.
- Cardis, E., A. Kesminiene, V. Ivanov, I. Malakhova, Y. Shibata, V. Khrouch, V. Drozdovitch, E. Maceika, I. Zvonova, O. Vlassov, A. Bouville, G. Goulko, M. Hoshi, A. Abrosimov, J. Anoshko, L. Astakhova, S. Chekin, E. Demidchik, R. Galanti, M. Ito, E. Korobova, E. Lushnikov, M. Maksioutov, V. Masyakin, A. Nerovnia, V. Parshin, E. Parshkov, N. Piliptsevich, A. Pinchera, S. Polyakov, N. Shabeka, E. Suonio, V. Tenet, A. Tsyb, S. Yamashita and D. Williams (2005). "Risk of thyroid cancer after exposure to ¹³¹I in childhood." *J Natl Cancer Inst* **97**(10): 724-732.
- Carling, T. and R. Udelsman (2014). "Thyroid cancer." *Annu Rev Med* **65**: 125-137.
- Carrasco, N. (1993). "Iodide transport in the thyroid gland." *Biochim Biophys Acta* **8**(1): 65-82.
- Carvalho, D. P. and C. Dupuy (2017). "Thyroid hormone biosynthesis and release." *Mol Cell Endocrinol* **458**: 6-15.
- Carvalho, D. P., D. Rosenthal and M. M. Breitenbach (1987). "Analysis of thyroglobulins 27S and 19S and their hormonal content in human thyroid glands." *Braz J Med Biol Res* **20**(3-4): 415-418.
- Cavalieri, R. R. (1997). "Iodine metabolism and thyroid physiology: current concepts." *Thyroid* **7**(2): 177-181.
- Cazarin, J. M., B. M. Andrade and D. P. Carvalho (2014). "AMP-activated protein kinase activation leads to lysosome-mediated NA⁺/I⁻-symporter protein degradation in rat thyroid cells." *Hormone and Metabolic Research* **46**(5): 313-317.
- Celi, F. S., M. Zemskova, J. D. Linderman, S. Smith, B. Drinkard, V. Sachdev, M. C. Skarulis, M. Kozlosky, G. Csako, R. Costello and F. Pucino (2011). "Metabolic effects of liothyronine therapy in hypothyroidism: a randomized, double-blind, crossover trial of liothyronine versus levothyroxine." *J Clin Endocrinol Metab* **96**(11): 3466-3474.
- Chabrolle, J. P. and A. Rossier (1978). "Goitre and hypothyroidism in the newborn after cutaneous absorption of iodine." *Arch Dis Child* **53**(6): 495-498.
- Chen, W., E. Owsley, Y. Yang, D. Stroup and J. Y. Chiang (2001). "Nuclear receptor-mediated repression of human cholesterol 7 α -hydroxylase gene transcription by bile acids." *J Lipid Res* **42**(9): 1402-1412.
- Chen, X. Y., C. H. Lin, L. H. Yang, W. G. Li, J. W. Zhang, W. W. Zheng, X. Wang, J. Qian, J. L. Huang and Y. X. Lei (2015). "The Effect on Sodium/Iodide Symporter and Pendrin in Thyroid Colloid Retention Developed by Excess Iodide Intake." *Biol Trace Elem Res* **11**: 11.
- Choksi, N. Y., G. D. Jahnke, C. St Hilaire and M. Shelby (2003). "Role of thyroid hormones in human and laboratory animal reproductive health." *Birth Defects Res B Dev Reprod Toxicol* **68**(6): 479-491.
- Clemens, K., W. Payne and S. H. Van Uum (2011). "Central hypothyroidism." *Can Fam Physician* **57**(6): 677-680.
- Colzani, R. M., S. Alex, S. L. Fang, S. Stone and L. E. Braverman (1999). "Effects of iodine repletion on thyroid morphology in iodine and/or selenium deficient rat term fetuses, pups and mothers." *Biochimie* **81**(5): 485-491.
- Cort, M. D. (1998). *Atlas of caesium deposition on Europe after the Chernobyl accident [cartographic material] = Atlas zagriazneniia Evropy tseziem posle chernobylskoi avarii / [M. De Cort ... [et al.]].* Luxembourg, Office for Official Publications of the European Communities.
- Corvilain, B., J. Van Sande and J. E. Dumont (1988). "Inhibition by iodide of iodide binding to proteins: the "Wolff-Chaikoff" effect is caused by inhibition of H₂O₂ generation." *Biochem Biophys Res Commun* **154**(3): 1287-1292.

- Costache, L., V. Mogos, C. Preda, C. Vulpoi and M. C. Ungureanu (2014). "Therapeutic particularities in amiodarone induced thyroid disorder in patients with underlying cardiac condition." Rev Med Chir Soc Med Nat Iasi **118**(4): 959-964.
- Crocker, D. G. (1984). "Nuclear reactor accidents--the use of KI as a blocking agent against radioiodine uptake in the thyroid--a review." Health Phys **46**(6): 1265-1279.
- Cuddihy, R. G. (1966). "Thyroidal iodine-131 uptake, turnover and blocking in adults and adolescents." Health Phys **12**(8): 1021-1025.
- Dai, G., O. Levy and N. Carrasco (1996). "Cloning and characterization of the thyroid iodide transporter." Nature **379**(6564): 458-460.
- Dai, G., O. Levy and N. Carrasco (1996). "Cloning and characterization of the thyroid iodide transporter." Nature **379**(6564): 458.
- Dathan, N., R. Parlato, A. Rosica, M. De Felice and R. Di Lauro (2002). "Distribution of the *tif2/foxe1* gene product is consistent with an important role in the development of foregut endoderm, palate, and hair." Dev Dyn **224**(4): 450-456.
- Davies, T., R. Latif, N. Minsky and R. Ma (2011). The Emerging Cell Biology of Thyroid Stem Cells.
- De Deken, X., D. Wang, M. C. Many, S. Costagliola, F. Libert, G. Vassart, J. E. Dumont and F. Miot (2000). "Cloning of two human thyroid cDNAs encoding new members of the NADPH oxidase family." J Biol Chem **275**(30): 23227-23233.
- De Felice, M. and R. Di Lauro (2004). "Thyroid development and its disorders: genetics and molecular mechanisms." Endocr Rev **25**(5): 722-746.
- De Felice, M., M. P. Postiglione and R. Di Lauro (2004). "Minireview: thyrotropin receptor signaling in development and differentiation of the thyroid gland: insights from mouse models and human diseases." Endocrinology **145**(9): 4062-4067.
- De la Vieja, A., C. S. Ginter and N. Carrasco (2005). "Molecular Analysis of a Congenital Iodide Transport Defect: G543E Impairs Maturation and Trafficking of the Na⁺/I⁻ Symporter." Molecular Endocrinology **19**(11): 2847-2858.
- De la Vieja, A., M. D. Reed, C. S. Ginter and N. Carrasco (2007). "Amino acid residues in transmembrane segment IX of the Na⁺/I⁻ symporter play a role in its Na⁺ dependence and are critical for transport activity." J Biol Chem **282**(35): 25290-25298.
- De la Vieja, A. and P. Santisteban (2018). "Role of iodide metabolism in physiology and cancer." Endocr Relat Cancer **25**(4): R225-r245.
- de Meis, L. (2001). "Role of the sarcoplasmic reticulum Ca²⁺-ATPase on heat production and thermogenesis." Biosci Rep **21**(2): 113-137.
- de Souza, E. C., G. R. Dias, R. C. Cardoso, L. P. Lima, R. S. Fortunato, T. J. Visser, M. Vaisman, A. C. Ferreira and D. P. Carvalho (2015). "MCT8 is Downregulated by Short Time Iodine Overload in the Thyroid Gland of Rats." Horm Metab Res **47**(12): 910-915.
- De Souza, E. C. L., Á. S. Padrón, W. M. O. Braga, B. M. De Andrade, M. Vaisman, L. E. Nasciutti, A. C. F. Ferreira and D. P. De Carvalho (2010). "MTOR downregulates iodide uptake in thyrocytes." Journal of Endocrinology **206**(1): 113-120.
- de Vijlder, J. J. and M. T. den Hartog (1998). "Anionic iodotyrosine residues are required for iodothyronine synthesis." Eur J Endocrinol **138**(2): 227-231.
- Delitala, A. P. (2017). "Subclinical Hyperthyroidism and the Cardiovascular Disease." Horm Metab Res **49**(10): 723-731.
- Deme, D., A. Virion, N. A. Hammou and J. Pommier (1985). "NADPH-dependent generation of H₂O₂ in a thyroid particulate fraction requires Ca²⁺." FEBS Letters **186**(1): 107-110.
- diMarco, A. and F. Palazzo (2017). "Goitre and thyroid cancer." Medicine **45**(8): 517-522.
- Dohán, O., Z. Baloch, Z. Bánrévi, V. Livolsi and N. Carrasco (2001). "RAPID COMMUNICATION: Predominant Intracellular Overexpression of the Na⁺/I⁻ Symporter

- (NIS) in a Large Sampling of Thyroid Cancer Cases." The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism **86**(6): 2697-2700.
- Dohán, O., A. De la Vieja, V. Paroder, C. Riedel, M. Artani, M. Reed, C. S. Ginter and N. Carrasco (2003). "The Sodium/Iodide Symporter (NIS): Characterization, Regulation, and Medical Significance." Endocrine Reviews **24**(1): 48-77.
- Dong, J., W. Liu, Y. Wang, Q. Xi and J. Chen (2010). "Hypothyroidism following developmental iodine deficiency reduces hippocampal neurogranin, CaMK II and calmodulin and elevates calcineurin in lactational rats." Int J Dev Neurosci **28**(7): 589-596.
- Donkó, Á., S. Morand, A. Korzeniowska, H. E. Boudreau, M. Zana, L. Hunyady, M. Geiszt and T. L. Leto (2014). "Hypothyroidism-associated missense mutation impairs NADPH oxidase activity and intracellular trafficking of Duox2." Free Radical Biology and Medicine **73**: 190-200.
- DosSantos, R. A., A. Alfadda, K. Eto, T. Kadowaki and J. E. Silva (2003). "Evidence for a compensated thermogenic defect in transgenic mice lacking the mitochondrial glycerol-3-phosphate dehydrogenase gene." Endocrinology **144**(12): 5469-5479.
- Dowling, A. L. and R. T. Zoeller (2000). "Thyroid hormone of maternal origin regulates the expression of RC3/neurogranin mRNA in the fetal rat brain." Brain Res Mol Brain Res **82**(1-2): 126-132.
- Dunn, J. T. and A. D. Dunn (1999). "The importance of thyroglobulin structure for thyroid hormone biosynthesis." Biochimie **81**(5): 505-509.
- Dunn, J. T. and A. D. Dunn (2001). "Update on intrathyroidal iodine metabolism." Thyroid **11**(5): 407-414.
- Dussault, J. H. and J. Ruel (1987). "Thyroid hormones and brain development." Annu Rev Physiol **49**: 321-334.
- E. Hazouard, S. Leroy, B. Rivoire, L. Ritz-Quillacq, D. Degenne, L. Mereghetti and E. Lemarié (2000). "Systemic response post-diarrhea with lymphocytic meningitis." Annales de Biologie Clinique **58**(4): 3.
- Elsalini, O. A., J. von Gartzten, M. Cramer and K. B. Rohr (2003). "Zebrafish *hhex*, *nk2.1a*, and *pax2.1* regulate thyroid growth and differentiation downstream of Nodal-dependent transcription factors." Dev Biol **263**(1): 67-80.
- Eng, P. H., G. R. Cardona, S. L. Fang, M. Previti, S. Alex, N. Carrasco, W. W. Chin and L. E. Braverman (1999). "Escape from the acute Wolff-Chaikoff effect is associated with a decrease in thyroid sodium/iodide symporter messenger ribonucleic acid and protein." Endocrinology **140**(8): 3404-3410.
- Ericson, L. E. (1981). "Exocytosis and endocytosis in the thyroid follicle cell." Mol Cell Endocrinol **22**(1): 1-24.
- Fanny, C. (2004). "La protection de la thyroïde en cas d'accident nucléaire par une prophylaxie à l'iode."
- Farebrother, J., C. E. Naude, L. Nicol, Z. Sang, Z. Yang, P. L. Jooste, M. Andersson and M. B. Zimmermann (2018). "Effects of Iodized Salt and Iodine Supplements on Prenatal and Postnatal Growth: A Systematic Review." Adv Nutr **9**(3): 219-237.
- Farwell, A. P. and S. A. Dubord-Tomasetti (1999). "Thyroid hormone regulates the expression of laminin in the developing rat cerebellum." Endocrinology **140**(9): 4221-4227.
- Farwell, A. P. and S. A. Dubord-Tomasetti (1999). "Thyroid hormone regulates the extracellular organization of laminin on astrocytes." Endocrinology **140**(11): 5014-5021.
- Fayadat, L., P. Niccoli-Sire, J. Lanet and J. L. Franc (1999). "Role of heme in intracellular trafficking of thyroperoxidase and involvement of H₂O₂ generated at the apical surface of thyroid cells in autocatalytic covalent heme binding." J Biol Chem **274**(15): 10533-10538.

- Ferrand, M., V. Le Fourn and J. L. Franc (2003). "Increasing diversity of human thyroperoxidase generated by alternative splicing. Characterized by molecular cloning of new transcripts with single- and multispliced mRNAs." *J Biol Chem* **278**(6): 3793-3800.
- Flandin, P., L. Lehr, C. Asensio, J. P. Giacobino, F. Rohner-Jeanrenaud, P. Muzzin and M. Jimenez (2009). "Uncoupling protein-3 as a molecular determinant of the action of 3,5,3'-triiodothyronine on energy metabolism." *Endocrine* **36**(2): 246-254.
- Forman, D., Ferlay, J (2014). "International Agency for Research on Cancer." *World cancer report 2014*.
- Fortunato, R. S., E. C. Lima de Souza, R. Ameziane-el Hassani, M. Boufraquech, U. Weyemi, M. Talbot, O. Lagente-Chevallier, D. P. de Carvalho, J. M. Bidart, M. Schlumberger and C. Dupuy (2010). "Functional consequences of dual oxidase-thyroperoxidase interaction at the plasma membrane." *J Clin Endocrinol Metab* **95**(12): 5403-5411.
- Fox, C. S., M. J. Pencina, R. B. D'Agostino, J. M. Murabito, E. W. Seely, E. N. Pearce and R. S. Vasan (2008). "Relations of thyroid function to body weight: cross-sectional and longitudinal observations in a community-based sample." *Arch Intern Med* **168**(6): 587-592.
- Francis, F., A. Koulakoff, D. Boucher, P. Chafey, B. Schaar, M. C. Vinet, G. Friocourt, N. McDonnell, O. Reiner, A. Kahn, S. K. McConnell, Y. Berwald-Netter, P. Denoulet and J. Chelly (1999). "Doublecortin is a developmentally regulated, microtubule-associated protein expressed in migrating and differentiating neurons." *Neuron* **23**(2): 247-256.
- Friesema, E. C., W. E. Visser and T. J. Visser (2010). "Genetics and phenomics of thyroid hormone transport by MCT8." *Mol Cell Endocrinol* **322**(1-2): 107-113.
- Friocourt, G., A. Koulakoff, P. Chafey, D. Boucher, F. Fauchereau, J. Chelly and F. Francis (2003). "Doublecortin functions at the extremities of growing neuronal processes." *Cereb Cortex* **13**(6): 620-626.
- G., L. S., S.-P. Ana, D. I. V. Antonio and S. Pilar (2016). "Selenium Increases Thyroid-Stimulating Hormone-Induced Sodium/Iodide Symporter Expression Through Thioredoxin/Apurinic/Apyrimidinic Endonuclease 1-Dependent Regulation of Paired Box 8 Binding Activity." *Antioxidants & Redox Signaling* **24**(15): 855-866.
- Galvão, A. L., R. Y. Camargo, C. U. Friguglietti, L. Moraes, J. M. Cerutti, C. Serrano-Nascimento, M. F. Suzuki, G. Medeiros-Neto and I. G. S. Rubio (2014). "Hypermethylation of a New Distal Sodium/Iodide Symporter (NIS) Enhancer (NDE) Is Associated With Reduced NIS Expression in Thyroid Tumors." *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* **99**(6): E944-E952.
- Galvão, A. L., A. K. Sodr , R. Y. Camargo, C. U. Friguglietti, M. A. Kulcsar, E. U. Lima, G. Medeiros-Neto and I. G. S. Rubio (2013). "Methylation levels of sodium-iodide symporter (NIS) promoter in benign and malignant thyroid tumors with reduced NIS expression." *Endocrine* **43**(1): 225-229.
- Gavaret, J. M., H. J. Cahnmann and J. Nunez (1981). "Thyroid hormone synthesis in thyroglobulin. The mechanism of the coupling reaction." *J Biol Chem* **256**(17): 9167-9173.
- Gerard, C. M., A. Lefort, F. Libert, D. Christophe, J. E. Dumont and G. Vassart (1988). "Transcriptional regulation of the thyroperoxydase gene by thyrotropin and forskolin." *Mol Cell Endocrinol* **60**(2-3): 239-242.
- Gereben, B., E. A. McAninch, M. O. Ribeiro and A. C. Bianco (2015). "Scope and limitations of iodothyronine deiodinases in hypothyroidism." *Nat Rev Endocrinol* **11**(11): 642-652.
- Gleeson, J. G., P. T. Lin, L. A. Flanagan and C. A. Walsh (1999). "Doublecortin is a microtubule-associated protein and is expressed widely by migrating neurons." *Neuron* **23**(2): 257-271.
- Gnidehou, S., B. Caillou, M. Talbot, R. Ohayon, J. Kaniewski, M. S. Noel-Hudson, S. Morand, D. Agnangji, A. Sezan, F. Courtin, A. Virion and C. Dupuy (2004). "Iodotyrosine dehalogenase

- 1 (DEHAL1) is a transmembrane protein involved in the recycling of iodide close to the thyroglobulin iodination site." *Faseb j* **18**(13): 1574-1576.
- Godlewska, M., M. Gora, A. M. Buckle, B. T. Porebski, E. H. Kemp, B. J. Sutton, B. Czarnocka and J. P. Banga (2014). "A redundant role of human thyroid peroxidase propeptide for cellular, enzymatic, and immunological activity." *Thyroid* **24**(2): 371-382.
- Goichot B and L. F. (2011). "Dysthyroïdies infracliniques." *Maladie thyroïdienne. la press Medicale*.
- Goldberg, I. J., L. S. Huang, L. A. Huggins, S. Yu, P. R. Nagareddy, T. S. Scanlan and J. R. Ehrenkranz (2012). "Thyroid hormone reduces cholesterol via a non-LDL receptor-mediated pathway." *Endocrinology* **153**(11): 5143-5149.
- Goldstein, J. L., R. A. DeBose-Boyd and M. S. Brown (2006). "Protein sensors for membrane sterols." *Cell* **124**(1): 35-46.
- Gong, J., J. Dong, Y. Wang, H. Xu, W. Wei, J. Zhong, W. Liu, Q. Xi and J. Chen (2010). "Developmental iodine deficiency and hypothyroidism impair neural development, up-regulate caveolin-1 and down-regulate synaptophysin in rat hippocampus." *J Neuroendocrinol* **22**(2): 129-139.
- Grais, I. M. and J. R. Sowers (2014). "Thyroid and the heart." *Am J Med* **127**(8): 691-698.
- Grasberger, H. (2010). "Defects of thyroïdal hydrogen peroxide generation in congenital hypothyroidism." *Mol Cell Endocrinol* **322**(1-2): 99-106.
- Hasebe, M., I. Matsumoto, T. Imagawa and M. Uehara (2008). "Effects of an anti-thyroid drug, methimazole, administration to rat dams on the cerebellar cortex development in their pups." *Int J Dev Neurosci* **26**(5): 409-414.
- Hatch, M., A. Brenner, T. Bogdanova, A. Derevyanko, N. Kuptsova, I. Likhtarev, A. Bouville, V. Tereshchenko, L. Kovgan, V. Shpak, E. Ostroumova, E. Greenebaum, L. Zablotska, E. Ron and M. Tronko (2009). "A screening study of thyroid cancer and other thyroid diseases among individuals exposed in utero to iodine-131 from Chernobyl fallout." *J Clin Endocrinol Metab* **94**(3): 899-906.
- Hays, M. T. (1993). "Colonic excretion of iodide in normal human subjects." *Thyroid* **3**(1): 31-35.
- Herzog, V., U. Berndorfer and Y. Saber (1992). "Isolation of insoluble secretory product from bovine thyroid: extracellular storage of thyroglobulin in covalently cross-linked form." *J Cell Biol* **118**(5): 1071-1083.
- Hillary, S. and S. P. Balasubramanian (2017). "Anatomy of the thyroid, parathyroid, pituitary and adrenal glands." *Surgery (Oxford)* **35**(10): 537-541.
- Hogberg, L. (2013). "Root causes and impacts of severe accidents at large nuclear power plants." *Ambio* **42**(3): 267-284.
- Holm, L.-E. (2006). "Thyroid cancer after exposure to radioactive 131I." *Acta Oncologica* **45**(8): 1037-1040.
- Horesh, D., T. Sapir, F. Francis, S. G. Wolf, M. Caspi, M. Elbaum, J. Chelly and O. Reiner (1999). "Doublecortin, a stabilizer of microtubules." *Hum Mol Genet* **8**(9): 1599-1610.
- Howdeshell, K. L. (2002). "A model of the development of the brain as a construct of the thyroid system." *Environ Health Perspect* **3**: 337-348.
- Hoyes, A. D. and D. R. Kershaw (1985). "Anatomy and development of the thyroid gland." *Ear Nose Throat J* **64**(7): 318-333.
- Hulbert, A. J. (2000). "Thyroid hormones and their effects: a new perspective." *Biol Rev Camb Philos Soc* **75**(4): 519-631.
- Huuskonen, J., M. Vishnu, C. R. Pullinger, P. E. Fielding and C. J. Fielding (2004). "Regulation of ATP-binding cassette transporter A1 transcription by thyroid hormone receptor." *Biochemistry* **43**(6): 1626-1632.

- IAEA (2008). "INES : Échelle internationale des événements nucléaires et radiologiques. Manuel de l'utilisateur. Edition 2008."
- Iemitsu, M., T. Miyauchi, S. Maeda, T. Tanabe, M. Takanashi, M. Matsuda and I. Yamaguchi (2004). "Exercise training improves cardiac function-related gene levels through thyroid hormone receptor signaling in aged rats." *Am J Physiol Heart Circ Physiol* **286**(5): H1696-1705.
- Iervasi, G. and G. Nicolini (2013). "Thyroid hormone and cardiovascular system: from basic concepts to clinical application." *Intern Emerg Med* **8 Suppl 1**: S71-74.
- Iosco, C., C. Cosentino, L. Sirna, R. Romano, S. Cursano, A. Mongia, G. Pompeo, J. di Bernardo, C. Ceccarelli, G. Tallini and K. J. Rhoden (2014). "Anoctamin 1 is Apically Expressed on Thyroid Follicular Cells and Contributes to ATP- and Calcium-Activated Iodide Efflux." *Cellular Physiology and Biochemistry* **34**(3): 966-980.
- Jabbar, A., A. Pingitore, S. H. Pearce, A. Zaman, G. Iervasi and S. Razvi (2017). "Thyroid hormones and cardiovascular disease." *Nat Rev Cardiol* **14**(1): 39-55.
- Jordans, S., S. Jenko-Kokalj, N. M. Kuhl, S. Tedelind, W. Sendt, D. Bromme, D. Turk and K. Brix (2009). "Monitoring compartment-specific substrate cleavage by cathepsins B, K, L, and S at physiological pH and redox conditions." *BMC Biochem* **10**: 23.
- Karmisholt, J., S. Andersen and P. Laurberg (2011). "Weight loss after therapy of hypothyroidism is mainly caused by excretion of excess body water associated with myxoedema." *J Clin Endocrinol Metab* **96**(1): E99-103.
- Kemeny, J. G., et al. 1979 (1979). Report of the President's Commission on the Accident at Three Mile Island : the need for change : the legacy of TMI. Washington :, The Commission : for sale by the Supt. of Docs., U.S. Govt. Print. Off.
- Kimura, S., T. Kotani, O. W. McBride, K. Umeki, K. Hirai, T. Nakayama and S. Ohtaki (1987). "Human thyroid peroxidase: complete cDNA and protein sequence, chromosome mapping, and identification of two alternately spliced mRNAs." *Proc Natl Acad Sci U S A* **84**(16): 5555-5559.
- Kimura, T., A. Van Keymeulen, J. Golstein, A. Fusco, J. E. Dumont and P. P. Roger (2001). "Regulation of thyroid cell proliferation by TSH and other factors: a critical evaluation of in vitro models." *Endocr Rev* **22**(5): 631-656.
- Klein, I. and K. Ojamaa (2001). "Thyroid Hormone and the Cardiovascular System." **344**(7): 501-509.
- Kobayashi, K., H. Akune, K. Sumida, K. Saito, T. Yoshioka and R. Tsuji (2009). "Perinatal exposure to PTU decreases expression of Arc, Homer 1, Egr 1 and Kcna 1 in the rat cerebral cortex and hippocampus." *Brain Res* **6**: 24-32.
- Kogai, T. and G. A. Brent (2012). "The sodium iodide symporter (NIS): regulation and approaches to targeting for cancer therapeutics." *Pharmacol Ther* **135**(3): 355-370.
- Kondo, T., S. Ezzat and S. L. Asa (2006). "Pathogenetic mechanisms in thyroid follicular-cell neoplasia." *Nat Rev Cancer* **6**(4): 292-306.
- Konig, B., A. Koch, J. Spielmann, C. Hilgenfeld, G. I. Stangl and K. Eder (2007). "Activation of PPARalpha lowers synthesis and concentration of cholesterol by reduction of nuclear SREBP-2." *Biochem Pharmacol* **73**(4): 574-585.
- Krahenbuhl, T., L. Portmann and S. Anchisi (2012). "[Differentiated thyroid cancer: management and indication of the new targeted therapies]." *Rev Med Suisse* **8**(342): 1112-1117.
- Kunii, Y., T. Uruno, K. Mukasa, K. Sekiya, K. Iwaku, A. Suzuki, K. Sugino, J. Yoshimura Noh and K. Ito (2016). "Inhibitory effect of low-dose inorganic iodine on thyroidal radioactive iodine uptake in healthy Japanese adults." *Endocr J* **63**(1): 21-27.
- L'Abbé, M. R. (2003). IODINE | Properties and Determination. *Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition (Second Edition)*. B. Caballero. Oxford, Academic Press: 3350-3357.

- La Vecchia, C., M. Malvezzi, C. Bosetti, W. Garavello, P. Bertuccio, F. Levi and E. Negri (2015). "Thyroid cancer mortality and incidence: a global overview." *Int J Cancer* **136**(9): 2187-2195.
- Lalmi, F., J. L. Sadoul and V. Rohmer (2015). "[Thyroid cancers: from epidemiology to molecular biology]." *Ann Endocrinol* **76**(6 Suppl 1): 30004-X.
- Larouche, M., P. M. Che and R. Hawkes (2006). "Neurogranin expression identifies a novel array of Purkinje cell parasagittal stripes during mouse cerebellar development." *J Comp Neurol* **494**(2): 215-227.
- Lazzaro, D., M. Price, M. de Felice and R. Di Lauro (1991). "The transcription factor TTF-1 is expressed at the onset of thyroid and lung morphogenesis and in restricted regions of the foetal brain." *Development* **113**(4): 1093-1104.
- Le Fourn, V., M. Ferrand and J. L. Franc (2005). "Endoproteolytic cleavage of human thyroperoxidase: role of the propeptide in the protein folding process." *J Biol Chem* **280**(6): 4568-4577.
- Lebsir, D., D. Cohen, L. Manens, S. Grison, K. Tack, M. Benderitter, A. Pech, P. Lestaevel and M. Souidi (2018). "Toxicology of Repeated Iodine Thyroid Blocking in Adult Rat." *Pharmaceutical Research* **3**(1): 8.
- Lebsir, D., L. Manens, S. Grison, P. Lestaevel, T. Ebrahimian, D. Suhard, G. Phan, I. Dublineau, K. Tack, M. Benderitter, A. Pech, J. R. Jourdain and M. Souidi (2018). "Effects of repeated potassium iodide administration on genes involved in synthesis and secretion of thyroid hormone in adult male rat." *Mol Cell Endocrinol* **26**(18): 30077-30077.
- Lee, J. Y., N. Takahashi, M. Yasubuchi, Y. I. Kim, H. Hashizaki, M. J. Kim, T. Sakamoto, T. Goto and T. Kawada (2012). "Triiodothyronine induces UCP-1 expression and mitochondrial biogenesis in human adipocytes." *Am J Physiol Cell Physiol* **302**(2): C463-472.
- Leoni, S. G., E. T. Kimura, P. Santisteban and A. De la Vieja (2011). "Regulation of thyroid oxidative state by thioredoxin reductase has a crucial role in thyroid responses to iodide excess." *Mol Endocrinol* **25**(11): 1924-1935.
- Levy, O., G. Dai, C. Riedel, C. S. Ginter, E. M. Paul, A. N. Lebowitz and N. Carrasco (1997). "Characterization of the thyroid Na⁺/I⁻ symporter with an anti-COOH terminus antibody." *Proceedings of the National Academy of Sciences* **94**(11): 5568.
- Levy, O., A. De la Vieja, C. S. Ginter, C. Riedel, G. Dai and N. Carrasco (1998). "N-linked glycosylation of the thyroid Na⁺/I⁻ symporter (NIS). Implications for its secondary structure model." *J Biol Chem* **273**(35): 22657-22663.
- Lin, S. C., S. Li, D. W. Drolet and M. G. Rosenfeld (1994). "Pituitary ontogeny of the Snell dwarf mouse reveals Pit-1-independent and Pit-1-dependent origins of the thyrotrope." *Development* **120**(3): 515-522.
- Lisi, S., A. Pinchera, R. T. McCluskey, T. E. Willnow, S. Refetoff, C. Marcocci, P. Vitti, F. Menconi, L. Grasso, F. Luchetti, A. B. Collins and M. Marinò (2003). "Preferential megalin-mediated transcytosis of low-hormonogenic thyroglobulin: A control mechanism for thyroid hormone release." *J Biol Chem* **278**(25): 14858-14863.
- Liyanarachchi, K. D. and M. Debono (2017). "Physiology of the pituitary, thyroid, parathyroid and adrenal glands." *Surgery (Oxford)* **35**(10): 542-555.
- Lonn, L., K. Stenlof, M. Ottosson, A. K. Lindroos, E. Nystrom and L. Sjostrom (1998). "Body weight and body composition changes after treatment of hyperthyroidism." *J Clin Endocrinol Metab* **83**(12): 4269-4273.
- Lopez, D., J. F. Abisambra Socarras, M. Bedi and G. C. Ness (2007). "Activation of the hepatic LDL receptor promoter by thyroid hormone." *Biochim Biophys Acta* **1771**(9): 1216-1225.
- Lowe, L. A., S. Yamada and M. R. Kuehn (2001). "Genetic dissection of nodal function in patterning the mouse embryo." *Development* **128**(10): 1831-1843.

- Luo, Y., A. Kawashima, Y. Ishido, A. Yoshihara, K. Oda, N. Hiroi, T. Ito, N. Ishii and K. Suzuki (2014). "Iodine excess as an environmental risk factor for autoimmune thyroid disease." Int J Mol Sci **15**(7): 12895-12912.
- Maia, A. L., I. M. Goemann, E. L. Meyer and S. M. Wajner (2011). "Deiodinases: the balance of thyroid hormone: type 1 iodothyronine deiodinase in human physiology and disease." J Endocrinol **209**(3): 283-297.
- Malthiery, Y. and S. Lissitzky (1987). "Primary structure of human thyroglobulin deduced from the sequence of its 8448-base complementary DNA." Eur J Biochem **165**(3): 491-498.
- Marques, M. R., F. Stigger, E. Segabinazi, O. A. Augustin, S. Barbosa, F. V. Piazza, M. Achaval and S. Marcuzzo (2014). "Beneficial effects of early environmental enrichment on motor development and spinal cord plasticity in a rat model of cerebral palsy." Behav Brain Res **263**: 149-157.
- Marsili, A., W. Ramadan, J. W. Harney, M. Mulcahey, L. A. Castroneves, I. M. Goemann, S. M. Wajner, S. A. Huang, A. M. Zavacki, A. L. Maia, M. Dentice, D. Salvatore, J. E. Silva and P. R. Larsen (2010). "Type 2 iodothyronine deiodinase levels are higher in slow-twitch than fast-twitch mouse skeletal muscle and are increased in hypothyroidism." Endocrinology **151**(12): 5952-5960.
- Marsili, A., D. Tang, J. W. Harney, P. Singh, A. M. Zavacki, M. Dentice, D. Salvatore and P. R. Larsen (2011). "Type II iodothyronine deiodinase provides intracellular 3,5,3'-triiodothyronine to normal and regenerating mouse skeletal muscle." Am J Physiol Endocrinol Metab **301**(5): E818-824.
- Martincorena, I., K. M. Raine, M. Gerstung, K. J. Dawson, K. Haase, P. Van Loo, H. Davies, M. R. Stratton and P. J. Campbell (2017). "Universal Patterns of Selection in Cancer and Somatic Tissues." Cell **171**(5): 1029-1041.
- Medina, D. L. and P. Santisteban (2000). "Thyrotropin-dependent proliferation of in vitro rat thyroid cell systems." Eur J Endocrinol **143**(2): 161-178.
- Mendive, F. M., C. M. Rivolta, C. M. Moya, G. Vassart and H. M. Targovnik (2001). "Genomic organization of the human thyroglobulin gene: the complete intron-exon structure." Eur J Endocrinol **145**(4): 485-496.
- Mendoza, A. and A. N. Hollenberg (2017). "New insights into thyroid hormone action." Pharmacol Ther **173**: 135-145.
- Mireille Castanet and M. Polak. (2007). "Rôle de la vascularisation dans le développement de la thyroïde." Métabolismes Hormones Diabètes et Nutrition **6**.
- Mitchell, J. E., A. S. Hellkamp, D. B. Mark, J. Anderson, G. W. Johnson, J. E. Poole, K. L. Lee and G. H. Bardy (2013). "Thyroid function in heart failure and impact on mortality." JACC Heart Fail **1**(1): 48-55.
- Monnier, A. (1997). "Effets tardifs de la radiothérapie externe sur la glande thyroïde." Cancer/Radiothérapie **1**(6): 717-731.
- Montague, P., A. S. McCallion, R. W. Davies and I. R. Griffiths (2006). "Myelin-associated oligodendrocytic basic protein: a family of abundant CNS myelin proteins in search of a function." Dev Neurosci **28**(6): 479-487.
- Morand, S., M. Charaoui, J. Kaniewski, D. Deme, R. Ohayon, M. S. Noel-Hudson, A. Virion and C. Dupuy (2003). "Effect of iodide on nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidase activity and Duox2 protein expression in isolated porcine thyroid follicles." Endocrinology **144**(4): 1241-1248.
- Morgan, A., D. J. Morgan and A. Black (1968). "A study of the deposition, translocation and excretion of radioiodine inhaled as iodine vapour." Health Phys **15**(4): 313-322.
- Morgan, A., D. J. Morgan, J. C. Evans and B. A. Lister (1967). "Studies on the retention and metabolism of inhaled methyl iodide. II. Metabolism of methyl iodide." Health Phys **13**(10): 1067-1074.

- Mullur, R., Y. Y. Liu and G. A. Brent (2014). "Thyroid hormone regulation of metabolism." Physiol Rev **94**(2): 355-382.
- Myant, N. B., E. E. Pochin and E. A. Goldie (1949). "The plasma iodide clearance rate of the human thyroid." Clin Sci **8**(1-2): 109-133.
- Nauman, J. and J. Wolff (1993). "Iodide prophylaxis in Poland after the Chernobyl reactor accident: benefits and risks." Am J Med **94**(5): 524-532.
- Neveu, I. and E. Arenas (1996). "Neurotrophins promote the survival and development of neurons in the cerebellum of hypothyroid rats in vivo." J Cell Biol **133**(3): 631-646.
- Niccoli-Sire, P. and B. Conte-Devolx (2007). "[Medullary thyroid carcinoma]." Ann Endocrinol **68**(5): 325-331.
- Nicholson, J. L. and J. Altman (1972). "The effects of early hypo- and hyperthyroidism on the development of the rat cerebellar cortex. II. Synaptogenesis in the molecular layer." Brain Res **44**(1): 25-36.
- Nicola, J. P., A. Reyna-Neyra, N. Carrasco and A. M. Masini-Repiso (2012). "Dietary iodide controls its own absorption through post-transcriptional regulation of the intestinal Na⁺/I⁻ symporter." J Physiol **590**(23): 6013-6026.
- Nilsson, M. and H. Fagman (2017). "Development of the thyroid gland." Development **144**(12): 2123-2140.
- Niwattisaiwong, S., K. D. Burman and M. Li-Ng (2017). "Iodine deficiency: Clinical implications." Cleve Clin J Med **84**(3): 236-244.
- Noteboom, J. L., W. A. Hummel, J. J. Broerse, J. J. de Vijlder, T. Vulsma, J. T. Jansen and D. W. van Bekkum (1997). "Protection of the maternal and fetal thyroid from radioactive contamination by the administration of stable iodide during pregnancy. An experimental evaluation in chimpanzees." Radiat Res **147**(6): 691-697.
- Noteboom, J. L., W. A. Hummel, J. J. Broerse, J. J. de Vijlder, T. Vulsma and D. W. van Bekkum (1997). "Protection of the infant thyroid from radioactive contamination by the administration of stable iodide. An experimental evaluation in chimpanzees." Radiat Res **147**(6): 698-706.
- Oppenheimer, J. H. and H. L. Schwartz (1997). "Molecular basis of thyroid hormone-dependent brain development." Endocr Rev **18**(4): 462-475.
- Osterc, A. and V. Stibilj (2012). "Influence of releases of I-129 from reprocessing plants on the marine environment of the North Adriatic Sea." Chemosphere **86**(10): 1020-1027.
- Papavramidou, N., T. Papavramidis and T. Demetriou (2010). Ancient Greek and Greco-Roman methods in modern surgical treatment of cancer, Ann Surg Oncol. 2010 Mar;17(3):665-7. doi: 10.1245/s10434-009-0886-6.
- Pearce, E. N., J. H. Lazarus, R. Moreno-Reyes and M. B. Zimmermann (2016). "Consequences of iodine deficiency and excess in pregnant women: an overview of current knowns and unknowns." The American Journal of Clinical Nutrition **104**(Suppl 3): 918S-923S.
- Pearce, E. N., J. H. Lazarus, R. Moreno-Reyes and M. B. Zimmermann (2016). "Consequences of iodine deficiency and excess in pregnant women: an overview of current knowns and unknowns." Am J Clin Nutr **104**(3): 17.
- Pellizzari, L., A. D'Elia, A. Rustighi, G. Manfioletti, G. Tell and G. Damante (2000). "Expression and function of the homeodomain-containing protein Hex in thyroid cells." Nucleic Acids Res **28**(13): 2503-2511.
- Pennington, J. A. T. (2003). IODINE | Physiology. Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition (Second Edition). B. Caballero. Oxford, Academic Press: 3357-3360.
- Peralta, C. A., M. G. Shlipak, S. Judd, M. Cushman, W. McClellan, N. A. Zakai, M. M. Safford, X. Zhang, P. Muntner and D. Warnock (2011). "Detection of chronic kidney disease with creatinine, cystatin C, and urine albumin-to-creatinine ratio and association with progression to end-stage renal disease and mortality." Jama **305**(15): 1545-1552.

- Phan, G., F. Rebiere, D. Suhard, A. Legrand, F. Carpentier, T. Sontag, M. Souidi, J. R. Jourdain, M. Agarande and V. Renaud-Salis (2017). "Optimal KI Prophylactic Dose Determination for Thyroid Radiation Protection After a Single Administration in Adult Rats." Dose Response **15**(4): Oct-Dec.
- Piens, M., M. Muller, M. Bodson, G. Baudouin and J. C. Plumier (2010). "A short upstream promoter region mediates transcriptional regulation of the mouse doublecortin gene in differentiating neurons." BMC Neurosci **11**(64): 1471-2202.
- Plachov, D., K. Chowdhury, C. Walther, D. Simon, J. L. Guenet and P. Gruss (1990). "Pax8, a murine paired box gene expressed in the developing excretory system and thyroid gland." Development **110**(2): 643-651.
- Policeni, B. A., W. R. Smoker and D. L. Reede (2012). "Anatomy and embryology of the thyroid and parathyroid glands." Semin Ultrasound CT MR **33**(2): 104-114.
- Postiglione, M. P., R. Parlato, A. Rodriguez-Mallon, A. Rosica, P. Mithbaokar, M. Maresca, R. C. Marians, T. F. Davies, M. S. Zannini, M. De Felice and R. Di Lauro (2002). "Role of the thyroid-stimulating hormone receptor signaling in development and differentiation of the thyroid gland." Proc Natl Acad Sci U S A **99**(24): 15462-15467.
- Prokopakis, E. P., A. Kaprana, A. Karatzanis, G. A. Velegrakis, J. Melissas and G. Chalkiadakis (2018). "Association between the increase in incidence of papillary thyroid carcinoma in Crete and exposure to radioactive agents." Acta Otorhinolaryngol Ital **14639**(0392): 100X-1642.
- Purtell, K., M. Paroder-Belenitsky, A. Reyna-Neyra, J. P. Nicola, W. Koba, E. Fine, N. Carrasco and G. W. Abbott (2012). "The KCNQ1-KCNE2 K⁺ channel is required for adequate thyroid I⁻ uptake." The FASEB Journal **26**(8): 3252-3259.
- R. de Laeter, J., J. Bohlke, P. De Bièvre, H. Hidaka, H. S. Peiser, K. J. R. Rosman and P. Taylor (2003). Atomic weights of the elements. Review 2000 (IUPAC Technical Report).
- Rasmussen, L. B., A. Andersen, L. Ovesen and P. Laurberg (2009). "Iodine intake and food choice." Comprehensive handbook of iodine: nutritional, biochemical, pathological and therapeutic aspects: 333-338.
- Ravussin, E., S. Lillioja, W. C. Knowler, L. Christin, D. Freymond, W. G. Abbott, V. Boyce, B. V. Howard and C. Bogardus (1988). "Reduced rate of energy expenditure as a risk factor for body-weight gain." N Engl J Med **318**(8): 467-472.
- Reiners, C., J. Biko, H. Haenscheid, H. Hebestreit, S. Kirinjuk, O. Baranowski, R. J. Marlowe, E. Demidchik, V. Drozd and Y. Demidchik (2013). "Twenty-five years after Chernobyl: outcome of radioiodine treatment in children and adolescents with very high-risk radiation-induced differentiated thyroid carcinoma." J Clin Endocrinol Metab **98**(7): 3039-3048.
- Reiners, C. and R. Schneider (2013). "Potassium iodide (KI) to block the thyroid from exposure to I-131: current questions and answers to be discussed." Radiat Environ Biophys **52**(2): 189-193.
- Reiners, C., R. Schneider, M. Akashi, E. A. Akl, J. R. Jourdain, C. Li, C. Murith, L. Van Bladel, S. Yamashita, H. Zeeb, P. Vitti and Z. Carr (2016). "The First Meeting of the WHO Guideline Development Group for the Revision of the WHO 1999 Guidelines for Iodine Thyroid Blocking." Radiat Prot Dosimetry **171**(1): 47-56.
- Ribeiro, M. O., S. D. Carvalho, J. J. Schultz, G. Chiellini, T. S. Scanlan, A. C. Bianco and G. A. Brent (2001). "Thyroid hormone--sympathetic interaction and adaptive thermogenesis are thyroid hormone receptor isoform--specific." J Clin Invest **108**(1): 97-105.
- Riedel, C., O. Levy and N. Carrasco (2001). "Post-transcriptional regulation of the sodium/iodide symporter by thyrotropin." J Biol Chem **276**(24): 21458-21463.
- Rigutto, S., C. Hoste, H. Grasberger, M. Milenkovic, D. Communi, J. E. Dumont, B. Corvilain, F. Miot and X. De Deken (2009). "Activation of dual oxidases Duox1 and Duox2: differential regulation mediated by camp-dependent protein kinase and protein kinase C-dependent phosphorylation." J Biol Chem **284**(11): 6725-6734.

- Ris-Stalpers, C. and H. Bikker (2010). "Genetics and phenomics of hypothyroidism and goiter due to TPO mutations." Mol Cell Endocrinol **322**(1-2): 38-43.
- Ristic-Medic, D. and M. Glibetic (2016). Iodine: Physiology. Encyclopedia of Food and Health. Oxford, Academic Press: 444-451.
- Roepke, T. K., E. C. King, A. Reyna-Neyra, M. Paroder, K. Purtell, W. Koba, E. Fine, D. J. Lerner, N. Carrasco and G. W. Abbott (2009). "Kcne2 deletion uncovers its crucial role in thyroid hormone biosynthesis." Nature Medicine **15**: 1186.
- Rohner, F., M. Zimmermann, P. Jooste, C. Pandav, K. Caldwell, R. Raghavan and D. J. Raiten (2014). "Biomarkers of nutrition for development--iodine review." J Nutr **144**(8): 1322s-1342s.
- Ron, E. (2007). "Thyroid cancer incidence among people living in areas contaminated by radiation from the Chernobyl accident." Health Phys **93**(5): 502-511.
- Royland, J. E., J. S. Parker and M. E. Gilbert (2008). "A genomic analysis of subclinical hypothyroidism in hippocampus and neocortex of the developing rat brain." J Neuroendocrinol **20**(12): 1319-1338.
- Rubow, S. and J. Klopper (1988). "Excretion of radioiodine in human milk following a therapeutic dose of I-131." Eur J Nucl Med **14**(12): 632-633.
- Sawano, E., M. Takahashi, T. Negishi and T. Tashiro (2013). "Thyroid hormone-dependent development of the GABAergic pre- and post-synaptic components in the rat hippocampus." Int J Dev Neurosci **31**(8): 751-761.
- Schlienger, J. L., B. Goichot and F. Grunenberger (1997). "[Iodine and thyroid function]." Rev Med Interne **18**(9): 709-716.
- Schlumberger, M. and B. Le Guen (2012). "[Nuclear-power-plant accidents: thyroid cancer incidence and radiation-related health effects from the Chernobyl accident]." Med Sci **28**(8-9): 746-756.
- Schneider, A. B. and J. M. Smith (2012). "Potassium iodide prophylaxis: what have we learned and questions raised by the accident at the Fukushima Daiichi Nuclear Power Plant." Thyroid **22**(4): 344-346.
- Schwantes, J. M., C. R. Orton and R. A. Clark (2012). "Analysis of a Nuclear Accident: Fission and Activation Product Releases from the Fukushima Daiichi Nuclear Facility as Remote Indicators of Source Identification, Extent of Release, and State of Damaged Spent Nuclear Fuel." Environmental Science & Technology **46**(16): 8621-8627.
- Scott, D. A., R. Wang, T. M. Kreman, V. C. Sheffield and L. P. Karniski (1999). "The Pendred syndrome gene encodes a chloride-iodide transport protein." Nature Genetics **21**(4): 440-443.
- Serrano-Nascimento, C., J. Calil-Silveira and M. T. Nunes (2010). "Posttranscriptional regulation of sodium-iodide symporter mRNA expression in the rat thyroid gland by acute iodide administration." Am J Physiol Cell Physiol **298**(4): 27.
- Serrano-Nascimento, C., S. da Silva Teixeira, J. P. Nicola, R. T. Nachbar, A. M. Masini-Repiso and M. T. Nunes (2014). "The acute inhibitory effect of iodide excess on sodium/iodide symporter expression and activity involves the PI3K/Akt signaling pathway." Endocrinology **155**(3): 1145-1156.
- Serrano-Nascimento, C., J. P. Nicola, S. Teixeira Sda, L. L. Poyares, C. Lellis-Santos, S. Bordin, A. M. Masini-Repiso and M. T. Nunes (2016). "Excess iodide downregulates Na(+)/I(-) symporter gene transcription through activation of PI3K/Akt pathway." Mol Cell Endocrinol **426**: 73-90.
- Serrano-Nascimento, C., R. B. Salgueiro, T. Pantaleao, V. M. Correa da Costa and M. T. Nunes (2017). "Maternal Exposure to Iodine Excess Throughout Pregnancy and Lactation Induces Hypothyroidism in Adult Male Rat Offspring." Sci Rep **7**(1): 017-15529.
- Serrano-Nascimento, C., R. B. Salgueiro, K. F. Vitzel, T. Pantaleao, V. M. Correa da Costa and M. T. Nunes (2017). "Iodine excess exposure during pregnancy and lactation impairs maternal thyroid function in rats." Endocr Connect **6**(7): 510-521.

- Shi, X., C. Han, C. Li, J. Mao, W. Wang, X. Xie, C. Li, B. Xu, T. Meng, J. Du, S. Zhang, Z. Gao, X. Zhang, C. Fan, Z. Shan and W. Teng (2015). "Optimal and Safe Upper Limits of Iodine Intake for Early Pregnancy in Iodine-Sufficient Regions: A Cross-Sectional Study of 7190 Pregnant Women in China." The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism **100**(4): 1630-1638.
- Shimokawa, N., B. Yousefi, S. Morioka, S. Yamaguchi, A. Ohsawa, H. Hayashi, A. Azuma, H. Mizuno, M. Kasagi, H. Masuda, H. Jingu, S. I. Furudate, A. Haijima, Y. Takatsuru, T. Iwasaki, M. Umezu and N. Koibuchi (2014). "Altered cerebellum development and dopamine distribution in a rat genetic model with congenital hypothyroidism." J Neuroendocrinol **26**(3): 164-175.
- Shin, D. J. and T. F. Osborne (2003). "Thyroid hormone regulation and cholesterol metabolism are connected through Sterol Regulatory Element-Binding Protein-2 (SREBP-2)." J Biol Chem **278**(36): 34114-34118.
- Silva, J. E. (2006). "Thermogenic mechanisms and their hormonal regulation." Physiol Rev **86**(2): 435-464.
- Simonides, W. S., M. H. Thelen, C. G. van der Linden, A. Muller and C. van Hardeveld (2001). "Mechanism of thyroid-hormone regulated expression of the SERCA genes in skeletal muscle: implications for thermogenesis." Biosci Rep **21**(2): 139-154.
- Simonides, W. S. and C. van Hardeveld (2008). "Thyroid hormone as a determinant of metabolic and contractile phenotype of skeletal muscle." Thyroid **18**(2): 205-216.
- Singec, I., R. Knoth, M. Ditter, M. Frotscher and B. Volk (2003). "Neurogranin expression by cerebellar neurons in rodents and non-human primates." J Comp Neurol **459**(3): 278-289.
- Smanik, P. A., Q. Liu, T. L. Furminger, K. Ryu, S. Xing, E. L. Mazzaferri and S. M. Jhiang (1996). "Cloning of the Human Sodium Iodide Symporter." Biochemical and Biophysical Research Communications **226**(2): 339-345.
- Smanik, P. A., Q. Liu, T. L. Furminger, K. Ryu, S. Xing, E. L. Mazzaferri and S. M. Jhiang (1996). "Cloning of the human sodium iodide symporter." Biochem Biophys Res Commun **226**(2): 339-345.
- Smanik, P. A., K.-Y. Ryu, K. S. Theil, E. L. Mazzaferri and S. M. Jhiang (1997). "Expression, Exon-Intron Organization, and Chromosome Mapping of the Human Sodium Iodide Symporter." Endocrinology **138**(8): 3555-3558.
- Smerdely, P., A. Lim, S. C. Boyages, K. Waite, D. Wu, V. Roberts, G. Leslie, J. Arnold, E. John and C. J. Eastman (1989). "Topical iodine-containing antiseptics and neonatal hypothyroidism in very-low-birthweight infants." Lancet **2**(8664): 661-664.
- Solis, S. J., P. Villalobos, A. Orozco, G. Delgado, A. Quintanar-Stephano, P. Garcia-Solis, H. L. Hernandez-Montiel, L. Robles-Osorio and R. C. Valverde (2011). "Inhibition of intrathyroidal dehalogenation by iodide." J Endocrinol **208**(1): 89-96.
- Srivastava, P., Y. K. Dhuriya, V. Kumar, A. Srivastava, R. Gupta, R. K. Shukla, R. S. Yadav, H. N. Dwivedi, A. B. Pant and V. K. Khanna (2018). "PI3K/Akt/GSK3beta induced CREB activation ameliorates arsenic mediated alterations in NMDA receptors and associated signaling in rat hippocampus: Neuroprotective role of curcumin." Neurotoxicology **30**(18): 018.
- Steinhauser, G., A. Brandl and T. E. Johnson (2014). "Comparison of the Chernobyl and Fukushima nuclear accidents: a review of the environmental impacts." Sci Total Environ **471**: 800-817.
- Sternthal, E., L. Lipworth, B. Stanley, C. Abreau, S. L. Fang and L. E. Braverman (1980). "Suppression of thyroid radioiodine uptake by various doses of stable iodide." N Engl J Med **303**(19): 1083-1088.
- Swietaszczyk, C. and S. E. Pilecki (2012). "Two hundred years after discovery of iodine--less known functions of the element in human organism." Przegl Lek **69**(12): 1280-1282.

- T., Z. R. and R. J. (2004). "Timing of Thyroid Hormone Action in the Developing Brain: Clinical Observations and Experimental Findings." Journal of Neuroendocrinology **16**(10): 809-818.
- Tam, P. P., M. Kanai-Azuma and Y. Kanai (2003). "Early endoderm development in vertebrates: lineage differentiation and morphogenetic function." Curr Opin Genet Dev **13**(4): 393-400.
- Tamehiro, N., Y. Shigemoto-Mogami, T. Takeya, K. Okuhira, K. Suzuki, R. Sato, T. Nagao and T. Nishimaki-Mogami (2007). "Sterol regulatory element-binding protein-2- and liver X receptor-driven dual promoter regulation of hepatic ABC transporter A1 gene expression: mechanism underlying the unique response to cellular cholesterol status." J Biol Chem **282**(29): 21090-21099.
- Tang, F. (1985). "Effect of sex and age on serum aldosterone and thyroid hormones in the laboratory rat." Horm Metab Res **17**(10): 507-509.
- Tata, J. R. (2011). "Looking for the mechanism of action of thyroid hormone." J Thyroid Res **2011**: 730630.
- Taurog, A. (1999). "Molecular evolution of thyroid peroxidase**Adapted from Taurog A., Wall M., Thyroid 8 (1998) 185–191, with permission from the publisher, Mary Ann Liebert, Inc." Biochimie **81**(5): 557-562.
- Tauveron, I., M. Batisse-Lignier and S. Maqdasy (2018). "[Challenges in the management of amiodarone-induced thyrotoxicosis]." Presse Med.
- Thielen, H. (2012). "The Fukushima Daiichi nuclear accident--an overview." Health Phys **103**(2): 169-174.
- Thompson, C. C. and G. B. Potter (2000). "Thyroid hormone action in neural development." Cereb Cortex **10**(10): 939-945.
- Tsuda, T., A. Tokinobu, E. Yamamoto and E. Suzuki (2016). "Thyroid Cancer Detection by Ultrasound Among Residents Ages 18 Years and Younger in Fukushima, Japan: 2011 to 2014." Epidemiology **27**(3): 316-322.
- Vagenakis, A. G. and L. E. Braverman (1975). "Adverse effects of iodides on thyroid function." Med Clin North Am **59**(5): 1075-1088.
- van den Hove, M.-F., K. Croizet-Berger, F. o. Jouret, S. E. Guggino, W. B. Guggino, O. Devuyst and P. J. Courtoy (2006). "The Loss of the Chloride Channel, CIC-5, Delays Apical Iodide Efflux and Induces a Euthyroid Goiter in the Mouse Thyroid Gland." Endocrinology **147**(3): 1287-1296.
- van der Spek, A. H., E. Fliers and A. Boelen (2017). "The classic pathways of thyroid hormone metabolism." Mol Cell Endocrinol **18**(17): 30029-30021.
- Vanmiddlesworth, L. (1963). "Factors Influencing the Thyroid Uptake of Iodine Isotopes from Nuclear Fission--a Review." Health Phys **9**: 1197-1211.
- Vargas-Uricoechea, H. and A. Bonelo-Perdomo (2017). "Thyroid Dysfunction and Heart Failure: Mechanisms and Associations." Curr Heart Fail Rep **14**(1): 48-58.
- Verger, P., A. Aurengo, B. Geoffroy and B. Le Guen (2001). "Iodine kinetics and effectiveness of stable iodine prophylaxis after intake of radioactive iodine: a review." Thyroid **11**(4): 353-360.
- Vidal (2018). "Iodure de potassium." Dictionnaire Vidal: 1425-1426.
- Wang, Y., J. Zhong, H. Xu, W. Wei, J. Dong, F. Yu, J. Gong, Z. Shan, W. Teng and J. Chen (2012). "Perinatal iodine deficiency and hypothyroidism increase cell apoptosis and alter doublecortin and reelin protein expressions in rat cerebellum." Arch Med Res **43**(4): 255-264.
- Wemeau, J. L. and C. Do Cao (2008). "[Anaplastic thyroid carcinoma]." Ann Endocrinol **69**(3): 174-180.

- WHO (2017). "Iodine thyroid blocking : Guidelines for use in planning for and responding to radiological and nuclear emergencies." Geneva: World Health Organization; 2017. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.
- WHO (2017). "Iodine thyroid blocking. Guidelines for use in planning for and responding to radiological and nuclear emergencies."
- Wisniak, J. (2001). The History of Iodine - From Discovery to Commodity.
- Wittmann, G., J. Szabon, P. Mohacsik, S. S. Nouriel, B. Gereben, C. Fekete and R. M. Lechan (2015). "Parallel regulation of thyroid hormone transporters OATP1c1 and MCT8 during and after endotoxemia at the blood-brain barrier of male rodents." Endocrinology **156**(4): 1552-1564.
- Wolff, J. (1969). "Iodide goiter and the pharmacologic effects of excess iodide." The American Journal of Medicine **47**(1): 101-124.
- Wolff, J. and I. L. Chaikoff (1948). "Plasma inorganic iodide as a homeostatic regulator of thyroid function." J Biol Chem **174**(2): 555-564.
- Xiao, Q. and V. M. Nikodem (1998). "Apoptosis in the developing cerebellum of the thyroid hormone deficient rat." Front Biosci **15**(3): A52-57.
- Xu, P. X., W. Zheng, C. Laclef, P. Maire, R. L. Maas, H. Peters and X. Xu (2002). "Eya1 is required for the morphogenesis of mammalian thymus, parathyroid and thyroid." Development **129**(13): 3033-3044.
- Yamashita, S., S. Suzuki, H. Shimura and V. Saenko (2018). "Lessons from Fukushima: Latest Findings of Thyroid Cancer After the Fukushima Nuclear Power Plant Accident." Thyroid **28**(1): 11-22.
- Yoshida, M., A. Mukama, R. Hosomi, K. Fukunaga and T. Nishiyama (2014). "Serum and tissue iodine concentrations in rats fed diets supplemented with kombu powder or potassium iodide." J Nutr Sci Vitaminol **60**(6): 447-449.
- Zaballos, M. A., B. Garcia and P. Santisteban (2008). "Gbetagamma dimers released in response to thyrotropin activate phosphoinositide 3-kinase and regulate gene expression in thyroid cells." Mol Endocrinol **22**(5): 1183-1199.
- Zannini, M., V. Avantiaggiato, E. Biffali, M. I. Arnone, K. Sato, M. Pischetola, B. A. Taylor, S. J. Phillips, A. Simeone and R. Di Lauro (1997). "TTF-2, a new forkhead protein, shows a temporal expression in the developing thyroid which is consistent with a role in controlling the onset of differentiation." Embo j **16**(11): 3185-3197.
- Zanzonico, P. B. and D. V. Becker (2000). "Effects of time of administration and dietary iodine levels on potassium iodide (KI) blockade of thyroid irradiation by ¹³¹I from radioactive fallout." Health Phys **78**(6): 660-667.
- Zhang, L., W. Teng, Y. Liu, J. Li, J. Mao, C. Fan, H. Wang, H. Zhang and Z. Shan (2012). "Effect of maternal excessive iodine intake on neurodevelopment and cognitive function in rat offspring." BMC Neurosci **13**(121): 1471-2202.
- Zhang, X., Y. Jiang, W. Han, A. Liu, X. Xie, C. Han, C. Fan, H. Wang, H. Zhang, S. Ding, Z. Shan and W. Teng (2016). "Effect of Prolonged Iodine Overdose on Type 2 Iodothyronine Deiodinase Ubiquitination-Related Enzymes in the Rat Pituitary." Biol Trace Elem Res **174**(2): 377-386.
- Zimmermann, M. B. (2012). "The effects of iodine deficiency in pregnancy and infancy." Paediatr Perinat Epidemiol **1**: 108-117.
- Zimmermann, M. B. and M. Andersson (2012). "Assessment of iodine nutrition in populations: past, present, and future." Nutrition Reviews **70**(10): 553-570.

ANNEXES

ANNEXE 1

« DO MULTIPLE ADMINISTRATIONS OF STABLE IODINE
PROTECT POPULATION CHRONICALLY EXPOSED TO
RADIOACTIVE IODINE: WHAT IS PRIODAC RESEARCH
PROGRAM (2014–22) TEACHING US? »

« Est-ce que des administrations multiple de l'iode stable protège la population exposée d'une manière réitérée aux iodes radioactifs : qu'est-ce que le programme de recherche PRIODAC (2014-2022) nous apprend ? »

M Benderitter, T Pourcher, JC Martin, J Darcourt, P Guigon,
F Caire-Maurisier, A Pech, D Lebsir, C Rosique, J Guglielmi,
F Rebière, K Tack, G Phan, P Lestaevel, M Souidi
and JR Jourdain

[Radiation Protection Dosimetry \(2018\), pp. 1–13](#)

1 Annexe I: projet PRIODAC

1.1 Résumé de la revue projet PRIODAC

Cette revue fait un état des lieux sur la doctrine de l'iode, et les questionnements associées à la prophylaxie répétée au KI, elle décrit également le programme de recherche PRIODAC : « Prophylaxie Répétée à l'Iode stable en situation Accidentelle » qui a été lancé en 2014 suite aux multiples questions et au retour d'expérience de l'accident de Fukushima en ce qui concerne la gestion des risques nucléaires et radiologiques. Ce programme Français est coordonné par l'Institut de Radioprotection et Sureté Nucléaire (IRSN), et englobe Cinq partenaires IRSN, Commissariat d'Energie Atomique (CEA), l'université Nice Sophia antipolis (UNS), l'université d'Aix-Marseille (AMU) et la pharmacie centrale des armées (PCA). Il vise à définir les conditions d'une administration répétée de KI afin de protéger les populations exposées d'une manière prolongée et / ou répétée aux iodes radioactifs dans une situation accidentelle nucléaire ou radiologique.

Actuellement une dose unique d'iodure de potassium (KI) est recommandée pour prévenir le risque de cancer de la thyroïde lors d'accidents nucléaires. Cependant, en cas de libération répétée / prolongée d'iode radioactif, une dose unique de KI peut ne pas protéger efficacement la thyroïde contre le risque de développer un cancer radio-induit. Les nouvelles directives de l'OMS sur la planification et la réponse aux urgences radiologiques et nucléaires font apparaître la nécessité de disposer de plus de données sur ce sujet (doctrine de l'iode). Les objectifs du projet PRIODAC sont (1) d'évaluer les effets secondaires associés à des apports répétés de KI, (2) de mieux comprendre les mécanismes moléculaires régulant le métabolisme de l'iode, (3) de réviser l'autorisation de mise sur le marché des comprimés de KI à 65 mg et (4) d'élaborer de nouvelles recommandations relatives à l'administration de KI en vue d'une meilleure harmonisation des pratiques à l'échelle internationale. Par exemple, la France recommande la distribution de comprimés de KI à l'ensemble de la population, alors que l'Allemagne ne distribue pas de comprimés KI à des personnes de plus de 40 ans, arguant du faible risque de cancer de la thyroïde et du risque accru de fibrillation auriculaire.

A présent, les données dont on dispose quant à l'application des comprimés d'iodure de potassium dérivent du retour d'expérience de l'accident de Tchernobyl et du suivi à posteriori des habitants de la Pologne ayant reçus du KI. Des études cliniques et précliniques ont exploité l'efficacité et les conséquences de la prise unique ou répétée du KI mais dans un but mécanistique. Le Projet PRIODAC vise à exploiter les modalités de l'administration du KI ainsi que les conséquences de cette administration dans un but de radioprotection.

Étant donné qu'un essai clinique contrôlé randomisé sur les effets biologiques de l'administration répétée de KI dans des situations d'urgence nucléaire ne sera jamais possible pour des raisons éthiques évidentes, le développement d'études précliniques robustes, telles que celles présentées dans le projet PRIODAC, est nécessaire.

Le programme de recherche PRIODAC (2014-2022) vise à :

- Déterminer la posologie pour l'administration répétée de KI en cas d'exposition prolongée / chronique à l'iode radioactif en utilisant des approches pharmacocinétiques / pharmacodynamiques ;
- Évaluer le rapport bénéfice / risque en examinant l'efficacité prophylactique (absorption d'iode radioactif dans la thyroïde suivie d'une imagerie SPECT) *versus* les effets indésirables potentiels pouvant être induits par l'administration répétée de KI sur la fonction thyroïdienne mais également sur d'autres organes cibles, notamment le système nerveux central en développement et le système cardiovasculaire en phase de vieillissement ;
- Améliorer les connaissances sur le métabolisme de l'iode, en particulier les mécanismes moléculaires de l'effet Wolff-Chaikoff dans cette situation spécifique d'ingestion répétée de KI. Quatre groupes d'âge variable de la population ont été modélisés, comprenant la personne âgée, l'adulte, le nouveau-né et le fœtus, en utilisant le modèle rat.

Les résultats présentés dans cette revue, montrent une l'efficacité d'une nouvelle dose de KI à 1 mg/kg/24h par imagerie et scintigraphie, et son innocuité en répétée chez le modèle rat adulte par différentes approches.

1.2 Revue: DO MULTIPLE ADMINISTRATIONS OF STABLE IODINE PROTECT POPULATION CHRONICALLY EXPOSED TO RADIOACTIVE IODINE: WHAT IS PRIODAC RESEARCH PROGRAM (2014–22) TEACHING US?

Radiation Protection Dosimetry (2018), pp. 1–13

doi:10.1093/rpd/ncy129

DO MULTIPLE ADMINISTRATIONS OF STABLE IODINE PROTECT POPULATION CHRONICALLY EXPOSED TO RADIOACTIVE IODINE: WHAT IS PRIODAC RESEARCH PROGRAM (2014–22) TEACHING US?

Marc Benderitter^{1,*}, Thierry Pourcher², Jean-Charles Martin³, Jacques Darcourt⁴, Pierre Guigon⁵, Francois Caire-Maurisier⁵, Annick Pech⁵, Dalila Lebsir¹, Clément Rosique³, Julien Guglielmi⁴, Francois Rebière¹, Karine Tack¹, Guillaume Phan¹, Philippe Lestaevel¹, Maâmar Souidi¹ and Jean-René Jourdain¹

¹Institut de Radioprotection et de Sûreté Nucléaire (IRSN), PSE-Santé, 92260 Fontenay-aux-Roses, France

²Laboratoire BIAM/TIRO, Commissariat à l'Energie Atomique et aux énergies alternatives (CEA), School of medicine, 28 avenue de Valombrose, 06107 Nice, France

³UMR INRA 1260/INSERM 1062/AMU « NORT », 27 boulevard Jean Moulin, 13385 Marseille, France

⁴UMR TIRO-MATOs, Université Nice Sophia Antipolis (UNS), School of medicine, 28 avenue de Valombrose, 06107 Nice, France

⁵Pharmacie Centrale des Armées (PCA), Direction des Approvisionnements en produits de Santé des Armées, 45000 Orléans, France

*Corresponding author: marc.benderitter@irsn.fr

Single dose of potassium iodide (KI) is recommended to prevent the risk of thyroid cancer during nuclear accidents. However in the case of repeated/protracted radioiodine release, a unique dose of KI may not protect efficiently the thyroid against the risk of further developing a radiation-induced cancer. The new WHO guidelines for the use in planning for and responding to radiological and nuclear emergencies identify the need of more data on this subject as one of the four research priorities. The aims of the PRIODAC project are (1) to assess the associated side effects of repeated intakes of KI, (2) to better understand the molecular mechanisms regulating the metabolism of iodine, (3) to revise the regulatory French marketing authorization of 65-mg KI tablets and (4) to develop new recommendations related to the administration of KI toward a better international harmonization. A review of the literature and the preliminary data are presented here.

INTRODUCTION

Five years after 1986 Chernobyl Nuclear Power Plant's (NPP) explosion, an increase in the incidence of thyroid cancer was reported among those who were children or adolescents and resided in territories contaminated by radioactive fallout in Belarus, Ukraine and Russian Federation. The total number of cases of thyroid cancer registered in the period 1991–2015 in males and females, who were under 18 in 1986 (for the whole of Belarus and Ukraine and for the four most contaminated oblasts of the Russian Federation), approached 20 000. This number is almost three times higher than the number of thyroid cancer cases registered in the same cohort in the period 1991–2005⁽¹⁾.

This dramatic increase, reported in a number of case-control and cohort studies, is particularly high for children under the age of 4 at the time of the accident. Consumption of milk contaminated with iodine-131 and other short-lived iodines and higher sensitivity to radiation of children's thyroids were the main causes of cancer in this sub-population^(2, 3). Furthermore, because of the interruption of national nutrition programs supporting the use of iodized salt

in the former Soviet Union at the time, the local populations of the Chernobyl-affected areas suffered from iodine deficiency. This deficiency contributed to the increased thyroid uptake of radioactive iodine resulting from the accident's fallout. The thyroid cancer risk could have been prevented, should the Soviet authorities rapidly administered stable iodine (further, KI—for potassium iodide) within the first hours following the accident for the purpose of iodine thyroid blocking (ITB). In addition to ITB, consumption of contaminated food and drinking water should be also restricted. As a result of ITB, the thyroid of exposed individuals would have been rapidly saturated by stable iodine, thus preventing the uptake and binding of radioactive iodines in children's thyroid which is particularly sensitive to radiation. The key factor for this countermeasure effectiveness is a rapid and timely implementation. Indeed, physical half-lives of radioactive iodine are quite short (8 days for the iodine-131, 6.57 h for iodine-135) and thus require administration preferably within 5–8 h and ideally 2 h before the exposure or at the latest no later than within the 24 h following the exposure^(4–6). Furthermore, the efficiency of this

© The Author(s) 2018. Published by Oxford University Press. All rights reserved. For Permissions, please email: journals.permissions@oup.com

Downloaded from <https://academic.oup.com/rpd/advance-article-abstract/doi/10.1093/rpd/ncy129/5088061> by IRSN user on 03 September 2018

M. BENDERITTER ET AL.

urgent protective action would be further strengthened by the restriction of consumption of contaminated local production and drinking water, especially dairy products, leafy vegetables, fruit, etc.

In comparison to the Chernobyl accident, the Fukushima Daiichi accident in Japan differed by several radioactive releases to the environment during the last 3 weeks of March 2011. Even if the Japanese authorities managed within the first 24 h to evacuate the population living within a 20 km radius around the NPP, the population living outside this exclusion zone still would have been exposed to radioactive fallout in the days following the accident. The total releases in Fukushima were less than 10% of those of Chernobyl and thyroid doses lesser than internationally recommended for implementation of ITB. The Japanese Nuclear Safety Commission, the local authorities did not organize campaigns of preventive KI administration⁽⁷⁾. The disaster of Fukushima highlighted the limits of ITB policy particularly in the case of repeated release of radioactive iodine in the environment. Indeed, this accident demonstrates in a non-ambiguous way that the ITB policy, which usually recommends nowadays a single intake of KI tablets (and perhaps a second one, if necessary), cannot offer an adequate protection to population groups that are repeatedly exposed to radioactive iodine. Therefore, the health authorities in Fukushima would not be able to face such situation, due to the lack of protocol for repeated KI administration.

The protection of thyroid function of an exposed individual by high doses of stable iodine results from the saturation of thyroid with stable iodine in which case radioactive iodine will not be uptaken, but on the other hand, the protective effect also results from the induction of a physiological regulation of the thyroid, the so-called Wolff-Chaikoff effect. The latter decreases the thyroid capacity of taking up iodine in case of iodine overload^(8, 9). The thyroid cells, i.e. thyrocytes are organized in follicles delimitating a compartment, i.e. the colloid, within which iodination of the hormonal precursors is catalyzed. The iodine is actively transported into thyrocytes by the sodium/iodine symporter (NIS), which is located at the basolateral membrane of the thyrocyte⁽¹⁰⁾. The iodine diffuses then through the apical membrane of the thyrocytes (via at least two membrane effectors, i.e. the pendrine (PDS) and the voltage-sensitive 5 (VIC5) channel) to penetrate into the colloid, where it oxidizes to iodide. Then, the iodide is bound to tyrosine residues (organification) as the components of thyroid hormones T4 and T3. Eng *et al.*⁽⁸⁾ reported that Wolff-Chaikoff effect allows the thyroid to adapt itself to a transitory or a more constant increase in circulating iodine concentration by inhibiting iodide organification in case of high iodine plasma concentrations for 1 or 2 days. A high dose of iodine for 1 or 2 days, exceeding

Table 1. Biochemical and hormonal parameters of rat 30 days after KI discontinuation. Data are expressed as mean SEM ($n = 13$ /group), ALAT, alanine aminotransferase; ASAT, aspartate aminotransferase; TW, thyroid weight; BW, body weight; TSH, thyroid-stimulating hormone; T4, thyroxine; T3, triiodothyronine; CK, creatine kinase; CK-MB, creatine kinase myocardial band.

Function	Control	KI 1 mg/kg
General indicators		
Final body weight (g)	391 ± 2.08	392 ± 2.08
TW/BW ratio	0.08 ± 0.006	0.06 ± 0.005
Thyroid markers		
TSH (ng/ml)	1.56 ± 0.17	1.48 ± 0.10
Free T4 (pmol/l)	24.98 ± 0.61	25.29 ± 0.68
Free T3 (pmol/l)	3.63 ± 0.12	3.80 ± 0.13
Liver markers		
ALAT (U/l)	30.63 ± 1.46	30.58 ± 1.35
ASAT (U/l)	124.51 ± 12.69	112.18 ± 8.29
ASAT/ALAT	4.02 ± 0.28	3.71 ± 0.25
Kidney markers		
Creatinine (μM)	44.54 ± 3.93	44.99 ± 1.99
Urea (mM)	5.46 ± 0.72	5.62 ± 0.83
Heart markers		
CK (U/l)	579.46 ± 90.62	533.60 ± 57.54
CK-MB (U/l)	741.88 ± 225.22	843.36 ± 198.07

the daily physiological need by 20–1000 times^(11, 12), inhibits the synthesis of thyroid hormones, a process known as the Wolff-Chaikoff effect. Wolff-Chaikoff effect results in transient hypothyroidism⁽⁸⁾. The cellular mechanisms responsible for this physiological response are mediated partly by the inhibition of iodine uptake through a reduction of NIS expression⁽⁸⁾. In the case of delayed administration of thyroid blocking (e.g. 3–5 h after the radioiodine intake), the transitory inhibition of thyroid hormones secretion will result in an accumulation of radioactive iodine already incorporated into the hormonal precursors, thus increasing the radiation dose received by the thyroid. However, the inhibition of organification by the Wolff-Chaikoff effect and the isotopic dilution of very small amounts of radioactive iodine (with respect to its mass), both resulting from administration of high doses of stable iodine, will efficiently protect the thyroid from the exposure to radioactive iodine. Ideally implemented just before radioactive iodine exposure, the administration of potassium iodide (KI) aims at the NIS receptors saturation (Wolff-Chaikoff effect) and thus blocking the thyroidal uptake and binding of radioactive iodine ingested or inhaled as a result of a nuclear accident. High doses, i.e. 20–1000 times higher than the daily nutritional supply, are necessary to achieve such effect^(11, 12). The timelines of ITB implementation is of major importance, considering the short physical half-life of the released radioactive iodine potentially leading to important

IMPROVED POTASSIUM IODIDE PROPHYLAXIS

molecular damages within the thyroid after binding. Certainly, the main benefit of ITB is the reduction of risk of radiation-induced thyroid cancer among those exposed at early age for years and decades post-exposure⁽¹³⁾. The major health consequence of the Chernobyl accident, where ITB was not timely implemented, was the dramatic increase of thyroid cancer incidence in persons who were 0–18 years old at the time of exposure, which was associated with the consumption of milk contaminated with radioactive iodine⁽¹⁾.

ITB policy assumes that population groups would be exposed during a relatively short time to the release of radioactive material *via* inhalation from which they should be rapidly removed, thanks to the synergic action of protective measures, including population sheltering or evacuation. However, in the light of the lessons learnt from the Fukushima Daiichi 2011 NPP accident, even if population sheltering and evacuation have been decided, local population still potentially exposed because of the evacuation difficulties, during prolonged and repetitive radioactive discharges into the environment. In such a situation of prolonged and/or repeated radionuclide discharges, a single KI intake would not be sufficient to offer complete protection of the thyroid, and additional KI intake would be essential for an effective prevention of the thyroid cancer. However, very few studies are available in the literature regarding repeated KI administration, either in human beings excepted for some very specific diseases⁽¹³⁾.

A single clinical study targeting individuals with a normal thyroid function, showed a transitory modification of plasmatic thyroid hormones level; a small but significant decrease in T3 and T4 plasma concentrations with a significant increase in TSH plasma concentration, when high doses of iodide (72 and 360 mg) were administered daily for periods as long as 39 days⁽¹⁴⁾. Another study carried out on elderly highlighted hyperthyroidism occurrence in one-third of the patients treated with high daily KI dosage (120 mg/day)⁽¹⁵⁾. The group of Todd showed a decrease of thyroglobulin level in euthyroidic patients⁽¹⁶⁾. Four other studies were published, including three on hyperthyroidic adults^(17, 18). Only one concerned euthyroidic patients⁽¹⁹⁾. Because of the lack of previous studies, it is therefore very challenging to assess the possible side effects to the thyroid and other organs resulting from repeated administrations of a large stable iodide amount. However, even if conditions for a first KI administration are well defined, the health authorities would not be in the position to decide on KI administration scheme if repeated administrations would be necessary. Even though ITB policies foresee a second KI administration only in the case of no possible rapid evacuation of the population, they currently do not recommend repetitive stable iodine intakes (quantity of KI to be ingested depending on the age, delay between two

intakes, treatment duration and occurrence of side effects, etc.). Moreover, the French marketing authorization (MA) does not permit repetitive administrations of KI. This authorization was delivered on the basis of studies investigating KI efficacy and toxicity after a single intake.

In the absence of appropriate studies, i.e. studies looking at the efficacy and toxicity of KI after several intakes, clear and precise recommendation for repetitive KI intake is not possible. Furthermore, adverse effects which could occur following repetitive intakes were not rigorously investigated. It is noteworthy that a Fukushima worker who took KI tablets for ITB over a period of more than 70 days was reported to experience transient hypothyroidism (M. Akashi, personal communication, 2014). These gaps of knowledge do not allow determining the maximal KI quantity to be administered as well as the maximal treatment duration not to be exceeded. Besides, a better understanding of the mechanisms of action, the bio-distribution and the elimination of the iodine is missing to revisit the current knowledge for those specific situations. In a recent review⁽²⁰⁾, it was pointed out the need to further raise the following/research question: 'In vulnerable population subgroups, i.e. infants, children, pregnant or lactating women exposed repeatedly/continuously to radioactive iodine does repeated ITB as compared to single ITB administration reduce the risk of relevant outcomes, such as thyroid cancer, hypothyroidism and benign thyroid nodules?'

Finally, a recent review of ITB policies in Europe, Japan and the USA showed significant differences between national recommendations even in neighboring countries⁽²¹⁾. For example, while France will recommend the distribution of KI tablets to the whole population, Germany will not distribute KI tablets to individuals over 40 years, arguing the low risk for this subgroup to develop thyroid cancer and the greater risk of overt hyperthyroidism in these patients after KI administration with 'toxic' goiter leading consecutively to atrial fibrillation. With the view of avoiding implementation of medical countermeasures different from a country to another, it is becoming obvious that international harmonization of ITB policies is urgently needed. Moreover, preventive procedures better adapted to the protection of newborn children, young children, pregnant women, nursing mothers and elderly need to be better explored.

THE PRIODAC PROJECT

The PRIODAC (Prophylaxie répétée par l'iode stable en situation accidentelle) project (project page URL: <https://www.irsn.fr/projet-PRIODAC>) was launched by the IRSN in 2014 for the duration of 8 years. It aims to define the conditions for repetitive

M. BENDERITTER ET AL.

administration of KI in order to protect the populations potentially exposed to prolonged and/or repeated intake of radioactive iodine in a nuclear or radiological accidental situation. The results obtained within the framework of the PRIODAC project will also benefit to challenge the French national ITB policy under the auspices of the Ministry of Health and the Nuclear Safety Authority (ASN) and provide evidence base for modifying the MA of 65-mg KI tablets. Finally, the future update of the French national ITB policy, driven by PRIODAC scientific findings, may also hopefully serve to revisit international ITB policies and harmonization of protective actions across the nations in European Union.

The new WHO guidelines for the use in planning for and responding to radiological and nuclear emergencies⁽²²⁾ identify as one of the four research priorities the need of 'More data on the dosage, optimal timing and regimens for multiple administrations of stable iodine in case of repeated or protracted releases of radioactive iodine and the adverse health effects of stable iodine administration'. Since a randomized controlled clinical trial on the clinical effects of repeated ITB administration in nuclear emergencies will never be possible for obvious ethical reasons, the developments of robust preclinical studies, such as PRIODAC are needed. The PRIODAC research program (2014-2022) aims to:

- determine the posology for repeated administration of KI using pharmacokinetic and pharmacodynamics approaches,
- evaluate the benefit/risk ratio by investigating the therapeutic efficacy vs the potential adverse effects that may be induced by repeated administration of KI, and also on other target organs including the central nervous system and the cardiovascular system and
- improve knowledge of the thyroid and the extra-thyroid metabolism of iodine, particularly the molecular mechanism of the Wolff-Chaikoff effect in this specific situation of repetitive intake of KI. Special consideration is dedicated to groups of the population. Four different groups of population were modeled including the aged, adult, post-natal and *in utero* using rat's models.

Beyond defining the posology of iodine-repeated administration (dosage, fractionation, maximal treatment duration etc.), it is required to investigate potential adverse effects induced by repetitive KI administration and to identify the way to prevent them if necessary. It is known that thyroid dysfunction episodes induce mental retardation and neurologic disorder in children⁽²³⁾. Also, thyroid dysfunctions are tightly correlated to the development of cardiovascular pathologies, particularly in aged patients⁽²⁴⁾. Finally, some studies pointed out that iodine supplementation may favor autoimmune pathologies of the thyroid⁽²⁵⁾.

The scientific challenges of the PRIODAC program are as follows:

- To determine the posology for repeated KI administration in case of protracted/chronic exposure to radioactive iodine using pharmacokinetic/pharmacodynamics approaches;
- To evaluate the benefit/risk ratio by investigating the prophylactic efficacy (radioactive iodine uptake in the thyroid as followed by SPECT imaging) vs the potential adverse effects that may be induced by repeated KI administration on the thyroid function but also on other target organs including the central nervous system and the cardiovascular system;
- To improve the knowledge of the thyroid and the extra-thyroid metabolism of iodide, particularly the molecular mechanism of the Wolff-Chaikoff effect.

KI PHARMACOKINETICS AND PHARMACODYNAMICS

According to the data from the literature, the current usual ITB KI dose of approximately 1.8 mg/kg (KI mass per body weight), corresponding to 130 mg KI in a standard 70 kg adult, should be sufficient to protect the thyroid against the uptake of radioactive iodine for at least 24 h⁽²⁶⁾. This dose is of the same order of magnitude than the dose range originally determined and used in the treatment of hyperthyroidism (from 150 to 300 mg of iodide per day)⁽²⁷⁾. The effectiveness of ITB⁽³⁾ is highly dependent on different parameters such as the thyroid status of the individuals, the dietary iodine intake or the time of administration as function of the exposure to radioactive isotopes of iodine. For instance, the intake of 100 mg of iodide (130 mg KI) just before exposure to radioactive iodine allows avoiding 95% or more of the thyroid radiation dose in euthyroid adults. The percentage of avoided thyroid dose is then comprised between 50 and 75% if the exposure to radioisotopes of iodine occurs 48 h after the administration of 100 mg of stable iodide⁽²⁶⁾. WHO and many countries in their guidelines recommending ITB⁽²⁾. Some authors consider that this dose of 130 mg KI may be excessive, particularly in adolescents and children which justifies the administration of fractions of this dose to the other groups of age of the population (65 mg in children from 3–12 years old; 32.5 mg in infants from 1 month through 3 years old and 16.25 mg in newborns)⁽²⁸⁾. Besides, it has been reported that lower KI doses corresponding to 0.2 and 0.4 mg/kg should be efficient to block the thyroid uptake of radioactive iodine, respectively, in adults with sufficient and insufficient dietary iodine^(28, 29). Our aim in the PRIODAC program is to test if repeated administration of the current KI dose (<1.8 mg/kg) may lead to prolonged inhibition of the

IMPROVED POTASSIUM IODIDE PROPHYLAXIS

thyroid function and therefore to a sustained dysfunction of the metabolism of thyroid hormones and related extra-thyroid side effects. So the determination of an optimal KI dose in terms of thyroid protection efficiency and of the absence of side effect appears to be necessary in the case of repeated administrations in humans. Then the pharmacokinetics of the stable iodide after oral administration of KI will be thoroughly studied in rats in order to model and to propose an efficient dose regimen for protracted KI prophylaxis.

Although not yet officially recommended in all the current treatment protocols, repeated administrations of KI have already been envisaged and evaluated in a limited number of studies in children or in adults and adolescents⁽²⁹⁻³¹⁾.

The minimal effective dosage of iodide given repeatedly which is required to suppress the uptake of radioiodine ¹³¹I by the normal thyroid and the time required to achieve this effect were determined first in children in 1962⁽³¹⁾. In this study, groups of children from 1 to 11 years old received iodide as sodium iodide aqueous solution at doses ranging from 0.1 to 1 mg per day for 2 weeks. The results showed that doses corresponding to 1.5–2 mg/m² body surface were efficient to decrease the thyroid uptake of ¹³¹I given orally to approximately 5% without causing any toxic effect. Interestingly, the minimum uptake of about 5% was reached in 2–4 weeks and increasing the stable iodine dose to over 2 mg/m² per day did not increase the suppression effect further. The authors concluded that the minimal effective daily dose of iodine would be 1–2 mg for children and 3–4 mg for adults⁽³¹⁾.

In the next studies in adults and adolescents, the choice of the first dose as well as the subsequent doses of stable iodine and the interval of time between the administrations were not systematically supported by pharmacological data or the pharmacokinetics of iodine. Nonetheless, the stable iodine was given daily in the adults and adolescents either at a dose of 2 mg/m² body surface, corresponding to iodine doses ranging from 1.8 to 4.2 mg/day for 14 days⁽³⁰⁾ or at fractions of the maximal recommended dose of 100 mg of iodide (10, 15, 30, 50 and 100 mg)⁽⁷⁾ for 12 days⁽²⁹⁾. The results in adults showed that daily iodine doses as low as 10 mg were sufficient to suppress the thyroid uptake of radioiodine at 24 h below 4%⁽³⁰⁾. The percentage of radioiodine ¹²³I uptake was below 2% for daily stable iodine doses higher than 15 mg⁽²⁹⁾. The blockade of the thyroid was also associated with a significant decrease in serum concentrations of the thyroid hormones T4 and T3 and a significant increase in the thyrotropin hormone TSH observed on Day 8 in the subjects who received daily doses of iodine above 30 mg. However, this effect was transient and reversible

since the hormones concentrations returned to normal values after the withdrawal of iodide on Day 12⁽²⁹⁾. It is worth mentioning that in this last study, a relationship could be drawn between the total serum concentration of stable iodine during the prophylaxis and the 24-h uptake of radioactive iodine in the thyroid, since the uptake of <2% in the thyroid has been associated with a total iodine serum concentration of at least 220 µg/l. This information emphasizes the existence of a possible correlation between the distribution of stable iodine and its pharmacologic effect and strengthens the interest to conduct further pharmacokinetic experiments in order to complete and revise the data regarding the efficacy of iodine prophylaxis in the context of a prolonged exposure to radioiodine.

Dose–response studies in humans have been so far based on the use of radioactive tracers of iodine and are very limited because of the small number of volunteers^(29, 32, 33). Alternatively, studies in animals, especially in rodents, usually offer the possibility to test a larger number and wider scale of doses⁽³⁴⁻³⁶⁾. However, these studies are rather seldom and the effects of stable iodide on thyroid have not been analyzed from a pharmacological point of view with proper mathematical models. To our knowledge, one single study aimed to investigate repetitive administration of KI for ITB⁽³⁷⁾. To go further, the PRIODAC program aims to investigate repeated stable iodine prophylaxis in accidental situation in different animal species.

Project's findings

In the frame of PRIODAC program, the first step of the research strategy was to model the effect of graded doses of stable iodine in order to determine the optimal dose associated with more than 95% of protection of the thyroid against radioactive iodine uptake. This optimal KI dose was found experimentally to be around 1 mg/kg in Wistar adult rats, when the animals were administered orally single doses of KI from 0.001 to 5 mg/kg, 1 h before contamination simulated by intravenous injection of ¹²⁵I⁽³⁸⁾. Besides, the analysis of stable iodine content in the thyroids and in the urines 24 h after KI administration showed that this optimal dose of 1 mg/kg was associated with a saturation of the thyroid with iodine⁽³⁸⁾. Pharmacokinetic studies with this optimal dose are in progress in the PRIODAC program in order to correlate the distribution of administered stable iodine and its pharmacologic effect, as well as to design effective dose regimen based on the determined pharmacokinetic parameters of iodine for a prolonged prophylaxis in models with different groups of age models (adult, young and pregnant subjects).

M. BENDERITTER ET AL.

ITB EFFICACY

During the period 1940–60, radioactive iodide was used in animal experiments (mostly rats) to study the tissue distribution of iodine. Minute concentrations of radioiodide could be used to trace its metabolism without interfering on it. Such experiments proved to be useful for the understanding of thyroid function and regulation. In particular, Wolff and Chaikoff found that high iodide plasma concentration inhibited several steps the thyroid function with an escape phenomenon⁽³⁹⁾. Radioiodine uptakes and organification in organs were measured *ex vivo* after sacrificing the animals.

For several decades, radioiodine is being used for thyroid scintigraphy in humans for the diagnosis of various thyroid diseases. It has not been often used in animal experiments mainly for technical reasons: lack of sensitivity and resolution of the clinical cameras when applied to rodent imaging. These cameras have a large field of view with a high sensitivity, but with a modest spatial resolution of 5–15 mm. For mouse imaging, spatial resolution is an important issue, to distinguish, for example, the thyroid from the salivary glands located very closely and which are both capable for iodine accumulation. Some of these organs are very small; as an example, the size of a mouse thyroid lobe is approximately 1 mm x 0.3 mm. Therefore, dedicated imaging systems for small animals have been recently developed. In particular, they used multipinhole collimation systems which allow a significant increase in spatial resolution on a smaller field of view with an equivalent sensitivity. These systems, referred to as micro-SPECT (Single-Photon Emission Computed Tomography), allow small animal imaging with a spatial resolution ranging from 0.3 to 1 mm⁽⁴⁰⁾. They can be coupled to an X-ray computed tomography imaging system which adds anatomical information (dedicated Micro-SPECT/CT systems). Several single-photon radiopharmaceuticals are suitable for this method of molecular imaging: iodine isotopes such as ¹²³I (¹²³I⁻) as well as radioactive anions which are also substrate of the Sodium Iodide Symporter (NIS) such as ^{99m}Tc-technetium pertechnetate (^{99m}TcO₄⁻). The difference between iodide's isotopes and ^{99m}TcO₄⁻ is important to consider. As described earlier, iodide is taken up by the thyrocytes and transferred to the colloid for organification. ^{99m}TcO₄⁻ follows the same uptake mechanism into the thyrocyte but is not further transferred for hormone synthesis. As far as the thyroid NIS-mediated uptake is concerned, both types of radiopharmaceuticals are equivalent⁽⁴¹⁾.

Project's findings

These radiopharmaceuticals along with the availability of high-resolution micro-SPECT/CT system

makes SPECT imaging a method of choice for studying *in vivo* iodide metabolism in small animals in our PRIODAC program.

The PRIODAC program aimed first to study the effect of the route of administration of the radiopharmaceuticals (Figure 1)^(38, 42). The kinetics ^{99m}TcO₄⁻ was studied on serial micro-SPECT acquisitions. Thyroid uptake of ^{99m}TcO₄⁻ was higher when it was administered intraperitoneally or subcutaneously than when administered by gavage, whereas gavage administration favored ^{99m}TcO₄⁻ accumulation in the stomach. For both thyroid and stomach, intraperitoneal, subcutaneous and intravenous administration led to similar uptake kinetics. These results suggest that administration by gavage leads to an accumulation of the radiopharmaceutical in the stomach at the expense of other NIS-expressing organs. To confirm these conclusions, animals were administered intraperitoneally or by gavage with ¹²³I. Thyroid and salivary glands uptake were monitored over a longer time, up to 24 h. For both modes of administration, a peak of activity was reached 4 h after the administration of ¹²³I⁻. The area under the curve (AUC) of ¹²³I thyroid uptake in the intraperitoneal group was 2.35 times higher than the AUC in the gavage group. We also verified the protective effect of a single dose of nonradioactive iodine on thyroid uptake⁽⁴⁰⁾. Mice were administered on the one hand with 0.520 mg/kg of KI 4 days before radiopharmaceutical injection and micro-SPECT acquisition and on the other hand with 0.4 mg/kg of KI 1 day before. The ^{99m}TcO₄⁻ thyroid uptake in the first situation was not different from the control group, whereas it was significantly reduced in the 0.4 mg/kg of KI group. This confirmed that the KI clearance is rapid and that the protective effect disappears quickly (in 48 h). Together with other kinetics experiments of KI using radioiodide as a tracer (unpublished data), these results show that small doses given within 24 h after the contamination protect efficiently the thyroid not so much through dilution effect but mainly by the Wolff and Chaikoff effect.

The PRIODAC program tested the protective effect of repeated KI administration every 24 h on rat thyroid uptakes using ¹²³I. The experiments were conducted according to the protocol showed in Figure 2A. Namely, the animals were given 1 mg/kg of KI every day and ¹²³I (corresponding to the radioactive contamination) was administered at different time points after the KI administrations and with repeated acquisition to obtain the thyroid time activity curves from 0 to 36 h for each case and to measure the corresponding AUC. The results confirm an excellent protection compared to the controls at the different contamination time points: 89% just after the last KI administration (0 h), 86% 12 h after (12 h), 90% 18 h after (18 h) and 99.9% at 23 h after (Figure 2C). One should note that increased

IMPROVED POTASSIUM IODIDE PROPHYLAXIS

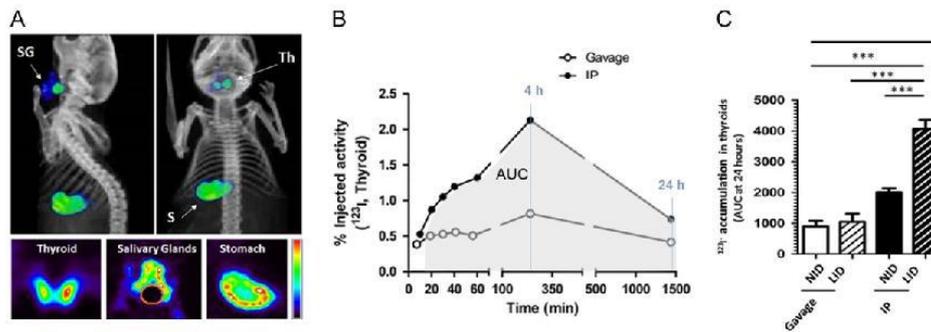


Figure 1. Physiological pharmacokinetics of iodide in mice. A micro-SPECT/CT camera eXplore speCZT CT120 (general electric/trifoil) was used. The CZT detector technology with the multipinhole collimators allows a spatial resolution in mice of 1 mm (32). Images were acquired over the total body of the animal (A) in order to include systematically all the organs susceptible to be involved in the iodide metabolism; namely, the thyroid, salivary glands and the stomach in which NIS is known to present. Animals were studied under gas anesthesia (air and 1–2% isoflurane) in an air-warmed imaging chamber (Minerve, Esternay, France) to keep body temperature constant at 37°C. Various experiments on mice and rats were performed using 20 MBq $^{99m}\text{TcO}_4^-$ or 10 MBq $^{123}\text{I}^-$ for each individual. Image analysis was performed using the AMIDE software. 3D regions of interest were drawn around the organs of interest and the measured radiopharmaceutical uptake was calculated by converting the total image counts measured in a 3D region of interest to MBq using the calibration factor. Thyroid uptake was expressed as percentage of the injected dose (%ID) after decay correction. For dynamic analysis, time activity curves were obtained on serial micro-SPECT acquisitions obtained on the same animals (B). The area under the curve (AUC) was measured to quantify the radiopharmaceutical accumulation (C).

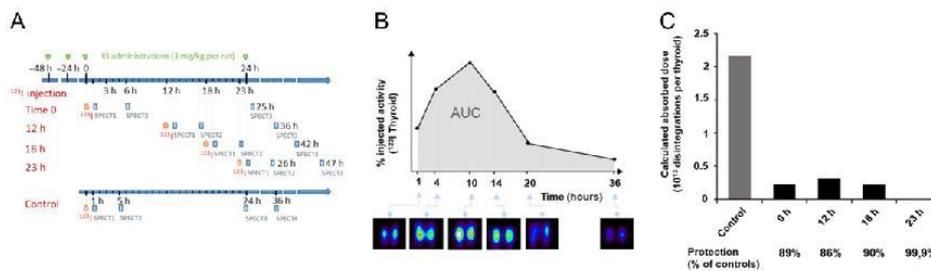


Figure 2. Effect of KI administration on radioiodide uptake by the thyroids of rats. Study protocols (A). Rats were fed either the normal iodine diet and KI was administrated (or not for controls) by gavage for 6 days before time zero of the kinetic measurements. At indicated times, radioiodine was administered intraperitoneally, animals were anesthetized, positioned on the scanner, and data were acquired. Kinetic of $^{123}\text{I}^-$ accumulation in the thyroid of control rat (B). The AUC was measured to quantify the radiopharmaceutical accumulation of control rats or treated rats after daily administrations of KI for 6 days. AUC was used to calculate absorbed doses after radioiodine administrations (C). Percentages of protection relative to control rats were calculated.

protection observed with the last time (23 h) is mostly due to the direct competitive effect of the KI administration 1 h after radiotracer injection.

KI TOXICOLOGY

Numerous preclinical and clinical studies were conducted using different drug formulation and posology

of iodide. These studies aimed to assess the effect of iodide on the thyroid hormones synthesis^(43, 44).

Adverse reactions to stable iodine are rare and mainly include iodine-induced transient hyper or hypothyroidism and allergic reactions. Toxicological data in preclinical models showed potential acute and chronic toxicity of KI at very high dosages. Regarding acute toxicity, the oral and intraperitoneal LD50 values of KI in mice are 1177 ± 30 and

M. BENDERITTER ET AL.

1982 ± 90 mg/kg, respectively. Signs of intoxication may include hyperactivity, lassitude, weakness, prostration and dyspnea. At higher doses excitability and convulsions frequently preceded death⁽⁴⁵⁾. Regarding chronic toxicity, KI given in the drinking water to rats at concentrations of 10, 100 and 1000 ppm for 2 years results in the incidence of thyroid follicular dilatation, focal acinar atrophy, ductular proliferation and squamous metaplasias in the salivary gland. Squamous cell carcinomas were observed in the submandibular gland in 4 males among 60 and 3 females among 60 of the 1000 ppm group. Lesions types with incidence quoted more than 25% were foci of cellular alteration in the liver, hyperplasia of the pituitary, C-cell hyperplasia of the thyroid, medullary hyperplasia, pheochromocytomas of the adrenals, interstitial cell tumors of the testis in males, cystic endometrial hyperplasias and endometrial stromal polyps of the uterus in females⁽⁴⁴⁾.

Moreover, clinical observations highlight acute side effects of KI including diarrhea, nausea, vomiting and stomach pain⁽⁴⁶⁾. During the Chernobyl disaster, KI adverse effects were seen in 0.37% of the Polish newborns who received saturated solution potassium iodide (SSKI) on the second day of the accident (dosage was reported as follows: 15 mg for newborns, 50 mg for children 5 years or under and 70 mg for all others). Transient increase of serum TSH and decrease of serum T4 were reported in these children. Five years later (1989–90), thyroid hormones' levels of Polish children were assessed. Transient thyroid dysfunction was reported as a result of a single dose of KI administration. None-thyroidal side effects were higher than expected. It was reported that 0.2% of the population (children and adults) developed significant toxic reactions including vomiting, skin rashes, headaches, few cases of diarrhea and gastric complaints linked to SSKI intake.⁽⁴⁷⁾

Chronic toxicity was reported, when KI was administered for a longer period ranged from several days to several years. In these situations, patients may experience symptoms of iodism or potassium toxicity. Symptoms of iodism include burning mouth, increased watering of the mouth, metallic taste, soreness of the teeth and gums and severe headache. Signs and symptoms of potassium toxicity include confusion, arrhythmia, hand numbness or general weakness⁽⁴⁶⁾. KI has also been reported to cause pulmonary edema, angioedema, myalgias, eosinophilia, lymphadenopathy and urticaria^(48, 49). The use of iodides can also cause acneiform eruptions and iododerma^(50, 51). Finally, 22 euthyroid healthy volunteers received different doses of KI (30–100 mg) over a 12-day period; serum T4 and T3 was found to decrease slightly in these volunteers and serum TSH was found to increase slightly but not significantly on days 8 and 12. After the end of the KI administration, all parameters were normal⁽²⁹⁾.

Project's findings

The PRIODAC program aimed to assess the potential toxicity of repeated KI intake by rats with an optimal dosage of 1 mg/kg⁽³⁸⁾. In our experimental conditions, no toxicity of repeated administration of KI was observed in an adult rat model⁽⁴³⁾. In this set of experiments (Figure 3), saline solution (pH 7.4) and KI solution 1 mg/kg were kindly provided by The Central Pharmacy of French Armed Forces (Orléans, France). The treated groups (repeated KI intake) were in good general status. The final body weight and thyroid weight were similar to those of the control group. The plasma markers of liver integrity (ALT and AST), kidney integrity (Creatinine and urea) and heart integrity (CK and CK-MB) were statistically similar in both groups (Table 1). Repeated KI administration resulted in non-long-term significant modification of TSH, free T4 and free T3 concentration compared to control rats. No significant difference among thyroid genes which are involved in iodide transport (NIS, AIT and PDS), iodide organification (TPO, DUOX2/A2 and Tg) and thyroid hormone transport (MCT8) between treated and control rats were reported (Figure 4).

To get further insights, metabolomics profiles of animal belonging to the two groups were investigated. Metabolomics provides the metabolic profiles in a biological system. The complete set of metabolites forms the so-called metabolome. This metabolome represents the ultimate read out of a biological system, in response to genetic, environmental or pathological alterations leading to phenotypic changes. Since the metabolome integrates all the regulations occurring in a biological system (from genetics, gene expression, enzyme and hormone regulations, pathogens or microbiota interaction, and so on) its analysis provides a very sensitive picture of biological systems regulation. Deciphering the metabolome thus allows finding regulations determining phenotypes, as well as unexpected metabolic disruption. Since biofluids circulate across the body, their metabolomic analysis provides an interesting proxy to assess the metabolic status of individuals (Figure 5).

Project's findings

With regard to the PRIODAC program, such an approach is very well suited to discover potential unexpected biological effects associated with repetitive administration of KI. Metabolomics examinations are underway, but preliminary data show that, 30 days after a sequence of repeated KI administration, the thyroid metabolome shows minor modifications of cell stress markers, inflammation markers and thyroid hormones synthesis. Whether the changes fall within the physiological ranges remains to be determined. On the top of the biofluids (urine and

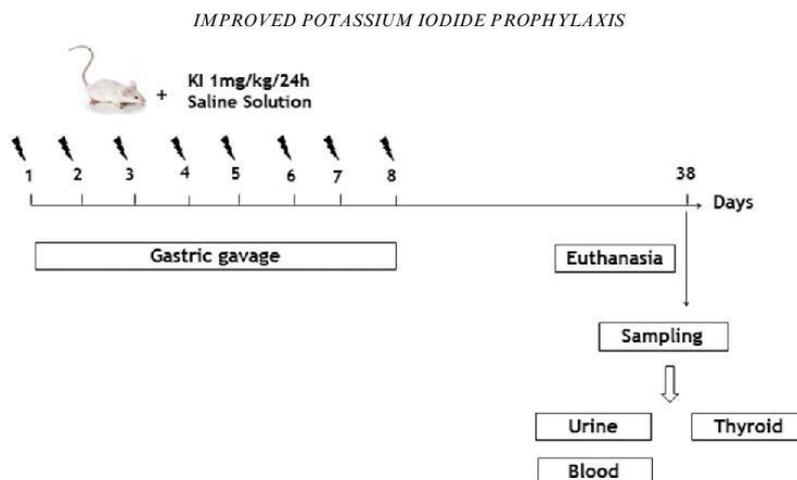


Figure 3. Protocol of repetitive KI administration in adult rats. Adult male Wistar rats (Charles River Laboratories, L'arbresle, France) were divided into KI-exposed and control groups. The treatment was carried out by gastric gavage over 8 days. Each group consisted of 13 animals. Thirty days after the treatment discontinuation, macroscopic parameters and molecular aspects were assessed.

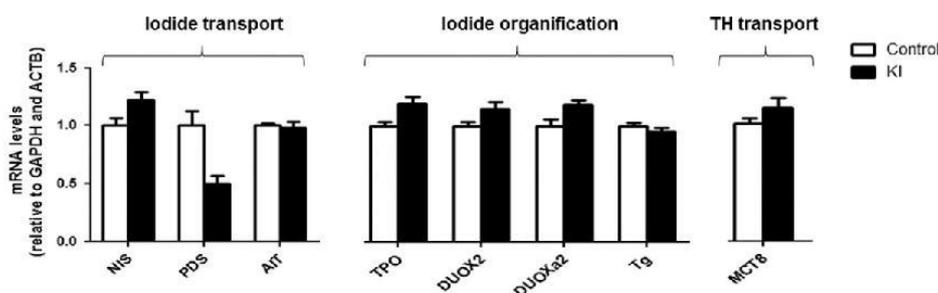


Figure 4. Selection of gene expression of molecular key actors of the Iodide metabolism and thyroid hormone (TH) synthesis in the thyroid, 30 days after the discontinuation of repetitive KI administration. Results are expressed as a ratio to GAPDH and ACTB mRNA level. The mRNA levels of control rats were arbitrarily set at 1. Data are expressed as means \pm SEM ($n=13$). NIS, Na^+/I^- symporter; PDS, pendrine; AIT, apical iodide transporter; TPO, thyroid peroxidase; DUOX2, dual oxidase 2; DUOXa2, dual oxidase maturation factor 2; Tg, thyroglobulin; MCT8, monocarboxylate transporter 8.

plasma), target organs such as kidney, thyroid and some brain tissues will be explored.

We believe from our early PRIODAC results that we will be able to obtain an overview of the main metabolic disruptions attached to repetitive KI administration in various physiological situations, if occurring. This will help to address the safety issue and to edit guidelines for using repeated KI administration.

KI MA IN FRANCE

In France, the current national MA for the use of 65-mg KI tablets is held by Pharmacie Centrale des Armées (PCA), which is also the manufacturer of KI tablets. PCA authorizes a single administration that may be repeated only once, if the evacuation of the population is not possible. The French MA of 130-mg KI tablets was initially obtained in 1997 on the basis of the well-established medical use; from 2009,

M. BENDERITTER ET AL.

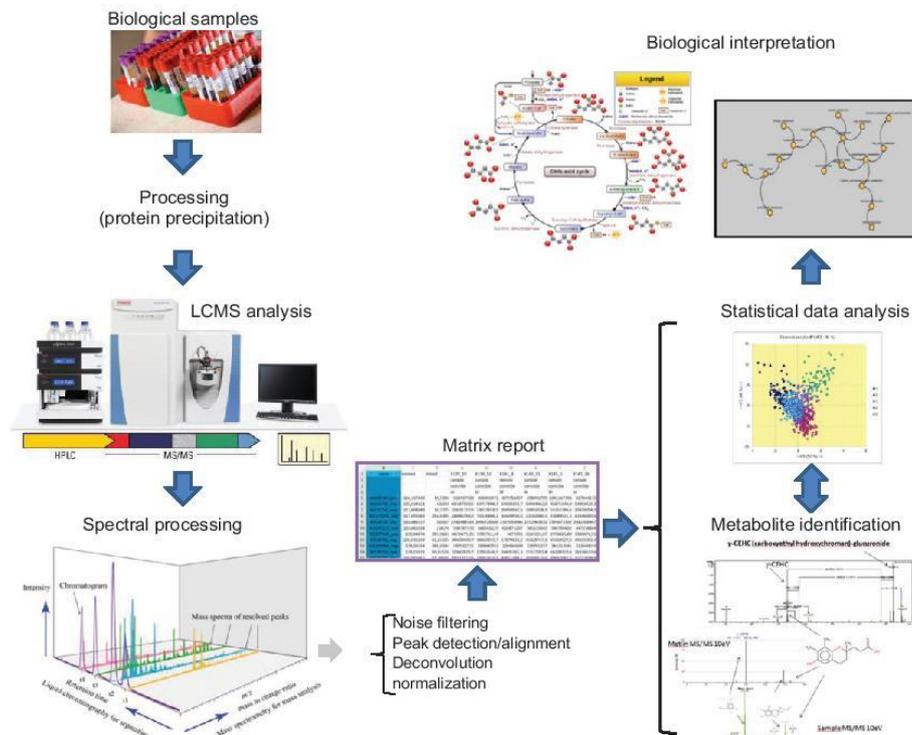


Figure 5. Metabolomic workflow applied to the PRIODAC samples.

it was extended and replaced by 65-mg tablets without any supportive evidence, in order to supply adapted iodine doses to all age groups of the population, from newborn children to adults. The current French MA of KI was primarily based on bibliographic data from non-GLP studies (Good Laboratory Practices) evaluating the acute toxicity in rats, mice and rabbits (studies mainly of the 1960s).

The final objective of the PRIODAC program is to collect GLP compliant data regarding iterative administration of KI in order to apply for an MA extension for repeated use of KI 65-mg tablets to the French authority (Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des produits de Santé—ANSM).

The studies coordinated by PCA in the frame of the PRIODAC project aim to assess mutagenic/genotoxic activity, safety pharmacology and repeated-dose toxicology of KI. These studies are developed in accordance with the guidelines of technical requirements for the registration of pharmaceutical for human use adopted by the International Conference on

Harmonisation (ICH). The preclinical experiments performed on adult rats by the other contributors of PRIODAC project were used as inputs to initiate the repeated-dose toxicology GLP studies for KI. Two animal models, rats and dogs, were chosen to initiate GLP studies.

CONCLUSIONS

Operational protective actions as consequences of an accident taking place on an NPP are based on 'in depth defense' decision-making on population sheltering, evacuation, implementation of medical countermeasure and restriction of locally produced drinking water and food products consumption and commercialization. In those situations, provision of stable iodine to population that are at risk of being exposed to radioiodine should be implemented as an urgent protective action. The optimal period of administration of stable iodine is less 2–8 h prior, and up to 24 h after, the expected onset of the intake

IMPROVED POTASSIUM IODIDE PROPHYLAXIS

of radioactive isotopes of iodine. It is considered to be reasonable to administer ITB up to five, maximum 8 h after the estimated onset of the exposure. However, repeated administration of stable iodine may be necessary in the case of prolonged or repeated radioiodine incorporation. Such situations are unusual and may result from protracted release of radioiodine to the environment (like in Chernobyl), difficulties in the sheltering or evacuation of the population (like following the Fukushima earthquake and tsunami) or those situations in which a nuclear worker had to intervene on-site in emergency situations.

Our preliminary data give scientific evidence of the efficacy and safety of a repetitive KI intake at 1 mg/kg per day over 8 days in adult male rats^(38, 43). These data will be used as inputs for further GPL toxicological studies on two animal species (rodent species, rats and non-rodent species, dogs). These studies will be performed by a certified BPL laboratory (Best Practice Laboratory) under the control of the French Defense Central Pharmacy (PCA). In fact, in France, the current MA of 65-mg KI tablets manufactured by the PCA authorizes a single administration that may be repeated only once if the evacuation of the population is not possible. Extension of the MA application in France for repetitive KI intake is planned in the next years.

In general, EU Member States are recommending a second administration of stable iodine on average 24 h after the first administration in the event of protracted releases⁽⁵²⁾. Some EU member states are considering a second stable iodine intake if the evacuation of population is impossible: Belgium and France. Other EU member states are considering a second stable iodine intake for some population groups: children (Finland), newborns and pregnant women (Norway), pregnant and nursing women (Italy). Other EU member states are not considering a second stable iodine intake regardless the situation. The Netherlands, Bulgaria, Romania and Turkey recommend not exceeding a total dose of 1 g of stable iodine (over a period of 10 days in Bulgaria and Romania). In 2022, at the end of the PRIODAC research program, we will be able to provide new scientific data and the further KI MA extension. This scientific-based evidence will be published and will probably need to be evaluated by stakeholders to decide if new recommendations related to the administration of KI and particularly in the case of repetitive prophylaxis toward a better international harmonization will be necessary.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors gratefully acknowledge Dr Anthony Lebeau for his support to the PRIODAC project.

FUNDING

The PRIODAC project is supported by the French Agence Nationale de la Recherche (ANR) in the frame of the program 'Investissements d'avenir'.

REFERENCES

1. UNSCEAR. Evaluation of data on thyroid cancer in regions affected by the Chernobyl accident: a white paper to guide the Scientific Committee's future programme of work. In: Sources and effects of ionizing radiation. United Nations Scientific Committee on the Effects of Atomic Radiation. **2018**, (New York: UNSCEAR) pp. 1–20 (2018).
2. Ron, E., Lubin, J. H., Shore, R. E., Mabuchi, K., Modan, B., Pottern, L. M., Schneider, A. B., Tucker, M. A. and Boice, J. D., Jr. *Thyroid cancer after exposure to external radiation: a pooled analysis of seven studies*. *Radiat. Res.* **141**(3), 259–277 (1995).
3. Faggiano, A., Coulot, J., Bellon, N., Talbot, M., Caillou, B., Ricard, M., Bidart, J. M. and Schlumberger, M. *Age-dependent variation of follicular size and expression of iodine transporters in human thyroid tissue*. *J. Nucl. Med.* **45**(2), 232–237 (2004).
4. Zarzycki, W., Zonenberg, A., Telejko, B. and Kinalska, I. *Iodine prophylaxis in the aftermath of the Chernobyl accident in the area of Sejny in north-eastern Poland*. *Horm. Metab. Res.* **26**(6), 293–296 (1994).
5. Zanzonico, P. B. and Becker, D. V. *Effects of time of administration and dietary iodine levels on potassium iodide (KI) blockade of thyroid irradiation by ¹³¹I from radioactive fallout*. *Health Phys.* **78**, 660–667 (2000).
6. Turai, I. *Thyroid blocking policy in Hungary and clarification of terminology in the light of recommendations by international organisations*. *Radiat. Prot. Dosim.* **171**(1), 57–60 (2016) <https://doi.org/10.1093/rpd/ncw225>.
7. IRSN. Fukushima, un an après. Premières analyses de l'accident et de ses conséquences. Rapport IRSN/DG/2012-001 2012.
8. Eng, P. H., Cardona, G. R., Fang, S. L., Previti, M., Alex, S., Carrasco, N., Chin, W. W. and Braverman, L. E. *Escape from the acute Wolff-Chaikoff effect is associated with a decrease in thyroid sodium/iodide symporter messenger ribonucleic acid and protein*. *Endocrinology* **140**(8), 3404–3410 (1999).
9. Dayem, M., Navarro, V., Marsault, R., Darcourt, J., Lindenthal, S. and Pourcher, T. *From the molecular characterization of iodide transporters to the prevention of radioactive iodide exposure*. *Biochimie* **88**(11), 1793–1806 (2006).
10. Darrouzet, E., Lindenthal, S., Marcellin, D., Pellequer, J. L. and Pourcher, T. *The sodium/iodide symporter: state of the art of its molecular characterization*. *Biochim. Biophys. Acta* **1838**(1 Pt B), 244–253 (2014).
11. Turai, I. and Sztanyik, B. L. Effectiveness of stable iodine prophylaxis in rats and their offspring depending on the dietary iodine supply (experimental and compartment modeling study). In: *Frontiers of Radiation Biology*, Balaban Publ. Riklis, E., Ed. (Weinheim: VCH) pp. 611–623 (1990).
12. Arriagada, A. A., Alborno, E., Opazo, M. C., Becerra, A., Vidal, G. et al. *Excess iodide induces an acute inhibition of the sodium/iodide symporter in*

M. BENDERITTER ET AL.

- thyroid male rat cells by increasing reactive oxygen species. *Endocrinology* **156**(4), 1540–1551 (2015).
13. Moysich, K. B., Menezes, R. J. and Michalek, A. M. *Chernobyl-related ionising radiation exposure and cancer risk: an epidemiological review*. *Lancet Oncol.* **3**(5), 269–279 (2002).
 14. Vagenakis, A. G., Downs, P., Braverman, L. E., Burger, A. and Ingbar, S. H. *Control of thyroid hormone secretion in normal subjects receiving iodides*. *J. Clin. Invest.* **52**(2), 528–532 (1973).
 15. Denham, M. J. and Himsworth, R. L. *Hyperthyroidism induced by potassium iodide given in the course of 125I-fibrinogen test*. *Age Ageing* **3**(4), 221–225 (1974).
 16. Todd, C. H. and Dunn, J. T. *Intermittent oral administration of potassium iodide solution for the correction of iodine deficiency*. *Am. J. Clin. Nutr.* **67**(6), 1279–1283 (1998).
 17. Wilson, R., McKillop, J. H. and Thomson, J. A. *The effect of pre-operative potassium iodide therapy on antibody production*. *Acta Endocrinol.* **123**(5), 531–534 (1990).
 18. Robuschi, G., Manfredi, A., Salvi, M., Gardini, E., Montermini, M., et al. *Effect of sodium iodate and iodide on free T4 and free T3 concentrations in patients with Graves' disease*. *J. Endocrinol. Invest.* **9**(4), 287–291 (1986).
 19. Philippou, G., Pipingos, G., Souvatzoglou, A., Koutras, D. A. and Mouloupoulos, S. D. *Treatment of hyperthyroidism with potassium iodide*. *Exp. Clin. Endocrinol.* **97**(2–3), 308–311 (1991).
 20. Reiners, C. and Schneider, R. *Potassium iodide (KI) to block the thyroid from exposure to I-131: current questions and answers to be discussed*. *Radiation Environ Biophys.* **52**(2), 189–193 (2013).
 21. Jourdain, J. R. and Herviou, K. *Medical effectiveness of iodine prophylaxis in a nuclear reactor emergency situation and overview of European practices*. *Radiation Protection*. N°165, Directorate-General for Energy and Transport, European Commission (2010).
 22. WHO. *Iodine thyroid blocking. Guidelines for use in planning for and responding to radiological and nuclear emergencies*. ISBN 978 92 4 1550185 (2017).
 23. Thompson, C. C. and Potter, G. B. *Thyroid hormone action in neural development*. *Cereb. Cortex* **10**(10), 939–945 (2000).
 24. Sawin, C. T. *Thyroid dysfunction in older persons*. *Adv. Intern. Med.* **37**, 223–248 (1992).
 25. Bastemir, M., Emral, R., Erdogan, G. and Gullu, S. *High prevalence of thyroid dysfunction and autoimmune thyroiditis in adolescents after elimination of iodine deficiency in the Eastern Black Sea Region of Turkey*. *Thyroid* **16**(12), 1265–1271 (2006).
 26. Verger, P., Aurengo, A., Geoffroy, B. and Le Guen, B. *Iodine kinetics and effectiveness of stable iodine prophylaxis after intake of radioactive iodine: a review*. *Thyroid* **11**(4), 353–360 (2001).
 27. Robbins, J. *Indications for using potassium iodide to protect the thyroid from low level internal irradiation*. *Bull. N. Y. Acad. Med.* **59**(10), 1028–1038 (1983).
 28. Braverman, E. R., Blum, K., Loeffke, B., Baker, R., Kreuk, F., et al. *Managing terrorism or accidental nuclear errors, preparing for iodine-131 emergencies: a comprehensive review*. *Int. J. Environ. Res. Public Health* **11**(4), 4158–4200 (2014).
 29. Sternthal, E., Lipworth, L. and Stanley, B. *Suppression of thyroid radioiodine uptake by various doses of stable iodide*. *N. Engl. J. Med.* **303**(19), 1083–1088 (1980).
 30. Cuddihy, R. G. *Thyroidal iodine-131 uptake, turnover and blocking in adults and adolescents*. *Health Phys.* **12**(8), 1021–1025 (1966).
 31. Saxena, K. M., Chapman, E. M. and Pryles, C. V. *Minimal dosage of iodide required to suppress uptake of iodine-131 by normal thyroid*. *Science* **138**(3538), 431–433 (1962).
 32. Ramsden, D., Passant, F. H., Peabody, C. O. and Speight, R. G. *Radioiodine uptakes in the thyroid studies of the blocking and subsequent recovery of the gland following the administration of stable iodine*. *Health Phys.* **13**(6), 633–646 (1967).
 33. Blum, M. and Eisenbud, M. *Reduction of thyroid irradiation from 131-I by potassium iodide*. *J. Am. Med. Assoc.* **200**(12), 1036–1040 (1967).
 34. Nagataki, S. and Ingbar, S. H. *Relation between qualitative and quantitative alterations in thyroid hormone synthesis induced by varying doses of iodide*. *Endocrinology* **74**(5), 731–736 (1964).
 35. Hammond, W. T., Bradley, E. L., Welsh, R. E., Qian, J., Weisenberger, A. G. et al. *A gamma camera re-evaluation of potassium iodide blocking efficiency in mice*. *Health Phys.* **92**(4), 396–406 (2007).
 36. Harris, C., Dallas, C., Rollor, 3rd E., White, C., Blount, B., et al. *Radioactive iodide (131 I-) excretion profiles in response to potassium iodide (KI) and ammonium perchlorate (NH4ClO4) prophylaxis*. *Int. J. Environ. Res. Public Health* **9**(8), 2936–2948 (2012).
 37. Noteboom, J. L., Hummel, W. A., Broerse, J. J., de Vijlder, J. J., Vulsma, T., Jansen, J. T. and van Bekkum, D. W. *Protection of the maternal and fetal thyroid from radioactive contamination by the administration of stable iodide during pregnancy. An experimental evaluation in chimpanzees*. *Radiat. Res.* **147**(6), 691–697 (1997).
 38. Phan, G., Rebiere, F., Suhard, D., Legrand, A., Carpentier, F., et al. *Optimal KI prophylactic dose determination for thyroid radiation protection after a single administration in adult rats*. *Dose Response Society.* **15**(4), 1–8 (2017).
 39. Wolff, J. and Chaikoff, I. L. *Plasma inorganic iodide as a homeostatic regulator of thyroid function*. *J. Biol. Chem.* **174**(2), 555–564 (1948).
 40. Zwarthoed, C., Chatti, K., Guglielmi, J., Hichri, M., Compin, C., et al. *Single-photon emission computed tomography for preclinical assessment of thyroid radioiodide uptake following various combinations of preparative measures*. *Thyroid.* **26**(11), 1614–1622 (2016).
 41. Zuckier, L. S., Dohan, O., Li, Y., Chang, C. J., Carrasco, N. and Dadachova, E. *Kinetics of perchlorate uptake and comparative biodistribution of perchlorate, pertechnetate, and iodide by NaI symporter-expressing tissues in vivo*. *J. Nucl. Med.* **45**(3), 500–507 (2004).
 42. Breuille, M., Malandain, G., Guglielmi, J., Marsault, R., Pourcher, T., Franken, P. R. and Darcourt, J. *Amplitude-based data selection for optimal retrospective reconstruction in micro-SPECT*. *Phys. Med. Biol.* **58**(8), 2657–2674 (2013).
 43. Lebsir, D., Grison, S., Lestaevl, P., Ebrahimi, M., et al. *Effects of repeated potassium iodide administration on genes involved in synthesis and secretion of*

IMPROVED POTASSIUM IODIDE PROPHYLAXIS

- thyroid hormone in adult male rat. *Mol. Cell Endocrinol.* **474**, 119–126 (2018).
44. Takegawa, K., Mitsumori, K., Onodera, H., Shimo, T., Kitaura, K. et al. *Studies on the carcinogenicity of potassium iodide in F344 rats.* *Food Chem. Toxicol.* **38**(9), 773–781 (2000).
 45. Webster, S. H., Rice, M. E., Highman, B. and Von Oettingen, W. F. *The toxicology of potassium and sodium iodates: acute toxicity in mice.* *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **120**(2), 171–178 (1957).
 46. Sterling, J. B. and Heymann, W. R. *Potassium iodide in dermatology: a 19th century drug for the 21st century. Uses, pharmacology, adverse effects, and contraindications.* *J. Am. Acad. Dermatol.* **43**(4), 691–697 (2000).
 47. Nauman, J. and Wolff, J. *Iodide prophylaxis in poland after chernobyl reactor accident: benefits and risks.* *Am. J. Med.* **94**(5), 524–532 (1993).
 48. Haung, T. Y. and Peterson, G. H. *Pulmonary edema and iododerma induced by potassium iodide in the treatment of asthma.* *Ann. Allergy* **46**, 264–266 (1981).
 49. Usher, B. *Iododerma associated with Loeffler's syndrome.* *Can. Med. Assoc. J.* **64**, 67–68 (1951).
 50. Alpay, K. and Kurkcuoglu, N. *Iododerma: an unusual side effect of iodide ingestion.* *Pediatr. Dermatol.* **13**, 51–53 (1996).
 51. Soria, C., Allegue, F., Espana, A., Rocamora, A., Harto, A. and Ledo, A. *Vegetating iododerma with underlying systemic disease: report of three cases.* *J. Am. Acad. Dermatol.* **22**, 418–422 (1990).
 52. Reiners, C. et al. *The first meeting of the WHO guideline development group for the revision of the WHO 1999 guidelines for iodine thyroid blocking.* *Radiat. Prot. Dosim.* **171**(1), 47–56 (2016).

ANNEXE 2

« A Systems Biology approach to propose a new mechanism of regulation of repetitive prophylaxis of stable Iodide on Sodium/Iodide Symporter (NIS) »

« Une approche de la biologie des systèmes pour proposer un nouveau mécanisme de régulation de la prophylaxie répétitive de l'iodure stable sur le symporteur sodium / iodure (NIS)»

D COHEN, D LEBSIR, M BENDERITTER, M SOUIDI

[Heliyon journal \(soumis\)](#)

2 Annexe II : Etude mécanistique par approche de type biologie des systèmes

2.1 Résumé de l'article

Notre étude sur le modèle de référence a montré l'innocuité de la prise répétée du KI sur huit jours chez le rat adulte. Dans cette étude un effet Wolff-Chaikoff génique séquentiel a été observé. Dans la présente étude, pour comprendre la régulation de l'effet Wolff-Chaikoff et ses constituants moléculaires au cours de l'administration répétée du KI, un réseau de réactions biochimiques a été mis à jour sous la forme d'une carte «géographique» du thyrocyte illustrant les voies associées à la synthèse des hormones thyroïdiennes et l'implication de l'iode et de son métabolisme. Une analyse sous forme de construction de réseau a été réalisée pour rechercher la présence d'un circuit de régulation reliant « iode » et différents acteurs moléculaires notamment le «symporteur de Na⁺/ I⁻ (NIS)» qui est responsable de la capture et du passage de l'iode au niveau de la thyroïde et qui joue un rôle important dans l'effet Wolff Chaikoff. La carte est une source d'informations actualisées sur le métabolisme de l'iode et des hormones thyroïdiennes. Grace à cette carte, nous proposons un modèle mécanistique qui explique la régulation de NIS et l'absorption de l'iode par le biais d'un mécanisme d'action putatif.

Dans le modèle mécanistique que nous proposons, la thyroglobuline possède une position clé avec des rôles opposés selon son degré d'iodation « faible » ou « élevé » : En effet, avant l'administration du KI, le niveau intracellulaire d'iode est faible (niveau homéostatique), ce qui entraîne la formation de thyroglobuline à faible iodation (Tg_{low}). Cette dernière est capable d'activer indirectement six gènes (PDS, NIS, TPO, DUOX2, DUOXA2 et TG) *via* l'activation de la PKA. Ces gènes sont nécessaires à la synthèse des hormones thyroïdiennes et leur activation prépare la cellule à produire des hormones thyroïdiennes une fois que l'iode est disponible. Lors de l'administration du KI, la concentration en iodure intracellulaire augmentera en raison de son absorption par NIS. Dans la cellule, l'iodure stimulera la transcription de PDS qui permet la translocation de l'iodure du cytosol vers la lumière folliculaire. En même temps, l'iodure régule à la baisse l'expression de NIS et diminue la stabilité de l'ARNm de NIS. De plus, l'iodure bloque l'activité de la TPO. Cependant, outre la régulation à la baisse de NIS et de TPO, l'iodure est également capable d'activer indirectement la TPO et la Tg grâce à l'activation de l'AKT. L'activation de PDS, TPO et Tg permet à la cellule d'organifier l'iodure dans la molécule Tg en tant que thyroglobuline hautement iodée (Tg_{high}), en raison de la forte concentration d'iodure intracellulaire. Par la suite, la transcription du gène PDS n'est plus stimulée et l'action répressive de l'iodure sur le gène MCT8 est soulevée. En revanche, Tg_{high} continuera à réguler à la baisse l'expression de NIS à côté de la régulation à la baisse de TPO, DUOX2, DUOXA2 et Tg. Cela peut être considéré comme une boucle de rétrocontrôle négatif en réponse à la production des hormones thyroïdiennes : la thyroglobuline hautement iodée est un précurseur des hormones thyroïdiennes. De plus, elle augmente l'expression de MCT8 permettant la libération des hormones T3 et T4 dans le flux sanguin. Pour libérer les hormones thyroïdiennes, il faut digérer la protéine thyroglobuline dans laquelle les hormones sont incorporées lors de l'organification de l'iodure. En conséquence, la quantité de Tg_{high} diminue, retournant ainsi aux conditions initiales avant l'administration du KI.

En raison de l'approche de la biologie des systèmes, nous avons pu mettre en évidence un mécanisme putatif comprenant deux étapes principales : 1) NIS, TPO et MCT8 inhibés par un excès d'iode intracellulaire qui s'accorde avec nos résultats expérimentaux 2) En cas de baisse du taux intracellulaire en iode, la thyroglobuline fortement iodée continue à réprimer NIS et la TPO, mais active MCT8, stimulant ainsi la libération d'hormones thyroïdiennes dans le sang. La biologie des systèmes peut être utilisée pour étudier un système biologique complexe en examinant les interactions dynamiques à différentes échelles. Un réseau biologique contient de nombreux détails, tels que la phosphorylation de protéines ou d'autres modifications post-traductionnelles, ce que représente la carte appelée également diagramme de description de processus de notre présente étude. Ces types de cartes et de modèles dynamiques constituent la base des modèles de la trajectoire et trajectoire dynamique des effets indésirables (AOP). La combinaison de la biologie des systèmes et de la toxicologie est maintenant connue sous le nom de toxicologie des systèmes, ce qui permet d'étudier des mécanismes d'évaluation des risques. Cette étude a mis en évidence un mécanisme putatif derrière la régulation de NIS qui vient pour compléter notre étude précédente où nous avons démontré l'innocuité de l'administration répétitive de KI. Ces résultats peuvent aider à comprendre les mécanismes d'action mis en jeu suite à une prophylaxie répétée et ainsi d'identifier de nouvelles cibles biologiques impliquées dans la régulation du métabolisme des HT et de l'iode au niveau de la thyroïde.

2.2 Article: A Systems Biology approach to propose a new mechanism of regulation of repetitive prophylaxis of stable Iodide on Sodium/Iodide Symporter (NIS)

***Manuscript**

[Click here to view linked References](#)

A Systems Biology approach to propose a new
mechanism of regulation of repetitive prophylaxis of
stable Iodide on Sodium/Iodide Symporter (NIS)

David P.A. COHEN^a, Dalila LEBSIR^a, Marc BENDERITTER^b, Maâmar SOUIDI^{b*}

^a Institut de Radioprotection et de Sûreté Nucléaire (IRSN), PSE-SANTE/SESANE/LRTOX, 92262 Fontenay-aux-Roses, France

^b Institut de Radioprotection et de Sûreté Nucléaire (IRSN), PRP-SANTE/SERAMED, 92262 Fontenay-aux-Roses, France

***Corresponding author:**

Dr. Maâmar SOUIDI

Phone: +33 (0)158359194

Fax: +33 (0)158358467

E-mail: maamar.souidi@irsn.fr

ABSTRACT

Our group showed that repetitive dose of potassium iodide (KI) for eight days offers an efficient protection for exposure to repeated radioactive emissions without adverse effects on adult rats. However, differential expression of genes implicated in Wolff-Chaikoff effect was observed. To understand the Wolff-Chaikoff regulation and its molecular constituents during repetitive administration of KI, a biochemical reaction network was constructed as a “geographical” map of the thyrocyte depicting iodide and thyroid hormone synthesis. Path analysis of the network has been performed to investigate the presence of a regulatory circuit of the node iodide to the node “*nis* transcription”. NIS is responsible for the uptake of KI and plays an important role in the Wolff-Chaikoff effect. The map is a source for the most updated information about iodide and thyroid hormone metabolism. Based on this map, we propose a model that shows a putative mechanism behind NIS regulation and KI uptake.

KEY WORDS: Potassium iodide, repeated prophylaxis, thyroid gland, Wolff-Chaikoff effect, thyroid hormones, NIS, Systems Biology, Network

1 INTRODUCTION

Upon a nuclear accident, high amount of radio-active iodines (^{131}I) are released into the environment where it can contaminate individuals by ingestion and inhalation. The thyroid is an organ that easily absorbs 10-30% (Yoshida et al., 2014) radio-active iodines and the absorbed radio-active iodines can then cause thyroid cancer. To evade this uptake, a single dose of potassium iodide (KI) is given to the public, 130 mg of KI in adults, 65 mg in children between 3-12 years and 32 mg in children < three years old and 2.6 mg for neonates less than one month of age (Zanzonico and Becker, 2000). KI saturates the thyroid with non-radioactive iodides and thereby blocks the transport of radio-active iodide into the thyrocytes by the symporter NIS and the production of thyroid hormones (Dreger et al., 2015).

During the nuclear accident at the Fukushima Daiichi Nuclear power plant in 2011, radio-active iodine releases occurred during several occasions over a prolonged time period. The WHO 1999 has recommended a single administration of KI for an exposure to radio-active iodines for several hours up to no more than 2 days. Based on the Fukushima and the Chernobyl accidents, a single dose of KI is not sufficient in protecting the thyroid and therefore more than one administration of KI might be more effective (Reiners and Schneider, 2013).

Until recently, it has been unknown what dose would be effective, which dose regimen to apply and the maximal duration of the treatment without introducing adverse effects in case of repetitive administration of KI. Our group have recently shown that administration of KI at 1 mg/kg/day is an optimal dose for the saturation and the protection of the thyroid in rats. However, for a prolonged time period the pharmacokinetics have still to be determined to model adequate dose regimens for protracted prophylaxis (Phan et al., 2017). More recently, Lebsir and colleagues have shown that repetitive KI administration of 1 mg/kg/day show adapted thyroid protection without changing the thyroid hormones' levels (Lebsir et al., 2018). No toxic effects have been observed but change in gene expression of *nis*, *pds*, *tpo* and *mct8* has been noted after administration for eight days. According to the authors a two-step Wolff-Chaikoff effect has been induced: an early Wolff-Chaikoff effect due to down-regulation of *nis* and *mct8* and a late effect marked by a down-regulation of *tpo* and up-regulation of *pds*.

The molecular mechanisms behind NIS down-regulation for a single dose of KI administration are known and have been nicely summarised by Dayem and colleagues (Dayem et al., 2006). In short, a high intra-cellular concentration of iodide leads to a reduction in iodide in the thyrocyte due to fast down-regulation of *nis* and to a blockage of the thyroid hormone synthesis (Wolff-Chaikoff effect) due to down-regulation of *nis*, *tpo*, *duox2/a2*, *pds* and *mct8* (Bürigi, 2010; Wolff and Chaikoff, 1948). In contrast, the gene regulatory network during repetitive KI prophylaxis over a longer time period has not been described well or not extensive for the combinations of these genes: *nis*, *tpo*, *duox2/a2*, *pds* and *mct8*.

In order to attempt elucidating a possible mechanism behind the gene expression pattern observed (Lebsir et al., 2018) a Systems Biology approach has been applied in this study. Systems Biology is the study of a complex system (e.g. living organism, tissue, cell, etc.) using systems-wide scale analysis that includes (high-throughput) datasets as representatives of an entire phenotype (Forsberg et al., 2018). This approach has been readily applied in cancer research (Hornberg et al., 2006), drugs research (Schneider and Klabunde, 2013), immunology (Janes and Wang, 2014) and in toxicology (Audouze et al., 2018).

Systems Biology can be seen as a more holistic and dynamic view of complex biological processes. In order to ensure such view, all necessary data about a certain biological process needs to be either sampled by using high-throughput technologies or has to be collected as such information is dispersed among many published articles. Representing this knowledge as a network in the shape of a “geographical” map is easier to understand the relations between entities and allows finding a mechanism behind certain biological phenomena (Chanrion et al., 2014; Cohen et al., 2015; Grieco et al., 2013; Larkin and Simon, 1987; Lu et al., 2015).

In order to find a putative mechanism behind *nis* regulation during repetitive KI prophylaxis, we have constructed manually a biochemical network in the shape of “geographical” map that describes the thyroid hormone synthesis and iodide metabolism. After performing network analysis, a sub-network has been selected with nodes that correspond to major participants of the thyroid hormone synthesis and iodide metabolism. Subsequently this network has been translated into an activity-flow network. The edges connecting the nodes

have either a positive or a negative influence on their neighbours and they can represent a sequence of events (Cohen et al., 2013). The use of this type of edges can reduce the complexity of the network and the number of nodes. By sequential reduction of the network we have obtained a final model that might be able to explain a putative mechanism behind the observed gene expression during repetitive prophylaxis of KI shown by Lebsir and colleagues. This strategy is summarised in Figure 1.

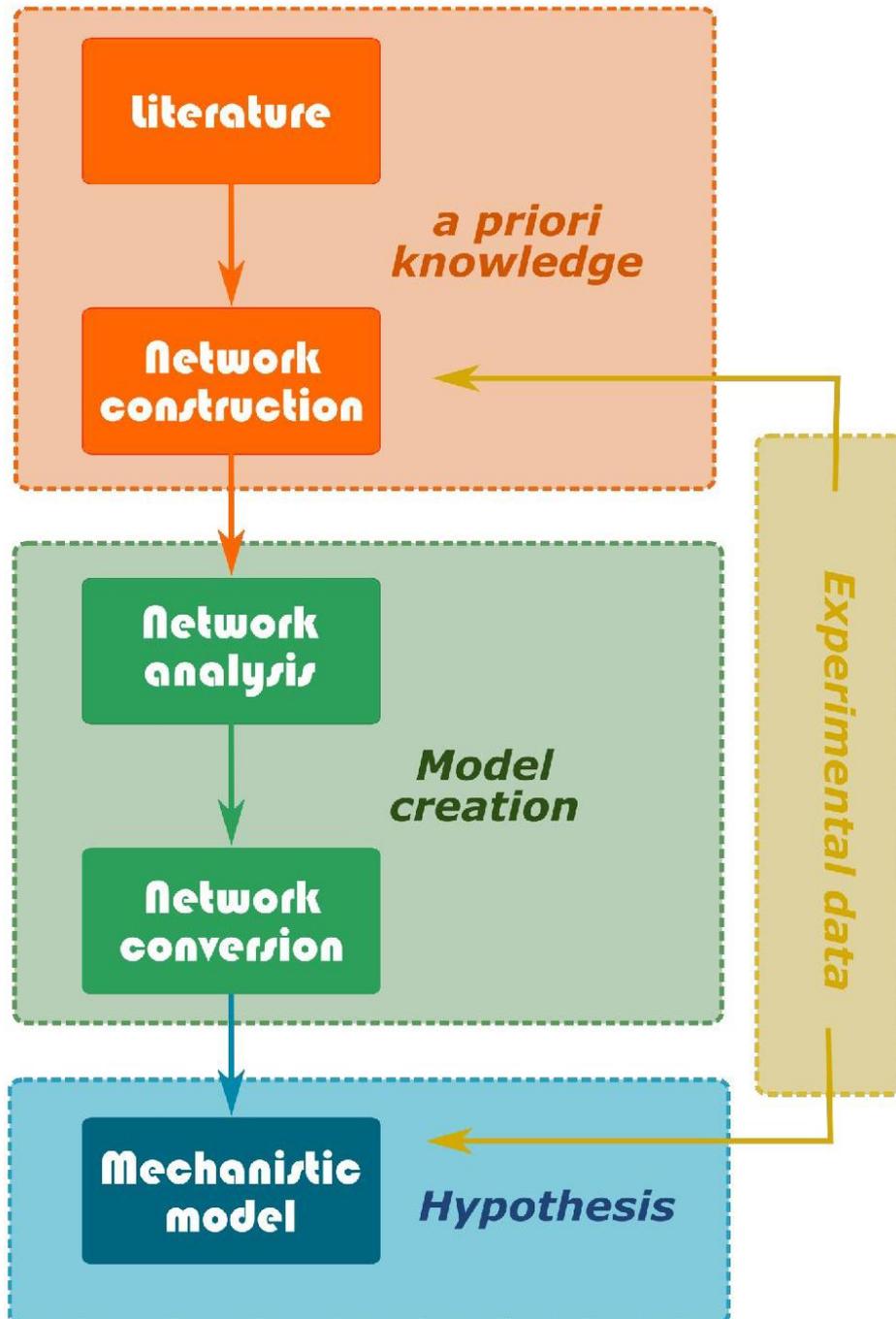


Figure 1. A Systems Biology approach to elucidate a possible mechanism behind *nis* regulation upon repetitive iodide administration for eight days in male rats.

2 MATERIALS AND METHODS

2.1 Network construction

To manually construct a biochemical network depicting thyroid hormone biosynthesis and iodide metabolism, all relevant information from scientific articles was retrieved from the PubMed database. The CellDesigner software (Funahashi et al., 2003) and Systems Biology Graphical notation standard (Le Novère et al., 2009) were used to represent molecular biological mechanisms resulting in a structured network representation (process-descriptive diagram) in Systems Biology Markup Language that is suitable for further computational analysis (Hucka et al., 2003). Each reaction has been annotated at least once with a corresponding scientific article.

2.2 Structural analysis of the network

The network that depicts the thyroid hormone biosynthesis and iodide metabolism was analysed using Cytoscape v2.8.3 (Shannon et al., 2003) and the plugin BiNoM v2.3 (Bonnet et al., 2013). Path analysis was carried to extract signalling paths that might be present between the nodes: iodide, NIS, Thyroglobulin, MCT8, Duox2, DuoxA2, Pendrin and TPO.

2.3 Network conversion and reduction

The sub-network obtained after path analysis of the initial network was converted into an activity-flow diagram in order to understand the influence of iodide on the other nodes. The complexity of the activity-flow diagram was reduced sequentially by removing constituents that do not affect the regulation by iodide on the nodes implicated in thyroid hormone biosynthesis. Reductionism allowed us to understand the organisation of the network and to find the core paths that are preserved throughout all the reduction steps.

3 RESULTS

3.1 Biochemical Network

We have manually constructed and curated a biochemical reaction network (process-descriptive diagram) that depicts the biosynthesis of thyroid hormones and the metabolism of iodide in a single thyrocyte ([Figure 2](#)). The network is displayed as a “geographical” map, a way to easily comprehend the displayed information. The map summarises all known up-to-date information about thyroid hormone synthesis and iodide metabolism that is dispersed

among many (pubmed search with the key words: iodide, metabolism, thyroid, and synthesis results in more than 5700 hits) scientific articles. The manually constructed network contains 283 chemical species (including 93 proteins, 34 genes and 34 RNA) that are connected with 201 arches/reactions. In total 217 annotations were included to motivate each reaction/edge derived from 113 unique scientific articles. The annotations can be found in the Supplementary Information.

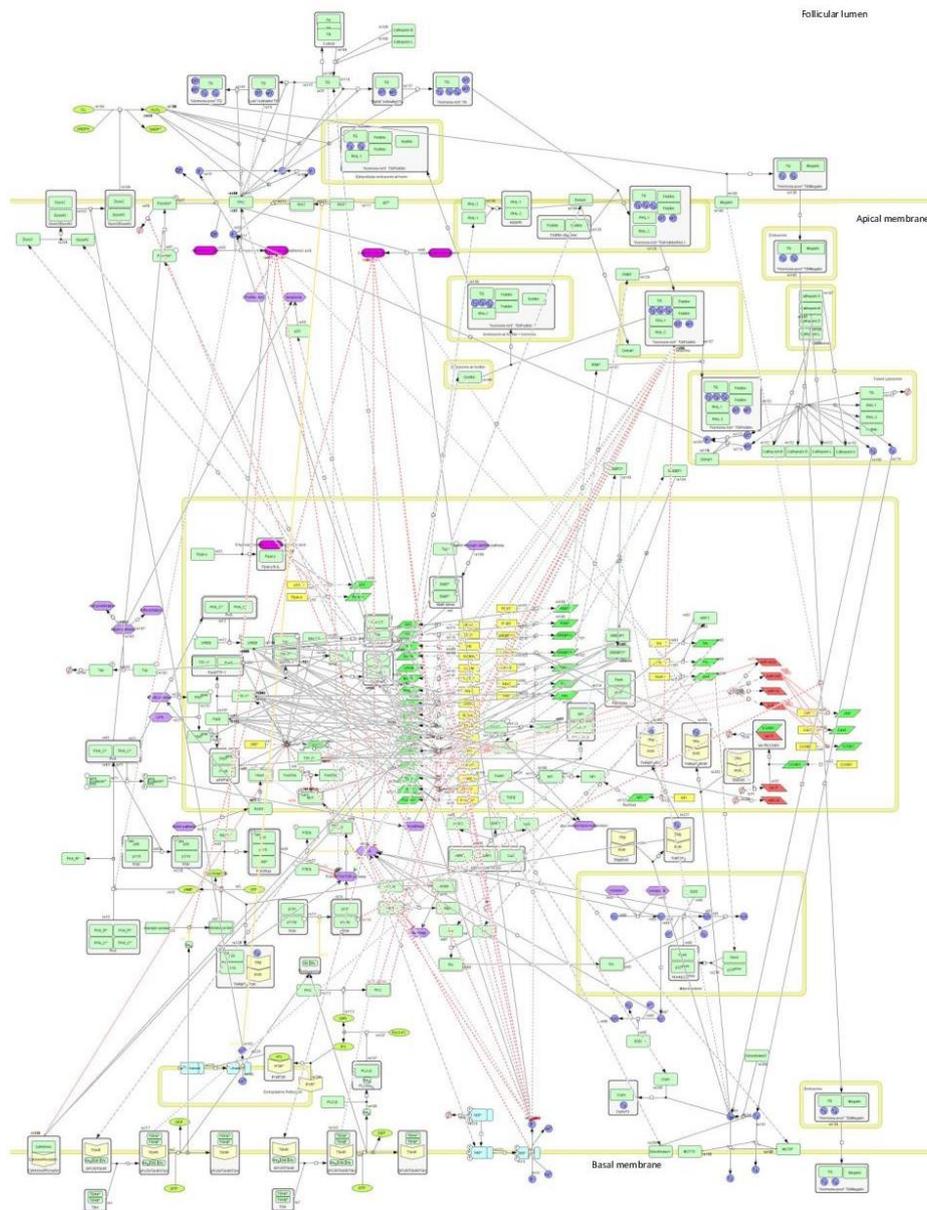


Figure 2. A graph database shown as a “geographical” map of a single thyrocyte. The top shows the apical side of the thyrocyte and the bottom shows the basal membrane of the thyrocyte. A process-descriptive diagram shows the biosynthetic pathway of thyroid hormones and iodide metabolism. A more detailed description can be found in the accompanied text.

In short, the map shows the canonical pathway of the uptake of iodide by the NIS symporter at the basal membrane in a single thyrocyte. Within the cell, iodide is transported from the basal to the apical side where it is released into the follicular lumen by the ion-channel Pendrin and/or AIT or Ano1 (Bizhanova and Kopp, 2009; Rodriguez AM et al., 2002; Twyffels et al., 2014). Within the follicular lumen, iodide is “organified” with a thyroglobulin molecule with the aid of TPO and Duox2/A2 proteins. The organification of iodide can result in the thyroid hormones thyroxine (T3) and 3,5,3',5'-tetraiodothyronine (T4) but still coupled to the thyroglobulin molecule. After coupling, the thyroglobulin with T3 and/or T4 is endocytosed and fused with a lysozyme that digest the thyroglobulin molecule and subsequently T3 and T4 are released into the cytosol. The thyroid hormones are then released into the blood stream by the MCT8 thyroid hormone transporter at the basal membrane (Di Cosmo et al., 2010; Müller et al., 2014).

3.2 Path Analysis and Network reduction

In order to extract a regulatory network of iodide on the node NIS (can be either gene or protein) and other nodes (TPO, Duox2/A2, AIT, Tg, MCT8, PDS) known to be involved in the biosynthesis of thyroid hormones, path analysis was performed and resulted in a sub-network with 95 nodes and 147 edges (see supplemental information Figure 1). This sub-network has been manually converted into an activity-flow diagram and at the same time the number of nodes has been reduced in sequential steps (Figure 3). The figure shows a network of nodes that represent several molecules of interest and the effect of the nodes on their connected neighbours. The green and the red arches show either an activating or inhibiting effect, respectively, on their connected neighbours. Two nodes show a self-inhibiting effect: iodide and high-iodinated thyroglobulin molecule (Tg_high). These two nodes repress their own activity through an indirect path that has been removed during the network reduction. Besides inhibiting their own activity, iodide and Tg_high have a negative effect on the other nodes indicating that iodide and Tg_high are inhibiting the thyroid biosynthesis. Furthermore, AKT plays an activating role in thyroid hormone biosynthesis by activating NIS and low-iodinated thyroglobulin (Tg_low).

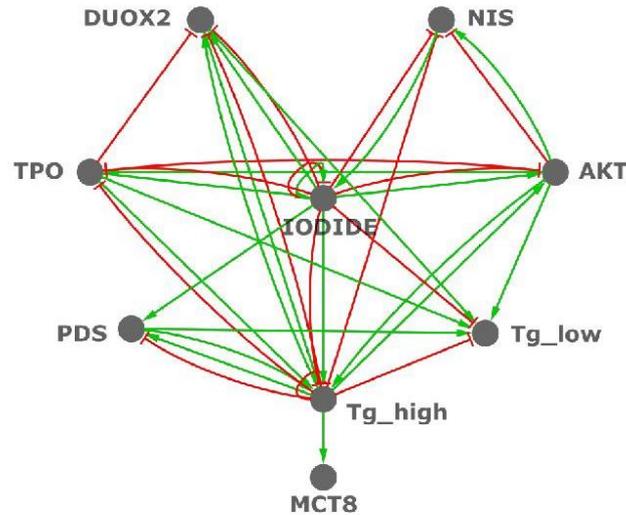


Figure 3. An activity-flow diagram shows the effect of the connected surrounding neighbours on a node. A red or green arch has a negative or positive effect on a node, respectively. The activity of the arches has been deducted using Figure 1 and the plugin BiNoM in the Cytoscape environment. Iodide has clearly a negative influence on many nodes involved in the biosynthesis of the thyroid hormones.

3.3 Final Model

The final model (Figure 4A) is based on Figure 3 that shows the effect of nodes on their connected neighbours. In this model, only the nodes that have been analysed before by our group (Lebsir et al., 2018) are included to simplify the model. In the final model, the two different pools of low- and high-iodinated thyroglobulin have opposing roles in the following proposed mechanism:

Before the administration of KI, we assume there is no need for thyroid hormones (Figure 4B). Therefore, the intracellular level of iodide is low (or at normal homeostatic level) which leads to the formation of low-iodinated Thyroglobulin (Tg_low). Tg_low is able to activate five genes indirectly through PKA activation: *pds*, *nis*, *tpo*, *duox2*, *duoxa2* and *tg* (Huang et al., 2017). These genes are required for the synthesis of thyroid hormones and their activation prepares the cell to produce thyroid hormones once iodide is available. Upon KI

administration, the intracellular iodide concentration will increase due to its uptake by the symporter NIS (Figure 4C). In the cell, iodide will stimulate the transcription of *pds* that codes for the anion carrier Pendrin (Calil-Silveira et al., 2012). This allows the translocation of iodide from the cytosol into the follicular lumen. At the same time, iodide down-regulates *nis* expression and decreases NIS mRNA stability (Serrano-Nascimento et al., 2010; Suzuki and Kohn, 2006). In addition, iodide blocks TPO activity as it has been observed before and is known as the Wolff-Chaikoff effect (Ohayon et al., 1994; Uyttersprot et al., 1997; Wolff and Chaikoff, 1948).

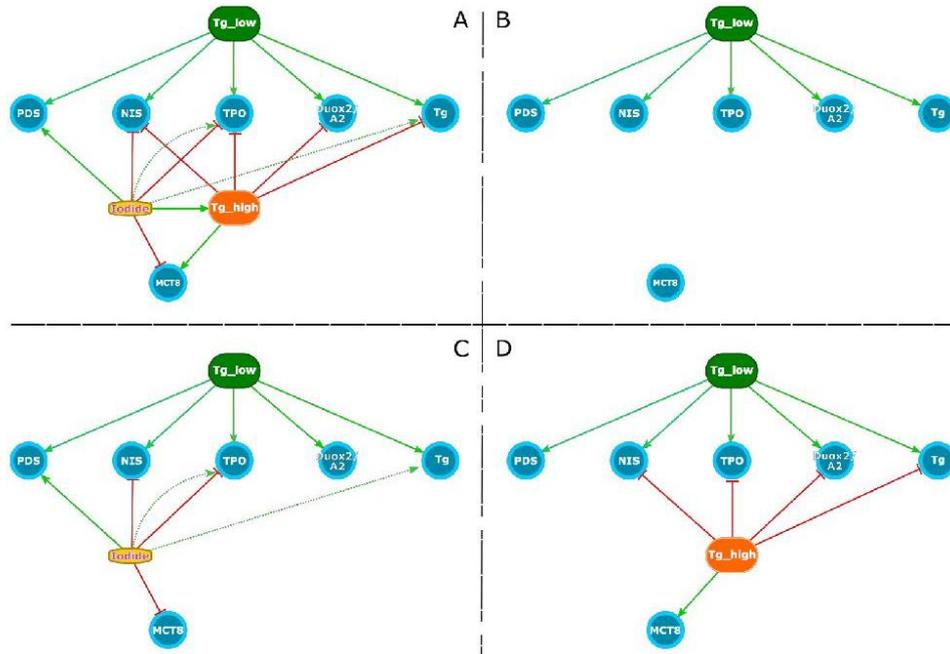


Figure 4. A) The mechanistic model that could explain the gene regulation (blue circles) during repetitive potassium iodide (rectangular box) administration. There are two pools of thyroglobulin: a pool of low-iodinated (Tg_{low}; green oval) and a pool of high-iodinated (Tg_{high}; orange oval) thyroglobulin. B) Tg_{low} is present in the cell when a low concentration of iodide is present in the cell. Tg_{low} can induce transcription of genes that are involved in the biosynthesis of the thyroid hormones. C) Upon the presence of intracellular iodide, gene expression of *nis* and *tpo* will be inhibited, and transcription of *pds* and *tpo* (indirectly) will be activated. This will result in a decrease of intracellular iodide concentration and increase in *de novo* synthesis of high-iodinated thyroglobulin. D) Due to pendrin, there is an absence of iodide which has been incorporated into Tg_{high}. In the absence of iodide, *nis* is now down-regulated by Tg_{high} and in addition *tpo*, *duox2/a2* and *tg* are inhibited to shut down the biosynthesis of the thyroid hormone. In contrast, MCT8 is up-regulated in order to release the unbound thyroid hormones, by digesting Tg_{high} in the blood. This will result in the starting point see Figure 4A.

However, besides down-regulating NIS and TPO, iodide is also capable to activate both TPO and Tg indirectly through activation of AKT (Luu et al., 2012; Serrano-Nascimento et al., 2016, 2014; Wen et al., 2016). The activation of Pendrin, TPO, and Tg allows the cell to organify iodide into the Tg molecule as a high-iodinated thyroglobulin (Tg_{high}) due to high concentration of intracellular iodide (Figure 4C). An efflux of iodide from the thyrocyte into the follicular lumen by Pendrin and the inhibition of influx of iodide due to down-regulation of NIS by both intracellular iodide and Tg_{high} results in a lower amount of iodide in the thyrocyte. Subsequently, the transcription of the *pds* gene is not stimulated anymore and the repressive action of iodide on the *mct8* gene is relieved. In contrast, Tg_{high} will continue down-regulating *nis* expression beside the down-regulation of *tpo*, *duox2*, *duoxA2* and *tg* (Figure 4D). This can be seen as a negative feed-back loop as a response to thyroid hormone production: high-iodinated thyroglobulin is a precursor for the thyroid hormones T3 and T4 (Carvalho and Dupuy, 2017). Furthermore, Tg_{high} increases *mct8* expression allowing the release of the T3 and T4 hormones into the blood stream. To release the thyroid hormones, the thyroglobulin protein into which the hormones are incorporated upon the organification of iodide has to be digested (Figure 4D). As a result the amount of Tg_{high} lessens, thereby returning to the initial conditions before KI administration (Figure 4B)

4. DISCUSSION

The mechanisms behind the high-dosage effect of iodide have been investigated thoroughly; the thyroid hormones synthesis is reduced (Wolff and Chaikoff, 1948) upon high intracellular concentration of iodide (Bürgi, 2010) and this is known as the Wolff-Chaikoff effect. This effect is transient and its escape involves the sodium-iodide transporter (NIS) and the thyroid peroxidase (TPO) enzyme (Bürgi, 2010; Eng et al., 1999; Leoni et al., 2008; Leung and Braverman, 2014). The mechanism that drives the escape is the decrease in *nis* expression which is reflected in a reduced NIS protein abundance (Eng et al., 1999). And more recently, a post-transcriptional regulation of *nis* at the level of mRNA stability has been shown (Serrano-Nascimento et al., 2010). In addition, the activation of the PI3K/AKT pathway by iodide-induced ROS production inhibits *nis* expression (Serrano-Nascimento et al., 2016). These mechanisms result in a decrease of intracellular iodide concentration thereby relieving the inhibition on thyroid hormones synthesis.

During chronic administration of KI, *nis* expression is also down-regulated (Chen Xiao-yi et al., 2016; Solis-S et al., 2011) and it has been shown that in addition to differential expression of *nis*, the genes *mct8*, *tpo* and *pds* are differentially expressed as well although other groups have not found any difference (Calil-Silveira et al., 2016; Chen Xiao-yi et al., 2016; De Souza et al., 2015; Lebsir et al., 2018). The mechanism behind the regulation of these genes during repetitive administration of KI is currently not known. Although it has been suggested by Lebsir and colleagues that the Wolff-Chaikoff effect during chronic KI administration consists of a two-step mechanism: iodide inhibits *nis* and *mct8* expression promptly upon iodide intake and the second step is a late Wolff-Chaikoff effect that includes inhibition of *tpo* gene expression and increased expression of *pds* both by excessive iodide (Lebsir et al., 2018).

To complete and provide new insights into the mechanisms of action involved in the regulation of iodide metabolism in the thyroid, a complementary approach, Systems Biology, that gives a more holistic view, would be relevant. The aim of the present study is to elaborate on the observed results by Lebsir and colleagues and to propose a putative regulatory circuit that enables the explanation of the observed gene expression during chronic iodide uptake, using a Systems Biology approach. Such an approach has been used before to hypothesise a possible mechanism that induces the epithelial to mesenchymal transition in colorectal cancer (Chanrion et al., 2014). Furthermore, the application of molecular network as maps in Systems Biology is becoming more common; there is a scientific community that uses maps of networks as basis for mathematical models, prediction analysis and for hypothesis generation (Mazein et al., 2018; Ostaszewski et al., 2018).

In order to propose a mechanism behind the *nis* and *tpo* gene regulation during repetitive administration of KI it is important to have a map that contains the most up-to-date information. Therefore, the first step in our study is the construction of a map depicting a network that describes the biosynthesis of thyroid hormone and the metabolism of iodide in a single thyrocyte cell. To our knowledge this is currently the most up-dated map created (Figure 2) with CellDesigner software (Funahashi et al., 2003) and it contains more details than similar maps that can be found in the KEGG and Reactome database (Fabregat et al., 2016; Kanehisa and Goto, 2000). The map is manually curated meaning that arches

(connections) have been described in published articles and each arch has been annotated at least once (215 annotations from 124 different articles). As each research group uses his preferred model (e.g. rat, human, mouse) the map contains information from different organisms but the concerned proteins or genes have been conserved among the organism.

After the construction of the large biochemical reaction network depicted as a map, it contains many details and many connections hence it is difficult to comprehend intuitively which arches and nodes may explain *nis* regulation upon chronic administration of iodide. Network reduction using the Cytoscape plug-in BiNoM allows obtaining a simplified influence (Fig. 3) network with nodes of interest (NIS, TPO, Tg, PDS, Duox2/A2 and MCT8). The reduced network allows postulating a putative mechanism without the need to display the full details. Such strategy has been applied successfully before for proposing mechanisms behind observed biological phenomena (Chanrion et al., 2014; Mazein et al., 2018).

In the present study we propose a putative mechanism behind NIS regulation during repetitive administration of KI. Although we have shown a possible path from repetitive excessive iodide to several genes that are involved in the biosynthesis of thyroid hormones and iodide metabolism, a formal mathematical model taking the many regulations on those genes into account has not been performed. With Boolean modelling for example it is possible to test hypotheses *in silico* (Calzone et al., 2008; Cohen et al., 2015; Grieco et al., 2013). Of course the ultimate validation would be an experimental one to test if our hypothesis is correct.

It can be concluded that Systems Biology approach is a good method to study repetitive KI administration and Systems Biology is being applied more frequently. Due to the Systems Biology approach we have been able to postulate a putative mechanism (Figure 4) that consists of two main steps: 1) firstly NIS, TPO and MCT8 are inhibited by excessive intracellular iodide which has been proposed as well by Lebsir and colleagues. 2) Secondly, upon depletion of excessive intracellular iodide, high-iodinated Thyroglobulin continues repressing NIS and TPO but activates MCT8 thereby stimulating the release of thyroid hormones into the blood stream.

Systems Biology can be used to study a complex biological system by looking at dynamic interactions at different scales or granularity. A fine-grained biological network that displays

many details like phosphorylation of proteins or other post-translational modification, like the map in the current study, is called a Process Description diagram. These type of maps and dynamic models are the bases for Adverse Outcome Pathway or dynamic Adverse Outcome Pathway (AOP) models, respectively (Escher et al., 2017; Garcia-Reyero and Murphy, 2018; Sturla et al., 2014). This AOP framework is the basis for the development of animal-free toxicity tests methods (Knapen et al., 2015). The combination of these research domains, Systems Biology and Toxicology is now known as Systems Toxicology allowing to study from mechanisms to risk assessment (Sturla et al., 2014). Our group has demonstrated a putative mechanism behind *nis* regulation (this present study) and non-toxic adverse effects upon KI repetitive administration (Lebsir et al., 2018) which may help to evaluate the current guidelines for avoiding contamination of the thyroid upon nuclear accidents.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors would like to acknowledge Dr Eric Bonnet (Team Leader bio-analysis at CEA/Institut de Biologie François Jacob, Centre National de Recherche en Génomique Humaine) for his critical reading of the manuscript.

FUNDING

This study was part of the PRIODAC research program funded by ANR-RSNR.

DECLARATION OF INTEREST

The authors do not report any conflicts of interest regarding the publication of this paper.

5. REFERENCES

- Audouze, K., Taboureau, O., Grandjean, P., 2018. A systems biology approach to predictive developmental neurotoxicity of a larvicide used in the prevention of Zika virus transmission. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* <https://doi.org/10.1016/j.taap.2018.02.014>
- Bizhanova, A., Kopp, P., 2009. Minireview: The sodium-iodide symporter NIS and pendrin in iodide homeostasis of the thyroid. *Endocrinology* 150, 1084–1090. <https://doi.org/10.1210/en.2008-1437>
- Bonnet, E., Calzone, L., Rovera, D., Stoll, G., Barillot, E., Zinovyev, A., 2013. BiNoM 2.0, a Cytoscape plugin for accessing and analyzing pathways using standard systems biology formats. *BMC Syst. Biol.* 7, 18. <https://doi.org/10.1186/1752-0509-7-18>

- Bürgi, H., 2010. Iodine excess. *Best Pract. Res. Clin. Endocrinol. Metab.* 24, 107–115.
<https://doi.org/10.1016/j.beem.2009.08.010>
- Calil-Silveira, J., Serrano-Nascimento, C., Kopp, P.A., Nunes, M.T., 2016. Iodide excess regulates its own efflux: a possible involvement of pendrin. *Am. J. Physiol. - Cell Physiol.* 310, C576–582. <https://doi.org/10.1152/ajpcell.00210.2015>
- Calil-Silveira, J., Serrano-Nascimento, C., Nunes, M.T., 2012. Iodide treatment acutely increases pendrin (SLC26A4) mRNA expression in the rat thyroid and the PCCl3 thyroid cell line by transcriptional mechanisms. *Mol. Cell. Endocrinol.* 350, 118–124.
<https://doi.org/10.1016/j.mce.2011.12.002>
- Calzone, L., Gelay, A., Zinovyev, A., Radvanyi, F., Barillot, E., 2008. A comprehensive modular map of molecular interactions in RB/E2F pathway. *Mol. Syst. Biol.* 4, 173.
<https://doi.org/10.1038/msb.2008.7>
- Carvalho, D.P., Dupuy, C., 2017. Thyroid hormone biosynthesis and release. *Mol. Cell. Endocrinol.* 458, 6–15. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2017.01.038>
- Chanrion, M., Kuperstein, I., Barrière, C., El Marjou, F., Cohen, D., Vignjevic, D., Stimmer, L., Paul-Gilloteaux, P., Bièche, I., Tavares, S.D.R., Boccia, G.F., Cacheux, W., Meseure, D., Fre, S., Martignetti, L., Legoix-Né, P., Girard, E., Fetler, L., Barillot, E., Louvard, D., Zinovyev, A., Robine, S., 2014. Concomitant Notch activation and p53 deletion trigger epithelial-to-mesenchymal transition and metastasis in mouse gut. *Nat. Commun.*
<https://doi.org/10.1038/ncomms6005>
- Chen Xiao-yi, Lin, C., Yang Li-hua, Li Wang-gen, Zhang Jin-wei, Zheng Wen-wei, Wang Xiang, Qian Jiang, Huang Jia-luan, Lei Yi-xiong, 2016. The Effect on Sodium/Iodide Symporter and Pendrin in Thyroid Colloid Retention Developed by Excess Iodide Intake. *Biol. Trace Elem. Res.* 172, 193–200. <https://doi.org/10.1007/s12011-015-0580-4>
- Cohen, D.P.A., Kuperstein, I., Barillot, E., Zinovyev, A., Calzone, L., 2013. From a Biological Hypothesis to the Construction of a Mathematical Model, in: Schneider, M.V. (Ed.), *In Silico Systems Biology*. Humana Press, Totowa, NJ, pp. 107–125.
https://doi.org/10.1007/978-1-62703-450-0_6
- Cohen, D.P.A., Martignetti, L., Robine, S., Barillot, E., Zinovyev, A., Calzone, L., 2015. Mathematical Modelling of Molecular Pathways Enabling Tumour Cell Invasion and Migration. *PLOS Comput. Biol.* 11, e1004571.
<https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1004571>
- Dayem, M., Navarro, V., Marsault, R., Darcourt, J., Lindenthal, S., Pourcher, T., 2006. From the molecular characterization of iodide transporters to the prevention of radioactive iodide exposure. *Biochimie* 88, 1793–1806.
<https://doi.org/10.1016/j.biochi.2006.07.015>
- De Souza, E.C.L., Dias, G.R.M., Cardoso, R.C., Lima, L.P., Fortunato, R.S., Visser, T.J., Vaisman, M., Ferreira, A.C.F., Carvalho, D.P., 2015. MCT8 is Downregulated by Short Time Iodine

- Overload in the Thyroid Gland of Rats. *Horm. Metab. Res.* 47, 910–915.
<https://doi.org/10.1055/s-0035-1550008>
- Di Cosmo, C., Liao, X.H., Dumitrescu, A.M., Philp, N.J., Weiss, R.E., Refetoff, S., 2010. Mice deficient in MCT8 reveal a mechanism regulating thyroid hormone secretion. *J. Clin. Invest.* 120, 3377–3388. <https://doi.org/10.1172/JCI42113>
- Dreger, S., Pfänder, M., Christianson, L., Lhachimi, S.K., Zeeb, H., 2015. The effects of iodine blocking following nuclear accidents on thyroid cancer, hypothyroidism, and benign thyroid nodules: Design of a systematic review. *Syst. Rev.* 4.
<https://doi.org/10.1186/s13643-015-0106-3>
- Eng, P.H.K., Cardona, G.R., Fang, S.-L., Previti, M., Alex, S., Carrasco, N., Chin, W.W., Braverman, L.E., 1999. Escape from the Acute Wolff-Chaikoff Effect Is Associated with a Decrease in Thyroid Sodium/Iodide Symporter Messenger Ribonucleic Acid and Protein*. *Endocrinology* 140, 3404–3410. <https://doi.org/10.1210/endo.140.8.6893>
- Escher, B.I., Hackermüller, J., Polte, T., Scholz, S., Aigner, A., Altenburger, R., Böhme, A., Bopp, S.K., Brack, W., Busch, W., Chadeau-Hyam, M., Covaci, A., Eisenräger, A., Galligan, J.J., Garcia-Reyero, N., Hartung, T., Hein, M., Herberth, G., Jahnke, A., Kleinjans, J., Kliver, N., Krauss, M., Lamoree, M., Lehmann, I., Luckenbach, T., Müller, G.W., Müller, A., Phillips, D.H., Reemtsma, T., Rolle-Kampczyk, U., Schirmer, G., Schwikowski, B., Tan, Y.M., Trump, S., Walter-Rohde, S., Wambaugh, J.F., 2017. From the exposome to mechanistic understanding of chemical-induced adverse effects. *Environ. Int.* 99, 97–106. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2016.11.029>
- Fabregat, A., Sidiropoulos, K., Garapati, P., Gillespie, M., Hausmann, K., Haw, R., Jassal, B., Jupe, S., Korninger, F., McKay, S., Matthews, L., May, B., Milacic, M., Rothfels, K., Shamovsky, V., Webber, M., Weiser, J., Williams, M., Wu, G., Stein, L., Hermjakob, H., D'Eustachio, P., 2016. The Reactome pathway Knowledgebase. *Nucleic Acids Res.* 44, 481–487. <https://doi.org/10.1093/nar/gkv1351>
- Forsberg, E., Huan, T., Rinehart, D., Benton, H., Warth, B., Hilmers, B., Siuzdak, G., 2018. Data processing, multi-omic pathway mapping, and metabolite activity analysis using XCMS Online. *Nat. Protoc.* 13, 633–651.
- Funahashi, A., Morohashi, M., Kitano, H., Tanimura, N., 2003. CellDesigner: a process diagram editor for gene-regulatory and biochemical networks. *Biosilico* 1, 159–162.
- Garcia-Reyero, N., Murphy, C., 2018. *A Systems Biology Approach to Advancing Adverse Outcome Pathways for Risk Assessment*, 1st ed, A Systems Biology Approach to Advancing Adverse Outcome Pathways for Risk Assessment. Springer International Publishing. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-66084-4>
- Grieco, L., Calzone, L., Bernard-Pierrot, I., Radvanyi, F., Kahn-Perlès, B., Thieffry, D., 2013. Integrative Modelling of the Influence of MAPK Network on Cancer Cell Fate Decision. *PLoS Comput. Biol.* 9. <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1003286>

- Hornberg, J., Bruggeman, F., Westerhoff, H., Lankelma, J., 2006. Cancer: a Systems Biology disease. *Biosystems* 83, 81–90.
- Huang, H., Shi, Y., Liang, B., Cai, H., Cai, Q., 2017. Iodinated TG in Thyroid Follicular Lumen Regulates TTF-1 and PAX8 Expression via TSH/TSHR Signaling Pathway. *J. Cell. Biochem.* 118, 3444–3451. <https://doi.org/10.1002/jcb.26001>
- Hucka, M., Finney, A., Sauro, H.M., Bolouri, H., Doyle, J.C., Kitano, H., Arkin, A.P., Bornstein, B.J., Bray, D., Cornish-Bowden, A., Cuellar, A.A., Dronov, S., Gilles, E.D., Ginkel, M., Gor, V., Goryanin, I.I., Hedley, W.J., Hodgman, T.C., Hofmeyr, J.H., Hunter, P.J., Juty, N.S., Kasberger, J.L., Kremling, A., Kummer, U., Le Novère, N., Loew, L.M., Lucio, D., Mendes, P., Minch, E., Mjolsness, E.D., Nakayama, Y., Nelson, M.R., Nielsen, P.F., Sakurada, T., Schaff, J.C., Shapiro, B.E., Shimizu, T.S., Spence, H.D., Stelling, J., Takahashi, K., Tomita, M., Wagner, J., Wang, J., 2003. The systems biology markup language (SBML): A medium for representation and exchange of biochemical network models. *Bioinformatics* 19, 524–531. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btg015>
- Janes, K., Wang, C., 2014. Bringing systems biology to cancer, immunology and infectious disease. *Genome Biol.* 15, 407. <https://doi.org/10.1186/s13059-014-0407-1>
- Kanehisa, M., Goto, S., 2000. KEGG: Kyoto encyclopedia of genes and genomes. *Nucleic Acids Res.* 28, 27–30. <https://doi.org/10.1093/nar/27.1.29>
- Knapen, D., Vergauwen, L., Villeneuve, D.L., Ankley, G.T., 2015. The potential of AOP networks for reproductive and developmental toxicity assay development. *Reprod. Toxicol.* 56, 52–55. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2015.04.003>
- Larkin, J.H., Simon, H.A., 1987. Why a Diagram is (Sometimes) Worth Ten Thousand Words. *Cogn. Sci.* 11, 65–100. <https://doi.org/10.1111/j.1551-6708.1987.tb00863.x>
- Le Novère, N., Hucka, M., Mi, H., Moodie, S., Schreiber, F., Sorokin, A., Demir, E., Wegner, K., Aladjem, M.I., Wimalaratne, S.M., Bergman, F.T., Gauges, R., Ghazal, P., Kawaji, H., Li, L., Matsuoka, Y., Villéger, A., Boyd, S.E., Calzone, L., Courtot, M., Dogrusoz, U., Freeman, T.C., Funahashi, A., Ghosh, S., Jouraku, A., Kim, S., Kolpakov, F., Luna, A., Sahle, S., Schmidt, E., Watterson, S., Wu, G., Goryanin, I., Kell, D.B., Sander, C., Sauro, H., Snoep, J.L., Kohn, K., Kitano, H., 2009. The Systems Biology Graphical Notation. *Nat. Biotechnol.* 27, 735–41. <https://doi.org/10.1038/nbt.1558>
- Lebsir, D., Manens, L., Grison, S., Lestaevel, P., Ebrahimian, T., Suhard, D., Phan, G., Dublineau, I., Tack, K., Benderitter, M., Pech, A., Jourdain, J.-R., Souidi, M., 2018. Effects of repeated potassium iodide administration on genes involved in synthesis and secretion of thyroid hormone in adult male rat. *Mol. Cell. Endocrinol.* <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.mce.2018.02.017>
- Leoni, S.G., Galante, P.A., Ricarte-Filho, J.C.M., Kimura, E.T., 2008. Differential gene expression analysis of iodide-treated rat thyroid follicular cell line PCCI3. *Genomics* 91, 356–366. <https://doi.org/10.1016/j.ygeno.2007.12.009>

- Leung, A.M., Braverman, L.E., 2014. Consequences of excess iodine. *Nat. Rev. Endocrinol.* <https://doi.org/10.1038/nrendo.2013.251>
- Lu, J., Zeng, H., Liang, Z., Chen, L., Zhang, L., Zhang, H., Liu, H., Jiang, H., Shen, B., Huang, M., Geng, M., Spiegel, S., Luo, C., 2015. Network modelling reveals the mechanism underlying colitis-associated colon cancer and identifies novel combinatorial anti-cancer targets. *Sci. Rep.* 5. <https://doi.org/10.1038/srep14739>
- Luu, W., Sharpe, L.J., Stevenson, J., Brown, A.J., 2012. Akt acutely activates the cholesterologenic transcription factor SREBP-2. *Biochim. Biophys. Acta - Mol. Cell Res.* 1823, 458–464. <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2011.09.017>
- Mazein, A., Ostaszewski, M., Kuperstein, I., Watterson, S., Le Novère, N., Lefaudeux, D., De Meulder, B., Pellet, J., Balaur, I., Saqi, M., Nogueira, M.M., He, F., Parton, A., Lemonnier, N., Gawron, P., Gebel, S., Hainaut, P., Ollert, M., Dogrusoz, U., Barillot, E., Zinovyev, A., Schneider, R., Balling, R., Auffray, C., 2018. Systems medicine disease maps: community-driven comprehensive representation of disease mechanisms. *npj Syst. Biol. Appl.* 4. <https://doi.org/10.1038/s41540-018-0059-y>
- Müller, J., Mayerl, S., Visser, T.J., Darras, V.M., Boelen, A., Frappart, L., Mariotta, L., Verrey, F., Heuer, H., 2014. Tissue-specific alterations in thyroid hormone homeostasis in combined Mct10 and Mct8 deficiency. *Endocrinology* 155, 315–325. <https://doi.org/10.1210/en.2013-1800>
- Ohayon, R., Boeynaems, J.-M., Braekman, J.-C., den Bergen, H. Van, Gorin, Y., Virion, A., 1994. Inhibition of thyroid NADPH-oxidase by 2-iodohexadecanal in a cell-free system. *Mol. Cell. Endocrinol.* 99, 133–141. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0303-7207\(94\)90156-2](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0303-7207(94)90156-2)
- Ostaszewski, M., Gebel, S., Kuperstein, I., Mazein, A., Zinovyev, A., Dogrusoz, U., Hasenauer, J., Fleming, R.M.T., Le Novère, N., Gawron, P., Ligon, T., Niarakis, A., Nickerson, D., Weindl, D., Balling, R., Barillot, E., Auffray, C., Schneider, R., 2018. Community-driven roadmap for integrated disease maps. *Brief. Bioinform.*
- Phan, G., Rebière, F., Suhard, D., Legrand, A., Carpentier, F., Sontag, T., Souidi, M., Jourdain, J.-R., Agarande, M., Renaud-Salis, V., 2017. Optimal KI Prophylactic Dose Determination for Thyroid Radiation Protection After a Single Administration in Adult Rats. *Dose Response* 15. <https://doi.org/10.1177/1559325817746558>
- Reiners, C., Schneider, R., 2013. Potassium iodide (KI) to block the thyroid from exposure to I-131: current questions and answers to be discussed. *Radiat. Environ. Biophys.* 52, 189–193.
- Rodriguez AM, Perron B, Lacroix L, Caillou B, Leblanc G, Schlumberger G, Bidart JM, Pourcher T, 2002. Identification and characterization of a putative human iodide transporter located at the apical membrane of thyrocytes. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 87, 3500–3503.

- Schneider, H., Klabunde, T., 2013. Understanding drugs and diseases by systems biology? *Bioorganic Med. Chem. Lett.* 23, 1168–1176.
- Serrano-Nascimento, C., Calil-Silveira, J., Nunes, M.T., 2010. Posttranscriptional regulation of sodium-iodide symporter mRNA expression in the rat thyroid gland by acute iodide administration. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* 298, C893–899.
- Serrano-Nascimento, C., Nicola, J.P., Teixeira, S. da S., Poyares, L.L., Lellis-Santos, C., Bordin, S., Masini-Repiso, A.M., Nunes, M.T., 2016. Excess iodide downregulates Na⁺/I⁻ symporter gene transcription through activation of PI3K/Akt pathway. *Mol. Cell. Endocrinol.* 426, 73–90. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2016.02.006>
- Serrano-Nascimento, C., Teixeira, S.D.S., Nicola, J.P., Nachbar, R.T., Masini-Repiso, A.M., Nunes, M.T., 2014. The acute inhibitory effect of iodide excess on sodium/iodide symporter expression and activity involves the PI3K/Akt signaling pathway. *Endocrinology* 155, 1145–1156. <https://doi.org/10.1210/en.2013-1665>
- Shannon, P., Markiel, A., Ozier, O., Baliga, N.S., Wang, J.T., Ramage, D., Amin, N., Schwikowski, B., Ideker, T., 2003. Cytoscape: A software Environment for integrated models of biomolecular interaction networks. *Genome Res.* 13, 2498–2504. <https://doi.org/10.1101/gr.1239303>
- Solis-S, J.C., Villalobos, P., Orozco, A., Delgado, G., Quintanar-Stephano, A., Garcia-Solis, P., Hernandez-Montiel, H.L., Robles-Osorio, L., Valverde-R, C., 2011. Inhibition of intrathyroidal dehalogenation by iodide. *J. Endocrinol.* <https://doi.org/10.1677/JOE-10-0300>
- Sturla, S.J., Boobis, A.R., Fitzgerald, R.E., Hoeng, J., Kavlock, R.J., Schirmer, K., Whelan, M., Wilks, M.F., Peitsch, M.C., 2014. Systems toxicology: From basic research to risk assessment. *Chem. Res. Toxicol.* 27, 314–329. <https://doi.org/10.1021/tx400410s>
- Suzuki, K., Kohn, L.D., 2006. Differential regulation of apical and basal iodide transporters in the thyroid by thyroglobulin. *J. Endocrinol.* 189, 247–255. <https://doi.org/10.1677/joe.1.06677>
- Twyffels, L., Strickaert, A., Virreira, M., Massart, C., Sande, J. Van, Wauquier, C., Beauwens, R., Dumont, J.E., Galietta, L.J., Boom, A., Kruys, V., 2014. Anoctamin-1/TMEM16A is the major apical iodide channel of the thyrocyte. *Am J Physiol Cell Physiol* 307, 1102–1112. <https://doi.org/10.1152/ajpcell.00126.2014>
- Uyttersprot, N., Pelgrims, N., Carrasco, N., Gervy, C., Maenhaut, C., Dumont, J.E., Miot, F., 1997. Moderate doses of iodide in vivo inhibit cell proliferation and the expression of thyroperoxidase and Na⁺/I⁻ symporter mRNAs in dog thyroid. *Mol. Cell. Endocrinol.* 131, 195–203. [https://doi.org/10.1016/S0303-7207\(97\)00108-1](https://doi.org/10.1016/S0303-7207(97)00108-1)
- Wen, G., Eder, K., Ringseis, R., 2016. Sterol regulatory element-binding proteins are transcriptional regulators of the thyroglobulin gene in thyroid cells. *Biochim. Biophys.*

Acta - Gene Regul. Mech. 1859, 994–1003.
<https://doi.org/10.1016/j.bbagr.2016.06.004>

Wolff, J., Chaikoff, I.L., 1948. Plasma inorganic iodide as a homeostatic regulator of thyroid function. *J. Biol. Chem.* 174, 555–564.

Yoshida, S., Ojino, M., Ozaki, T., Hatanaka, T., Nomura, K., Ishii, M., Koriyama, K., Akashi, M., 2014. Guidelines for iodine prophylaxis as a protective measure: Information for physicians. *Japan Med. Assoc. J.* 57, 113–123.

Zanzonico, P.B., Becker, D. V., 2000. Effects of time of administration and dietary iodine levels on potassium iodide (KI) blockade of thyroid irradiation by ¹³¹I from radioactive fallout. *Health Phys.* 78, 660–667. <https://doi.org/10.1097/00004032-200006000-00008>

Titre : Pharmacologie de l'iode stable : étude *in vivo* des effets biologiques associés à une prophylaxie répétée à l'iodure de potassium

Mots clés : accident nucléaire, iode de potassium, prophylaxie répétée, glande thyroïde, effet Wolff-Chaikoff

Résumé : A l'issue d'un accident nucléaire, les produits de fission de l'uranium tel les iodes radioactifs sont dispersés dans l'environnement. L'homme est susceptible d'être exposé à ces éléments majoritairement via l'inhalation d'air et / ou l'ingestion d'aliments contaminés. L'iode 131 est connu pour être responsable de l'augmentation de l'incidence du cancer de la thyroïde. Une des contre-mesures est l'ingestion de dose unique de comprimés d'iodure de potassium (KI) à fin de saturer la glande thyroïde par de l'iode stable et d'éviter ainsi le passage de l'isotope radioactif. Les scénarios de rejets réitérés d'iodes radioactifs lors des deux accidents majeurs Tchernobyl et Fukushima ont mis en évidence les faiblesses de cette mesure, des prises répétées de KI s'avèrent nécessaires. Dans la littérature on dispose de peu de données clinique et préclinique sur la prise répétée d'iode stable, quant à son usage ça n'a pas été décrit. La doctrine iode ainsi que l'autorisation de mise sur le marché (AMM) du KI envisage seulement la prise unique à renouveler exceptionnellement chez la population adulte. L'iode est connu pour être un élément clé de la fonction thyroïdienne, on jouant un double rôle à la fois de substrat et de régulateur de la thyroïde. Si sa présence est indispensable à la formation des hormones thyroïdiennes, son excès exerce un effet inhibiteur transitoire de cette synthèse connu sous le nom de l'effet Wolff-Chaikoff. Les hormones thyroïdiennes impactent le développement et la fonction de presque tous les organes du corps (cerveau, cœur, os...), la moindre variation de leurs niveau peut impacter l'homéostasie du corps. D'où la difficulté de l'application de la prise répétée du KI en absence de données biologiques et toxicologiques. Pour combler ses lacunes et trouver une solution en

cas d'exposition réitérée, le programme de recherche Français PRIODAC : PRophylaxie répétée par l'IODe stable en situation ACCidentelle (ANR/RSNR), dont fait partie cette thèse vise à exploiter les modalités d'administration répétée du KI chez toutes les tranches d'âge (*in utero*, adulte et âgé), et d'évaluer les conséquences biologiques sur les grandes fonctions physiologiques de l'organisme. Trois modèles de rats *Wistar* ont fait l'objet de ce travail de thèse : le modèle de référence rat adulte (3 mois), les modèles à risque progéniture (exposé durant la gestation) et rat âgé (12 mois), ont reçus 8 prises consécutives de KI 1mg/kg/24h. Et les effets étaient évalués à long-terme (30 jours post-prophylaxie). Sur le modèle de référence on n'a pas eu d'impact néfaste à long-terme de la prise répétée du KI, par contre sur les modèles à risque plusieurs effets à long-terme ont été rapportés, chez la progéniture exposée *in utero* la coordination motrice ainsi que l'expression de quelques gènes clés du cerveau ont été négativement modifiés par le traitement. Et chez le rat âgé la biochimie urinaire, l'expression de quelques gènes clés de la fonction cardiovasculaire ainsi que le système rénine-angiotensine-aldostérone ont été significativement impactés par le traitement. En conclusion, les résultats obtenus montrent l'innocuité sur le plan toxicologique du KI administré à 1mg/kg toute les 24h pendant 8 jours chez le modèle adulte et la nocuité de ce schéma prophylactique chez les modèles à risque *in utero* et âgé. Ces résultats ont été transférés à la pharmacie centrale des armées et ont servis de données d'entrée pour des études de bonne pratique de laboratoire qui à terme vont contribuer à l'évolution de la doctrine de l'iode et l'AMM du KI.

Title : Stable iodine pharmacology : *in vivo* study of the biological effect of repeated potassium iodide prophylaxis

Keywords : nuclear accident, potassium iodide, repeated prophylaxis, thyroid gland, Wolff-Chaikoff effect

Abstract : Following nuclear accidents, uranium fission products such as radioactive iodines are released into the environment. Humans are likely to be exposed to these elements mainly through inhalation of air and / or ingestion of contaminated food. Iodine 131 is known to be responsible for increasing the incidence of thyroid cancer. One of the available countermeasures is the ingestion of a single dose of potassium iodide (KI) tablets to saturate the thyroid gland with stable iodine and thus prevent the uptake of the radioactive isotope. Repeated releases of radioactive iodine during the two major accidents Chernobyl and Fukushima have highlighted the weaknesses of this measure, repeated intake of KI maybe necessary. In the literature there is little clinical and preclinical data on the repeated intake of stable iodine, its use has poorly been described. The iodine doctrine as well as the Marketing Authorization (MA) of the KI considers only the single taking, to renew exceptionally in the adult population. Iodine is known to be a key component of thyroid function, playing a dual role as both a substrate and a regulator of the thyroid. If its presence is essential for the synthesis of thyroid hormones, its excess exerts a transient inhibitory effect on this synthesis known as the Wolff-Chaikoff effect. Thyroid hormones affect the development and function of almost all organs of the body (brain, heart, bones ...), the slightest variation in their level can impact the homeostasis of the body. Hence, the toughness of applying repeated KI intake in the absence of biological and toxicological data.

To fill this gap and find a solution in the event of repeated exposure, the French research program PRIODAC: repeated potassium iodide prophylaxis in accidental situation (ANR / RSNR), of which this thesis is part, aims to define the modalities of repeated administration of KI in all age groups (*in utero*, adult and elderly), and evaluate the biological consequences on the the body's major physiological functions. Three models of *Wistar* rats were used in this work : the reference model adult rat (3 months), the first sensitive model offspring (exposed during gestation) and another sensitive model the older rat (12 months), these three models received 8 consecutive intakes of KI 1mg / kg / 24h. And the effects were assessed at long-term (30 days post-prophylaxis). On the reference model, there was no long-term adverse impact of repeated KI intake. On the other hand, sensitive models reveal several long-term effects; the offspring exhibited impaired motor coordination and variation of the expression of some key brain genes. And in the elderly rat urinary biochemistry, expression of some key genes involved in the cardiovascular function, as well as the renin-angiotensin-aldosterone system were significantly impacted by the treatment. In conclusion, the results obtained shown the toxicological safety of KI at 1 mg / kg every 24 hours for 8 days in the adult model, and the harm of this prophylactic scheme in sensitive models *in utero* and elderly. These results were sent to the French central pharmacy of armies and served as input data for good laboratory practice studies that eventually will contribute to the evolution of the iodine doctrine and KI MA.

