

УДК 616-006.66

**СОДЕРЖАНИЕ РАСТВОРИМЫХ АНТИГЕНОВ CD38 И CD95
В СЫВОРОТКЕ КРОВИ ОНКОГИНЕКОЛОГИЧЕСКИХ БОЛЬНЫХ**© 2012 г. *М.Е. Мамаева¹, Д.В. Новиков², А.В. Алясова¹, Н.Б. Преснякова³,
В.В. Королёва³, Е.Н. Филатова³*¹ Нижегородская государственная медицинская академия² Нижегородский госуниверситет им. Н.И. Лобачевского³ Нижегородский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. акад. И.Н. Блохиной

alyasovaav68@mail.ru

Поступила в редакцию 29.03.2012

Определен сывороточный уровень растворимых CD38 и CD95 антигенов у больных раком тела матки, раком шейки матки и миомой. Показано, что развитие опухолей женских половых органов, как правило, сопровождается повышением сывороточного содержания растворимых CD38 и CD95 антигенов. Наиболее выраженное повышение наблюдаются у больных раком шейки матки.

Ключевые слова: рак шейки матки, рак тела матки, миома, фибромиома, растворимый CD38 антиген, растворимый CD95 антиген.

Введение

Наиболее распространенной формой злокачественных новообразований женской половой сферы в России является рак тела матки (6.8% в структуре онкозаболеваемости). На долю рака шейки матки и яичников приходится по 5%, причем количество заболевших продолжает неуклонно возрастать [1]. Важную роль в развитии онкозаболеваний играет иммунная система больных злокачественными новообразованиями. Иммунный ответ регулируется многими факторами, в том числе пулом растворимых форм мембранных антигенов клеток иммунной системы, образующихся за счет шеддинга или альтернативного сплайсинга матричной РНК [2, 3]. Получены данные о том, что они могут выполнять функции ограничителей иммунных реакций или же выступать в роли активаторов иммунологических процессов [3]. Среди многочисленной группы растворимых дифференцировочных антигенов мониторинговая значимость отмечена для растворимых антигенов CD38 и CD95 (Fas). Так, продемонстрировано, что сывороточное содержание растворимых антигенов CD38 и CD95 повышается при раке молочной железы. Уровень данных антигенов в сыворотке крови больных раком молочной железы служит фактором прогноза эффективности терапии [3]. Однако изменения сывороточного содержания растворимых дифференцировочных антигенов у больных раком тела, шейки матки и доброкачественными опухолями остаются недостаточно изученными.

Цель данного исследования – характеристика сывороточного содержания растворимых антигенов CD38 (sCD38) и CD95 (sCD95) у больных раком тела, шейки матки, а также у больных миомой.

Материалы и методы

Под наблюдением находилось 94 больных опухолями женских половых органов в возрасте 30–57 лет. Все пациентки впервые поступили в стационар и ранее не получали какого-либо противоопухолевого лечения. По результатам гистологического анализа послеоперационного материала у 53 больных (56.4%) была диагностирована доброкачественная опухоль матки, у 34 женщин (36.2%) – рак тела матки, у 7 (7.4%) – рак шейки матки. Доброкачественные опухоли были представлены фибромиомами – 32 пациентки (60.4%), миомами – 21 пациентка (39.6%). Консервативная миомэктомия была выполнена 18 пациенткам (34.0%), надвлагалищная ампутация матки с придатками – 23 (43.4%), надвлагалищная ампутация матки без придатков – 12 (22.6%) У больных раком тела матки в 52.9% случаев (18 женщин) был выявлен высокодифференцированный опухолевый процесс. Умеренно дифференцированный рак эндометрия диагностирован у 16 пациенток (47.1%). У всех больных раком шейки матки имел место умеренно дифференцированный плоскоклеточный рак. На основании данных инструментального обследования и с учетом гистологического заключения степень распространенности опухолевого заболевания по классификации FIGO у всех пациенток не

Содержание растворимых CD38 и CD95 антигенов в сыворотке крови больных доброкачественными опухолями, подвергшихся разным видам оперативного вмешательства

Вид операции	Содержание растворимого антигена, U/ml			
	CD38		CD95	
	до операции	после операции	до операции	после операции
Консервативная миомэктомия	277.31±38.78*	296.06±38.93	359.75±6.05	371.31±5.60
Надвлагалищная ампутация матки	416.95±36.70 ^{*,*}	404.37±36.41 ^{*,*}	465.41±58.03*	478.33±61.77*
Надвлагалищная ампутация матки с придатками	523.91±71.59 ^{*,*}	514.0±71.93 ^{*,*}	570.66±70.71 ^{*,*}	589.25±71.34 ^{*,*}
Контроль	182.56±21.07		336.75±19.99	

* – Различия достоверны по сравнению с группой больных, перенесших консервативную миомэктомию ($p < 0.05$);

*– различия достоверны по сравнению с контрольной группой ($p < 0.05$).

превышала вторую (I степень – 27 человек (65.8%), II – 14 (34.2%)). Во всех случаях больным раком тела и шейки матки была выполнена экстирпация матки. Контрольную группу составили 30 клинически здоровых женщин соответствующего возраста.

Кровь для иммунологического анализа забирали при поступлении больной в стационар и на 10-й день после выполнения хирургического вмешательства. Определение уровней растворимых дифференцировочных антигенов в сыворотке крови больных проводили двухсайтовым иммуноферментным методом. В качестве первых антител, сорбируемых на твердую фазу, использовали поликлональные антитела против антигенов моноклеарных клеток периферической крови. После внесения в инкубационную среду образца сыворотки крови, инкубации и отмывания несвязавшихся белков в лунки планшетов для иммуноферментного анализа вносили моноклональные антитела, меченые пероксидазой, и после соответствующей инкубации и отмывки проявляли реакцию. Сывороточное содержание растворимого CD95 антигена определяли с помощью меченых пероксидазой моноклональных антител ИКО-160. Сывороточное содержание растворимого CD38 антигена определяли конъюгированными с пероксидазой моноклональными антителами ИКО-20. Результаты представлены в условных единицах (U/ml). Статистический анализ проводился с использованием пакета программ Statistica 6.0.

Результаты и их обсуждение

В контрольной группе уровень растворимого CD38 антигена составил 182.56±21.07 U/ml. У больных доброкачественными опухолями его

сывороточное содержание соответствовала 387.54±28.06 U/ml (рис. 1), превышая норму в 2.1 раза ($p < 0.0005$). У больных фибромиомами содержание sCD38 антигена соответствовало 418.0±42.14 U/ml, достоверно отличаясь от нормы ($p < 0.0005$), у больных миомиомами – 371.11± 40.58 U/ml ($p < 0.0005$ с контролем). Различия в содержании sCD38 антигена у больных с разными вариантами гистологического строения доброкачественных опухолей были недостоверны ($p > 0.05$). В послеоперационном периоде уровень белка имел тенденцию к снижению, но по-прежнему статистически значимо превышал норму, составляя 377.10±27.99 U/ml. Анализ особенностей изменения содержания белка в зависимости от вида выполненной операции выявил достоверное снижение на 10-й день после операции повышенного уровня sCD38 антигена в сыворотке крови только у пациенток, которым была выполнена консервативная миомэктомия (таблица). При тестировании сыворотки крови больных, которым были выполнены надвлагалищная ампутация матки с придатками или только надвлагалищная ампутация матки, подобных изменений не наблюдалось. Повышенный до операции уровень растворимого CD38 антигена в послеоперационном периоде достоверно не изменялся. Следует отметить, что в группе больных, подвергшихся консервативной миомэктомии, сывороточное содержание данного белка в предоперационном периоде было достоверно ниже, чем в группах больных, которым в последующем была выполнена надвлагалищная ампутация матки с придатками или только надвлагалищная ампутация матки ($p = 0.003$ и $p = 0.01$ соответственно).

У больных раком тела матки уровень sCD38 антигена до операции составил 250.05±18.92 U/ml и превышал уровень контрольной группы

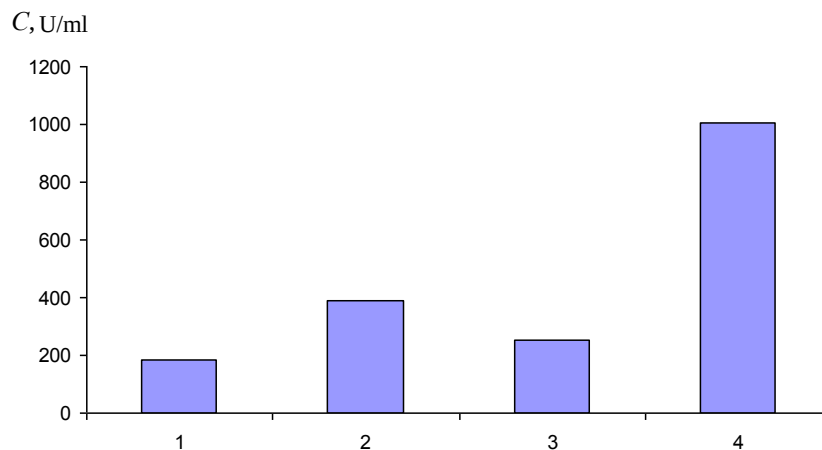


Рис. 1. Содержание растворимого CD38 антигена в сыворотке крови здоровых лиц, больных доброкачественными опухолями, раком тела и шейки матки: 1 – норма ($n = 30$), 2 – больные доброкачественными опухолями ($n = 53$), 3 – больные раком тела матки ($n = 34$), 4 – больные раком шейки матки ($n = 7$), * – статистически значимые различия в сравнении с нормой ($p < 0.05$)

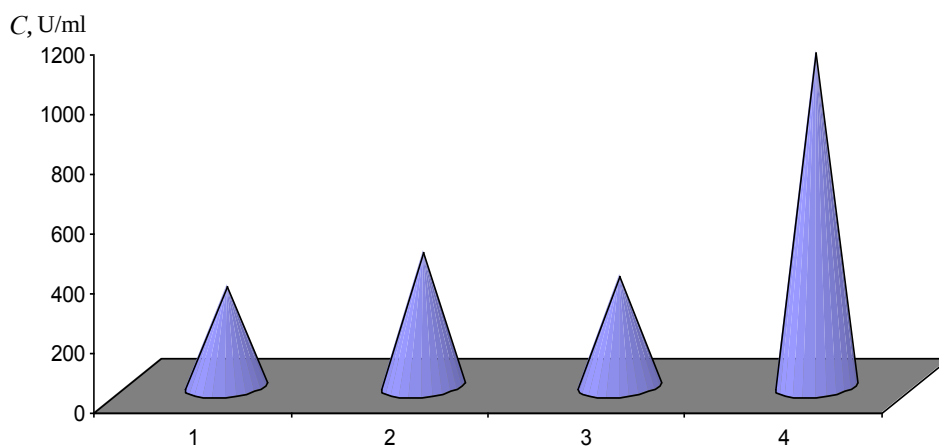


Рис. 2. Содержание растворимого CD95 антигена в сыворотке крови здоровых лиц (1), больных доброкачественными опухолями (2), раком тела (3) и шейки матки (4); пояснения – под рис. 1

в 1.4 раза ($p = 0.02$). Однако содержание белка оказалось в 1.5 раза ниже, чем у лиц с доброкачественными опухолями ($p < 0.0005$). В сыворотке крови пациенток с высоко дифференцированными опухолями содержание белка в предоперационном периоде не отличалось от нормы (рис. 1), а у больных с умеренно дифференцированными новообразованиями превышало уровень здоровых лиц в 1.5 раза ($p = 0.03$). В послеоперационном периоде концентрация sCD38 антигена снижалась до уровня нормы, составляя 229.27 ± 18.71 U/ml ($p > 0.05$).

В сыворотке крови женщин, страдающих раком шейки матки, содержание sCD38 антигена соответствовало 1006.67 ± 8.87 U/ml, превышая норму в 5.5 раза ($p < 0.00005$). Следует отме-

тить, что у данной группы пациенток уровень sCD38 антигена в сыворотке крови был значительно выше, чем у больных доброкачественными опухолями матки или раком тела матки (в 2.6 раза по сравнению с доброкачественными опухолями, $p < 0.00005$, и в 4.0 раза по сравнению с раком тела матки, $p < 0.00005$). После проведения хирургического вмешательства концентрация растворимого CD38 антигена снижалась до 974.66 ± 7.17 U/ml ($p = 0.04$ в сравнении с показателем до лечения), но оставалась выше, чем в норме (в 5.3 раза ($p < 0.00005$)) или у женщин с иной гинекологической патологией.

Уровень sCD95 антигена в сыворотке крови здоровых женщин составил 336.75 ± 19.99 U/ml. При наличии доброкачественных опухолей его

содержание соответствовало 449.23 ± 31.52 U/ml (рис. 2), превышая норму в 1.3 раза ($p = 0.003$). У больных фибромиомами содержание sCD95 антигена повышалось до 429.68 ± 36.05 U/ml ($p = 0.03$), у больных миомиомами оно соответствовало 475.61 ± 55.86 U/ml ($p = 0.02$). Различия в содержании sCD95 антигена у больных с разным гистологическим строением опухоли были недостоверны ($p > 0.05$). После выполнения хирургического вмешательства его сывороточное содержание не изменялось, оставаясь по-прежнему выше показателей в контрольной группе – 463.65 ± 32.84 U/ml ($p = 0.001$). Выполнение хирургических вмешательств разного характера не влияло существенным образом на содержание sCD95 антигена в сыворотке крови больных в послеоперационном периоде (таблица). В предоперационном периоде наиболее высокий уровень sCD95 антигена отмечался у лиц, подвергшихся в дальнейшем надвлагалищной ампутации матки с придатками. При этом он статистически значимо отличался от сывороточного уровня у больных, которым была проведена консервативная миомэктомия ($p = 0.003$).

У больных раком тела матки содержание sCD95 антигена имело тенденцию к повышению, но статистически значимо не отличалось от нормы (рис. 2), составляя величину, равную 372.22 ± 15.75 U/ml ($p > 0.05$). Степень дифференцировки новообразования не влияла на уровень растворимого CD95 антигена. У больных с высоко дифференцированными опухолями содержание sCD95 антигена составило 359.44 ± 20.33 U/ml, у пациенток с умеренно дифференцированными новообразованиями – 392.55 ± 32.95 U/ml. В послеоперационном периоде уровень sCD95 антигена не изменялся по сравнению с исходными значениями, но повышался относительно нормы (390.90 ± 16.67 U/ml, $p = 0.04$).

В группе больных раком шейки матки уровень sCD95 антигена составил 1119.0 ± 11.02 U/ml (рис. 2), превышая контрольные показатели в 3.3 раза ($p < 0.00005$). Содержание белка в сыворотке крови этой группы больных было в 2.5 раза выше ($p < 0.00005$), чем у женщин с доброкачественными опухолями, и в 3.0 раза выше ($p < 0.00005$), чем у больных раком тела матки. После выполнения хирургического вмешательства содержание sCD95 антигена не изменялось, оставаясь выше нормального уровня (1168 ± 16.14 U/ml, $p < 0.00005$ в сравнении с нормой).

Мембранная форма CD38 антигена является гликопротеином I типа, служит маркером активации лимфоцитов, катализирует синтез циклической АДФ-рибозы и служит молекулой адгезии, взаимодействуя с CD31 антигеном, экспрессированным на лейкоцитах и эндотелии сосудов [4, 5]. CD38 антиген имеет растворимую форму, образующуюся путем протеолитического шеддинга с участием Zn^{2+} -зависимых протеиназ. Увеличенная концентрация растворимого CD38 антигена способна привести к блокаде взаимодействия мембранных CD38 и CD31 антигенов в момент поступления эффекторных клеток из сосудистого русла в ткани [6]. Следствием этого является предотвращение поступления эффекторных клеток в тканевое пространство и, соответственно, к опухолевому очагу [7]. В литературе отмечено повышение сывороточного содержания растворимого CD38 антигена при аутоиммунных заболеваниях, миеломной болезни, при вирусных гепатитах, урогенитальном хламидиозе, при тяжелых ожогах, ВИЧ-инфекции [8–11]. Повышение концентрации растворимого CD38 антигена способно, таким образом, сформировать дополнительные механизмы ограничения иммунного ответа на опухоль, в частности на развитие доброкачественных новообразований, рака тела и шейки матки.

CD95 (Fas) антиген в мембранной форме принимает участие в инициации одного из путей апоптоза, называемого Fas-зависимым апоптозом [12, 13]. Растворимый CD95 антиген – продукт альтернативного сплайсинга мРНК или шеддинга с мембраны клеток. Повышенная концентрация растворимого CD95 антигена вызывает блокаду Fas-зависимого апоптоза и выступает в качестве фактора защиты опухоли от иммунного надзора и играет важную роль в патогенезе опухолевого роста [14, 15]. Обнаружено возрастание сывороточной концентрации этого белка у больных злокачественными лимфомами, остеосаркомами, раком печени, желудка, молочной железы. При некоторых других заболеваниях зарегистрировано снижение его сывороточного уровня, что отражается на молекулярных механизмах инициации апоптоза [16].

В соответствии с представленными данными, развитие опухолей женских половых органов в большинстве случаев сопровождается повышением сывороточных концентраций растворимых CD38 и CD95 антигенов. Наиболее выраженное повышение наблюдается у больных раком шейки матки. Повышение сывороточной концентрации растворимых CD38 и CD95 антигенов происходит не только при злокачественных, но и при доброкачественных опухолях. Выполнение оперативного вмеша-

тельства не оказывает значимого влияния на уровень растворимых CD38 и CD95 антигенов, за исключением консервативной миомэктомии, приводящей к нормализации содержания CD38 антигена.

Работа выполнена при финансовой поддержке ФЦП «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России на 2007–2013 гг.».

Список литературы

1. Поддубная И.В. Онкология. М.: Изд-во МЕД-пресс-информ, 2009. 768 с.
2. Новиков В. В. Растворимые формы дифференцировочных антигенов гемопоэтических клеток // Гематология и трансфузиология. 1996. № 6. С. 40–43.
3. Новиков В.В., Караулов А.В., Барышников А.Ю., Кравченко Г.А., Бабаев А.А., Гостюжова Е.А., Евсегнеева И.В. Особенности структурного состояния пула растворимых форм мембранных антигенов клеток иммунной системы // Мол. медицина. 2009. № 4. С. 27–33.
4. Malavasi F., Funaro A., Rogerro S. Human CD38: a glycoprotein in search of a function // Immunol. Today. 1994. V. 15. P. 95–97.
5. Mehta K., Shahid U., Malavasi F. Human CD38 a cells-surface protein with multiple functions // FASEB J. 1996. V. 10. P. 1408–1417.
6. Funaro A., Horenstein A. L., Calosso L. Identification and characterization of an active soluble form of human CD38 in normal and pathological fluids // Intern. Immunol. 1996. V. 8. P. 1643–1650.
7. Новиков В.В., Евсегнеева И.В., Караулов А.В., Барышников А.Ю. Растворимые формы мембранных антигенов клеток иммунной системы при социально значимых инфекциях // Рос. биотерапевт. журн. 2005. Т. 4. № 2. С. 100–105.
8. Вишневская Т.В., Масалова О.В., Шкурко Т.В. и др. Растворимые формы дифференцировочных антигенов в образцах сыворотки крови больных гепатитом С // Мед. иммунол. 2005. Т. 7. № 1. С. 33–40.
9. Егорова Н.И., Курников Г.Ю., Бабаев А.А., Новиков В.В. Сывороточный уровень растворимых молекул межклеточной адгезии при урогенитальном хламидиозе // Цитокины и воспаление. 2003. Т. 2. № 2. С. 32–36.
10. Khudyakova N.E., Egorova N.I., Ptytsina Ju.S. et al. Serum level of soluble adhesion molecules in HIV-infected with markers of other viral diseases // Russ. J. Immunol. 2003. V. 8. № 4. С. 245–250.
11. Lebedev M.Ju., Egorova N.I., Sholkina M.N. et al. Serum level of different forms of soluble CD38 antigen in burned patients // Burns. 2004. V. 30. P. 552–556.
12. Рыжов С.В., Новиков В.В. Молекулярные механизмы апоптотических процессов // Рос. биотерапевт. журн. 2002. Т. 1. № 3. С. 27–33.
13. Уткин О.В., Новиков В.В. Регуляция апоптоза с помощью альтернативного сплайсинга матричной РНК // Рос. биотерапевт. журн. 2007. Т. 6. № 2. С. 13–20.
14. Новиков В.В., Уткин О.В., Алясова А.В. и др. Растворимые антигены CD38 и CD95 при раке молочной железы // Рос. биотерапевт. журн. 2005. Т. 4. № 3. С. 46–51.
15. Niitsu N., Sasaki K., Umeda M. A high serum soluble Fas/APO-1 level is associated with a poor outcome of aggressive non-Hodgkin's lymphoma // Leukemia. 1999. V. 13. № 9. P. 1434–1440.
16. Lebedev M.Ju., Vilkov S.A., Korablev S.B. et al. Membrane and soluble forms of Fas (CD95) in peripheral blood lymphocytes and in serum from burns patients // Burns. 2001. V. 27. № 7. P. 669–673.

THE LEVEL OF SOLUBLE CD38 AND CD95 ANTIGENS IN THE SERUM OF ONCOGYNECOLOGICAL PATIENTS

*M.E. Mamaeva, D.V. Novikov, A.V. Alyasova,
N.B. Presnyakova, V.V. Koroleva, E.N. Filatova*

The serum level of soluble antigens CD38 and CD95 has been determined in patients with cervical cancer, hysterocarcinoma and myoma. The development of tumors in female genitalia has been shown to be accompanied, as a rule, by a rise in the serum content of sCD38 and sCD95 antigens. The most pronounced increase is observed in patients with cervical cancer.

Keywords: cervical cancer, hysterocarcinoma, myoma, fibromyoma, soluble CD38 antigen, soluble CD95 antigen.