

ДЕПОНУВАННЯ МІКРОЕЛЕМЕНТІВ І ВМІСТ МЕТАЛОТІОНЕЇНІВ У ЩИТОПОДІБНІЙ ЗАЛОЗІ ЛЮДИНИ ЗА ЙОДОДЕФІЦИТНОГО ЕУТИРЕОЇДНОГО ВУЗЛОВОГО ЗОБА

Г. І. ФАЛЬФУШИНСЬКА^{1,2}, Л. Л. ГНАТИШИНА¹, О. Й. ОСАДЧУК²,
В. О. ШІДЛОВСЬКИЙ², О. Б. СТОЛЯР¹

¹Тернопільський національний педагогічний університет імені Володимира Гнатюка, Україна;

²Тернопільський державний медичний університет ім. І. Я. Горбачевського, Україна;

e-mail: halynka.f@gmail.com

Досліджено депонування йоду та міді в тканинах щитоподібної залози (у вузлі, паранодулярній та контрлатеральній частках) у взаємозв'язку з рівнем металодепонувальних протеїнів, потенційних антиоксидантів та прооксидантних змін у тканинах. Для оцінки важкості перебігу патологічного процесу були застосовані молекулярні маркери щитотоксичності. Встановлено, що у паранодулярній тканині та вузлі порівняно із тканиною контрлатеральної частки залози вміст загального йоду менший на 19,5%, неорганічного йоду вищий на 82,4% та загальний вміст міді вищий у 2 рази. Надлишок міді в зобнозміненій тканині частково депонується в металотіонеїнах. У частці залози, ураженій вузлом, відзначено підвищення у два–три рази (порівняно з контрлатеральною часткою) рівня металотіонеїнів і вільних тіолів та зменшення вмісту відновленого глутатіону. Ознаки щитотоксичності виявлялися в підвищенні рівня вільної активності катепсину Д (на 84,6 та 134,4% у паранодулярній тканині та вузлі відповідно) і в збільшенні кількості розривів ДНК у вузлі (на 22,6%). У паранодулярній тканині діапазон варіабельності показників у порівнянні з паренхімою контрлатеральної частки був менший, ніж у вузлі. Відтак, за низького рівня органіфікації йоду та високого вмісту міді у зобнозміненій тканині щитоподібної залози, металотіонеїни можуть забезпечувати частковий компенсаторний вплив на прооксидантні процеси.

Ключові слова: йододефіцитний вузловий колоїдний зоб, йод, мідь, цинк, металотіонеїни, щитотоксичність, апоптоз.

Останнім часом значна увага приділяється ролі оксидативного ушкодження тиреоцитів у патогенезі гіпо- та гіпертиреозу, а також канцерогенезі щитоподібної залози [1, 2]. Щодо ендемічного йододефіцитного вузлового еутиреоїдного зоба, то такі дослідження практично відсутні [3, 4], а розуміння механізмів патогенезу вузлотворення знаходиться на початковій стадії. Важливим недоліком аналізу прооксидантних змін за патології щитоподібної залози є те, що стан системи антиоксидантного захисту оцінюється, як правило, за показниками крові, а не безпосередньо у тканині залози, що не дає можливості розрізнити наслідки безпосереднього ураження тканини та загальних проявів токсикозу.

Присутність у середовищі «неспецифічних» струмогенів, зокрема сполук міді [5], модулює ендogenousний рівень йоду. Проте, незважаючи на

загальносвітову тенденцію збільшення рівня міді у середовищі [6], інформація щодо механізмів її пошкоджувальної дії як струмогену обмежена. Нами було встановлено підвищений вміст міді в щитоподібній залозі хворих на колоїдний зоб, який супроводжується прооксидантними змінами [4]. Слід відзначити, що Тернопільщина як йододефіцитний регіон середнього ступеня тяжкості [7] з високим рівнем забруднення водою сполуками міді [8] становить особливий інтерес для дослідження взаємозв'язку між акумуляцією міді та розвитком тиреоїдної патології.

Вважають, що прооксидантна дія міді як редокс-активного металу залежить від рівня її депонування специфічними металдепонувальними протеїнами – металотіонеїнами (МТ) [9]. Ці металотіонеїни виявляють плейотропні функції, які, крім того, що депонують мідь, цинк і кадмій

в метаболічно активних тканинах, індукуються численними стресорними чинниками та прооксидантами, а *in vitro* пригнічують пероксидно-радикальні процеси завдяки унікально високому вмісту тіолів [10]. У тканині щитоподібної залози МТ можуть бути онкосупресорами папілярного раку [11] та залучатися до перерозподілу металів, тим самим, оптимізуючи функцію залози [4].

Тому, з огляду на недостатній рівень знань про молекулярні механізми прооксидантних змін за патології щитоподібної залози, метою нашої роботи було дослідити стан депонування йоду та міді в тканинах цієї залози специфічними молекулярними мішенями, в їх взаємозв'язку з рівнем потенційних антиоксидантів та прооксидантних змін у тканині. Для оцінки ступеня патологічних змін під час процесу вузлуотворення в тканині щитоподібної залози було застосовано молекулярні маркери цитотоксичності.

Матеріали і методи

Матеріалом для досліджень були післяопераційні препарати часток щитоподібної залози 25 хворих, оперованих із приводу однобічного йододефіцитного вузлового колоїдного зоба на базі хірургічного відділення міської клінічної лікарні швидкої допомоги м. Тернополя. Відбирали тканину вузла, паранодулярної (навколівузлової макроскопічно незмінена тканина) та контрлатеральної (не ушкоджена вузлом тканина) частки щитоподібної залози. Всі прооперовані пацієнти були жителями регіону з дефіцитом йоду середньої тяжкості. Експериментальні дослідження проводили у відповідності до ухвали Першого національного конгресу з біоетики (Київ, 2000) та згідно з рішенням комісії з біоетики Тернопільського державного медичного університету ім. І. Я. Горбачевського.

Процедури з обробки тканин проводили на холоді. Реактиви, крім нижчезазначених, були фірми Синбіас (Україна), кваліфікації хч.

Для характеристики МТ та системи глутатіону використовували оптичні методи, детально описані в роботі [12]. Вміст МТ у тканині оцінювали за кількістю тіолових груп (МТ-SH) та металів у складі МТ (МТ-Ме), а вміст МТ-SH – методом Віаренго та співавт. [13] за взаємодією із 5,5'-дитіо-біс-2-нітробензойною кислотою (ДТНБ) після хлороформ-етанольної екстракції МТ та обчислю-

вали, вважаючи, що в 1 молі МТ міститься така сама кількість SH-груп, як і в 20 молях загального глутатіону. Вміст МТ-Ме визначали за сумарним вмістом есенціальних для МТ металів міді та цинку в їхньому складі після виділення МТ як термостабільних протеїнів методом гел'фільтрації на сефадексі G-50 [12]. Вміст МТ-Ме обчислювали за модифікованим рівнянням Гамільтона, враховуючи стехіометричний характер зв'язування цих металів:

$$m(\text{MT}) = 0,5(v(\text{Zn}) \cdot M(\text{MT})/7 + v(\text{Cu}) \cdot M(\text{MT})/12) \text{ (мкг)},$$

де v – кількість металу в МТ, мкмоль/г тканини; $M(\text{MT})$ молярна маса МТ (7000 г/моль), 7 і 12 – кількість іонів цинку і міді (I) відповідно, що зв'язуються молекулою МТ за повного насичення [14]. За співвідношенням вмісту МТ-SH та МТ-Ме обчислювали ступінь насичення МТ металом.

Вміст загального (GSH) і окисленого (GSSG) глутатіону у непротеїновому фільтраті тканини визначали ензимним методом за допомогою ДТНБ. Для встановлення вмісту GSSG за 60 хв до визначення в інкубаційну суміш вносили 2-вінілпіридин до кінцевої концентрації 2% [15]. Активність глутатіонтрансферази (2.5.1.18, GST) визначали спектрофотометрично за утворенням аддуктів 1-хлоро-2,4-динітробензолу із глутатіоном [16].

Утворення оксирадикалів у супернатанті гомогенату тканини в HEPES-сахарозному буфері (pH 7,4) оцінювали за утворенням флуоресцентного продукту родаміну 123 в реакції нефлуоресцентного деривату дигідрородаміну з активними формами кисню λ_{ex} 485 нм та λ_{em} 538 нм [17] та виражали в умовних одиницях флуоресценції (УОФ) на г тканини за одиницю часу.

Пошкодження ДНК визначали як розриви ланцюгів депротейнізованої ДНК методом лужного осадження в 10%-му гомогенаті тканини, в 50 мМ трис-ЕДТА буферному розчині (pH 8,0), що містив 0,5% DSNa λ_{ex} 360 нм та λ_{em} 450 нм [18]. Частку розривів ланцюгів ДНК виражали у відсотках. Вільну активність катепсину Д визначали спектрофотометрично за кількістю утвореного тирозину в 50%-му гомогенаті тканини [19].

Вміст міді і цинку в досліджуваних частках тканини щитоподібної залози та в МТ визначали після спалювання зразків у перегнаній нітратній

кислоті в співвідношенні 1 : 5 (маса : об'єм) на атомно-абсорбційному спектрофотометрі С-115 (Ломо, РСФСР) і виражали в мкг на г сирової маси тканини [12]. Субклітинний розподіл йоду в щитоподібній залозі визначали за запропонованою нами методикою [20].

Результати вимірів 25 обстежених подано у вигляді $M \pm SD$. Якщо дані згідно з тестом Лілієфорда не було нормально розподілено, до статистичного аналізу їх було застосовано непараметричні тести (Kruskall–Wallis ANOVA та Mann–Whitney U -test) вірогідні за значення $P < 0,05$. Вірогідність відхилення двох рядів значень обчислювали з використанням 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 обговорення

Показник частки неорганічного йоду у складі загального йоду є одним із критеріїв оцінки функціональної здатності тиреоїдної тканини [21]. Результати проведених досліджень показали, що в паранодулярній тканині та вузлі вміст загального йоду менший, а частка неорганічного йоду вища (особливо у вузлі) порівняно з тканиною контрлатеральної частки (табл. 1). У вузлі та паранодулярній тканині також вміст міді приблизно в 2 рази вищий, а вміст цинку майже такий самий як у тканинах контрлатеральної частки. Відомо, що МТ під

час вузлоутворення зв'язують більшу кількість міді та цинку. Відтак, надлишок міді в тканині, ураженій вузлом залози частково, депонується у складі МТ. Здатність МТ зв'язувати мідь у тіолоатні кластери у вузлі менша порівняно з паранодулярною тканиною залози.

Вважають, що зв'язування іонів металів клітинними тіолами, зокрема глутатіоном та МТ, забезпечує їх перебування в нетоксичній формі [9, 22]. У паранодулярній тканині загальний вміст МТ (МТ-SH) у 3 рази, а їхньої металодепонувальної форми (МТ-Me) у 2 рази вищий порівняно з їх вмістом у паренхімі контрлатеральної частки. У тканині вузла це перевищення сягає п'яти і чотирьох разів відповідно (табл. 2). При цьому, оцінка співвідношення вмісту МТ-SH/МТ-Me свідчить, що в ураженій вузлом частці залози створюється резерв тіолових груп МТ, які потенційно можуть використовуватися для знешкодження радикалів (табл. 2). Разом із тим, у вузлі відзначено зниження рівня GSH та редокс-індексу GSH порівняно із тканиною контрлатеральної частки. Рівень GSH та МТ-SH у щитоподібній залозі негативно корелює між собою ($r = -0,65$, $P < 0,01$). Концентрація GSSG та GST-активність в ураженій вузлом тканині залежать від ступеня тяжкості патоморфологічних змін.

Процес вузлоутворення в зобнозміненій тканині залози супроводжується активацією катепсину Д та збільшенням частоти розривів ланцюгів ДНК (у вузлі) (табл. 2). Утворення оксирадикалів у частках залози, ураженій (па-

Таблиця 1. Розподіл міді, цинку та йоду в тканинах щитоподібної залози людей, хворих на йододефіцитний вузловий колоїдний зоб ($M \pm SD$, $n = 25$)

Показник	Тканина контрлатеральної частки	Паранодулярна тканина	Вузол
Вміст загального йоду, мкг/г тканини	611 ± 48	532 ± 51^a	492 ± 54^a
Частка неорганічного йоду у тканині щитоподібної залози, %	$5,1 \pm 0,5$	$7,7 \pm 0,8^a$	$9,3 \pm 0,8^{a,b}$
Cu, мкг/г тканини	$2,2 \pm 0,4$	$4,6 \pm 0,4^a$	$4,7 \pm 1,2^a$
Zn, мкг/г тканини	$106,5 \pm 10,7$	$112,1 \pm 19,0$	$109,0 \pm 13,8$
Cu-МТ, мкг/г тканини	$0,21 \pm 0,02$	$0,72 \pm 0,07^a$	$0,50 \pm 0,04^{a,b}$
Zn-МТ, мкг/г тканини	$0,79 \pm 0,08$	$1,81 \pm 0,21^a$	$2,12 \pm 0,19^a$

Тут і в табл. 2: ^a відмінності порівняно з тканиною контрлатеральної частки, неуразеної вузлом, вірогідні, ^b відмінності між паранодулярною тканиною та вузлом вірогідні, $P < 0,05$

Таблиця 2. Характеристики металотіонеїнів, глутатіону, окисних змін і цитотоксичності в тканині щитоподібної залози людей, хворих на йододефіцитний вузловий колоїдний зоб ($M \pm SD$, $n = 25$)

Показник	Тканина контрлатеральної частки	Паранодулярна тканина	Вузол
MT-SH, мкг/мг протеїну	0,15 ± 0,02	0,41 ± 0,05 ^a	0,77 ± 0,06 ^{a,b}
MT-Me, мкг/мг протеїну	0,10 ± 0,01	0,20 ± 0,03 ^a	0,37 ± 0,05 ^{a,b}
Співвідношення MT-SH/MT-Me	1,5 ± 0,1	2,1 ± 0,1 ^a	2,1 ± 0,1 ^a
Вміст GSH, нмоль/г тканини	5,1 ± 0,6	3,5 ± 0,6 ^a	3,4 ± 0,7 ^a
Вміст GSSG, нмоль/г тканини	270,2 ± 40,3	180,4 ± 51,2 ^a	382,1 ± 81,3 ^{a,b}
Редокс-індекс GSH, у. о.	0,95 ± 0,01	0,95 ± 0,01	0,89 ± 0,02 ^a
Активність GST, мкмоль/(хв·г тканини)	2,1 ± 0,2	1,5 ± 0,2 ^a	4,4 ± 1,0 ^{a,b}
Утворення оксирадикалів, УОФ/(хв·г тканини)	7,1 ± 1,7	5,1 ± 1,6	5,2 ± 0,7
Вільна активність катепсину Д, нмоль/(хв·г тканини)	0,61 ± 0,08	1,12 ± 0,14 ^a	1,43 ± 0,12 ^{a,b}
Розриви ланцюгів ДНК, %	6,2 ± 0,6	6,8 ± 0,5	7,6 ± 0,5 ^a

ранодулярна тканина та вузол) і неуразеній (контрлатеральна частка) вузлом, відбувається з однаковою інтенсивністю.

Порівняння досліджених зразків тканини за сумою біохімічних показників підтвердило високу специфічність показників до процесу вузлоутворення ($F(26,6) = 181,2$, $P < 0,001$). За результатами методу головних компонент було встановлено молекулярні маркери вузлоутворення в щитоподібній залозі людини (рис.). Так, якщо тканина контрлатеральної частки характеризується вмістом GSH, оксирадикалів і загального йоду, то до маркерів вузлоутворення належать характеристики MT, вільна активність катепсину Д, рівень ушкодження ДНК, а також високий вміст міді та неорганічного йоду. Для більшості показників у вузлі та паранодулярній тканині відмінності від неуразеної вузлом частки мають подібне спрямування та відрізняються глибиною виявлення ознаки.

Крім того, кластери показників, відображені на рисунку, демонструють узгодженість змін для таких показників як рівень GSH та оксирадикалів, GSSG та GST, (MT-SH і MT-Me), а також протилежний характер змін для кластерів GSH та MT. Це свідчить про частковий компенсаторний вплив MT на прооксидантні процеси в ураженій вузлом частці щитоподібної залози

за низького рівня органіфікації йоду та високого вмісту міді.

Як відомо, вузли розвиваються в патоморфологічно зміненій тканині щитоподібної залози [21]. Наші результати показали, що за йододефіцитного вузлового колоїдного зоба з гіперплазією тиреоїдного епітелію його здатність органіфікувати йод знижується. Це супроводжується виявленням ознак окисного ушкодження та цитотоксичності в тканині частки залози, ураженої вузлом. Порівняно з паренхімою контрлатеральної частки діапазон варіабельності показників у паранодулярній тканині менший, ніж у вузлі. Зазначені зміни є передумовою до прогресування функціональної недостатності гіпертрофованих тиреоцитів та виснаження їх компенсаторних можливостей, що у вузлі виявляється як послаблення здатності MT зв'язувати мідь у нетоксичну форму та збільшення рівня ушкодження ДНК.

Порушення здатності залози акумулювати та органіфікувати йод у зміненій зобній тканині в людини відбувається на тлі максимального зростання в ній міді. Співвідношення мідь/загальний йод із розвитком патологічного процесу зростає логарифмічно і становить 0,36, 0,86 та 0,96 у.о. для контрлатеральної, паранодулярної та вузлової тканини відповідно.



Інтегральний аналіз біохімічних показників щитоподібної залози людини за допомогою багатofакторного аналізу (метод головних компонент). I_3 – загальний вміст йоду; I_n – частка неорганічного йоду в тканині щитоподібної залози; $Cu(m)$, $Zn(m)$ – вміст металів у тканині; $Cu-MT$, $Zn-MT$ – вміст металів у металотіонеїнах; $MT-SH$ – вміст металотіонеїнасоційованих тіолів; $MT-Me$ – вміст металодепонувальної форми металотіонеїнів; GSH – вміст відновленого глутатіону; $GSSG$ – вміст окисненого глутатіону; GST – рівень глутатіонтрансферазної активності; OP – оксирадикали

Слід зазначити, що поєднання високого вмісту міді та неорганіфікованого йоду в щитоподібній залозі було встановлено нами і раніше у разі порівняння показників хворих на ендемічний йододефіцитний вузловий колоїдний зоб з такими в осіб, в анамнезі яких не відзначено тиреоїдної патології [4]. Разом з тим, слід визнати, що порівняння зразків тканин під час процесу вузлоутворення в різних частках залози в одного і того ж пацієнта та зразків тканини хворого на зоб та умовного контролю дає різні результати щодо показників стану системи антиоксидантного захисту [4]. Очевидно, коректність контролю в таких дослідженнях заслуговує на окрему увагу та потребує оцінки за ознакою цитотоксичності.

Доведено, що апоптоз належить до головних детермінант прогресування патологічних станів [23]. Як було показано, у хворих на зоб зростала активність аспартильного катепсину Д, який залучається до процесингу тиреоглобуліну [24] та належить до медіаторів $IFN-\gamma$ і $TNF-\alpha$ індукованого лізосомального шляху програмованої загибелі клітини [25]. Це

відбувається узгоджено зі збільшенням вмісту міді в тканині вузла ($r = 0,63$, $P < 0,01$), зокрема і в доступній, незв'язаній з MT формі ($r = 0,67$, $P < 0,01$). Ймовірно, мідь, акумулюючись у лізосомах, спричинює їх набрякання, активацію Ca -залежної фосфоліпази $A2$ [26] та детермінує підвищення пермеабілізації лізосомальних мембран. Це супроводжується виходом ензимів із органели та є передумовою активації каспаз, фрагментації ДНК та апоптозу [27].

На прикладі ссавців *in vitro* доведено, що MT та GSH утворюють спільний цистеїновий пул та функціонують у клітині узгоджено [28], що було встановлено також і нами у тканині щитоподібної залози людини ($r = -0,79$, $P < 0,001$). У разі послаблення функціональної здатності глутатіону як цитопротектора, MT залучаються за рахунок резерву тіолових груп до знешкодження радикалів та забезпечують їх ефективну елімінацію. Незважаючи на те, що рівень MT у клітині на порядок нижчий, ніж GSH , їхня антиоксидантна активність вища (\approx у 50 разів) [29]. У нашому дослідженні саме тіоловим групам $MT-SH$ належить провідна роль

пастки радикалів, що підтверджує і обчислення залежності рівня оксирадикалів від клітинних тиолів: $OP = 94,00 + 4,01 \times GSH + 5,12 \times GST - 1,77 \times MT-SH^*$; $R^2 = 0,51$, $F(3,14) = 6,98$, $P < 0,005$ (* показник робить вірогідний внесок у математичну модель). Подібні результати було одержано і у разі порівняння показників тканини щитоподібної залози хворих на колоїдний зоб та осіб, які не мали тиреоїдної патології [4].

Таким чином, у пацієнтів за умов вузлуотворення в тканині щитоподібної залози порушується абсорбція та органіфікація йоду, зростає вміст міді та співвідношення мідь/загальний йод. Це поєднується зі збільшенням активності катепсину Д. 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 в умовах зобної трансформації. Поєднання ендемічного йододефіциту з високим вмістом міді у середовищі поглиблює ризик вузлуотворення та патологічної трансформації щитоподібної залози.

Робота виконана за підтримки Західноукраїнського біомедичного центру та МОН України (НДР №118Б).

ДЕПОНИРОВАНИЕ МИКРОЭЛЕМЕНТОВ И УРОВЕНЬ МЕТАЛЛОТИОНЕИНОВ В ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЕ ЧЕЛОВЕКА ПРИ ЙОДОДЕФИЦИТНОМ ЭУТИРЕОИДНОМ УЗЛОВОМ ЗОБЕ

*Г. И. Фальфушинская^{1,2}, Л. Л. Гнатъшина¹,
О. И. Осадчук², В. А. Шидловский²,
О. Б. Столяр¹*

¹Тернопольский национальный педагогический университет имени Владимира Гнатюка, Украина;

²Тернопольский государственный медицинский университет им. И. Я. Горбачевского, Украина;
e-mail: halynka.f@gmail.com

Исследовали депонирование йода и меди в тканях щитовидной железы (в узле, паранодулярной и контрлатеральной долях), в их взаимосвязи с уровнем металлодепонирующих протеинов, потенциальных антиоксидантов и прооксидантных изменений в ткани. Для оцен-

ки тяжести патологического процесса использовали молекулярные маркеры цитотоксичности. Установлено, что в паранодулярной ткани и узле по сравнению с тканью контрлатеральной доли железы содержание общего йода меньше (на 19,5%), неорганического йода больше (на 82,4%) и общее содержание меди больше в 2 раза. Избыток меди в зобноизмененной ткани частично депонируется в металлотioneинах. В доле железы, пораженной узлом, отмечено повышение в 2–3 раза (по сравнению с контрлатеральной долей), уровня металлотioneинов и свободных тиолов и уменьшение содержания восстановленного глутатиона. Признаки цитотоксичности проявлялись в повышении уровня свободной активности катепсина Д (на 84,6 и 134,4% в паранодулярной ткани и узле соответственно) и в увеличении числа разрывов ДНК в узле (на 22,6%). В паранодулярной ткани диапазон вариабельности показателей по сравнению с паренхимой контрлатеральной доли меньше, чем в узле. Следовательно при низком уровне органификации йода и высоком содержании меди в зобноизмененной ткани щитовидной железы металлотioneины могут обеспечивать частичное компенсаторное влияние на прооксидантные процессы.

Ключевые слова: йододефицитный узловой коллоидный зоб, йод, медь, цинк, металлотioneины, цитотоксичность, апоптоз.

TRACE ELEMENTS STORAGE PECULIARITIES AND METALLOTHIONEIN CONTENT IN HUMAN THYROID GLAND UNDER IODINE DEFICIENCY EUTHYROID NODULAR GOITER

*H. I. Falfushynska^{1,2}, L. L. Gnatyshyna¹,
O. Osadchuk², V. O. Shidlovski², O. B. Stoliar¹*

¹Ternopil Volodymyr Hnatiuk National Pedagogical University, Ukraine;

²I.Ya. Horbachevski Ternopil State Medical University, Ukraine;
e-mail: halynka.f@gmail.com

Accumulation of iodine and copper in the node, paranodular and contralateral (not affected tissue by node) tissues of thyroid gland in relation to the level of metal-binding proteins, potential antioxidants and oxidative changes in tissue was investigated. To assess the severity of the pathological process the

molecular markers of cytotoxicity were used. The reduction of total iodine (by 19.5%), increase of inorganic iodine fraction (by 82.4%) and total copper content (twice) in paranodular and nodular tissues compared with contralateral part have been established. Excess of copper in goitrous-changes tissue was partially accumulated in the metallothioneins. The level of metal-binding form of metallothioneins and reserve of free thiols of these proteins was higher two-three times and lower content of reduced glutathione in node-affected tissue compared to the contralateral part. Signs of cytotoxicity among them: higher cathepsin D free activity (up to 84.6% and 134.4% in paranodular tissue and node respectively) and higher level of DNA strand breaks in the node (up to 22.6%) were observed. In paranodular tissue the range of indices variability compared with parenchyma of contralateral part is shorter than in the node. Thus, under low level of iodine organification and high copper level in goitrous-modified tissue of thyroid gland metallothionein may provide a partial compensatory effect on prooxidative processes.

Key words: iodine deficiency nodular colloid goiter, iodine, copper, zinc, metallothioneins, cytotoxicity, apoptosis.

1. Maier J., van Steeg H., van Oostrom C. et al. // *Biochim. Biophys. Acta.* – 2007. – **1773**. – P. 990–999.
2. Erdamar H., Cimen B., Gülcemal H. et al. // *Clin. Biochem.* – 2010. – **43**. – P. 650–654.
3. Полянський І. Ю., Шеремет М. І., Шамрей Г. П. // Клінічна ендокринологія та ендокринна хірургія. – 2003. – **3** (4). – С. 34–38.
4. Фальфушинська Г. І., Гнатишина Л. Л., Осадчук Д. В. та ін. // *Укр. біохім. журн.* – 2011. – **83**, № 6. – С. 92–97.
5. Freake H. C., Govoni K. E., Guda K. et al. // *J. Nutr.* – 2001. – **131**. – P. 1135–1141.
6. Biggs T. W., D'Anna H. // *Mar. Pollut. Bull.* – 2012. – **64**. – P. 627–635.
7. Етичні аспекти профілактики йодозалежних захворювань: Круглий стіл RT3 // Матеріали III Національного конгресу з біоетики. – Київ, 2007.
8. Stolyar O. B., Loumbourdis N. S., Falfushynska H. I., Romanchuk L. D. // *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* – 2008. – **54**. – P. 107–113.
9. Божков А. И. // *Биохимия.* – 1997. – **62**. – С. 176–186.
10. Maret W. // *J. Biol. Inorg. Chem.* – 2011. – **16**. – P. 1079–1086.
11. Ferrario C., Lavagni P., Gariboldi M. et al. // *Lab. Invest.* – 2008. – **88**. – P. 474–481.
12. Falfushynska H. I., Gnatyshyna L. L., Stoliar O. B. // *Comp. Biochem. Physiol.* – 2012. – **155**. – C. – P. 396–406.
13. Viarengo A., Ponzano E., Dondero F., Fabbri R. // *Mar. Environ. Res.* – 1997. – **44**. – P. 69–84.
14. Nielson K. B., Winge D. R. // *J. Biol. Chem.* 1985. – **260**. – P. 8698–8701.
15. Anderson M. E. // *Meth. Enzymol.* – 1985. – **113**. – P. 548–555.
16. Habig W. H., Pabst M. J., Jakoby W. B. // *J. Biol. Chem.* – 1974. – **249**. – P. 7130–7139.
17. Viarengo A., Burlando B., Cavaletto M. et al. // *Am. J. Physiol. Regul. Physiol.* – 1999. – **277**. – P. R1612–R1619.
18. Olive P. L. // *Environ. Molec. Mutagen.* – 1988. – **11**. – P. 487–495.
19. Dingle J. T., Barrett A. J., Weston P. D. // *Biochem. J.* – 1971. – **123**. – P. 1–13.
20. Пам. 45298 UA, МПК 2009. Спосіб інтегральної оцінки біологічної відповіді на стан водного середовища / Столяр О. Б., Фальфушинська Г. І., Міщук О. В. – Опубл. 10.11.2009, Бюл. № 21.
21. Шидловський О. В., Осадчук Д. В., Фальфушинська Г. І. // *Ендокринологія.* – 2013. – **18**, № 3. – С. 11–15.
22. Stoliar O. B., Lushchak V. I. / *Oxidative Stress – Environmental Induction And Dietary Antioxidants* / ed. Dr. Volodymyr Lushchak. – InTech, 2012. – P. 131–166.
23. Ouyang L., Shi Z., Zhao S. et al. // *Cell Prolif.* – 2012. – **45**. – P. 487–498.
24. Dunn A., Crutchfield H., Dunn J. // *J. Biol. Chem.* 1991. – **266**. – P. 20198–20204.
25. Tsukuba T., Okamoto K., Yasuda Y. et al. // *Mol. Cells.* – 2000. – **10**. – P. 601–611.
26. Marchi B., Burlando B., Moore M. N., Viarengo A. // *Aquat. Toxicol.* – 2004. – **66**. – P. 197–204.
27. Persson H. L. // *Toxicol. Lett.* – 2005. – **159**. – P. 124–133.
28. Hidalgo J., Garvey J. S., Armario A. J. // *Pharmacol. Exp. Ther.* – 1990. – **255**. – P. 554–564.
29. Thornalley P. J., Vasak M. // *Biochim. Biophys. Acta.* – 1985. – **827**. – P. 36–44.

Отримано 09.09.2013