

УДК 616.441–006–092.18

В.В. Хазієв, І.В. Сорокіна

*ДУ «Інститут проблем ендокринної патології ім. В.Я. Данилевського
НАМН України», м. Харків
Харківський національний медичний університет*

ЕКСПРЕСІЯ РЕЦЕПТОРІВ ДО ЕНДОТЕЛІНУ-1 У ВУЗЛОВИХ ЕУТИРЕОЇДНИХ НЕОПЛАЗІЯХ ЩИТОВИДНОЇ ЗАЛОЗИ

Проведено імуногістохімічне дослідження експресії рецепторів до ендотеліну-1 в препаратах колоїдного зоба, фолікулярних аденом та раку щитовидної залози. Виявлено позитивну імунореактивність у 100 % випадків. Шляхом дослідження інтенсивності світіння визначено максимальну статистично вірогідну експресію рецепторів до ендотеліну-1 в тканинах фолікулярного, папілярного і медулярного раку щитовидної залози, що вказує на можливість розробки таргетної терапії онкологічної тиреоїдної патології на підставі активного пошуку речовин, здатних інгібувати рецептори до ендотеліну-1.

Ключові слова: *ендотелін-1, щитовидна залоза, вузловий зоб, фолікулярна аденома, папілярний рак, фолікулярний рак, медулярний рак.*

Ендотеліни (ЕТ) – група біологічно активних пептидів широкого спектра дії, які є найважливішими регуляторами функціонального стану ендотелію. Їх вазоконстрикторні ефекти супроводжуються змінами системної та регіонарної гемодинаміки. Ці ефекти є найпотужнішими серед спричинюваних відомими досі агентами. Крім вазоконстрикторної дії, ЕТ беруть участь у регуляції росту клітин. ЕТ ідентифіковані в різних тканинах (легенях, нирках, мозку, периферичних ендокринних органах, плаценті та ін.) [1–3].

Відомо про існування трьох типів ЕТ: ЕТ-1, ЕТ-2 та ЕТ-3, які є продуктами трьох різних генів і мають виражені відмінності в структурі та судинній активності [2, 3]. Найбільш активним є ізомер ЕТ-1, який, на відміну від ЕТ-2 і ЕТ-3, утворюється не тільки в ендотелії, але й в гладких м'язах судин, нейронах, глії, мезангіальних клітинах нирок, печінці та інших органах. Він вважається причетним до ряду патологічних процесів (інфаркту міокарда, порушення ритму серця, легеневої та системної гіпертонії, атероскле-

розу, злоякісних новоутворень) [4, 5]. ЕТ-1 викликає збільшення кількості Т-лімфоцитів у тканинах і органах, що, у свою чергу, залучає інші імунокомпетентні клітини, зокрема макрофаги, які продукують фактори, що стимулюють деструкцію патологічного вогнища і призводять до несприятливого прогнозу для нормальної репарації тканин [3, 6]. Деякими авторами було доведено, що макрофаги можуть диференціюватися в дві субпопуляції: перші мали здатність знищувати пухлинні клітини, інші – посилювати їх зростання. Вони характеризувалися як клітини з вираженими ефекторними властивостями, що можуть як брати участь у захисті мікроорганізмів і малігнізованих клітин, так і протидіяти їм. Макрофаги активно продукували різні біологічно активні речовини, у тому числі окис азоту, але його надмірна кількість у поєднанні з супероксидами призводила до синтезу пероксинітритів, які через ушкодження функції гемоглобіну викликали гіпоксію з порушенням процесів регенерації тканин [7, 8].

© В.В. Хазієв, І.В. Сорокіна, 2013

В літературі є дані про посилення експресії генів, що контролюють синтез ЕТ-1, рецепторів до ЕТ-1, а також ендотелінперетворюючого ферменту при експериментальній патології щитовидної залози, зокрема при утворенні зоба, викликаного тіоурацилом і дією з низьким вмістом йоду. Синтез ЕТ-1 також посилювався під впливом багатьох факторів, у тому числі цитокінів [9–11]. Отримано дані щодо рівнів ЕТ-1 і аутоантитіл до нього при аутоімунному тиреоїдиті (АІТ), які зростали у хворих на АІТ з субклінічним гіпотиреозом, але не мали очікуваного збільшення при АІТ з маніфестним гіпотиреозом [12].

Є дані і про участь системи ЕТ в патогенезі злоякісних новоутворень, однак даних імуногістохімічних досліджень щодо вузлової патології щитовидної залози зовсім мало і вони недостатньо інформативні [13–16].

Метою дослідження було визначення особливостей експресії рецепторів до ЕТ-1 в тканинах вузлової тиреоїдної патології злоякісного і доброякісного характеру.

Матеріал і методи. В дослідженні використаний операційний матеріал 124 хворих (18 випадків одно- та багатовузлового колоїдного зоба, 60 випадків тиреоїдних фолікулярних аденом, 14 нормофолікулярних, 16 макрофолікулярних, 15 мікрофолікулярних, 15 трабекулярних і солідних, 16 випадків фолікулярного раку щитовидної залози, 19 випадків папілярного раку щитовидної залози та 11 випадків медулярного раку), що були прооперовані у хірургічному відділенні клініки Інституту проблем ендокринної патології ім. В.Я. Данилевського. Імуногістохімічне дослідження проводили на парафінових зрізах товщиною 5–6 мкм непрямым методом Кунса за методикою Brosnan [16]. Рецептори до ЕТ-1 визначали за допомогою моноклональних антитіл до ЕТ-1 (Chemicon, USA). В якості люмінесцентних міток використовували F(ab)-2 – фрагменти кролячих антитіл проти імуноглобулінів миші. Препарати вивчали в люмінесцентному мікроскопі «ЛЮМАМ-И2» з використанням світлофільтрів ФС-1-2, СЗС-24, БС-8-2, УФС-6-3. Інтенсивність експресії ендотеліну-1 визначали на мікрофлюориметрі ФЕУ-35 і виражали в умовних одиницях, рівних струму, що протікає через вимірювальний прилад. Отримані дані обробляли за допомогою статистичних методів.

Результати та їх обговорення. Імуногістохімічне дослідження виявило експресію рецепторів до ЕТ-1 ендотелію судин у 100 % препаратів колоїдного багатовузлового зоба. Середня величина цього показника становила $(33,25 \pm 3,60)$ мкА і була найменшою серед усіх досліджуваних варіантів вузлової патології щитовидної залози.

Судинний ендотелій фолікулярних аденом також активно експресував поверхневі рецептори до ЕТ-1 у 100 % досліджуваних випадків, при цьому у порівнянні з групою колоїдного багатовузлового зоба інтенсивність світіння препаратів вірогідно посилювалася (таблиця). Дана закономірність зустрічалася в усіх варіантах доброякісних фолікулярних неоплазій щитовидної залози. Максимальна інтенсивність світіння була зареєстрована в препаратах трабекулярних і солідних фолікулярних аденом – $(53,56 \pm 5,0)$ мкА, але вірогідної різниці у порівнянні з іншими патоморфологічними типами тиреоїдних аденом виявлено не було.

Ендотелій судин злоякісних новоутворень щитовидної залози максимально експресував поверхневі рецептори до ЕТ-1 у 100 % випадків. Необхідно відмітити, що у порівнянні з фолікулярними аденомами щитовидної залози, незалежно від їх гістологічного типу, інтенсивність світіння препаратів була вірогідно вищою. Статистично значущої різниці між інтенсивністю експресії в групах фолікулярного раку, папілярного раку та медулярного раку не отримано (таблиця). Необхідно відмітити максимальне світіння в групі папілярного раку щитовидної залози – $(79,0 \pm 8,0)$ мкА.

Результати проведеного дослідження свідчать про різний характер ангиогенезу в залежності від патоморфологічного типу осередкової неоплазії щитовидної залози. Отримані в ході дослідження дані вказують на 100%-ву експресію ЕТ-1 в досліджуваних препаратах раку щитовидної залози, хоча інші автори отримали тільки 90 % імунопозитивних препаратів папілярного раку щитовидної залози і відсутність світіння рецепторів до ЕТ-1 для медулярного раку щитовидної залози [17]. Тим не менш, максимальні показники експресії рецепторів до ЕТ-1 в препаратах раку щитовидної залози підтверджують активну участь ЕТ

Інтенсивність світіння рецепторів до ET-1 в ендотелії судин вузлового колоїдного зоба і пухлин щитовидної залози, (M±m) мкА

Група спостереження		Інтенсивність світіння
Вузловий колоїдний зоб		33,25±3,60
Фолікулярна аденома	нормо	48,23±4,00*
	макро	48,98±5,00*
	мікро	48,44±3,00*
	трабекулярна і солідна	53,56±5,00*
Рак щитовидної залози	фолікулярний	76,00±7,50 [#]
	папілярний	79,00±8,00 [#]
	медулярний	77,00±6,00 [#]

Примітка. p<0,05; * у порівнянні з вузловим колоїдним зобом; [#] у порівнянні із трабекулярною і солідною аденомою.

в процесах канцерогенезу і проліферації злякисних новоутворень щитовидної залози [13, 15].

В даний час відомо, що ET взаємодіють з двома видами рецепторів: ендотелін-рецептором А (ETAR) і ендотелін-рецептором В (ETBR). ET-1 переважно зв'язується з ETAR, обумовлюючи вазоконстрикторний ефект. Також реалізацію ETAR-опосередкованого сигнального шляху пов'язують з проліферацією й антиапоптозним ефектом. Реалізація ETBR-сигнального шляху, навпаки, може стимулювати апоптоз і пригнічувати пухлинну прогресію. Оскільки ETBR також забезпечує виведення ET-1, передбачається, що інгібування ETBR може підвищувати рівень вмісту ET-1 і тим самим сприяти прогресії пухлини [18]. Відомо, що одним із таких препаратів є селективний антагоніст ETAR атразентан. Спорідненість атразентану до ETAR у 1800 разів більша, ніж до ETBR. Згідно з результатами попередніх клінічних досліджень отримано збільшення часу до

прогресування пухлини у хворих на рак передміхурової залози на фоні терапії атразентаном [19]. Таким чином, розробка препаратів, що селективно інгібують ETAR, може стати одним із напрямків у лікуванні раку щитовидної залози.

Висновки

1. Дослідження експресії рецепторів до ET-1 в препаратах вузлового колоїдного зоба, фолікулярних аденом щитовидної залози та злякисних тиреоїдних новоутворень виявило позитивну імунореактивність у 100 % випадків.

2. Максимальна статистично вірогідна експресія рецепторів до ET-1 зареєстрована в тканинах фолікулярного, папілярного та медулярного раку щитовидної залози.

3. Активний пошук речовин, які здатні інгібувати рецептори до ET-1, може призвести до розробки таргетної терапії раку щитовидної залози.

Список літератури

1. Гомазков О.А. Эндотелий – «эндокринное дерево» / О.А. Гомазков // Природа. – 2000. – № 5. – С. 5–7.
2. Лупинская З.А. Эндотелий сосудов – основной регулятор местного кровотока / З.А. Лупинская // Вестник КРСУ. – 2003. – № 7. – С. 23–24.
3. Филяева Ю.А. Гомеостатические особенности ангиогенных факторов при заживлении раны гипертрофическим рубцом после маммопластики / Ю.А. Филяева, Т.Г. Тенчурина // Совр. проблемы науки и образования. – 2007. – № 2. – С. 73–74.
4. Ватутин Н.Т. Эндотелины и сердечно-сосудистая патология / Н.Т. Ватутин, Н.В. Калинкина, А.Л. Демидова // Укр. кардіол. журн. – 2006. – № 1. – С. 101–106.
5. Механізми розвитку дисфункції ендотелію та її роль у патогенезі ішемічної хвороби серця / О.О. Абрагамович, А.Ф. Файник, О.В. Нечай [та ін.] // Укр. кардіол. журн. – 2007. –

№ 4. – С. 81–87.

6. *Carncek P.* Immunoreactive endothelin in human plasma: marked elevation in patients in cardiovascular shock / P. Carncek, D.J. Stewart // *Biochemical and Biophysical Research Communications*. – 1989. – № 161. – P. 562–567.

7. *Бережная Н.М.* Роль клеток системы иммунитета в микроокружении опухоли / Н.М. Бережная // *Онкология*. – 2009. – Т. 11, № 1 (39). – С. 6–17.

8. Expression of the endothelin axis in noninvasive and superficially invasive bladder cancer: relation to clinicopathologic and molecular prognostic parameters / E. Eltze, P.J. Wild, C. Wulfing [et al.] // *Eur. Urology*. – 2009. – Vol. 56, № 5. – P. 837–847.

9. *Глазанова Т.В.* Продукция некоторых цитокинов у больных с аутоиммунными заболеваниями щитовидной железы / Т.В. Глазанова, Л.Н. Бубнова, Е.М. Трунин // *Проблемы эндокринологии*. – 2005. – № 3. – С. 29–32.

10. *Зорин Н.А.* Сравнительное изучение уровней некоторых цитокинов, белков острой фазы, тиреотропного гормона и антител к тиреопероксидазе при лечении аутоиммунного тиреоидита / Н.А. Зорин, Т.В. Аппельганс // *Цитокины и воспаление*. – 2006. – Т. 5, № 3. – С. 46–48.

11. *Исаева М.А.* Аутоантитела различных уровней специфичности и функциональности в патогенезе и диагностике аутоиммунных заболеваний щитовидной железы / М.А. Исаева, З.И. Богатырева // *Клиническая и экспериментальная тиреоидология*. – 2007. – № 3. – С. 27–34.

12. Уровень эндотелина-1 и аутоантител к нему при аутоиммунных тиреопатиях / Н.Н. Цыби-ков, А.А. Зуева, Е.Б. Жигжитова [и др.] // *Кубанск. научн. мед. вестник*. – 2009. – № 4. – С. 153–155.

13. *Donckier J.E.* Role of the endothelin axis in the proliferation of human thyroid cancer cells / J.E. Donckier, J. Mertens-Strijthagen, B. Flamion // *Clinical Endocrinology*. – 2007. – Vol. 67, № 4. – P. 552–556.

14. Endothelin axis expression in medullary thyroid carcinoma: a potential therapeutic target / J. Donckier, L. Michel, M. Delos [et al.] // *Clinical Endocrinology*. – 2004. – Vol. 61, № 2. – P. 282–284.

15. Increased expression of endothelin-1 and its mitogenic receptor ETA in human papillary thyroid carcinoma / J.E. Donckier, L. Michel, Van R. Beneden [et al.] // *Clinical Endocrinology*. – 2003. – Vol. 59, № 3. – P. 354–360.

16. *Brosman M.* Immunofluorescencne vysetrovanie formal-parafinovego materialu / M. Brosman // *Сs. patol*. – 1979. – Vol. 15, № 4. – P. 215–220.

17. Presence of endothelin-1 in the normal and pathological human thyroid / M. Lenziardi, P. Viacava, I. Fiorini [et al.] // *J. Endocrinological Investigation*. – 1995. – Vol. 18, № 5. – P. 336–340.

18. *Bagnato A.* Endothelin receptors as novel targets in tumor therapy / A. Bagnato, P.G. Natali / *J. Translational Medicine*. – 2004. – № 2. – P. 16.

19. Phase 3, randomized, controlled trial of atrasentan in patients with nonmetastatic hormone-refractory prostate cancer / J.B. Nelson, W. Love, J.L. Chin [et al.] // *Cancer*. – 2008. – № 113 (9). – P. 2478–2487.

В.В. Хазиев, И.В. Сорокина

ЭКСПРЕССИЯ РЕЦЕПТОРОВ К ЭНДОТЕЛИНУ-1 В УЗЛОВЫХ НЕОПЛАЗИЯХ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Проведено иммуногистохимическое исследование экспрессии рецепторов к эндотелину-1 в препаратах коллоидного зоба, фолликулярных аденом и рака щитовидной железы. Выявлена положительная иммунореактивность в 100 % случаев. Путём исследования интенсивности свечения определена максимальная статистически достоверная экспрессия рецепторов к эндотелину-1 в тканях фолликулярного, папиллярного и медулярного рака щитовидной железы, что указывает на возможность разработки таргетной терапии онкологической тиреоидной патологии на основании активного поиска веществ, способных ингибировать рецепторы к эндотелину-1.

Ключевые слова: эндотелин-1, щитовидная железа, узловой зоб, фолликулярная аденома, папиллярный рак, фолликулярный рак, медулярный рак.

V.V. Khaziev, I.V. Sorokina

EXPRESSION OF ENDOTHELIN-1 RECEPTORS IN THE NODULAR THYROID NEOPLASIA

Immunohistochemical study of endothelin-1 receptors expression in the tissues of colloid goiter, follicular adenomas and cancer of thyroid gland was carried out by the authors. Positive immunoreactivity was detected in 100% of cases. Maximum statistically significant expression of endothelin-1 receptors is defined in the tissues of follicular, medullary and papillary thyroid cancer by examining the emission intensity, which indicates the possibility of developing a targeted therapy of malignant thyroid pathology on the basis of an active search for substances that can inhibit the endothelin-1 receptors.

Key words: *endothelin-1, thyroid gland, nodular goiter, follicular adenoma, papillary carcinoma, follicular carcinoma, medullary carcinoma.*

Поступила 29.08.13