

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

ОКСИД АЗОТУ ТА ФЕРМЕНТИ ЙОГО СИНТЕЗУ В ТКАНИНІ ДОБРОЯКІСНИХ ВУЗЛОВИХ УТВОРЕНЬ ЩИТОПОДІБНОЇ ЗАЛОЗИ

Досліджено рівень оксиду азоту (за рівнем його метаболітів), активність його синтаз — конститутивної та індукційної (сNOS та iNOS) — у тканині щитоподібної залози з морфологічними ознаками вираженого гіперпластичного процесу (13), у тканині вузлів залози хворих з еутиреоїдним вузловим зобом (17), у тканині фолікулярних (17) та оксифільноклітинних (5) аденом, а також у позавузловій тканині нормофолікулярної будови (17, група порівняння). Виявлено, що рівень метаболітів оксиду азоту та активність ферментів у позавузловій тканині щитоподібної залози з ознаками активної проліферації тиреоцитів, а також у тканині оксифільноклітинних аденом вищі, ніж у позавузловій незмінній тканині. У зобнозмінній тканині та у тканині фолікулярних аденом активність сNOS та iNOS незмінні, хоча в тканині цих доброякісних новоутворень, які мали мікрофолікулярну будову, відзначено вищий рівень метаболітів оксиду азоту, що може свідчити про активацію нітритредуктазного шляху його утворення. Проведений аналіз можливого зв'язку між активацією системи генерації цієї молекули та змінами деяких біохімічних процесів регуляції чи реалізації апоптозу дозволив зробити висновок, що індукція синтезу оксиду азоту в тканині з вираженою клітинною проліферацією та в тканині оксифільноклітинних аденом щитоподібної залози відіграє різну роль в механізмах запрограмованої загибелі клітин за цих патологічних станів.

Ключові слова: щитоподібна залоза, зоб, фолікулярна та оксифільноклітинна аденоми, проліферація, оксид азоту, синтази оксиду азоту.

Найчастіше серед доброякісних вузлових уражень щитоподібної залози діагностують еутиреоїдний вузловий зоб, рідше — фолікулярну аденому, тоді як оксифільноклітинна аденома (аденома з клітин Ашкеназі — Гюртле) є рідкою тиреоїдною патологією. Основними чинниками патогенезу першого є зниження інтратиреоїдної концентрації йоду (за його нестачі у доквітлі чи при блокуванні його надходження до залози при дії зобогенів), підвищення секреції ТТГ, аутокринна продукція факторів росту, активація ангиогенезу. Результатом дій цих чинників є фокальна проліферація тиреоцитів

(з подальшим збільшенням швидкості спонтанних мутацій); з часом частина клітин, що має високу проліферативну активність, може перетворитися на вузлове утворення, оточене власною капсулою. Чинником виникнення фолікулярних аденом вважають генетичні мутації (зокрема, проонкогенів родини *Ras*, онкогенів, які кодують рецептори різноманітних факторів росту чи мембранні тирозинкінази), що призводять до активації низки різних сигнальних шляхів; це дає клітині, що мутувала, певну біологічну перевагу над іншими, зокрема при швидшому проходженні клітинного циклу та,

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 — гол.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.

отже, прискорення ділення клітин. Відповідальними за розвиток морфологічних і функціональних змін, які спостерігаються в оксифільноклітинних аденомах щитоподібної залози, є наявність генетичних дефектів (одночасна зміна як в ядерних, так і в мітохондріальних генах, що залучені до утворення мітохондрій і регуляції їх функції), а також відсутність рівноваги у діяльності дихального ланцюга мітохондрій [1, 2, 9, 34].

Незважаючи на різні патогенетичні механізми, значну роль у формуванні зазначених вузлових утворень щитоподібної залози відіграє оксидний стрес, внаслідок дії якого виникає низка молекулярних і генетичних порушень [30, 38]. Показано, що швидкість спонтанних мутацій у здоровій щитоподібній залозі у 8-10 разів перевищує таку в інших тканинах [26], а підвищення рівня активних радикалів кисню (понад і так високий фізіологічний рівень) при неспроможності антиоксидантних систем призводить до підвищення кількості пошкоджень ДНК, що веде до геномної нестабільності і порушення диференціювання тиреоцитів. Такий механізм постулюють для формування фолікулярних аденом [18], тоді як механізмом виникнення оксифільноклітинних аденом є стимуляція під дією активних радикалів кисню мітохондріальної проліферації, яка є компенсаторним механізмом щодо відновлення зниженої внаслідок генетичних порушень інтенсивності окисного фосфорилування [9]. У патогенезі зобнозмінених вузлів значну роль відіграють токсичність надлишку активних радикалів кисню, стимуляція під їх впливом як клітинної проліферації, так і клітинної деструкції, розвиток запалення та активація ангіогенезу [33].

Вважають, що у механізмах пошкодження клітин і тканин вагомішим, ніж оксидний, є нітро-оксидний стрес, бо активні радикали азоту більш потужні окисники порівняно з радикалами кисню [20, 23, 35]. Проте роль оксиду азоту в патогенезі доброякісних новоутворень щитоподібної залози досліджена недостатньо. В поодиноких працях зазначено, що в тканині фолікулярних аденом людини, а також у тканині експериментального еутиреоїдного зоба у щурів експресія та активність ферментів синтезу оксиду азоту вищі порівняно з такими у незмінній тканині залози [17, 19, 31]. Встановлено позитивний зворотній зв'язок між експресією фактора росту ендотелію судин і рівнем оксиду азоту у тканині зобних вузлів, що припускає участь останнього у зміні васкуляризації щитоподібної залози за цих умов [24].

Метою роботи було дослідження рівня оксиду азоту (за рівнем його метаболітів) та активності синтаз оксиду азоту (конститутивної та індучи-

бельних — cNOS та iNOS) у позавузловій тканині з ознаками вираженого гіперпластичного процесу, зобнозмінений тканині залози хворих з еутиреоїдним зобом та тканині фолікулярних і оксифільноклітинних аденом.

Матеріал та методи. Досліджено 69 зразків тканини щитоподібної залози, які були отримані від пацієнтів з вузловою еутиреоїдною патологією. Серед них 13 зразків позавузлової тканини з ознаками вираженої гіперплазії, 17 зразків зобнозміненої тканини вузлів, 17 зразків тканини фолікулярних аденом, 5 зразків тканини оксифільноклітинних аденом і 17 зразків незміненої позавузлової тканини нормофолікулярної будови (останні склали групу порівняння).

Рівень метаболітів оксиду азоту (суму нітрита відновленого нітрат-аніонів), а також активність cNOS та iNOS визначали в гомогенатах тканини щитоподібної залози, як описано раніше [11]. Рівень метаболітів NO виражали у нмоль/мг білка, а активність ферментів — у нмоль NO/(год·мг білка). Вміст білка у гомогенатах тканин щитоподібної залози визначали за однією з модифікацій загальноприйнятого методу Лоурі.

Статистичну значимість відмінностей між групами оцінювали за *t*-критерієм Стьюдента.

Результати та їх обговорення. Результати досліджень щодо з'ясування участі оксиду азоту в регуляції проліферативних процесів суперечливі; крім того зазначають, що лише невеличка частка публікацій серед приблизно 200 000, які містять інформацію про роль оксиду азоту в різних метаболічних і фізіологічних процесах, висвітлюють значення цієї молекули в регуляції генної активності, проліферації та диференціювання клітин [13]. Більшість авторів схилиються до висновків, що розбіжності у спрямованості ефектів ендогенного оксиду азоту на зазначені процеси залежать від його рівня, типу клітин, активності онкогенів і стадії клітинного циклу; тому цю молекулу вважають фізіологічним модулятором проходження клітинного циклу, проліферації та апоптозу [29, 36]. Щодо щитоподібної залози, то підвищення експресії cNOS саме в тиреоцитах за різних новоутворень, для яких є характерним активація проліферації тиреоїдного епітелію, розглядають в якості доказів важливої ролі оксиду азоту в цьому процесі [19]. Зазначеним даним співзвучні результати наших досліджень, бо показано, що рівень метаболітів оксиду азоту, активність cNOS та iNOS у позавузловій тканині щитоподібної залози з ознаками активної проліферації тиреоцитів були вищими за такі в позавузловій незмінній тканині (табл. 1).

Таблиця 1

Рівень метаболітів оксиду азоту та активність NO-синтаз у незміненої тканині щитоподібної залози, тканині з ознаками активації проліферативних процесів, зобнозмінений тканині, тканині фолікулярних і оксифільноклітинних аденом, $M \pm m$

Тканина	n	Метаболіти NO, моль/мг білка	cNOS, нмоль/(год·мг білка)	iNOS, нмоль/(год·мг білка)
Позавузова незмінена	17	2,6 ± 0,4	10,3 ± 1,5	6,7 ± 0,7
Позавузова з ознаками проліферації тиреоцитів	13	4,9 ± 0,7**	21,9 ± 5,1*	15,4 ± 1,7***
Зобного вузла	17	3,6 ± 0,8	11,7 ± 2,5	6,1 ± 1,3
Фолікулярної аденоми	17	4,5 ± 0,7*	8,8 ± 1,2	6,4 ± 0,9
Оксифільноклітинної аденоми	5	5,6 ± 1,0**	15,6 ± 1,1**	18,0 ± 4,8*

Примітки: * — $P < 0,05$, ** — $P < 0,01$, *** — $P < 0,001$ порівняно із незміненою тканиною.

У той же час, у зобнозмінений тканині вузлів щитоподібної залози хворих з еутиреоїдним зобом рівень метаболітів оксиду азоту та активність ферментів його синтезу відповідала таким у незмінений тканині (див. табл. 1). Ці результати відрізняються від отриманих іншими дослідниками, які встановили, що в тканині вузлів щитоподібної залози хворих з еутиреоїдним зобом рівень оксиду азоту вищий, ніж у тканині, яка їх оточує [6]. Щодо синтаз оксиду азоту, то за одними даними активність cNOS у тканині вузлового зоба збільшена, що може відображати активацію генерації цієї молекули в ендотелії тиреоїдних судин за неоангіогенезу [31], за іншими — значну імунореактивність cNOS реєстрували біля апікальної мембрани лише тих фолікулів, в яких спостерігали активну проліферацію тиреоцитів [16], а деяке збільшення активності iNOS в зобнозмінений тканині не було вірогідним [31].

Відсутність істотних змін активності синтаз оксиду азоту встановлено також у тканині фолікулярних аденом, хоча рівень його метаболітів виявився при цьому підвищеним (див. табл. 1). Проте звертають на себе увагу результати аналізу отриманих даних з огляду на особливості фолікулярної будови тканини доброякісних новоутворень щитоподібної залози. У тканині фолікулярних аденом щитоподібної, як і в тканині вузлів, вищий рівень метаболітів оксиду азоту спостерігали лише за мікрофолікулярної будови тканини (табл. 2). При цьому істотної різниці в активності синтаз оксиду азоту залежно від особливості фолікулярної будови тканини не відзначено.

Невідповідність змін рівня метаболітів оксиду азоту та активності основних ферментів його син-

тезу може бути пояснена активацією більш потужного нітритредуктазного компонента ланцюга метаболічних перетворень оксиду азоту, який пов'язаний із гемовмісними білками. Він активується при гіпоксії, за якої утворення оксиду азоту при участі його синтаз гальмується, бо для ферментативного окислення аргініну потрібен кисень [25]. Можливо, при виникненні локальної тканинної гіпоксії в тканині доброякісних новоутворень щитоподібної залози підвищення рівня оксиду азоту відбувається за рахунок прямого відновлення нітриту в присутності гемопротеїнів. Чому це має місце лише в тканині мікрофолікулярної будови поки що незрозуміло, однак відзначимо, що і раніше ми неодноразово фіксували різні за спрямованістю та характером зміни ряду біохімічних процесів як у тканині залози, так і в тканині її новоутворень, які мали переважно нормо-, мікро-, макро- чи гетерофолікулярну будову [4, 7, 28].

Таблиця 2

Рівень метаболітів оксиду азоту в зобнозмінений тканині щитоподібної залози та тканині її фолікулярних аденом різної фолікулярної будови, нмоль/мг білка ($M \pm m$)

Будова тканини	n	Зобнозмінена	n	Фолікулярна аденома
Нормофолікулярна	7	2,60 ± 0,88	3	3,13 ± 1,07
Мікрофолікулярна	3	9,47 ± 0,22**	7	5,82 ± 0,93*
Макрофолікулярна	7	2,01 ± 0,71	7	2,69 ± 1,01

Примітка: * $P < 0,05$, ** — $P < 0,001$ порівняно з нормофолікулярною будовою.

У тканині оксифільноклітинних аденом щитоподібної залози спостерігали значно вищу активність обох синтаз оксиду азоту та вищий рівень його метаболітів (див. табл. 1). Отже, нітро-оксидний стрес дійсно може бути одним із патогенетичних чинників формування порушень інтенсивності мітохондріальної проліферації та окисного фосфорилювання при утворенні оксифільноклітинних аденом [9], так як показано, що оксид азоту регулює мітохондріальний біогенез [22].

Зважаючи на роль оксиду азоту в регуляції апоптозної загибелі, цікавим, на нашу думку, є аналіз можливих зв'язків між активністю генерації цієї молекули та змінами деяких біохімічних процесів регуляції чи реалізації апоптозу в тканині щитоподібної залози за патологічних станів, що досліджені в роботі. Так, раніше ми встановили, що у зобнозмінений тканині проникність мембран мітохондрій, активність каспази-3, а також активність цистеїнових катепсинів (маркери лізосомального шляху ініціації апоптозу) не відрізняються від таких у незмінений тканині залози [5, 10, 28]. Відсутність змін активності iNOS у тканині вузлів щитоподібної залози підтверджує думку про те, що

у цій тканині активації апоптозу не відбувається, бо NO-медійований апоптоз потребує насамперед утворення пероксинітриду, який є результатом взаємодії супероксидного радикал-аніону з оксидом азоту, синтезованого за участю мітохондріальної iNOS [15, 32]. Дані літератури також свідчать про невеликий відсоток клітин у зобнозмінній тканині, які експресують проапоптозні білки [21], а також про резистентність до них клітин культури вузлового зоба [27].

У той же час, підвищення рівня оксиду азоту може прямо блокувати діяльність ефекторних каспаз за рахунок нітрозилування тіолової групи в їх активному центрі [15, 32]. У позавузловій тканині щитоподібної залози з ознаками вираженої проліферації тиреоцитів поряд з підвищенням активності cNOS та iNOS має місце різке зниження активності каспази-3 [28], зменшення інтенсивності міжнуклеосомної фрагментації ДНК [3] та резистентність клітин до дії апоптозomodуючих препаратів [8], що вказує на гальмування апоптозу. Останнє, зокрема, є чинником порушення контролю за величиною клітинної популяції в щитоподібній залозі.

Різний за характером стан системи генерації оксиду азоту в оксифільноклітинних і фолікулярних аденомах підтверджує попередні висновки про різний характер змін апоптозних процесів у тканині цих доброякісних пухлин щитоподібної залози. Так, поряд із падінням у тканині оксифільноклітинних аденом величини трансмембранного потенціалу мітохондрій встановлено значне збільшення активності каспази-3 [9]. За сукупністю це свідчить, що в таких аденомах одночасно з дисфункцією мітохондрій, яка торкається процесів енергозабезпечення, має місце активація мітохондріального шляху ініціації апоптозу. Значна (у 3 рази) активація iNOS та підвищення рівня мета-

болітів оксиду азоту (зокрема, можливе і підвищення рівня пероксинітриду) вкладаються в цей сценарій. Крім цього, підвищення активності катепсинів *L* і *H* у цитозолі з клітин цих аденом [9] свідчить про активацію і лізосомального шляху ініціації апоптозу, бо катепсини, які секретуються з лізосом у цитозоль, ініціюють пермеабілізацію мітохондріальної мембрани, що є раннім етапом механізму програмованої клітинної загибелі і передуює зміні пермеабельності мембрани мітохондрій [14]. Відомо, що одним із чинників активації лізосомального шляху ініціації апоптозу є також оксидний стрес [37].

На противагу цьому, величина трансмембранного потенціалу мітохондрій з тканини фолікулярних аденом збільшена, а активність каспази-3 не змінена, що дозволяє припустити не тільки відсутність активації апоптозу, але і гальмування мітохондріальних процесів, що ініціюють його. Активність iNOS у такій тканині також залишається незмінною. В цитозолі з тканини фолікулярних аденом змін активності катепсинів *L* і *H* не відзначено, а активність катепсину *B* знижена, що підтверджує зроблений вище висновок [9].

Отже, результати проведених досліджень свідчать про різну роль активації системи генерації оксиду азоту в механізмах програмованої загибелі клітин у тканині щитоподібної залози з вираженими ознаками проліферації тиреоцитів і в тканині оксифільноклітинних аденом. Назагал, підвищення утворення оксиду азоту та його метаболітів може бути однією зі складових механізмів впливу оксидного стресу в патогенезі зазначених станів. Роль оксиду азоту у формуванні зобнозмінених вузлів та фолікулярних аденом щитоподібної залози потребує уточнення, тобто подальших досліджень.

Список використаної літератури

1. Абрамова Н. А., Фадеев В. В., Герасимов Г. А., Мельниченко Г. А. Зобогенные вещества и факторы // Клин. и эксперим. тиреоидология. — 2006. — 2, № 1. — С. 21-32.
2. Дедов И. И., Трошина Е. А., Мазурина Н. В. и др. Молекулярно-генетические аспекты новообразований щитовидной железы // Пробл. эндокринолог. — 2000. — 46, № 2. — С. 22-30.
3. Калініченко О. В., Мишуніна Т. М., Пількевич Л. І. та ін. Міжнуклеосомна та внутрішньонуклеосомна фрагментація ДНК у щитоподібній залозі хворих на різну тиреоїдну патологію // Ендокринологія. — 2007. — 12, № 1. — С. 48-57.
4. Калініченко О. В., Мишуніна Т. М., Тронько М. Д., Журнаджи Л. Ю. Активність цистеїнових катепсинів у тканині щитоподібної залози пацієнтів із хворобою
- Грейвса // Журн. НАМН України. — 2012. — 18, № 3. — С. 389-395.
5. Калініченко О. В., Мишуніна Т. М., Тронько М. Д., Журнаджи Л. Ю. Активність цистеїнових катепсинів у тканині щитоподібної залози хворих з еутиреоїдним вузловим зобом // ДАН України. — 2011. — № 11. — С. 191-196.
6. Комаревцева Е. В. Роль оксида азота и сосудистого эндотелиального фактора роста в генезе узловой тиреоидной патологии // Укр. мед. альманах. — 2008. — 11, № 6. — С. 90-94.
7. Мишуніна Т. М., Калініченко О. В. Особливості проникливості мембран мітохондрій клітин з ділянок нормальної тиреоїдної паренхіми мікро- та нормофолікулярної будови // Ендокринологія. — 2008. — 13, № 1. — С. 35-44.

8. Мишуніна Т. М., Калініченко О. В., Пількевич Л. І., Тронько М. Д. Вплив антиоксидантів на міжнуклеосомну фрагментацію ДНК у тканині щитоподібної залози хворих на різну тиреоїдну патологію // Укр. біохім. журн. — 2007. — **79**, № 5. — С. 178-187.
9. Мишуніна Т. М., Калініченко О. В., Тронько М. Д. Оксифільноклітинні пухлини щитоподібної залози: генетичні порушення, особливості метаболізму, апоптоз // Журн. НАМН України. — 2011. — **17**, № 4. — С. 330-342.
10. Мишуніна Т. М., Калініченко О. В., Тронько М. Д. та ін. Проникність мембран мітохондрій із зобнозміненої тканини щитоподібної залози хворих із еутиреоїдним вузловим зобом // Журн. АМН України. — 2008. — **14**, № 3. — С. 435-449.
11. Мишуніна Т. М., Калініченко О. В., Тронько М. Д., Журнаджи Л. Ю. Система генерації оксиду азоту в тканині щитоподібної залози з лімфоїдною інфільтрацією чи хронічним тиреоїдитом // Журн. НАМН України. — 2015. — **21**, № 1. — С. 115-121.
12. Пількевич Л. І., Калініченко О. В., Мишуніна Т. М. та ін. Високомолекулярна та фрагментована ДНК у тканині щитоподібної залози хворих з різною тиреоїдною патологією // Журн. АМН України. — 2007. — **13**, № 2. — С. 229-240.
13. Bian K., Murad F. What is next in nitric oxide research? From cardiovascular system to cancerbiology // Nitric Oxide. — 2014. — **1**, № 43. — P. 3-7.
14. Brunk U., Zhao Ming. Septic shock and the lysosomal-mitochondrial axis theory of apoptosis // Molecular mechanism of severe shock. — Kerala, India: Research Signpost, 2009. — P. 91-106.
15. Carreras M., Poderoso J. Mitochondrial nitric oxide in the signaling of cell integrated responses // Am. J. Physiol. Cell Physiol. — 2007. — **292**, № 5. — P. 1569-1580.
16. 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.
17. Colin I., Nava E., Toussaint D. et al. Expression of nitric oxide synthase isoforms in the thyroid gland: evidence for a role of nitric oxide in vascular control during goiter formation. // Endocrinology. — 1995. — **136**, № 12. — P. 5283-5290.
18. Karger S., Krause K., Engelhardt C. et al. Distinct pattern of oxidative DNA damage and DNA repair in follicular thyroid tumours // J. Mol. Endocrinol. — 2012. — **48**, № 3. — P. 193-202.
19. Kayser L., Francis D., Broholm H. Immunohistochemical localization of inducible and endothelial constitutive nitric oxide synthase in neoplastic and autoimmune thyroid disorders // APMIS. — 2000. — **108**, № 11. — P. 785-791.
20. Korkmaz A., Manchester L. Reactive nitrogen species: devastating intracellular players and melatonin as a defender // J. Exp. Integr. Med. — 2011. — **1**, № 1. — P. 63-65.
21. Kotani T., Aratake Y., Ohtaki S. Apoptosis in Hashimoto's thyroiditis // Rinsho Byori. — 1997. — **45**, № 11. — P. 1038-1047.
22. Le Pennec S., Mirebeau-Prunier D., Boutet-Bouzamondo N. et al. Nitric oxide and calcium participate in the fine regulation of mitochondrial biogenesis in follicular thyroid carcinoma cells // J. Biol. Chem. — 2011. — **286**, № 20. — P. 18229-18239.
23. Liaudet L., Rosenblatt-Velin N., Pacher P. Role of peroxynitrite in the cardiovascular dysfunction of septic shock // Curr. Vasc. Pharmacol. — 2013. — **11**, № 2. — P. 196-207.
24. Liu G., Zhang W., Jiang P. et al. Role of nitric oxide and vascular endothelial growth factor in fluoride-induced goitro genesis in rats // Environ. Toxicol. Pharmacol. — 2012. — **34**, № 2. — P. 209-217.
25. Lundberg J., Weitzberg E. The biological role of nitrate and nitrite: the times they are a-changin' // Nitric Oxide. — 2010. — **22**, № 2. — P. 61-63.
26. Maier J., van Steeg H., van Oostrom C. et al. Deoxyribonucleic acid damage and spontaneous mutagenesis in the thyroid gland of rats and mice // Endocrinology. — 2006. — **147**, № 7. — P. 3391-3397.
27. Mitsiades C., Poulaki V., Mitsiades N. The role of apoptosis-inducing receptors of the tumor necrosis factor family in thyroid cancer // J. Endocrinol. — 2003. — **178**, № 2. — P. 205-216.
28. Myshunina T., Kalinichenko O., Tron'ko M. Mechanism of apoptosis in thyroid cells under thyroid pathology // Inter. J. Physiol. Pathophysiol. — 2010. — **1**, № 2. — P. 81-96.
29. Napoli C., Paolisso G., Casamassimi A. et al. Effects of nitric oxide on cell proliferation // J. Amer. College of Cardiol. — 2013. — **62**, № 2. — P. 89-95.
30. Paschke R. Molecular pathogenesis of nodular goiter // Langenbecks Arch. Surg. — 2011. — **396**, № 8. — P. 1127-1136.
31. Patel A., Fenton C., Terrell R. et al. Nitrotyrosine, inducible nitric oxid synthase (iNOS), and endothelial nitric oxide synthase (eNOS) are increased in thyroid tumors from children and adolescents // J. Endocrinol. Invest. — 2002. — **25**, № 8. — P. 675-683.
32. Poderoso J. The formation of peroxynitrite in the applied physiology of mitochondrial nitric oxide // Arch. Biochem. Biophys. — 2009. — **484**, № 2. — P. 214-220.
33. Poncin S., Van Eeckoudt S., Humblet K. et al. Oxidative stress. A required condition for thyroid cell proliferation // Am. J. Pathol. — 2010. — **176**, № 3. — P. 1355-1363.
34. Schulten H., Salama S., Al-Ahmadi A. et al. Comprehensive survey of HRAS, KRAS, and NRAS mutations in proliferative thyroid lesions from an ethnically diverse population // Anticancer Res. — 2013. — **33**, № 11. — P. 4779-4784.
35. Valez V., Cassina A., Batinic-Haberle I. et al. Peroxynitrite formation in nitric oxide-exposed submitochondrial particles: detection, oxidative damage and catalytic removal by Mn-porphyrins // Arch. Biochem. Biophys. — 2013. — **529**, № 1. — P. 45-54.
36. Villalobo A. Nitric oxide and cell proliferation // FEBS J. — 2006. — **273**, № 11. — P. 2329-2344.
37. Wattiaux R., Wattiaux-de Coninck S., Thirion J. et al. Lysosomes and Fas-mediated liver cell death // Biochem J. — 2007. — **403**, № 1. — P. 89-95.
38. Young O., Crotty T., O'Connell R. et al. Levels of oxidative damage and lipid peroxidation in thyroid neoplasia // Head Neck. — 2010. — **32**, № 6. — P. 750-756.

Одержано 8.06.2015

ОКСИД АЗОТА И ФЕРМЕНТЫ ЕГО СИНТЕЗА В ТКАНИ ДОБРОКАЧЕСТВЕННЫХ УЗЛОВЫХ ОБРАЗОВАНИЙ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Т. М. Мишунина, Е. В. Калининченко, Н. Д. Тронько, Л. Ю. Журнаджи

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

Исследован уровень оксида азота (по уровню его метаболитов), активность его синтаз — конститутивной и индуцибельных (cNOS и iNOS) — в ткани щитовидной железы с морфологическими признаками выраженного гиперпластического процесса (13), в ткани узлов железы больных с эутиреоидным узловым зобом (17), в ткани фолликулярных (17) и оксифильноклеточных (5) аденом, а также в ткани нормофолликулярного строения (17). Выявлено, что уровень метаболитов оксида азота и активность ферментов во внеузловой ткани щитовидной железы с признаками активной пролиферации тиреоцитов, а также в ткани оксифильноклеточных аденом выше, чем во внеузловой неизменной ткани. В зобноизмененной ткани и в ткани фолликулярных аденом активность cNOS и iNOS неизменена, хотя в ткани этих доброкачественных новообразований, имеющих микрофолликулярное строение, отмечен повышенный уровень метаболитов оксида азота, что может свидетельствовать об активации нитритредуктазного пути его образования. Проведенный анализ возможной связи между активацией системы генерации этой молекулы и изменениями некоторых биохимических процессов регуляции или реализации апоптоза позволил сделать вывод, что индукция синтеза оксида азота в ткани с выраженной клеточной пролиферацией и в ткани оксифильноклеточных аденом щитовидной железы играет разную роль в механизмах программированной гибели клеток при этих патологических состояниях.

NITRIC OXIDE AND ENZYMES OF ITS SYNTHESIS IN THE TISSUE OF THYROID BENIGN NODULAR FORMATIONS

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

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

The level of nitric oxide (number of its metabolites), activity of its synthase — constitutive and inducible (cNOS and iNOS) — was investigated in thyroid tissue with morphological features expressed hyperplastic process, in tissue nodules of patients with thyroid euthyroid goiter, and in tissue of the follicular and oxyphilic cells adenomas. We found that the level of nitric oxide metabolites and the activity of enzymes in extranodal thyroid tissue with evidence of active proliferation of thyrocytes and in tissue oxyphilic cells adenomas higher than those in intact extranodal tissue. In tissue nodules and follicular adenoma activity of cNOS and iNOS unchanged, although the fabric of these benign tumors with microfollicular structure, marked by elevated levels of nitric oxide metabolites that may indicate activation nitrite reductase way of its formation. The analysis of the possible link between the activation of the generation of this molecule and some changes in the regulation and the implementation of biochemical processes of apoptosis led to the plateau that the induction of the synthesis of nitric oxide in the tissue with a strong cell proliferation and tissue oxyphilic cells adenomas plays a different role in the mechanisms of cell death under these pathological conditions.