

DOI: <https://doi.org/10.17650/2313-805X-2024-11-1-99-104>

Роль циркулирующих нейтрофилов в прогрессировании рака почки

И.Р. Мягдиева¹, Т.В. Абакумова¹, Д.Р. Долгова¹, О.Ю. Горшков², Т.П. Генинг¹

¹ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный университет»; Россия, 432017 Ульяновск, ул. Льва Толстого, 42;

²ГУЗ «Областной клинический онкологический диспансер»; Россия, 432017 Ульяновск, ул. 12 Сентября, 90

Контакты: Илья Ринатовна Мягдиева ilseya2015@yandex.ru

Введение. В настоящее время остается актуальным вопрос о роли нейтрофилов в прогрессировании рака почки. Эти клетки способны проявлять проопухолевые свойства посредством секреции цитокинов, хемокинов, факторов роста, которая определяется экспрессией генов данных молекул. Функциональная гетерогенность нейтрофилов характеризуется различиями в паттернах экспрессии генов.

Цель исследования – оценка роли циркулирующих нейтрофилов в прогрессировании рака почки.

Материалы и методы. В циркулирующих нейтрофилах пациентов с верифицированным раком почки светлоклеточного типа I–III стадии по классификации Tumor, Nodus and Metastasis (TNM) ($n = 88$) до хирургического лечения и условно здоровых доноров (контрольная группа) ($n = 20$) методом количественной полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией определяли экспрессию генов *NGAL*, *MMP-13* и *VEGF-A*.

Результаты. Отмечены повышение экспрессии гена *NGAL* в циркулирующих нейтрофилах при РП начальных стадий ($p = 0,05$) и ее снижение при РП поздних стадий ($p = 0,03$). Выявлена высокая экспрессия гена *MMP-13* в циркулирующих нейтрофилах при раке почки всех стадий относительно контрольных значений (при I стадии $p = 0,005$; при II – $p = 0,003$; при III – $p = 0,0008$). При раке почки I стадии наблюдалась прямая корреляционная связь между экспрессией генов *NGAL* и *MMP-13* в нейтрофилах ($r = 0,696$; $p = 0,003$). Также в группе пациентов с раком почки обнаружена прямая корреляция между экспрессией генов *NGAL* и *VEGF-A* ($r = 0,322$; $p = 0,049$). В мультивариантной регрессионной модели Кокса в отношении безрецидивной выживаемости выявлена предиктивная ценность экспрессии генов *VEGF-A* и *NGAL* в циркулирующих нейтрофилах. При увеличении экспрессии этих генов в нейтрофилах на 1 единицу риск возникновения метастазов возрастает в 0,80 (0,65–0,99; $p = 0,043$) и 1,42 (1,01–2,00; $p = 0,046$) раза соответственно. Анализ безрецидивной выживаемости по методу Каплана–Майера у пациентов с раком почки показал влияние уровня экспрессии *NGAL* в циркулирующих нейтрофилах на выживаемость без прогрессирования. В группе пациентов с высокой экспрессией *NGAL* медиана наблюдения составила 31,7 мес, в группе с низкой экспрессией этого гена – более 36 мес (log-rank-test; $p = 0,017$).

Заключение. Таким образом, полученные данные позволяют предположить, что циркулирующие нейтрофилы играют ведущую роль в прогрессировании рака почки. Уровень экспрессии генов *NGAL* и *VEGF-A* в этих клетках может быть использован при прогнозировании безрецидивного периода у пациентов с данным заболеванием.

Ключевые слова: циркулирующие нейтрофилы, рак почки, ангиогенез, *NGAL*, *VEGF-A*, *MMP-13*

Для цитирования: Мягдиева И.Р., Абакумова Т.В., Долгова Д.Р. и др. Роль циркулирующих нейтрофилов в прогрессировании рака почки. Успехи молекулярной онкологии 2024;11(1):99–104. DOI: <https://doi.org/10.17650/2313-805X-2024-11-1-99-104>

The role of circulating neutrophils in the progression of kidney cancer

I.R. Magdieva¹, T.V. Abakumova¹, D.R. Dolgova¹, O.Y. Gorshkov², T.P. Gening¹

¹Ulyanovsk State University; 42 L'va Tolstogo St., Ulyanovsk 432017, Russia;

²Regional Clinical Oncological Dispensary; 90 12th September St., Ulyanovsk 432017, Russia

Contacts: Ilseya Rinatovna Myagdieva ilseya2015@yandex.ru

Introduction. Currently, the question of the role of neutrophils in the progression of kidney cancer remains relevant. Neutrophils are capable of exhibiting protumor properties through the secretion of cytokines, chemokines, and growth factors, which is determined by the expression of genes for these molecules. And the functional heterogeneity of neutrophils is characterized by differences in gene expression patterns.

Aim. To assess the role of circulating neutrophils in the progression of kidney cancer.

Materials and methods. In circulating neutrophils of patients with verified clear cell kidney cancer at stages I–III according to Tumor, Nodus and Metastasis (TNM) ($n = 88$) before surgical treatment and conditionally healthy donors (control group) ($n = 20$), the expression of *NGAL* genes was determined using quantitative reverse transcription polymerase chain reaction, *MMP-13* and *VEGF-A*.

Results. There was an increase in *NGAL* gene expression in circulating neutrophils ($p = 0.05$) at the initial stage and a decrease in it at advanced stages of kidney cancer ($p = 0.03$). High expression of the *MMP-13* gene by circulating neutrophils was detected at all stages of kidney cancer relative to control values (at stage I $p = 0.005$; at stage II $p = 0.003$; at stage III $p = 0.0008$). A significant direct correlation was observed between the expression of the *NGAL* and *MMP-13* genes in neutrophils at stage I kidney cancer ($r = 0.696$; $p = 0.003$). In the group of patients with kidney cancer, a direct correlation was found between the expression of the *NGAL* and *VEGF-A* genes ($r = 0.322$; $p = 0.049$). A multivariable Cox regression model for disease-free survival revealed the predictive value of *VEGF-A* and *NGAL* genes expression in circulating neutrophils. With an increase in the expression of the *VEGF-A* and *NGAL* genes in neutrophils by 1 unit, the risk of metastases increases by 0.80 (0.65–0.99; $p = 0.043$) and 1.42 (1.01–2.00; $p = 0.046$) times, respectively. The Kaplan–Meier analysis of disease-free survival in patients with kidney cancer showed the influence of *NGAL* expression in circulating neutrophils on progression-free time. In the group of patients with high *NGAL* expression, the median follow-up was 31.7 months, and in the group with low *NGAL* expression – more than 36 months (log-rank-test; $p = 0.017$).

Conclusion. Thus, the data obtained suggest that circulating neutrophils play a leading role in the progression of kidney cancer. The level of expression of *NGAL* in circulating neutrophils can be used to predict the relapse-free period in patients with kidney cancer.

Keywords: circulating neutrophils, kidney cancer, angiogenesis, *NGAL*, *VEGF-A*, *MMP-13*

For citation: Magdieva I.R., Abakumova T.V., Dolgova D.R. et al. The role of circulating neutrophils in the progression of kidney cancer. *Uspekhi molekulyarnoy onkologii* = *Advances in Molecular Oncology* 2024;11(1):99–104. (In Russ.). DOI: <https://doi.org/10.17650/2313-805X-2024-11-1-99-104>

ВВЕДЕНИЕ

Светлоклеточный рак почки (РП) — наиболее распространенный тип рака данной локализации (более 90 % случаев), возникающий из эпителиальных клеток почечных канальцев. Рак почки считается иммуногенным новообразованием; чувствительность опухоли к иммунотерапии определяется ее микроокружением [1].

Развитие опухоли и ее реакция на терапию зависят от воспаления, в инициации, развитии и разрешении которого участвуют цитокины и факторы роста [2]. Имунокомпетентные клетки (нейтрофилы (Нф), тучные клетки, NK-клетки (NK — естественные киллеры), дендритные клетки, макрофаги) способны стимулировать развитие опухолевого ангиогенеза посредством выделения проангиогенных факторов [3].

Нейтрофилы являются ключевыми эффекторными клетками врожденного иммунитета и играют решающую роль в воспалении, вызванном инфекциями, а также в опухолеассоциированном воспалении. Они могут обладать как противоопухолевой (N1), так и проопухолевой (N2) активностью [4].

Проопухолевые Нф способствуют развитию канцерогенеза [5] посредством выработки факторов роста, включая матриксную металлопротеиназу-9 (matrix metalloproteinase 9, MMP-9), фактор роста эндотелия сосудов A (vascular endothelial growth factor A, VEGF-A), фактор некроза опухоли α (tumor necrosis factor alpha, TNF- α) и хемокины (в том числе интерлейкин-8 (IL-8)), что также приводит к увеличению проницаемости сосудов и способствует дополнительному привлечению иммунных клеток [6].

Экспрессия VEGF-A коррелирует с инвазивностью опухоли, плотностью сосудов, метастазирова-

нием, развитием рецидивов и прогнозом при раке яичников и колоректальном раке [7]. Нейтрофилы, секретируя MMP-9, способствуют, в свою очередь, высвобождению VEGF-A [8]. При этом матриксная металлопротеиназа-13 (matrix metalloproteinase 13, MMP-13, коллагеназа 3) играет ведущую роль в каскаде активации матриксных металлопротеиназ. Однако образование комплекса MMP-9/NGAL (neutrophil gelatinase-associated lipocalin — липокалин, ассоциированный с нейтрофильной желатиназой) защищает MMP-9 от протеолитической деградаци и усиливает ее ферментативную активность. Известно, что уровень *NGAL* в моче в значительной степени связан со стадией РП, поэтому его рассматривают как потенциальный биомаркер для оценки прогноза при данной патологии [9].

Гипотеза, объясняющая роль *NGAL* в канцерогенезе, состоит в том, что Нф, рекрутирующие в опухоль, подвергаются апоптозу и высвобождают гранулы, содержащие *NGAL* [10].

Показано, что Нф изменяют свою поляризацию в сторону N1 или N2 под влиянием факторов, выделяемых опухолью, еще в кровотоке [11]. Функциональная гетерогенность Нф определяется различиями в паттернах экспрессии генов этих клеток [12]. При стимуляции Нф факторами воспаления изменяется профиль экспрессии генов [13], что приводит к смене фенотипа и функционального потенциала Нф [14].

Таким образом, анализ экспрессии генов ангиогенных факторов и факторов воспаления позволяет оценить потенциальную роль циркулирующих Нф в неопластическом ангиогенезе.

Цель исследования — оценка роли циркулирующих Нф в прогрессировании РП.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Проанализированы Нф крови пациентов с РП светлоклеточного типа до лечения. Медиана возраста больных составила 60 лет (Q_1-Q_3 : 58,5–63,5 года). Характеристика пациентов представлена в табл. 1.

Таблица 1. Характеристика пациентов с раком почки, включенных в исследование

Table 1. Characteristics of patients with kidney cancer included in the study

| Показатель Parameter | Число пациентов ($n = 88$) Number of patients ($n = 88$) |
|--|---|
| Пол Sex: | |
| мужской male | 45 |
| женский female | 43 |
| Статус курения Smoking status: | |
| курящие smokers | 20 |
| некурящие non-smokers | 68 |
| Стадия заболевания Disease stage: | |
| I | 28 |
| II | 30 |
| III | 30 |
| Распространенность первичной опухоли по классификации Tumor, Nodus and Metastasis (TNM) Prevalence of the primary tumor according to the classification of Tumor, Nodus and Metastasis (TNM): | |
| T1 | 28 |
| T2 | 30 |
| T3 | 30 |
| Наличие метастазов: Metastases: | |
| нет no | 78 |
| есть yes | 10 |
| Локализация метастазов Metastasis sites: | |
| лимфатические узлы lymph nodes | 2 |
| легкие lungs | 6 |
| кости bones | 2 |

Нейтрофилы выделяли из взвеси лейкоцитов на двойном градиенте плотности растворов фиколаверографина ($\rho_1 = 1,076$ г/мл; $\rho_2 = 1,117$ г/мл) и доводили до концентрации $5 \cdot 10^6$ клеток/мл. РНК выделяли из фракции Нф периферической крови на магнитных частицах SileksMagNA («Силекс», Россия). Проводили

реакцию обратной транскрипции и определяли экспрессию генов методом количественной полимеразной цепной реакции с использованием праймеров, синтезированных на базе ООО «ЕврогенЛаб» (Россия) (табл. 2). Расчет нормализованной экспрессии исследованных генов относительно гена-рефери (*GAPDH*) выполняли с использованием программного обеспечения CFX Manager Bio-Rad Laboratories [15].

Таблица 2. Последовательности праймеров исследованных генов в нейтрофилах

Table 2. Primer sequences of the studied genes in neutrophils

| Ген Gene | Последовательность Sequence |
|---------------|---|
| <i>NGAL</i> | F 5'-TGAGCACCAACTACAACCAG-3' R 5'-AGAGATTTGGAGAAGCGGATG-3' [16] |
| <i>VEGF-A</i> | F 5'-AGGGCAGAATCATCACGAAGT-3' R 5'-AGGGTCTCGATTGGATGGCA-3' [17] |
| <i>MMP-13</i> | F 5'-CACTTTATGCTTACTGATGACG-3' R 5'-TCCTCGGAGACTGGTAATGG-3' [18] |
| <i>GAPDH</i> | F 5'-GGACTCATGACCACAGTCCA-3' R 5'-CCAGTAGAGGCAGGGATGAT-3' [19] |

Для статистической обработки данных использовали программное обеспечение STATISTICA 13 (разработчик StatSoft. Inc), Jamovi 1.6.8. Для сравнения независимых переменных применяли U-критерий Манна–Уитни ($p < 0,05$), для изучения связи между исследуемыми параметрами – коэффициент ранговой корреляции Спирмена ($p < 0,05$). Анализ выживаемости пациентов проводили по методу Каплана–Майера. Прогностическую значимость исследуемых параметров определяли с помощью регрессии Кокса.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Результаты исследования показали повышение экспрессии гена *NGAL* в циркулирующих Нф при РП начальных стадий ($p = 0,05$) и ее снижение при РП поздних стадий ($p = 0,03$) (табл. 3). Выявлена высокая экспрессия гена *MMP-13* в Нф на всех стадиях РП относительно контрольных значений (при I стадии $p = 0,005$; при II – $p = 0,003$; при III – $p = 0,0008$) (см. табл. 3). Однако различия в экспрессии гена *VEGF-A* в циркулирующих Нф при РП начальных и поздних стадий оказались статистически незначимыми.

Отмечена заметная прямая корреляция между экспрессией генов *NGAL* и *MMP-13* в Нф при РП I стадии ($r = 0,696$; $p = 0,003$). Кроме того, в группе пациентов с РП обнаружена прямая корреляционная связь между экспрессией генов *NGAL* и *VEGF-A* ($r = 0,322$; $p = 0,049$).

В мультивариантной регрессионной модели Кокса прогностической ценностью в отношении безрецидивной выживаемости обладала экспрессия генов *VEGF-A* (отношение рисков (OR) 1,06; 95 % доверительный

Таблица 3. Экспрессия генов *NGAL*, *MMP-13*, *VEGF-A* в циркулирующих нейтрофилах в зависимости от стадий рака почки, Ме (Q1–Q3)
Table 3. Expression of genes *NGAL*, *MMP-13*, *VEGF-A* in circulating neutrophils depending on the stages of kidney cancer, Me (Q1–Q3)

| Ген Gen | Контроль Control | I стадия Stage I | II стадия Stage II | III стадия Stage III |
|---------------|---------------------|---------------------|-----------------------|-------------------------|
| <i>NGAL</i> | 1,09 (0,48–3,54) | 3,00* (0,55–9,54) | 0,24 (0,23–1,11) | 1,00 (0,36–3,33) |
| <i>VEGF-A</i> | 1,92 (0,65–3,62) | 2,25 (0,18–7,11) | 3,34 (0,86–5,14) | 1,096 (0,65–3,96) |
| <i>MMP-13</i> | 0,293 (0,1–0,92) | 1,49* (1,00–10,59) | 2,01* (1,05–6,98) | 2,15* (0,91–6,46) |

*Статистически значимые различия по сравнению с группой контроля ($p \leq 0,05$).
*Statistically significant differences compared to the control ($p < 0.05$).

интервал (ДИ) 0,72–1,57; $p = 0,001$)) и *NGAL* (ОР 0,93; 95 % ДИ 0,62–1,40; $p = 0,007$)) в Нф до лечения. При увеличении на 1 единицу экспрессии гена *VEGF-A* в Нф риск возникновения метастазов возрастал в 0,80 раза (95 % ДИ 0,65–0,99; $p = 0,043$), а при увеличении экспрессии гена *NGAL* – в 1,42 раза (95 % ДИ 1,01–2,00; $p = 0,046$).

Анализ безрецидивной выживаемости по методу Каплана–Майера (log-rank-test) продемонстрировал, что у пациентов с РП с низкой и высокой экспрессией *VEGF-A* в циркулирующих Нф различия по этому показателю оказались статистически незначимыми ($p = 0,83$).

Анализ безрецидивной выживаемости по методу Каплана–Майера (log-rank-test) у пациентов с РП показал влияние уровня экспрессии *NGAL* в циркулирующих Нф на выживаемость без прогрессирования. В группе больных с высокой экспрессией *NGAL* медиана наблюдения составила 31,7 мес, в группе больных с низкой экспрессией этого гена – более 36 мес (log-rank-test; $p = 0,017$).

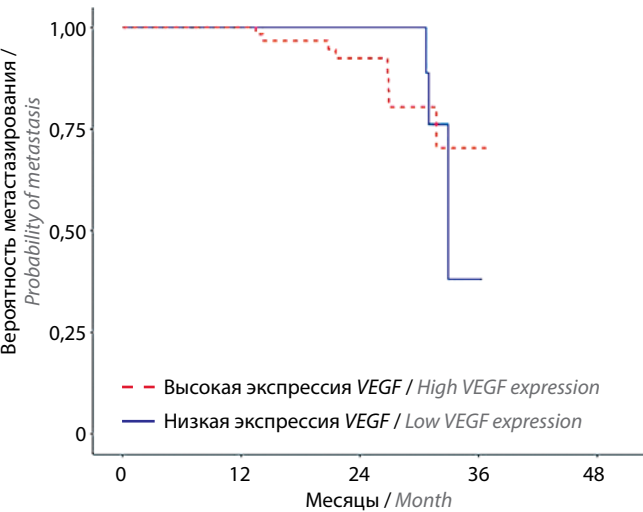


Рис. 1. Выживаемость без прогрессирования у пациентов с раком почки в зависимости от экспрессии гена *VEGF-A* в циркулирующих нейтрофилах
Fig. 1. Progression-free time curve of patients with kidney cancer depending on the expression of the *VEGF-A* gene in circulating neutrophils

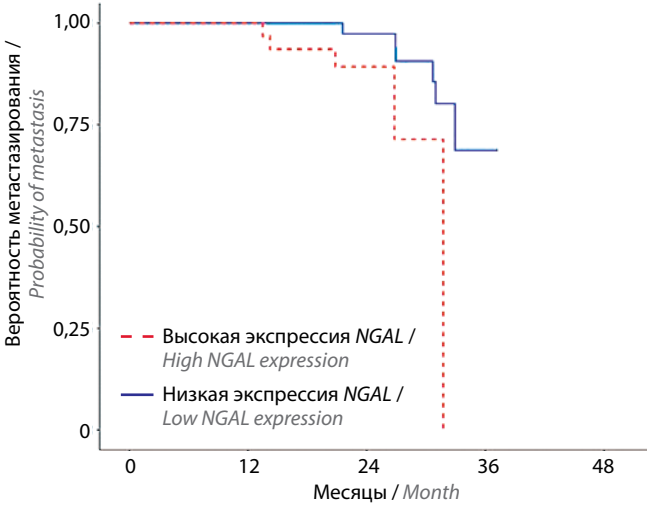


Рис. 2. Выживаемость без прогрессирования у пациентов с раком почки в зависимости от экспрессии гена *NGAL* в циркулирующих нейтрофилах
Fig. 2. Progression-free time curve of patients with kidney cancer depending on the expression of the *NGAL* gene in circulating neutrophils

ОБСУЖДЕНИЕ

Недавние исследования продемонстрировали, что опухолевые клетки изменяют иммунный ландшафт, секретируя цитокины, хемокины и факторы роста и облегчая метастазирование и прогрессирование опухоли [20].

Применение иммунотерапии показало многогранность иммунных процессов при канцерогенезе. Опухоль может использовать множественные механизмы иммунного ингибирования, приводящие к ее ускользанию от иммунного ответа и развитию неопластического ангиогенеза [21]. Высказано предположение о проопухолевой активности Нф при гепатоцеллюлярной карциноме, раке желудка, меланоме и фибросаркоме [22]. На модели опухоли печени показано, что усиленная гипоксия и воспаление поддерживают рекрутирование Нф, которые, в свою очередь, способствуют опухолевому ангиогенезу и прогрессии [23]. Выявлено, что Нф человека высвобождают внутриклеточный пул *VEGF-A* посредством дегрануляции, а также активируют проангиогенные функции других

иммунных клеток [22]. По данным недавних исследований, анти-VEGF-терапия способствует привлечению в опухоль Нф, которые, проявляя проангиогенные свойства, способствуют ее росту, что приводит к неэффективности данного вида лечения [6]. В связи с вышесказанным необходима разработка терапевтических подходов, нацеленных и на Нф, и на связанные с ними процессы ангиогенеза. Сочетание антиангиогенной терапии и иммунотерапии уже продемонстрировало свою эффективность в лечении рака [24].

Анализ экспрессии генов ангиогенных факторов и факторов воспаления позволяет оценить потенциальную роль циркулирующих Нф в прогрессировании РП. Известно, что MMP-13 участвует в неопластическом ангиогенезе, так как способна активировать MMP-9, которая в комплексе с NGAL усиливает высвобождение VEGF-A. Согласно данным исследований [25, 26], MMP-13 не обнаруживается в нормальных тканях, но экспрессируется в опухоли при различных типах рака (рак желудка, простаты, почки, молочной железы).

Повышенная экспрессия гена *NGAL* в Нф при РП начальных стадий подтверждает их проопухолевую роль, которая заключается в потенциальной способности усиливать неопластический ангиогенез через выработку MMP-13 [26]. Экспрессия гена MMP-13, по нашим данным, повышена в Нф при РП всех стадий.

Кроме того, NGAL способствует опухолевому росту путем образования комплекса MMP-9/NGAL [10].

Исследование L. Roli и соавт. (2017) показывает, что высокие уровни NGAL в биологических жидкостях, таких как сыворотка и моча, могут быть использованы для прогнозирования безрецидивной выживаемости пациентов с колоректальным раком и раком молочной железы [27]. Однако его прогностическая и диагностическая значимость для опухолей почек остается неясной.

Проведенные ранее исследования [8, 28] показывают, что высокие уровни экспрессии NGAL и VEGF-A связаны с неблагоприятным прогнозом РП. Мы выявили предиктивную значимость экспрессии генов *NGAL* и *VEGF-A* в Нф в мультивариантной модели Кокса при метастазировании РП. Прогностическую значимость показала также экспрессия гена *NGAL* в циркулирующих Нф при РП, что может свидетельствовать о значительном вкладе NGAL в этих клетках в прогрессировании РП.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, полученные данные позволяют предположить, что циркулирующие Нф играют ведущую роль в прогрессировании РП. Уровень экспрессии NGAL в этих клетках может быть использован для прогнозирования безрецидивного периода у пациентов с данной патологией.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- deVivar Chevez A.R., Finke J., Bukowski R. The role of inflammation in kidney cancer. *Inflammation and Cancer. Adv Exp Med Biol* 2014;816:197–234. DOI: 10.1007/978-3-0348-0837-8_9
- Zhao H., Wu L., Yan G. et al. Inflammation and tumor progression: signaling pathways and targeted intervention. *Signal Transduct Target Ther* 2021;6(1):263. DOI: 10.1038/s41392-021-00658-5
- Крамарь Т.В. Патофизиологические аспекты воспалительного и невоспалительного неоангиогенеза. *Крымский журнал экспериментальной и клинической медицины* 2020;3:59–63. Kramar T.V. Pathophysiological aspects of inflammatory and non-inflammatory neoangiogenesis. *Krymskij zhurnal eksperimental'noj i klinicheskoy mediciny = Crimean Journal of Experimental and Clinical Medicine* 2020;3:59–63. (In Russ.).
- Долгушин И.И. Нейтрофильные гранулоциты: новые лица старых знакомых. *Бюллетень сибирской медицины* 2019;18(1):30–7. DOI: 10.20538/1682-0363-2019-1-30-37 Dolgushin I.I. Neutrophil granulocytes: new faces of old acquaintances. *Byulleten' sibirskoy mediciny = Bulletin of Siberian Medicine* 2019;18(1):30–7. (In Russ.) DOI: 10.20538/1682-0363-2019-1-30-7. (In Russ.).
- Kowanetz M., Wu X., Lee J. et al. Granulocyte-colony stimulating factor promotes lung metastasis through mobilization of Ly6G+Ly6C+ granulocytes. *Proc Natl Acad Sci USA* 2020;107(50):21248–55. DOI: 10.1073/pnas.1015855107
- Ozel I., Duerig I., Domnich M. et al. The good, the bad, and the ugly: neutrophils, angiogenesis, and cancer. *Cancers (Basel)* 2022;14(3):536. DOI: 10.3390/cancers14030536
- Apte R.S., Chen D.S., Ferrara N. VEGF in signaling and disease: beyond discovery and development. *Cell* 2019;176(6):1248–64. DOI: 10.1016/j.cell.2019.01.021
- Purohit A., Saxena S., Varney M. et al. Host Cxcr2-dependent regulation of pancreatic cancer growth, angiogenesis, and metastasis. *Am J Pathol* 2021;191(4):759–71. DOI: 10.1016/j.ajpath.2021.01.002
- Ben Khadhra H., Rose-Robert F., Herpe Y.E. et al. ARCHITECT® urine-neutrophil gelatinase-associated lipocalin (u-NGAL) assay as new prognostic marker for clear cell Renal Cell Carcinoma (ccRCC) (preliminary results). *Int Urol Nephrol* 2020;53(1):59–67. DOI: 10.1007/s11255-020-02604-w
- Chakraborty S., Kaur S., Guha S., Batra S.K. The multifaceted roles of neutrophil gelatinase associated lipocalin (NGAL) in inflammation and cancer. *Biochim Biophys Acta* 2012;1826(1):129–69. DOI: 10.1016/j.bbcan.2012.03.008
- Zhu S., Li S., Yi M. et al. Roles of microvesicles in tumor progression and clinical applications. *Int J Nanomed* 2021;16:7071–90. DOI: 10.2147/IJN.S325448
- Maskarinec S.A., McKelvy M., Boyle K. et al. Neutrophil functional heterogeneity is a fixed phenotype and is associated with distinct gene expression profiles. *J Leukoc Biol* 2022;112(6):1485–95. DOI: 10.1002/JLB.4A0322-164R
- Mantovani A., Cassatella M.A., Costantini C., Jaillon S. Neutrophils in the activation and regulation of innate and adaptive immunity. *Nat Rev Immunol* 2011;11(8):519–31. DOI: 10.1038/nri3024

14. Liu K., Sun E., Wang L. et al. Gene expression in human polymorphonuclear neutrophils (PMNs) stimulated by bacillus Calmette–Guérin (BCG). *Inflammation* 2020;43(6):2098–108. DOI: 10.1007/s10753-020-01277-y
15. Ramezani A. CtNorm: realtime PCR cycle of threshold (Ct) normalization algorithm. *J Microbiol Methods* 2021;187:106267. DOI: 10.1016/j.mimet.2021.106267
16. Mir S.U., Jin L., Craven R.J. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) expression is dependent on the tumor-associated sigma-2 receptor S2RPrmc1. *J Biol Chem* 2012;287(18):14494–501. DOI: 10.1074/jbc.M111.324921
17. Zhang Q., Lu D., Liu W. et al. Effects of KIF2A on the prognosis of nasopharyngeal carcinoma and nasopharyngeal carcinoma cells. *Oncol Lett* 2019;18(3):2718–23. DOI: 10.3892/ol.2019.10597
18. Sofia V., Nasrul E., Manjas M., Revilla G. Analysis of the relationship between RELA gene expression and MMP-13 gene expression in synovial cells after mesenchymal stem cell wharton jelly. *Open Access Maced J Med Sci* 2019;7(4):543–8. DOI: 10.3889/oamjms.2019.135
19. Irvani Saadi M., Salami J., Abdi H. et al. Expression of interleukin 1, interleukin 27, and TNF- α genes in patients with ischemic cardiomyopathy versus idiopathic dilated cardiomyopathy: a case-control study. *Health Sci Rep* 2022;5(4):e701. DOI: 10.1002/hsr.2.701
20. Varricchi G., Galdiero M.R., Marone G. et al. Controversial role of mast cells in skin cancers. *Exp Dermatol* 2017;26:11–7. DOI: 10.1111/exd.13107
21. Chen D.S., Mellman I. Elements of cancer immunity and the cancer-immune set point. *Nature* 2017;541(7637):321–30. DOI: 10.1038/nature21349
22. Jablonska J., Leschner S., Westphal K. et al. Neutrophils responsive to endogenous IFN- β regulate tumor angiogenesis and growth in a mouse tumor model. *J Clin Invest* 2010;120(4):1151–64. DOI: 10.1172/JCI37223
23. Zhao Y., Huang X., Ding T.W., Gong Z. Enhanced angiogenesis, hypoxia and neutrophil recruitment during Myc-induced liver tumorigenesis in zebrafish. *Sci Rep* 2016;6:31952. DOI: 10.1038/srep31952
24. Lee W.S., Yang H., Chon H.J., Kim C. Combination of anti-angiogenic therapy and immune checkpoint blockade normalizes vascular-immune crosstalk to potentiate cancer immunity. *Exp Mol Med* 2020;52(9):1475–85. DOI: 10.1038/s12276-020-00500-y
25. Shah M., Huang D., Blick T. et al. An MMP13-selective inhibitor delays primary tumor growth and the onset of tumor-associated osteolytic lesions in experimental models of breast cancer. *PLoS One* 2012;7(1):e29615. DOI: 10.1371/journal.pone.0029615
26. Li S., Pritchard D.M., Yu L.G. Regulation and function of matrix metalloproteinase-13 in cancer progression and metastasis. *Cancers (Basel)* 2022;14(13):3263. DOI: 10.3390/cancers14133263
27. Roli L., Pecoraro V., Trenti T. Can NGAL be employed as prognostic and diagnostic biomarker in human cancers? A systematic review of current evidence. *Int J Biol Markers* 2017;32(1):e53–61. DOI: 10.5301/jbm.5000245
28. Спирина Л.В., Кондакова И.В., Усынин Е.А. и др. Влияние транскрипционных факторов, VEGF и протеиназы на прогрессирование рака почки. *Сибирский онкологический журнал* 2018;17(4):67–74. DOI: 10.21294/1814-4861-2018-17-4-67-74
- Spirina L.V., Kondakova I.V., Usynin E.A. et al. Impact of transcription factors, VEGF and proteases on kidney cancer progression. *Sibirskij onkologicheskij zhurnal = Siberian Journal of Oncology* 2018;17(4):67–74. (In Russ.). DOI: 10.21294/1814-4861-2018-17-4-67-74

Вклад авторов

И.Р. Мягдиева: проведение полимеразной цепной реакции, анализ полученных данных, написание текста статьи;
Т.В. Абакумова: научное руководство, разработка концепции и дизайна исследования;
Д.Р. Долгова: подбор праймеров;
О.Ю. Горшков: подбор групп пациентов, сбор клинических данных;
Т.П. Генинг: научное редактирование.

Authors' contribution

I.R. Myagdieva: conducting a polymerase chain reaction, analyzing the data obtained, article writing;
T.V. Abakumova: scientific guidance, development of the concept and design of the study;
D.R. Dolgova: selection of primers;
O.Y. Gorshkov: selection of patient groups, collection of clinical data;
T.P. Gening: scientific editing.

ORCID авторов / ORCID authors

И.Р. Мягдиева / I.R. Magdieva: <https://orcid.org/0000-0002-3908-0840>
Т.В. Абакумова / T.V. Abakumova: <https://orcid.org/0000-0001-7559-5246>
Д.Р. Долгова / D.R. Dolgova: <https://orcid.org/0000-0001-5475-7031>
Т.П. Генинг / T.P. Gening: <https://orcid.org/0000-0002-5117-1382>

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

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

Финансирование. Работа выполнена без спонсорской поддержки.

Funding. The work was performed without external funding.

Соблюдение прав пациентов и правил биоэтики. Протокол исследования одобрен локальным этическим комитетом Института медицины, экологии и физической культуры ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный университет» (протокол № 1 от 15.01.2020). Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании.

Compliance with patient rights and principles of bioethics. The study protocol was approved by the biomedical ethics committee of Institute of Medicine, Ecology and Physical Culture of the Ulyanovsk State University. All patients gave written informed consent to participate in the study.

Статья поступила: 28.11.2023. **Принята к публикации:** 12.02.2024.

Article submitted: 28.11.2023. **Accepted for publication:** 12.02.2024.