

ВКЛАД ПРОЦЕССОВ МОДИФИКАЦИИ МЕМБРАН В ПАТОГЕНЕЗ РАКА ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Канд. мед. наук В. Н. ГОРБЕНКО, канд. мед. наук Т. Н. ОВСЯННИКОВА,
канд. биол. наук Ю. В. НИКИТЧЕНКО, Т. В. ТИШКО

THE CONTRIBUTION OF MEMBRANE MODIFICATION TO THYROID CANCER PATHOGENESIS

V. N. GORBENKO, T. N. OVSIANNIKOVA, YU. V. NIKITCHENKO, T. V. TISHKO

*Институт общей и неотложной хирургии АМН Украины,
Харьковский национальный университет им. В. Н. Каразина, Украина*

Показана активация процессов перекисного окисления липидов при раке щитовидной железы в ее тканях и плазме крови больных, а также снижение антиоксидантных свойств ткани железы. Выявлено изменение свойств эритроцитарной мембраны при данной патологии. Рекомендуется исследование про/антиоксидантного баланса в плазме крови больных и проведение курса антиоксидантной терапии.

Ключевые слова: рак щитовидной железы, мембраны эритроцитов, перекисное окисление липидов, глутатионпероксидаза, глутатионредуктаза, антиоксиданты.

Activation of lipid peroxidation in thyroid gland tissue and blood plasma as well as reduction of the gland antioxidant properties was shown. The changes in the properties of erythrocyte membrane in this disease were shown. It is recommended to investigate pro/antioxidant balance in the blood plasma and to administer antioxidant therapy to the patients.

Key words: thyroid cancer, erythrocyte membranes, lipid peroxidation, glutathione peroxidase, glutathione reductase, antioxidants.

Участие щитовидной железы в регуляции липидного метаболизма известно и исследовано прежде всего в отношении регуляции тиреоидными гормонами синтеза и распада липидов в печени и жировой ткани [1, 2]. Вместе с тем, на наш взгляд, важность влияния щитовидной железы (ЩЖ) на метаболизм липидов в организме заключается также в участии этого органа в активизации процессов модификации липидного бислоя мембран путем свободнорадикального окисления липидов, инициируемого нарушением работы тиреоид-пероксидаз ЩЖ при ее патологии [3]. Поскольку одной из причин малигнизации тканей могут быть биохимические изменения, происходящие в клеточных мембранах [4], можно предположить, что изучение баланса пула прооксидантов/антиоксидантов в организме больных раком ЩЖ (РЩЖ) дает необходимую информацию для разработки более эффективных методов диагностики и лечения заболевания.

В связи с этим мы поставили перед собой задачи выявить зависимость между активизацией свободнорадикальных процессов в ЩЖ и тяжестью заболевания, установить диагностические критерии для оценки изучаемых процессов у больных РЩЖ, а также предложить способы фармакологической оптимизации методов его лечения.

Исследования проводились в несколько этапов. На первом этапе было изучено состояние

баланса прооксидантов/антиоксидантов в плазме крови больных на разных стадиях их лечения. С этой целью обследовали больных коллоидным зобом (19 человек) и РЩЖ (18 человек), а также контрольную группу условно здоровых лиц (19 человек). Больных РЩЖ обследовали до лечения, после операции и после лучевой постоперационной терапии. Уровень прооксидантов характеризовался показателем концентрации ТБК-активных продуктов в плазме крови, который оценивали по методу Т. Asakawa et al. [5]. Общую антиоксидантную активность (АОА) плазмы крови определяли по ее способности накопления ТБК-активных продуктов ПОЛ в суспензии желточных липопротеидов, как описано в [6], и выражали в процентах ингибирования окисления желточных липопротеидов.

Статистическую обработку полученных материалов проводили с использованием компьютерных программ для определения средних величин, их средних квадратичных отклонений и достоверности отличий.

Данные о состоянии баланса прооксидантов/антиоксидантов в плазме крови представлены в табл. 1.

Как видно из таблицы, в плазме крови больных коллоидным зобом при ненарушенной тиреоидной функции ЩЖ показатель интенсивности ПОЛ — уровень ТБК-активных продуктов — достоверно не увеличен по сравнению с контролем,

Содержание ТБК-активных продуктов и АОА в плазме крови больных РЩЖ ($X \pm S_x$)

Группа больных	Содержание	
	ТБК-активных продуктов, нмоль МДА/мл плазмы	АОА, %
Контрольная	1,76±0,19	52,4±1,9
Больные коллоидным зобом	2,14±0,20	52,9±5,7
РЩЖ до лечения	2,43±0,18*	34,2±4,1*
после операции	2,78±0,13*	37,6±1,5*
после лучевой терапии	3,78±0,34*, **, ***	22,2±2,8*, **

Примечание. $p < 0,05$ — * по сравнению с контролем, ** по сравнению с больными до лечения, *** по сравнению с больными после операции. То же табл. 3.

практически не изменяется при этом и АОА. Однако некоторая тенденция к повышению ТБК-активных продуктов у больных коллоидным зобом все же наблюдается. У больных РЩЖ до лечения в плазме крови увеличивается уровень ТБК-активных продуктов и снижается АОА. Тенденция к изменению изучаемых показателей в этом же направлении сохраняется у онкобольных и после операции, что естественно, поскольку оперативное вмешательство лишь усиливает оксидативный стресс в организме, причины и проявления которого теперь утрачивают свою специфичность и становятся общеметаболическими. Вместе с тем обращает на себя внимание факт некоторого повышения АОА плазмы крови больных после операции. Вероятно, это свидетельствует о не утраченных возможностях организма к компенсаторному увеличению активности антиоксидантных систем в ответ на повышение фона активных кислородных метаболитов после оперативного вмешательства. Наконец, после лучевой терапии, которая, как известно, активирует свободнорадикальные процессы в организме, концентрация ТБК-активных продуктов увеличивается более чем в 2 раза по сравнению с контролем и резко снижается АОА плазмы крови.

На втором этапе исследований нашей задачей было установить происхождение выявленных показателей в плазме крови, т. е. их генерацию ЩЖ при раке. Поскольку общая АОА является интегральным показателем и включает в себя активность неферментативных и ферментативных антиоксидантных систем, необходимо было выяснить, какое звено антиоксидантной защиты нарушено при РЩЖ. Известно, что ЩЖ является одним из органов с максимальным содержанием селена — элемента, необходимого для функционирования глутатионпероксидазы (ГПО). Недостаток селена в пище [7] коррелирует с развитием карцином ЩЖ и других форм рака. У человека снижение активности одной из форм ГПО — ГПО1 — в результате дефицита селена выявлено при раке [8].

Представляло особый интерес выяснить поведение именно глутатионзависимой антиокси-

дантной системы на разных стадиях хирургического лечения рака ЩЖ. Нами была определена активность двух ферментов этой системы в ткани и плазме крови больных. Глутатионпероксидазную активность определяли спектрофотометрически при $\lambda = 340$ нм [9] в 50 мМ К, Na-фосфатном буфере (рН 7,4), содержащем 1 мМ ЭДТА, 0,15 мМ NADPH, 0,5 ед. глутатионредуктазы из дрожжей, 3 мМ азид Na. Гидроперекись кумола добавляли в концентрации 1,2 мМ, перекись водорода — 0,8 мМ, гомогенат или плазму крови добавляли до концентрации 0,06 мг белка на 1 мл анализируемой пробы. Активность выражали в наномолях NADPH на 1 мг белка за 1 мин, принимая коэффициент экстинкции равным $6,22 \cdot 10^3 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$.

Глутатионредуктазную активность определяли флуориметрически [10] по убыли NADPH в 50 мМ К-фосфатном буфере (рН 7,4), содержащем 1 мМ ЭДТА, 0,16 мМ NADPH, 1 мМ GSSG. Гомогенат или плазму крови добавляли до концентрации 0,5 мг на 1 мл анализируемой пробы. Активность выражали в наномолях NADPH на 1 мг белка за 1 мин, принимая коэффициент экстинкции равным $6,22 \cdot 10^3 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$. Результаты проведенных исследований отражены в табл. 2, 3.

Как видно из данных табл. 2, в ЩЖ при раке понижается как активность ГПО, так и активность ГР. Полученные результаты позволяют однозначно утверждать, что снижение активности глутатионзависимой антиоксидантной системы вносит вклад в развитие повреждений органа при раке ЩЖ. Обследовали больных коллоидным зобом (19 человек), раком ЩЖ (19 человек) и контрольную группу (19 человек). При исследовании активных ферментов в ЩЖ в качестве контроля использовались образцы.

Для оценки данных показателей в динамике лечения была изучена активность ГПО и ГР в плазме крови больных РЩЖ. Как видно из табл. 3, величины как ГПО, так и ГР при коллоидном зобе в плазме больных были на уровне контроля. У больных РЩЖ наблюдалась лишь тенденция к увеличению изучаемых ферментов.

Это увеличение может быть связано с разрушением ткани ЩЖ при раке и выходом данных

Таблица 2

Показатели активности ГПО и ГР в ЩЖ больных (X±Sx)

Группа обследованных	Активность, нмоль NADPH за 1 мин/мг белка	
	ГПО	ГР
Контрольная	220,1±13,8	18,2±1,4
Больные РЦЖ	157,9±10,5*	12,4±0,9*

Примечание. * – $p < 0,05$ по сравнению с контролем.

Таблица 3

Показатели активности ГПО и ГР в ЩЖ больных (X±Sx)

Группа обследованных	Активность, нмоль NADPH за 1 мин/мг белка	
	ГПО	ГР
Контрольная	421,6±11,7	30,2±2,7
Больные коллоидным зобом	439,9±23,1	30,7±5,3
РЦЖ до лечения	460,0±24,5	33,0±6,1
после операции	377,5±16,1**	41,5±3,9
после лучевой терапии	291,2±23,5*,**	29,9±3,3

ферментов в кровь. После операции наблюдалось статистически значимое снижение активности ГПО в плазме до уровня контроля и имела место тенденция к повышению активности ГР. Однако после лучевой терапии активность ГПО становится ниже уровня контроля, что уже следует отнести к неблагоприятным явлениям. Таким образом, активность ГПО и ГР в ЩЖ и плазме крови изменяется, т. е. ее показатели имеют значение для объяснения макрометаболических событий при патогенезе рака ЩЖ.

Одной из причин снижения активности ГПО в ткани ЩЖ при раке, возможно, является недостаток восстановленного глутатиона, так как активность ГР в ЩЖ в данном случае также ниже нормы. Необходимый запас глутатиона могла бы пополнить печень, в которой происходит его синтез *de novo* для потребностей всего организма [11]. Однако этот процесс находится под контролем ЩЖ и в условиях ее патологии, вероятно, разбалансирован.

Учитывая подобные закономерности в функционировании антиоксидантной системы при раке ЩЖ на всех стадиях лечения и принимая во внимание снижение антиоксидантного баланса после лучевой терапии, целесообразно применять при лечении рака ЩЖ антиоксидантные и гепатопротекторные препараты, особенно нормализующие функцию глутатионзависимого антиоксидантного звена. Таким образом, одним из способов восстановления функционирования антиоксидантной глутатионзависимой системы организма в целом и ЩЖ в частности, вероятно, является прием большими РЦЖ, например, N-ацетилцистеина, а также препаратов, содержащих селен, например, триовита.

Полученные данные позволяют предположить, что нарушение липидного обмена в ЩЖ при раке может отразиться на состоянии липидной составляющей клеточных мембран других тканей. В наших предыдущих исследованиях было показано изменение липидного профиля мембран эритроцитов, а также с помощью гемоцитометра типа Coulter – морфофункциональных особенностей эритроцитов (среднего объема эритроцита MCV, относительной ширины распределения эритроцитов по объему RDW, электрического тока пробоя мембраны эритроцита Im) при РЦЖ [12].

Таким образом, результаты проведенных исследований приводят к заключению, что при раке ЩЖ процессы свободнорадикального перекисного окисления активируются в ЩЖ, и эта активация сопровождается разнонаправленными изменениями продуктов ПОЛ и АОА не только в самом органе, но и в плазме крови больных, причем тяжесть заболевания и степень дифференцировки опухоли оказывает прямое влияние на величину изменения показателей ПОЛ. Это свидетельствует как о специфичности процессов радикалообразования в ЖЩ, связанной, вероятно, с собственным метаболизмом органа, так и о роли свободных радикалов в процессах онкогенеза вообще. Полученные данные позволяют рекомендовать методы измерения баланса про/антиоксидантных составляющих в плазме крови для оценки степени тяжести заболевания у больных раком ЩЖ. Кроме необходимости проведения курса антиоксидантной терапии у больных раком ЩЖ, не вызывает сомнения и целесообразность мониторинга состояния анти/прооксидантного баланса при лечении с использованием общедоступных и информативных методов. В качестве таких

методов можно назвать спектрофотометрическое измерение антиоксидантной активности плазмы крови, а также определение морфофункциональ-

ных свойств эритроцитов крови с помощью цитогемоанализатора типа Coulter, которые были использованы в нашей работе.

Литература

1. *Зайчик А. Ш., Чурилов Л. П.* Основы патохимии.— СПб.: Элби-СПб., 2001.— С. 501–523.
2. *Бабенко Н. А.* Влияние тиреоидных гормонов на метаболизм жирнокислотных компонентов липидов плазматических мембран клеток печени крыс разного возраста // Укр. биохим. журн.— 1991.— Т. 63, № 1.— С. 50–55.
3. Inactivating mutation in the gene for thyroid oxidase 2 (THOX2) and congenital hypothyroidism / J. C. Moreno, H. Bikker, M. J. Kempers et al. // N. Engl. J. Med.— 2002.— Vol. 347.— P. 95–102.
4. *Франциянц Е. М., Сидоренко Ю. С., Розенко Л. Я.* Перекисное окисление липидов в патогенезе опухолевой болезни.— Ростов-н/Д: Изд-во Ростовского университета, 1995.— 176 с.
5. *Asakawa T., Matsushita S.* Coloring condition of thiobarbituric acid test for detectinglipid peroxides // Lipids.— 1980.— Vol. 15, № 3.— P. 137–140.
6. Оценка антиокислительной активности плазмы крови с применением желточных липопротеидов / Г. И. Клебанов, И. В. Бабенкова, Ю. О. Теселкин и др. // Лаб. дело.— 1988.— № 5.— С. 59–62.
7. *Ishikawa S.* Ophthalmopathy due to environmental toxic substances especially intoxication by organophosphoric pesticides // Nip. Ganka Gakkai Zasshi.— 1996.— Vol. 100, № 6.— P. 417–432.
8. *Kim R. S., LaBella F.* Comparison of analytical methods for monitoring autoxidation profiles of authentic lipids // J. Lipid Res.— 1987.— Vol. 28.— P. 1110–1117.
9. Возрастные изменения глутатион-S-трансферазной и глутатионпероксидазной активности цитозоля печени крыс / В. З. Ланкин, А. Н. Тихазе, А. Л. Ковалевская и др. // Докл. АН СССР.— 1981.— Т. 261, № 6.— С. 1467–1470.
10. Ферментативные механизмы торможения перекисного окисления липидов в различных отделах головного мозга / А. М. Герасимов, Л. А. Королева, О. С. Брусов и др. // Вопр. мед. химии.— 1976.— Т. 22, № 1.— С. 89–94.
11. Окислительный стресс: Проксиданты и антиоксиданты / Е. Б. Меньщикова, В. З. Ланкин, Н. К. Зенков и др.— М.: Фирма «Слово», 2006.— 556 с.
12. Некоторые морфофункциональные характеристики эритроцитов больных раком щитовидной железы / В. А. Филенко, В. С. Холодный, В. Н. Горбенко, Н. А. Бабенко // Вісник ХДУ, № 450.— Біофізичний вісник, 1999.— Вип. 4 (2).— С. 68–71.

Поступила 11.04.2007.