

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

Катепсиноподібна активність у плазмі крові хворих з папілярною карциномною щитоподібної залози

При вивченні катепсиноподібної активності у плазмі крові хворих з папілярною карциномною щитоподібної залози були зафіксовані особливості її змін залежно від клінічних характеристик захворювання та гістологічної будови пухлини. Для Н-катепсиноподібної активності зі зростанням категорії Т пухлини спостерігали прогресуюче її підвищення, особливо у хворих з супровідною доброякісною тиреоїдною патологією. При пухлині, що метастазує, яку не супроводжує інша тиреоїдна патологія, підвищення ферментативної активності було значно більшим, ніж у крові хворих без метастазів. В-катепсиноподібна активність у плазмі крові хворих, в щитоподібній залозі яких виявлена лише карцинома, була на рівні такої у здорових осіб. У разі супроводу карциноми вузловим зобом чи аденомою В-катепсиноподібна активність підвищувалась, особливо істотно при пухлині категорії T₁. У крові хворих з карциномною, яка була діагностована на тлі іншої тиреоїдної патології, невелике підвищення L-катепсиноподібної активності жодним чином не залежало від клінічних особливостей хвороби, тоді як у разі однієї карциноми ферментативна активність залежала від категорії Т пухлини, її гістологічної будови, наявності чи відсутності оксифільноклітинної метоплазії. В роботі не отримано результатів, які б дали змогу пов'язати зміни катепсиноподібної активності у крові з процесами інтра- чи екстратиреоїдного розповсюдження пухлини, а також інвазії у лімфатичні чи кровоносні судини. Результати проведених досліджень не дають підстав вважати, що визначення катепсиноподібної активності у крові пацієнтів з папілярною карциномною щитоподібної залози може бути надійним додатковим біохімічним критерієм для диференціальної діагностики, оцінки ступеня тяжкості та інших характеристик захворювання.

Ключові слова: цистеїнові катепсини В, Н, L, папілярна карцинома, супровідна доброякісна патологія щитоподібної залози, кров.

ВСТУП

Активація лізосомального шляху регуляції метаболізму в клітинах є суттєвою для окремих ланок патогенезу багатьох захворювань, у т. ч. онкологічних, за умов яких може порушуватись експресія, внутрішньоклітинна локалізація, механізми регуляції активності та секреції ферментів, що локалізуються у лізосомах [2, 5, 22]. Індукція змін у регуляції процесів утилізації білків відбувається ще до початку автономного росту пухлини, а підсилення при трансформації клітин продукції та секреції лізосомальних протеаз, зокрема цистеїнових

катепсинів [4], тісно пов'язана з реорганізацією метаболічних циклів, що спрямовано на забезпечення максимальної активації пластичного метаболізму [18]. Вважають, що навіть у відсутності видимих ознак пухлини підвищення вмісту активних форм цистеїнових катепсинів у плазмі крові може свідчити про значне якісне порушення катаболізму білків [6]. Зміна регуляції функції цих ферментів забезпечує феномен надходження їх у кров.

Водночас є дані, які свідчать про неоднакові за ступенем і напрямком зміни активності таких лізосомальних цистеїнових катепсинів, як В, Н та L у крові пацієнтів

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

із пухлинами різної локалізації, гістологічного типу та стадії пухлинної прогресії. Слід відмітити різні висновки авторів щодо клінічної цінності визначення активності катепсинів у крові хворих з онкологічними захворюваннями. Зміни активності катепсинів, за деякими даними, є додатковою біохімічною інформацією, яку можна використати для уточнення діагнозу [19, 27, 28], вони можуть говорити про реакцію організму на пухлинну інвазію і визначати ступінь тяжкості та напрямок перебігу патологічного процесу [13, 34], дати змогу оцінити відповідь на обрану хіміотерапію [25] чи, навіть передбачити прогноз захворювання [25, 30, 34, 35]. Дехто наголошує, що зниження активності катепсинів характеризує тяжкість онкологічного процесу та метастатичний потенціал пухлини [17]. Отже, питання про значення та доцільність дослідження активності цих ферментів у крові хворих з пухлинами (різної локалізації) залишається до кінця не визначеним.

Щодо дослідження активності катепсинів В, Н і L у крові хворих з карциномами щитоподібної залози (ЩЗ), то такі праці поодинокі [10, 13, 19]. Показано, що активність катепсинів Н і В не змінювалася, тоді як катепсину L була значно підвищеною в крові хворих з карциномами ЩЗ; після оперативного втручання активність останнього ферменту різко зменшувалася до рівня, що був суттєво нижчим, ніж у здорових осіб.

Метою нашої роботи було визначення активності катепсинів В, Н і L у плазмі крові хворих з папілярною карциномою щитоподібної залози (ПКЩЗ). Зважаючи на те, що властивості цистеїнових катепсинів, що знаходяться у крові, неможливо порівняти з властивостями очищених катепсинів з тканин, коректніше говорити про Н-, В- та L-катепсиноподібну активність (Н-КПА, В-КПА та L-КПА).

МЕТОДИКА

На проведення досліджень отримано дозвіл від Комітету з біоетики Інституту. Хворі,

які перебували на лікуванні у хірургічному відділенні Інституту, були поінформовані щодо мети дослідження та дали згоду на використання їх крові.

Плазму крові отримали від 63 хворих з ПКЩЗ (вік пацієнтів $41,7 \pm 1,9$ років, 54 жінки та 9 чоловіків), 7 пацієнтів з метастазами ПКЩЗ, яка була видалена у них раніше ($46,0 \pm 6,1$ років, 5 жінок і 1 чоловік) та 12 практично здорових добровольців ($44,8 \pm 3,0$ років, 9 жінок і 3 чоловіки). Кров відбирали з ліктьової вени пацієнтів натщесерце у пробірці, що містила насичений розчин ЕДТА; плазму крові отримували загальноприйнятим способом і зберігали до використання у низькотемпературній шафі при $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$.

В-, Н- та L-КПА визначали як описано в роботі Barret і Kirschke [21], відносно субстратів, відповідно: N_{α} -бензоіл-D,L-аргінін-4-нітроанлід, L-лейцин-4-нітроанлід та азоказеїн (6%-й розчин якого попередньо був денатурований 6 М сечовиною). В- та Н-КПА виражали у мікромолях паранітроанліну (ПНА), який відщепився від субстрату, а L-КПА – в умовних одиницях абсорбції низькомолекулярних пептидів (які не осаджуються трихлороцтовою кислотою), що утворилися за 1 год інкубації, на 1 мл плазми крові.

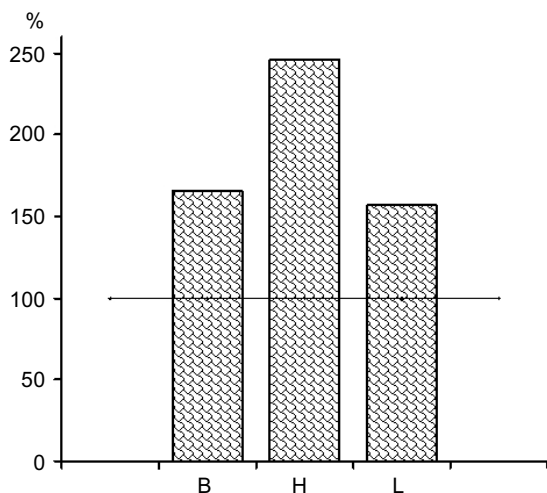
Одержані результати опрацьовані статистично з використанням критерію t Стьюдента і непараметричного критерію U Вілкоксона–Манна–Уїтні та подані в таблицях у вигляді $M \pm m$. Критичний рівень значимості приймали за 0,05.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ

КПА у плазмі крові здорових осіб не залежала від їх статі (що відмічено і раніше [14]), тому хворих не поділяли за цією характеристикою. Встановлено підвищення ферментативної активності у плазмі крові хворих з ПКЩЗ, найбільше це було виражено для Н-КПА (рисунок). Показано, що існує певна різниця у ступені підвищення КПА залежно від категорії пухлини: В-КПА

була збільшеною лише у хворих з пухлиною категорії T_1 і T_2 , Н-КПА істотніше підвищувалася у хворих з пухлиною категорії T_4 , L-КПА у плазмі крові хворих з пухлиною категорії T_4 була на рівні здорових осіб, а значніше та більш закономірно вона підвищувалася лише у хворих з пухлиною категорії T_1 (табл. 1). Не відмічено суттєвої різниці у підвищенні КПА у плазмі крові хворих з ПКЩЗ при відсутності чи наявності метастазів у регіонарні лімфовузли (пухлини категорії N_0 і N_1). В-КПА була найвищою у плазмі крові хворих з ПКЩЗ типової папілярної будови, за пухлин інших підтипів зміни ферментативної активності несуттєві. Встановлено також, що найменше підвищення Н- та L-КПА спостерігали у разі фолікулярної будови ПКЩЗ (див. табл. 1). У плазмі крові пацієнтів з метастазами ПКЩЗ, видаленої раніше, В- та L-КПА зареєстрована на рівні такої у здорових осіб, а підвищення Н-КПА було виражено меншою мірою, ніж у хворих з ПКЩЗ.

Відомо, що у двох третин хворих на рак ЩЗ неопластичний процес супроводжується доброякісною тиреоїдною патологією, переважно колоїдним вузловим зобом, тиреоїдитом чи аутоімунним тиреоїдитом



Зміни В-, Н- та L-катепсиноподібної активності у плазмі крові хворих з папілярною карциномою (відсоток порівняно з активністю в плазмі крові здорових осіб)

[1, 15]. Відсоток таких хворих у цьому дослідженні становив 63. Раніше ми показали, що зміни КПА у плазмі крові хворих із різними тиреоїдними захворюваннями мають певні особливості [8], і це може маскувати зміни ферментативної активності у крові хворих з ПКЩЗ при наявності супровідних захворювань ЩЗ. Приймаючи зазначене до уваги, було проведено порівняння КПА у плазмі крові хворих з ПКЩЗ без (група 1) та з супровідною доброякісною тиреоїдною патологією (яку діагностували при патогістологічному дослідженні видаленої ЩЗ, група 2). Показано, що підвищення В-КПА у плазмі крові було лише у хворих 2-ї групи, L-КПА – закономірно лише у хворих 1-ї, для Н-КПА різниця між групами була відсутньою (див. табл. 1). При цьому В-КПА виявилася збільшеною у плазмі крові хворих при супровідній вузловій патології чи хронічному тиреоїдиті, тоді як у разі хронічного аутоімунного тиреоїдиту чи хвороби Грейвса ферментативна активність була на рівні здорових осіб. Збільшену Н-КПА спостерігали в усіх хворих з ПКЩЗ 2-ї групи за винятком пацієнтів із хворобою Грейвса. L-КПА була підвищеною у хворих з ПКЩЗ при супровідній вузловій патології, це збільшення менш виражено у хворих з хронічним тиреоїдитом, а у хворих із хворобою Грейвса активність була нижчою, ніж у плазмі крові добровольців (див. табл. 1).

Зважаючи на ці результати, аналіз виявлених змін КПА залежно від деяких гістологічних чи клінічних особливостей захворювання був проведений окремо по групах хворих. Як видно з результатів табл. 2, Н-КПА у плазмі крові пацієнтів зі зростанням категорії Т пухлини мала тенденцію до більш суттєвого підвищення, при цьому різниця між Н-КПА у хворих 2-ї групи з пухлиною категорії T_4 вірогідно вища за таку у хворих з пухлиною категорії T_1 . Крім того, у плазмі крові пацієнтів 1-ї групи з ПКЩЗ (без супровідної тиреоїдної

патології) при наявності пухлини, що метастазує, Н-КПА у 2,4 раза вища, ніж хворих без метастазів у лімфовузли (див. табл. 2). Збільшення Н-КПА у пацієнтів обох груп суттєво не залежало від особливостей гістологічної будови пухлини (див. табл. 2), об'єму залози, наявності чи відсутності капсули пухлини, оксифільноклітинної метаплазії, інвазії у кровоносні чи лімфатичні судини, інтра- чи екстра-тироїдного розповсюдження, склеротичних і/чи дистрофічних змін її строми (не показано).

В-КПА у плазмі крові хворих з ПКЩЗ 1-ї групи не залежала від категорії пухлини

(табл. 3), проте виявлена суттєва (1,7 раза) різниця у значенні ферментативної активності залежно від об'єму залози, хоча в обох групах (при незміненому чи збільшеному об'ємі залози) вона статистично значуще не відрізнялася від активності у здорових осіб: $28,8 \pm 5,30$ та $(16,3 \pm 2,63)$ мкмоль ПНА $\text{год}^{-1} \cdot \text{мл}^{-1}$ відповідно ($P < 0,05$). Крім того, у разі ПКЩЗ фолікулярної будови В-КПА у крові трьох хворих була майже втричі нижчою, ніж у пацієнтів з пухлиною типової папілярної будови. Ферментативна активність у плазмі крові хворих з ПКЩЗ 2-ї групи була найвищою за наявності пухлини типової папілярної

Таблиця 1. В-, Н- та L-катепсиноподібна активність у плазмі крові здорових осіб і хворих із папілярною карциною щитоподібної залози

Групи обстежених	Катепсиноподібна активність					
	В-, мкмоль паранітроаніліну · $\text{год}^{-1} \cdot \text{мл}^{-1}$		Н-, мкмоль паранітроаніліну · $\text{год}^{-1} \cdot \text{мл}^{-1}$		L-, ум. од. абсорбції · $\text{год}^{-1} \cdot \text{мл}^{-1}$	
	n	M±m	n	M±m	n	M±m
Практично здорові особи	11	18,4±2,82	10	29,0±5,49	12	0,71±0,129
Хворі з папілярною карциною: з пухлиною категорії:	54	30,4±3,55 *	59	70,6±4,42 *	53	1,13±0,094 *
T ₁	24	33,8±6,38 *	28	64,6±6,79 *	27	1,27±0,140 *
T ₂	13	39,3±6,93 *	12	65,7±4,68 *	9	0,96±0,177
T ₃	10	18,4±3,66 а, б	12	76,8±10,9 *	10	1,18±0,226
T ₄	7	20,4±4,20 б	7	95,0±12,1*б	7	0,69±0,185 а
N ₀	43	31,1±4,22 *	49	67,4±4,25 *	42	1,13±0,110 *
N ₁	11	27,4±5,14	10	88,5±16,3 *	11	1,13±0,214 *
з пухлиною будови:						
типової папілярної	19	41,7±7,08 *	19	80,8±8,48 *	18	1,25±0,279 *
фолікулярної	9	23,2±5,62 г	11	55,3±7,66 *г	10	0,89±0,241
фолікулярно-папілярної	10	23,2±3,05 г	11	71,3±9,48 *	10	1,26±0,230 *
змішаної з солідним компонентом	16	25,6±4,21 г	18	68,8±8,37 *	15	1,07±0,191
без супровідної тиреоїдної патології (група 1)	20	22,0±3,06	22	70,6±8,45 *	21	1,33±0,157 *
при супровідній тиреоїдній патології (група 2):	34	35,4±5,20 *в	37	70,6±5,05 *	32	1,00±0,114
вузлова патологія	14	43,8±10,5 *	16	75,4±6,17 *	14	1,22±0,126 *
хронічний тиреоїдит	11	35,6±7,91 *	12	68,2±9,34 *	9	1,11±0,209
хронічний аутоімунний тиреоїдит	6	24,7±3,80	6	78,7±17,7 *	6	0,64±0,036
дифузний токсичний зоб (хвороба Грейвса)	3	16,3±4,62	3	38,7±3,52	3	0,32±0,094 *
хворі з метастазами видаленої карциноми	6	20,7±5,37	7	50,3±5,84 *д	7	0,80±0,175

Примітки. Тут і в табл. 2-4 різниця вірогідна ($P < 0,05$): * – порівняно з ферментативною активністю у плазмі крові здорових осіб; а – хворих з пухлиною категорії T₁; б – хворих з пухлиною категорії T₂; в – хворих попередньої групи; г – хворих з папілярною карциною типової папілярної будови; д – хворих з папілярною карциною.

Таблиця 2. Н-катепсиноподібна активність у плазмі крові хворих з різними за характеристиками папілярними карциномами щитоподібної залози

Групи обстежених	Без супровідної тиреоїдної патології (група 1)		При супровідній тиреоїдній патології (група 2)	
	n	M±m	n	M±m
Практично здорові особи	10	29,0±5,49		
Хворі з папілярною карциноюю: з пухлиною категорії:	22	70,6±8,45 *	37	70,6±5,05 *
T ₁	11	62,7±10,4 *	17	66,2±8,66 *
T ₂	3	64,0±22,0	9	65,6±5,15 *
T ₃	5	70,0±16,3 *	7	75,4±14,5 *
T ₄	3	101,0±32,0 *	4	92,0±5,19 * а
N ₀	19	63,3±6,86 *	30	70,7±5,42 *
N ₁	3	153,3±5,25 * в	7	70,0±14,1 *
з пухлиною будови:				
типової папілярної	6	78,8±19,0 *	13	81,7±9,36 *
фолікулярної	3	50,0±7,21 *	8	57,3±10,3 *
фолікулярно-папілярної	6	72,3±16,6 *	5	70,0±8,94 *
змішаної з солідним компонентом	7	70,9±16,7 *	11	67,5±9,35 *

будови, тоді як з фолікулярною, фолікулярно-папілярною чи змішаною будовою з солідними ділянками вона закономірно не відрізнялася від значень, характерних для здорових людей (див. табл. 3).

Слід також зауважити, що особливо значна різниця В-КПА в плазмі крові

хворих залежно від категорії Т пухлини виявлялася у пацієнтів з ПКЩЗ і супровідними доброякісними вузлами: 74,8±22,6, 40,2±15,2, (22,7±6,81) мкмоль ПНА · год⁻¹ · мл⁻¹ відповідно при пухлинах категорії Т₁, Т₂ і Т₃₋₄ чи хронічним тиреоїдитом: 61,0±21,0, 42,0±8,88, (14,8±3,73) мкмоль

Таблиця 3. В-катепсиноподібна активність у плазмі крові хворих з різними за характеристиками папілярними карциномами щитоподібної залози

Групи обстежених	Без супровідної тиреоїдної патології (група 1)		При супровідній тиреоїдній патології (група 2)	
	n	M±m	n	M±m
Практично здорові особи	11	18,4±2,82		
Хворі з папілярною карциноюю: з пухлиною категорії:	20	22,0±3,06	34	35,4±5,20 *
T ₁	10	22,7±5,10	14	43,1±9,11 *
T ₂	3	22,8±1,20	10	41,7±7,90 *
T ₃	4	21,0±5,66	6	19,2±4,19 а б
T ₄	3	19,2±2,40	4	21,0±5,05 а б
N ₀	17	20,5±2,22	26	38,4±6,66 *
N ₁	3	35,2±28,8	8	25,5±3,18
з пухлиною будови:				
типової папілярної	6	27,4±7,09	13	48,3±9,29 *
фолікулярної	3	9,40±3,40 г	7	27,1±7,81
фолікулярно-папілярної	5	20,2±4,22	5	26,2±4,41 г
змішаної з солідним компонентом	6	22,2±3,85	9	28,2±7,15

ПНА . год⁻¹ . мл⁻¹. Такої залежності не відмічено у хворих, у яких ПКЩЗ супроводжували хронічний аутоімунний тиреоїдит чи хвороба Грейвса. У хворих 1-ї групи В-КПА, а 2-ї – ступінь її підвищення не залежали від таких характеристик пухлин, як відсутність чи наявність капсули, оксифільноклітинної метаплазії, інвазії у кровоносні чи лімфатичні судини, інтра- чи екстратиреоїдного розповсюдження, склеротичних і/чи дистрофічних змін строми.

Підвищення L-КПА у плазмі крові хворих з ПКЩЗ 1-ї групи також залежало від категорії Т пухлини, але зі збільшення категорії зміни ферментативної активності нівелювалися (табл. 4). L-КПА залишалася незміненою щодо значень у здорових при ПКЩЗ змішаної будови з наявністю солідних ділянок, а також, якщо у тканині пухлини спостерігали оксифільноклітинну метаплазію або склеротичні та/чи дистрофічні зміни строми. Ступінь збільшення ферментативної активності не залежав від

об'єму залози, наявності чи відсутності капсули пухлини, її метастазів у лімфатичні вузли, інвазії у кровоносні чи лімфатичні судини, а також інтра- чи екстратиреоїдного розповсюдження карциноми. У плазмі крові пацієнтів з ПКЩЗ 2-ї групи невелике підвищення L-КПА не залежало від жодної з зазначених характеристик патологічного процесу, за винятком того, що спостерігали двократну різницю між ферментативною активністю у крові при пухлинах фолікулярної будови та пухлинах інших гістологічних підтипів, зокрема типової папілярної будови (див. табл. 4).

ОБГОВОРЕННЯ

У нормі цистеїнові лізосомальні катепсини при рН > 7 швидко інактивуються, тому ресстрація суттєвої активності цих ферментів у крові, де наявні їх ендogenous інгібітори, можлива лише за інтенсивного виходу ферментів з тканин при виражених гострих

Таблиця 4. L-катепсиноподібна активність у плазмі крові хворих з різними за характеристиками папілярними карциномами щитоподібної залози

Групи обстежених	Без супровідної тиреоїдної патології (група 1)		При супровідній тиреоїдній патології (група 2)	
	n	M±m	n	M±m
Практично здорові особи	12	0,71±0,129		
Хворі з папілярною карциномою: з пухлиною категорії:	21	1,33±0,157*	32	1,00±0,114
T ₁	13	1,58±0,156 *	14	0,98±0,204
T ₂	-	-	9	0,95±0,176
T ₃	5	1,10±0,353	5	1,28±0,302
T ₄	3	0,43±0,144 а	4	0,82±0,256
N ₀	18	1,27±0,160 *	24	1,02±0,140
N ₁	3	1,94±0,350 *	8	0,93±0,200
з пухлиною будови:				
типової папілярної	6	1,46±0,171 *	12	1,14±0,188
фолікулярної	3	1,78±0,246 *	7	0,50±0,186 г
фолікулярно-папілярної	5	1,54±0,351 *	5	0,97±0,215
змішаної з солідним компонентом	7	0,89±0,188 г	8	1,23±0,251
без оксифільноклітинних змін	17	1,50±0,164 *	28	1,00±0,128
з оксифільноклітинними змінами	4	0,63±0,220 в	4	1,00±0,211
без склеротичних змін	6	1,90±0,162 *	14	1,01±0,196
зі склеротичними змінами	15	1,11±0,181 в	17	0,99±0,144

запальних, некротичних чи деструктивних процесах [20]. Крім того, встановлена важлива особливість пухлинних клітин, яка стосується продукування ними цистеїнових лізосомальних пептидгідролаз зі зміненими властивостями молекули, зокрема, вони є стабільними при нейтральних і слаболужних значеннях рН [29, 31, 32]. Стабільні форми катепсинів, що зв'язалися з інгібіторами, зберігають активність відносно субстратів з невеликою масою, що дає змогу реєструвати їх активність у плазмі крові ферментативними методами. Наші результати щодо підвищення КПА у плазмі крові пацієнтів з ПКЩЗ збігається з більшістю даних, які представлені у літературі [6, 16, 25, 28]. Водночас існують свідчення і про зменшення або відсутність змін активності цистеїнових катепсинів у крові пацієнтів із онкологічними захворюваннями [17, 26].

Слід відмітити істотніше підвищення Н-КПА у плазмі крові хворих з ПКЩЗ, що майже не залежало від клінічних, гістологічних і біологічних характеристик пухлин. Ферментативна активність підвищувалася і у хворих з карциномою, яку не супроводжувала інша тиреоїдна патологія, і у хворих, яким діагностували також у ЩЗ хронічний чи хронічний аутоімунний тиреоїдит, вузловий колоїдний чи аденоматозний зоб, аденому, і лише у разі, коли карциному було виявлено у пацієнтів із хворобою Грейвса, підвищення ферментативної активності було незначним. Зважаючи на це, можна погодитися з думкою, що зміни Н-КПА у крові є неспецифічним маркером особливого стану організму, який пов'язаний з реорганізацією метаболічних циклів за наявності пухлин [6].

Зі збільшення розмірів пухлини та їх агресивності Н-КПА ще більше підвищувалася, і у хворих з пухлиною категорії T₄ вона більш ніж у 3 рази перевищувала значення, характерні для здорових. Проте збільшення цього показника у 5,3 раза спос-

терігали за наявності метастазів пухлини у лімфовузлах лише у хворих з ПКЩЗ без іншої тиреоїдної патології, воно було також вищим при наявності метастазів у раніше прооперованих пацієнтів. Отже, спостерігається певний зв'язок інтенсивності секреції катепсину Н у кров із процесами прогресії пухлинного росту у ЩЗ і метастазуванням карциноми. Літературні дані щодо пухлин іншої локалізації такий зв'язок заперечують [25]: підвищення активності катепсину Н у крові хворих з меланомою не корелював з розміром пухлини чи метастазуванням. Подібний висновок щодо розмірів пухлини був зроблений і при вивченні ферментативної активності у крові пацієнтів з плоскоклітинними карциномами в ділянці голови, водночас у прооперованих пацієнтів при наявності метастазів активність катепсину Н залишалася підвищеною [6, 16].

З іншого боку, є дані, що активність катепсину Н корелює з гістологічним типом пухлин. Це спостерігали при наявності меланому [25], пухлин легень [33], а у плазмі крові хворих з плоскоклітинними карциномами в ділянці голови активність була обернено пропорційна ступеню диференціювання пухлин [35]. У наших дослідженнях Н-КПА підвищувалася у крові хворих з ПКЩЗ різної гістологічної будови.

В-КПА у плазмі крові хворих, у ЩЗ яких виявлена лише карцинома, була на рівні такої у крові здорових осіб (що відповідає результатам інших авторів [13]) і не залежала від клінічних характеристик захворювання. Щодо пухлин іншої локалізації, то активність катепсину В у крові не мала зв'язку з клінічними характеристиками карцином підшлункової залози [27], злоякісних пухлин голови чи шиї [35], проте такий зв'язок встановлено у разі колоректальної карциноми [24], карцином печінки [28] та матки [23].

У разі наявності в ЩЗ карциноми одночасно з вузловим зобом чи фоліку-

лярною аденомою В-КПА у плазмі крові підвищувалася особливо суттєво (у 4 рази) при пухлині категорії T₁. Раніше ми показали, що у хворих з вузловим еутиреоїдним зобом чи з фолікулярною аденомою цей показник у крові збільшувався, причому саме у хворих з найменшим перевищенням об'єму залози понад вікову норму [8, 9]. Отже, обтяженість онкологічного процесу наявністю у ЩЗ іншої вузлової патології спотворює ті реальні зміни В-КПА, які можуть бути пов'язані з розвитком власне пухлини. Підтвердженням цього є той факт, що у крові хворих 1-ї групи з ПКЩЗ фолікулярної будови В-КПА значно нижча за ту, що спостерігали при іншій гістологічній будові карциноми, тоді як в крові хворих 2-ї групи найвищу ферментативну активність реєстрували при ПКЩЗ типової папілярної будови.

Наявність хронічного тиреоїдиту також підвищувала В-КПА у плазмі крові хворих з ПКЩЗ. Підвищення активності катеписину В у крові відмічено і іншими авторами при запальних процесах у підшлунковій залозі [27], печінці [28] та легенях [33]. Водночас існування аутоімунних захворювань у людей з ПКЩЗ, певно, не впливає на секрецію катеписину В у кров. У пацієнтів із діагностованим аутоімунним тиреоїдитом та хворобою Грейвса В-КПА у плазмі крові змінювалася несуттєво [8]. Отже, це пов'язано переважно з вузловою патологією ЩЗ і запальними процесами в ній. Раніше ми припустили, що збільшення В-КПА у крові хворих на вузловий зоб до певної міри є компенсаторним механізмом, необхідним для досягнення еутиреоїдного стану за допомогою активації вивільнення тироксину та трийодтироніну з тиреоглобуліну, який за цієї патології містить низьку концентрацію йоду та тиреоїдних гормонів [9].

Характер змін L-КПА у плазмі крові хворих з ПКЩЗ протилежний тому, що встановлено для В-КПА: у хворих з карци-

номою, яка була діагностована на тлі супровідної доброякісної тиреоїдної патології, деяке підвищення ферментативної активності не мало будь-якого зв'язку з клінічними особливостями хвороби, тоді як у разі ПКЩЗ без супровідної патології ступінь підвищення L-КПА у плазмі крові певним чином залежав від категорії T пухлини. Відомі дані як про збільшення активності катеписину L у крові хворих з меланою [25], злоякісними пухлинами підшлункової залози [27], печінки [28], колоректальною карциною [24], пухлинами в ділянці голови та шиї [35], мозку [12], так і про зниження її у пацієнтів зі злоякісною лімфою, особливо при 4-й стадії хвороби та при наявності метастазів [17] чи про відсутність змін активності цього катеписину у хворих із карциною шлунка або бронхів [26]. За деякими даними активність катеписину L не мала зв'язку з клінічними характеристиками хвороби [24, 27] чи гістологічним типом пухлини [35], за іншими – такий зв'язок зафіксований [12, 24, 28]. Слід також зазначити, що при „рецидиві” пухлини в ділянці голови активність катеписину L була нижчою, ніж у хворих без такого, водночас ризик виникнення рецидивів був суттєвим саме у хворих з низькою активністю цього катеписину [35]. У наших дослідженнях відсутність змін L-КПА у крові відмічено у пацієнтів з пухлиною категорії T₄, з пухлиною змішаної будови з солідними ділянками (що свідчить про зниження ступеня диференціювання пухлини), за наявності оксифільноклітинної метаплазії і при склеротичних та/чи дистрофічних змінах строми пухлини, тобто за більш несприятливих характеристик патологічного процесу.

Отже, якщо зміни В-КПА у крові пацієнтів з ПКЩЗ пов'язані переважно з доброякісною вузловою патологією, то зміни Н- та L-КПА можна пов'язати з процесами злоякісної трансформації клітин.

Проте ми не отримали результатів, які б свідчили про зв'язок модуляції КПА у крові пацієнтів із процесами інтра- чи екстратиреоїдного розповсюдження пухлини та інвазії пухлинних клітин у лімфатичні чи кровоносні судини, тоді як деякі автори наголошують на участь цистеїнових катепсинів саме у процесах інвазії та утворення метастазів у тканинах [18, 22].

На наш погляд, немає також обґрунтованих підстав пов'язувати підвищення L-КПА у крові пацієнтів з ПКЩЗ із порушенням регуляції секреції ТТГ, як це зроблено в праці Чорної та співавт. [19]. Разом із підвищенням у 3,6 раза активності катепсину L у пацієнтів з ПКЩЗ та відсутністю її змін у хворих з еутиреоїдним зобом наводяться дані про різке збільшення у крові таких хворих вмісту ТТГ і T_3 (у 7,35 раза (!?) і у 4 рази (!?) відповідно). Вузловий еутиреоїдний зоб вони чомусь вважають доброякісною пухлиною, а пацієнтів з такою патологією – онкологічними (?) [19]. Добре відомо, що вміст ТТГ у двох третин хворих з ПКЩЗ може бути дещо збільшеним, але у більшості випадків він суттєво не перевищує значень верхньої межі норми [7, 11]. Щодо змін вмісту ТТГ при ПКЩЗ різної гістологічної будови, то помірне його підвищення спостерігали у 16 % пацієнтів із пухлиною типової папілярної будови, та у 60–67 % хворих з фолікулярним чи солідним варіантом ПКЩЗ, але у певної кількості цих хворих був зниженим і вміст вільного тироксину, тобто вони були у стані субклінічного гіпотиреозу [3]. Слід відмітити, що у хворих, які знаходилися переважно у еутиреоїдному стані, підвищення L-КПА було однаковим у пацієнтів з ПКЩЗ типової папілярної, фолікулярної і фолікулярно-папілярної будови, тоді як у хворих з пухлиною змішаної будови з наявністю солідних ділянок ферментативна активність не відрізнялася від значень, характерних для здорових осіб.

Таким чином, проведені дослідження свідчать про складні та неоднозначні зміни

КПА у крові хворих з ПКЩЗ, що вказує як на можливу роль катепсинів В, Н та L у регуляції функції залози за умов патології, так і в процесах злаякісної трансформації тиреоцитів. Результати досліджень не дають підстав вважати, що визначення В-, Н-, L-КПА у крові пацієнтів з ПКЩЗ може бути надійним додатковим біохімічним критерієм для диференціальної діагностики, оцінки ступеня тяжкості та інших характеристик захворювання.

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

КАТЕПСИНОПОДОБНАЯ АКТИВНОСТЬ В ПЛАЗМЕ КРОВИ БОЛЬНЫХ С ПАПИЛЛЯРНОЙ КАРЦИНОМОЙ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

При исследовании катепсиноподобной активности в плазме крови больных с папиллярной карциномой щитовидной железы были зафиксированы особенности её изменений в зависимости от клинических характеристик заболевания и гистологического строения опухоли. Для Н-катепсиноподобной активности при увеличении категории Т опухоли наблюдали прогрессирующее её повышение, особенно у больных с сочетанной доброкачественной тиреоидной патологией. При метастазирующей опухоли, которую не сопровождала иная тиреоидная патология, повышение ферментативной активности было значительно выше, чем в крови больных без метастазов. В-катепсиноподобная активность в плазме крови больных, в щитовидной железе которых выявлена только карцинома, была на уровне такой у здоровых лиц. В случае сочетания карциномы с узловым зобом или аденомой В-катепсиноподобная активность повышалась, особенно значительно при опухоли категории T_1 . В крови больных с карциномой, которая была диагностирована на фоне другой тиреоидной патологии, небольшое повышение L-катепсиноподобной активности никак не зависело от клинических особенностей болезни, тогда как в случае одной карциномы повышение ферментативной активности определенным образом зависела от категории Т опухоли, её гистологического строения, оксифильноклеточной метаплазии. В работе не получено результатов, которые могли бы связать изменения катепсиноподобной активности в крови с процессами интра- или экстратиреоидной инвазии, а также инвазии в лимфатические или кровеносные сосуды. Результаты проведенных исследований не дают оснований считать, что определение катепсиноподобной активности в крови пациентов с папиллярной карциномой щитовидной железы может быть надёжным дополнительным биохимическим критерием для дифференциальной диагностики,

оценки степени тяжести и других характеристик заболевания.

Ключевые слова: цистеиновые катепсины В, Н, L, папиллярная карцинома, сочетанная доброкачественная патология щитовидной железы, кровь.

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

CATHEPSINE-LIKE ACTIVITY IN BLOOD PLASMA OF PATIENTS WITH PAPILLARY THYROID CARCINOMA

The peculiarities of the thyroid changes depending on clinical characteristics of disease and histological structure of tumor were fixed by the studies of cathepsin-like activity in blood plasma of patients with papillary thyroid carcinoma. H-cathepsin-like activity had a tendency to more significant increase especially in patients with concomitant benign thyroid disease with increasing the tumor category. In a case of metastatic tumor without other concomitant thyroid pathology, the degree of an increase in enzymatic activity was significantly higher comparing to the blood of patients without tumor metastases. B-cathepsin-like activity in blood plasma of patients only with tumor carcinoma was at the level of that of healthy subjects. B-cathepsin-like activity in blood plasma had especially significant increased under tumor T₁ category that was connected with nodular goiter or adenoma in a case concomitant carcinoma by other thyroid pathology. In patients with carcinoma that was diagnosed against a background of concomitant pathology, the insignificant increase in L-cathepsin-like activity was not dependent on clinical features of disease, while in a case of carcinoma without concomitant pathology a degree of its increase was certainly dependent on a category of tumor T, its histological structure and the presence of oxyphilic cell metaplasia. We failed to get an evidence linking the changes in cathepsin-like activity in blood with the processes of intra- or extrathyroid invasion and invasion into the lymphatic or blood vessels. The results of the studies do not provide a rationale to consider that the cathepsin-like activity in blood of patients with papillary thyroid carcinoma can be the valuable additional biochemical criterion for differential diagnosis, estimation of the severity, and other characteristics of the disease.

Key words: cathepsin B, H, L, papillary carcinoma, concomitant benign thyroid pathology, blood.

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

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Введение в радиационную тиреодологию / Под ред. Коваленко А.Н., Афанасьева Д.Е., Самойлова А.Р. – К.: Томирис-Н, 2006. – 615 с.
2. Веременко К.Н., Голобородько О.Л., Кизим А.И. Протеолиз в норме и при патологии. – К.: Здоров'я,

1988 – 200 с.

3. Гриневич Ю.Я., Лобода В.Ф., Бендюг Г.Д., Юринова Л.Г., Процик В.С. Взаємозв'язок між цитологічними особливостями раку щитовидної залози та ендокринною функцією тимуса і гіпофізарно-тиреоїдної системи організму // Патологія. – 2008. – № 2. – С. 52.
4. Дилакян Э.А., Балаевская И.В., Закамалдина-Цама Т. Исследование экспрессии катепсинов D и L в процессе онкогенной трансформации фибробластов // Вопр. мед. химии. – 1994. – № 3. – С. 2–19.
5. Ефремов А.В., Рюаткина Л.А., Цыганкова О.В., Бондарева З.Г. Роль лизосомальных ферментов в генезе ведущих клинико-патологических синдромов: факты и гипотезы // Патол. физиология и эксперим. терапия. – 2007. – № 1. – С. 18–21.
6. Жлоба А.А., Дунаевский В.А. Активность секретруемых форм цистеиновых катепсинов в крови в качестве маркера процессов тканевого роста // Вопр. онкологии. – 1996. – № 1. – С. 70–76.
7. Иванов П.К., Казеев К.Н., Каретников Ю.П. Тиролибериновый тест в диагностике рака щитовидной железы // Пробл. эндокринологии. – 1984. – № 5. – С. 34–38.
8. Калініченко О.В., Мишуніна Т.М., Тронько М.Д. В-, Н- та L-катепсиноподібна активність у плазмі крові хворих з різними захворюваннями щитовидної, парашитовидної та надниркових залоз // Укр. біохім. журн. – 2010. – № 2. – С. 45–50.
9. Калініченко О.В., Мишуніна Т.М., Тронько М.Д. В-, Н- та L-катепсиноподібна активність у плазмі крові хворих з еутиреоїдним вузловим зобом і хворобою Грейвса // Ендокринологія. – 2010. – № 1. – С. 35–43.
10. Кирпиченко Л.Н., Гидранович Л.Г., Шиленок В.Н. Активность протеолитических процессов при заболеваниях щитовидной железы // Вопросы мед. химии. – 2000. – № 5. – С. 518–519.
11. Комисаренко І.В., Славнов В.М., Рибаків С.І., Марков В.В., Яковлев А.А. Радіоімунологічний аналіз у визначенні функціонального стану гіпофізарно-тиреоїдної системи у хворих на рак щитоподібної залози // Укр. радіол. журн. – 1997. – № 22. – С. 22–24.
12. Лянна О.Л., Бомбін О.В., Хворостенко М.І., Чорна В.І. Клінічні та біохімічні дослідження цистеїнових катепсинів у біологічних рідинах людини при канцерогенезі // Буковин. мед. вісн. – 2005. – № 2. – С. 155–158.
13. Лянна О.Л., Хворостенко М.І., Чорна В.І. Цистеїновий катепсин В у діагностиці онкологічних захворювань щитоподібної залози // Укр. радіол. журн. – 2008. – № 3. – С. 314–316.
14. Маврутенков В.В. Клініко-патогенетичне значення лізосомних цистеїнових катепсинів В і L при інфекційному мононуклеозі // Інфек. хвороби. – 2005. – № 3. – С. 22–26.

15. Мужичук А.В., Афанасьєва Н.И., Шевцов В.Г., Мужичук В.В. Клинико-морфологические характеристики сочетанного течения рака щитовидной железы и доброкачественной тиреоидной патологии // *Міжнарод. мед. журн.* – 2009. – № 1. – С. 91–95.
16. Попова А.Н., Жлоба А.А., Соловьев М.М. Активность катепсина Н в крови и биоптатах больных с предопухолевыми состояниями и опухолями полости рта // *Вопр. онкологии.* – 2001. – № 5. – С. 590–594.
17. Халикова Т.А., Потеряева О.Н., Поспеелова Т.И., Короленко Т.А. Цистеиновые протеазы катепсины В и L и их ингибитор цистатин С у больных гемобластозами // *Гематология и трансфузиология.* – 2004. – № 4. – С. 18–27.
18. Чорна В.І., Какадій О.Л. Лізосомні цистеїнові протеїнази при злоякісному рості // *Онкологія.* – 2005. – № 2. – С. 84–89.
19. Чорна В.І., Ляйна О.Л., Хворостенко М.І., Бразалук О.В. Роль протеолізу в гормонопозі щитоподібної залози за канцерогенезу // *Вісн. Львів. ун-ту.* – 2008. – вип. 47. – С. 58–62.
20. Assfalg-Machleidt I., Jochum M., Nast-Kolb D., Siebeck M., Billing A., Joka T., Rothe G., Valet G., Zauner R., Scheuber H. Cathepsin B – indicator for the release of lysosomal cysteine proteinase in severe trauma and inflammation // *Hopple-Seyler. Physiol. Chem.* – 1990. – **371**. – S. 221–222.
21. Barret A., Kirschke H. Cathepsins B, H, and L // in: *Methods in enzymology*. Ed.: L. Lorán. New-York, London: Acad. Press. – 1981. – **80**, part C. – P. 535–561.
22. Gocheva V., Joyce J. Cysteine cathepsins and the cutting edge of cancer invasion // *Cell Cycle.* – 2007. – **6**. – P. 60–64.
23. Hirano T., Manabe T., Takeuchi S. Serum cathepsin B levels and urinary excretion of cathepsin D in the cancer patients with remote metastasis // *Cancer Lett.* – 1993. – **70**. – P. 41–44.
24. Kos J., Lah T. Cysteine proteinases and their endogenous inhibitors: Target proteins for prognosis, diagnosis and therapy in cancer // *Oncol. Rep.* – 1998. – **5**. – P. 1349–1361.
25. Kos J., Stabuc B., Schweiger A., Krasovec M., Cimerman N., Kopitar-Jerala N., Vrhovec I. Cathepsins B, H, and L and their inhibitors stefin A and cystatin C in sera of melanoma patients // *Clin. Cancer Res.* – 1997. – **3**. – P. 1815–1822.
26. Lószly A., Sohár I., Karócsanyi S. Activities of serum cathepsin (B, H and L) and metalloproteinase (MMP7-ase) in patients with gastrointestinal and bronchial malignant tumours // *Acta Med. Hung.* – 1990. – **47**. – P. 107–109.
27. Leto G., Tumminello F., Pizzolanti G., Montalto G., Soresi M., Carroccio A., Ippolito S., Gebbia N. Lysosomal aspartic and cysteine proteinases serum levels in patients with pancreatic cancer or pancreatitis // *Pancreas.* – 1997. – **14**. – P. 22–27.
28. Leto G., Tumminello F., Pizzolanti G., Montalto G., Soresi M., Gebbia N. Lysosomal cathepsins B and L and Stefin A blood levels in patients with hepatocellular carcinoma and/or liver cirrhosis: potential clinical implications // *Oncology.* – 1997. – **54**. – P. 79–83.
29. Mort J., Leduc M., Recklies A. Characterization of a latent cysteine proteinase from ascetic fluid as a high molecular weight form of cathepsin B // *Biochim. and Biophys. Acta.* – 1983. – **755**. – P. 369–375.
30. Nishida Y., Kohno K., Kawamata T. Increased cathepsin L levels in serum in some patients with ovarian cancer: comparison with CA125 and CA72-4 // *Gynecol. Oncol.* – 1995. – **56**. – P. 357–361.
31. Pietras R., Szego C., Mangan C., Seeler B., Burtnett M. Elevated serum cathepsin B1-like activity in women with neoplastic disease // *Ibid.* – 1979. – **7**. – P. 1–5.
32. Recklies A., Poole A., Mort J. A cysteine proteinase secreted from human breast tumors is immunologically related to cathepsin B // *Biochem. J.* – 1982. – **207**. – P. 633–636.
33. Schweiger A., Staib A., Werle B. Cysteine proteinase cathepsin H in tumours and sera of lung cancer patients: relation to prognosis and cigarette smoking // *Br. J. Cancer.* – 2000 – **82**. – P. 782–788.
34. Staack A., Koenig F., Danilchenko D., Hauptmann S., Loening S., Schnorr D., Jung K. Cathepsins B, H, and L activities in urine of patients with transitional cell carcinoma of the bladder // *Urology.* – 2002. – **59**. – P. 308–312.
35. Strojjan P., Budihna M., Smid L., Svetic B., Vrhovec I., Skrk J. Cathepsin B and L and stefin A and B levels as serum tumor markers in squamous cell carcinoma of the head and neck // *Neoplasma.* – 2001. – **48**. – P. 66–71.

*ДУ “Ін-т ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка АМН України”, Київ
E-mail: mishunina@list.ru.*

Матеріал надійшов до редакції 04.05.2010