

Уровень некоторых гематологических воспалительных маркеров у больных раком шейки матки в зависимости от морфологических особенностей первичной опухоли

Е. В. Каюкова¹, Т. Е. Белокриницкая¹, Л. Ф. Шолохов², П. П. Терешков¹

¹ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Минздрава России; Россия, 672000 Чита, ул. Горького, 39А;

²ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека»; Россия, 664003 Иркутск, ул. Тимирязева, 16

Контакты: Елена Владимировна Каюкова elena_pochta22@mail.ru

Введение. Системное действие опухоли на организм подразумевает влияние на различные процессы жизнедеятельности органов и тканей, приводящие к кахексии, иммунодепрессии, анемии, изменению гуморальной регуляции и др. Поскольку воспаление является одним из хорошо известных этиологических факторов канцерогенеза, в том числе и для рака шейки матки (РШМ), мы предполагаем влияние опухолевой прогрессии на содержание маркеров воспаления в плазме крови пациенток с данным онкологическим заболеванием.

Цель исследования — оценить уровень ряда гематологических маркеров воспалительного процесса у больных РШМ в сопоставлении с гистологическими особенностями первичной опухоли.

Материалы и методы. Материал исследования — сыворотка крови пациенток с инвазивным РШМ I–IV стадии (4 пациентки с веррукозным раком, 26 — с РШМ, среди которых у 10 степень злокачественности G_1 , у 6 — G_2 , у 10 — G_3). Метод исследования — проточная цитометрия. Определяемые показатели: миоглобин, кальпротектин, липокалин, матриксная металлопероксидаза-2, -9, остеопонтин, миелопероксидаза, сывороточный амилоид А, белок 4, связывающий инсулиноподобный фактор роста, молекула межклеточной адгезии 1, молекула адгезии сосудистого эндотелия 1, цистатин С.

Результаты. Выявлены изменения профиля некоторых воспалительных маркеров в крови пациенток с РШМ низкой степени дифференцировки и веррукозным РШМ.

Заключение. Полученные данные свидетельствуют о целесообразности дальнейшего изучения ассоциации уровня содержания ряда гематологических маркеров воспалительного процесса и наличия РШМ низкой степени дифференцировки в целях их возможного использования в качестве вспомогательных дифференциальных и прогностических критериев.

Ключевые слова: рак шейки матки, маркер воспаления, степень дифференцировки, веррукозный рак

Для цитирования: Каюкова Е. В., Белокриницкая Т. Е., Шолохов Л. Ф., Терешков П. П. Уровень некоторых гематологических воспалительных маркеров у больных раком шейки матки в зависимости от морфологических особенностей первичной опухоли. Успехи молекулярной онкологии 2019;6(3):49–56.

DOI: 10.17650/2313-805X-2019-6-3-49-56

The level of some blood serum inflammatory factors in depending on the morphological features of the primary tumor of of cervical cancer

E. V. Kayukova¹, T. E. Belokrinitskaya¹, L. F. Sholokhov², P. P. Tereshkov¹

¹Chita State Medical Academy, Ministry of Health of Russia; 39A Gorkogo St., Chita 672000, Russia;

²Scientific Center of Family Health Problems and Human Reproduction; 16 Timiryazeva St., Irkutsk 664003, Russia

Background. Tumors influence on various vital processes in organism leading to cachexia, immunosuppression, anemia, changes in humoral regulation etc. Inflammation is one of the well-known etiological factors of carcinogenesis, including for cervical cancer, so we suggest that some blood serum inflammatory factors in patients with cervical cancer influence are associated with the level of tumor progression.

The objective of our study was to analyze the level of some hematological markers of inflammation in the blood serum of patients with cervical cancer in dependence on the histological characteristics of the primary tumors.

Materials and methods. In the study we analyzed the blood serum of patients with invasive cervical cancer I–IV stage (4 patients with verrucous cancer and 26 — with cervical cancer among them 10 — of G_1 stage, 6 — of G_2 stage, 10 — G_3 stage) using flow cytometry. We studied the value of myoglobin, calprotectin, lipocalin, matrix metalloperoxidase 2, matrix metalloperoxidase 9, osteopontin, myeloperoxidase, serum amyloid A, protein 4, insulin-like growth factor-binding protein 4, cell-cell adhesion molecule 1, vascular cell adhesion molecule, cystatin C.

Results. We revealed the changes of some serum markers of inflammation in patients with G_3 and verrucous cervical cancer.

Conclusion. The obtained dates demonstrate that further study of blood inflammatory markers as an additional differential and prognostic criteria in patients with cervical cancer should be considered as reasonable.

Key words: cervical cancer, marker of inflammation, degree of differentiation, verrucous cervical cancer

For citation: Kayukova E. V., Belokrinitskaya T. E., Sholokhov L. F., Tereshkov P. P. The level of some blood serum inflammatory factors in depending on the morphological features of the primary tumor of of cervical cancer. Uspekhi molekulyarnoy onkologii = Advances in Molecular Oncology 2019;6(3):49–56.

Введение

Рак шейки матки (РШМ) занимает 3-е место по частоте заболеваемости злокачественными новообразованиями среди женщин во всем мире [1]. Факторами, определяющими прогноз этого заболевания, являются стадия опухолевого процесса, размер опухоли, вовлечение региональных лимфатических узлов, лимфоваскулярная, стромальная инвазия и ее степень. К настоящему времени появились данные о том, что степень злокачественности (G_1 – G_3) у больных РШМ также является критерием прогноза. Больные РШМ с низкой степенью злокачественности (G_1 или G_2) имеют лучшие показатели общей и безрецидивной выживаемости. Общая 5-летняя выживаемость пациенток с РШМ составляет 76,0 %, этот показатель снижается до 65,1 % при РШМ низкой степени дифференцировки (G_3) ($p = 0,031$). При этом общая безрецидивная выживаемость составляет 77,1 % по сравнению с 64,2 % при G_3 ($p = 0,008$) [2].

В популяционном анализе среди 31 тыс. американских женщин с установленным диагнозом РШМ было показано, что степень дифференцировки РШМ не только влияет на показатели выживаемости, но и ассоциирована с другими параметрами: возрастом пациенток, распространением/стадией заболевания, размером опухоли и наличием метастазов в лимфатических узлах (для всех $p < 0,001$) [3].

В настоящее время продолжается поиск прогностических маркеров течения заболевания, причем в качестве доступных для мониторинга биологических образцов особый интерес представляют образцы крови пациенток с РШМ. Учитывая тот факт, что в инициации канцерогенеза и прогрессии опухоли важным фактором является воспаление, можно предположить, что определенные изменения некоторых гематологических маркеров воспалительного процесса прослеживаются в опухолевой прогрессии у больных РШМ [4].

Цель исследования – изучить уровень некоторых гематологических воспалительных маркеров у больных РШМ в зависимости от гистологических особенностей первичной опухоли.

Приоритетной задачей работы стал анализ выявленных воспалительных изменений, протекающих на системном уровне в процессе цервикального канцерогенеза, в целях определения возможных дифференциальных и прогностических маркеров РШМ разных морфологических вариантов.

Материалы и методы

Проведено нерандомизированное проспективное контролируемое исследование по изучению уровней некоторых гематологических воспалительных маркеров у больных РШМ.

Материалом для исследования служила сыворотка крови пациенток с инвазивным РШМ I–IV стадии, проходивших лечение в Забайкальском краевом онкологическом диспансере в 2018 г. Средний возраст больных составил $39 \pm 9,8$ года. Все обследуемые были

информированы о проводимой работе и дали письменное согласие на участие в ней. Исследование выполнено с соблюдением принципов Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации (WMA Declaration of Helsinki, 1964, 2013 ред.) с согласия Локального этического комитета Читинской государственной медицинской академии [5].

В соответствии с данными медицинской документации с учетом рекомендаций 3-го издания «Международной классификации болезней – онкология» выделены клинические группы, указанные в табл. 1 [6].

Образцы группы контроля были взяты у 15 гинекологически здоровых женщин-добровольцев, давших информированное согласие на участие в исследовании.

Таблица 1. Характеристика обследуемых лиц

Table 1. Characteristics of the examined subjects

Клиническая группа Clinical group	Число больных Number of patients	Средний возраст (Me \pm SD), лет Mean age (Me \pm SD), years
Веррукозный рак Verrucous cancer	4	46,5 \pm 2,5
G_1	20	34,0 \pm 7,0
G_2	6	44,5 \pm 8,2
G_3	10	45,0 \pm 12,5
Контроль Control	15	30,0 \pm 4,4

С помощью метода проточной цитофлуориметрии FC500 (Beckman Coulter, США) с использованием набора реагентов, входящих в состав панели Human Vascular Inflammation Panel 1, изучали следующие гематологические показатели: миоглобин (myoglobin, MG), кальпротектин (calprotectin, CAL), липокалин А (lipocalin A, LCN2), матриксная металлопероксидаза 2 (matrix metalloperoxidase 2, MMP-2), остеопонтин (osteopontin, OPN), миелопероксидаза (myeloperoxidase, MPO), сывороточный амилоид А (serum amyloid A, SAA), белок 4, связывающий инсулиноподобный фактор роста (insulin-like growth factor-binding protein 4, IGFBP-4), молекула межклеточной адгезии 1 (inter-cellular adhesion molecule, ICAM-1), молекула адгезии сосудистого эндотелия 1 (vascular cell adhesion molecule 1, VCAM-1), матриксная металлопероксидаза 9 (MMP-9), цистатин С (cystatin C, CC). Содержание воспалительных белков приведено как медиана (Me) (25-й; 75-й перцентили) в нг/мл.

Статистическую обработку данных проводили с помощью компьютерной программы BioStat. Полученные результаты представлены как Me с указанием границ 25-го и 75-го перцентилей. Использовали методы непараметрической статистики с применением U-критерия Манна–Уитни. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты

Статистически значимых различий между уровнями LCN2 в сыворотке крови у больных РШМ с разной степенью дифференцировки опухоли не выявлено. Однако наблюдалась тенденция к повышению уровня LCN2 при более агрессивных вариантах РШМ: при G_1 – 1444,26 нг/мл, при G_3 – 3111,35 нг/мл. Статистически значимые различия по величине LCN2 выявля-

ны между группами веррукозного РШМ и контроля: в группе больных показатель выше на 27,6 % ($p \leq 0,05$) (табл. 2).

У больных РШМ с низкой дифференцировкой опухолевых клеток концентрация MMP-2 была на 41,1 % меньше, чем в группе контроля ($p < 0,05$).

Уровень OPN в крови у больных РШМ G_3 в 1,75 раза ниже, чем у больных с опухолями G_1 ($p < 0,05$),

Таблица 2. Уровень воспалительных факторов в сыворотке крови в зависимости от степени дифференцировки рака шейки матки (медиана (25-й; 75-й перцентили)), нг/мл

Table 2. Serum levels of inflammatory factors depending on cervical cancer differentiation grade (median (25th; 75th percentiles)), ng/ml

Показатель Characteristic	Группа контроля (n = 15) Control group (n = 15)	Веррукозный рак (n = 4) Verrucous cancer (n = 4)	G_1 (n = 20)	G_2 (n = 6)	G_3 (n = 10)
Миоглобин Myoglobin	285,81 (219,57; 423,86)	261,88 (255,47; 268,28)	275,48 (168,09; 367,62)	250,98 (154,72; 482,63)	259,45 (200,53; 330,88)
Кальпротектин Calprotectin	3637,39 (1492,65; 4908,39)	2669,58 (2386,94; 2952,23)	2394,71 (1090,81; 3960,48)	6641,82 (2157,52; 7275,50)	2705,09 (1528,65; 4588,89)
Липокалин А Lipocalin A	1683,21 (988,46; 2389,14)	2147,88* (2085,14; 2210,61)	1444,26 (868,24; 3184,53)	3111,35 (1731,82; 3599,93)	2419,43 (961,94; 3088,65)
Матриксная металлопероксидаза 2 Matrix metalloperoxidase 2	19,71 (13,15; 28,31)	16,01 (14,94; 17,07)	12,29 (10,92; 30,01)	14,75 (10,33; 15,67)	11,60* (9,39; 16,85)
Остеопонтин Osteopontin	16,88 (12,37; 28,67)	25,91* (23,95; 27,86)	17,30 (10,77; 26,51)	13,74 (12,09; 27,97)	30,40*# (26,84; 38,28)
Миелопероксидаза Myeloperoxidase	485,89 (370,78; 719,71)	505,19 (487,10; 523,27)	494,29 (374,82; 684,54)	810,68 (374,28; 1275,54)	364,87 (332,09; 404,77)
Сывороточный амилоид А Serum amyloid A	98,74 (73,39; 185,50)	253,73* (247,74; 259,71)	92,22 (49,66; 221,43)	391,97 (106,55; 800,80)	465,46*# (371,56; 791,61)
Белок 4, связывающий инсулиноподобный фактор роста (IGFBP-4) Insulin-like growth factor-binding protein 4 (IGFBP-4)	101,48 (59,13; 162,63)	176,35 (114,06; 238,64)	121,75 (64,88; 188,12)	57,37 (25,33; 128,32)	99,9 (58,16; 112,40)
Молекула межклеточной адгезии 1 (ICAM-1) Inter-cellular adhesion molecule (ICAM-1)	4,55 (2,75; 18,40)	4,31 (3,38; 5,23)	4,84 (3,78; 9,14)	2,48 (1,52; 15,88)	3,35 (3,09; 5,62)
Молекула адгезии сосудистого эндотелия 1 (VCAM-1) Vascular cell adhesion molecule 1 (VCAM-1)	108,31 (61,81; 168,20)	63,0* (59,7; 66,29)	74,27 (60,384; 124,89)	78,26 (45,03; 100,05)	88,11 (62,29; 104,07)
Матриксная металлопероксидаза 9 Matrix metalloperoxidase 9	253,87 (188,26; 346,07)	348,81 (304,42; 393,19)	182,58 (151,42; 321,98)	286,77 (161,98; 502,77)	306,43 (250,61; 369,55)
Цистатин С Cystatin C	57,58 (40,40; 111,12)	60,89 (51,39; 70,38)	51,53 (38,58; 80,44)	58,79 (27,07; 114,87)	47,31 (44,52; 73,38)

*Уровень значимости различий между значениями клинических групп и контролем $\leq 0,05$.

*Significance level for differences between the clinical and control groups is ≤ 0.05 .

#Уровень значимости различий между значениями групп G_1 и G_3 $\leq 0,05$.

#Significance level for differences between the G_1 and G_3 groups is ≤ 0.05

и в 1,8 раза ниже, чем у здоровых ($p < 0,05$). Интересно отметить, что у больных веррукозным РШМ величина OPN в крови на 53,5 % меньше, чем в группе контроля ($p < 0,05$).

У больных РШМ с низкой дифференцировкой опухолевых клеток концентрация SAA статистически значимо ($p < 0,05$) превышала соответствующие величины в группе контроля и у пациенток с высокодифференцированными опухолями в 4,7 и 1,8 раза соответственно. Кроме этого, следует обратить внимание на выявленные отличия по уровню SAA у больных с веррукозным РШМ от соответствующей характеристики в контрольной группе ($p < 0,05$).

По мере уменьшения степени дифференцировки РШМ наблюдалась тенденция к снижению уровня МРО в сыворотке крови от 494,29 при G₁ до 364,87 при G₃, однако статистически значимых различий между этими величинами не получено.

Выявлены статистически значимые различия по величине VCAM-1 у больных веррукозным РШМ по сравнению с группой контроля: наблюдалось статистически значимое снижение на 41,8 % ($p < 0,05$).

При анализе полученных данных в зависимости от гистогенеза и степени дифференцировки опухоли установлено, что в крови больных РШМ не выявлено достоверных различий по уровням MG, CAL, IGFBP-4, ICAM-1, MMP-9 и цистатина С по сравнению с показателями группы контроля.

Обсуждение

Миоглобин – многофункциональный гемовый белок, играющий важную роль в транспорте кислорода. Кроме этого, он является акцептором свободных радикалов. Этот белок экспрессируется не только в поперечнополосатых мышцах, но и тканях внутренних органов [7]. Установлено, что трансформированные эпителиальные клетки, в частности рака молочной железы, предстательной железы, плоскоклеточных карцином головы и шеи, могут экспрессировать MG, что рассматривается как благоприятный прогностический признак [8].

В экспериментальной работе G. Kristiansen и соавт. определяли уровень экспрессии гена MG и содержание белка (MG) в клетках рака молочной железы в зависимости от биологического подтипа опухоли [9]. Авторы указали, что клетки рака молочной железы с низкой степенью дифференцировки реже экспрессируют MG (умеренная и выраженная экспрессия выявлена у 33,8 % больных по сравнению с 41,9 % при G₂ и 44,4 % при G₁; $p < 0,001$), при этом они чаще являются гормонорезистентными. Содержание MG в клетках рака молочной железы регулируется наличием гормональных рецепторов и, возможно, уровнями жирных кислот или факторов роста, а также содержанием CO₂ в микроокружении опухолевых клеток [9].

Данных по изучению сывороточного уровня MG у больных РШМ, а также работ по изучению корреля-

ций уровня MG в крови со степенью дифференцировки опухоли у онкологических больных в литературе найти не удалось. Известно, что сывороточный уровень MG повышается в острую фазу инфаркта миокарда [10], у больных острым панкреатитом [11], у беременных женщин с имеющейся внутриутробной гипоксией плода [12].

Результаты нашего исследования свидетельствуют об отсутствии изменений в уровне MG в крови пациенток с РШМ, что согласуется с результатами S.M. Nyasa-vajjala и соавт., не выявивших повышения исследуемого показателя у больных колоректальным раком [13].

Кальпротектин представляет собой белковый комплекс S100A8 и S100A9, обладающий провоспалительным действием, активирующий иммунный ответ при инфекционных заболеваниях, а также провоцирующий аутоиммунную агрессию, эндотелиальную дисфункцию и способствующий метастазированию [14]. CAL может высвобождаться фагоцитами, а также экспрессироваться опухолевыми клетками, что было установлено при раке легкого, молочной железы, предстательной железы, пищевода, толстой кишки [14].

Опубликованные данные по изучению экспрессии CAL при РШМ касаются лишь регистрации внутриклеточного уровня белка в процессе малигнизации цервикального эпителия, и при этом они весьма противоречивы.

Так, в одном исследовании показано, что экспрессия S100A9 в клетках плоскоклеточного РШМ снижена [15]. Статистически значимых различий по этому показателю между опухолевыми образцами разной степени дифференцировки не выявлено, что согласуется с полученными нами данными. При этом авторы исследования установили, что пациентки с низким уровнем экспрессии S100A9 имеют худшую общую выживаемость. Молекулярный механизм, обуславливающий действие CAL на клетку, связан с влиянием на MMP-9 и PI3K/Akt-сигнальный путь [15]. Однако противоположные результаты были представлены в работе X. Zhu и соавт. [16]. Экспрессия белка S100A9 увеличена в локусе цервикального рака по сравнению со смежными паранеопластическими биоптатами ткани, при этом при высокодифференцированных опухолях этот показатель значимо выше.

Опубликованных данных по исследованию уровня CAL в периферической крови у больных РШМ нами не найдено. Однако имеется ряд работ, свидетельствующих об изменении этого параметра у онкологических больных с опухолями других локализаций. A. Hermaniет и соавт. сообщили о более высоком сывороточном уровне CAL у больных, страдающих раком предстательной железы [17]. При этом на клеточном уровне экспрессия S100A8 и S100A9 была максимальна при опухолях высокой степени злокачественности, что может способствовать прогрессированию неоплазии.

S. Hiratsuka и соавт. доказали *in vitro*, что в метастатических нишах опухолевые клетки выделяют большое

количество S100A8 и S100A9, что индуцирует выброс SAA клетками иммунной системы и способствует привлечению и выживанию опухолевых клеток в метастатических депо через активацию NF-κB TLR4-зависимым образом [18].

P. Shu и соавт. опубликовали данные о существенном повышении уровня СА1 в сыворотке крови у больных колоректальным раком [19]. При этом данный показатель коррелировал со стадией опухолевого процесса, наличием отдаленных и регионарных метастазов, глубиной опухолевой инвазии и низкой степенью дифференцировки.

В нашей работе мы впервые демонстрируем статистически значимое увеличение данного показателя в группе больных верукозным раком.

Липокалины А представляют собой белки, секретируемые различными клетками (макрофагами, нейтрофилами, эпителиальными клетками), в том числе опухолевыми. Они регулируют клеточный метаболизм, иммунный ответ, синтез простагландинов, секрецию маркеров воспаления, а в процессе канцерогенеза — потенцируют клеточную пролиферацию и метастазирование [20]. LCN2 был идентифицирован как гликопротеин нейтрофилов, образующий комплекс с MMP-9, стабилизируя ее и увеличивая протеиназную активность [21]. LCN2 рассматривается как биомаркер некоторых видов опухолей (рака молочной железы, яичников, щитовидной железы, легкого и др.), активирующий эпителиально-мезенхимальный переход, многочисленные сигнальные митотические пути, стимулирующий патологический ангиогенез [21].

Имеются данные о более высоком уровне LCN2 в крови у больных раком молочной железы с низкой степенью дифференцировки, высоким риском рецидива и худшим прогнозом, что обусловлено его влиянием на образование VEGF, активацию сигнальных путей PI3K/Akt/NF-κB и HIF-1α/Erk [21].

Опубликованы и противоречивые результаты исследований. Уровень LCN2 в сыворотке при раке яичников выше, чем в группах сравнений ($p < 0,001$), и коррелировал с дифференцировкой опухоли, при этом высоко дифференцированные опухоли имели самый высокий показатель [22].

Выявленное нами повышение уровня LCN2 можно предложить в качестве дополнительного критерия дифференциальной диагностики высокодифференцированного плоскоклеточного и верукозного РШМ, однако требуется проведение исследования на больших когортах пациентов.

Матриксная металлопероксидаза — семейство цинк- и кальцийзависимых протеолитических ферментов, участвующих в деградации внеклеточного матрикса, способствующих лимфоваскулярной инвазии и метастазированию опухолей [23]. Известно, что секреция MMP происходит как опухолевыми клетками, так и клетками микроокружения [24].

Мы обнаружили снижение величины MMP-2 в сыворотке крови у больных РШМ G₃, что может являться

одним из механизмов опухолевой прогрессии. Известно, что MMP-2 участвует в образовании антиангиогенных (ангиостатин) и проапоптотических (тумстатин) факторов, а низкий сывороточный уровень MMP-2 является неблагоприятным прогностическим фактором у пациентов с генерализованным раком желудка [25].

Установленное нами отсутствие различий между уровнями MMP-9 при РШМ с разной степенью дифференцировки и гистогенезом опухоли согласуется с результатами исследований при раке эндометрия, молочной железы, яичников [26, 27].

Остеопонтин относится к классу матриксноклеточных белков, выполняет многообразные функции по ремоделированию внеклеточной среды: регуляция процессов адгезии, миграции, дифференцировки клеток, формирование эффекторных ответов Т-клеток [28]. OPN выделяется эпителиальными, эндотелиальными клетками, клетками иммунной системы, может экспрессироваться различными злокачественными клетками, ассоциирован с неблагоприятным прогнозом и радиорезистентностью для некоторых опухолей [29].

Полученные нами данные о статистически значимом снижении сывороточного уровня OPN у больных РШМ G₃ согласуются с результатами других исследований, выявивших прямую корреляцию между высоким уровнем OPN, с одной стороны, и другими факторами прогрессирования РШМ — с другой (размер опухоли >4 см, стадия опухолевого процесса) [26]. По мнению некоторых ученых, OPN можно рассматривать в качестве неблагоприятного прогностического маркера плоскоклеточного РШМ и рака органов головы и шеи [30, 31].

Впервые нами было установлено, что сывороточный уровень OPN у больных верукозным РШМ на 53,5 % меньше, чем в группе контроля ($p < 0,05$).

Миелопероксидаза — член подсемейства пероксидаз, широко экспрессируется в иммунных клетках, таких как нейтрофильные полиморфноядерные лейкоциты, лимфоциты, моноциты и макрофаги, а также на эндотелиальных клетках [32]. Высокий уровень активности MPO рассматривается не только как маркер воспалительного и окислительного стресса, но и как перспективный онкомаркер при некоторых видах рака. Полиморфизм гена MPO приводит к нарушению экспрессии и функции соответствующего белка MPO, что может привести к формированию некоторых опухолей [32]. Нарушение структур ДНК, провоцирующее канцерогенез, также индуцируется окислителями, образуемыми под действием MPO [33]. MPO приводит к образованию генотоксических веществ и проканцерогенов [32], является фактором системной сосудистой дисфункции [34].

По мере уменьшения степени дифференцировки РШМ мы выявили тенденцию снижения уровня MPO в сыворотке крови при G₃, однако достоверных различий между этими величинами не получено ($p > 0,05$). Можно предположить, что изменение величины MPO при низкодифференцированных опухолях является

одним из механизмов для реализации опухолевой прогрессии.

Сывороточный амилоид А — белок острой фазы воспаления, синтезируемый, главным образом, в печени в ответ на провоспалительные цитокины. Кроме этого, синтез данного белка был выявлен как в ряде первичных опухолей, так и в их метастазах [35]. SAA, усиливая деградацию внеклеточного матрикса путем активации MMP, способствует адгезии опухолевых клеток и активации клеточной миграции. В то же время SAA индуцирует выброс цитокинов и хемокинов, стимулирует ангиогенез, а также активирует Erk1/2, p38 и JNK [36].

Высокий уровень SAA в крови у больных со злокачественными опухолями разных локализаций коррелирует со стадией опухолевого процесса, высокой степенью злокачественности, лимфоваскулярной инвазией, а также с худшим прогнозом [35]. Выявленное нами повышение уровня SAA в крови у больных РШМ с низкой дифференцировкой опухолевых клеток также указывает на его вовлеченность в процесс опухолевой прогрессии.

Кроме этого, выявленное нами впервые высокое содержание SAA в сыворотке у больных веррукозным РШМ может быть связано с особенностями данного морфологического варианта опухоли (выраженная локальная инвазия, радиорезистентность, склонность к рецидивированию).

IGFBP-4 относится к семейству IGFBP, связывающих инсулиноподобные факторы роста (IGF), регулируя их активность и подавляя опухолевый процесс [37]. Кроме этого, IGFBP имеют IGF-независимое действие: модуляция активности других факторов роста, транслокация в ядро и регуляция транскрипции белков, связывание с биомолекулами во внеклеточном пространстве, на поверхности клетки и внутриклеточно. IGFBP модулируют важные биологические процессы, включая пролиферацию клеток, выживание, миграцию, старение, аутофагию и ангиогенез [38]. Биологическая роль IGFBP разнообразна и определяется особенностями их клеточной экспрессии, возрастом, полом.

IGFBP-4 является важным ключевым членом семейства IGFBP, который может опосредовать свои основные функции посредством ингибирования IGF-индуцированного роста клеток и, таким образом, регулировать метаболические процессы в опухоли [38]. Уровень экспрессии IGFBP-4 связан с дифференцировкой и пролиферативной активностью опухоли: слабо-дифференцированные клетки часто теряют свою экспрессию IGFBP-4 и обладают более высоким митотическим индексом [39]. Однако полученные нами результаты свидетельствуют лишь о некоторой тенденции к снижению уровня IGFBP-4 в крови у больных РШМ по мере уменьшения степени дифференцировки опухолевых клеток.

ICAM-1 и VCAM-1 — молекулы межклеточной адгезии, регулирующие контакты между опухолевыми клетками, клетками иммунной системы и эндотелием сосудов [23].

Данных по изучению корреляции уровней ICAM-1 и VCAM-1 в сыворотке крови с морфологическими особенностями опухолей в литературе не найдено. Тем не менее были опубликованы данные об ассоциации уровня адгезивных молекул в крови у онкологических больных с другими нозологическими формами заболевания и стадии опухолевого процесса [23]. Этому соответствуют полученные нами статистически значимые различия по содержанию в крови VCAM-1 у больных веррукозным РШМ по сравнению с группой контроля.

Цистатин С относится к семейству ингибиторов цистеиновых протеиназ и в настоящее время рассматривается как эндогенный маркер скорости клубочковой фильтрации и ренальной дисфункции [40]. Цистеиновые протеиназы вызывают разрушение внутриклеточных белков и структур внеклеточного матрикса, активируют некоторые MMP, участвуют в регуляции пролиферации, апоптоза, тем самым способствуют диссеминации опухоли [40].

Дисбаланс между цистеиновыми протеазами и их ингибиторами способствует инвазии и метастазированию. Было продемонстрировано, что уровень этого дисбаланса ассоциирован с морфологическим вариантом опухолевых клеток метастазов [41]. По другим данным, цистатин С является проапоптотическим фактором и подавляет пролиферацию опухолевых клеток [42]. В нашей работе мы не обнаружили изменения уровня цистатина С в крови больных РШМ в зависимости от ее гистологического вида и степени дифференцировки.

Заключение

Увеличение уровней OPN, LCN2 и SAA на фоне снижения величины VCAM-1 в сыворотке крови может иметь значение в качестве дополнительного дифференциального (по степени распространения процесса) критерия веррукозного РШМ.

У пациенток с низкодифференцированным РШМ (G_3) в отличие от группы контроля характерны системные изменения в крови по маркерам воспаления: снижение уровней OPN, MMP-2 в 1,8 раза и на 41,1 % соответственно на фоне увеличения уровня SAA в 4,7 раза.

В качестве дополнительного критерия для дифференциальной диагностики между G_1 и G_3 при РШМ могут быть использованы такие показатели, как уровни содержания OPN и SAA в сыворотке крови. Для низкодифференцированных опухолей (G_3) характерно снижение уровня OPN в 1,75 раза на фоне повышения уровня SAA в 1,8 раза.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Siegel R., Naishadham D., Jemal Siegel A. Cancer statistics, 2018. *CA Cancer J Clin* 2018;68(1):7–30. DOI:10.3322/caac.21442
- Brambs C.E., Höhn A.K., Hentschel B. et al. The prognostic impact of grading in FIGO IB and IIB squamous cell cervical carcinomas. *Geburtshilfe Frauenheilkd* 2019;79(2):198–204. DOI: 10.1055/a-0828-7681.
- Matsuo K., Mandelbaum R.S., Machida H. et al. Association of tumor differentiation grade and survival of women with squamous cell carcinoma of the uterine cervix. *J Gynecol Oncol* 2018;29(6):e91. DOI: 10.3802/jgo.2018.29.e91.
- Murata M. Inflammation and cancer. *Environ Health Prev Med* 2018;23(1):50. DOI: 10.1186/s12199-018-0740-1.
- WMA declaration of helsinki – ethical principles for medical research involving human subjects, 2018
- International classification of diseases for oncology (ICD-O), 3rd edition, 1st revision, 2013.
- Flonta S.E., Arena S., Pisacane A. et al. Expression and functional regulation of myoglobin in epithelial cancers. *Am J Pathol* 2009;175(1):201–6. DOI: 10.2353/ajpath.2009.081124.
- Meller S., VAN Ellen A., Gevensleben H. et al. Ectopic myoglobin expression is associated with a favourable outcome in head and neck squamous cell carcinoma patients. *Anticancer Res* 2016;36(12):6235–41. DOI: 10.21873/anticancer.11217.
- Kristiansen G., Rose M., Geisler C. et al. Endogenous myoglobin in human breast cancer is a hallmark of luminal cancer phenotype. *Br J Cancer* 2010;102(12):1736–45. DOI: 10.1038/sj.bjc.6605702.
- Пархоменко А.Н., Иркин О.И., Лутай Я.М. Роль биологических маркеров в неотложной кардиологии. *Медицина неотложных состояний* 2011;7–8 (38–39): 46–54. [Parhomenko A.N., Irkin O.I., Lutaj Ya.M. The role of biological markers in emergency cardiology. *Meditsina neotlozhnykh sostoyaniy* = Emergency Medicine 2011;7–8(38–39):46–54. (In Russ.)].
- Заугольников В.С., Теплова Н.Н., Теплова Т.А. Спелифический показатель повреждения скелетных мышц миоглобин как дополнительный критерий эндогенной интоксикации у больных панкреатитом. *Актуальные вопросы хирургической гепатологии, гастроэнтерологии и трансфузиологии: материалы межрегиональной научно-практической конференции с международным участием, посвященной 80-летию В.А. Журавлева. Киров, 2011.* С. 85–86. [Zaugol'nikov V.S., Teplova N.N., Teplova T.A. The specific indicator of skeletal muscle damage myoglobin as an additional criterion for endogenous intoxication in patients with pancreatitis. *Actual issues of surgical hepatology, gastroenterology and transfusiology: materials of an interregional scientific-practical conference with international participation dedicated to the 80th anniversary of V.A. Zhuravlev. Kirov, 2011.* Pp. 85–86. (In Russ.)].
- Бапаева Г.Б. Биохимические маркеры преждевременных родов. *Журнал акушерства и женских болезней* 2005;3: 38–41. [Bapaeva G.B. Biochemical markers of premature birth. *Zhurnal akusherstva i zhenskikh bolezney* = Journal of Obstetrics and Women's Diseases 2005;3:38–41. (In Russ.)].
- Nyasavajjala S.M., Phillips B.E., Lund J.N., Williams J.P. Creatinine and myoglobin are poor predictors of anaerobic threshold in colorectal cancer and health. *J Cachexia Sarcopenia Muscle* 2015;6(2): 125–31. DOI: 10.1002/jcsm.12020.
- Blanco-Prieto S., Vázquez-Iglesias L., Rodríguez-Girondo M. et al. Serum calprotectin, CD26 and EGF to establish a panel for the diagnosis of lung cancer. *PLoS One* 2015;10(5):e0127318. DOI: 10.1371/journal.pone.0127318.
- Zhu H., Wu T.C., Chen W.Q. et al. Roles of galectin-7 and S100A9 in cervical squamous carcinoma: clinicopathological and *in vitro* evidence. *Int J Cancer* 2013;132(5):1051–9. DOI: 10.1002/ijc.27764.
- Zhu X., Jin L., Zou S. et al. Immunohistochemical expression of RAGE and its ligand (S100A9) in cervical lesions. *Cell Biochem Biophys* 2013;66(3):843–50. DOI: 10.1007/s12013-013-9515-x.
- Hermani A., Hess J., De Servi B. et al. Calcium-binding proteins S100A8 and S100A9 as novel diagnostic markers in human prostate cancer. *Clin Cancer Res* 2005; 11(14):5146–52. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-05-0352.
- Hiratsuka S., Watanabe A., Sakurai Y. et al. The S100A8-serum amyloid A3-TLR4 paracrine cascade establishes a pre-metastatic phase. *Nat Cell Biol* 2008;10(11):1349–55. DOI: 10.1038/ncb1794.
- Shu P., Zhao L., Wagn J. et al. Association between serum levels of S100A8/S100A9 and clinical features of colorectal cancer patients. *Zhong Nan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban* 2016;41(6):553–9. DOI: 10.11817/j.issn.1672-7347.2016.06.001.
- Vitkauskaitė A., Celiešūtė J., Paškauskas S. et al. Associations among serum lipocalin-2 concentration, human papilloma virus and clinical stage of cervical cancer. *Medicina (Kaunas)* 2019;55(6). DOI: 10.3390/medicina55060229.
- Hu C., Yang K., Li M. et al. Lipocalin 2: a potential therapeutic target for breast cancer metastasis. *Oncol Targets Ther* 2018;11:8099–106. DOI: 10.2147/OTT.S181223.
- Cho H., Kim J.H. Lipocalin2 expressions correlate significantly with tumor differentiation in epithelial ovarian cancer. *J Histochem Cytochem* 2009;57(5):513–21. DOI: 10.1369/jhc.2009.953257.
- Короленкова Л.И., Степанова Е.В., Барышников А.Ю. Молекулярно-биологические маркеры адгезии, утраты межклеточных связей, инвазии и неоангиогенеза как факторы прогрессии цервикальных неоплазий и рака шейки матки. *Российский биотерапевтический журнал* 2011;10(2):13–7. [Korolenkova L.I., Stepanova E.V., Baryshnikova A.Yu. Molecular biomarkers of development and progression of cervical intraepithelial neoplasia. markers of adhesion, loss of intercellular connections, invasion and neoangiogenesis. *Rossiyskiy bioterapevticheskiy zhurnal* = Russian Biotherapeutic Journal 2011;10(2):13–7. (In Russ.)].
- Плиева Я.З., Ермилова В.Д., Алферов А.А. и др. Содержание матриксной металлопротеиназы 7 типа в сыворотке крови и опухоли больных раком яичников. *Онкогинекология* 2018;1(25):15–28. [Plieva Ya.Z., Ermilova V.D., Alferov A.A. et al. The content of matrix metalloproteinase-7 in blood serum and tumor in patients with ovarian cancer. *Onkoginekologiya* = Oncogynecology 2018;(25):15–28. (In Russ.)].
- Donizy P., Rudno-Rudzinska J., Kaczorowski M. et al. Disrupted balance of MMPs/TIMPs in gastric carcinogenesis-paradoxical low MMP-2 expression in tumor and stromal compartments as a potential marker of unfavorable outcome. *Cancer Investigation* 2015;33(7):286–93. DOI: 10.3109/07357907.2015.1024316.
- Гертшейн Е.С., Маштенко С.В., Левченко Н.Е. и др. Матриксные металлопротеиназы и их тканевые ингибиторы в сыворотке крови больных раком эндометрия: клинико-морфологические корреляции. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины* 2018;165(1):75–9. DOI: 10.1007/s10517-018-4103-0. [Gershtein E.S., Mushtenko S.V., Ermilova V.D. et al. Matrix metalloproteinases and their tissue inhibitors in blood

- serum of patients with endometrial cancer: clinical and morphological correlations. *Bullyuten' eksperimental'noy biologii i meditsyny = Bulletin of Experimental Biology and Medicine* 2018;165(1):75–9. (In Russ.).
27. Wang R.X., Chen S., Huang L., Shao Z.M. Predictive and prognostic value of Matrix metalloproteinase (MMP)-9 in neoadjuvant chemotherapy for triple-negative breast cancer patients. *BMC Cancer* 2018;18(1):909. DOI: 10.1186/s12885-018-4822-7.
 28. Del Prete A., Scutera S., Sozzani S., Musso T. Role of osteopontin in dendritic cell shaping of immune responses. *Cytokine Growth Factor Rev* 2019. DOI: 10.1016/j.cytogfr.2019.05.004.
 29. Huang X., Qian Y., Wu H. et al. Aberrant expression of osteopontin and E-cadherin indicates radiation resistance and poor prognosis for patients with cervical carcinoma. *J Histochem Cytochem* 2015;63(2):88–98. DOI: 10.1369/0022155414561329.
 30. Cho H., Hong S.W., Oh Y.J. et al. Clinical significance of osteopontin expression in cervical cancer. *J Cancer Res Clin Oncol* 2008;134(8):909–17. DOI: 10.1007/s00432-007-0351-5.
 31. Zhao Hongchun, Wang Yanfei, Zheng Tihua et al. Correlation of osteopontin expression and laryngeal squamous cell carcinoma infiltration and metastasis. *Lin Chung Er Bi Yan Hou Tou Jing Wai Ke Za Zhi* 2015;29(17):1530–3.
 32. Khan A.A., Alsahli M.A., Rahmani A.H. Myeloperoxidase as an active disease biomarker: recent biochemical and pathological perspectives. *Med Sci (Basel)* 2018;6(2). DOI: 10.3390/medsci6020033.
 33. Van der Veen B.S., de Winther M.P.J., Heeringa P. Myeloperoxidase: molecular mechanisms of action and their relevance to human health and disease. *Antioxid Redox Signal* 2009;11:2899–937. DOI: 10.1089/ars.2009.2538.
 34. Khalil A., Medfai H., Poelvoorde P. et al. Myeloperoxidase promotes tube formation, triggers Erk1/2 and Akt pathways and is expressed endogenously in endothelial cells. *Arch Biochem Biophys* 2018;654:55–69. DOI: 10.1016/j.abb.2018.07.011.
 35. Zhang Y., Zhang J., Sheng H. et al. Acute phase reactant serum amyloid A in inflammation and other diseases. *Adv Clin Chem* 2019;90:25–80. DOI: 10.1016/bs.acc.2019.01.002.
 36. Lin H.Y., Tan G.Q., Liu Y., Lin S.Q. The prognostic value of serum amyloid A in solid tumors: a meta-analysis. *Cancer Cell Int* 2019;19:62. DOI: 10.1186/s12935-019-0783-4. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6425599>.
 37. Hoeflich A., Pintar J., Forbes B. Editorial: Current Perspectives on Insulin-Like Growth Factor Binding Protein (IGFBP) research. *Front Endocrinol (Lausanne)* 2018;9:667. DOI: 10.3389/fendo.2018.00667.
 38. Yang B., Zhang L., Cao Y. et al. Overexpression of lncRNA IGFBP4-1 reprograms energy metabolism to promote lung cancer progression. *Mol Cancer* 2017; 16(1):154. DOI: 10.1186/s12943-017-0722-8.
 39. Sato H., Sakaeda M., Ishii J. et al. Insulin-like growth factor binding protein-4 gene silencing in lung adenocarcinomas. *Pathol Int* 2011;61(1):19–27. DOI: 10.1111/j.1440-1827.2010.02612.x.
 40. Leto G., Crescimanno M., Flandina C. On the role of cystatin C in cancer progression. *Life Sci* 2018;202:152–60. DOI: 10.1016/j.lfs.2018.04.013.
 41. Kos J., Stabuc B., Cimerman N., Brünner N. Serum cystatin C, a new marker of glomerular filtration rate, is increased during malignant progression. *Clin Chem* 1998;44(12):2556–7.
 42. Završnik J., Butinar M., Prebenda M.T. et al. Cystatin C deficiency suppresses tumor growth in a breast cancer model through decreased proliferation of tumor cells. *Oncotarget* 2017;8(43):73793–809. DOI: 10.18632/oncotarget.17379.

Вклад авторов

Е.В. Каюкова: анализ полученных данных, написание текста статьи;
Т.Е. Белокриницкая: обзор публикаций по теме статьи;
Л.Ф. Шолохов: разработка дизайна исследования;
П.П. Терешков: выполнение лабораторной части исследования.

Authors' contributions

E.V. Kayukova: analysis of the obtained data, article writing;
T.E. Belokrinitskaya: reviewing of publications of the article's theme;
L.F. Sholokhov: developing the research design;
P.P. Tereshkov: laboratory part of the study.

ORCID авторов/ORCID of authors

Е.В. Каюкова/E.V. Kayukova: <https://orcid.org/0000-0001-5231-9273>
Т.Е. Белокриницкая/T.E. Belokrinitskaya: <https://orcid.org/0000-0002-5447-4223>
Л.Ф. Шолохов/L.F. Sholokhov: <https://orcid.org/0000-0003-3588-6545>
П.П. Терешков/P.P. Tereshkov: <https://orcid.org/0000-0002-8601-3499>

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Финансирование. Работа выполнена при финансовой поддержке гранта президента Российской Федерации для государственной поддержки молодых российских ученых МК-6143.2018.7 (соглашение № 075-02-2018-547).

Financing. The study was supported by the grant from the President of the Russian Federation for state support of young Russian scientists МК-6143.2018.7 (agreement No. 075-02-2018-547).

Информированное согласие. Все пациентки подписали информированное согласие на участие в исследовании.

Informed consent. All patients gave written informed consent to participate in the study.

Статья поступила: 21.08.2019. **Принята в печать:** 26.09.2019.

Article received: 21.08.2019. **Accepted for publication:** 26.09.2019.