

<sup>1</sup>М.І. Хворостенко, <sup>1</sup>О.Л. Лянна, <sup>2</sup>В.І. Чорна,  
<sup>3</sup>Н.А. Дорофеева

<sup>1</sup> Дніпропетровська державна медична академія,

<sup>2</sup>Дніпропетровський державний аграрний університет,

<sup>3</sup>Алчевський онкологічний диспансер

## Зміни стану системи протеолізу у відповідь на променеве лікування папілярної карциноми щитоподібної залози

### The changes of the state of proteolysis system in response to radiation treatment for papillary thyroid carcinoma

**Summary.** The changes of activity of lysosomal cysteine cathepsin L and concentration of thyroid hormones in the blood plasma of patients with papillary thyroid carcinoma were investigated. It is shown that the level of activity of the investigated enzyme increases at all stages of the investigation and reaches its maximum after radioiodine therapy. The influence of activity changes of lysosomal cathepsin L on the increase of thyrotropic hormone concentration in the blood plasma is discussed.

**Key words:** thyroid gland, carcinoma, radioiodine therapy, proteolysis system.

**Резюме.** Исследованы изменения активности лизосомного цистеинового катепсина L и концентрации тиреоидных гормонов в плазме крови больных папиллярной карциномой щитовидной железы. Показано, что уровень активности исследуемого фермента возрастает на всех этапах исследования и достигает максимального значения после проведения радиоiodотерапии. Обсуждается влияние изменений активности лизосомного катепсина L на повышение концентрации тиреотропного гормона в плазме крови больных.

**Ключевые слова:** щитовидная железа, карцинома, радиоiodотерапия, система протеолиза.

**Ключові слова:** щитоподібна залоза, карцинома, радіоiodотерапія, система протеолізу.

Проблема онкологічної патології щитоподібної залози (ЩЗ) для населення України, яке постраждало від аварії на ЧАЕС, є надзвичайно актуальною. Незважаючи на помітний прогрес у розумінні механізмів розвитку та перебігу онкологічних захворювань ЩЗ, кількість хворих із даною патологією невпинно зростає. Відомо, що ЩЗ є одним з найбільш радіаційно-чутливих органів організму людини, а папілярний рак щитоподібної залози (ПРЩЗ) — найтипівішим радіаційно-індукованим новоутвором [1].

Серед променевих методів лікування при високодиференційованому ПРЩЗ найбільшого поширення набула терапія радіоактивним йодом  $I^{131}$ . Використовуваний ізотоп є джерелом  $\gamma$ -випромінювання з дуже коротким пробігом у тканинах (до 2 мм) та періодом напіврозпаду близько 8 діб. Даний препарат селективно захоплюється клітинами диференційованого раку ЩЗ, піддаючи їх деструкції. Умовою для проведення терапії  $I^{131}$  є повне видалення ЩЗ. Захоплення радіоактивного йоду метастазами відбувається лише за наявності достатнього рівня тиротропного гормону гіпофіза (ТТГ) у крові [2].

Відомо, що сталий рівень тиреоїдних гормонів у крові людини підтримується залежно від циклу синтезу

прогормону тироглобуліну (ТГ) та його протеолітичної деградації. З даних літератури відомо, що безпосередню участь у процесингу тироглобуліну беруть лізосомні цистеїнові протеїнази (катепсини), які, за сучасними уявленнями, відіграють важливу роль як у багатьох фізіологічних (апоптоз, старіння, імунна відповідь тощо), так і патологічних процесах; на особливу увагу заслуговують дослідження ролі лізосомних цистеїнових катепсинів у молекулярних механізмах канцерогенезу [3]. Вважають, що рівні активності цистеїнових катепсинів у різних тканинах, органах та біологічних рідинах можна використовувати як незалежні прогностичні та діагностичні показники перебігу хвороби [4]. Спостереження за зміною активності тканинних лізосомних цистеїнових катепсинів у крові уможлиблює визначення ступеня катаболізму білків та з'ясування ролі протеолізу у розвитку та перебігу пухлинного процесу [5].

Метою даної роботи стало визначення змін рівнів активності однієї з найпотужніших та найпоширеніших тканинних лізосомних ендопептидаз — цистеїнового катепсину L (КФ 3.4.22.15) та тиреоїдних гормонів у плазмі крові хворих на папілярну карциному ЩЗ та з'ясування ролі лізосомних цистеїнових катепсинів як у розвитку онкологічного захворювання ЩЗ, так і в адаптивних перебудовах білкового метаболізму у відповідь на проведені терапевтичні заходи.

Об'єктом дослідження була плазма крові хворих (віком 35–70 років) зі злоякісними пухлинами ЩЗ (папілярний рак I та II стадії, T2N0M0). Матеріал для дослідження отримували до операції, через тиждень після операції, до радіоiodотерапії (РІТ) та через тиждень після неї у відділенні ендокринної хірургії Обласної клінічної лікарні ім. І.І. Мечнікова Дніпропетровська; там же пухлини типували за гістоструктурою, гістогенезом та ступенем злоякісності, а також проводили дослідження з визначення рівня тиреоїдних гормонів у плазмі крові хворих.

Контрольну групу склали донори ( $n = 30$ ), в плазмі крові яких визначали величини показників рівнів активності катепсинів.

Активність катепсину L у дослідних пробах встановлювали відносно азоказеїну (1%), денатурованого сечовиною (3,0 М) в 1,0 мл інкубаційної суміші з 15 хв преінкубацією ферменту в присутності 2 мМ 2-меркаптоетанолу і 1 мМ  $Na_2EDTO$ , і виражали в умовних одиницях згідно з інтенсивністю абсорбції при довжині хвилі 366 нм на 1 мг білка за 1 хв [6]. Вміст загальної кількості білка визначали за методом Бредфорд [7]. Статистично результати опрацьовували з використанням комп'ютерної програми Excel згідно з t-критерієм Стьюдента.

Встановлено підвищену на всіх етапах дослідження (рис. 1) активність лізосомного цистеїнового катепсину L у плазмі крові хворих на папілярну карциному ЩЗ. Зокрема, на момент встановлення діагнозу активність досліджуваного ферменту у 5 разів перевищувала величину контрольного показника. Визначене зростання рівня активності тканинного лізосом-

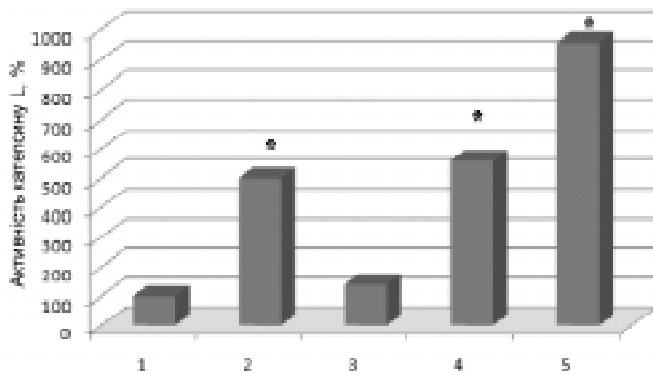


Рис.1. Активність лізосомного цистеїнового катепсину L у плазмі крові хворих на папілярну карциному ЩЗ ( $M \pm m$ ,  $n = 21$ ): 1 — контроль; 2 — до операції; 3 — після операції; 4 — до радіоїодотерапії; 5 — після радіоїодотерапії

\*  $p < 0,05$  відносно значення контрольного показника

ного цистеїнового катепсину L у плазмі крові хворих свідчить про наявність цитолітичних процесів у злоякісних клітинах, які можуть бути зумовлені як порушенням проникності мембран субклітинних структур, так і лабілізацією плазматичної мембрани. Крім того, за даними літератури, зміни активності цистеїнових катепсинів спричиняють порушення механізмів активації та регуляції функціонування даних протеолітичних ферментів та зміни їх синтезу й експресії, які мають місце за канцерогенезу. За результатами Shuja et al. у клітинах пухлинних тканин хворих на карциному ЩЗ збільшується як концентрація, так і рівень активності ще однієї протеолітичної протеїнази — катепсину В [8].

Після проведення операції видалення пухлини, рівень активності катепсину L у плазмі крові хворих зменшувався у 3,5 разу порівняно з попереднім значенням показника, що може свідчити про відновлен-



Рис. 2. Схематичне зображення послідовностей протеолітичних подій за участю лізосомних цистеїнових катепсинів, які призводять до деградації ТГ в епітеліальних клітинах ЩЗ, запропоноване Fredrichs et al. [12]

ня регуляторних механізмів клітин крові щодо протеолітичної активності ферментів. Перед проведенням РИТ показано, що рівень активності катепсину L на 11% перевищував величину даного показника напередодні тироїдектомії, а через тиждень після курсу РИТ був у 9,5 разу вищим, ніж у контролі. Отримане збільшення активності досліджуваного ферменту вказує на ймовірне посилення деструктивних процесів у клітинах тканин організму та посилення цитолітичного ефекту внаслідок дії радіоактивного йоду. Крім того, підсилення протеолізу в тканинах у процесі променевого ушкодження пояснюється ще й зміною проникності мембран [9], гальмуванням дії деяких інгібіторів, збільшенням активності лізосомних катепсинів та іншими факторами [9, 10].

З даних літератури відомо, що катепсин L є однією з найактивніших цистеїнових протеїназ та становить більшу частину лізосомної цистеїнової протеолітич-

Таблиця 1  
Вміст тироїдних гормонів у плазмі крові хворих на папілярну карциному (I стадія) ЩЗ,  $M \pm t$

Гормон ЩЗ, %	Контроль, $n = 30$	Злоякісне захворювання ЩЗ, $n = 10$			
		до операції	після операції	до радіоїодотерапії	після радіоїодотерапії
Тироксин	$11,64 \pm 0,45$	$15,75 \pm 0,94^*$	$8,48 \pm 0,50^*$	$2,07 \pm 0,16$	$2,74 \pm 0,32^*$
Трийодтиронін	$1,31 \pm 0,06$	$2,69 \pm 0,89$	$1,26 \pm 0,15^*$	$1,04 \pm 0,25$	$1,92 \pm 0,73$
Тиротропний гормон	$2,10 \pm 0,20$	$2,49 \pm 0,96$	$30,27 \pm 8,64$	$103,59 \pm 2,10^*$	$107,40 \pm 1,09^*$

Примітка. \* —  $p < 0,05$  по відношенню до контрольних значень показників.

Таблиця 2  
Вміст тироїдних гормонів у плазмі крові хворих на папілярну карциному (II стадія) ЩЗ,  $M \pm t$

Гормон ЩЗ, %	Контроль, $n = 30$	Злоякісне захворювання ЩЗ, $n = 10$			
		до операції	після операції	до радіоїодотерапії	після радіоїодотерапії
Тироксин	$11,64 \pm 0,45$	$10,65 \pm 0,88^*$	$9,12 \pm 1,58$	$1,83 \pm 0,26^*$	$3,15 \pm 0,73$
Трийодтиронін	$1,31 \pm 0,06$	$2,10 \pm 0,52$	$0,64 \pm 0,16$	$1,63 \pm 0,34$	$1,24 \pm 0,46$
Тиротропний гормон	$2,10 \pm 0,20$	$4,76 \pm 2,45$	$9,15 \pm 5,90$	$51,55 \pm 16,06$	$64,00 \pm 19,00$

Примітка. \* —  $p < 0,05$  по відношенню до контрольних значень показників.

ної активності [11]. Згідно зі схемою каскаду протеолітичних подій деградації тироглобуліну (рис. 2), катепсин L залучений до всіх етапів процесінгу гормонів [12]. Можливо, що підвищення активності цього ферменту, внаслідок порушень регуляторних механізмів, стає однією з причин зростання вмісту ТТГ та характеризує зміни в характері гормоноутворення ЦЗ при злоякісній формі її захворювання.

За нашими даними, вміст ТТГ у плазмі крові хворих є підвищеним на кожному етапі спостереження з вираженою тенденцією до зростання (табл. 1, 2).

Показано, що найвищого рівня вміст ТТГ досягає через тиждень після проведення РИТ та у 51 та 32 рази, відповідно, перевищує контрольні значення показників при папілярній карциномі ЦЗ I та II стадії тяжкості. Вміст інших гормонів ЦЗ — тироксину та трийодтироніну — мав різноспрямований характер на визначених етапах дослідження (див. табл. 1, 2).

Відомо, що активація лізосомного цистеїнового катепсину при пухлинній трансформації доцільна і спрямована на адаптивну перебудову метаболізму і ультраструктур клітини, і тільки надмірна лабілізація мембран лізосом може спричинити вихід у цитозоль катепсину L, який далі потрапляє у зовнішнє середовище та кров. Ймовірно, що виявлені зміни протеолітичної активності досліджуваного ферменту можуть бути однією з причин порушення механізму транспорту та обмеженого протеолізу прогормону тироглобуліну. Високий рівень активності катепсину L у клітинах злоякісних пухлин ЦЗ може бути наслідком зміни фізико-хімічних властивостей цистеїнових пептидгідролаз у злоякісних клітинах ЦЗ. На користь цього свідчать результати проведених нами досліджень фізико-хімічних властивостей цистеїнових катепсинів, виділених та очищених з папілярної карциноми ЦЗ, що вказує на можливість алостеричної регуляції даної пептидгідролази за канцерогенезу ЦЗ [13].

Таким чином, визначені зміни активності лізосомного цистеїнового катепсину L свідчать про порушення системи протеолізу, проникності мембран лізосом тироцитів за пухлинної трансформації ЦЗ. На основі порівняльних досліджень рівня активності даного ферменту, визначеного в плазмі крові хворих із пухлинами ЦЗ, та вмістом тироїдних гормонів встановлено, що зростання концентрації ТТГ може бути асоційованим з підвищеною активністю катепсину L, безпосередньо залученого до деградації тироглобуліну — основного білка ЦЗ. Встановлені зміни активності лізосомного цистеїнового катепсину L у плазмі крові хворих на папілярну карциному ЦЗ можуть об'єктивно характеризувати реакцію організму на розвиток та інвазію пухлини, відбивати порушення протеолізу при пухлинній трансформації клітин ЦЗ.

### Література

1. Романчишен А.Ф., Романчишен Ф.А., Капатовский И.В. // *Современные аспекты хирургического лечения эндокринной патологии.* — К., 2006. — С. 14–16.
2. Румянцев П.О., Ильин А.А., Румянцева У.В. и др. // *Диагностика и лечение узлового зоба.* — М., 2004. — С. 49–60.

3. Mohamed M.M., Sloane B.F. // *Nature.* — 2006. — Vol. 6. — С. 764–775.
4. Berdowska I. // *Clinica Chimica Acta.* — 2004. — Vol. 342. — P. 41–69.
5. Kos J., Lah T. // *Oncol. Rep.* — 1998. — Vol. 5. — P. 1349–1361.
6. Чорна В.І. *Цистеїнові катепсини в умовах променевого ураження та злоякісного росту: Дис. ... д-ра біол. наук: 03.00.01.* — К.: 2001. — 298 с.
7. Bradford M. // *Anal. Biochem.* — 1976. — Vol. 72. — P. 248–254.
8. Shuja S., Cai J., Iacobuzio-Donahue C. et al. // *Thyroid.* — 1999. — Vol. 9. — P. 569–577.
9. Кучеренко М.Є., Мірутенко В.І. *Основи молекулярної радіобіології.* — К.: Вища школа, 1977. — 272 с.
10. Барабой В.А. *Чернобыль: через 10 лет. Медицинские последствия радиационных катастроф / Под ред. Д.М. Гродзинского* — К.: Чернобыльинтернформ, 1996. — 187 с.
11. Dickinson D.P. // *Crit. Rev. Oral Biol. Med.* — 2002. — Vol. 13, № 3. — P. 238–275.
12. Friedrichs B., Tepel C., Reinheckel T. et al. // *J. Clin. Invest.* — 2003. — Vol. 111, № 11. — P. 1733–1745.
13. Лянна О.Л., Чорна В.І., Хворостенко М.І. // *УРЖ.* — 2009. — Т. XVII, вип. 3. — С. 308–311.

Н.В. Чернова, І.В. Дац, Ю.О. Мицик,  
І.С. Шатинська-Мицик, В.С. Періг,  
А.П. Румянцева

Львівський національний медичний  
університет імені Данила Галицького

### Променеві методи діагностики остеопорозу в жінок з гіпотирозом у постменопаузі

### Radiation methods of osteoporosis diagnosis in women with hypothyroidism in postmenopause

**Summary.** The study determined that postmenopause hypothyroidism, decompensated hypothyroidism, the history of thyroidectomy promoted development of early and pronounced postmenopausal osteoporosis.

Osteocalcin, one of the most important neocollagen proteins in the bone matrix, is an objective biochemical marker of the bone loss at primary hypothyroidism in postmenopause and informs 3-5 months earlier than densitometry about bone metabolism disorders.

**Key words:** osteoporosis, radiation diagnosis, hypothyroidism, postmenopause women.

**Резюме.** В исследовании определено, что постменопаузальная гипотирозия, декомпенсированный гипотиреоз, наличие тиреоидэктомии в анамнезе способствуют развитию раннего и выраженного постменопаузального остеопороза.

Остеокальцин, один из наиболее важных неколагеновых протеинов в костном матриксе, является объективным биохимическим маркером костных потерь при первичном гипотиреозе в постменопаузе и раньше на 3–6 мес., чем денситометрия, информирует о нарушении костного метаболизма.

**Ключевые слова:** остеопороз, лучевые методы диагностики, гипотиреоз, женщины в постменопаузе.

**Ключові слова:** остеопороз, променеві методи діагностики, гіпотироз, жінки в постменопаузі.

За даними експертів ВООЗ, остеопороз посідає четверте місце в світі після серцево-судинних, онкологічних захворювань та цукрового діабету [1].

Серед чинників, які впливають на метаболізм кісткової тканини, важливу роль відіграють тироїдні гормони. Порушення функції щитоподібної залози може призво-