

УДК 571.27; 616 – 006.5; 616 – 006.6; 618.14

## ОСОБЕННОСТИ ИММУННОГО СТАТУСА БОЛЬНЫХ МИОМОЙ МАТКИ И РАКОМ ЭНДОМЕТРИЯ

© 2012 г.

О.С. Янченко<sup>1</sup>, Е.Ю. Конторщикова<sup>1</sup>, К.А. Шахова<sup>1</sup>, В.В. Новиков<sup>2</sup><sup>1</sup> Нижегородская государственная медицинская академия<sup>2</sup> Нижегородский госуниверситет им. Н.И. Лобачевского

kukarina777@mail.ru

Поступила в редакцию 09.04.2012

При миоме матки увеличено сывороточное содержание растворимых антигенов sCD95, sCD50, MUC-16 и снижен уровень растворимых молекул HLA-I класса. Содержание CD3+, CD8+, CD16+, CD20+, CD95+, HLA-DR+ мононуклеарных клеток повышалось как при миоме матки, так и при раке эндометрия. Только у больных раком эндометрия повышен уровень молекул sHLA-I, sCD95, РЭА.

**Ключевые слова:** мононуклеарные клетки, растворимые дифференцировочные молекулы, миома матки, рак эндометрия.

Добропачественные и злокачественные опухоли матки – одна из наиболее часто встречающихся патологий у женщин разных возрастных групп [1]. Значительную роль в поддержании гомеостатического равновесия организма играют молекулярные механизмы иммунных реакций. Для эффективности элиминации опухолевых клеток и восстановления гомеостатических функций организма необходима адекватная и полноценная работа иммунной системы. Наличие или отсутствие изменений в популяционном составе клеток иммунной системы могут определять целесообразность иммунокорректирующей терапии [2, 3]. Перспективным в оценке состояния иммунной системы считается определение сывороточного уровня растворимых форм мембранных антигенов клеток иммунной системы [4–7]. В связи с этим, целью исследования явилась оценка состояния иммунологического статуса гинекологических больных с опухолями доброкачественной и злокачественной природы.

### Материалы и методы

В работе использованы образцы венозной крови пациенток с гистологически подтвержденным диагнозом I стадии рака эндометрия (I патогенетический вариант) (58 человек) и миомы матки (42 человека). Все случаи злокачественных новообразований относились к аденокарциноме эндометрия. Образцы крови были получены от больных, поступивших на лечение в Нижегородскую областную клиническую больницу им. Н.А. Семашко. Возраст больных

со злокачественными новообразованиями составил от 39 до 79 лет (в среднем 59 лет), с доброкачественными опухолями – от 30 до 59 (в среднем 46.4 лет). В качестве контрольной группы исследовали кровь 30 клинически здоровых доноров сопоставимого возраста.

Мононуклеарные клетки выделяли в одноступенчатом градиенте плотности фиколл-верографина (1.077 мг/мл). Клетки выделяли не позднее двух часов после забора крови.

Иммунофенотипирование мононуклеарных клеток периферической крови проводили методом непрямой иммунофлуоресценции с помощью люминесцентного микроскопа *Olympus CX31* (Япония). Для иммунофенотипирования мононуклеарных клеток использовали моноклональные антитела (МКА) серии ИКО против CD3, CD4, CD8, CD16, CD20 и CD95 антигенов.

Определение уровня растворимых дифференцировочных молекул sCD38, sCD50, sHLA-DR и sHLA I в сыворотке крови больных проводили двухсайтовым иммуноферментным методом с использованием тех же моноклональных антител серии ИКО, меченых пероксидазой хрена, и поликлональных антител против мононуклеарных клеток периферической крови человека в соответствии с ранее разработанными методами [8]. Результаты выражали в условных единицах (Ед/мл).

Исследование содержания в сыворотке крови больных растворимых антигенов MUC-16 (CA-125) и РЭА (раково-эмбрионального антигена CD66e) проводили двухсайтовым иммуноферментным методом с использованием коммерческих тест-систем для количественного

определения СА-125 и РЭА («Вектор-Бест», Новосибирск).

Статистический анализ проводили с использованием пакета программ *Microsoft Excel, Statistica 6.0*.

## Результаты и их обсуждение

Относительное содержание CD3<sup>+</sup>-лимфоцитов в периферической крови больных миомой матки было статистически достоверно снижено по сравнению со здоровыми донорами в 1.5 раза (табл. 1). При раке эндометрия также наблюдалось статистически достоверное уменьшение относительного содержания CD3<sup>+</sup>-лимфоцитов периферической крови. Снижение содержания зрелых Т-лимфоцитов свидетельствует о развитии у больных иммунодефицита. Число CD4<sup>+</sup> мононуклеарных клеток в периферической крови больных миомой матки находилось в пределах нормы. У больных раком эндометрия также отмечалось отсутствие статистически достоверных изменений в относительном содержании CD4<sup>+</sup>-лимфоцитов. При миоме матки обнаружено статистически достоверное повышение относительного содержания CD8<sup>+</sup>-клеток в 1.3 раза в сравнении с нормой (табл. 1). Иммунорегуляторный индекс больных миомой маткой составил 1.35, что ниже нормальных значений, лежащих в диапазоне от 1.5 до 2. У больных раком эндометрия количество CD8<sup>+</sup> мононуклеарных клеток не менялось. Иммунорегуляторный индекс равнялся 1.9 и не отличался от нормальных значений. Относительное содержание CD8<sup>+</sup>-клеток у больных раком эндометрия было в 1.3 раза меньше, чем у больных миомой матки.

Больные миомой матки характеризовались повышением относительного содержания CD16<sup>+</sup> мононуклеарных клеток в 1.7 раза. При раке эндометрия также зарегистрировано статистически достоверное повышение относительного содержания CD16<sup>+</sup>-клеток (табл. 1). Уровень натуральных киллеров у больных раком эндометрия в 1.3 раза превышал относительное содержание данных клеток в периферической крови больных миомой матки. Вероятно, различия в содержании натуральных киллеров у больных миомой и раком матки связаны с патогенетическими механизмами развития заболеваний.

При миоме и при раке эндометрия выявлено статистически достоверное повышение относительного содержания CD20<sup>+</sup>-клеток в 2.5 раза и 1.9 раза соответственно. Больные миомой матки и раком эндометрия характеризовались статистически достоверными различиями в содержании CD20<sup>+</sup>-клеток (В-лимфоцитов).

В крови женщин с миомой матки (табл. 1) зарегистрирован сниженный в 2 раза уровень CD95<sup>+</sup>-клеток. У больных раком эндометрия относительное содержание CD95<sup>+</sup>-клеток было в 2.9 раза ниже по сравнению со здоровыми донорами и в 1.5 раза ниже по сравнению с больными миомой матки.

Исследование количества HLA-DR-положительных клеток обнаружило статистически значимое повышение их относительного содержания в крови больных миомой и раком эндометрия в 2.5 и 2.2 раза соответственно (табл. 1).

Полученные данные свидетельствуют о различиях иммунного статуса больных миомой матки и раком эндометрия. При миоме матки относительное содержание CD8<sup>+</sup>- и CD20<sup>+</sup>-клеток периферической крови статистически достоверно выше, чем при раке эндометрия. В то же время количество натуральных киллеров у женщин, больных раком эндометрия, статистически достоверно превышает их содержание у женщин с миомой матки.

У больных миомой матки наблюдалось статистически значимое увеличение уровня sCD95 (Fas) антигена в 1.7 раза по сравнению со здоровыми донорами. При раке эндометрия сывороточное содержание растворимого CD95-антигена было выше, чем при миоме в 2.1 раза. Высокий уровень sCD95 антигена, видимо, является одним из необходимых условий выживания и пролиферации злокачественно трансформированных клеток.

При миоме матки выявлено снижение сывороточного содержания sHLA-I в 3.0 раза в сравнении с нормой (табл. 2). У женщин с раком эндометрия сывороточное содержание растворимых HLA-I статистически значимо увеличивалось в 3.8 раза в сравнении со здоровыми женщинами. Снижение концентрации растворимых молекул HLA-I, наблюдаемое при миоме матки, может являться механизмом, угнетающим проапоптотическое действие иммунорегуляторных факторов и приводящим к сохранению популяции цитотоксических CD8<sup>+</sup> Т-лимфоцитов и CD16<sup>+</sup> натуральных киллеров, осуществляющих иммунологический надзор за возникновением клонов злокачественно трансформированных клеток. Фактом, свидетельствующим в пользу существования подобного механизма, является выявленное повышение относительного содержания CD8<sup>+</sup>-клеток в периферической крови женщин с миомой матки. Повышенный уровень растворимых молекул HLA-I при раке эндометрия, в свою очередь, свидетельствует о существовании в организме

Таблица 1

**Относительное содержание популяций мононуклеарных клеток периферической крови больных с миомой матки и раком эндометрия, %**

| Антиген-положительные клетки | Миома матки  | Рак эндометрия | Здоровые доноры |
|------------------------------|--------------|----------------|-----------------|
| CD3+                         | 49.2±15.2*   | 52.9±22.1*     | 72.0±53.2       |
| CD4+                         | 40.9±28.9    | 44.5±23.6      | 39.0±5.0        |
| CD8+                         | 30.2±14.5*** | 23.3±14.4**    | 23.0±4.0        |
| CD16+                        | 20.6±11.0**  | 27.6±14.4***   | 12.0±6.0        |
| CD20+                        | 30.2±16.6*** | 22.9±19.1**    | 12.0±3.0        |
| CD95+                        | 25.9±17.3*** | 18.2±13.8***   | 52.0±11.0       |
| HLA-DR+                      | 35.1±23.5*   | 30.4±23.6*     | 14.0±7.0        |

\* Статистически значимые различия в сравнении с нормой ( $p < 0.05$ );

\*\* статистически значимые различия между миомой матки и раком эндометрия ( $p < 0.005$ ).

Таблица 2

**Содержание растворимых форм мембранных антигенов клеток иммунной системы в сыворотке крови больных миомой матки и раком эндометрия по сравнению с нормой, Ед/мл**

| Растворимый антиген | Миома матки   | Рак эндометрия  | Здоровые доноры |
|---------------------|---------------|-----------------|-----------------|
| sCD95               | 696.1±91.6*** | 1354.5±187.0*** | 374.5±23.0      |
| sHLA-DR             | 219.2±75.6*   | 210.5±63.5*     | 99.9±17.0       |
| sHLA-I              | 338.1±67.1*** | 3451.1±271.2*** | 1024.0±36.3     |
| sCD38               | 458.0±87.1*   | 425.1±81.4*     | 200.7±17.1      |
| sCD50               | 608.3±61.5*** | 438.0±73.1***   | 353.8±65.0      |

\* Статистически значимые различия в сравнении с нормой ( $p < 0.05$ );

\*\* статистически значимые различия между миомой матки и раком эндометрия ( $p < 0.01$ ).

больных процессов, направленных на апоптическую гибель киллерных клеток, что приводит к ослаблению противоопухолевого звена иммунитета и неконтролируемому росту злокачественно трансформированных клеток.

У больных миомой матки обнаружено статистически значимое в сравнении с нормой увеличение сывороточного уровня растворимых молекул HLA II класса (HLA-DR) в 2.2 раза, у больных раком эндометрия – в 2.8 раза. Увеличение сывороточного содержания растворимых молекул HLA-DR, вероятно, является одной из причин выявленного нами снижения относительного содержания CD4<sup>+</sup> Т-лимфоцитов периферической крови при миоме матки и раке эндометрия.

При миоме матки и раке эндометрия обнаружено статистически достоверное повышение, соответственно в 2.3 и 2.8 раза, сывороточного содержания CD38-антигена.

При миоме матки происходит статистически достоверное повышение сывороточного содержания sCD50-антигена в 1.7 раза в сравнении с нормой. При раке матки значимых изменений в содержании sCD50-антигена не обнаружено. Между сывороточным уровнем sCD50-антигена у больных миомой и раком матки обнаружены статистически достоверные различия, что может свидетельствовать о

разной интенсивности миграционных клеточных процессов при исследуемых новообразованиях (табл. 2).

Проведенное исследование показало, что у больных миомой матки и раком эндометрия имеются существенные различия в сывороточном уровне растворимых форм мембранных антигенов клеток иммунной системы. У больных миомой матки снижен уровень молекул HLA-I класса, но увеличено сывороточное содержание растворимых антигенов CD95 и CD50. В то же время у больных раком эндометрия увеличен уровень молекул sHLA-I и sCD95. Выявленные различия, с нашей точки зрения, обладают патогенетической значимостью и дополняют представления о различиях в формировании неопластических процессов доброкачественного и злокачественного характера.

Исследование сывороточного содержания онкоантигенов показало, что при миоме матки уровень молекул РЭА достоверно не отличался от показателей доноров, проявляя лишь тенденцию к повышению. У больных раком эндометрия содержание РЭА статистически достоверно увеличивалось по сравнению с донорами (рис. 1).

Содержание молекул MUC-16 (CA-125) повышалось по сравнению с нормой только при доброкачественной опухоли тела матки (рис. 2).

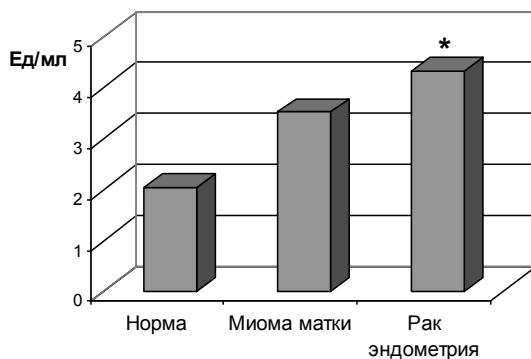


Рис. 1. Сывороточное содержание РЭА у больных миомой матки и раком эндометрия

\* – статистически значимые различия по сравнению с нормой ( $p = 0.04$ )

Таким образом, при миоме матки и раке эндометрия обнаруживаются отличия в содержании растворимых онкоантигенов. При доброкачественной опухоли матки имело место увеличение уровня молекул MUC-16, при злокачественной опухоли эндометрия – повышение концентрации растворимых молекул РЭА.

Суммируя представленные данные можно заключить, что развитие миомы матки и рака эндометрия характеризуется различиями в состоянии иммунного статуса и сопровождается изменением динамического равновесия в содержании структурно-функциональных форм растворимых антигенов совместно с популяционным составом мононуклеарных клеток в крови. Данные изменения при миоме матки и раке эндометрия, скорее всего, обусловлены особенностями патогенетических механизмов развития доброкачественной и злокачественной опухолей тела матки.

#### Список литературы

- Ищенко А.И., Ботвин М.А., Ланчинский В.И. Миома матки: этиология, патогенез, диагностика, лечение. М.: Издательский дом Видар-М, 2010. 244 с.
- Алясова А.В. Клинико-нейрофизиологическая и нейроиммунологическая характеристика боль-

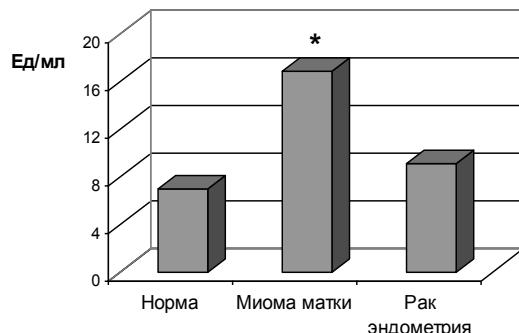


Рис. 2. Сывороточное содержание MUC-16 у больных миомой матки и раком эндометрия

\* – статистически значимые различия по сравнению с нормой ( $p = 0.04$ )

ных раком молочной железы. Дис. ... д-ра мед. наук. Н. Новгород, 2004. 338 с.

3. Новиков В.В., Добротина Н.А., Бабаев А.А. Иммунология. Н. Новгород: Изд-во ННГУ, 2005. С. 144–145.

4. Чередеев А.Н., Горлина Н.К., Козлов И.Г. CD-маркеры в практике клинико-диагностических лабораторий // Клиническая лабораторная диагностика. 1999. № 6. С. 27–29.

5. Новиков В.В., Гостюкова Е.А., Карапулов А.В., Самойлова О.С., Бабаев А.А., Волкова С.А., Новиков Д.В., Д.В. Кокушков, Барышников А.Ю. Состояние пула растворимых форм мембранных антигенов клеток иммунной системы при острых лейкозах // Российский иммунологический журнал. 2009. № 2. С. 164–170.

6. Новиков В.В., Карапулов А.В., Барышников А.Ю., Кравченко Г.А., Бабаев А.А., Гостюкова Е.А. Особенности структурного состояния пула растворимых форм мембранных антигенов клеток иммунной системы // Молекулярная медицина. 2009. № 4. С. 27–32.

7. Новиков В.В., Карапулов А.В., Барышников А.Ю. Растворимые формы мембранных антигенов клеток иммунной системы. М.: Изд-во МИА, 2008. 243 с.

8. Варшавская Л.В., Алясова А.В., Барышников А.Ю., Новиков В.В. Мембранные и растворимые формы CD50 (ICAM-3)-антигена при раке молочной железы // Российский биотерапевтический журнал. 2004. № 2. С. 17–18.

#### SOME FEATURES OF IMMUNE STATUS IN PATIENTS WITH HYSTEROMYOMA AND ENDOMETRIAL CANCER

*O.S. Yanchenko, E.Yu. Kontorshchikova, K.A. Shakhova, V.V. Novikov*

Patients with hysteromyoma had higher serum concentrations of soluble sCD95, sCD50, MUC-16 molecules and a lower level of soluble HLA-1 molecules. The content of CD3<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>, CD16<sup>+</sup>, CD20<sup>+</sup>, CD95<sup>+</sup>, HLA-DR<sup>+</sup> mononuclear cells increased in hysteromyoma as well as in endometrial cancer. Only endometrial cancer patients had higher levels of soluble sHLA-I, sCD95, CEA molecules.

**Keywords:** mononuclear cells, soluble differentiation molecules, hysteromyoma, endometrial cancer.