

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

Зміни активності цистеїнових катепсинів в лізосомах папілярних карцином щитоподібної залози з різними біологічними характеристиками

Для з'ясування можливої ролі цистеїнових катепсинів H, B і L у протеолітичних процесах, які сприяють пухлинному росту у щитоподібній залозі, досліджена їх активність у лізосомах, виділених з тканини папілярних карцином. Показано, що для цих ферментів існує певна залежність змін активності від низки біологічних характеристик пухлин. Так, різке зростання активності катепсину H відмічено у лізосомах з тканини карцином категорії T2 і T3, за інтра- і екстратиреоїдної, а також лімфатичної інвазії пухлинних клітин; катепсину B – у лізосомах з тканини карцином гетерогенної будови, особливо при наявності солідних ділянок, порівняно з пухлинами типової папілярної будови та у лізосомах з тканини карцином за їх інтратиреоїдної, а катепсину L – за екстратиреоїдної інвазії. Загальною особливістю для вивчених катепсинів є підвищення їх активності в лізосомах з тканини неінкапсульованих карцином. Зазначені ферменти, певно, не беруть участь у інвазії до кровоносних судин і у механізмах метастазування пухлин до регіонарних лімфовузлів: про останнє свідчить відсутність змін активності катепсинів у лізосомах з тканини карцином категорії N1. Отримані результати вказують на різну роль катепсинів H, B і L у тиреоїдному канцерогенезі, де кожен фермент має свою специфічну функцію.

Ключові слова: цистеїнові катепсини B, H, L, папілярні карциноми щитоподібної залози, інвазія.

ВСТУП

Відомо, що цистеїнові лізосомальні катепсини, поряд з системою активації плазміногену і матриксними металопротеїназами, займають одне з чільних місць у механізмах пухлинного росту. З підвищеною властивістю трансформованих клітин синтезувати і секретувати лізосомальні катепсини пов'язують інвазію і метастазування солідних пухлин різної локалізації.

Загалом вважають, що чим вищий синтез лізосомальних катепсинів, тим агресивніший фенотип має пухлина. Є свідчення про роль цих ферментів не тільки на пізніх, але і на ранніх стадіях її розвитку [26]. Показано, що активація онкогена RAS змінює функцію лізосом [31], локалізація яких у ракових клітинах, особливо у клітинах, які розташовані по

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

краю пухлини, змінюється з навколоядерної на периферичну [19]. Знайдені відмінності у складі ізоформ ферментів, їх фізико-хімічних і кінетичних властивостей, які проявляються вже на початкових етапах злоякісної трансформації [24]. При цьому показана можливість виходу з лізосом проферментів, які стабільніші і менше підпадають під дію ендогенних інгібіторів, ніж зрілі форми ферментів [20]. Подібні зміни, поряд зі зниженням рН середовища клітини, призводять до переміщення ферментів з лізосом, їх асоціації з мембраною пухлинної клітини і секреції з неї [12, 28, 36].

Основні процеси, що супроводжують участь катепсинів, зокрема і цистеїнових, у деструкції білків позаклітинного матриксу (колагену, еластину, ламініну, фібронектину, колагену IV типу, протеогліканів) і лізису

базальної мембрани, відомі [14, 23, 25], проте залишається нез'ясованою роль конкретних ферментів у прямому протеолізі компонентів позаклітинного матриксу, в інактивації білків міжклітинної адгезії (Е-кадгерину), в ініціації протеолітичного каскаду за участю інших протеаз (матриксні металопротеїнази, урокінази, протеїнази фібринолізу і згортання крові тощо). Результати експериментальних досліджень, проведених на трансгенних моделях пухлин у мишей, дали можливість зробити висновок, що індивідуальні гени цистеїнових катепсинів беруть участь у канцерогенезі і кожен фермент має свою особливу функцію в його ключових процесах – проліферації, апоптозі, неоангіогенезі чи інвазії [15, 36].

Водночас участь лізосомальних цистеїнових катепсинів в агресивній поведінці пухлин різної локалізації, гістологічної будови чи рівня диференціювання ще недостатньо вивчена. У деяких дослідженнях не фіксували збільшення вмісту цистеїнових катепсинів, проте низька експресія мРНК була зкомпенсована високою активністю ферментів, при цьому деградація їх субстратів відбувалася у 10 разів швидше [11]. Крім того, встановлено, що ступінь активації цих ферментів прямо пропорційна терапевтичному ефекту препаратів, що застосовуються при лікуванні раку [1]; проте за іншими даними саме досягнення гальмування активності катепсинів чи виключення функції генів, що їх кодують, є важливою стратегією протипухлинної терапії [22].

Результати дослідження змін функціонального стану цистеїнових катепсинів у злоякісних пухлинах щитоподібної залози (ЩЗ) не відображають цілісну картину щодо їх можливої специфічної ролі в процесах злоякісної трансформації, росту і метастазування тиреоїдних пухлин. Так, показано, що загальна активність катепсинів у тканині карцином ЩЗ підвищена у 6 разів порівняно з нормальною тканиною залози [4], збільшена вона також у тканині карцином ЩЗ шурів [33]. Зміни експресії катепсину L спостерігали за

дії чинників, що впливають на проліферацію, диференціювання і дедиференціювання клітин злоякісної пухлини ЩЗ [27]. Активність катепсину L підвищена в тканині папілярних [5] і фолікулярних [30] карцином, а катепсину В вища удвічі за фолікулярної і у 5-15 разів за папілярної карцином [29, 30]. В них також збільшена експресія катепсину В [32].

У трансформованій клітині (досліді на клітинних лініях карцином ЩЗ) змінюються шляхи внутрішньоклітинного переміщення різних форм катепсину В, що на думку авторів є важливим для виникнення і прогресування злоякісного процесу [34]. Постулюється також важлива роль ядерної локалізації катепсинів у виникненні карцином ЩЗ за рахунок або модифікації під впливом катепсину В білків, які пов'язані з ДНК [35], або модифікації під впливом катепсину L ядерного транскрипційного фактора CDP/CUX, надекспресія якого прискорює входження клітини в S-фазу [16].

Активність деяких цистеїнових катепсинів (W і X) значно вища у „післячорнобильських” карциномах ЩЗ порівняно з такою в спорадичних пухлинах. Це поряд з активацією металопротеїназ 1, 9 і 13 вважають особливістю радіоіндукованих карцином [9]. Катепсин В також включений до білків, які вважають маркерами тиреоїдної трансформації [10, 32].

Незначна частина досліджень присвячена з'ясуванню ролі цистеїнових катепсинів у інвазії та метастазуванні карцином ЩЗ. Так, повідомлено про підвищення активності катепсину В у пухлині при екстракапсулярному її розповсюдженні [21]. Механізм останнього пов'язують зі збільшенням під дією катепсину L деградації еластину [8]; вплив деяких препаратів, спрямованих на зниження рухливості тиреоїдних пухлинних клітин, також опосередкований зниженням вмісту прокатепсину L [13].

У попередніх дослідженнях ми встановили, що активність катепсинів H, B і L у тканині папілярних карцином є збільшеною [6].

Метою цієї роботи було з'ясувати залежність цих змін у лізосомах з тканини папілярних карцином ЩЗ, які мають різні біологічні характеристики.

МЕТОДИКА

Досліджено зразки тканини 21-ї папілярної карциноми та 9 зразків позапухлинної незміненої тканини ЩЗ нормофолікулярної будови. Вміст тиротропіну та тиреоїдних гормонів у крові пацієнтів, тканина ЩЗ яких досліджена, не виходив за межі референтних значень здорових осіб. На проведення досліджень було отримано дозвіл від Комітету з питань біоетики ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка НАМН України».

Тканину ЩЗ промивали охолодженим фізіологічним розчином, зважували, подрібнювали та гомогенізували у 10-кратному об'ємі середовища такого складу (ммоль/л): цукроза – 250, тріс-НСІ-буфер – 20, ЕДТА- Na_2 – 1 (рН 7,4). Фракцію лізосом виділяли загальноприйнятим методом диференціального центрифугування, осад органел суспендували у середовищі виділення, яке не містило ЕДТА. Всі процедури проводили при 4 °С.

Активність катепсинів визначали за методичними принципами, які викладені в праці Barret і Kirschke [7], із субстратами – L-лейцин-4-нітроанлід (катепсин Н), N_2 -бензоіл-DL-аргінін-4-нітроанлід (катепсин В) і азоказеїн, 6%-й розчин якого був денатурований 6-ти молярним розчином сечовини (катепсин L). Активність катепсинів Н і В виражали у мікромолях паранітроанліну, який відщепився від субстрату за годину інкубації, на 1 мг білка, а катепсину L – в одиницях абсорбції низькомолекулярних пептидів, що утворилися за годину інкубації і не осаджуються трихлороцтовою кислотою, на 1 мг білка. Вміст білка у суспензії лізосом встановлювали за однією з модифікацій методу Лоурі [17].

Одержані результати опрацьовані статистично з використанням критерію t Стью-

дента чи непараметричного критерію U Віл-коксона–Манна–Уїтні. Вірогідно значимою вважали різницю при $P < 0,05$. При аналізі отриманих результатів враховували висновки патолога щодо результатів дослідження післяопераційного матеріалу.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Перед викладенням та аналізом результатів досліджень зазначимо, що при розподілі зразків тканин по групах враховували лише один з показників (будова тканини, категорія пухлини TNM, наявність капсули, а також інвазії у кровоносні і лімфатичні судини, розповсюдження пухлинних клітин по залозі та за її межі у м'якій тканині), розуміючи при цьому, що поряд із досліджуваною характеристикою зразки тканини мають і інші. Проте у реальних умовах неможливо скласти вибірки, в яких зразки пухлинної тканини ЩЗ у кожній з груп мали б лише одну з таких характеристик, тому, на нашу думку, подібним аналізом, незважаючи на його гетерогенність, можна все ж отримати певну інформацію.

Активність усіх досліджених катепсинів у лізосомах з тканини папілярних карцином ЩЗ збільшена. Найсуттєвіше підвищення (у 2,8 раза) спостерігали для катепсину Н ($44,3 \pm 12,8$ мікромоль паранітроанліну/(год•мг білка) і $124,1 \pm 17,2$ мікромоль паранітроанліну/(год•мг білка), $P < 0,05$ відповідно у позапухлинній та пухлинній тканині), менше – для катепсинів В ($21,3 \pm 3,6$ мікромоль паранітроанліну/(год•мг білка) і $47,5 \pm 9,3$ мікромоль паранітроанліну/(год•мг білка), $P < 0,05$) і L ($0,66 \pm 0,09$ одиниць абсорбції/(год•мг білка) і $1,12 \pm 0,11$ одиниць абсорбції/(год•мг білка), $P < 0,05$).

Встановлено, що збільшення активності катепсину Н у лізосомах з тканини карцином не залежить від їх будови, тоді як високу активність катепсину В спостерігали в лізосомах з пухлин фолікулярно-папілярної і гетерогенної будови з наявністю солідних ділянок, а катепсину L – лише в лізосомах

з карцином фолікулярно-папілярної будови (рис. 1, а). Активність ферментів у лізосомах з пухлин категорії Т1-Т3 була суттєво вищою за норму, за винятком такої для катепсину Н у лізосомах з карцином категорії Т1, яка не відрізнялася від відповідної величини в лізосомах з незміненої тканини ЩЗ (див. рис. 1, б).

Активність усіх трьох катепсинів вища в лізосомах з тканини неінкапсульованих па-

пілярних карцином (див. рис. 1, в), в той час як при розповсюдженні пухлинних клітин по залозі, так і без такої активність ферментів у лізосомах виявилася високою (за винятком катепсину В у лізосомах з пухлин без інтра-тиреоїдної інвазії) (див. рис. 1, г). При цьому відмічено, що за умов розповсюдження пухлинних клітин по залозі активність катепсину Н у лізосомах з таких карцином суттєво вища,

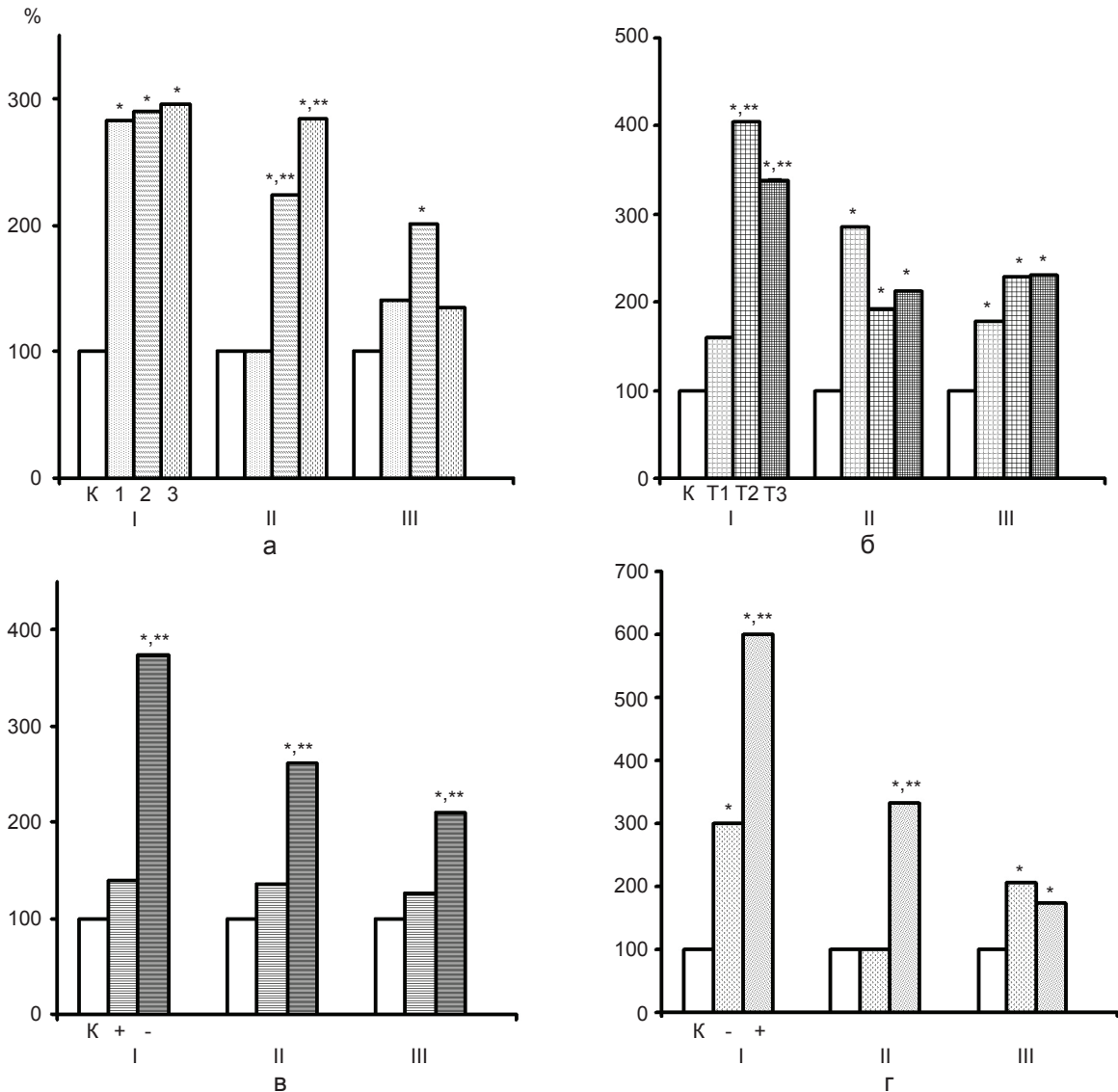


Рис. 1. Зміни активності цистеїнових катепсинів у лізосомах з папілярних карцином різної будови (а), різної категорії Т (б), за наявності капсули (в), за розповсюдження по залозі (г): I – катепсин Н, II – катепсин В, III – катепсин L; 1 – карциноми типової папілярної будови, 2 – карциноми фолікулярно-папілярної будови, 3 – карциноми гетерогенної будови з солідними ділянками. – – ознаки немає, + – ознака є, К – контроль. *P<0,05 порівняно з контролем, **P<0,05 порівняно з карциномами типової папілярної будови чи карциномами категорії Т1, чи карциномами за відсутності ознаки

ніж у лізосомах з пухлин без інтратиреоїдної інвазії. Не відмічено різниці у підвищенні активності ферментів у лізосомах з пухлин за умов наявності чи відсутності кровоносної інвазії (рис. 2, а), тоді як за наявності лімфатичної інвазії зростання активність катепсину Н перевищувало таке в лізосомах з пухлин без неї, катепсину L у разі лімфатичної інвазії залишалася на рівні норми, а збільшення активності

катепсину В не залежало від цієї характеристики папілярних карцином (див. рис. 2, б).

За умов розповсюдження пухлини за межі залози у прилеглі м'які тканини активність катепсинів Н і L (але не катепсину В) у лізосомах висока і вірогідно відрізнялася від такої у лізосомах з карцином без екстратиреоїдної інвазії (див. рис. 2, в). Дещо несподівано, що активність ферментів суттєво вища в лізосомах

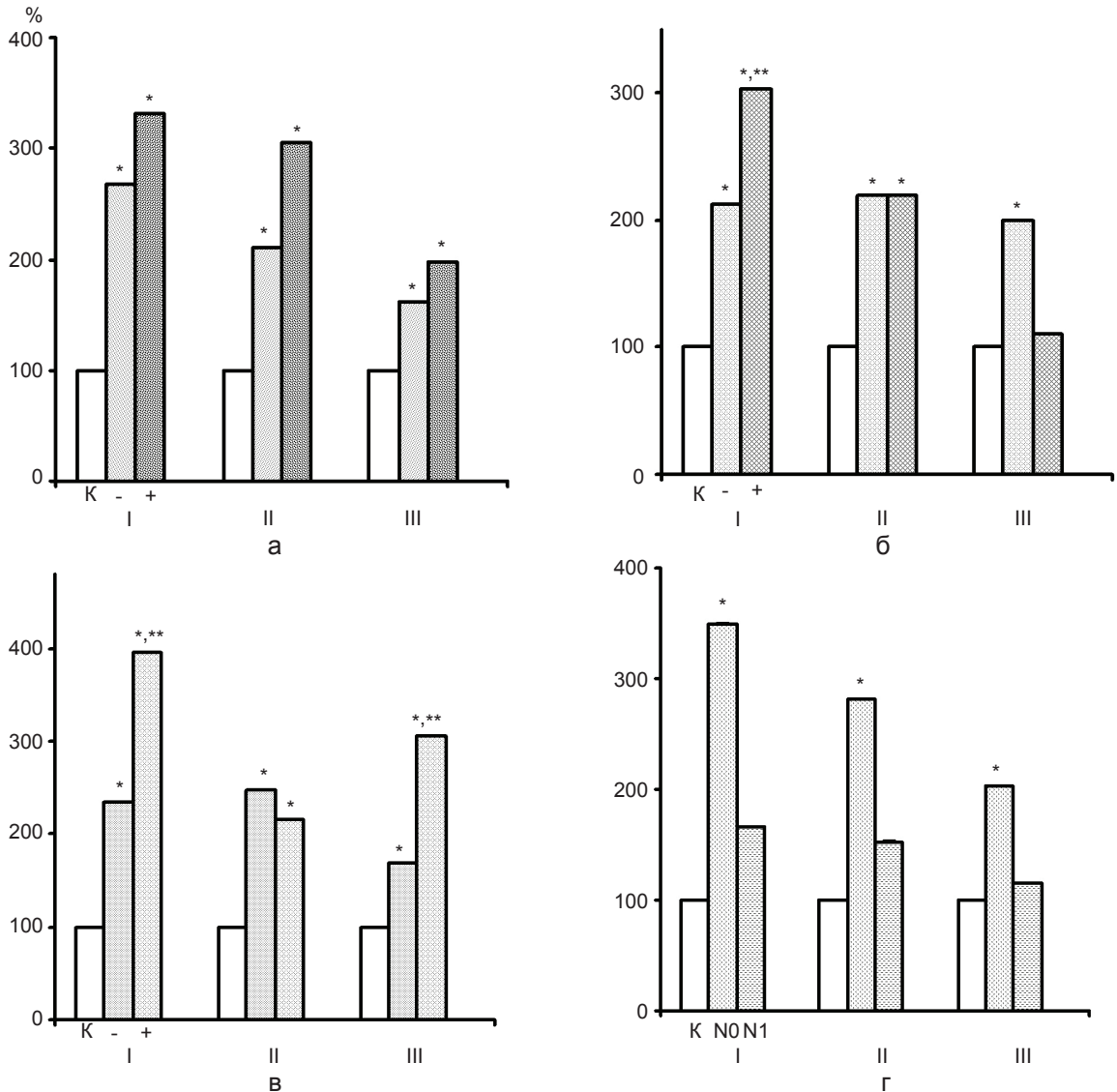


Рис. 2. Зміни активності цистеїнових катепсинів у лізосомах з папілярних карцином залежно від їх інвазійних і метастатичних властивостей: I – катепсин Н, II – катепсин В, III – катепсин L; а – інвазія до кровоносних судин, б – інвазія до лімфатичних судин, в – розповсюдження у м'які тканини, г – метастазування до лімфовузлів. – – ознаки немає, + – ознака є, К – контроль. *P<0,05 порівняно з контролем, **P<0,05 порівняно з карциномами за відсутності ознаки

з пухлин, які не мають метастазів до регіонарних лімфовузлів порівняно з такою не тільки в лізосомах з незміненої тканини, але і з тканини метастазуючих карцином (див. рис. 2, г).

ОБГОВОРЕННЯ

У лізосомах, які були отримані з тканини папілярних карцином відмічена суттєва активація усіх трьох досліджених цистеїнових катепсинів. Ці результати збігаються з даними інших авторів, які засвідчили зростання активності катепсинів В і L у пухлинах ЩЗ [5, 21, 29, 32]. Вважають, що окрім збільшення експресії мРНК катепсинів, одним з молекулярних механізмів активації цих ферментів, зокрема катепсину L, може бути вплив на них інсуліно-подібного пептиду, експресія якого висока у неопластичній тканині ЩЗ [8].

Отримані результати підтвердили думку, що кожен з вивчених ферментів може мати індивідуальну функцію у ключових процесах пухлинного росту в ЩЗ. Найсуттєвіші кількісні зміни відмічені для катепсину Н, який, за деякими даними, насамперед активується за умов інтенсифікації проліферативних процесів [2]. Так, різке підвищення активності цього ферменту відмічено у лізосомах з папілярних карцином категорії T2 і T3, за розповсюдження пухлинних клітин по залозі і за її межі у м'які тканини та у разі лімфатичної інвазії. Встановлене свідчить про інтенсифікацію функції катепсину Н у папілярних карциномах ЩЗ з агресивнішою біологічною поведінкою порівняно з тими, в яких зазначені особливості відсутні чи виражені значно менше. Слід зазначити, що надекспресія катепсину Н у клітинах гепатоми асоціюється саме з її агресивним фенотипом, при цьому експресія цього катепсину регулюється тиреоїдними гормонами [37].

Спектр особливостей змін активності катепсину В у лізосомах залежно від характеристик карцином менш широкий, ніж для катепсину Н. Відмічено підвищення активності ферменту у лізосомах з пухлин

гетерогенної будови, особливо при наявності солідних ділянок порівняно з пухлинами типової папілярної структури, та карцином за їх інтратиреоїдної інвазії. Зміни активності катепсину L у лізосомах з папілярних карцином, незважаючи на її підвищення, майже не залежать від характеристик пухлин, що були проаналізовані. Лише у разі екстратиреоїдної інвазії активність ферменту в лізосомах була вірогідно вищою за таку в лізосомах з пухлин без зазначеної ознаки. Несподіваним є той факт, що активність катепсину L підвищена лише в лізосомах з карцином фолікулярно-папілярної будови і залишається в межах норми в лізосомах з пухлин типової папілярної будови, а також гетерогенної будови з наявністю солідних ділянок, тобто в пухлинах, які відрізняються ступенем диференціювання.

Загальною особливістю для вивчених ферментів є висока активність усіх катепсинів у лізосомах з тканини неінкапсульованих карцином, що безперечно свідчить про їх участь у процесах пухлинної інвазії. Проте, якщо в лізосомах з карцином за інтратиреоїдної інвазії це стосується катепсинів Н і В, то за екстратиреоїдної інвазії – катепсинів Н і L. Зазначені ферменти, певно, не беруть участі в інвазії пухлинних клітин до кровоносних і лімфатичних судин. В останньому випадку можна говорити про участь у цих процесах лише катепсину Н. Цікавим і несподіваним є той факт, що активність жодного з вивчених ферментів не підвищена в лізосомах з тканини метастатичних карцином (категорія пухлин N1). Раніше ми показали, що не має також суттєвої різниці катепсиноподібної активності в крові пацієнтів з папілярними карциномами категорії N0 і N1 [3]. Отже, ці лізосомальні катепсини, певно, не залучені до метастазування карцином до регіонарних лімфовузлів.

Таким чином, для катепсинів Н, В і L встановлена певна залежність їх активації від біологічних характеристик папілярних карцином ЩЗ. Цистеїнові катепсини відіграють важливу роль у клітинному протео-

лізі в трансформованій клітині, що сприяє прогресуванню пухлинного росту в ЩЗ. При цьому особливості їх участі в процесах інвазії різні, що може бути пов'язано з біохімічними особливостями ферментів, неоднаковою їх локалізацією у лізосомальних пулах і різними клітинними та позаклітинними субстратами. Так, встановлено, що катепсини В і L локалізуються у різних лізосомальних пулах [18], що може пояснити відмінність у характері змін їх активності в папілярних карциномах з однаковим фенотипом. З'ясування специфічності участі цистеїнових катепсинів у канцерогенезі, зокрема тиреоїдному, потребує подальших досліджень.

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

ИЗМЕНЕНИЯ АКТИВНОСТИ ЦИСТЕИ- НОВЫХ КАТЕПСИНОВ В ЛИЗОСОМАХ ПАПИЛЛЯРНЫХ КАРЦИНОМ ЩИТОВИД- НОЙ ЖЕЛЕЗЫ С РАЗЛИЧНЫМИ БИОЛОГИ- ЧЕСКИМИ ХАРАКТЕРИСТИКАМИ

Для выяснения возможной роли цистеиновых катепсин H, B и L в протеолитических процессах, которые способствуют опухолевому росту в щитовидной железе, исследована их активность в лизосомах, выделенных из ткани папиллярных карцином. Показано, что для этих ферментов существует определенная зависимость изменений активности от ряда биологических характеристик опухолей. Так, резкое увеличение активности катепсина H отмечено в лизосомах из ткани карцином категории T2 и T3, при интра- и экстрагиреоидной, а также лимфатической инвазии опухолевых клеток; катепсина B – в лизосомах из ткани гетерогенного фолликулярного строения, особенно при наличии солидных участков, в сравнении с опухолями типичного папиллярного строения и в лизосомах из ткани карцином при интрагиреоидной, а катепсина L – при экстрагиреоидной инвазии. Общей особенностью для исследованных ферментов является повышение активности всех катепсин в лизосомах из ткани неинкапсулированных папиллярных карцином. Указанные ферменты, наверное, не принимают участие в инвазии опухолевых клеток в кровеносные сосуды и в механизмах метастазирования опухолей в регионарные лимфатические узлы: о последнем свидетельствует отсутствие изменений активности катепсин в лизосомах из ткани карцином категории N1. Полученные результаты указывают на разную роль катепсин H, B и L в тиреоидном канцерогенезе, где каждый фермент имеет свою специфическую функцию.

Ключевые слова: цистеиновые катепсини В, Н, L, папілярні карциноми щитовидної залози, інвазія.

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

CHANGES IN ACTIVE CYSTEINE CATHEPSINS IN LYSOSESOMES FROM TISSUES THYROID PAPILLARY CARCINOMAS WITH VARIOUS BIOLOGICAL CHARACTERISTICS

To clarify possible role of cysteine cathepsin H, B and L in the proteolytic processes that contribute to the progression of tumor growth in the thyroid, we studied their activity in lysosomes isolated from the tissue of papillary carcinomas. It was shown that for these enzymes there is a dependence of the changes in their activity on a number of biological characteristics of the tumors. Thus, the sharp increase in the activity of cathepsin H observed in lysosomes of tissue carcinomas category T2 and T3, with intra- and extrathyroid and lymphatic invasion of tumor cells. An increase in the activity of cathepsin B is set in the lysosomes of tissue heterogeneous follicular structure, especially in the presence of solid areas, in comparison with typical papillary tumors and in the lysosomes of tissue carcinomas in intrathyroid and cathepsin L – at extrathyroid invasion. A common feature of the enzymes is to increase the activity of cathepsins in lysosomes of tissue non-encapsulated papillary carcinomas. These enzymes probably do not take part in the invasion of tumor cells into blood vessels and in the mechanisms of tumor metastasis to regional lymph nodes. The latter shows no changes in the activity of cathepsins in lysosomes of tissue carcinomas category N1. The results indicate the different role of cathepsin H, B and L in thyroid carcinogenesis, where each enzyme has its specific function. Key words: cysteine cathepsins B, H, L, thyroid papillary carcinoma, invasion.

*V.P. Komisarenko Institute of Endocrinology and
Metabolism of AMS of Ukraine, Kyiv*

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Жанаева С.Я., Дьяков А.И., Алексеенко Т.А., Короленко Т.А. Прогностическая значимость цистеиновых протеаз лизосом в определении эффективности противоопухолевой терапии // Биомед. химия. – 2009. – 55, вып. 1. – С. 89–97.
2. Жлоба А.А., Дунаевский В.А. Активность секреторных форм цистеиновых катепсин в крови в качестве маркера процессов тканевого роста // Вопросы онкологии. – 1996. – № 1. – С. 70–76.
3. Калініченко О.В., Мишуніна Т.М., Тронько М.Д. Катепсиноподібна активність у плазмі крові хворих з папілярною карциною щитоподібної залози // Фізіол. журн. – 2010. – № 6. – С. 76–81.
4. Кирпиченюк Л.Н., Гидранович Л.Г., Шиленок В.Н. Активность протеолитических процессов при забо-

- леваниях щитовидной железы // Вопросы мед. химии. – 2000. – № 5. – С. 45.
5. Лянна О.Л., Чорна В.І., Хворостенко М.І. Особливості регуляції активності цистеїнових протеаз та визначення їх клінічного значення за канцерогенезу щитоподібної залози // Укр. радіол. журн. – 2009. – № 3. – С. 308–311.
 6. Мишуніна Т.М. Чи дійсно зростання концентрації ТТГ у крові хворих з кардиною щитоподібної залози може бути наслідком підвищеної активності катепсину L? // Ендокринологія. – 2013. – № 1. – С. 18–22.
 7. Barret A., Kirschke H. Cathepsins B, H, and L. – In: Methods in enzymology. Ed.: L. Loran. New-York, London: Acad. press. – 1981. – **80**, part C. – P 535–561.
 8. Bialek J., Hombach-Klonisch S., Fiebig B., Weber E., Hoang-Vu C., Klonisch T. Lysosomal acid hydrolases of the cathepsin family are novel targets of INSL3 in human thyroid carcinoma cells // Ann. NY Acad. Sci. – 2009. – № 1160. – P. 361–366.
 9. Boltze C., Riecke A., Ruf C., Port M., Nizze H., Kügler C., Miethke C., Wiest N., Abend M. Sporadic and radiation-associated papillary thyroid cancers can be distinguished using routine immunohistochemistry // Oncol. Rep. – 2009. – **22**, № 3. – P. 459–467.
 10. Brown L., Helmke S., Hunsucker S., Netea-Maier R., Chiang S., Heinz D., Shroyer K., Duncan M., Haugen B. Quantitative and qualitative differences in protein expression between papillary thyroid carcinoma and normal thyroid tissue // Mol. Carcinog. – 2006. – **45**, № 8. – P. 613–626.
 11. Budihna M. Prognostic value of cathepsins B, H, L, D and their endogenous inhibitors stefins A and B in head and neck carcinoma // Biol. Chem. – 1996. – **377**. – P. 385–390.
 12. Buth H., Wolters B., Hartwig B., Meier-Bornheim R., Veith H., Hansen M., Sommerhoff C., Schaschke N., Machleidt W., Fusenig N., Boukamp P., Brix K. HaCaT keratinocytes secrete lysosomal cysteine proteinases during migration // Eur. J. Cell Biol. – 2004. – **83**. – P. 781–795.
 13. Glogowska A., Pyka J., Kehlen A., Los M., Perumal P., Weber E., Cheng S., Hoang-Vu C., Klonisch T. The cytoplasmic domain of proEGF negatively regulates motility and elastolytic activity in thyroid carcinoma cells // Neoplasia. – 2008. – **10**, № 10. – P. 1120–1130.
 14. Gocheva V., Joyce J. Cysteine cathepsins and the cutting edge of cancer invasion // Cell Cycle. – 2007. – **6**, № 1. – P. 60–64.
 15. Gocheva V., Zeng W., Ke D., Klimstra D., Reinheckel T., Peters C., Hanahan D., Joyce J. Distinct roles for cysteine cathepsin genes in multistage tumorigenesis // Genes Dev. – 2006. – **20**, № 5. – P. 543–556.
 16. Goulet B., Sansregret L., Leduy L., Bogyo M., Weber E., Chauhan S., Nepveu A. Increased expression and activity of nuclear cathepsin L in cancer cells suggests a novel mechanism of cell transformation // Mol. Cancer Res. – 2007. – **5**, № 9. – P. 899–907.
 17. Hartree T. Determination of protein: A modification of Lowry method that gives a linear photometric response // Anal. Biochem. – 1972. – **48**, № 2. – P. 422–427.
 18. Jordans S., Jenko-Kokalj S., Kühl N., Tedelind S., Sendt W., Brömme D., Turk D., Brix K. Monitoring compartment-specific substrate cleavage by cathepsins B, K, L, and S at physiological pH and redox conditions // BMC Biochem. – 2009. – **22**, № 10. – P. 23.
 19. Koblinski J., Ahram M., Sloane B. Unraveling the role of proteases in cancer // Clin. Chim. Acta. – 2000. – **291**, № 2. – P. 113–135.
 20. Korolenko T. Cysteic proteinases lisosom and inhibitors: the role in tumor inflammation and development // Biochemistry fundamental and applied aspects: scient. conf. works. October, 15–17, 1998. – SPb., 1998. – **1**. – P. 180–187.
 21. Kusunoki T., Nishida S., Nakano T., Funasaka K., Kimoto S., Murata K., Tomura T. Study on cathepsin B activity in human thyroid tumors // Auris Nasus Larynx. – 1995. – **22**, № 1. – P. 43–48.
 22. Lankelma J., Voorend D., Barwari T., Koetsveld J., Van der Spek A., De Porto A., Van Rooijen G., Van Noorden C. Cathepsin L, target in cancer treatment? // Life Sci. – 2010. – **86**, № 7–8. – P. 225–233.
 23. Mohamed M., Sloane B. Cysteine cathepsins: multifunctional enzymes in cancer // Nat. Rev. Cancer. – 2006. – **6**. – P. 764–775.
 24. Moin K. Tumor cell membrane cathepsin B // Biol. Chem. – 1998. – **379**, № 8–9. – P. 1093–1099.
 25. Nomura T., Katunuma N. Involvement of cathepsins in the invasion, metastasis and proliferation of cancer cells // J. Med. Invest. – 2005. – **52**, № 1–2. – P. 1–9.
 26. Nyberg, P. Trypsins and their role in carcinoma growth // Exp. Cell Res. – 2006. – **312**, № 8. – P. 1219–1228.
 27. Plehn A., Günther D., Aurich H., Hoang-Vu C., Weber E. Influence of proliferation, differentiation and dedifferentiation factors on the expression of the lysosomal cysteine proteinase cathepsin L (CL) in thyroid cancer cell lines // Adv. Exp. Med. Biol. – 2000. – **477**. – C. 487–495.
 28. Podgorski I., Linebaugh B., Sameni M., Jedeszko C., Bhagat S., Cher M., Sloane B. Bone microenvironment modulates expression and activity of cathepsin B in prostate cancer // Neoplasia. – 2005. – **7**. – P. 207–223.
 29. Shuja S., Ca J., Iacobuzio-Donahue C., Zacks J., Beazley R., Kasznica J., O'Hara C., Heimann R., Murnane M. Cathepsin B activity and protein levels in thyroid carcinoma, Graves' disease, and multinodular goiters // Thyroid. – 1999. – **9**, № 6. – P. 569–577.
 30. Shuja S., Murnane M. Marked increases in cathepsin B and L activities distinguish papillary carcinoma of the thyroid from normal thyroid or thyroid with non-neoplastic disease // Int. J. Cancer. – 1996. – **66**, № 4. – P. 420–426.
 31. Sloane B. Membrane association of cathepsin B can be induced by transfection of human breast epithelial cells with c-Ha-ras oncogene // J. Cell Sci. – 1994. – **107**, Pt 2. – P. 373–384.
 32. Srisomsap C., Subhasitanont P., Otto A., Mueller E., Punyarit P., Wittmann-Liebold B., Svasti J. Detection

- of cathepsin B up-regulation in neoplastic thyroid tissues by proteomic analysis // *Proteomics*. – 2002. – **2**, № 6. – P. 706–712.
33. Starling J., Clifton K., Norback D. Enzymatic and ultrastructural study of lysosomes in rats bearing radiation-induced thyroid follicular carcinoma // *J. Surg. Oncol.* – 1981. – **16**, № 1. – P. 15–25.
34. Tedelind S., Jordans S., Resemann H., Blum G., Bogyo M., Führer D., Brix K. Cathepsin B trafficking in thyroid carcinoma cells // *Thyroid Res.* – 2011. – **4**, Suppl. 1. – P. S2.
35. Tedelind S., Poliakova K., Valeta A., Hunegnaw R., Yemanaberhan E., Heldin N., Kurebayashi J., Weber E., Kopitar-Jerala N., Turk B., Bogyo M., Brix K. Nuclear cysteine cathepsin variants in thyroid carcinoma cells // *Biol. Chem.* – 2010. – **391**, № 8. – P. 923–935.
36. Vasiljeva O., Papazoglou A., Kruger A., Brodoefel H., Korovin M., Deussing J., Augustin N., Nielsen B., Almholt K., Bogyo M., Peters C., Reinheckel T. Tumor cell-derived and macrophage-derived cathepsin B promotes progression and lung metastasis of mammary cancer // *Cancer Res.* – 2006. – **66**. – P. 5242–5250.
37. Wu S., Huang Y., Yeh C., Tsai M., Liao C., Cheng W., Chen W., Lin K. Cathepsin H regulated by the thyroid hormone receptors associate with tumor invasion in human hepatoma cells // *Oncogene*. – 2011. – **30**, № 17. – P. 2057–2069.

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

*Матеріал надійшов
до редакції 11.03.2013*