



## Symporter sodowo-jodowy w fizjologii i w stanach chorobowych — aktualny stan wiedzy

Sodium iodide symporter in physiology and diseases  
— the current state of knowledge

**Małgorzata Wolny, Anelli Syrenicz**

*Klinika Endokrynologii, Chorób Metabolicznych i Chorób Wewnętrznych Pomorskiej Akademii Medycznej w Szczecinie*

### Streszczenie

Symporter sodowo-jodowy, zwany również białkiem NIS, odpowiada za wychwyt jonów jodkowych do wnętrza komórki i ma podstawowe znaczenie dla czynności gruczołu tarczowego. Odkryty i po raz pierwszy scharakteryzowany w 1996 roku w ostatnich latach stanowi przedmiot zainteresowania badaczy w odniesieniu do fizjologii i patologii gruczołu tarczowego, a także innych narządów wychwytyjących jod. Dotychczasowe badania nad symporterem sodowo-jodowym obejmują między innymi wykazywanie ekspresji białka NIS w chorobach tarczycy i tkankach innych narządów, poznawanie antygenowości symportera w chorobach autoimmunologicznych tarczycy, odkrywanie genetycznych uwarunkowań zróżnicowanej aktywności białka NIS. Symporter sodowo-jodowy stanowi podstawę leczenia jodem radioaktywnym, dotychczas tylko chorób tarczycy. Wykazanie ekspresji białka NIS w nowotworach innych narządów stwarza nowe możliwości leczenia chorób nowotworowych. Ponadto odkrycia ostatnich lat wskazują nowy kierunek badań nad symporterem sodowo-jodowym — terapię genową z zastosowaniem transferu genu NIS.

*(Endokrynol Pol 2007; 58 (6): 512–521)*

**Słowa kluczowe:** symporter sodowo-jodowy, białko NIS, tarczyca, choroby autoimmunologiczne, wole guzkowe, rak tarczycy, terapia genowa

### Abstract

The sodium iodide symporter, called also the NIS protein is responsible for iodine trapping to the cell what is significant for the thyroid function. Identified and described for the first time in 1996 NIS protein is the matter of interest of investigators concerning the thyroid physiology and pathology as well as others organs which concentrate the iodine. Existing studies on the sodium iodide symporter include among others: indicating NIS protein expression in the thyroid diseases and extrathyroidal tissues, studying of the NIS antigenicity in the autoimmune diseases of thyroid, finding the molecular aspects of the difference in the NIS protein activity. The sodium iodide symporter is a base of radioiodine therapy of, as for now, thyroid diseases only. Showing NIS protein expression in other cancerous tissues provide a new therapeutic strategy for a variety of human cancers. Additionally, latest explorations indicate at an innovative destination of the studies concerning the sodium iodide symporter that is the gene therapy with the use of gene NIS transfer.

*(Pol J Endocrinol 2007; 58 (5): 512–521)*

**Key words:** sodium iodide symporter, NIS protein, thyroid, autoimmune diseases, nodular goiter, thyroid cancer, gene therapy



Dr med. Małgorzata Wolny  
Klinika Endokrynologii, Chorób Metabolicznych i Chorób  
Wewnętrznych PAM w Szczecinie  
ul. Arkońska 4, 71-455 Szczecin  
tel.: 091 431 62 41, faks: 091 431 62 43  
e-mail: wolny.malgorzata@wp.pl

## Charakterystyka białka NIS

Symporter sodowo-jodowy, nazywany także białkiem NIS (NaIS, *sodium iodide symporter*), odpowiada za aktywny transport jodu do komórki. Pierwszego odkrycia białka NIS oraz identyfikacji jego genu dokonano w tarczycy szczurzej [1], a w 1996 roku określono sekwencję ludzkiego genu NIS [1]. Za pomocą metody immunohistochemicznej określono lokalizację białka NIS w błonie podstawno-bocznej tyreocytów [3], a ponadto wykazano jego obecność w tkankach pozatarczycowych [4].

W gruczole tarczowym białko NIS pozwala na kumulację jodu we wnętrzu tyreocyta w stężeniu 20–40-krotnie wyższym niż w surowicy krwi [5]. Transport 1 jonu jodu do komórki odbywa się wspólnie z 2 jonami sodu. Przebłonowy gradient sodu, który umożliwia wychwyt jodu, jest utrzymywany przez  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  ATP-azę [6] i może zostać doświadczalnie zahamowany przez inhibitory typowe dla tego enzymu, takie jak: uabaina, tiocyjanin lub nadchloran [7]. Nadchloran ( $\text{ClO}_4^-$ ) posiada dwa miejsca uchwytu swojego działania —  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  ATP-azę oraz białko NIS — i blokuje symporter, nie podlegając przez niego transportowi do wnętrza komórki [8, 9]. Białko NIS transportuje oprócz jodu inne jony, wymienione w kolejności według malejącego nasilenia transportu:  $\text{ClO}_3^-$ ,  $\text{SCN}^-$ ,  $\text{SeCN}^-$ ,  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{Br}^-$ ,  $\text{BF}_4^-$ ,  $\text{IO}_4^-$ ,  $\text{BrO}_4^-$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$ ,  $\text{F}^-$ ,  $\text{HPO}_4^{2-}$ ,  $\text{ReO}_4^-$  [8].

Ludzki gen NIS jest zlokalizowany na chromosomie 19p12–13.2 i zawiera 15 egzonów oraz 14 intronów. Otwarta ramka odczytu genu NIS składa się z 1929 nukleotydów, z których na drodze transkrypcji i translacji powstaje białko złożone z 643 aminokwasów o masie molekularnej 70–90 kDa [10].

Łańcuch polipeptydowy NIS układa się spiralnie przez błonę komórkową. Zawiera 13 segmentów przezbłonowych oraz 14 pozabłonowych, a w tym fragmenty końcowe: koniec  $-\text{NH}_2$  położony zewnątrzkomórkowo i koniec  $-\text{COOH}$  położony wewnątrzkomórkowo. Białko NIS posiada 3 potencjalne miejsca glikozylacji: jedno zlokalizowane w 7. zewnątrzbłonowej domenie i dwa pozostałe w 13. zewnątrzbłonowej domenie [10]. Udowodniono, że stopień glikozylacji białka NIS nie wpływa na jego aktywność, stabilność czy też lokalizację w błonie komórkowej [11].

Białko NIS obserwuje się w około 20–30% prawidłowych komórek pęcherzykowych tarczycy [3, 12–14] i wykazuje heterogenność swojego występowania zarówno w obrębie pęcherzyków tarczycowych, jak i tyreocytów danego pęcherzyka [3, 12]. Większą ekspresję symportera obserwuje się w pęcherzykach małej i średniej wielkości zbudowanych z komórek walcowatych i sześciennych, uważanych za aktywne hormonalnie, niż w płaskich tyreocytach tworzących duże pęcherzyki [12–14].

Ponadto ekspresja symportera jest większa w tyreocytach znajdujących się w najbliższym sąsiedztwie naczyń włosowatych [3, 15].

Ekspresja białka NIS w tkance tarczycowej podlega złożonej regulacji i zależy od wielu czynników, wśród których należy wymienić: czynniki transkrypcyjne, enhansery w genie NIS, onkogeny, cytokiny, czynniki wzrostu, hormony, przeciwciała i niektóre leki [16]. Najważniejszym regulatorem aktywności białka NIS w komórkach tarczycy jest hormon tyreotropowy (TSH, *thyroid stimulating hormone*), którego wpływ na symporter sodowo-jodowy odbywa się w mechanizmie cAMP-zależnym [17]. Tyreotropina stymuluje ekspresję tarczycowych czynników transkrypcyjnych [tj. tarczycowego czynnika transkrypcyjnego 1 i 2 (TTF1, *thyroid transcription factor 1*; TTF2) oraz PAX-8], które pobudzają ekspresję następujących genów: tyreoglobuliny, tyreoperoksydazy, receptora TSH, a także symportera sodowo-jodowego [16, 18, 19].

Hormon tyreotropowy nie tylko powoduje wzrost biosyntezy symportera sodowo-jodowego, ale jest również niezbędnym czynnikiem do prawidłowego umiejscowienia białka NIS w błonie komórkowej [20]. Zaobserwowano, że w nieobecności TSH dochodzi do skrócenia okresu połowicznego rozpadu białka NIS z 5 do 3 dni, przy czym ilość białka NIS maleje szybciej w błonie komórkowej niż w cytoplazmie. Fakt ten sugeruje, że przy wycofaniu wpływu TSH białko NIS ulega przemieszczeniu z błony komórkowej do wewnątrzkomórkowych kompartmentów i traci swoją zdolność transportu jodu [20]. Prawdopodobnie TSH w mechanizmie cAMP-zależnym wpływa na potranskrypcyjną fosforylację białka NIS [21], która może odgrywać rolę w wewnątrzkomórkowej dystrybucji symportera [20]. Proces fosforylacji jest znanym komórkowym mechanizmem modulującym aktywność, wewnątrzkomórkową lokalizację i/lub degradację protein [7]. Może on zachodzić przy braku wpływu TSH, ale wówczas miejsca fosforylacji w białku NIS są odmienne od tych, gdy proces ten zachodzi w obecności TSH [20].

Jod i tyreoglobulina, wykazując działanie autoregulacyjne na wychwyt jodu w tarczycy, obniżają poziom ekspresji białka NIS [22–26]. Efekt działania jodu podawanego z zewnątrz zależy od dawki. Niedostateczna podaż jodu wzmacnia wrażliwość tyreocytów na pobudzający wpływ TSH, przez co zwiększa się wychwyt jodu. Natomiast w miarę wzrastającej dawki podawanego jodu jest hamowany proces jego organifikacji, co powoduje wystąpienie ostrego efektu Wolffa-Chaikoffa [27]. Efekt ten ma charakter przejściowy i w miarę adaptacji gruczolu tarczycowego do przedłużającego się napływu jodu powraca niemal prawidłowa synteza hormonalna tarczycy, co nazywa się ucieczką z ostrego efektu Wolffa-Chaikoffa [28].

Na podstawie przeprowadzonych badań, w których po podaniu jodu doszło do supresji tarczycowego stężenia mRNA genu NIS [22] i/lub obniżenia stężenia białka NIS [29, 30], zasugerowano, że ucieczka z ostrego efektu Wolffa-Chaikoffa jest spowodowana obniżeniem stopnia ekspresji i aktywności białka NIS. Skutkuje to obniżonym stężeniem wewnątrz-tarczycowego jodu poniżej krytycznej granicy, co pozwala na utrzymanie organifikacji jodu [30, 31].

Cytokiny, takie jak: interleukina-1 (IL-1, *interleukin-1*), czynnik martwicy nowotworu alfa (TNF- $\alpha$ , *tumour necrosis factor alpha*), interferon gamma (INF- $\gamma$ , *interferon gamma*), hamują ekspresję genu NIS i wychwyt jodu w szczurzej linii komórek tarczycy (FRTL-5, *fisher rat thyroid line-5*), a także w ludzkich tyreocytach [32, 33]. Cytokiny te, wytwarzane w naciekach zapalnych, mogą odgrywać rolę w powstawaniu niedoczynności tarczycy o podłożu autoimmunologicznym, obniżając ekspresję mRNA genu NIS [32]. Ponadto, cytokiny, działając supresyjnie na ekspresję symportera, mogą powodować osłabienie efektu wywołanego przez przeciwciała stymulujące receptor TSH w chorobie Gravesa-Basedowa. Fakt ten mógłby tłumaczyć, choć częściowo, brak korelacji między stężeniem przeciwciał stymulujących receptor TSH a klinicznym nasileniem nadczynności tarczycy w tej chorobie [34].

Wśród zewnątrz-pochodnych czynników, które obniżają ekspresję białka NIS, wymienia się między innymi leki przeciw-tarczycowe, takie jak methimazol lub propylotiouracyl [29]. Klinicznym efektem ujemnego wpływu tyreostatyków na białko NIS jest mniejsza skuteczność leczenia jodem radioaktywnym pacjentów, którzy wcześniej otrzymywali tyreostatyki [34–38]. U takich chorych należy odstawić leki przeciw-tarczycowe co najmniej 3 dni przed planowanym leczeniem jodem radioaktywnym, a także należy zastosować o 25% większą dawkę <sup>131</sup>I [39].

Do czynników wpływających na ekspresję białka NIS należy zaliczyć również te, których działanie udowodniono wyłącznie w badaniach linii komórkowej FRTL-5, a są nimi: wśród inhibitorów — cytokiny transformującego czynnika wzrostu beta<sub>1</sub> (TGF- $\beta_1$ , *transforming growth factor beta<sub>1</sub>*) i IL-6, ceramidy i sfingomielinaza, trijodotyronina, deksametazon i estradiol, a wśród induktorów — adenozyne [29, 31, 40, 41].

Białko NIS nie jest specyficzne dla gruczołu tarczycowego tak jak tyreoperoksydaza czy tyreoglobulina. Występowanie symportera sodowo-jodowego wykazano także w innych narządach, takich jak: ślinianka, błona śluzowa żołądka, gruczoł sutkowy w okresie laktacji, ciało rzęskowe oka, grasicca, trzustka, nerki, błona śluzowa jelita grubego, prostata, pęcherz moczowy, endometrium, łożysko [14, 42–44]; mRNA genu NIS znajdowano również w jądrze, jajniku, gruczole nad-

nerczowym, w sercu i w płucach [4] oraz woreczku żółtym [45]. Ponadto obecność białka NIS stwierdzono w stanach patologicznych sutka, takich jak: włóknia-kogruczolak [46] i gruczolakorak sutka [14, 47, 48]. Natomiast mRNA genu NIS wykazano nie tylko w rakach sutka, ale i w rakach jajnika, prostaty, endometrium, płuc i jelita grubego [14, 49, 50]. Symporter sodowo-jodowy, który znajduje się w pozatarczycowych tkankach, nie różni się strukturą pierwszorzędową — cDNA białka NIS występującego w śliniance przyusznej, gruczole sutkowym i w błonie śluzowej żołądka posiada taką samą sekwencję nukleotydów jak gen symportera znajdującego się w gruczole tarczycowym [4]. Genetyczne powiązanie między białkiem NIS występującym w tarczycy i tkankach pozatarczycowych ujawnia się w przypadkach wrodzonej niedoczynności tarczycy spowodowanej przez mutacje germinalne genu NIS [51–54].

Objawom niedoczynności tarczycy i wola towarzyszy niska zawartość jodu w ślinie w stosunku do osocza [7], a ponadto w badaniu scyntygraficznym defekt wychwyty jodu wykazuje też błona śluzowa żołądka [54]. Nie obserwuje się natomiast objawów klinicznych ze strony innych niż tarczyca narządów wychwytyjących jod. Świadczy to o tym, że fizjologiczna rola symportera sodowo-jodowego w tkankach pozatarczycowych nie jest tak istotna dla funkcji tych narządów, jak w przypadku gruczołu tarczycowego [55].

W tkankach pozatarczycowych ekspresja białka NIS podlega odmiennej regulacji i ogólnie jest słabsza niż w tarczycy. Brak receptorów TSH w tkankach innych narządów poza tarczycą, brak tarczycowych czynników transkrypcyjnych, prawdopodobnie zmieniona struktura albo funkcja promotora lub odmienne przemiany mRNA genu NIS albo białka NIS oraz odmienna od tarczycowej dalsza droga przemian wychwyconego przez symporter jodu mogą być powodem słabszej ekspresji symportera w tkankach pozatarczycowych [4, 7, 14, 42].

## Przegląd dotychczasowych badań nad białkiem NIS i aktualne kierunki badań nad rolą symportera sodowo-jodowego

### Choroby autoimmunologiczne

W odniesieniu do patologii gruczołu tarczycowego największa zgodność wyników badań nad ekspresją białka NIS dotyczy choroby Gravesa-Basedowa. Wykazano, że stopień ekspresji mRNA genu NIS i/lub białka NIS jest znacznie większy niż w prawidłowej tkance tarczycowej [3, 12, 13, 16, 32, 56–59]. Prawdopodobnie za nadmierną stymulację ekspresji białka NIS odpowiadają przeciwciała aktywujące receptor TSH (TRAb, *TSH receptor antibodies*) i cykl przemian cAMP-zależnych [3, 32, 57]. Stymulujący ekspresję symportera efekt działania

przeciwciał TRAb jest większy niż występujący miejscowo, hamujący efekt działania cytokin stanu zapalnego [32]. W praktyce klinicznej wzmożona ekspresja symportera w chorobie Gravesa-Basedowa koreluje z nadmierną czynnością hormonalną oraz ze zwiększonym wychwytem technetu lub jodu radioaktywnego w badaniu scyntygraficznym tarczycy.

W limfocytarnym zapaleniu tarczycy zaobserwowano silną ekspresję białka NIS w komórkach pęcherzyków, które sąsiadowały z naciekami limfocytarnymi, natomiast tyreocyty odległe od miejsc nacieku wykazywały słabą ekspresję symportera lub były jej całkowicie pozbawione [3]. Ta obserwacja może wskazywać na udział białka NIS w procesie autoimmunologicznym [3].

Zagadnienie antygenowości symportera, próba wyjaśnienia jego roli w procesach autoimmunologicznych stały się nadrzędnym problemem badawczym dotyczącym występowania białka NIS w chorobach autoimmunologicznych tarczycy.

Jako białko błonowe symporter jest bowiem potencjalnym autoantygenem. Przeciwciała anti-NIS wykrywano u 30–84% pacjentów z chorobą Gravesa-Basedowa i u 15% z chorobą Hashimoto [60–62]. Ostatecznie nie wyjaśniono ich znaczenia w powstawaniu tych chorób. Wydaje się jednak, że nie odgrywają istotnej roli w procesie autoimmunologicznym. Ich powstawanie stanowi raczej konsekwencję rozpadu pęcherzyków tarczycowych i komórek. Mogą służyć jako dodatkowy wskaźnik, potwierdzający obecność choroby autoimmunologicznej tarczycy. Niektórzy badacze podkreślają znaczenie przeciwciał anti-NIS w modulowaniu funkcji hormonalnej tarczycy. Mają one prawdopodobnie charakter blokujący [60, 62, 63]. W związku z tym w chorobie Hashimoto mogą odgrywać rolę w powstawaniu niedoczynności tarczycy [63], natomiast w chorobie Gravesa-Basedowa mogą częściowo odpowiadać za brak korelacji między stężeniem przeciwciał stymulujących receptor TSH a klinicznym nasileniem nadczynności tego gruczołu [34].

Choroby autoimmunologiczne tarczycy często mają związek z chorobami autoimmunologicznymi innych narządów. W pracy Spitzweg i wsp., w której wykazano ekspresję symportera sodowo-jodowego w śliniankach, gruczole łzowym, w trzustce i w błonie śluzowej żołądka, dostrzeżono związek tych miejsc występowania białka NIS z objawami choroby Sjogrena [42]. Symporter sodowo-jodowy jako antygen dla limfocytów T i krzyżowo reagujących autoprzeciwciał może stanowić czynnik łączący autoimmunologiczną chorobę tarczycy i chorobę Sjogrena [4, 42].

### **Wole guzkowe**

Jak zaobserwowano w większości prac, w wolu guzkowym ekspresja białka NIS, podobnie jak w chorobie

Gravesa-Basedowa, wykazuje korelację ze stanem czynnościowym tkanki tarczycowej ustalonym na podstawie badania scyntygraficznego. W guzkach scyntygraficznie gorących obserwuje się zwiększoną ekspresję mRNA genu NIS [12, 16, 56] lub białka NIS [16, 64–66], natomiast guzki scyntygraficznie zimne wykazują obniżoną ekspresję symportera zarówno na poziomie transkrypcji genowej [12, 16, 56, 67], jak i translacji [3, 12, 16, 64–67]. Jednakże nie we wszystkich pracach wykazano tę prawidłowość, a wyniki kolejnych badań wskazują na udział czynników potranskrypcyjnych w aktywności białka NIS w łagodnych guzkach tarczycy. W pracy Tonacchera i wsp., przeprowadzonej z zastosowaniem metody immunohistochemicznej, wykazano w 54% łagodnych, pojedynczych, nieaktywnych hormonalnie guzków nadmierną ekspresję białka NIS w stosunku do otaczającego, niezmiennego mięszu tarczycy z tym, że symporter występował przede wszystkim w cytoplazmie, a więc nie spełniał swojej funkcji [68]. W innym badaniu immunohistochemicznym Neumann i wsp. zaobserwowali, że nadmiernej cytoplazmatycznej ekspresji symportera, obserwowanej w połowie badanych guzków zimnych, towarzyszyło, obniżone stężenie mRNA genu NIS wykazane metodą *RNase Protection Assay*. Ta rozbieżność wyników świadczy o tym, że stężenie mRNA genu NIS nie zawsze koreluje z poziomem ekspresji białka NIS, a ostatecznie na aktywność symportera sodowo-jodowego w komórce wpływają czynniki potranskrypcyjne, w tym przypadku dystrybucja komórkowa symportera [69].

W przeprowadzonym metodą immunohistochemiczną badaniu własnym wykazano brak ekspresji białka NIS w 41% badanych łagodnych guzków zimnych, a w przypadku 41% zaobserwowano cytoplazmatyczne rozmieszczenie symportera, przy czym nieprawidłowej lokalizacji białka NIS towarzyszył niski poziom jego ekspresji [66]. Wydaje się więc, że nie tylko zaburzenia transkrypcji i translacji, ale i dystrybucji komórkowej biorą udział w powstawaniu zimnych guzków tarczycy [66, 69].

W jednym z badań Tonacchera i wsp. zaobserwowali różnice w ekspresji białka NIS w guzkach zimnych w zależności od budowy histologicznej tych guzków (hiperplastyczne guzki *vs.* otorebkowane gruczolaki) [64]. Porównania dokonano w zestawieniu z wynikami poprzedniego badania ekspresji białka NIS w wolu guzkowym, przeprowadzonym z zastosowaniem tej samej metody — immunohistochemicznej [67]. Pojedyncze gruczolaki wykazywały nadmierną ekspresję symportera w cytoplazmie [67] w odróżnieniu od hiperplastycznych guzków tarczycowych, które wykazywały obniżony poziom ekspresji białka NIS, ale w błonie komórkowej [64]. Fakt ten może świadczyć o tym, że mechanizmy prowadzące do utraty wychwyty jodu

w tych dwóch grupach guzków zimnych są odmienne [64]. Natomiast, porównując aktywne hormonalnie (gorące) guzki hiperplastyczne i pojedyncze gruczolaki, wykazano w obydwu tych grupach nadmierną ekspresję symportera ograniczoną do błony komórkowej tyreocytów [64, 67].

Badania nad symporterem sodowo-jodowym w wolu guzkowym, dotyczące ekspresji białka NIS w poszczególnych rodzajach guzków, mogą mieć znaczenie w poznaniu mechanizmów powstawania łagodnych guzków tarczycy [67].

Tym bardziej, jak wykazano w pracy Lazara i wsp., zaburzeniom ekspresji mRNA symportera sodowo-jodowego w zimnych guzkach tarczycy nie towarzyszą zmiany ekspresji innych specyficznych dla tarczycy genów — tyreoglobuliny, tyreoperoksydazy, czy receptora TSH [56].

W celu poznania etiopatogenezy wola guzkowego poszukuje się między innymi mutacji w genie NIS. W badaniach przeprowadzonych dotychczas wykazano kilka mutacji germinalnych w genie NIS u pacjentów z wrodzoną niedoczynnością tarczycy i defektem transportu jodu [51–53, 70–73] oraz jedną mutację u pacjenta z olbrzymim wolem prostym [74]. Nie wykazano mutacji somatycznych w genie NIS u pacjentów z monoklonalnymi guzkami zimnymi [69] ani u pacjentów ze zróżnicowanym rakiem brodawkowatym lub pęcherzykowym tarczycy [75]. Natomiast wykazano związek między nadmierną metylacją promotora genu NIS i obniżoną ekspresją mRNA genu NIS. W większości badanych guzków zimnych z obniżoną ekspresją mRNA genu NIS stwierdzono hipermetylację promotora genu NIS [69]. Nadmierna metylacja promotora genu NIS może wpływać na jego inaktywację tak silnie jak mutacja genowa [76].

Symporter sodowo-jodowy odgrywa rolę w leczeniu jodem radioaktywnym chorych zarówno z wolem guzkowym toksycznym, jak i z wolem guzkowym obojętnym. W tej drugiej grupie chorych celem terapii  $J^{131}$  jest zmniejszenie rozmiarów wola. Aby zwiększyć skuteczność leczenia jodem radioaktywnym, wskazuje się na możliwość wcześniejszego przygotowania pacjentów z wolem guzkowym obojętnym za pomocą ludzkiej rekombinowanej tyreotropiny (rhTSH, *recombinant thyrotropin*) [39]. Obserwowany wzrost jodochwytności po podaniu rhTSH jest spowodowany stymulacją aktywności białka NIS [77].

### **Raki tarczycy**

Terapia jodem radioaktywnym stanowi kolejny etap leczenia pacjentów z rakiem tarczycy po interwencji chirurgicznej. Większość raków tarczycy i ich przerzutów wykazuje obniżoną kumulację  $J^{131}$ , a im mniej zróżnicowany jest rak tarczycy, tym mniej skuteczne jest leczenie jodem radioaktywnym.

Wobec tego spodziewanym wynikiem badań nad ekspresją białka NIS w rakach tarczycy było obniżone stężenie symportera sodowo-jodowego w stopniu zależnym od zróżnicowania komórek nowotworowych. Tymczasem nie wszystkie wyniki badań potwierdzają tę hipotezę, przy czym należy zauważyć, że w badaniach zastosowano różne, nierównoważne sobie metody badawcze. Metody oceniające ilościowo mRNA genu NIS [metoda reakcji łańcuchowej polimerazy DNA z analizą ilości produktu w czasie rzeczywistym (RT–PCR, *real-time PCR*)] lub białko NIS (metoda immunoblot) nie są równoważne z oceną stopnia i komórkowej lokalizacji ekspresji symportera metodą immunohistochemiczną [7]. W rakach anaplastycznych i w komórkach Hürthla w większości prac stwierdzono całkowity brak ekspresji symportera [58, 78]. Natomiast w badaniach dotyczących najczęściej występujących raków tarczycy — brodawkowego i pęcherzykowego — wyniki były zróżnicowane. W wielu badaniach obserwowano obniżoną ilość mRNA genu NIS [49, 79] lub obniżony stopień ekspresji białka NIS aż do całkowitego jego braku w stosunku do otaczającej, prawidłowej tkanki tarczycowej [3, 13, 58, 80, 81]. Natomiast w pracy Saito i wsp. w 8 z 12 raków brodawkowatych tarczycy wykazano, stosując metodę immunohistochemiczną, nadmierną ekspresję białka NIS w odróżnieniu od otaczającego guz miększy, gdzie ekspresja symportera była słabo widoczna [82].

Również Dohan i wsp. wykazali wzmożoną ekspresję białka NIS w 70% raków tarczycy, z tym że występowanie symportera ograniczało się głównie do cytoplazmy, a w niewielu przypadkach był on widoczny w błonie komórkowej [83]. W innych badaniach cytoplazmatycznemu rozmieszczeniu symportera w zróżnicowanych rakach tarczycy towarzyszył obniżony poziom jego ekspresji [80, 81].

W procesie transformacji nowotworowej geny specyficzne dla tarczycy wykazują pewien schemat występowania zaburzeń, w którym obniżenie ekspresji mRNA genu NIS obserwuje się już na etapie łagodnych, nieaktywnych hormonalnie guzków tarczycy. Dopiero w zróżnicowanych rakach tarczycy dodatkowo obserwuje się obniżenie ekspresji mRNA genów tyreoperoksydazy i tyreoglobuliny, natomiast ekspresja mRNA genu receptora TSH, tylko nieznacznie obniżona, jest obecna nawet w najmniej zróżnicowanych rakach tarczycy [56].

Czynnikami, które mogą prowadzić także do utraty funkcji białka NIS w rakach tarczycy, są onkogeny (v-erbA, HaMSV, v-raf, E1A, RET/PTC, KiMSV, p53<sup>143ala</sup>, PyMLV, BRAF) [81, 84]. Specyficzny dla tarczycy chimeryczny onkogen RET/PTC1, prowadzący do rozwoju raka brodawkowego tarczycy, obniża ekspresję genów specyficznych dla tarczycy, w tym genu NIS, wpływając na cAMP/PKA-zależną drogę transdukcji

sygnału tyreotropiny. W przypadku genu NIS jest to proces odwracalny, co udowodniono na podstawie badania, w którym wykazano, że forskolina — agonista cykazy adenylowej i 8-BR-cAMP — agonista cAMP zwiększają wychwyt jodu radioaktywnego w komórkach wykazujących ekspresję RET/PCT1 [85].

Ostatecznie nie wyjaśniono mechanizmów prowadzących do utraty ekspresji i aktywności białka NIS w procesie transformacji nowotworowej w tarczycy. Nie obserwuje się prostej zależności między ekspresją symportera w ognisku pierwotnym raka tarczycy i w jego przerzutach do węzłów chłonnych [86]. Ogólnie ekspresja białka NIS jest mniejsza w przerzutach do węzłów chłonnych niż w ognisku pierwotnym raka [86, 87], co może wskazywać na postępujący proces odróżnicowania komórek rakowych [86] lub odmienny sposób ekspresji specyficznych dla tarczycy białek w ognisku przerzutowym do węzła chłonnego [21]. W praktyce klinicznej obserwuje się, że 20–50% przerzutowych raków tarczycy nie wychwytuje jodu radioaktywnego, mimo stosowania jego terapeutycznych dawek.

Aby poprawić aktywności białka NIS w rakach tarczycy, przeprowadza się badania nad wpływem ludzkiej rekombinowanej tyreotropiny [77, 88] i czynników stymulujących różnicowanie komórek nowotworowych na wychwyt jodu przez komórki nowotworowe. Do takich czynników należą: kwas retinowy (zarówno izomer trans-, jak i cis-), który jest dobrze scharakteryzowanym czynnikiem indukującym różnicowanie komórek [89], oraz związki powodujące demetylację DNA genu NIS [90]. Według ostatnich doniesień do czynników zwiększających ekspresję symportera można zaliczyć także kwas walproinowy — znany lek przeciwdrgawkowy. Kwas walproinowy jest inhibitorem deacetylaz histonów, a efektem jego działania jest stymulacja różnicowania komórek nowotworowych (m.in. raków tarczycy) [91].

Ponadto na różnych liniach komórkowych guzów tarczycy i na modelach zwierzęcych przeprowadza się próby terapii genowej z użyciem wirusowego lub niewirusowego transferu genu NIS.

To właśnie terapia genowa stanowi najskuteczniejszy sposób na zwiększenie efektywności leczenia jodem radioaktywnym raków tarczycy, jak również stwarza potencjalne możliwości terapii  $J^{131}$  nowotworów innych narządów. Dotychczas przeprowadzane *in vitro* i na modelach zwierzęcych (xenograftach) próby transferu genu NIS do komórek rakowych tarczycy wypadają pomyślnie [92, 93]. Kwestią budzącą wątpliwości pozostaje zdolność utrzymania jodu przez komórki nowotworowe, tak aby terapia jodem radioaktywnym była skuteczna. Niskoźródnicowane raki tarczycy w wyniku transformacji nowotworowej tracą zdolność organifikacji jodu, co nie pozwala na wbudowanie jodu

radioaktywnego do wnętrza komórki rakowej i powoduje jego szybki wyrzut na zewnątrz komórki. Wykazano, że zmniejszonej ekspresji mRNA genu NIS w guzach nowotworowych tarczycy towarzyszy obniżona ekspresja mRNA genu tyreoperoksydazy [56, 80], a im późniejszy etap guza, tym mniejszy jest poziom ekspresji tych dwóch białek [56]. Powstaje pytanie, czy proces organifikacji jodu przez tyreoperoksydazę jest niezbędny do skutecznej radioabłacji niskoźródnicowanego lub anaplastycznego raka tarczycy. A jeśli tak, to czy można zmniejszyć szybkość wyrzutu jodu z komórki, na przykład za pomocą terapii genowej skojarzonej z genem tyreoperoksydazy lub farmakologicznie [22].

Przeprowadzone badania *in vitro* z zastosowaniem leków, takich jak: 17-allyloamino-17-demetoksy- geldanamycyna (17-AAG, 17-(allyloamino)-17-demethoxygeldanamycin) i kwas 4,4-diizotiocyanatosylbene 2,2'-disulfonowy (DIDS, 4,4'-diisothiocyanatostilbene 2,2'-disulfonic acid), w celu wydłużenia wewnątrzkomórkowego czasu retencji jodu w komórkach raka anaplastycznego i raka rdzeniastego tarczycy, transfekowanych komplementarnym DNA białka NIS, wzbudzają nadzieję na efektywną terapię jodem radioaktywnym zaawansowanych i agresywnych guzów tarczycy o złym rokowaniu [93, 94].

### Inne nowotwory

Próby wykorzystania antynowotworowego działania jodu radioaktywnego za pomocą terapii genowej z użyciem symportera sodowo-jodowego obejmują coraz więcej nowotworów, nawet tych narządów, gdzie białka NIS fizjologicznie się nie wykrywa. Powoduje to zwiększenie znaczenia naukowego, a przede wszystkim potencjalne kliniczne zastosowanie symportera w przyszłości. Wśród ludzkich nowotworowych linii komórkowych transfekowanych genem NIS, wobec których zastosowano z powodzeniem terapię jodem radioaktywnym na modelach zwierzęcych, znajdują się: komórki raka prostaty [94, 95–97], szpiczaka mnogiego [99], niedrobnokomórkowego raka płuc [100], guzów neuroendokrynych [100], czerniaka złośliwego [94], gruczolakoraka sutki i jajnika [101], raka szyjki macicy [102], raka nerki, glejaka [94, 96] oraz pierwotnego raka wątroby [103].

Istnieje podwójna korzyść z przeprowadzenia transferu genu NIS — terapeutyczna i umożliwiająca obrazowanie ekspresji transgenicznego białka [96]. Dotychczas ocena ekspresji transgenicznego białka wymagała wykonania inwazyjnej biopsji lub nawet śmierci zwierzęcia poddanego terapii genowej. Tymczasem zastosowanie transferu genu NIS może umożliwić nieinwazyjną i powtarzalną wizualizację ekspresji wektora, co może stanowić istotne narzędzie w przedklinicznych i klinicznych próbach terapii genowej [96, 104]. Zasto-

sowanie genu NIS jako genu monitorującego transfer wektora (ang. *imaging reporter gene*, *Image*) pozwala ocenić zarówno lokalizację, jak i stężenie oraz czas trwania ekspresji transgenicznego białka [96, 104].

Terapia genowa z użyciem genu NIS wymaga jednak rozstrzygnięcia kilku wątpliwości, między innymi zbadania, czy procesy potranslacyjne, w tym dystrybucja białka NIS do błony komórkowej, wpływają na wychwyt jodu w komórkach wykazujących ekspresję egzogenego symportera [104]. Jak pokazuje wiele badań, dystrybucja komórkowa symportera jest procesem podatnym na zaburzenia i dlatego może być czynnikiem ograniczającym wychwyt jodu przez egzogenne białko NIS. W badaniu przeprowadzonym w liniach komórkowych FTC133, HeLa, PC12 nie wykazano jednak zaburzeń dystrybucji transgenicznego białka NIS. Ponadto obserwowany w wielu innych typach komórek wychwyt jodu radioaktywnego przez egzogenne białko NIS wskazuje, że zaburzenia dystrybucji komórkowej symportera nie odgrywają roli w zastosowaniu transferu genu NIS [104].

Problemem terapii z użyciem genu NIS pozostaje niezdolność transfekowanych komórek wielu nowotworów do utrzymania jodu. W pracy Huang i wsp. zwrócono uwagę na ograniczenie efektywności niszczenia jodem radioaktywnym komórek niedrobnokomórkowego raka płuc, transfekowanych genem NIS ze względu na szybką eliminację  $J^{131}$ . W celach porównawczych zastosowano w badaniu połączony transfer genu NIS i genu tyreoperoksydazy, która umożliwia organifikację i utrzymanie jodu w komórce. Tym samym uzyskano zwiększenie efektywności radioterapii [99]. Jednakże, jak pokazano w innych badaniach, organifikacja jodu nie musi być warunkiem koniecznym do uzyskania skutecznej radioabłacji nowotworu z użyciem genu NIS [22, 105]. Na przykład w doświadczeniu na myszach „nagich”, którym przeszczepiono ludzkie komórki raka prostaty transfekowane genem NIS, po przeprowadzeniu terapii jodem radioaktywnym, uzyskano zmniejszenie objętości guza o ponad 75% [95]. Tymczasem nie ma przesłanek, aby twierdzić, że komórki prostaty posiadają zdolność organifikacji jodu chociażby dlatego, że pierwotnie nie wychwytyują jodu. A jednak terapia genowa z zastosowaniem genu NIS w przypadku raka prostaty jest potencjalnie możliwa i wymaga dalszych badań *in vivo*. W jednej z prac badawczych dokonano porównania ludzkiego i szczurzego białka NIS poprzez transdukcję wektorów retrowirusowych z genami tych białek do różnych linii ludzkich komórek nowotworowych i komórek nowotworowych gryzoni. Wykazano, że zdolność koncentracji jodu radioaktywnego szczurzego białka NIS jest do 5 razy wyższa niż ludzkiego i to zarówno w liniach komórkowych gryzoni, jak i w ludzkich [94]. Różnica

w funkcjonalności obu symporterów może wynikać z odmiennej budowy strukturalnej szczurzego i ludzkiego białka NIS lub też z odmiennych mechanizmów regulacyjnych. Odpowiedzi wymaga pytanie, czy szczurze białko NIS ma większą zdolność wychwyty jodu radioaktywnego tylko *in vitro* czy również *in vivo* [94]. W niniejszej pracy wykazano ponadto zróżnicowaną zdolność wychwyty jodu przez transgeniczne białko NIS w poszczególnych nowotworowych liniach komórkowych. Dalszych badań wymaga więc ocena, jakie nowotwory najlepiej poddadzą się terapii jodem radioaktywnym po przeprowadzeniu transferu genu NIS. W związku z tym najważniejszym zadaniem badawczym jest przeniesienie wiedzy zdobytej w laboratoriach na grunt prób klinicznych.

## Piśmiennictwo

1. Dai G, Levy O, Carrasco N. Cloning and characterization of the thyroid iodide symporter. *Nature* 1996; 379: 458–460.
2. Smanik PA, Liu Q, Furminger TL i wsp. Cloning of the human iodide symporter. *Biochem Biophys Res Commun* 1996; 226: 339–345.
3. Caillou B, Troalen F, Baudin E i wsp.  $Na^+/I^-$  symporter distribution in human thyroid tissues: an immunohistochemical study. *J Clin Endocrinol Metab* 1998; 83: 4102–4106.
4. Spitzweg C, Joba W, Eisenmenger W i wsp. Analysis of human sodium iodide symporter gene expression in extrathyroidal tissues and cloning of its complementary deoxyribonucleic acids from salivary gland, mammary gland, and gastric mucosa. *J Clin Endocrinol Metab* 1998; 83: 1746–1751.
5. Vieja ADL, Dohan O, Levy O i wsp. Molecular analysis of the sodium/iodide symporter: impact on thyroid and extrathyroid pathophysiology. *Physiol Rev* 2000; 80: 1083–1105.
6. Filetti S, Bidart JM, Arturi F i wsp. Sodium/iodide symporter: a key transport system in thyroid cancer cell metabolism. *Eur J Endocrinol* 1999; 141: 443–457.
7. Dohan O, De La Vieja A, Paroder V i wsp. The sodium iodide symporter (NIS): Characterization, regulation, and medical significance. *Endoc Rev* 2003; 24: 48–77.
8. Carrasco N. Thyroid iodide transport: the  $Na^+/I^-$  symporter (NIS). W: Braveman LE, Utiger RD (red.). *Werner & Ingbar's the thyroid: a fundamental and clinical text*. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia 2000; 52–61.
9. Tonacchera M, Pinchera A, Dimida A i wsp. Relative potencies and additivity of perchlorate, thiocyanate, nitrate and iodide on the inhibition of radioactive iodide uptake by the human sodium iodide symporter. *Thyroid* 2004; 14: 1012–1019.
10. Levy O, De la Vieja A, Carrasco N. The  $Na^+/I^-$  symporter (NIS): recent advances. *J Bioenerg Biomembr* 1998; 30: 195–206.
11. Levy O, De La Vieja A, Ginter CS i wsp. N-linked glycosylation of the thyroid  $Na^+/I^-$  symporter (NIS). Implications for the secondary structure model. *J Biol Chem* 1998; 273: 22657–22663.
12. Mian C, Lacroix L, Alzieu L i wsp. Sodium iodide symporter and pendrin expression in human thyroid tissues. *Thyroid* 2001; 11: 825–830.
13. Jhiang SM, Cho JY, Ryu K-Y i wsp. An immunohistochemical study of  $Na^+/I^-$  symporter in human thyroid tissues and salivary gland tissues. *Endocrinology* 1998; 139: 4416–4419.
14. Wapnir IL, Rijn M, Nowels K i wsp. Immunohistochemical profile of the sodium-iodide symporter in thyroid, breast, and other carcinomas using high density tissue microarrays and conventional sections. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88: 1880–1888.
15. Gerard AC, Many MC, Daumerie C i wsp. Structural changes in angiofollicular units between active and hypofunctionig

- follicles align with differences in the epithelial expression of newly discovered proteins involved in iodine transport and organification. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87: 1291–1299.
16. Joba W, Spitzweg Ch, Schriever K i wsp. Analysis of human sodium/iodide symporter, thyroid transcription factor-1, and paired-box-protein-8 gene expression in benign thyroid diseases. *Thyroid* 1999; 9: 455–466.
  17. Kogai T, Endo T, Saito T i wsp. Regulation of thyroid-stimulating hormone of sodium/iodide symporter gene expression and protein levels in FRTL-5 cells. *Endocrinology* 1997; 138: 2227–2232.
  18. Venkataraman GM, Yatin M, Ain KB. Cloning of the sodium-iodide symporter promoter and characterization in a differentiated human thyroid cell line, KAT-50. *Thyroid* 1998; 8: 63–69.
  19. Smyth P, Dwyer RM. The sodium iodide symporter and thyroid disease. *Commentary. Clin Endocrinol* 2002; 56: 427–429.
  20. Riedel C, Levy O, Carrasco N. Post-transcriptional regulation of the sodium/iodide symporter [NIS] by thyrotropin. *J Biol Chem* 2001; 276: 21458–21463.
  21. Chung JK. Sodium iodide symporter: its role in nuclear medicine. *J Nucl Med* 2002; 43: 1188–1200.
  22. Uyttensprot N, Pelgrims N, Carrasco N i wsp. Moderate doses of iodide in vivo inhibit cell proliferation and the expression of thyroperoxidase and Na<sup>+</sup>/I<sup>-</sup> symporter mRNAs in dog thyroid. *Mol Cell Endocrinol* 1997; 131: 195–203.
  23. Eng PhK, Cardona GR, Previti M i wsp. Regulation of the sodium/iodide symporter by iodide in FRTL-5 cells. *Eur J Endocrinol* 2001; 144: 139–144.
  24. Scipioni A, Ferretti E, Soda G i wsp. hNIS protein in thyroid: the iodine supply influences its expression and localization. *Thyroid* 2007; 17: 613–618.
  25. Kohn LD, Suzuki K, Nakazato M i wsp. Effects of thyroglobulin and pendrin on iodide flux through the thyrocyte. *Trends Endocrinol Metab* 2001; 12: 10–16.
  26. Suzuki K, Mori A, Saito J i wsp. Follicular thyroglobulin suppresses iodide uptake by suppressing expression of the sodium/iodide symporter gene. *Endocrinology* 1999; 140: 5422–5430.
  27. Wolff J, Chaikoff IL. Plasma inorganic iodide as a homeostatic regulator of thyroid function. *J Biol Chem* 1948; 174: 555–564.
  28. Wolff J, Chaikoff IL, Goldberg RC. The temporary nature of the inhibitory action of excess iodide on organic iodide synthesis in the normal thyroid. *Endocrinology* 1949; 45: 504.
  29. Spitzweg C, Joba W, Morris JC i wsp. Regulation of sodium-iodide symporter gene expression in FRTL-5 rat thyroid cells. *Thyroid* 1999; 9: 821–830.
  30. Eng PhK, Cardona GR, Fang SL i wsp. Escape from the acute Wolff-Chaikoff effect is associated with decrease in thyroid sodium/iodide symporter ribonucleic acid and protein. *Endocrinology* 1999; 140: 3404–3410.
  31. Spitzweg C, Morris JC. The sodium iodide symporter: its pathophysiological and therapeutic implications. *Clin Endocrinol* 2002; 57: 559–574.
  32. Ajjan RA, Kammaruddin NA, Crisp M i wsp. Regulation and tissue distribution of the human sodium/iodide symporter gene. *Clin Endocrinol* 1998; 49: 517–523.
  33. Ajjan RA, Watson PF, Findlay C i wsp. The sodium/iodide symporter gene and its regulation by cytokines found in autoimmunity. *J Endocrinol* 1998; 158: 351–358.
  34. Ajjan RA, Findlay C, Metcalfe RA i wsp. The modulation of sodium iodide symporter activity by Graves' disease sera. *J Clin Endocrinol Metab* 1998; 83: 1217–1221.
  35. Tuttle MR, Patience T, Budd S. Treatment with propylthiouracyl before iodine therapy is associated with higher treatment failure rate than therapy with radioactive iodine alone in Graves' disease. *Thyroid* 1995; 5: 243–247.
  36. Sabri O, Zimny M, Schreckenberger M i wsp. Radioiodine therapy in Graves' disease patients with large diffuse goiters treated with or without carbimazole at the time of radioiodine therapy. *Thyroid* 1999; 9: 1181–1188.
  37. Sabri O, Zimny M, Schulz G i wsp. Success rate of radioiodine therapy in Graves' disease: the influence of thyreostatic medication. *J Clin Endocrinol Metab* 1999; 84: 1229–1233.
  38. Korber C, Schneider P, Korber-Hafner N i wsp. Antithyroid drugs as a factor influencing the outcome of radioiodine therapy in Graves' disease and toxic nodular goiter? *Eur J Nucl Med* 2001; 28: 1360–1364.
  39. Jastrzębska H, Gietka-Czernel M, Zgliczyński S. Standardy leczenia radiojodem łagodnych chorób tarczycy. *Pol J Endocrinol* 2003; 54: 187–194.
  40. Furlanetto TW, Nunes Jr RB, Sopesla AM i wsp. Estradiol decreases iodide uptake by rat thyroid follicular FRTL-5 cells. *Braz J Med Biol Res* 2001; 34: 259–263.
  41. Pekary AE, Hershman JM. Tumor necrosis factor, ceramide, transforming growth factor-beta1, and aging reduce Na<sup>+</sup>/I<sup>-</sup> symporter messenger ribonucleic acid levels in FRTL-5 cells. *Endocrinology* 1998; 139: 703–712.
  42. Spitzweg C, Joba W, Schriever K i wsp. Analysis of human sodium iodide symporter immunoreactivity in human exocrine glands. *J Clin Endocrinol Metab* 1999; 84: 4178–4184.
  43. Cho YL, Leveille R, Kao R i wsp. Hormonal regulation of radioiodine uptake activity and Na<sup>+</sup>/I<sup>-</sup> symporter expression in mammary gland. *J Clin Endocrinol Metab* 2000; 85: 2936–2943.
  44. Bruno R, Giannasio P, Ronga G i wsp. Sodium iodide symporter expression and radioiodine distribution in extrathyroidal tissues. *J Endocrinol Invest* 2004; 27: 1010–1014.
  45. Morgenstern KE, Vadsyrisack DD, Zhang Z i wsp. Expression of sodium iodide symporter in the lacrimal drainage system: implication for the mechanism underlying nasolacrimal duct obstruction in I(131)-treated patients. *Ophtal Plast Reconstr Surg* 2005; 21: 337–44.
  46. Berger F, Unterholzner S, Diebold J i wsp. Mammary radioiodine accumulation due to functional sodium iodide symporter expression in a benign fibroadenoma. *Biochem Biophys Res Commun* 2006; 349: 1258–1263.
  47. Tazebay UH, Wapnir IL, Levy O i wsp. The mammary gland iodide transporter is expressed during lactation and in breast cancer. *Nat Med* 2000; 6: 871–878.
  48. Upadhyay G, Singh R, Agarwal G i wsp. Functional expression of sodium iodide symporter (NIS) in human breast cancer tissue. *Breast Cancer Res Treat* 2003; 77: 157–165.
  49. Smanik PA, Ryu KY, Thiel KS i wsp. Expression, exon-intron organization, and chromosome mapping of the human sodium-iodide symporter. *Endocrinology* 1997; 138: 3555–3558.
  50. Spitzweg C, Scholz V, Bergert ER i wsp. Retinoic acid-induced stimulation of sodium iodide symporter expression and cytotoxicity of radioiodine in prostate cancer cells. *Endocrinology* 2003; 144: 3423–3432.
  51. Fujiwara H, Tatsumi K, Miki K i wsp. Recurrent T354P mutation of the Na<sup>+</sup>/I<sup>-</sup> symporter in patients with iodide transport defect. *J Clin Endocrinol Metab* 1998; 83: 2940–2943.
  52. Kosugi S, Inoue S, Motsuda A i wsp. Novel, missense and loss of function mutations in the sodium/iodide symporter gene causing iodide transport defect in three Japanese patients. *J Clin Endocrinol Metab* 1998; 83: 3373–3376.
  53. Kosugi S, Okamoto H, Tamada A i wsp. A novel peculiar mutation in the sodium/iodide symporter gene in Spanish siblings with iodide transport defect. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87: 3830–3836.
  54. Tonacchera M, Agretti P, de Marco G i wsp. Congenital hypothyroidism due to a new deletion in the sodium/iodide symporter protein. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2003; 59: 500–506.
  55. Shen DHY, Kloos RT, Mazaferrri EL i wsp. Sodium iodine symporter in health and disease. *Thyroid* 2001; 11: 415–425.
  56. Lazar V, Bidart JM, Caillou B i wsp. Expression of the Na<sup>+</sup>/I<sup>-</sup> symporter gene in human thyroid tumors: a comparison study with other thyroid specific genes. *J Clin Endocrinol Metab* 1999; 84: 3228–3234.



57. Saito T, Endo T, Kawaguchi A i wsp. Increased expression of the Na<sup>+</sup>/I<sup>-</sup> symporter in cultured human thyroid cells exposed to thyrotropin and in Graves' thyroid tissue. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82: 3331–3336.
58. Castro MR, Bergert ER, Beito TG i wsp. Monoclonal antibodies against the human sodium iodide symporter: utility for immunocytochemistry of thyroid cancer. *J Endocrinol* 1999; 163: 495–504.
59. Castro MR, Bergert ER, Beito TG i wsp. Development of monoclonal antibodies against the human sodium iodide symporter: immunohistochemical characterization of this protein in thyroid cells. *J Clin Endocrinol Metab* 1999; 84: 2957–2962.
60. Kilbane MT, Ajjan RA, Weetman AP i wsp. Tissue iodine content and serum-mediated J125 uptake-blocking activity in breast cancer. *J Clin Endocrinol Metab* 2000; 85: 1245–1250.
61. Ajjan RA, Findlay C., Metcalfe RA i wsp. The modulation of the human sodium iodide symporter activity by Graves' disease sera. *J Clin Endocrinol Metab* 1998; 83: 1217–1221.
62. Endo T, Kogai T, Nakazato M i wsp. Autoantibody against Na<sup>+</sup>/I<sup>-</sup> symporter in the sera of patients with autoimmune thyroid disease. *Biochem Biophys Res Commun* 1996; 224: 92–95.
63. Endo T, Kaneshige M, Nakazato M i wsp. Autoantibody against thyroid iodide transporter in the sera from patients with autoimmune thyroid disease. *Biochem Biophys Res Commun* 1996; 228: 199–202.
64. Tonacchera M, Viacava P, Fanelli G i wsp. The sodium-iodide symporter protein is always present at a low expression and confined to the cell membrane in nonfunctioning nonadenomatous nodules of toxic nodular goiter. *Clin Endocrinol* 2004; 61: 40–45.
65. Russo D, Bulotta S, Bruno R i wsp. Sodium/iodide symporter (NIS) and pendrin are expressed differently in hot and cold nodules of thyroid toxic multinodular goiter. *Eur J Endocrinol* 2001; 145: 591–597.
66. Syrenicz A, Wolny M, Kram A i wsp. Analysis of the sodium iodide symporter expression in histological slides from a nodular goiter. *Arch Med Res* 2007; 38: 219–226.
67. Paschke R, Neumann S. Sodium/iodide symporter mRNA expression in cold thyroid nodules. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 2001; 109: 45–46.
68. Tonacchera M, Viacava P, Agretti P i wsp. Benign nonfunctioning thyroid adenomas are characterized by a defective targeting to cell membrane or a reduced expression of the sodium/iodide symporter protein. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87: 352–357.
69. Neumann S, Schuchardt K, Reske A i wsp. Lack of correlation for sodium iodide symporter mRNA and protein expression and analysis of sodium iodide symporter promoter methylation in benign cold thyroid nodules. *Thyroid* 2004; 14: 99–111.
70. Fujiwara H, Tatsumi K, Miki K i wsp. Congenital hypothyroidism caused by a mutation in the Na<sup>+</sup>/I<sup>-</sup> symporter in patients with iodide transport defect. *Nature Genet* 1997; 16: 124–125.
71. Pohlenz J, Medeiros-Neto G, Gross JT i wsp. Hypothyroidism in a Brazilian kindred due to iodide trapping defect caused by a homozygous mutation in the sodium/iodide symporter gene. *Biochem Biophys Res Commun* 1997; 240: 488–491.
72. Pohlenz J, Rosenthal IM, Weiss RE i wsp. Congenital hypothyroidism due to mutations in the sodium/iodide symporter. Identification of a nonsense mutation producing a downstream cryptic 3' splice site. *J Clin Invest* 1998; 101: 1028–1035.
73. Pohlenz J, Refetoff S. Mutations in the sodium/iodide symporter (NIS) gene as a cause for iodide transport defects and congenital hypothyroidism. *Biochimie* 1999; 81: 469–476.
74. Matsuda A, Kosugi S. A homozygous missense mutation of the sodium/iodide symporter gene causing iodide transport defect. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82: 3966–3971.
75. Russo D, Manole D, Arturi F i wsp. Absence of sodium/iodide symporter gene mutations in differentiated human thyroid carcinomas. *Thyroid* 2001; 11: 37–39.
76. Esteller M, Corn PG, Baylin SB i wsp. A gene hypermethylation profile of human cancer. *Cancer Res* 2001; 61: 3225–3229.
77. Robbins RJ, Tuttle RM, Sonenberg M i wsp. Radioiodine ablation of thyroid remnants after preparation with recombinant human thyrotropin. *Thyroid* 2001; 11: 865–869.
78. Spitzweg C, Harrington KJ, Pinke LA i wsp. The sodium/iodide symporter and its potential role in cancer therapy. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86: 3327–3335.
79. Norden MM, Larson F, Tedelind S. Down-regulation of the sodium/iodide symporter explains 131I-induced thyroid stunning. *Cancer Res* 2007; 1, 67: 7512–7517.
80. Gerard AC, Daumerie C, Mestdach C i wsp. Correlation between the loss of thyroglobulin iodination and the expression of thyroid-specific proteins involved in iodine metabolism in thyroid carcinomas. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88: 4977–4983.
81. Durante C, Puxeddu E, Ferretti E i wsp. BRAF mutations in papillary thyroid carcinomas inhibit genes involved in iodine metabolism. *J Clin Endocrinol Metab* 2007; 92: 2840–2843.
82. Saito T, Endo T, Kawaguchi A i wsp. Increased expression of the sodium/iodide symporter in papillary thyroid carcinomas. *J Clin Invest* 1998; 101: 1296–1300.
83. Dohan O, Baloch Z, Banrevi Z i wsp. Predominant intracellular overexpression of the Na<sup>+</sup>/I<sup>-</sup> symporter (NIS) in a large sampling of thyroid cancer cases. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86: 2697–2700.
84. Trapasso F, Iuliano R, Chiefari E i wsp. Iodide symporter gene expression in normal and transformed rat thyroid cells. *Eur J Endocrinol* 1999; 140: 447–451.
85. Venkateswaran A, Marsee DK, Green SH i wsp. Forskolin, 8-Br-3',5'-cyclic adenosine 5'-monophosphate and catalytic protein kinase A expression in the nucleus increase radioiodide uptake and sodium/iodide symporter protein levels in RET/PTC1-expressing cells. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89: 6168–6172.
86. Park HJ, Kom JY, Park KY i wsp. Expression of human sodium iodide symporter mRNA in primary and metastatic papillary thyroid carcinoma. *Thyroid* 2000; 10: 211–217.
87. Arturi F, Russo D, Schlumberger M i wsp. Iodide symporter gene expression in human thyroid tumors. *J Clin Endocrinol Metab* 1998; 83: 2493–2496.
88. Woodmansse WW, Haugen BR. Uses for recombinant human TSH in patients with thyroid cancer and nodular goiter. *Clin Endocrinol* 2004; 61: 163–173.
89. Schmutzler C, Winzer R, Meissner-Weigl J i wsp. Retinoic acid increases sodium/iodide symporter mRNA levels in human thyroid cancer cell lines and suppress expression of functional symporter in nontransformed FRTL-5 rat thyroid cell. *Biochem Biophys Res Commun* 1997; 240: 832–838.
90. Venkataraman GM, Yatin M, Marcinek R i wsp. Restoration of iodide uptake in dedifferentiated thyroid carcinoma: relationship to human Na<sup>+</sup>/I<sup>-</sup> symporter gene methylation status. *J Clin Endocrinol Metab* 1999; 84: 2449–2457.
91. Fortunati N, Catalano MG, Arena K i wsp. Valproic acid induces the expression of the Na<sup>+</sup>/I<sup>-</sup> symporter and iodine uptake in poorly differentiated thyroid cancer cells. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89: 1006–1009.
92. Smit JW, Schroder-van der Elst JP, Karperien M i wsp. Reestablishment of in vitro and in vivo iodide uptake by transfection of the human sodium iodide symporter (hNIS) in a hNIS defective human thyroid carcinoma cell line. *Thyroid* 2000; 10: 939–943.
93. Hsieh YJ, Ke CC, Liu RS. Radioiodide imaging and treatment of ARO cancer xenograft in a mouse model after expression of human sodium iodide symporter. *Anticancer Res* 2007; 27: 2515–2522.
94. Elisei R, Vivaldi A, Ciampi R i wsp. Treatment with drugs able to reduce iodine efflux significantly increases the intracellular retention time in thyroid cancer cells stably transfected with sodium iodide symporter complementary deoxyribonucleic acid. *J Clin Endocrinol Metab* 2006; 91: 2389–2395.
95. Spitzweg C, Dietz AB, O'Connor MK i wsp. In vivo sodium iodide symporter therapy of prostate cancer. *Endocr J* 2000; 47: 110 (supl. 2000).

96. Cho JY. A transporter gene (sodium iodide symporter) for dual purposes in gene therapy: imaging and therapy. *Curr Gene Ther* 2002; 2: 393–402.
97. Mitrofanova E, Unfer R, Vahanian N i wsp. Rat sodium iodide symporter for radioiodide therapy of cancer. *Clin Cancer Res* 2004; 10: 6969–6976.
98. Goel A, Carlson SK, Classic KL i wsp. Radioiodide imaging and radiotherapy of multiple myeloma using VSV( $\Delta$ 51)-NIS, an attenuated vesicular stomatitis virus encoding the sodium iodide symporter gene. *Blood* 2007; 110: 2342–2350.
99. Huang M, Batra RK, Kogai T i wsp. Ectopic expression of the thyreoperoxidase gene augments radioiodide uptake and retention mediated by the sodium iodide symporter in non-small cell lung cancer. *Cancer Gene Ther* 2001; 8: 612–618.
100. Schipper ML, Weber A, Behe M i wsp. Radioiodine treatment after sodium iodide symporter gene transfer is a highly effective therapy in neuroendocrine tumor cells. *Cancer Res* 2003; 63: 1333–1338.
101. Dwyer RM, Bergert ER, O'Connor MK i wsp. Sodium iodide symporter-mediated radioiodine imaging and therapy of ovarian tumor xenografts in mice. *Gene Ther* 2006; 13: 60–66.
102. Boland A, Ricard M, Opolon P i wsp. Adenovirus-mediated transfer of the thyroid sodium/iodide symporter gene into tumors for a targeted radiotherapy. *Cancer Res* 2000; 60: 3484–3492.
103. Faivre J, Clerc J, Gerolami R i wsp. Long-term radioiodine retention and regression of liver cancer after sodium iodide symporter gene transfer in Wistar rats. *Cancer Res* 2004; 64: 8045–8051.
104. Vadysirisack DD, Shen DH, Jhiang SM. Correlation of Na<sup>+</sup>/I<sup>-</sup> symporter expression and activity: implications of Na<sup>+</sup>/I<sup>-</sup> symporter as an imaging reporter gene. *J Nucl Med* 2006; 47: 182–190.
105. Dingli D, Bergert ER, Bajzer Z i wsp. Dynamic iodide trapping by tumor cells expressing the thyroidal sodium iodide symporter. *Bioch Bioph Res Com* 2004; 325: 157–166.