АННОТАЦИЯ

По данным ВОЗ рак толстой кишки (РТК) и герпесвирусная инфекция (ГВИ) занимают лидирующие позиции в структуре онкологических и вирусных заболеваний. В основе их патогенеза лежат нарушения в механизмах апоптоза, в норме направленного на уничтожение злокачественно трансформированных или инфицированных вирусом клеток. В инициации апоптоза принимает участие трансмембранный рецептор DR3/LARD. Чаще всего он экспрессируется на лейкоцитах крови (преимущественно Т- и В-лимфоцитах), а также в тканях, содержащих лимфоидные элементы (толстый и тонкий кишечник, тимус, селезенка). По данным литературы активация лимфоцитов сопровождается повышением уровня экспрессии DR3 на мембране. Известно, что DR3 участвует в патогенезе аутоиммунных и воспалительных заболеваний, играет роль в реализации противовирусного и противоопухолевого иммунного ответа. Вместе с тем, функциональная роль рецептора DR3 в регуляции апоптоза при РТК и ГВИ детально не изучена и требует дальнейших исследований.

Цельюработы явилсяанализ уровня экспрессии мРНК мембранных и альтернативных растворимых форм DR3/LARD в крови в сравнении с экспрессией этого рецептора на мембране мононуклеарных клеток здоровых волонтеров, больных раком толстой кишки и пациентов с герпесвирусной инфекцией.

В связи с этим были поставлены следующие задачи:

Оценить уровни экспрессии мРНК мембранных и альтернативных растворимых форм DR3/LARD в крови здоровых волонтеров в сопоставлении с плотностью экспрессии данного рецептора на мембране мононуклеарных клеток крови в зависимости от пола и возраста.

Изучить уровни экспрессии мРНК мембранных и альтернативных растворимых форм DR3/LARD в крови при РТК во взаимосвязи с оценкой содержания данного рецептора на мембране мононуклеарных клеток в зависимости от стадии рака и других клинических проявлений заболевания.

Определить уровни экспрессии мРНК мембранных и альтернативных растворимых форм DR3/LARD в крови при герпесвирусной инфекции во взаимосвязи с оценкой содержания данного рецептора на мембране мононуклеарных клеток в сопоставлении с возрастом больных и особенностями течения патологического процесса.

Для анализа уровней экспрессии мРНК альтернативных форм DR3/LARD исследовали 41 образец крови здоровых волонтеров, 87 образцов крови, полученных от пациентов с герпесвирусной инфекцией, 20 образцов опухолевых очагов и 18 образцов периферической крови больных раком толстой кишки. Для анализа плотности экспрессии DR3/LARD исследовали 20 образцов крови здоровых волонтеров, 18 образцов крови больных раком толстой кишки и 20 образцов крови лиц, инфицированных герпесвирусами.

Для определения относительных уровней экспрессии мРНК мембранных (mDR3) и растворимых форм DR3 (sDR3) нами был разработан метод, в основе которого лежит ОТ-ПЦР в реальном времени. Для анализа плотности экспрессии рецептора DR3 на мембране лимфоцитов крови использовался метод проточной цитофлуориметрии.

Показано, что в целом в крови здоровыхволонтеров уровни мРНК mDR3 были ниже, чем уровни мРНК sDR3 (р<0,05). Та же закономерность наблюдалась у мужчин и в группе лиц среднего возраста (р<0,05). У женщин и в группе лиц младшего возраста различий в уровнях мРНК mDR3 и sDR3 обнаружено не было. При этом в младшей возрастной группе уровни мРНК mDR3 и мРНК sDR3 были в 5 и 10 раз ниже, чем у представителей средней возрастной группы (р<0,05). Т.е. с возрастом наблюдалось повышение уровня мРНК mDR3 и мРНК sDR3. Следует отметить, что плотность экспрессии рецептора DR3 на мембране лимфоцитов крови не менялась у здоровых волонтеров разного пола и возраста.

В крови больных раком толстой кишки уровни мРНК mDR3 и мРНК sDR3 не отличались. Также не обнаружено различий в исследуемых показателях у больных РТК разного пола, возраста и вне зависимости от стадии заболевания.

По сравнению со здоровыми волонтерами у больных РТК в крови уровни мРНК mDR3 были выше (p=0,032), а уровни мРНК sDR3 не отличались. При этом у больных РТК уровни мРНК mDR3 и мРНК sDR3 не отличались от одноименных показателей здоровых волонтеров разного пола, возраста, а также на начальных и поздних стадиях заболевания. Однако, во всех исследованных группах, у больных РТК плотность экспрессии DR3 снижалась по сравнению со здоровыми волонтерами (p<0,05).

В опухолевых очагах больных РТК уровни мРНК mDR3 в среднем в 5 раз были выше, чем уровни мРНК sDR3 (p=0,013). По сравнению с кровью в опухолевых очагах больных РТК уровни мРНК mDR3 и мРНК sDR3 были многократно понижены (p<0,001).

В крови пациентов с ГВИ уровни мРНК mDR3 превышали уровни мРНК sDR3 (p=0,003). Такая картина наблюдалась у инфицированных мужчин, пациентов с цитомегаловирусной инфекцией (ЦМВ), а также при микст-инфекции (ВЭБ и ЦМВ). У женщин, инфицированных лиц разного возраста, а также при ГВИ, инициированной вирусом Эпштейна-Барр (ВЭБ) и вирусом ветряной оспы (ВВО) различий в уровнях мРНК mDR3 и мРНК sDR3 не наблюдалось.

По сравнению со здоровыми волонтерами уровни мРНК mDR3 повышались у инфицированных женщин, лиц младшего и среднего возраста, а также при инфицировании ЦМВ и ВЭБ. У мужчин и лиц, инфицированных ВВО, различий в уровнях мРНК mDR3 по сравнению с нормой не обнаружено. Уровни мРНКsDR3 были понижены у инфицированных мужчин, а также ВВО-инфекции и повышались у лиц младшего возраста (p<0,05). В отношение других исследуемых групп различий в уровнях мРНК sDR3 обнаружено не было. Плотность экспрессии рецептора DR3 имела выраженную тенденцию к снижению только при смешанном инфицировании ЦМВ и ВЭБ. Во всех остальных группах пациентов с ГВИ различий в плотности экспрессии DR3 обнаружено не было.

Таким образом, исследование особенностей экспрессии мРНК mDR3 и мРНК sDR3 в крови наряду с оценкой плотности экспрессии DR3 на мембране лимфоцитов крови дополнило существующую информацию о состоянии системы «рецептор смерти/лиганд» и молекулярных механизмах иммунного ответа и апоптоза в норме, при раке толстой кишки и герпесвирусной инфекции.