

УДК 616.379-008.64 : 616.13

Стан стрес-залежних систем та рівень молекулярних ушкоджень у хворих на одnobічний ендемічний вузловий колоїдний зоб

Г.І. Фальфушинська^{1,2},
Л.Л. Гнатишина^{1,2},
В.О. Шідловський²,
О.Б. Столяр¹

¹ Тернопільський національний педагогічний університет ім. Володимира Гнатюка;

² Тернопільський державний медичний університет ім. І.Я. Горбачевського

Резюме. Досліджено субклітинний розподіл йоду, стан стрес-залежних систем та рівень молекулярних ушкоджень у вузлі, позавузловій паранодулярній тканині (ПТ) та тканині контралатеральної частки (ТКЧ) щитоподібної залози, не ураженої вузлом. Встановлено нижчий вміст органічного йоду (на 23 та 15% відповідно) та вищий вміст неорганіфікованого йоду (на 46 та 32% відповідно) у вузлі та ПТ порівняно з ТКЧ. У вузлі та ПТ спостерігається також зменшення вмісту глутатіону, збільшення вмісту металотіонеїнів та металів у їх складі, підвищення активності лактатдегідрогенази та катепсину Д. Проте за низкою характеристик вузол та ПТ відрізняються. У вузлі відмічено узгоджену активацію супероксиддисмутази (на 81%), каталази (на 99%) та глутатіонтрансферази (на 212%), на тлі збільшення вмісту оксирадикалів та посилення фрагментації ДНК. Специфічними характеристиками ПТ є зменшення вмісту оксирадикалів та пригнічення холінестеразної активності. Відтак можна говорити про виснаження компенсаторних можливостей гіпертрофованих тиреоцитів у вузлі порівняно із ПТ, не зважаючи на певні компенсаторні зміни у стрес-залежних системах.

Ключові слова: йододефіцитний вузловий колоїдний зоб, йод, оксидативний стрес, анаеробіоз, металотіонеїни, цитотоксичність, апоптоз.

Йододефіцитні захворювання відносяться до числа найбільш поширених неінфекційних захворювань людини [1,2]. Недостача йоду при-

зводить до розладів репродуктивної системи, кретинізму, ендемічного зобу, причому останній посідає чільне місце з-поміж йододефіцитної патології [3]. За даними ВООЗ, на ендемічний зоб страждає близько 7% населення планети [1]. У зв'язку з цим питання диференціальної діагностики, прогнозу та вибору клініко-морфологічних критеріїв функціональної автономії і прогресу-

* адреса для листування (Correspondence): Тернопільський національний педагогічний університет ім. Володимира Гнатюка, вул. М. Кривоноса, 2, Тернопіль, 46027, Україна. e-mail: halynka.f@gmail.com

© Г.І. Фальфушинська, Л.Л. Гнатишина, В.О. Шідловський, О.Б. Столяр

Оригінальні дослідження

вання зростання вузлів являють собою актуальну проблему сучасної медичної біохімії, клінічної ендокринології, хірургії та онкології.

Одним з найбільш універсальних механізмів розвитку патологічних станів є надмірне утворення вільних радикалів та ініціація окисного стресу, внаслідок чого виникає низка молекулярних і генетичних порушень [4-6]. Механізми розвитку гіпо- та гіпертиреозу, канцерогенезу щитоподібної залози опосередковано через окисне ушкодження тиреоцитів досліджені на достатньому рівні [7-9]. Проте щодо ендемічного йододифіцитного вузлового колоїдного зоба ці дані практично відсутні [3,5]. При порівнянні показників тканини щитоподібної залози хворих на колоїдний зоб та осіб, які не мали тиреоїдної патології, ми показали, що у хворих проявляються прооксидантні зміни [5]. Тому метою нашої роботи було дослідити стан системи антиоксидантного захисту у вузлі, позавузловій паранодулярній тканині та тканині контралатеральної частки щитоподібної залози, не ураженої вузлом, у взаємозв'язку із субклітинним розподілом йоду в тканині.

Матеріали та методи

Матеріалом для досліджень були післяопераційні препарати часток щитоподібної залози 25 хворих, оперованих з приводу однобічного йододифіцитного вузлового колоїдного зоба на базі хірургічного відділення міської клінічної лікарні швидкої допомоги м. Тернополя. Відбирали тканину вузла, паранодулярної (навколовузлової макроскопічно не змінена тканина) та контралатеральної (не ураженої вузлом тканини) частки щитоподібної залози. Усі оперовані пацієнти були жителями регіону йододифіциту середньої важкості. Усі експериментальні дослідження проводились у відповідності до ухвали Першого національного конгресу з біоетики (Київ, 2000) та рішення комісії з біоетики Тернопільського державного медичного університету ім. І.Я. Горбачевського.

Усі процедури обробки тканин проводили на холоді. Усі реактиви, крім нижче зазначених, були виробництва фірми «Синбіас» кваліфікації «хч».

Для характеристики металотіонеїнів (МТ) були використані оптичні методи, детально описані у [10]. Вміст МТ в тканині оцінювали за вмістом тіолових груп (МТ-SH) та металів у складі МТ (МТ-Me). Вміст МТ-SH визначали методом Віаренго та співавт. [11] за взаємодією із 5,5'-дитіо-біс-2-нітробензойною кислотою (ДТНБ) після хлороформ-етанольної екстракції

МТ, та обчислювали, приймаючи, що в 1 молі МТ міститься така ж кількість SH-груп, як і в 20 молях GSH. Вміст МТ-Me визначали за сумарним вмістом есенціальних для МТ металів міді та цинку в їх складі після виділення МТ як термостабільних білків шляхом гель-фільтрації на сефадексі G-50 [10,12]. Вміст МТ-Me обчислювали за модифікованим рівнянням Гамільтона, враховуючи стехіометричний характер зв'язування цих металів: $m(\text{металотіонеїнів}) = 0,5(v(\text{Zn}) \cdot M(\text{МТ})/7 + v(\text{Cu}) \cdot M(\text{МТ})/12)$ (мкг), де v – кількість металу в металотіонеїнах, мкмоль/г тканини; $M(\text{МТ})$ молярна маса МТ (7000 г/моль), 7 і 12 – кількість іонів цинку і міді (I) відповідно, що зв'язуються молекулою МТ за повного насичення [10].

Активність супероксиддисмутази (СОД) [КФ 1.15.1.1] вимірювали за зниженням швидкості відновлення нітротетразолію синього [13]. Активність каталази [КФ 1.11.1.6] визначали у розчинній фазі гомогенату за швидкістю розкладу пероксиду водню [14]. Утворення оксидрадикалів у супернатанті гомогенату тканини в НЕРЕС-сахарозному буфері, рН 7,4, оцінювали за утворенням флуоресцентного продукту родаміну 123 в реакції нефлуоресцентного деривату дигідрородаміну з активними формами кисню при хвилі збудження (ex.)=485 нм та випромінювання (em.)=538 нм [15] та виражали в умовних одиницях флуоресценції (УОФ) в розрахунку на мг білка за одиницю часу. Вміст загального (GSH) глутатіону в небілковому фільтраті тканини визначали ферментним методом за допомогою ДТНБ [16]. Активність глутатіонтрансферази [КФ 2.5.1.18] визначали спектрофотометричним методом за утворенням адуктів 1-хлоро-2,4-динітробензолу з глутатіоном [17], активність холінестерази [КФ 3.1.1.7] – за швидкістю гідролізу йодиду ацетилтіохоліну, яку реєстрували за допомогою ДТНБ [18], активність лактатдегідрогенази (ЛДГ) [КФ 1.1.1.27] визначали за швидкістю окиснення НАДН при 340 нм у фосфатно-піруватному розчині [19].

Пошкодження ДНК визначали за розривами ланцюгів депротейнізованої ДНК методом лужного осадження в 10% гомогенаті тканини в 50 мМ трис-ЕДТА буферному розчині, рН 8,0, що містить 0,5% натрію додецилсульфату при хвилі збудження (ex.)=360 нм та випромінювання (em.)=450 нм [20]. Загальну активність катепсину Д визначали спектрофотометричним методом за кількістю утвореного тирозину у 50% гомогенаті тканини [21].

Субклітинний розподіл йоду в щитоподібній залозі визначали за запропонованою нами методикою [22].

Індекс оксидативного стресу в тканині щитоподібної залози обчислювали за показниками СОД, каталази, вмістом MT-SH та глутатіону, утворенням оксирадикалів після їх уніфікації [23].

Результати вимірів подані у вигляді $M \pm SD$ для 25 обстежених. Якщо дані згідно з тестом Лілієфорда не були нормально розподілені, до їх статистичного аналізу були застосовані непараметричні тести (Kruskal–Wallis ANOVA та Mann–Whitney U -test) при вірогідності за значення $p < 0,05$. Вірогідність відхилення двох рядів значень обчислювали з використання t -тесту Стьюдента. Вірогідним вважали відмінність між рядами за $p < 0,05$. Порівняльний аналіз біологічних параметрів здійснювали, використовуючи комп'ютерні програми Statistica v 8.0 та Excel для Windows-2000.

Результати та їх обговорення

Результати проведених досліджень показали, що в паранодулярній тканині та вузлі вміст органіфікованого йоду нижчий, а неорганічного йоду – вищий (особливо у вузлі), порівняно з тканиною контралатеральної частки (табл. 1).

Процес вузлоутворення в зобно-зміненій тканині залози супроводжується активацією СОД, GST, катепсину D та збільшенням частоти розривів ланцюгів ДНК (табл. 2). Утворення оксирадикалів та каталазна активність у досліджуваних частках залози зазнають односпрямованих змін

($r=0,72$, $p<0,01$) залежно від ступеня важкості патологічного процесу. Зокрема у паранодулярній тканині рівень обох цих показників зменшується, а у вузлі – зростає. Одночасно в ураженій вузлом частці спостерігається активація гліколізу та пригнічення холінестеразної активності.

У паранодулярній тканині загальний вміст MT (MT-SH) на 125%, а їх метал-депонувальної форми (MT-Me) на 57% вищий порівняно з їх вмістом у паренхімі контралатеральної частки. У тканині вузла перевищення сягає 240% і 136% відповідно (табл. 2). Це вказує на створення потенційного резерву тіолових груп MT в ураженій вузлом частці залози, який може мобілізуватися для знешкодження радикалів [24].

За результатами побудови класифікаційного дерева було визначено чільні біохімічні показники, які відображають небезпеку вузлоутворення та поглиблення патоморфологічних змін у зобно-зміненій тканині щитоподібної залози (рис. 1). Утворення вузла відбувається на тлі послаблення здатності залози органіфікувати йод (загальна характеристика частки залози ураженої вузлом) та збільшення рівня оксирадикалів (специфічна характеристика вузла). Останнє стає пусковим механізмом активації системи антиоксидантного захисту, що підтверджується результатами обрахунку індексу оксидативного стресу (ІОС=8,3% та 56,1% у паранодулярній тканині та вузлі відповідно порівняно з тканиною контралатеральної частки).

Активация системи антиоксидантного захис-

Таблиця 1. Субклітинний розподіл йоду в тканині щитоподібної залози людей хворих на йододефіцитний вузловий колоїдний зоб, $M \pm SD$ ($n=25$)

Показник	Тканина контралатеральної частки	Паранодулярна тканина	Вузол
Вміст органіфікованого йоду, мкг/г тканини	580,0±45,0	491,0±47,0 ^a	446,0±47,0 ^{a,b}
Вміст неорганічного йоду, мкг/г тканини	31,2±3,5	41,2±3,1 ^a	45,7±2,8 ^{a,b}

Примітка: тут і табл. 2: ^a – відмінності порівняно з тканиною контралатеральної частки, не ураженої вузлом, вірогідні, ^b – відмінності між паранодулярною тканиною та вузлом вірогідні ($p < 0,05$).

Таблиця 2. Характеристики стресочутливих систем та цитотоксичності в тканині щитоподібної залози людей, хворих на йододефіцитний вузловий колоїдний зоб, $M \pm SD$ ($n=25$)

Показник	Тканина контралатеральної частки	Паранодулярна тканина	Вузол
СОД активність, у.о./мг білка	0,86±0,07	1,15±0,18 ^a	1,81±0,26 ^{a,b}
Каталазна активність, ммоль/(хв·мг білка)	30,4±4,0	24,8±4,0 ^a	59,0±6,2 ^{a,b}
Загальний GSH, ммоль/г тканини	5,3±0,6	3,7±0,9 ^a	3,8±0,7 ^a
MT-SH, мкг/г тканини	11,3±1,8	25,4±3,7 ^a	38,4±3,2 ^{a,b}
MT-Me, мкг/г тканини	7,8±1,1	12,3±1,7 ^a	18,4±2,3 ^{a,b}
Лактатдегідрогеназна активність, мкмоль/(хв·мг білка)	0,24±0,04	0,34±0,07 ^a	0,56±0,05 ^{a,b}
Глутатіонтрансферазна активність, нмоль/(хв·мг білка)	28,0±4,7	24,7±4,4	87,5±17,6 ^{a,b}
Холінестеразна активність, нмоль/(хв·мг білка)	0,91±0,06	0,56±0,16 ^a	0,79±0,09 ^b
Розриви ланцюгів ДНК, нг/мг білка	1,6±0,2	1,5±0,2	2,1±0,2 ^{a,b}
Загальна активність катепсину D, нмоль/(хв·г тканини)	0,86±0,10	1,59±0,18 ^a	2,13±0,22 ^{a,b}
Утворення оксирадикалів, УОФ/(хв·мг білка)	1,4±0,2	1,1±0,2 ^a	1,7±0,1 ^{a,b}

ту (СОД ($r=0,73$, $p<0,001$), каталази ($r=0,59$, $p<0,01$), GST ($r=0,64$, $p<0,001$) та МТ-SH ($r=0,97$, $p<0,001$)) та збільшення рівня ушкодження ДНК ($r=0,51$, $p<0,01$) відбувається на тлі збільшення рівня неорганічного йоду в тканині залози. Відтак можна припустити, що внаслідок порушення органіфікації йодиду в щитоподібній залозі людини створюється його надлишок, який, у подальшому за окиснення тиреопероксидазою, детермінує утворення токсичних інтермедіатів йоду в гіперпластичних тиреоцитах [9]. Це зумовлює стимулюючу дію на систему антиоксидантного захисту. Подібні результати були отримані за умов оптимізації вмісту йоду в організмі (введення його в мікромолярних кількостях), як збільшення рівня ліпофусцину, перекисного окиснення ліпідів, некроз епітеліальних клітин [25], порушення стабільності мітохондріальних мембран та розвиток автоімунних процесів у тканині щитоподібної залози.

Лактатдегідрогеназа є одним із ключових ферментів метаболізму та зумовлює істотний вплив на окисно-відновний потенціал клітини. Її активність у частці залози, ураженій вузлом, істотно зростає. Нами доведено наявність позитивної кореляції, з одного боку, між лактатдегідрогеназою активністю та рівнем оксирадикалів ($r=0,55$, $p<0,01$), і з іншого – з активністю СОД та GST: $ЛДГ=0,032+0,27 \times СОД+0,02 \times КАТ+0,01 \times GSH+0,003 \times GST^*-0,08 \times ОР$, $R^2=0,93$, $F(5,24)=34,5$, $p<0,001$ (*показник вносить вірогідний вклад у математичну модель). Подібні результати були отримані і при дослідженні аспіраційної рідини цист вузлів щитоподібної залози хворих на колоїдний зоб, фолікулярний і папілярний рак [26]. Однією з причин зміщення енергетичної рівноваги в бік анаеробіозу може бути накопичення активних форм кисню та ініціація окисних процесів у клітині [27]. Наведені міркування узгоджуються з одержаними результатами.

Металотіонеїни – низькомолекулярні, термостабільні, сірковмісні білки, високоафінні до іонів d-металів, із плейотропними функціями [6,24]. Вони залучені до різних фізіологічних та патологічних процесів, зокрема до метаболізму іонів есенціальних металів, секвестрації токсичних металів, знешкодження активних форм кисню, проліферації та диференціації клітин, розвитку пухлин, вироблення резистентності до радіо- та хіміотерапії тощо [28,29]. Відомості про властивості МТ, їх фізіологічні функції та молекулярні механізми одержані здебільшого з використанням вищих хребетних та екстраполюються на МТ інших організмів, у тому числі й людини,

фрагментарно й без урахування специфіки виду [30]. Згідно з отриманими нами результатами, МТ щитоподібної залози в зобно-змінений тканині активно залучаються до зменшення наслідків окисного ушкодження, виконуючи роль пастки для радикалів за рахунок резерву тіолових груп та хелатуючи метали в нетоксичні для тиреоцитів комплекси. Негативна кореляція між вмістом МТ-SH та МТ-Me, з одного боку, та утворенням оксирадикалів, з іншого ($r=0,66$ та $r=0,64$ відповідно; $p<0,01$), у частках залози підтверджує успішну реалізацію дуалістичних функцій МТ в організмі людини та залучення до компенсаторної реакції організму щодо видалення надлишку утворених реактивних інтермедіатів кисню.

Відомо, що у хворих на вузловий колоїдний зоб йододефіцитні патоморфологічні зміни в тканині контралатеральної частки з'являються на 10-15 років пізніше, ніж у паранодулярній тканині [31]. Отримані нами дані свідчать, що, за окремими винятками, характер змін показників у частках залози, ураженої вузлом, подібний, однак порівняно з паренхімою контралатеральної частки діапазон варіабельності показників у паранодулярній тканині менший, ніж у вузлі. Специфічними характеристиками навколовузлової тканини можна вважати пригнічення активності каталази та холінестерази. Доведено, що саме мутації у холінестеразо-подібному домені тиреоглобуліну детермінують розвиток гіпотиреозу в людини [33]. Відтак можна стверджувати, що вузли розвиваються у функціонально змінній тканині залози на тлі виснаження компенсаторних можливостей гіпертрофованих тиреоцитів. У вузлі це проявляється як збільшення рівня ушкодження ДНК, оксирадикалів та апоптозу (за активністю катепсину D).

Таким чином, у пацієнтів за утворення вузла в тканині щитоподібної залози порушується органіфікація йоду та зростає вміст неорганічного йоду. Останнє відбувається на тлі активації системи антиоксидантного захисту, збільшення вмісту МТ та рівня ушкодження ДНК ($r>0,51$, $p<0,01$). У паранодулярній тканині діапазон варіабельності показників, порівняно з паренхімою протилежної частки менший, ніж у вузлі. Збільшення вмісту та металодепонувальної здатності МТ забезпечує часткову компенсаторну реакцію щитоподібної залози за процесу зобної трансформації. Утворення вузла відбувається на тлі послаблення здатності залози органіфікувати йод (загальна характеристика частки залози ураженої вузлом) та збільшення рівня оксирадикалів (специфічна характеристика вузла).

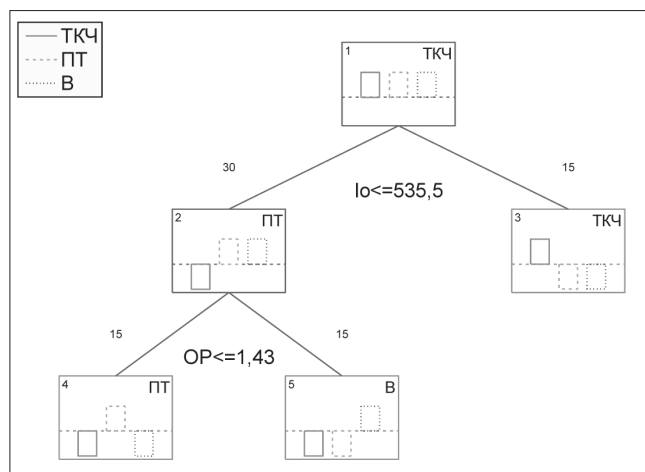


Рисунок. Класифікаційне дерево біохімічних показників щитоподібної залози людини. lo – вміст органіфікованого йоду, OP – утворення оксидантних радикалів

Робота виконана за підтримки Західно-Українського Біомедичного Центру та Міністерства освіти і науки України (НДР №118Б, №125Б).

Список використаної літератури

1. Кравченко В.І. Проблема йододефіциту в Україні // Режим доступу: [http://medstrana.com/articles/300/]. (Kravchenko V.I. The problem of iodine deficit in Ukraine // Access mode [http://medstrana.com/articles/300/]).
2. Паньків В.І. Поширеність патології щитоподібної залози в йододефіцитних регіонах Західної України // Ендокринологія. 2006, 11, № 1, 134-138. (Pankiv V.I. Thyroid pathology distribution in iodine-deficit regions of West Ukraine // Endokrynologia. 2006, 11, N 1, 134-138).
3. Winkler R., Griebenow S., Wonisch W. Effect of iodide on total antioxidant status of human human serum // Cell Biochem. Funct. 2000, 18, N 2, 143-146.
4. Sato M., Bremner I. Oxygen free radicals and metallothionein // Free Rad. Biol. Med. 1993, 14, N 3, 325-337.
5. Фальфушинська Г.І., Гнатишина Л.Л., Осадчук Д.В., Шидловський В.О., Столяр О.Б. Металодепонуюча функція та антиоксидантні властивості щитоподібної залози людей, хворих на йододефіцитний вузловий колоїдний зоб // Укр. біохім. журн. 2011, 83, № 6, 92-97. (Falfushinska G.I., Gnatyshina L.L., Osadchuk D.V., Shidlovsky V.O., Stoliar O.B. Thyroid metal-depositing function and antioxidating properties in patients with iodine-deficit nodular colloid goiter // Ukr. Biochem. Zhurn. 2011, 83, N 6, 92-97).
6. Stoliar O.B., Lushchak V.I. Environmental pollution and oxidative stress in fish. In: Oxidative Stress – Environmental Induction and Dietary Antioxidant. Ed. V. Lushchak. InTech, 2012, 131-166.
7. Duthoit C., Estienne V., Giraud A., Durand-Gorde J.M., Rasmussen A.K., Feldt-Rasmussen U., Carayon P., Ruf J. Hydrogen peroxide-induced production of a 40kDa immunoreactive thyroglobulin fragment in human thyroid cells: the onset of thyroid autoimmunity? // Biochem. J. 2001, 360 (Pt 3), 557-562.
8. Gerard A.-C., Daumerie C., Mestdagh C., Gohy S., de Burbure C., Costagliola S., Miot F., Nolleaux M.-C., Deneff G.-F., Rahier J., Franc B., De Vijlder J.J.M., Colin I.M., Many M.-C. 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, N 10, 4977-4983.
9. Vitale M., Di Matola T., D'Ascoli F., Salzano S., Bogazzi F., Fenzi G., Martino E., Rossi G. Iodide excess induces apoptosis in thyroid cells through a p53-independent mechanism involving oxidative stress // Endocrinology. 2000, 141, N 2, 598-605.
10. Falfushynska H.I., Gnatyshyna L.L., Stoliar O.B. Population-related molecular responses on the effect of pesticides in *Carassius auratus gibelio* // Comp. Biochem. Physiol. 2012, 155 C, 396-406.
11. Viarengo A., Ponzano E., Dondero F., Fabbri R. A simple spectrophotometric method for metallothionein evaluation in marine organisms: an application to Mediterranean and Antarctic molluscs // Mar. Environ. Res. 1997, 44, N 1, 69-84.
12. Nielson K.B., Winge D.R. Preferential binding of copper to the beta domain of metallothionein // J. Biol. Chem. 1984, 259, 4941-4946.
13. Beauchamp C., Fridovich I. Superoxide dismutase: improved assay and an assay applicable to acrylamide gels // Anal. Biochem. 1971, 44, 276-287.
14. Aebi H. Catalase. In: Methods of Enzymatic Analysis. Ed.: H.U. Bergmeyer. London: Academic Press, 1974, 673-677.
15. Viarengo A., Burlando B., Cavaletto M. et al. Role of metallothionein against oxidative stress in the mussel *Mytilus galloprovincialis* // Am. J. Physiol. 1999, 277, N 6, 1612-1619.
16. Griffith O.W. Determination of glutathione and glutathione disulfide using glutathione reductase and 2-vinylpyridine // Anal. Biochem. 1980, 106, N 1, 207-212.
17. Habig W.H., Pabst M.J., Jakoby W.B. Glutathione S-transferases. The first enzymatic step in mercapturic acid formation // J. Biol. Chem. 1974, 249, N 22, 7130-7139.
18. Ellman G.L., Courtney K.D., Andres V.J., Featherstone R.M. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity // Biochem. Pharmacol. 1961, 7, 88-95.
19. Практикум по биохимии. Под ред. С.Е. Северин, Г.А. Соловьевой. М.: Изд-во МГУ, 1989. 509 с. (Practical course on biochemistry. Ed. by S.Ye. Severin, G.A. Solovyova. Moscow: MSU Publishers, 1989. 509 p.).
20. Olive P.L. DNA precipitation assay: a rapid and simple method for detecting DNA damage in mammalian cells // Environ. Mol. Mutagen. 1988, 11, N 4, 487-495.
21. Dingle J.T., Barrett A.J., Weston P.D. Cathepsin D. Characteristics of immunoinhibition and the confirmation of a role in cartilage breakdown // Biochem. J. 1971, 123, 1-13.
22. Шидловський В.О., Столяр О.Б., Осадчук Д.В. та ін. Декларативний патент України на корисну модель № 45332 (UA), МПК G09B 23/28 (2009.01). Спосіб визначення концентрації йоду в біосубстраті / Заявл. 24.04.09; опубл. 10.11.09, Бюл. № 21. (Shidlovsky V.O., Stoliar O.B., Osadchuk D.V. et al. Declarative patent of Ukraine N 45332 (UA), MPK G09B 23/28 (2009.01). Method of iodine concentration determination in biosubstrate / Declared 24.04.09; published 10.11.09, Bull. N 21).
23. Столяр О.Б., Фальфушинська Г.І., Гнатишина Л.Л. Декларативний патент України на корисну модель № 52992 (UA), МПК (2009), A51K 38/04, B63C 9/00, C12N 9/00, G01N 9/00, G01N 33/00. Спосіб оцінки токсичності водного середовища / Заявл. 22.01.2010. Опубл. 27.09.2010, Бюл. № 18. (Stoliar O.B., Falfushinska G.I., Gnatyshina L.L. Declarative patent of Ukraine N 52992 (UA), MPK (2009), A51K 38/04, B63C 9/00, C12N 9/00, G01N 9/00, G01N 33/00. Method of water environment toxicity assessment / Declared 22.01.2010; published 27.09.2010, Bull. N 18).
24. Maret W. Redox biochemistry of mammalian metallothioneins // J. Biol. Inorg. Chem. 2011, 16, N 7, 1079-1086.
25. Foley T.P. Jr. The relationship between autoimmune thyroid disease and iodine intake: a review // Endokrynol. Pol. 1992, 43, Suppl 1, 53-69.
26. Morita M., Noguchi S., Kawamoto H., Tajiri J., Tamaru M., Murakami N. Thyroglobulin and lactic dehydrogenase isozymes in cystic fluid of thyroid nodules // Endocr. J. 1994, 41, N 3, 227-233.
27. Fridovich I. The trail to superoxide dismutase // Protein Sci. 1998, 7, N 12, 2688-2690.
28. Lindeque J.Z. The involvement of metallothioneins in mitochondrial function and disease // Curr. Protein. Pept. Sci. 2010, 11, N 4, 292-309.
29. Ruiz-Riol M., Mart nez-Arconada M.J., Alonso N., Soldevila B., Marchena D., Armengol M.P., Sanmarti A., Pujol-Borrell L., Mart nez-Ceres E.M. Overexpression of metallothionein I/II: a new feature of thyroid follicular cells in Graves' disease // J. Clin. Endocrinol. Metab. 2012, 97, N 2, 446-454.

Оригінальні дослідження

30. Roesijadi G. Metallothioneins in metal regulation and toxicity in aquatic animals // *Aquat. Toxicol.* 1992, 22, 81-114.
31. Гнатюк М.С., Шидловський О.В., Осадчук Д.В., Шидловський В.О. Морфологічні зміни тканини щитоподібної залози у хворих на йододефіцитний вузловий колоїдний зоб // *Шпитальна хірургія.* 2010, 2, 34-40. (Gnatiuk M.S., Shidlovsky O.V., Osadchuk D.V., Shidlovsky V.O. Morphological changes in thyroid tissue in patients with iodine-deficit nodular colloid goiter // *Hospital Surgery.* 2010, 2, 34-40).
32. Lee J., Wang X., Di Jeso B., Arvan P. The cholinesterase-like domain, essential in thyroglobulin trafficking for thyroid hormone synthesis, is required for protein dimerization // *J. Biol. Chem.* 2009, 284, N 19, 12752-12761.

(Надійшла до редакції 31.03.2014)

Состояние стресс-зависимых систем и уровень молекулярных повреждений у больных односторонним эндемическим узловым коллоидным зобом

Г.И. Фальфушинская^{1,2}, Л.Л. Гнатишина^{1,2},
В.А. Шидловский², О.Б. Столяр¹

¹Тернопольский национальный педагогический университет им. Владимира Гнатюка,

²Тернопольский государственный медицинский университет им. И.Я. Горбачевского

Резюме. Исследовали субклеточное распределение йода, состояние стресс-чувствительных систем и уровень молекулярных повреждений в узле, внеузловой паранодулярной ткани (ПТ) и ткани контралатеральной доли (ТКД) щитовидной железы, не пораженной узлом. Установлено более низкое содержание органифицированного йода (на 23 и 15% соответственно) и более высокое содержание неорганического йода (на 46 и 32% соответственно) в узле и ПТ по сравнению с ТКД. В узле и ПТ наблюдается также уменьшение содержания глутатиона, увеличение содержания металлотioneинов и металлов в их составе, повышение активности лактатдегидрогеназы и катепсина Д. Однако по ряду характеристик узел и ПТ отличаются. В узле отмечено согласованную активацию супероксиддисмутазы (на 81%), каталазы (на 99%) и глутатионтрансферазы (на 212%), на фоне увеличения содержания оксирадикалов и усиления фрагментации ДНК. Специфическими характеристиками ПТ является уменьшение содержания оксирадикалов и угнетение холинестеразной

активности. Следовательно, можно говорить об истощении компенсаторных возможностей гипертрофированных тиреоцитов в узле по сравнению с ПТ, несмотря на определенные компенсаторные изменения в стресс-зависимых системах.

Ключевые слова: йододефицитный узловый коллоидный зоб, йод, оксидативный стресс, анаэробизм, металлотioneины, цитотоксичность, апоптоз

The state of stress-responsive systems and level of molecular damage in patients with unilateral nodular colloid endemic goiter

H.I. Falfushynska^{1,2}, L.L. Gnatyshyna^{1,2}, V.O. Shidlovsky²,
O.B. Stoliar¹

¹V. Gnatiuk Ternopil National Pedagogical University;

²I.Ya. Gorbachevsky Ternopil State Medical University

Summary. The authors have studied the subcellular distribution of iodine, state of stress-responsive systems and level of molecular damage in nodules, paranodular tissue (PT), and contralateral lobe tissue (CLT) unaffected by thyroid nodule. A lower concentration of organified iodine (by 23 and 15%, respectively) and a higher concentration of inorganic iodine (by 46 and 32%, respectively) in the nodule and PT versus CLT have been established. In the nodule and PT a decreased glutathione content, increased metallothioneins level and their metal-binding ability, and an increased activity of lactate dehydrogenase and cathepsin D were observed. However, the number of nodule characteristics were different from the counterpart in PT. It has been noted in the nodule a coherent activation of superoxide dismutase (by 81%), catalase (by 99%), and glutathione-transferase (by 212%) simultaneously with an increased content of oxyradicals and an increased DNA fragmentation. The specific characteristics of the PT included a low level of oxyradicals and cholinesterase activity inhibition. Thus, we may suggest an exhaustion of compensatory capability of hypertrophied thyrocytes in the nodule - compared with PT - despite some compensatory changes in stress-responsive systems.

Keywords: iodine deficiency-related colloid nodular goiter, iodine, oxidative stress, anaerobiosis, metallothionein, cytotoxicity, apoptosis.