

На правах рукописи

**КОРОВУШКИНА КСЕНИЯ АНДРЕЕВНА**

**СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ БИОХИМИЧЕСКИХ  
И ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ  
ПРИ ДОБРОКАЧЕСТВЕННЫХ И ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ ОПУХОЛЯХ  
ЖЕНСКОЙ ПОЛОВОЙ СФЕРЫ**

**03.01.04 – биохимия**

**03.03.03 – иммунология**

**Автореферат  
диссертации на соискание ученой степени  
кандидата биологических наук**

**Нижний Новгород**

**2010**

Работа выполнена в Нижегородской государственной медицинской академии и Нижегородском государственном университете им. Н.И. Лобачевского.

Научные руководители:

доктор биологических наук, профессор К.Н. Конторщикова

доктор биологических наук, профессор В.В. Новиков

Официальные оппоненты:

доктор биологических наук, профессор Е.И. Ерлыкина

доктор биологических наук С.Н. Плескова

Ведущая организация:

ГОУ ВПО Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова,  
г. Москва

Защита состоится «\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2010 года в \_\_\_ часов на заседании диссертационного совета Д 212.166.15 при Нижегородском государственном университете им. Н.И. Лобачевского по адресу: 603950, Нижний Новгород, пр. Гагарина, 23.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ННГУ

Автореферат разослан «\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2010 года

Ученый секретарь

диссертационного совета

доцент, к.б.н.



С.В. Копылова

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

### Актуальность проблемы

Сохранение гомеостаза организма базируется на эффективной и многосторонней работе молекулярных механизмов биохимических и иммунологических реакций, наиболее чутко и адекватно реагирующих на те или иные альтерирующие воздействия.

К функционально значимым показателям биохимических процессов относят белки крови человека. Существенный вклад в формирование пула сывороточных белков вносят сигнальные молекулы – цитокины, обеспечивающие межклеточные коммуникации, и растворимые дифференцировочные молекулы клеток иммунной системы. Пул растворимых дифференцировочных молекул тесно связан с работой многих компонентов глобальной иммунологической сети и регулирует процессы активации, адгезии и апоптоза при реализации иммунных реакций организма (Wigginton et al., 2001). В норме белки крови, и в том числе растворимые формы дифференцировочных молекул, находятся в равновесном состоянии. Изменение концентрации той или иной формы растворимого белка влечет за собой нарушение гомеостатического равновесия организма (Новиков и др., 2008).

Важным биохимическим показателем постоянства внутренней среды организма является процесс свободно-радикального окисления, при участии которого протекают многие молекулярно-иммунологические процессы: активация и пролиферация клеток, экспрессия дифференцировочных молекул, синтез цитокинов (Thannickal, Fanburg, 2000; Wlaschek et al., 1997)

При альтерациях организма, особенно при развитии неопластических процессов наблюдаются изменение биохимических и иммунологических параметров. Однако характер изменения содержания дифференцировочных молекул и молекулярные механизмы их действия при развитии опухолей доброкачественного и злокачественного генеза не выяснены и требуют детального изучения.

### **Цель работы**

Изучить изменение биохимических и иммунологических показателей крови при доброкачественных и злокачественных опухолях женской половой сферы.

### **Задачи:**

1. Исследовать содержание цитокинов в периферической крови при миоме матки и раке эндометрия.
2. Изучить содержание растворимых дифференцировочных молекул, растворимых молекул гистосовместимости и их комплексов в периферической крови при миоме матки и раке эндометрия.
3. Провести сравнительный анализ взаимоотношений между спектром растворимых дифференцировочных молекул, популяционным составом мононуклеарных клеток и цитокиновым статусом периферической крови при миоме матки и раке эндометрия.
4. Осуществить сравнительный анализ состояния свободно-радикального окисления и перекисного окисления липидов периферической крови при миоме матки и раке эндометрия.

### **Научная новизна работы**

Впервые при миоме матки и раке эндометрия проведено сравнительное изучение содержания широкого спектра растворимых дифференцировочных молекул и молекул гистосовместимости в сопоставлении с относительным содержанием популяций мононуклеарных клеток периферической крови.

Впервые при миоме матки выявлено увеличение содержания олигомерных форм растворимых молекул CD8, CD50 и растворимых комплексов CD8-HLA I. Впервые при раке эндометрия обнаружено увеличение в сыворотке крови содержания олигомерной фракции растворимых дифференцировочных молекул CD8 и растворимых комплексов CD18-CD54.

Впервые установлено повышение сывороточного содержания суммарной фракции растворимых молекул CD50 и IFN $\gamma$  при миоме матки, характеризующейся большими размерами и/или множественностью миоматозных узлов.

Впервые показано, что при миоме матки содержание в сыворотке крови суммарных и олигомерных форм растворимых молекул адгезии и их комплексов ассоциировано с уровнем IFN $\gamma$ , при раке эндометрия – с уровнем IL-4 и содержанием продуктов липопероксидации.

### **Практическая значимость работы**

Исследование спектра структурно-функциональных форм растворимых дифференцировочных молекул может быть использовано в качестве дополнительного критерия в мониторинге миомы матки и рака эндометрия. Проанализированный в данной работе комплекс иммунологических и биохимических показателей может быть рекомендован для оценки функционального состояния клеточного и гуморального звена иммунитета при нарушениях гомеостаза организма. Полученные данные могут быть использованы в преподавании курсов биохимии и иммунологии для студентов вузов биологического и медицинского профиля.

### **Положения, выносимые на защиту**

1. Развитие миомы матки и рака эндометрия сопровождается различными изменениями содержания цитокинов и структурно-функциональных форм растворимых дифференцировочных молекул в периферической крови.

2. Имеется корреляционная взаимосвязь между содержанием растворимых дифференцировочных молекул и цитокинами Th1-типа при миоме матки и Th2-типа при раке эндометрия.

3. Развитие миомы матки и рака эндометрия сопровождается усилением свободно-радикальных процессов и накоплением продуктов перекисного окисления липидов.

### **Апробация работы**

Результаты работы представлены на II Международной научно-практической конференции, Всероссийской конференции молодых ученых и III школе им. Академика Н.М. Эммануэля «Окисление, окислительный стресс, антиоксиданты» (Москва, 2008), X международном конгрессе «Современные проблемы аллергологии, иммунологии и иммунофармакологии», посвященный 100-летию со дня рождения академика АМН А.Д. Адо, (Казань, 2009), 19th Ozone World Congress of the IOA (Tokyo, 2009), научно-практической конференции «Лабораторная медицина в свете Концепции развития здравоохранения России до 2020 года», (Москва, 2009), II Научно-образовательном форуме «Медицинская диагностика 2010» (Москва, 2010), V украинско-русской научно-практической конференции, IV азиатско-европейской научно-практической конференции «Озон в биологии и медицине» (Одесса, 2010), IX юбилейной научной сессии молодых ученых и студентов «Современное решение актуальных научных проблем в медицине», посвященная 90-летию Нижегородской государственной медицинской академии (Нижний Новгород, 2010).

Апробация диссертации состоялась на расширенном заседании кафедры клинической лабораторной диагностики Нижегородской государственной медицинской академии 22 апреля 2010 года.

### **Структура и объем диссертации**

Диссертационная работа в объеме 129 листов состоит из введения, обзора литературы, главы, посвященной описанию материалов и методов исследований, собственных результатов и их обсуждения, выводов и списка цитированной литературы. Диссертационная работа иллюстрирована 17 рисунками и 10 таблицами. Библиографический указатель включает 276 источников литературы (74 отечественных и 202 иностранных).

## СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

### Материалы и методы исследования

Для проведения исследования использованы образцы сывороток и мононуклеарных клеток периферической крови 40 женщин с диагнозом миомы матки (средний возраст 47 лет) и 22 женщин в возрасте от 39 до 79 лет с диагнозом рака эндометрия (I стадия, I патогенетический вариант). Контролем служили образцы сывороток и мононуклеарных клеток периферической крови 30 здоровых женщин сопоставимого возраста. Все пациенты находились на лечении в гинекологической клинике Областной больницы им Н.А. Семашко. Материал был предоставлен кафедрой акушерства и гинекологии Нижегородской государственной медицинской академии (к.м.н. Е.Ю. Конторщикова).

Все клинические диагнозы выставлялись врачебным коллективом соответствующего лечебного учреждения и имели цитологическое и гистологическое подтверждение. Необходимые исследования осуществляли при поступлении больных в стационар до медикаментозного и оперативного лечения.

Определение популяционного состава мононуклеарных клеток периферической крови проводили в реакции непрямой иммунофлуоресценции с использованием моноклональных антител (МКА) серии ИКО против антигенов CD4, CD8, CD18, CD25, CD38, CD50, CD54, CD95, HLA I класса, HLA-DR и ФИТЦ-меченых поликлональных антител против мышинных иммуноглобулинов. Определение уровня растворимых форм мембранных молекул проводили с использованием антител против тех же антигенов двухсайтовым иммуноферментным методом. Суммарные фракции молекул определяли с использованием поликлональных антител против мембранных белков мононуклеарных клеток в качестве подложки и моноклональных антител, конъюгированных с ферментом пероксидазой корня хрена. Олигомерные фракции выявляли с использованием одних и тех же моноклональных антител для подложки и для конъюгата, растворимые

комплексы – с использованием различных МКА (Новиков и др., 2008). Анализ по каждому антигену проводили в течение трех дней. В работе использовали МКА, полученные в Российском онкологическом научном центре им. Н.Н. Блохина РАМН.

Содержание в сыворотке крови больных цитокинов и онкоантигенов определяли с помощью иммуноферментных тест-систем фирм «Вектор-Бест» (г. Новосибирск) и Biosource (США).

Оценку состояния антиоксидантной системы крови и активности процессов липопероксидации проводили методом индуцированной железом и перекисью водорода биохемиллюминесценции в течение 30 секунд (Кузьмина, 1983). Определение содержания первичных (диеновых конъюгатов), вторичных (триеновых конъюгатов) и конечных (основания Шиффа) продуктов перекисного окисления липидов по методу И.А. Волчегорского (1989).

Статистическая обработка данных осуществлялась с помощью пакета программ Statistica. 6.0. и Prism 5.0. Результаты выражали в виде  $M \pm m$ , где  $M$  – среднее, а  $m$  – стандартная ошибка среднего. Нормальность распределения проверяли с применением критерия Шапиро-Уилка. Дальнейший анализ данных включал расчет коэффициента Стьюдента и использование непараметрических методов анализа: критерия Манна-Уитни, критерия Крускал-Уоллиса, критерия Дана и коэффициента ранговой корреляции Спирмана, а также линейного регрессионного анализа.

## **Результаты и их обсуждение**

### **Содержание цитокинов в периферической крови при миоме матки и раке эндометрия**

В настоящей работе определено содержание цитокинов IL-4, IL-10 (цитокины Th2-типа), IL-12, интерферона  $\gamma$  и фактора некроза опухоли  $\alpha$  (цитокины Th1-типа).



Содержание IL-4 повышалось по сравнению с нормой только при миоме матки (табл. 1). Увеличение концентрации IL-12 наблюдалось как при доброкачественной, так и злокачественной опухоли тела матки. Сходный характер изменения при миоме матки и раке эндометрия обнаруживался при измерении содержания IFN $\gamma$ . Уровень IL-10 повышался при раке эндометрия в сравнении со здоровыми донорами и больными миомой матки. Содержание TNF $\alpha$  увеличивалось по сравнению с нормой только при раке эндометрия. При миоме матки его уровень оставался в пределах нормы.

Повышенные уровни IL-12, IFN $\gamma$  и TNF $\alpha$  у больных миомой матки и раком эндометрия отражают активацию Th1-типа иммунного ответа при развитии опухолевого процесса в миометрии и эндометрии. Однако повышенное содержание IL-4 при миоме матки и IL-10 при раке эндометрия может свидетельствовать о неблагоприятной роли Th2-типа цитокинов в развитии доброкачественной и злокачественной опухоли тела матки.

**Таблица 1**

Сывороточное содержание цитокинов у больных миомой матки и раком эндометрия (pg/ml)

Цитокин	Норма	Миома матки	Рак эндометрия
IL-4	0,30±0,12	1,05±0,20*	0,81±0,27
IL-10	1,46±0,64	5,62±1,98	10,33±2,79*▼
IL-12	59,22±14,44	112,70±21,95*	101,70±16,56*
IFN $\gamma$	0,71±0,22	6,40±1,40*	4,93±1,66*
TNF $\alpha$	0,12±0,01	0,12±0,01	0,17±0,03*

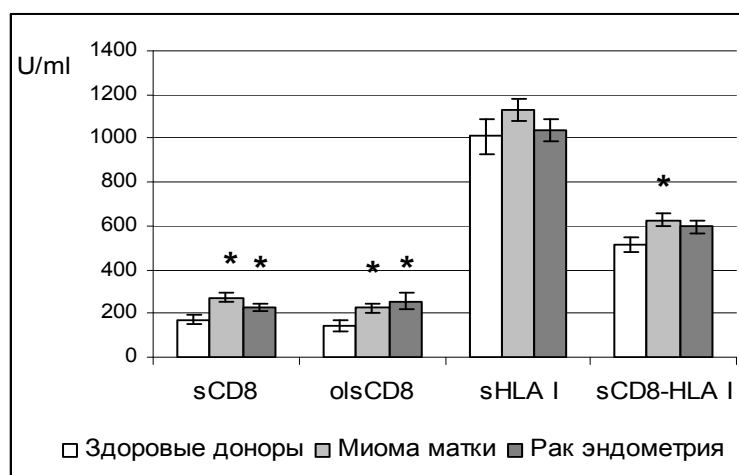
\* – статистически значимые различия по сравнению с нормой ( $p \leq 0,05$ )

▼ – статистически значимые различия между больными миомой матки и раком эндометрия ( $p \leq 0,05$ )

## Содержание растворимых дифференцировочных молекул в периферической крови при миоме матки и раке эндометрия

В ходе исследования определен спектр растворимых дифференцировочных молекул и их ассоциатов в сопоставлении с содержанием моноклеарных клеток и цитокиновым статусом периферической крови при доброкачественной и злокачественной опухоли тела матки.

При миоме матки и раке эндометрия увеличено содержание суммарной и олигомерной фракций растворимых молекул CD8 (рис. 1). Данные изменения имели место на фоне повышения относительного количества CD8<sup>+</sup> клеток (табл. 2).



**Рис. 1.** Содержание суммарных и олигомерных фракций растворимых молекул CD8, HLA I и ассоциатов CD8-HLA I в сыворотке крови больных миомой матки и раком эндометрия

\* – статистически значимые различия по сравнению с нормой ( $p \leq 0,05$ )

Уровень суммарной фракции растворимого антигена HLA I класса не изменялся по сравнению с нормой в обеих сравниваемых группах больных. Только при миоме матке увеличивалось содержание растворимых комплексов CD8-HLA I. Полученные данные позволяют предположить, что при миоме матки формирование суммарной фракции растворимых молекул CD8 происходит за счет олигомерной формы данного белка и растворимых комплексов CD8-HLA I, в то время как при раке эндометрия – только за счет олигомерной формы молекул CD8.

**Относительное содержание субпопуляций лимфоцитов  
у больных миомой матки и раком эндометрия (%)**

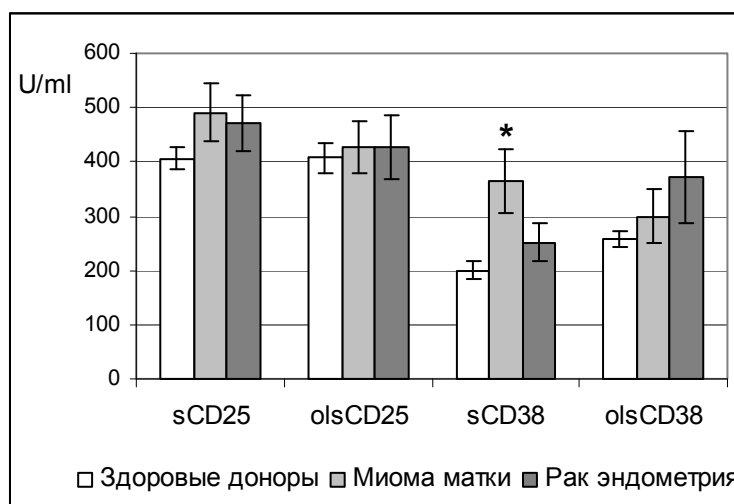
CD+ клетки	Здоровые доноры	Миома матки	Рак эндометрия
CD4 <sup>+</sup>	37,2±1,4	37,0±1,4	33,6±5,3
CD8 <sup>+</sup>	21,2±0,5	30,2±1,4*	28,0±2,0*
ИРИ	1,8±0,01	1,3±0,1*	1,3±0,1*
HLA I <sup>+</sup>	54,8±1,9	51,0±3,7	43,2±6,2*
HLA-DR <sup>+</sup>	30,1±1,0	36,5±2,3*	31,6±2,7
CD18 <sup>+</sup>	32,9±2,1	47,9±2,7*▼	37,3±2,8
CD50 <sup>+</sup>	27,4±1,3	42,2±2,4*▼	33,2±3,4
CD54 <sup>+</sup>	23,2±0,9	42,5±3,0*	33,5±4,4*
CD25 <sup>+</sup>	15,5±0,9	32,3±2,3*▼	26,1±2,8*
CD38 <sup>+</sup>	15,7±0,9	39,9±2,9*▼	20,1±1,5*
CD95 <sup>+</sup>	39,5±1,9	45,0±2,2	34,3±3,5

\* – статистически значимые различия по сравнению с нормой ( $p \leq 0,05$ )

▼ – статистически значимые различия между больными миомой матки и раком эндометрия ( $p \leq 0,05$ )

Содержание суммарной и олигомерной фракций растворимых молекул CD25 находилось в пределах нормальных значений (рис 2). При этом повышалось относительное количество CD25<sup>+</sup> клеток.

У больных миомой матки на фоне нормального уровня олигомерной фракции CD38 антигена и повышения относительного содержания CD38<sup>+</sup> лимфоцитов увеличивалась по сравнению с нормой концентрация суммарной фракции растворимого белка CD38, что можно объяснить шедином с поверхности клеток данных молекул, находящихся в мономерной форме (рис. 2).

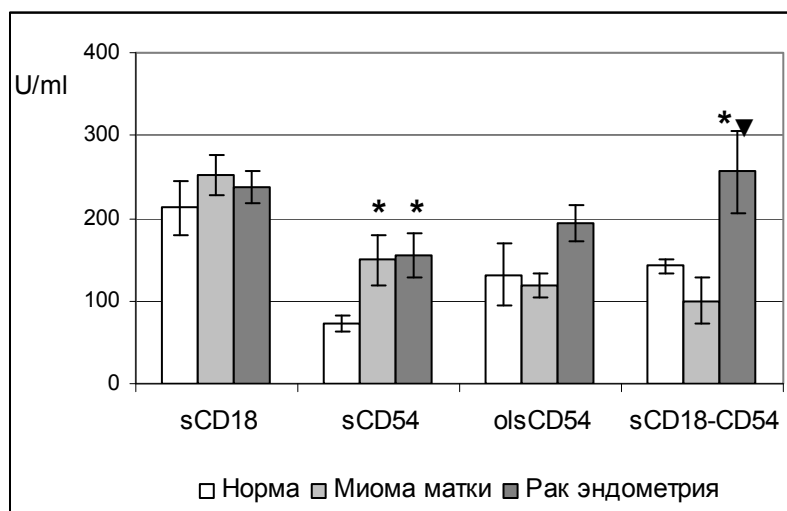


**Рис. 2.** Содержание суммарных и олигомерных фракций растворимых молекул CD25, CD38 в сыворотке крови больных миомой матки и раком эндометрия

\* – статистически значимые различия по сравнению с нормой ( $p \leq 0,05$ )

При миоме матки повышалось сывороточное содержание суммарной фракции растворимых молекул адгезии CD54 на фоне увеличения CD54<sup>+</sup> лимфоцитов, нормальных уровней олигомерной формы молекул CD54 и ассоциатов CD18-CD54 (рис.3). При раке эндометрия возрастало сывороточное содержание суммарной фракции растворимых молекул адгезии CD54 и растворимых комплексов CD18-CD54. Последние при миоме оставались в пределах нормы, а при раке эндометрия увеличивались почти

вдвое. Концентрация суммарной фракции растворимых молекул CD18 не изменялась по сравнению с нормой как при доброкачественной, так и при злокачественной опухоли тела матки на фоне повышения относительного содержания CD18<sup>+</sup> клеток. По всей видимости, при миоме матки подъем уровня суммарной фракции молекул CD54 происходит за счет шеддинга с поверхности клеток молекул CD54, находящихся в мономерной, а не олигомерной форме. 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 нарастания олигомерных форм растворимых молекул CD54.



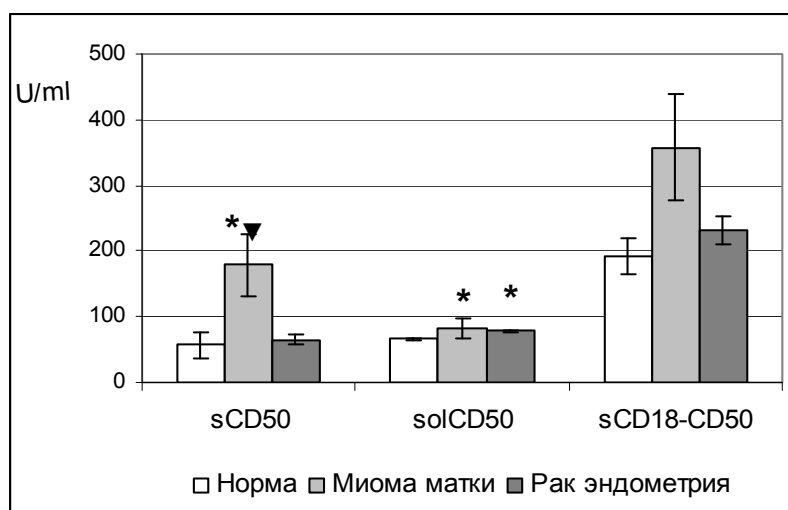
**Рис. 3.** Содержание суммарных и олигомерных фракций растворимых молекул CD18, CD54 и ассоциатов CD18-CD54 в сыворотке крови больных миомой матки и раком эндометрия

\* – статистически значимые различия по сравнению с нормой ( $p \leq 0,05$ )

▼ – статистически значимые различия между больными миомой матки и раком эндометрия ( $p \leq 0,05$ )

У больных миомой матки на фоне повышенного содержания CD50<sup>+</sup> мононуклеарных клеток выявлено достоверное увеличение суммарной и олигомерной фракции молекул CD50 (рис.4). Содержание растворимых ассоциатов CD18-CD50 проявляло значительную тенденцию к повышению. При этом нами обнаружено, что у 30 пациенток из 40 обследованных уровень

суммарного CD50 находился в пределах нормы, а у 10 человек он достоверно увеличивался и коррелировал с содержанием IFN $\gamma$  ( $R=0,77$ ,  $p=0,006$ ) и растворимых комплексов CD18-CD50 ( $R=0,85$ ,  $p<0,05$ ). 9 из 10 больных данной группы характеризовались большими размерами и/или множественностью миоматозных узлов. Однако применение метода линейного регрессионного анализа показало, что только содержание ассоциатов CD18-CD50 имело достоверную зависимость от размера опухоли ( $R^2=0,85$ ,  $p=0,003$ ). При раке эндометрия увеличивалось содержание олигомерной фракции молекул CD50 на фоне нормального содержания суммарной фракции растворимых молекул CD50, комплексов CD18-CD50 и CD50<sup>+</sup> мононуклеарных клеток периферической крови (рис. 4).



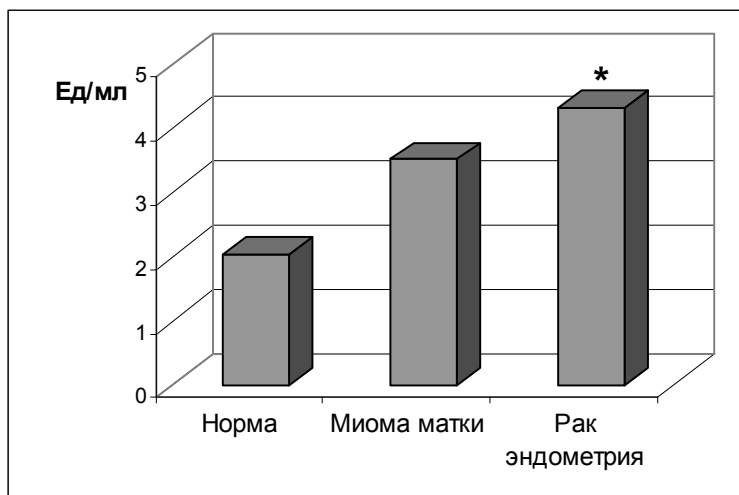
**Рис. 4.** Содержание суммарных и олигомерных фракций растворимых молекул CD50 и ассоциатов CD18-CD50 в сыворотке крови больных миомой матки и раком эндометрия

\* – статистически значимые различия по сравнению с нормой ( $p\leq 0,05$ )

▼ – статистически значимые различия между больными миомой матки и раком эндометрия ( $p\leq 0,05$ )

Дополнительно в работе исследовано сывороточное содержание растворимых онкоантигенов СЕА (CD66e), MUC-1 (CD227, CA15-3), MUC-16 (CA-125), выполняющих функции молекул адгезии. При миоме матки уровень молекул СЕА достоверно не отличался от показателей доноров,

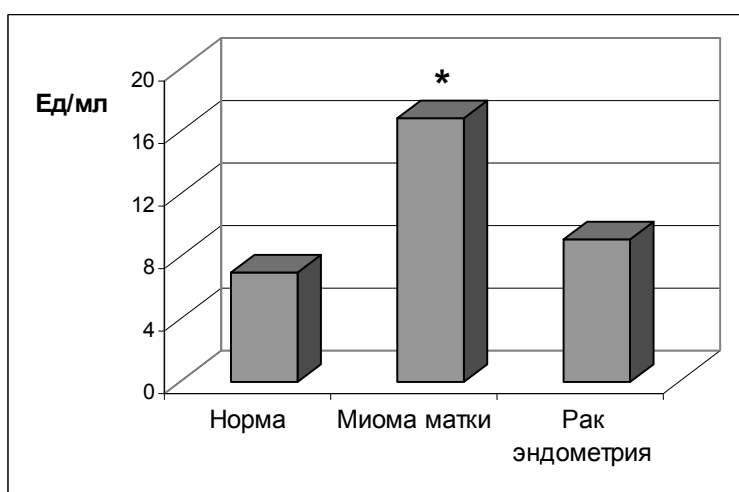
проявляя лишь тенденцию к повышению. У больных раком эндометрия содержание СЕА статистически достоверно увеличивалось по сравнению с донорами (рис. 5).



**Рис. 5.** Сывороточное содержание СЕА у больных миомой матки и раком эндометрия

\* - статистически значимые различия по сравнению с нормой ( $p \leq 0,05$ )

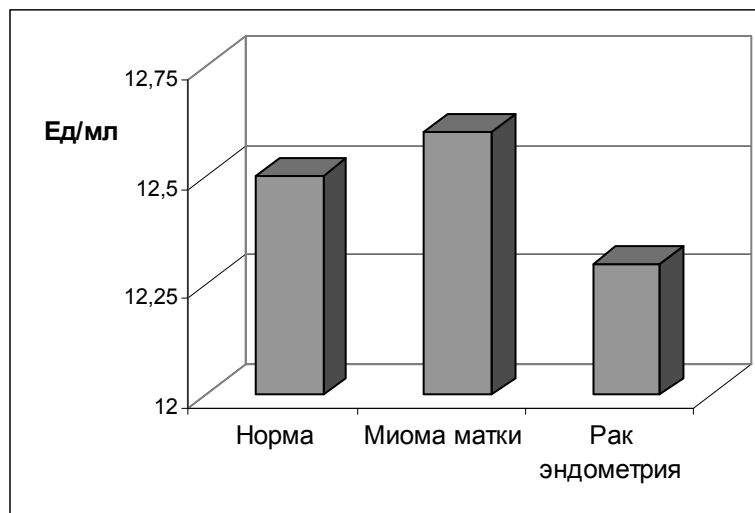
Содержание молекул MUC-16 (CA-125) повышалось по сравнению с нормой только при доброкачественной опухоли тела матки (рис.6).



**Рис. 6.** Сывороточное содержание MUC-16 у больных миомой матки и раком эндометрия

\* - статистически значимые различия по сравнению с нормой ( $p \leq 0,05$ )

Содержание онкоантигена MUC-1 (CA15-3) не изменялось по сравнению с нормой как при миоме матки, так и при раке эндометрия (рис. 7).



**Рис. 7.** Сывороточное содержание MUC-1 у больных миомой матки и раком эндометрия.

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 СЕА.

Проведенное исследование сывороточных уровней суммарных и олигомерных фракций растворимых дифференцировочных молекул показало, что развитие миомы матки и рака эндометрия сопровождается изменением динамического равновесия в содержании структурно-функциональных форм растворимых антигенов совместно с популяционным составом мононуклеарных клеток в периферической крови. Особенности их изменения при миоме матки и раке эндометрия, скорее всего, обусловлены особенностями патогенетических механизмов развития доброкачественной и злокачественной опухоли тела матки.

Анализ изменений сывороточного содержания спектра растворимых дифференцировочных молекул при миоме матки и раке эндометрия в



сопоставлении с содержанием цитокинов показал, что сывороточные уровни растворимых комплексов CD18-CD54 по сравнению с нормой увеличивались только у больных раком эндометрия, при миоме она оставалась в пределах нормы. Подобным образом изменялась концентрация IL-10 и TNF $\alpha$ .

Как при раке эндометрия, так и при миоме матки увеличивалась концентрация IL-12 и IFN- $\gamma$ . Сходным образом менялось сывороточное содержание суммарной и олигомерной фракций растворимых молекул CD8, олигомерной формы молекул CD50 и суммарной фракции растворимых молекул CD54. Выявленные изменения наблюдались одновременно с повышением в обеих группах больных относительного содержания CD8<sup>+</sup>, CD25<sup>+</sup>, CD38<sup>+</sup> и CD54<sup>+</sup> мононуклеарных клеток. Несмотря на однонаправленные изменения в содержании CD25<sup>+</sup> и CD38<sup>+</sup> клеток в обеих группах обследованных, больные миомой матки характеризовались более высоким содержанием клеток данных популяций по сравнению с больными раком эндометрия. Только при миоме матки обнаружено увеличение сывороточной концентрации IL-4 совместно с содержанием суммарной фракции растворимых молекул CD50, а также растворимых комплексов CD8-HLA I. Однонаправленный характер изменений при доброкачественной опухоли тела матки носило относительное содержание CD18<sup>+</sup>, CD50<sup>+</sup> и HLA-DR<sup>+</sup> мононуклеарных клеток периферической крови.

Между сывороточным уровнем растворимых форм мембранных антигенов клеток иммунной системы и концентрацией цитокинов обнаружен ряд корреляционных взаимосвязей. Содержание суммарной фракции растворимых молекул CD18 и СЕА, суммарной и олигомерной фракции растворимых молекул CD50 коррелировало с концентрацией IFN $\gamma$  только при миоме матки (R=0,64, p<0,05; R=0,40, p<0,05; R=0,77, p<0,05; R=0,54, p<0,05). Содержание суммарной и олигомерной фракции растворимых молекул CD54, а также растворимых молекул СЕА коррелировало с концентрацией IL-4 только при раке эндометрия (R=0,74, p<0,05; R=0,65, p<0,05; R=0,67, p<0,05). Уровни растворимых ассоциатов CD18-CD54 и

CD18-CD50 коррелировали с концентрацией IFN $\gamma$  у больных миомой матки ( $R=0,64$ ,  $p<0,05$ ;  $R=0,6$ ,  $p<0,05$ ) и с концентрацией IL-4 у больных раком эндометрия ( $R=0,68$ ,  $p<0,05$ ;  $R=0,68$ ,  $p<0,05$ ).

При миоме матки отсутствовали корреляционные связи между сывороточным содержанием растворимых дифференцировочных молекул и концентрацией IL-4. Однако, обнаруживались связи между сывороточным уровнем суммарных и олигомерных фракций молекул адгезии, а также их комплексов, и содержанием IFN $\gamma$  и IL-10. При раке эндометрия корреляции между сывороточным уровнем растворимых молекул адгезии и IFN $\gamma$  отсутствовали. Обнаруживались лишь корреляции между сывороточным содержанием растворимых молекул адгезии и концентрацией IL-4 и IL-10, отражающих состояние Th2 звена иммунитета.

Согласно данным литературы, действие цитокинов является одной из причин появления растворимых форм мембранных антигенов. Вследствие этого, освобождение растворимых дифференцировочных молекул отражает разные модели продукции цитокинов, и, следовательно, иммунного ответа организма (Kessel et al., 1998). Исходя из изложенного, можно предположить, что изменение содержания растворимых дифференцировочных молекул при миоме матки связано с развитием Th1-типа иммунного ответа, а при раке эндометрия оно ассоциировано с состоянием Th2-звена иммунитета.

### **Оценка состояния свободно-радикальных процессов и перекисного окисления липидов сыворотки крови при миоме матки и раке эндометрия**

Анализ состояния свободно-радикального окисления при миоме матки показал увеличение индекса S/Imax, отражающего баланс про- и антиоксидантных систем крови, при неизменном значении индекса S. Показатели Imax и tg(-2 $\alpha$ ) были снижены (табл. 3). Поскольку tg(-2 $\alpha$ ) характеризует скорость спада свободно-радикального окисления и зависит от содержания антиоксидантов, а индекс Imax – потенциальную способность

биологического объекта к окислению, можно предположить, что наблюдаемый дисбаланс в системе антиоксидантной защиты крови при доброкачественной опухоли тела матки, очевидно, связан со снижением содержания антиоксидантных систем и повышенной способности к свободно-радикальному окислению. Показатель  $S/I_{max}$  положительно коррелировал с содержанием растворимых комплексов sCD18-CD50 ( $R=0,42$ ,  $p=0,032$ ), IFN- $\gamma$  ( $R=0,47$ ,  $p=0,001$ ), IL-4 ( $R=0,41$ ,  $p=0,02$ ) и IL-10 ( $R=0,48$ ,  $p=0,01$ ).

При раке эндометрия индексы  $S$  и  $I_{max}$  оставались в пределах нормы при увеличении индекса  $S/I_{max}$ . Показатель  $tg(-2\alpha)$  по сравнению с нормой не изменялся, что может свидетельствовать о нормальном уровне антиоксидантной защиты. Коэффициент  $S/I_{max}$  при злокачественной опухоли эндометрия отрицательно коррелировал с содержанием суммарной фракции растворимых молекул CD18 ( $R=-0,75$ ,  $p=0,01$ ).

**Таблица 3**

Показатели хемилюминесценции сыворотки крови больных миомой матки и раком эндометрия

Индекс	Норма	Миома матки	Рак эндометрия
$S, mv$	1893±83,34	1647±157,00	1951±279,40
$I_{max}, mv$	251,10±13,69	175,3±7,56*	210,2±20,13
$S/I_{max}, усл.ед.$	7,73±0,22	9,35±0,59*	9,42±0,90*
$tg(-2\alpha), усл. ед.$	64,15±5,05	42,19±2,59*▼	61,06±10,12

\* – статистически значимые различия по сравнению с нормой ( $p \leq 0,05$ )

▼ – статистически значимые различия между больными миомой матки и раком эндометрия ( $p \leq 0,05$ )

Определение продуктов липопероксидации показало, что как у больных миомой матки, так и больных раком эндометрия отмечается достоверное снижение уровней диеновых (ДК) и триеновых конъюгатов (ТК) (табл. 4). При этом в обеих группах больных уровень ТК отрицательно коррелировал с концентрацией IL-12 ( $R=-0,55$ ,  $p=0,03$ ;  $R=-0,72$ ,  $p=0,04$ ). Содержание ДК при раке эндометрия отрицательно коррелировало с концентрацией молекул адгезии sCD54 ( $R=-0,71$ ,  $p=0,02$ ), растворимых комплексов CD18-CD54 ( $R=-0,68$ ,  $p=0,04$ ).

**Таблица 4**

Показатели перекисного окисления липидов в сыворотке крови больных миомой матки и раком эндометрия (ед. опт. пл.)

Продукты ПОЛ	Норма	Миома матки	Рак эндометрия
Диеновые конъюгаты	0,165±0,051	0,086±0,004*	0,093±0,009*
Триеновые конъюгаты	0,044±0,001	0,026±0,003*	0,024±0,001*
Основания Шиффа	3,250±0,250	7,473±1,114*	4,063±0,984
ОШ/(ДК+ТК)	24,010±1,922	54,320±8,659*▼	32,990±2,597*

\* - статистически значимые различия по сравнению с нормой ( $p \leq 0,05$ )

▼ – статистически значимые различия между больными миомой матки и раком эндометрия ( $p \leq 0,05$ )

Содержание оснований Шиффа (ОШ) повышалось при миоме матки. При раке эндометрия уровень ОШ имел тенденцию к повышению, проявляя отрицательную корреляционную взаимосвязь с увеличенной концентрацией суммарной фракции растворимых антигенов CD54 ( $R=-0,66$ ,  $p=0,03$ ). При этом коэффициент ОШ/(ДК+ТК), отражающий соотношение конечных продуктов к начальным, достоверно увеличивался по сравнению с нормой у

больных обеих групп. Исходя из этого, можно сделать вывод о направленности процесса, заключающемся в преобладающем накоплении конечных продуктов перекисного окисления липидов как при миоме матки, так и при раке эндометрия. Повышение ряда показателей липопероксидации совместно с увеличением показателей хемилюминесценции свидетельствует об усилении интенсивности реакций свободно-радикального окисления при миоме матки и раке эндометрия. Выявленные изменения в показателях ПОЛ, ассоциированные с содержанием растворимых форм мембранных молекул и цитокиновым статусом, свидетельствуют о влиянии процессов липопероксидации на функциональную активность клеток иммунной системы.

Таким образом, для миомы матки и рака эндометрия характерны различные изменения в составе растворимых дифференцировочных молекул, ассоциированные с изменениями содержания моноклеарных клеток, цитокинового статуса и состояния липопероксидации периферической крови.

## **ВЫВОДЫ**

1. Выявлены различия в сывороточном содержании цитокинов при доброкачественной и злокачественной опухоли тела матки: при миоме матки увеличивалась по сравнению с нормой концентрация IL-4, при раке эндометрия повышалось содержание IL-10 и TNF $\alpha$ . Уровень IL-10 при раке эндометрия превышал его концентрацию при миоме матки.
2. Установлено увеличение содержания суммарной и олигомерной фракций растворимых молекул CD8, олигомерных форм растворимых молекул CD50, суммарной фракции растворимых молекул CD54 в периферической крови при миоме матки и раке эндометрия по сравнению со здоровыми донорами. Только у лиц с доброкачественной опухолью тела матки повышалось по сравнению с донорами сывороточное содержание суммарных фракций растворимых молекул CD38, CD50. Данные

изменения сопровождались изменением популяционного состава мононуклеарных клеток периферической крови.

3. Показано, что при миоме матки, характеризующейся большими размерами и/или множественностью миоматозных узлов, наблюдается повышение по сравнению с донорами сывороточного содержания суммарной фракции растворимых молекул CD50 и IFN $\gamma$ .
4. Обнаружено увеличение содержания растворимых комплексов CD8-HLA I в сыворотке крови больных миомой матки и повышение при раке эндометрия сывороточного уровня растворимых ассоциатов CD18-CD54.
5. Установлены корреляционные взаимосвязи между сывороточным содержанием суммарных и олигомерных фракций молекул адгезии, а также их комплексов и содержанием IFN $\gamma$  при миоме матки. При раке эндометрия обнаружена взаимосвязь между сывороточным содержанием растворимых молекул адгезии и концентрацией IL-4.
6. Выявлены изменения в антиоксидантном статусе больных миомой матки и раком эндометрия, ассоциированные с сывороточным уровнем растворимых дифференцировочных молекул и цитокинов.

## **СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ**

### **I. Работы, опубликованные в ведущих рецензируемых научных журналах и изданиях, определенных ВАК:**

1. **Коровушкина К.А.** Оценка состояния иммунитета при опухолях тела матки / Коровушкина К.А., Бабаев А.А., Котельникова Т.В., Конторщикова Е.Ю., Преснякова Н.Б., Барышников А.Ю., Новиков В.В. // Вестник Нижегородского госуниверситета им. Н.И. Лобачевского, серия Биология. – 2010. – Вып. 2. – № 2. – С.

2. **Коровушкина К.А.** Роль структурно-функциональных форм растворимых дифференцировочных молекул в дифференциальной диагностике миомы матки и рака эндометрия / Коровушкина К.А., Бабаев

А.А., Котельникова Т.В., Конторщикова Е.Ю., Караулов А.В., Барышников А.Ю., Новиков В.В. // Современные медицинские технологии. – 2010. – № 2. – С. 53 – 57.

3. **Коровушкина К.А.** Структурно-функциональные формы растворимых молекул адгезии в крови онкогинекологических больных / Коровушкина К.А., Караулов А.В., Бабаев А.А., Конторщикова Е.Ю., Князев Д.И., Резвцова К.В., Фролова М.А., Новиков Д.В., Евсегнеева И.В., Афанасьев М.С., Крылов В.Н., Хомутов А.Е., Барышников А.Ю., Новиков В.В. // Иммунопатология, аллергология, инфектология. – 2010. – № 2. – С. 47 – 52.

4. **Коровушкина К.А.** Состояние пула растворимых дифференцировочных молекул и цитокиновый статус при раке эндометрия и миоме матки / Коровушкина К.А., Бабаев А.А., Котельникова Т.В., Конторщикова Е.Ю., Князев Д.И., Новиков Д.В., Караулов А.В., Барышников А.Ю., Новиков В.В. // Молекулярная медицина. – 2010. - № 5. – С. 67 – 73.

## **II. Статьи, доклады, тезисы докладов региональных и международных конференций:**

1. **Коровушкина К.А.** Перекисное окисление и антиоксидантная система защиты у гинекологических больных с доброкачественными и злокачественными опухолями / Коровушкина К.А., Королева Е.Ф., Конторщикова Е.Ю., Янченко О.С. // Всероссийская конференция молодых ученых и III школа им. академика Н.М. Эммануэля: Окисление, окислительный стресс, антиоксиданты, Москва, 1 – 3 октября 2008 года. – М.: РУДН, 2008. – С. 251 – 253.

2. **Коровушкина К.А.** Сывороточное содержание растворимых молекул адгезии при доброкачественных и злокачественных опухолях тела матки / Бабаев А.А., Резвцова К.В., Фролова М.А., Мамаева М.А., Конторщикова Е.Ю., Новиков В.В. // Сборник трудов X Международного конгресса «Современные проблемы аллергологии, иммунологии и

иммунофармакологии», посвященного 100-летию со дня рождения академика АМН А.Д. Адо, Казань, 20 – 23 мая 2009 года. – С. 203 – 203.

3. Yanchenko O.S. Pathogenetical justification of ozonotherapy usage in gynecological patients after surgery / Yanchenko O.S., **Korovushkina K.A.**, Kontorschikova E.U., Kachalina T.C., Novikov V.V. // Proceedings of 19th Ozone Congress of the IOA, Tokyo, Aug. 31 – Sept. 3, 2009. – P. 282 – 287.

4. **Коровушкина К.А.** Иммунофенотипирование мононуклеарных клеток крови при доброкачественных и злокачественных опухолях тела матки / Коровушкина К.А., Фролова М.А., Конторщикова Е.Ю., Копылова Г.Г. // Труды научно-практической конференции «Лабораторная медицина в свете Концепции развития здравоохранения России до 2020 года», Москва, 28 – 30 сентября 2009 года. – М.: Лабора, 2009. – С.36 – 37.

5. **Коровушкина К.А.** Содержание растворимых форм мембранных антигенов в оценке иммунного статуса при миоме матки и раке эндометрия / Коровушкина К.А., Бабаев А.А., Конторщикова Е.Ю., Князев Д.И., Новиков Д.В., Барышников А.Ю., Новиков В.В. // Лаборатория. – 2010. - № 2. – С. 10.

6. Конторщикова Е.Ю. Оценка эффективности включения озонированного физиологического раствора в лечение больных раком эндометрия / Конторщикова Е.Ю., **Коровушкина К.А.**, Котельникова Т.В. // Материалы V Украинско-русской научно-практической конференции, IV Азиатско-европейской научно-практической конференции «Озон в биологии и медицине», Одесса, 6 – 8 мая 2010 года. – С. 131 – 132.

7. **Коровушкина К.А.** Нанобиотехнологические исследования протеома и интерактома крови при миоме матки и раке эндометрия / Коровушкина К.А., Бабаев А.А., Конторщикова Е.Ю., Князев Д. И., Новиков Д.В. // IX юбилейная научная сессия молодых ученых и студентов, посвященная 90-летию Нижегородской государственной медицинской академии «Современное решение актуальных научных проблем в медицине». – Н.Новгород, 2010. – С. 184 – 186.