

БИОМАРКЕР АПОПТОЗА TRAIL, НОВОЕ СЛОВО В ДИАГНОСТИКЕ И ЛЕЧЕНИИ РАЗЛИЧНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Ни А.Н., Сергеева Е.В., Шуматова Т.А., Зернова Е.С., Григорян Л.А., Катенкова Э.Ю., Шишачкая С.Н.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Владивосток, e-mail:troyanskiy_kon1985@mail.ru.

Современная медицина базируется на принципе доклинического выявления заболевания, постановке точного диагноза на ранних стадиях и разработке высокоэффективного персонифицированного лечения. Поэтому наиболее актуальной задачей является создание высокотехнологичных и достоверных маркеров диагностики и лечения различных заболеваний. В данном обзоре проведён анализ современных литературных данных, посвящённых одному из таких предикторов – цитокину TRAIL. Открытый сравнительно недавно, он с успехом применяется в инфекции, дерматовенерологии, педиатрии и других сферах здравоохранения. Использование данного маркера позволяет выявить причину инфекции с высокой точностью, оценить степень тяжести воспалительного процесса, дать прогноз по исходу заболевания. Способность TRAIL эффективно вызывать апоптоз в различных видах раковых клеток без значительной токсичности к нормальным клеткам применяется в онкологии, поэтому он является многообещающим кандидатом для терапии онкологических заболеваний.

Ключевые слова: TRAIL, диагностика, биомаркер, педиатрия.

TRAILBIOMARKER APOPTOSIS, BRAND NEW METHOD IN DIAGNOSIS AND CURING PROCESSES OF VARIOUS DISEASES

Nee A.N., Sergeeva E.V., Shumatova T.A., Zernova E.S., Grigoryan L.A., Katenkova E.Y., Shishackaya S.N.

Pacific State Medical University, Vladivostok, e-mail:troyanskiy_kon1985@mail.ru

Modern medicine is based on preclinical disease identification, accurate early diagnoses and personalized highly-efficient treatment development. That's why, the most actual task is creation of true high-tech diagnostics markers and various diseases treatment. An analysis of modern literatural sources dedicated to one of the predictors called cytokine TRAIL is given in this review. Being recently discovered, it is successfully using in dermatology, pediatrics and others spheres of healthcare. Using this marker helps to diagnose the infection core with highest accuracy, estimate the level of inflammation, give further recommendations. An ability of TRAIL to cause apoptosis in different kinds of cancer cells without high level of toxicity to normal cells is treated in oncology, therefore its considered to be perspective and promising candidate for cancer therapy.

Keywords: TRAIL, paediatrics, diagnostics, biomarker.

Одной из важнейших задач медицины на современном этапе является поиск новых способов диагностики и лечения различных заболеваний [7]. Это связано с изменением роли отдельных возбудителей в патологии человека, развитием резистентности к антибиотикам и необходимостью в сокращении сроков исследования. Зачастую, болезнь трудно поддается верификации из-за отсутствия патогномичных симптомов и своевременной диагностики, недооценивается степень тяжести инфекционного процесса. Основным решением данного вопроса является поиск новых маркеров, способных диагностировать и лечить инфекционный процесс с высокой точностью.

В обзоре литературы представлены современные публикации об использовании биомаркера TRAIL, который с успехом применяется во многих сферах медицины и

позволяет не только своевременно диагностировать, но и лечить ряд заболеваний.

Цитокин TRAIL (TNF-related apoptosis inducing ligand), принадлежащий к суперсемейству белков TNF, привлекает внимание исследователей с момента его открытия в 1995 г. до настоящего времени [8,23]. В литературе белок TRAIL иногда называют также кластером дифференциации CD253 (cluster of differentiation 253), или APO2-L, или TRAIL/Apo2L [22].

Ген, кодирующий TRAIL, расположен на хромосоме 3q26 [5]. Этот белок содержит 281 аминокислоту и представляет гомотример, объединяющий три одинаковых молекулы (в положении 230 у каждой субъединицы гомотримера), которые координируют атом цинка, а связывание цинка важно для стабильности тримера и биологических свойств. Существуют две формы белка TRAIL – мембранно-связанная и водорастворимая, обе вызывают апоптоз клеток [5,22].

APO2-L обнаруживается во многих тканях в контексте м-РНК, однако экспрессируется преимущественно клетками иммунной системы, в особенности естественными киллерными клетками, Т-клетками и макрофагами. Этот лиганд синтезируется в качестве трансмембранного белка II типа, при этом он может подвергаться протеолитическому расщеплению цистеиновыми протеазами с образованием растворимой формы [11,14,15].

Физиологическая роль TRAIL изучена недостаточно, однако было показано, что этот белок играет определенную роль в формировании памяти Т-лимфоцитов, в процессе гематопоеза, поддержании Т-клеточного гомеостаза, так и в уничтожении опухолевых и трансформированных вирусом клеток иммунитета NK и NKT, в развитии аутоиммунных заболеваний и множестве других явлений [13,17].

Молекула TRAIL, циркулируя в крови, может связываться с пятью рецепторами, с помощью которых она может оказывать свое биологическое действие [5,8,11]. Два рецептора активируют апоптотический сигнал – это TRAIL-рецептор-1 (TRAIL-R1, DR4 или TNFRSF10A) и TRAIL-R2 (DR5 или TNFRSF10B). Другие два рецептора, так называемыми «рецепторы-ловушки» (decoy receptors) TRAIL-R3 (DcR1 / TRID / LIT) и TRAIL-R4 (DcR2 / TRUNDD), также связываются с Apo2L. Они имеют сходство с TRAIL-R1 и TRAIL-R2 во внеклеточном и трансмембранном участках, однако, у TRAIL-R3, представляющего собой гликозил-фосфатидил-инозитол-связанный (GPI-linked) рецептор плазматической мембраны, полностью отсутствует внутриклеточный домен, включая домен смерти, в то время как TRAIL-R4 содержит в себе усечённый, нефункциональный домен смерти. Связывание лиганда CD253 с рецепторами-ловушками не вызывает апоптоза и, кроме того, может

препятствовать апоптотическому сигналу, запускаемому при связывании TRAIL с TRAIL–R1 и TRAIL–R2 [5,8,11].

Рецептор DcR1 локализуется внутри липидных рафтов, где он препятствует стимулируемому DR5 формированию комплекса II (DISC). В свою очередь, DcR2 привлекается к комплексу II, сформированному с участием TRAIL–R2, за счёт связывания с TRAIL, препятствуя тем самым привлечению, процессингу и активации инициаторных каспаз внутри комплекса II. Кроме того, имеется предположение, что TRAIL–R4 ингибирует TRAIL–зависимый апоптоз за счёт активации NF–κB. Лиганд также способен связываться и ещё с одним, пятым рецептором, растворимым рецептором остеопротегерином (OPG). Однако связывание TRAIL с этим рецептором характеризуется слабой аффинностью при физиологических температурах [8,11,14,15].

Гены TRAIL–R1 и TRAIL–R2 расположены в локусе 8p21.3 и кодируют очень сходные структурно и функционально рецепторы. Внеклеточные домены обоих белков имеют мотивы CRD, типичные для рецепторов семейства FAS [6]. TRAIL–R1 экспрессируется в клетках большинства тканей человеческого организма и в некоторых опухолевых клеточных линиях. Экспрессия TRAIL–R2 обнаруживается во всех типах клеток нормальных тканей [11,14,15].

Взаимодействие CD253 с данными рецепторами используется в онкологии для инициации апоптоза опухолевых клеток [13]. Маркеры апоптоза запускаются двумя путями, внешним и внутренним. Внешний путь активируется в ответ на внеклеточные сигналы. Фактор апоптоза прикрепляется к рецепторам клеточной смерти DR4/DR5 на поверхности раковых клеток, после чего формируется комплекс DISC, в котором участвуют также адапторный белок FADD и прокаспаза–8 или –10. Образующаяся далее каспаза–8 или –10 активирует каспазу–3 (возможно также –6 или –7), которая является эффектором апоптоза. На внешний путь может оказывать влияние регулятор апоптоза белок с–FLIP (имеет также название CASP8). Возможна также активация каспазы–3 через митохондрии. В этом случае каспаза–8 или –10 активирует агонист апоптоза белок Bid (другое обозначение BH3), который через белки Bax и/или Bak действуют на мембраны митохондрий, в результате чего во внешней мембране образуются поры, через которые высвобождается цитохром C (Cyt C). Последний через каспазы способен иницировать апоптоз. Действие белка Bax регулируется ассоциированными с ним регуляторными белками апоптоза Bcl–2, Dcl–XL и индуцибельным белком дифференциации клеток миелоидной лейкемии Mcl–1 (Induced myeloidleukemia cell differentiation protein). Действие каспазы–9 и каспазы–3 может модулироваться ингибиторами апоптоза XIAP, cIAP и Survivin, которые регулируются митохондриальным активатором каспаз SMAC (известен также, как Diablo). Повреждение митохондрий может

быть вызвано также супрессором опухолей белком p53, действие которого проявляется в присутствии активных форм кислорода (ROS) или протеинкиназы Akt, которая, в свою очередь, активируется фосфоинозитид-3-киназой (PI3K) [5]. Внутренний путь активируется в ответ на повреждение ДНК и клеточный стресс [16]. Исследования, проведенные на мышах, дефицитных по одному из TRAIL-рецепторов (в их организме экспрессировался только один тип TRAIL-R), подтвердили роль TRAIL-R в качестве супрессора воспаления и метастазирования в различных тканях *in vivo* [11,14,15]. TRAIL индуцирует апоптоз опухолевых клеток *in vitro*, но также на целом организме, как это было показано в доклинических исследованиях раковых заболеваний, проводимых на экспериментальных животных. По неизвестным пока причинам активация сигнального пути TRAIL не оказывает токсичности в отношении нормальных клеток [18]. Клинические испытания с использованием рекомбинантного человеческого TRAIL в сочетании с обычной химиотерапией показали обнадеживающие результаты [8,12]. Однако некоторые раковые клетки обнаруживают устойчивость к активации сигнального пути TRAIL. Преодоление этой устойчивости и повышение способности клеток к апоптозу может существенно помочь в лечении различных видов рака [8,12,17,18,23].

Для улучшения диагностики не только онкологических заболеваний проведено обширное обследование более 600 системных белков иммунной системы у больных с различными заболеваниями. Некоторые из белков показали совершенно разные закономерности у бактериальных и вирусных инфицированных пациентов. В частности, наиболее информативными был TRAIL-белок. Учитывая эту особенность был создан алгоритм, который вычислительно интегрирует TRAIL с другими иммунными белками, образуя иммунную подпись, которая диагностировала причину инфекции с высокой точностью [19,21]. Данный метод исследования нашел широкое применение в дерматовенерологии, в частности при изучении ФНО-зависимых показателей апоптоза при папилломатозной инфекции. В результате исследования выявлено, что среди изученных групп пациентов наиболее снижена возможность организма элиминировать интегративный вирус у пациентов с ВПЧ высокого онкогенного риска (16,18 типа), что выявлено по сниженному уровню TRAIL. Уровень TRAIL коррелирует с тяжестью течения инфекционного процесса, что позволяет использовать их в качестве диагностического критерия при скрытых инфекциях. Отсутствие TRAIL-рецепторного апоптоза может быть одной из причин онкогенеза [10].

В соответствии с данными современной литературы, выявлена корреляция между циркулирующим уровнем TRAIL и хроническим воспалением, что еще раз подтверждает роль цитокина в качестве биомаркера. Доказано, что низкие уровни TRAIL связаны с

высокими рисками развития смертности от сердечно-сосудистой патологии у пожилых людей, и что интересно, 17-β эстрадиол может играть определенную роль в регулировании количества TRAIL в организме. Уровень биомаркера обратно связан с исходом и смертностью у больных с несколькими патологическими состояниями, которые включают хронические заболевания почек, острый инфаркт миокарда, сердечную недостаточность и ишемическую болезнь сердца. Низкие концентрации TRAIL служат неблагоприятным предиктором развития атеросклероза и абдоминального ожирения [25].

При исследовании больных с вирусным гепатитом и герпесвирусными инфекциями наиболее высокие показатели TRAIL были получены у пациентов с хроническим гепатитом В и при герпетической инфекции средней и тяжелой степени, что является показателем активности воспаления [9].

Большой практический интерес представляет собой применение TRAIL в педиатрии. В последние десятилетия актуальность проблемы прогнозирования перинатальных гипоксических поражений головного мозга у новорожденных различного гестационного возраста стала более очевидной в связи с ростом количества детей, родившихся раньше срока, и увеличением их выживаемости [1]. Было установлено, что вследствие гипоксии ЦНС значительно усиливается экспрессия TRAIL на клетках микроглии, а в крови повышается TNF [24]. Увеличение данных показателей служит ранним диагностическим признаком гипоксических изменений в организме новорожденного ребенка и свидетельствует об участии данных цитокинов в патогенезе транзиторных нарушений гемоликвородинамики в раннем периоде адаптации [6].

Еще одним из актуальных вопросов в педиатрии является изучение клинического значения сывороточных маркеров апоптоза иммунокомпетентных клеток у детей с atopической бронхиальной астмой [3]. Результаты исследования выявили достоверные изменения содержания сывороточных маркеров активации и апоптоза иммунных клеток у детей с астмой. Установлены отличия концентрации указанных показателей от их референтных уровней, они наиболее выраженные при тяжелом течении болезни, в стадии обострения, а также при наличии сопутствующей инфекции, свидетельствующие об изменениях процесса как FAS-, так и TRAIL-индуцированного апоптоза провоспалительных и иммунокомпетентных клеток при atopической бронхиальной астме. Между исследованными показателями установлены множественные корреляционные взаимосвязи, что указывает на взаимообусловленность процессов рецепции (активации) и элиминации (апоптоза) в патогенезе астмы у детей. Выявленная устойчивость иммунокомпетентных клеток к апоптозу как в фазе инициации, так и в эффекторной фазе может иметь патогенетическое значение в персистенции аллергического воспаления [2,4]. Оценка уровня

сывороточных маркеров активации и TRAIL-апоптоза иммунных клеток может быть использована в качестве дополнительного диагностического и прогностического критерия тяжести и выраженности астмы у детей, служить методом иммуномониторинга и прогностическим критерием отбора пациентов для проведения иммунотерапии, а также дополнительным обоснованием своевременного и адекватного назначения противовоспалительной терапии с целью достижения контроля над симптомами бронхиальной астмы [3].

Немаловажным является применение цитокина в эндокринологии у детей, страдающих от сахарного диабета I типа, корреляция уровня TRAIL служит достоверным биомаркером осложнений, характерных для данного заболевания, что позволяет своевременно диагностировать и профилактировать их [25]. Изменения нейроэндокринных функций в организме, которые проявляются у пациентов в виде депрессивных расстройств, имеют достоверную связь между развитием депрессии и уровнем биомаркера TRAIL, было установлено: чаще предиктором развития депрессии была детская травма [20].

Таким образом, применяя в работе TRAIL-белок, можно диагностировать скрытые инфекции, прогнозировать развитие и степень тяжести инфекционно-аллергических и нейроэндокринных заболеваний, что позволит своевременно и грамотно подобрать терапию пациентам. Немаловажно, что данный цитокин используется в педиатрической практике, особенно в неонатологии, что позволяет более детально изучить патогенетические процессы транзиторных нарушений гемоликвородинамики в раннем периоде адаптации у новорожденных, начать реабилитацию пациентов на ранних этапах, тем самым сократить число инвалидизаций. Создание препаратов на основе реактивации апоптоза в опухолевых клетках привело к созданию новых схем лечения онкологических заболеваний, что в дальнейшем дает надежду на создание нового поколения препаратов с персонализированным подходом для каждого пациента.

Список литературы

1. Албагачиева Д.И. Проапоптотические факторы в структуре патогенеза гипоксически-ишемического поражения ЦНС у новорожденных детей: автореф. дис. ... канд. мед. наук. – Москва, 2010. – С.31.
2. Бойчук С.В., Мустафин И.Г., Фассахов Р.С. Спонтанный и глюкокортикоидиндуцированный апоптоз лимфоцитов больных атопической бронхиальной астмой: роль митохондрий и CD95 (APO-1) / С.В. Бойчук, И.Г. Мустафин, Р.С. Фассахов [и др.] //Аллергология. – 2002. – № 1. – С.13–20.

3. Булгакова В.А. Клиническое значение изучения маркеров активации и апоптоза иммунокомпетентных клеток при атопической бронхиальной астме у детей /В.А. Булгакова// Педиатрия. – 2009. – Т.87, № 2. – С.12–18.
4. Минеев В.И., Нестерович И.И. Апоптоз и активность рибосомальных цистронов клеток периферической крови при бронхиальной астме / В.И. Минеев, И.И. Нестерович, Е.С. Оранская [и др.] // Аллергология. – 2003. – № 1. – С.15–19.
5. Мисюрин В.А. Структура и свойства основных рецепторов и лигандов внешнего пути апоптоза/ В.А. Мисюрин // Российский биотерапевтический журнал. – 2015. – Т.14, № 2. – С.23–30.
6. Моргун А.В., Овчаренко Н.В. Маркеры апоптоза и нейроспецифические белки в диагностике перинатальных поражений центральной нервной системы у новорожденных детей /А.В. Моргун, Н.В. Овчаренко, Т.Е. Таранущенко [и др.] // Сибирское медицинское обозрение. – 2013. – № 3. – С.3–11.
7. Современные маркеры в диагностике пищевой непереносимости у детей грудного возраста / Т.А. Шуматова, С.Н. Шишацкая, Е.С. Зернова [и др.] // Тихоокеанский медицинский журнал. – 2015. – № 3. – С. 55-58.
8. Флавоноиды: биохимия, биофизика, медицина / Ю. С. Тараховский, Ю. А. Ким, Б.С. Абдрасилов, Е.Н. Музафаров; [отв. ред. Е.И. Маевский]. – Пушино: Synchronobook, 2013. – 310 с.
9. Хараева З.Ф., Иванова М.Р., Шевченко А.А. Особенности ФНО–инфицированного апоптоза у больных с парентеральными гепатитами и герпетической инфекцией // Фундаментальные исследования. – 2011. – № 7. –С.152.
10. Хараева З.Ф., Кузьмицкая Е.Ф., Шевченко А.А., Акаева С.А. ФНО-зависимые показатели апоптоза при папилломовирусной инфекции //Фундаментальные исследования. – 2010. – № 8. – С. 82–84.
11. Шелудченков А.А. Исследование механизма цитотоксического действия белкового комплекса Tag7–Hsp70 на опухолевые клетки: автореф. дис. ... канд. биол. наук. – Москва, 2014. – С.120.
12. Audo R., Calmon–Hamaty F., Baeten D. Mechanisms and clinical relevance of TRAIL-triggered responses in the synovial fibroblasts of patients with rheumatoid arthritis / R. Audo , F. Calmon–Hamaty, D. Baeten, [et al.]//Arthritis Rheum. – 2011. – Vol.63, № 4. – P. 904–913.
13. De Bruyn, M., Wei Y., Wiersma V.R. Cell surface delivery of TRAIL strongly augments the tumoricidal activity of T-cell/ D.F. Samplonius, H.G. Klip, A.G. van der Zee [et al.] // Clin. Cancer Res. – 2011. – Vol.17, № 17. – P. 5626–5637.

14. Guicciardi M., Gores G. Life and death by death receptors/ G. Gores // *FASEB J.* – 2009. – Vol.23, № 6. – P. 1625–1637.
15. Guicciardi M.E., Bronk S.F., Werneburg N.W. Bid is upstream of lysosome-mediated caspase 2 activation in tumor necrosis factor alpha-induced hepatocyte apoptosis/ M.E. Guicciardi, S.F. Bronk, N.W. Werneburg, [et al.] // *Gastroenterology.* – 2005. – Vol.129, № 1. – P.269–284.
16. Huang Z., Song L., Wang C. Hipoxia-ischemia upregulates and TRAIL receptors in the immature rat brain /Z. Huang, L. Song, C. Wang [et al.] // *Dev. Neurosci.* – 2011. – Vol. 33, № 6. – P.519–530.
17. Iyori M., Zhang T. TRAIL/DR5 plays a critical role in NK cell-mediated negative regulation of dendritic cell cross-priming of T cells/ H. Pantel, B.A. Gagne, C.L. Sentman // *J. Immunol.* – 2011. – Vol.187, № 6. – P. 3087–3095.
18. Jacquemin G., Shirley S., Micheau O. Combining naturally occurring polyphenols with TNF-related apoptosis-inducing ligand: a promising approach to kill resistant cancer cells?/ G. Jacquemin, S. Shirley, O. Micheau // *Cell Mol.Life Sci.* – 2010. – Vol. 67, № 18. – P. 3115–3130.
19. Laxminarayan R., Duse A., Wattal C. Antibiotic resistance – the need for global solutions / R. Laxminarayan, A. Duse, C. Wattal // *Lancet Infect Dis.* – 2013. – Vol.13, № 12. – P. 1057–1098.
20. Lu S., Peng H., Wang L. Elevated specific peripheral cytokines found in major depressive disorder patients with childhood trauma exposure: a cytokine antibody array analysis /S. Lu, H. Peng, L. Wang // *Compr Psychiatry.* – 2013. – Vol. 54, № 7. – P.953–961.
21. Oved K., Cohen A., Boico O. A Novel Host-Proteome Signature for Distinguishing between Acute Bacterial and Viral Infections/ K. Oved, A. Cohen, O.A. Boico // *PLOS ONE.* – 2015. – Vol.10, № 3. E0120012. doi: 10.1371.
22. Schneider P., Holler N., Bodmer J.L. Conversion of membrane-bound Fas (CD95) ligand to its soluble form is associated with downregulation of its proapoptotic activity and loss of liver toxicity / P. Schneider , N. Holler, J.L. Bodmer, [et al.] // *J. Exp. Med.* – 1998. – Vol.187, № 8. – P. 1205–1213.
23. Stoilfi C., Pallone F., Monteleone G. Molecular targets of TRAIL-sensitizing agents in colorectal cancer / C. Stoilfi, F. Pallone, G. Monteleone // *Int. J. Mol. Sci.* – 2012. – Vol. 13, № 7. – P. 7886–7901.
24. Thorton C., Rousset C.I., Kichev A. Molecular Mechanisms of Neonatal Brain Injury/ C. Thorton., C.I. Rousset., A. Kichev // *Neurology Research International.* – 2012. – Vol. 2012, № 2. – P. 603.
25. Tornese G., Tisato V., Monasta L. Serum TRAIL levels increase shortly after insulin therapy and metabolic stabilization in children with type 1 diabetes mellitus / G. Tornese, V. Tisato, L. Monasta // *ActaDiabetol.* – 2015. – Vol.52, № 5. – P.1003–1005.