

*Л.В. Бельская¹, В.К. Косенок²***Уровень цитокинов в слюне при раке молочной железы**¹Омский государственный педагогический университет,²Омский государственный медицинский университет,
г. Омск

В настоящее время актуальной задачей является поиск новых биомаркеров как перспективного инструмента для раннего выявления и мониторинга рака молочной железы. Цель исследования: изучение уровня цитокинов в слюне при раке молочной железы. В исследовании случай — контроль приняли участие добровольцы, которые были разделены на 3 группы: основную (рак молочной железы, $n=43$), группу сравнения (фиброаденомы, $n=32$) и контрольную группу (условно здоровые, $n=39$). Всем участникам были проведены анкетирование, биохимическое исследование слюны, гистологическая верификация диагноза. Межгрупповые различия оценены непараметрическим критерием. Показано, что на фоне рака молочной железы происходит рост уровня цитокинов (ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-10 и ИЛ-18), кроме ИЛ-8, содержание которого снижается по сравнению с группой контроля. При прогрессировании заболевания по характеру динамики параметры делятся на две группы: а) ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-18 и б) ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-10. Для первой группы цитокинов отмечено уменьшение содержания при переходе от ранних стадий к более распространенным. Для второй группы при переходе от стадий $T_{1-2}N_0M_0$ к $T_{1-2}N_1M_0$ уровень цитокинов остается практически постоянным. В дальнейшем для стадии $T_{3-4}N_{0-2}M_0$ наблюдается рост уровня цитокинов, причем для ИЛ-2, ИЛ-4 и ИЛ-10 уровень цитокинов достигает значений, соответствующих ранним стадиям, тогда как для ИЛ-6, ИЛ-8 и ИЛ-18 в этом же направлении отмечен существенный рост показателей. Дополнительно рассчитано отношение ИЛ-6/ИЛ-8 в зависимости от размера опухоли, а также наличия/отсутствия метастазирования. Показано, что данное отношение статистически достоверно увеличивается на распространенных стадиях заболевания, хотя особенно значимым представляется увеличение данного отношения в слюне уже и на начальных стадиях заболевания.

Ключевые слова: цитокины, слюна, рак молочной железы

У женщин рак молочной железы (РМЖ) является вторым наиболее часто диагностируемым видом онкологических заболеваний, однако именно он является основной причиной смертности [2, 17, 39]. Во всем мире РМЖ ежегодно убивает более 571 000 женщин, а в 2012 году РМЖ был диагностирован у 1,7 миллиона женщин [42]. Почти 90% пациентов с ранней стадией РМЖ могут выживать более 5 лет, но эта доля снижается до 20% при метастазировании [10]. Поэтому актуальной задачей является поиск новых биомаркеров как перспективного инструмента для раннего выявления и мониторинга РМЖ [32].

Существует большое количество исследований, показывающих, что экспрессия различных цитокинов изменяется при РМЖ [12, 20, 21, 25, 26]. В частности, при заболеваниях молочной железы цитокины могут вовлекаться в инфекционно-воспалительный процесс и аллергический ответ на уровне иммунных механизмов и эффекторного звена, что во многом определяет направление, тяжесть и исход патологического процесса [21, 26]. При этом ряд цитокинов обладает способностью инициировать и стимулировать воспалительные реакции (ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-18, α -ФНО), тогда как другие подавляют их (ИЛ-4, ИЛ-10) [3]. Так, ИЛ-2 запускает иммунный ответ и активирует факторы, участвующие как в противовирусной и противобактериальной, так и противоопухолевой защите, стимулирует пролиферацию и активацию натуральных киллеров и цитотоксических лимфоцитов. ИЛ-4 отвечает за гуморальный иммунный ответ, обладает местной противоопухолевой активностью, подавляет продукцию цитокинов воспаления (ИЛ-8, α -ФНО), а также регулирует такие биологические процессы, как пролиферация, дифференцировка и апоптоз в различных типах клеток [27]. ИЛ-6 играет ключевую роль в развитии воспаления и иммунного ответа на инфекцию или повреждение тканей [15]. Показана связь уровня ИЛ-6

с ранним прогрессированием РМЖ [35, 36]. В целом, уровни ИЛ-6 и ИЛ-8 в плазме крови положительно коррелируют со стадией заболевания и смертностью от РМЖ [33]. ИЛ-8 вызывает аккумуляцию нейтрофилов, которые могут непосредственно убивать раковые клетки, однако, с другой стороны, обладая ангиогенной активностью, ИЛ-8 способствует образованию новых сосудов, и в конечном счете, развитию опухоли [40]. ИЛ-8 является важным воспалительным фактором, и многие исследования показывают, что воспаление в микроокружении опухоли играет важную роль в прогрессировании РМЖ [8]. ИЛ-10 играет важную роль в патогенезе рака: при избыточной продукции ИЛ-10 повышается вероятность возникновения опухолей в связи с иммуносупрессией [30], тогда как с другой стороны, ИЛ-10 ингибирует ангиогенез, а, следовательно, рост опухоли и метастазирование [3, 18]. Показана связь уровня ИЛ-10 с маркерами апоптоза, что может указывать на увеличение агрессивности опухоли, даже на ранней стадии [24]. Повышенное содержание ИЛ-18 в сыворотке крови пациенток с различными формами рака коррелирует с прогрессированием заболевания и развитием метастазирования. С одной стороны, ИЛ-18 усиливает экспрессию Fas-лиганда на естественных киллерах и Т-лимфоцитах, ингибирует рост кровеносных сосудов в опухолевой ткани. С другой стороны, он стимулирует выработку хемокинов, таких как ИЛ-8, что может спровоцировать метастазирование опухоли [3]. Уровень α -ФНО находится в прямой зависимости от степени выраженности эндогенной интоксикации [1].

Известно, что ряд цитокинов, например, ИЛ-6, могут быть обнаружены в слюне, а не только в сыворотке или плазме крови [6, 7]. Поскольку цитокины, обнаруживаемые в слюне, могут накапливаться с течением времени, это позволяет более эффективно определять их уровни, чем циркулирующие в крови [13, 19]. Тем не менее ряд исследований показывают, что установить однозначную корреляцию между уровнем цитокинов в крови и слюне сложно [9, 11, 41].

Преимущества слюны по сравнению с венозной или капиллярной кровью обуславливаются неинвазивностью сбора и отсутствием риска инфицирования при получении биоматериала [16, 31, 38]. При этом слюна не только адекватно отражает биохимический статус и физиологическое состояние человека, но и является потенциально более информативной средой для использования ее как в клинической лабораторной диагностике, так и в специальных научных целях [14, 28, 37].

Цель исследования — изучение уровня цитокинов в слюне при РМЖ.

Материал и методика

В исследовании случай — контроль приняли участие добровольцы, которые были разделены на 3 группы: основную (РМЖ, $n=43$, средний возраст 50,2 [42,3; 58,0] лет), группу сравнения (фиброаденомы, $n=32$, средний возраст 43,5 [38,3; 53,5] лет) и контрольную группу (условно здоровые, $n=39$, средний возраст 44,0 [38,1; 55,1] лет). Основная группа была дополнительно разбита на подгруппы в соответствии со стадированием по TNM ($T_{1-2}N_0M_0$ — 18, $T_{1-2}N_1M_0$ — 10, $T_{3-4}N_{0-2}M_0$ — 8, $T_{1-4}N_{0-2}M_1$ — 7 человек), а также по возрасту (до 45 лет — 15, 45-59 лет — 15 и старше 60 лет — 13 человек). Включение в группы происходило параллельно. В качестве критериев включения рассматривались: возраст пациентов 30–75 лет, отсутствие какого-либо лечения на момент проведения исследования, в том числе хирургического, химиотерапевтического или лучевого, отсутствие признаков активной инфекции (включая гнойные процессы), проведение санации полости рта. Критерии исключения: отсутствие гистологической верификации диагноза. Исследования одобрены на заседании комитета по этике БУЗ Омской области «Клинический онкологический диспансер» от 21 июля 2016 г., протокол № 15.

У всех участников до начала лечения проводили забор слюны в количестве 1 мл. Образцы слюны собирали утром натощак путем сплевывания в стерильные пробирки, центрифугировали при 7000 об/мин. Содержание в слюне цитокинов (ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-10, ИЛ-18, α -ФНО) определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа с использованием наборов «Вектор Бест» (Россия).

Статистический анализ полученных данных выполнен при помощи программ Statistica 10.0 (StatSoft) непараметрическим методом с использованием в зависимых группах критерия Вилкоксона, в независимых группах — U-критерия Манна-Уитни. Описание выборки производили с помощью подсчета медианы (Me) и интерквартильного размаха в виде 25-го и 75-го перцентилей [LQ; UQ]. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты исследования

Результаты определения уровня цитокинов слюны в исследуемых группах представлены в табл. 1. Показано, что на фоне рака молочной железы происходит рост уровня цитокинов, исключение составляет ИЛ-8, содержание которого снижается на 19,2% по сравнению с группой контроля. Динамика исследуемых параметров в основной группе и группе сравнения однопавлена, однако рост уровня ИЛ-18 при фиброаденомах молочной железы статистически достоверно выше ($p=0,0319$). При этом уровень ИЛ-18 в группе сравнения увеличивается на 41,1% (табл. 1).

На следующем этапе исследования проведено сравнение уровня цитокинов в слюне в зависимости от стадии заболевания (табл.2). Установлено, что по характеру динамики при переходе от ранних стадий к более распространенным исследуемые параметры делятся на две группы: ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-18 и ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-10. Для первой группы цитокинов отмечено умень-

Таблица 1. Уровень цитокинов в слюне пациентов исследуемых групп

Показатель	Контроль, n=39	ФА, n=32	PMЖ, n=43
ИЛ-2, пг/мл	1,42 [0,83; 1,89]	Нет данных	2,52 [1,54; 2,83]
	-	-	p1=0,0011
ИЛ-4, пг/мл	1,13 [0,38; 1,62]	1,40 [0,64; 1,83]	1,38 [0,63; 1,80]
ИЛ-6, пг/мл	0,72 [0,55; 1,60]	Нет данных	1,81 [0,92; 4,99]
ИЛ-8, пг/мл	154,69 [57,80; 220,91]	218,20 [147,93; 251,99]	125,00 [94,00; 148,00]
	-	p1=0,0121	p2=0,0208
ИЛ-10, пг/мл	1,81 [0,96; 2,19]	Нет данных	2,74 [1,85; 3,33]
	-	-	p1=0,0003
ИЛ-18, пг/мл	17,35 [7,02; 41,00]	49,10 [15,60; 76,20]	29,60 [10,50; 68,10]
	-	p1=0,0485	p2=0,0319
α-ФНО, пг/мл	2,36 [1,37; 3,09]	2,55 [1,74; 2,78]	2,55 [2,11; 3,04]

Примечание: p1 — статистически достоверные различия с контрольной группой, p2 — различия по сравнению с группой сравнения

Таблица 2. Динамика уровней цитокинов в зависимости от стадии заболевания

Показатель	T1-2N0M0 (1)	T1-2N1M0 (2)	T3-4N0-2M0 (3)	T1-4N0-2M1 (4)
ИЛ-2, пг/мл	2,62 [1,70; 2,99]	2,03 [1,56; 2,92]	2,54 [2,51; 2,74]	1,33 [0,98; 2,68]
	-	-	-	p1-4=0,0355
ИЛ-4, пг/мл	1,52 [0,87; 1,78]	0,90 [0,59; 2,01]	1,47 [1,32; 1,79]	0,49 [0,33; 1,80]
ИЛ-6, пг/мл	1,65 [0,79; 2,52]	1,71 [0,66; 1,95]	6,87 [5,35; 11,42]	5,49 [1,72; 6,02]
	-	-	p1-3=0,0037, p2-3=0,0131	p1-4=0,0495
ИЛ-8, пг/мл	128,50 [97,70; 185,50]	117,00 [53,90; 141,00]	183,00 [156,00; 215,00]	114,00 [80,10; 126,00]
	-	-	p2-3=0,0088	p3-4=0,0105
ИЛ-10, пг/мл	2,62 [1,85; 3,28]	2,87 [1,35; 3,39]	2,62 [2,34; 3,31]	2,15 [1,41; 3,32]
ИЛ-18, пг/мл	33,30 [10,90; 70,20]	15,30 [9,88; 66,60]	93,25 [38,60; 137,50]	20,05 [9,08; 35,10]
ИЛ-6/ИЛ-8, ·103 у.е.	9,85 [7,77; 16,04]	14,04 [8,83; 21,01]	35,09 [27,71; 69,88]	45,00 [21,47; 66,98]
	-	-	p1-3=0,0124, p2-3=0,0367	p1-4=0,0100

шение содержания при переходе от стадии T₁₋₂N₀M₀ к T₁₋₂N₁M₀ (-22,5%, -40,8% и -54,1% для ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-18 соответственно). Для второй группы при переходе от стадии T₁₋₂N₀M₀ к T₁₋₂N₁M₀ уровень цитокинов остается практически постоянным (+3,6%, -8,9% и +9,5% для ИЛ-6, ИЛ-8 и ИЛ-10 соответственно). В дальнейшем для стадии T₃₋₄N₀₋₂M₀ наблюдается рост уровня цитокинов, причем для ИЛ-2, ИЛ-4 и ИЛ-10 уровень цитокинов достигает значений, соответствующих ранним стадиям, тогда как для ИЛ-6, ИЛ-8 и ИЛ-18 в этом же направлении отмечен существенный рост показателей (+316,4%, +42,4%, +180,0% для ИЛ-6, ИЛ-8 и ИЛ-18 соответственно).

Дополнительно рассчитано отношение ИЛ-6/ИЛ-8 в зависимости от размера опухоли, а также наличия/отсутствия метастазирования (табл. 2). Показано, что данное отношение статистически достоверно увеличивается на распространенных

стадиях заболевания, при этом даже на стадии T₁₋₂N₀M₀ оно практически в 2 раза превышает соответствующее значение для контрольной группы (4,65 [2,12; 6,02]), тогда как при наличии отдаленного метастазирования различие увеличивается до 10 раз.

Для всех определяемых параметров были рассчитаны коэффициенты корреляции по Спирмену. Установлено, что уровень ИЛ-2 коррелирует с уровнями ИЛ-4 ($r=0,7815$) и ИЛ-10 ($r=0,4913$), тогда как уровень ИЛ-6 коррелирует с уровнями ИЛ-8 ($r=0,5002$) и ИЛ-10 ($r=0,4167$). Корреляцию между ИЛ-6 и ИЛ-18 установить не удалось, однако уровни ИЛ-8 и ИЛ-18 демонстрируют существование положительной корреляции ($r=0,6135$).

В целом, при наличии/отсутствии отдаленных метастазов уровни ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-10 и ИЛ-18 меняются разнонаправленно (рис. 1), при этом на фоне метастазирования уровни исследуемых цитокинов уменьшаются по сравнению

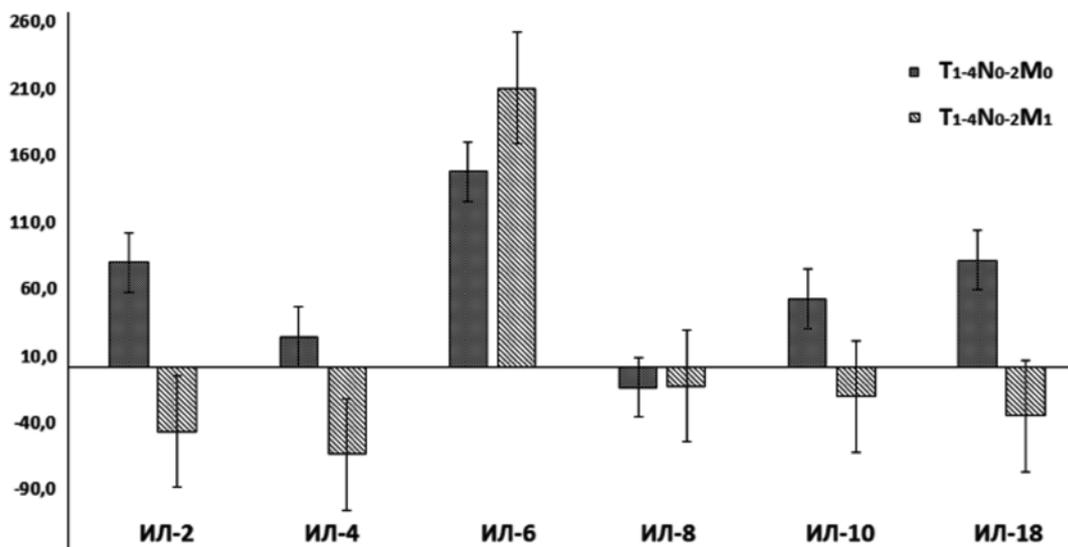


Рис. 1. Динамика уровня цитокинов на фоне наличия/отсутствия метастазирования

Таблица 3. Уровень цитокинов в слюне в зависимости от возраста пациенток с РМЖ

Показатель	до 45 лет, n=15	45-59 лет, n=15	старше 60 лет, n=13
Средний возраст, лет	39,0 [34,0; 44,0]	51,5 [49,0; 56,0]	66,0 [64,0; 69,0]
ИЛ-2, пг/мл	2,03 [1,70; 2,59]	2,53 [1,43; 2,93]	2,81 [2,58; 2,98]
ИЛ-4, пг/мл	1,04 [0,73; 1,52]	1,77 [0,63; 1,92]	1,81 [1,24; 2,06]
	-	-	p=0,0448
ИЛ-6, пг/мл	1,95 [1,30; 5,08]	1,91 [0,63; 3,10]	1,22 [0,72; 1,76]
	-	-	p=0,0390
ИЛ-8, пг/мл	125,00 [97,75; 143,50]	141,00 [117,00; 202,00]	96,70 [65,50; 152,50]
ИЛ-10, пг/мл	2,87 [2,60; 3,28]	2,47 [1,32; 3,35]	2,78 [2,15; 3,56]
ИЛ-18, пг/мл	14,85 [10,20; 33,30]	70,20 [32,70; 84,00]	29,90 [14,80; 52,20]
	-	p=0,0350	-
ИЛ-6/ИЛ-8, ·103 у.е.	16,04 [10,67; 60,05]	10,16 [7,44; 16,94]	10,24 [7,65; 24,31]
	-	p=0,0452	-

Примечание: p — статистически достоверные отличия по сравнению с группой до 45 лет

с контрольной группой. Уровни ИЛ-6 увеличиваются в обоих случаях, тогда как уровни ИЛ-8 уменьшаются.

На следующем этапе исследования группа пациенток с РМЖ была разбита по возрасту в соответствии с рекомендациями ВОЗ, чтобы проанализировать влияние возраста на уровень определяемых параметров (табл.3). Показано, что уровни ИЛ-2 и ИЛ-4 с возрастом растут, причем увеличение уровня ИЛ-4 статистически достоверно для старшей возрастной группы. Уровни ИЛ-6 и ИЛ-8 в слюне с возрастом снижаются, отмечено также уменьшение соотношения ИЛ-6/ИЛ-8 (табл.3). Следует отметить, что уровень ИЛ-10 от возраста практически не зависит, тогда как динамика ИЛ-18 с возрастом неоднозначная: показан существенный рост при

переходе от младшей возрастной группы к средней (в 4,7 раза), а затем уменьшение в 2,3 раза при переходе к старшей возрастной группе.

Тем не менее, несмотря на выявленные отличия уровня цитокинов, установленное на первоначальном этапе статистически достоверное повышение уровней ИЛ-2 и ИЛ-10, а также уменьшение уровня ИЛ-8 при РМЖ сохраняется независимо от возраста (табл. 3). Только в младшей возрастной группе отмечено снижение уровня ИЛ-18 до значений меньше, чем в контрольной группе. Однако, рассчитанное соотношение ИЛ-6/ИЛ-8 в каждой возрастной группе более чем в 2 раза превышает соответствующее значение в группе контроля, что еще раз подтверждает возможность применения данного показателя для диагностики РМЖ.

Обсуждение результатов

В ходе проведенного исследования показана принципиальная возможность применения слюны для определения уровня цитокинов при РМЖ. Выявлен неоднозначный характер изменения уровня цитокинов в слюне в зависимости от возраста пациентов, что повлияло на оценку статистически достоверных отличий исследуемых параметров по сравнению с группой контроля (табл.3). Тем не менее следует отметить, что в случае использования полученных результатов в клинической лабораторной диагностике требуется определять референсные значения с учетом возрастной группы пациентов.

Поскольку литературные данные о содержании цитокинов в слюне пациентов с РМЖ отсутствуют, проведено сопоставление полученных результатов с соответствующими показателями для крови [4, 5, 21-23, 29, 34, 43]. Так, установлено, что уровень ИЛ-2 статистически достоверно повышается в слюне пациентов с РМЖ, а также растет при увеличении размера опухоли (табл. 1, рис. 1). Данный факт согласуется с данными литературы, согласно которым более высокий уровень ИЛ-2 в сыворотке крови пациентов с РМЖ обусловлен его ролью в повышении выживаемости и пролиферации активированных CD8⁺T-клеток, что в свою очередь приводит к повышению общего цитотоксического ответа [22].

Известно, что уровень ИЛ-4 выше при злокачественных опухолях молочной железы по сравнению с доброкачественными [34]. Однако согласно полученным нами данным, уровень ИЛ-4 в слюне остается практически постоянным как на фоне фиброаденом, так и при РМЖ, однако при прогрессировании заболевания уровень ИЛ-4 растет, причем его динамика сходна с ИЛ-2.

В ходе проведенного исследования показано, что уровни ИЛ-6 и ИЛ-8 в слюне меняются разнонаправлено, для последнего отмечено уменьшение содержания при РМЖ (табл. 1). Однако при прогрессировании заболевания оба цитокина демонстрируют статистически достоверное увеличение уровней. Данный факт не согласуется с литературными данными, показывающими, что уровень ИЛ-8 в сыворотке крови выше у пациентов с РМЖ и может являться независимым прогностическим показателем для данного заболевания [5, 21, 23]. Следует отметить, что более информативным может являться отношение ИЛ-6/ИЛ-8, поскольку известно, что при отношении более 2,0 наблюдается индукция клеточной пролиферации, тогда как при значениях менее 1,0 такого эффекта не наблюдалось [4]. Важно отметить, что не сам прирост уровня

цитокинов дает подобный эффект, а именно изменение отношения ИЛ-6/ИЛ-8. Действительно, расчет соотношения ИЛ-6/ИЛ-8 на фоне РМЖ демонстрирует закономерное увеличение вплоть до распространенных стадий (табл.2). Особенно интересным представляется увеличение данного отношения в слюне уже на начальных стадиях заболевания (табл. 2).

Характер динамики ИЛ-10 в слюне неоднозначный: на фоне РМЖ уровень ИЛ-10 растет, однако на распространенных стадиях заболевания и при метастазировании наблюдается уменьшение его концентрации.

В слюне уровень ИЛ-18 растет как на фоне фиброаденом, так и при РМЖ, однако максимальный рост отмечен для стадии T₃₋₄N₀₋₂M₀ (в 4,37 раза по сравнению с контрольной группой, +89,9% по сравнению с группой сравнения). Это хорошо согласуется с данными, показывающими, что ИЛ-18 может быть критическим фактором в метастазировании и патогенезе РМЖ [29, 43].

Что касается уровня α-ФНО, то в данном исследовании не отмечено статистически достоверного изменения его содержания в слюне как для основной группы, так и для группы сравнения, в связи с чем дальнейшее изучение данного параметра при РМЖ не является целесообразным.

Заключение

Показано, что на фоне РМЖ происходит рост уровня цитокинов (ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-10 и ИЛ-18), кроме ИЛ-8, содержание которого снижается по сравнению с группой контроля. При прогрессировании заболевания по характеру динамики параметры делятся на две группы: ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-18 и ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-10. Для первой группы цитокинов отмечено уменьшение содержания при переходе от ранних стадий к более распространенным. Для второй группы при переходе от стадий T₁₋₂N₀M₀ к T₁₋₂N₁M₀ уровень цитокинов остается практически постоянным. В дальнейшем для стадии T₃₋₄N₀₋₂M₀ наблюдается рост уровня цитокинов, причем для ИЛ-2, ИЛ-4 и ИЛ-10 уровень цитокинов достигает значений, соответствующих ранним стадиям, тогда как для ИЛ-6, ИЛ-8 и ИЛ-18 в этом же направлении отмечен существенный рост показателей. Дополнительно рассчитано отношение ИЛ-6/ИЛ-8 в зависимости от размера опухоли, а также наличия/отсутствия метастазирования. Данное отношение статистически достоверно увеличивается на распространенных стадиях заболевания ($p=0,0107$). Особенно значимым представляется увеличение данного отношения в слюне уже на начальных стадиях заболевания.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ерзутова М.В., Успенская И.Д., Маянская И.В., Коркоташвили Л.В., Потехин П.П. Значение провоспалительных цитокинов в секрете ротовой полости у больных целиакией // Медицинская альманах. — 2011. — Т. 19. — № 6. — С. 179–182.
2. Косенок В.К., Бельская Л.В., Массард Ж., Вьюшков Д.М. Статистические особенности заболеваемости раком молочной железы в Омской области // Вопросы онкологии. — 2016. — Т. 62. — № 4. — С. 410–415.
3. Akdis M., Aab A., Altunbulakli C. et al. Interleukins (from IL-1 to IL-38), interferons, transforming growth factor b, and TNF-a: Receptors, functions, and roles in diseases. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. — 2016. — Vol. 138. — № 4. — P. 984–1010.
4. Barajas-Gómez BA. et al. Relationship of inflammatory profile of elderly patient's serum and senescence-associated secretory phenotype with human breast cancer cells proliferation: Role of IL6/IL8 ratio // *Cytokine*. — 2017. — Vol. 91. — P. 13–29.
5. Benoy I.H., Salgado R., Van Dam P. et al. Increased serum interleukin-8 in patients with early and metastatic breast cancer correlates with early dissemination and survival // *Clin. Cancer Res.* — 2004. — Vol. 10. — P. 7157–7162.
6. Brailo V., Vucicevic-Boras V., Lukac J. et al. Salivary and serum interleukin 1 beta, interleukin 6 and tumor necrosis factor alpha in patients with leukoplakia and oral cancer // *Med. Oral Patol. Oral Cir. Bucal.* — 2012. — Vol. 17. — P. e10–e15.
7. Byrne ML, O'Brien-Simpson NM, Reynolds EC, Walsh KA, Laughton K, Waloszek JM, Woods MJ, Trinder J, Allen NB. Acute phase protein and cytokine levels in serum and saliva: A comparison of detectable levels and correlations in a depressed and healthy adolescent sample // *Brain, Behavior, and Immunity*. — 2013. — Vol. 34. — P. 164–175.
8. Cole SW. Chronic inflammation and breast cancer recurrence // *J. Clin. Oncol.* — 2009. — Vol. 27. — P. 3418–3419.
9. Cullen T., Thomas A.W., Webb R., Hughes M.G. The relationship between interleukin-6 in saliva, venous and capillary plasma, at rest and in response to exercise // *Cytokine*. — 2015. — Vol. 71. — № 2. — P. 397–400.
10. Etzioni R., Urban N., Ramsey S. et al. The case for early detection // *Nat. Rev. Cancer*. — 2003. — Vol. 3. — P. 243–252.
11. Fernandez-Botran R., Miller J.J., Burns V.E., Newton T.L. Correlations among inflammatory markers in plasma, saliva and oral mucosal transudate in postmenopausal women with past intimate partner violence // *Brain Behav. Immun.* — 2011. — Vol. 25. — P. 314–321.
12. Fuksiewicz M., Kaminska J., Kotowicz B. et al. Serum cytokine levels and the expression of estrogen and progesterone receptors in breast cancer patients // *Clin Chem Lab Med.* — 2006. — Vol. 44. — № 9. — P. 1092–1097.
13. Gilbertson-White S., Aouizerat B.E., Miaskowski C. Methodologic issues in the measurement of cytokines to elucidate the biological basis for cancer symptoms // *Biol. Res. Nurs.* — 2011. — Vol. 13. — P. 15–24.
14. Granger D.A., Kivlighan K.T., Fortunato C. et al. Integration of salivary biomarkers into developmental and behaviorally-oriented research: problems and solutions for collecting specimens // *Physiol. Behav.* — 2007. — Vol. 92. — P. 583–590.
15. Ho L-J, Luo S-F, Lai J-H. Biological effects of interleukin-6: Clinical applications in autoimmune diseases and cancers // *Biochemical Pharmacology*. — 2015. — Vol. 97. — № 1. — P. 16–26.
16. Javaid M.A., Ahmed A.S., Durand R., Tran S.D. Saliva as a diagnostic tool for oral and systemic diseases // *Journal of oral biology and craniofacial research*. — 2016. — Vol. 6. — № 1. — P. 67–76.
17. Jemal A., Bray F., Center M.M. et al. Global cancer statistics // *CA Cancer J. Clin.* — 2011. — Vol. 61. — P. 69–90.
18. Jung M., Weigert A., Tausendschön M. et al. Interleukin-10-induced neutrophil gelatinase-associated lipocalin production in macrophages with consequences for tumor growth // *Mol. Cell Biol.* — 2012. — Vol. 32. — № 19. — P. 3938–3948.
19. Khan A. Detection and quantitation of forty-eight cytokines, chemokines, growth factors and nine acute phase proteins in healthy human plasma, saliva and urine // *Journal of Proteomics*. — 2012. — Vol. 75. — P. 4802–4819.
20. King J., Mir H., Singh S. Association of Cytokines and Chemokines in Pathogenesis of Breast Cancer // *Progress in Molecular Biology and Translational Science*. — 2017. — Vol. 151. — P. 113–136.
21. Li L., Chen L., Zhang W. et al. Serum cytokine profile in patients with breast cancer // *Cytokine*. — 2017. — Vol. 89. — P. 173–178.
22. Li X., Lu P., Li B. et al. Interleukin 2 and interleukin 10 function synergistically to promote CD8+ T cell cytotoxicity, which is suppressed by regulatory T cells in breast cancer // *International Journal of Biochemistry and Cell Biology*. — 2017. — Vol. 87. — P. 1–7.
23. Lin Y., Huang R., Chen L. et al. Identification of interleukin-8 as estrogen receptor-regulated factor involved in breast cancer invasion and angiogenesis by protein arrays // *Int. J. Cancer*. — 2004. — Vol. 109. — P. 507–514.
24. Llanes-Fernandez L., Alvarez-Goyanes R.I., Arango-Prado M. et al. Relationship between IL-10 and tumor markers in breast cancer patients // *The Breast*. — 2006. — Vol. 15. — P. 482–489.
25. Lyon D.E., McCain N.L., Walter J., Schubert C. Cytokine Comparisons between Women with Breast Cancer and Women with a Negative Breast Biopsy // *Nursing Research*. — 2008. — Vol. 57. — № 1. — P. 51–58.
26. Mathelin C., Cromer A., Wendling C. et al. Serum biomarkers for detection of breast cancers: a prospective study // *Breast Cancer Res. Treat.* — 2006. — Vol. 96. — P. 83–90.
27. Nelms K., Keegan A.D., Zamorano J. et al. The IL-4 receptor: signaling mechanisms and biologic functions // *Annu. Rev. Immunol.* — 1999. — V. 17. — P. 701–738.
28. Papacosta E, Nassis GP. Saliva as a tool for monitoring steroid, peptide and immune markers in sport and exercise science // *Journal of Science and Medicine in Sport*. — 2011. — V. 14. — P. 424–434.
29. Park S., Yoon S.Y., Kim K.E. et al. Interleukin-18 induces ferritin expression in breast cancer cell line MCF-7 // *Cancer Lett.* — 2009. — Vol. 286. — P. 189–195.
30. Paul S., Biswas A., Sasmal K. et al. IL-10 alters prolactin receptor activity emulating that during breast cancer // *Cytokine*. — 2010. — Vol. 51. — P. 144–150.
31. Pfaffe T., Cooper-White J., Beyerlein P. et al. Diagnostic potential of saliva. Current state and future applications // *Clin. Chem.* — 2011. — Vol. 57. — P. 675–687.

32. Porto-Mascarenhas E.C., Assad D.X., Chardin H. et al. Salivary biomarkers in the diagnosis of breast cancer: a review // *Critical Reviews in Oncology/Hematology*. — 2017. — Vol. 110. — P. 62–73.
33. Razmkhah M., Jaberipour M., Hosseini A. et al. Expression profile of IL-8 and growth factors in breast cancer cells and adipose-derived stem cells (ASCs) isolated from breast carcinoma // *Cell Immunol.* — 2010. — Vol. 265. — P. 80–85.
34. Rohani Borj M., Andalib A.R., Mohammadi A. et al. Evaluation of IL-4, IL-17, and IFN- γ levels in patients with breast cancer // *Int J Basic Sci Med.* — 2017. — Vol. 2. — № 1. — P. 20–24.
35. Sağlam Öül, Ünal Z.S., Subaşı C., Ulukaya E., Karaöz E. IL-6 originated from breast cancer tissue-derived mesenchymal stromal cells may contribute to carcinogenesis // *Tumour Biol.* — 2015. — Vol. 36. — P. 5667–5677.
36. Sansone P., Storci G., Tavolari S. et al. IL-6 triggers malignant features in mammospheres from human ductal breast carcinoma and normal mammary gland // *J Clin Invest.* — 2007. — Vol. 117. — P. 3988–4002.
37. Shipper R.G., Silletti E., Vingerhoeds M.H. Saliva as research material: Biochemical, physicochemical and practical aspects // *Archives of oral biology.* — 2007. — Vol. 52. — P. 1114–1135.
38. Suzuki T., Omata K., Satoh T. et al. Quantitative detection of hepatitis C virus (HCV) RNA in saliva and gingival crevicular fluid of HCV-infected patients // *J. Clin. Microbiol.* — 2005. — Vol. 43. — P. 4413–4417.
39. Veronesi U, Boyle P. Breast Cancer. Reference Module in Biomedical Sciences. International Encyclopedia of Public Health (Second Edition). — 2017. — P. 272–280.
40. Waugh D.J., Wilson C. The interleukin-8 pathway in cancer // *Clin. Cancer Res.* — 2008. — Vol. 14. — № 21. — P. 6735–6741.
41. Williamson S., Munro C., Pickler R. et al. Comparison of biomarkers in blood and saliva in healthy adults // *Nurs. Res. Pract.* — 2012. — Article ID 246178. — 4 p. — <http://dx.doi.org/10.1155/2012/246178>.
42. World Health Organization Media Centre, Fact sheet N0297, Cancer, World Health Organization. — 2014, <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs297/en/>.
43. Yang Y., Cheon S., Jung M.K. et al. Interleukin-18 enhances breast cancer cell migration via down-regulation of claudin-12 and induction of the p38 MAPK pathway // *Biochemical and Biophysical Research Communications.* — 2015. — Vol. 459. — № 3. — P. 379–386.

L.V. Bel'skaya¹, V.K. Kosenok²

The level of cytokines in the saliva of patients with breast cancer

¹Omsk State Pedagogical University, Omsk

²Omsk State Medical University, Omsk

Currently, the urgent task is to search for new biomarkers as a promising tool for early detection and monitoring of breast cancer. The aim of the study was to study the level of cytokines in the saliva of patients with breast cancer. In the case-control study volunteers participated, which were divided into 3 groups: the main (breast cancer, n = 43), the comparison group (fibroadenoma, n = 32) and the control group (conditionally healthy, n = 39). All participants were questioned; biochemical examination of saliva, histological verification of the diagnosis was carried out. Intergroup differences are estimated by a nonparametric criterion. It is shown that in the context of breast cancer, the level of cytokines (IL-2, IL-4, IL-6, IL-10 and IL-18) is increasing, except for IL-8, the content of which decreases compared to the control group. When the disease progresses by the nature of the dynamics, the parameters are divided into two groups: IL-2, IL-4, IL-18 and IL-6, IL-8, IL-10. For the first group of cytokines, there was a decrease in content during the transition from the early stages to the more common ones. For the second group, when passing from stages $T_{1-2}N_0M_0$ to $T_{1-2}N_1M_0$, the level of cytokines remains practically constant. In the future, the level of cytokines is observed for stage $T_{3-4}N_{0-2}M_0$, and for IL-2, IL-4 and IL-10, the level of cytokines reaches values corresponding to early stages, whereas for IL-6, IL-8 and IL-18 in the same direction, a significant increase in indicators was noted. Additionally, the IL-6/IL-8 ratio was calculated depending on the tumor size, as well as the presence / absence of metastasis. It is shown that this ratio is statistically significantly increased in the advanced stages of the disease. Particularly interesting is the increase in this ratio in saliva at the initial stages of the disease.

Key words: cytokines, saliva, breast cancer

Поступила в редакцию 09.11.2018 г.