

Роль тиреоидных гормонов в регуляции ангиогенеза, клеточной пролиферации и миграции

Р.И. Глушаков¹, С.Н. Прошин², Н.И. Тапильская¹

¹ Санкт-Петербургская Государственная педиатрическая медицинская академия Росздрава, Санкт-Петербург

² Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова, Санкт-Петербург

The role of thyroid hormones in the regulation of the angiogenesis and cells proliferations

R.I. Glushakov¹, S.N. Proshin², N.I. Tapilskaya¹

¹ State Pediatric Medical Academy, Saint-Petersburg

² Northwestern Medical University n.a. I.I. Mechnikov, Saint-Petersburg

В обзоре представлены основные данные о проангиогенном и проканцерогенном действии гормонов щитовидной железы и их аналогов, реализуемом через негеномные механизмы. Начало негеномным эффектам дают мембранные и ядерные рецепторы тиреоидных гормонов (ТГ). Мембранным рецептором ТГ является внеклеточный домен интегрин $\alpha_v\beta_3$, содержащий аминокислотную последовательность RGD (аргинин-глицин-аспарагиновая кислота). ТГ различаются по их способности воздействовать на $\alpha_v\beta_3$: L-тироксин (T_4), связываясь через основной сайт рецептора, активирует в основном митоген-активируемую протеин-киназу (МАРК), а 3,5,3'-трийодо-L-тиронин (T_3) — фосфатидилинозитол-3-киназу (PI-3-K). Эффектами, связанными с активацией данных внутриклеточных путей трансдукции сигнала, являются повышение экспрессии фактора роста фибробластов (bFGF), сосудистого эндотелиального фактора роста (VEGF), гипоксией индуцированного фактора 1- α (HIF-1 α), что приводит к активации ангиогенеза и клеточной пролиферации. Также ТГ обладают выраженным провоспалительным действием, проявляющимся в активации провоспалительных генов: гена циклооксигеназы 2 типа (COX2), гена матриксной металлопротеиназы 9 типа (MMP9) и других. Тетрайодотироацетилловая кислота (tetrac) блокирует проангиогенные и пролиферативные эффекты ТГ.

Ключевые слова: тироксин, трийодтиронин, интегрин $\alpha_v\beta_3$, митоген-активируемая протеинкиназа, фосфатидилинозитол-3-киназа, тетрайодотироацетилловая кислота.

Актуальность

Заболевания щитовидной железы (ЩЖ) занимают первое место среди всех болезней эндокринной системы, причем женщины болеют в 3–10 раз чаще мужчин. В структуре эндокринных заболеваний диффузный токсический зоб занимает третье место после сахарного диабета и аутоиммунного тиреоидита, встречаемость заболевания у женщин также отмечается в 8–10 раз чаще, чем у мужчин [1]. Эпидемиологические исследования, выполненные в последние десятилетия, продемонстрировали, что эпизод гипертиреоза в анамнезе увеличивает относительный риск развития рака яичника (РЯ) на 80% [2], рака молочной железы (РМЖ) на 45–60% [3]. Мета-анализ ряда проведенных проспективных исследований показал, что гипотиреоз не ассоциирован с повышенным риском возникновения рака молочной железы и заместительная гормональная

A series of reports about pro-angiogenic and pro-cancerogenic activity of thyroids hormones (TH) and its analogues sold through nongenomic action. The nongenomic actions of TH require a plasma membrane receptor or nuclear receptors located in cytoplasm. The plasma membrane receptor is located on integrin $\alpha_v\beta_3$ at the Arg-Gly-Asp recognition site important to the binding by the integrin of extracellular matrix proteins. TH differ in their ability to influence the $\alpha_v\beta_3$: L-thyroxine (T_4), linking through the main site of the receptor, it activates mainly mitogen-activated protein kinase (MAPK; ERK1/2) and 3,5,3'-triiodo-L-thyronine (T_3) binding by other site affects to phosphatidylinositol-3-kinase (PI-3-K). This messengers transduce the hormone signal into complex cellular/nuclear events including increased expression of basic fibroblast growth factor (bFGF), vascular endothelial growth factor (VEGF), hypoxia-induced factor 1- α (HIF-1 α) and consequent leads to activation of angiogenesis and cell proliferation. Treatment of cell with thyroid hormones caused expression of inflammation-associated genes: cyclooxygenase-2, matrix metalloproteinase-9. Tetraiodothyroacetic (tetrac) blocks thyroid hormone effects on angiogenesis and cancer cell proliferation.

Key words: thyroxine, 3,5,3'-triiodo-L-thyronine, integrin $\alpha_v\beta_3$, mitogen-activated protein kinase (MAPK), phosphatidylinositol-3-kinase, tetraiodothyroacetic (tetrac).

терапия тиреоидными гормонами не уменьшает риски возникновения злокачественных новообразований молочной железы [4].

Геномные и негеномные эффекты тиреоидных гормонов

Тиреоидные гормоны (ТГ) имеют широкий спектр действия на весь человеческий организм. В механизме действия тиреоидных гормонов выделяют 2 механизма: геномный (классический) и негеномный. Классический молекулярный механизм действия тиреоидных гормонов включает захват L-тироксина (T_4) или 3,5,3'-трийодо-L-тиронина (T_3) клетками-мишенями, транспортировку T_3 в клеточное ядро и связывание с ядерными рецепторами тиреоидных гормонов (TR). Йодотиронины активируют транскрипцию более 100 генов. L-тироксин (T_4) является лигандом ядерного TR, но аффинность рецеп-

e-mail: psnjsn@rambler.ru

торов к T_4 гораздо меньше, чем к T_3 . Таким образом, T_3 является естественным лигандом TR. В рамках геномного механизма действия T_4 рассматривается как прогормон, который переходит в T_3 под действием тканевой дейодиназы. Активация TR может происходить без непосредственного взаимодействия с лигандом, а посредством фосфорилирования рецепторов [5].

Началу негеномным эффектам тиреоидных гормонов (T_3 и T_4), дают рецепторы плазматических мембран для T_3 и T_4 на интегине $\alpha_v\beta_3$, который связан с разновидностью митоген-активируемой протеин киназы (MAPK) — ERK1/2 (extracellular signal-regulated kinase), которая служит для трансдукции сигнала, и изоформами ядерных рецепторов, таких как TR β 1 и дериваты TR α 1, которые находятся в цитоплазме нестимулированных клеток [6].

Негеномное действие ТГ заключается в изменении цитоплазматических сигналов, исходящих от плазматической мембраны, в стимуляции внутриклеточного транспорта белков из цитоплазмы в ядро, а также действию на митохондрии и изменении активности ионных помп плазматических мембран [6]. Также йодотиронины влияют на состояние структуры актина в клетке и на интенсивность миграции клеток к или от трофических факторов [5].

Комплексное взаимодействие негеномных и геномных механизмов действия ТГ включают активацию тиреоидными гормонами через клеточную поверхность ERK1/2-зависимых путей трансдукции с последующим ERK1/2-зависимым фосфорилированием специфических сериновых протеаз нуклеопротеинов. Среди этих белков TR β 1, ER α и p53 [7].

Под действием ТГ происходит фосфорилирование их специфических рецепторов, находящихся экстрануклеарно, или фосфорилирование других белковых структур. α -изоформа ядерного рецептора к эстрогену (ER α) может быть специфически фосфорилирована при воздействии тиреоидных гормонов на клеточную мембрану. В дополнение к воздействиям на определенные ядерные белки, которые возникают после воздействия на рецепторы клеточной мембраны аналогами ТГ, впоследствии сопровождается комплексом клеточных и тканевых эффектов, индуцированных от этих интегриновых рецепторов. Среди этих эффектов опухолевая клеточная пролиферация, ангиогенез и клеточная миграция [8].

Рецептор на поверхности клетки для йодотиронинов был определен как структурный протеин на плазматической мембране практически всех клеток. Этот белок является интегрином $\alpha_v\beta_3$ — гетеродимером, который взаимодействует с большим числом белков внеклеточного матрикса (ВКМ) [6].

Сохранение жизнеспособности клеток многих типов нуждается в интегрин-опосредованной адгезии к ВКМ, иначе они подвергаются программной гибели (апоптозу). Клетки почти всех типов чувствительны к апоптозу в отсутствие внеклеточных сигналов. Известно, что интегрины контролируют фиксацию и адгезию клеток. Для переживания клеток, высокочувствительных к апоптозу, может быть необходимым захват как рецепторов для интегринов, так и рецепторов для факторов роста. Интегрины различны по способности усиливать жизнеспособность клетки. В этом отношении антиапоптотическое действие интегрина CD 51/CD61($\alpha_v\beta_3$) более выражено. Гибель клеток, лишенных надлежащих адге-

зивных контактов, создает условия для нормального морфогенеза [9].

Н.-Y. Lin с соавт. провели эксперименты по сравнению возможностей T_4 и T_3 активировать ERK1/2-, Src- и фосфатидилинозитол-3(PI-3)-киназные пути трансдукции [6]. Установлено, что ERK1/2- и PI-3-киназы участвуют в пролиферативной активности ТГ. Эти исследования на культуре клеток глиомы человека U-87MG, подтверждают, что оба гормона (T_4 и T_3) активируют ERK1/2-зависимые пути трансдукции, вызывая клеточную пролиферацию, хотя только T_3 обладает способностью увеличивать активность Src-киназы и фосфатидилинозит-3-киназы (PI-3-K) [8].

При изучении маркеров клеточной пролиферации, используя накопление ядерного антигена пролиферирующих клеток (PCNA-proliferating cell nuclear antigen) и накопление меченого H^3 -тимидина, обнаружено, что T_4 и T_3 являются факторами пролиферации для клеток глиобластомы через ERK1/2-зависимые пути.

Тетрайодотироуксусная кислота (tetrac — tetraiodothyroacetic acid, рис. 1) и RGD-пептид являются двумя ингибиторами действия йодотиронинов, конкурирующими с ними за связь с интегриновыми рецепторами. Предложена модель действия ТГ через рецепторный домен интегрина $\alpha_v\beta_3$, содержащая два сайта связывания. Через 1 сайт (S1) T_3 самостоятельно связывается и активирует Src-киназу и PI-3-K; это приводит к захвату ядром TR α и транскрипции HIF-1 α (HIF-1 α — hypoxia-inducible factor-1 α). Tetrac и RGD-пептид являются ингибиторами именно этого сайта. На другом сайте (S2) T_4 и T_3 , действуя через активацию ERK1/2, вызывают опухолевую пролиферацию. Эффекты tetrac и RGD-пептида на S2-сайте различаются: оба субстрата блокируют клеточную пролиферацию, вызванную T_4 , однако только tetrac ингибирует пролиферативные ERK1/2-зависимые эффекты T_3 [6].

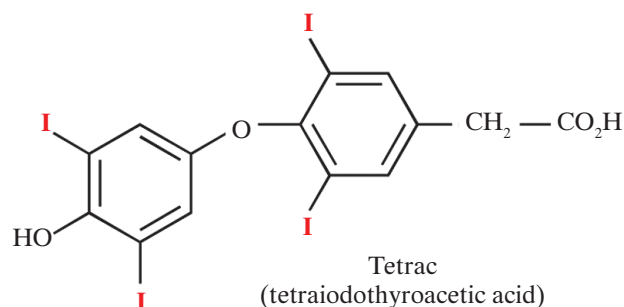


Рис. 1. Химическая формула тетрайодотироуксусной кислоты

Каскад реакций, возникающих после воздействия тиреоидных гормонов на плазматическую мембрану, включает клеточную пролиферацию в клетках эндотелия и опухолевых клетках [5]. Тиреоидные гормоны, связываясь с $\alpha_v\beta_3$, активируют ERK1/2 и тем самым способствуют ангиогенезу, клеточной пролиферации и миграции клеток [6,10]. T_4 и, в меньшей степени, T_3 , как показано, активировало через клеточную мембрану серин-треонин-киназу и MAPK.

Эта активация, реализуемая через фосфорилирование тирозина, немедленно приводит к транслокации в ядро фосфорилированной MAPK (pMAPK). В ядре активированная киназа образует комплекс

с TRβ1, вследствие чего происходит фосфорилирование серина в структуре этого рецептора [11]. Фосфорилирование деактивирует TR и индуцирует базальный уровень транскрипции. Полная активация транскрипции, вероятно, требует присутствия в ядре T₃. Действуя через интегриновый рецептор, T₄ активирует MAPK, которая фосфорилирует Ser-118 в ядерном ERα. Это действие изучено на ERα-позитивной клеточной линии РМЖ MCF-7 in vitro, где в отсутствие эстрогенов происходит усиление пролиферации клеток [5]. В этом контексте T₄ действует как эстроген. Эти исследования продемонстрировали, что тиреоидные гормоны могут оказывать пролиферативный эффект на опухолевые клетки. В дополнение ERK1/2-зависимое формирование новых сосудов было описано в клетках РМЖ и клетках глиомы [6].

Йодотиронины оказывают пролиферативное действие на ERα-положительные клетки РМЖ человека, клетки папиллярного и фолликулярного рака ЩЖ [12], клетки опухолей головы и шеи и клетки рака легких [5].

Таким образом, MAP-киназный путь трансдукции сигнала с интегринового рецептора тиреоидных гормонов приводит к ангиогенезу и опухолевому клеточному росту.

На примере клеточной линии глиобластомы U87 установлено, что оба тиреоидных гормона (T₃ и T₄) стимулируют клеточную пролиферацию, установленную путем количественной оценки PCNA. Выяснено, что фармакологический ингибитор PI-3-K — LY294002 не блокировал пролиферативные эффекты ни одного из двух аналогов гормонов. PI-3-K не влияет на пролиферативные эффекты йодотиронинов в клеточной линии, а эти два гормона отличаются по возможности активировать PI-3-K. T₄, и в меньшей степени, T₃ активизируют MAPK, а активация PI-3-K может происходить только под действием T₃ [10].

Проангиогенное действие тиреоидных гормонов

R.J. Tomanek с соавт. впервые показали влияния гормонов ЩЖ на гипертрофию миокарда: введение T₄ крысам вызывало рост капилляров левого желудочка сердца [13]. Это явление сопровождалось накоплением мРНК фактора роста фибробластов (bFGF) и белка bFGF. Поскольку эти эффекты развивались за относительно короткое время от начала воздействия, то выделена отдельная способность T₄ активировать гипертрофию кардиомиоцитов и неангиогенез в отдельные свойства тироксина [13–15].

Дальнейшие исследования выявили способность аналога тиреоидных гормонов — дийодотиропропионовой кислоты (DITPA-diiiodothyropropionic acid, рис. 2) увеличивать количество сосудистого эндотелиального ростового фактора (VEGF — vascular endothelial growth factor) и ангиопоэтина-1 (Ang-1) в коронарных артериолах крыс, при этом не увеличивалась масса миокарда у экспериментальных животных [16]. Е.Н. Kuzman с соавт. (2008) продемонстрировали на модели хомячков, что хроническое введение DITPA при кардиомиопатии сопровождалось увеличением кровотока в миокарде за счет неангиогенеза [17]. Этими же авторами установлено, что при гипотиреозе происходит снижение плотности кровеносных сосудов в головном мозге [18] и сердце [19], но введение DITPA или T₄ тиреоидэктомии-

рованным животным предотвращает это снижение. В некоторых клинических исследованиях доказана эффективность L-тироксина при хронической сердечной недостаточности [20, 21].

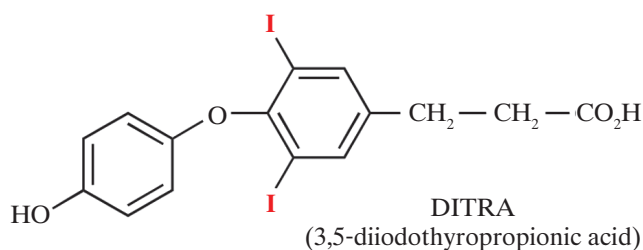


Рис. 2. Химическая формула дийодотиропропионовой кислоты

TГ вызывают формирование новых сосудов, что подробно изучено на модели хориоаллантаоиса куриных эмбрионов (chorioallantoic membrane, CAM), и в дермальных эндотелиоцитах микрососудов человека (human dermal microvascular endothelial cells, HDMEC). Tetrac ингибирует индуцированный тиреоидными гормонами ангиогенез. Так как tetrac ингибирует действия тиреоидных гормонов, которые начинаются только с интегрин α_vβ₃, то это доказывает, что проангиогенное действие T₄ является интегрин-опосредованным [8, 22].

Индукция ангиогенеза тиреоидными гормонами является комплексным процессом, который зависит от транскрипции гена bFGF. Добавление анти-bFGF в среду, ранее подвергшуюся воздействию тиреоидных гормонов, блокирует проангиогенную активность йодотиронинов (T₃ и T₄). Антитела к интегрину α_vβ₃ также обладают ингибирующим действием [5, 8]. Установлено, что экспозиция клеток глиомы линии C6 тиреоидными гормонами в течение 24 ч, способствует повышению секреции FGF2 с последующим проангиогенным действием [10]. Также тиреоидные гормоны усиливают подвижность клеток линии HDMEC в камере Бойдена. Эти факторы также участвуют в процессе ангиогенеза и строении сосудистых трубочек [5].

В 2005 г. А. Hercbergs с соавт. сообщили, что индуцированное пропилтиоурацилом нарушение гормонообразования, проявляющееся гипотиреозом легкой степени, приводило к трёхкратному увеличению времени выживаемости у пациентов с множественной (мультиформной) глиобластомой мозга (glioblastoma multiforme, GBM). В контроле лечения пациенты получали высокие дозы тамоксифена, что незначительно влияло на выживаемость [23]. Эти исследования, проведенные в США, были воспроизведены в Израиле группой ученых с участием А. Hercbergs [24] с получением аналогичных результатов. GBM является разновидностью астроцитомы и характеризуется одним из самых высоких уровней экспрессии VEGF. Установлено, что T₃ и T₄ в физиологических концентрациях являются факторами пролиферации для нескольких клеточных линий глиомы у мышей [25], которые были сопоставимы с моделью GBM. А.Н. Cristofanilli с соавт. (2006) показали, что спонтанный клинический гипотиреоз может снижать агрессивность рака молочной железы [26]. Другие авторы подтвердили, что спонтанный или индуцированный гипотиреоз является фактором, снижающим биологическую агрессивность опухоли [27]. Это под-

тверждает, что агрессивность некоторых опухолей является зависимой от ТГ.

ТГ способствуют более быстрому заживлению ран, благодаря не только проангиогенному действию, но и способности активировать пролиферацию кератиноцитов.

С одной стороны, при патологии миокарда проангиогенное действие тиреоидных гормонов клинически дополняет их инотропное и гипохолестериновое действие, с другой стороны, с точки зрения концепции канцерогенеза, где неоангиогенез признается одним из звеньев опухолевой прогрессии, проангиогенное действие тиреоидных гормонов является нежелательным [28].

Тетрайодотираоацетилловая кислота (tetrac)

Тетрайодотираоацетилловая кислота (tetrac), дериват T_4 , является непосредственным ингибитором действия T_4 и T_3 , инициированного с поверхности; внутри же клетки tetrac обладает слабой тиромиметической активностью, что установлено на его способности супрессировать секрецию ТТГ тиреотрофами гипофиза [5].

Действие tetrac на опухолевые клетки приводит к накоплению в клетках проапоптического белка Bcl-XS, при этом экспрессия белка Bcl-XL не изменяется [29]. В эксперименте продемонстрировано, что tetrac ингибирует рост опухоли и опухоль-ассоциированный ангиогенез, а также способствует уменьшению объема опухоли у ксенотрансплантатов доксорубициноустойчивого рака молочной железы [29], почечной карциномы [30] и медуллярного рака ЦЖ человека [31] на животной модели врожденных бестимусных бесшерстных мышей при 20–21-дневном введении и CAM-модели. При воздействии tetrac на клетки медуллярного рака ЦЖ [31] установлено снижение гемоглобина в опухолевом трансплантате на 66% и подтверждена активация транскрипции проапоптических генов. Tetrac также блокировала пролиферацию клеток глиомы посредством воздействия на интегрин $\alpha_v\beta_3$ [10].

В экспериментальных работах на культуре клеток ER α - и PR (рецептор к прогестерону)-негативного РМЖ человека линии MDA-MB-231 действие tetrac сравнивается с действием наночастиц tetrac (tetrac NP — nanoparticulate tetrac). Tetrac NP — это соединение, в котором молекулы tetrac ковалентно связаны с PLGA (поли(D, L-молочная кислота-со-гликолевая кислота)), в результате предотвращается поступление tetrac внутрь клетки и тем самым исключается его тиромиметическое действие, реализуемое на уровне ядерных рецепторов. Данное экспериментальное исследование позволило разобщить и исследовать отдельно геномные и негеномные эффекты. При изучении РНК-последовательностей методом микроэрея и методом полимеразно-цепной реакции в режиме реального времени (RT-PCR) установлено, что эти молекулы действуют на проапоптические гены и активируют транскрипцию гена тромбоспондина-1 (THBS1), продукты экспрессии которого обладают антиангиогенными свойствами. Как tetrac, так и tetrac NP повышали транскрипционную активность гена CBY1, известного как ингибитора экспрессии катенинов. Как известно, воздействие на β -катенин опосредованную транскрипционную активность может привести к снижению уровня клеточной пролиферации и апоптозу. Взаимодействие между β -катенином и йодотирони-

нами опосредовано через CBY1 в случае с tetrac и рецептором тиреоидных гормонов в случае с T_3 . Однако только tetrac NP ингибировал экспрессию генов XIAP и MCL1, которые ассоциированы с подавлением апоптоза. Напротив, гены CASP2 and BCL2L14, ассоциированные с активацией апоптоза, были достоверно повышены под действием tetrac NP, но повышение этих генов под действием tetrac было незначительным. Также среди генов семейства Ras, отвечающих на воздействие tetrac NP в ER α - и PR-негативных клетках рака молочной железы человека линии MDA-MB-231, выявлены Rab9P1, Rab18 — протоонкогены, экспрессия которых существенно снижается под действием tetrac NP, и Rab7B, экспрессия которого повышается. Известно, что Rab7B вовлечен в дифференцировку злокачественных клеток, например, моноцитов промиелоцитарного лейкоза. Также на линии MDA-MB-231 установлено, что при инкубации клеток с tetrac NP в течение 2 дней снижается экспрессия рецепторов EGF в 2 раза, причем в тех же условиях при воздействии обычной tetrac достоверного снижения рецепторов не наблюдалось [29].

Tetrac обладает способностью не только ингибировать ангиогенные эффекты йодотиронинов, но также обладает антиангиогенным действием в отсутствии тиреоидных гормонов. Это свойство обусловлено способностью tetrac присоединяться к RGD-последовательности, которая существует не только на интегрине, но и на некоторых других белках. Эта последовательность требуется для индукции ангиогенеза различными вазоэндотелиальными факторами роста, включая VEGF и bFGF [5]. Tetrac является малой молекулой, которая обладает способностью ингибировать неоваскуляризацию, индуцированную VEGF и bFGF. Tetrac ингибирует экспрессию гена ангиопозтина-2 (Ang-2), при этом не влияет на экспрессию ангиопозтина-1 (Ang-1) — в этом случае действие tetrac прямо противоположно действию VEGF [29].

Гормоны ЦЖ проникают через гемато-энцефалический барьер (ГЭБ), а глиальные клетки являются их главной мишенью. Многие опухоли, такие как, например, GBM являются высокоvascularизированными. Поэтому перспективно использовать антиангиогенную терапию, и tetrac имеет подходящие свойства как наномолекула с антиангиогенными свойствами, обладающая способностью проникать через ГЭБ.

Йодотиронины способствуют взаимодействию глиальных клеток с белками ВКМ, такими как ламинин и фибронектин. Высокие уровни гормонов ЦЖ способствуют миграции глиальных клеток через механизмы растяжения (удлинения) цитоскелета путем сохранения актина в F-форме и взаимодействию астроцитов с белками ВКМ. В камере Бойдена на клетках глиомы линии С6 установлено, что благодаря способности изменять межклеточные взаимодействия tetrac ингибирует миграцию [10].

Таким образом, tetrac обладает выраженным антипролиферативным и антиангиогенным действием, а также является супрессором клеточной миграции.

Влияние на экспрессию гипоксией индуцированного фактора 1- α (HIF-1 α)

L.C. Moeller с соавт. (2005) в нескольких исследованиях показали, что йодотиронины индуцировали экспрессию (HIF-1 α — hypoxia-inducible factor-1 α) [32].

Являясь ключевыми медиаторами клеточного гомеостаза кислорода, HIF-1 вместе с HIF-2 контролируют передачу кислорода тканям и адаптацию к кислородному истощению путем регуляции экспрессии генных продуктов, включающихся в клеточный энергетический метаболизм, вазомоторную регуляцию, транспорт глюкозы, эритропоэз, ангиогенез, апоптоз, клеточную пролиферацию и другие процессы, влияя как на межклеточное взаимодействие («клетка-клетка»), так и взаимодействие «клетка-матрикс».

Кроме гипоксии, транскрипционная активация HIF-1 наблюдается также под действием окиси азота, фактора некроза опухоли (TNF α), интерлейкина (IL) 1, ангиотензина. HIF-1 включается в регуляцию таких биологических процессов, как углеводный и энергетический метаболизм, ангиогенез, эритропоэз, гомеостаз железа, клеточная миграция, межклеточное и межорганное взаимодействие, напрямую участвуя в регуляции многих важных для физиологии человека факторов, к которым относятся эритропоэтин, гемоксигеназа-1, тканевой ингибитор матриксных металлопротеиназ, VEGF [33].

Белок HIF-1 α воздействует на несколько генов, контролирующих обмен углеводов в клетках, вызывая их экспрессию. Конечными продуктами этой экспрессии являются транспортер глюкозы-1 (GLUT1), тромбозитарная фосфофруктокиназа (PFKAP), монокарбоксилированный транспортер-4 (MCT4) [32]. Подобные изменения углеводного обмена отмечают при злокачественной трансформации.

Индукция экспрессии HIF-1 α , вызванная T₃, является конечным результатом негеномной инициации действия тиреоидных гормонов. В оригинальном описании это действие T₃ было иницировано в цитоплазме, но исследования L.-Y. Lin предполагают возможность реализации этого механизма через интегриновый рецептор [6].

Действие тиреоидных гормонов на цитоскелет и клеточную миграцию

C. Faivre-Sarrailh и A. Rabie (1988) обнаружили, что количество нитей актина в клетках мозжечка новорожденных с гипотиреозом значительно меньше по сравнению с нормой, и нормализовалось при интенсивном лечении с помощью T₄, что доказывало способность тиреоидных гормонов регулировать динамику преобразований цитоскелета — ключ к структурам клеток, необходимый им для миграции и взаимодействия с окружающими структурами [34]. В исследованиях C.A. Siegrist-Kaiser с соавт. (1990) и A.P. Farwell с соавт. (2005) определены молекулярные процессы, участвующие в негеномной регуляции метаболизма тиреоидных гормонов в головном мозге [35, 36]. Способность астроцитов твердо держаться на культуральном планшете находится в зависимости от наличия тиреоидных гормонов, а дальнейший анализ актинового цитоскелета выявил, что количество актиновых нитей, которые присутствовали в нормальных астроцитах, снижалось при удалении T₄ из культуральной среды [36]. Добавление либо T₄, либо обратного T₃ (реверсивного T₃) восстанавливало эти актиновые нити в течение 20 мин. в то время, когда T₃ не оказывал влияния на актиновый цитоскелет. Астроциты не имеют достаточного количества хроматин-связанных тиреоидных рецепторов, но экспрессируют оба дельта-варианта дериватов TR α -гена: TR $\Delta\alpha$ 1 и TR $\Delta\alpha$ 2, из чего стало

ясно, что эти динамические, структурные изменения в citoархитектуре не связаны с прямой регуляцией экспрессии генов [8].

Последующие работы показали, что рецепторы ламинина (интегрин из семейства трансмембранных адгезивных молекул) отвечали за инициацию связывания астроцитов на культуральном планшете. Как в астроцитах, так и в нейрональных отростках, места прикрепления актиновых нитей связываются с трансмембранными рецепторами в месте взаимодействия цитоплазматического концевой отдела и микрофиламентов актинового цитоскелета. Это позволяет клетке взаимодействовать с ВКМ и через интегриновые рецепторы передавать внутриклеточные сигналы. Важно, что астроциты производят большинство, если не все, ламинины в головном мозге. Продемонстрировано, что уменьшение актиновых нитей в астроцитах при гипотиреозе уменьшает их способность связываться с сопровождающими молекулами клеточной поверхности, что приводит к уменьшению клеточных контактов как *in vitro*, так и при развитии мозжечка [5].

Следствием воздействия тиреоидных гормонов, является запрограммированная миграция гранулярных клеток из наружного гранулярного слоя во внутренний в мозжечке новорожденных. При гипотиреозе, воспроизведенном на культуре клеток астроцитов, происходит задержка и увеличивается время появления и количество ламинина астроцитов, находящегося в молекулярном слое развивающегося мозжечка крыс, по сравнению с таковым при эутиреоидном состоянии. Неспособность астроцитов при гипотиреозе соединяться с рецепторами ламинина приводит к нарушению накопления и характера секреции ламинина, предельного снижения ключевых проводящих сигналов для миграции зернистых клеток [5, 8].

Анализ лиганд-активирующих свойств эффекторных молекул, возникающих при T₄-зависимом изменении полимеризации актина, определяет важную роль аланинового участка цепи. Конечный отрицательный заряд аланинового участка цепи T₄ отрицательно влияет на его способность воздействовать на динамику организации микрофиламентов, тогда как при отсутствии заряда или положительном заряде аланинового участка цепи T₄ сохраняет функциональные свойства. Важно отметить, что эти свойства лиганда определяются особенностями TR или других T₄-связывающих белков, указывая на то, что медиатор T₄-зависимой полимеризации актина обладает уникальной лиганд-специфичностью. Отметим, что способность tetras блокировать полимеризацию актина выделяет его способность блокировать пролиферацию клеток глиомы или ингибировать миграцию C6 линии клеток, что наводит на мысль об антипролиферативных свойствах этого аналога тиреоидных гормонов, которое обуславливает его биологические эффекты, не влияя на полимеризацию актина [5].

Роль тиреоидных гормонов в пролиферации и онкогенезе

M.T. Rae с соавт. (2007) открыли, что T₃ дозозависимо стимулировал *in vitro* экспрессию генов COX2, MMP9, 11 β HSD1 в клетках поверхностного эпителиального слоя яичников (ПЭСЯ) и не влиял на активность MMP2 [37]. Отметим, что все эти гены ассоциированы с воспалением: ген COX2 кодирует простагландин-H-синтазу (циклооксигеназу),

осуществляющую синтез промежуточного простагландина H2, ген HSD11B1 кодирует 11 β -гидроксистероид дегидрогеназу 1-го типа (11 β -HSD1), отвечающую за противовоспалительную регенерацию кортизола в клетках ПЭСЯ [37], ген MMP9 кодирует матриксную металлопротеиназу 9-го типа (ММП-9) — эндопептидазу, вовлеченную в процесс овуляции и принимающую участие в процессах опухолевой инвазии и в ангиогенезе [38].

Эти данные соответствуют результатам, полученным другими учеными при исследовании экспрессии генов при воздействии на них тиреоидных гормонов в клетках печени, кожи, в жировой ткани *in vitro* [39]. Все эти доказательства свидетельствуют о провоспалительном ответе на действие T₃, включая синтез фибриногена, тканевого активатора плазминогена при сверхэкспрессии TR α в культуре клеток гепатомы; гаптоглобина, орозомукоида и интерлейкина в фибробластах кожи человека; липополисахарид (ЛПС) — связывающего протеина и рецептора липополисахарида в адипоцитах человека [37]. По-видимому, провоспалительное действие тиреоидных гормонов, не ограничено только клетками ПЭСЯ, а помимо репродуктивной системы действует и на другие органы и системы.

Следует отметить, что повышенный уровень COX2 характерен для различных типов рака [40], а повышенная активность COX2, выражающаяся в синтезе увеличенного количества простагландина E2 (PgE₂), стимулирует ангиогенез [41] и подавляет апоптоз [42].

Также M.T. Rae с соавт. (2007) *in vitro* открыли, что T₃ оказывал значительное (более чем 3-кратное по сравнению с контролем) повышение уровня экспрессии ER α , в то время как экспрессия β изоформ существенно не изменялась. Хотелось добавить, что в норме клетки ПЭСЯ экспрессируют α и β изоформу ER, а соотношение ER α /ER β повышено в опухолях яичника по сравнению с нормальными клетками [37].

Является немаловажным, что клетки линии GH3 экспрессируют повышенное количество ER α и T₃ предотвращает эстрадиол-опосредованный 26S протеолиз ER α в культуре клеток гипофиза человека. Таким образом, эти данные служат доказательством изоформ-специфического воздействия на ER в клетках-мишенях тиреоидных гормонов. Крайне важно, что увеличивается доказательная база роли эстрогенов в развитии, росте, инвазии и метастазировании рака яичников посредством избирательной активации ER α . Использование ER α и ER β специфических лигандов в культуре раковых клеток яичников человека указывают на то, что через активацию ER α , главным образом, происходят вызванные эстрогеном изменения в генной экспрессии. Таким образом, предположено, что стимулированный эстрогенами рост карциномы яичников опосредован ER α -, но не ER β -зависимой активацией транскрипции [37].

Учитывая провоспалительную особенность действия тиреоидных гормонов и способствующее повышению уровня α -изоформы ER, как описано выше, свидетельствует, что хронический гипертиреоз может способствовать возникновению хронической неактивной воспалительной реакции, которая делает клетки ПЭСЯ более восприимчивыми к малигнизации и развитию эстроген-зависимых опухолей [43].

T₃ является сильным митогеном для гепатоцитов, вызывая гиперплазию и полиплоидизацию *in vivo*. В

исследованиях F. Dombrowski с соавт. (2000) крысам Льюиса через 2 нед. после удаления ЩЖ вводили части этого аутоотрансплантата в печень через портальную вену. Установлено, что в окружающих трансплантат тканях печени происходило значительное снижение содержания гликогена, снижение экспрессии гликогенфосфорилазы и гликоген синтазы, при усилении экспрессии циклооксигеназы, митохондриальной глицерол-6-фосфат дегидрогеназы, НАДФ-зависимой малатдегидрогеназы, глюкозо-6-фосфатазы, глюкозо-6-фосфат дегидрогеназы, сукцинатдегидрогеназы и кислой фосфатазы. Данные изменения экспрессии гликогена и ферментов являются маркерами амфифильных очагов печени, появление которых описывается как предраковое состояние, что подтверждается другими исследованиями. Но в отличие от амфифильных очагов печени в данном исследовании не было достоверного увеличения экспрессии γ -глутамилтрансферазы, трансформирующего фактора роста- α (TGF- α), глутатион-S-трансферазы и пируваткиназы [44].

Относительно активации тиреоидными гормонами ММП-9, следует добавить, что многие протеолитические ферменты, такие как катепсины, сериновые протеазы способны лизировать отдельные компоненты ВКМ *in vitro*, однако разлагать все структуры ВКМ могут только матриксные металлопротеиназы, с активностью которых связывают степень инвазивного роста и метастазирование опухолевых клеток. ММП-9 (желатиназа В) в здоровых растущих и регенерирующих тканях играет ведущую роль в ангиогенезе, растворяя стромальные элементы, она тем самым прокладывает путь для растущих капилляров. Оценить важность этого фермента в ангиогенезе можно у экспериментальных мышей, у которых с помощью генных технологий удален ген, отвечающий за продукцию ММП-9. Это привело к значительной задержке неоангиогенеза, ассоциированной с недостатком ММП-9, которая была восстановлена добавлением очищенного фермента. Желатиназа В обеспечивает ангиогенез и в опухолевой ткани, тем самым способствуя ее росту. Кроме того, ММП-9 играет прямую роль в эпителиогенном онкогенезе. Было обнаружено, что уровень экспрессии ММП-9 у пациентов с поверхностной переходноклеточной карциномой мочевого пузыря достоверно выше в рецидивирующих опухолях по сравнению с этими показателями у пациентов без рецидива и, следовательно, уровень экспрессии мРНК ММП-9 может использоваться для оценки возникновения рецидива у этих больных [45]. Повышенная экспрессия ММП-9 была обнаружена в инвазивном фронте карцином головы и шеи, прогностическая важность уровня ММП-9 — у больных раком желудка и у больных раком гортани. Клинические работы также подтверждают важную роль ММП-9 в развитии опухолей. Так концентрация ММП-9 была статистически выше в слизистых карциномах яичников, чем в доброкачественных опухолях. В плазме крови и в опухолевой ткани у пациентов с почечной карциномой концентрации ММП-9 были значительно выше, чем в нормальных образцах. Также высокие уровни ММП-9 в карциномах яичника напрямую коррелируют со способностью опухолевых клеток к инвазивному росту [46]. Таким образом, активация йодотиронинами генов ММП-9 является дополнительным стимулом ангиогенеза.

При гипертиреозе в отличие от гипотиреоза менструальные циклы овуляторные [47]. Это имеет огромное практическое значение, так как непрерывающаяся овуляция всегда ассоциирована с воспалительной реакцией, которая возникает во время травмы мезотелия яичников при разрыве фолликула. Большинство новообразований яичников происходит из клеток поверхностного эпителиального слоя, возможно, по причине генных мутаций, вызванных хронической воспалительной реакцией, при которой происходит повреждение ДНК. Подавление овуляции, возникающая в период беременности, лактации, а также при применении комбинированных оральных контрацептивов, уменьшают риск возникновения рака яичников. Непрерывающееся ассоциированное с воспалением повреждение и естественное восстановление, которому подвергается поверхностный эпителиальный слой яичников во время овуляции, делает эти клетки особенно восприимчивыми к повреждению генетического аппарата и развитию неопластических процессов, что, таким образом, объясняет установленную связь между частотой овуляции и риском развития рака яичников [37].

Выполненные скрининговые исследования различных олигонуклеотидных последовательностей нормальных клеток ПЭСЯ продемонстрировали множество мутаций мРНК, кодирующих ядерные рецепторы к гормонам, играющим важную роль в онкогенезе, включая рецепторы гормонов ЩЖ и эстрогенов.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Балаболкин М.И., Клебанова Е.М., Креминская В.М. Фундаментальная и клиническая тиреология. М.: Медицина; 2007: 816.
2. Ness R.B., Grisso J.A., Cottreau C. et al. Factors related to inflammation of the ovarian epithelium and risk of ovarian cancer. *Epidemiology*. 2000; 11: 111–17.
3. Shering S.G., Zbar A.P., Moriarty M. et al. Thyroid disorders and breast cancer. *Eur. J. Cancer. Prev.* 1996; 5(6): 504–6.
4. Angelousi A.G., Anagnostou V.K., Stamatakis M.K. et al. Primary Hypothyroidism and Risk for Breast Cancer: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Eur. J. Endocrinol.* 2011; EJE-11-0838 (<http://eje-online.org>).
5. Davis P.J., Leonard J.L., Davis F.B. Mechanisms of nongenomic actions of thyroid hormone. *Frontiers in Neuroendocrinology*. 2008; 29: 211–18.
6. Lin H.-Y., Sun M., Tang H.-Y. et al. L-Thyroxine vs. 3,5,3'-triiodo-L-thyronine and cell proliferation: activation of mitogen-activated protein kinase and phosphatidylinositol-3-kinase. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* 2009; 296: 980–91.
7. Davis P.J., Shih A., Lin H.-Y. et al. Thyroxine promotes association of mitogen-activated protein kinase and nuclear thyroid hormone receptor (TR) and causes serine phosphorylation of TR. *J. Biol. Chem.* 2000; 275: 38032–39.
8. Davis P.J., Davis F.B., Mousa S.A. et al. Membrane receptor for thyroid hormone: physiologic and pharmacologic implications. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 2011; 51: 99–115.
9. Schwartz M.A. Integrin signaling revisited. *Trends Cell Biol.* 2001; 11: 466–70.
10. Davis F.B., Tang H.-Y., Shih A. et al. Acting via a cell surface receptor, thyroid hormone is a growth factor for glioma cells. *Cancer Res.* 2006; 66(14): 7270–5.
11. Lin H.-Y., Tang H.-Y., Shih A. et al. Thyroid hormone is a MAPK-dependent growth factor for thyroid cancer cells and is anti-apoptotic. *Steroids* 2007; 72: 180–7.
12. Tomanek R.J., Doty M.K., Sandra A. Early coronary angiogenesis in response to thyroxine. Growth characteristics and upregulation of basic fibroblast growth factor. *Circ. Res.* 1998; 82: 587–93.
13. Tomanek R.J., Busch T.L. Coordinated capillary and myocardial growth in response to thyroxine treatment. *Anat. Rec.* 1998; 251: 44–9.
14. Barreto-Chaves M.L., de Souza Monteiro P., Fürstenau C.R. Acute actions of thyroid hormone on blood vessel biochemistry and physiology. *Curr. Opin. Endocrinol. Diabetes. Obes.* 2011; 18(5): 300–3.
15. Wang X., Zheng W., Christensen L.P. et al. DITPA stimulates bFGF, VEGF, angiopoietin, and Tie-2 and facilitates coronary arteriolar growth. *Am. J. Physiol.* 2003; 284: 613–8.
16. Kuzman J.A., Tang Y., Vogelsang K.A. et al. Thyroid hormone analog, diiodothyropropionic acid (DITPA), exerts beneficial effects on chamber and cellular remodeling in cardiomyopathic hamsters. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 2007; 85: 3121–318.
17. Schlenker E.H., Hora M., Liu Y. et al. Effects of thyroidectomy, T4, and DITPA replacement on brain blood vessel density in adult rats. *Am. J. Physiol.* 2008; 294: 1504–9.
18. Liu Y., Redetzke R.A., Said S. et al. Serum thyroid hormone levels may not accurately reflect thyroid tissue levels and cardiac function in mild hypothyroidism. *Am. J. Physiol.* 2008; 294: 2137–42.
19. Fazio S., Palmieri E.A., Lombardi G., et al. Effects of thyroid hormone on the cardiovascular system. *Recent. Prog. Horm. Res.* 2004; 59: 31–50.
20. Pingitore A., Galli E., Barison A., et al. Acute effects of triiodothyronine (T3) replacement therapy in patients with chronic heart failure and low-T3 syndrome: a randomized, placebo-controlled study. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2008; 93: 1351–8.
21. Davis P.J., Lin H.-Y., Mousa S.A. et al. Overlapping nongenomic and genomic actions of thyroid hormone and steroids. *Steroids* 2011; 76 (9): 829–33.
22. Hercbergs A.A., Goyal L.K., Suh J.H. et al. Propylthiouracil-induced chemical hypothyroidism with high-dose tamoxifen prolongs survival in recurrent high grade glioma: a Phase I/II study. *Anticancer. Res.* 2003; 23: 617–26.
23. Linetsky E., Hercbergs A.A., Dotan S. et al. Time to tumor progression (TTP) and quality of life (QOL) following propylthiouracil induction of chemical hypothyroidism in failed malignant gliomas. *Proceedings of the Second Quadrennial Meeting of the World Federation of Neurooncology*. 2005; 7(3): 318.
24. Cohen K., Ellis M., Khoury S. et al. Thyroid hormone is a MAPK-dependent growth factor for human myeloma cells acting via $\alpha_v\beta_3$ integrin. *Mol. Cancer Res.* 2011; 9(10): 1385–94.
25. Cristofanilli M., Yamamura Y., Kau S.W., et al. Thyroid hormone and breast carcinoma. Primary hypothyroidism is associated with a reduced incidence of primary breast carcinoma. *Cancer*. 2005; 103: 1122–8.
26. Hercbergs A.H., Ashur-Fabian O., Garfield D. Thyroid hormones and cancer: clinical studies of hypothyroidism in oncology. *Curr. Opin. Endocrinol. Diabetes. Obes.* 2010; 17(5): 432–6.
27. Davis P.J., Davis F.B., Mousa S.A. Thyroid hormone induced angiogenesis. *Current Cardiol. Rev.* 2009; 5: 12–6.

28. Lin H.Y., Cody V., Davis F.B. et al. Identification and functions of the plasma membrane receptor for thyroid hormone analogues. *Discov. Med.* 2011; 11(59): 337–47.
29. Glinskii A.B., Glinsky G.V., Lin H.-Y. et al. Modification of survival pathway gene expression in human breast cancer cells by tetraiodothyroacetic acid (tetrac). *Cell Cycle* 2009; 8(21): 3562–70.
30. Yalcin M., Bharali D.J., Lansing L. et al. Tetraiodothyroacetic acid (Tetrac) and tetrac nanoparticles inhibit growth of human renal cell carcinoma xenografts. *Anticancer Res.* 2009; 29 (10): 3825–31.
31. Yalcin M., Dyskin E., Lansing L. et al. Tetraiodothyroacetic acid (tetrac) and nanoparticulate tetrac arrest growth of medullary carcinoma of the thyroid. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2010; 95(4): 1972–80.
32. Moeller L. C., Dumitrescu A. M., Refetoff S. Cytosolic action of thyroid hormone leads to induction of hypoxia-inducible factor-1- α and glycolytic genes. *Mol. Endocrinol.* 2005; 19: 2955–63.
33. Hirota K., Semenza G.L. Regulation of angiogenesis by hypoxia-inducible factor 1. *Critical Reviews in oncology/hematology.* 2006; 59: 15–26.
34. Faivre-Sarrailh C., Rabie A. A lower proportion of filamentous to monomeric actin in the developing cerebellum of thyroid-deficient rats. *Brain Res.* 1988; 469: 293–7.
35. Farwell A.P., Dubord-Tomasetti S.A., Pietrzykowski A.Z., Leonard J.L. Regulation of cerebellar neuronal migration and neurite outgrowth by thyroxine and 3,3',5'-triiodothyronine. *Brain Res. Dev. Brain Res.* 2005; 154: 121–35.
36. Siegrist-Kaiser C.A., Juge-Aubry C., Tranter M.P. et al. Thyroxine-dependent modulation of actin polymerization in cultured astrocytes. A novel extranuclear action of thyroid hormone. *J. Biol. Chem.* 1990; 265: 5296–302.
37. Rae M. T., Gubbay O., Kostogiannou A. et al. Thyroid hormone signaling in human ovarian surface epithelial cells. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2007; 92(1): 322–7.
38. Nicosia S.V., Bai W., Cheng J.Q., et al. Oncogenic pathways implicated in ovarian epithelial cancer. *Hematol. Oncol. Clin. North. Am.* 2003; 17: 927–43.
39. Shih C., Chen S., Yen C. et al. Thyroid hormone receptor-dependent transcriptional regulation of fibrinogen and coagulation proteins. *Endocrinol.* 2004; 145: 2804–14.
40. Voutsadakis I.A. Pathogenesis of colorectal carcinoma and therapeutic implications: roles of ubiquitin-proteasome system and COX-2. *J. Cell Mol. Med.* 2007; 11: 252–85.
41. Tsujii M., Kawano S., Tsuji S. et al. Cyclooxygenase regulates angiogenesis induced by colon cancer cells. *Cell.* 1998; 93: 705–16.
42. Stolina M., Sharma S., Lyn Y. et al. Specific inhibition of cyclooxygenase 2 restores antitumor reactivity by altering the balance of IL-10 and IL-12 synthesis. *J. Immunol.* 2000; 164: 361–70.
43. Balkwill F., Charles K.A., Mantovani A. Smoldering and polarized inflammation in the initiation and promotion of malignant disease. *Cancer Cell.* 2005; 7: 211–7.
44. Dombrowski F., Klotz L., Hacker H. J. et al. Hyperproliferative hepatocellular alterations after intraportal transplantation of thyroid follicles. *Am. J. Pathol.* 2000; 156: 99–113.
45. Hara I., Miyake H., Hara S. et al. Clinical outcome of radical cystectomy for patients with pT4 bladder cancer. *Int. J. Urol.* 2001; 165 (5): 1769–72.
46. Huang L.W., Garrett A.P., Bell D.A. et al. Differential expression of matrix metalloproteinase-9 and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 protein and mRNA in epithelial ovarian tumors. *Gynecol. Oncol.* 2000; 77(3): 369–76.
47. Krassas G.E. Thyroid disease and female reproduction. *Fertil. Steril.* 2000; 74(6): 1063–70.
48. Rosen M.D., Chan I.H., Privalsky M.L. Mutant thyroid hormone receptors (TRs) isolated from distinct cancer types display distinct target gene specificities: a unique regulatory repertoire associated with two renal clear cell carcinomas. *Mol. Endocrinol.* 2011; 25(8): 1311–25.
49. Furuya F., Hanover J.A., Cheng S.Y. Activation of phosphatidylinositol-3-kinase signaling by a mutant thyroid hormone beta receptor. *PNAS USA* 2006; 103: 1780–5.
50. Garfield D.H., Wolter P., Schöffski P. et al. Documentation of Thyroid Function in Clinical Studies With Sunitinib: Why Does It Matter? *J. Clin. Oncol.* 2008; 26 (31): 5131–3.

Поступила 25.11.2011