

УРОВЕНЬ ЦИТОКИНОВ И МОЛЕКУЛ МЕЖКЛЕТОЧНОЙ АДГЕЗИИ В ПЛАЗМЕ КРОВИ И ИХ ДИАГНОСТИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРИ АУТОИММУННЫХ И ОНКОЛОГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Кзаков С.П.

Главный военный клинический госпиталь им. Н.Н. Бурденко МО РФ

Резюме. В статье представлены новые данные по исследованию уровней цитокинов (IFN γ , IL-4, IL-6, IL-10, TNF β , MCP-1) и молекул межклеточной адгезии (sE-Selectin, sICAM-1) в плазме крови и показатели их диагностической эффективности у больных с аутоиммунными заболеваниями щитовидной железы, аденомой и раком щитовидной железы. Цитокины и молекулы межклеточной адгезии исследовали методом проточной цитометрии. Установлено, что в патогенезе АИЗЩЖ важную роль играют такие цитокины как IL-4, IL-6, TNF β , MCP-1, причем наиболее значимыми следует считать IL-6, MCP-1. В патогенезе АЩЖ определяющую роль играют IL-6, IL-10, TNF β , MCP-1, sICAM-1 и среди них наибольшей достоверностью обладает IL-6 и sICAM-1. В патогенезе РЩЖ определяющую роль играют – IL-6, IL-10, MCP-1, sE-selectin, причем наиболее значимым является sE-selectin. В дифференциальной диагностике РЩЖ и АИЗЩЖ должны использоваться такие молекулы, как IL-10, MCP-1, sE-selectin, наиболее высокую достоверность имел показатель sE-selectin. В дифференциальной диагностике АЩЖ и АИЗЩЖ целесообразно использовать уровень IL-6, IL-10 и sICAM-1, причем в диагностическом плане наиболее информативными были значения IL-6 и sICAM-1. В дифференциальной диагностике РЩЖ и АЩЖ можно использовать пороговые уровни IL-6 и sE-selectin.

Ключевые слова: цитокины, контактные факторы, аутоиммунные заболевания, аденома, рак, щитовидная железа.

Kazakov S.P.

DIFFERENTIAL LEVELS OF CYTOKINES AND INTERCELLULAR ADHESION MOLECULES AND THEIR DIAGNOSTIC EFFICIENCY IN AUTOIMMUNE AND ONCOLOGICAL THYROID DISEASES

Abstract. The article presents novel data concerning measurements of cytokine levels (IFN γ , IL-4, IL-6, IL-10, TNF β , MCP-1), and cell adhesion molecules (sE-Selectin, sICAM-1) in blood plasma, like as parameters of their diagnostic efficiency in the patients with thyroid autoimmune diseases (TAD), thyroid adenoma and cancer. The cytokines were analyzed by flow cytometris technique. We have shown that IL-4, IL-6, TNF β , MCP-1 cytokines play an important role in pathogenesis of TAD, especially IL-6,

Адрес для переписки:

Кзаков Сергей Петрович,
Научно-методический центр ГВКГ
им. Н.Н. Бурденко
105229, Москва, ЦАО, Госпитальная пл. 3.
Тел.: (499) 263-08-39, 263-51-32.
E-mail: kazakovsp@yahoo.com

MCP-1. In cases of thyroid adenoma, a sufficient role belongs to IL-6, IL-10, TNF β , MCP-1, sICAM-1, with IL-6 and sICAM-1 showing most significant changes. In thyroid cancer, IL-6, IL-10, MCP-1, sE-selectin are informative, with sE-selectin being the most reliable marker. In differential diagnostic between thyroid cancer and autoimmune diseases, one should employ such cytokines, as IL-10, MCP-1, sE-selectin, the latter being most significant. Differential diagnostics between thyroid adenoma and autoimmune diseases suggests determination of IL-6, IL-10 and sICAM-1 levels, preferring IL-6 and sICAM-1 for their better diagnostic efficiency. Threshold levels of IL-6, sE-selectin may discriminate between thyroid cancer and adenoma, but these differences are of poor diagnostic efficiency. (*Med. Immunol.*, vol. 12, N 6, pp 559-564)

Keywords: cytokines, adhesion factors, autoimmune disorders, adenoma, cancer, thyroid.

Введение

Роль цитокинов, молекул межклеточной адгезии в патогенезе развития опухолей, в том числе опухолей щитовидной железы (ЩЖ) и аутоиммунных заболеваний ЩЖ, бесспорно доказана и представляет не только научный, но и практический интерес [1, 3, 4, 6, 7]. Использование накопленных знаний о цитокинах и молекулах межклеточной адгезии позволяет не только понять сложный механизм патогенеза опухолевого или аутоиммунного процесса, но и более точно диагностировать их разные нозологические формы [2, 5, 9]. Изучение роли цитокинов в патогенетических механизмах выше указанных процессов, поиск диагностических критериев у больных с онкологическими и аутоиммунными заболеваниями ЩЖ является важной проблемой, требующей своего решения [8, 10, 11, 12].

Материалы и методы

Исследование было проведено у 51 больного с заболеваниями ЩЖ, подтвержденными мор-

фологически: у 12 – аутоиммунные заболевания щитовидной железы (АИЗЩЖ) (Хашимото, Грейвс), у 15 – аденома щитовидной железы (АЩЖ) и у 24 – РЩЖ (папиллярной и фолликулярной формы). Средний возраст больных составил 52±16 лет, из них 45 (88,2%) женщин и 6 (11,8%) мужчин.

Для исследования цитокинов и молекул межклеточной адгезии использовали метод проточной цитометрии (COULTER EPICS XL-MCL фирмы «Beckman Coulter», США) с подсчетом не менее 5000 событий и симплексные наборы фирмы «Bender Medsystems GmbH» (Австрия) с использованием технологии Multiplex, позволяющей в одном образце определять необходимое количество цитокинов. Исследовали в плазме крови больных цитокины – IFN γ , IL-4, IL-6, IL-10, TNF β , MCP-1 и молекулы межклеточной адгезии – sE-Selectin, sICAM-1. Результаты исследования калибровочных кривых и полученных данных обрабатывали с помощью программы FlowCytomix Pro 2.1.

ТАБЛИЦА 1. ВЕЛИЧИНЫ ЦИТОКИНОВ И МОЛЕКУЛ МЕЖКЛЕТОЧНОЙ АДГЕЗИИ В ПЛАЗМЕ КРОВИ У БОЛЬНЫХ С АУТОИММУННЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ, ДОБРОКАЧЕСТВЕННЫМИ И ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫМИ ОПУХОЛЯМИ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Исследуемые показатели	Группы больных и контроля			
	I (контроль), n = 10	II (АИЗЩЖ), n = 12	III (АЩЖ), n = 15	IV (РЩЖ), n = 24
INF γ , пг/мл	8,47±0,26	7,55±3,01	9,55±4,09	6,89±5,56
IL-4, пг/мл	40,66±12,73	111,71±44,29 °	83,47±70,73	147,57±126,02
IL-6, пг/мл	7,61±0,63	34,28±14,85 °	16,53±7,16 ° ~	31,3±17,41 ° *
IL-10, пг/мл	9,99±0,97	11,88±2,77	21,78±10,55 ° ~	24,1±13,67 ^
TNF β , пг/мл	8,35±0,57	9,82±1,34 °	10,25±1,5 °	11,74±7,09
MCP-1, пг/мл	109,22±5,62	155,77±27,2 °	171,63±43,3 °	202,08±59,65 ° ^
sE-selectin, пг/мл	39,54±1,47	44,93±20,63	45,83±13,11	68,56±27,42 ° * ^
sICAM-1, пг/мл	233,93±21,11	255,68±30,56	412,90±159,03 ° ~	296,86±76,01

Примечание. ° – статистическая достоверность между группами I и II, III, IV ($p < 0,05$); ~ – статистическая достоверность между группой II и III ($p < 0,05$); * – статистическая достоверность между группами III и IV ($p < 0,05$); ^ – статистическая достоверность между группами II и IV ($p < 0,05$).

Статистическую обработку данных проводили с использованием непараметрических методов по Манну–Уитни. Различия считали достоверными при уровне значимости $p < 0,05$. Для расчета диагностической эффективности применяли ROC-анализ.

Результаты

Исследование уровня $INF\gamma$ показало, что его концентрация в плазме крови была наибольшей у пациентов АЩЖ и составила $9,55 \pm 4,09$ пг/мл (табл. 1). У пациентов с АИЗЩЖ концентрация $INF\gamma$ составила $7,55 \pm 3,01$ пг/мл и не отличалась достоверно от уровня $INF\gamma$ в контроле, где этот уровень составлял $8,47 \pm 0,26$ пг/мл. Наибольшее снижение $INF\gamma$ ($6,89 \pm 5,56$ пг/мл) обнаружено у больных РЩЖ. Однако при исследовании уровней $INF\gamma$ не были выявлены статистически значимые различия, как в группе контроля, так и в обследуемых группах больных с аутоиммунными, доброкачественными, злокачественными заболеваниями ЩЖ.

Исходная концентрация IL-4 в плазме крови практически здоровых людей составила $40,66 \pm 12,73$ пг/мл. Сравнительный анализ концентрации IL-4 выявил статистически значимые различия между группами больных АИЗЩЖ и контролем ($p = 0,006$). Концентрация IL-4 в группе с АИЗЩЖ составила $111,71 \pm 44,29$ пг/мл, а в группе контроля – $40,66 \pm 12,73$ пг/мл. В группах пациентов с АЩЖ и РЩЖ уровни IL-4 были повышены и составили $83,47 \pm 70,73$ и $147,57 \pm 126,02$ пг/мл соответственно. Отмечено, что у больных РЩЖ концентрация IL-4 была

максимальной, но в то же время статистически значимых различий между группами больных РЩЖ и АЩЖ не выявлено.

Анализ содержания в плазме крови IL-6 (рис. 1) показал, что наибольшая концентрация этого цитокина была определена у пациентов с АИЗЩЖ ($34,28 \pm 14,85$ пг/мл) и статистически достоверно отличалась ($p = 0,003$) от контрольной группы, где уровень цитокина составил $7,61 \pm 0,63$ пг/мл. Исходная концентрация IL-6 была также высокой при РЩЖ ($31,3 \pm 17,41$ пг/мл) и достоверно отличалась от контрольной группы ($p = 0,004$) и больных АЩЖ ($p = 0,01$). Концентрация IL-6 у больных АЩЖ была выше нормального уровня и составила $16,53 \pm 7,16$ пг/мл. Показатель IL-6 в группе с АЩЖ имел статистически достоверные различия по сравнению с контрольной группой ($p = 0,005$), а также с группой больных с АИЗЩЖ ($p = 0,002$). В дифференциальной диагностике использование уровня IL-6 позволяет отличать АЩЖ от АИЗЩЖ при пороговых значениях этого цитокина менее $18,57$ пг/мл ($p = 0,002$) (диагностическая чувствительность теста составила 90% при специфичности – 99%), а также РЩЖ от АЩЖ при значениях IL-6 более чем $18,16$ пг/мл ($p = 0,015$), но в этом случае диагностические характеристики маркера не высокие (чувствительность – 71,4%, специфичность – 80,0%).

Концентрация IL-10 в плазме крови при РЩЖ была наиболее высокой и составила $24,1 \pm 13,67$ пг/мл и достоверно отличалась от контрольной группы ($p = 0,004$) и группы пациентов с АИЗЩЖ ($p = 0,007$). Уровень IL-10 у пациентов с АЩЖ составил $21,78 \pm 10,55$ пг/мл,

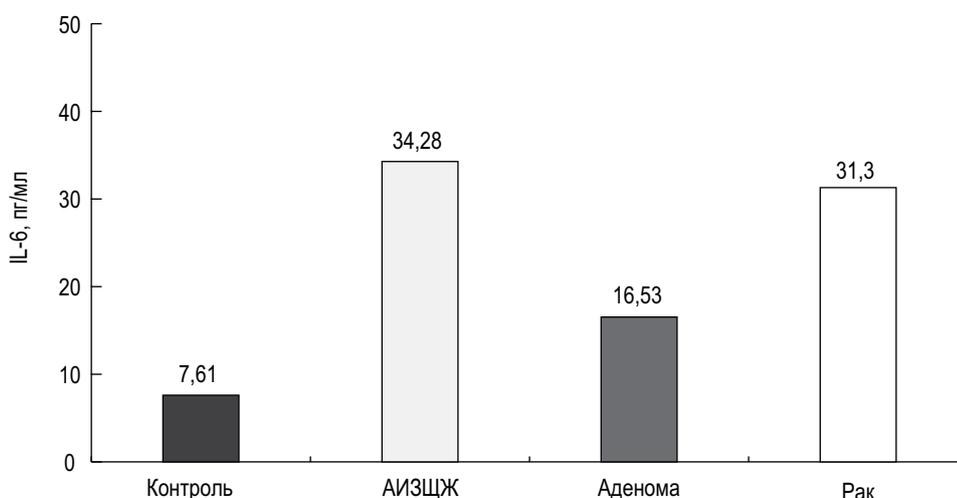


Рисунок 1. Уровень IL-6 в плазме крови больных аутоиммунными заболеваниями, доброкачественными и злокачественными опухолями щитовидной железы

был повышен в сравнении с контрольной группой ($9,99 \pm 0,97$ пг/мл) и с группой пациентов с АИЗЩЖ ($11,88 \pm 2,77$ пг/мл). Достоверно значимые различия выявлены при сравнении уровня IL-10 у больных АЩЖ и контролем ($p = 0,02$), а также пациентов с АИЗЩЖ ($p = 0,018$). Концентрация IL-10 у больных АИЗЩЖ достоверно не отличалась от контрольной группы. Оценка диагностической эффективности уровня IL-10 позволяет использовать этот показатель в дифференциальной диагностике РЩЖ и АИЗЩЖ в случае, если значение этого показателя превышало величину $13,94$ пг/мл ($p = 0,007$) (чувствительность – 99% и специфичность – 78%). В дифференциальной диагностике АЩЖ и АИЗЩЖ уровень IL-10 более $15,94$ пг/мл при относительно невысокой чувствительности и специфичности метода (70 и 89% соответственно) убедительно свидетельствовал о наличии АЩЖ.

Концентрация TNF β была наиболее высокой у больных РЩЖ и составила $11,74 \pm 7,09$ пг/мл, однако статистически значимых различий ни с одной из обследованных групп не выявлено. Уровень TNF β был повышен у пациентов с АЩЖ и составил $10,25 \pm 1,5$ пг/мл, статистически достоверно отличаясь от контрольной группы ($p = 0,02$), где количество TNF β составляло $8,35 \pm 0,57$ пг/мл. В группе пациентов с АИЗЩЖ уровень TNF β равнялся $9,82 \pm 1,34$ пг/мл и имел статистически значимые различия с контрольной группой ($p = 0,033$).

Исследование концентрации макрофагального хемотаксического белка 1 (MCP-1) у боль-

ных РЩЖ выявило, что его уровень был наиболее высоким и составил $202,08 \pm 59,65$ пг/мл. Выявлены статистически значимые различия между группами больных РЩЖ и контролем ($p = 0,004$), где MCP-1 составил $109,22 \pm 5,62$ пг/мл. Отмечены также достоверные различия по концентрации MCP-1 между группой больных РЩЖ и АИЗЩЖ ($p = 0,039$), а при его значении более $170,58$ пг/мл (чувствительность теста – 71% и специфичность – 78%) выявляли РЩЖ. Концентрация MCP-1 была также на 70% выше по сравнению с контрольной группой у пациентов с АЩЖ ($171,63 \pm 43,3$ пг/мл). Обнаружены статистически значимые различия ($p = 0,014$) в показателях MCP-1 между больными АЩЖ и контролем. Повышенная концентрация макрофагального MCP-1 отмечена в группе пациентов с АИЗЩЖ $155,77 \pm 27,2$ пг/мл и статистически достоверно отличалась от контрольной группы ($p = 0,003$).

Концентрация молекул адгезии sE-selectin (рис. 2) в плазме крови была повышенной при РЩЖ ($68,56 \pm 27,42$ пг/мл) в сравнении с контрольной группой ($39,54 \pm 1,47$ пг/мл). Обнаружены статистически значимые различия по концентрации sE-selectin между группой больных РЩЖ и контролем ($p = 0,004$), РЩЖ и АЩЖ ($p = 0,018$), а также РЩЖ и АИЗЩЖ ($p = 0,005$). Менее высокие значения концентраций молекул адгезии sE-selectin выявлены у пациентов с АЩЖ и АИЗЩЖ ($45,83 \pm 13,11$ пг/мл и $44,93 \pm 20,63$ пг/мл соответственно). В дифференциальной диагностике использование sE-selectin в группах

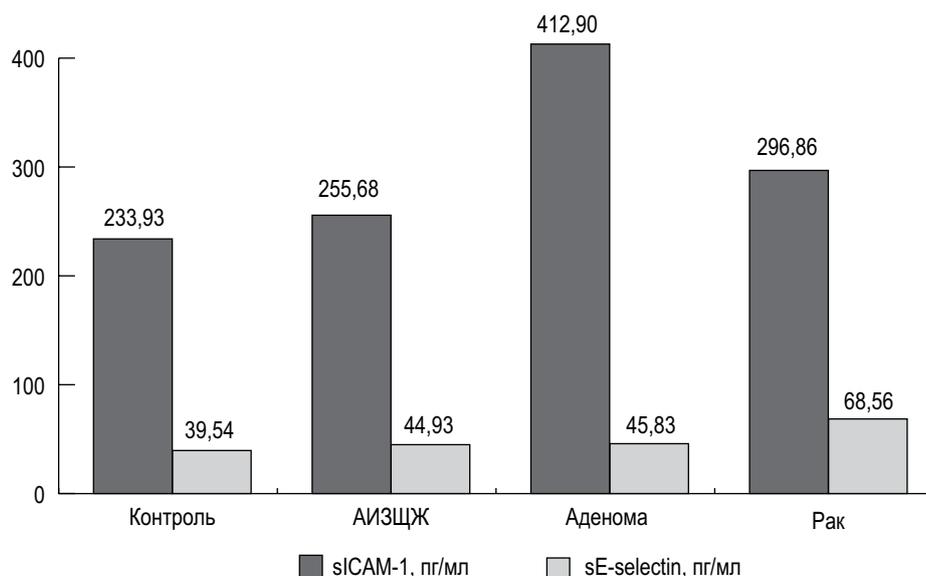


Рисунок 2. Уровень молекул межклеточной адгезии sICAM-1, sE-selectin в плазме крови больных с аутоиммунными заболеваниями, доброкачественными и злокачественными опухолями щитовидной железы

РЩЖ и АИЗЩЖ позволяло выявить РЩЖ при значениях более 45,12 пг/мл (чувствительность и специфичность теста — 86 и 78% соответственно). В диагностике между группами пациентов РЩЖ и АЩЖ (чувствительности метода — 71,4%, специфичность — 90%) и пороговых значениях sE-selectin более 56,36 пг/мл определялся РЩЖ.

Проведен анализ концентрации молекул межклеточной адгезии — sICAM-1 в плазме крови у пациентов с АИЗЩЖ, АЩЖ и РЩЖ. Уровень sICAM-1 был наиболее высоким у больных АЩЖ и составил $412,90 \pm 159,03$ пг/мл, статистически достоверно отличаясь от контрольной группы ($p = 0,005$), где этот показатель был равен $233,93 \pm 21,11$ пг/мл, и от группы с АИЗЩЖ ($255,68 \pm 30,56$ пг/мл) ($p = 0,002$). Уровень sICAM-1 имел тенденцию к повышению у больных РЩЖ и составил $296,86 \pm 76,01$ пг/мл. Величина sICAM-1 в плазме крови более 304,48 пг/мл позволила предполагать наличие АЩЖ, а не АИЗЩЖ при чувствительности и специфичности теста, равных 90 и 99% соответственно.

Обсуждение

В результате исследования установлено, в патогенезе АИЗЩЖ важную роль играют такие цитокины как IL-4, IL-6, TNF β , MCP-1, наиболее значимыми следует считать IL-6, MCP-1.

В патогенезе развития АЩЖ определяющую роль играют IL-6, IL-10, TNF β , MCP-1, sICAM-1, и среди них наибольшей достоверностью обладает IL-6. Среди молекул адгезии, уровень которых был максимально выражен, важным был показатель sICAM-1.

В патогенезе РЩЖ определяющую роль играют следующие цитокины и молекулы адгезии: IL-6, IL-10, MCP-1 и sE-selectin, что подтверждается также литературными данными [9, 11, 12, 13]. Среди исследованных молекул наиболее значимым был sE-selectin.

Также дополнительно в дифференциальной диагностике РЩЖ и АИЗЩЖ могут быть использованы следующие показатели — IL-10, MCP-1, sE-selectin. Все эти показатели имели хорошие и удовлетворительные значения диагностической эффективности при РЩЖ, а наиболее высокую достоверность имел показатель sE-selectin.

В дифференциальной диагностике АЩЖ и АИЗЩЖ целесообразно использовать показатели цитокинов IL-6, IL-10 и sICAM-1. Наиболее значимую достоверность показали цитокины

IL-6 и sICAM-1, которые были тесно связаны с патогенезом АЩЖ.

В дифференциальной диагностике РЩЖ и АЩЖ можно использовать пороговые уровни IL-6, sE-selectin, однако эти показатели имели невысокую, удовлетворительную диагностическую эффективность.

Список литературы

1. Антонов В.Г., Козлов В.К. Патогенез онкологических заболеваний: иммунные и биохимические феномены и механизмы. Внеклеточные и клеточные механизмы общей иммунодепрессии и иммунной резистентности // Цитокины и воспал. — 2004. — Т. 3, № 1. — С. 8-19.
2. Кадагидзе З.Г., Короткова О.В., Заботина Т.Н. Современные методы оценки иммунного статуса у онкологических больных // Клин. лаб. диагн. — 2000. — № 9. — С. 7.
3. Кашкин К.П. Цитокины иммунной системы: основные свойства и иммунобиологическая активность (лекция) // Клин. лаб. диагн. — 1998. — № 11. — С. 21-32.
4. Останин А.А. Иммунопатогенетические аспекты и цитокинотерапия хирургической инфекции: Дис. ... д-ра мед. наук. — Новосибирск, 1999. — 236 с.
5. Скуинь Л.М., Кашкин К.П. Иммунологические исследования в онкологической клинике // Новости прикл. иммунол. и аллергол. — 2001. — № 5. — С. 1-3.
6. Телетаева Г.М. Цитокины и противоопухолевый иммунитет // Практик. онкол. — 2007. — Т. 8, № 4. — С. 210-218.
7. Фрейдлин И.С. Паракриные и аутокриные механизмы цитокиновой иммунорегуляции // Иммунология. — 2001. — № 5. — С. 4-7.
8. Mitsiades C.S., Poulaki V., Mitsiades N. The role of apoptosis-inducing receptors of the tumor necrosis factor family in thyroid cancer // J. Endocrinol. — 2003. — Vol. 178, N 2. — P. 205-216.
9. Ruggeri R.M., Villari D., Simone A., Scarfi R., Attard M., Orlandi F., Barresi G., Trimarchi F., Trovato M., Benvenga S. Co-expression of interleukin-6 (IL-6) and interleukin-6 receptor (IL-6R) in thyroid nodules is associated with co-expression of CD30 ligand/CD30 receptor // J. Endocrinol. Invest. — 2002. — Vol. 25, N 11. — P. 959-966.
10. Suster S. Thyroid tumors with a follicular growth pattern: problems in differential diagnosis // Arch. Pathol. Lab. Med. — 2006. — Vol. 130, N 7. — P. 984-988.

11. Stassi G., Todoro M., Zerilli M., Ricci-Vitiani L., Di Liberto D., Patti M., Florena A., Di Gaudio F., Di Ges G., De Maria R. Thyroid cancer resistance to chemotherapeutic drugs via autocrine production of interleukin-4 and interleukin-10 // *Cancer Res.* – 2003. – Vol. 63, N 20. – P. 6784-6790.

12. Tanaka K., Kurebayashi J., Sohda M., Nomura T., Prabhakar U., Yan L., Sonoo H. The expression of monocyte chemoattractant protein-1 in papillary thyroid carcinoma is correlated with lymph

node metastasis and tumor recurrence // *Thyroid.* – 2009. – Vol. 19, N 1. – P. 21-25.

13. Yoshida A., Asaga T., Masuzawa C., Kawahara S., Yanoma S., Harada M., Okamoto T.J. Production of cytokines by thyroid carcinoma cell lines // *Surg. Oncol.* – 1994. – Vol. 55, N 2. – P. 104-107.

поступила в редакцию 05.09.2010

принята к печати 02.10.2010