

Л. Л. Ахмалдинова<sup>1</sup>, И. С. Азизов<sup>2</sup>, О. В. Авдиенко<sup>1</sup>

### МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ОНКОМАРКЕРЫ ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ ИНТОКСИКАЦИИ И ВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ

<sup>1</sup>Карагандинский государственный медицинский университет (Караганда, Казахстан),  
<sup>2</sup>НИИ антимикробной химиотерапии (Смоленск, Россия)

Патогенез связи фоновой патологии и диагностической значимости онкологии представляет большой интерес.

Целью исследования стало изучения уровня молекулярных онкомаркеров у ВИЧ-инфицированных с фоном парентеральных форм наркотических средств и без отягощающего фона. Для исследования использовали сыворотку 30 ВИЧ+ потребителей инъекционных форм наркотиков, 30 ВИЧ+ пациентов без фона наркотической зависимости. Контрольную группу составили 23 здоровых человека, отрицательных при скрининге на ВИЧ-инфекцию, группу сравнения – 23 пациента с наркотической зависимостью.

Методом xMar на Биоплекс 3Д с применением набора Cancer Biomarkers panel были исследованы следующие маркеры: sHER-2, sEGFR, sIL-6R $\alpha$ , FGF, sVEGFR-1, sVEGFR-2, PECAM-1, PDGF AB/BB, G-SCF, sTIE-2, SCF, остеопонтин.

Обнаружено увеличение уровней sHER-2, sEGRf, sIL-6RA, sVEGfr-2, PECAM-1, sTIE-2 у всех ВИЧ-инфицированных пациентов. Маркеры SCF и FGF повышены только у ВИЧ+ потребителей инъекционных форм наркотиков. Потребители инъекционных форм наркотиков имеют повышенный уровень провоспалительных маркеров sIL-6RA, PECAM1, остеопонтин и уровень HER-2. Таким образом, исследование биомаркеров канцерогенеза имеет свои особенности у пациентов с предсуществующей инфекцией и интоксикацией.

*Ключевые слова:* онкомаркеры, рак, ВИЧ, потребители инъекционных форм наркотиков

Ряд биомаркеров широко применяют в клинической или исследовательской практике для скрининга, прогноза и диагностики онкологического заболевания. Чаще всего это маркеры, которые тесно связаны с дифференцировкой, размножением клеток или факторами, поддерживающими ангиогенез. Однако низкая специфичность и недостаточная чувствительность обуславливают вопрос, насколько в уровень биомаркеров канцерогенеза вносят вклад сопутствующие заболевания и интоксикация. Одним из крайних примеров может служить ВИЧ-инфекция и СПИД. Классическая клиническая картина СПИДа характеризуется развитием пролиферативных заболеваний, однако в большем случае это касается вирус-ассоциированных онкологических заболеваний (саркома Капоши, лимфома). Но накапливаются данные, что ВИЧ-инфекция, даже при эффективном своевременном приеме антиретровирусных (АРТ) препаратов способствует увеличению случаев онкологических заболеваний [8, 9, 12, 14]. Связано это с ВИЧ-инфекцией или является последствием социального неблагополучия и токсического воздействия посторонних факторов, вопрос остается открытым. Лишь недавно появились данные, что онкогены участвуют во внутриклеточной персистенции ВИЧ [3], но эти вопросы еще обсуждаются. Это открывает новые горизонты исследования и поиска терапевтических стратегий ВИЧ-инфекции.

Исследование не только эффективности

социально-профилактических, но и фундаментальных проблем взаимодействия вируса и иммунной системы поможет разработать новые эффективные подходы к лечению ВИЧ/СПИД.

**Цель работы** – изучение фонового уровня молекулярных онкомаркеров на примере ВИЧ-инфицированных с фоном парентеральных форм наркотических средств и без отягощающего фона.

#### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В I группу вошли 30 ВИЧ-инфицированных пациентов без фона наркотической зависимости. Гендерный состав: 43,3% мужчин, 56,6% женщин. Средний возраст – 33 $\pm$ 9,6 г. (минимум 19 лет, максимум 52 г.). Среднее содержание CD4 лимфоцитов – 468,75 $\pm$ 186,57 кл/мкл (Me 438 кл/мкл). Средняя вирусная нагрузка – 252427 $\pm$ 366918 копий/мл (Me 3000 копий/мл). На специфической АРТ-терапии находились 11 пациентов.

Во II группу вошли 30 ВИЧ-инфицированных потребителей инъекционных форм наркотиков (ПИН). В большинстве случаев наркотиками были опиаты (героин и его аналоги). Средний возраст – 35,7 $\pm$ 6,1 г. (минимум 27, максимум 51 г.). Средний стаж употребления – 14 $\pm$ 6,5 г. (минимум 6 лет, максимум 29). Гендерный состав: 56% мужчин, 44% женщин. Среднее содержание CD4 лимфоцитов – 502,1 $\pm$ 220,42 кл/мкл (Me 456 кл/мкл). Средняя вирусная нагрузка – 331971 $\pm$ 516697 копий/мл

(Me 11200 копий/мл). На АРТ-терапии находились 12 пациентов.

Группу III составили 23 ПИН без маркеров ВИЧ-инфекции. В большинстве случаев наркотиками были опиаты (героин и его аналоги). Средний возраст –  $32,0 \pm 6,53$  г. Средний стаж употребления –  $9 \pm 4,5$  г. (минимум 4 лет, максимум 17). Гендерный состав: мужчин 56,5% и женщин 43,5%.

Контрольную группу составили 23 условно-здоровых лица, отрицательных при скрининге на ВИЧ-инфекцию. Средний возраст –  $33 \pm 6,4$  г. (минимум 19, максимум 46 лет). Гендерный состав: мужчин 56,5% и женщин 43,5%.

Критериями исключения являлись отсутствие признаков СПИДа; отсутствие онкологических заболеваний в анамнезе; возраст до 18 лет.

Пациенты отбирались в исследование согласно региональным этическим нормам.

**Мультиплексное исследование.** Для анализа использовали сыворотку крови. Для мультиплексного определения факторов пролиферации и ангионеза, которые могут быть онкомаркерами, использовали иммунофлуоресцентное исследование методом xMap на Биоплекс 3Д с применением набора Cancer Biomarkers panel (Bio-Rad Laboratories, Inc. (USA).

Определено содержание 12 маркеров у ВИЧ-инфицированных без признаков СПИДа и опухолевого процесса с фоном интоксикации и без, чтобы выяснить изменяются ли эти маркеры на фоне инфекции, и является ли токсическое действие посторонних факторов спусковым крючком.

В исследование включили следующие маркеры: sHER-2 (растворимый рецептор HER-2), sEGFR (растворимый рецептор эпидермального фактора роста), sIL-6Ra (растворимый рецептор интерлейкина 6), FGF (фактор роста фибробластов), sVEGFR-1s, VEGFR-2 (растворимые рецепторы роста эндотелия сосудов 1 и 2), PECAM-1 (platelet/endothelial cell adhesion molecule – молекула адгезии тромбоцитов/эндотелия), PDGF AB/BB (фактор роста тромбоцитов), G-SCF (колониобразующий фактор гранулоцитов), sTIE-2 (растворимый ангиопоэтин TIE-2), SCF (фактор роста стволовых клеток, остеопонтин).

**Методы статистической обработки.**

Статистическая обработка проводилась с использованием программы Statistica 6.0 (StatSoft) путем определения средних величин, межгрупповых различий в тесте оценки различий между значениями показателей исследуемых трех групп однофакторным дисперсион-

ным анализом с последующим использованием LSD теста Фишера. Значимость различий оценивали с использованием показателя P-value.

**РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ**

Проанализированы результаты исследования биомаркеров рака у пациентов с ВИЧ (табл. 1).

Выявлено, что в обеих группах с ВИЧ-инфекцией значимо повышены биомаркеры sHER-2 ( $p < 0,001$ ), sEGRf ( $p < 0,001$ ). Статистической разницы между обеими группами ВИЧ+ не выявлено. Сверхэкспрессия и амплификация этих маркеров являются важным диагностическим и прогностическим признаком рака молочной железы и иногда других солидных опухолей [1, 11]. Однако у пациентов, вошедших в представленное исследование, нет признаков опухолевого процесса, поэтому причины повышения этих маркеров, возможно, кроются в расстройствах регуляции клеточной пролиферации. В группе потребителей инъекционных форм наркотиков без ВИЧ отмечалось только повышение уровня sHER-2 ( $p < 0,001$ ), а уровень sEGRf не отличался от контроля и был достоверно ниже, чем в группах ВИЧ+ ( $p = 0,024$ ;  $p = 0,01$ ).

Есть данные, что при ВИЧ, как и при любой инфекции, IL-6 повышается [2]. В настоящем исследовании выявлено резкое повышение растворимого рецептора провоспалительного маркера IL-6 (sIL-6RA) в обеих группах ВИЧ+ пациентов в равной степени. sIL-6RA увеличивается у потребителей наркотиков, в большей степени увеличивается при ВИЧ, и в максимальной степени увеличивается при ВИЧ+ПИН. Все группы значимо различаются между собой ( $0,000 \leq p \leq 0,019$ ).

Зарегистрировано увеличение сывороточного уровня sVEGFR-2, но не sVEGFR-1 в обеих группах ВИЧ+. Есть данные, что sVEGFR-2 может принимать участие в ВИЧ-ассоциированном повреждении почек [10]. В группе потребителей наркотиков уровень эти маркеров остался без изменений.

Исследование показало почти 2-кратное увеличение уровня PECAM-1 в обеих ВИЧ+ группах ( $p < 0,001$ ). Это молекула клеточной адгезии с проангиогенной и провоспалительной активностью. У ВИЧ-инфицированных ранее обнаруживались повышенные уровни PECAM-1 в сыворотке, но данные противоречивы [6, 13]. У ПИН уровень PECAM-1 был повышен по сравнению с контролем ( $p = 0,002$ ), но значимо ниже, чем при ВИЧ+ПИН ( $p = 0,012$ ).

Повышение sTIE-2 отмечалось у всех ВИЧ+ пациентов в равной степени. sTIE2 –

Таблица 1 – Результаты исследования биомаркеров рака у пациентов с ВИЧ

| Маркер      | Контроль |       |       | ВИЧ    |       |       | ВИЧ+ ПИН |       |       | ПИН    |       |       | P     |
|-------------|----------|-------|-------|--------|-------|-------|----------|-------|-------|--------|-------|-------|-------|
|             | M        | CI-95 | CI+95 | M      | CI-95 | CI+95 | M        | CI-95 | CI+95 | M      | CI-95 | CI+95 |       |
| (нг/мл)     |          |       |       |        |       |       |          |       |       |        |       |       | ANOVA |
| SHER-2      | 2,72     | 2,24  | 3,20  | 5,58*  | 4,86  | 6,31  | 4,88*    | 4,15  | 5,60  | 5,19*  | 4,15  | 5,89  | 0,000 |
| sEGFR       | 11,15    | 9,56  | 12,74 | 18,08* | 15,55 | 20,61 | 17,72*   | 15,08 | 20,36 | 13,74  | 12,6  | 15,5  | 0,000 |
| sIL-6Rα     | 7,75     | 6,46  | 9,05  | 20,98* | 17,47 | 24,48 | 24,09*   | 20,58 | 27,60 | 12,62* | 10,2  | 15,2  | 0,000 |
| FGF         | 0,11     | 0,10  | 0,12  | 0,12   | 0,11  | 0,12  | 0,13*    | 0,12  | 0,14  | 0,14*  | 0,12  | 0,15  | 0,023 |
| PECAM-1     | 4,02     | 3,29  | 4,74  | 7,84*  | 6,75  | 8,93  | 8,32*    | 7,40  | 9,25  | 6,05*  | 5,01  | 7,74  | 0,000 |
| PDGF AB/BB  | 5,82     | 4,83  | 6,81  | 5,37   | 4,13  | 6,61  | 6,41     | 5,06  | 7,76  | 6,86   | 5,6   | 8,44  | 0,27  |
| G-SCF       | 0,04     | 0,04  | 0,05  | 0,05   | 0,04  | 0,06  | 0,06     | 0,02  | 0,10  | 0,05   | 0,04  | 0,055 | 0,85  |
| sTIE2       | 2,00     | 1,68  | 2,33  | 3,21*  | 2,68  | 3,74  | 3,55*    | 2,90  | 4,19  | 2,42   | 1,98  | 2,8   | 0,000 |
| SCF         | 0,17     | 0,14  | 0,20  | 0,20   | 0,18  | 0,21  | 0,21*    | 0,19  | 0,23  | 0,21*  | 0,17  | 0,23  | 0,017 |
| sVEGFR-1    | 0,40     | 0,32  | 0,47  | 0,38   | 0,33  | 0,43  | 0,47     | 0,36  | 0,58  | 0,41   | 0,36  | 0,53  | 0,47  |
| sVEGFR-2    | 1,97     | 1,64  | 2,30  | 4,72*  | 4,02  | 5,42  | 4,10*    | 3,43  | 4,78  | 2,88   | 2,11  | 3,9   | 0,000 |
| Остеопонтин | 20,32    | 15,31 | 25,34 | 20,42  | 16,95 | 23,89 | 34,92    | 18,51 | 51,33 | 32,57* | 23,4  | 47,54 | 0,045 |

один их важнейших регуляторов ангиогенеза. Есть данные о повышении его во время ВИЧ-инфекции и использовании в качестве прогностических маркеров тяжести заболевания и осложнений [4, 5, 8]. При наркомании не происходит значимого повышения этого маркера.

Такие биомаркеры, как FGF, SCF, остеопонтин, значимо повышены только в группе потребителей инъекционных форм наркотиков ВИЧ+ и ВИЧ- в равной степени. Эти маркеры играют роль в процессах пролиферации, регенерации широкого спектра клеток и тканей.

Изменений остальных изучаемых биомаркеров в исследуемых группах не обнаружено.

#### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Исследование фонового уровня биомаркеров канцерогенеза имеет свои особенности у пациентов с инфекцией и интоксикацией. Количественный мультиплексный анализ выявил тенденцию к повышению отдельных онкомаркеров (sIL-6RA, sVEGfr-2, PECAM-1, sTIE-2), что может расцениваться как реакция на инфекционный агент. Увеличение таких маркеров, как SCF и FGF у ВИЧ+ потребителей наркотических препаратов, по видимому, отражает компенсаторные реакции на хроническую интоксикацию. Однако увеличение уровня sHER-2, sEGFR сложно объяснить инфекционным процессом. sHER-2 является ключевым лигандом для полимерации большого числа тирозинкиназ из семейства эпидермального фактора роста. При ВИЧ выявлены изменения содержания нескольких рецепторов из семейства EGf, что создает фон для гиперпролиферации клеток и может служить одним из пусковых механизмов повышенной частоты не- вирус-ассоциированных онкологических заболеваний.

В целом необходимо учитывать повышенный уровень биомаркеров у лиц с первичной инфекцией любого генеза и интоксикацией при интерпретации онкомаркеров.

**Конфликт интересов.** Конфликт интересов не заявлен.

Работа выполнена в рамках НТП «Персонализированный подход в управлении ряда значимых заболеваний» МОН РК.

#### ЛИТЕРАТУРА

1 Appert-Collin A. Role of ErbB Receptors in Cancer Cell Migration and Invasion /A. Appert-Collin, P. Hubert, G. Crémel, A. //Front Pharmacol. – 2015. – V. 6. – P. 283-291.

2 Calza L. Changes in Serum Markers of Inflammation and Endothelial Activation in HIV-Infected Antiretroviral Naive Patients Starting A Treatment with Abacavir-Lamivudine or Tenofovir-Emtricitabine Plus Efavirenz /L. Calza, E. Magis-

trelli, I. Danese //Curr. HIV Res. – 2016. – V. 14 (1). – P. 61-70.

3 Cohen J. HIV/AIDS. Cancer genes help HIV persist, complicating cure efforts //Science. – 2014. – V. 14. – P. 1188.

4 Conroy A. L. Altered angiogenesis as a common mechanism underlying preterm birth, small for gestational age, and stillbirth in women living with HIV /A. L. Conroy, C. R. McDonald, J. L. Gamble //Am. J. Obstet. Gynecol. – 2017. – V. 217 (6). – P. 684-689.

5 Dysangco A. HIV-infection, antiretroviral therapy, and measures of endothelial function, inflammation, metabolism, and oxidative stress /A. Dysangco, Z. Liu, J. H. Stein //PLoS One. – 2017. – V. 12. – e0183511

6 Eugenin E. A. Shedding of PECAM-1 during HIV infection: a potential role for soluble PECAM-1 in the pathogenesis of NeuroAIDS /E. A. Eugenin, R. Gamss, C. Buckner //J. Leukoc. Biol. – 2006. – V. 79 (3). – P. 444-452.

7 Eller M. A. Biomarkers of Inflammation Correlate with Clinical Scoring Indices in HIV-Infected Kenyans /M. A. Eller, A. Letizia, C. Polyak //J. Infect. Dis. – 2018. – [Epub ahead of print].

8 Graham S. M. Elevation of soluble intercellular adhesion molecule-1 levels, but not angiopoietin 2, in the plasma of human immunodeficiency virus-infected African women with clinical Kaposi sarcoma /S. M. Graham, N. Rajwans, B. A. Richardson //Am. J. Trop. Med. Hyg. – 2014. – V. 91 (4). – P. 705-708.

9 Hesso N. Lung cancer incidence and survival among hiv-infected and uninfected women and men /N. Hesso, O. Martínez-maza, A. M. Levine //AIDS. – 2015. – V. 29 (10). – P. 1183-1193.

10 Korgaonkar S. N. HIV-1 upregulates VEGF in podocytes /S. N. Korgaonkar, X. Feng //J. Am. Soc. Nephrol. – 2008. – V. 19 (5). – P. 877-883.

11 Papila C. Clinical significance and prognostic value of serum sHER-2/neu levels in patients with solid tumors /C. Papila, H. Uzun, H. Balci //Medical Oncology. – 2009. – V. 26. – P. 151-156.

12 Sigel K. Lung Malignancies in HIV Infection/ K. Sigel, R. Pitts //Semin. Respir. Crit. Care Med. – 2016. – V. 37 (2). – P. 267-276.

13 Thakoordeen S. Serum levels of platelet endothelial cell adhesion molecule-1 (PECAM-1) and soluble vascular endothelial growth factor receptor (sVEGFR)-1 and -2 in HIV-associated preeclampsia /S. Thakoordeen, J. Moodley, T. Naicker //Hypertens Pregnancy. – 2017. – V. 36 (2). – P. 168-174.

14 Wang C. J. Non-AIDS-Defining Malignancies in the HIV-Infected Population /C. J. Wang, M. J. Silverberg, D. I. Abrams //Curr. In-

fect. Dis. Rep. – 2014. – V. 16 (6). – P. 406.

Поступила 12.07.2018 г.

*L. L. Akhmaltdinova<sup>1</sup>, I. S. Azizov<sup>2</sup>, O. V. Avdienko<sup>1</sup>*

*MOLECULAR CANCER MARKERS WITH CHRONIC INTOXICATION AND VIRAL INFECTION*

*<sup>1</sup>Karaganda state medical university (Karaganda, Kazakhstan), <sup>2</sup>Research institute of antimicrobial chemotherapy (Smolensk, Russia)*

Pathogenesis of the connection infection, intoxication and cancer is the interesting and actual problem for research. The aim of the study was to investigate the level of cancer biomarkers in HIV-infected patients with a background of narcotic drugs parenteral forms use and in HIV-infected patients without aggravating background.

The authors analyzed the serum from 30 HIV-positive injecting drug users, 30 HIV-positive patients without drug addiction. The control group consisted of 30 healthy people, negative in screening for HIV-infection, and the comparison group consisted of 23 patients with drug dependence. The authors used xMap method on Bioplex 3D with set Cancer Biomarkers panel: sHER/2, sEGFR, sIL-6R $\alpha$ , FGF, sVEGFR-2, PECAM1, PDGF AB/BB, G-SCF, sTIE2, SCF, sVEGFR-1, osteopontin.

The authors of the article revealed the increased levels of sHER/2, sEGFR, sIL-6RA, sVEGFR2, PECAM1, sTIE2 in all HIV-infected patients. SCF and FGF markers were increased only in injecting drug users (HIV+/HIV-). The drug addicts with HIV had the increased level of inflammatory markers sIL-6RA, PECAM 1, osteopontin and the level of HER-2.

Thus, the study of carcinogenesis biomarkers has its own peculiarities in HIV-positive patients, including with complications of drug addiction.

*Key words:* cancer biomarkers, cancer, HIV, drug addiction

*Л. Л. Ахмалтдинова<sup>1</sup>, И. С. Азизов<sup>2</sup>, О. В. Авдиенко<sup>1</sup>*

*СОЗЫЛМАЛЫ ИНТОКСИКАЦИЯ ЖӘНЕ ВИРУСТЫҚ ИНФЕКЦИЯ КЕЗІНДЕГІ МОЛЕКУЛЯРЛЫҚ ОНКОМАРКЕРЛЕР*

*<sup>1</sup>Қарағанды мемлекеттік медициналық университеті (Қарағанды, Қазақстан), <sup>2</sup>Антимикробты химиотерапия ҒЗИ (Смоленск, Россия)*

Онкологияның фондық патологиясы мен диагностикалық маңызы байланысының патогенезі үлкен қызығушылық тудырады.

ВИЧ-жұқпалы науқастардағы молекулярлық онкомаркерлердің есірткілік заттардың парентералдық формалары фонымен және ауыр фонсыз деңгейін зерделеу болып табылады. Зерделеу үшін 30 есірткінің инъекциялық формаларын тұтынушылардың, есірткіге тәуелсіздік фонындағы 30 ВИЧ+ пациенттің сарысуы пайдаланылды. Бақылау тобын ВИЧ-инфекцияға скрининг кезінде теріс көрсеткіштегі 23 сау адам, салыстыру тобын – есірткіге тәуелді 23 пациент құрады.

Биоплекс 3D-ге xMap әдісімен CancerBiomarkerspanel жиынтығын қолданумен были келесі маркерлер зерттелді: sHER-2, sEGFR, sIL-6R $\alpha$ , FGF, sVEGFR-1, sVEGFR-2, PECAM-1, PDGF AB/BB, G-SCF, sTIE-2, SCF, остеопонтин.

Барлық ВИЧ-жұқпалы пациенттерде sHER-2, sEGFR, sIL-6RA, sVEGFR-2, PECAM-1, sTIE-2 деңгейлерінің ұлғаюы анықталды. SCF және FGF маркерлері тек ВИЧ+есірткінің инъекциялық формаларын тұтынушыларда жоғары болған. Есірткінің инъекциялық формаларын тұтынушыларда sIL-6RA, PECAM1 маркерлерінің, остеопонтиннің және HER-2 деңгейінің жоғарылауы белгіленген. Осылайша, канцерогенез биомаркерлерін зерделеу инфекция мен интоксикацияға бір табан жақын пациенттерде өзінің ерекшеліктері болатынын көрсетті.

*Кілт сөздер:* онкомаркерлер, қатерлі ісік, ВИЧ, есірткінің инъекциялық формаларын тұтынушылар