GPR4 VA ENDOTELIAL DISFUNKSIYA: KO‘KRAK BEZI SARATONIDA YANGI BIOMARKER

Mirzayeva Matluba Akbarali qizi - Ph.D.
Iriskulov Baxtiyor Uktyamovich - professor
Toshkent davlat tibbiyot universiteti (Toshkent, O‘zbekiston)

Annotatsiya. *Ushbu tadqiqotda GRK4 (G protein-coupled receptor kinase 4) darajasining ko‘krak bezi saratoni (KBS) bosqichlari bilan bog‘liqligi va uning endotelial disfunksiya bilan aloqasi o‘rganildi. Jami 52 nafar ayol bemor (31–74 yosh) tahlilga kiritildi. Zardobdagi GRK4 darajasi sandwich-ELISA usuli yordamida aniqlanib, erta bosqichda yuqoriroq (74,6 ± 18,2 ul), metastatik bosqichda esa pastroq (54,7 ± 31,4 ul) ko‘rsatkichlar qayd etildi (p = 0,047). ROC tahlilida GRK4 < 60 ul kesish nuqtasi metastatik shaklni 75 % sezuvchanlik va 83 % o‘ziga xoslik bilan farqlandi (AUC = 0,81). Gipertenziya, semizlik va qandli diabet bilan kechuvchi bemorlarda GRK4 darajasining pasaygani endotelial disfunksiya va saraton progressiyasi o‘rtasidagi bog‘liqlikni ko‘rsatadi. GRK4 ko‘krak bezi saratoni uchun istiqbolli diagnostik va prognostik biomarker sifatida baholanishi mumkin.*

Kalit so‘zlar: *ko‘krak bezi saratoni, GRK4, endotelial disfunksiya, gipertenziya, semizlik, biomarker, ELISA*

GPR4 AND ENDOTHELIAL DYSFUNCTION: A NEW BIOMARKER IN BREAST CANCER

Mirzaeva Matluba Akbarali kizi - Ph.D.
Iriskulov Bakhtiyar Uktyamovich - professor
Tashkent state medical university (Tashkent, Uzbekistan)

Annotation. *This study evaluated the relationship between GRK4 (G protein-coupled receptor kinase 4) serum levels, breast cancer (BC) stages, and endothelial dysfunction. A total of 52 female patients aged 31–74 years were included. Serum GRK4 concentrations measured by sandwich-ELISA were higher in early-stage BC (74.6 ± 18.2 ul) and lower in metastatic cases (54.7 ± 31.4 ul, p = 0.047). ROC analysis revealed an optimal cutoff value of GRK4 < 60 ul, showing 75% sensitivity and 83% specificity (AUC = 0.81). Reduced GRK4 levels in hypertensive, obese, and diabetic patients suggest a link between endothelial dysfunction and cancer progression. GRK4 may serve as a promising diagnostic and prognostic biomarker for breast cancer management.*

Keywords:*breast cancer, GRK4, endothelial dysfunction, hypertension, obesity, biomarker, ELISA*

GPR4 И ЭНДОТЕЛИАЛЬНАЯ ДИСФУНКЦИЯ: НОВЫЙ БИОМАРКЕР ПРИ РАКЕ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Мирзаева Матлуба Акбарали кизи - Ph.D.
Ирискулов Бахтияр Уктямович - профессор
Ташкентский государственный медицинский университет (Ташкент, Узбекистан)

Аннотация. *В исследовании изучена взаимосвязь уровня GRK4 (G protein-coupled receptor kinase 4) в сыворотке крови с клиническими стадиями рака молочной железы (РМЖ) и признаками эндотелиальной дисфункции. В анализ включено 52 женщины в возрасте от 31 до 74 лет. Средний уровень GRK4 был выше на ранних стадиях РМЖ (74,6 ± 18,2 ул) и ниже при метастатическом процессе (54,7 ± 31,4 ул; p = 0,047). ROC-анализ показал пороговое значение GRK4 < 60 ул с чувствительностью 75 % и специфичностью 83 % (AUC = 0,81). Снижение уровня GRK4 у пациенток с артериальной гипертензией, ожирением и сахарным диабетом указывает на связь между эндотелиальной дисфункцией и прогрессированием опухоли. GRK4 может рассматриваться как перспективный диагностический и прогностический биомаркер рака молочной железы.*

Ключевые слова: *рак молочной железы, GRK4, эндотелиальная дисфункция, гипертония, ожирение, биомаркер, ELISA*

Kirish. Ko‘krak bezi saratoni (KBS) ayollar orasida eng yuqori insidensiyaga ega malign neoplazma bo‘lib, uning patogenezida genetik predispotsiya bilan birga yondosh somatik kasalliklar – arterial gipertenziya (AG), semizlik va qandli diabet kabi metabolik buzilishlar – muhim etiologik omil sifatida qaralmoqda [1,8]. Meta-tahlillar AG bilan og‘rigan ayollarda KBS rivojlanish xavfining 13–15% ga ortishini tasdiqlagan bo‘lib, bu assotsiatsiya umumiy risk omillarini (yosh, BRCA mutatsiyalari, reproduktiv anamnez) korrigatsiya qilingandan keyin ham statistik ahamiyatga ega bo‘lib qolmoqda [5,8]. Ushbu klinik bog‘lanishning molekulyar substrati sifatida G-protein bilan bog‘langan retseptor kinazasi 4 (GRK4) oqsili taklif etilmoqda, chunki GRK4 nafaqat AG ning genetik asosida, balki KBSda o‘sma hujayralarining proliferatsiyasi, invaziyasi va gematogen metastazlanishida ham markaziy regulator vazifasini o‘taydi [5,6,8].

GRK4 GRK oilasining (GRK1–7) GRK4 subfamiliyasiga kiruvchi serin/treonin kinaza bo‘lib, G-protein bilan bog‘langan retseptorlar (GPCR) ning

agonist-induksiyalangan desensitizatsiyasini ta'minlaydi [5]. Fiziologik sharoitda GRK4 asosan testikulyar to'qimalarda ekspressiyalanadi, biroq KBS hujayralarida uning patologik ortiqcha ekspressiyasi kuzatiladi, bu esa β-arrestin-1/2 orqali mitogen-aktivatsiyalangan protein kinazasi (MAPK) kaskadlarini (ERK1/2 va JNK) faollashtirib, o'sma hujayralarining proliferativ va invaziv fenotipini kuchaytiradi [5]. GRK4 ekspressiyasining oshishi KBSning in vitro va in vivo modellarida o'sma hajmi, metastatik potensial va Ki-67 proliferatsiya indeksining ortishi bilan korrelyatsiya qiladi [5]. Bundan tashqari, premenopauzal ayollarda AG va semizlikning komorbidligi GRK4 orqali o'sma agressivligini va gematogen metastazlanishini sezilarli darajada oshirishi ko'rsatilgan bo'lib, bu holat luminal B va HER2-boyitilgan subtiplarda IL-6, insulin va HOMA-IR indeksining ortishi bilan hamkorlikda namoyon bo'ladi [2,4,5,7]. AG ning mikroangiopatik asoratlari, jumladan endotelial disfunksiya va kapillyar o'tkazuvchanlikning oshishi, KBSda o'sma mikro muhitining shakllanishiga hissa qo'shishi mumkin [4].

GPR4 – bu hujayra membranasidagi protonsezuvchi G-protein bilan bog'langan retseptor bo'lib, u kislotali mikro-muhitda faollashadi va **angiogenez, endotelial o'sish hamda yallig'lanish** jarayonlarini kuchaytiradi. Bosh va bo'yin o'smalarida GPR4 ekspressiyasining ortishi **o'sma tomirlanishining jadallashuvi** va **VEGF (vasculyar endothelial growth factor)** darajasining oshishi bilan bog'liq.[3] Tadqiqotda GPR4 faollashuvi **ERK1/2 va cAMP** signal yo'llarini faollashtirib, endotelial hujayralarning proliferatsiya va migratsiyasini tezlashtirgan. Shu tarzda, GPR4 o'sma mikro-muhitidagi past pH holatida angiogen signallarni kuchaytiruvchi markaziy molekula sifatida namoyon bo'ladi, bu esa **ko'krak bezi saratonida ham endotelial disfunksiya va metastaz** bilan o'xshash mexanizmni taxmin qilish imkonini beradi [3].

Ushbu original tadqiqotda erta bosqich va metastatik KBS bemorlarida GRK4 qon zardob darajasini ELISA usuli bilan o'lchash orqali uning kasallik bosqichi va endothelial disfunksiyali bemorlarda metastazlanishga ta'sirini baholash maqsad qilingan.

Metod va material. Ushbu retrospektiv klinik tadqiqot 2024–2025-yillarda Toshkent shahridagi "VIA MED" klinik-diagnostika laboratoriyasida o'tkazildi. Tadqiqot Helsinki deklaratsiyasi (2013) etik me'yorlariga muvofiq bajarildi. Barcha bemorlardan rozilik olindi.

Tadqiqotga 52 nafar ayol bemor (31–74 yosh, o'rtacha 52,4 ± 11,2 yil) kiritildi. Ular ko'krak bezi saratoni tashxisi bilan erta va mahalliy tarqalgan bosqich (I–III stadiya, n=36) va metastatik bosqich (IV stadiya, n=16) guruhlariga ajratildi. Kiritish mezonlari: gistologik tasdiqlangan ko'krak bezi saratoni tashxisi, endotelial disfunksiya bilan bog'liq yondosh kasalliklar mavjudligi(arterial gipertenziya, semizlik, diabet). Chiqarish mezonlari: boshqa malign neoplaziyalar. Qon namunasi ertalab och qoringa 5 ml hajmda tirsak venasidan olindi, 3000 rpm da 10 daqiqa sentrifugalandi va olingan zardob –80°C da saqlandi. GPR4 darajasi sandwich-ELISA usuli bilan Human GPR4 ELISA Kit (MyBioSource, AQSH) yordamida aniqlandi("Via med" MChJ tomonidan natijalar taqdim etilgan). Natijalar GraphPad Prism 9.0 dasturida qayta statistik hisoblandi. Guruhlar o'rtasidagi farq Student t-testi bilan solishtirildi. Diagnostik ahamiyatni baholash uchun ROC tahlil (AUC, sezuvchanlik, o'ziga xoslik) qo'llanildi, $p < 0.05$ ahamiyatli deb qabul qilindi.

Natijalar: Tadqiqotga jami 52 nafar ayol bemor (31–74 yosh, o'rtacha 52,4 ± 11,2 yil) kiritildi. Bemorlar AJCC 8-tahrir tasnifi bo'yicha bosqichga qarab ikki guruhga ajratildi: erta va mahalliy tarqalgan bosqich (I–III stadiya, metastazsiz, n = 36) hamda metastatik bosqich (IV stadiya, uzoq metastaz — o'pka, suyak yoki jigar, n = 16). Erta bosqichdagi bemorlarning o'rtacha yoshi 53,1 ± 10,8 yilni, metastatik bosqichdagilarniki esa 50,9 ± 12,3 yilni tashkil etdi.

Laborator tadqiqot o'tkazilgan bemorlar GPR4 zardob darajasi baholandi. O'rtacha GPR4 darajasi erta bosqichda 74,6 ± 18,2 ul, metastatik bosqichda esa 54,7 ± 31,4 ul bo'lib, bu farq statistik jihatdan ahamiyatli deb topildi (p = 0,047) (jadval 2). Metastatik guruh tarkibidagi arterial gipertenziya va semizlikka ega bemorlarda GRK4 darajasi yanada pastroq qayd etildi, bu esa vaskulyar disfunksiya va metabolik buzilishlar bilan o'zaro bog'liqlik ehtimolini ko'rsatadi.

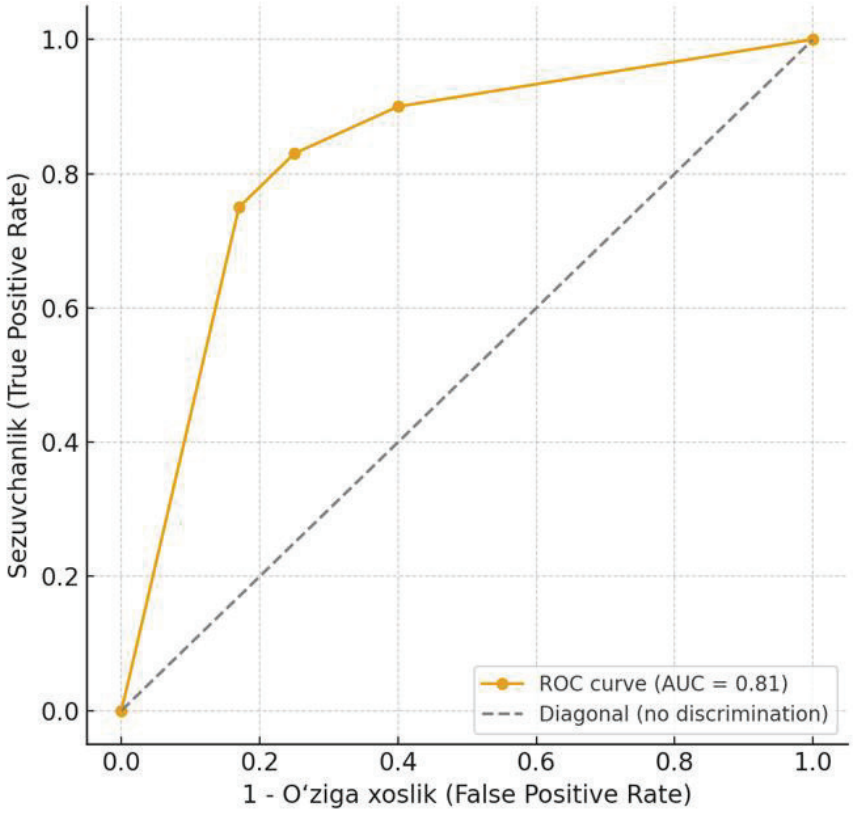
1-jadval.

Bemorlarda kasallikning bosqichiga bog'liq GPR4 zardob o'zgarishlari*

Guruh	n	Mean±SD	p-qiymat
Erta bosqich	36	74.6±18.2	
Metastatik	16	54.7±31.4	0.047

*Zardobdagi GPR4 darajasi ELISA usuli yordamida baholandi. Ishlab chiqaruvchining texnik pasporti va kalibratsiya ma'lumotlari taqdim etilmaganligi sababli, natijalar laboratoriya tomonidan belgilangan shartli birliklarda (U/L) ifodalandi.

Klinik bosqichni ajratishdagi diagnostik ahamiyatni baholash uchun ROC tahlil o'tkazildi. Ushbu tahlil GPR4 ni ko'krak bezi saratonining erta va metastatik bosqichlarini farqlashda klinik jihatdan foydali biomarker sifatida baholash imkonini beradi (1-rasm).



1 rasm. **ROC curve: Kesish nuqtasi GPR4 < 60 ul → Sezuvchanlik: 75%, O‘ziga xoslik: 83%, AUC = 0.81**

ROC tahlil natijalariga ko‘ra, GPR4<60 U/L kesish nuqtasi metastatik shaklni aniqlashda 75 % sezuvchanlik, 83 % o‘ziga xoslik va AUC = 0,81 diagnostik qiymatga ega bo‘ldi. Bu natijalar GPR4 darajasi yordamida ko‘krak bezi saratonining erta va metastatik bosqichlarini ajratish mumkinligini ko‘rsatadi. Shunday qilib, qon zardobidagi GPR4 darajasi kasallik bosqichiga bog‘liq holda o‘zgaradi: erta bosqichda yuqoriroq, metastatik shaklda esa pasaygan ko‘rsatkichlar kuzatildi. Ushbu topilma GPR4 ni kasallik progressiyasi va metabolik omillar (gipertenziya, semizlik) bilan bog‘liq bo‘lgan istiqbolli biomarker sifatida ko‘rib chiqish zarurligini ko‘rsatadi.

Muhokama. Tadqiqot natijalariga ko‘ra, GPR4 darajasi erta bosqichdagi ko‘krak bezi saratoni (KBS) bemorlarida yuqoriroq, metastatik bosqichda esa pastroq aniqlangan (p-0.047). Ayniqsa, arterial gipertenziya va semizlik bilan kechuvchi metastatik bemorlarda GPR4 darajasining kamaygani kuzatildi. Bu esa GPR4 ning metabolik buzilishlar va vaskulyar disfunksiya bilan o‘zaro bog‘liqligini ko‘rsatadi. ROC tahlil natijalariga ko‘ra, GPR < 60 ul darajasi metastatik shaklni aniqlashda 75 % sezuvchanlik, 83 % o‘ziga xoslik va AUC = 0.81 diagnostik qiymatga ega bo‘ldi.

Ushbu topilmalar GPR ning angiogenez va endotelial faoliyatdagi o‘zgarishlar orqali KBS rivojlanishi va tarqalishida muhim rol o‘ynashini tasdiqlaydi. Bu uni nafaqat biomarker, balki yangi terapevtik nishon sifatida ham istiqbolli qiladi.

GPR4 va GRK4 oqsillari G-protein bilan bog‘langan retseptorlar (GPCR) oilasiga mansub bo‘lib, ularning o‘zaro ta’siri o‘sma hujayralarining signal o‘tkazish, metabolik stressga javob va angiogenez jarayonlarini bog‘lovchi muhim molekulyar mexanizmni tashkil etadi. Ushbu o‘q o‘sma mikromuhitidagi kislotalilik, endotelial disfunksiya va metabolik komorbidlik (gipertenziya, semizlik, qandli diabet) bilan chambarchas bog‘liq. GPR4 hujayra yuzasidagi proton-sezuvchi GPCR retseptor bo‘lib, o‘sma mikro-muhitining past pH sharoitida faollashadi. Uning faollashuvi cAMP, RhoA va ERK1/2 signal yo‘llarini ishga tushiradi, natijada endotelial hujayralarda IL-6, IL-8, VCAM-1, VEGF kabi yallig‘lanish mediatorlari ishlab chiqiladi, o‘sma hujayralarida esa angiogenez va invaziya jarayonlari kuchayadi. Shunday qilib, GPR4 o‘sma mikro-muhitida angiogenetik turtki vazifasini bajaradi va o‘smaning o‘z qon tomir tarmog‘ini yaratishiga zamin hozirlaydi [3]. GRK4 esa GPCR kinaz sifatida faollashgan retseptorlarni, jumladan GPR4 ni fosforillab, desensitizatsiya qiladi, ya’ni ularning ortiqcha faolligini tormozlaydi. Shu yo‘l bilan GRK4 hujayra ichidagi signal kaskadlarini muvozanatda ushlab turadi. Biroq gipertenziya, semizlik va insulin rezistentligi kabi metabolik sindrom holatlarida GRK4 faolligi kamayadi[8,9]. Natijada GPR4 uzluksiz faol holatda qoladi, bu esa angiogenezning ortishi, mikrosirkulyatsiya buzilishi va metastaz xavfining oshishiga olib keladi. Ushbu modelda erta bosqichda GRK4 yuqori, GPR4 muvozanat-

langan bo‘lib, GPCR signallari nazorat ostida, angiogenez fiziologik jarayonda kechadi. Metastatik bosqichda esa GRK4 pasaygan, GPR4 esa doimiy faollashgan bo‘lib, surunkali yallig‘lanish, pH pasayishi, vaskulyar o‘tkazuvchanlikning ortishi va metastazning kuchayishi kuzatiladi. Bu natijalar erta bosqichda GPR4 darajasining yuqoriligi angiogen javobni, metastatik bosqichda esa GRK4 tormozlovchi yo‘lining buzilganini aks ettiradi. GPR4/GRK4 nisbatining pasayishi metastatik potensial va endotelial buzilish bilan korrelyatsiya qilishi mumkin. GRK4 ni faollashtiruvchi yoki stabilizatsiyalovchi moddalarning qo‘llanishi GPR4 signalini chegaralashi, GPR4 antagonistlari esa o‘sma mikro-muhitidagi yallig‘lanish va angiogenezni kamaytirishi mumkin. Shu tarzda, ushbu o‘q yurak-qon tomir kasalliklari bilan o‘sma jarayonini bog‘lovchi umumiy patofiziologik mexanizm sifatida qaraladi. GPR4–GRK4 o‘qi ko‘krak bezi saratonining angiogenetik va metabolik mexanizmlarini bog‘lovchi yangi yo‘l bo‘lib, GRK4 darajasining pasayishi va GPR4 signalining uzluksiz faollashuvi endotelial disfunksiya, vaskulyar permeabilitet va metastaz xavfini oshiradi. Shu sababli ushbu o‘qni nishonga oluvchi modulyatorlar, ayniqsa GPCR tizimini boshqaruvchi dori vositalari, kelgusida antiangiogen va antimetabolik terapiya uchun istiqbolli yo‘nalish bo‘lishi mumkin

Xulosa. Kelgusidagi tadqiqotlarda GPR4 darajasini katta bemor guruhlarida qayta tekshirish, GPR4 ga antagonist dori vositalarini klinik sinovdan o‘tkazish, shuningdek semizlik va gipertenziya bilan bog‘liq KBS bemorlarida GPR4 ning insulin rezistentligi, qon bosimi va yallig‘lanish markerlari bilan o‘zaro aloqasini o‘rganish zarur.

Umuman olganda, GPR ning past darajasi metastatik, gipertenziv va semiz bemorlarda yurak-qon tomir hamda onkologik jarayonlarning o‘zaro ta’sirini aks ettiradi. Bu uni kardiometabolik va onkologik integratsiyalashgan biomarker sifatida baholash imkonini beradi hamda shaxsiylashtirilgan davolash yondashuvlari uchun yangi ilmiy asos yaratadi.

ADABIYOTLAR

1. Fan Y, Khan NH, Khan MFA, Ahammad MF, Zulfiqar T, Virk R, et al. Association of Hypertension and Breast Cancer: Antihypertensive Drugs as an Effective Adjunctive in Breast Cancer Therapy. Cancer Manag Res. 2022;14:1323-9.

2. Iriskulov BU, Mirzaeva MA, Tohirova MB. Ko‘krak bezi saratonida menopauzal holatga bog‘liq o‘sma agressivligi va gematogenning tarqalish xususiyatlari. Klinik Meditsina. 2025;15(09):6-9.

3. Jing Z, Xu H, Chen X, Zhong Q, Huang J, Zhang Y, Guo W, Yang Z, Ding S, Chen P, Huang Z. The Proton-Sensing G-Protein Coupled Receptor GPR4 Promotes Angiogenesis in Head and Neck Cancer. PLoS One. 2016 Apr 14;11(4):e0152789.

4. Madonna R, Balistreri CR, Geng YJ, De Caterina R. Diabetic microangiopathy: Pathogenetic insights and novel therapeutic approaches. Vascul Pharmacol. 2017; 90:1-7.

5. Matsubayashi J, Takanashi M, Oikawa K, Fujita K, Tanaka M, Xu M, et al. Expression of G protein-coupled receptor kinase 4 is associated with breast cancer tumourigenesis. J Pathol. 2008;216(3): 317-27.

6. Mirzaeva M, Iriskulov B, Asrorov AM, Hudoynazarov I, Norbekova M, Tadjibayeva R, et al. Association of Obesity with Premenopausal Breast Cancer: Analyzing Molecular Subtypes. Arch Breast Cancer. 2025;12(4):481-93.

7. Mirzaeva MA, Alimkhodjaeva LA, Zakirova LT, Tohirova MB, Toirova MZ. Ko‘krak bezi saratonining gematogen metastazlanishi: yondosh kasalliklarning ta’siri qanday? Yosh Olimlar. 2025;14 (06):37-40.

8. Yue W, Gildea JJ, Xu P, Felder RA. GRK4, A Potential Link between Hypertension and Breast Cancer. J Cell Sci Ther. 2022;13(2).

9. Yu M, Cui R, Huang Y, Luo Y, Qin S, Zhong M. Increased proton-sensing receptor GPR4 signalling promotes colorectal cancer progression by activating the hippo pathway. EBioMedicine. 2019 Oct; 48:264-276