

Нарушение метаболизма в лизосомах при онкопатологии как маркер нутриционного прогноза

Г. Г. Варванина, А. Н. Костюченко

ГБУЗ «Московский клинический научно-практический центр имени А. С. Логинова Департамента здравоохранения Москвы»

РЕЗЮМЕ

При онкопатологии роль катепсина L в протеолизе изучена недостаточно, в частности его связь с нутриционным статусом и нутриционным прогнозом.

Цель исследования. Определить эффект нарушенного метаболизма в лизосомах и его связь с развитием нутриционной недостаточности.

Материал и методы. В исследование включено 56 больных (36 с КРП и 20 с раком ПЖ), контрольную группу составили 14 человек. В сыворотке крови определяли катепсин L, цистатин C, ретинолсвязывающий белок (РСБ-4), преальбумин методом ELISA. Статистический анализ проводили по критерию Манна–Уитни. Результаты представляли в виде медианы (интерквартильный диапазон). Достоверность различий считали существенной при $p < 0,05$.

Результаты. Выявлено, что динамика изменения маркеров эпидермально-мезенхимального перехода свидетельствует о повышении уровня цистатина C (ингибитора катепсина), снижении уровня РСБ во взаимосвязи с катепсином L, что в последующем отражается на снижении уровня преальбумина (маркера соматической протеиновой недостаточности). Катепсин L в комплексе с РСБ определяет один из механизмов развития нутритивной недостаточности и может ее прогнозировать.

Вывод. Определение в комплексе РСБ, катепсина L и преальбумина может служить ранним прогностическим маркером нутритивной недостаточности.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: нутриционный прогноз, лизосомы, онкопатология, диагностика.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Disorders of metabolism in lysosomes in oncopathology as marker of nutritional prognosis

G. G. Varvanina, L. N. Kostyuchenko

Moscow Clinical Scientific and Practical Centre n.a. A. S. Loginov, Moscow, Russia

SUMMARY

With oncopathology, the role of Cathepsin L in proteolysis is not sufficiently studied, in particular, its connection with the nutritional status and the nutritional forecast.

The purpose of the study. To determine the effect of impaired metabolism in lysosomes and its connection with the development of nutritional failure.

Material and methods. The study includes 56 patients (36 with pancreatic cancer, 20 with CP). In the serum, MMP-9, TIMP-1 and GC were determined by the ELISA method. Statistical analysis was carried out by the criterion of Mann–Whitney. The results were presented in the form of medians (interquartile range). The reliability of differences was considered essential at $p < 0,05$.

Results. It was revealed that the dynamics of changes in the epidermal-mesenchymal transition markers indicates an increase in the level of cystatin C (inhibitor of cathepsins), a decrease in the level of RSB in relations with the Cathepsin L, which is subsequently reflected in the reduction of the level of prealbumin (marker of somatic protein deficiency). Cathepsin L in the complex with RSB determines one of the mechanisms for the development of nutritional failure and can predict it.

Conclusions. The definition in the complex of the RSB, cathepsin L and prealbumin can serve as an early prognostic marker of nutritional insufficiency.

KEY WORDS: nutrition forecast, lysosomes, oncopathology, diagnostics.

CONFLICT OF INTEREST. The authors declare that they have no conflicts of interest.

Онкологические заболевания являются причиной примерно каждой шестой смерти в мире и характеризуются по меньшей мере пятью основными процессами: пролиферацией, апоптозом, ангиогенезом, инвазией и миграцией клеток [1, 2]. В инвазию и миграцию вовлечены различные процессы, включая потерю адгезии клетка – клетка и клетка – матрикс и деградацию компонентов внеклеточного матрикса (ВКМ) [3]. При этом опухолевые клетки проявляют повышенную протеолитическую активность, что помогает им проникать через базальную мембрану, мигрировать через нее и способствовать развитию метастазов, основной причине смерти онкологических больных [4]. Катепсины – цистеиновые протеазы. Их роль в протеолизе (особенно катепсина L) изучена недостаточно. Для уточнения механизма протеинового распада и выявления его ранних проявлений (еще не визуализируемых) мы попытались проследить роль внутриклеточного метаболизма в нутриционном гомеостазе.

Цель исследования: определить эффект нарушенного метаболизма в лизосомах и его связь с развитием нутриционной недостаточности.

Материал и методы

В исследование включено 56 больных (36 с КРП и 20 с раком ПЖ). В сыворотке крови определяли катепсин L, цистатин C, ретинолсвязывающий белок (РСБ-4), преальбумин методом ELISA. Статистический анализ проводили по критерию Манна–Уитни. Результаты представляли в виде медианы (интерквартильный диапазон). Достоверность различий считали существенной при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение полученных данных

Злокачественные опухоли – медико-социальная задача, которая требует решения ввиду неблагоприятного прогноза для пациента, поскольку онкологические заболевания являются причиной примерно каждой шестой смерти в мире. Считается,

что рак возникает в результате многоступенчатого процесса, который включает накопление генетических и эпигенетических изменений в клетках, таких как повышенная экспрессия онкогенов и снижение экспрессии генов-супрессоров опухолей. Эти изменения могут привести к снижению репарации ДНК, снижению запрограммированной гибели клеток (апоптозу) и увеличению пролиферации. В здоровой ткани существует равновесие между делением клеток и апоптозом. В опухолях это равновесие нарушается, и злокачественные клетки способны размножаться в отсутствие сигналов от их микроокружения, которое обычно контролирует пролиферацию клеток [2]. Когда опухоль достигает определенного размера, она становится зависимой от роста новых кровеносных сосудов, ангиогенеза, постоянного снабжения кислородом и питательными веществами и удаления продуктов жизнедеятельности. В инвазию и миграцию вовлечены различные процессы, включая потерю адгезии клетка – клетка и клетка – матрикс и деградацию компонентов ВКМ [5].

Злокачественные клетки проявляют повышенную протеолитическую активность, что помогает им переваривать внутриклеточный матрикс. Это переваривание необходимо для того, чтобы раковые клетки проникли в базальную пластинку и мигрировали через нее, что является признаком злокачественности. Инвазия и миграция раковых клеток могут привести к развитию метастазов в отдаленных местах. Все это сопровождается токсико-анемическим, воспалительным, аноректическим, катаболическим синдромами, приводящими в более позднем периоде к кахектическим изменениям, связанным с фазами канцерогенеза [6], формированием RED-синдрома (синдрома относительного энергодифицита), и мышечному распаду и нутриционной недостаточности [7].

В последние два десятилетия исследования были сосредоточены на протеазах и их роли в развитии рака в поисках новых противоопухолевых методов лечения. Протеазы – это большая группа ферментов, которые катализируют расщепление пептидных связей в белках. Они подразделяются на пять категорий: металлопротеазы, включая матриксные металлопротеазы (ММП); цистеиновые протеазы; сериновые протеазы; аспарагиновые протеазы и треониновые протеазы. Другое семейство протеаз состоит из цистеиновых

протеаз, также называемых катепсинами. Слово «катепсин» происходит из греческого языка, где оно означает *переваривать*. Большинство катепсинов выполняют функцию разложения белков в лизосомах большинства типов клеток. Активность катепсинов регулируется балансом между их эндогенными ингибиторами и активацией их неактивных форм предшественников. Семейство катепсинов состоит из 11 членов: В, С, F, H, K, L, O, S, V, W и X/Z (*рис. 1*) [8].

Большинство катепсинов являются эндопептидазами, тогда как некоторые также проявляют экзопептидазную активность. Все катепсины синтезируются в виде неактивных предшественников, при этом эндопептидазы активируются автолизом при кислом pH в лизосомах, а экзопептидазы активируются эндопептидазами. Катепсины являются членами семейства лизосомальных цистеиновых протеаз и обычно располагаются внутри лизосомы. Многочисленные исследования показали корреляцию повышенной протеолитической активности цистеиновых катепсинов с неопластической трансформацией, инвазией опухоли и метастазированием через разрушение компонентов внеклеточного матрикса и базальных мембран при распространении опухоли [9]. Активность регулируется балансом между их эндогенными ингибиторами и активацией их неактивных форм предшественников. Могут экспрессироваться на поверхности клетки и секретироваться во внеклеточное пространство, где они могут разрушать компоненты ВКМ.

При этом цистатин С – ингибитор цистеиновых протеаз.

Цистатины (*рис. 2*) – обратимые, прочно связывающиеся ингибиторы против цистеиновых протеаз, которые выполняют различные физиологические функции [10]. Члены семейства делятся на три группы. Цистатины первого типа, называемые также стефинами, представляют собой внутриклеточные белки, которые присутствуют в большинстве клеток (цистатин А и В). Цистатины второго типа – это секретируемые белки, обнаруженные в большинстве жидкостей организма (цистатины С, D, Е/М, F, G, H, S, SA и SN). Третий тип, также называемый кининогенами, представляет собой большие многофункциональные гликопротеины в жидкостях организма, которые работают как белки острой фазы. В иммунной системе цистатины обычно вызывают

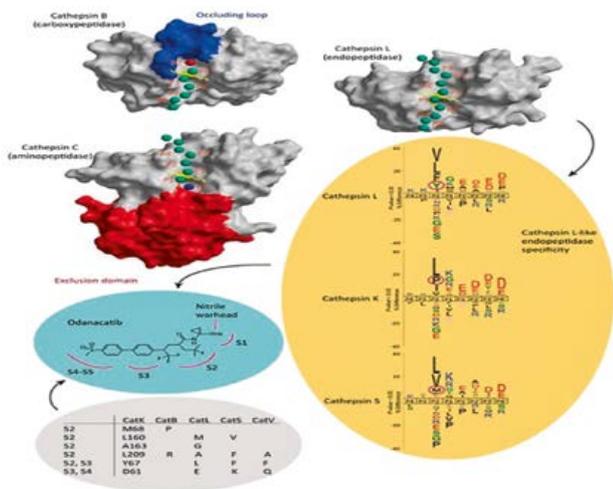


Рисунок 1. Семейство катепсинов.

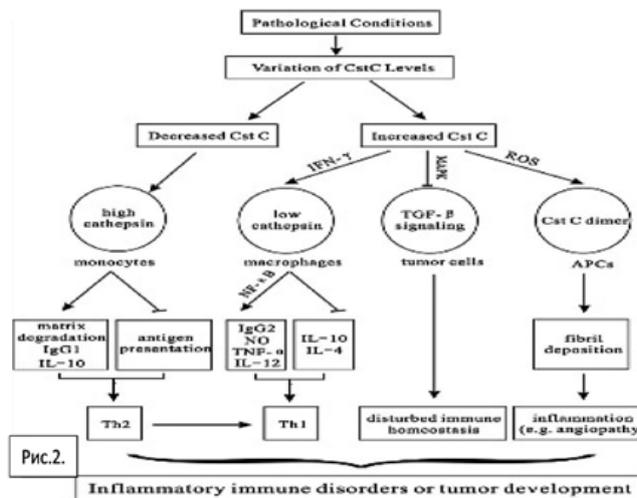


Рисунок 2. Цистатины. Цит. по М. Zi и Y. Xu (2018).

иммуносупрессивные реакции. Фетуин А, цистатин третьего типа, подавляет активность провоспалительных цитокинов и предотвращает чрезмерное воспаление в поврежденных тканях [11]. Цистатины второго типа ингибируют автолиз ММП, который является важным процессом для интактного ремоделирования внеклеточного матрикса [12]. Цистатин С, наиболее распространенный цистатин второго типа, ингибирует катепсины L и S, которые участвуют в процессинге антигена в антигенпрезентирующих клетках, что приводит к подавлению иммунных ответов, опосредованных молекулами МНС класса II [13]. Катепсины, основные мишени ингибирования цистатинов, обычно активируются в раковых клетках и участвуют в инвазии и метастазировании опухоли. Было показано, что высокий уровень цистатина С в сыворотке крови связан с плохим прогнозом у пациентов с колоректальным раком и метастазированием у пациентов с меланомой [14]. Таким образом, регуляция цистатинов и их роль в канцерогенезе человека остаются неизвестными.

Цистатин С, точный маркер скорости клубочковой фильтрации и эндогенный ингибитор цистеиновой протеазы, был обнаружен в различных тканях человека, но в основном во внеклеточной жидкости и сыворотке. Было показано, что повышенные уровни цистатина С в опухолевых тканях коррелируют с благоприятным прогнозом онкобольных, тогда как более высокие уровни цистатина С в жидкостях организма связаны с плохим прогнозом больных раком [10]. Однако при патологии цистатин С связан с различными иммунными ответами, что в конечном счете приводит к аутоиммунным заболеваниям или развитию опухолей. Катепсин L также играет роль в иммунной системе, в частности за счет разрушения инвариантной цепи при процессинге МНС класса II. Это критический этап презентации антигена [2]. Экспрессия катепсина L в тимусе, как было показано, важна для развития естественных клеток-киллеров. Он экспрессируется во всех тканях и типах клеток, и основная функция цистеиновых катепсинов – протеолиз белковых антигенов, генерируемых эндоцитозом патогенов [8], и может влиять на регуляцию клеточного цикла, поскольку он способен разрушать факторы ядерной транскрипции.

Катепсин L (рис. 3) продуцируется в виде препрокатепсина L, транспортируется через аппарат Гольджи как прокатепсин L в секреторных везикулах и затем сохраняется в лизосомах в виде зрелого катепсина L и представляет собой разрушающий матрикс фермент, уровень которого, как известно, повышается при хроническом воспалении [2].

Катепсин L активируется при различных злокачественных новообразованиях – карциномах груди, легких, желудка, толстой кишки, головы и шеи, меланомах и глиомах.

Кроме того, уровень экспрессии катепсина L положительно коррелирует со степенью злокачественности. Экспрессия повышена исключительно в раковых клетках, и поэтому он может быть лучшей терапевтической мишенью, чем другие катепсины [2, 15]. А может ли он быть лучшим маркером развивающихся нарушений в протеиновом обмене при осуществлении искусственной алиментации? Нами исследовался данный аспект: оценивали изменения концентраций цистатина, катепсина L, РБК и преальбумина в плазме и корреляции между ними (рис. 4–6).



Рисунок 3. Катепсин L при раке.

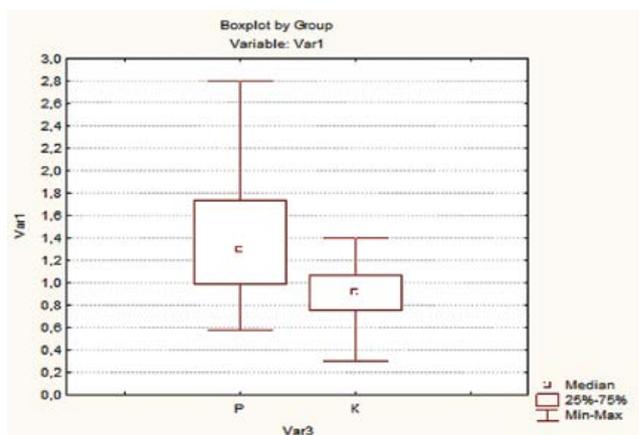


Рисунок 4. Концентрация цистатина С в контроле (к) и группе наблюдения (р).

У больных с онкопатологией выявлено достоверное увеличение цистатина С (рис. 4) по сравнению с контрольной группой. Эти результаты указывают на возможную роль этого ингибитора в росте и прогрессировании опухоли. Эти результаты подтверждаются рядом исследований, где показано, что для цистатина С средняя выживаемость пациентов с низкими уровнями, по-видимому, больше, чем у пациентов с высокими уровнями, но разница не является статистически значимой; значение этого параметра еще предстоит выяснять. Нами обнаружено, что пациенты с высокими уровнями цистатина С имели значительно более низкую вероятность выживания по сравнению с другими комбинациями или с прогностическими значениями отдельных переменных. Также показано, что цистатин С может участвовать в модуляции инвазивного фенотипа опухолей человека.

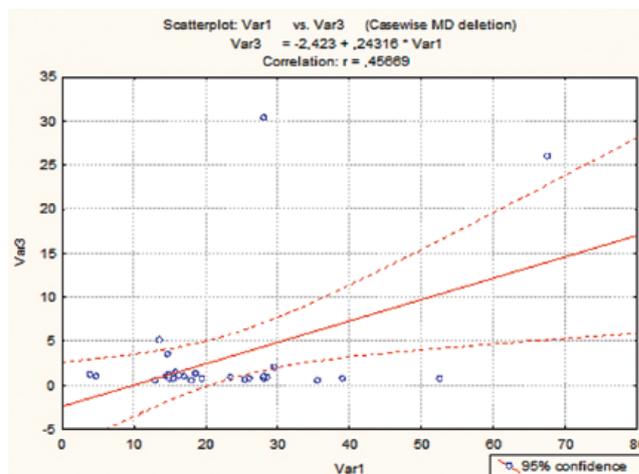


Рисунок 5. Взаимосвязь между уровнем РСБ и катепсином L.

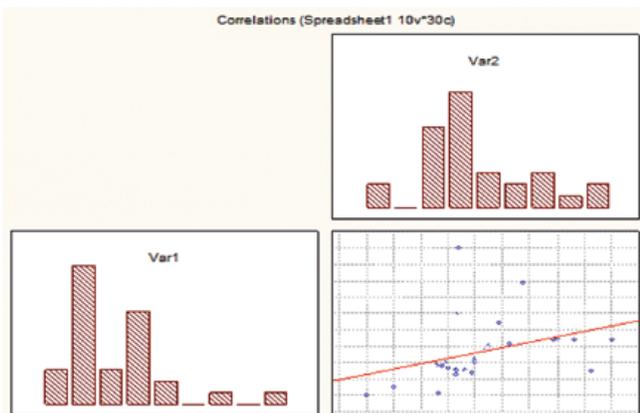


Рисунок 6. Корреляция между РСБ и нутриционным статусом, по данным преальбуминовой концентрации.

Кроме того, нами выявлена положительная достоверная корреляция между уровнем РСБ и катепсином L (рис. 5).

РСБ-4, секретируемый адипоцитами и печенью, является маркером нутритивной недостаточности [16]. В научной литературе также широко обсуждается роль РСБ в патофизиологии воспаления, канцерогенеза и резистентности ткани к инсулину [17, 18]. Нами была проанализирована взаимосвязь между уровнями этой протеазы (катепсин L) и ретинолсвязывающим белком (РСБ) в сыворотке крови пациентов. Все эти данные жестко коррелировали с параметрами нутриционного статуса. В частности, выявлена положительная взаимосвязь между концентрацией преальбумина и РСБ (рис. 6).

Данные были также верифицированы по алиментационно-волеическим параметрам и результатам биоимпедансометрии, характеризующим нутриционный статус. Оказалось, что наиболее существенна зависимость нутриционного статуса от выраженности изменений РСБ, катепсина L и преальбумина в комплексе. В связи с этим для ранней диагностики нутриционного прогноза целесообразно использовать именно эти маркеры алиментационных расстройств. Эти маркеры позволяют проводить более раннюю диагностику и выбирать соответствующую коррекцию с учетом прогноза нутриционной недостаточности.

Выводы

1. Изучение динамики изменения маркеров эпидермально-мезенхимального перехода свидетельствует о повышении уровня цистатина С (ингибитора катепсина),

снижении уровня РСБ во взаимосвязи с катепсином L, что в последующем отражается в снижении уровня преальбумина (маркера соматической протеиновой недостаточности).

2. Определение в комплексе РСБ, катепсина L и преальбумина может служить ранним прогностическим маркером нутритивной недостаточности.

Список литературы / References

1. Bray, F., Ferlay, J., Soerjomataram, I., Siegel, R.L., Torre, L.A. and Jemal, A. (2018) Global Cancer Statistics 2018: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. CA: A Cancer Journal for Clinicians, 68, 394–424. <https://doi.org/10.3322/caac.21492>.
2. Lankelma J. M., Voorend D. M., Barwari T. et al Cathepsin L, target in cancer treatment? Life Sciences, Volume 86, Issues 7–8, 2010, Pages 225–2333.
3. Cairns RA, Khokha R, Hill RP. Molecular mechanisms of tumor invasion and metastasis: an integrated view. Current Molecular Medicine 3 (7), 659–671, 2003.
4. Gocheva V, Zeng W, Ke D, Klimstra D, Reinheckel T, Peters C, Hanahan D, Joyce JA. Distinct roles for cysteine cathepsin genes in multistage tumorigenesis. Genes & Development 20 (5), 543–556, 2006.
5. Vidak E, Javoršek U, Vizovišek M, Turk B. Cysteine Cathepsins and their Extracellular Roles: Shaping the Microenvironment. Cells. 2019; 8 (3): 264. Published 2019 Mar 20. DOI: 10.3390/cells8030264.
6. Костюченко А. Н. Детоксикационная алиментация паллиативных больных онкологического профиля Медицинский алфавит. Практическая гастроэнтерология, № 17, 2020, с. 15–25.
Kostyuchenko L. N. Detoxification alimention of palliative cancer patients Medical Alphabet. Practical gastroenterology, No. 17, 2020, p. 15–25.
7. Костюченко А. Н. Нутрициология в онкологии. Под ред. АН Костюченко, М., 2019, 319 с.
Kostyuchenko L. N. Nutritionology in Oncology. Ed. L. N. Kostyuchenko, M., 2019, 319 p.
8. Kramer L, Turk D., Turk B., The Future of Cysteine Cathepsins in Disease Management, Trends in Pharmacological Sciences, Volume 38, Issue 10, 2017, Pages 873–898.
9. Yadafi, Tulasi et al. The Ins and Outs of Cathepsins: Physiological Function and Role in Disease Management. Cells, Vol. 9, 7 16–79. 13 Jul. 2020. DOI: 10.3390/cells9071679.
10. Mori, Jinichi et al. Cystatin C as a p53-inducible apoptotic mediator that regulates cathepsin L activity. Cancer Science, Vol. 107, 3 (2016): 298–306. DOI: 10.1111/cas.12881.
11. Zhang M, Caragine T, Wang H et al. Spermine inhibits proinflammatory cytokine synthesis in human mononuclear cells: a counterregulatory mechanism that restrains the immune response. J Exp Med 1997; 185: 1759–68.
12. Ray S, Lukyanov P, Ochieng J. Members of the cystatin superfamily interact with MMP-9 and protect it from autolytic degradation without affecting its gelatinolytic activities. Biochim Biophys Acta 2003; 1652 (2): 91–102.
13. Zi M., Xu Y. Involvement of cystatin C in immunity and apoptosis. Immunology letters. 2018. 196, 80–90. <https://doi.org/10.1016/j.imlet.2018.01.006>
14. Kos J, Krasovec M, Cimerman N, Nielsen HJ, Christensen IJ, Brunner N. Cysteine proteinase inhibitors stefin A, stefin B, and cystatin C in sera from patients with colorectal cancer: relation to prognosis. Clin Cancer Res 2000; 6 (2): 505–11.
15. Yadafi, Tulasi et al. The Ins and Outs of Cathepsins: Physiological Function and Role in Disease Management. Cells, Vol. 9, 7 1679. 13 Jul. 2020. DOI: 10.3390/cells9071679.
16. Greer Julia B et al. "Nutrition and Inflammatory Biomarkers in Chronic Pancreatitis Patients. Nutrition in clinical practice: official publication of the American Society for Parenteral and Enteral Nutrition. Vol. 34, 3 (2019): 387–399. DOI: 10.1002/ncp.10186.
17. Wang Fuchan et al. Retinol-binding protein 4 regulates the biological functions and molecular mechanisms of JEG-3 cells. International Journal of Clinical and Experimental Pathology, Vol. 11, 12, 5877–5884. 1 Dec. 2018.
18. Винокурова Л. В., Леско К. А., Бордин Д. С., Дубцова Е. А., Тюляева Е. Ю., Варванина Г. Г. Роль ретинол-связывающего белка в дифференциальной диагностике рака поджелудочной железы. Эффективная фармакотерапия. 2020. Т. 16. № 24. С. 20–26.
Vinokurova L. V., Lesko K. A., Bordin D. S., Dubtsova E. A., Tyulyaeva E. Yu., Varvanina G. G. The role of retinol-binding protein in the differential diagnosis of pancreatic cancer. Effective Pharmacotherapy. 2020. Vol. 16. No. 24. P. 20–26.

Статья поступила / Received 05.03.2021
Получена после рецензирования / Revised 19.03.2021
Принята в печать / Accepted 22.03.2021

Сведения об авторах

Варванина Галина Григорьевна, д. м. н., с. н. с. лаборатории научно-диагностических исследований. SPIN-код 8280-4152. ORCID: 0000-0002-2305-0671
Костюченко Людмила Николаевна, д. м. н., проф., acad. PAE, рук. лаборатории нутрициологии. ORCID 0000-0003-3084-7563

ГБУЗ «Московский клинический научно-практический центр имени А. С. Логинова Департамента здравоохранения Москвы»

Автор для переписки: Костюченко Людмила Николаевна.
E-mail: l.kostyuchenko@mknc.ru

Для цитирования: Варванина Г. Г., Костюченко Л. Н. Нарушение метаболизма в лизосомах при онкопатологии как маркер нутриционного прогноза. Медицинский алфавит. 2021; (6): 19–22. <https://doi.org/10.33667/2078-5631-2021-6-19-22>

About authors

Varvanina Galina G., DM Sci, senior researcher at Laboratory of Scientific and Diagnostic Research. ORCID: 0000-0002-2305-0671
Kostyuchenko Lyudmila N. DM Sci, prof., acad. of RAE, head of Laboratory of Nutritional Science. ORCID 0000-0003-3084-7563

Moscow Clinical Scientific and Practical Centre n.a. A. S. Loginov, Moscow, Russia

Corresponding author: Kostyuchenko Lyudmila N. E-mail: l.kostyuchenko@mknc.ru

For citation: Varvanina G. G., Kostyuchenko L. N. Disorders of metabolism in lysosomes in oncopathology as marker of nutritional prognosis. Medical alphabet. 2021; (6): 19–22. <https://doi.org/10.33667/2078-5631-2021-6-19-22>

