

Т.М. Мишуніна, О.В. Калініченко, М.Д. Тронько

Механізми апоптозу клітин щитоподібної залози за умов її патології

Проаналізовані дані літератури та результати власних досліджень щодо порушень процесів програмованої загибелі клітин зобнозміненої тканини щитоподібної залози хворих із еутиреоїдним чи токсичним зобом, а також позавузлової тканини залози у разі наявності в ній патології (виражений гіперпластичний процес, склеротичні та/чи дистрофічні зміни, лімфоїдна інфільтрація, хронічний чи автоімунний тиреоїдит). З'ясовано, що за умов тиреоїдної патології відбуваються суттєві зміни процесів мітохондріальної і постмітохондріальної регуляції та реалізації апоптозу. Характер і ступінь порушень мітохондріальних механізмів апоптозу та активності деструктивних реакцій у клітинах щитоподібної залози хворих залежать від багатьох чинників: виду патології, тяжкості її перебігу, особливостей фолікулярної будови тканини, статі хворих. Виявлена резистентність мітохондріальних механізмів апоптозу може відігравати важливу роль у патогенезі вузлової патології щитоподібної залози чи в розвитку запальних та автоімунних процесів.

Ключові слова: еутиреоїдний вузловий зоб, дифузний токсичний зоб, позавузлова тканина щитоподібної залози з патологічними змінами, набряк мітохондрій, трансмембранний потенціал, каспаза-3, іони кальцію, антиоксиданти.

У процесі життєдіяльності клітини зазнають впливу багатьох пошкоджувальних чинників ендогенної та екзогенної природи. Вже не викликає сумнівів, що різні токсичні впливи чи метаболічні порушення призводять до розвитку оксидативного стресу, за умов останнього доля клітини визначається балансом сукупності різних адаптаційних метаболічних процесів, які індуковані дією патологічного чинника, а також генетичними і конститутивними особливостями її біохімічних систем. Однією з відповідей клітини за умов не тільки дії токсичних впливів, а і при порушенні балансу необхідних чинників росту, гормонів, цитокінів, при ушкодженні ДНК, інших структурних елементів клітини або порушенні регуляції проходження клітинного циклу є активація генетичної програми загибелі клітини. Про-

цеси, які дають змогу клітині адаптуватися до негативних впливів і визначають можливість її подальшого існування, або загибелі, як вважають, залежать від особливостей механізмів індукції, регуляції та реалізації апоптозу.

Серед них чи не найважливіше місце займають мітохондріальні механізми. Мітохондрії не тільки інтегрують і координують внутрішньоклітинні сигнальні шляхи, які запускають апоптоз, але і самі продукують такі сигнали [5]. Незалежно від природи чинника, що індукує апоптоз, різке зниження рівня трансмембранного потенціалу мітохондрій є ранньою універсальною подією, яка пов'язана з відкриттям пор у внутрішній мембрані мітохондрій. Це призводить до врівноваження концентрації іонів і дихальних метаболітів між цитоплаз-

© Т. М. Мишуніна, О. В. Калініченко, М. Д. Тронько

мою та матриксом мітохондрій, набряком останніх, розривом їх зовнішньої мембрани та виходом проапоптозних чинників у цитоплазму. Низка проапоптозних білків сімейства Bcl-2/Bax, зокрема Bax та tBid, беруть участь у формуванні так званих пор неспецифічної провідності (МП), індуюючи вихід з мітохондрій цитохрому *c* та інших проапоптозних чинників, тоді як інший білок цього сімейства – Bcl-2 перешкоджає цьому. Оскільки цитохром *c* активує в цитозолі каспазу-9, яка у свою чергу активує каспазу-3, мітохондріальний етап вважають одним з найперших у каскаді внутрішньоклітинних апоптозних реакцій деградації [24].

Дія каспази-3, як і інших ефекторних каспаз, спрямована на гідроліз про- та антиапоптозних білків, а також низки інших білкових субстратів, локалізованих у клітинному ядрі, цитоплазмі та цитоскелеті. Визначення активності каспази-3 є логічним етапом дослідження програмованої загибелі та відповідає визначеній стратегії щодо черговості з'ясування молекулярних механізмів апоптозу різних типів клітин при тих чи інших станах організму, а також дії фармакологічних препаратів [22]. Розщеплення білків ядерного матриксу викликає порушення структурної організації ядра та конденсацію хроматину, а дія каспаз на такий субстрат як полі(АДР-рибозил)полімераза, яка відіграє важливу роль у репарації ДНК, чи на комплекс ДНКаз-інгібіторний білок (ICAD) призводить до міжнуклеосомної деградації ДНК [24]. Дослідження її інтенсивності багато хто з дослідників вважає показником активності термінальної стадії апоптозу.

Значну увагу нині приділяють вивченню змін апоптозних реакцій у виникненні та прогресуванні різних захворювань – від запальних до онкологічних. Щодо щитоподібної залози (ЩЗ), то інтенсивно досліджується роль програмованої загибелі у виникненні злоякісних пухлин. Вже встановлені характерні генетичні зміни, які призво-

дять до послаблення обох (рецептор-залежного та рецепторнезалежного) шляхів індукції апоптозу. Так, у пухлинах можуть виявлятися: 1) зниження експресії на поверхні клітини рецепторів смерті; 2) порушення проведення апоптозного сигналу до мітохондрій; 3) гальмування проникності мембран мітохондрій для проапоптозних чинників; 4) значного зменшення життя каспаз внаслідок їх зв'язування з інгібіторами апоптозу, експресія яких підвищується у результаті активації протоонкогенів або інактивації пухлинних супресорів [15].

При вивченні ролі програмованої загибелі клітин ЩЗ при інших тиреоїдних захворюваннях було з'ясовано, що загибель тиреоцитів при тиреоїдиті Хашимото (хронічному лімфоцитарному тиреоїдиті) є результатом апоптозу. Так, було показано, що у хворих на тиреоїдит Хашимото відсоток тиреоцитів, які знаходяться в апоптозі, був 34 %, тоді як у хворих на дифузний нетоксичний зоб – лише 1 % [33]. Існує теорія, згідно з якою основним механізмом деструкції тиреоцитів при тиреоїдиті Хашимото є аутокринно-паракринна взаємодія клітин через зв'язування молекул рецепторів смерті зі своїми лігандами. Водночас ще невідомо, які рецептори смерті залучені або які принаймні мають пріоритетне значення у цьому процесі.

Так, за даними деяких авторів, взаємодія рецептора смерті Fas та його ліганду FasL на сусідніх тиреоцитах або на одному з них призводить до запуску апоптозу та до загибелі клітин і розвитку гіпотиреозу [43]. Цей механізм вважають навіть більш важливим у зменшенні кількості тиреоцитів, ніж цитотоксичність лімфоцитів. Але інші дослідники віддають пріоритетне значення рецепторам смерті – DR4 і DR5 та їх ліганду TRAIL [26]. Автори вважають, що у деструкції тиреоцитів при тиреоїдиті Хашимото більш вірогідна участь саме TRAIL, а не FasL, оскільки дія першого більш специфічна до епітеліальних клітин

ЩЗ, тоді як взаємодія Fas–FasL викликає апоптоз фібробластів і м'язових клітин судин, що не відбувається при тиреоїдиті Хашимото [26]. Більше того, існує думка, що механізми апоптозу залучаються у патогенез аутоімунного тиреоїдиту лише на пізніх стадіях розвитку цього захворювання. Щодо фрагментації ДНК за умов тиреоїдиту Хашимото, то показано, що частіше клітини, де вона була наявна, зустрічалися у ділянках, які прилягають до лімфоцитів, ніж у тих, що локалізувалися у центрі фолікулів [34].

Роль антиапоптозного білка Bcl-2 за умов аутоімунного тиреоїдиту чи заперечують [26], чи вказують на зменшення експресії його та іншого білка цього сімейства – Bcl-x, що знижує захист клітин від апоптозу [42]. Водночас при хворобі Грейвса (дифузному токсичному зобі, ДТЗ) тиреоцити захищені від апоптозу внаслідок надекспресії Bcl-2. За цих умов у клітинах відсутня фрагментація ДНК, яку визначали за методом кінцевого мічення [48]. Достеменно невідомо, чи є зміна експресії антиапоптозних білків прямим наслідком зовнішніх впливів, чи порушенням низки мітохондріальних механізмів [42]. Захист тиреоцитів внаслідок зниження рівня Fas і FasL та підвищення експресії Bcl-2 сприяє гіпертрофії залози, яка пов'язана зі стимуляцією імуноглобулінами рецептора до тиреотропного гормону (ТТГ). Існують дані, які свідчать про однаковий рівень експресії Fas, FasL та Bcl-2 у клітинах при тиреоїдиті Хашимото та хворобі Грейвса [27].

Причиною відсутності значущого апоптозу при хворобі Грейвса є відмінний, ніж при тиреоїдиті Хашимото, спектр цитокинів у мікрооточенні клітин. За умов тиреоїдиту Хашимото γ -інтерферон сприяє активації каспаз при Fas-індукованому апоптозі, тоді як при хворобі Грейвса інтерлейкін-4 та інтерлейкін-10 підвищують вміст білків-інгібіторів апоптозу FLIP та Bcl-2 [46]. Інші дослідники наголошують, що загибель тиреоцитів при хворобі Грейвса регулюється

інтерлейкіном-1 β через взаємодію Fas–FasL [44]. Крім того певне значення має вплив антитіл до рецепторів ТТГ або розчинного Fas, які підвищують антиапоптозний потенціал тиреоїдних клітин та підсилюють апоптоз лімфоцитів, що інфільтрують залозу. Останнє ілюструється підвищенням у двічі вмісту розчинних нуклеосом (продуктів фрагментації ДНК) у культурі мононуклеарів пацієнтів з хворобою Грейвса у порівнянні з таким у здорових, а також хворих на еутиреоїдний дифузний зоб людей [32]. Незважаючи на те, що тиреоцити при хворобі Грейвса захищені від апоптозу, деякими авторами було зареєстровано більшу кількість апоптозних клітин у тканині залози, ніж у тканині здорової ЩЗ, де їх рівень був надзвичайно малим [44].

Слід зазначити, що зниження у сироватці крові пацієнтів, хворих на хворобу Грейвса, у порівнянні зі здоровими особами чи хворими, яких лікували тиреостатиками, вмісту білка ядерного матриксу, який вивільнюється у разі загибелі клітин, дало можливість зробити висновок про зв'язок тиреоїдної функції та інтенсивності загибелі клітин ЩЗ [32].

Дані щодо значення апоптозу у розвитку інших захворювань ЩЗ ще менш численні. Вони свідчать, зокрема, про десятикратно нижчу кількість тиреоцитів, що знаходяться в апоптозі, у хворих на дифузний еутиреоїдний зоб у порівнянні з такими у хворих на хронічний лімфоцитарний тиреоїдит [33]. У тканині аденоматозного зоба спостерігали невеликий відсоток клітин, які експресують Fas та FasL [34], експресія рецепторів смерті DR4 та DR5 також була значно нижчою у тканині дифузного еутиреоїдного зоба [30]. Крім того, клітини культури вузлового зоба були резистентними до TRAIL та FasL, при цьому встановили, що розмір зоба зворотно пропорційно пов'язаний з чутливістю до TRAIL-індукованого апоптозу, але ця чутливість не залежала від рівня експресії рецепторів смерті [37]. Вод-

ночас протеосомна активність у клітинах вузлового зоба була підвищеною, що також може свідчити про порушення проходження апоптозу, бо відомо, що низка про- та антиапоптозних білків розщеплюється за участю протеосом [36].

Отже, аналіз даних літератури свідчить, що, незважаючи на досить широкі дослідження з визначення порушень механізмів апоптозу за умов тиреоїдних захворювань, найменш дослідженими залишаються мітохондріальні. Зважаючи на це, ми зосередили свою увагу на визначенні особливостей змін деяких мітохондріальних і постмітохондріальних етапів апоптозу клітин ЩЗ хворих з різною тиреоїдною патологією. Було досліджено [8–14, 17] інтенсивність і динаміку у часі набряку мітохондрій як одного з найбільш адекватних показників оцінки індукції неспецифічної проникності, визначено трансмембранний потенціал мітохондріальної мембрани, яка є інтегральним показником енергетичного статусу мітохондрій, активність каспази-3 – ферменту, який є центральним серед ефекторних каспаз, а також інтенсивність міжнуклеосомної фрагментації ДНК як кінцевого етапу загибелі клітини. Для з'ясування можливих порушень механізмів, що регулюють зазначені процеси, вивчений вплив на них індуктора відкриття МП – іонів Са, модуляторів МП – антиоксидантів, а також іонів йоду. Дослідили як зобнозміннену тканину ЩЗ при еутиреоїдному вузловому зобі і ДТЗ, так і позавузлову тканину, яку отримували від хворих на вузлову еутиреоїдну патологію ЩЗ (вузловий зоб, карцинома, аденома). В останньому випадку враховували певні патологічні зміни у тканині (наявність вираженого гіперпластичного процесу, склеротичних та/чи дистрофічних змін, лімфоїдної інфільтрації, ознак хронічного чи автоімунного тиреоїдиту).

Зрозуміло, що для отримання адекватних свідчень щодо змін зазначених характеристик апоптозної загибелі клітин ЩЗ

хворих на різну тиреоїдну патологію необхідний прискіпливий відбір зразків тканини залози хворих, яку можна було б вважати за незмінену. Проведені дослідження [9] довели, що такою може бути лише позавузлова тканина ЩЗ нормофолікулярної будови без будь-яких гістологічних ознак патологічних змін. Для такої тканини рівень фрагментованої ДНК не залежав від статі пацієнтів, діагнозу чи частки, з якої брали зразок, – тієї самої, де локалізований патологічний осередок, чи контрлатеральної [17]. Характер кривої динаміки набряку мітохондрій з незміненої тканини нормофолікулярної будови засвідчив відносну рівномірність цього процесу [9], що характерно для мітохондрій з нормальної тканини інших органів [19]. Близький до норми [20] і трансмембранний потенціал таких мітохондрій [9]. Мітохондрії з позавузлової незміненої тканини ЩЗ нормофолікулярної будови реагували на внесення до середовища інкубації іонів кальцію відкриванням мітохондріальних пор та зниженням при цьому значень трансмембранного потенціалу, а антиоксиданти – мелатонін та α -токоферол (при попередній до внесення іонів кальцію інкубації) швидко гальмували цей процес [9]. «Класичний» характер реакцій таких мітохондрій на зазначені чинники свідчив про їх нативність, життєздатність та адекватність нормі біохімічних і молекулярних процесів, зокрема тих, що регулюють стан проникності мембрани мітохондрій для проапоптозних молекул.

Виявилось, що характеристики, які вивчали, для позавузлової незміненої тканини ЩЗ макро- чи мікрофолікулярної будови відрізнялися від таких для незміненої тканини нормофолікулярної будови. Так, концентрація фрагментованої ДНК у позавузловій незміненій тканині ЩЗ макрофолікулярної будови [17], а також трансмембранний потенціал мітохондрій ($181,2 \text{ мВ} \pm 61,3 \text{ мВ}$) суттєво не відрізнялися від значень для мітохондрій з незміненої

тканини нормофолікулярної будови ($166,3 \text{ мв} \pm 31,5 \text{ мв}$). Проте іони кальцію викликали збільшення трансмембранного потенціалу мітохондрій: $+163,6 \% \pm 84,3 \%$ ($P < 0,05$

у порівнянні з ефектом у незміненій тканині: $-54,3 \% \pm 11,5 \%$), а активність каспази-3 у такій тканині була на 36 % нижчою, ніж у тканині нормофолікулярної будови.

Активність каспази-3 (мкмоль паранітроаніліну/[год · мг білка]) у позавузловій та зобнозміненій тканинах щитоподібної залози:

Позавузлова незмінена тканина різної будови	
нормофолікулярної (n = 12)	0,160±0,026
мікрофолікулярної (n = 6)	0,038±0,022*
макрофолікулярної (n = 5)	0,099±0,026
з ознаками гіперпластичного процесу (n = 8)	0,011±0,005*
Тканина еутиреоїдного вузлового зоба (n = 15)	0,163±0,040
Тканина дифузного токсичного зоба, у т. ч. різної будови (n = 20)	0,151±0,029
макрофолікулярної (n = 7)	0,134±0,020
мікрофолікулярної (n = 11)	0,188±0,047
гетерофолікулярної (n = 2)	0*
Тканина дифузного токсичного зоба з вираженою проліферацією (n = 3)	0,016±0,010*

* ($P < 0,05$) різниця у порівнянні з активністю у позавузловій незміненій тканині нормофолікулярної будови.

Концентрація фрагментованої ДНК у тканині ЩЗ мікрофолікулярної будови [17], а також активність каспази-3 (див. вивід) суттєво знижені, спостерігали порушення як базального рівня проникності мітохондріальної мембрани, так і механізмів кальційіндукованого відкриття мітохондріальних пор, а також відповідь на внесення до середовища інкубації мітохондрій мелатоніну та α -токоферолу [9]. Зважаючи на те, що така тканина переважно була у залозі хворих за наявності у ній карциноми, важливими є дані літератури, які свідчать про розвиток дисметаболических змін не тільки у прилеглий до пухлини тканині, але і у віддалених частинах органа [3], що, як вважають, сприяє пухлинному росту. Таким чином припускаємо, що гальмування мітохондріальних механізмів апоптозу та подальше гальмування активності каспази-3 та фрагментації ДНК у позавузловій незміненій тканині ЩЗ мікрофолікулярної будови може мати значення для створення умов для розповсюдження пухлинних клітин по залозі, особливо, зважаючи на можливу деяку стимуляцію тиреоцитів з боку ТТГ [9].

У частині з досліджених зразків позавузлової тканини ЩЗ без будь-яких макро-

скопичних змін спостерігалися ознаки вираженого гіперпластичного процесу. Різке зниження активності каспази-3 (див. вивід), відсутність суттєвих змін концентрації фрагментованої ДНК [17] та зменшення інтенсивності стимульованої міжнуклеосомної її фрагментації внаслідок зниження вмісту мононуклеосом [8] вказує на гальмування апоптозу в позавузловій тканині ЩЗ з ознаками вираженого гіперпластичного процесу. На цьому тлі ні антиоксиданти, ні іони йоду не впливали на інтенсивність міжнуклеосомної фрагментації ДНК [11], що непрямо може свідчити про розвиток резистентності мітохондріальних механізмів апоптозу до дії апоптозomodуючих чинників.

Є думка, що при виникненні новоутворення навколо нього майже повністю зникає реакція сполучної тканини, пригнічується стан ретикуло-ендотеліальної системи з розвитком дистрофічних змін у клітинах, фіброзу, сповільненням кровообігу, зменшенням концентрації поживних речовин і пригніченням метаболізму, тобто погіршується трофіка тканини. Це, як вважають, ускладнює умови для прогресу захворювання і пов'язано з захисною реакцією

організму на виникнення патології [2]. Зважаючи на характер зрушень показників, що визначалися, в позавузловій тканині ЩЗ з ознаками склеротичних і дистрофічних змін з боку стромальних елементів базальна активність апоптозу, певно, суттєво не змінюється [8, 17]. Проте інтенсивність стимульованої міжнуклеосомної фрагментації ДНК під впливом антиоксидантів посилювалася [11], що було протилежним їх ефекту у незмінній тканині, а вплив іонів йоду на термінальні процеси апоптозу був відсутнім [10]. Останнє може бути однією з багатьох причин неефективності у деяких випадках застосування препаратів йоду в терапії вузлової патології ЩЗ.

Структурна перебудова ЩЗ за наявності в ній вузлової патології може супроводжуватися лімфоїдною інфільтрацією позавузлової тканини, що деякі автори розглядають як одну з характеристик автоімунного тиреоїдиту [21]. Такі зміни у ЩЗ, виявлені при післяопераційному патогістологічному дослідженні, не завжди супроводжуються підвищенням у крові пацієнтів вмісту специфічних тиреоїдних антитіл, тому не можна вважати ізольовану лімфоїдну інфільтрацію показником наявності автоімунного процесу в залозі. За даними літератури, як вказано вище, хронічний автоімунний тиреоїдит супроводжується загибеллю тироцитів внаслідок активації каспазозалежних механізмів апоптозу. Невідомо, яке значення мають ці процеси в залозі за наявності лише лімфоїдної інфільтрації чи хронічного тиреоїдиту без діагностування автоімунних процесів. Отримані в результаті проведених досліджень дані [14] свідчать про резистентність у позавузловій тканині ЩЗ з ознаками лімфоїдної інфільтрації мітохондріальних процесів апоптозу до дії апоптозіндукуючих та апоптозмодуючих чинників на тлі можливого утримання мітохондріальних пор у закритому стані, про що свідчить підвищення трансмембранного потенціалу мітохондрій і незмінена активність каспази-3 [14].

Дещо інша картина спостерігалася при вивченні позавузлової тканини ЩЗ з ознаками хронічного тиреоїдиту. Проникність мітохондріальної мембрани при цьому була в межах норми, проте вона також виявляла резистентність до іонів кальцію і до α -токоферолу, тоді як мелатонін дозозалежно проявляв дію, що сприяє вивільненню проапоптозних чинників з мітохондрій [14]. В літературі є дані про активацію під впливом мелатоніну процесів апоптозу за умов пошкоджень у клітині внаслідок дії оксидативного стресу [6, 41]. Як відомо, останній вважають одним з патогенетичних чинників розвитку тиреоїдиту [16, 29]. Підтвердженням проапоптозної дії мелатоніну є активація стимульованої міжнуклеосомної фрагментації ДНК у тканині з ознаками хронічного тиреоїдиту при інкубації зрізів тканини з цим гормоном [11].

Встановлено, що апоптозній фрагментації ДНК передують суттєве зниження у клітині співвідношення відновленого/окисненого глутатіону [4], який займає чи не центральне місце в антиоксидантному захисті організму. Відомо, що мелатонін активує перетворення глутатіону, і це є одним із механізмів прояву його антиоксидантного ефекту. Ще однією можливою ланкою дії антиоксиданту на міжнуклеосомну фрагментацію ДНК є усунення впливу активних сполук кисню на ендонуклеази, які безпосередньо беруть участь у фрагментації ДНК. Активація цих ферментів під впливом окисного стресу відбувається завдяки підвищенню вмісту Ca^{2+} , який вивільнюється за цих умов із внутрішньоклітинних депо одночасно з гальмуванням видалення його надлишку за межі клітини внаслідок окиснення тіолових груп у структурі трансмембранних каналів [4]. Щодо підвищення інтенсивності міжнуклеосомної фрагментації ДНК у позавузловій тканині ЩЗ з ознаками хронічного тиреоїдиту під дією йодиду, то можна вказати на активацію апоптозу тироцитів за умов експериментального тиреоїдиту, який

моделюють введенням йодиду тваринам після дії тиростатиків [25].

Слід зазначити, що активність каспази-3 у тканині з ознаками хронічного тиреоїдиту була удвічі вищою, ніж у незмінній тканині ЩЗ, за аутоімунного хронічного – значно підвищеною [14], що свідчить про активацію за цих умов каспазозалежного шляху апоптозу.

Доведено, що деструкція тироцитів при аутоімунному тиреоїдиті може відбуватися за механізмом аутокринно-паракринної взаємодії рецепторів смерті та їх лігандів на сусідніх тироцитах або на одному з них, що призводить до запуску апоптозу та до загибелі клітин і розвитку гіпотиреозу [43, 46]. Зважаючи на це, а також на дані, що одержані при виконанні роботи, можна припустити, що за хронічного тиреоїдиту основні механізми апоптозу спрямовані на залучення зовнішнього рецепторного механізму ініціації і підвищення активності каспази-3 може відбуватися внаслідок дії каспази-8, яка, як відомо, активується у комплексі з олігомеризованим Fas [15]. Участь мітохондрій, можливо, менш суттєва. Підтвердженням цього є дані літератури, що заперечують за умов розвитку тиреоїдиту роль антиапоптозного білка Bcl-2, який займає одне з центральних місць у регуляції апоптозної функції мітохондрій [26].

Базальний рівень неспецифічної проникності мембран мітохондрій, виділених із зобнозміненої тканини ЩЗ хворих на еутиреоїдний вузловий зоб не відрізнявся від такого мембран мітохондрій з незміненої тканини, хоча зниження прикінцевої швидкості набряку [12] може свідчити про певне збільшення кількості мітохондрій з порушеними механізмами індукції відкриття МРТ. Водночас трансмембранний потенціал мітохондрій в патологічно зміненій тканині був нижчим, ніж в незміненій [12]. Відомо, що мембранний потенціал та протонний градієнт на внутрішній мембрані мітохондрій є основними джерелами енергії для синтезу АТФ, яка вкрай необхідна для

енергозалежного утворення апоптосом та гідролізу макромолекул під час апоптозу. Проте встановлено, що в цих реакціях утворюються супероксид-аніони, які потім перетворюються в активні форми кисню і не завжди повною мірою можуть бути нейтралізованими антиоксидантними системами [7]. Утворення активних форм кисню та пероксидація ліпідів мембран супроводжується зниженням трансмембранного потенціалу [5]. У цьому зв'язку слід відмітити, що оксидативний стрес клітини є одним із патогенетичних чинників виникнення вузлової патології ЩЗ, підтверджену даними про підвищення концентрації продуктів пероксидації ліпідів у патологічно зміненій тканині залози [18]. Процеси набряку мітохондрій з зобнозміненої тканини виявилися резистентними до дії мелатоніну і α -токоферолу [12], які в нормі модулюють проникність мембрани мітохондрій внаслідок зменшення, концентрації активних сполук кисню та інтенсивності пероксидації її ліпідів відповідно. Зазначене може бути як додатковим доказом порушень у функціонуванні антиоксидантних систем у клітинах зобнозміненої тканини на тлі розвитку оксидативного стресу, так і змін у регуляції при цьому пермеабельності мембран мітохондрій.

Проникність мембран мітохондрій з зобнозміненої тканини ЩЗ та їх трансмембранний потенціал не змінювалися при дії надлишку іонів кальцію [12], які, як відомо, за норми ініціюють зниження трансмембранного потенціалу та відкриття МП внаслідок взаємодії іонів із сайтами їх зв'язування на внутрішній мембрані мітохондрій [40]. Отже, за патології мітохондрії, можливо, гублять, до певної міри, властивість акумулювати іони кальцію, які контролюють всі етапи енергетичного метаболізму, синхронізуючи утворення АТФ зі зміною різних функцій клітини [31]. Можливо, за цих умов порушується активність специфічної транслокази, яка відповідає за надходження іонів кальцію у

мітохондрії, та/чи активності трансмембранних переносників, які контролюють вихід Ca^{2+} у цитозоль. Обидва процеси проходять під дією негативного потенціалу внутрішньої мембрани мітохондрій. Таким чином, у клітинах зобнозміненої тканини ЩЗ поряд із розвитком оксидативного стресу, змінами процесів окисного фосфорилювання та зниженням трансмембранного потенціалу, що повинно, за реалізації певних інших умов, мати наслідком просування клітини по шляху апоптозу, можливо, спостерігаються порушення кальційзалежних механізмів проникності мітохондріальної мембрани. Це може бути причиною гальмування мітохондріальних механізмів ініціації апоптозу патологічно змінених клітин. У цьому сенсі слід зазначити, що деякі антиапоптозні білки сімейства Bcl-2 можуть регулювати загибель клітини, контролюючи проникність та дихання мітохондрій, зокрема регулюючи процес закривання потенціалзалежного аніонного каналу, який входить до складу МП [5]. Про відсутність ініціації апоптозу на рівні мітохондрій свідчить також незмінена активність каспази-3 у зобнозміненій тканині ЩЗ хворих (див. вивід).

Ефект α -токоферолу, який був спрямований на підвищення інтенсивності стимульованої міжнуклеосомної фрагментації ДНК у тканині еутиреоїдного зоба [8], може бути пов'язаний зі встановленою дією похідних вітаміну Е, вплив яких у нетоксичних концентраціях зумовлений їх взаємозв'язком із комплексом ІІ ланцюга дихання, що призводить до стимуляції утворення активних сполук кисню [39], які можуть прямо впливати на активність ендонуклеаз.

Підвищення інтенсивності міжнуклеосомної фрагментації ДНК при внесенні йодиду у середовище інкубації зрізів тканини вузлового еутиреоїдного зоба [10] збігається з даними літератури про підвищення апоптозної загибелі тиреоцитів при дії надлишку іонів йоду на ЩЗ хворих та у разі

моделювання експериментального зоба внаслідок введення тиростатиків чи нестачі у раціоні йоду, і може бути наслідком підвищеної чутливості тиреоцитів до йоду на тлі їх стимуляції ТТГ [28, 38]. Порівняння кількості загиблих за механізмом апоптозу фолікулярних та ендотеліальних клітин у тканині багатовузлового еутиреоїдного зоба хворих, які приймали чи не приймали препарати йоду, показало 10-тиразове збільшення у перших кількості загиблих тиреоцитів, тоді як кількість ендотеліальних клітин, що гинули за механізмом апоптозу, підвищувалася лише наполовину. При цьому поряд зі збільшенням експресії у тиреоцитах та ендотеліальних клітинах білка Вах, у тиреоцитах не виявляли експресії Bcl-2 [28]. Є думка, що токсичний вплив йоду на клітини ЩЗ при еутиреоїдному зобі також пов'язаний з утворенням під його дією високого вмісту вільних радикалів кисню і залежить від стану антиоксидантної системи, особливо за умови зниження активності антиоксидантних ферментів, що містять селен [45].

При дослідженні тканини ЩЗ при хворобі Грейвса показано зростання початкової швидкості набряку мітохондрій при незмінній його інтенсивності наприкінці дослідження [13], що може свідчити про існування певної кількості мітохондрій зі збільшеною пермеабельністю їх мембран, тоді як відсутність або нетиповий характер змін (щодо такого у незмінній тканині ЩЗ) набряку мітохондрій з тканини ДТЗ при дії іонів кальцію чи антиоксидантів – про гальмування чи порушення механізмів регуляції проникності мембран мітохондрій з патологічно зміненої тканини. На користь зазначеного свідчать і дані про відсутність змін трансмембранного потенціалу мітохондрій з тканини ДТЗ при дії іонів кальцію [13]. Отже, захищеність клітин ЩЗ при хворобі Грейвса від апоптозу може бути зумовлена не тільки надекспресією білків-інгібіторів апоптозу на тлі наднизької

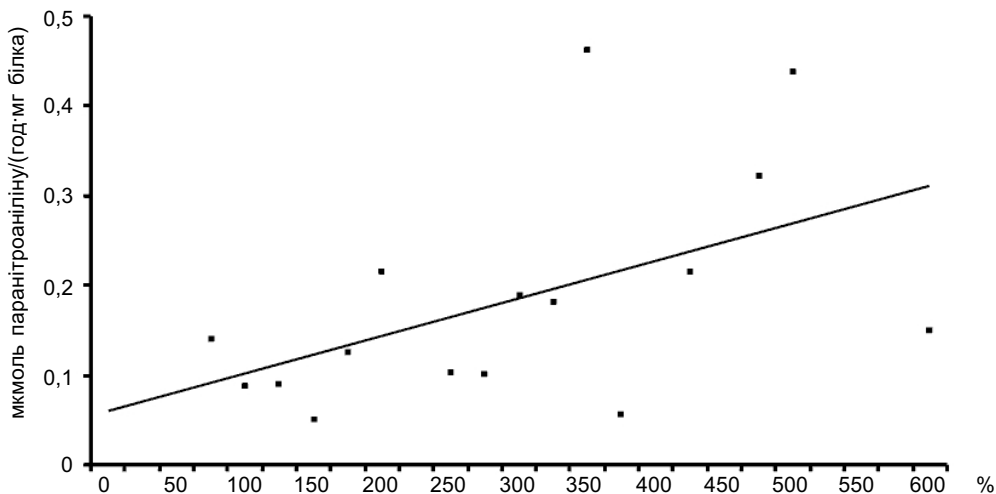
експресії на тиреоцитах рецепторів смерті Fas [46, 49], але і певною зміною мітохондріальних механізмів, які пов'язані з проникністю мембран. Відсутність змін активності каспази-3 (див. вивід), рівня фрагментованої ДНК [17] та інтенсивності її міжнуклеосомної фрагментації [8] підтверджують ці висновки. Водночас встановлений позитивний, середній за значенням ($s = +0,569$, $P < 0,05$, рисунок) корелятивний зв'язок об'єму залози та активності каспази-3 свідчить, що зі збільшенням об'єму залози каспазозалежний шлях загибелі тироцитів може активуватися. В літературі є дані про більшу кількість апоптозних клітин у тканині залози хворих на ДТЗ, ніж у тканині здорової ЩЗ [44].

Заслужує на увагу факт попередження набряку мітохондрій з тканини хворих на ДТЗ при дії високої концентрації α -токоферолу, що характерно для мітохондрій з незміненої тканини ЩЗ [9, 13], і може бути підтвердженням ролі пероксидації ліпідів мембран у розвитку патологічних змін у мітохондріях тканини залози хворих на ДТЗ. Показано, що на тлі активації процесів перекисного окиснення ліпідів у таких хво-

рих спостерігається також зниження забезпеченості їх тканин α -токоферолом [23].

У розвитку, прогресуванні та клінічних проявах хвороби Грейвса має значення: стать, вік, в якому виявилось захворювання, його тривалість, тяжкість симптоматики, розмір зоба, вміст гормонів та антитіл, спектр останніх, застосування тиростатиків тощо. Аналіз даних щодо причин значної індивідуальної різниці характеристик набряку мітохондрій, які були виділені зі зразків тканини ДТЗ різних хворих на ДТЗ, показав, що ні базальний рівень набряку мітохондрій, ні зміни, які були зафіксовані при дії іонів кальцію та антиоксидантів, не відрізнялися суттєво в залежності від тяжкості хвороби, статі пацієнтів та розмірів залози [13].

Враховуючи те, що тиреотоксикоз супроводжується структурними змінами тканини ЩЗ, та що усі хворі перед операцією тривалий час приймали тиростатики, які, як відомо [1, 47], впливають на морфологію та функції тироцитів і фолікулів, був проведений аналіз даних з урахуванням фолікулярної будови тканини ДТЗ [13]. Він показав, що на тлі підвищеної проникності мембран мітохондрій з тканини ДТЗ мікро-



Активність каспази-3 визначали за протоколом виробника набору реактивів для спектрофотометричного визначення активності ферменту ("CASP-3", Sigma, США);

Взаємозв'язок ($s = + 0,569$) активності каспази-3 у лізатах тканини та об'єму щитоподібної залози при хворобі Грейвса. За віссю абсцис – відсоток перевищення об'єму залози понад вікову норму, за віссю ординат – активність каспази-3

фолікулярної будови вони були повністю резистентними до апоптозіндукуючої дії іонів кальцію та апоптозмодуючої дії антиоксидантів. Проникність мітохондрій з тканини ДТЗ макрофолікулярної будови, навпаки, була зменшеною (про це також свідчить і збільшений трансмембранний потенціал), іони кальцію дозозалежно підвищували її, що до певної міри, подібно дії іонів кальцію у нормальній тканині ЩЗ, а антиоксиданти не впливали на набряк. Зміни характеристик проникності мембран мітохондрій з тканини ДТЗ гетерофолікулярної будови виявилися неоднозначними: базальний рівень набряку мітохондрій не відрізнявся від норми, хоча трансмембранний потенціал був, як і у тканині макрофолікулярної будови, підвищеним; іони кальцію гальмували набряк мітохондрій і збільшували трансмембранний потенціал, а α -токоферол активував проникність мітохондріальної мембрани. У зразках такої тканини зафіксована нульова активність каспази-3 (див. вивід), хоча відсоток фрагментованої ДНК знижений у тканині ДТЗ усіх варіантів фолікулярної будови [13, 17].

Установлено, що фолікули здорової ЩЗ гетерогенні не тільки за формою, розмірами, щільністю колоїду та здатністю захоплювати йод, але і за вмістом тиреоглобуліну, інтенсивністю синтезу та накопичення тиреоїдних гормонів, і навіть за експресією специфічного для ЩЗ транскрипційного фактора TTF-1. До цього часу природа такої неоднорідності залишається до кінця не з'ясованою. За однією з гіпотез [47] неоднорідність за функціональною активністю та швидкістю росту тироцитів може бути пов'язана з тим, що клітини походять не з одного першоджерела, внаслідок чого в одних фолікулах може спостерігатися активний синтез та секреція гормонів, а в інших – ні. Враховуючи той факт, що одним із основних чинників, які регулюють функцію фолікула, є акумуляція в фолікулярній порожнині тиреоглобуліну, передбачають, що, за певних умов, його вміст в різних

фолікулах може перекривати ефект ТТГ і бути причиною їх асинхронної активності. Тиреоглобулін гальмує експресію тиреоїдної пероксидази, Na^+/I^- -симпортера, рецептора ТТГ та власне тиреоглобуліну внаслідок супресії низки тиреоїдспецифічних транскрипційних факторів, тобто діє як ауторегулятор у ланцюзі зворотного зв'язку, що і сприяє формуванню фолікулярної гетерогенності.

Гетерогенність фолікулів може мати значення у розвитку патології [47]. Передбачають, що при послабленні супресуючої дії тиреоглобуліну чи внаслідок аномалій його молекули, чи порушення механізмів його регуляторної дії на транскрипцію може спостерігатися стабільна активація генної експресії, наслідком якої є постійний ріст клітин або акумуляція колоїду зі збільшенням розмірів фолікулів. Такий механізм розглядають як один, серед інших, для патогенезу еутиреоїдного зоба. Водночас невідоме значення фолікулярної гетерогенності у патогенезі чи прогресуванні інших тиреоїдних захворювань. Зважаючи на суттєву різницю в інтенсивності базального набряку мітохондрій, а також на різну реакцію мітохондрій на дію *in vitro* іонів кальцію залежно від фолікулярної будови тканини ЩЗ при хворобі Грейвса, можна припустити, що стан механізмів, які регулюють мітохондріальні процеси апоптозу, також залежить від гетерогенності фолікулів і пов'язаний з їх активністю. Про суттєві структурні відмінності у тканині ЩЗ різних хворих на ДТЗ, незважаючи на подібність основних патогенетичних механізмів розвитку хвороби Грейвса, відомо вже давно [1]. Описані також причини підвищення розмірів ЩЗ у разі хвороби Грейвса: внаслідок переважного збільшення фолікулів з накопиченням колоїду або внаслідок значної проліферації без суттєвих змін розмірів фолікулів.

Цікавими є також дані про критично низьку активність каспази-3 у тканині ДТЗ

у разі наявності різко виражених ознак проліферації тиреоцитів (див. вивід). Це відповідає низькій активності ферменту у позавузловій тканині еутиреоїдної ЩЗ з ознаками гіперпластичного процесу (див. вище), що може свідчити про зниження або виключення при інтенсифікації проліферації каспазозалежного шляху реалізації апоптозу.

Слід зазначити, що характер змін концентрації ДНК у тканині зоба як вузлового еутиреоїдного, так і дифузного токсичного, відрізнявся залежно від статі хворих. За вузлових форм зоба у чоловіків відсоток фрагментованої ДНК значно вищий, ніж у жінок [8, 17]. Крім того, лише у тканині ЩЗ жінок при хворобі Грейвса збільшена концентрація високомолекулярної ДНК. Показано, що естрадіол стимулює проліферацію фолікулярних клітин ЩЗ і дозозалежно підвищує при цьому співвідношення вмісту анти- та проапоптозних білків Bcl-xL/Bax за рахунок надекспресії першого [35]. Тестостерон не має такого ефекту. Крім того, ендогенні метаболіти естрогенів індукують апоптоз тиреоцитів через арешт клітинного циклу у фазі G2/M. Це призводить до руйнування фолікулів і вивільнення тиреоїдних антигенів. Подібний механізм розглядають як патогенетичний у розвитку автоімунних захворювань ЩЗ у жінок [50]. Ці результати частково можуть пояснювати відомий факт збільшеного у 2–3 рази ризику виникнення захворювань ЩЗ у жінок в порівнянні з чоловіками.

Таким чином, результати проведених досліджень свідчать про суттєві зміни процесів мітохондріальної і постмітохондріальної регуляції та реалізації апоптозу у зобозміненій тканині ЩЗ, а також у тканині залози, яка знаходиться поза вузлом, але має ознаки патологічних змін. При цьому резистентність мітохондріальних механізмів апоптозу спостерігали у більшості з вивчених тканин, що може мати суттєве значення у патогенезі тиреоїдної патології, зокрема при формуванні вузлів чи в розвитку запальних та автоімунних процесів. Характер

і ступінь порушень мітохондріальних механізмів апоптозу й активності деструктивних процесів у клітинах ЩЗ хворих залежать від багатьох чинників: виду патології, тяжкості її перебігу, особливостей фолікулярної будови тканини, статі хворих, що, безперечно, повинно бути враховано при розробці нових терапевтичних методів, в основі яких лежать зміни процесів апоптозу.

**Т.М. Мишунина, Е.В. Калиниченко,
Н.Д. Тронько**

МЕХАНИЗМИ АПОПТОЗА КЛЕТОК ЩИТОВИДНОЇ ЖЕЛЕЗЫ ПРИ ЇЇ ПАТОЛОГИИ

Проанализированы свидетельства литературы и результаты собственных исследований о нарушении процессов программированной смерти клеток зобноизменённой ткани щитовидной железы больных с эутиреоидным или токсическим зобом, а также внеузловой ткани железы при наличии в ней патологических изменений (выраженный гиперпластический процесс, склеротические и/или дистрофические изменения, лимфоидная инфильтрация, хронический или аутоиммунный тиреоидит). Показано, что в условиях тиреоидной патологии происходят существенные изменения процессов митохондриальной и постмитохондриальной регуляции и реализации апоптоза. Характер и степень нарушений митохондриальных механизмов апоптоза и активности деструктивных реакций в клетках щитовидной железы зависят от многих факторов: вида патологии, её тяжести, особенностей фолликулярного строения ткани, пола больных. Выявленная резистентность митохондриальных механизмов апоптоза может играть важную роль в патогенезе узловой патологии щитовидной железы или в развитии воспалительных и аутоиммунных процессов.

Ключевые слова: эутиреоидный узловой зоб, диффузный токсический зоб, внеузловая ткань щитовидной железы с патологическими изменениями, набухание митохондрий, трансмембранный потенциал, каспаза-3, ионы кальция, антиоксиданты.

T. M. Myshunina, O. V. Kalinichenko, M. D. Tron'ko

MECHANISM OF APOPTOSIS IN THE THYROID CELLS UNDER THYROID PATHOLOGY

The literature data and the results of own examinations concerning the changes in programmed cell death processes of goiter altered thyroid tissue in patients with euthyroid or toxic goiter and also the extranodular tissue of the gland in the presence of pathological changes in it (the pronounced hyperplastic process, sclerotic and/or dystrophic changes, lymphoid

infiltration, chronic or autoimmune thyroiditis) were analyzed. It has been shown that the significant changes in the processes of mitochondria and postmitochondria regulation and apoptosis realization are occurred under thyroid pathology. The character and the degree of disorders in the apoptosis mitochondria mechanisms and the activity of destructive processes in the patient thyroid cells are dependent on many factors such as the type of pathology, the severity of its occurrence, the peculiarities of tissue follicular structure and the patient sex. Obtained resistance of the apoptosis mitochondria mechanisms can play an important role in the pathogenesis of thyroid nodular pathology or in the development of inflammatory and autoimmune processes.

Key words: euthyroid or toxic goiter, extranodular tissue with pathological changes, apoptosis mitochondria mechanisms.

State Institution «V.P. Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism of AMS of Ukraine», Kyiv

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

- Абрамова Н.А., Фадеев В.В. Консервативное лечение болезни Грейвса: принципы, маркеры рецидива и ремиссии // Пробл. эндокринологии. – 2005. – **51**, № 6. – С. 44–49.
- Арендаревський Л.Ф. Про реакцію організму на розвиток раку. – В кн.: IX з'їзд онкологів України. (Вінниця, 13-15 вер. 1995). – К., 1995. – С. 74–75.
- Бакурова Е.М., Соколовская Л.В., Никонов А.А. и др. Особенности метаболизма углеводов в процессах регулируемой и нерегулированной пролиферации в слизистой оболочке желудка // Укр. біохім. журн. – 2002. – **74**, № 4а. – С. 22.
- Барабой В.А. Биоантиоксиданты. – К.: Книга плюс, 2006. – 462 с.
- Бра М., Квиван Б., Сузин С. Митохондрии в программированной гибели клетки: различные механизмы гибели // Биохимия. – 2005. – **70**, № 2. – С. 284–293.
- Ванушко В. Э. Фадеев В. В., Латкина Н. В. и др. Хирургическое лечение диффузного токсического зоба // Пробл. эндокринологии. – 2006. – **52**, № 3. – С. 50–56.
- Владимиров Ю.А. Нарушение барьерных свойств внутренней и наружной мембран митохондрий, некроз и апоптоз // Биол. мембраны. – 2002. – **19**, № 5. – С. 356–237.
- 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.
- Мишуніна Т.М., Калініченко О.В. Особливості проникливості мембран мітохондрій клітин з ділянок нормальної тиреоїдної паренхіми мікро- та нормо-фолікулярної будови // Там само. – 2008. – **13**, № 1. – С. 35–44.
- Мишуніна Т.М., Калініченко О.В., Пількевич Л.І. Вплив йоду на міжнуклеосомну фрагментацію ДНК у тканині щитоподібної залози хворих на різну тиреоїдну патологію // Там само. – 2007. – **12**, № 2. – С. 240–251.
- 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.
- Мишуніна Т.М., Калініченко О.В., Тронько М.Д. та ін. Проникливість мембран мітохондрій із зобозміненої тканини щитоподібної залози хворих на еутиреоїдний вузловий зоб // Журн. АМН України. – 2008. – **14**, № 3. – С. 435–449.
- Мишуніна Т.М., Калініченко О.В., Тронько М.Д. та ін. Характеристика проникливості мембран мітохондрій з тканини щитоподібної залози пацієнтів з хворобою Грейвса // Ендокринологія. – 2008. – **13**, № 2. – С. 199–209.
- Мишуніна Т.М., Калініченко О.В., Тронько М.Д. та ін. Мітохондріальні та постмітохондріальні механізми апоптозу у тканині щитоподібної залози з ознаками лімфоїдної інфільтрації чи хронічного тиреоїдиту // Там само. – 2009. – **14**, № 1. – С. 48–56.
- Мишуніна Т.М., Тронько М.Д. Основні молекулярні механізми апоптоза та їх порушення при канцерогенезі щитоподібної залози // Журн. АМН України. – 2006. – **12**, № 4. – С. 611–633.
- Надольник Л.И. Состояние тироцитов крыс при окислительном стрессе // Пробл. эндокринологии. – 2005. – **51**, № 4. – С. 38–41.
- 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.
- Полянский И.Ю., Шеремет М.И., Шамрай Г.Г. Активність процесів перекисного окислення та стан системи антиоксидантного захисту у хворих на вузловий еутиреоїдний зоб та їх корекція // Клін. ендокринологія та ендокрин. хірургія. – 2003. – № 3 (4). – С. 34–38.
- Сагач В.Ф., Вавілова Г.Л., Струтинська Н.А., Рудик О.В. Старіння підвищує чутливість до індукторів мітохондріальної пори в серці щурів // Фізіол. журн. – 2004. – **50**, № 2. – С. 49–63.
- Скулачєв В.П. Энергетика биологических мембран. – М.: Наука, 1989. – 564 с.
- Старкова Н.Т. Структурные изменения щитовидной железы. Причины возникновения, постановка диагноза, методы лечения // Пробл. эндокринологии. – 2002. – **48**, № 1. – С. 3–6.
- Стойка Р.С., Камінський В.О. Стратегія дослідження проапоптичної дії біологічно активних речовин. – В кн.: Матеріали IX Укр. біохім. з'їзду (24–27 жовт.

- 2006 р.). – Харків, 2006. – С. 118–119.
23. Тишенина Р. С., Филоненко Т. А., Древаль А. В., Камышина Т. С. Перекисное окисление липидов и токоферол у больных диффузным токсическим зобом // Пробл. эндокринологии. – 2000. – **46**, № 6. – С. 26–28.
 24. Фильченков О.О., Стойка Р.С. Апоптоз і рак: від теорії до практики. ? Тернопіль: Укрмедкнига, 2006. – 524 с.
 25. Voechat L., Vilella C., Zollner R. Effect of iodine on Fas, Fas-ligand and Bcl-w m RNA expression in NOD mice pretreated with methimazole // Braz. J. Med. Biol. Res. – 2002. – **35**, № 3. – P. 289–295.
 26. Bretz J. Apoptosis and autoimmune thyroid disease: following a TRAIL to thyroid destruction? // Clin. Endocrinol. – 2001. – **55**, № 1. – P. 1–11.
 27. Chen S., Fazle Akbar S., Zhen Z. et al. Analysis of the expression of Fas, FasL and Bcl-2 in the pathogenesis of autoimmune thyroid disorders // Cell Mol. Immunol. – 2004. – **1**, № 3. – P. 224–228.
 28. El-May M., Zekri S., Boubaker S. et al. Chronic iodine overload and apoptosis in cold nodules from endemic multinodular goiters // Arch. Inst. Pasteur Tunis. – 2005. – **82**, № 1–4. – P. 69–74.
 29. Erdamar H., Demirci H., Yaman H. et al. The effect of hypothyroidism, hyperthyroidism, and their treatment on parameters of oxidative stress and antioxidant status // Clin. Chem. Lab. Med. – 2008. – **46**, № 7. – P. 1004–1010.
 30. Fu J., Ji Q., Huang W. et al. Экспрессия лиганда, родственного фактору некроза опухолей, вызывающего апоптоз (TRAIL) и регуляторов 4- и 5-клеточной гибели при тиреоидите Хашимото // J. Forth Milit. Med. Univ. – 2002. – **23**, № 10. – P. 920–923.
 31. Hajnoczky G., Csordas G., Das S. et al. Mitochondrial calcium signaling and cell death: approaches for assessing the role of mitochondrial Ca²⁺ uptake in apoptosis // Cell Calcium. – 2006. – **40**, № 5–6. – P. 553–560.
 32. Hara H., Sato R., Ban Y. Accelerated production of nucleosome in cultured human mononuclear cells in untreated Graves' disease // Endocr. J. – 2002. – **49**, № 2. – P. 189–194.
 33. Ji Q., Song M., Zhang P. et al. Disi junui daxue xuebao // J. Forth Milit. Med. Univ. – 2002. – **23**, № 15. – P. 1432–1435.
 34. Kotani T., Aratake Y., Ohtaki S. Apoptosis in Hashimoto's thyroiditis // Rinsho Byori. – 1997 – **45**, № 11. – P. 1038–1047.
 35. Lee M., Chen G., Vlantis A. et al. Induction of thyroid papillary carcinoma cell pro-liferation by estrogen is associated with an altered expression of Bcl-xL // Cancer J. – 2005. – **11**, № 2. – P. 113–121.
 36. Mezosi E., Yamazaki H., Bretz J. et al. Aberrant apoptosis in thyroid epithelial cells from goiter nodules // J. Clin. Endocrinol. Metab. – 2002. – **87**, № 9. – P. 4264–4272.
 37. 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.
 38. Mutaki J., Poma J-F., Many M-C. et al. Cell necrosis and apoptosis are differentially regulated during goiter development and iodine-induced involution // Ibid. – 2002. – 172, № 2. – P. 375–386.
 39. Neuzil J., Dyason J., Freeman R. et al. Mitocans as anti-cancer agents targeting mitochondria: lessons from studies with vitamin E analogues, inhibitors of complex II // J. Bioenerg. Biomembr. – 2007. – **39**, № 1. – P. 65–72.
 40. Nieminen A. Apoptosis and necrosis in health and disease: role of mitochondria // Int. Rev. Cytol. – 2003. – № 224. – P. 29–55.
 41. Omurtag G., Tozan A., Sehirlı A., Sener G. Melatonin protects against endosulfan-induced oxidative tissue damage in rats // J. Pineal Res. – 2008. – **30**, № 1. – P. 45–48.
 42. Palazzo F., Hammond L., Goode A., Mirakian R. Death of the autoimmune thyrocyte: is it pushed or does it jump? // Thyroid. – 2000. – **10**, № 7. – P. 561–572.
 43. Salmaso C., Bagnasco M., Pesce G. et al. Regulation of apoptosis in endocrine autoimmunity: insights from Hashimoto's thyroiditis and Graves' disease // Ann. NY Acad. Sci. – 2002. – № 966. – P. 496–501.
 44. Sera N., Kawakami A., Nakashima T. et al. Fas/FasL mediated apoptosis of thyrocytes in Graves' disease // Clin. Exp. Immunol. – 2001. – **124**, № 2. – P. 197–207.
 45. Smyth P., Dwyer R. The sodium iodine symporter and thyroid disease // Clin. Endocrinol. – 2002. – **56**, № 2. – P. 427–469.
 46. Stassi G., Todago M., Bucchie F. et al. Fas/Fas ligand-driven T cell apoptosis as a consequence of ineffective thyroid immunoprivilege in Hashimoto's thyroiditis // J. Immunol. – 1999. – **162**, № 1. – P. 263–267.
 47. Suzuki K., Mori A., Lavaroni S. et al. Thyroglobulin: A master regulator of follicular function via transcriptional suppression of thyroid specific genes // Acta Histochem. et Cytochem. – 1999. – **32**, № 2. – P. 111–119.
 48. Tanimoto C., Hirakawa S., Kawasaki H. et al. Apoptosis in thyroid diseases: a histochemical study // Endocr. J. – 1995. – **42**, № 2. – P. 193–201.
 49. Wang S., Baker J. The role of apoptosis in thyroid autoimmunity // Thyroid. – 2007. – **17**, № 10. – P. 975–979.
 50. Wang S., Myc A., Koenig R. et al. 2-Methoxyestradiol, an endogenous estrogen metabolite, induces thyroid cell apoptosis // Mol. Cell Endocrinol. – 2000. – **165**, № 1–2. – P. 163–172.