

**ЗНАЧЕНИЕ ОБЪЕДИНЕННОЙ ОЦЕНКИ МКАТ CD7<sup>+</sup>, CD38<sup>+</sup>, CD45<sup>+</sup>, CD54<sup>+</sup>, CD150<sup>+</sup> ДЛЯ ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНОЙ ДИАГНОСТИКИ ХАРАКТЕРА ОПУХОЛИ СЛЕЗНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ЭПИТЕЛИАЛЬНОГО ГЕНЕЗА**

**С. И. Полякова**, ст. научн. сотр., канд. мед. наук

ГУ «Институт глазных болезней и тканевой терапии им. В. П. Филатова АМН Украины», г. Одесса

*Дослідження за допомогою моноклональних антитіл (МкАТ) CD7<sup>+</sup>, CD38<sup>+</sup>, CD45<sup>+</sup>, CD54<sup>+</sup>, CD150<sup>+</sup> проведені у 12 хворих на пухлини слізної залози епітеліального генезу (ПСЗЕГ), які лікувалися в ДУ «Інститут ОХі ТТ ім. В. П. Філатова АМН України». Жінок було 6, чоловіків — 6. Середній вік хворих був (49,5±18,3) років. Усі хворі прооперовані, діагноз верифікований гістологічно.*

*На підставі об'єднаної оцінки відносного рівня експресії антигенів CD7<sup>+</sup>, CD38<sup>+</sup>, CD45<sup>+</sup> і CD150<sup>+</sup> лімфоцитами периферичної крові хворих на ПСЗЕГ розроблено диференційно-діагностичний тест визначення характеру пухлини за сумою діагностичного коефіцієнту (ДК). При пороговому значенні ДК ≥ 9,5, з чутливістю теста — 85,7 % та специфічністю — 80,0 % можливо діагностувати злоякісний характер пухлини.*

*Встановлено, що антиген CD54<sup>+</sup> не інформативний для диференціації доброякісного або злоякісного характеру ПСЗЕГ.*

*При визначенні у хворого на пухлину слізної залози відносного рівня експресії лімфоцитами периферичної крові антигенів CD7<sup>+</sup> ≥ 12 %, CD38<sup>+</sup> ≥ 16 %, CD45<sup>+</sup> і CD150<sup>+</sup> ≥ 14 % з вірогідністю 95 % можливо припустити злоякісний характер пухлини.*

**Ключевые слова:** опухоли слезной железы эпителиального генеза, моноклональные антитела, дифференциальная диагностика,

**Ключові слова:** пухлини слізної залози епітеліального генезу, моноклональні антитіла, диференційна діагностика,

**Введение.** В общей онкологии для дифференциальной диагностики опухолей, а также для прогнозирования ответа опухоли на проводимую терапию широко применяется иммунофенотипирование патологических опухолевых клеток с помощью моноклональных антител (МкАТ). Существуют как видоспецифические антигены к различным тканям, так и около 300 антигенов лейкоцитов человека. Специфические МкАТ, экспрессируемые лимфоцитами периферической крови человека, позволяют выявить различные популяции и субпопуляции лимфоцитов и определить их роль в канцерогенезе опухолей, состоянии противоопухолевой резистентности организма [3, 4, 5, 8].

Вместе с тем, информативность МкАТ и их роль в состоянии противоопухолевой резистентности организма больных опухолями слезной железы эпителиального генеза (ОСЖЭГ) не изучены.

**Целью** настоящего исследования было изучить возможность использования МкАТ CD7<sup>+</sup>, CD38<sup>+</sup>, CD45<sup>+</sup>, CD54<sup>+</sup>, CD150<sup>+</sup> для дифференциальной диагностики ОСЖЭГ.

**МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ.** Исследования с помощью МкАТ CD7<sup>+</sup>, CD38<sup>+</sup>, CD45<sup>+</sup>, CD54<sup>+</sup>, CD150<sup>+</sup> проведены у 12 больных ОСЖЭГ, лечившихся в ГУ «Институт ГБ и ТТ им. В. П. Филатова АМН Украины». Женщин было 6, мужчин — 6. Средний возраст больных равнялся (49,5±18,3) лет. Все больные прооперированы, диагноз верифицирован гистологически.

Для иммунофенотипирования использовали панель специфических одноименных моноклональных антител [4]:

CD7<sup>+</sup> — член молекулярного семейства IgSF с молекулярной массой 40 кД. Экспрессирован на тимоцитах, зрелых Т-клетках, NK-клетках, полипотентных гемопоэтических стволовых клетках, кроветворных и лимфоидных клетках-предшественниках. Функционирует как костимуляторная молекула, индуктор секреции цитокинов, модификатор адгезии клеток.

CD38<sup>+</sup> — одноцепочечная трансмембранная молекула типа 11 (АДФ-рибозилциклаза). Молекулярная масса 45 кД. Экспрессируется на большинстве гемопоэтических клеток, преимущественно на ранних стадиях дифференцировки и при активации. Высокий уровень экспрессии на плазматических клетках. Выявляется в ткани головного мозга, почках, мышцах. Функционирует как регулятор активации и пролиферации, зависящий от клеточного микроокружения, участвует в адгезии лимфоцитов и эндотелиальных клеток. Используется для мониторинга при ВИЧ-инфекции и иммунофенотипировании лейкозов и лимфом.

CD45<sup>+</sup> — рецептор протениртирозинфосфатазы — длинная одноцепочечная трансмембранная молекула типа 1. Молекулярная масса изоформ CD45<sup>+</sup> — 180, 200, 210, 220 кД. Общий лейкоцитарный антиген (LCA). Высокий уровень экспрессии на всех гемопоэтических клетках. Особенно высокая плотность экспрессии на лимфоцитах (10 % их поверхности приходится на CD45<sup>+</sup>). Для различных субпопуляций кроветворных клеток характерна экспрессия разных изоформ: CD45<sup>+</sup>RO — на кортикальных тимоцитах,

© С. И. Полякова, 2010

активированных Т-клетках, Т-клетках памяти; CD45<sup>+</sup>RA — на медуллярных тимоицитах, покоящихся Т-клетках и т.д. Может наблюдаться экспрессия многих изоформ на одном типе клеток. Лиганды — галектин-1, CD2<sup>+</sup>, CD3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>, ассоциированный с фосфатазой лимфоцитов фосфопротеин (LPAP). CD45<sup>+</sup> участвует в активации лимфоцитов через TCR и BCR, в рецептор-опосредуемой активации других типов лейкоцитов.

CD54<sup>+</sup> — молекула межклеточной адгезии — 1 (ICAM — 1), член семейства IgSF. Молекулярная масса 90 кД. Высокий уровень экспрессии на активированных эндотелиальных клетках, клетках некоторых солидных опухолей, умеренный — на активированных Т-лимфоцитах, активированных В-лимфоцитах и моноцитах. Экспрессия CD54<sup>+</sup> индуцируется на эпителиальных, эндотелиальных клетках и фибробластах при действии цитокинов (ФНО, ИЛ-1, ИФγ). Взаимодействие с CD11<sup>+</sup>a/CD18<sup>+</sup> (LFA-1) или CD11<sup>+</sup>b/CD18<sup>+</sup> (Mac-1) приводит к развитию иммунных реакций и/или воспаления. Является рецептором риновируса и эритроцитов, инфицированных малярийными паразитами.

CD150<sup>+</sup> — одноцепочечная трансмембранная молекула типа 1 (SLAM, IPO — 3) с молекулярной массой 65–85 кД. Экспрессируется на тимоицитах, субпопуляции CD45<sup>+</sup>RO Т-лимфоцитов, В-лимфоцитах, дендритических клетках, эндотелиальных клетках. Выполняет функции ко-стимулирующей молекулы на В-лимфоцитах и дендритических клетках. Связывание с лигандами (тирозин и серин\треонин-киназой, тирозинфосфатазой CD45<sup>+</sup>) усиливает пролиферацию и выработку иммуноглобулинов активированными В-клетками.

Проведена объединенная оценка показателей относительного уровня экспрессии каждого из CD лимфоцитами периферической крови больных доброкачественными и злокачественными ОСЖЭГ с выбором оптимального уровня относительного содержания их в периферической крови на основании расчета диагностических коэффициентов (ДК).

$$ДК = 10 \lg \frac{P(A)}{P(B)},$$

где lg — десятичный логарифм, P(A) — вероятность признака при состоянии А, P(B) — вероятность признака при состоянии В.

ДК являются положительными в случае преобладания вероятности состояния А и отрицательными при преобладании вероятности состояния В.

Процедура диагностики сводится к последовательному суммированию ДК, причем начиная с самого информативного признака. Информативность признаков определялась путем расчета информационной меры Кульбака [1, 7].

$$J = 10 \lg \frac{P(A)}{P(B)} (P(A) - P(B))$$

Информативными считаются признаки при J>0,5. Информативные ДК, расположенные от max и min, составляют диагностическую таблицу.

Формула принятия решения при последовательной диагностической процедуре в случае использования ДК имеет вид следующего неравенства:

$$10 \lg \frac{\alpha}{1-\beta} < ДК(x_1) + ДК(x_2) + \dots + ДК(x_i) < 10 \lg \frac{1-\alpha}{\beta}$$

Для учета априорной вероятности в приведенное неравенство вводят дополнительное слагаемое в виде коэффициента априорных вероятностей

$$ДК_0 = 10 \lg \frac{P(B)}{P(A)}$$

Как только пороги достигаются, принимается решение в пользу одного из состояний. Выбор порогов задается необходимым уровнем ошибок α и β, согласно формулам:

$$A = 10 \lg \frac{\alpha}{1-\beta} = -13$$

$$B = 10 \lg \frac{1-\alpha}{\beta} = 13$$

Т.о. при α=β=0,05 порог ±13, при α=β=0,01, порог ±20 [2, 7].

Для определения дифференциально диагностической эффективности некоторых количественных показателей при двух альтернативных состояниях (доброкачественный либо злокачественный характер ОСЖЭГ) был использован анализ характеристических кривых (ROC). Характеристическая кривая строится по значению чувствительности (sensitivity), которая откладывается по оси «у» и 1-специфичности (1-specificity), по оси «х». При этом были найдены оптимальные точки разделения, обеспечивающие как максимальную чувствительность, так и специфичность дифференциально-диагностических тестов [6, 7].

Биометрический анализ проведен с использованием статистического пакета Statistica 9.0. ДК рассчитаны с использованием программы, созданной средствами MS Excel, ROC анализ выполнен посредством программы MedCalc 9 (Demo). База данных сформирована средствами MS Access.

**РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ.** Объединенная оценка CD7<sup>+</sup>, CD38<sup>+</sup>, CD45<sup>+</sup>, CD54<sup>+</sup>, CD150<sup>+</sup> по их оптимальному уровню в периферической крови больных доброкачественными и злокачественными ОСЖЭГ представлена в таблице 1.

Таблица 1

Объединенная оценка CD7<sup>+</sup>, CD38<sup>+</sup>, CD45<sup>+</sup>, CD54<sup>+</sup>, CD150<sup>+</sup> по оптимальному показателю относительного их содержания в периферической крови больных доброкачественными и злокачественными ОСЖЭГ

Относительное содержание CD (%)	Злокачественная опухоль		Доброкачественная опухоль		ДК	J
	наличие признака	все-го	наличие признака	все-го		
CD7 <sup>+</sup> ≥ 12	6	7	1	5	0,63	4,15
CD7 <sup>+</sup> < 12	1	7	4	5	0,75	-4,92
CD38 <sup>+</sup> ≥ 16	5	7	1	5	0,55	2,84
CD38 <sup>+</sup> < 16	5	7	1	5	0,45	-2,30
CD45 <sup>+</sup> ≥ 14	5	7	2	5	0,25	0,79
CD45 <sup>+</sup> < 14	2	7	3	5	0,32	-1,01
CD54 <sup>+</sup> ≥ 16	5	7	3	5	0,08	0,09
CD54 <sup>+</sup> < 16	2	7	2	5	0,15	-0,17
CD150 <sup>+</sup> ≥ 14	6	7	1	5	0,15	0,40
CD150 <sup>+</sup> < 14	1	7	2	5	0,45	-2,30

Примечание: ДК — диагностический коэффициент; J — коэффициент информационной меры Кульбака

Из данных таблицы 1 следует, что значение  $CD54^+$  не информативно ни в каких категориях, а следовательно, не может использоваться для дифференциации характера ОСЖЭГ, поскольку в диагностике по методу Вальда должны участвовать признаки, имеющие информационную меру Кульбака (J) более 0,5.

Показатель относительного содержания в периферической крови больных ОСЖЭГ  $CD7^+ \leq 12\%$ ,  $CD38^+ \leq 16\%$ ,  $CD45^+ \leq 14\%$  и  $CD150^+ \leq 14\%$  свидетельствует в пользу доброкачественной опухоли и наоборот, в пользу злокачественного процесса свидетельствует относительное содержание в периферической крови больных ОСЖЭГ  $CD7^+ \geq 12\%$ ,  $CD38^+ \geq 16\%$ ,  $CD45^+$  и  $CD150^+ \geq 14\%$ . Полученные значения относительного содержания в периферической крови больных ОСЖЭГ исследуемых молекулярных маркеров могут использоваться для дифференциальной диагностики характера опухолевого процесса в слезной железе, в соответствии с вычисленными ДК.

Для каждого больного посчитаны суммы ДК. Получены значения от -19,7 до +14,3. Эта суммарная мера отражает вклад всех показателей, которые имеют достаточную информационную меру в дифференциации характера ОСЖЭГ (доброкачественная или злокачественная опухоль).

На основании сумм ДК создан дифференциально-диагностический тест. Основной характеристикой диагностического теста является площадь под ROC кривой. Чем ближе величина площади к единице, тем эффективней тест. Для суммы ДК по четырем маркерам площадь под кривой  $ROC=0,84$ ;  $p=0,0035$ .

На рисунке 1 приведены значения  $\Sigma ДК$  для каждого больного в группах с доброкачественными (0) и злокачественными (1) ОСЖЭГ.

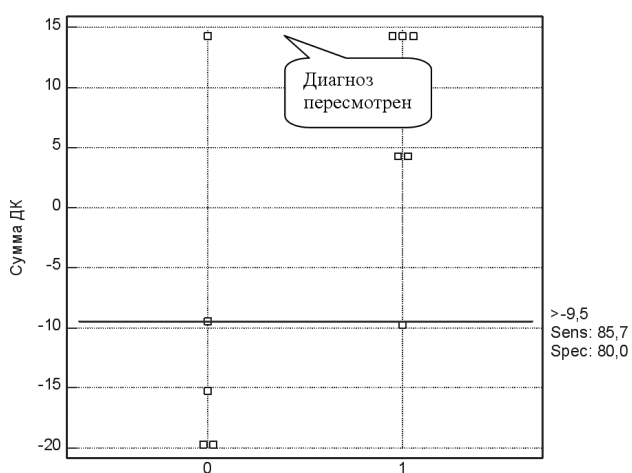


Рис. 1. Точечная диаграмма значений  $\Sigma ДК$  для каждого больного в группах с доброкачественными (0) и злокачественными (1) ОСЖЭГ.

Из представленных на рисунке 1 данных следует, что значение -9,5 хорошо разделяет группы с до-

брокачественными и злокачественными ОСЖЭГ, но в каждой группе один больной диагностируется неверно. При этом у одного больного, с высокой положительной суммой ДК (отмеченный на рисунке), с первоначально диагностируемой доброкачественной опухолью впоследствии, после двух рецидивов, диагноз был пересмотрен в сторону злокачественного процесса. Указанной на рисунке линии разделения со значением -9,5, соответствует чувствительность теста — 85,7 % и специфичность — 80,0 %. Во всех случаях, когда значения каждого показателя не превышали пороговые, у больных гистологически диагностирована доброкачественная опухоль.

Информативность сочетаний пороговых значений панели МкАТ  $CD7^+$ ,  $CD38^+$ ,  $CD45^+$ ,  $CD150^+$  в дифференциации характера ОСЖЭГ отражена в таблице 2.

Таблица 2

Суммарная оценка информативности относительного уровня экспрессии антигенов  $CD7^+$ ,  $CD38^+$ ,  $CD45^+$ ,  $CD150^+$  лимфоцитами крови больных ОСЖЭГ в дифференциации характера опухоли

Варианты сочетаний CD	Пороговый уровень относительного содержания CD (%)				$\Sigma ДК$	n
	$CD7^+ \geq 12$	$CD38^+ \geq 16$	$CD45^+ \geq 14$	$CD150^+ \geq 14$		
1	-	-	-	-	-19,7	2
2	-	-	-	0	-15,2	1
3	-	+	-	-	-9,7	1
4	-	-	+	0	-9,5	1
5	+	-	+	0	+4,3	2
6	+	+	-	0	+8,6	1
7	+	+	+	0	+14,3	4

Примечание: «-» — указанное условие не выполняется, т.е. значения меньше указанных; «+» — выполняется, т.е. соответствует указанному; «0» — указанное значение неинформативно; n — количество больных.

Из данных таблицы 2 видно, что в дифференциации характера ОСЖЭГ из исследуемой панели МкАТ важны сочетания значений маркеров. Для диагностики доброкачественного процесса необходимо, чтобы сумма ДК была ниже -13 (при уровне альфа и бета =0,05). Это достигается у трех больных (первая и вторая строка). Для принятия решения в пользу злокачественного процесса необходимо, чтобы сумма ДК была выше +13 (четверо больных — седьмая строка в табл. 2).

Сумма ДК по четырем маркерам выше -9,5 свидетельствует в пользу злокачественной ОСЖЭГ.

Таким образом, из исследованной панели МкАТ с целью дифференциальной диагностики характера опухолевого процесса могут быть использованы  $CD7^+$ ,  $CD38^+$ ,  $CD45^+$ ,  $CD150^+$  и не информативен  $CD54^+$ . При определении у больного с опухолью в слезной железе показателей отно-

сительного уровня экспрессии антигенов CD7<sup>+</sup> ≥ 12 %, CD38<sup>+</sup> ≥ 16 %, CD45<sup>+</sup> и CD150<sup>+</sup> ≥ 14 % лимфоцитами периферической крови с вероятностью 95 % можно предполагать злокачественный характер опухоли.

### ВЫВОДЫ

1. На основании объединенной оценки относительного уровня экспрессии антигенов CD7<sup>+</sup>, CD38<sup>+</sup>, CD45<sup>+</sup> и CD150<sup>+</sup> лимфоцитами периферической крови больных ОСЖЭГ разработан дифференциально-диагностический тест определения характера опухоли по сумме диагностического коэффициента (ДК), при пороге значения ДК = -9,5, с чувствительностью теста — 85,7 % и специфичностью — 80,0 %.

2. Антиген CD54<sup>+</sup> не информативен для дифференциации доброкачественного либо злокачественного характера ОСЖЭГ.

3. При определении у больного с опухолью в слезной железе относительного уровня экспрессии лимфоцитами периферической крови антигенов CD7<sup>+</sup> ≥ 12 %, CD38<sup>+</sup> ≥ 16 %, CD45<sup>+</sup> и CD150<sup>+</sup> ≥ 14 % с вероятностью 95 % можно предполагать злокачественный характер опухоли.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Вальд А. Последовательный анализ / А. Вальд. — Москва, 1967. — 148 с.
2. Гублер Е. В. Вычислительные методы диагностики / Е. В. Гублер. — Л., 1987. — 97 с.
3. Иммуноцитохимическая диагностика злокачественных экссудатов / Глузман Д. Ф., Абраменко И. В., Складенко Л. М., Писнячевская Г. В.]. — Киев, «Наукова думка», 1993. — С. 11–23.
4. Классификация антигенов лейкоцитов человека (система CD) / Д. Ф. Глузман, Л. М. Складенко, В. А. Надгорная [и др.] // Семинары по гематопатологии. — Выпуск 10. — Киев, 2003. — 40 с.
5. Косяков П. Н. Антигены опухолей человека / П. Н. Косяков, Н. П. Косякова. — АМН СССР. — М.: Медицина, 1985. — 272 с.
6. Реброва О. Ю. Статистический анализ медицинских данных / О. Ю. Реброва. — Москва : Медиа Сфера, 2002. — 305 с.
7. Флетчер Р. Клиническая эпидемиология. Основы доказательной медицины / Р. Флетчер, С. Флетчер, Э. Вагнер ; пер. с англ. — М. : «Медиа сфера», 1998. — 352 с.
8. Kupchik H. Z. Cancer diagnosis in vitro using monoclonal antibodies / Eds H. Z. Kupchik. — London : Marcel Dekker, 1988. — 322 p.

Поступила 25.10.2010

Рецензент канд. мед. наук И. А. Сафроненкова

### VALUE OF THE COMBINED ESTIMATION OF MKAT CD7<sup>+</sup>, CD38<sup>+</sup>, CD45<sup>+</sup>, CD54<sup>+</sup>, CD150<sup>+</sup> FOR DIFFERENTIAL DIAGNOSIS OF THE CHARACTER OF THE LACRYMAL TUMOR OF EPITHELIAL GENESIS

Polyakova S. I.

Odessa, Ukraine

Studies with the aid of MkAT CD+7, CD+38, CD+45, CD+54, CD+150 were carried out in 12 patients with LTEG who were treated in The State Institution «The Institute of Eye Diseases and Tissue Therapy Named after V. P. Filatov of AMS of Ukraine. All patients have been operated on, the diagnosis is verified histologically.

On the basis of the combined estimation of the relative level of the antigen expression of CD7<sup>+</sup>, CD38<sup>+</sup>, SD45<sup>+</sup> and CD150<sup>+</sup> the lymphocytes of the peripheral blood of the patients with LTEG there was developed the differential — diagnostic test of the determination of the tumor nature based on the sum of diagnostic coefficient (DC). In DC threshold value > 9.5, the test sensitivity — 85.7 % and specificity 80.0 % it is possible to diagnose the malignant nature of the tumor.

It is established that the antigen CD54<sup>+</sup> is not informative for the differentiation of high-quality or malignant nature of LTEG

In determination of the relative level of antigen expression CD7<sup>+</sup> > 12 %, CD38<sup>+</sup> > 16 %, CD45<sup>+</sup> and CD150<sup>+</sup> > 14 % by the peripheral blood lymphocytes in the patient with the lacrimal gland tumor it is possible to assume the malignant nature of tumor with probability of 95 %.

