

ПАТОГЕНЕТИЧЕСКАЯ РОЛЬ ИНГИБИТОРА АПОПТОЗА sFas

М. Плосконоз^{1,2}, кандидат биологических наук,
А. Николаев¹, доктор медицинских наук, профессор
¹Астраханский государственный медицинский университет
²Каспийский институт морского и речного транспорта –
филиал Волжского государственного университета
водного транспорта, Астрахань
E-mail: ploskonoz@mail.ru

Изменение концентрации sFas-антигена в крови, функция которого направлена на сохранение гомеостаза, отражает активность патологических процессов, протекающих в организме. Полученные в ходе исследований результаты позволяют говорить о несомненной прогностической и мониторинговой значимости сывороточного уровня sFas-антигена.

Ключевые слова: sFas, кровь, апоптоз.

Апоптоз – механизм, посредством которого осуществляется генетическая программа гибели клеток, исчерпавших лимит деления, завершивших выполнение своих функций, или клеток с нарушениями генетического аппарата [28]. Апоптоз играет ключевую роль во многих физиологических и патологических иммунных процессах, так как нарушение регуляции процесса запрограммированной гибели клетки связано с развитием большинства заболеваний. Нарушения процессов инициации и реализации летальной программы клеток часто становятся основополагающими в определении характера и тяжести течения патологического процесса [3, 19].

Один из механизмов апоптоза реализуется через систему Fas/Fas-лиганд. Взаимодействие Fas с Fas-лигандом (FasL) или с моноклональными антителами приводит к апоптозу клетки. С активностью Fas-индуцированного апоптоза связывают прогрессирование многих заболеваний [8, 10, 21, 26].

Помимо экспрессируемого Fas-рецептора существует еще так называемая растворимая форма – sFas, которая циркулирует в плазме крови. Образование растворимой формы Fas-рецептора возможно 2 путями: протеолитического расщипывания с поверхности мембраны (шеддинг) либо вследствие альтернативного сплайсинга мРНК, приводящего к образованию транскрипта, соответствующего растворимой форме рецептора [12, 18]. По данным A. Weetman и соавт., сброс Fas с поверхности клеточной мембраны может приводить к утяжелению иммунопатологических реакций [29].

Относясь к группе растворимых дифференцировочных антигенов, sFas конкурирует с мембранным Fas-рецептором в связывании FasL и может ингибировать Fas-опосредованный апоптоз *in vitro* [12, 23].

Известно, что эффекторное действие sFas зависит от его структуры [22]. Мономерная форма sFas препятствует проведению в клетку апоптотического сигнала, возникающего при взаимодействии мембранного Fas с FasL. В то же время тримерная форма sFas сама обладает цитотоксической активностью, вызывая гибель клеток при взаимодействии с FasL [12]. В норме растворимые формы Fas-антигена находятся в равновесии, но изменение концентрации какой-либо из раствори-

мых форм может обусловить нарушение гомеостатического равновесия и модуляцию иммунного ответа [18].

В норме концентрация sFas в различных биологических жидкостях составляет от долей нанограмма до нескольких микрограммов в 1 мл. sFas может быть выявлен с помощью иммуноферментного анализа при наличии соответствующих моноклональных антител (например, ИКО-160) [2]. Многие заболевания сопровождаются изменением уровня sFas в крови и других биологических жидкостях [15].

Содержание растворимых форм мембранных антигенов клеток иммунной системы в сыворотке крови имеет индивидуальные особенности. Обнаружены возрастные особенности содержания растворимых антигенов в крови здоровых, концентрация некоторых растворимых форм изменяется при беременности [12].

При аутоиммунных заболеваниях (например, при системной красной волчанке) выявлен подъем сывороточного уровня sFas, что, однако, неспецифично для системной красной волчанки или ревматоидного артрита [2, 12].

Повышение сывороточного уровня sFas обнаружено также при определенных В- и Т-клеточных лейкозах. Растворимая форма Fas-антигена обнаружена в супернатантах В- и Т-клеточных линий [25]. Это показывает, что sFas ответствен за патогенез аутоиммунных нарушений, а также за ускользание от иммунологического надзора и развитие опухолей. Однако некоторые авторы считают, что растворимая форма Fas-рецептора не имеет клинического значения и не влияет на патогенез аутоиммунных заболеваний [2].

Содержание в сыворотке крови растворимых дифференцировочных антигенов связано с патогенетическими механизмами развития многих других иммуноопосредованных заболеваний – например, бронхиальной астмы (БА), псориаза, сахарного диабета, ожоговой травмы, сердечно-сосудистой патологии. Этим перечнем далеко не исчерпывается все разнообразие гомеостатических нарушений, в развитии которых участвуют растворимые формы мембранных антигенов клеток иммунной системы [5, 9, 12].

Получены противоречивые данные об изменениях уровня растворимых форм маркеров апоптоза у пациентов с сердечной недостаточностью (СН). Известно, что прогрессирование СН и гибель кардиомиоцитов связаны с активностью Fas-индуцированного апоптоза. Это позволяет оценить выраженность процессов апоптоза у пациентов с СН, у которых уровень sFas ниже, а sFasL – выше в плазме крови, чем у здоровых. Выявлена корреляция растворимых форм маркеров Fas-опосредованного апоптоза со степенью тяжести СН: уровень sFas находится в обратной, а sFasL – в прямой корреляции с функциональными классами (ФК) СН по классификации NYHA (I, II, III, IV ФК СН). Таким образом, этот показатель может служить дополнительным лабораторным критерием степени тяжести СН [7, 14].

В более ранних исследованиях [20] было также выявлено, что уровень sFasL выше, а sFas – ниже при III–IV ФК СН, чем при I и II ФК. В других исследованиях [27] не найдено различий в уровне sFasL при разных ФК СН, а уровень sFas был прямо связан со степенью тяжести СН и оказался достоверно выше при II–IV ФК СН (по сравнению с I и II ФК). В то же время не выявлено различий в уровне sFas у выживших в течение 6 мес. и не выживших в терминальной стадии СН пациентов. Тем не менее у пациентов с клиническим улучшением уровень sFas имел тенденцию к снижению.

Исследован характер изменения сывороточной концентрации sFas при социально значимых инфекциях: повыше-

ние уровня sFas в крови выявлено при гепатите (см. таблицу) и у ВИЧ-инфицированных [6, 12, 18].

Выявлено повышение сывороточной концентрации sFas-антигена при онкологических заболеваниях, например при раке молочной железы. Успешная полихимиотерапия приводит к нормализации его содержания. Прогрессирование опухоли на фоне полихимиотерапии сопровождается повышением сывороточной концентрации sFas. Таким образом, при раке молочной железы сывороточный уровень этого антигена может выступать в роли прогностического показателя ответа на полихимиотерапию [12].

В сыворотке крови у пациентов с доброкачественными и злокачественными новообразованиями яичников sFas выявлялся чаще, чем у практически здоровых женщин (соответственно 70 и 36%). Частота выявления sFas и средний его уровень не различались у больных серозным раком яичников с пограничными эпителиальными опухолями и доброкачественными новообразованиями яичников, однако концентрация sFas в сыворотке крови 3 групп пациентов с новообразованиями яичников достоверно отличалась от таковой у практически здоровых женщин (см. таблицу). С увеличением возраста больных раком яичников отмечена тенденция к повышению продукции sFas, в то время как при доброкачественных новообразованиях яичников не выявлено зависимости уровня sFas от возраста [13].

Повышенная концентрация sFas в сыворотке крови была обнаружена у всех (100%) больных раком коры надпочечника (среди здоровых – у 28%; см. таблицу). Причем не обнаружено корреляции у обследованных между уровнем sFas, полом и возрастом. Обнаружена тенденция к повышению содержания sFas с увеличением распространенности опухолевого процесса (от I к IV стадии). Не выявлено зависимости между уровнем sFas и размером опухоли [4].

Таким образом, частота выявления sFas и его уровень в сыворотке крови у онкологических больных достоверно выше, чем у практически здоровых людей. По данным С.Г. Аббасовой [1], если частота выявления sFas у практически здоровых людей (n=457) в возрасте от 17 до 78 лет составляла 40%, а концентрация sFas колебалась от 0,3 до 1,2 нг/мл (средний уровень – 0,9±0,3 нг/мл), то при новообразованиях молочной железы, яичников, матки, костей, щитовидной железы, толстой кишки

и надпочечников у обследованных (n=1061) в возрасте от 14 до 80 лет частота выявления sFas равнялась 78%, а средняя концентрация – 6,7±1,4 нг/мл. Автор приходит к заключению, что показатели sFas не зависят от возраста и пола обследованных, а у женщин – от репродуктивной функции, длительности менопаузы и фазы менструального цикла. Концентрация sFas у пациентов со злокачественными новообразованиями яичников, тела матки, коры надпочечника и толстой кишки зависит от размера и степени дифференцировки опухоли, от стадии болезни. sFas является фактором прогноза болезни для некоторых категорий онкологических больных. Высокая концентрация sFas в сыворотке крови связана с ухудшением показателей выживаемости при остеогенной саркоме, раке яичников, тела матки и аденокарциномном раке. Высокий уровень sFas в крови следует считать неблагоприятным фактором ответа пациента с колоректальным раком на лучевую терапию. Определение концентрации sFas в сыворотке крови онкологических больных имеет большое практическое значение для выбора препаратов и назначения индивидуальной схемы лечения [1].

Изменение концентрации sFas-антигена в крови обнаруживается при различных заболеваниях предстательной железы (ПЖ). Так, полученные нами данные свидетельствуют о том, что содержание sFas в сыворотке крови при простатите не зависит от стадии простатита (по классификации NIH у обследованных были II, IIIA и IIIB стадии): у здоровых мужчин частота выявления sFas составила 26%, а его уровень варьировал от 60 до 130 пг/мл; при хроническом простатите наиболее высокий показатель sFas отмечен при стадии IIIB – 67,4±2,75 пг/мл; при IIIA стадии sFas был несколько ниже (58,1±4,25 пг/мл), но не отличался статистически от такового при IIIB стадии. У пациентов с доброкачественной гиперплазией ПЖ уровень sFas в крови почти в 4 раза превышал таковой у больных простатитом и составил в среднем 267,6±149,4 пг/мл [16], однако характеризовался большой вариабельностью. Таким образом, тест на определение уровня sFas в крови может оказаться полезным в дифференциальной диагностике аденомы. Подавление иммунологического надзора и нарушение регуляции механизмов апоптоза может являться одним из патогенетических механизмов развития заболеваний ПЖ, а концентрация sFas в крови – количественным маркером этих нарушений и прогностическим критерием развития той или иной формы патологии.

Содержание растворимой формы Fas-антигена в сыворотке крови					
Диагноз	Число обследованных	Средний возраст, годы	Содержание sFas	Частота выявления sFas, %	Источник
Здоровые (доноры)	80	–	346,5±60,3 ЕД/мл	–	[6]
	30	36–76	0,86 нг/мл	36	[13]
	60	19–70	80,2±5,7 пг/мл (60–130)	28	[4]
Вирусный гепатит А: манифестная форма инаппарантная форма реконвалесценты	66	–	1019,9±289,9* ЕД/мл	–	[6]
	33	–	972,3±294,7* ЕД/мл	–	
	40	–	572,6±180,7 ЕД/мл	–	
Опухоли яичников	100	28–85	1,7 нг/мл (0–5,6)	70	[13]
Серозный рак	51		1,4±0,4* нг/мл	72,9	
Пограничные эпителиальные опухоли	11		2,68±1,3* нг/мл	75	
Доброкачественные новообразования яичников	38		1,74±0,4* нг/мл	78,6	
Рак коры надпочечника	12	21–72	186,2±23,4* пг/мл (56,0–332,9)	100	[4]

Примечание. В скобках – пределы колебаний; * – p<0,05 по сравнению с уровнем у здоровых.

Нами проанализировано количественное содержание sFas в сыворотке крови больных раком ПЖ и оценена его роль в прогнозе заболевания. Выявлено, что sFas в концентрации 56,0–330,6 пг/мл был обнаружен у всех больных раком ПЖ, а его средний уровень ($180,3 \pm 19,2$ пг/мл) был достоверно выше, чем у здоровых мужчин ($p < 0,05$). Повышенный уровень sFas можно рассматривать как дополнительное звено механизма «ухода» опухолевых клеток из-под генетического контроля, следствием чего являются бесконтрольная пролиферация опухолевых клеток и проявление несостоятельности противоопухолевого иммунитета [17]. Эти данные, свидетельствующие о высокой продукции ингибитора апоптоза – растворимого Fas-антигена в сыворотке крови больных раком ПЖ (по сравнению со здоровыми мужчинами), позволяют предположить связь сывороточного уровня sFas с клиническими проявлениями и прогнозом рака ПЖ. Так, известно, что уровень sFas в сыворотке крови коррелирует с ростом злокачественности опухоли ПЖ по степени дифференцировки и позволяет прогнозировать рак ПЖ в случае низкодифференцированных опухолей, продуцирующих низкий уровень простатоспецифического антигена (ПСА). Y. Fujiya и соавт. предлагают в качестве границы оценки злокачественности опухоли (по клиническим признакам, метастазированию и выживаемости) уровень sFas 3,2 нг/мл [24]. Однако нечеткое разграничение в оценке злокачественности, отсутствие связи с широкораспространенной шкалой Глиссона и узкий диапазон концентраций sFas в крови, предлагаемый Y. Fujiya и соавт. для оценки злокачественности опухоли ПЖ, позволили нам предложить новый способ прогнозирования степени злокачественности рака ПЖ, который дает возможность по сумме концентраций матрилизина и растворимого Fas-антигена в сыворотке крови судить о степени злокачественности процесса [11]. Способ направлен на повышение точности прогноза рака ПЖ на основе комплексной оценки серологических факторов риска, коррелирующих с морфологической картиной по шкале Глиссона.

Таким образом, изучив данные литературы и проанализировав собственные исследования, можно сделать вывод, что изменение концентрации sFas-антигена обнаруживается в крови при различных нарушениях гомеостаза, отражая активность протекающих в организме патологических процессов. В ходе исследований, проводимых разными лабораториями, показана несомненная прогностическая и мониторинговая значимость сывороточного уровня растворимой формы Fas-антигена. Доказано, что s-форма Fas-рецептора иммунокомпетентных клеток обладает иммунорегуляторными свойствами, а ее уровень отражает процессы активации и элиминации клеток иммунной системы и может служить маркером течения патологического процесса. Так, одним из патогенетических аспектов опухолевой трансформации, атипических и аутоиммунных заболеваний является ингибирование апоптоза, связанное с увеличением сывороточной концентрации sFas. Напротив, усиление апоптоза, развивающееся в результате падения уровня sFas в крови, наблюдается при нейродегенеративных, диспластических процессах и ишемических повреждениях различных органов. Основой формирования хронических инфекционных процессов, в том числе и вирусной природы, также является нарушение реализации апоптоза. Развитие инфекционного воспаления связано с процессами торможения апоптоза, а повышенный уровень ингибитора апоптоза sFas является одной из причин слабого иммунного ответа на вирусную инфекцию и, как следствие, – ее длительной персистенции в организме [18]. Несомненна роль sFas в патогенезе опухолевого роста, так как растворимый Fas-антиген, взаимодействуя с FasL на мембране цитотоксических

T-лимфоцитов, защищает опухолевые клетки от апоптоза. В результате опухолевые клетки, продуцирующие повышенное количество sFas, получают преимущество в выживании и размножении. Поэтому определение уровня sFas имеет большое практическое значение для выявления нарушений апоптотической реактивности иммунокомпетентных клеток при аутоиммунных, инфекционных и онкологических заболеваниях.

Литература

1. Аббасова С.Г. Растворимый Fas при онкологических заболеваниях. Автореф. дис. ... д-ра биол. наук. М., 2008; 51 с.
2. Барышников А.Ю., Шишкин Ю.В. Иммунологические проблемы апоптоза // М.: Эдиториал УРСС, 2002; 320 с.
3. Белушкина Н.Н., Северин С.Е. Молекулярные основы патологии апоптоза // Арх. патол. – 2001; 1: 51–60.
4. Бритвин Т.А. Растворимый Fas-антиген (sFas) при раке коры надпочечника // Клин. лаб. диагн. – 2005; 9: 19.
5. Булгакова В.А. Клиническое значение изучения маркеров активации и апоптоза иммунокомпетентных клеток при атопической бронхиальной астме у детей // Педиатрия. – 2009; 87 (2): 12–8.
6. Евсегнеева И.В., Манакова Э.А., Новиков В.В. и др. Повышенный уровень растворимых антигенов CD50, CD95 и HLA I класса в сыворотке крови больных гепатитом А // Цитокины и воспаление. – 2005; 4 (3): 25–7.
7. Наджафипур Р., Долгов В.В., Орлова О.В. и др. Маркеры Fas-опосредованного апоптоза у больных с сердечной недостаточностью // Клин. лаб. диагн. – 2007; 10: 19–37.
8. Недосекова Ю.В., Уразова О.И., Кравец Е.Б. и др. Роль апоптоза в развитии аутоиммунных заболеваний щитовидной железы // Бюл. сибирской медицины. – 2009; 1: 64–71.
9. Нелюбин Е.В. Иммунологические нарушения и апоптотическая реактивность лимфоцитов периферической крови при псориазе. Автореф. дис. ... канд. мед. наук. Екатеринбург, 2007; 35 с.
10. Николаев А.А., Плосконос М.В. Иммуноферментный анализ Fas-рецептора (CD 95) у лиц с патологией предстательной железы // Соврем. наукоемкие технол. – 2008; 3: 89–90.
11. Николаев А.А., Плосконос М.В. Способ прогнозирования степени злокачественности рака предстательной железы. Патент на изобретение №2521229 от 29 апреля 2014 г.
12. Новиков В.В., Барышников А.Ю., Караулов А.В. Растворимые формы мембранных антигенов клеток иммунной системы // Иммунология. – 2007; 4: 249–53.
13. Обушева М.Н., Аббасова С.Г., Лякина Л.Т. и др. Растворимый Fas-антиген у больных эпителиальными опухолями яичников // Клин. лаб. диагн. – 2005; 9: 18.
14. Орлова О.В., Наджафипур Р., Шевченко О.П. и др. Растворимые формы маркеров Fas-опосредованного апоптоза при сердечной недостаточности // Клин. лаб. диагн. – 2006; 9: 38.
15. Плосконос М.В., Николаев А.А. Растворимая форма маркера Fas-опосредованного апоптоза у пациентов с идиопатическим бесплодием // Аллергол. и иммунол. – 2008; 3: 310.
16. Плосконос М.В., Николаев А.А. Диагностическое значение уровня растворимого Fas-антигена при заболеваниях предстательной железы // Клин. лаб. диагн. – 2008; 9: 82.
17. Плосконос М.В., Николаев А.А. Растворимый Fas-антиген (sFas) у больных раком предстательной железы. Мат-лы IV (XIII) Межд. науч. конф. «Oncology – XXI Century. Public Health and Education». Хошимин: Изд-во «Книжный формат», 2009; с. 208.
18. Плосконос М.В., Николаев А.А. Растворимая форма мембранного Fas-антигена (sFas-антигена) в норме и при патологии // Астраханский мед. журн. – 2010; 4: 20–7.
19. Самуилов В.Д., Алексин А.В., Лагунова Е.М. Программированная клеточная гибель // Биохимия. – 2000; 65 (8): 1029–46.
20. Шевченко О.П., Орлова О.В., Козлова О.Д. и др. Динамика маркеров апоптоза (sFas/sFasL) при лечении пациентов с застойной сердечной недостаточностью // Клин. лаб. диагн. – 2005; 10: 49.
21. Ярилин А.А., Никонова М.Ф., Ярилина А.А. и др. Апоптоз, его роль в патологии, значимость его оценки при клинико-иммунологическом обследовании больных // Мед. иммунол. – 2000; 2: 7–16.

22. Cascino I., Fiucci G., Papoff G. et al. Three functional soluble forms of the human apoptosis-inducing Fas molecule are produced by alternative splicing // J. Immunol. – 1995; 154 (6): 2706–13.

23. Cheng J., Zhou T., Liu C. et al. Protection from Fas-mediated apoptosis by a soluble form of the Fas molecule // Science. – 1994; 263 (5154): 1759–62.

24. Furuya Y., Nagakawa O., Fuse H. Prognostic significance of serum soluble Fas level and its change during regression and progression of advanced prostate cancer // Endocr. J. – 2003; 5: 629–33.

25. Knipping E., Debatin K., Stricker K. et al. Identification of soluble APO-1 in super-natants of human B- and T-cell lines and increased serum levels in B- and T-cell leukemias // Blood. – 1995; 85 (6): 1562–9.

26. Smolewska E., Brozik H., Smolewski P. et al. Apoptosis of peripheral blood lymphocytes in patients with juvenile idiopathic arthritis // Ann. Rheum. Dis. – 2003; 62: 761–3.

27. Songye X., Xing D., Jiting C. et al. Clinical significance of serum levels of soluble Fas, soluble Fas ligand and soluble TNFR-II in patients with chronic congestive heart failure. 2004; Abs. №1680–6115.

28. Vermes I., Haanen C., Reutelingsperger C. Flow cytometry of apoptotic cell death // J. Immunol. Methods. – 2000; 243: 167–90.

29. Weetman A., McGregor A. Antigen presentation in the pathogenesis of autoimmune endocrine disease // J. Autoimmun. – 1995; 3: 305–12.

PATHOGENETIC ROLE OF A sFas APOPTOSIS INHIBITOR

M. Ploskonos^{1,2}, *Candidate of Biological Sciences; Professor* **A. Nikolaev**, MD
¹*Astrakhan State Medical University*

²*Volga State University of Water Transport; Caspian Institute of Sea and River Transport, Branch, Volga State University of Water Transport, Astrakhan*

The change in the blood concentration of sFas antigen, the function of which is aimed at maintaining systemic homeostasis, reflects the activity of pathological processes occurring in the body. The findings may suggest that the serum level of sFas antigen is of obvious prognostic and monitoring value.

Key words: sFas, blood, apoptosis.