



**ИССЛЕДОВАНИЕ АКТИВНОСТИ
АНТИАПОПТОТИЧЕСКОГО БЕЛКА BCL-2 У ДЕТЕЙ,
БОЛЬНЫХ ДЕТСКИМ ЦЕРЕБРАЛЬНЫМ ПАРАЛИЧОМ**

Соколова Мария Георгиевна

*доцент, канд. мед. наук, Северо-Западный государственный
медицинский университет им. И.И. Мечникова,
Россия, г. Санкт-Петербург
E-mail: sokolova.m08@mail.ru*

**THE STUDY OF THE ACTIVITY OF ANTIAPOPTOTIC
PROTEIN BCL-2 IN CHILDREN WITH CEREBRAL PALSY**

Sokolova Maria

*candidate of Medical Sciences,
North-West State Medical University named after I.I. Mechnikov,
Russia, Saint-Petersburg*

АННОТАЦИЯ

Изучение роли антиапоптотических белков в развитии и течении ДЦП может помочь раскрыть звенья патогенеза этого резидуального неврологического заболевания. Проведено клинико-лабораторное обследование 60 детей, больных ДЦП. Выявлено, что у детей, больных ДЦП со спастическими формами паралича, уровень белка Bcl-2 был достоверно выше, чем в контрольной группе.

ABSTRACT

Identification of a role of antiapoptotic proteins in development and clinical course of cerebral palsy can help to discover pathogenesis links of this residual neurologic disease. Clinical-laboratory examination of 60 children with cerebral palsy was performed. The level of Bcl-2 protein in children with cerebral palsy with spastic forms of paralysis was definitely higher than in control group.

Ключевые слова: детский церебральный паралич, белок Bcl-2, иммуноферментный метод.

Keywords: children with cerebral palsy, protein Bcl-2, immunoenzyme method.

Введение. Изучение роли антиапоптотических белков в развитии неврологических заболеваний может дать ценную информацию для понимания механизмов нейропластичности мозга. Детский церебральный паралич (ДЦП), по мнению многих клиницистов, можно рассматривать как лонгитюдный патологический процесс, активно протекающий на протяжении всей жизни больного ребенка. Механизмы некротических и репаративных процессов зависят от соотношения генетически запрограммированных процессов апоптоза и антиапоптотической защиты [5, с. 75].

Антиапоптотическим действием обладают Bcl-2 белки (B-cell lymphoma protein 2), Bcl-X (BCL2 like J), Bcl-XL (BCL2 related protein, long isoform), Bcl-XS (BCL2 related protein, short isoform), Bcl-W (BCL2 like 2 protein), BAG (BCL2 associated athanogene) [4, с. 159].

В настоящее время известно 25 генов, кодирующих белки семейства Bcl-2 [9, с. 84]. Изучены молекулярные механизмы, с помощью которых белки семейства Bcl-2 регулируют апоптоз: митохондриальный путь и процесс активации каспаз [3, с. 3]. В первом случае представители этого семейства влияют на проницаемость митохондриальной мембраны, за счет чего осуществляется контроль за высвобождением цитохрома C из митохондрий [7, с. 83]. Процесс активации каспазного каскада запускается как с участием белков семейства Bcl-2, так и присутствием в клеточном цитозоле цитохрома C [10, с. 2507].

К настоящему времени предложено несколько гипотез для объяснения нейропротекторной функций белков семейства Bcl-2 [6, с. 1024; 8, с. 68]. Основным механизмом его действия считается инактивация проапоптотических гомологов и подавление выхода из митохондрий цитохрома C, необходимого для активации каспазного каскада [13, с. 598]. Известно, что повышенная экспрессия Bcl-2 при опухолевом процессе коррелирует с более низким

уровнем клеточной пролиферации [11, с. 1085; 12, с. 3247]. Таким образом, белок Bcl-2, способен тормозить клеточную пролиферацию и влиять на скорость дифференцировки и созревания клетки.

Фактически все дети, больные детским церебральным параличом, имеют задержку психомоторного и речевого развития, и не всегда мы можем объяснить выраженную задержку развития только наличием органического дефекта в головном мозге. Скорее, здесь задействованы более тонкие биомолекулярные процессы на клеточном уровне. Несмотря на то, что ключевая роль в регуляции апоптоза для онкогена Bcl-2 и членов его семейства установлена давно и не вызывает сомнения, молекулярный механизм действия этих анти- и проапоптотических белков при других заболеваниях не выяснен окончательно. Проапоптотические и антиапоптотические белки, участвующие в регуляции клеточного цикла (пролиферация, апоптоз), могли бы быть использованы в качестве прогностических маркеров при ДЦП. Возможным кандидатом на эту роль является белок Bcl-2.

Цель исследования: определение уровня белка Bcl-2 в сыворотке крови у детей, больных ДЦП, сопоставление результатов исследования с клинико-неврологическими данными.

Материалы и методы: На базе стационарного отделения «Хоспис (детский)» в г. Санкт-Петербурге было обследовано 60 детей, больных ДЦП, в возрасте 5—10 лет. Контрольную группу составляли 30 здоровых детей. Анамнестические сведения обследуемых детей подтверждались данными соответствующих документов (выписные эпикризы из родильного дома, из стационаров и т. д.). Всем детям основной и контрольной групп проводилось клинико-неврологическое и лабораторное обследование. Определение уровня белка Bcl-2 проводили иммуноферментным методом в образцах сыворотки крови с использованием коммерческого иммуноферментного набора фирмы RayBiotech, Inc в соответствии с инструкциями производителя. Пороговые величины определения Bcl-2 были 0,5 нг/мл. Статистическая обработка проводилась с использованием непараметрического метода с вычислением t-критерия Манна-Уитни.

Результаты и обсуждения: Анализ анамнестических данных выявил у больных детей в структуре перинатальной патологии в 47 % случаев гипоксически-ишемическое поражение, в 41 % сочетанное гипоксически-ишемическое и инфекционное поражение ЦНС, в 7 % имела место травматическая миелопатия шейного отдела позвоночника и в 5 % случаев сочетанное поражение ЦНС гипоксически-ишемического и интоксикационного характера (наркомания у матери). Клинико-неврологические исследования выявили у всех детей двигательные нарушения в виде спастического тетрапареза (78 %), гемипареза (12 %), атаксически-атонический синдрома (10 %). Двигательные нарушения сочетались у 21 % детей с псевдобульбарным синдромом, у 26 % с гиперкинетическим синдромом и у 33 % с гипертензионно-гидроцефальным синдромом. Все дети имели выраженную задержку психомоторного и речевого развития.

При проведении анализа данных ИФА сыворотки крови было выявлено, что уровень белка Vcl-2 у детей, больных ДЦП, имеет достоверных различий в сравнении с контрольной группой ($U=39$; $p<0,05$). У детей, больных ДЦП, уровень белка Vcl-2 находился в пределах (0—2416,10), в контрольной группе (0—3,97). Также выявлены достоверные различия при сопоставлении данных уровня белка Vcl-2 у детей со спастическими формами паралича ($p<0,05$). Повышенная экспрессия белка Vcl-2 у детей, больных ДЦП, может быть связана с участием белка Vcl-2 в процессах свободнорадикального окисления. Считается, что Vcl-2 предотвращает программированную гибель клеток в организме путем подавления перекисного окисления липидов [2, с. 243]. Существуют данные, что у больных спастическими формами ДЦП выявлена высокая активность окислительных процессов [1, с. 6]. Так, у детей с ДЦП от 1 года до 5 лет был выявлен в сыворотке крови высокий уровень церулоплазмينا и ферментов антирадикальной защиты (супероксиддисмутаза, каталазы и пероксидазы) [1, с. 6]. Авторы сделали предположение, что существуют патогенетические механизмы, поддерживающие и, возможно, провоцирующие процессы окисления у больных ДЦП. Следовательно, увеличение концентрации Vcl-2 может быть связано

с функцией подавления оксидантного стресса у больных ДЦП. Среди обследуемых дети со спастическими формами паралича имели наиболее выраженную задержку психомоторного и речевого развития. Возможно, белок Bcl-2 оказывает на нервную ткань усиленное антиапоптотическое действие, замедляя процессы созревания ЦНС у детей, больных ДЦП. Это происходит вследствие гиперэкспрессии белка Bcl-2 при повышенной активности свободнорадикального окисления у больных ДЦП со спастическими формами паралича.

Выводы. Содержание белка Bcl-2 в сыворотке крови у детей, больных ДЦП, имеет статистически значимые различия в сравнении с данными контрольной группы. Несомненно, что Bcl-2 является центральной фигурой множества регуляторных систем клетки, таких как апоптоз и клеточная пролиферация. Выявленное нами повышенное содержание белка Bcl-2 в сыворотке крови у детей, больных ДЦП со спастическими формами паралича, диктует необходимость дальнейшего изучения биохимических процессов, участвующих в формировании двигательного дефекта и влияющих на темпы психомоторного и речевого развития детей.

Список литературы:

1. Айзатулина Д.В. Активность процессов свободнорадикального окисления у детей, больных детским церебральным параличом / Д.В. Айзатулина, Д.Д. Гайнетдинова // сб. матер. «IV Балтийский Конгресс по детской неврологии». — СПб.: Изд-во «Человек и его здоровье», 2013. — с. 6—7.
2. Меньщикова Е.Б., Данкин В.З., Зенков Н.К. Окислительный стресс. Проксиданты и антиоксиданты. — М.: Фирма «Слово», 2006. — 556 с.
3. Орлова Е.В. Роль регуляторных белков апоптоза / Е.В. Орлова, И.А. Костянян, В.П. Панов // Химико-фармацевтический журнал. — 2005. — Т. 39, № 12. — С. 3—8.
4. Райхлин Н.Т. Регуляция апоптоза в физиологических условиях и в опухолях / Н.Т. Рахлин, Н.А. Рахлин // Вопросы онкологии. — 2002. — № 48 (2). — С. 159—171.

5. Фаллер Д.М., Шилдс Д. Молекулярная биология клетки. — М.: Изд-во БИНОМ, 2006. — 256 с.
6. Abdel-Fatah T. Bcl2 as a surrogate prognostic and predictive marker in triple-negative breast cancer / T. Abdel-Fatah, P. Dickinson, P. Moseley // *J. Clin. Oncol.* — 2011. — № 29 (suppl.). — P. 1024—1035.
7. Bedner E. Li X. Translocation of Bax to mitochondria during apoptosis measured by laser scanning cytometry / E. Li X. Bedner, [et al.] // *Cytometry.* — 2008.— № 41. — P. 83—88.
8. Callagy G. Bcl-2 Is a prognostic marker in breast cancer independently of the nottingham prognostic index / G. Callagy [et al.] // *Clin. Cancer. Res.*— 2006. — № 12 (8). — P. 68—75.
9. Frenzel A. Bcl2 family proteins in carcinogenesis and the treatment of cancer / A. Frenzel, F. Grespi, W. Chmielewski, A. Villunger // *Apoptosis.* — 2009. — № 14 (4). — P. 84—96.
10. Gupta S., Hastak K., Afag F. Essential role of caspases in epigallocatechin-3-gallate-mediated inhibition of nuclear factor kappa B and induction of apoptosis / S. Gupta, K. Hastak, F. Afag // *Oncogene.* — 2004. — № 23 (14). — P. 2507—2522.
11. Hong C., Firestone G.L., Bjeldanes L.F. Bcl-2 family-mediated apoptotic effects of 3,3'-diindolylmethane (DIM) in human breast cancer cells / C. Hong, G.L. Firestone, L.F. Bjeldanes // *Biochem. Pharmacol.* — 2002.— № 63 (6). — P. 1085—1097.
12. LaCasse E.C. The inhibitors of apoptosis (IAPs) and their emerging role in cancer / E.C. LaCasse, [et al.] // *J. Oncogene.* — 2004. — V. 17. — P. 3247—3259.
13. Laulier C. Bcl-2 inhibits nuclear homologous recombination by localizing BRCA1 to the endomembranes / C. Laulier, A. Barascu, J. Guirouilh-Barbat, G. Pennarun, C. Le Chalony, F. Chevalier [et al.] // *Cancer Res.*— 2011. — № 71 (10). — P. 598—602.