



Powiązania pomiędzy toksycznymi efektami bromianu potasowego a gruczołami wydzielania wewnętrznego

Relationship between toxic effects of potassium bromate and endocrine glands

Magdalena Stasiak¹, Andrzej Lewiński^{1,2}, Małgorzata Karbownik-Lewińska^{1,3}

¹Klinika Endokrynologii i Chorób Metabolicznych, Instytut Centrum Zdrowia Matki Polki, Łódź

²Klinika Endokrynologii i Chorób Metabolicznych, Uniwersytet Medyczny, Łódź

³Zakład Endokrynologii Onkologicznej, Uniwersytet Medyczny, Łódź

Streszczenie

Bromian potasowy (KBrO₃) jest związkiem należącym do grupy 2B kancerogenów, co oznacza, że nie można wykluczyć jego działania kancerogennego u ludzi. Związek ten stosowano w piekarnictwie jako „polepszacz” mąki i środek spulchniający oraz jako składnik preparatów do trwałej ondulacji, a obecnie nadal stosuje się go w procesie produkcji piwa. Ponadto, KBrO₃ powstaje jako produkt uboczny procesu ozonowania wody.

Bromian potasowy indukuje stres oksydacyjny i może przyczyniać się do nowotworzenia w gruczołach wydzielania wewnętrznego. Kancerogen ten powoduje powstawanie guzów pęcherzykowych tarczycy u szczurów, a w badaniach *in vivo* i *in vitro* wykazano istotne podwyższenie peroksydacji lipidów w tarczycy pod wpływem KBrO₃. Związek ten indukuje również powstawanie międzyzłoniaków, które mogą wydzielać hormony i substancje podobne do hormonów, takie jak peptyd podobny do parathormonu, fosfatoniny, czy hormon pobudzający melanocyty.

Wykazano, że antyoksydanty, takie jak hormon szyszynki — melatonina, kwas indolo-3-propionowy (IPA) (cząsteczka o budowie i właściwościach podobnych do melatoniny) oraz lek przeciwtruczycowy — propyltiouracyl (PTU), wywołują silne działanie ochronne przed peroksydacją lipidów wyindukowaną przez KBrO₃ w gruczole tarczycy w warunkach *in vivo*.

Bromian potasowy jest prooksydantem, który może indukować procesy nowotworzenia w gruczołach wydzielania wewnętrznego i powodować zaburzenia hormonalne, a jego działanie uszkodzające może być neutralizowane przez hormony, głównie melatoninę.

(*Endokrynol Pol* 2009; 60 (1): 40–50)

Słowa kluczowe: bromian potasowy, stres oksydacyjny, melatonina, gruczoły wydzielania wewnętrznego, gruczoł tarczycy, hormony

Abstract

Potassium bromate (KBrO₃) is a compound belonging to Group 2B of carcinogens (a possible human carcinogen). This agent was used as a food additive in flour treatment, as a component of cold-wave hair lotions, and is still used in barley processing. Additionally, KBrO₃ is formed as an oxyhalide by-product during water ozonation.

KBrO₃ induces oxidative stress and may contribute to neoplasia in endocrine glands. It has been demonstrated that KBrO₃ triggers thyroid follicular cell tumors in rats. It has been revealed in our *in vivo* and *in vitro* studies that KBrO₃ significantly increases lipid peroxidation in rat and porcine thyroid. KBrO₃ also induces mesotheliomas which may secrete hormones or similar substances, such as parathyroid hormone related protein, phosphatonins or melanocyte stimulating hormone.

In our experimental studies we demonstrated that antioxidants, such as pineal hormone — melatonin, indole-3-propionic acid (IPA) (a compound chemically and physically similar to melatonin) and antithyroid drug — propylthiouracil (PTU), produce distinct protective effects against lipid peroxidation due to KBrO₃ in the thyroid *in vivo*.

KBrO₃ is a prooxidant which may induce neoplasia in endocrine glands and cause hormonal disturbances, however its damaging effects may be neutralized by hormones, mainly melatonin. (*Pol J Endocrinol* 2009; 60 (1): 40–50)

Key words: potassium bromate, oxidative stress, melatonin, endocrine glands, thyroid gland, hormones

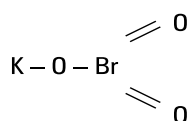


Prof. dr hab. med. Małgorzata Karbownik-Lewińska, Zakład Endokrynologii Onkologicznej, Katedra Endokrynologii i Chorób Metabolicznych, Uniwersytet Medyczny, ul. Żeligowskiego 7/9, 90-752 Łódź, tel./faks: 042 639 31 21, e-mail: MKarbownik@hotmail.com

Ogólne informacje dotyczące bromianu potasowego (KBrO₃)

1. Właściwości biochemiczne bromianu potasowego (KBrO₃)

Bromian potasowy jest solą potasową kwasu bromowego (V) o wzorze strukturalnym:



Bromian potasowy jest białym, bezzapachowym, krystalicznym proszkiem, dobrze rozpuszczalnym w wodzie, zasadach i alkoholu etylowym.

Bromian potasowy jest silnym utleniaczem, reagującym szybko ze związkami redukującymi, a kinetyka tych reakcji zależy od pH [1]. Z substancjami palnymi tworzy on niebezpieczne mieszanki palne lub wybuchowe.

Bromian potasowy po podaniu doustnym ssakom bardzo szybko wchłania się z przewodu pokarmowego i jest wydalany głównie z moczem [2].

2. Obecność KBrO₃ w środowisku

Według klasyfikacji *International Agency for Research on Cancer*, KBrO₃ należy do grupy 2B kancerogenów, wykazujących możliwe działanie kancerogenne u ludzi (dowody na działanie kancerogenne u ludzi są ograniczone, natomiast u zwierząt dowody te nie są w pełni wystarczające) [3]. Ze względu na coraz lepiej poznawane toksyczne właściwości KBrO₃ dąży się do ograniczenia występowania tego związku w środowisku.

Bromian potasowy niegdyś stosowano jako dodatek do żywności; nadano mu międzynarodowy symbol E924 [3]. Związek ten był używany w procesie produkcji pieczywa oraz wyrobów cukierniczych jako „polepszacz” i środek bielący mąkę [4]. W 1992 roku *Joint FAO/WHO Expert Committee on Food* wycofało zezwolenie na używanie KBrO₃ jako dodatku do mąki [5]. Zakaz ten wymaga jednak osobnego zatwierdzenia prawnego przez każde państwo i dlatego obecnie KBrO₃ jest nadal w niektórych krajach używany do produkcji pieczywa. Kancerogen ten znajduje się na liście opcjonalnych dodatków do żywności na przykład w Stanach Zjednoczonych [6].

Ponadto KBrO₃ znalazł niegdyś zastosowanie w produkcji past rybnych, głównie w Japonii, gdzie jednak zakazano jego dalszego stosowania już w 1986 roku [7], oraz w procesie produkcji niektórych gatunków sera [8].

Związek ten używany był także w przemyśle kosmetycznym między innymi jako składnik płynów do trwałej ondulacji na zimno [4]. Zgodnie z Dyrektywą 94/60/WE Parlamentu Europejskiego z dnia 20 grudnia 1994 roku, KBrO₃ został wpisany na listę substancji kan-

cerogennych [9]. W Polsce obecnie nie jest dozwolone stosowanie tego związku w produkcji kosmetyków [10].

Jednakże KBrO₃ nadal jest używany w różnych gałęziach przemysłu. Związek ten w wielu krajach świata, także w Polsce, znajduje zastosowanie w produkcji piwa, lecz jedynie na pierwszym etapie tego procesu, jakim jest produkcja słodu. Bromian potasowy stosowany jest jako inhibitor procesu kiełkowania jęczmienia. Proces kiełkowania ma na celu wytworzenie odpowiedniej ilości enzymów, co umożliwi wydobycie substancji nagromadzonych w ziarnie słodowym. W celu usprawnienia kiełkowania stosuje się aktywatory, a następnie inhibitory wzrostu ziarna. Jako inhibitor KBrO₃ używany jest sam lub w połączeniu z chlorkiem wapnia; KBrO₃ stosuje się w ilości 50 mg na kilogram jęczmienia [11].

Ozonowanie wody jest uznanym sposobem dezynfekcji i oczyszczania wody (usuwanie m.in. smaku, zapachu, koloru i zanieczyszczeń). Obecność KBrO₃ stwierdza się powszechnie w wodzie kranowej i butelkowanej, ponieważ powstaje on jako produkt uboczny jej ozonowania. Ze względu na obowiązujące w krajach Unii Europejskiej i w Stanach Zjednoczonych ograniczenie zawartości bromianów w wodzie pitnej do 10 µg/l, dąży się do znacznego ograniczenia tworzenia tego związku w procesie ozonowania. Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 19 listopada 2002 roku zmieniło w Polsce dopuszczalną zawartość bromianów w wodzie pitnej z 25 µg/l na 10 µg/l [12], jednak nowelizacja ta obowiązuje w naszym kraju dopiero od dnia 1 stycznia 2008 roku. Ustawodawca podkreśla w Rozporządzeniu Ministra Zdrowia z dnia 29 marca 2007 roku, że powinno się w miarę możliwości dążyć do osiągnięcia jeszcze niższych wartości stężenia bromianów, o ile nie wpłynie to negatywnie na stopień dezynfekcji wody [13]. W ostatnich latach opracowano nową metodę ograniczenia zawartości bromianów w wodzie pitnej, polegającą na poprzedzeniu procesu ozonowania wstępnym chlorowaniem. Metoda ta pozwala na uzyskanie stężeń bromianów w wodzie pitnej nieprzekraczających dopuszczalnych [14].

Bromian potasowy używany jest powszechnie w przemyśle pirotechnicznym do produkcji materiałów wybuchowych, głównie petard. Znajduje on również zastosowanie w przemyśle chemicznym jako związek bromujący.

Bromian potasowy może być wytwarzany w reakcji bromu z roztworem wodorotlenku potasowego, jednak, na skalę przemysłową, produkowany jest przede wszystkim metodami elektrolitycznymi. Zawodowa ekspozycja na KBrO₃ w zakładach, gdzie jest on produkowany, występuje przede wszystkim przy procesie pakowania, a stężenie KBrO₃ w halach fabrycznych przekraczające 100 mg/m³ wymaga użycia masek ochronnych [2].

3. Kancerogenne właściwości $KBrO_3$

Właściwości kancerogenne $KBrO_3$ potwierdzono w licznych badaniach. Wykazano, że $KBrO_3$ działa mutagenie na komórki bakteryjne [2, 15], powoduje aberracje chromosomowe [16] oraz powstawanie mikrojąder w komórkach linii komórkowej CHO [17]. Kancerogen ten indukuje tworzenie mikrojąder także w erytrocytach [18], retikulocytach [19] i komórkach szpiku kostnego [20] u myszy. Powstawanie mikrojąder, a także nasiloną fragmentację DNA pod wpływem $KBrO_3$ zaobserwowano również w ludzkich i szczurzych komórkach nerek [21] oraz w ludzkich limfocytach krwi obwodowej, w których stwierdzono również powstawanie aberracji chromosomowych w stopniu porównywalnym do odnotowanego pod wpływem mitomycyny C [22].

Długotrwała ekspozycja na $KBrO_3$ powoduje rozwój guzów nerek u szczurów, przy czym charakterystyczne dla tego kancerogenu są złośliwe guzy jasnokomórkowe [23], gruczolaki i gruczolakoraki [24]. Ponadto długotrwałe podawanie $KBrO_3$ wywołuje powstawanie międzybłoniaków (*mesothelioma*) otrzewnej oraz guzów pęcherzykowych tarczycy u szczurów [2, 25–27]. Na podstawie dotychczas opublikowanych wyników badań nie można zająć jednoznacznego stanowiska odnośnie ewentualnego łagodnego bądź złośliwego charakteru guzów tarczycy indukowanych przez $KBrO_3$.

Zaobserwowano, że w wyniku krótkotrwałej ekspozycji na $KBrO_3$ wskaźniki oksydacyjnego uszkodzenia DNA oraz wskaźniki proliferacji komórkowej były znacznie bardziej podwyższone u szczurów samców niż u samic [28, 29]; podobnie, częstość występowania wyindukowanych przez $KBrO_3$ guzów nerek była wyższa u samców niż u samic [2].

Indukowanie guzów nerek przez $KBrO_3$ zaobserwowano również u myszy [30].

U szczurów otrzymujących $KBrO_3$ stwierdzono atypową hiperplazję oraz atypię kanalików nerkowych [31, 32], zmiany martwicze oraz metaplazję nabłonka wielowarstwowego płaskiego w nerkach [32].

Dotychczas nie ustalono jeszcze dokładnie mechanizmu kancerogennego działania $KBrO_3$, przy czym najintensywniej badano go w odniesieniu do nerek. Udowodniono, że $KBrO_3$ powoduje oksydacyjne uszkodzenie DNA, lipidów i białek w nerkach i w ten sposób może indukować proces kancerogenezy [33, 34]. Po podaniu $KBrO_3$ zaobserwowano znaczny wzrost stężenia 8-oxo-dG w nerkach szczurzych [28, 35–37]. Obecność oksydowanych zasad guaninowych prowadzi do powstawania mutacji o typie transwersji $G \rightarrow T$, co powoduje aktywację onkogenów i/lub inaktywację genów supresorowych, prowadząc do kancerogenezy [38, 39]. W nerkach i w wątrobie, 8-oxo-dG powoduje również mutacje o typie delecji [39]. Udowodniono, że $KBrO_3$ wywołuje mutację genu *p53* w komórkach nerek [40].

Ponadto $KBrO_3$ nasila proliferację komórek w nerkach [28, 41].

W komórkach *mesothelium* $KBrO_3$ nasila proces apoptozy oraz powoduje zmiany ekspresji wielu genów — między innymi genów supresorowych, onkogenów, genów kodujących czynniki transkrypcyjne oraz białka regulujące cykl komórkowy [42]. Opisano również mutagenne działanie $KBrO_3$ w mysich komórkach chłoniaka, gdzie związek ten powodował utratę heterozygotyczności w genie kinazy tymidynowej [43]. Ostatnio takie działanie $KBrO_3$ potwierdzono również w hodowlach ludzkich komórek limfoblastycznych, gdzie w genie kinazy tymidynowej zaobserwowano nie tylko utratę heterozygotyczności, ale również mutacje o typie dużych delecji i pęknięcia podwójnych nici DNA. W tym badaniu działanie mutagenne $KBrO_3$ było porównywalne z działaniem promieniowania jonizującego [44].

Oksydacyjne uszkodzenie DNA oraz lipidów przez $KBrO_3$ zachodzi w obecności wewnątrzkomórkowych związków zawierających grupy sulfhydrylowe (-SH), takich jak zredukowana forma glutationu (GSH) i cysteina [33, 45, 46]. Odnotowano znaczące podwyższenie stężenia 8-oxo-dG oraz zwiększenie liczby pęknięć nici DNA, spowodowane przez $KBrO_3$ w obecności wewnątrzkomórkowego GSH, czego nie zaobserwowano w nieobecności GSH, a obniżenie stężenia GSH spowodowało zmniejszenie liczby pęknięć nici DNA [46]. W innych badaniach wykazano, że obniżenie stężenia GSH może nie zmniejszać istotnie uszkodzenia oksydacyjnego w warunkach dostępności cysteiny, która zastępuje GSH jako reduktor $KBrO_3$ [34]. Bromian potasowy w obecności wewnątrzkomórkowego GSH powoduje mutacje, przede wszystkim w miejscach występowania guaniny (G) na końcu 5', głównie w miejscach występowania sekwencji, takich jak: 5'-GG-3', 5'-GGG-3', 5'-GGGG-3' [34]. Bromian potasowy nasila również proces peroksydacji lipidów [36, 37, 47], którego produkty powodują oksydacyjne uszkodzenie DNA, a zatem pośredniczą one w kancerogennym działaniu $KBrO_3$ [33, 36, 37, 46].

Uzyskano wiele dowodów na bezpośredni wpływ $KBrO_3$ na stres oksydacyjny, to znaczy na powstawanie reaktywnych form tlenu (ROS, *reactive oxygen species*) i na aktywność enzymów antyoksydacyjnych. Bromian potasowy zwiększa wytwarzanie rodnika hydroksylowego ($\cdot OH$) [48] i anionorodnika ponadtlenkowego ($O_2^{\cdot -}$) [49]. W obecności $O_2^{\cdot -}$, tlenek azotu ($NO\cdot$), którego synteza jest również indukowana przez $KBrO_3$, może ulec przekształceniu do anionu kwasu nadtlenuazotowego ($ONOO^-$), który z kolei wykazuje właściwości inaktywujące peroksydazę glutationu (GPx, *glutathione peroxidase*), będącą istotnym enzymem antyoksydacyjnym [50]. Anionorodnik ponadtlenkowy, wyindukowany

przez KBrO_3 , może również zostać rozłożony przez katalazę do nadtlenu wodoru (H_2O_2), który w obecności jonów metali przejściowych staje się źródłem $\cdot\text{OH}$. W obecności GSH, $\text{O}_2^{\cdot-}$ może również ulegać przekształceniom do innej reaktywnej formy tlenu — tlenu singletowego ($^1\text{O}_2$) [8, 49]. Wykazano, że KBrO_3 nasila aktywność oksydazy ksantynowej i zwiększa wytwarzanie H_2O_2 w nerkach [47, 51]. Wykazano, że ani $\text{O}_2^{\cdot-}$, ani H_2O_2 nie są bezpośrednio odpowiedzialne za oksydacyjne uszkodzenie DNA, a klasyczne enzymy antyoksydacyjne, takie jak dysmutaza ponadtlenkowa (SOD, *superoxide dismutase*) i katalaza wykazują jedynie niewielki efekt ochronny przed tym uszkodzeniem [34].

Wykazano, że KBrO_3 nie reaguje z DNA bezpośrednio lecz, jak wspomniano powyżej, wymaga aktywacji metabolicznej między innymi przez GSH, w wyniku której powstają reaktywne formy uszkadzające DNA [52]. W procesie redukcji KBrO_3 przez związki sulfhydrylowe, między innymi GSH czy cysteinę, powstają inne związki bromu, takie jak rodniki bromu (Br^{\cdot}) i tlenki bromu (BrO , BrO_2), które prawdopodobnie odpowiadają za oksydacyjne uszkodzenia DNA spowodowane przez KBrO_3 i za jego działanie nowotworowe [34, 45, 46]. W ostatnim czasie zaproponowano mechanizm utleniania G przez KBrO_3 w obecności GSH lub cysteiny. W myśl tej tezy GSH redukuje BrO_3^- do BrO_2^- , który pobiera elektron od G i przekształca się w $\text{BrO}_2^{\cdot-}$. Powstały rodnik G (G^{\cdot}) ulega przekształceniom prowadzącym do powstania 8-oxo-dG. W podobny sposób w obecności GSH, BrO_2^- ulega redukcji do BrO , a BrO^{\cdot} do Br^{\cdot} , a 8-oxo-dG powstaje jako produkt każdej z tych przemian [53].

Odmienne działanie wykazano dla zewnątrzkomórkowego GSH, który wykazuje ochronny wpływ przed uszkodzeniami oksydacyjnymi w komórkach, wywołanymi przez KBrO_3 . Ochronny wpływ zewnątrzkomórkowego GSH może mieć związek z ograniczeniem przez GSH dostępu KBrO_3 , czyli potencjalnego reagentu, do komórki [46, 54]. Szczególne znaczenie ochronne przy ekspozycji pokarmowej na KBrO_3 może mieć obecność zewnątrzkomórkowego GSH w przewodzie pokarmowym [54]. Oksydacyjne uszkodzenie komórki pod wpływem KBrO_3 *in vivo* ulega nasileniu w warunkach obniżonego stężenia zewnątrzkomórkowego GSH, czego dowodem jest wzrost stężenia 8-oxo-dG [55].

Uszkodzenie oksydacyjne DNA przez KBrO_3 ulega nasileniu również w obecności FeSO_4 , co może sugerować udział reakcji Fentona i $\cdot\text{OH}$ w tym procesie [46].

4. Inne toksyczne efekty KBrO_3

Poza działaniem nowotworowym KBrO_3 może wywołać również inne efekty patologiczne. Ostra ekspozycja na KBrO_3 powoduje niewydolność nerek, prawdopodobnie w wyniku bezpośredniego uszkodzenia kana-

ków nerkowych przez ROS [2]. W początkowej fazie niewydolności nerek spowodowanej przez KBrO_3 może wystąpić methemoglobinemia i sinica, za co odpowiada bezpośrednie działanie KBrO_3 [49].

Oksydacyjne uszkodzenie nerek przez KBrO_3 , prowadzące do ich niewydolności, prawdopodobnie spowodowane jest przez zwiększenie wytwarzania $\cdot\text{OH}$, $\text{O}_2^{\cdot-}$, NO^{\cdot} i ONOO^- [8, 49] oraz przez obniżenie aktywności GPx [8]. Bromian potasowy obniża nie tylko aktywność GPx, ale również katalazy, co powoduje wzrost stężenia H_2O_2 [49, 50]. Zwiększenie wytwarzania NO^{\cdot} pod wpływem KBrO_3 przyczynia się do znacznego obniżenia wartości ciśnienia tętniczego obserwowanego po podaniu tego związku [3].

Ostra ekspozycja na KBrO_3 powoduje nie tylko niewydolność nerek, ale także anemię hemolityczną (zespół hemolityczno-mocznicowy) [56] oraz zaburzenia neurologiczne, takie jak zawroty głowy, szum w uszach bądź nawet utratę słuchu. Ototoksyczne działanie KBrO_3 dotyczy bezpośrednio nerwu słuchowego [57], choć ostatnio stwierdzono, że KBrO_3 uszkadza także prążek naczyniowy, błonę Reissnera, komórki podporowe, komórki rzęskowe i inne struktury ucha wewnętrznego [58], co dodatkowo może prowadzić do zaburzeń równowagi.

Pierwszym objawem zatrucia KBrO_3 są zwykle dolegliwości żołądkowo-jelitowe pod postacią nudności, wymiotów i biegunek. Po kilku godzinach dochodzi do nieodwracalnej utraty słuchu oraz pojawienia się innych objawów neurologicznych, a następnie mogą wystąpić objawy niewydolności nerek. W ciężkim zatruciu może pojawić się stan splątania, senność, apatia. W leczeniu stosuje się natychmiastowe płukanie żołądka 2-procentowym roztworem wodorowęglanu sodowego (NaHCO_3), aby zapobiec powstawaniu drażniącego kwasu bromowodorowego. Pacjenci, którzy przyjęli dużą dawkę KBrO_3 , muszą być dializowani [59]. Dotychczas nie określono dawki toksycznej dla człowieka, ale wiadomo, że już około 50 mg/kg masy ciała powoduje poważne zatrucie [60].

Wpływ KBrO_3 na gruczoły wydzielania wewnętrznego

Jak wspomniano powyżej, długotrwała ekspozycja na KBrO_3 prowadzi między innymi do powstawania guzów pęcherzykowych tarczycy u szczurów [2, 25–27]. Uważa się, że stres oksydacyjny odgrywa kluczową rolę w nowotworowym działaniu KBrO_3 nie tylko w nerkach, które są najszerzej badany narządem docelowym tego nowotworu, ale również w gruczole tarczycy [33, 34, 36]. Stwierdzono, że KBrO_3 powoduje istotne nasilenie fragmentacji DNA w tarczycach szczurzych oraz pęknięcia pojedynczych nici DNA i niestabilność

zasad azotowych w hodowlach komórkowych tarczycy ludzkiej [61]. Udowodniono, że gruczoł tarczowy w znacznym stopniu gromadzi KBrO_3 podawany szczurom w wodzie pitnej [62].

W naszych badaniach doświadczalnych po raz pierwszy stwierdzono i opisano prooksydacyjne działanie KBrO_3 w gruczole tarczowym [63]. Zastosowanie KBrO_3 spowodowało wzrost poziomu produktów peroksydacji lipidów w tym gruczole zarówno w warunkach *in vivo*, jak i *in vitro*. W doświadczeniu *in vivo* szczurom szczepu Wistar podano KBrO_3 w dawce 110 mg/kg masy ciała, *i.p.*, w pojedynczym wstrzyknięciu, a następnie zwierzęta zdekapitowano po 24 godzinach od podania kancerogenu. Należy podkreślić, że podwyższenie peroksydacji lipidów w tarczycach szczurzych w wyniku wstrzyknięć KBrO_3 było spektakularnie wysokie (odnotowano ponad 3-krotny wzrost poziomu produktów peroksydacji lipidów w porównaniu z grupą kontrolną, która nie otrzymywała KBrO_3) zarówno w porównaniu z podwyższeniem peroksydacji lipidów pod wpływem KBrO_3 w innych badanych przez nas tkankach [64] (nerkach i surowicy krwi), jak i w porównaniu z podwyższeniem peroksydacji lipidów wskutek zastosowania innych kancerogenów [65, 66].

Zaobserwowana przez nas indukcja peroksydacji lipidów *in vitro* w homogenatach tarczyc po zastosowaniu wyłącznie KBrO_3 (istotny statystycznie wzrost poziomu produktów peroksydacji lipidów uzyskano dla stężeń KBrO_3 wynoszących 5,0 mM — wzrost niemal 2-krotny — i 10,0 mM — wzrost niemal 3-krotny), to znaczy bez dodania H_2O_2 , sugeruje, że w warunkach *in vitro* KBrO_3 działa prooksydacyjnie poprzez mechanizm inny niż reakcja Fentona [63]. Zgodnie z tym założeniem inni autorzy zaobserwowali, że H_2O_2 nie bierze udziału w powstawaniu wyindukowanych przez KBrO_3 uszkodzeń oksydacyjnych DNA w ludzkich liniach komórkowych [34].

Nasilenie peroksydacji lipidów spowodowane przez KBrO_3 w warunkach *in vitro* może wynikać z pobudzającego wpływu tego kancerogenu na wytwarzanie takich ROS, jak ONOO^- i NO^* , a także — jak opisano ostatnio — $\cdot\text{OH}$ [48], jak również z hamującego wpływu KBrO_3 na aktywność ważnych enzymów antyoksydacyjnych, takich jak GPx [49]. Za prooksydacyjne i kancerogenne działanie KBrO_3 mogą odpowiadać również związki bromu, takie jak BrO_3^- , tlenki bromu (BrO_2 , BrO) i Br^* [34]. W celu dokładniejszej oceny mechanizmu działania KBrO_3 , należałoby porównać efekt KBrO_3 z wpływem innych związków bromu na peroksydację lipidów w gruczole tarczowym w warunkach *in vivo* i *in vitro*. Takie wstępne badania przeprowadzono w odniesieniu do uszkodzeń oksydacyjnych DNA pod wpływem związków bromu. W badaniach tych stwierdzono, że KBrO_3 wywołuje znacznie silniejszy efekt

prooksydacyjny niż BrO^- w stosunku do DNA w doświadczeniach *in vitro* [34]. Niewykluczone, że podobne zjawisko występuje w odniesieniu do lipidów błonowych.

Opisano regulacyjny wpływ NO^* na wytwarzanie hormonów tarczycy. I tak stwierdzono, że NO^* hamuje aktywny wychwyty jodu, stymulowany przez TSH w hodowlach komórek tarczycy cielęcej [67], a jednocześnie działa pobudzająco na tyreoperoksydazę (TPO, *thyreoperoxidase*) w ludzkich tyreocytach [68]. Zwiększenie wytwarzania NO^* pod wpływem KBrO_3 może zatem w istotnym stopniu bezpośrednio zaburzać proces syntezy hormonów tarczycy, jednak hipoteza ta wymaga potwierdzenia w badaniach doświadczalnych.

W tym samym mechanizmie zwiększenia wytwarzania NO^* , KBrO_3 może uczestniczyć w patomechanizmie chorób autoimmunologicznych tarczycy. W badaniach z użyciem ludzkich tyreocytów wykazano bowiem, że NO^* współuczestniczy w cytotoksyczności zależnej od interleukiny 1 α (II-1 α , *interleukin-1 α*) i może brać udział w prezentacji autoantygenów komórkom układu immunologicznego [69].

Udowodniono, że narządem w istotnym stopniu gromadzącym KBrO_3 są również jądra, co stwierdzono po podaniu szczurom tego kancerogenu w wodzie pitnej [62]. Stwierdzono, że w wyniku ekspozycji na KBrO_3 guzy o typie międzybłoniaków otrzewnej w pierwszej kolejności rozwijają się na osłonce pochwowej jądra, a dopiero w późniejszym okresie w innych lokalizacjach, co może sugerować pochodzenie większości tych guzów właśnie z osłonki jądra [27]. Późniejsze badania potwierdziły, że u szczurów, u których po długotrwałej ekspozycji na KBrO_3 stwierdzono międzybłoniaki otrzewnej o różnych lokalizacjach, zawsze występowały także międzybłoniaki osłonki pochwowej jądra, a ich nasilenie zależało od odległości od krezki jądra [42].

Indukowanie przez KBrO_3 powstawania guzów o typie międzybłoniaków może potencjalnie prowadzić do wielu zaburzeń hormonalnych, ponieważ udowodniono, że międzybłoniaki mogą wytwarzać hormony i substancje podobne do hormonów. I tak, u pacjentów ze złośliwym guzem typu *mesothelioma* i hiperkalcemią stwierdzono wytwarzanie przez komórki guza peptydu podobnego do parathormonu (PTHrP, *parathyroid hormone related peptide*) [70]. Częstość występowania międzybłoniaków wytwarzających tę substancję jest tak duża, że zaproponowano oznaczenie jej stężenia jako metodę rozróżnienia złośliwego międzybłoniaka od gruczolakoraka opłucnej [71]. Do zaburzeń gospodarki wapniowo-fosforanowej może prowadzić także opisane niedawno zjawisko wytwarzania przez te guzy fosfatonin — związków fosfaturycznych i hipofostatycznych, do których zaliczono między innymi czynnik wzrostu fibroblastów 23 (FGF-23, *fibroblast growth factor 23*),

fosfoglikoproteinę macierzy zewnątrzkomórkowej (MEPE, *matrix extracellular phosphoglycoprotein*), czy białko FRP4 (*frizzled related protein 4*). Związki te stanowią prawdopodobną przyczynę osteomalacji indukowanej guzem, związanej z nerkową utratą fosforanów, znacznym obniżeniem stężenia 1,25-dihydroksycholekalcyferolu i podwyższeniem stężenia fosfatazy zasadowej [72]. Stwierdzono również wytwarzanie insulinopodobnego czynnika wzrostowego-II (IGF-II, *insulin-like growth factor II*) przez guzy typu *mesothelioma*, co często prowadzi do niebezpiecznej dla życia pacjenta hipoglikemii [73]. Zaobserwowano także wydzielanie przez międzybłoniaki hormonu pobudzającego melanocyty (MSH, *melanocyte-stimulating hormone*) oraz ekspresję mRNA dla proopiomelanokortyny w komórkach guza [74]. Ponadto udowodniono, że u pacjentów z międzybłoniakami nierzadko występuje paranowotworowy zespół nieadekwatnego wydzielania wazopresyny [75, 76]. Wszystkie te patologiczne zmiany dotyczące czynności układu dokrewnego mogą zatem być również konsekwencją rozwoju międzybłoniaków indukowanych przez KBrO_3 .

Gruczołem dokrewnym, w którego komórkach stwierdzono uszkodzenie DNA spowodowane przez KBrO_3 , jest również jajnik. W komórkach jajnika chomika opisano pęknięcia nici DNA [77] oraz bardzo silne działanie mutagenne KBrO_3 [78].

Ważnym narządem neuroendokrynnym jest jelito, w którym produkowane są liczne hormony, takie jak chociażby somatostatyna, serotonina, substancja P, wazoaktywny peptyd jelitowy (VIP, *vasoactive intestinal peptide*), gastryna, cholecystokinina, sekretyna czy neurotensyna. W wyniku podawania myszom KBrO_3 z pożywieniem zaobserwowano powstawanie w jelicie cienkim guzów o typie gruczolaka [2]. Możliwe jest zatem, że guzy indukowane podawaniem tego prooksydantu wydzielają jeden lub kilka z powyższych hormonów, wywołując w konsekwencji objawy charakterystyczne dla ich działania. Dotychczas nie przeprowadzono jednak badań w kierunku identyfikacji substancji wydzielanych przez te guzy.

Długotrwała ekspozycja na KBrO_3 prowadzi do uszkodzenia nerek w mechanizmie stresu oksydacyjnego, powodując rozwój guzów nerek u szczurów [23, 24]. Mechanizm kancerogennego działania KBrO_3 w nerkach jest zapewne taki sam lub podobny jak w tarczycy i różnych innych tkankach docelowych. W związku z tym oksydacyjne uszkodzenie nerek, podobnie jak — wcześniej omówione — oksydacyjne uszkodzenie tarczycy po podaniu KBrO_3 , wynika prawdopodobnie ze zwiększenia wytwarzania $\text{O}_2^{\cdot-}$, NO^{\cdot} i ONOO^- , a także jak opisano ostatnio $\cdot\text{OH}$ [48], jak również z hamującego wpływu KBrO_3 na aktywność ważnych enzymów antyoksydacyjnych, takich jak GPx [49].

Guzy te upośledzają prawidłową funkcję nerek, a nierzadko towarzyszący im ucisk sąsiedniej tkanki, martwica i krwotoki z guza i/lub do guza znacznie potęgują zaburzenia funkcji tego narządu [2]. Oksydacyjne uszkodzenie nerek przez KBrO_3 prowadzi do ich niewydolności [8, 49]. Oznacza to nie tylko brak odpowiedniej funkcji nerek jako narządu filtrującego, ale prawdopodobnie dochodzi również do oksydacyjnego uszkodzenia aparatu przykłębuszkowego, będącego źródłem reniny — hormonu włączonego w układ renina–angiotensyna–aldosteron i warunkującego utrzymanie prawidłowego ciśnienia tętniczego. Niewydolność tego łańcucha fizjologicznego prowadziła zatem do spadku ciśnienia tętniczego. Tymczasem stwierdzono, że podanie KBrO_3 powoduje znaczne obniżenie wartości ciśnienia tętniczego poprzez zwiększenie wytwarzania NO^{\cdot} [3]. Natomiast niedostateczne wydzielanie reniny, będące wynikiem uszkodzenia oksydacyjnego wywołanego przez KBrO_3 , wymaga potwierdzenia w badaniach doświadczalnych; obniżenie ciśnienia tętniczego pod wpływem KBrO_3 może być bowiem rezultatem łącznego działania obu wspomnianych mechanizmów.

Zwykle niewydolność nerek znacznego stopnia, a więc również ta spowodowana uszkodzeniem oksydacyjnym pod wpływem KBrO_3 , prowadzi do zaburzeń wytwarzania erytropoetyny (której głównym źródłem są przecież komórki okołocewkowe typu I w tkance śródmiąższowej kory nerkowej), a w konsekwencji do niedokrwistości i związanych z nią powikłań.

Nerki biorą także udział w wytwarzaniu witaminy D, to znaczy 25-hydroksycholekalcyferol (wytworzony w wątrobie) ulega przekształceniu — przy udziale 1α -hydroksylazy (występującej w nerkach) — do aktywnej formy witaminy D, to jest 1,25-dihydroksycholekalcyferolu. Niedobór tej witaminy jest przyczyną krzywicy u dzieci oraz osteomalacji i osteoporozy u dorosłych. Witamina D wpływa na homeostazę wapniowo-fosforanową organizmu, a więc i na wydzielanie parathormonu (PTH, *parathyroid hormone*) przez przytarczycę. Obniżone stężenie wapnia wynikające z niedostatecznego wytwarzania witaminy D prowadzi do zwiększonego uwalniania PTH (który przecież zwiększa syntezę 1,25-dihydroksycholekalcyferolu w nerkach przez pobudzanie procesu 1α -hydroksylacji). Niewydolność nerek — prawdopodobnie również ta wynikająca z ich uszkodzenia w wyniku przewlekłej ekspozycji na KBrO_3 — stanowi znaną przyczynę wtórnej nadczynności przytarczyc spowodowanej hipokalcemią. Powyższe rozważania dotyczące zaburzeń gospodarki wapniowo-fosforanowej, wywołanej przez KBrO_3 , są teoretyczne i wymagają uzyskania dowodów w badaniach doświadczalnych.

Ochronne działanie hormonów lub substancji wpływających na gruczoły wydzielania wewnętrznego przed uszkodzającym działaniem KBrO_3

Po raz pierwszy potencjalne ochronne działanie hormonów oraz substancji wpływających na gruczoły dokrewne przed prooksydacyjnym działaniem KBrO_3 ocenione było w przeprowadzonych przez nas badaniach doświadczalnych w warunkach *in vivo* i *in vitro*.

W badaniach tych, w celu zapobiegnięcia oksydacyjnemu uszkodzeniu cząsteczek biologicznych wywołanemu przez KBrO_3 , zastosowaliśmy hormon szyszynki — melatoninę (w doświadczeniu *in vivo* w dawce 0,0645 mmol/kg mc., *i.p.*, 2 × dziennie, przez 10 dni; w doświadczeniu *in vitro* w stężeniach: 0,01; 0,1; 0,5; 1,0; 5,0; 7,5 mM), będącą uznanym antyoksydantem. Melatonina jest hormonem o wyjątkowych właściwościach, ponieważ ma zdolność przenikania do wszystkich struktur wewnątrzkomórkowych. Hormon ten nie tylko wiąże się ze specyficznymi receptorami błonowymi (receptory MT1 i MT2), inicjując kaskadę przekazywania sygnału w komórce [79], gdzie drugim przekaznikiem mogą być jony wapnia, cAMP lub cGMP [80, 81], ale także może swobodnie wnikać do cytoplazmy komórki przez błonę komórkową i wiązać się z receptorami cytoplazmatycznymi bądź jądrowymi [82].

Melatonina uważana jest za najbardziej efektywny „zmiatacz” $\cdot\text{OH}$ [83]. Ponadto neutralizuje H_2O_2 , O_2^- , $^1\text{O}_2$, NO^\cdot , ONOO^- oraz kwas podchlorawy (HOCl) [84]. Wykazano również, że melatonina reaguje z rodnikiem nadtlenkowym (LOO^\cdot), chroniąc przed łańcuchową reakcją peroksydacji lipidów [85].

Melatonina wykazuje również silne pośrednie działanie antyoksydacyjne. Hormon ten stymuluje aktywność wielu enzymów antyoksydacyjnych, w tym między innymi GPx, reduktazy glutationu (GR, *glutathione reductase*) [86], S-transferazy glutationu [87], MnSOD i CuZnSOD [88], katalazy [89], oraz hamuje aktywność enzymu prooksydacyjnego — syntazy tlenku azotu (NOS, *nitric oxide synthase*) [90].

W wielu badaniach doświadczalnych wykazano silne ochronne działanie melatoniny przed uszkodzeniami tkanek i narządów indukowanymi przez różne substancje prooksydacyjne i kancerogeny [65, 66, 91–96].

Ponadto w naszych badaniach zastosowaliśmy również kwas indolo-3-propionowy (IPA, *indole-3-propionic acid*) (w doświadczeniu *in vivo* w dawce 0,0645 mmol/kg mc., *i.p.*, 2 × dziennie, przez 10 dni; w doświadczeniu *in vitro* w stężeniach: 0,01; 0,1; 0,5; 1,0; 5,0; 7,5; 10,0 mM) — inną substancję indolową, posiadającą strukturę chemiczną bardzo podobną do melatoniny, również znaną ze swoich właściwości antyoksydacyjnych [94, 97–99]. Zarówno melatonina, jak i IPA, w naszych wcześniej-

szych badaniach *in vitro* wykazały działanie ochronne przed peroksydacją lipidów wyindukowaną przez KBrO_3 w płucach szczurzych (dane nieopublikowane).

Jako trzeci z antyoksydantów o potencjalnych właściwościach ochronnych przed peroksydacją lipidów wywołaną przez KBrO_3 w tarczycy szczurzej zastosowaliśmy powszechnie wykorzystywany lek przeciwtarczycowy — propylotiouracyl (PTU) (w doświadczeniu *in vivo* — 0,025% roztwór w wodzie pitnej przez 10 dni; w doświadczeniu *in vitro* w stężeniach: 0,01; 0,1; 0,5; 1,0; 5,0; 7,5; 10,0 mM), którego właściwości antyoksydacyjne zostały potwierdzone doświadczalnie [100, 101].

W badaniach tych, w warunkach *in vivo* wszystkie badane antyoksydanty wykazały działanie ochronne przed peroksydacją lipidów wywołaną przez KBrO_3 , podczas gdy w doświadczeniach *in vitro* ochronne działanie wykazał jedynie PTU [63].

Przyczyn takiej rozbieżności wyników w zależności od warunków doświadczenia może być kilka. Należy podkreślić, że niewystępowanie ochronnego działania antyoksydantów w warunkach *in vitro* nie wyklucza takiego ich działania w organizmach żywych, co zostało potwierdzone przez autorów niniejszej pracy w przypadku melatoniny i IPA [63]. Ponadto dla wielu substancji antyoksydacyjnych udowodniono, że spektakularny efekt ochronny *in vitro* nie znajduje potwierdzenia w warunkach *in vivo*. Takie pozorne rozbieżności stwierdzono, porównując potencjalne efekty antyoksydacyjne melatoniny, *N*-acetyloserotoniny (NAS, *N-acetyloserotonin*), która jest prekursorem melatoniny, i IPA. W badaniach *in vitro* wykazano znacznie silniejsze działanie ochronne NAS niż melatoniny przed peroksydacją lipidów wywołaną reakcją Fentona, podczas gdy IPA w ogóle nie wykazał efektu ochronnego w tym samym modelu doświadczalnym [93]. Te same substancje indolowe badane *in vivo* wywołały zupełnie odmienne działanie, a mianowicie melatonina i IPA całkowicie zapobiegły oksydacyjnemu uszkodzeniu DNA wywołanemu przez estradiol (substancję prooksydacyjną), natomiast NAS nie wykazała działania ochronnego w ogóle [99]. Przypuszcza się, że powyższe różnice w efektach działania substancji indolowych są wynikiem subtelnych różnic w strukturze chemicznej ich cząsteczek.

Substancje takie jak melatonina i IPA działają jako endogenne donory elektronów, neutralizując wolne rodniki. Obie substancje nie posiadają grupy hydroksylowej w pozycji 5 pierścienia indolowego, dzięki czemu w warunkach dostępu jonów metali przejściowych *in vivo* nie wykazują działania prooksydacyjnego. Mechanizmy te mogą odpowiadać za wysoką efektywność działania antyoksydacyjnego melatoniny i IPA *in vivo*. Z drugiej strony, ze względu na taką budowę chemiczną, melatonina i IPA nie mają zdolności przerywania reakcji

łańcuchowej peroksydacji lipidów i dlatego wykazują niewielką efektywność w warunkach *in vitro* [102, 103].

Ponadto, rozbieżność pomiędzy potencjalnymi ochronnymi efektami działania omawianych antyoksydantów w warunkach *in vivo* i *in vitro* może wynikać bezpośrednio z odmiennego mechanizmu działania substancji prooksydacyjnej, jaką w omawianej pracy jest KBrO_3 , w zależności od warunków doświadczenia. W warunkach *in vivo* oksydacyjnemu uszkodzeniu DNA przez KBrO_3 zapobiega znany antyoksydant GSH [55], podczas gdy ten sam antyoksydant w warunkach *in vitro* przyczynia się do zwiększenia wytwarzania wolnych rodników przez KBrO_3 , nasilając w ten sposób oksydacyjne uszkodzenie cząsteczek biologicznych [46]. Działanie to wynika z faktu, że — jak to już wcześniej wspomniano — wewnątrzkomórkowy GSH powoduje aktywację metaboliczną KBrO_3 , która prowadzi do powstawania takich reaktywnych form bromu, jak: Br^\cdot , BrO , BrO_2 . Z kolei te reaktywne formy bromu reagują z DNA, powodując jego oksydacyjne uszkodzenia [53]. Natomiast zewnątrzkomórkowy GSH neutralizuje substancje prooksydacyjne i nie dopuszcza do ich przedostania się do wnętrza komórki [54].

Melatonina zwiększa syntezę GSH [84, 104], a więc, w warunkach *in vivo*, może chronić przed uszkodzeniem oksydacyjnym spowodowanym przez KBrO_3 również poprzez antyoksydacyjne działanie GSH. Jednakże w warunkach *in vitro* nasilenie syntezy GSH może zwiększać stres oksydacyjny wywołany przez KBrO_3 w stopniu tak dużym, że melatonina nie jest w stanie wykazać swojego działania ochronnego.

Kolejnym czynnikiem, który mógł wpłynąć na odmiennność efektów ochronnych zastosowanych substancji antyoksydacyjnych *in vivo* i *in vitro*, było różne stężenie KBrO_3 w tkance tarczycy szczurzej (*in vivo*) i w tkance tarczycy wieprzowej (*in vitro*). Stężenie KBrO_3 osiągnięte w gruczole tarczowym po wstrzyknięciach dootrzewnowych (w wyniku wstrzyknięcia KBrO_3 w dawce 110 mg/kg mc., związek ten może być obecny w tkance tarczycy — w przypadku jego równomiernej dystrybucji — w stężeniu ok. 0,66 mM) było prawdopodobnie dużo niższe niż w homogenatach tarczyc wieprzowych, w przypadku których zastosowano stężenie 5,0 mM [63]. Ponadto selektywność substratowa kanału Na^+/I^- w gruczole tarczowym może jeszcze dodatkowo obniżyć stężenie KBrO_3 w komórkach pęcherzykowych tarczycy po wstrzyknięciach dootrzewnowych, ponieważ związek ten w postaci jonu transportowany jest do tarczycy w niewielkim stopniu [105]. Należy więc podkreślić, że wyniki doświadczenia *in vivo* i *in vitro* nie tyle są niezgodne, co raczej trudne do porównywania.

Mechanizm ochronnego działania melatoniny przed peroksydacją lipidów wywołaną przez KBrO_3 wynika

prawdopodobnie z bezpośredniego i pośredniego działania antyoksydacyjnego tej substancji [104, 106, 107]. Najistotniejszym mechanizmem działania melatoniny wydaje się być neutralizowanie takich ROS, jak ONOO $^\cdot$, który wykazuje silną aktywność uszkadzającą lipidy, czy NO $^\cdot$ [84, 104, 108], którego wytwarzanie pobudzone jest przez KBrO_3 . Podobnie $\cdot\text{OH}$, przynajmniej pośrednio, przyczynia się do uszkodzenia oksydacyjnego wywołanego przez KBrO_3 [46]. Wysoka skuteczność melatoniny w neutralizowaniu $\cdot\text{OH}$ [89] może zatem odgrywać kluczową rolę w mechanizmie ochronnego działania tej indoloaminy przed prooksydacyjnym wpływem KBrO_3 . Fakt, że melatonina „zmiata” także inne ROS, takie jak: H_2O_2 , $\text{O}_2^{\cdot-}$ czy $^1\text{O}_2$ [84], może również przyczyniać się do jej ochronnych efektów przed uszkodzeniami wywołanymi przez KBrO_3 , którego mechanizm działania jest przecież złożony. Dzięki dobrej rozpuszczalności nie tylko w wodzie, ale także w tłuszczach, melatonina doskonale przenika przez błony komórkowe i może wnikać pomiędzy polarne fragmenty kwasów tłuszczowych [104, 108]. Ta cecha melatoniny, jako substancji o właściwościach antyoksydacyjnych, odgrywa niezwykle istotną rolę w ochronie przed oksydacyjnym uszkodzeniem lipidów.

Ponadto znaczącą rolę w ochronnym działaniu melatoniny przed prooksydacyjnym wpływem KBrO_3 może odgrywać wpływ tej indoloaminy na aktywność enzymów anti- i prooksydacyjnych. Melatonina podwyższa aktywność wielu ważnych enzymów antyoksydacyjnych, takich jak między innymi GPx, SOD, katalaza, czy GR, oraz obniża aktywność NOS, będącej enzymem prooksydacyjnym [104, 108]. Niestety dotychczas nie przeprowadzono badań mających na celu wykazanie, czy melatonina neutralizuje Br^\cdot lub inne reaktywne związki bromu.

Melatonina nie tylko wykazuje właściwości ochronne przed uszkodzeniem oksydacyjnym w gruczole tarczowym, co wykazano w naszej pracy w warunkach *in vivo*, ale również hamuje procesy wzrostowe w tarczycy [109, 110]. Właściwości te sprawiają, że melatonina wydaje się czynnikiem ochronnym przed inicjacją i progresją raka tarczycy.

Podobnie jak melatonina, również IPA bardzo efektywnie neutralizuje $\cdot\text{OH}$ [103] i $\text{O}_2^{\cdot-}$ [111], a także działa synergistycznie z GSH [103]. W warunkach *in vivo* antyoksydant ten zapobiega również uszkodzeniu oksydacyjnemu spowodowanemu przez inne kancerogeny [65, 95].

Spektakularny efekt ochronny przed peroksydacją lipidów wyindukowaną przez KBrO_3 w gruczole tarczowym odnotowaliśmy w naszych badaniach w wyniku zastosowania PTU zarówno w warunkach *in vivo*, jak i *in vitro* [63]. Propylotiouracyl jest jednym z powszechnie stosowanych leków przeciwtarczycowych, hamujących wszystkie etapy syntezy hormonów tarczycy.

Ponieważ synteza hormonów tarczycy jest reakcją wolnorodnikową (uczestniczą w niej ROS, takie jak H_2O_2 , oraz różne wolne rodniki), być może PTU hamuje wytwarzanie hormonów tarczycy dodatkowo (poza wykorzystaniem znanych mechanizmów działania) poprzez zmniejszenie stężenia ROS. Hipotezę tę może również potwierdzić obniżenie poziomu produktów peroksydacji lipidów i wzrost aktywności enzymów antyoksydacyjnych stwierdzony po leczeniu nadczynności tarczycy z zastosowaniem PTU [112, 113].

Tak więc, melatonina oraz IPA chronią przed prooksydacyjnym działaniem $KBrO_3$ w gruczole tarczowym i można rozpatrywać ich zastosowanie jako czynników farmakologicznych w obronie przed potencjalnymi kancerogenami. Ochronny efekt PTU pozwala na szersze spojrzenie na tę substancję jako nie tylko lek przeciwtarczycowy, ale również antyoksydant. Jednak, ze względu na swoje działanie tyreostatyczne, PTU nie powinno się stosować jako przeciwutleniacza u pacjentów w stanie eutyreozy czy niedoczynności tarczycy [63].

W naszych badaniach *in vivo* wykazaliśmy również ochronne działanie melatoniny i IPA w nerkach szczurzych, gdzie podawanie tych antyoksydantów całkowicie zapobiegło peroksydacji lipidów wyindukowanej przez $KBrO_3$. W odróżnieniu jednak od tkanki gruczołu tarczowego, w której zarówno w warunkach *in vivo*, jak i *in vitro* PTU wykazał efekt ochronny przed $KBrO_3$, w nerkach związek ten wykazał — odwrotnie — działanie prooksydacyjne, powodując dalsze nasilenie peroksydacji lipidów [64]. Prooksydacyjne działanie PTU wykazano także w wątrobie szczurzej zarówno w warunkach *in vivo*, jak i *in vitro* [114]. Warunki prooksydacyjnego i antyoksydacyjnego działania PTU nie zostały jeszcze dokładnie zbadane i jednoznaczne określenie działania tej substancji w różnych tkankach wymaga dalszej oceny doświadczalnej.

Stwierdzono, że pewne substancje antyoksydacyjne chronią przed niewydolnością nerek wywołaną przez $KBrO_3$.

W kilku badaniach z użyciem nerek szczurzych wykazano ochronną rolę antyoksydantów, będących związkami podobnymi do hormonów, przed uszkodzeniami wywołanymi przez $KBrO_3$. Zaobserwowano ochronną rolę izoflawonoidów soi (fitoestrogenów) przed oksydacyjnym uszkodzeniem nerek wywołanym przez ten kancerogen — związki te zapobiegały między innymi nasileniu peroksydacji lipidów, uszkodzeniom DNA oraz podwyższeniu stężenia mocznika i kreatyniny pod wpływem $KBrO_3$ [115]. Autorzy odnotowali również ochronne działanie kumaryny [47] oraz wyciągu z *Tephrosia purpurea* [115] w podobnym modelu doświadczalnym. Wykazano ponadto, że nasileniu peroksydacji lipidów pod wpływem $KBrO_3$ zapobiega

również kolawiron — bogaty w biflawonoidy wyciąg z drzewa *Garcinia kola* [116].

Warto wspomnieć również o ochronnej roli innych związków przed uszkodzeniem oksydacyjnym wywołanym przez $KBrO_3$. Stwierdzono, że antyoksydanty takie jak *resveratrol* i witamina E zapobiegają nasilonemu wytwarzaniu 8-oxo-dG [117], a oligonol — nasileniu peroksydacji lipidów, wyindukowanych w nerkach przez $KBrO_3$ [118]. Opisano także ochronny efekt między innymi witaminy C, GSH [55] oraz hydrochinonu [20] przed tworzeniem w nerkach mikrojąder pod wpływem $KBrO_3$. Ochronne działanie przed niewydolnością nerek spowodowaną przez $KBrO_3$ wykazano również dla ebselenu [119] i wyciągu z kminku czarnego [120]. Dotychczas nie badano ochronnego działania tych substancji przed efektami $KBrO_3$ w gruczołach dokrewnych, a wobec ich silnego działania protekcyjnego w nerkach prawdopodobne jest również wystąpienie podobnego efektu ochronnego w tych gruczołach.

Podsumowanie

Poprzez indukowanie powstawania guzów gruczołów dokrewnych oraz guzów wydzielających hormony, bądź substancje podobne do hormonów, $KBrO_3$ może w znacznym stopniu zaburzać funkcje układu dokrewnego.

Wykazanie ochronnego działania melatoniny w wyindukowanej przez $KBrO_3$ peroksydacji lipidów w gruczołach dokrewnych pozwala rozważać zastosowanie tej substancji indolowej (będącej uznanym antyoksydantem i niewykazującej właściwości toksycznych) w warunkach zwiększonego narażenia na $KBrO_3$.

Piśmiennictwo

1. Quinones O, Snyder SA, Cotruvo JA i wsp. Analysis of bromate and bromide in blood. *Toxicology* 2006; 221: 229–234.
2. Kurokawa Y, Maekawa A, Takahashi M i wsp. Toxicity and carcinogenicity of potassium bromate — a new renal carcinogen. *Environ Health Perspect* 1990; 87: 309–335.
3. IARC. IARC Monographs on the evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to humans. Some naturally occurring and synthetic food components, furocoumarins and ultraviolet radiation. Lyon, France: IARC publication 1986; 40: 207–220.
4. FAO/WHO. Food and Agriculture Organisation. Guide to the Safe Use of Food Additives, Second Series. Geneva: World Health Organisation 1979: 60.
5. JECFA. Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. Evaluation of certain toxicants. Thirty-ninth JECFA Report, WHO Technical Report Series 1992: 828.
6. US FDA. 2005. Food Additive Status List. Title 21, Chapter I, Subchapter B — Food for Human Consumption. 21 CFR136.110.
7. The Ministry of Health and Welfare Japan. The Japanese Standards of Food Additives, 5th Edition. The Ministry of Health and Welfare, Tokyo 1986: 433.
8. Watanabe S, Yoshimura Y, Fukui T. Contribution of glutathione peroxidase and nitric oxide to potassium bromate-induced oxidative stress and kidney damage in mice. *J Health Sci* 2001; 47: 566–570.
9. Dyrektywa 94/60/WE Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 20 grudnia 1994 r. Dodatek, pkt. 29, wykaz 2, kat. 2.
10. Dziennik Ustaw nr 72, poz. 642. Rok 2005. Załącznik 1, Lista substancji niedozwolonych do stosowania w kosmetykach.

11. Pazera T, Rzemieniuk T. Browarnictwo. WSiP, Warszawa 2000.
12. Dziennik Ustaw nr 203, poz. 1718. Rok 2002. Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 19 listopada 2002 r. w sprawie wymagań dotyczących jakości wody przeznaczonej do spożycia przez ludzi. Załącznik 2, pkt. 46, 46a.
13. Dziennik Ustaw nr 61, poz. 417. Rok 2007. Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 29 marca 2007 r. w sprawie jakości wody przeznaczonej do spożycia przez ludzi.
14. Buffle MO, Galli S, von Gunten U. Enhanced bromate control during ozonation: the chlorine-ammonia process. *Environ Sci Technol* 2004; 38: 5187–5195.
15. Ishidate M Jr, Sofuni T, Yoshikawa K i wsp. Primary mutagenicity screening of food additives currently used in Japan. *Food Chem Toxicol* 1984; 22: 623–636.
16. Ishidate M Jr, Yoshikawa K. Chromosome aberration tests with Chinese hamster cells in vitro with and without metabolic activation — a comparative study on mutagens and carcinogens. *Arch Toxicol Suppl* 1980; 4: 41–44.
17. Poul JM, Huet S, Godard T i wsp. Lack of genotoxicity of potassium iodate in the alkaline comet assay and in the cytokinesis-block micronucleus test. Comparison to potassium bromate. *Food Chem Toxicol* 2004; 42: 203–209.
18. Nakajima M, Kitazawa M, Oba K i wsp. Effect of route of administration in the micronucleus test with potassium bromate. *Mutat Res* 1989; 223: 399–402.
19. Awogi T, Murata K, Uejima M i wsp. Induction of micronucleated reticulocytes by potassium bromate and potassium chromate in CD-1 male mice. *Mutat Res* 1992; 278: 181–185.
20. O'Donoghue J, Barber ED, Hill T i wsp. Hydroquinone: genotoxicity and prevention of genotoxicity following ingestion. *Food Chem Toxicol* 1999; 37: 931–936.
21. Robbiano L, Carozzino R, Puglia CP i wsp. Correlation between induction of DNA fragmentation and micronuclei formation in kidney cells from rats and humans and tissue-specific carcinogenic activity. *Toxicol Appl Pharmacol* 1999; 161: 153–159.
22. Kaya FF, Topaktas M. Genotoxic effects of potassium bromate on human peripheral lymphocytes in vitro. *Mutat Res* 2007; 626: 48–52.
23. Shiao YH, Kamata SI, Li LM i wsp. Mutations in the VHL gene from potassium bromate-induced rat clear cell renal tumors. *Cancer Lett* 2002; 187: 207–214.
24. Kurokawa Y, Matsushima Y, Takamura N i wsp. Relationship between the duration of treatment and the incidence of renal cell tumors in male F344 rats administered potassium bromate. *Jpn J Cancer Res* 1987; 78: 358–364.
25. Kurokawa Y, Hayashi Y, Maekawa A i wsp. Carcinogenicity of potassium bromate administered orally to F344 rats. *J Natl Cancer Inst* 1983; 71: 965–972.
26. Kurokawa Y, Aoki S, Matsushima Y i wsp. Dose-response studies on the carcinogenicity of potassium bromate in F344 rats after long-term oral administration. *J Natl Cancer Inst* 1986; 77: 977–982.
27. Wolf DC, Crosby LM, George MH i wsp. Time- and dose-dependent development of potassium bromate-induced tumors in male Fischer 344 rats. *Toxicol Pathol* 1998; 26: 724–729.
28. Umemura T, Takagi A, Sai K i wsp. Oxidative DNA damage and cell proliferation in kidneys of male and female rats during 13-weeks exposure to potassium bromate (KBrO₃). *Arch Toxicol* 1998; 72: 264–269.
29. Umemura T, Kurokawa Y. Etiology of bromate-induced cancer and possible modes of action—studies in Japan. *Toxicology* 2006; 221: 154–157.
30. DeAngelo AB, George MH, Kilburn SR i wsp. Carcinogenicity of potassium bromate administered in the drinking water to male B6C3F₁ mice and F344/N rats. *Toxicol Pathol* 1998; 26: 587–594.
31. Umemura T, Sai K, Takagi A i wsp. A possible role for oxidative stress in potassium bromate (KBrO₃) carcinogenesis. *Carcinogenesis* 1995; 16: 593–597.
32. El-Sokkary GH. Melatonin protects against oxidative stress induced by the kidney carcinogen KBrO₃. *Neuroendocrinol Lett* 2000; 21: 461–468.
33. Chipman JK, Davies JE, Parsons JL i wsp. DNA oxidation by potassium bromate; a direct mechanism or linked to lipid peroxidation? *Toxicology* 1998; 126: 93–102.
34. Murata M, Bansho Y, Inoue S i wsp. Requirement of glutathione and cysteine in guanine-specific oxidation of DNA by carcinogenic potassium bromate. *Chem Res Toxicol* 2001; 14: 678–685.
35. McDorman KS, Pachkowski BF, Nakamura J i wsp. Oxidative DNA damage from potassium bromate exposure in Long-Evans rats is not enhanced by a mixture of drinking water disinfection by-products. *Chem Biol Interact* 2005; 152: 107–117.
36. Sai K, Takagi A, Umemura T i wsp. Relation of 8-hydroxydeoxyguanosine formation in rat kidney to lipid peroxidation, glutathione level and relative organ weight after a single administration of potassium bromate. *Jpn J Cancer Res* 1991; 82: 165–169.
37. Sai K, Tyson CA, Thomas DW i wsp. Oxidative DNA damage induced by potassium bromate in isolated rat renal proximal tubules and renal nuclei. *Cancer Lett* 1994; 87: 1–7.
38. Cheng KC, Cahill DS, Kasai H i wsp. 8-Hydroxyguanine, an abundant form of oxidative DNA damage, causes G-T and A-C substitutions. *J Biol Chem* 1992; 267: 166–172.
39. Moore MM, Chen T. Mutagenicity of bromate: Implications for cancer risk assessment. *Toxicology* 2006; 221: 190–196.
40. Richter H, Vamvakas S. S-(1,2-dichlorovinyl)-L-cysteine-induced dedifferentiation and p53 gene mutations in LLC-PK1 cells: a comparative investigation with S-(2-chloroethyl)cysteine, potassium bromate, cis-platinum and styrene oxide. *Toxicol Lett* 1998; 94: 145–157.
41. Giri U, Iqbal M, Athar M. Potassium bromate (KBrO₃) induces renal proliferative response and damage by elaborating oxidative stress. *Cancer Lett* 1999; 135: 181–188.
42. Crosby LM, Hyder KS, DeAngelo AB i wsp. Morphologic analysis correlates with gene expression changes in cultured F344 rat mesothelial cells. *Toxicol Appl Pharmacol* 2000; 169: 205–221.
43. Harrington-Brock K, Collard DD, Chen T. Bromate induces loss of heterozygosity in the thymidine kinase gene of L5178Y/Tk(+/-)-3.7.2C mouse lymphoma cells. *Mutat Res* 2003; 537: 21–28.
44. Luan Y, Suzuki T, Palanisamy R i wsp. Potassium bromate treatment predominantly causes large deletions, but not GC > TA transversion in human cells. *Mutat Res* 2007; 619: 113–123.
45. Ballmaier D, Epe B. Oxidative DNA damage induced by potassium bromate under cell-free conditions and in mammalian cells. *Carcinogenesis* 1995; 16: 335–342.
46. Parsons JL, Chipman JK. The role of glutathione in DNA damage by potassium bromate in vitro. *Mutagenesis* 2000; 15: 311–316.
47. Khan N, Sharma S, Sultana S. Attenuation of potassium bromate-induced nephrotoxicity by coumarin (1,2-benzopyrone) in Wistar rats: chemoprotection against free radical-mediated renal oxidative stress and tumor promotion response. *Redox Rep* 2004; 9: 19–28.
48. Ueno S, Kashimoto T, Susa N i wsp. Estimation of hydroxyl radical generation by salicylate hydroxylation method in kidney of mice exposed to ferric nitrilotriacetate and potassium bromate. *Free Radic Res* 2007; 41: 1246–1252.
49. Watanabe S, Togashi S, Fukui T. Contribution of nitric oxide to potassium bromate-induced elevation of methaemoglobin concentration in mouse blood. *Biol Pharm Bull* 2002; 25: 1315–1319.
50. Fujii J, Taniguchi N. Down regulation of superoxide dismutases and glutathione peroxidase by reactive oxygen and nitrogen species. *Free Radic Res* 1999; 31: 301–308.
51. Khan N, Sharma S, Alam A i wsp. Tephrosia purpurea ameliorates N-diethylnitrosamine and potassium bromate-mediated renal oxidative stress and toxicity in Wistar rats. *Pharmacol Toxicol* 2001; 88: 294–299.
52. Ballmaier D, Epe B. DNA damage by bromate: Mechanism and consequences. *Toxicology* 2006; 221: 166–171.
53. Kawanishi S, Murata M. Mechanism of DNA damage induced by bromate differs from general types of oxidative stress. *Toxicology* 2006; 221: 172–178.
54. Chipman JK, Parsons JL, Beddowes EJ. The multiple influences of glutathione on bromate genotoxicity: Implications for the dose-response relationship. *Toxicology* 2006; 221: 187–189.
55. Sai K, Umemura T, Takagi A i wsp. The protective role of glutathione, cysteine and vitamin C against oxidative DNA damage induced in rat kidney by potassium bromate. *Jpn J Cancer Res* 1992; 83: 45–51.
56. Gradus D, Rhoads M, Bergstrom LB i wsp. Acute bromate poisoning associated with renal failure and deafness presenting as hemolytic uremic syndrome. *Am J Nephrol* 1984; 4: 188–191.
57. Chuu JJ, Hsu CJ, Lin-Shiau SY. The detrimental effects of potassium bromate and thioglycolate on auditory brainstem response of guinea pigs. *Chin J Physiol* 2000; 43: 91–96.
58. Campbell KC. Toxicology. Bromate-induced ototoxicity. *Toxicology* 2006; 221: 205–211.
59. De Vriese A, Vanholder R, Lameire N. Severe acute renal failure due to bromate intoxication: report of a case and discussion of management guidelines based on a review of the literature. *Nephrol Dial Transplant* 1997; 12: 204–209.
60. Quick CA, Chole RA, Mauer M. Deafness and renal failure due to potassium bromate poisoning. *Arch Otolaryngol* 1975; 101: 494–495.
61. Mattioli F, Martelli A, Gosmar M i wsp. DNA fragmentation and DNA repair synthesis induced in rat and human thyroid cells by chemicals carcinogenic to the rat thyroid. *Mutat Res* 2006; 609: 146–153.
62. Delker D, Hatch G, Allen J i wsp. Molecular biomarkers of oxidative stress associated with bromate carcinogenicity. *Toxicology* 2006; 221: 158–165.
63. Karbownik M, Stasiak M, Zasada K i wsp. Comparison of potential protective effects of melatonin, indole-3-propionic acid, and propylthiouracil against lipid peroxidation caused by potassium bromate in the thyroid gland. *J Cell Biochem* 2005; 95: 131–138.

64. Karbownik M, Stasiak M, Zygmunt A i wsp. Protective effects of melatonin and indole-3-propionic acid against lipid peroxidation, caused by potassium bromate in the rat kidney. *Cell Biochem Funct* 2006; 24: 483–489.
65. Karbownik M, Gitto E, Lewiński A i wsp. Induction of lipid peroxidation in hamster organs by the carcinogen cadmium: melioration by melatonin. *Cell Biol Toxicol* 2001; 17: 33–40.
66. Karbownik M, Reiter RJ. Melatonin protects against oxidative stress caused by delta-aminolevulinic acid: implications for cancer reduction. *Cancer Invest* 2002; 20: 276–286.
67. Bocanera LV, Krawiec L, Silberschmidt D i wsp. Role of cyclic 3'5' guanosine monophosphate and nitric oxide in the regulation of iodide uptake in calf thyroid cells. *J Endocrinol* 1997; 155: 451–457.
68. Millatt LJ, Johnstone AP, Whitley GS. Nitric oxide enhances thyroid peroxidase activity in primary human thyrocytes. *Life Sci* 1998; 63: 373–380.
69. van den Hove MF, Stoenoiu MS, Croizet K, Couvreur M, Courtoy PJ, Devuyt O, Colin IM. Nitric oxide is involved in interleukin-1 α -induced cytotoxicity in polarized human thyrocytes. *J Endocrinol* 2002; 173: 177–185.
70. McAuley P, Asa SL, Chiu B i wsp. Parathyroid hormone-like peptide in normal and neoplastic mesothelial cells. *Cancer* 1990; 66: 1975–1979.
71. Clark SP, Chou ST, Martin TJ i wsp. Parathyroid hormone-related protein antigen localization distinguishes between mesothelioma and adenocarcinoma of the lung. *J Pathol* 1995; 176: 161–165.
72. White KE, Larsson TE, Econs MJ. The roles of specific genes implicated as circulating factors involved in normal and disordered phosphate homeostasis: frizzled related protein-4, matrix extracellular phosphoglycoprotein, and fibroblast growth factor 23. *Endocr Rev* 2006; 27: 221–241.
73. Schweichler M, Hennessey JV, Cole P i wsp. Hypoglycemia in pregnancy secondary to a non-islet cell tumor of the pleura and ectopic insulin-like growth factor II hormone production. *Obstet Gynecol* 1995; 85: 810–813.
74. Catania A, Colombo G, Carlin A i wsp. Autocrine inhibitory influences of alpha-melanocyte-stimulating hormone in malignant pleural mesothelioma. *J Leukoc Biol* 2004; 75: 253–259.
75. Perks WH, Crow JC, Green M. Mesothelioma associated with the syndrome of inappropriate secretion of antidiuretic hormone. *Am Rev Respir Dis* 1978; 117: 789–794.
76. Siafakas NM, Tsirogianis K, Filaditaki B i wsp. Pleural mesothelioma and the syndrome of inappropriate secretion of antidiuretic hormone. *Thorax* 1984; 39: 872–873.
77. Plewa MJ, Kargalioglu Y, Vanker D i wsp. Mammalian cell cytotoxicity and genotoxicity analysis of drinking water disinfection by-products. *Environ Mol Mutagen* 2002; 40: 134–142.
78. Hollenbach S, Dhénaut A, Eckert I i wsp. Overexpression of Ogg1 in mammalian cells: effects on induced and spontaneous oxidative DNA damage and mutagenesis. *Carcinogenesis* 1999; 20: 1863–1868.
79. Reppert SM, Weaver DR, Ebisawa T. Cloning and characterization of a mammalian melatonin receptor that mediates reproductive and circadian responses. *Neuron* 1994; 13: 1177–1185.
80. Godson C, Reppert SM. The Mel1a melatonin receptor is coupled to parallel signal transduction pathways. *Endocrinology* 1997; 138: 397–404.
81. Vanecek J, Watanabe K. Mechanisms of melatonin action in the pituitary and SCN. *Adv Exp Med Biol* 1999; 460: 191–198.
82. Becker-Andre M, Wiesenberg I, Schaaeren-Wiemers N i wsp. Pineal gland hormone melatonin binds and activates an orphan of the nuclear receptor superfamily. *J Biol Chem* 1994; 269: 28531–28534.
83. Tan DX, Chen LD, Poeggeler B i wsp. Melatonin: a potent, endogenous hydroxyl radical scavenger. *Endocr J* 1993; 1: 57–69.
84. Reiter RJ, Tan DX, Osuna C i wsp. Actions of melatonin in the reduction of oxidative stress. *J Biomed Sci* 2000; 7: 444–458.
85. Livrea MA, Tesoriere L, D'Arpa D i wsp. Reaction of melatonin with lipoperoxyl radicals in phospholipid bilayers. *Free Radic Biol Med* 1997; 23: 706–711.
86. Reiter R, Tang L, Garcia JJ i wsp. Pharmacological actions of melatonin in oxygen radical pathophysiology. *Life Sci* 1997; 60: 2255–2271.
87. Kothari L, Subramanian A. A possible modulatory influence of melatonin on representative phase I and II drug metabolizing enzymes in 9,10-dimethyl-1,2-benzanthracene induced rat mammary tumorigenesis. *Anticancer Drugs* 1992; 3: 623–628.
88. Antolin I, Rodriguez C, Sainz RM i wsp. Neurohormone melatonin prevents cell damage: effect on gene expression for antioxidant enzymes. *FASEB J* 1996; 10: 882–890.
89. Tan DX, Manchester LC, Reiter RJ i wsp. Melatonin directly scavenges hydrogen peroxide: a potentially new metabolic pathway of melatonin biotransformation. *Free Radic Biol Med* 2000; 29: 1177–1185.
90. Pozo D, Reiter RJ, Calvo JR i wsp. Physiological concentrations of melatonin inhibit nitric oxide synthase in rat cerebellum. *Life Sci* 1994; 55: 455–460.
91. Karbownik M, Reiter RJ, Qi W i wsp. Protective effects of melatonin against oxidation of guanine bases in DNA and decreased microsomal membrane fluidity in rat liver induced by whole body ionizing radiation. *Mol Cell Biochem* 2000; 211: 137–144.
92. Gitto E, Tan DX, Reiter RJ i wsp. Individual and synergistic antioxidative actions of melatonin: studies with vitamin E, vitamin C, glutathione and desferrioxamine (desferoxamine) in rat liver homogenates. *J Pharm Pharmacol* 2001; 53: 1393–1401.
93. Karbownik M, Gitto E, Lewiński A i wsp. Relative efficacies of indole antioxidants in reducing autooxidation and iron-induced lipid peroxidation in hamster testes. *J Cell Biochem* 2001; 81: 693–699.
94. Qi W, Reiter RJ, Tan DX i wsp. Increased levels of oxidatively damaged DNA induced by chromium(III) and H₂O₂: protection by melatonin and related molecules. *J Pineal Res* 2000; 29: 54–61.
95. Karbownik M, Reiter RJ, Burkhardt S i wsp. Melatonin attenuates estradiol-induced oxidative damage to DNA: relevance for cancer prevention. *Exp Biol Med* 2001; 226: 707–712.
96. Karbownik M. Potential anticarcinogenic action of melatonin and other antioxidants mediated by antioxidative mechanisms. *Neuroendocrinol Lett* 2002; 23: 39–44.
97. Karbownik M, Garcia JJ, Lewiński A i wsp. Carcinogen-induced, free radical-mediated reduction in microsomal membrane fluidity: reversal by indole-3-propionic acid. *J Bioenerg Biomembr* 2001; 33: 73–78.
98. Karbownik M, Reiter RJ, Garcia JJ i wsp. Indole-3-propionic acid, a melatonin-related molecule, protects hepatic microsomal membranes from iron-induced oxidative damage: relevance to cancer reduction. *J Cell Biochem* 2001; 81: 507–513.
99. Karbownik M, Reiter RJ, Cabrera J i wsp. Comparison of the protective effect of melatonin with other antioxidants in the hamster kidney model of estradiol-induced DNA damage. *Mutat Res* 2001; 474: 87–92.
100. Hicks M, Wong LS, Day RO. Antioxidant activity of propylthiouracil. *Biochem Pharmacol* 1992; 43: 439–444.
101. Seven R, Gelisgen R, Seven A i wsp. Influence of propylthiouracil treatment on oxidative stress and nitric oxide in Basedow disease patients. *J Toxicol Environ Health A* 2001; 62: 495–503.
102. Chyan YJ, Poeggeler B, Omar RA i wsp. Potent neuroprotective properties against the Alzheimer beta-amyloid by an endogenous melatonin-related indole structure, indole-3-propionic acid. *J Biol Chem* 1999; 274: 21937–21942.
103. Poeggeler B, Pappolla MA, Hardeland R i wsp. Indole-3-propionate: a potent hydroxyl radical scavenger in rat brain. *Brain Res* 1999; 815: 382–388.
104. Reiter RJ, Tan DX, Qi W i wsp. Pharmacology and physiology of melatonin in the reduction of oxidative stress in vivo. *Biol Signals Recept* 2000; 9: 160–171.
105. Eskandari S, Loo DD, Dai G i wsp. Thyroid Na⁺/I⁻ symporter. Mechanism, stoichiometry, and specificity. *J Biol Chem* 1997; 272: 27230–27138.
106. Hardeland R. Antioxidative protection by melatonin: multiplicity of mechanisms from radical detoxification to radical avoidance. *Endocrine* 2005; 27: 119–130.
107. Tan DX, Manchester LC, Hardeland R i wsp. Melatonin: a hormone, a tissue factor, an autocoid, a paracoid, and an antioxidant vitamin. *J Pineal Res* 2003; 34: 75–78.
108. Tan DX, Manchester LC, Reiter RJ i wsp. Significance of melatonin in antioxidative defense system: reactions and products. *Biol Signals Recept* 2000; 9: 137–159.
109. Lewiński A, Karbownik M. Melatonin and the thyroid gland. *Neuroendocrinol Lett* 2002; 23: 73–78.
110. Lewiński A, Wajs E, Karbownik M. Effects of pineal-derived indolic compounds and of certain neuropeptides on the growth processes in the thyroid gland. *Thyroidology* 1992; 4: 11–15.
111. Hardeland R, Zsizsik BK, Poeggeler B i wsp. Indole-3-pyruvic and -propionic acids, kynurenic acid, and related metabolites as luminophores and free-radical scavengers. *Adv Exp Med Biol* 1999; 467: 389–395.
112. Adali M, Inal-Erden M, Akalin A i wsp. Effects of propylthiouracil, propranolol, and vitamin E on lipid peroxidation and antioxidant status in hyperthyroid patients. *Clin Biochem* 1999; 32: 363–367.
113. Seven A, Tasan E, Hatemi H i wsp. The impact of propylthiouracil therapy on lipid peroxidation and antioxidant status parameters in hyperthyroid patients. *Acta Med Okayama* 1999; 53: 27–30.
114. Das K, Chainy GB. Modulation of rat liver mitochondrial antioxidant defence system by thyroid hormone. *Biochim Biophys Acta* 2001; 1537: 1–13.
115. Khan N, Sultana S. Abrogation of potassium bromate-induced renal oxidative stress and subsequent cell proliferation response by soy isoflavones in Wistar rats. *Toxicology* 2004; 201: 173–184.
116. Farombi EO, Alabi MC, Akuru TO. Kolaviron modulates cellular redox status and impairment of membrane protein activities induced by potassium bromate (KBrO₃) in rats. *Pharmacol Res* 2002; 45: 63–68.
117. Cadenas S, Barja G. Resveratrol, melatonin, vitamin E, and PBN protect against renal oxidative DNA damage induced by the kidney carcinogen KBrO₃. *Free Radic Biol Med* 1999; 26: 1531–1537.
118. Nishioka H, Fujii H, Sun B i wsp. Comparative efficacy of oligonol, catechin and (-)-epigallocatechin 3-O-gallate in modulating the potassium bromate-induced renal toxicity in rats. *Toxicology* 2006; 226: 181–187.
119. Watanabe S, Togashi S, Fukui T. Contribution of nitric oxide to potassium bromate-induced elevation of methaemoglobin concentration in mouse blood. *Biol Pharm Bull* 2002; 25: 1315–1319.
120. Khan N, Sharma S, Sultana S. *Nigella sativa* (black cumin) ameliorates potassium bromate-induced early events of carcinogenesis: diminution of oxidative stress. *Hum Exp Toxicol* 2003; 22: 193–203.