

УДК 618.146-006.6:616.98:612.018

## ВЛИЯНИЕ ЭКСПРЕССИИ БЕЛКА E7 НА ЛОКАЛЬНЫЙ ГОРМОНАЛЬНЫЙ СТАТУС ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ФОРМАХ РОСТА РАКА ШЕЙКИ МАТКИ

**Комарова Е.Ф., Франциянц Е.М., Моисеенко Т.И., Бандовкина В.А., Никитина В.П., Черярина Н.Д., Спиридонова Д.А., Пустовалова А.В., Бойко К.П.**  
 ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт»,  
 Ростов-на-Дону, e-mail: super.gormon@yandex.ru

Клиническое течение эндофитных и экзофитных опухолей шейки матки различно, что, по-видимому, сопряжено с действием факторов, участвующих в канцерогенезе рака шейки матки. Возможно, это связано с экспрессией продуктов генома ВПЧ – белка E7 или нарушением метаболизма половых гормонов. Целью исследования явилось изучение содержания половых гормонов, их метаболитов, сексстероидсвязывающего белка и пролактина в зависимости от экспрессии белка E7 в тканях опухоли шейки матки при эндофитной и экзофитной формах роста 46 больных T1b-2aN0M0. При экспрессии белка E7 в тканях опухоли независимо от варианта роста изменение гормонального статуса имеет однонаправленный характер, так же, как и в соответствующих визуально неизмененных тканях, и отличаются только степенью выраженности происходящих изменений. Экспрессия E7 меняет гормоногенез в сторону усиления синтеза эстрогенов и андрогенов, стимулирует выработку ССГ и пролактина, вызывает прогестероновый дефицит во всех исследуемых образцах тканей. Особо следует выделить визуально неизмененную ткань экзофитных опухолей, менее подверженную влиянию экспрессии онкобелка E7.

**Ключевые слова:** половые гормоны, сексстероидсвязывающий белок, пролактин, онкобелок белок E7, эндофитные и экзофитные опухоли шейки матки

## E7 PROTEIN EFFECT ON THE LOCAL HORMONAL STATUS IN DIFFERENT GROWTH PATTERNS OF CARCINOMA OF THE UTERINE CERVIX

**Komarova E.F., Frantsiyants E.M., Moiseenko T.I., Bandovkina V.A., Nikitina V.P., Cheryarina N.D., Spiridonova D.A., Pustovalova A.V., Boyko K.P.**  
 FSBI «Rostov scientific and research institute of oncology» of the Ministry of Health of Russia,  
 Rostov-on-Don, e-mail: super.gormon@yandex.ru

Clinical courses of endophytic and exophytic tumors of uterine cervix are different, which is apparently associated with the influence of factors participating in carcinogenesis of cervical cancer. It is probably connected with the expression of HPV genome products – E7 protein or dysfunction of metabolism of sex hormones. The purpose of the study was to analyze the content of sex hormones, their metabolites, steroid binding protein and prolactin in dependence on E7 protein expression in tumor tissues of endophytic and exophytic uterine cervix of 46 T1b-2aN0M0 patients. Hormonal status changes were unidirectional in E7 protein expression in tumor tissue regardless of the patterns of growth, as well as in corresponding visually unchanged tissues, and differed in severity of the changes only. E7 expression changed hormonogenesis so that synthesis of estrogens and androgens increased, stimulated steroid binding protein and prolactin production and caused progesterone deficiency in all the studied tissue samples. Visually unchanged tissue of exophytic tumors should be highlighted as it was less affected by E7 oncoprotein expression.

**Keywords:** sex hormones, sex hormone-binding globulin, prolactin, E7 oncoprotein, endophytic and exophytic tumors of uterine cervix

Рак шейки матки представляет собой злокачественное перерождение эпителия в виде различного рода экзофитных, эндофитных или смешанных разрастаний, способных к инфильтрации окружающих тканей органов и метастазированию в отдаленные органы. При экзофитном варианте роста опухоли на шейке матки видны разрастания по типу цветной капусты красного, серо-розового или белесоватого цвета, легко разрушающиеся и кровоточащие при прикосновении. Эта форма рака, как правило, диагностируется на ранних стадиях развития. При эндофитном росте опухоли, развивающейся в канале шейки матки,

шейка увеличена, бочкообразной формы, с неровной бугристой поверхностью, неравномерной розово-мраморной окраски. Диагностика эндофитной формы рака на ранних стадиях развития часто затруднена.

В настоящее время считается общепризнанным, что онкобелок E7, экспрессирующийся высокоонкогенными типами ВПЧ 16 и 18 типа, является специфическим маркером неопластических процессов в тканях шейки матки [1, 3, 4]. Его повышенная экспрессия, определяемая иммуногистохимическими методами, регистрируется практически во всех (98,3%) биопсийных образцах рака шейки матки

[8], в то время как в нормальных эпителиальных клетках цервикальной зоны онкобелок E7 не синтезируется. Отмечено, что у пациенток с ВПЧ-инфекцией отмечается выраженный скачок экспрессии онкобелка E7, определяемого в мазке из цервикального канала, при переходе от стадии интраэпителиальной неоплазии низкой степени к интраэпителиальной неоплазии высокой степени [7].

**Целью настоящего исследования** явилось изучение содержания половых гормонов, их метаболитов, стероидсвязывающего белка и пролактина в тканях шейки матки при эндофитной и экзофитной формах роста опухоли в зависимости от экспрессии белка E7.

### Материалы и методы исследования

Были изучены ткани опухоли и визуально неизменной ткани, полученные при оперативном лечении 46 больных раком шейки матки (эндофитной и экзофитной формы роста) T1b-2aN0M0 стадии процесса. Стадирование рака шейки матки проводилось в соответствии с классификацией TNM и FIGO. Диагностика рака основывалась на результатах гистологического исследования в соответствии с отраслевыми стандартами и алгоритмами объемов диагностики и лечения злокачественных новообразований в онкологии [5]. Критерием отбора больных являлся морфологически подтвержденный диагноз рака шейки матки. По гистологической структуре опухоли при обоих вариантах роста верифицированы как плоскоклеточный рак без ороговения.

Распределение больных по возрасту приведено в табл. 1.

**Таблица 1**  
Возрастной состав больных с различными вариантами роста рака шейки матки

Возрастные интервалы	31–40 лет		41–50 лет		50–55 лет	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%
Экзофитная форма (n = 24)	10	41,7	10	41,7	4	16,6
Эндофитная форма (n = 22)	10	45,5	2	9,0	10	45,5

Обращает внимание, что пик возраста при экзофитной форме рака шейки матки приходился на период 31–50 лет (медиана –  $40,5 \pm 4,2$  года).

В 10% цитозольных фракциях, приготовленных на 0,1 М калий-фосфатном буфере pH 7,4, содержащем 0,1% Твин-20 и 1% БСА методом твердофазного иммуноферментного анализа определяли: уровень эстрогена, эстрадиола, свободного эстриола, свободного и общего тестостерона, прогестерона, пролактина, секстероидсвязывающего глобулина (ССГ) – (Хема, Россия), метаболитов эстрогенов 2-ОНЕ1 и 16 $\alpha$ -ОНЕ1 (IBL, International GmbH, Германия), онкобелка E7 ВПЧ 16 и 18 типа (Биомед, Россия).

Статистический анализ результатов проводили с помощью пакета Statistica (версия 8). Оценка досто-

верности произведена с использованием t-критерия Стьюдента. Уровень  $P < 0,05$  принимали как значимый. При этом соблюдались общие рекомендации для медицинских исследований.

### Результаты исследования и их обсуждение

В нашем исследовании экспрессия белка E7 обнаружена в 75% образцов ткани рака шейки матки при экзофитной форме роста и в визуально неизменной ткани – в 62,5% образцов. При эндофитной форме роста – соответственно в 63,6 и 18,2% образцов (табл. 2, 3).

**Таблица 2**  
Содержание гормонов, их метаболитов и стероидсвязывающего глобулина в тканях шейки матки при эндофитном росте опухоли в зависимости от E7

Показатели	Ткань опухоли		Визуально неизменная ткань	
	E7+	E7–	E7+	E7–
Эстрон, пг/г	$602,8 \pm 53,6^1$	$244,3 \pm 19,7$	$423,7 \pm 41,6$	$454,1 \pm 43,8$
Эстрадиол, нг/г	$0,7 \pm 0,058^1$	$0,5 \pm 0,052$	$0,6 \pm 0,053^1$	$0,4 \pm 0,047$
Эстриол св., нг/г	$3,6 \pm 0,03$	$3,6 \pm 0,032$	$4,3 \pm 0,04^1$	$3,5 \pm 0,03$
Тестостерон общий, нг/г	$25,1 \pm 2,3^1$	$11,6 \pm 1,3$	$14,3 \pm 1,2^1$	$9,9 \pm 0,8$
Тестостерон свободный, пг/г	$49,9 \pm 5,1^1$	$21,9 \pm 2,2$	$24,0 \pm 2,1$	$25,8 \pm 2,7$
Прогестерон, нг/г	$13,3 \pm 1,1^1$	$23,6 \pm 2,5$	$15,4 \pm 1,3$	$17,1 \pm 1,8$
Пролактин, нг/г	$883,4 \pm 87,6$	$739,5 \pm 74,1$	$534,7 \pm 51,8^1$	$224,6 \pm 21,3$
ССГ, нмоль/г	$58,2 \pm 5,3^1$	$37,2 \pm 3,6$	$150,6 \pm 13,8^1$	$87,6 \pm 7,9$
2-ОНЕ1, нг/г	$1,1 \pm 0,1^1$	$1,9 \pm 0,2$	$1,0 \pm 0,08^1$	$2,6 \pm 0,3$
16 $\alpha$ -ОНЕ1, нг/г	$1,4 \pm 0,15$	$1,4 \pm 0,13$	$0,8 \pm 0,06^1$	$1,6 \pm 0,15$
2-ОНЕ1/16 $\alpha$ -ОНЕ1	$0,8 \pm 0,06^1$	$1,4 \pm 0,1$	$1,3 \pm 0,11^1$	$1,6 \pm 0,14$

Примечание. <sup>1</sup> – Достоверно по отношению к показателю в ткани без экспрессии E7. Уровень показателей нормирован на грамм влажной ткани.

Результаты изучения содержания стероидных гормонов в тканях шейки матки при эндофитной и экзофитной формах роста опухоли в зависимости от экспрессии белка E7 представлены в табл. 2, 3.

В опухолевой ткани эндофитных опухолей при экспрессии E7 обнаружен повышенный уровень эстрогена и эстрадиола в 2,5 и 1,4 раза соответственно по сравнению с показателями в ткани опухоли без экс-

прессии белка E7 (табл. 2). Уровень эстриола не связан с экспрессией E7. Содержание тестостерона как общей, так и свободной формы повышается в ткани опухоли эндофитных образований, экспрессирующей E7 в 2,2 и 2,3 раза соответственно. При этом отмечено снижение синтеза прогестерона в 1,8 раза и повышение ССГ – в 1,6 раза. Достоверно не изменяет экспрессия E7 содержание пролактина.

**Таблица 3**

Содержание гормонов, их метаболитов и стероидсвязывающего глобулина в тканях шейки матки при экзофитном росте опухоли в зависимости от E7

Показатели	Ткань опухоли		Визуально неизменная ткань	
	E7+	E7–	E7+	E7–
Эстрон, пг/г	420,6 ± 41,7 <sup>1</sup>	250,1 ± 23,8	602,7 ± 61,3	550,4 ± 52,8
Эстрадиол, нг/г	0,8 ± 0,07 <sup>1</sup>	0,5 ± 0,06	1,3 ± 0,15 <sup>1</sup>	0,5 ± 0,04
Эстриол св., нг/г	4,0 ± 0,36 <sup>1</sup>	3,2 ± 0,3	3,4 ± 0,35	3,8 ± 0,4
Тестостерон общий, нг/г	35,9 ± 3,3 <sup>1</sup>	14,2 ± 1,5	17,0 ± 1,6	17,5 ± 1,8
Тестостерон свободный, пг/г	44,9 ± 4,3 <sup>1</sup>	14,3 ± 1,3	44,7 ± 4,1	44,8 ± 4,5
Прогестерон, нг/г	24,0 ± 2,7	19,8 ± 2,1	21,5 ± 2,3	17,5 ± 1,9
Пролактин, нг/г	731,0 ± 68,4 <sup>1</sup>	264,0 ± 23,8	565,2 ± 51,4 <sup>1</sup>	379,5 ± 36,9
ССГ, нмоль/г	67,8 ± 6,3 <sup>1</sup>	52,2 ± 4,7	120,0 ± 11,6	105,5 ± 9,8
2-ОНЕ1, нг/г	1,4 ± 0,13	1,4 ± 0,15	1,9 ± 0,2	1,9 ± 0,17
16α-ОНЕ1, нг/г	0,93 ± 0,07 <sup>1</sup>	1,27 ± 1,1	1,0 ± 0,1	1,1 ± 0,12
2-ОНЕ1/16α-ОНЕ1	1,5 ± 0,15 <sup>1</sup>	1,1 ± 0,1	1,9 ± 0,2	1,8 ± 0,17

Пр и м е ч а н и е . <sup>1</sup> – Достоверно по отношению к показателю в ткани без экспрессии E7. Уровень показателей нормирован на грамм влажной ткани.

Уровень 2ОНЕ1 снижен почти в 2 раза при неизменном содержании 16α-ОНЕ1. Однако понятно, что под влиянием экспрессии E7 метаболизм эстрогенов смещен в сторону образования 16α-ОНЕ1, о чем свидетельствует коэффициент соотношения 2-ОНЕ1/16α-ОНЕ1. Последний снижен в 1,8 раз относительно показателя в опухолевой ткани эндофитных опухолей без экспрессии E7. В исследованиях показано, что повышенное образование 16α-гидроксистерона, сопряженное с влиянием ВПЧ на конверсию эстрадиола в направлении образования этого метаболита, стимулирует высокий синтез онкобелка E7 [6]. В свою очередь белок E7 активирует механизмы патологической пролиферации клеток и блокирует противовирусную иммунологическую защиту [2].

В опухолевой ткани экзофитных новообразований при экспрессии E7 уровень эстрогена, эстрадиола и эстриола повышены соответственно в 1,7, 1,6 и 1,3 раза относительно ткани без экспрессии E7 (табл. 3). Андрогеновый статус ткани экзофитных опухолей

меняется при экспрессии E7: уровень общего и свободного тестостерона повышается – в 2,5 и 3,1 раза соответственно. Экспрессия E7 усиливает синтез ССГ в 1,3 раза. Не выявлено изменений в уровне прогестерона, а содержание пролактина существенно, в 2,8 раза повышено. Уровень «агрессивного» метаболита 16α-ОНЕ1 снижен при экспрессии E7 при неизменном уровне 2ОНЕ1. При этом коэффициент соотношения метаболитов повышен в 1,4 раза.

Однако при однонаправленности изменений гормонального статуса в опухолевых тканях отмечена различная степень их выраженности при эндофитном и экзофитном вариантах роста. Повышение эстрогенов, особенно эстрогена, выражено больше (в 1,4 раза) в образцах эндофитных образований. При этом повышение уровня общего и свободного тестостерона в ткани эндофитных опухолей менее значительно – на 15,0 и 25,8% соответственно, чем в экзофитных опухолях.

В визуально неизменной ткани эндофитных образований шейки матки

экспрессия E7 коррелирует с повышением содержания эстрадиола и эстриола в 1,5 и 1,2 раза, уровня общего тестостерона – в 1,4 раза, пролактина – в 2,4 раза. Уровень ССГ повышен в визуально неизменной ткани эндофитных образований в 1,7 раза. Так же, как и в опухолевой, в визуально неизменной ткани снижен уровень 2ОНЕ1 в 2,6 раза и коэффициента 2-ОНЕ1/16α-ОНЕ1 в 1,2 раза.

Экспрессия белка E7 меняет метаболизм визуально неизменной ткани экзофитных опухолей шейки матки в сторону повышенного синтеза эстрадиола – в 2,6 раза и образования пролактина в 1,5 раза. Уровень остальных гормонов в этой ткани не зависит от экспрессии E7.

В визуально неизменных тканях экспрессия E7 независимо от формы роста опухоли влияет на синтез эстрогенов, что выражается в увеличении уровня эстриола и эстрадиола, а также значительном преобладании тестостерона при неизменном уровне андрогенов в визуально неизменных тканях экзофитных образований. При обоих вариантах роста опухоли экспрессия E7 повышает уровень пролактина. Полученные результаты показывают, что визуально неизменные ткани эндофитных и экзофитных опухолей так же как, и опухолевые ткани, различаются только степенью выраженности нарушений статуса гормонов под влиянием экспрессии E7.

Подводя итог вышесказанному, можно констатировать, что при экспрессии белка E7 изменение гормонального статуса в тканях опухоли независимо от варианта роста имеет однонаправленный характер, так же, как и в соответствующих визуально неизменных тканях, и отличаются только степенью выраженности происходящих изменений. Экспрессия E7 меняет гормональный статус в сторону усиления синтеза эстрогенов и андрогенов, стимулирует выработку ССГ и пролактина, вызывает прогестероновый дефицит во всех исследуемых образцах тканей. Особо следует выделить визуально неизменную ткань экзофитных образований, менее подверженную влиянию экспрессии онкобелка E7.

#### Список литературы

1. Киселев В.И., Крикунова Л.И., Любина Л.В. и др. Инфицирование вирусом папилломы человека высокого канцерогенного риска и прогноз рака шейки матки // Вопросы онкологии. – 2010. – № 56 (12). – С. 185–90.

2. Киселев В.И., Муйжнек Е. Л. Молекулярные механизмы развития дисплазии шейки матки: новые зна-

ния – новые возможности // Вестник «Лаборатории ДНК-диагностики». – 2011. – № 4 (13). – С. 1–16.

3. Мальцева Л.И., Фаррахова Л.Н., Ахметзянова А.В., Нигматуллина Н.А. Оценка риска злокачественной трансформации эпителия шейки матки при ВПЧ-ассоциированном цервиците // Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. – 2012. – № 11 (4). – С. 53–56.

4. Прилепская В.Н., Бебнева Т.Н. Роль вируса папилломы человека в развитии рака шейки матки. Профилактика рака шейки матки: руководство для врачей / под ред. Г.Т. Сухих и В.Н. Прилепской. – М.: МЕДпресс-информ, 2012. – С. 26–29.

5. Сухих Г.Т., Солодкий В.А., Ашрафян Л.А., Рожкова Н.И. Скрининг и ранняя диагностика гинекологического рака. – М.: Молодая гвардия, 2011. – 200 с.

6. Уразова Л.Н., Видяева И.Г. Рак шейки матки и вирусы папилломы: этиопатогенетические аспекты (обзор литературы) // Сибирский онкологический журнал. – 2012. – № 1 (31). – С. 64–71.

7. Fiedler M., Muller-Holzner E., Viertler H.P. et al. 2004. High level HPV-16 E7 oncoprotein expression correlates with reduced pRb-levels in cervical biopsies // FASEB J. – 2004. – Vol. 18, № 10. – P. 1120–1122.

8. Ressler S., Scheiden R., Dreier K. et al. High-risk human papillomavirus E7 oncoprotein detection in cervical squamous cell carcinoma // Clin Cancer Res. – 2007. – Vol. 13, № 23. – P. 7067–7072.

#### References

1. Kiselev V.I., Krikunova L.I., Ljubina L.V. i dr. Voprosy onkologii, 2010, no.56, pp. 185–90.

2. Kiselev V.I., Mujzhnek E.L. VestnikLaboratoriiDNKdiagnostiki, 2011, no. 4, pp. 1–16.

3. Mal'tseva L.I., Farrakhova L.N., Ahmetzjanova A.V., Nigmatullina N.A. Voprosyginologii, akusherstvaiperinatologii, 2012, no. 11, pp. 53–56.

4. Prilepskaja V.N., Bebneva T.N. Rol' virusa papillomy che-loveka v razvitii raka shejki matki. Profilaktika raka shejki matki. [The role of human papillomavirus in cervical cancer development. Prevention of cervical cancer] Rukovodstvo dlja vrachej pod redakciej G.T. Suhih i V.N. Prilepskoj. M.: MEDpress-inform, 2012.

5. Suhih G.T., Solodkij V.A., Ashrafjan L.A., Rozhkova N.I. Skrining i rannjaja diagnostika ginekologicheskogo raka [Screening and early diagnosis of gynecologic cancer]. M.: Molodaja gvardija, 2011, 200 p.

6. Urazova L.N., Vidjaeva I.G. Sibirskijonkologicheskijzhurnal, 2012, no. 1 (31), pp. 64–71.

7. Fiedler M., Muller-Holzner E., Viertler H.P. et al. 2004. High level HPV-16 E7 oncoprotein expression correlates with reduced pRb-levels in cervical biopsies // FASEB J. 2004. Vol. 18, no. 10. pp. 1120–1122.

8. Ressler S., Scheiden R., Dreier K. et al. High-risk human papillomavirus E7 oncoprotein detection in cervical squamous cell carcinoma // Clin Cancer Res. 2007. Vol. 13, no. 23. pp. 7067–7072.

#### Рецензенты:

Каймакчи О.Ю., д.м.н., ассистент кафедры онкологии Ростовского государственного медицинского университета, г. Ростов-на-Дону;

Николаева Н.В., д.м.н., ассистент кафедры онкологии Ростовского государственного медицинского университета, г. Ростов-на-Дону.

Работа поступила в редакцию 14.10.2014.