

Активность перекисного окисления липидов и системы глутатиона в лимфоцитах крови у больных диффузным токсическим зобом

Уразова О.И., Кравец Е.Б., Новицкий В.В., Роголёва А.В., Васильева О.А., Кузнецова В.Н., Недосекова Ю.В.

Activity lipid peroxidation and glutathione systems of lymphocytes blood in patients with diffusive toxic struma

Urazova O.I., Kravets Ye.B., Novitsky V.V., Rogalyova A.V., Vasil'yeva O.A., Kuznetsova V.N., Nedosekova Yu.V.

Сибирский государственный медицинский университет, г. Томск

© Уразова О.И., Кравец Е.Б., Новицкий В.В. и др.

Приведены результаты исследования некоторых параметров окислительного метаболизма лимфоцитов периферической крови у больных с верифицированным диффузным токсическим зобом (ДТЗ) различной степени тяжести. Показано, что у больных ДТЗ активность перекисного окисления липидов сохраняется в пределах нормы. При этом отмечаются признаки дисбаланса глутатионовой системы антиоксидантной защиты клеток.

Ключевые слова: диффузный токсический зоб, лимфоциты, перекисное окисление липидов, антиоксиданты, глутатион.

In this article results of research of some parameters of oxidizing metabolism in lymphocytes blood in patients with verified diffusive toxic struma (DTS) of a various degree of an expressiveness are represented. It is shown, that for the patients with DTS activity the lipid peroxidation in lymphocytes is saved in norm limits. Thus the tags of disbalance of cell glutathione system antioxidative protection are scored at.

Key words: diffusive toxic struma, lymphocytes, lipid peroxidation, antioxidants, glutathione.

УДК 616.441-008.61:616.155.32

Введение

В настоящее время заболевания щитовидной железы (ЩЖ) занимают одно из первых мест в структуре эндокринной патологии по частоте регистрации. Неблагополучная экологическая (а в некоторых регионах и радиационная) обстановка способствует росту частоты заболеваний ЩЖ и меняет структуру тиреоидной патологии. Одним из наиболее часто встречающихся аутоиммунных заболеваний ЩЖ является болезнь Грейвса, распространенность которой среди населения России достигает 0,1% [8].

Болезнь Грейвса, или диффузный токсический зоб (ДТЗ), — органоспецифическое аутоиммунное заболевание, характеризующееся стойким патологическим повышением продукции тиреоидных гормонов, как правило, диффузно увеличенной ЩЖ [12].

В литературе имеются данные, свидетельствующие о влиянии тиреоидных гормонов на липидный обмен в тканях, в частности на процессы перекисного окисления липидов (ПОЛ). Показано, что гипертиреоз облегчает процессы ПОЛ [11]. В свою очередь, продукты ПОЛ могут ингибировать синтез белков, вызывать полиме-

рилизацию компонентов мембраны клеток, изменять сосудистую проницаемость, воспалительную реакцию и хемотаксическую активность клеток [10, 14]. Увеличенное образование свободных радикалов в организме и связанное с этим усиление процессов перекисидации липидов сопровождаются нарушениями свойств биологических мембран и функционирования клеток, что может приводить к развитию различных заболеваний [14, 17, 18].

Основную функцию защиты при активации процессов липоперекисидации выполняет антиоксидантная система клеток, недостаточность которой становится одним из факторов активации прооксидантных реакций в организме. Важным компонентом этой системы является глутатион-зависимое звено, включающее глутатион и зависимые от него ферменты — глутатионпероксидазу, глутатионредуктазу и глутатионтрансферазу [3]. Механизм действия природных антиоксидантов обусловлен их способностью к активному реагированию с перекисными радикалами, в результате чего происходит их трансформация из активных фенольных в неактивные хинонные формы [11]. Наряду с этим установлено, что тиреоидные гормоны также могут выполнять антиоксидантную функцию и предотвращать свободнорадикальное повреждение ядерной ДНК и ферментов ДНК-репаративного синтеза клеток, препятствуя тем самым их гибели [1].

Поскольку изменения в иммунной системе при аутоиммунных тиреопатиях могут выявляться задолго до клинической манифестации заболевания и предрешать характер и тяжесть течения болезни, бесспорным представляется тот факт, что вскрытие молекулярных механизмов повреждения иммунокомпетентных клеток и формирования иммунного дисбаланса при ДТЗ может послужить основой диагностики, прогнозирования течения и исхода болезни.

В связи с этим целью настоящего исследования — оценка состояния ПОЛ и активности ан-

тиоксидантной системы глутатиона в лимфоцитах периферической крови при ДТЗ.

Материал и методы

В основу работы положены данные обследования 15 больных ДТЗ (5 мужчин и 10 женщин в возрасте 19–60 лет) с тиреотоксикозом различной степени тяжести. Диагноз заболевания устанавливали с учетом общепринятых критериев: характерные жалобы, клиническая картина тиреотоксикоза, физикальные и ультрасонографические признаки изменений размеров ЩЖ, повышенный титр антитиреоидных антител (антител к тиреопероксидазе и (или) тиреоглобулину) в сыворотке крови, изменения гормонального статуса (низкий уровень тиреотропного гормона (ТТГ) в сочетании с повышенной концентрацией свободных фракций трийодтиронина и тироксина). Все обследованные пациенты находились на амбулаторном лечении в Томском областном эндокринологическом диспансере и муниципальных лечебно-профилактических учреждениях (поликлиника № 8, поликлиника городской больницы № 3 г. Томска).

Контрольную группу составили 15 условно здоровых доноров (3 мужчин и 12 женщин) аналогичного возраста.

Материалом исследования служили лимфоциты периферической крови.

Выделение лимфоцитов из крови осуществляли на градиенте плотности фиколл-урографина 1,077 г/см³. Интенсивность ПОЛ в лимфоцитах оценивали по содержанию ТБК-зависимых продуктов и диеновых конъюгатов. Состояние антиоксидантной системы защиты клеток определяли по содержанию восстановленного глутатиона и активности ферментов глутатионового цикла (глутатионпероксидаза, глутатион-S-трансфераза, глутатионредуктаза) [1, 2].

Статистический анализ полученных данных осуществляли с помощью программы Statistica 6.0 («StatSoft Inc.», США). Для проверки выборочных

данных на нормальность распределения использовали критерий Колмогорова–Смирнова. Поскольку изучаемые выборки не подчинялись нормальному закону распределения и были независимыми, для определения достоверности их различий использовали непараметрический критерий Манна–Уитни. Критический уровень значимости p при проверке статистических гипотез принимали равным 0,05. Данные представлены в виде среднего значения X и ошибки среднего m .

Результаты и обсуждение

На основании проведенных исследований установлено, что содержание ТБК-зависимых продуктов и диеновых конъюгатов в лимфоцитах у больных ДТЗ было несколько выше, чем у здоровых доноров, но не достигало уровня статистической значимости различий (таблица). Это означает, что активность ПОЛ в лимфоцитах при ДТЗ варьирует в пределах физиологической нормы, однако проявляет слабую тенденцию к повышению.

Как указано в литературных источниках, в основе патогенеза некоторых аутоиммунных заболеваний

(к примеру, системной красной волчанки) лежит повышенная чувствительность нуклеиновых кислот к повреждающему действию свободных радикалов [13]. Таким образом, усиление свободнорадикальных процессов можно рассматривать не только в качестве причины запуска аутоиммунного процесса, но и как одно из звеньев его патогенеза. Известно, что тиреоидные гормоны в высокой концентрации выполняют роль разобщающих агентов окислительного фосфорилирования [5], что, возможно, и объясняет незначительное (тенденциозное) повышение концентрации ТБК-зависимых продуктов и диеновых конъюгатов в лимфоцитах при ДТЗ. С другой стороны, отсутствие ожидаемого увеличения концентрации продуктов ПОЛ в лимфоцитарных клетках при ДТЗ могло быть связано

с увеличением функциональной активности антиоксидантных ферментов, участвующих в утилизации активных форм кислорода, образующихся в ходе реализации антитиреоидного иммунитета.

Показатели активности ПОЛ и системы глутатиона в лимфоцитах периферической крови у здоровых доноров и больных диффузным токсическим зобом ($X \pm m$)

Показатель	Группа исследования	
	Здоровые доноры	Больные диффузным токсическим зобом
ТБК-зависимые продукты, мкмоль/мг белка	31,75 ± 5,08	48,23 ± 5,26
Диеновые конъюгаты, усл. ед./мг белка	8,44 ± 1,38	9,70 ± 1,98
Восстановленный глутатион, нмоль/мг белка	27,93 ± 4,00	21,40 ± 2,25
Глутатионпероксидаза, мкмоль/(мин · мг белка)	1,51 ± 0,22	0,93 ± 0,21*
Глутатионтрансфераза, мкмоль/(мин · мг белка)	13,32 ± 2,93	5,70 ± 1,32*
Глутатионредуктаза, мкмоль/(мин · мг белка)	3,44 ± 0,75	2,95 ± 0,51

* $p < 0,05$.

Известно, что в условиях патологии уровень глутатиона в значительной степени определяется изменением активности ферментных систем, регулирующих соотношение его окисленной и восстановленной форм. Глутатионпероксидаза является ключевым ферментом, осуществляющим утилизацию активных форм кислорода и продуктов пероксидации. Она участвует одновременно в двух линиях ферментативной защиты клеток от окислительного стресса: во-первых, в утилизации перекиси водорода, во-вторых, в обезвреживании продуктов ПОЛ (гидроперекисей жирных кислот и перекисей других веществ) [6].

В представленном исследовании в лимфоцитах у больных ДТЗ было установлено достоверное снижение содержания глутатионпероксидазы (ГПО) ($p < 0,05$) (таблица). ГПО играет определяющую роль в защите мембранных структур клетки, особенно от экзогенного повреждения. Селеновые ГПО принимают непо-

Уразова О.И., Кравец Е.Б., Новицкий В.В. и др. Активность перекисного окисления липидов и системы глутатиона...

средственное участие в регуляции биосинтеза эйкозаноидов путем регуляции содержания органических перекисей и стабилизации «перекисного тонуса». Кроме того, ГПО способствует предотвращению апоптоза клеток путем ингибиторного действия в отношении процессов внутриклеточного накопления гидроперекисей и выхода цитохрома С из митохондрий. При этом эффективность протективного действия ГПО определяется не только количеством и удельной активностью фермента в клетке, но и внутриклеточной концентрацией восстановленного глутатиона, поскольку именно с его использованием ГПО катализирует восстановление перекиси водорода и органических перекисей [7]. Кроме того, совместно с восстанавливающим пероксирадикалы токоферолом ГПО разлагает гидроперекиси, препятствуя тем самым их вовлечению в окислительный цикл, что сопровождается подавлением ПОЛ в биомембранах [9, 16].

Другим ферментом, активно использующим восстановленный глутатион для осуществления антиоксидантной функции, а именно конъюгации с гидрофобными соединениями и восстановления органических пероксидов, является глутатионтрансфераза (ГТ). Активность данного фермента у больных ДТЗ равнялась ($5,70 \pm 1,32$) мкмоль/(мин · мг белка), что было достоверно ниже контрольного уровня ($p < 0,05$) (таблица). ГТ — важный компонент антиоксидантной защиты клеток от эндогенных метаболитов, способный к восстановлению гидропероксильных групп окисленных фосфолипидов непосредственно в клеточных мембранах без их предварительного гидролиза [2, 13]. Следовательно, снижение концентрации данного фермента в лимфоцитах (равно как и снижение содержания ГПО) — неблагоприятный признак, свидетельствующий о нарушении глутатионовой системы внутриклеточной защиты или, возможно, ее истощении, формирующемся на фоне

патологических изменений ЩЖ, гормонального статуса и иммунологической реактивности.

Внутриклеточная концентрация глутатионредуктазы (ГР) и восстановленного глутатиона (ВГ) у больных ДТЗ сохранялась на уровне контрольных значений, что в сочетании со снижением содержания ГПО и ГТ в лимфоцитах является собой отражение дисбаланса антиоксидантной системы глутатиона и глутатионзависимых ферментов [1, 2, 10].

Известно, что ГР обеспечивает биорегенерацию ВГ, необходимого для детоксикации перекисей, в том числе с привлечением никотинамидадениндинуклеотидфосфата (НАДФН) [7]. В свою очередь, единственным значимым источником восстановленной формы НАДФ является ключевая реакция пентозофосфатного пути метаболизма углеводов, протекающая с участием глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы, которая лимитирует возможности редокс-циклирования глутатиона в условиях, характеризующихся активацией процессов пероксидации [15]. Вероятно, нормальное содержание ВГ в лимфоцитах при ДТЗ как раз и объясняется адекватным уровнем функционирования ГР. Также это может быть связано с индукцией синтеза ВГ на фоне повышения активности ПОЛ. Показано, что глутатионопосредованная детоксикация играет ключевую роль в обеспечении резистентности клеток к цитоповреждающему действию продуктов ПОЛ, свободных радикалов, алкилированию белков, а также в предотвращении поломок в ДНК [4]. Кроме этого, ВГ рассматривается в качестве основного компонента редокс-буфера клетки, поддерживающего характерную для нее «восстановленную среду» [19].

Заключение

Таким образом, на основании результатов проведенного исследования можно заключить, что у больных ДТЗ активность ПОЛ, содержа-

ние глутатионредуктазы и восстановленного глутатиона в лимфоцитах периферической крови варьирует в пределах нормы. При этом отмечается снижение активности глутатионпероксидазы и глутатионтрансферазы, что служит отражением дисбаланса глутатионовой системы защиты клеток от свободнорадикального повреждения и может быть не только следствием, но и причиной формирующегося при ДТЗ иммунного дисбаланса.

Литература

1. Арутюнян А.В., Дубинина Е.Е., Зыбина Н.Н. Методы оценки свободнорадикального окисления и антиоксидантной системы организма: Методические рекомендации. СПб.: ИКФ «Фолиант», 2000. 104 с.
2. Гершковрон Ф.А. Особенности состояния системы глутатиона, перекисного окисления липидов и метаболизма лимфоцитов крови в патогенезе инсулинзависимого сахарного диабета: Дис. ... канд. биол. наук. Красноярск, 2005. 133 с.
3. Горожанская Э.Г., Ларионова В.Б., Зубрихина Г.Н. и др. Роль глутатионзависимых пероксидаз в регуляции утилизации липопероксидов в злокачественных опухолях // Биохимия. 2001. Т. 66. Вып. 2. С. 273—278.
4. Желенина Л.А., Иващенко Т.Э., Ефимова Н.С. и др. Полиморфизм генов семейства глутатион-S-трансферазы (GST) при бронхиальной астме у детей // Аллергология. 2003. № 2. С. 43—46.
5. Кандрор В.И. Современные проблемы тиреоидологии // Проблемы эндокринологии. 1999. Т. 45. № 1. С. 3—8.
6. Кулинский В.И., Колесниченко Л.С. Структура, свойства, биологическая роль и регуляция глутатионпероксидазы // Успехи современной биологии. 1993. Т. 113. Вып. 1. С. 107—122.
7. Макаренко Е.В. Комплексное определение активности супероксиддисмутазы и глутатионредуктазы в эритроцитах у больных с хроническими заболеваниями печени // Лаб. дело. 1988. № 11. С. 48—50.
8. Мельниченко Г.А. Диффузный токсический зоб // Рус. мед. журн. 2003. Т. 11. № 2. С. 79.
9. Моин В.М. Простой и специфический метод определения активности глутатионпероксидазы в эритроцитах // Лаб. дело. 1986. № 12. С. 724—725.
10. Титов В.Н., Лисицин Д.М. Регуляция перекисного окисления *in vivo* как этапа воспаления. Олеиновая кислота, захватчики активных форм кислорода и антиоксиданты // Клинич. лаб. диагностика. 2005. № 6. С. 3—12.
11. Тишенина Р.С., Филоненко Т.А., Древаль А.В. и др. Перекисное окисление липидов и α -токоферол у больных диффузным токсическим зобом // Проблемы эндокринологии. 2000. Т. 46. № 6. С. 26—28.
12. Фадеев В.В. Диагностика и лечение токсического зоба // Рус. мед. журн. 2002. Т. 10. № 11. С. 513—516.
13. Шанин Ю.Н., Шанин В.Ю., Зиновьев Е.В. Антиоксидантная терапия в клинической практике (теоретическое обоснование и стратегия поведения). СПб.: ЭЛБИ-СПб., 2003. 128 с.
14. Aglarz M., Jouyz R.V., Viel E.C. et al. Involvement of oxidative stress in the profibrotic action of aldosterone: interaction with the renin-angiotensin system // Am. J. Hypertension. 2004. № 17. P. 597—603.
15. Giblin F.J., Schrimmscher L., Chakrapani B., Reddy V.N. Exposure of rabbit lens to hyperbaric-oxygen *in vitro*: regional effects on GSH level // Invest. Ophthalmol. Visual Sci. 1988. V. 29. № 8. P. 1312—1319.
16. Ketterer B., Meyer D.J. Glutathione transferase — a possible role in the detoxication and repair of DNA and lipid hydroperoxides // Mutat. Res. 1989. V. 214. № 1. P. 33—40.
17. Martiner-Cayuela M. Oxygen free radicals and human Disease // Biochimie. 1995. V. 77. № 3. P. 147—161.
18. Nordberga J., Elias S.J. Atñra. Reactive oxygen species, anti-oxidants, and the mammalian thioredoxin system // Free Radical Biology & Medicine. 2001. V. 31. № 11. P. 1287—1312.
19. Ziegler D.M. Role of reversible oxidation-reduction of enzyme thiols-disulfides in metabolic regulation // Annual. Rev. Biochem. 1985. V. 54. P. 305—329.

Поступила в редакцию 07.05.2007 г.

Сведения об авторах

О.И. Уразова — д-р мед. наук, профессор кафедры патофизиологии СибГМУ (г. Томск).

Е.Б. Кравец — д-р мед. наук, профессор, главный эндокринолог Томской области, заведующая кафедрой эндокринологии и диабетологии СибГМУ (г. Томск).

В.В. Новицкий — заслуженный деятель науки России, академик РАМН, д-р мед. наук, профессор, заведующий кафедрой патофизиологии СибГМУ (г. Томск).

А.В. Роголёва — аспирант кафедры патофизиологии СибГМУ (г. Томск).

О.А. Васильева — аспирант кафедры патофизиологии СибГМУ (г. Томск).

В.Н. Кузнецова — соискатель кафедры патофизиологии СибГМУ (г. Томск).

Уразова О.И., Кравец Е.Б., Новицкий В.В. и др. Активность перекисного окисления липидов и системы глутатиона...

Ю.В. Недосекова – аспирант кафедры патофизиологии СибГМУ (г. Томск).

Для корреспонденции

Уразова Ольга Ивановна, тел. (3822) 55-36-13; e-mail: urazova72@yandex.ru