

УДК 616.441-006.5:577.15.158+616-008.9

©Коллектив авторов

АКТИВНОСТЬ АНТИОКСИДАНТНЫХ СИСТЕМ И ПЕРЕКИСНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ В УЗЛОВОЙ И НЕУЗЛОВОЙ ТКАНИ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ БОЛЬНЫХ, ОПЕРИРОВАННЫХ ПО ПОВОДУ ЭУТИРЕОИДНОГО УЗЛОВОГО ЗОБА.

*Л.И. Надольник¹, А.С. Гривачевский², Н.Э. Петушок¹,
Т.И. Хомич¹, В.В. Виноградов¹*

¹Институт биохимии НАН Беларуси, Беларусь, 230017, г. Гродно, ул. БЛК-50;
тел.: 8 0521 337761; факс: 8 0152 334121; эл. почта: lnadolnik@tut.by

²Гродненская областная клиническая больница, Гродно, Беларусь

Исследовали активность антиоксидантных систем (АОС) и перекисного окисления липидов (ПОЛ) в ткани щитовидной железы (операционный материал) 113 больных с эутиреоидным узловым зобом (в аденоме, карциноме и коллоидном зобе а также в ткани прилегающей к узлу). Показано, повышение активности супероксиддисмутазы (СОД) на 101,0 и 125,9%, каталазы на 76,6 и 71,2%, глутатионпероксидазы на 109,6 и 249,2%, глутатионредуктазы на 84,0 и 195,9%, концентрации альдегидных продуктов ПОЛ на 148,0 и 120,0% соответственно в ткани аденомы и карциномы ЩЖ. Повышение активности АОС (СОД в 1,62 раза), уровня альдегидных продуктов ПОЛ (1,62-1,65 раз) в неузловой ткани этих больных свидетельствует о токсичности злокачественных и доброкачественных опухолей для щитовидной железы. Выраженная активация окислительного стресса: повышение активности СОД (на 38,8-40,7%), концентрации восстановленного глутатиона (на 52,4-90,0%) и ТБКРС (на 37,6-52,7%), в узловой и неузловой ткани ЩЖ больных с многоузловым коллоидным зобом предполагает участие свободнорадикальных механизмов в развитии узловой патологии ЩЖ.

Ключевые слова: щитовидная железа, узловой зоб, аденома, карцинома, ТБК-реактивные продукты ПОЛ, антиоксидантный статус.

ВВЕДЕНИЕ. Узловая патология щитовидной железы (ЩЖ) является наиболее часто встречающейся тиреоидной нозологией. Важнейшим фактором, провоцирующим развитие узлового зоба, является, йодная недостаточность [1, 2]. Вторая причина - это экологический фактор и, по-видимому, наиболее значимый - повышение радиационного фона. Выраженный рост заболеваний ЩЖ (узловой коллоидный зоб, аденомы, рак) отмечен на территории России [3, 4], Белоруссии в последние 10-15 лет [5]. Такие же закономерности были обнаружены у жителей Хиросимы и Нагасаки, Маршалловых островов после взрыва атомной бомбы [6, 7].

Вместе с тем, молекулярные механизмы развития узловых образований в ЩЖ в настоящее время окончательно не установлены. Однако, наличие узлового образования в ЩЖ, особенно аденомы или злокачественной опухоли, может оказывать, по-видимому, влияние на метаболизм клеток в здоровой неузловой ткани. Токсичны ли узловые образования для ЩЖ? Важнейшим показателем здесь может являться, на наш взгляд, активность процессов свободнорадикального

окисления (СРО), а также антиоксидантных систем (АОС). В литературе мы обнаружили несколько подобных исследований, проведенных в отношении раковых тканей ЩЖ человека, полученные данные противоречивы. Показано, что в ткани фолликулярной карциномы повышено содержание малонового диальдегида и снижена активность супероксиддисмутазы (СОД) и глутатионпероксидазы (ГП) [8]. Результаты, полученные Sadani [9], свидетельствуют о снижении активности СОД в аденоме и росте активности СОД, каталазы и ГП в карциноме ЩЖ.

Основная задача проведенного нами исследования: изучить влияние злокачественных опухолей, и аденом на антиоксидантный статус неузловой тиреоидной ткани, а также оценить роль активации окислительных процессов в развитии узловой патологии ЩЖ.

МЕТОДИКА. Проведено обследование 113 больных, оперированных по поводу эутиреоидного узлового зоба. Данные гистологического исследования операционного материала позволили выделить следующие группы пациентов: А - узловой коллоидный зоб (43 больных), В - многоузловой коллоидный зоб (30 больных), С - диффузный токсический зоб (8 больных), D - аденома щитовидной железы (20 больных), Е - рак щитовидной железы (12 больных). Группа D представлена 14 фолликулярными и 3 тубулярными аденомами, группа Е: - 6 папиллярными, 2 фолликулярными карциномами и 3 смешанными недифференцированными раками

В крови всех больных измеряли содержание тироксина (T_4) и трийодтиронина (T_3) радиоиммунологическим методом с использованием наборов ХОП ИБОХ НАНБ, Минск (Республика Беларусь). Для исследования нами была взята неузловая (прилегающая к узлу) ткань ЩЖ, а также узел. Непосредственно в день забора ткани в гомогенате (1:10) щитовидной железы определялась концентрация стабильных альдегидных продуктов ПОЛ, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой (ТБКРС), базальный и спонтанно-активированный уровень (после инкубации в течение часа при 37°C) [10]. Активность СОД измеряли в реакции аутоокисления кверцетина [11], каталазы (КАТ) - спектрофотометрически по разложению H_2O_2 , которую определяли в реакции с молибдатом аммония [12]. О системе метаболизма глутатиона (Г-SH) в ЩЖ судили по уровню восстановленного Г-SH в реакции с реактивом Элмана [13], активность ГП измеряли [14] по остаточному Г-SH с использованием реактива Элмана, а глутатионредуктазы (ГР) - спектрофотометрически по окислению NADPH [15]. Полученные данные обработаны статистически с использованием компьютерной программы "STATISTICA 5.5".

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ. В качестве контроля нами рассматривалась неузловая ткань щитовидной железы больных, содержащая единичный коллоидный узел - группа А. По данным гистологического исследования, неузловая ткань имела нормопластическое строение без признаков склероза и лимфоидной инфильтрации стромы. Уровень тиреоидных гормонов T_4 и T_3 в крови обследованных больных всех групп соответствовал эутиреоидному состоянию (рис. 1), лишь в крови больных с диффузным токсическим зобом он был повышен в 1,49-1,91 раза. Как видно из представленных данных (рис. 2), базальный уровень стабильных альдегидных продуктов ПОЛ, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой (ТБКРС), в контрольной ткани составляет $114,5 \pm 10,7$ нмоль/г белка. В группе В - он повышен в 1,38-1,53 раза как в неузловой ткани, так и в узле. Наиболее выраженное повышение уровня токсичных продуктов ПОЛ отмечено в ткани аденомы (в 2,48 раза) и рака щитовидной железы (в 2,20 раза), 284,5 и 252,4 нмоль/г белка соответственно. В неузловой ткани больных с аденомой и карциномой ЩЖ повышение концентрации ТБКРС значительно менее выражено (1,62 и 1,65 раза по сравнению с контрольной тканью соответственно). В условиях спонтанной активации ПОЛ (рис. 3) сохраняется практически та же закономерность. Повышение концентрации токсичных альдегидных продуктов

ПОЛ в узловой и неузловой ткани ЩЖ - результат смещения антиоксидантно-прооксидантного равновесия в сторону активации окислительных процессов. Об этом свидетельствует также и активация ферментов АОС защиты.

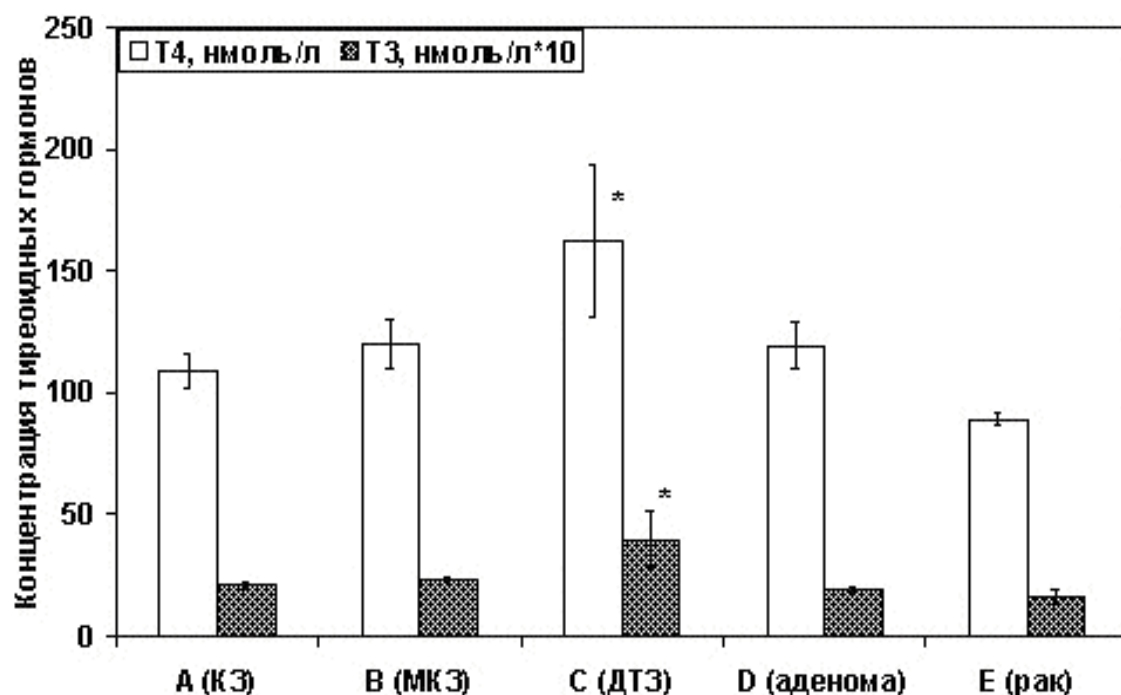


Рисунок 1.

Концентрация T_3 и T_4 (нМ) в плазме крови обследованных оперированных больных с ЭУЗ и ДТЗ; * $p < 0,05$ по отношению к неузловой ткани группы А (коллоидный зоб), (те же обозначения и на других рисунках).

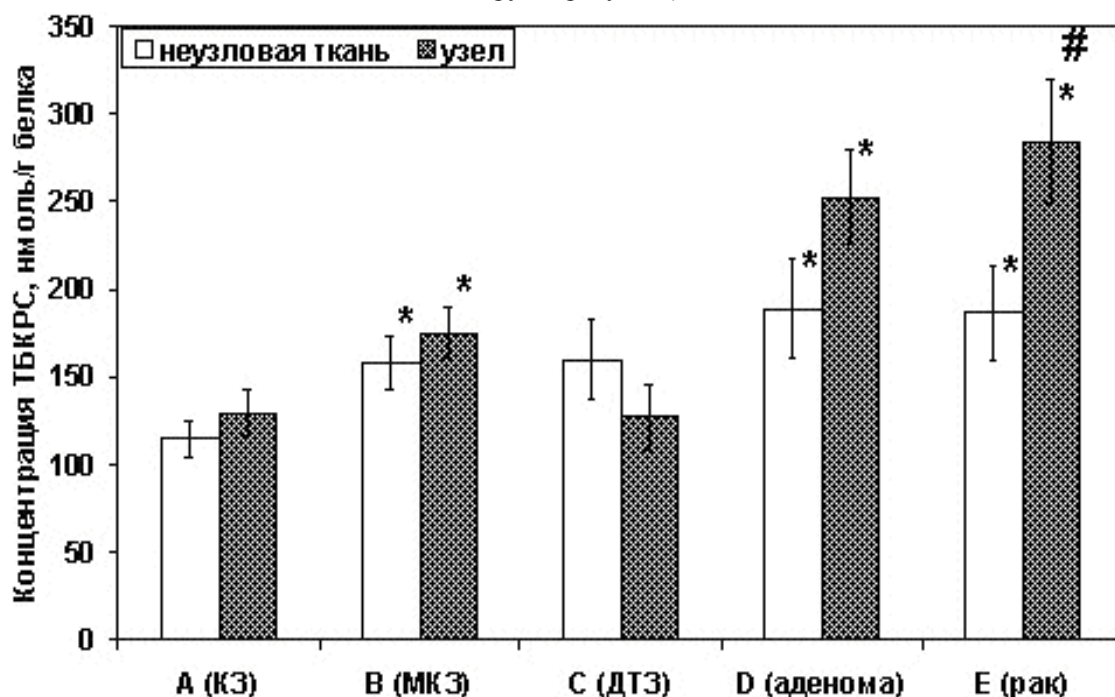


Рисунок 2.

Концентрация ТБКРС (нмоль/г белка) (базальный уровень) в узловой и неузловой ткани щитовидной железы у оперированных больных с ЭУЗ и ДТЗ; # $p < 0,05$ статистически достоверная значимость между узловой и неузловой тканью в одной группе (те же обозначения и на других рисунках).

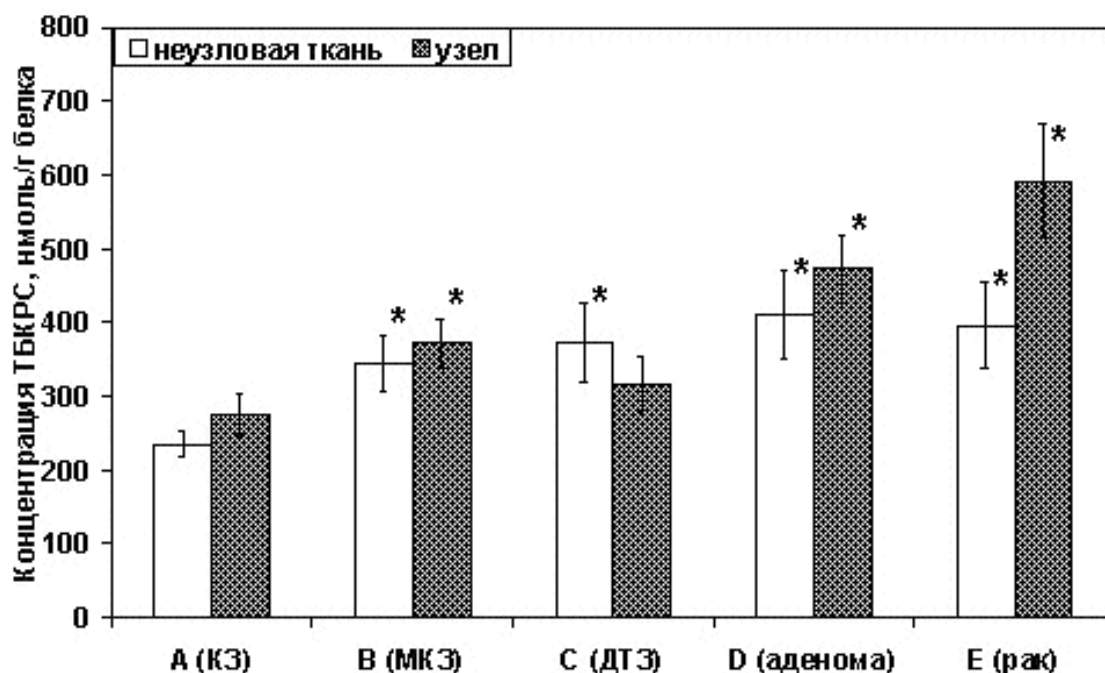


Рисунок 3.

Концентрация ТБКРС (нмоль/г белка) – спонтанно активированный уровень - в узловой и неузловой ткани щитовидной железы у оперированных больных с ЭУЗ и ДТЗ.

Обнаружено выраженное повышение, в первую очередь, в узловой ткани, активности ферментов первой линии обезвреживания свободных радикалов - СОД и каталазы. Активность СОД (рис. 4) наиболее значительно повышена в раковом узле - на 125,9%, и составляет $593,0 \pm 102$ нмоль/мг белка; в аденоме на 101,4%, и составляет $528,6 \pm 72,5$ нмоль/мг белка. В прилегающей неузловой ткани, активность СОД также достоверно повышена, однако, в меньшей степени. Повышение активности СОД, наиболее вероятно, обусловлено ростом концентрации в исследуемой ткани супероксидного аниона. Источником активных форм кислорода в клетках ЩЖ могут являться реакции окислительного фосфорилирования в митохондриях, а также NADPH-тиреоксидаза [16]. Следствием повышения концентрации супероксидного радикала является и увеличение концентрации H_2O_2 , о чем свидетельствует увеличение активности КАТ (рис. 5) в ткани аденомы в 1,76 раза и раковой ткани в 1,71 раза. Практически в такой же степени в 1,66-1,89 раза возрастает каталазная активность в неузловой ткани ЩЖ больных с аденомой и злокачественной опухолью. Представленные данные согласуются с гипотезой, согласно которой [17] любая пролиферация клеток сопровождается активацией окислительных процессов в клетке и переходом её к более прооксидантному состоянию. Важную роль в инициации процессов пролиферации отводится супероксидному радикалу и H_2O_2 [18].

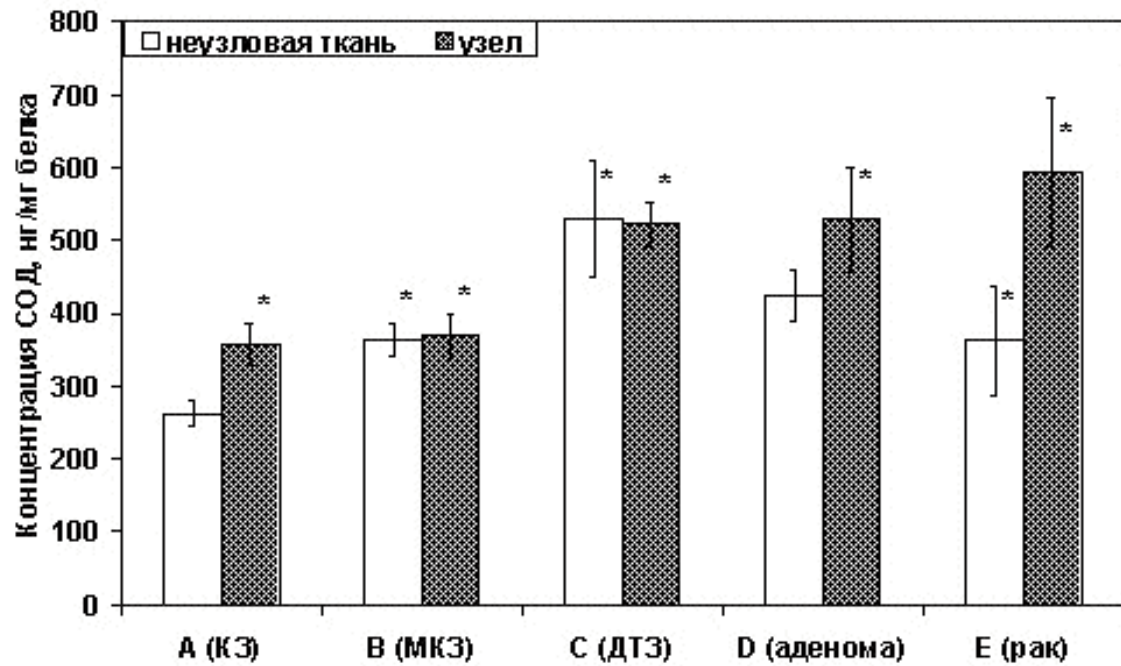


Рисунок 4.

Концентрация СОД (нг/мг белка) в узловой и неузловой ткани щитовидной железы у оперированных больных с ЭУЗ и ДТЗ.

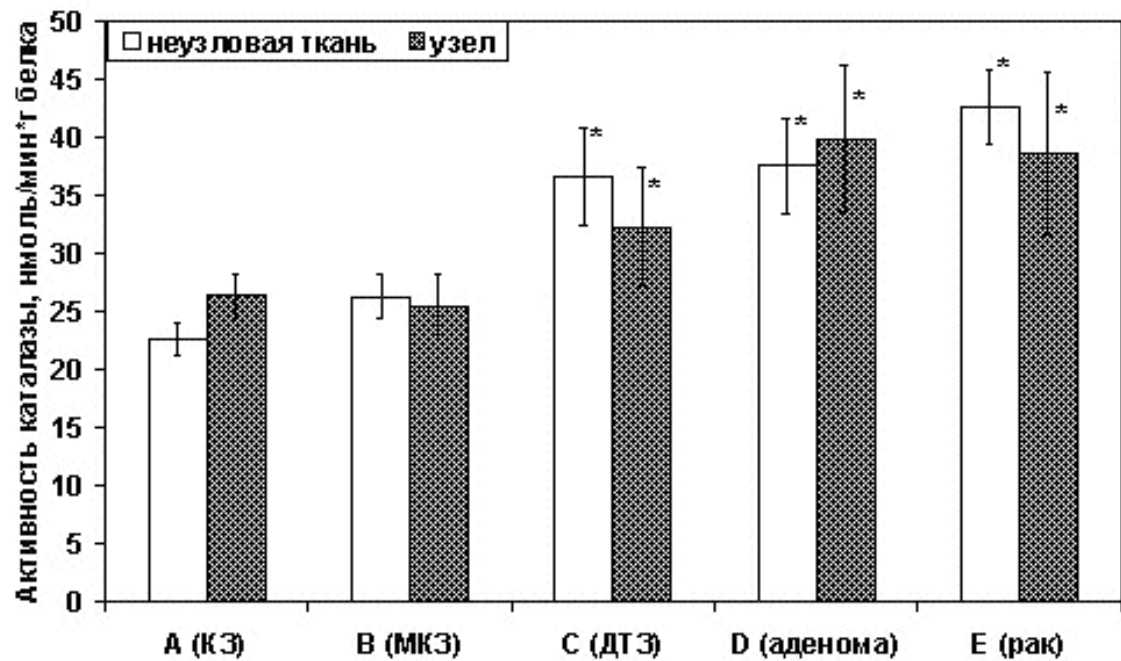


Рисунок 5.

Активность каталазы (нмоль/мин·г белка) в узловой и неузловой ткани щитовидной железы у оперированных больных с ЭУЗ и ДТЗ.

Учитывая ключевую роль системы метаболизма глутатиона в защите клетки от пероксидного стресса, мы определили в ткани ЩЖ активность ГП и ГР, а также концентрацию восстановленного Г-SH. Повышение концентрации Г-SH обнаружено в узловой и неузловой ткани всех групп обследованных больных (рис. 6). Причем, рост содержания восстановленного Г-SH был сопряжен с тяжестью патологии ЩЖ. Если в контрольной группе А концентрация Г-SH в нормальной ткани составляла $5,53 \pm 0,52$ нмоль/мг белка, то в ткани аденомы и ракового узла $28,47 \pm 5,34$ и $26,81 \pm 8,1$ нмоль/мг белка, что соответственно в 5,14 и 4,48 раза выше контрольных значений. В ткани ЩЖ больных с диффузным токсическим зобом концентрация Г-SH повышена в 2,21-2,25 раза, а у больных с многоузловым коллоидным зобом в 1,53-1,90 раза. Концентрация Г-SH повышена даже в узловой ткани больных группы А. Повышение концентрации Г-SH в узловой ткани, безусловно, является адаптационной реакцией направленной на снижения уровня свободных радикалов и перекисей в клетках щитовидной железы в условиях активации окислительного стресса. Особенно это характерно для ткани аденомы и рака ЩЖ; об этом свидетельствует также и повышение активности ГП и ГР. Активность ГП в ткани аденомы повышена на 109,6%, в ткани карциномы еще более значительно - на 249,18% (рис. 7). Активность ГР возрастает несколько в меньшей степени соответственно на 84,0% и 196,0% в ткани аденомы и рака ЩЖ (рис. 8). В других узловых образованиях группы А, В и С повышения активности ГП и ГР не обнаружено. Более того, активность глутатионзависимых ферментов не отличается от контрольных значений в неузловой ткани ЩЖ всех групп обследованных больных, кроме больных со злокачественными опухолями, где активность ГР составляет $28,9 \pm 10,4$ нмоль/мин·г белка (в 3,2 выше по сравнению с контролем).

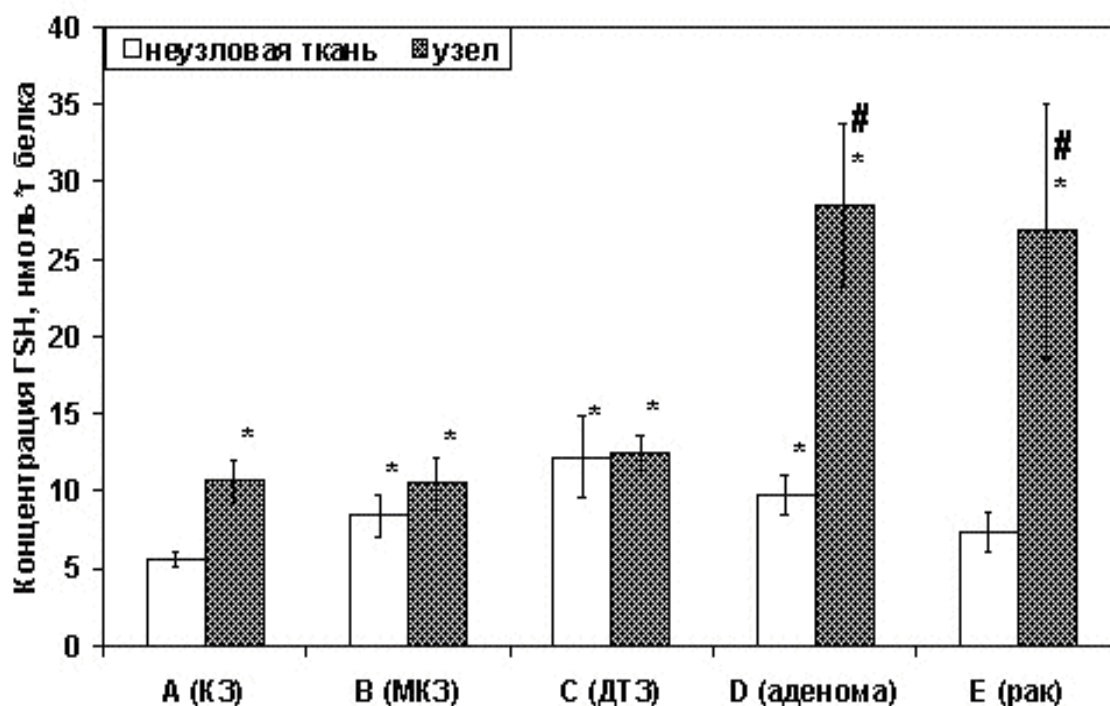


Рисунок 6.

Концентрация восстановленного глутатиона (нмоль/г белка) в узловой и неузловой ткани щитовидной железы у оперированных больных с ЭУЗ и ДТЗ.

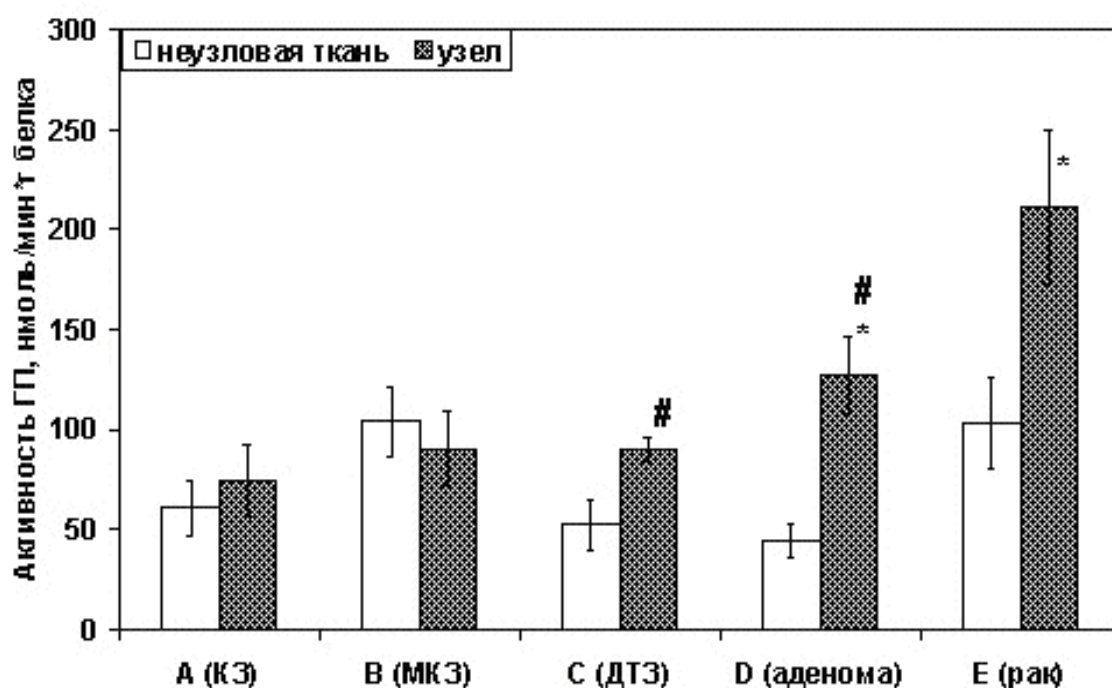


Рисунок 7.

Активность глутатионпероксидазы (нмоль/мин·г белка) в узловой и неузловой ткани щитовидной железы у оперированных больных с ЭУЗ и ДТЗ.

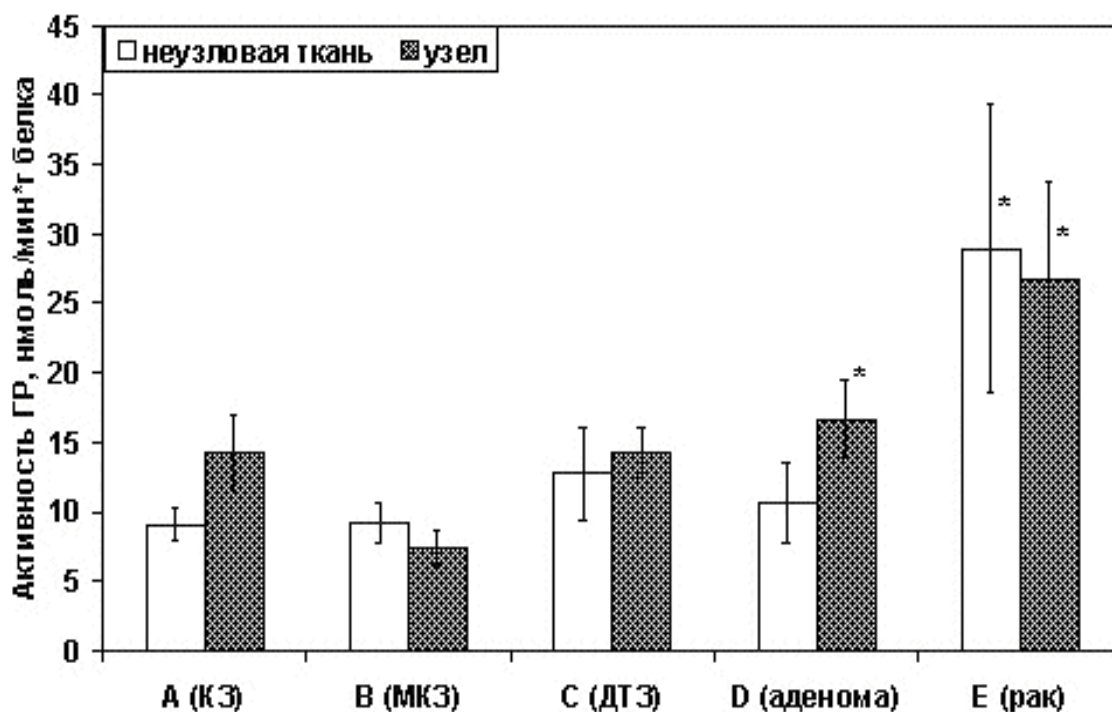


Рисунок 8.

Активность глутатионредуктазы (нмоль/мин·г белка) в узловой и неузловой ткани щитовидной железы у оперированных больных с ЭУЗ и ДТЗ.

Представленные данные свидетельствуют, что развитие узловой патологии сопровождается активацией окислительных процессов в ткани ЩЖ. Особенно это характерно для аденомы и рака, где содержание активных форм кислорода, а также токсичных продуктов ПОЛ очень высоко. Наличие в ЩЖ участка с выраженной активацией процессов пероксидации не может не сказаться на состоянии антиоксидантно-прооксидантного равновесия и во всем органе. Об этом свидетельствует повышение концентрации ТБКРС, активности ферментов первого звена АОС защиты, а также концентрации восстановленного Г-SH в неузловой ткани ЩЖ. Следовательно, аденомы и раковые узлы являются, по-видимому, токсичными для ткани щитовидной железы. Состояние про/антиоксидантного равновесия, вероятно, играет важную регуляторную роль в функционировании клеток ЩЖ, поскольку тироциты относятся к немногочисленным клеткам, специализированный метаболизм которых предполагает постоянное образование высоких концентраций активных форм кислорода (АФК) в ответ на физиологическое стимулирующее действие ТТГ. Повышение концентрации в тироцитах альдегидных продуктов ПОЛ сопровождается снижением активности двух важнейших тиреоид-специфических промоторов – тиреоглобулина и тиреопероксидазы [19], что, безусловно, вызывает ингибирование функциональной активности ЩЖ. Однако, активация окислительного стресса в ткани самой ЩЖ может являться фактором, провоцирующим развитие, как аденомы, так и рака ЩЖ, поскольку активные формы кислорода и H_2O_2 играют важную роль в патогенезе новообразований [20, 21].

Отдельно хотелось бы остановиться на анализе результатов группы В - многоузловой коллоидный зоб. В эту группу вошли пациенты, в ЩЖ которых было 2-8 коллоидных узлов, а при гистологическом исследовании выявлены изменения неузловой ткани. Это очаговый склероз стромы, а также очаговая или выраженная лимфоидная инфильтрация стромы. В ЩЖ этой группы больных концентрация токсичных альдегидных продуктов ПОЛ повышена в одинаковой степени в узловой и неузловой ткани, в 1,4-1,5 раза в отличие от ракового узла или аденомы (рис. 2,3). Значительно повышена также и активность СОД в 1,40 раза и концентрация восстановленного Г-SH в 1,5-1,9 раза. Активность ГП и ГР не отличается от контроля. В данном случае мы, по-видимому, можем говорить, о том, что повышение во всей ткани ЩЖ концентрации активных форм кислорода, перекисей, продуктов ПОЛ, обладающих мутагенными свойствами и выраженной цитотоксичностью [22], провоцирует нарушение функциональной активности тироцитов и развитие многоузлового зоба, фактически нарушая функциональную активность всего эндокринного органа. Эти данные, на наш взгляд, однозначно свидетельствуют об участии свободнорадикальных процессов в механизмах нарушения функциональной активности клеток щитовидной железы и патогенезе узлового зоба. Учитывая, что повышенный радиационный фон - это, в первую очередь, активация свободнорадикальных процессов в клетках и тканях, вклад именно этого фактора является, по-видимому, ведущим в развитии и росте узловой тиреоидной патологии у населения, проживающего в экологически неблагоприятных районах. Кроме того, здесь важную роль может играть и фактор йодной обеспеченности ЩЖ, поскольку показано, что при йодном дефиците в ЩЖ крыс повышается уровень МДА, снижается активность СОД и ГР [23].

В ткани ЩЖ больных с диффузным токсическим зобом обнаружены несколько другие закономерности. Активность СОД повышена в 2,02 раза, каталазы в 1,4-1,6 раза, концентрация восстановленного глутатиона в 2,2 раза, что однозначно свидетельствует о повышении концентрации активных форм кислорода. Однако мы не обнаружили увеличения концентрации альдегидных ТБК-реактивных продуктов ПОЛ.

Таким образом, полученные нами данные свидетельствуют, что в ткани злокачественных опухолей и аденомы ЩЖ значительно повышена активность антиоксидантных ферментных систем, концентрация активных форм кислорода,

а также продуктов ПОЛ, что, по-видимому, является токсичным для узловой ткани ЩЖ. Поскольку в ней также отмечена активация процессов свободно-радикального окисления, сопровождающаяся повышением активности ферментов АОС и концентрации токсичных продуктов ПОЛ. Активация окислительных процессов в одинаковой степени в узловой и узловой тиреоидной ткани, в случае многоузлового коллоидного зоба, предполагает, по-видимому, участие свободных радикалов, перекисей в патогенезе узловой патологии щитовидной железы, механизмы развития которой, безусловно, требуют детального исследования.

ЛИТЕРАТУРА

1. Касаткина Э.П., Шилин Д.Е., Ибрагимова Г.В., Пыков М.И., Рюмин Г.А., Рябых А.В. (1997) Пробл. эндокринолог., **43**(3), 3-7.
2. Дедов И.И., Свириденко И.Ю. (2001) Пробл. эндокринолог., **47**(6), 3-12.
3. Булдаков Л.А., Гуськова А.К. (2002) Радиационная биол. радиоэкол., **42**(2), 228-233.
4. Дедов В.И., Дедов И.И., Степаненко В.Ф. (1993) Радиационная эндокринология. Медицина, М.
5. Nikiforov Y., Gnepp D.R., Fagini J.A. (1996) J. Clin. Endocrinol. Metab., **81**, 9-14.
6. Conard R.A., Rall J.E., Sutow W.W. (1966) New Engl. J. Med., **274**, 1391-1399.
7. Hamilton N., Belle G., Lo Gerfo (1987) J.A.M.A., **258**, 629-636.
8. Durak J., Bayram F., Kavutcu M., Canbolat O., Ozturk H. (1996) J. Endocrinol. Invest., **19**, 312-315.
9. Sadani G.R., Nadkarni G.D (1996) Cancer Lett., **109**, 231-235.
10. Стальная И.Д., Гаришвили Т.Г. (1977) в кн.: Современные методы в биохимии. (Под ред. В.Н.Ореховича.) М.:Медицина, с. 66-68.
11. Костюк А.И., Потапович А.И., Ковалева Ж.В. (1990) Вопр. мед. химии, **36**(2), 88-91.
12. Корольюк М.А., Иванова И.А., Майорова И.Г., Токарев И.В. (1988) Лаб. дело, №1, 16-19.
13. Seldak J., Lindsay R.H. (1968) Anal. Biochem., **25**, 192-205.
14. Кругликова А.А., Штутман Ц.М. (1976) Укр. биохим. ж., **48**(2), 223-228.
15. Хотимченко С.А., Алексеева И.А., Гвоздова Л.Г., Смирнова А.Н. (1987) в кн.: Теоретические и клинические аспекты науки о питании. М., с. 107-109.
16. Nakamura Y., Makino R., Tanaka T. (1991) Biochemistry, **20**, 4880-4886.
17. Burdon R.H. (1995) Free Radikal. Biol. Med., **18**, 775-794.
18. Нариманов А.А., Корыстов Ю.Н. (1995) Радиационная биол. радиоэкол., **35**(2), 282-285.
19. Lonigro R., Donnini D., Febbro D., Perrella G., Damante G., Ambesi Impiombato F., Curcio F. (2000) Endocrinol., **141**, 901-909.
20. Mano T., Shinohara R., Iwase K., Kotake M., Hamada M., Uchimuro K., Hayakawa N., Hayashi R., Nakai A., Ishizuki Y., Nagasaka A. (1997) Horm. Metab. Res., **29**, 351-354.
21. Бурлакова Е.Б., Михайлов В.Ф., Мазурик В.К. (2001) Радиационная биол. радиоэкол., **41**(5), 489-499.
22. Schraufstatter I.U., Hyslop P.A., Jackson J., Cochrane C.C. (1987) Int. J. Tissue React., **9**, 317-324.
23. Yan Y., Fang H., Xiang J. (2000) Zhonghuf Yu Fang Yi Xue Za Zhi Sep, **34**, 266-268.

Поступила: 15. 04. 2004.

ANTIOXIDANT SYSTEM ACTIVITIES AND LIPID PEROXIDATION IN NODAL AND NON-NODAL THYROID TISSUE OF PATIENTS OPERATED IN CONNECTION WITH EUTHYROID NODULAR GOITER

L.I. Nadolnik¹, A.S. Grivachevsky², N.E. Petushok¹, T.I. Chomich¹, V.V. Vinogradov¹

¹Institute of Biochemistry National Academy of Sciences of Belarus, BLK-50, Grodno, 230017 Belarus; tel.: 337761; fax: 8 0152 334121; e-mail: lnadolnik@tut.by

²Regional Clinical Hospital, Grodno, Belarus

The activities of the antioxidant systems (AOS) and lipid peroxidation (LP) were studied in the thyroid (operation material) of patients with euthyroid nodular goiter (in carcinoma, adenoma, colloid goiter tissues as well as in non-nodular adjacent thyroid tissue). Increased activities of superoxide dismutase (SOD, by 101.0 and 125.9%), catalase (by 76.6 and 71.2%), glutathione peroxidase (by 109.6 and 249.2%), glutathione reductase (by 84.6 and 195.9%) and LP aldehyde products (by 148.5 and 120.4%) were found in the adenoma and carcinoma tissues. The increased antioxidant system activity (SOD by 1.62-fold) and LP level by 1.62-1.65 - fold in the non-goiter adjacent tissue from these patients indicate toxicity of malignant and non-malignant tumors for the adjacent normal thyroid tissues. Marked activation of oxidative stress (increased SOD activity (by 38.8-40.7%) reduced glutathione (52.4-90.0%) and TBARS concentrations (37.6-52.7%) in the nodal and non-nodal thyroid tissue in patients with multinodular colloid goiter suggest participation of free radical mechanisms in the disturbance of thyrocytes iodine metabolism and development of thyroid nodular pathology.

Keywords: thyroid, nodular goiter, adenoma, carcinoma, TBARS, antioxidant systems.