

УДК 616.441-006.6-085.2:577.175/443:616.155.32

Т. А. МИТЮКОВА<sup>1</sup>, Т. А. ЛЕОНОВА<sup>2</sup>, С. В. МАНЬКОВСКАЯ<sup>1</sup>, О. В. СВИРИДОВ<sup>3</sup>

## ОСНОВНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ СПЕЦИФИЧЕСКОГО СВЯЗЫВАНИЯ ТРИЙОДТИРОНИНА С КЛЕТКАМИ-МИШЕНЯМИ У ПАЦИЕНТОВ С КАРЦИНОМОЙ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ НА ФОНЕ ЛЕЧЕНИЯ

(Представлено членом-корреспондентом И. В. Залуцким)

<sup>1</sup>Институт физиологии НАН Беларуси, Минск, Беларусь  
mityukovat@gmail.com; mankovskaya\_svet@mail.ru

<sup>2</sup>Минский городской клинический онкологический диспансер, Минск, Беларусь  
avinir@mail.ru

<sup>3</sup>Институт биоорганической химии НАН Беларуси, Минск, Беларусь  
olegsvir@yandex.by

Проведено изучение параметров специфического связывания трийодтиронина с лимфоцитами у пациентов, оперированных по поводу высокодифференцированного рака щитовидной железы и получающих комплексное лечение в среднем около 15 лет. У пациентов выявлено достоверное повышение сродства взаимодействия и снижение количества связывающих мест по сравнению с этими характеристиками у лиц группы контроля. Показана связь изучаемых показателей с факторами лечения и его продолжительностью. У пациентов с избыточной массой тела было выявлено достоверное повышение аффинности взаимодействия и снижение количества связывающих мест по сравнению с лицами с нормальной массой тела, что объясняет сниженную потребность в тироксине у этой группы пациентов.

*Ключевые слова:* специфическое связывание трийодтиронина, лимфоциты, карцинома щитовидной железы.

T. A. MITYUKOVA<sup>1</sup>, T. A. LEONOVA<sup>2</sup>, S. V. MANKOVSKAYA<sup>1</sup>, O. V. SVIRIDOV<sup>3</sup>

## BASIC CHARACTERISTICS OF SPECIFIC TRIIODOTHYRONINE BINDING WITH CELL-TARGETS OF PATIENTS WITH THYROID CARCINOMA DURING TREATMENT

<sup>1</sup>Institute of Physiology of National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus  
mityukovat@gmail.com; mankovskaya\_svet@mail.ru

<sup>2</sup>Minsk City Clinical Oncologic Dispensary, Minsk, Belarus  
avinir@mail.ru

<sup>3</sup>Institute of Bioorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus  
olegsvir@yandex.by

The parameters of specific triiodothyronine binding with lymphocytes of patients operated for highly differentiated thyroid cancer and received comprehensive treatment, on the average, for 15 years are studied. These patients have revealed a significant increase of interaction affinity and a decrease in the number of binding places in comparison with these characteristics of the persons of the control group. A relationship of the studied indices between the factors of treatment and its duration is shown. Patients with overweight have revealed a significant increase in interaction affinity and a decrease in the number of binding places as compared to patients with normal weight, which explains a decreased need in triiodothyronine in this group of patients.

*Keywords:* specific binding of the triiodothyronine, lymphocytes, thyroid carcinoma.

**Введение.** Комбинированное лечение при высокодифференцированном раке щитовидной железы (ВДРЩЖ) включает тотальную тиреоидэктомию (ТТЭ), радиоiodтерапию (РИТ) и супрессивную терапию L-тироксина [1], что, как правило, приводит к стабильной ремиссии и дает благоприятный прогноз на будущее. Необходимо принимать во внимание, что хирургическое вмешательство, РИТ и лечение высокими дозами тироксина могут провоцировать изменения метаболизма, которые, в свою очередь, способны оказывать влияние на механизм действия гормонального препарата, поэтому изучение рецепции тиреоидных гормонов является актуаль-

ным у лиц, которые получают препараты тироксина в высоких дозах с целью подавления продукции тиреотропного гормона (ТТГ). Известно, что основные метаболические эффекты тиреоидных гормонов реализуются через их взаимодействие с ядерными рецепторами [2; 3]. Изучение специфического связывания на цельных клетках и на ядрах лимфоцитов давало близкие характеристики аффинности связывающих мест, поэтому был сделан вывод о том, что при изучении специфического связывания с клетками-мишенями основной вклад дает взаимодействие с ядерными рецепторами [2; 3]. Показано, что в лимфоцитах присутствуют однотипные сайты для связывания тироксина (Т4) и трийодтиронина (Т3), обладающие более высоким сродством к Т3 [4–7]. Мононуклеарные клетки крови обладают высокой чувствительностью к активирующему действию Т3 и поэтому являются адекватной мишенью для изучения гормон-клеточного взаимодействия [4–7].

Цель работы – изучить влияние комбинированного лечения и антропометрических параметров на специфическое связывание Т3 с клетками-мишенями (лимфоцитами) пациентов, прооперированных по поводу ВДРЩЖ.

**Материалы и методы исследования.** Определение параметров специфического связывания Т3 с лимфоцитами было проведено у 82 пациентов (52 женщины и 30 мужчин), прооперированных по поводу ВДРЩЖ, и у 26 человек из группы контроля аналогичного возраста (16 женщин и 10 мужчин). Основная масса пациентов подвергалась ТТЭ – 74 чел., гемитиреоидэктомия (ГТЭ) была проведена у 8 человек. Большинство пациентов проходили РИТ – 72 чел. (1–2 курса РИТ – 42 чел., 3–10 курсов РИТ – 30 чел.). Средний возраст пациентов составлял  $26,26 \pm 0,65$  лет, средняя продолжительность лечения –  $11,15 \pm 0,83$  лет. Средняя доза тироксина у больных раком щитовидной железы (ЩЖ) составляла  $2,55 \pm 0,09$  мкг/кг массы тела. Среди пациентов было 22 человека (27 %) с избыточной массой тела и ожирением. У этой подгруппы лиц индекс массы тела (ИМТ) превышал  $25 \text{ кг/м}^2$ , среднее значение ИМТ –  $29,57 \pm 0,89 \text{ кг/м}^2$ . У остальных 60 чел. ИМТ был в пределах нормы (ИМТ =  $20,97 \pm 0,37 \text{ кг/м}^2$ ). В группе контроля лица с нормальным ИМТ составляли 80 %.

УЗИ ЩЖ и области шеи проводилось с помощью прибора Hitachi EUB-405 (датчик 7,5 МГц). Лица из группы контроля не имели отклонений по данным УЗИ щитовидной железы и по состоянию тиреоидного статуса. Определение гормонов в сыворотке крови проводили с использованием РИА- и ИРМА-наборов производства ХОП ИБОХ НАН Беларуси. Интервалы нормы: тиреотропный гормон (ТТГ) – 0,17–4,05 мМЕ/л, свободный Т4 (св. Т4) – 11,5–23,0 пмоль/л, свободный Т3 (св. Т3) – 2,5–5,8 пмоль/л.

Популяцию моноядерных клеток крови, обогащенных лимфоцитами, выделяли общепринятым способом [8]. Изучение специфического связывания Т3 с лимфоцитами проводили как описано в работах [4–7] с некоторыми модификациями [9]. Для расчета равновесной константы ассоциации (Ка) и количества связывающих мест на клетку (*n*) использовали графики Скэтчарда [10] и специальную компьютерную программу [10].

Статистический анализ полученных данных проводили преимущественно с использованием методов параметрической статистики, поскольку показатели давали распределение, близкое к нормальному, либо привлекали методы непараметрической статистики. Для сравнения двух групп использовали критерий Стьюдента и нескольких групп – поправку Бонферрони. Результаты представлены преимущественно в виде средних величин и их стандартных ошибок ( $\bar{X} \pm Sx$ ). Достоверными считали отличия при  $P < 0,05$ .

**Результаты и их обсуждение.** Статистическая обработка результатов показала, что в группе контроля значение Ка составляет в среднем  $(4,41 \pm 0,49) \cdot 10^{-10} \text{М}^{-1}$ , а в группе пациентов эта величина существенно выше –  $(8,57 \pm 0,74) \cdot 10^{-10} \text{М}^{-1}$  ( $P < 0,05$ ; табл. 1). В группе здоровых лиц количество связывающих мест для Т3 составляло в среднем 663 мол/кл, а в группе пациентов было несколько ниже – 421 мол/кл ( $P < 0,05$ ; табл. 1).

Как видно из данных табл. 1, у пациентов с ВДРЩЖ отмечалось достоверное повышение уровня св. Т4 по сравнению с лицами из группы контроля, что обусловлено приемом тироксина в супрессивных дозах. Анализ показателей в зависимости от пола пациентов и объема операции не выявил достоверных отличий.

Т а б л и ц а 1. Параметры специфического связывания ТЗ с лимфоцитами у лиц из группы контроля и у пациентов, прооперированных по поводу ВДРЦЖ, в зависимости от пола и объема операции

Группа	Ка, $\times 10^{-10} \text{M}^{-1}$	n, мол/кл	св. Т4, пмоль/л	св. Т3, пг/мл
Контроль	4,41 ± 0,49	663 ± 86	15,23 ± 1,09	3,39 ± 0,52
Пациенты	8,57 ± 0,74*	421 ± 31*	23,58 ± 0,83*	3,99 ± 0,27
Пациенты (ж)	8,77 ± 0,85	421 ± 37	23,37 ± 1,17	4,05 ± 0,35
Пациенты (м)	8,21 ± 1,44	420 ± 56	23,94 ± 1,10	3,85 ± 0,44
ГТЭ	10,24 ± 1,16	379 ± 19	23,28 ± 0,83	4,59 ± 0,39
ТТЭ	8,39 ± 0,81	425 ± 34	23,61 ± 0,92	3,91 ± 0,30

П р и м е ч а н и е. \* – достоверные отличия от контроля,  $P < 0,05$ .

Далее представлены данные по влиянию супрессивной терапии на параметры специфического связывания ТЗ с лимфоцитами (табл. 2).

Т а б л и ц а 2. Параметры специфического связывания ТЗ с лимфоцитами у лиц из группы контроля и у пациентов, прооперированных по поводу ВДРЦЖ, в зависимости от степени супрессии ТТГ

Группа	Ка, $\times 10^{-10} \text{M}^{-1}$	n, мол/кл	св. Т4, пмоль/л	св. Т3, пмоль/л	Доза Т4, мкг/кг
Контроль	4,41 ± 0,49	663 ± 86	15,23 ± 1,09	3,39 ± 0,52	–
Пациенты	8,57 ± 0,74*	421 ± 31*	23,58 ± 0,83*	3,99 ± 0,27	2,55 ± 0,09
ТТГ > 0,5 мМЕ/л	7,53 ± 1,09	449 ± 47	18,05 ± 1,64	3,32 ± 0,31	2,47 ± 0,12
ТТГ < 0,5 мМЕ/л	9,00 ± 0,95*	409 ± 40	25,85 ± 0,57*	4,38 ± 0,36	2,58 ± 0,11
ТТГ: 0,1–0,5 мМЕ/л	9,75 ± 1,41*	372 ± 50	25,69 ± 0,49*	3,64 ± 0,49	2,64 ± 0,15
ТТГ < 0,1 мМЕ/л	6,35 ± 0,91	522 ± 96	27,81 ± 1,30*	5,60 ± 0,50*	2,63 ± 0,27

П р и м е ч а н и е. \* – достоверные отличия от контроля,  $P < 0,05$ .

У пациентов с ТТГ менее 0,5 мМЕ/л наблюдалось достоверное повышение Ка и тенденция к снижению n по сравнению с контролем. Группы лиц с ТТГ менее 0,5 мМЕ/л и ТТГ в интервале 0,1–0,5 мМЕ/л имели практически идентичные характеристики связывания ТЗ. В группе суперсупрессии значение Ка приближалось к нормализации, что может быть защитной реакцией на чрезмерно выраженное влияние тироксинотерапии (достоверное повышение не только уровня св. Т4, но и св. Т3). При сравнении показателей связывания ТЗ у пациентов с различными уровнями ТТГ достоверных отличий между этими группами не выявлено.

При изучении влияния РИТ на параметры специфического связывания ТЗ с лимфоцитами было установлено, что в группах пациентов с разным количеством курсов радиойодтерапии сохраняются общие закономерности, характерные для группы пациентов в целом (рис. 1). Однако

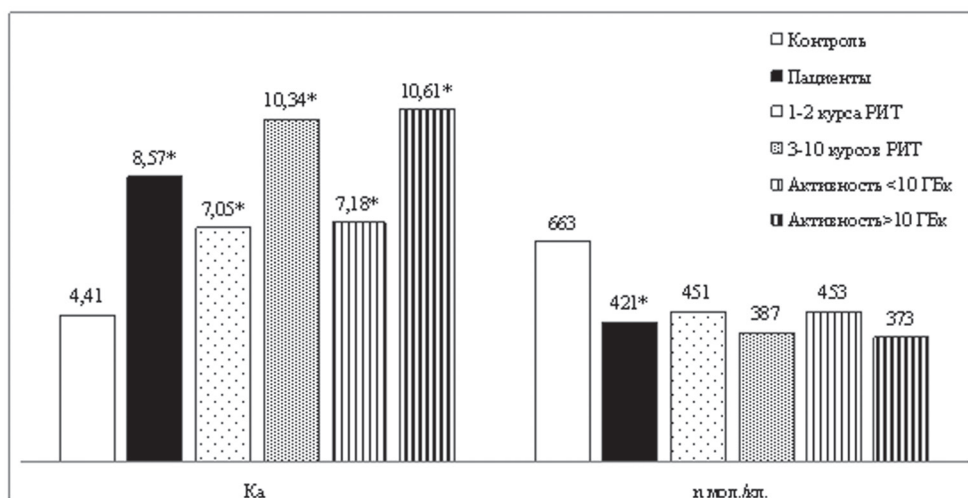


Рис. 1. Параметры специфического связывания ТЗ с лимфоцитами у лиц из группы контроля и у пациентов, прооперированных по поводу ВДРЦЖ, в зависимости от РИТ. \* – достоверные отличия от контроля,  $P < 0,05$

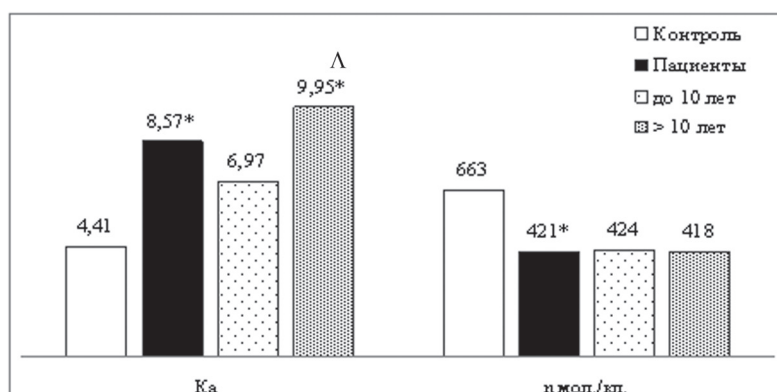


Рис. 2. Параметры специфического связывания Т3 с лимфоцитами у лиц из группы контроля и у пациентов, прооперированных по поводу ВДРЦЖ, в зависимости от длительности лечения. \* – достоверные отличия от контроля,  $P < 0,05$ ;  $\Lambda$  – достоверные отличия от группы <10 лет

при увеличении количества курсов РИТ до 3–10 отмечалась тенденция к росту значения Ка и снижению  $n$  по сравнению с группой 1–2 курсов РИТ. При увеличении кумулятивной активности более 10 ГБк также отмечалась тенденция к повышению значения Ка и к снижению количества связывающих мест на клетку, по сравнению с группой пациентов с меньшей кумулятивной активностью от  $^{131}\text{I}$  (рис. 1).

Далее был проведен анализ показателей в зависимости от длительности лечения пациентов (рис. 2). Группы пациентов с различной длительностью лечения (менее 10 лет (в среднем  $5,37 \pm 0,58$  лет) и более 10 лет (в среднем  $14,25 \pm 0,68$  лет)) были равнозначными по численности и возрасту пациентов ( $24,24 \pm 1,09$  лет и  $26,10 \pm 0,75$  лет соответственно).

При длительности лечения более 10 лет наблюдалось достоверное повышение значения Ка по сравнению с группой пациентов с небольшим сроком лечения (около 5 лет) (рис. 2). Между этими группами не было достоверных отличий по ИМТ ( $23,56 \pm 0,93$  и  $22,95 \pm 1,08$  кг/м<sup>2</sup>) и по дозе тироксина ( $2,54 \pm 0,10$  и  $2,56 \pm 0,15$  мкг/кг). Возможно, на фоне длительного лечения происходит кумуляция эффектов супрессивной терапии и высоких доз РИТ, которые при отдельном рассмотрении дают только тенденцию к повышению Ка.

Изучение влияния антропометрических характеристик показало, что при избыточной массе тела у пациентов с ВДРЦЖ отмечено достоверно более высокое значение Ка и достоверно более низкое значение  $n$ , чем у лиц с нормальной массой тела (рис. 3).

При этом пациенты с повышенным ИМТ достигали необходимого уровня супрессии ТТГ при более низких дозах тироксина ( $2,16 \pm 0,12$  мкг/кг) по сравнению с пациентами с нормальной массой тела ( $2,69 \pm 0,10$  мкг/кг,  $P < 0,05$ ). Последний факт неоднократно отмечался в наших пре-

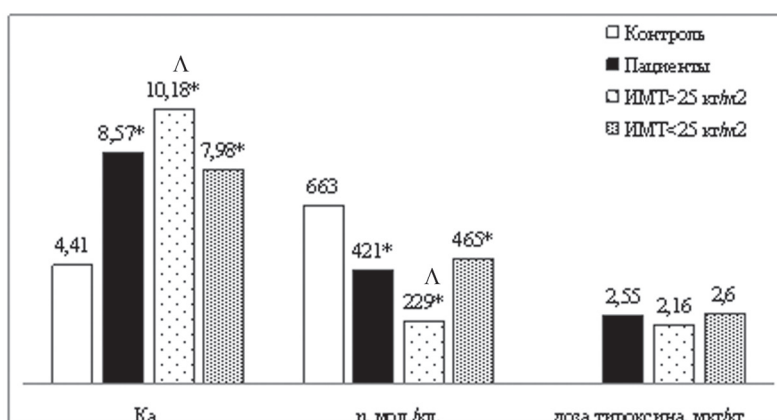


Рис. 3. Параметры специфического связывания Т3 с лимфоцитами у лиц из группы контроля и у пациентов, прооперированных по поводу ВДРЦЖ, в зависимости от ИМТ. \* – достоверные отличия от контроля,  $P < 0,05$ ;  $\Lambda$  – достоверные отличия от группы <25 кг/м<sup>2</sup>

дыдущих исследованиях, но не находил своего объяснения [11]. По-видимому, более низкая потребность в тироксине у лиц с избыточной массой тела может объясняться тем, что у них существует повышенное сродство рецепторов тиреоидных гормонов к Т3. Повышение аффинности связывания компенсируется некоторым снижением емкости связывающих мест, что, по-видимому, является реакцией нормализации во избежание чрезмерных эффектов влияния Т3. С учетом этих данных становятся понятными трудности при анализе воздействия ятрогенных факторов без учета антропометрических характеристик пациентов, поскольку эффект избыточной массы тела может маскировать другие факторы влияния.

Проведение корреляционного анализа по методу Спирмена показало в общей группе пациентов (82 чел.) наличие достоверной положительной корреляции между Ка и длительностью лечения, а также возрастом пациентов и количеством курсов РИТ ( $P < 0,01$ ). При анализе пациентов с ТТЭ, входящих в группу достигнутой супрессии ТТГ (50 чел.), были выявлены более многочисленные и значимые корреляции, чем в общей группе пациентов: положительная связь Ка с такими показателями, как возраст пациентов, количество РИТ и доза РИТ ( $P < 0,01$ ), длительность лечения, ИМТ ( $P < 0,05$ ). Количество связывающих мест коррелировало со знаком минус с этими же показателями – возраст ( $P < 0,05$ ), ИМТ ( $P < 0,01$ ), количество курсов РИТ и доза РИТ ( $P < 0,05$ ). Таким образом, корреляционный анализ подтвердил, что такие факторы лечения, как супрессивная терапия и РИТ играют важную роль в развитии отклонений параметров связывания Т3 с лимфоцитами у пациентов с ВДРЦЖ. Влияние длительности лечения, возраста пациентов и ИМТ также нашло свое подтверждение при применении методов корреляционного анализа.

Большой интерес представляют данные, полученные Е. И. Федорович и др. [12] при изучении специфического связывания тиреоидных гормонов с эритроцитами у детей и подростков при раке ЩЖ. Эритроциты не служат истинными клетками-мишенями для тиреоидных гормонов, поскольку они являются безъядерными клетками, но они представляются хорошим объектом для изучения мембранных взаимодействий. Авторы показали наличие двух участков связывания – низкоаффинного и высокоаффинного для Т4 и Т3 на мембранах красных клеток. Изучение влияния супрессивной терапии на параметры связывания тиреоидных гормонов показало тенденцию к повышению сродства и к снижению количества связывающих мест при обоих типах взаимодействия с достоверным снижением количества связывающих мест на участках низкоаффинного связывания у лиц с достигнутой супрессией ТТГ. При комбинированном лечении (с включением РИТ) сохранялись и усиливались вышеописанные тенденции. Следует отметить, что в нашем исследовании, проведенном на лимфоцитах, наблюдались сходные тенденции, выявляемые на фоне супрессивной терапии и РИТ, приобретающие достоверность при длительном лечении пациентов, а именно, повышение сродства при взаимодействии Т3 с клетками-мишенями и снижение емкости связывающих мест. Полученные данные находятся в соответствии с теорией отрицательной кооперативности рецепторного аппарата клетки, которая постулирует, что при высоких концентрациях лиганда может наблюдаться снижение емкости связывающих мест, что является механизмом «понижающей регуляции» [12]. Однако конкретные механизмы влияния ятрогенных воздействий и антропометрического статуса организма на гормон-рецепторное взаимодействие остаются пока невыясненными.

**Заключение.** Изучение параметров специфического связывания Т3 с лимфоцитами показало, что у пациентов с ВДРЦЖ наблюдается достоверное повышение сродства взаимодействия (Ка) и снижение количества связывающих мест ( $n$ ) по сравнению с этими характеристиками в группе контроля. У пациентов с длительностью лечения более 10 лет ( $14,25 \pm 0,68$  лет) наблюдалось достоверное повышение значения Ка по сравнению с лицами с менее продолжительным сроком лечения ( $5,37 \pm 0,58$  лет), что может быть связано с кумулятивными эффектами ятрогенных воздействий. У пациентов с избыточной массой тела было выявлено достоверное повышение Ка и снижение количества связывающих мест ( $n$ ) по сравнению с лицами с нормальной массой тела, что объясняет тот факт, что эти лица имеют пониженную потребность в тироксине.

## Список использованной литературы

1. Демидчик, Е. П. Рак щитовидной железы у детей (последствия аварии на Чернобыльской АЭС) / Е. П. Демидчик, А. Ф. Цыб, Е. Ф. Лушников. – М., 1996.
2. Oppenheimer J. H. [et al.] // J. Clin. Endocrinol. Metabol. – 1991. – Vol. 73. – P. 990–994.
3. Samuels, H. H., Tsai J. S. // Proc. Natl. Acad. Sci USA. – 1973. – Vol. 70. – P. 3488–3492.
4. Elewaut, A. Triiodothyronine binding to lymphocyte nuclei and plasma cyclic AMP response to intravenous glucagons in patients with peripheral resistance to thyroid hormones / A. Elewaut, M. de Baets, A. Vermeulen // Acta endocrinol. – 1981. – Vol. 97. – P. 54–59.
5. Human lymphocyte binding and deiodination of thyroid hormones in relation to thyroid function / A.-C. Holm [et al.] // Acta Endocrinol. – 1975. – Vol. 80. – P. 642–656.
6. A case of hypersensitivity to thyroid hormones with normally functioning thyroid gland and increased nuclear triiodothyronine receptors / C. Jaffiol [et al.] // J. Endocrinol. Invest. – 1990. – Vol. 13. – P. 839–845.
7. Liewendahl, K. Nuclear binding of triiodothyroine and thyroxine in lymphocytes from subjects with hyperthyroidism, hypothyroidism and resistance to thyroid hormones / K. Liewendahl, S. Rosengard, B.-A. Lamberg // Clin. Chim. Acta. – 1978. – Vol. 83. – P. 41–48.
8. Лебедев, К. А. Иммунограмма в клинической практике / К. А. Лебедев, И. Д. Понякина. – М., 1990.
9. Специфическое связывание трийодтиронина с лимфоцитами у пациентов, прооперированных по поводу карциномы щитовидной железы / Т. А. Митюкова [и др.] // Весці НАН Беларусі. Сер. мед. навук. – 2009. – № 2. – С. 55–62.
10. Платонова, Т. Ю. «Компьютерная программа для расчета параметров специфического связывания на основе Скэтчардовских кривых» / Т. Ю. Платонова, М. В. Платонов, Т. А. Митюкова; РНПЦ МТ. – инв. № 000194, В.Р., дата регистрации 24.11.2008 г.
11. Оценка индивидуальной чувствительности к тироксинотерапии / Т. А. Митюкова [и др.] // Весці НАН Беларусі. Сер. мед. навук. – 2014. – № 2. – С. 81–89.
12. Федорович, Е. И. Биомедицинские аспекты взаимодействия тиреоидных гормонов с эритроцитами при раке щитовидной железы / Е. И. Федорович, Ю. Е. Демидчик, О. В. Свиридов. – М., 2001.

Поступило в редакцию 22.07.2015