

Т. М. Мишуніна, О. В. Калініченко, М. Д. Тронько, Л. Ю. Зурнаджи

*Державна установа “Інститут ендокринології та обміну речовин
ім. В. П. Комісаренка НАМН України”, 04114 Київ*

СИСТЕМА ГЕНЕРАЦІЇ ОКСИДУ АЗОТУ В ТКАНИНІ ЩИТОПОДІБНОЇ ЗАЛОЗИ З ЛІМФОЇДНОЮ ІНФІЛЬТРАЦІЄЮ АБО ХРОНІЧНИМ ТИРЕОЇДИТОМ

Досліджено вміст оксиду азоту (за кількістю метаболітів), активність його синтаз — конститутивної та індукцйбельних (сNOS та іNOS) — у тканині щитоподібної залози (ЩЗ) з морфологічними ознаками хронічного тиреоїдиту або вогнищевої лімфоїдної інфільтрації. Вміст метаболітів оксиду азоту та активність сNOS у тканині ЩЗ, що інфільтрована лімфоцитами, відповідають таким у незмінній тканині залози нормофолікулярної будови, тоді як активність іNOS значно вища, ніж активність ферменту в тканині порівняння. За хронічного тиреоїдиту встановлено вищий вміст метаболітів оксиду азоту та вищу активність обох досліджуваних ферментів його синтезу; при цьому зміни у системі генерації оксиду азоту не залежать від характеру основного захворювання, а також від наявності склеротично-фіброзних змін строми, але відрізняються залежно від фолікулярної будови тканини і дещо виразніші за умов вогнищевого тиреоїдиту порівняно з вираженим. Результати досліджень підтверджують припущення про участь оксиду азоту в механізмах розвитку запальних і аутоімунних процесів у ЩЗ, а також про його можливу роль в зміні функціонального стану тиреоїдного ендотелію, формуванні макрофолікулярної структури залози та апоптозу.

Ключові слова: оксид азоту, синтази оксиду азоту, щитоподібна залоза, тиреоїдит, лімфоїдна інфільтрація.

Тиреоцити належать до тих клітин в організмі, в яких спеціалізований метаболізм, спрямований на синтез гормонів, передбачає постійну генерацію надвисоких концентрацій активних форм кисню; тому оксидативний стрес на фоні дисбалансу прота антиоксидантних систем є одним із патогенетичних чинників виникнення захворювань щитоподібної залози (ЩЗ) [1, 7, 25].

Фізіологічна чи деструктивна дія активних радикалів кисню тісно переплетена з функціонуванням іншої сполуки — оксиду азоту (NO). Синтез його відбувається у реакції, що здійснюють цитохром P-450-подібні гемопротеїни — NO-синтази (конститутивні — сNOS та індукцйбельні — іNOS),

які є продуктами різних генів та виконують різні функції. Система генерації цієї сигнальної молекули з властивостями активного радикала надзвичайно чутлива до змін, що відбуваються в організмі. Баланс між фізіологічними, регуляторними та/чи цитотоксичними властивостями оксиду азоту у значній мірі зумовлений його локальною концентрацією, а також оксидантним статусом тканин, в яких він синтезується і реалізує свої ефекти [18, 37].

Конститутивний синтез оксиду азоту, потужного вазодилатора, є одним із ключових чинників регуляції судинного тонуусу, нейротрансмісії і ряду інших функцій цієї молекули; зокрема, оксид

Відділ фундаментальних і прикладних проблем ендокринології

М. Д. Тронько — директор інституту, керівник відділу, акад. НАМН України

Лабораторія патофізіології радіаційних уражень ендокринної системи

Т. М. Мишуніна — г.н.с., д.б.н. (mishunina@list.ru)

О. В. Калініченко — с.н.с.

Лабораторія патоморфології ендокринної системи

Л. Ю. Зурнаджи — п.н.с., к.м.н.

© Т. М. Мишуніна, О. В. Калініченко, М. Д. Тронько, Л. Ю. Зурнаджи, 2015.

азоту, синтезований при дії cNOS, гальмує транскрипцію прозапального ядерного фактора *NF-κB*, блокує експресію адгезивних молекул ендотелію, зменшує прилипання, інфільтрацію, агрегацію нейтрофілів і моноцитів та перетворення останніх у макрофаги, а також гальмує агрегацію та адгезію тромбоцитів [2, 24].

iNOS експресується в багатьох типах клітин у відповідь на широкий діапазон прозапальних цитокінів. Її активація призводить до утворення великої кількості оксиду азоту, ефекти якого реалізуються через вплив на ряд ферментів, серед яких у першу чергу необхідно відзначити білки комплексів дихального ланцюга мітохондрій, де оксид азоту діє як фізіологічний месенджер, модулює швидкість транспорту електронів та ініціює розвиток клітинної гіпоксії. Так створюється можливість для реалізації його реакції з активним радикалом кисню з утворенням потужного оксиданту пероксинітриду, якому властиві усі функції оксиду азоту [36]. Залежно від рівня пероксинітриду оксид азоту та активні радикали кисню можуть викликати розвиток мітохондріальних дисфункцій, результатом чого є апоптозна чи некротична загибель клітин, що є основою для розвитку низки патологічних процесів [3, 8, 29]. У той же час, нітрозилювання регуляторних білків, зокрема ефекторних каспаз, може приводити, навпаки, до блокування апоптозу [20, 36].

Встановлено, що у ЩЗ оксид азоту регулює локальний кровотік [30], а експресію мРНК cNOS рееструють як в ендотеліальних клітинах тиреоїдних судин, так і в тиреоцитах активних фолікулів поряд з експресією рецептора ТТГ, педрину, тиреоїдних пероксидази та оксидази, а також йодованого тиреоглобуліну [21, 26]. У той же час, участь NO-системи в розвитку тиреоїдних захворювань вивчена вкрай недостатньо; дослідження проводять в основному в двох напрямках — вивчення ролі оксиду азоту у регуляції функції залози та значення його в механізмах трансформації тиреоцитів. Дані щодо змін NO-системи у тканині ЩЗ при тиреоїдиті нечисленні. Так, гіперекспресія iNOS у тиреоїдному епітелії за лімфоцитарного тиреоїдиту сполучається з паралельним підвищенням експресії циклооксигенази-2, що автори розглядають як доказ важливої ролі цих ферментів у запальних процесах, які лежать в основі цього захворювання [34]. Вміст метаболітів оксиду азоту у вузлових утвореннях за хронічного автоімунного тиреоїдиту зменшений порівняно зі зобозміненою тканиною залози від хворих з еутиреоїдним зобом, тоді як вміст його в тканині, яка оточує ці вузлові утворення, вищий, ніж у позавузловій тканині за еутиреоїдного зоба [9].

Назагал, дослідники ще кілька років тому наголошували, що дані про патогенетичну роль оксиду азоту у формуванні автоімунної патології ЩЗ у людей відсутні, і ця проблема потребує вивчення [16]. Сучасні дані свідчать про пошкоджуючу дію прозапальних цитокінів фолікулярних клітин, а також лімфоцитів, які інфільтрують залозу, що може при автоімунних захворюваннях змінювати функціональну активність тиреоцитів, впливаючи на експресію рецептора ТТГ і роботу Na^+/I^- -симпортера, регулювати проліферацію, процеси апоптозу фолікулярного епітелію та стимулювати синтез оксиду азоту, ще більше підсилюючи тим самим запальну реакцію [14, 32]. До того ж, і сам оксид азоту впливає на ТТГ-стимульований транспорт йоду, експресію тиреоїдної пероксидази та мРНК тиреоглобуліну [17].

Структурна перебудова ЩЗ за наявності вузлової патології часто супроводжується лімфоїдною інфільтрацією позавузлової тканини, що деякі автори розглядають як одну з характеристик автоімунного тиреоїдиту [15]. У той же час, ізольована вогнищева лімфоїдна інфільтрація тканини залози, виявлена при її післяопераційному патогістологічному дослідженні, не супроводжується підвищенням у крові пацієнтів рівня специфічних тиреоїдних антитіл, що не дозволяє діагностувати на період дослідження у пацієнта існування активного автоімунного процесу, але свідчить про наявність запалення [4, 8]. Патолог, рееструючи крім лімфоїдної інфільтрації також додаткові характерні морфологічні ознаки, діагностує в тканині ЩЗ присутність хронічного тиреоїдиту.

Зважаючи на це та на участь системи оксиду азоту в механізмах розвитку запальних та автоімунних реакцій [31, 32], метою дослідження було визначення його вмісту (за кількістю метаболітів оксиду азоту), активності cNOS та iNOS окремо в тканині ЩЗ з морфологічними ознаками хронічного тиреоїдиту та тканині за вогнищевої лімфоїдної інфільтрації її без такого.

Матеріал та методи. Досліджено 80 зразків позавузлової тканини ЩЗ, яка була отримана при оперативному втручанні у хворих із вузловою тиреоїдною патологією. Серед них 22 зразки тканини з морфологічними ознаками її вогнищевої інфільтрації лімфоцитами, 41 зразок тканини з морфологічними ознаками хронічного тиреоїдиту та 17 зразків незміненої тканини нормофолікулярної будови; останні склали групу порівняння [33]. Усі пацієнти, тканина ЩЗ яких була досліджена, знаходилися в еутиреоїдному стані.

Тканину ЩЗ промивали охолодженим фізіологічним розчином, зважували, подрібнювали та го-

могенізували у 10-кратному об'ємі середовища такого складу: цукроза — 250 ммоль/л, трис-НСІ-буфер — 20 ммоль/л, натрієва сіль етилендіамін-тетраоцтової кислоти — 1 ммоль/л (рН 7,4).

Вміст метаболітів NO (суму нітрит- і відновленого нітрат-аніонів) визначали в гомогенатах тканини ЩЗ спектрофотометричним методом за розвитком забарвлення в реакції діазотування нітритом сульфаніламідів, який входить до складу реактиву Гріса [27]. Для відновлення нітрат-аніону до нітрит-аніону при проведенні кольорової реакції у пробі додавали хлорид кадмію до кінцевої концентрації 2,5 %. Інтенсивність забарвлення визначали на спектрофотометрі *Jenway* (Великобританія) при довжині хвилі 540 нм. Для побудови калібрувальної кривої використовували водний розчин нітриту натрію (1 моль/л). Вміст NO₂ виражали у нмоль/мг білка.

Активність cNOS визначали за кількістю утворених під час інкубації метаболітів NO, вміст яких встановлювали як описано вище. Інкубаційна суміш об'ємом 1 мл містила (в ммоль/л): фосфатний буфер (рН 7,4) — 50, хлорид натрію — 1, хлорид кальцію — 2, нікотинаміддинуклеотид відновлений — 1, L-аргінін — 2,2, а також 1-2 мг білка гомогенату [5]. Час інкубації становив 60 хв. Для визначення активності iNOS до складу інкубаційної суміші замість хлориду кальцію для зв'язування ендогенного Ca²⁺ додавали етиленгліколь-тетраацетат у кінцевій концентрації 4 ммоль/л. Активність ферментів виражали у нмоль NO₂/(год·мг білка).

Вміст білка після осадження білків у пробах рівним об'ємом трихлороцтової кислоти визначали за однією з модифікацій загальноприйнятого методу Лоурі [28].

Статистичну обробку даних проводили з використанням *t*-критерію Стьюдента (*P*) та непараметричного критерію *U* Вілкоксона — Манна — Уїтні (*P_U*).

Результати та їх обговорення. Рівень метаболітів оксиду азоту та активність cNOS у позавузловій/позапухлинній тканині ЩЗ, інфільтрованої

лімфоцитами, відповідають таким у незмінній тканині залози нормофолікулярної будови, тоді як активність iNOS значно вища (на 146 %), ніж активність ферменту в тканині порівняння (табл. 1). Характер змін iNOS у позавузловій тканині істотно не залежить від характеру основного захворювання — вузловий зоб чи карцинома ЩЗ. Слід зазначити, що саме iNOS є тим ферментом, синтез якого підвищується за дії патогенних стимулів. Встановлено, що при формуванні субстратів запалення утворення оксиду азоту, зокрема в макрофагах, стимулюють такі прозапальні цитокіни: інтерферони, фактор некрозу пухлин, інтерлейкін-1 та, особливо, їх комбінації. Навпаки, інші цитокіни (інтерлейкіни-4, -10), а також глюкокортикоїди мають супресивну дію по відношенню до активації iNOS [3, 6, 32]. Раніше при дослідженні iNOS у тканині при тиреоїдиті ЩЗ було встановлено, що експресія ферменту особливо значна як в тиреоцитах тих зон залози, що рясно інфільтровані клітинами запалення, так і в самих клітинах запалення [23]. Отже, факт підвищення активності iNOS в позавузловій/позапухлинній тканині ЩЗ, що інфільтрована лімфоцитами, вкладається у теорію про участь оксиду азоту в комплексному механізмі пошкодження тканин шляхом модулювання процесів запалення.

У позавузловій/позапухлинній тканині ЩЗ з ознаками хронічного тиреоїдиту встановлено вищий вміст метаболітів оксиду азоту (на 67 %) та вищу активність обох досліджуваних ферментів його синтезу — cNOS (на 45 %) та iNOS (на 97 %) — порівняно з такими у незмінній тканині (табл. 2). Ці дані узгоджуються із сучасним уявленням про активацію системи генерації оксиду азоту в патогенезі автоімунних процесів, зокрема і в ЩЗ [23, 32, 34]. При цьому слід відзначити, що характер підвищення вмісту метаболітів оксиду азоту та активності ферментів його синтезу в тканині хронічного тиреоїдиту (як і за лімфоїдною інфільтрацією) істотно не залежить від характеру основного захворювання, а також від наявності склеротично-фіброзних змін строми. У той же час, зміни активності ферментів дещо виразніші за умов вогнищового тире-

Таблиця 1

Рівень метаболітів оксиду азоту та активність NO-синтаз в тканині щитоподібної залози з лімфоїдною інфільтрацією, $M \pm m$

Тканина	n	Метаболіти NO, нмоль/мг білка	Активність	
			cNOS, нмоль NO ₂ /(год · мг білка)	iNOS, нмоль NO ₂ /(год · мг білка)
Незмінена	17	2,65 ± 0,36	10,3 ± 1,5	6,7 ± 0,7
З лімфоїдною інфільтрацією, у т.ч.:	22	3,30 ± 0,49	10,8 ± 1,4	16,5 ± 2,0*
за зоба	6	2,69 ± 0,79	10,5 ± 3,0	21,7 ± 6,2*
за карциноми	16	3,53 ± 0,60	10,9 ± 1,7	14,6 ± 1,0*

Примітка. * — $P_i < 0,05$ порівняно із незмінною тканиною.

оїдиту порівняно з вираженим (для активності cNOS ця різниця є статистично значущою). Звертає на себе увагу також певна тенденція до збільшення вмісту метаболітів NO та активності NO-синтаз у тканині ЩЗ при хронічному тиреоїдиті в ряду: тканина нормофолікулярної < мікрофолікулярної < макрофолікулярної будови. Неістотні зміни вмісту метаболітів оксиду азоту та активності cNOS мають місце у тканині хронічного тиреоїдиту нормофолікулярної, а найістотніші — в тканині макрофолікулярної будови (див. табл. 2).

Отже, результати проведених досліджень свідчать про більш зрушення у системі генерації оксиду азоту в тканині ЩЗ за умов розвитку автоімунних і запальних (хронічний тиреоїдит) процесів, ніж за умов наявності лише запалення (ізолювана вогнищева інфільтрація лімфоцитами). Показано, що хронічний тиреоїдит супроводжується дисфункцією тиреоїдного ендотелію [39]; експресія iNOS в ендотеліальних клітинах тиреоїдних судин [23] і рівень оксиду азоту у крові при цьому [40] підвищуються. Дехто вважає, що утворення оксиду азоту, яке оцінюють за активністю cNOS, насамперед відбувається саме у судинному ендотелії [2]. Із цих позицій, можливо, виявлене підвищення вмісту метаболітів оксиду азоту та активності cNOS у тканині ЩЗ при хронічному тиреоїдиті при макрофолікулярній її будові свідчить про більш значні порушення функції ендотелію тиреоїдних судин. Це припущення, безумовно, потребує доказів.

У той же час, одним із основних чинників, які регулюють функцію фолікула, є акумуляція у фолікулярній порожнині тиреоглобуліну, який, виступаючи як авторегулятор у ланцюгу зворотнього зв'язку, гальмує експресію тиреоїдної пероксидази, Na⁺/I⁻-симпортера, рецептора ТТГ та, власне, тирео-

глобуліну за рахунок супресії ряду тиреоїдспецифічних транскрипційних факторів. При послабленні супресуючої дії тиреоглобуліну чи за рахунок аномалій його молекули, чи за рахунок порушення механізмів його регуляторної дії на транскрипцію може спостерігатися стабільна активація генної експресії, наслідком якої є, зокрема, акумуляція колоїду зі збільшенням розмірів фолікулів. Такий механізм постулюють як один серед інших для патогенезу еутиреоїдного зоба [38]; значення його в патогенезі чи прогресії інших тиреоїдних захворювань, у т. ч. автоімунних, невідоме. У той же час, показано, що при дії оксиду азоту *in vitro* порушується процес складання молекул тиреоглобуліну; при цьому утворюються полімеризовані міофібрили цього тиреоїд-специфічного білка [41]. Вважають, що такий процес може мати місце і в ЩЗ при виникненні чи прогресуванні тиреоїдних захворювань. Крім того, оксид азоту і сам гальмує експресію мРНК тиреоглобуліну [17] і може бути одним із чинників формування збільшених фолікулів. Обидва припущення вкладаються у теорію існування в ЩЗ єдиної ангіофолікулярної одиниці, функціонування якої пояснює зв'язок судинних порушень з функціональним станом тиреоцитів [26].

Раніше при вивченні стану мітохондріальних механізмів, що задіяні в регуляції та реалізації апоптозу, в клітинах ЩЗ за її лімфоїдної інфільтрації чи хронічного тиреоїдиту ми показали, що на фоні резистентності мітохондрій до дії апоптозіндукуючих та апоптозмодуючих чинників за обох цих станів відзначена певна різниця у шляхах регуляції апоптозу. Так, за лімфоїдної інфільтрації встановлено підвищення величини трансмембранного потенціалу мітохондрій при незмінній активності каспази-3, що свідчить про утримання мітохондріальних

Таблиця 2

Рівень метаболітів оксиду азоту та активність NO-синтаз в тканині щитоподібної залози при хронічному тиреоїдиті, $M \pm m$

Тканина	n	Метаболіти NO, нмоль/мг білка	Активність	
			cNOS, нмоль NO ₂ /(год · мг білка)	iNOS, нмоль NO ₂ /(год · мг білка)
Незмінена	17	2,65 ± 0,36	10,3 ± 1,5	6,7 ± 0,7
При хронічному тиреоїдиті	41			
за зоба	8	4,85 ± 0,97 [#]	13,8 ± 5,1	10,6 ± 1,0*
за карциноми	33	4,33 ± 0,54*	15,2 ± 2,3*	13,8 ± 2,2*
вогнищевому	9	4,24 ± 0,80 [#]	21,6 ± 4,4*	16,6 ± 4,6*
вираженому	32	4,38 ± 0,57*	13,1 ± 2,2 ^α	12,2 ± 1,9*
нормофолікулярної будови	18	3,53 ± 0,61	10,3 ± 1,9	11,8 ± 3,0
мікрофолікулярної будови	17	4,44 ± 0,70*	15,3 ± 3,2	14,3 ± 2,9*
макрофолікулярної будови	6	7,07 ± 1,46 ^{#β}	28,0 ± 6,3 ^{#β}	16,2 ± 3,8*
без змін строми	31	3,85 ± 0,45*	15,7 ± 2,5	12,6 ± 2,0*
зі змінами строми	10	6,22 ± 1,23*	12,5 ± 4,1	14,9 ± 4,0*

Примітки: * — $P_t < 0,05$, [#] — $P_U < 0,05$ порівняно з незміненою тканиною, ^α — $P_U < 0,05$ порівняно з тканиною щитоподібної залози при вогнищевому тиреоїдиті; ^β — $P_t < 0,05$ порівняно з тканиною нормофолікулярної будови.

пор у закритому стані [11]. За хронічного тиреоїдиту трансмембранний потенціал мітохондрій злишається на рівні контрольних значень, а активність каспази-3 збільшена удвічі. Це дозволило зробити висновок, що основні механізми апоптозу за останніх умов зосереджені на залученні зовнішнього рецепторного механізму ініціації програмованої загибелі; при цьому підвищення активності каспази-3 може відбуватися внаслідок дії каспази-8, тоді як участь мітохондрій менш істотна [12]. Цей висновок спирається також на дані літератури, що заперечують за умов розвитку тиреоїдиту роль білка *Bcl-2*, який займає одне з центральних місць у регуляції апоптозної функції мітохондрій [19].

Зважаючи на зазначене, а також на свідчення, що оксид азоту відіграє істотну роль в ініціації апоптозу [35], можна припустити, що підвищення внаслідок активації синтезу оксиду азоту в тканині ЩЗ за хронічного тиреоїдиту, певно, не має критичного впливу на стан мітохондріальних механізмів регуляції апоптозу при цій патології. Підтвердженням цієї думки є результати досліджень в яких встановлено, що нітрозилування під дією оксиду азоту гліцеральдегід-3-фосфатдегідрогенази з наступною транслокацією цього ферменту до ядра може бути посередником *TRAIL*-індукованого апоптозу клітин ЩЗ за аутоімунного тиреоїдиту [22]. Саме рецепторам смерті *DR4* і *DR5* та їх ліганду *TRAIL* деякі дослідники віддають пріоритетне значення у загибелі тиреоцитів при цьому захворюванні [15, 19].

Активність каспази-3 за вогнищового тиреоїдиту знижена [11], у той же час при цьому стані підвищення активності *cNOS* є найбільш вираженим (див. табл. 2). Можливо, що більші концентрації оксиду азоту можуть прямо впливати на активність каспази-3. По-перше, добре відомо, що ефекти цієї активної молекули залежать від її концентрації, а по-друге, саме регуляторні білки та ферменти є важливими клітинними мішенями оксиду азоту [3]. Як зазначено вище, нітрозилування ефektorних каспаз у разі збільшення синтезу оксиду азоту може приводити до блокування апоптозу [20, 36]. До того ж показано, що хоч утворений в мітохондріях пероксинітрит активує мітохондріальну пору, оксид азоту, який синтезується при дії *cNOS* (але не *iNOS*), навпаки, інгібує її відкриття [10], що блокує вихід проапоптозних чинників і активацію каспази-3.

Отже, в тканині ЩЗ у разі виникнення запальних та/чи аутоімунних процесів відбувається активація синтезу оксиду азоту. При цьому наслідки такої активації до кінця не з'ясовані, що потребує подальших досліджень. Відсутність чітких паралельних змін між змінами активності синтаз і вмістом метаболітів оксиду азоту може бути пов'язана з нестабільністю останнього, швидкою утилізацією цієї молекули в різноманітних внутрішньоклітинних реакціях, створенні різних за об'ємом депо, зокрема при включенні оксиду азоту в динітрозильні комплекси із залізом чи в S-нітрозотіоли [3, 6, 13].

Список використаної літератури

1. Барабой В. А. Биоантиоксиданты. — К.: Книга плюс, 2006. — 462 с.
2. Богдарь Т. Н. Тиреоидный статус организма и оксид азота // *Annals of Mechnikov Institute*. — 2008. — № 3. — С. 8-12.
3. Бурлака А. П., Сидорик Є. П. Радикальні форми кисню та оксиду азоту при пухлинному процесі. — К.: Національна Думка, 2006. — 227 с.
4. Введение в радиационную тиреодологию. — Киев: Томирис-Н, 2006. — 615 с.
5. Гула Н. М., Косякова Г. В., Бердишев А. Г. Вплив N-стероїлетаноламіну на NO-синтазний шлях генерації оксиду азоту в аорті та серці щурів із стрептозотонініндукованим діабетом // *Укр. біохім. журн.* — 2007. — 79, № 5. — С. 153-158.
6. Ивашкин В. Т., Драпкина О. М. Клиническое значение оксида азота и белков теплового шока. — М.: ГЭОТАР-МЕД, 2001. — 85 с.
7. Кавок Н. С. Структура і регуляція ферментів тиреоїдного гормоніопоза // *Укр. біохім. журн.* — 2006. — 78, № 1. — С. 5-19.
8. Кандор В. И. Аутоиммунные заболевания щитовидной железы и апоптоз // *Пробл. эндокринолог.* — 2002. — 48, № 1. — С. 45-48.
9. Комареццева Е. В. Роль оксида азота и сосудистого эндотелиального фактора роста в генезе узловой тиреоидной патологии // *Укр. мед. альманах.* — 2008. — 11, № 6. — С. 90-94.
10. Коцюруба А. В., Коркач Ю. П., Сагач В. Н. Синтез регуляторів пори МРТР у мітохондріях серця щурів за норми і патології та кардіопротекторна дія гормонів екдистерону і мелатоніну // *Укр. біохім. журн.* — 2010. — 82, № 4 (додаток 1). — С. 135.
11. Мишуніна Т. М., Калініченко О. В., Тронько М. Д. та ін. Мітохондріальні та постмітохондріальні механізми апоптозу у тканині щитоподібної залози з ознаками лімфоїдної інфільтрації чи хронічного тиреоїдиту // *Ендокринологія.* — 2009. — 14, № 1. — С. 48-56.
12. Мишуніна Т. М., Тронько М. Д. Основні молекулярні механізми апоптозу та їх порушення при канцерогенезі щитоподібної залози // *Журн. АМН України.* — 2006. — 12, № 4. — С. 611-633.
13. Реутов В. П. Медико-биологические аспекты циклов оксида азота и супероксидного анион-радикала // *Вестник РАМН.* — 2000. — № 4. — С. 35-41.
14. Саприна Т. В., Прохоренко Т. С., Рязанцева Н. В., Ворожцова И. Н. Цитокинопосредованные механизмы формирования аутоиммунных тиреопатий // *Клин.*

- эксперим. тиреологическая. — 2010. — 6, № 4. — С. 6-27.
15. Старкова Н. Т. Структурные изменения щитовидной железы. Причины возникновения, постановка диагноза, методы лечения // Пробл. эндокринол. — 2002. — 48, № 1. — С. 3-6.
 16. Ткач Н. В., Парамонова Н. С., Карева Е. Г. Динамика заболеваемости аутоиммунным тиреоидитом у детей и подростков Гродненской области // Журн. ГТМУ. — 2005. — № 3. — С. 110-112.
 17. Bazzara L., Vulez M., Costamagna M. et al. Nitric oxide/cGMP signaling inhibits TSH-stimulated iodide uptake and expression of thyroid peroxidase and thyroglobulin mRNA in FRTL-5 thyroid cells // Thyroid. — 2007. — 17, № 8. — P. 717-727.
 18. Bian K., Doursout M., Murad F. Vascular system: role of nitric oxide in cardiovascular diseases // J. Clin. Hypertens. (Greenwich). — 2008. — 10, № 4. — P. 304-310.
 19. Bretz J. Apoptosis and autoimmune thyroid disease: following a TRAIL to thyroid destruction? // Clin. Endocrinol. — 2001. — 55, № 1. — P. 1-11.
 20. Carreras M. Mitochondrial nitric oxide in the signaling of cell integrated responses // Am. J. Physiol. Cell Physiol. — 2007. — 292, № 5. — P. C1569-C1580.
 21. Colin I., Kopp P., Zbären J. et al. Expression of nitric oxide synthase III in human thyroid follicular cells: evidence for increased expression in hyperthyroidism // Eur. J. Endocrinol. — 1997. — 136, № 6. — P. 649-655.
 22. Du Z., Wang H., Zhang H., Gao D. Involvement of glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase in tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand-mediated death of thyroid cancer cells // Endocrinology. — 2007. — 148, № 9. — P. 4352-4361.
 23. Figueroa-Vega N., Majano P., Larrañaga E. et al. Inducible nitric oxide synthase (iNOS) expression in autoimmune thyroid disorders (AITD) // Endocrinol. Nutr. — 2008. — 55, № 8. — P. 340-345.
 24. Flammer A., Luscher T. Human endothelial dysfunction: EDRFs // Pflugers Arch. — 2010. — 459, № 6. — P. 1005-1013.
 25. Fortunato R., Ferreira A., Hecht F. et al. Sexual dimorphism and thyroid dysfunction: a matter of oxidative stress? // J. Endocrinol. — 2014. — 221, № 2. — P. R31-R40.
 26. Gurard A., Many M., Daumerie C. et al. Structural changes in the angiofollicular units between active and hypofunctioning follicles align with differences in the epithelial expression of newly discovered proteins involved in iodine transport and organification // J. Clin. Endocrinol. Metab. — 2002. — 87, № 3. — P. 1291-1299.
 27. Green L., Wagner D., Glogowski J. et al. Analysis of nitrate, nitrite, and ¹⁵N nitrate in biological fluids // Anal. Biochem. — 1982. — 126, № 1. — P. 131-138.
 28. Hartree T. Determination of protein: A modification of Lowry method that gives a linear photometric response // Anal. Biochem. — 1972. — 48, № 2. — P. 422-427.
 29. Kim P., Zamora R., Petrosko P., Billiar T. The regulatory role of nitric oxide in apoptosis // Int. Immunopharmacol. — 2001. — 1, № 8. — P. 1421-1441.
 30. Knudsen N., Lauberg P., Perrid H. Risk factor for goiter and thyroid nodules // Thyroid. — 2002. — 12, № 10. — P. 879-888.
 31. LoFaro M., Fox B., Whatmore J. et al. Hydrogen sulfide and nitric oxide interactions in inflammation // Nitric Oxide. — 2014. — 41. — P. 38-47.
 32. Mikoś H., Mikoś M., Obara-Moszyńska M., Niedziela M. The role of the immune system and cytokines involved in the pathogenesis of autoimmune thyroid disease (AITD) // Endokrynol. Pol. — 2014. — 65, № 2. — P. 150-155.
 33. Myshunina T. M., Kalinichenko O. V., Tron'ko M. D. Mechanism of apoptosis in thyroid cells under thyroid pathology // Inter. J. Physiol. Pathophysiol. — 2010. — 1, № 2. — P. 81-96.
 34. Nose F., Ichikawa T., Fujiwara M., Okayasu I. Up-regulation of cyclooxygenase-2 expression in lymphocytic thyroiditis and thyroid tumors: significant correlation with inducible nitric oxide synthase // Am. J. Clin. Pathol. — 2002. — 117, № 4. — P. 546-551.
 35. Olson S., Garban H. Regulation of apoptosis-related genes by nitric oxide in cancer // Nitric Oxide. — 2008. — 19, № 2. — P. 170-176.
 36. Poderoso J. The formation of peroxynitrite in the applied physiology of mitochondrial nitric oxide // Arch. Biochem. Biophys. — 2009. — 484, № 2. — P. 214-220.
 37. Shinde U., Mehta A., Goyal R. Nitric oxide: a molecule of the millennium // Indian. J. Exp. Biol. — 2000. — 38, № 3. — P. 201-210.
 38. Suzuki K., Mori A., Lavaroni S. et al. Thyroglobulin: A master regulator of follicular function via transcriptional suppression of thyroid specific genes // Acta Histochem. et Cytochem. — 1999. — 32, № 2. — P. 111-119.
 39. Taddei S., Caraccio N., Virdis A. et al. Low-grade systemic inflammation causes endothelial dysfunction in patients with Hashimoto's thyroiditis // J. Clin. Endocrinol. Metab. — 2006. — 91, № 12. — P. 5076-5082.
 40. Vural P., Degirmencioglu S., Erden S., Gelincik A. The relationship between transforming growth factor-beta 1, vascular endothelial growth factor, nitric oxide and Hashimoto's thyroiditis // Int. Immunopharmacol. — 2009. — 9, № 2. — P. 212-215.
 41. You D., Jhon G., Jung H. Molecular assembly of thyroglobulin induced by *in vitro* nitric oxide treatments: Implication its role in thyroid cells // Protein J. — 2013. — 32, № 8. — P. 619-625.

Одержано 20.12.2014

СИСТЕМА ГЕНЕРАЦИИ ОКСИДА АЗОТА В ТКАНИ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ С ЛИМФОИДНОЙ ИНФИЛЬТРАЦИЕЙ ИЛИ ХРОНИЧЕСКИМ ТИРЕОИДИТОМ

Т. М. Мишунина, Е. В. Калиниченко, Н. Д. Тронько, Л. Ю. Зурнаджи

Государственное учреждение “Институт эндокринологии и обмена веществ им. В. П. Комиссаренко НАМН Украины”, 04114 Киев

Исследованы уровень оксида азота (по количеству метаболитов), активность его синтаз — конститутивных и индуцибельных (cNOS и iNOS) — в ткани щитовидной железы (ЩЗ) с морфологическими признаками хронического тиреоидита или очаговой лимфоидной инфильтрации. Уровень метаболитов оксида азота и активность cNOS в ткани ЩЗ, инфильтрованной лимфоцитами, соответствуют таким в неизменной ткани железы нормофолликулярного строения, тогда как активность iNOS существенно выше, чем активность фермента в ткани сравнения. При хроническом тиреоидите установлены повышенный уровень метаболитов оксида азота и повышенную активность обоих ферментов его синтеза; при этом изменения в системе генерации оксида азота не зависят от характера основного заболевания, а также от наличия фиброзно-склеротических изменений стромы, но отличаются в зависимости от фолликулярного строения ткани и более выражены при очаговом тиреоидите по сравнению с выраженным. Результаты исследований подтверждают предположения об участии оксида азота в механизмах развития воспалительных и аутоиммунных процессов в ЩЗ, а также о его возможной роли в изменении функционального состояния тиреоидного эндотелия, формировании макрофолликулярной структуры железы и апоптоза.

SYSTEM OF GENERATION OF NITRIC OXIDE IN THE THYROID TISSUE WITH LYMPHOID INFILTRATION OR CHRONIC THYROIDITIS

T. M. Myshunina, E. V. Kalinichenko, N. D. Tronko, L. Yu. Zurnadzhi

State Institution “V. P. Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism NAMS Ukraine”, 04114 Kyiv

The content of nitric oxide (by content of metabolites), its synthase activity — constitutive and inducible (cNOS and iNOS) — in thyroid tissue with morphological signs of chronic thyroiditis or in its focal lymphoid infiltration were studied. The content of nitric oxide metabolites and cNOS activity in thyroid tissue with lymphoid infiltration corresponded to those in intact thyroid tissue with normofollicular structure, whereas iNOS activity was significantly higher than the enzyme activity in the tissue of comparison. Revealed in chronic thyroiditis was an increased content of nitric oxide' metabolites and increased activity of both enzymes of its synthesis, with changes in nitric oxide generation system not depending on the nature of the underlying disease, as well as on the presence of fibrous and sclerotic changes in the stroma, but differ depending on the tissue follicular structure and changes were more pronounced in focal vs. pronounced thyroiditis. The results obtained confirmed assumptions about participation of nitric oxide in the development of inflammatory and autoimmune processes in the thyroid gland, as well as about its possible role in changing the function of thyroid endothelium, in formation of macrofollicular structure of the gland and in apoptosis.