

тературе описаны случаи агрессивного течения РЩЖ на фоне ДЗ [3, 5].

ЛИТЕРАТУРА

1. Абросимов А. Ю. Рак щитовидной железы у детей и подростков России после аварии на Чернобыльской АЭС (проблемы диагностики и верификации диагноза, морфологическая характеристика): Дис. ... д-ра мед. наук. — Обнинск, 2004.
2. Богданова Т. И., Козырицкий В. Г., Тронько Н. Д. Патология щитовидной железы у детей: Атлас. — Киев, 2000.
3. Alzahrani A. S., Baitei E. Y., Zou M., Shi Y. // J. Clin. Endocrinol. Metab. — 2006. — Vol. 91. — P. 740—746.
4. Avbelj M., Tahirovic H., Debeljak M. et al. // Eur. J. Endocrinol. — 2007. — Vol. 156. — P. 511—519.
5. Cooper D. S., Axelrod L., DeGroot L. J. et al. // J. Clin. Endocrinol. Metab. — 1981. — Vol. 52. — P. 294—306.
6. Eugster E. A., LeMay D., Zerlin J. M., Pescovitz O. H. // J. Pediatr. — 2004. — Vol. 144. — P. 643—647.
7. Ghossein R. A., Rosai J., Heffess C. // Endocr. Pathol. — 1997. — Vol. 8. — P. 283—292.
8. Kumar P. G., Anand S. S., Sood V., Kotwal N. // Indian Pediatr. — 2005. — Vol. 42. — P. 1233—1235.
9. LiVolsi V. A. Surgical Pathology of Thyroid. — Philadelphia, 1990.
10. Niedziela M. // Endocr. Relat. Cancer. — 2006. — Vol. 13. — P. 427—453.
11. Park S. M., Chatterjee V. K. // J. Med. Genet. — 2005. — Vol. 42. — P. 379—389.
12. Pfarr N., Korsch E., Kaspers S. et al. // Clin. Endocrinol. (Oxford). — 2006. — Vol. 65. — P. 810—815.
13. Rosai J., Carcangiu M. L., DeLellis R. A. Tumors of the Thyroid Gland. — Washington, 1992.
14. Rosai J. Ackerman's Surgical Pathology. — 9-th Ed. — St. Louis, 2004. — Vol. 1. — P. 515—594.

Поступила 19.07.08

◆ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЭНДОКРИНОЛОГИЯ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2008

УДК 616.441-008.61-07:616.153.11-092.9

С. С. Попов¹, А. Н. Пашков², Т. Н. Попова³, В. И. Золоедов¹, Т. И. Рахманова³,
А. В. Семенихина³

АКТИВНОСТЬ ГЛУТАТИОНОВОЙ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ ПРИ ГИПЕРТИРЕОЗЕ И ПРИ ДЕЙСТВИИ МЕЛАТОНИНА

¹Кафедра эндокринологии (зав. — проф. В. И. Золоедов), ²кафедра биологии с экологией (зав. — проф. А. Н. Пашков) Воронежской государственной медицинской академии; ³кафедра аналитической и медицинской биохимии и микробиологии (зав. — проф. Т. Н. Попова) Воронежского государственного университета

При развитии гипертиреоза наблюдалось повышение уровня восстановленного глутатиона (GSH), активности глутатионпероксидазы (ГП) и глутатионредуктазы (ГР) в печени, сердце и сыворотке крови крыс. Возрастала также активность глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (Г-6-ФДГ), что, очевидно, связано с необходимостью поставки НАДФН для ГР/ГП-системы. Активность НАДФ-изоцитратдегидрогеназы (ИДГ) изменялась незначительно. При введении мелатонина при тиреотоксикозе содержание восстановленного глутатиона в исследуемых тканях возрастало в большей степени, активность ГР и ГП изменялась в сторону нормы. Изменения активности Г-6-ФДГ и ИДГ при введении мелатонина при гипертиреозе имели тканеспецифичный характер и были выражены в большей степени для Г-6-ФДГ. По-видимому, мелатонин выступает в роли адаптогена, регулирующего активность глутатионовой системы, а также НАДФН-генерирующих ферментов в соответствии с воздействием патогенных факторов на организм.

Ключевые слова: гипертиреоз, мелатонин, глутатион, глутатионпероксидаза, глутатионредуктаза, глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа, НАДФ-изоцитратдегидрогеназа.

When hyperthyroidism develops, there are increases in the level of reduced glutathione and in the activities of glutathione peroxidase (GP) and glutathione reductase (GR) in the rat liver, heart, and serum. The activity of glucose-6-phosphate dehydrogenase (G-6-PDH) also increases, which is likely to be associated with the necessity of delivering of NADPH for the GP/GR system. The activity of NADP isocitrate dehydrogenase (IDH) changes slightly. With administration of melatonin for thyrotoxicosis, the content of reduced glutathione increases in the examined tissues to a greater extent, the activities of GP and GR become normal. With melatonin being administered in hyperthyroidism, the changes in G-6-PDH and IDH activities are tissue-specific and more pronounced for G-6-PDH. Melatonin appears to act as an adaptogen that regulates the activity of the glutathione system and NADPH-generating enzymes in accordance with the influence of pathogenic factors on the body.

Key words: hyperthyroidism, melatonin, glutathione, glutathione peroxidase, glutathione reductase, glucose-6-phosphate dehydrogenase, NADP isocitrate dehydrogenase.

Важнейшим патогенетическим звеном развития некоторых эндокринных заболеваний является токсическое действие активных форм кислорода (АФК), проявляющееся при состояниях окислительного стресса, связанного с дисбалансом между интенсивностью свободнорадикального окисления (СРО) и активностью антиоксидантной системы

(АОС). Так, показано, что деструкция и гибель β -клеток поджелудочной железы при сахарном диабете сопровождается усилением процессов пероксидного окисления липидов [1]. При заболеваниях щитовидной железы, в частности гипертиреозе, данные о вовлечении процессов СРО в патогенез весьма противоречивы [14, 15]. При гипертиреозе

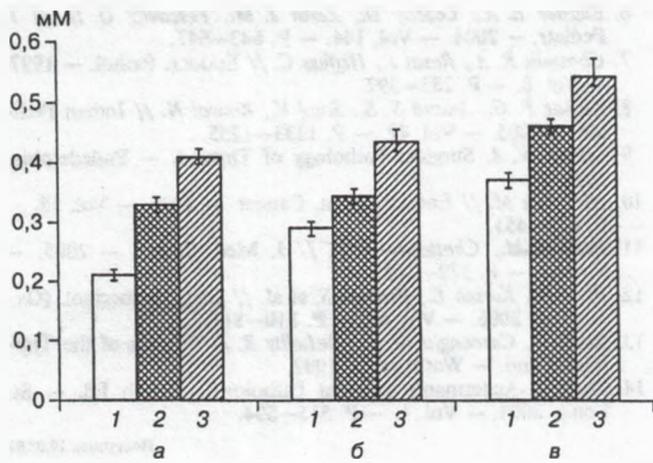


Рис. 1. Содержание gSH в печени (а), сердце (б) и сыворотке крови (в) крыс в норме (1), при гипертиреозе (2) и действии мелатонина при патологии (3).

происходит поражение пищеварительной (тиреотоксический гепатоз), сердечно-сосудистой ("тиреотоксическое" сердце), центральной нервной систем [5]. Однако вопрос о функционировании АОС организма при развитии гипертиреоза остается слабо изученным. Одним из важнейших звеньев АОС является система глутатионредуктаза/глутатионпероксидаза (ГР/ГП), обеспечивающая детоксикацию липопероксидов и H_2O_2 за счет восстановленного глутатиона (GSH), регенерация которого осуществляется с помощью ГР, использующей восстановительные эквиваленты НАДФН. Источниками НАДФН, необходимого для ГР/ГП АОС, могут служить НАДФ-специфичные дегидрогеназы, в частности глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа (Г-6-ФДГ; КФ 1.1.1.49) и НАДФ-изоцитратдегидрогеназа (ИДГ; КФ 1.1.1.42) [4, 8].

Предполагают, что одним из активных эндогенных антиоксидантов является мелатонин, который наряду с участием в контроле суточных и сезонных ритмов организма, функционирования репродуктивной, иммунной систем и нейроэндокринной регуляции пищеварительной системы дает снотворный, противоопухолевый и антистрессовый эффекты [2]. Ранее нами было показано, что мелатонин может действовать как фактор коррекции окислительного стресса при токсическом гепатите [9].

Цель настоящей работы — оценка уровня GSH, активности ГР, ГП, Г-6-ФДГ и ИДГ в печени, сердце и сыворотке крови крыс при экспериментальном тиреотоксикозе и действии мелатонина.

Материалы и методы

Объектом исследования служили самцы белых крыс массой 150–200 г. Животные были разделены на 3 группы: в 1-й группе (контроль; $n = 8$) крыс содержали на стандартном режиме вивария; во 2-й ($n = 9$) животным индуцировали тиреотоксикоз путем внутрибрюшинного введения трийодтиронина (T_3) (0,1 мг/кг) в 0,9% NaCl, инъекции осуществляли трижды в течение 6 дней; в 3-й группе ($n = 8$) крысам на следующий день после индуцирования тиреотоксикоза внутрибрюшинно вводи-

ли мелатонин (2 мг/кг) в течение 3 дней в утренние часы. Для получения сыворотки использовали венозную кровь. При получении гомогенатов навески печени и сердца крысы гомогенизировали в 4-кратном объеме охлажденного 0,1М трис-НСl-буфера (рН 7,8), содержащего 1 мМ ЭДТА и 1% β -меркаптоэтанол, и центрифугировали при 10 000 г в течение 12 мин. Активность ферментов определяли на СФ-56 при 340 нм. За ферментативную единицу (Е) принимали количество фермента, необходимого для превращения 1 мкмоль субстрата в 1 мин при 25°C. Активность ферментов выражали в Е на 1 г сырой ткани или на 1 мл сыворотки. Удельную активность ферментов выражали в Е на 1 мг белка в ткани при сыворотке. Активность ГР определяли в среде, содержащей 50 мМ калий-фосфатный буфер (рН 7,4), 1 мМ ЭДТА, 0,16 мМ НАДФН и 0,8 мМ окисленного глутатиона (GSSG). Активность ГП измеряли в 50 мМ калий-фосфатном буфере (рН 7,4), содержащем 1 мМ ЭДТА, 0,12 мМ НАДФН, 0,85 мМ GSH, 0,37 мМ H_2O_2 , 1 ед/мл ГР. Среда измерения Г-6-ФДГ: 50 мМ трис-НСl-буфер (рН 7,8), содержащий 3,2 мМ глюкозо-6-фосфат, 0,25 мМ НАДФ. Активность ИДГ определяли в среде 50 мМ трис-НСl-буфера (рН 7,8), содержащего 1,5 мМ изоцитрата и 0,25 мМ НАДФ. Концентрацию GSH определяли с помощью реакции с 5,5-дитио-бис-(2-нитробензойной) кислотой [3]. Общий белок определяли по методу Лоури [11]. Данные обрабатывали, применяя *t*-критерий Стьюдента, различия считали достоверными при

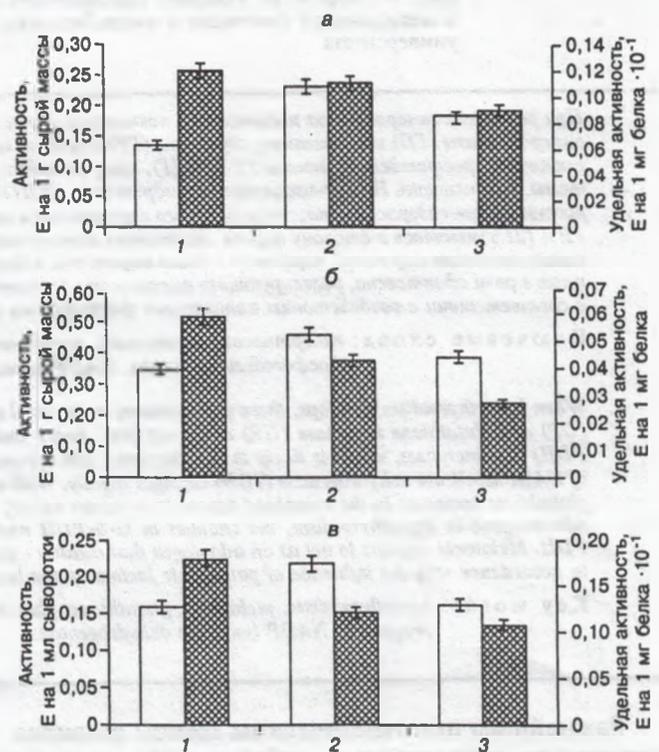


Рис. 2. Активность ГП, выраженная в Е на 1 г сырой массы ткани или в Е на 1 мл сыворотки крови (светлые столбики) и в Е на 1 мг белка (заштрихованные столбики). Здесь и на рис. 3—5: а — в печени, б — в сердце, в — в сыворотке крови крыс в норме (1), при гипертиреозе (2) и действии мелатонина при патологии (3).

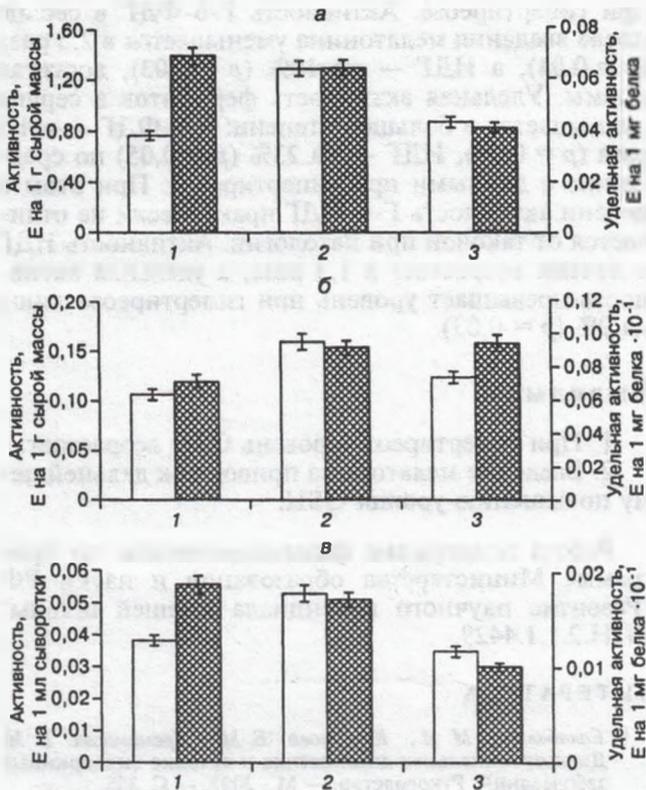


Рис. 3. Активность ГР, выраженная в Е на 1 г сырой массы ткани или в Е на 1 мл сыворотки крови (светлые столбцы) и в Е на 1 мг белка (заштрихованные столбцы).

$p \leq 0,05$. В работе использовали мелатонин, НАДФН, трис, ЭДТА ("Sigma", США); T_3 ("Bio-Chemika", Швейцария), GSSG и GSH (ICN, США), остальные реактивы — отечественного производства, марки х.ч. или ч.д.а.

Результаты и их обсуждение

При гипертиреозе содержание GSH в сыворотке крови увеличивается в 1,2 раза ($p = 0,04$), в печени — в 1,6 раза ($p = 0,03$), в сердце — в 1,2 раза ($p = 0,04$) относительно контроля (рис. 1). Известно, что при многих неблагоприятных воздействиях первично уровень GSH снижается, на что клетка отвечает его сверхпродукцией [7]. Имеются данные, что повышение содержания GSH при окислительном стрессе может быть связано с антиоксидантной функцией белков теплового шока — шаперонов, синтез которых увеличивается в таких условиях [13]. Введение мелатонина при патологии сопровождается повышением концентрации GSH по сравнению с его уровнем при гипертиреозе в сыворотке крови на 17% ($p = 0,04$), в печени — на 23% ($p = 0,04$) и в сердце — на 26% ($p = 0,05$). Вероятно, это является аддитивным результатом, обусловленным уменьшением расходования GSH при действии мелатонина как ловушки АФК, а также синергичного эффекта гормона с GSH [10, 12].

При тиреотоксикозе наблюдается повышение активности ГП и ГР соответственно: в печени крыс — в 1,7 и 1,6 раза ($p = 0,04$), в сердце — в 1,3

и 1,5 раза ($p = 0,03$) по сравнению с контролем (рис. 2, 3). Активность ГП и ГР в сыворотке крови увеличивается в 1,4 раза ($p = 0,04$). Однако уровень удельной активности ферментов в исследуемых тканях уменьшается по сравнению с интактными животными, что связано со значительным увеличением содержания белка при патологии. Наблюдаемые изменения активности ГП и ГР, являющиеся защитной реакцией организма при интенсификации СРО при развитии гипертиреоза, могут быть результатом как активации ферментов, так и стимуляции их синтеза. Кроме того, изменения активности ферментов в сыворотке могут быть результатом их выхода из клеток в кровь при повреждении тканей при окислительном стрессе, индуцируемом избытком T_3 . При введении мелатонина на фоне тиреотоксикоза наблюдается уменьшение активности ГП/ГР-системы. Активность ГП снижается на 35%, а ГР — на 56% ($p = 0,04$). При этом удельная активность ГР уменьшается в 1,7 раза ($p = 0,05$), а ГП — в 1,1 раза ($p = 0,03$). В сердце и печени активность ГП снижается на 21% в обоих случаях ($p = 0,03$), а ГР — на 34 и 31% ($p = 0,04$) соответственно. При этом удельная активность ГП в сердце и печени крыс уменьшается в 1,6 и 1,2 раза ($p = 0,04$). Удельная активность ГР в сердце практически не изменяется, а в печени уменьшается в 1,6 раза ($p = 0,03$) по сравнению с данными при патологии. Полученные результаты, вероятно, связаны с уменьшением функциональной нагрузки на ГП/ГР-систему в результате антиоксидантного действия мелатонина.

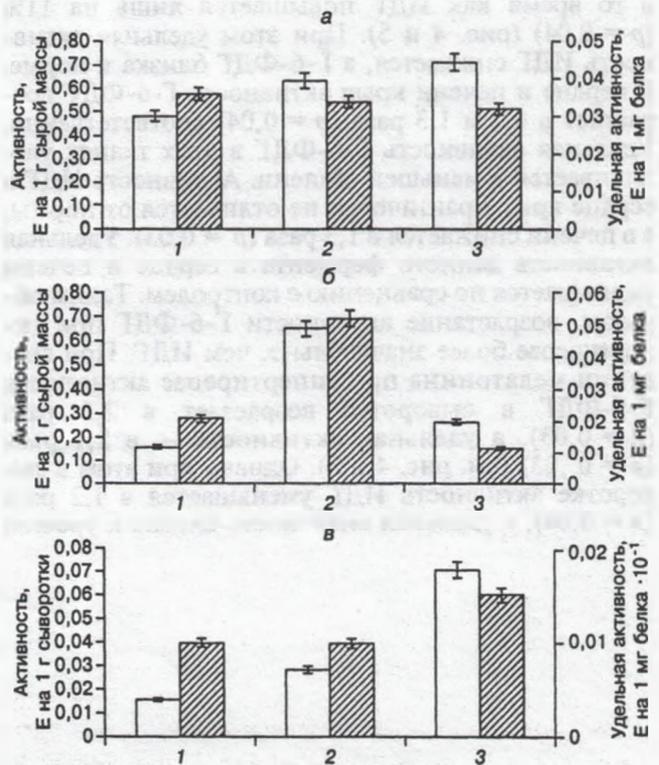


Рис. 4. Активность Г6ФДГ, выраженная в Е на 1 г сырой массы ткани или в Е на 1 мл сыворотки (светлые столбцы) и в Е на 1 мг белка (заштрихованные столбцы).

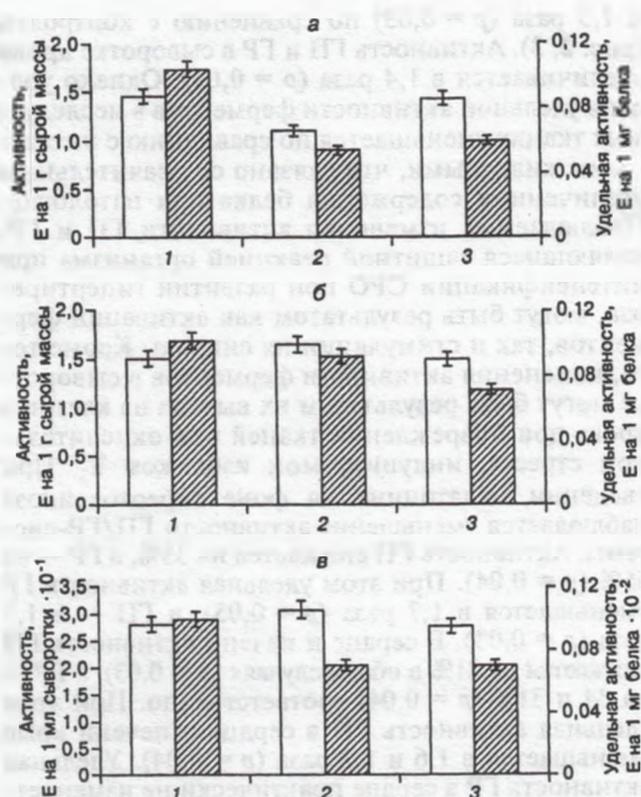


Рис. 5. Активность НАДФ-ИДГ, выраженная в Е на 1 г сырой массы ткани или в Е на 1 мл сыворотки (светлые столбцы) и в Е на 1 мг белка (заштрихованные столбцы).

При введении T_3 наблюдается увеличение активности Г-6-ФДГ в сыворотке в 1,9 раза ($p = 0,03$), в то время как ИДГ повышается лишь на 11% ($p = 0,04$) (рис. 4 и 5). При этом удельная активность ИДГ снижается, а Г-6-ФДГ близка к норме. В сердце и печени крыс активность Г-6-ФДГ возрастает в 4,2 и 1,3 раза ($p = 0,04$) соответственно. Удельная активность Г-6-ФДГ в этих тканях увеличивается в меньшей степени. Активность ИДГ в сердце крыс практически не отличается от нормы, а в печени снижается в 1,3 раза ($p = 0,03$). Удельная активность данного фермента в сердце и печени уменьшается по сравнению с контролем. Таким образом, возрастание активности Г-6-ФДГ при гипертиреозе более значительно, чем ИДГ. При введении мелатонина при гипертиреозе активность Г-6-ФДГ в сыворотке возрастает в 2,5 раза ($p = 0,03$), а удельная активность — в 2,1 раза ($p = 0,03$) (см. рис. 4 и 5). Однако при этом в сыворотке активность ИДГ уменьшается в 1,2 раза ($p = 0,04$), а удельная активность близка к уровню

при гипертиреозе. Активность Г-6-ФДГ в сердце после введения мелатонина уменьшается в 2,5 раза ($p = 0,04$), а ИДГ — на 10% ($p = 0,03$), достигая нормы. Удельная активность ферментов в сердце уменьшается в большей степени: Г-6-ФДГ — в 4,5 раза ($p = 0,03$), ИДГ — на 23% ($p = 0,05$) по сравнению с данными при гипертиреозе. При этом в печени активность Г-6-ФДГ практически не отличается от таковой при патологии. Активность ИДГ в печени возрастает в 1,3 раза, а удельная активность превышает уровень при гипертиреозе лишь на 9% ($p = 0,03$).

Выводы

1. При гипертиреозе уровень GSH возрастает.
2. Введение мелатонина приводит к дальнейшему повышению уровня GSH.

Работа поддержана финансированием по программе Министерства образования и науки РФ "Развитие научного потенциала высшей школы" РПН.2.1.1.4429.

ЛИТЕРАТУРА

1. Балаболкин М. И., Клебанова Е. М., Кремниная В. М. Дифференциальная диагностика и лечение эндокринных заболеваний: Руководство. — М., 2002. — С. 355.
2. Барабой В. А. // Укр. биохим. журн. — 2000. — Т. 72, № 3. — С. 5—11.
3. Бузлама В. С. Методическое пособие по изучению процессов перекисного окисления липидов и систем антиоксидантной защиты организма у животных. — Воронеж. — С. 17—19.
4. Гулак П. В., Дудченко А. М., Зайцев В. В. Гепатоцит: функционально-метаболические свойства. — М., 1985.
5. Дедов И. И., Мельниченко Г. А., Фадеев В. В. Эндокринология: Учебник. — М., 2000. — С. 172—189.
6. Дижее Г. П., Дятлов Р. В., Дижее А. А. // Анестезиол. и реаниматол. — 2001. — № 4. — С. 43—46.
7. Кулинский В. И., Колесниченко Л. С. // Успехи соврем. биол. — 1990. — Вып. 114. — С. 20—33.
8. Медведева Л. В., Попова Т. Н., Артюхов В. Г. и др. // Биохимия. — 2002. — Т. 67, № 6. — С. 838—849.
9. Пашков А. Н., Попов С. С., Семенухина А. В., Рахманова Т. И. // Бюл. exper. биол. — 2005. — Т. 139, № 5. — С. 520—525.
10. Перцов С. С., Сосновский А. С., Пирогова Г. В. // Физиология. — 1998. — Т. 125, № 1. — С. 12—14.
11. Loury O., Rosebrought N., Farr A., Randall R. // J. Biol. Chem. — 1951. — Vol. 194, № 1. — P. 265—271.
12. Reiter R. J. // Adv. Pharmacol. — 1997. — Vol. 38. — P. 103—117.
13. Rogallu T., Ehrnsperger M., Reville H. // J. Biol. Chem. — 1999. — Vol. 277. — P. 947—956.
14. Sawant B. U., Nadkarni G. D., Thakare U. R. et al. // Indian J. Exp. Biol. — 2003. — Vol. 41, № 11. — P. 1334—1337.
15. Sundaram V., Hanna A. N., Koneru L. et al. // J. Clin. Endocrinol. Metab. — 1997. — Vol. 82, № 10. — P. 3421—3424.

Поступила 16.03.07