

Impact Factor:

ISRA (India) = 1.344	SIS (USA) = 0.912	ICV (Poland) = 6.630
ISI (Dubai, UAE) = 0.829	PIHII (Russia) = 0.207	PIF (India) = 1.940
GIF (Australia) = 0.564	ESJI (KZ) = 4.102	IBI (India) = 4.260
JIF = 1.500	SJIF (Morocco) = 2.031	

SOI: [1.1/TAS](#) DOI: [10.15863/TAS](#)

International Scientific Journal Theoretical & Applied Science

p-ISSN: 2308-4944 (print) e-ISSN: 2409-0085 (online)

Year: 2018 Issue: 06 Volume: 62

Published: 30.06.2018 <http://T-Science.org>

SECTION 20. Medicine

Indira Adil Safarova

Doctoral student of Oncology Department
of Azerbaijan Medical University

Abuzer Yusif Kaziev

Professor, Doctor of Medical Sciences,
Department of Oncology, Azerbaijan Medical University

Gulnara Alisa Jafarova

Candidate of Biological Sciences, doctor-laboratory
assistant of the Oncological Clinic Azerbaijan Medical
University

Ismail Adil Gafarov

c.ph.-m.n. Art. teachers.
Department of Medical Physics and Informatics
Azerbaijan Medical University

STUDY OF INFORMATIVE VALUE AND PROGNOSTIC SIGNIFICANCE OF SOME CYTOKINES AND ANTIMICROBIAL PEPTIDES FOR EARLY DETECTION OF METASTASES IN PATIENTS WITH CERVICAL CANCER

Abstract: The article presents the results of a study conducted to study the informative value and prognostic significance of some cytokines and antimicrobial peptides in the early detection of metastases in patients with cervical cancer. For this purpose, in blood in 46 patients without lymph node metastases was determined the content of some cytokines (IL-2, IL-6, IL-10 and TNF- α) and antimicrobial peptides (endothelium, L-FABP, endotoxin, lactoferrin) by an enzyme immunoassay analysis. To determine the informativeness and prognostic significance of the studied indicators, was used a statistical dispersion of test ANOVA and ROC analysis. The results of the study showed a significant increase in proinflammatory cytokines and antimicrobial peptides in the serum of patients with cervical cancer. Elevated values were observed in those patients in whom various metastases to the lymph nodes were observed during the course of 6 months to 3 years. It has been established that IL-2, TNF- α , IL-6, endothelin and L-FABP have prognostic and diagnostic significance for the early detection of metastases in patients with cervical cancer.

Key words: cervical cancer, cytokines, tumor necrosis factor, endothelium, L-FABP (fatty acid binding protein)

Language: Russian

Citation: Safarova IA, Kaziev AY, Jafarova GA, Gafarov IA (2018) STUDY OF INFORMATIVE VALUE AND PROGNOSTIC SIGNIFICANCE OF SOME CYTOKINES AND ANTIMICROBIAL PEPTIDES FOR EARLY DETECTION OF METASTASES IN PATIENTS WITH CERVICAL CANCER. ISJ Theoretical & Applied Science, 06 (62): 201-206.

Soi: <http://s-o-i.org/1.1/TAS-06-62-35> **Doi:**  <https://dx.doi.org/10.15863/TAS.2018.06.62.35>

ИЗУЧЕНИЕ ИНФОРМАТИВНОСТИ И ДИАГНОСТИЧЕСКОЙ ЗНАЧИМОСТИ НЕКОТОРЫХ ЦИТОКИНОВ И АНТИМИКРОБНЫХ ПЕПТИДОВ ДЛЯ РАННЕГО ВЫЯВЛЕНИЯ МЕТАСТАЗОВ У БОЛЬНЫХ С РАКОМ ШЕЙКИ МАТКИ

Аннотация: В статье представлены результаты исследования, проведенного с целью изучения информативности и прогностической значимости некоторых цитокинов и антимикробных пептидов при раннем выявлении метастазов у больных раком шейки матки РШМ. С этой целью в крови у 46 больных без метастазов на лимфоузлы, определяли содержание некоторых цитокинов (ИЛ-2, ИЛ-6, ИЛ-10 и ФНО- α) и антимикробных пептидов (эндотелин, L-FABP, эндотоксин, лактоферрин) путем иммуноферментного анализа. Для определения информативности и прогностической значимости изучаемых показателей использовали статистический дисперс тест-ANOVA и ROC анализ. Результаты исследования показали значительное повышение провоспалительных цитокинов и антимикробных пептидов в сыворотке крови больных РШМ. Повышенные значение наблюдались у тех больных в которых в течении от 6 месяцев до 3 лет наблюдалось различные метастазы в лимфоузлы. Установлено, ИЛ-2, ФНО- α , ИЛ-6, эндотелина и L-



Impact Factor:

ISRA (India) = 1.344	SIS (USA) = 0.912	ICV (Poland) = 6.630
ISI (Dubai, UAE) = 0.829	РИИЦ (Russia) = 0.207	PIF (India) = 1.940
GIF (Australia) = 0.564	ESJI (KZ) = 4.102	IBI (India) = 4.260
JIF = 1.500	SJIF (Morocco) = 2.031	

FABP имеют прогностическое и диагностическое значение для раннего выявления метастазов у больных РШМ.

Ключевые слова: рак шейки матки, цитокины, фактор некроза опухоли, эндотелин, L-FABP (белок связывающие жирные кислоты)

Введение

В последнее время активно изучаются воспалительные и регуляторные механизмы, участвующие в возникновении и прогрессировании РШМ. Особое внимание в связи с этим уделяется дисбалансу клеточных медиаторов, которые регулируют функциональную активность клеток, их пролиферацию и апоптоз. Медиаторами межклеточного взаимодействия и иммунорегуляции являются цитокины, среди которых ключевую роль в развитии иммунного ответа играют фактор некроза опухоли-альфа (ФНО-α), ИЛ-2 и ИЛ-6 [1, 3, 7, 15].

Многие авторы подчёркивают роль цитокинов и антимикробных пептидов (АМП) в развитии рака шейки матки (РШМ). Высокий уровень провоспалительных цитокинов и АМП у большинства больных с метастазами РШМ подтверждает их участие в прогрессировании поздних осложнений. Имеются много фактов, свидетельствующих о том, что некоторые медиаторы иммунной системы стимулирует опухолевую прогрессию. В последнее время считают, что в процессе возникновения и развития опухоли происходит нарушение баланса между секрецией цитокинов (ИЛ-2, ИЛ-6, ИЛ-10 и ФНО) и АМП (эндотоксин, лактоферрин) [1, 2, 7, 16].

Полученные результаты исследования могут использоваться для ранней неинвазивной диагностики и оценки процессов, протекающих при РШМ и прогнозирования метастазов.

Определение факторов, определяющих темпы развития РШМ, и выявление новых диагностических маркеров раннего выявления метастазов являются актуальной задачей онкологии. Решение этой проблемы имеет принципиальное значение для оптимизации

подходов к ранней диагностике и профилактике РШМ.

Целью данной работы, является изучение информативности и диагностических значений некоторых цитокинов и АМП при прогнозировании метастазов у больных РШМ.

Материал и методы. С этой целью было обследовано венозная кровь 46 больных с РШМ, находившихся на лечении в онкологической клинике Азербайджанского Медицинского Университета. В течение от 6-ти мес. до 3 лет после поступления в клинику у 13 из них выявлено различные метастазы в лимфоузлы. Кровь больных была взята при поступлении больных в клинику. Диагноз был поставлен на основании материала биопсии.

Для исследования содержания ИЛ-2, ИЛ-6, ИЛ-10, ФНО-α, эндотелина, эндотоксина, лактоферрина и белка связывающего жирные кислоты (L-FABP) в сыворотке крови использовали набор реагентов производства «Вектор-Бест» (Россия). Статистическую обработку результатов проводили методами вариационного, дисперсионного и ROC-анализов с помощью программ EXCEL-2013 и SPSS-20 [5,6].

Результаты и обсуждения. В целях определения прогностической значимости изученных лабораторных показателей для выявления метастазов больных распределили на 2 группы: I группа, у которых не выявлены метастазы в течении 3-х лет после операции (n=33), II группа, у которых выявлены различные метастазы в лимфоузлы в течении от 6-ти мес. до 3-х лет после лечения (n=33).

С помощью статистической обработки результатов получены следующие результаты. Результаты дисперсионного анализа представлены в табл. 1.

Таблица 1

Дисперсионный анализ изученных показателей у больных РШМ

Показатели		N	Среднее	Стан. откл.	Стан. ошиб.	95% НГр	95% Вгр	F	p
L-FABP, нг/мл	MC (-)	33	1,83	1,43	0,25	1,32	2,34	5,026	0,030
	MC (+)	13	2,98	1,88	0,52	1,85	4,12		
Эндотелин, пг/мл,	MC (-)	33	8,50	0,68	0,12	8,26	8,75	9,111	0,004
	MC (+)	13	9,19	0,74	0,20	8,75	9,64		
Эндотоксин, пг/мл	MC (-)	33	0,161	0,054	0,009	0,142	0,180	3,139	0,083
	MC (+)	13	0,192	0,050	0,014	0,161	0,222		
Лактоферрин, мкг/г	MC (-)	33	3,73	1,07	0,19	3,35	4,11	0,005	0,944
	MC (+)	13	3,70	1,12	0,31	3,03	4,38		

Impact Factor:

ISRA (India) = 1.344	SIS (USA) = 0.912	ICV (Poland) = 6.630
ISI (Dubai, UAE) = 0.829	ПИИЦ (Russia) = 0.207	PIF (India) = 1.940
GIF (Australia) = 0.564	ESJI (KZ) = 4.102	IBI (India) = 4.260
JIF = 1.500	SJIF (Morocco) = 2.031	

TNF- α , пг/мл	MC (-)	33	19,2	11,1	1,9	15,3	23,2	4,648	0,037
	MC (+)	13	27,0	10,8	3,0	20,5	33,5		
ИЛ-10, пг/мл	MC (-)	33	14,3	3,7	0,6	13,0	15,6	0,134	0,716
	MC (+)	13	14,8	4,5	1,2	12,1	17,4		
ИЛ-6, пг/мл	MC (-)	33	6,04	1,79	0,31	5,40	6,67	7,225	0,010
	MC (+)	13	7,71	2,15	0,60	6,41	9,01		
ИЛ-2, пг/мл	MC (-)	33	28,2	12,8	2,2	23,7	32,7	7,703	0,008
	MC (+)	13	40,9	16,8	4,7	30,8	51,1		

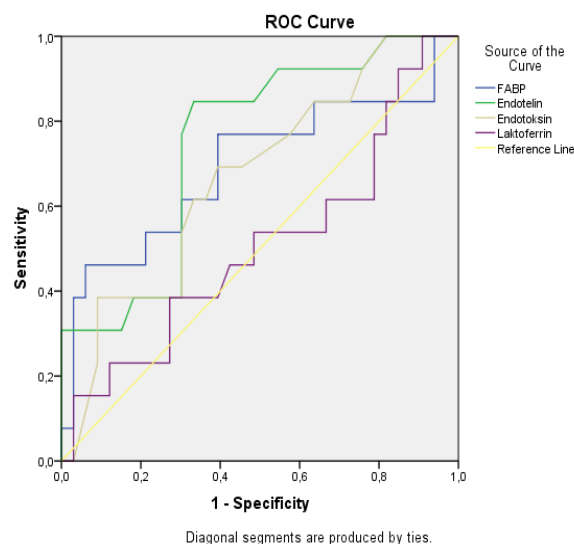
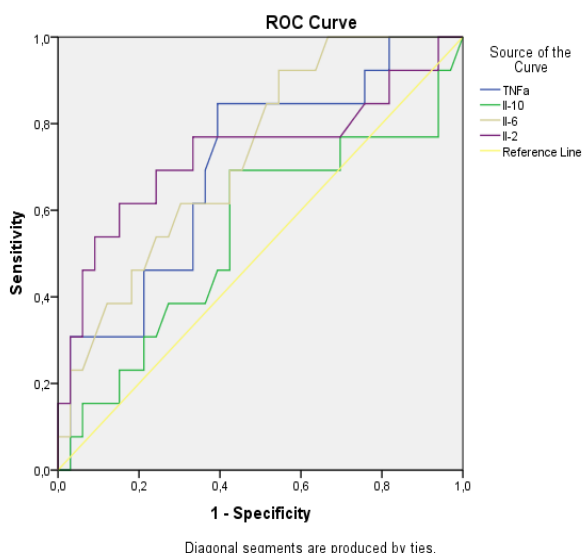
Прим: MC(-) – больные РШМ без метастазов, MC(+) – больные РШМ с метастазами.

У больных, которых не в дальнейшем не развились метастазы средняя величина ИЛ-2 составила $28,2 \pm 2,2$ пг/мл; ИЛ-6 – $6,04 \pm 0,31$ пг/мл; ФНО- α – $19,2 \pm 1,9$ пг/мл. Полученные результаты показали, что у больных без метастазов уровень цитокинов значительно ниже по сравнению с данными больных с метастазами. У больных с метастазами среднее величина ИЛ-2 составила $40,9 \pm 4,7$ пг/мл ($p=0,008$); ИЛ-6 – $7,71 \pm 0,60$ пг/мл ($p=0,010$); ФНО- α $27,0 \pm 3,0$ пг/мл ($p=0,037$).

Среднее значение эндотелина у больных без дальнейших метастазов составила $8,50 \pm 0,12$

пг/мл; L-FABP – $1,83 \pm 0,25$ пг/мл. Результаты анализа выявили достоверное увеличение некоторых АМП у больных РШМ с выявленными метастазами. Как видно из полученных результатов, у больных с метастазами, уровень эндотелина составила $9,19 \pm 0,20$ пг/мл ($p=0,004$); L-FABP – $2,98 \pm 0,52$ пг/мл ($p=0,030$).

С помощью ROC-анализа определяли специфичность и чувствительность цитокинов и АМП при раннем выявлении метастазов у больных РШМ (рис. 1).



Изменчивость теста (ов)	Площадь	Станд. откл.	Р дост.	95% доверительный интервал	
				Ниж. пред.	Верх. пред.
ФНО- α	0,698	0,085	0,038	0,531	0,865
ИЛ-10	0,544	0,101	0,643	0,346	0,742
ИЛ-6	0,728	0,078	0,017	0,576	0,881
ИЛ-2	0,732	0,096	0,015	0,545	0,919
L-FABP	0,692	0,098	0,044	0,500	0,884
Эндотелин	0,746	0,078	0,010	0,592	0,900
Эндотоксин	0,668	0,087	0,079	0,498	0,838
Лактоферрин	0,505	0,100	0,961	0,309	0,700

Рисунок 1. ROC-графики цитокинов и АМП при раннем выявлении метастазов у больных РШМ

Impact Factor:

ISRA (India) = 1.344
ISI (Dubai, UAE) = 0.829
GIF (Australia) = 0.564
JIF = 1.500

SIS (USA) = 0.912
РИИЦ (Russia) = 0.207
ESJI (KZ) = 4.102
SJIF (Morocco) = 2.031

ICV (Poland) = 6.630
PIF (India) = 1.940
IBI (India) = 4.260

На основании ROC-анализа можно сделать вывод, что специфичность и чувствительность тестов ИЛ-2, ИЛ-6 и ФНО- α , а также L-FABP и эндотелина в прогнозировании метастазов у больных являются статистически значимыми.

Далее определили наиболее удаленные точки от опорной линии – точки отсечения (cut of

point) в координатах ROC-кривых, где суммарное значение специфичности и чувствительности являются наибольшей. По этим точкам вычисляли специфичность и чувствительность каждого теста (табл. 2).

Табл. 2

Специфичность и чувствительность изученных показателей в точках отсечений

Стат.	L-FABP	Эндотел ин	Эндоток син	Лактофе ррин	ФНО-а	ИЛ-10	ИЛ-6	ИЛ-2
Точка отсечения	3,8	8,8	0,18	5	19,5	14,6	5,4	44
МС (+)	13	13	13	13	13	13	13	13
++	6	10	8	2	11	9	12	8
Чв	46,2	76,9	61,5	15,4	84,6	69,2	92,3	61,5
\pm mp	13,8	11,7	13,5	10,0	10,0	12,8	7,4	13,5
МС (-)	33	33	33	33	33	33	33	33
--	31	23	22	32	20	19	15	28
Сп	93,9	69,7	66,7	97,0	60,6	57,6	45,5	84,8
\pm mp	4,2	8,0	8,2	3,0	8,5	8,6	8,7	6,2
ОДЦ	37	33	30	34	31	28	27	36
%	69,8	62,3	56,6	64,2	58,5	52,8	50,9	67,9
\pm mp	6,3	6,7	6,8	6,6	6,8	6,9	6,9	6,4
pPV	75,0	50,0	42,1	66,7	45,8	39,1	40,0	61,5
\pm mp	15,3	11,2	11,3	27,2	10,2	10,2	8,9	13,5
nPV	81,6	88,5	81,5	74,4	90,9	82,6	93,8	84,8
\pm mp	6,3	6,3	7,5	6,7	6,1	7,9	6,1	6,2
LR+	7,62	2,54	1,85	5,08	2,15	1,63	1,69	4,06
	хор.	поср.	не пр.	хор	поср.	не пр.	не пр.	поср.
LR-	0,57	0,33	0,58	0,87	0,25	0,53	0,17	0,45
	не пр	поср.	не пр	не пр	поср.	не пр	хор.	поср.

Прим: Чв – чувствительность; Сп – Специфичность; ОДЦ – общая диагностическая ценность; ++ (--) – истинно-положительные (отрицательные) результаты; \pm mp – 95% доверительный интервал полученных результатов; pPV (nPV) – предсказательная полезность положительного (отрицательного) результата; LR+ (LR-) – отношения правдоподобия положительного (отрицательного) результата.

Для определения силы фактора в прогнозировании метастазов у больных РШМ после лечения использован дисперс-тест по методу Снедекора. Результаты теста показали, что повышение содержание ИЛ-2 выше чем 44 пг/мл (СФ – 27,4%; $p < 0,001$), ИЛ-6 $\geq 5,4$ пг/мл (СФ – 14,6%, $p=0,004$); ФНО- $\alpha \geq 19,5$ пг/мл (СФ –

– 19,9%, $p = 0,001$); L-FABP-а $\geq 3,8$ нг/мл (СФ – 29,3%, ; $p < 0,001$) и эндотелина $\geq 8,8$ пг/мл (СФ – 21,8%; $p < 0,001$) является достоверными критериями в прогнозировании прогрессировании метастазов у больных РШМ (таблица 3).

Impact Factor:

ISRA (India) = 1.344	SIS (USA) = 0.912	ICV (Poland) = 6.630
ISI (Dubai, UAE) = 0.829	РИИЦ (Russia) = 0.207	PIF (India) = 1.940
GIF (Australia) = 0.564	ESJI (KZ) = 4.102	IBI (India) = 4.260
JIF = 1.500	SJIF (Morocco) = 2.031	

Таблица 3

**Дисперсионный тест-ANOVA
некоторых цитокинов и АМП у больных РШМ**

Пределы показателей		Сила фактора (95% ДИ: ВГр-НГр)	F	p
ИЛ-2	≥44,0	27,4% (20,7-34,1)	16,6	< 0,001
ИЛ-6	≥5,4	14,6% (6,7-22,5)	7,5	0,004
ИЛ-10	≥14,6	6,2% (0,0-14,8)	2,9	0,055
ФНО-α	≥19,5	19,9% (12,5-27,3)	10,9	0,001
Эндотелин	≥8,8	21,8% (14,6-29,1)	12,3	< 0,001
L-FABP	≥3,8	29,3% (22,8-35,9)	18,3	< 0,001
Эндотоксин	≥0,18	7,1% (0,0-15,7)	3,4	0,041
Лактоферрин	≥5,0	5,3% (0,0-14,1)	2,5	0,073

ИЛ-2 синтезируемый Т-хелперными лимфоцитами, играет исключительно важную роль в дифференцировке и пролиферации Т-клеток, принимает непосредственное участие в реализации механизмов противоопухолевой защиты и является активным стимулятором продукции ФНО-α [4].

ИЛ-6 является провоспалительным цитокином, иммуномодулятором, стимулирует синтез других цитокинов и может выступать в роли индуктора канцерогенеза. ИЛ-6 обладает и мощным ангиогенным действием, стимулируя продукцию VEGF опухолевых клеток, и поэтому повышенная экспрессия ИЛ-6, является фактором метастаза РШМ [10, 20].

ИЛ-10 относится к группе противовоспалительных цитокинов и основная функция ИЛ-10 состоит в угнетении синтеза цитокинов Th1-клетками и в снижении активности макрофагов, в том числе продукции провоспалительных цитокинов. Также полагают, что ИЛ-10 способствует стимуляции опухолевого роста в результате ингибирования Т-клеточного иммунного ответа [17,19].

ФНО-α усиливает синтез других цитокинов и экспрессию молекул адгезии. Повышение концентрации ФНО-α приводит снижению противоопухолевого эффекта и повышению резистентности организма против развития опухолевого процесса [8].

Как видно из результатов, высокое содержание эндотоксина сопровождается

усиленной продукцией провоспалительных цитокинов [11,13]. Лактоферрин в основном локализован во специфических гранулах полиморфноядерных нейтрофилов. является важной составляющей иммунной системы и иммуномодулирующими свойствами [14]. L-FABP - связывает жирные кислоты и обеспечивает их интрацеллюлярную транспорт [12,18]. Эндотелин вызывает увеличение количества Т-лимфоцитов в тканях и органах, что в свою очередь привлекает другие иммунокомпетентные клетки, в частности макрофаги, которые продуцируют факторы, стимулирующие воспаление и деструкцию очага, что приводит к неблагоприятному прогнозу для нормальной репарации [9].

Полученные результаты свидетельствует о взаимосвязи повышения уровня L-FABP и эндотелина со степенью повреждения и метастазирования опухолевых клеток. Поэтому L-FABP и эндотелин являются чувствительными и специфичными маркерами повреждения ткани.

В связи с этим исследование уровня ИЛ-2, ФНО-α, ИЛ-6, эндотелина и L-FABP может быть рекомендовано для оценки вероятности развития метастазирования опухолевых клеток у больных РШМ и может иметь прогностическое и диагностическое значение для раннего выявления метастазов.

Impact Factor:

ISRA (India) = 1.344	SIS (USA) = 0.912	ICV (Poland) = 6.630
ISI (Dubai, UAE) = 0.829	PIHHI (Russia) = 0.207	PIF (India) = 1.940
GIF (Australia) = 0.564	ESJI (KZ) = 4.102	IBI (India) = 4.260
JIF = 1.500	SJIF (Morocco) = 2.031	

References:

1. Abakumova T.V., Antoneeva I.I., Qening T.P., Dolqova D.R., Qening C.O., Voronova O.C., Volqina I.V. (2013) Funkcionalnoe sostoyaniye mikrofaqosotov perifericeskoq krovi i spektr produsiruemix imi sitokinov pri rake sheyki matki// Ulyanovskiy mediko-bioloqiceskiy jurnal, №1, p.56-63.
2. Alyoshina Q.M., Kokryakov V.N., Shamova O.V., Orlov D.C. et al. (2010) Sovremennaya konsepsiya ob antimikrobnix peptidax kak molekulyarnix faktorax immuniteta // Medisinskiy akademiceskiy jurnal, №4, p.149-160.
3. Berezhnaya N.M.(2000) Interleykiny i formirovanie immunologicheskogo otveta pri zlokachestvennom rost // Allerg. i immunol. T. 1, №1.-p. 45-61.
4. Berezhnaya N.M., Goretskiy B.A. (1992) Interleykin-2 i zlokachestvennye obrazovaniya // Kiev: Naukova dumka, 172 p.
5. Dolzhnikov V., Stuchenkov A. (2008) Excel // SPb, BKhB- Peterburg, 544 p.
6. Petri A. Sebin K. (2009) Nakladnaya statistika v meditsine // Perov. s. angl. V.P. Leonova M.: Geotar-Med, 168 p.
7. Simbirsev A.C. (2014) Sitokin;-novaya sistema requlyaisyii zashitnix reaksiy orqanizma// Sitokini i vospoleniye, t.2002, №1, p.32.
8. Chu W.M. (2013) Tumor necrosis factor // Cancer Lett., v. 328(2), p. 222-225.
9. Fathy Anan , Aziza E. Abdelrahman. (2018) EZH2, Endothelin-1, and CD34 as Biomarkers of Aggressive Cervical Squamous Cell Carcinoma: An Immunohistochemical Study// Turkish Journal of Pathology, №34, p.150-157.
10. Heikkila, Ebrahim S, Lawlor D.A. (2008) Systematic review of the association between circulating interleukin-6 (IL-6) and cancer. Eur J Cancer, №44, p. 937-45
11. Heine H, Rietschel ET, Ulmer AJ. The biology of endotoxin //Mol Biotechnol, 2001, No 19(3), p.279-296.
12. Huang H, McIntosh AL, Martin GG, Landrock KK, Landrock D, Gupta S, Atshaves BP, Kier AB, Schroeder F. (2014) Structural and functional interaction of fatty acids with human liver fatty acid-binding protein (L-FABP) T94A variant// FEBS J., №281, p.2266–2283.
13. Jessica I. Lundin; Harvey Checkoway (2010) Endotoxin and cancer//Ciênc. saúde coletiva vol.15 №.6 Rio de Janeiro Sept. p.1344-50.
14. Levay, P.F., M.Viljoen (1995) Lactoferrin: a general review // Haematologica, № 3, p. 252-267.
15. Oppenheim J., J. Oppenheim, H. Fujiwara (1996) The role of cytokines in cancer // Cytokine Growth Factor Rev., Vol. 7. p. 279-288.
16. Paradkar PH, Joshi JV, Mertia PN, Agashe SV, Vaidya RA.(2014) Role of cytokines in genesis, progression and prognosis of cervical cancer. //Asian Pac J Cancer Prev., №9, p.3851–64.
17. Shekari M, Kordi-Tamandani DM, MalekZadeh K, et al. (2012) Effect of anti-inflammatory (IL-4, IL-10) cytokine genes in relation to risk of cervical carcinoma// Am J Clin Oncol, №35, p.514-9.
18. Storch J, Thumser AE.(2010) Tissue-specific functions in the fatty acid-binding protein family//J Biol Chem, , №285, p. 32679–83.
19. Yan Wang, Xiao-Hong Liu, Yue-Hong Li, and Ou Li (2013) The paradox of il-10-mediated modulation in cervical cancer// Biomed Rep. № 3, p. 347–351.
20. Zarogoulidis P, Yarmus L, Zarogoulidis K (2013). Interleukin-6 cytokine: a multifunctional glycoprotein for cancer. Immunome Res, 9, 35-40.

