

УДК 576.08; 616.21

Кармазіна І.С., Кулініч В.А.

КОРЕЛЯЦІЙНИЙ АНАЛІЗ ПОКАЗНИКІВ БІЛКОВОГО ОБМІНУ ПРИ КАНЦЕРОГЕНЕЗІ ТА ПРИ ЗАПАЛЕННІ

Городская клиническая больница № 30, г. Харьков, Україна,
e-mail: irina_karmazina@mail.ru

Ключові слова: білковий обмін, канцерогенез, запалення, цитокіни, кореляція

Біохімія пухлин протягом багатьох років є предметом постійної уваги дослідників різних спеціальностей. Трансформація нормальної клітини в злоякісну супроводжується змінами всіх видів обміну речовин, насамперед, білкового: в ядрі та цитоплазмі починається продукція специфічних пухлинних антигенів, які експресуються на поверхні клітин, потрапляють у кров та стимулюють синтез антитіл імунною системою пухлиноносія [1, 5]. Динаміка пухлинного росту визначається рівновагою між антибластомними факторами імунного нагляду та пробластомними, які сприяють пухлинній прогресії. Останнім часом в якості таких факторів важливе місце посідають цитокіни, серед яких ІЛ-1, ІЛ-4, ІЛ-6, ФНП-6 та ін. [2, 6, 11]. Ця зацікавленість обумовлена можливостями імунотерапевтичних підходів до лікування пухлин, які базуються на блокаді біологічної активності пробластомних цитокінів та їх рецепторів [9, 12]. В якості антибластомних факторів вивчаються протизапальні цитокіни, насамперед ІЛ-4 [8].

Натепер продовжуються дослідження ролі, яку відіграють інші білки у розвитку злоякісних пухлин. Впровадження нових високочутливих технологій дозволило продемонструвати, що С-реактивний білок є не тільки маркером гострої фази запалення, але й предиктором серцево-судинних захворювань, а також злоякісних пухлин [3, 7, 10]. Синтез білків гострої фази запалення запускається та регулюється ланкою медіаторів, насамперед, цитокінами, які утворюються безпосередньо у вогнищі запалення і виступають як первинні активатори генів, що вмикаються при запаленні та пухлинній трансформації.

У всіх зразках сироваток крові були досліджені такі біохімічні показники: концентрація загального білку та білкових фракцій, концентрація С-реактивного білку, концентрація загального фібриногену, активований частковий тромбoplastиновий час (АЧТЧ),

концентрація цитокінів – ІЛ-1РА, ІЛ-1, ІЛ-4, ІЛ-6, ФНП-б. Крім того, у відповідності до стандартів якості лікування, всім хворим проводився клінічний аналіз крові.

Матеріали та методики. Досліджено 84 зразки крові хворих зі запальними та злякисними захворюваннями гортані. Зразки були розділені на дві серії: І серія – 23 зразки крові хворих на гостре запалення, представлене паратонзиллярним абсцесом, ІІ серія – 61 зразок крові хворих з різними стадіями плоскоклітинного раку гортані. В якості контрольної групи досліджені зразки крові 18 здорових осіб, які поступили у стаціонар для реконструктивних операцій на носовій перетинці.

Для виявлення морфологічних ознак різних стадій канцерогенезу та запалення використовувалися цитологічний та гістологічний методи; за допомогою біохімічних методів визначено концентрацію загального білка, його фракцій, загального фібриногену, АЧТЧ та С-реактивного білку; для визначення концентрації цитокінів (ФНП-б, ІЛ-1, ІЛ-4, ІЛ-6, ІЛ-1РА) використовували імуноферментний метод; всі отримані результати досліджень обробляли за допомогою статистичних методів.

Отримані результати обробляли статистично за допомогою програми STATISTICA 7.0. Первинну оцінку розподілення отриманих даних проводили за допомогою дисперсійного аналізу. Для статистичної оцінки значущості відмінностей у групах STATISTICA 7.0. використовували однофакторний аналіз модуля ANOVA (analysis of variance). Розраховували коефіцієнт кореляції та для його графічної візуалізації будували кореляційні плеяди [4].

Результати. Серед показників білкового обміну, які вивчалися у цьому дослідженні, ключові позиції у розвитку запалення та злякисного росту займають ФНП-б, ІЛ-6 та СРБ. З метою виділення найбільш достовірних інформативних оціночних критеріїв цих процесів було проведено кореляційний аналіз зв'язків між різними дослідженими показниками.

Таблиця 1. Кореляційні зв'язки між СРБ та цитокінами

	СРБ	ІЛ-1 в	ІЛ-1РА	ІЛ-4	ІЛ-6	ФНП-б
СРБ,	1,00	0,71	0,16	0,13	0,82	0,79
ІЛ-1в	0,71	1,00	0,28	0,17	0,77	0,73
ІЛ-1РА	0,16	0,28	1,00	0,77	0,13	-0,06
ІЛ-4	0,13	0,17	0,77	1,00	0,07	-0,08
ІЛ-6	0,82	0,77	0,13	0,07	1,00	0,85
ФНП-б	0,79	0,73	-0,06	-0,08	0,85	1,00

Виявлені сильні позитивні зв'язки між СРБ та цитокинами: між СРБ та ФНП-б ($r=0,82$; $p<0,05$), СРБ та ІЛ-1в ($r=0,71$; $p<0,05$), СРБ та ФНП-б ($r=0,79$, $p<0,05$), а також між СРБ та загальним фібриногеном ($r=0,81$, $p<0,05$). Слабкі позитивні зв'язки виявлені між СРБ та протизапальними цитокинами: між СРБ та ІЛ-4 ($r=0,13$, $p=0,205$) та ІЛ-1РА ($r=0,16$, $p=0,11$) (табл. 1).

Сильний зворотний зв'язок є між СРБ та альбуміном ($r=-0,71$, $p<0,05$), що підтверджує дані про те, що СРБ належить до глобулі нових фракцій, насамперед до γ - та ν -глобулінів. Кореляційний аналіз виявив тісну функціональну залежність між СРБ та цитокиновою мережею, що підтверджує спільність участі СРБ та цитокінів у механізмах розвитку та прогресування запалення та злоякісного росту, а також можливість використання СРБ у якості плазматичного маркера системного запалення (рис. 1).

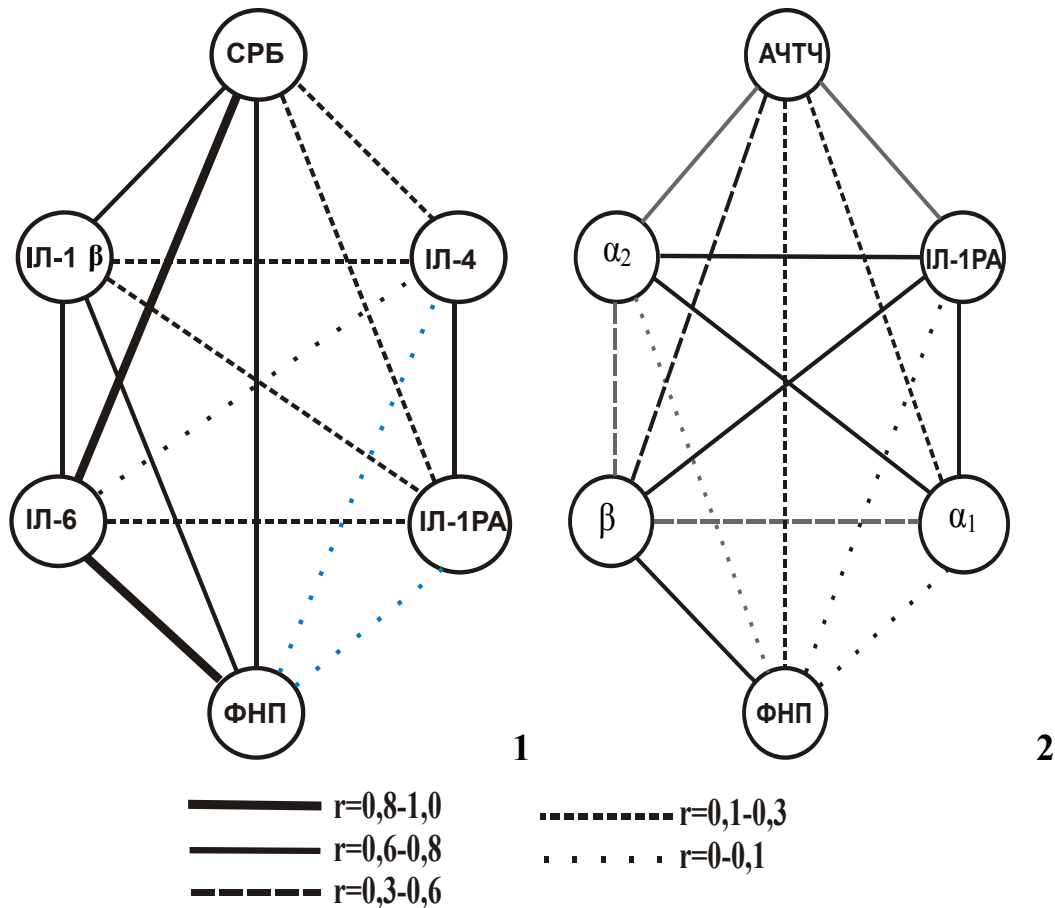


Рис. 1. Кореляційні плеяди взаємоз'язків: 1 - концентрацій цитокінів та СРБ; 2 - білкових фракцій з інтерлейкінами.

Аналіз кореляційних зв'язків ФНП-б у системі показників, що досліджувалися продемонстрував, що найсильніша кореляційна залежність має місце між ФНП-б та ІЛ-6 ($r=0,85$, $p<0,05$), трохи менш

виражена – з ІЛ-1в ($r=0,73$, $p<0,05$), а також із СРБ ($r=0,79$, $p<0,05$), загальним фібриногеном ($r=0,74$, $p<0,05$). Середньої сили залежність існує між ФНП-б та в-глобуліновою фракцією ($r=0,58$, $p<0,05$), г-глобуліновою фракцією ($r=0,55$, $p<0,05$), а також з АЧТЧ ($r=0,22$, $p=0,028$) та загальним білком ($r=0,25$, $p=0,011$). Сильний негативний зв'язок існує між ФНП-б та альбумінами ($r=0,72$, $p<0,05$).

Між ФНП-б та протизапальними інтерлейкінами існують слабкі негативні зв'язки: між ФНП-б та ІЛ-4 ($r=-0,078$, $p=0,432$) та з ІЛ-1РА ($r=-0,06$, $p=0,535$).

Виявлено сильні позитивні кореляційні зв'язки між ІЛ-6 та ФНП-б ($r=0,85$, $p<0,05$), між ІЛ-6 та ІЛ-1в ($r=0,77$, $p<0,05$), СРБ та загальним фібриногеном ($r=0,81$, $p<0,05$). Середньої сили позитивні зв'язки відзначені з загальним білком, г- та в-глобуліновими фракціями ($r=0,45$, $p<0,05$), б₁- ($r=0,22$; $p=0,027$), б₂- ($r=0,11$; $p=0,276$) фракціями глобулінів, сильний негативний зв'язок з альбуміном ($r=-0,69$; $p<0,05$). Слабкі позитивні зв'язки існують зі протизапальними інтерлейкінами ІЛ-4 ($r=0,079$; $p=0,432$) та ІЛ-1РА ($r=-0,062$; $p=0,535$).

Цікаві результати отримані при аналізі кореляційних зв'язків протизапальних цитокінів з іншими дослідженими показниками: дуже слабкі негативні зв'язки виявлені між ІЛ-4 та ФНП-б ($r=-0,08$), між ІЛ-4 та ІЛ-1РА ($r=-0,062$, $p=0,0535$). Між ІЛ-4, ІЛ-1в та ІЛ-6 ці зв'язки стають позитивними, помірно вираженими ($r=0,17$) та слабо вираженими ($r=0,07$) відповідно. Для ІЛ-1РА коефіцієнт кореляції з цими цитокінами складає відповідно ($r=0,28$) й ($r=0,13$) відповідно. Сила зв'язків протизапальних цитокінів зі запальними значно менше виражена, ніж між запальними цитокінами та є слабкими негативними для ФНП-б. Це підкреслює особливе місце ФНП-б у цитокіновій мережі, який, вірогідно, виконує роль не тільки прозапального цитокіна, але й інші функції (антибластомні, пробластомні, проапоптичні).

Існують середньої сили кореляційні зв'язки ІЛ-4 з СРБ ($r=0,13$) та ІЛ-1РА з СРБ ($r=0,16$). Особливо помітними стають кореляційні зв'язки протизапальних цитокінів з глобуліновими фракціями, особливо сильні для ІЛ-1РА: з б₁-фракцією ($r=0,73$), з б₂-фракцією ($r=0,78$). Проте, з фракцією в-глобулінів відзначено негативну залежність ($r=-0,59$, $p<0,05$). Оскільки б-фракції відбивають активність гострої фази запалення, в-глобулінова – хронічне запалення, а г-фракція – накопичення антитіл. Це може означати, що протизапальні цитокіни реагують позитивно на гостру фазу запалення, а на хронічний перебіг та на імунні процеси реакція ІЛ-4 та ІЛ-1РА протилежна (табл. 2).

Одним з інтегральних показників гемостазу є АЧТЧ, який відбиває активність протромбінази – ферментного комплексу, що каталізує каскад реакцій зсідання крові, кінцевим продуктом якого є фібриноген. Виявилось, що цей показник знаходиться у сильній негативній залежності від протизапальних цитокінів. Так, коефіцієнт кореляції між АЧТЧ та ІЛ-4 складає $r = -0,65$ ($p < 0,05$), між АЧТЧ та ІЛ-1РА – $r = -0,67$ ($p < 0,05$). Негативна залежність виявлена також між АЧТЧ та β_1 - й β_2 -фракціями глобулінів $r = -0,63$ ($p < 0,05$) та $r = -0,64$ ($p < 0,05$) відповідно. Таким чином, підвищення рівня протизапальних цитокінів та β -фракцій глобулінів може розцінюватися як непряма ознака зростання тромбогенного потенціалу крові. Відзначено помірний позитивний зв'язок АЧТЧ та ФНП-б ($r = 0,22$, $p = 0,028$) та з в-глобулінами ($r = 0,53$, $p < 0,05$). Можливо, така спрямованість кореляційних зв'язків віддзеркалює загрозу розвитку ДВЗ-синдрому при підвищенні рівня ФНП-б та в-глобулінової фракції крові (рис. 1).

Таблиця 2. Кореляційні зв'язки між інтерлейкінами та білковими фракціями сироватки крові

	β_1	β_2	в	АЧТЧ	ІЛ-1РА	ФНП-б
β_1	1,00	0,66	-0,46	-0,63	0,73	0,02
β_2	0,66	1,00	-0,52	-0,64	0,78	-0,05
в	-0,46	-0,52	1,00	0,53	-0,59	0,58
АЧТЧ	-0,63	-0,64	0,53	1,00	-0,67	0,22
ІЛ-1РА	0,73	0,78	-0,59	-0,67	1,00	-0,06
ФНП-б	0,02	-0,05	0,58	0,22	-0,06	1,00

Висновки. Аналіз кореляційних зв'язків залежностей у системі досліджених показників виявив наявність тісних зв'язків між СРБ та запальними цитокінами, що дозволяє розглядати СРБ як маркер системного запалення. Існують сильні позитивні зв'язки між прозапальними цитокінами – ФНП-б, ІЛ-6 та ІЛ-1в, що вказує на важливу роль цих цитокінів у розвитку запальних реакцій та злоякісного пухлинного зросту. Особливе місце у цитокіновій мережі посідають протизапальні цитокіни, які виявляють слабкі кореляційні зв'язки з цитокінами та сильні – з β -глобуліновими фракціями, що дозволяє припустити наявність регуляторного впливу, не пов'язаного тільки з дослідженими цитокінами.

Наявність сильних негативних кореляційних зв'язків між протизапальними цитокінами ІЛ-4, ІЛ-1РА та АЧТЧ дозволяє констатувати участь цих цитокінів у системі гемостазу.

ЛІТЕРАТУРА

1. Бережная Н.М. Иммунология злокачественного роста / Н. Бережная, В. Чехун. – К.: Наукова думка, 2005. – 790 с.

2. Васильева Г.И. Цитокины – общая система гомеостатической регуляции клеточных функций / Г.И. Васильева, И.А. Иванова, С.Ю. Тюкавкина // Цитология. - 2001. – Т. 43, №12. – С. 1101-1111.
3. Вельков В.В. С-реактивный белок – структура, функция, методы определения, клиническая значимость / В.В Вельков // Лабораторная медицина. - 2006. - №8. - С. 1-7.
4. Гланц С. Медико-генетическая статистика / Стентон Гланц; [пер. с англ. Ю.А. Данилова]. – М.:Практика, 1998. – 459 с.
5. Дранік Г.Н. Клінічна імунологія та алергологія: [навчальний посібник] / Г.Н. Дранік. – Одеса: Астропринт, 1999. – 604 с.
6. Кадагидзе З.Г. Цитокины // Практическая онкология. – 2003. - Т. 4, №3. – С. 24-35.
7. Erlinger T. C-reactive protein and the risk of incident colorectal cancer / T. Erlinger, E. Plaiz, N. Rifai, K. Helzlsouer // JAMA. – 2004. – Vol. 291, №5. – P. 585-590.
8. Kleinrath T. Interleukin-4 promoter polymorphisms: a genetic prognostic factor for survival in metastatic renal cell carcinoma / T. Kleinrath, C. Gassner, P. Lackner, M. Thurnher, R. Ramoner // J. Clin. Oncol, 2000. – Vol. 25. – P. 845-851.
9. Lakour S., Hammann A., Wotava A. Anticancer agents sensitize tumor cells to TNF related apoptosis inducing ligand mediated Caspase 8 activation and apoptosis / S. Lakour, A. Hammann, A. Wotava // Cancer Res. – 2001. – Vol.61. – P. 1645-1651.
10. Lehrer S. C-reactive protein is significantly associate with prostate-specific antigen and metastatic disease in prostate cancer / S. Lehrer, E. Diamond, B. Mamkine // BJU Int. – 2005. – Vol.95. – P. 961-962.
11. McCornick C. Activity of growth factors in the IL-6 group in the differentiation of human lung adenocarcinoma / C. McCornick, R.I. Freshney // Britain J. Cancer. – 2000. – Vol. 82. – P. 881-890.
12. Portilje J. E. A. IL-12: a promising adjuvant for cancer vaccination / J.E.A. Portilje // Cancer Immunol. Immunother. – 2003. – Vol. 52. – P. 133-144.

И.С. Кармазина, В.А. Кулинич.

КОРРЕЛЯЦИОННЫЙ АНАЛИЗ ПОКАЗАТЕЛЕЙ БЕЛКОВОГО ОБМЕНА ПРИ КАНЦЕРОГЕНЕЗЕ И ВОСПАЛЕНИИ

Ключевые слова: белковый обмен, канцерогенез, воспаление, цитокины, корреляция

Биохимия опухолевых заболеваний на протяжении многих лет является предметом пристального внимания исследователей различных специальностей. Трансформация нормальной клетки в злокачественную сопровождается изменениями всех видов обмена веществ, в первую очередь, белкового. Динамика опухолевого роста определяется равновесием между антибластомными факторами иммунного надзора и пробластомными факторами, способствующими опухолевой прогрессии.

В последнее время в качестве таких факторов используют цитокины, среди которых ИЛ-1, ИЛ-4, ИЛ-6, ФНО-б и др.

Анализ корреляционных связей в системе исследованных показателей выявил наличие тесных связей между СРБ и воспалительными цитокинами, что позволяет рассматривать СРБ как маркер системного воспаления. Существуют тесные положительные связи между провоспалительными цитокинами – ФНО-б, ИЛ-6 и ИЛ-1в, что указывает на важную роль этих цитокинов в развитии

воспалительных реакций и злокачественного опухолевого роста. Особое место в цитокиновой сети занимают противовоспалительные цитокины, которые выявляют слабые корреляционные связи с цитокинами и сильные – с б-глобулиновыми фракциями, что позволяет предположить наличие регуляторного влияния, связанного не только с исследованными цитокинами.

I.S.Karmazina, V.A. Kulinich.

**CORRELATION ANALYSIS OF PROTEIN METABOLISM UNDER
CANCEROGENESIS AND INFLAMMATION**

Keywords: *protein exchange, cancerogenesis, inflammation, cytokines, correlation*

For many years, the biochemistry of tumor diseases has been a subject of close attention of researchers of various fields. The transformation of a normal cell into a malignant one is accompanied by changes in all kinds of metabolism, first of all, in protein metabolism. The dynamics of tumor growth is determined by a balance between antiblastomal factors of immune supervision and problastomal factors favoring tumor progression.

Cytokines, among which are IL-1, IL-4, IL-6, TNF- β etc., have been recently used as such factors

The correlation analysis in the system of the parameters researched has revealed a close relationship between CRP and inflammatory cytokines, which allows viewing CRP as a marker of system inflammation. There are close positive correlations between proinflammatory cytokines - TNF- β , IL-6 and IL-1; this testifies to their important role in the development of inflammatory reactions and malignant tumor growth. Anti-inflammatory cytokines take a special place in the cytokine chain: they display weak correlations with cytokines and strong ones with β -globuline fractions. This allows assuming that there is a certain regulatory-coordinating influence related not only to the cytokines studied.