



# Молекулярные показатели клеток шейки матки в качестве диагностических маркеров цервикальной интраэпителиальной неоплазии третьей степени

Е.В. Каюкова, к.м.н., Т.Е. Белокриницкая, д.м.н., проф., В.А. Мудров, к.м.н.

Адрес для переписки: Елена Владимировна Каюкова, elena\_pochta22@mail.ru

Для цитирования: Каюкова Е.В., Белокриницкая Т.Е., Мудров В.А. Молекулярные показатели клеток шейки матки в качестве диагностических маркеров цервикальной интраэпителиальной неоплазии третьей степени. Эффективная фармакотерапия. 2022; 18 (21): 14–19.

DOI 10.33978/2307-3586-2022-18-21-14-19

*Цервикальная интраэпителиальная неоплазия (ЦИН) 3-й степени является предраковым заболеванием шейки матки. С учетом несовершенства цервикального скрининга актуальными остаются исследования по определению новых молекулярных диагностических критериев, позволяющих выявить предопухольный процесс с целью своевременного лечения, предотвращения развития рака шейки матки и его последствий.*

**Цель** – определить информативность исследования молекулярных показателей цервикального эпителия в качестве диагностических маркеров ЦИН 3-й степени.

**Материал и методы.** Выполнен проспективный анализ по выявлению молекулярных диагностических критериев ЦИН 3-й степени среди локальных уровней спектра высших жирных кислот, сосудисто-воспалительных факторов (MG, MMP-2, CAL, LCN2, OPN, VCAM-1, SAA, MPO, IGFBP-4, ICAM-1, CC, MMP-9), белков контрольных точек иммунного цикла (sCD25, 4-1BB, B7.2, TGF- $\beta$ 1, CTLA-4, PD-L1, PD-1, Tim-3, LAG-3, Galectin-9, sCD27, PD-L2) у больных ЦИН 3-й степени.

Исследование выполнено с использованием газожидкостной хроматографии, проточной цитометрии.

**Результаты.** Среди ВЖК лучшим диагностическим потенциалом характеризовалось пороговое значение  $C_{15:1} \geq 1,0\%$  клетки ( $Se = 1,0$ ;  $Sp = 1,0$ ;  $Ac = 1,0$ ;  $AUC = 1,0$ ),  $C_{17:1} \leq 2,2\%$  ( $Se = 1,0$ ;  $Sp = 1,0$ ;  $Ac = 1,0$ ;  $AUC = 1,0$ ),  $C_{18:3\omega6} < 2,5\%$  клетки ( $Se = 1,0$ ;  $Sp = 1,0$ ;  $Ac = 1,0$ ;  $AUC = 1,0$ ), среди сосудисто-воспалительных факторов – локальная величина VCAM-1  $> 0,3$  нг/мл ( $Se = 0,75$ ;  $Sp = 0,73$ ;  $Ac = 0,7$ ;  $AUC = 0,74$ ), среди белков контрольных точек иммунного цикла – локальное значение B7.2  $\geq 15$  нг/мл ( $Se = 0,83$ ;  $Sp = 0,73$ ;  $Ac = 0,78$ ;  $AUC = 0,77$ ).

**Выводы.** На основании ROC-анализа установлено, что наилучшим диагностическим маркером для выявления ЦИН 3-й степени служит определение локального содержания B7.2 ( $Se = 0,83$ ;  $Sp = 0,73$ ;  $Ac = 0,78$ ;  $AUC = 0,77$ ).

**Ключевые слова:** цервикальная интраэпителиальная неоплазия 3-й степени, молекулярная диагностика, высшие жирные кислоты, сосудисто-воспалительные факторы, белки контрольных точек иммунного цикла



## Введение

Рак шейки матки (РШМ) является одним из самых распространенных заболеваний в мире [1]. Актуальность проблемы придают контингент больных (сексуально активные, трудоспособные женщины), высокий показатель запущенности (в 2019 г. в России 33,4%), отсутствие доступа к вакцинации во многих странах, несовершенство скрининга, малоэффективное лечение рецидивирующих и генерализованных форм [1–4].

Цервикальная интраэпителиальная неоплазия (ЦИН) 3-й степени является предраковым заболеванием шейки матки. Речь прежде всего идет о цитоморфологической характеристике цервикального эпителия, определяющей степень интраэпителиальных неопластических изменений клеток шейки матки, а также критерии прогноза малигнизации цервикального эпителия. Как правило, ЦИН 1-й степени полностью регрессирует [5]. Между тем ЦИН 3-й степени в отсутствие лечения способна как регрессировать (30%), так и прогрессировать до инвазивного РШМ (30%). Кроме того, почти в 25% случаев ЦИН 3-й степени рецидивирует [6]. Риск прогрессирования ЦИН 3-й степени увеличивается при наличии следующих ко-факторов:

- ✓ использование оральных контрацептивов;
- ✓ курение;
- ✓ ранний возраст полового дебюта;
- ✓ наличие нескольких половых партнеров;
- ✓ наличие ко-инфекции;
- ✓ инфицирование несколькими штаммами вируса папилломы человека (ВПЧ);
- ✓ наличие остаточной опухоли после локального хирургического лечения [6–9].

Маршрутизация больных обусловлена степенью ЦИН. Если тактику ведения пациентки с ЦИН 1–2-й степени определяет гинеколог, то пациентки с ЦИН 3-й степени должны направляться в специализированное онкологическое учреждение, что продиктовано возможностью диагностики РШМ после дообследования. Согласно данным литературы, до 30% пациенток с первичным диагнозом ЦИН 3-й степени после дообследования переходят в категорию больных РШМ [6]. Метаанализ результатов 40 исследований был посвящен оценке эффективности ВПЧ-тестирования и цитологической диагностики в качестве инструментов цервикального скрининга. Объем выборки превысил 140 тыс. женщин в возрасте 20–70 лет. Чувствительность ВПЧ-тестирования в диагностике ЦИН 3-й степени была выше чувствительности цитологического скрининга в 1,46 раза (1,12–1,91), а специфичность ниже в 0,95 раза (0,93–0,97). Авторы подчеркнули, что использование только цитологического скрининга может привести к ошибкам диагностики и задержкам в получении адекватного лечения [10, 11]. Однако в настоящее время в большинстве регионов России ВПЧ-тестирование остается недоступной опцией. В настоящее время актуальны исследования по определению новых молекулярных диагностических критериев, позволяющих выявить предопухольный процесс с целью его своевременного лечения, а также предотвращения РШМ и его последствий. Ранее нами были установлены патофизиологические особенности спектра высших жирных кислот (ВЖК), сосудисто-воспалительных факторов

и белков контрольных точек иммунного цикла у больных предопухольными заболеваниями и РШМ [12, 13].

*Цель* – определить информативность исследования молекулярных показателей цервикального эпителия в качестве диагностических маркеров ЦИН 3-й степени.

## Материал и методы

Критериями включения пациенток в проспективное исследование были диагноз ЦИН 3-й степени, установленный морфологически, первичный статус заболевания до проведения специализированного лечения, репродуктивный возраст, отсутствие инфекций, передаваемых половым путем, и сопутствующей гинекологической патологии, наличие оформленного согласия больных. Обследованы 12 пациенток с ЦИН 3-й степени. Средний возраст составил  $30 \pm 6,2$  года. Объем диагностических исследований определяли на основании клинических рекомендаций Минздрава России «Цервикальная интраэпителиальная неоплазия, эрозия и эктропион шейки матки», утвержденных в 2020 г. Градация ЦИН проводилась с учетом соответствующей гистологической классификации на основании степени тяжести цервикального поражения. Контрольную группу составили 15 женщин-добровольцев без гинекологической патологии. Пациентки контрольной и исследуемой групп были сопоставимы по возрасту и сопутствующей патологии.

Материалом для изучения служили:

- биоптат шейки матки, забранный под кольпоскопическим контролем путем ножевой инцизионной биопсии;
- цервикальный эпителий: соскоб по стандартной методике браш-щеточкой с зоны стыка эпителиев.

Применялись следующие методы исследования:

- газохроматографическое исследование ВЖК на хроматографе «Кристалл-2000М» (Россия) с использованием плазменно-ионизационного детектора и капиллярной колонки FFAP (США) ( $C_{14:0}^*$ ,  $C_{14:1}^*$ ,  $C_{15:0}^*$ ,  $C_{15:1}^*$ ,  $C_{16:0}^*$ ,  $C_{16:1}^*$ ,  $C_{17:0}^*$ ,  $C_{17:1}^*$ ,  $C_{18:0}^*$ ,  $C_{18:1}^*$ ,  $C_{18:2\omega 6}^*$ ,  $C_{18:3\omega 6}^*$ ,  $C_{18:3\omega 3}^*$ ,  $C_{19:0}^*$ ,  $C_{20:0}^*$ ,  $C_{20:3\omega 6}^*$ ,  $C_{20:4\omega 6}^*$ ,  $C_{20:5\omega 3}^*$ ,  $C_{22:5\omega 3}^*$ );
- проточная цитофлуориметрия с использованием аппарата FC500 (Beckman Coulter, США). Определяли спектр сосудисто-воспалительных факторов в цервикальном эпителии: MG, MMP-2, CAL, LCN2, OPN, VCAM-1, SAA, MPO, IGFBP-4, ICAM-1, CC, MMP-9 – Human Vascular Inflammation Panel 1-S/P (12-plex) with Filter Plate (Канада). Изучали уровень белков контрольных точек иммунного цикла в цервикальном эпителии sCD25, 4-1BB, B7.2, TGF-b1, CTLA-4, PD-L1, PD-1, Tim-3, LAG-3, Galectin-9, sCD27, PD-L2 – HU Immune Checkpoint Panel 1 – S/P (10-plex) w/FP (Канада).

При проведении статистического анализа авторы руководствовались едиными требованиями для рукописей, подаваемых в биомедицинские журналы, и рекомендациями «Статистический анализ и методы в публикуемой литературе» (SAMPL) [14].

В ходе ROC-анализа для каждого исследуемого параметра первоначально определялось пороговое значение. В качестве независимых переменных использовались уровни молекулярных показателей, в качестве переменных отклика – клинические диагнозы, где 0 означал отсутствие цервикальной патологии, 1 – наличие ЦИН 3-й степени. Относительно полученного порогового значения все



Таблица 1. Характеристика диагностических маркеров на основании изучения спектра ВЖК в биоптатах шейки матки

Параметр	Пороговое значение	Исследуемые группы		Тестовая статистика, df=1	Сила связи, V	Относительный риск	Se	Sp	Ac	AUC	95% ДИ для AUC	Значимость, p
		контроль	ЦИН 3-й степени									
C <sub>14:0</sub> <sup>o</sup> %/клетка	> 2,9	26,7% (4/15)	100% (12/12)	$\chi^2 = 14,85$ p=0,01	0,74	3,75 (95% ДИ 1,62–8,70)	1,0	0,73	0,85	0,77	0,56–0,97	0,02
C <sub>15:0</sub> <sup>o</sup> %/клетка	< 1,9	13,3% (2/15)	58,3% (7/12)	$\chi^2 = 6,08$ p=0,01	0,47	2,08 (95% ДИ 1,03–4,18)	0,75	0,87	0,74	0,79	0,6–0,99	0,01
C <sub>15:1</sub> <sup>o</sup> %/клетка	≥ 1,0	0% (0/15)	100% (12/12)	$\chi^2 = 27,2$ p=0,01	1,0	NaN	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0–1,0	< 0,001
C <sub>16:0</sub> <sup>o</sup> %/клетка	≥ 29,2	13,3% (2/15)	91,7% (11/12)	$\chi^2 = 16,38$ p<0,001	0,78	10,4 (95% ДИ 1,58–68,13)	0,92	0,87	0,89	0,86	0,69–1,0	0,002
C <sub>16:1</sub> <sup>o</sup> %/клетка	≥ 3,33	13,3% (2/15)	91,7% (11/12)	$\chi^2 = 16,38$ p<0,001	0,78	10,4 (95% ДИ 1,58–68,63)	0,92	0,87	0,89	0,83	0,64–1,0	0,004
C <sub>17:0</sub> <sup>o</sup> %/клетка	> 2,45	13,3% (2/15)	100% (12/12)	$\chi^2 = 20,06$ p<0,01	0,86	7,52 (95% ДИ 2,07–27,03)	1,0	0,87	0,93	0,97	0,91–1,0	< 0,001
C <sub>17:1</sub> <sup>o</sup> %/клетка	< 2,2	0% (0/15)	100% (12/12)	$\chi^2 = 27,0$ p<0,001	1,0	NaN	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0–1,0	< 0,001
C <sub>18:1</sub> <sup>o</sup> %/клетка	≥ 19,0	13,3% (2/15)	82,3% (10/12)	$\chi^2 = 13,23$ p<0,001	0,70	5,2 (95% ДИ 1,45–18,71)	0,83	0,87	0,84	0,92	0,80–1,0	< 0,001
C <sub>18:2o6</sub> <sup>o</sup> %/клетка	≤ 10,8	26,7% (4/15)	100% (12/12)	$\chi^2 = 14,85$ p<0,001	0,74	3,75 (95% ДИ 1,62–8,70)	1,0	0,73	0,85	0,84	0,53–0,96	0,03
C <sub>18:3o6</sub> <sup>o</sup> %/клетка	< 2,5	0% (0/15)	100% (12/12)	$\chi^2 = 27,1$ p<0,001	1,0	NaN	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0–1,0	< 0,001
C <sub>18:3o3</sub> <sup>o</sup> %/клетка	< 1,6	0% (0/15)	91,7% (11/12)	$\chi^2 = 23,2$ p<0,001	0,93	12,0 (95% ДИ 1,84–78,37)	0,92	1,0	0,97	0,99	0,96–1,0	< 0,001
C <sub>20:0</sub> <sup>o</sup> %/клетка	< 1,6	0% (0/15)	83,3% (10/12)	$\chi^2 = 19,85$ p<0,001	0,86	6,0 (95% ДИ 1,69–21,26)	0,83	1,0	0,93	0,96	0,88–1,0	< 0,001
C <sub>20:3o6</sub> <sup>o</sup> %/клетка	≤ 2,0	0% (0/15)	75% (9/12)	$\chi^2 = 16,87$ p<0,001	0,79	4,0 (95% ДИ 1,50–10,65)	0,75	1,0	0,89	0,89	0,77–1,0	0,001
C <sub>20:4o6</sub> <sup>o</sup> %/клетка	≤ 3,8	26,7% (4/15)	91,7% (11/12)	$\chi^2 = 11,41$ p=0,001	0,65	8,8 (95% ДИ 1,31–58,9)	0,92	0,73	0,82	0,78	0,59–0,97	0,01
C <sub>20:5o3</sub> <sup>o</sup> %/клетка	≤ 2,9	0% (0/15)	66,7% (8/12)	$\chi^2 = 14,21$ p<0,001	0,72	3,0 (95% ДИ 1,35–6,68)	0,67	1,0	0,74	0,77	0,55–0,98	0,02
C <sub>22:5o3</sub> <sup>o</sup> %/клетка	< 1,4	0% (0/15)	75% (9/12)	$\chi^2 = 13,87$ p<0,001	0,79	4,0 (95% ДИ 1,5–0,68)	0,75	1,0	0,89	0,79	0,57–1,0	0,01

изучаемые количественные переменные были преобразованы в номинальные величины. Номинальные величины сравнивали с помощью критерия  $\chi^2$  Пирсона. Для оценки силы связи использовали критерий Крамера (V). Учитывая проспективный анализ результативных и факторных признаков, значимость различий номинальных данных оценивали путем определения относительного риска. Статистическую значимость p оценивали исходя из значений 95%-ного доверительного интервала (ДИ). Качество исследуемых диагностических маркеров оценивали на основании расчета чувствительности (Se), специфичности (Sp) и точности (Ac) по следующим формулам:

$$Se = \frac{\text{Количество истинно положительных случаев}}{\text{Количество всех заболевших}};$$

$$Sp = \frac{\text{Количество истинно отрицательных случаев}}{\text{Количество здоровых людей}};$$

$$Ac = \frac{\text{Количество истинно положительных результатов} + \text{количество истинно отрицательных результатов}}{\text{Количество всех здоровых лиц} + \text{количество всех больных}}.$$

Информативность исследуемых маркеров оценивали по площади под ROC-кривой (AUC). Показатель AUC интерпретировали по экспертной шкале (с учетом 95% ДИ), согласно которой при значении, находящемся в пределах интервала 0,9–1,0, качество модели оценивается как отличное, 0,8–0,9 – очень хорошее, 0,7–0,8 – хорошее, 0,6–0,7 – среднее, 0,5–0,6 – неудовлетворительное.

Статистическую обработку результатов исследования осуществляли с помощью пакета программ IBM SPSS Statistics Version 25.0 (International Business Machines Corporation, license No. Z125-3301-14, США).

## Результаты

Среди представителей насыщенных жирных кислот диагностической значимостью для выявления ЦИН 3-й степени характеризовались локальные величины: C<sub>14:0</sub> > 2,9% клетки, C<sub>15:0</sub> < 1,9%, C<sub>16:0</sub> ≥ 29,2%, C<sub>17:0</sub> > 2,45%, C<sub>20:0</sub> < 1,6% клетки. Максимальный риск для диагностики ЦИН 3-й степени 10,4 (95% ДИ 1,58–68,13) имел место у лиц с пороговым значением C<sub>16:0</sub> ≥ 29,2% клетки (Se=0,92; Sp=0,87; Ac=0,89; AUC=0,86) (табл. 1).



Таблица 2. Характеристика диагностических моделей на основании изучения белков воспаления в цервикальном эпителии

Параметр	Пороговое значение	Исследуемые группы		Тестовая статистика, df = 1	Сила связи, V	Относительный риск	Se	Sp	Ac	AUC	95% ДИ для AUC	Значимость, p
		контроль	ЦИН 3-й степени									
цVCAM-1, нг/мл	> 0,3	26,7% (4/15)	66,7% (8/12)	$\chi^2 = 4,32$ p = 0,04	0,4	5,5 (95% ДИ 1,05–28,88)	0,75	0,73	0,70	0,74	0,54–0,94	0,04

Таблица 3. Характеристика диагностических моделей на основании изучения белков иммунного цикла в цервикальном эпителии

Параметр	Пороговое значение	Исследуемые группы		Тестовая статистика, df = 1	Сила связи, V	Относительный риск	Se	Sp	Ac	AUC	95% ДИ для AUC	Значимость, p
		контроль	ЦИН 3-й степени									
B7.2, пг/мл	$\geq 15$	26,7% (4/15)	83,3% (10/12)	$\chi^2 = 8,57$ p = 0,003	0,56	4,4 (95% ДИ 1,2–16,17)	0,83	0,73	0,78	0,77	0,59–0,95	0,02
PD-L1, пг/мл	> 6,0	33,3% (5/15)	83,3% (10/12)	$\chi^2 = 6,75$ p = 0,009	0,5	4,0 (95% ДИ 1,07–14,9)	0,83	0,67	0,74	0,74	0,34–0,93	0,04
sCD27, пг/мл	> 12,2	26,7% (4/15)	83,3% (10/12)	$\chi^2 = 8,57$ p = 0,003	0,6	4,4 (95% ДИ 1,2–16,17)	0,83	0,73	0,52	0,74	0,53–0,94	0,04
PD-L2, пг/мл	$\geq 18,3$	20% (3/15)	58,3% (7/12)	$\chi^2 = 4,2$ p = 0,04	0,39	5,6 (95% ДИ 1,02–30,9)	0,67	0,80	0,63	0,73	0,53–0,93	0,045

Среди моноеновых жирных кислот в группе выявленных диагностических маркеров максимальным диагностическим потенциалом характеризовалось пороговое значение  $C_{15:1} \geq 1,0\%$  (Se = 1,0; Sp = 1,0; Ac = 1,0; AUC = 1,0), а также пороговое значение  $C_{17:1} \leq 2,2\%$  (Se = 1,0; Sp = 1,0; Ac = 1,0; AUC = 1,0) (табл. 1).

Среди полиеновых аналогов наилучшим диагностическим значением для выявления предракового состояния шейки матки обладала низкая пороговая величина  $C_{18:3\omega6} < 2,5\%$  (Se = 1,0; Sp = 1,0; Ac = 1,0; AUC = 1,0) (табл. 1). При анализе диагностических возможностей каждого сосудисто-воспалительного фактора статистически значимые различия исследуемых групп были получены только для локальной величины VCAM-1: превышение значения VCAM-1 > 0,3 нг/мл сопровождалось увеличением риска наличия ЦИН 3-й степени до 5,5 раза (относительный риск 5,5; 95% ДИ 1,05–28,88; p = 0,04) (табл. 2).

Среди белков иммунного цикла диагностическим потенциалом для выявления ЦИН 3-й степени обладали локальные величины B7.2, PD-L1, sCD27, PD-L2 (табл. 3). Повышение пороговой величины B7.2, PD-L1, sCD27, PD-L2  $\geq 15$  пг/мл (Se = 0,83; Sp = 0,73; Ac = 0,78; AUC = 0,77), > 6,0 пг/мл (Se = 0,83; Sp = 0,67; Ac = 0,74; AUC = 0,74), > 12,2 пг/мл (Se = 0,83; Sp = 0,73; Ac = 0,52; AUC = 0,74) и  $\geq 18,3$  пг/мл (Se = 0,67; Sp = 0,807; Ac = 0,63; AUC = 0,73) соответственно свидетельствует о наличии ЦИН 3-й степени. При этом наилучшим диагностическим маркером служит локальное значение  $B7.2 \geq 15$  пг/мл, что позволяет выявить ЦИН 3-й степени шейки матки в 83,3% случаев.

На следующем этапе была предпринята попытка выявить универсальный диагностический маркер для выявления ЦИН 3-й степени путем проведения ROC-анализа среди установленных лучших критериев ( $C_{15:1}$ ,  $C_{17:1}$ ,  $C_{18:3\omega6}$ , VCAM-1, B7.2).

С учетом требований, предъявляемых к скринирующей методике (дешевизна, простота, неинвазивность,

скорость выполнения методики), а также длительности хромотографического исследования, необходимости в наличии обученного персонала и оборудования, полноты анализа (исследуется весь спектр ВЖК), инвазивности методики (материал исследования – биоптат шейки матки), использование  $C_{15:1}$ ,  $C_{17:1}$ ,  $C_{18:3\omega6}$  как диагностических маркеров нецелесообразно.

Наилучшим молекулярным маркером для диагностики ЦИН 3-й степени матки является локальная величина B7.2 (Se = 0,83; Sp = 0,73; Ac = 0,78; AUC = 0,77) (рис. 1). Информативность разработанной диагностической модели высока по сравнению с результатами цитологического исследования (рис. 2).

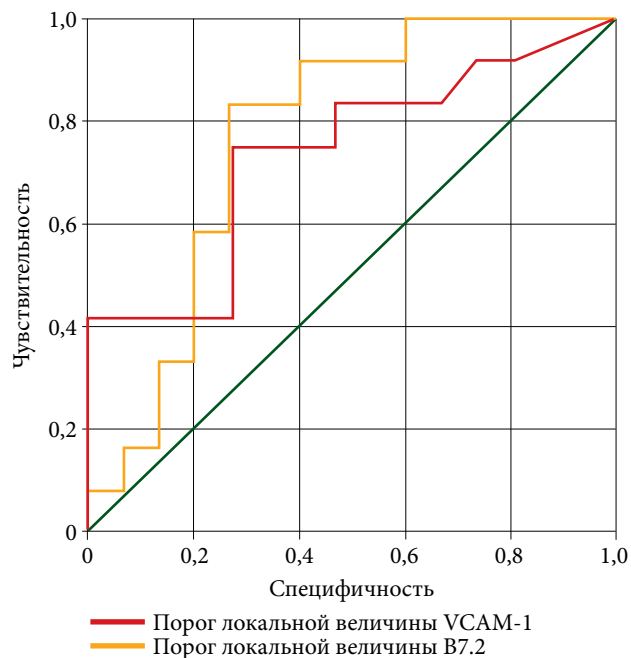


Рис. 1. ROC-анализ диагностических маркеров

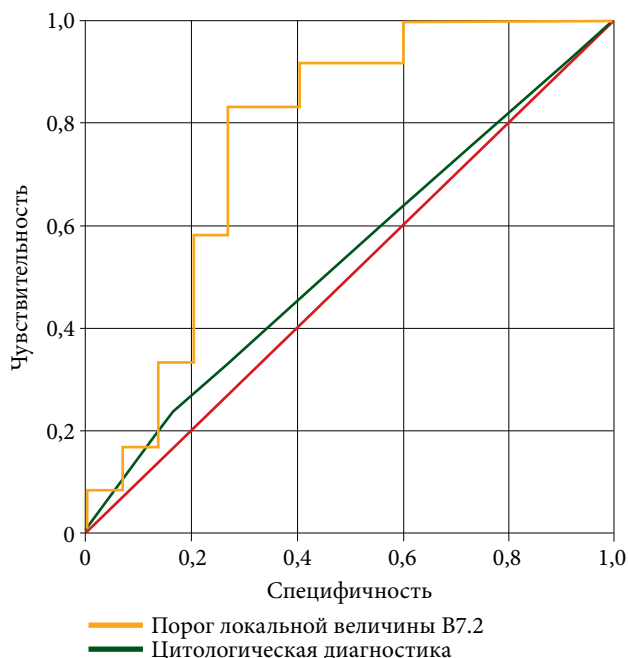


Рис. 2. ROC-анализ диагностической значимости порога локальной величины В7.2

### Обсуждение

В ходе исследования изучали информативность использования локальных величин ВЖК, сосудисто-воспалительных факторов, белков контрольных точек иммунного цикла в качестве диагностических маркеров ЦИН 3-й степени.

Среди насыщенных ВЖК диагностическим потенциалом обладали  $C_{14:0}$ ,  $C_{15:0}$ ,  $C_{16:0}$ ,  $C_{17:0}$ ,  $C_{20:0}$ , детектируемые на локальном уровне. Полученные результаты отражают атипичный метаболизм ВЖК в процессе цервикального канцерогенеза, необходимый для жизнедеятельности диспластической и опухолевой клетки: гиперэкспрессия синтазы ВЖК, синтез ВЖК с нечетным числом атомов углерода, интенсификация реакций элонгации, что является ключевым метаболическим звеном для изменения структуры биологической мембраны, ее поляризации, проницаемости, модификации ряда онкогенных белков, регулирующих малигнизацию эпителия [16].

Среди моноеновых ВЖК диагностическое значение имели  $C_{15:1}$ ,  $C_{17:1}$ . Интересно, что повышение доли ВЖК с нечетным числом атомов углерода является одной из биохимических особенностей гиперпролиферативных и опухолевых тканей [11].

### Литература

1. Ашрафян Л.А., Киселев В.И., Кузнецов И.Н. и др. Рак шейки матки: проблемы профилактики и скрининга в Российской Федерации. Доктор.Ру. 2019; 11 (166): 50–54.
2. Новик В.И. Уточняющая цитологическая диагностика цервикальной интраэпителиальной неоплазии шейки матки с использованием анализа микроизображений. Опухоли женской репродуктивной системы. 2019; 15 (3): 24–31.
3. Okunade K.S. Human papillomavirus and cervical cancer. J. Obstet. Gynaecol. 2020; 40 (5): 602–608.
4. Nie H., Bu F., Xu J., et al. 29 immune-related genes pairs signature predict the prognosis of cervical cancer patients. Sci. Rep. 2020; 10 (1): 14152.

Среди полиеновых аналогов наилучшим диагностическим значением для выявления ЦИН 3-й степени обладала низкая пороговая величина  $C_{18:3\omega6}$ . Патофизиологически это отражает изменение активности  $\Delta 6$ -десатуразы, что было установлено нами ранее [11].

Диагностический потенциал сосудисто-воспалительных факторов для выявления ЦИН 3-й степени установлен только для локальной величины VCAM-1, что указывает на участие VCAM-1 в механизмах воспаления, канцерогенеза через опосредование неоангиогенеза и метастазирования [17]. Среди белков контрольных точек иммунного цикла диагностическим потенциалом для выявления ЦИН 3-й степени обладала локальные величины В7.2, PD-L1, sCD27, PD-L2. При этом наилучшим диагностическим маркером было локальное значение  $V7.2 \geq 15$  пг/мл. Зарегистрированные особенности подтверждают изменения активности противоопухолевого иммунного цикла, блокирование противоопухолевого иммунного ответа, что способствует выживанию атипичных клеток и формированию рака [13, 18, 19]. На основании ROC-анализа установлено, что наиболее информативным диагностическим маркером для выявления ЦИН 3-й степени служит локальная величина В7.2 ( $Se = 0,83$ ;  $Sp = 0,73$ ;  $Ac = 0,78$ ;  $AUC = 0,77$ ).

### Заключение

Проведенный анализ молекулярных параметров выявил статистические изменения по величинам ВЖК, локальным значениям VCAM-1 и белков контрольных точек иммунного цикла В7.2, PD-L1, sCD27, PD-L2 у женщин с ЦИН 3-й степени.

В качестве диагностического молекулярного маркера ЦИН 3-й степени можно использовать определение пороговой локальной величины В7.2, значение которой  $\geq 15$  пг/мл ( $Se = 0,83$ ;  $Sp = 0,73$ ;  $Ac = 0,78$ ;  $AUC = 0,77$ ) в 83,3% случаев указывает на наличие ЦИН 3-й степени. ☺

### Информация о конфликте интересов.

Конфликт интересов отсутствует.

Проведение исследования одобрено локальным этическим комитетом Читинской государственной медицинской академии (протокол № 44 заседания от 9 ноября 2012 г.). Информированное согласие пациента на участие в исследовании получено.

### 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).



5. Каландарова А.Н. Современное представление о цервикальной интраэпителиальной неоплазии. Новый день в медицине. 2019; 2 (26): 178–182.
6. Зароченцева Н.В., Джиджихия Л.К., Набиева В.Н. Рецидивы цервикальных интраэпителиальных неоплазий после применения эксцизионных методов лечения. Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. 2020; 19 (2): 68–77.
7. Bekos Ch., Schwameis R., Heinze G., et al. Influence of age on histologic outcome of cervical intraepithelial neoplasia during observational management: results from large cohort, systematic review, meta-analysis. Sci. Rep. 2018; 8 (1): 6383.
8. Бестаева Н.В., Трофимов Д.Ю., Сухих Г.Т. Прогнозирование риска развития и прогрессирования цервикальных интраэпителиальных неоплазий, ассоциированных с папилломавирусной инфекцией. Акушерство и гинекология. 2016; 2: 92–98.
9. Ершов В.А. Маркеры прогноза развития цервикальной интраэпителиальной неоплазии, ассоциированной с вирусом папилломы человека высокого канцерогенного риска. Новости клинической цитологии России. 2020; 24 (1): 10–16.
10. Liu M., Yan X., Zhang M., et al. Influence of human papillomavirus infection on the natural history of cervical intraepithelial neoplasia 1: a meta-analysis. Biomed. Res. Int. 2017; 8971059.
11. Koliopoulos G., Nyaga V., Santesso N., et al. Cytology versus HPV testing for cervical cancer screening in the general population. Cochrane Database Syst. Rev. 2017; 8 (8): CD008587.
12. Каюкова Е.В., Белокриницкая Т.Е., Терешков П.П. Влияние пропионата на спектр высших жирных кислот в клетках шейки матки при дис- и неопластической трансформации. Успехи молекулярной онкологии. 2018; 5 (2): 31–41.
13. Ашрафян Л.А., Белокриницкая Т.Е., Каюкова Е.В. и др. Локальный уровень белков контрольных точек иммунного цикла у больных раком шейки матки. Забайкальский медицинский вестник (электронное научное издание). 2021; 4: 11–20.
14. International Committee of Medical Journal Editors. Uniform requirements for manuscripts submitted to biomedical journals: writing and editing for biomedical publication. 2011 // www.icmje.org.
15. Lang T.A., Altman D.G. Statistical analyses and methods in the published literature: The SAMPL guidelines. Medical Writing. 2016; 25 (3): 31–36.
16. Bergers G., Fendt S. The metabolism of cancer cells during metastasis. Nat. Rev. Cancer. 2021; 21 (3): 162–180.
17. Kong D., Kim Y., Kim M., et al. Emerging roles of Vascular Cell Adhesion Molecule-1 (VCAM-1) in immunological disorders and cancer. Int. J. Mol. Sci. 2018; 19 (4): 1057.
18. Четверяков А.В., Цепелев В.Л. Роль мембранного белка Т-лимфоцитов CTLA-4 в регуляции иммунитета и иммунотерапии опухолей. Забайкальский медицинский вестник (электронное научное издание). 2021; 4: 11–20.
19. Miko E., Meggyes M., Doba K., et al. Immune checkpoint molecules in reproductive immunology. Front. Immunol. 2019; 10: 846.

### The Molecular Indicators of Cervical Cells As Diagnostic Markers of Cervical Intraepithelial Neoplasia III

Ye.V. Kayukova, PhD, T.Ye. Belokrinitskaya, PhD, Prof., V.A. Mudrov, PhD

Chita State Medical Academy

Contact person: Yelena V. Kayukova, elena\_pochta22@mail.ru

*Cervical intraepithelial neoplasia (CIN) grade III is a precancerous disease of the cervix. The study new diagnostic markers of CIN III is relevant for timely treatment, prevention of the development of cervical cancer and its consequences.*

**Material and methods.** A prospective analysis was performed to identify molecular diagnostic criteria for CIN III among local levels of the spectrum of higher fatty acids (FA), vascular-inflammatory factors (MG, MMP-2, CAL, LCN2, OPN, VCAM-1, SAA, MP, IGFBP-4, ICAM-1, CC, MMP-9), immune cycle checkpoint proteins (sCD25, 4-1BB, B7.2, TGF- $\beta$ 1, CTLA-4, PD-L1, PD-1, Tim-3, LAG-3, Galectin-9, sCD27, PD-L2) in patients with CIN III. Research methods – gas-liquid chromatography, flow cytometry.

**Results.** Among FA, the best diagnostic marker are: initial local level  $C_{15:1} \geq 1.0\%$  cell (Se = 1.0; Sp = 1.0; Ac = 1.0; AUC = 1.0),  $C_{17:1} \leq 2.2\%$  cell (Se = 1.0; Sp = 1.0; Ac = 1.0; AUC = 1.0),  $C_{18:3\omega 6} \leq 2.5\%$  cell (Se = 1.0; Sp = 1.0; Ac = 1.0; AUC = 1.0), among vascular-inflammatory factors – local value of VCAM-1  $\geq 0.3$  ng/ml (Se = 0.75; Sp = 0.73; Ac = 0.7; AUC = 0.74), among immune cycle checkpoint proteins – local B7.2 value  $\geq 15$  pg/ml (Se = 0.83; Sp = 0.73; Ac = 0.78; AUC = 0.77).

**Conclusions.** By conducting ROC analysis, it was found that the best diagnostic marker for detecting CIN III is the determination of the local B7.2 (Se = 0.83; Sp = 0.73; Ac = 0.78; AUC = 0.77).

**Key words:** cervical intraepithelial neoplasia of the 3<sup>rd</sup> degree, molecular diagnostics, higher fatty acids, vascular-inflammatory factors, proteins of immune cycle control points