

2. Верткин А.Л., Скотников А.С. Коморбидность. Лечащий врач. 2013. № 8. С. 78-82.

Vertkin A.L., Skotnikov A.S. Komorbidnost'. Lechashchii vrach. 2013. № 8. S. 78-82.

3. Белялов Ф.И. Проблема коморбидности при заболеваниях внутренних органов. Вестник современной клинической медицины. 2010. Т. 3. Вып. 2. С. 44-47.

Belyalov F.I. Problema komorbidnosti pri zabolevaniyakh vnutrennikh organov. Vestnik sovremennoy klinicheskoy mediciny. 2010. T. 3. Vyp. 2. S. 44-47.

4. Аргунова И.А. Симптоматические гастродуоденальные язвы (лекция для врачей общей практики). Вестник Смоленской государственной медицинской академии. 2014. Т. 13. № 3. С. 125-134.

Argunova I.A. Simptomaticheskie gastroduodenal'nye jazvy (lekciya dlja vrachej obshhej praktiki). Vestnik Smolenskoj gosudarstvennoj medicinskoj akademii. 2014. T. 13. № 3. S. 125-134.

5. Шептулин А.А. Симптоматические гастродуоденальные язвы. Медицинский Совет. 2015. № 4. С. 72-75.

Sheptulin A.A. Simptomaticheskie gastroduodenal'nye jazvy. Medicinskij Sovet. 2015. № 4. S. 72-75.

6. Костюкевич О.И., Карнута Г.Г. Симптоматические (вторичные) гастродуоденальные язвы в клинической практике. Русский медицинский журнал. 2016. № 17. С. 1153-1157.

Kostjuevich O.I., Karnuta G.G. Simptomaticheskie (vtorichnye) gastroduodenal'nye jazvy v klinicheskoy praktike. Russkij medicinskij zhurnal. 2016. № 17. S. 1153-1157.

7. Трухан Д.И. Нестероидные противовоспалительные препараты сквозь призму коморбидности и лекарственной безопасности: в фокусе – амтолметин гуацил. Consilium Medicum. 2015. Т. 17. № 2. С. 27-33.

Trukhan D.I. Nesteroidnye protivovospalitel'nye preparaty skvoz' prizmu komorbidnosti i lekarstvennoj bezopasnosti: v fokuse – amtolmetin guatsil. Consilium Medicum. 2015. T. 17. № 2. S. 27-33.

8. Маев И.В., Андреев Д.Н., Дичева Д.Т., Парцвания-Виноградова Е.В. Гастропатии, индуцированные нестероидными противовоспалительными средствами: патогенетически обоснованные подходы к профилактике и терапии. Фарматека. 2016. № 2 (315). С. 49-54.

Maev I.V., Andreev D.N., Dicheva D.T., Parcvania-Vinogradova E.V. Gastropatii, indutsirovannye nesteroidnymi protivovospalitel'nymi sredstvami: patogeneticheski obosnovannye podhody k profilaktike i terapii. Farmateka. 2016. № 2 (315). S. 49-54.

9. Шкарин Вл.В., Власова Т.В., Кизова Е.А., Попова Н.А., Горбунова М.Л., Макарова Т.Ю., Кравец Е.Г. НПВП-ассоциированная патология желудочно-кишечного тракта. Учебное пособие для врачей. Н. Новгород: Издательство НижГМА, 2016. 56 с.

Shkarin V.I.V., Vlasova T.V., Kizova E.A., Popova N.A., Gorbunova M.L., Makarova T.Ju., Kravets E.G. NPVP-associirovannaja patologija zheludochno-kishechnogo trakta. Uchebnoe posobie dlja vrachej. N. Novgorod: Izdatel'stvo NizhGMA, 2016. 56 s.



УДК: 616.329/33-002-053.2/5-074

Код специальности ВАК: 14.03.03, 14.01.08

ИССЛЕДОВАНИЕ УРОВНЯ КЛАСТЕРИНА В КРОВИ ДЕТЕЙ С ПАТОЛОГИЕЙ ГАСТРОЭЗОФАГЕАЛЬНОЙ ЗОНЫ

А.К. Мартусевич, К.В. Киреева, Э.Н. Федулова,

ФГБУ «Приволжский федеральный медицинский исследовательский центр», г. Н. Новгород

Мартусевич Андрей Кимович – e-mail: cryst-mart@yandex.ru

Целью работы послужило исследование уровня кластерина у детей с неонкологическими заболеваниями пищевода и желудка. В исследование включены 105 детей в возрасте от 8 до 12 лет, среди которых 20 отнесены к категории практически здоровых (группа сравнения). Остальные дети имели хронические заболевания гастроэзофагеальной зоны, в том числе гастроэзофагеальную рефлюксную болезнь (ГЭРБ; n=31), хронический гастродуоденит (ХГД; n=22) и язвенную болезнь желудка (ЯБЖ; n=32). Кроме того, у пациентов с ГЭРБ дополнительно учитывали тяжесть заболевания, на основании чего среди этих больных выделяли подгруппы детей с эндоскопически негативной рефлюксной болезнью (НЭРБ; n=14), ГЭРБ II и III степени (n=10 и n=7 соответственно). В плазме крови всех детей оценивали концентрацию кластерина методом иммуноферментного анализа с использованием тест-системы фирмы Biovendo. Установлено дифференцированное увеличение концентрации кластерина в плазме крови детей с патологией гастроэзофагеальной зоны, причем наиболее значимо данная тенденция выражена для ГЭРБ. Было показано, что степень повышения уровня соединения зависит от тяжести данного заболевания.

Ключевые слова: гастроэзофагеальная рефлюксная болезнь, дети, кластерин.

The aim of this work was the study of clusterin level in children with non-oncological diseases of the esophagus and stomach. The study included 105 children aged 8 to 12 years, including 20 classified as healthy (control group). The other children had chronic diseases of the gastroesophageal area, including gastroesophageal reflux disease (GERD; n=31), chronic gastroduodenitis (n=22) and ulcerative disease of the stomach (n=32). In addition, patients with GERD additionally took into account the severity of the disease, whereby among these patients were allocated to subgroups of children with endoscopically-negative reflux disease (n=14), GERD II and III (n=10 and n=7 respectively). In the blood plasma of all children was assessed in clusterin concentration by enzyme immunoassay using test systems company Biovendo. Set the differential increase in the concentration clusterin in blood plasma of children with pathology of the gastroesophageal area, and most significantly, this trend is expressed for GERD. It is shown that the degree of increase of the connection level depends on the severity of the disease.

Key words: gastroesophageal reflux disease, children, clusterin.

Введение

Кластерин (аполипопротеин J) – дисульфидно-связанный гетеродимерный белок с молекулярной массой 75–80 кД, содержащий около 30% N-связанных углеводов, богатых сиаловой кислотой [1–3]. Существуют укороченные варианты этого белка, направляемые в ядро [1, 4, 5]. Полипептидная цепь белка-предшественника при этом расщепляется протеолитически, причем удаляется состоящая из 22 аминокислот сигнальная последовательность, необходимая для секреции, а затем происходит расщепление между остатками 227/228 и образуются альфа- и бета-цепи [4–7]. Они соединяются антипараллельно, образуя гетеродимерную молекулу, в которой богатые цистином центральные части, связанные пятью дисульфидными связями, граничат с двумя биспиральными альфа-спиральными участками и тремя амфипатическими альфа-спиралями [8, 9]. У человека кластерин кодируется геном CLU, находящимся в хромосоме 8 (8p21), причем этот ген весьма консервативен (70–80% гомологии у разных видов млекопитающих) [7, 8, 10, 11].

Рассматриваемый белок имеет несколько других названий: димерный кислый гликопротеин, репрессируемый тестостероном маркер простаты-2, сульфатированный гликопротеин-2 и ингибитор лизиса, опосредованного комплементом и др. [7, 11].

Данный белок был обнаружен в семенной жидкости в 1988 году. На его экспрессию влияют такие белки, как Egr-1, части комплекса AP-1, HSF1/2, Cdx1/2 и B-Myb [10, 12, 13].

Кластерин способен связываться со многими веществами и формировать с ними функциональные комплексы [3, 6, 11]. В число этих веществ входят иммуноглобулины, липиды, гепарин, поверхностные антигены бактерий, белки системы комплемента, параоксоназа, бета-амилоид, лептин и другие. Кластерин участвует в таких разнообразных процессах, как мобилизация фагоцитов, индукция агрегации тромбоцитов, ингибирование мембранной атаки белков комплемента, подавление апоптоза, рециклизация мембран, транспорт липидов и гормонов, модификация активности разрушающих внутриклеточный «мусор» и межклеточное вещество металлопротеиназ и др. [3, 7–11, 14–16].

Белок содержится в большинстве тканей млекопитающих [10, 17], конститутивно секреторируется многими клетками, включая эпителиальные и нервные, и присутствует во многих биологических жидкостях, в том числе плазме крови, молоке, моче, спинномозговой и семенной жидкостях [3, 5, 11, 18–20]. С учетом широкого представительства кластерина в различных тканях организма он участвует в различных физиологических процессах, включая созревание спермы, рециклинг мембран, липидный транспорт, ремоделирование ткани, ингибирование комплемента и межклеточные взаимодействия [3, 11]. Также белок значим для регуляции опосредованного комплементом лизиса клетки, межклеточной адгезии и неопластической трансформации, зависящей от гена src [7, 9, 11, 14]. Он служит ингибитором мембранно-атакующего комплекса комплемента [14]. Кроме того, предполагается, что кластерин действует как внеклеточный шаперон [21–23], стабилизирующий складчатую структуру белков, на основании чего он способен принимать участие в апоптозе [4, 9, 16].

Другой установленной особенностью кластерина является его индукция при многих тяжелых физиологических нарушениях, в частности, дегенеративные заболевания почек, рак простаты, полостной рак, рак яичников и многие нейродегенеративные заболевания (болезнь Альцгеймера) [3–7, 9]. В недавнем обширном исследовании (n=1500) было показано, что наличие определенных аллелей кластерина связано с повышенным риском развития болезни Альцгеймера [21]. Также установлено, что уровень кластерина в сыворотке значительно повышается у пациентов при диабете II типа [3] и у больных с развивающейся коронарной болезнью или инфарктом миокарда [3, 17]. Эти данные подтверждают предположение о том, что повышенный уровень кластерина в сыворотке является значимым показателем повреждения сосудов. У пациентов, страдающих системной красной волчанкой (SLE), сниженный уровень кластерина обратно коррелирует с активностью заболевания [3]. Сниженный уровень кластерина может быть вовлечен в патогенез SLE за счет снижения защитных функций. Другое интересное наблюдение, полученное в эксперименте на крысах, подтверждает, что концентрация кластерина в моче может быть полезным клиническим маркером тяжести повреждения почечных канальцев [6, 18]. Более того, измерение уровня кластерина в моче может помочь в дифференциальной диагностике тубулярной и клубочковой форм протеинурии [18].

Имеются некоторые сведения о характере изменения уровня данного соединения в крови при патологии желудочно-кишечного тракта, однако они связаны с онкологическими заболеваниями пищеварительного тракта, в частности, с формированием и прогрессированием опухолей толстого кишечника [5, 7, 14]. В то же время данных о сопряженности сдвигов плазменной концентрации кластерина и патологии гастроэзофагеальной зоны в литературе не представлено. На этом основании **целью работы** послужило исследование уровня кластерина у детей с неонкологическими заболеваниями пищевода и желудка.

Материал и методы

В исследование включены 105 детей в возрасте от 8 до 12 лет, среди которых 20 отнесены к категории практически здоровых (группа сравнения). Остальные дети имели хронические заболевания гастроэзофагеальной зоны, в том числе гастроэзофагеальную рефлюксную болезнь (ГЭРБ; n=31), хронический гастродуоденит (ХГД; n=22) и язвенную болезнь желудка (ЯБЖ; n=32). Кроме того, у пациентов с ГЭРБ дополнительно учитывали тяжесть заболевания, на основании чего среди этих больных выделяли подгруппы детей с эндоскопически негативной рефлюксной болезнью (НЭРБ; n=14), ГЭРБ II и III степени (n=10 и n=7 соответственно). Все пациенты были обследованы согласно стандартным протоколам, включая фиброгастроэзофагоскопию.

В плазме крови всех обследованных лиц, отнесенных к группе сравнения и основным группам, оценивали концентрацию кластерина методом иммуноферментного анализа с использованием тест-системы фирмы Biovendor.

Результаты обрабатывали методами вариационной статистики с использованием программы Statistica 6.0.

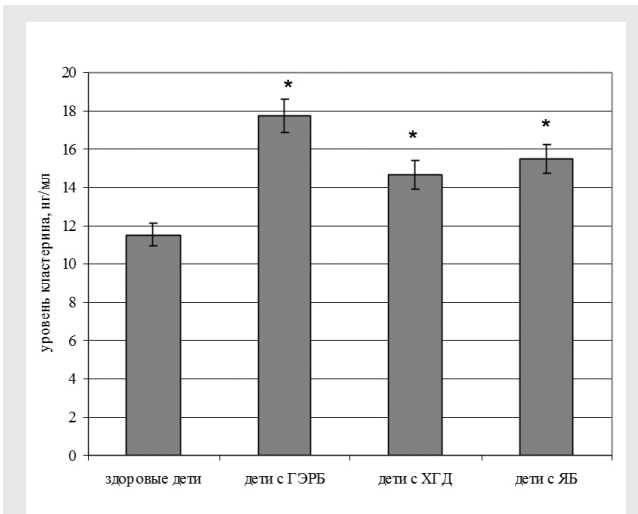


РИС. 1. Концентрация кластерина в плазме крови здоровых и имеющих гастроэзофагеальную патологию детей (* – уровень статистической значимости различий относительно здоровых детей $p < 0,05$).

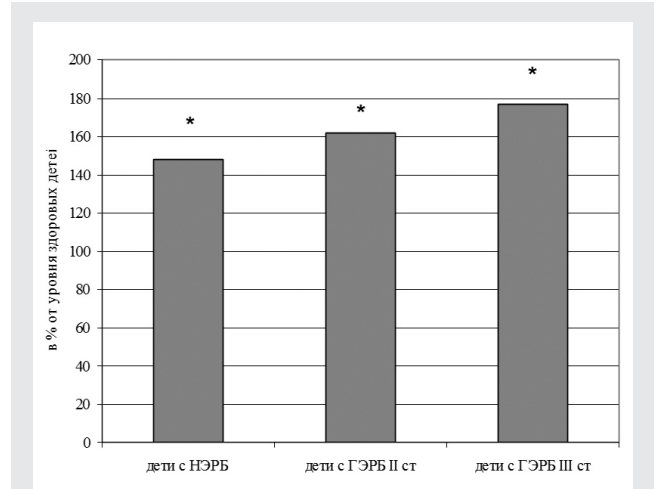


РИС. 2. Концентрация кластерина в плазме крови детей с гастроэзофагеальной рефлюксной болезнью с учетом степени ее тяжести (НЭРБ – эндоскопически негативная рефлюксная болезнь; * – уровень статистической значимости различий относительно здоровых детей $p < 0,05$).

Результаты исследования

Установлено, что плазменная концентрация кластерина у практически здоровых людей составляет $11,52 \pm 0,24$ нг/мл. Также выявлено, что при всех рассмотренных заболеваниях имеет место увеличение уровня кластерина в плазме крови (рис. 1), причем во всех случаях данные сдвиги были статистически значимы. Следует отметить, что наиболее существенные изменения концентрации соединения наблюдаются у детей с обострением хронического гастродуоденита (+27,6% относительно здоровых детей; $p < 0,05$). Напротив, максимальное повышение уровня показателя оказалось характерно для пациентов с гастроэзофагеальной рефлюксной болезнью (повышение на 54,1% относительно группы сравнения; $p < 0,05$).

Дополнительно нами проведено уточнение зависимости степени тяжести ГЭРБ, при которой регистрировали наиболее выраженное нарастание уровня кластерина, с концентрацией последнего (рис. 2). Установлено, что у детей с НЭРБ имеет место наименьший градиент уровня соединения (+48,4% относительно здоровых детей; $p < 0,05$), тогда как с утяжелением течения заболевания выраженность приведенной тенденции пропорционально возрастает (увеличение на 61,6% и 77,2% соответственно; $p < 0,05$ для обоих случаев). При этом концентрация кластерина при ГЭРБ III степени оказалась значимо выше, чем у детей с эндоскопически негативной рефлюксной болезнью (в 1,2 раза; $p < 0,05$). Это позволяет заключить о более выраженных сдвигах уровня изучаемого соединения при предопухолевой стадии патологии.

Обсуждение

Несмотря на относительно недавнюю историю открытия кластерина (1988), многие его биологические функции расшифрованы [3]. При этом клиническое значение соединения известно лишь для онкологических заболеваний [1, 5, 7, 14], при которых преимущественно реализуется его роль, связанная с участием в апоптозе [9]. В рамках работы впервые в сравнительном аспекте изучен уровень кластерина при за-

болеваниях гастроэнтерологического профиля у детей. Выявленная вариабельность степени повышения концентрации соединения может косвенно указывать на неодинаковую роль данного пептидного регулятора в патогенезе рассматриваемых заболеваний. Учитывая особенности биологической активности кластерина [3, 9, 11, 14, 16], можно предположить, что наиболее существенное увеличение плазменного уровня соединения служит отображением его непосредственного участия в механизмах развития ГЭРБ. Оно может реализовываться за счет радикал-сенсорных свойств кластерина [21–23] и является компенсаторной реакцией на возникающий при данной патологии окислительный [24] и нитрозативный стресс [25, 26]. Кроме того, кластерин способен выступать в качестве инструмента утилизации продуктов деструкции клеток («клеточного мусора» [3]).

С учетом того, что в настоящем исследовании выявлена зависимость уровня кластерина от тяжести ГЭРБ, а также на фоне известных сведений о возможности опухолевой трансформации ГЭРБ III степени (формирование пищевода Баррета [27, 28]), логично предположить, что в патогенезе рассматриваемого заболевания значительную роль могут играть процессы апоптоза [9, 12]. Также следует заметить, что приведенная концепция потенциально указывает на присутствие в механизмах малигнизации рефлюкс-индуцированных язв пищевода sgc-зависимых путей в условиях тяжелой ГЭРБ [4, 5, 9, 11, 28].

Заключение

Таким образом, проведенное исследование демонстрирует дифференцированное увеличение концентрации кластерина в плазме крови детей с патологией гастроэзофагеальной зоны, причем наиболее значимо данная тенденция выражена для ГЭРБ. Показано, что степень повышения уровня соединения зависит от тяжести данного заболевания. Эти данные важны для более детального раскрытия патогенеза ГЭРБ и способны создать предпосылки для выделения нового лабораторного маркера степени тяжести рассматриваемой патологии с учетом риска малигнизации.

ЛИТЕРАТУРА

1. Chayka O., Corvetta D., Dews M. et al. Clusterin, a haploinsufficient tumor suppressor gene in neuroblastomas. *J. Natl. Cancer Inst.* 2009. Vol. 101. № 9. P. 663-677.
2. Chen X., Halberg R.B., Ehrhardt W.M. et al. Clusterin as a biomarker in murine and human intestinal neoplasia. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2003. Vol. 100. P. 9530-9535.
3. Park S., Mathis K.W., Lee I.K. The physiological roles of apolipoprotein J/clusterin in metabolic and cardiovascular diseases. *Rev. Endocr. Metab Disord.* 2014. Vol. 15. № 1. P. 45-53.
4. Deb M., Sengupta D., Rath S.K. et al. Clusterin gene is predominantly regulated by histone modifications in human colon cancer and ectopic expression of the nuclear isoform induces cell death. *Biochim Biophys Acta.* 2015. Vol. 1852. № 8. P. 1630-1645.
5. Pucci S., Bonanno E., Pichiorri F. et al. Modulation of different clusterin isoforms in human colon tumorigenesis. *Oncogene.* 2004. Vol. 23. № 13. P. 2298-2304.
6. Dairi G., Guan Q., Roshan-Moniri M. et al. Transcriptome-based analysis of molecular pathways for clusterin functions in kidney cells. *J. Cell Physiol.* 2016. Vol. 231. № 12. P. 2628-2638.
7. Mazzarelli P., Pucci S., Spagnoli L.G. CLU and colon cancer. The dual face of CLU: from normal to malignant phenotype. *Adv. Cancer Res.* 2009. Vol. 105. P. 45-61.
8. Santilli G., Aronow B.J., Sala A. Essential requirement of apolipoprotein J (clusterin) signaling for I κ B expression and regulation of NF- κ B activity. *J. Biol. Chem.* 2003. Vol. 278. № 40. P. 38214-38219.
9. Shannan B., Seifert M., Boothman D.A. et al. Clusterin and DNA repair: a new function in cancer for a key player in apoptosis and cell cycle control. *J. Mol. Histol.* 2006. Vol. 37. № 5-7. P. 183-188.
10. Ekici A.I., Eren B., Türkmen N. et al. Clusterin expression in non-neoplastic adenohypophyses and pituitary adenomas: cytoplasmic clusterin localization in adenohypophysis is related to aging. *Endocr Pathol.* 2008. Vol. 19. № 1. P. 47-53.
11. Trougakos I.P., Gonos E.S. Clusterin/apolipoprotein J in human aging and cancer. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 2002. Vol. 34. № 11. P. 1430-1448.
12. Sala A. B-MYB, a transcription factor implicated in regulating cell cycle, apoptosis and cancer. *Eur. J. Cancer.* 2005. Vol. 41. № 16. P. 2479-2484.
13. Sansanwal P., Li L., Sarwal M.M. Inhibition of intracellular clusterin attenuates cell death in nephropathic cystinosis. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2015. Vol. 26. № 3. P. 612-625.
14. Shannan B., Seifert M., Leskov K. et al. Challenge and promise: roles for clusterin in pathogenesis, progression and therapy of cancer. *Cell Death Differ.* 2006. Vol. 13. № 1. P. 12-19.
15. Trougakos I.P., Gonos E.S. Functional analysis of clusterin/apolipoprotein J in cellular death induced by severe genotoxic stress. *Ann. New York Acad. Sci.* 2004. Vol. 1019. P. 206-210.
16. Trougakos I.P., Lourda M., Agiostratidou G. et al. Differential effects of clusterin/apolipoprotein J on cellular growth and survival. *Free Radic Biol Med.* 2005. Vol. 38. № 4. P. 436-449.
17. Mackness B., Hunt R., Durrington P.N., Mackness M.I. Increased immunolocalization of paraoxonase, clusterin, and apolipoprotein A-I in the human artery wall with the progression of atherosclerosis. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 1997. Vol. 17. № 7. P. 1233-1238.
18. Askenazi D.J., Koralkar R., Patil N. et al. Acute kidney injury urine biomarkers in very low-birth-weight infants. *Clin. J. Am. Soc. Nephrol.* 2016. Vol. 11. № 9. P. 1527-1535.
19. Sol I.S., Kim Y.H., Lee K.E. et al. Serum clusterin level in children with atopic dermatitis. *Allergy Asthma Proc.* 2016. Vol. 37. № 4. P. 335-339.
20. Vaiopoulou A., Gazouli M., Papadopoulou A. et al. Serum protein profiling of adults and children with Crohn disease. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* 2015. Vol. 60. № 1. P. 42-47.
21. Trougakos I.P. The molecular chaperone apolipoprotein J/clusterin as a sensor of oxidative stress: implications in therapeutic approaches - a mini-review. *Gerontology.* 2013. Vol. 59. № 6. P. 514-523.
22. Trougakos I.P., Gonos E.S. Regulation of clusterin/apolipoprotein J, a functional homologue to the small heat shock proteins, by oxidative stress in ageing and age-related diseases. *Free Radic Res.* 2006. Vol. 40. № 12. P. 1324-1334.
23. Trougakos I.P., Gonos E.S. Chapter 9: Oxidative stress in malignant progression: The role of Clusterin, a sensitive cellular biosensor of free radicals. *Adv. Cancer Res.* 2009. Vol. 104. P. 171-210.
24. Киреева К.В., Мартусевич А.К. Некоторые аспекты молекулярной регуляции деятельности верхних отделов желудочно-кишечного тракта при его патологии. *Врач-аспирант.* 2016. № 4. С. 77-83.
Kireeva K.V., Martusevich A.K. Nekotorye aspekty molekulyarnoy regulatsii dejatel'nosti verkhnih otdelov zheludochno-kishechnogo trakta pri ego patologii. Vrach-aspirant. 2016. № 4. S. 77-83.
25. Киреева К.В., Канькова Н.Ю., Шабунина Е.И. с соавт. Изменение содержания производных оксида азота у детей с воспалительными заболеваниями пищевода и желудка. *Медицинский альманах.* 2015. № 4. С. 118-121.
Kireeva K.V., Kankova N.Yu., Shabunina E.I. et al. Izmenenie sodержaniya proizvodnykh oksida azota u detej s vospalitel'nymi zabolevanijami pishheveda i zheludka. Medicinskij al'manah. 2015. № 4. S. 118-121.
26. Киреева К.В., Мартусевич А.К., Федулова Э.Н. Оценка уровня оксида азота и серотонина в сыворотке крови детей с патологией верхнего отдела желудочно-кишечного тракта. *Медицинский альфаит.* 2016. № 19. Т. 3. Современная лаборатория. С. 72-73.
Kireeva K.V., Martusevich A.K., Fedulova E.N. Ocenka urovnja oksida azota i serotoninina v syvorotke krovi detej s patologiej verhnego otdela zheludochno-kishechnogo trakta. Meditsinskiy alfavit. 2016. № 19. Iss. 3. S. 72-73.
27. Lim K.N., Waring P.J., Saidi R. Therapeutic options in patients with Barrett's esophagus. *Digestive Diseases.* 1999. Vol. 17. № 3. P. 145-152.
28. Sharma N., Ho K.Y. Risk factors for Barrett's oesophagus. *Gastrointest. Tumors.* 2016. Vol. 3. № 2. P. 103-108.