

# РОЛЬ СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ФОРМ РАСТВОРИМЫХ ДИФФЕРЕНЦИРОВАННЫХ МОЛЕКУЛ В ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНОЙ ДИАГНОСТИКЕ МИОМЫ МАТКИ И РАКА ЭНДОМЕТРИЯ

УДК 577.23:618.14—006.36—006.6—079.4

Поступила 20.03.2010 г.



**К.А. Коровушкина**, аспирант кафедры клинической лабораторной диагностики<sup>1</sup>;  
**А.А. Бабаев**, к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории нанобиотехнологии<sup>2</sup>;  
**Т.В. Котельникова**, аспирант кафедры клинической лабораторной диагностики<sup>1</sup>;  
**Е.Ю. Конторщикова**, к.м.н., ассистент кафедры акушерства и гинекологии<sup>1</sup>;  
**А.В. Караулов**, д.м.н., профессор, член-корр. РАМН, зав. кафедрой клинической иммунологии и аллергологии<sup>3</sup>;  
**А.Ю. Барышников**, д.м.н., профессор, академик РАЕН, РАМТН, директор<sup>4</sup>;  
**В.В. Новиков**, д.б.н., профессор, академик РАЕН, директор<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Нижегородская государственная медицинская академия, Н. Новгород;

<sup>2</sup> НИИ молекулярной биологии и региональной экологии ННГУ им. Н.И. Лобачевского, Н. Новгород;

<sup>3</sup> Московская медицинская академия им. И.М. Сеченова, Москва;

<sup>4</sup> НИИ экспериментальной диагностики и терапии опухолей Российского онкологического научного центра им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва

**Цель исследования** — сравнительная оценка структурно-функционального состояния пула растворимых дифференцированных молекул периферической крови больных раком эндометрия и миомой матки.

**Материалы и методы.** У больных раком эндометрия и миомой матки определяли сывороточный уровень растворимых дифференцированных молекул CD8, CD25, CD38, CD50, CD54, CD18, олигомерных фракций растворимых молекул CD8, CD25, CD38, CD50 и CD54, растворимых ассоциатов CD8—HLA-I, CD18—CD50 и CD18—CD54.

**Результаты.** Выявлены различия в содержании структурно-функциональных форм растворимых дифференцированных молекул периферической крови у больных миомой матки и раком эндометрия. При миоме матки наблюдалось увеличение сывороточного содержания суммарной фракции растворимых молекул CD38 и CD50, а также растворимых комплексов CD8—HLA-I. При этом содержание суммарной фракции растворимых молекул CD50 коррелировало с сывороточным уровнем растворимых комплексов CD18—CD50. Сывороточное содержание суммарной и олигомерной фракций растворимых молекул CD8, олигомерной формы молекул CD50 и суммарной фракции растворимых молекул CD54 увеличивалось как при миоме матки, так и при раке эндометрия. Однако сывороточное содержание растворимых ассоциатов CD18—CD54 повышалось только при раке эндометрия.

**Ключевые слова:** растворимые дифференцированные молекулы, олигомерные растворимые дифференцированные антигены, миома матки, рак эндометрия.

## English

## Role of the soluble differentiated molecule structural and functional forms in differential diagnosis of the uterus myoma and endometrium cancer

**K.A. Korovushkina**, post-graduate of a clinical laboratory diagnosis chair<sup>1</sup>;  
**A.A. Babaev**, c.b.s., senior scientific worker of a nanobiotechnology laboratory<sup>2</sup>;  
**T.V. Kotelnickova**, post-graduate of a clinical laboratory diagnosis chair<sup>1</sup>;  
**E.Yu. Kontorshickova**, c.m.s., assistant of the obstetrics and gynecology chair<sup>1</sup>;  
**A.V. Karaulov**, M.D., professor, corresponding member of the RAMS, head of a clinical immunology and allergology chair<sup>3</sup>;  
**A.Yu. Baryshnikov**, M.D., professor, academician of the RANS, RAMTS, director<sup>4</sup>;  
**V.V. Novickov**, B.D., professor, academician of the RANS, director<sup>2</sup>

Для контактов: Коровушкина Ксения Андреевна, тел. раб. 8(831)437-74-07, тел. моб. +7 910-394-36-88; e-mail: kka84@yandex.ru.

<sup>1</sup> Nizhny Novgorod state medical academy, N. Novgorod;

<sup>2</sup> SRI of a molecular biology and regional ecology of the N.I. Lobachevsky NNSU, N. Novgorod;

<sup>3</sup> I.M. Sechenov Moscow medical academy, Moscow;

<sup>4</sup> SRI of experimental diagnosis and therapy of tumors of the N.N. Blokhin Russian oncologic scientific center of the RAMS, Moscow

**Aim of investigation** is a comparative assessment of the peripheral blood soluble differentiated molecule pull structural and functional state of patients with the endometrium cancer and uterus myoma.

**Materials and methods.** A serous level of the soluble differentiated molecules CD8, CD25, CD38, CD50, CD54, CD18, oligomeric fractions of the soluble molecules CD8, CD25, CD38, CD50 and CD54, soluble associates CD8—HLA-I, CD18—CD50 and CD18—CD54 was detected in patients with the endometrium cancer and uterus myoma.

**Results.** The differences in content of the peripheral blood soluble differentiated molecule structural and functional form in patients with the uterus myoma and endometrium cancer are revealed. An increase of the soluble molecule CD38 and CD50 total fraction serous content, as well as the soluble complexes CD8—HLA-I, was observed at the uterus myoma. Besides, a content of the soluble molecule CD50 total fraction correlated with a serous level of the soluble complexes CD18—CD50. A serous content of the soluble molecule CD8 total and oligomeric fractions, oligomeric form of the molecules CD50 and total fraction of the soluble molecules CD54 was increased both at the uterus myoma and endometrium cancer. However, a serous content of the soluble associates CD18—CD54 was increased only at the endometrium cancer.

**Key words:** soluble differentiated molecules, oligomeric soluble differentiated antigens, uterus myoma, endometrium cancer.

Среди разнообразия белков протеома крови человека важное место занимают растворимые дифференцировочные молекулы клеток иммунной системы, участвующие в регуляции противоопухолевого иммунного ответа. Растворимые дифференцировочные молекулы образуются в процессе протеолитического шеддинга или альтернативного сплайсинга матричной РНК и имеют различную структурно-функциональную организацию. Нарушение их содержания приводит к модуляции межклеточных взаимодействий и, соответственно, иммунного ответа [1]. Кроме того, сохранение способности растворимыми дифференцировочными молекулами связывать лиганд, характерный для их мембранных форм, приводит к образованию растворимых комплексов (ассоциатов). Эффекторные свойства молекул в составе подобных ассоциатов взаимно погашены. Ранее были выявлены в крови здоровых лиц и при различных заболеваниях три таких растворимых комплекса, состоящих из молекул главного комплекса гистосовместимости (HLA) I класса и молекул CD8, молекул CD54 и CD18, а также из молекул CD18 и CD50 соответственно [2—4].

Обнаружено, что сывороточное содержание растворимых дифференцировочных молекул, молекул HLA-I, а также содержание выявленных комплексов меняется при различных заболеваниях [5—8]. При этом характер изменения концентрации ассоциатов может существенно отличаться как по величине, так и по направленности изменений концентрации суммарных фракций растворимых дифференцировочных молекул [9].

**Цель исследования** — сравнительная оценка структурно-функционального состояния пула растворимых дифференцировочных молекул периферической крови больных раком эндометрия и миомой матки.

**Материалы и методы.** Использованы образцы венозной крови пациенток с гистологически подтвержденным диагнозом I стадии рака эндометрия (I патогенетический вариант) (22 человека) и миомы матки (40 человек). Образцы крови получены от больных, поступивших на лечение в Нижегородскую областную клиническую

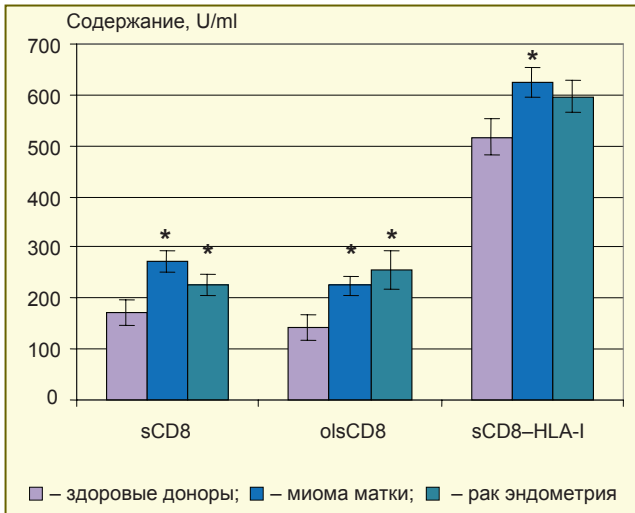
больницу им. Н.А. Семашко. Возраст больных со злокачественными новообразованиями составил от 39 до 79 лет (в среднем 59 лет), с доброкачественными опухолями — от 30 до 59 лет (в среднем 46,4 года). В качестве контрольной группы исследовали кровь 150 клинически здоровых доноров сопоставимого возраста.

Определение уровня суммарной фракции растворимых дифференцировочных молекул CD8, CD25, CD38, CD50, CD54, CD18, олигомерных фракций растворимых молекул CD8, CD25, CD38 и CD54, ассоциатов CD8—HLA-I, CD18—CD50 и CD18—CD54 в сыворотке крови больных проводили двухсайтовым иммуноферментным методом с использованием моноклональных антител (МКА) серии ИКО против соответствующих антигенов, меченных пероксидазой хрена, и поликлональных антител против мононуклеарных клеток периферической крови человека в соответствии с ранее разработанными методами [2]. Результаты выражали в условных единицах (U/ml).

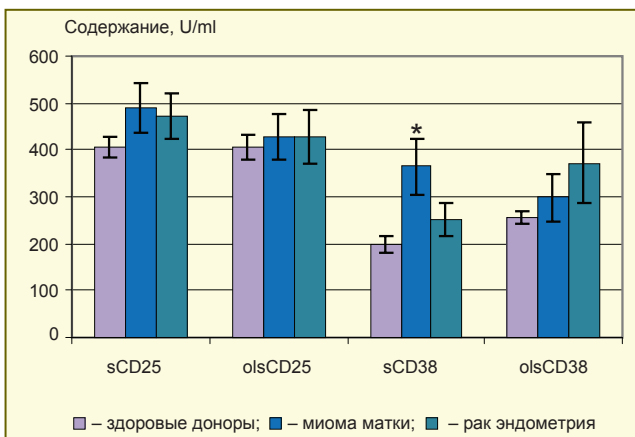
Статистический анализ выполняли с использованием пакета программ Microsoft Excel, Statistica 6.0. Результаты выражали в виде  $M \pm m$ , где  $M$  — среднее арифметическое, а  $m$  — стандартная ошибка средней величины. Анализ данных проводили с использованием критериев Шапиро—Уилка, Манна—Уитни, Крускала—Уоллеса, критерия Дана и коэффициента ранговой корреляции Спирмана.

**Результаты и обсуждение.** В сыворотке крови больных миомой матки наблюдалось увеличение в 1,6 раза по сравнению с нормой содержания суммарной (sCD8) и олигомерной (olsCD8) фракций растворимых молекул CD8, что составило  $272,80 \pm 20,10$  и  $224,90 \pm 18,60$  U/ml соответственно. У больных раком также наблюдалось увеличение сывороточных уровней суммарной и олигомерной фракций молекул CD8 в 1,3 и 1,9 раза соответственно ( $p \leq 0,05$ ) (рис. 1).

Сывороточное содержание растворимых комплексов sCD8—HLA-I при миоме матки статистически значимо повышалось по сравнению со здоровыми донорами в 1,2 раза ( $p < 0,05$ ). Концентрация исследуемого молеку-



**Рис. 1.** Сывороточное содержание суммарной и олигомерной фракций растворимых молекул CD8 и растворимых комплексов sCD8—HLA-I у больных миомой матки и раком эндометрия; \* — статистически значимые различия по сравнению с нормой ( $p \leq 0,05$ )



**Рис. 2.** Сывороточное содержание суммарных и олигомерных фракций растворимых молекул CD25 и CD38 у больных миомой матки и раком эндометрия; \* — статистически значимые различия по сравнению с нормой ( $p \leq 0,05$ )

лярного комплекса составила  $625,10 \pm 29,87$  U/ml. При раке эндометрия уровень ассоциатов sCD8—HLA-I по сравнению с нормой не изменялся ( $596,70 \pm 31,20$  U/ml).

Полученные данные позволяют заключить, что увеличение сывороточного уровня суммарной фракции молекул CD8 при миоме матки обусловлено участием олигомерных форм данного белка и растворимых комплексов sCD8—HLA-I, а при раке эндометрия связано только с олигомерной фракцией растворимых молекул CD8.

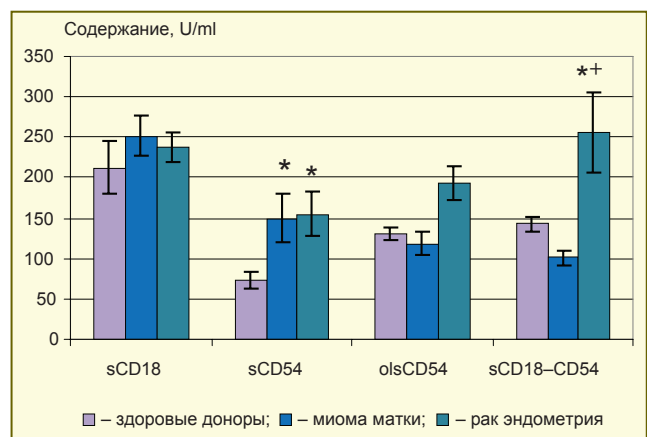
Исследование в сыворотке крови больных миомой матки и раком эндометрия содержания растворимых молекул адгезии и их ассоциатов показало, что сывороточный уровень суммарной фракции растворимого CD38 антигена статистически достоверно отличался от нормы ( $p \leq 0,05$ ) и имел лишь тенденцию к увеличению у больных раком эндометрия. Относительная концентрация молекул sCD38 составляла  $297,90 \pm 34,60$  и

$225,30 \pm 21,50$  U/ml соответственно. Содержание олигомерной фракции молекул CD38 не изменялось в сыворотке крови больных обеих групп (рис. 2). Полученные результаты свидетельствуют о том, что подъем сывороточного содержания растворимых белков CD38 при миоме матки может являться результатом повышения шеддинга мономерных форм молекул с поверхности мононуклеарных клеток.

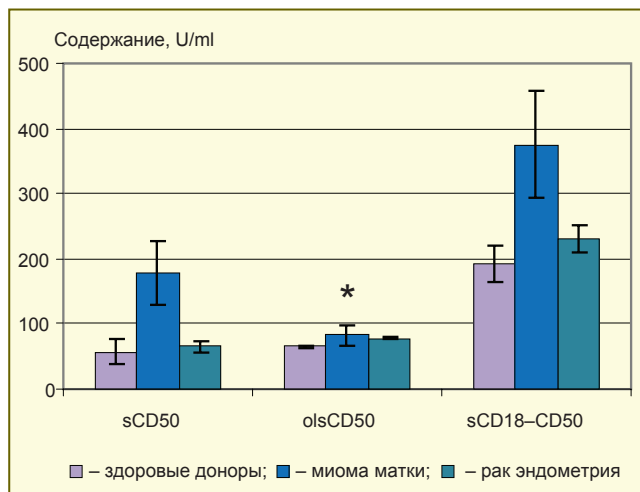
Сывороточный уровень растворимых молекул CD18 не отличался от нормы у больных обеих групп, составляя  $189,50 \pm 24,80$  и  $237,60 \pm 19,30$  U/ml соответственно (рис. 3).

Миома матки характеризовалась повышением в 2,1 раза по сравнению с показателями нормы сывороточного содержания суммарной фракции растворимых молекул CD54 на фоне нормальных уровней олигомерной фракции молекул CD54 и растворимых ассоциатов CD18—CD54. При раке эндометрия отмечалось повышение относительно нормальных значений сывороточного содержания суммарной фракции растворимых молекул адгезии CD54 и растворимых комплексов CD18—CD54 в 2,2 и 1,8 раза соответственно при нарастающем уровне олигомерных форм молекул CD54. При этом в обеих группах больных наблюдались статистически достоверные различия в содержании растворимых ассоциатов CD18—CD54 ( $p \leq 0,05$ ) (см. рис. 3).

Вероятно, при миоме матки подъем уровня суммарной фракции молекул CD54 происходит за счет шеддинга с поверхности клеток молекул CD54, находящихся в мономерной, а не в олигомерной форме. Отсутствие изменений в содержании растворимых комплексов CD18—CD54 также свидетельствует о повышении содержания суммарной фракции молекулы CD54 за счет мономерной формы. В отличие от миомы матки при раке эндометрия повышение сывороточного уровня суммарной фракции растворимых молекул CD54, очевидно, формируется за счет их ассоциатов с молекулой CD18 и частично за счет нарастания олигомерных форм растворимых молекул CD54.



**Рис. 3.** Сывороточное содержание суммарных и олигомерных фракций растворимых молекул CD18, CD54 и растворимых комплексов sCD18—CD54 у больных миомой матки и раком эндометрия; \* — статистически значимые различия по сравнению с нормой ( $p \leq 0,05$ ), + — между группами больных миомой матки и раком эндометрия ( $p \leq 0,05$ )



**Рис. 4.** Сывороточное содержание суммарных и олигомерных фракций растворимых молекул CD50 и растворимых комплексов sCD18—CD50 у больных миомой матки и раком эндометрия; \* — статистически значимые различия по сравнению с нормой ( $p \leq 0,05$ )

У больных миомой матки выявлено статистически значимое увеличение по сравнению с нормой содержания суммарной и олигомерной фракций молекул CD50 — в 3,1 и 1,3 раза соответственно (рис. 4). Следует особо отметить широкий разброс данных, полученных при определении сывороточного содержания растворимых молекул CD50 у этих больных, что говорит о высокой неоднородности выборки. В связи с этим был проведен анализ результатов в соответствии с рекомендациями Э.В. Ивантера (1992) с последующим применением методов непараметрического анализа (критерии Крускала—Уоллеса, Дана, Манна—Уитни). Применение указанного методического подхода позволило выделить две группы больных, у которых содержание суммарной фракции сывороточных молекул CD50 статистически значимо различалось ( $p=0,001$ ). У 30 из 40 обследованных пациенток исследуемый показатель оставался в пределах нормы и составлял  $53,55 \pm 19,95$  U/ml, в то время как у 10 из 40 больных миомой матки уровень растворимых молекул CD50 был увеличен по сравнению с нормой в 10,3 раза ( $589,76 \pm 121,55$  U/ml) и коррелировал с содержанием растворимых комплексов sCD18—CD50 ( $r=0,85$ ;  $p=0,001$ ). При этом 9 из 10 пациенток данной группы характеризовались большими размерами и/или множественностью миоматозных узлов. Полученные результаты свидетельствуют, что у данной группы больных миомой матки в формирование пула сывороточных белков CD50 вносят вклад как олигомерная форма данного белка, так и растворимые комплексы sCD18—CD50.

При раке эндометрия уровень олигомерной фракции CD50 был увеличен в 1,2 раза по сравнению с нормой на фоне нормального содержания суммарной фракции молекул CD50, а также ассоциатов sCD18—CD50 ( $p \leq 0,05$ ). При этом концентрация суммарной фракции молекул CD50 у больных раком эндометрия была ста-

тистически значимо ниже содержания данного белка у больных миомой матки — в 2,7 раза ( $p \leq 0,05$ ).

**Заключение.** Характер изменения сывороточного уровня растворимых форм дифференцировочных молекул клеток иммунной системы отличается при доброкачественных и злокачественных новообразованиях тела матки. Так, при однонаправленном изменении суммарной и олигомерной фракций растворимых молекул CD8 в крови больных миомой матки и раком эндометрия увеличение ассоциатов sCD8—HLA-I наблюдается только при доброкачественной опухоли тела матки. Сывороточный уровень суммарной фракции растворимых молекул CD38 и CD50 увеличивается по сравнению с нормой только у больных миомой матки, при раке эндометрия содержание данных белков остается в пределах нормы. У больных со злокачественной опухолью тела матки при увеличении сывороточного содержания суммарной фракции растворимых молекул CD54 наблюдается повышение и растворимых ассоциатов CD18—CD54. Только при миоме матки обнаружено увеличение содержания суммарной фракции молекул CD50, коррелирующего с уровнем растворимых ассоциатов sCD18—CD50.

Выявленные различия в сывороточном уровне различных структурно-функциональных форм дифференцировочных молекул отражают изменения в состоянии протеома крови у больных миомой матки и раком эндометрия и, очевидно, связаны с особенностями патогенетических механизмов развития доброкачественных и злокачественных опухолей тела матки.

Исследования выполнены при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант РФФИ №08-04-97099), ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» (П306 от 24.07.2009) и Научно-технической программы правительства г. Москвы «Разработка и практическое освоение в здравоохранении новых методов и средств профилактики, диагностики и лечения онкологических, инфекционных и других опасных заболеваний».

## Литература

- Новиков В.В., Барышников А.Ю., Караулов А.В. Растворимые формы мембранных антигенов клеток иммунной системы. Иммунология 2007; 4: 249—252.
- Бабаев А.А., Ятманова Т.А., Кравченко Г.А., Новиков В.В. Обнаружение растворимых комплексов молекул адгезии в сыворотке крови человека и их уровень у больных острым гепатитом В. Вестник Нижегородского университета им. Н.И. Лобачевского. Серия Биология 2006; 1(11): 128—132.
- Новиков В.В., Бабаев А.А., Кравченко Г.А. и др. Растворимые ассоциаты молекул адгезии CD54 и CD18 в сыворотке крови человека. Иммунология 2008; 4: 220—223.
- Новиков В.В., Караулов А.В., Барышников А.Ю. Растворимые формы мембранных антигенов клеток иммунной системы. М: МИА; 2008; 243 с.
- Алясова А.В., Варшавская Л.В., Новиков В.В., Барышников А.Ю. Динамика растворимого CD50 антигена у

- больных раком молочной железы в процессе комплексного лечения. Клиническая и лабораторная диагностика 2004; 3: 42—43.
6. *Варшавская Л.В., Алясова А.В., Барышников А.Ю., Новиков В.В.* Мембранная и растворимая формы CD50 (ICAM-3)-антигена при раке молочной железы. Российский биотерапевтический журнал 2004; 2: 17—18.
  7. *Варшавская Л.В., Алясова А.В., Кравченко Г.А. и др.* Повышенное содержание растворимых CD50 и CD38 антигенов в сыворотке крови при солидных опухолях. Вестник Нижегородского университета им. Н.И. Лобачевского, Серия Биология 2002; 1(4): 183—188.
  8. *Новиков В.В., Гостюжова Е.А., Караулов А.В. и др.* Состояние пула растворимых форм мембранных антигенов клеток иммунной системы при острых лейкозах. Российский иммунологический журнал 2009; 2: 164—170.
  9. *Новиков В.В., Караулов А.В., Барышников А.Ю. и др.* Особенности структурного состояния пула растворимых форм мембранных антигенов клеток иммунной системы. Молекулярная медицина 2009; 4: 27—32.