

УДК 576.5:577.1;616-006

Кулинич В.А., Кармазина И.С.

ЦИТОКИНОВЫЙ ПРОФИЛЬ И С-РЕАКТИВНЫЙ БЕЛОК ПРИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ ОПУХОЛЯХ И ВОСПАЛЕНИИ

Городская клиническая больница № 30, г. Харьков, Украина,
E-mail: irina_karmazina@mail.ru

Ключевые слова: цитокины, С-реактивный белок, воспаление, опухолевый рост

В последние годы интенсивно изучается роль т.н. «цитокиновой сети» в развитии воспалительных процессов и злокачественных опухолей [2, 3, 5, 11, 14, 17]. Интерес к этой проблеме связан с тем, что с новых позиций рассматривается роль воспаления в прогрессировании злокачественных опухолей, развитии метастазов. В исследованиях [9, 11, 12, 14] показано большое значение микроокружения опухолей, где концентрируются опухоль-ассоциированные макрофаги, другие клетки, продуцирующие провоспалительные, воспалительные, проангиогенные цитокины, способствующие опухолевой прогрессии. Обсуждается плюрипотентность цитокинов, которые не только регулируют воспалительные каскад, но и обладают пробластомными (ИЛ-1, ИЛ-6, ИЛ-10) и антибластомными (ФНО, ИЛ-4, ИЛ-12, ИЛ-18) свойствами. На разных этапах развития опухоли один и тот же цитокин может вырабатываться как клетками микроокружения, так и экспрессироваться самой опухолью и выступать в качестве пробластомного и/или антибластомного фактора [4].

С новых позиций обсуждается роль С-реактивного белка в реализации эффектов цитокинов. Цитокины являются первичными активаторами генов, которые включаются при воспалении [8, 11]. В работах [8, 9] показано, что промотор гена СРБ содержит регуляторные последовательности, взаимодействующие с ИЛ-1 и ИЛ-6.

Проведены исследования, в которых доказано, что СРБ является предиктором развития острого инфаркта миокарда, инсульта, внезапной коронарной смерти, артериальной гипертензии [1, 6, 7, 15, 18] и является «золотым маркером» коронарной болезни. Описано повышение уровня СРБ при опухолях почек, легкого, толстого кишечника, предстательной железы [19].

Злокачественные опухоли ЛОР-органов (гортани, носа, глотки, уха) составляют около 2% всех злокачественных опухолей. Несмотря на относительную доступность для исследования, опухоли ЛОР-органов нередко диагностируются поздно, в стадии метастазирования. Поэтому представляется актуальным поиск биохимических маркеров ранних стадий злокачественных опухолей этой локализации.

Цель и задачи исследования: изучить содержание цитокинов ФНО- α , ИЛ-1 β , ИЛ-4, ИЛ-6, рецептора антагониста ИЛ-1 (ИЛ-1РА) и СРБ в сыворотке крови больных с воспалительными процессами и злокачественными опухолями ЛОР-органов.

Материалы и методы исследования. Исследованы 84 образца крови больных с воспалительными и злокачественными заболеваниями гортани. Образцы были разделены на две серии: I серия – 23 образца крови больных с острым воспалением, представленным паратонзиллярным абсцессом, II серия – 61 образец крови больных с различными стадиями плоскоклеточного рака гортани. В качестве контрольной группы исследованы образцы крови 18 здоровых лиц, поступивших в стационар для реконструктивных операций. Диагноз устанавливался клиницистами при общеклиническом обследовании и верифицировался цитологическим и гистологическим исследованием биоптатов. На основании патоморфологического исследования во II серии образцов были выделены 3 группы. В 1-ю группу вошли 14 образцов крови больных с предопухолевыми заболеваниями и начальными стадиями злокачественного роста – тяжелая дисплазия клеток плоского эпителия, малигнизация плоскоклеточной папилломы, плоскоклеточный рак гортани T1N0M0. Во 2-ю группу были включены 26 образцов сывороток больных с клиническим диагнозом плоскоклеточный рак гортани T2N0M0 и T3N0M0, что выражается в опухолевой прогрессии с инфильтрацией подлежащих тканей и перифокальным воспалением. В 3-ю группу выделены 21 образец крови больных с диагнозом плоскоклеточный рак гортани T4N0M0, T4N1(2)Mx и T4NxMx, что соответствует распространению опухоли на прилежащие к гортани ткани с наличием метастазов в регионарные лимфатические узлы и/или в отдаленные органы [10].

Концентрацию цитокинов ИЛ-1 β , ИЛ-4, ИЛ-6, ФНО- α и рецептора антагониста ИЛ-1РА в сыворотке крови определяли методом твердофазного «сендвич»-варианта иммуноферментного анализа. При определении использовали диагностические наборы фирмы ООО «Вектор-Бест» (Новосибирск, Россия). Измерения проводили на иммуноферментном анализаторе Statfax 303 (США).

Концентрацию СРБ определяли иммунотурбидиметрическим методом с использованием диагностических наборов «С-реактивный белок-11/31» фирмы «Витал Диагностикс СПб» (Санкт-Петербург, Россия). Измерения проводили на спектрофотометре PV 1251C Solar (Беларусь).

Полученные результаты обрабатывали статистически с помощью программы STATISTICA 7.0. Первичная оценка распределения полученных данных была проведена с помощью дисперсионного анализа. Для статистической оценки значимости различий в группах и расчета коэффициента корреляции использовали однофакторный анализ модуля ANOVA (analysis of variance).

Результаты исследований и их обсуждение.

При остром воспалительном процессе, моделью которого в нашем исследовании служил паратонзиллярный абсцесс, обнаружено значительное повышение уровня как воспалительных (ФНО- α , ИЛ-1 β , ИЛ-6), так и противовоспалительных цитокинов (ИЛ-1РА, ИЛ-4) (табл. 1).

Таблица 1. Концентрация цитокинов и СРБ при остром воспалении и на различных стадиях опухолевого роста.

Показатели	Контрольная группа (здоровые лица)	Серия I (воспаление)	Серия II (плоскоклеточный рак гортани)			
			Общие показатели по серии II	Группа 1 тяжелая дисплазия, T1N0M0	Группа 2 Са гортани T2N0M0, T3N0M0	Группа 3 Са гортани T4N0M0, T4N1(2)Mx, T4NxMx
ИЛ-1 β , пг/л	4,37 $\pm 1,84$	12,41 $\pm 2,8^*8$	13,16 $\pm 4,86^*$	6,34 $\pm 2,21^{**}$	13,16 $\pm 2,66^* **$	17,70 $\pm 2,12^* **$
ИЛ-1РА, пг/л	521 ± 180	2306 $\pm 628^*$	1293 $\pm 672^* **$	804 $\pm 141^{**}$	2016 $\pm 298^* **$	721 $\pm 201^{**}$
ИЛ-4, пг/л	7,04 \pm 2,66	17,45 $\pm 2,45^*$	11,89 $\pm 3,90^* **$	11,26 $\pm 2,02^* **$	15,48 \pm 1,22* **	7,88 $\pm 2,68^{**}$
ИЛ-6, пг/л	3,89 $\pm 1,81$	9,99 $\pm 1,76^*$	14,40 $\pm 4,69^* **$	7,85 $\pm 1,98^*$	14,42 \pm 2,72* **	18,73 $\pm 2,12^* **$
ФНО- α , пг/л	3,11 $\pm 1,23$	11,35 $\pm 1,76^*$	21,50 $\pm 6,34^* **$	15,91 $\pm 1,19^* **$	18,38 \pm 1,32* **	29,10 $\pm 4,73^* **$
СРБ, мг/л	2,78 $\pm 0,38$	5,55 $\pm 0,63^*$	9,19 $\pm 2,50^* **$	5,45 $\pm 1,55^* **$	9,98 \pm 1,56* **	10,54 $\pm 1,71^* **$

* - $p < 0,01$ по сравнению с контрольной группой,

** - $p < 0,01$ по сравнению с другими группами

Эти данные отражают активность и выраженность острого воспалительного процесса и адекватный ответ на него адаптационно-компенсаторных механизмов. Аналогичные результаты получены

другими авторами при исследовании Ходжкинской лимфомы [14], заболеваниях сердечно-сосудистой системы [1, 6, 11], что подтверждает мнение об универсальности и неспецифичности эффектов цитокинов при различных воспалительных процессах.

Анализ концентрации цитокинов во II серии сывороток крови (плоскоклеточный рак гортани) отражал те же тенденции: превышение уровней ИЛ-1 β по сравнению с контрольной группой в 3,0 раза ($p < 0,01$); по сравнению с I серией различия недостоверны ($p = 0,099$). Уровень ИЛ-6 превышал показатель контрольной группы в 3,6 раза ($p < 0,01$) и достоверно превышал этот показатель в I серии ($p = 0,0016$). Значительно увеличивался уровень ФНО- α , превышая показатель контрольной группы в 6,9 раза, а показатель I серии в 1,9 раза.

Реакция противовоспалительных цитокинов была менее выраженной по сравнению с I серией: уровень ИЛ-1РА превышал показатель контрольной группы в 2,5 раза ($p < 0,01$), а по сравнению с I серией этот показатель снижался в 1,8 раза ($p < 0,01$). Такие же тенденции отмечены при анализе концентрации ИЛ-4: этот показатель был повышен в 1,7 раза ($p < 0,01$) по сравнению с контрольной группой, однако был достоверно ниже этого показателя во I серии ($p < 0,01$). Возможно, эти различия отражают плюрипотентность цитокинов, которые во II серии проявляют не только и не столько противовоспалительные, сколько противобластомные свойства.

Это предположение подтверждается анализом результатов исследования цитокинов в группах больных, выделенных согласно стадий опухолевого роста. Так, в 1-й группе больных (начальные стадии) уровень ИЛ-1РА был умеренно повышенным по сравнению с контролем ($p = 0,0231$) и был значительно ниже показателя I серии образцов ($p < 0,01$). Уровень ИЛ-4 также был выше по сравнению с контрольной группой ($p < 0,01$), а по сравнению с I серией сывороток был достоверно снижен ($p < 0,01$).

По сравнению с контрольной группой умеренно повышенными оказались также концентрации ИЛ-1 и ИЛ-6. Однако концентрация ФНО- α была увеличена по сравнению с контролем в 5,1 раза. Поскольку при морфологическом исследовании признаков острого воспаления в этой группе не выявлено, реакцию цитокиновой системы можно объяснить продукцией пробластомных цитокинов клетками опухоли, и реакцией антибластомных цитокинов на эту продукцию. Повышение концентрации ФНО- α связано с защитной реакцией иммунной системы организма на появление трансформированных клеток; ФНО- α вызывает повышенную продукцию ИЛ-6 и ИЛ-1.

Умеренно выраженное увеличение уровней ИЛ-1РА и ИЛ-4 свидетельствует также о сохранный антибластомной функции организма.

Во 2-й группе образцов отмечается выраженное нарастание концентрации всех цитокинов. Уровень ФНО- α превышал показатель контрольной группы в 5,9 раза и был достоверно выше показателя I серии ($p < 0,01$). Были увеличены концентрации ИЛ-6 как по сравнению с контролем, так и по сравнению с I серией образцов (табл. 1). Достоверно повышался также уровень ИЛ-1 β по сравнению с контрольной группой и с 1-й группой II серии ($p < 0,01$) и не отличался от I серии образцов ($p = 0,349$).

Повышался также уровень противовоспалительных цитокинов. Содержание ИЛ-4 значительно превышало показатель контрольной группы, достоверно превышало показатель 1-й группы и было несколько ниже, чем в I серии образцов ($p < 0,01$). Концентрация ИЛ-1РА достоверно превышал показатель контрольной группы и 1-й группы ($p < 0,01$). Различия с показателем II серии достоверно не отличались ($p = 0,231$).

Изменения цитокиновой сети во 2-й группе образцов свидетельствуют о развитии воспаления в микроокружении опухоли и адекватной реакции иммунной системы опухоленосителя в виде повышения уровня противовоспалительных цитокинов. Именно воспаление способствует дальнейшему прогрессированию опухоли и развитию метастазов [4, 13, 16]. Повышение ФНО- α может отражать не только антибластомные реакции организма, но и пробластомную активность опухолевых клеток.

В 3-й группе отмечено продолжающееся нарастание концентрации провоспалительных цитокинов, в особенности – ФНО- α (табл.1). Однако, содержание противовоспалительных цитокинов значительно снижено: уровень ИЛ-4 и ИЛ-1РА был меньше по сравнению с 1-й и 2-й группами и I серией образцов ($p < 0,01$), недостоверно отличаясь от показателей контрольной группы ($p = 0,336$). Эта динамика отражает снижение адаптационно-компенсаторных возможностей организма, что приводит к дальнейшему бесконтрольному автономному росту опухоли.

Концентрация СРБ была умеренно повышенной в I серии образцов и в 1-й группе ($p < 0,01$) и значительно возрастал во 2-й и 3-й группах (табл. 1). По мнению некоторых авторов [19], при отсутствии признаков воспаления повышение концентрации СРБ может рассматриваться как фактор риска развития опухоли. Согласно полученных данных, в 1-й группе при морфологическом

исследовании признаки воспаления не обнаруживались, поэтому при наличии клинических данных можно предполагать наличие опухоли.

Корреляционный анализ свидетельствует о наличии положительных корреляционных связей между СРБ, ФНО- α и ИЛ-6, а также между ИЛ-4 и ИЛ-1А (табл. 2).

Дальнейшее изучение роли цитокинов и СРБ в развитии воспаления и опухолевой прогрессии имеет большое прикладное значение, поскольку ведутся клинические исследования возможности применения цитокинов в терапевтических целях.

Таблица 2. Значение коэффициента корреляции r между цитокинами и СРБ.

	СРБ	ИЛ-1 β	ИЛ-1РА	ИЛ-4	ИЛ-6	ФНО- α
СРБ	1,00	0,71	0,16	0,13	0,82	0,79
ИЛ-1 β	0,71	1,00	0,28	0,17	0,77	0,73
ИЛ-1РА	0,16	0,28	1,00	0,77	0,13	-0,06
ИЛ-4	0,13	0,17	0,77	1,00	0,07	-0,08
ИЛ-6	0,82	0,77	0,13	0,07	1,00	0,85
ФНО- α	0,79	0,73	-0,06	-0,08	0,85	1,00

Выводы.

1. Начальные этапы развития плоскоклеточного рака гортани характеризуются повышением уровня ФНО- α и СРБ.

2. Прогрессирование опухоли сопровождается нарастанием уровня воспалительных и противовоспалительных цитокинов на фоне увеличения концентрации СРБ. Особенно выражено повышение ФНО- α и ИЛ-6, что свидетельствует о развитии воспаления в микроокружении опухолевых клеток.

3. Переход прогрессии опухоли к неконтролируемому автономному росту, развитию метастазов характеризуется повышением уровня воспалительных и снижением противовоспалительных цитокинов, что свидетельствует об истощении адаптационно-компенсаторных механизмов организма.

4. Корреляционные связи между цитокинами и СРБ свидетельствуют о наличии взаимодействия между этими звеньями патогенеза.

5. В качестве маркеров начальных стадий опухолевого роста могут использоваться концентрации ФНО- α и СРБ в сыворотке крови. Маркером перехода опухоли к автономному неконтролируемому росту может быть снижение концентрации противовоспалительных цитокинов ИЛ-4 и ИЛ-1РА на фоне роста воспалительных цитокинов ИЛ-1, ИЛ-6, ФНО- α .

ЛИТЕРАТУРА

1. Ащеулова Т.В., Журавльова Л.В., Ледовський О.М. С-реактивний білок, швидкість осідання еритроцитів та фактор некрозу пухлин-альфа як плазматичні маркери імунозапалення при есенціальній артеріальній гіпертензії // *Метаболічний синдром в практиці кардіолога: Матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю.* – Харків, 2006. – С. 8-9.
2. Билинский Б.Т., Володько Н.А., Шпарык Я.В. Иммунологические механизмы естественной противоопухолевой резистентности. – К.: Наукова думка. – 1991. – 246 с.
3. Воеводин Д.А., Розанова Г.Н. Цитокиногормональные взаимодействия: положение об иммуноэндокринной регуляторной системе // *Педиатрия.* – 2006. – №1. – С. 55-59.
4. Драннік Г.Н. Клінічна імунологія та алергологія: Навч. посіб. – Одеса: Астропринт, 1999. – 479 с.
5. Суслов А.Л. Макрофаги и противоопухолевый иммунитет // *Итоги науки и техники. Сер. Онкол.* – М., 1990. – Т.19. – 79 с.
6. Танчу Жак, Волненко Н.Б. Влияние цитокинов на прогрессирование сердечной недостаточности у больных острым инфарктом миокарда // *Укр. кард. журнал.* – 2003. – №2. – С. 64-66.
7. Фомин В.В., Козловская Л.В. С-реактивный белок и его значение в кардиологической практике // *Журнал доказательной медицины для практикующих врачей.* – 2003. – №5. – С. 12-18.
8. Шевченко О.И. Белки острой фазы воспаления // *Лаборатория.* – 1996. – №1. – С. 8-12.
9. Шехтер А.Б., Серов В.В. Воспаление, адаптивная реакция и дисрегенерация (анализ межклеточных взаимодействий) // *Арх. патологии.* – 1991. – №7. – С. 7-14.
10. Якимова Т.П., Якимов Д.Ю., Шевченко О.В. Цитологическая диагностика опухолей ЛОР-органов. – Харьков: «Техно-АРТ», 2000. – 207 с.
11. Ярилин А.А. Система цитокинов и принципы её функционирования в норме и патологии // *Иммунология.* – 1997. – №5. – С. 7-14.
12. Albelda S.M., Buck C.A. Integrins and other cell adhesion molecules // *FASEB J.* – 1990. – Vol. 4. – P. 2868-2880.
13. Benoy, I. H. Increased serum interleukine-8 in patients with early and metastatic breast cancer correlates with early dissemination and survival // *Clin. Cancer Res.* – 2004. – Vol. 10. – P. 7157-7162.
14. Casasnovas R.O. Plasma cytokine and soluble reseptor signature predicts outcome of patients with classical Hogkin's lymphoma:a study from the Group d'Etude des Lymphomes de l'Adute // *J. Clin. Oncol.* – 2007. – Vol. 6. – P. 1732-1740.
15. Griselli M., Herbert J., Hutchinson W. L. et al. C-reactive protein and complement are important mediators of tissue damage in acute myocardial // *J. Exp. Med.* – 1999. – Vol. 190. – №12. – P. 1733-1740.
16. Hart I.R., Goode N.T., Wilson R.E. Molecular aspects of the matastatic cascade // *Bochem. Biophys. Acta.* – 1989. – Vol. 989. – P. 65-84.
17. Kamangar F., Cheng C., Abnet C.C., Rabkin C.S. Interleukin 1 β polymorphism and gastric cancer risk – a meta-analysis // *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* – 2006. – Vol. 15. – P. 1920-1928.

18. Nikfardjam M., Mullner M., Schreiber W. The association between C-reactive protein on admission and mortality in patients with acute myocardial infarction // J. Intern. Med. – 2000. – Vol. 247. – № 3. – P. 341-345.
19. Zhang S., Buring J., Lee I. C-reactive protein levels are not associated with increased risk for colorectal cancer in women // Ann Intern Med. – 2005. – Vol. 142. – P. 425-432.

В.А. Кулініч, І.С. Кармазіна

**ЦИТОКІНОВИЙ ПРОФІЛЬ ТА С-РЕАКТИВНИЙ БІЛОК ПРИ
ЗЛОЯКІСНИХ ПУХЛИНАХ ТА ЗАПАЛЕННІ**

Ключові слова: запалення, пухлинний зріст, Цитокіни, С-реактивний білок, маркери

Досліджено концентрацію цитокінів ІЛ-1 β , ІЛ-4, ІЛ-6, ІЛ-1РА, ФНО- α та С-реактивного білку при запальних процесах та плоскоклітинному раку гортані. Встановлено змінення цитокінового профілю та концентрації СРБ. Виділено маркери різних стадій пухлинної прогресії.

V.A. Kulinich, I.S. Karmazina

**CYTOKINES LEVELS AND C-REACTIVE PROTEIN IN THE
MALIGNANT TUMORS AND INFLAMMATION**

Key words: inflammation, tumor progression, cytokines, C-reactive protein, markers

The concentration of the cytokines IL-1 β , IL-4, IL-6, TNF- α , CRP in the inflammation processes and in the cancer progresses are studied. The changes in the cytokines and CRP concentration are postulated. The markers of the different tumor progression stages are describe.