

## Impact Factor:

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

SIS (USA) = 0.912  
PIHII (Russia) = 0.156  
ESJI (KZ) = 4.102  
SJIF (Morocco) = 5.667

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

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: 10 Volume: 66

Published: 29.10.2018 <http://T-Science.org>

QR – Issue



QR – Article



### SECTION 20. Medicine.

UDC: 616.441: 618.1:612.577:12

**Ulker Fuad Mamedova**  
Doctor laboratory assistant at  
the Oncological clinic of Azerbaijan Medical University

**Shayman Ibrahim Hasanova**  
Candidate of Biological Sciences, Associate Professor,  
Department of Biochemistry,  
Azerbaijan Medical University

**Aygun Agabala Rustamova**  
Doctor laboratory assistant at  
the Oncological Clinic of Azerbaijan Medical University

**Namik Mais Amraliev**  
Doctor of Medical Sciences, Oncologist of  
the Oncological Clinic of Azerbaijan Medical University

## THE STUDY OF THE INFORMATIVENESS AND DIAGNOSTIC VALUE OF SOME CYTOKINES AND ANTIMICROBIAL PEPTIDES IN THYROID CANCER

**Abstract:** In this work, were analyzed the information content and diagnostic significance of some cytokines and antimicrobial peptides (AMP) were analyzed using ROC analysis. For this purpose, the levels of IL-6,  $\alpha$ -TNF, calprotectin, lactoferrin, defensin and L-FABP were examined by enzyme immunoassay in the serum of patients with thyroid cancer and thyroid adenoma (ASH). As a result of the study in patients with thyroid cancer, a significant increase in the content of IL-6,  $\alpha$ -TNF, calprotectin, lactoferrin and defensin was found in comparison with patients with ASH. The highest elevated values were observed in patients with the follicular form of thyroid cancer. Using ROC analysis, it was established that IL-6, TNF  $\alpha$  and TNT, calprotectin, lactoferrin and defensin have diagnostic value for the early detection of process malignancy.

**Key words:** thyroid cancer, thyroid adenoma, interleukin-6, tumor necrosis factor, antimicrobial peptides

**Language:** Russian

**Citation:** Mamedova, U.F., Hasanova, S.I., Rustamova, A.A., & Amraliev, N.M. (2018). The study of the informativeness and diagnostic value of some cytokines and antimicrobial peptides in thyroid cancer. *ISJ Theoretical & Applied Science*, 10 (66), 301-306.

**Soi:** <http://s-o-i.org/1.1/TAS-10-66-35> **Doi:**  <https://dx.doi.org/10.15863/TAS.2018.10.66.35>

УДК: 616.441: 618.1:612.577:12

### ИЗУЧЕНИЕ ИНФОРМАТИВНОСТИ И ДИАГНОСТИЧЕСКОЙ ЗНАЧИМОСТИ НЕКОТОРЫХ ЦИТОКИНОВ И АНТИМИКРОБНЫХ ПЕПТИДОВ ПРИ РАКЕ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

**Аннотация:** В проведённой работе было проанализировано информативность и диагностическая значимость некоторых цитокинов и антимикробных пептидов (АМП) с помощью ROC-анализа. С этой целью было обследовано уровень ИЛ-6,  $\alpha$ -ФНО, кальпротектина, лактоферрина, дефензина и L-FABP иммуноферментным путем в сыворотке крови больных раком щитовидной железы (РЩЖ) и аденомой щитовидной железы (АЩЖ). В результате исследования у больных РЩЖ выявлено значительное повышение содержания ИЛ-6,  $\alpha$ -ФНО, кальпротектина, лактоферрина и дефензина по сравнению больными АЩЖ. Наибольшие повышенные значения наблюдались у больных фолликулярной формой РЩЖ.



## Impact Factor:

ISRA (India) = 1.344	SIS (USA) = 0.912	ICV (Poland) = 6.630
ISI (Dubai, UAE) = 0.829	РИИЦ (Russia) = 0.156	PIF (India) = 1.940
GIF (Australia) = 0.564	ESJI (KZ) = 4.102	IBI (India) = 4.260
JIF = 1.500	SJIF (Morocco) = 5.667	

С помощью ROC-анализа установлено, что ИЛ-6,  $\alpha$ -ФНО и кальпротектин, лактоферрин и дефензин имеют диагностическое значение для раннего выявления злокачественности процесса.

**Ключевые слова:** Ключевые слова: рак щитовидной железы, аденома щитовидной железы, интерлейкин-6, фактор некроза опухоли, антимикробные пептиды

### Аннотация.

Рак щитовидной железы (РЩЖ) является одним из распространенных злокачественных опухолей эндокринной системы [1,2]. В настоящее время интерпретация лабораторных тестов для дифференциальной диагностики новообразований щитовидной железы, является актуальным вопросом эндокринологии. Разработка и применение новых наиболее информативных биохимических маркеров для диагностики РЩЖ имеет большое практическое значение при раннем выявлении патологии [3,4,5]. Последнее время большое внимание уделяется механизмам противоопухолевого иммунитета в патогенезе РЩЖ. Нарушение состояния противоопухолевого иммунитета сопровождается определенными изменениями в цитокиновой системе. Цитокины медиаторы иммунного ответа, которые регулируют межклеточные и межсистемные взаимодействия. Они также играют важную роль выживаемости и росте, дифференцировке и апоптозе клеток, в том числе иммунных клеток [6,7,8]. Известно, что цитокины, особенно ИЛ-6 и фактор некроза опухоли ( $\alpha$ -ФНО) играют важную роль в патогенезе злокачественных новообразований. ИЛ-6 и  $\alpha$ -ФНО является провоспалительными цитокинами, стимулируют синтез иммуноглобулинов, Т-лимфоцитов, индуцирует образование других цитокинов (ИЛ-2, 3, 4, 5, IFN- $\gamma$ ). ИЛ-6 играет важную роль в дифференцировке В-лимфоцитов и усиливает антителообразование, индуцирует цитотоксичность клеток [9].  $\alpha$ -ФНО стимулирует антителообразования В клетками, индуцирует синтез колониеобразующих факторов эндотелиальными клетками и фибробластами [10]. Известно, что существует тесная связь между цитокинами и антимикробными пептидами (АМП) [11].

АМП являются неспецифическими факторами гуморального иммунитета, обладают эндотоксин-нейтрализующей и иммуномодулирующей активностью [11]. Самыми важными и наиболее изученными АМП являются кальпротектин, лактоферрин, дефензины и L-FABP (protein binding fatty acids).

Кальпротектин (S100A8/A9) играет патогенную роль в прогрессировании рака, так как низких концентрациях способствует росту и миграцию опухолевых клеток, тогда как при высоких концентрациях наблюдается апоптотическое действие на опухолевые клетки. ИЛ-1, ИЛ-10, ИЛ-22 и  $\alpha$ -ФНО являются

медиаторами синтеза кальпротектина в нейтрофилах и макрофагах [12].

Лактоферрин - железосвязывающий гликопротеин, относится семейству трансферрина, кроме антимикробной и противовирусной активностью является мощным иммуномодулятором [13,14].

L-FABP является членом группы, связывающей жирные кислоты, которые участвуют в внутриклеточном переносе биологически активных жирных кислот. Кроме этого, L-FABP также участвует во внутриклеточных сигнальных путях, клеточном росте и дифференцировке [15].

Дефензины человека представляют собой катионные антимикробные пептиды которые делятся на  $\alpha$  и  $\beta$ -дефензины.  $\alpha$ -дефензины проявляют хемотаксическую, иммуномодулирующую и цитотоксическую активность, вносят вклад в общую защиту организма и развитие процессов воспаления [16].

**Целью настоящей работы** является исследование диагностической значимости некоторых цитокинов и АМП в дифференциальной диагностике РЩЖ и АЩЖ.

### Материал и методы.

С этой целью было обследовано венозная кровь 54 больных РЩЖ, находившихся на лечении в онкологической клинике Азербайджанского Медицинского Университета. У 42 больных выявлено папиллярный тип, а 12-ти больным был поставлен фолликулярный тип РЩЖ. В группу сравнение вошли 25 больных аденомой щитовидной железы (АЩЖ). Контрольную группу составили 14 практически здоровых лиц.

Для исследования содержания ИЛ-6, ФНО- $\alpha$ , дефензина, кальпротектина, лактоферрина и белка, связывающего жирные кислоты (L-FABP) в сыворотке крови использовали набор реагентов производства «Вектор-Бест» (Россия). Достоверность различий между группами оценивали с помощью критерия манна-Уитни, для связанных величин и или t-критерия Стьюдента, для несвязанных величин.

С помощью ROC-анализа определяли специфичность и чувствительность цитокинов и АМП. 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



## Impact Factor:

ISRA (India) = 1.344	SIS (USA) = 0.912	ICV (Poland) = 6.630
ISI (Dubai, UAE) = 0.829	РИИЦ (Russia) = 0.156	PIF (India) = 1.940
GIF (Australia) = 0.564	ESJI (KZ) = 4.102	IBI (India) = 4.260
JIF = 1.500	SJIF (Morocco) = 5.667	

вычисляли специфичность и чувствительность каждого теста.

Статистическую обработку результатов проводили с помощью программ EXCEL-2013 и SPSS-20.

## Результаты и обсуждения.

Результаты исследования представлены в таблице 1.

Таблица 1  
Изменение некоторых цитокинов и антимикробных пептидов у больных РЩЖ и АЩЖ.

Показатели	Группы			
	Аденома щитовидной железы (n=25)	Рак щитовидной железы		Контроль (n=14)
		Папиллярный тип (n=42)	Фолликулярный тип (n=12)	
ИЛ-6, пг/мл	2,82±0,27 (0,9-5,0)	3,60±0,29* (0,3-6,8)	3,92±0,65* (1,2-7,6)	2,40±0,36 (0,1-5,2)
α-ФНО, пг/мл	1,09±0,14 (0,11-2,06)	1,42±0,11 (0,37-3,0)	1,45±0,35* (0,02-3,54)	0,87±0,20 (0,28-3,07)
Кальпротектин, нг/мл	119,6±5,3*** (79,9-161)	154,3±5,9*** (92,6±224)	180,3±13,3*** (119-256)	91,4±4,0 (67,8-110,6)
Лактоферрин, пг/мл	1,37±0,07*** (0,8-1,9)	2,54±0,19*** (0,7-6,1)	3,02±0,36*** (0,9-5,2)	0,96±0,004 (0,8-1,2)
Дефензин, нг/мл	70,6±3,2 (42,6-94,4)	90,6±2,5*** (63,9-127)	99,4±8,0*** (57-142)	63,8±4,3 (39-87)
L-ФАВР, нг/мл	0,75±0,04 (0,46-1,04)	0,67±0,07 (0,01-1,89)	1,24±0,21* (0,31-2,36)	0,60±0,12 (0,008-1,54)

Прим: \*\*\* - p<0,001; \*\* - p<0,01; \* - p<0,05 по сравнению с контролем.

Как видно из полученных результатов уровень цитокинов и АМП у больных РЩЖ превышает как показатели в группе контроля, так и больных АЩЖ. Так как у больных папиллярным типом РЩЖ уровень ИЛ-6 и α-ФНО увеличивается на 50,1% (p<0,05) и 36,7% (p<0,05), соответственно данными группы контроля, 27,9% и 30,5% по сравнению с больными АЩЖ. У больных фолликулярным типом РЩЖ также наблюдается повышение уровня ИЛ-6 и α-ФНО на 63,2% (p<0,05) и 66,9% по отношению к группе контроля, на 39,1% и на 33,1% по сравнению больными АЩЖ. Повышение ИЛ-6 и α-ФНО говорит о прогрессировании опухоли, и может способствовать усилению канцерогенеза. ИЛ-6 усиливая продукцию VEGF опухолевых клеток, способствует метастазированию опухоли. Известно, что α-ФНО является прямым цитотоксическим эффектом в отношении опухолевых клеток, поэтому его повышение указывает активацию защитной реакции иммунной системы. Но высоких количествах α-ФНО происходит его полимеризация и понижается противоопухолевая активность. Повышение α-ФНО в микроокружении опухоли может привести к прямому повреждению ДНК. α-ФНО имеет апоптотическую или

антиапоптотическую роль в зависимости от последующей передачи сигналов, имеет митогенную активность, может опосредовать отношения опухолевых клеток/стромы, индуцировать другие цитокины и хемокины, которые способствуют развитию опухолей [9,17,18].

Сравнительный анализ результатов показывает увеличение кальпротектина, лактоферрина и дефензина у больных папиллярным типом РЩЖ на 68,8% (p<0,001), в 2,6 раза (p<0,001) и на 42,1% (p<0,05), соответственно по сравнению контрольной группой, на 29,0% (p<0,001), на 85,3% (p<0,001) и на 28,4% (p<0,001) по отношению группе АЩЖ. Наибольшие повышенные результаты АМП наблюдались у больных фолликулярным типом РЩЖ. Так как, в этой группе уровень кальпротектина, лактоферрина и дефензина повышается в 2,0 раза (p<0,001), в 3,1 раза (p<0,001) и на 55,8% (p<0,001) по отношению контроля, на 50,7% (p<0,001), 2,2 раза (p<0,001) и на 40,7% (p<0,001) по сравнению с данными АЩЖ. Избыточное содержание АМП способствует активизации синтеза цитокинов, свидетельствует об усилении процессов воспаления.

## Impact Factor:

<b>ISRA (India)</b> = 1.344	<b>SIS (USA)</b> = 0.912	<b>ICV (Poland)</b> = 6.630
<b>ISI (Dubai, UAE)</b> = 0.829	<b>ПИИЦ (Russia)</b> = 0.156	<b>PIF (India)</b> = 1.940
<b>GIF (Australia)</b> = 0.564	<b>ESJI (KZ)</b> = 4.102	<b>IBI (India)</b> = 4.260
<b>JIF</b> = 1.500	<b>SJIF (Morocco)</b> = 5.667	

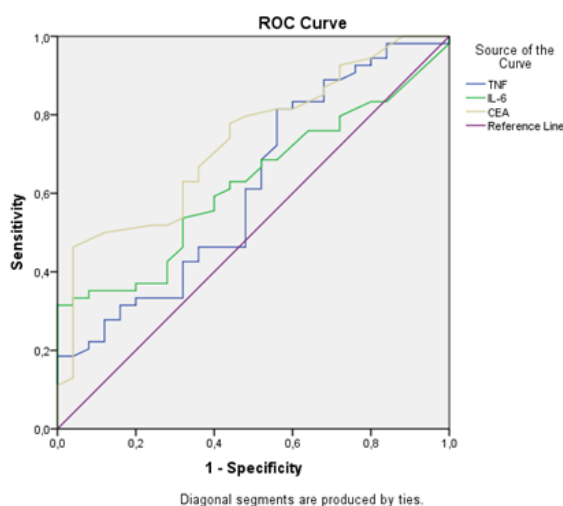
Кальпротектин (S100A8/A9) регулирует накопление миелоидного супрессора и способствует появлению незрелых миелоидных клеток, которые расширяются в опухолях, и действуют как мощные супрессоры иммунных ответов, опосредуемых Т-клетками. Таким образом, подавление противоопухолевых иммунных реакций приводит к развитию рака [12].

Оценку диагностической эффективности исследования цитокинов и антимикробных пептидов в сыворотке крови у больных АЦЖ и РЦЖ проводили с помощью анализа ROC – кривых и определения площади под ROC – кривой (AUC). Как видно, из полученных

Имеются данные о том, что лактоферрин способен активировать синтез ФНО и ИЛ-8 [13].

Как видно, из результатов у больных фолликулярным типом РЦЖ наблюдается статистически достоверное повышение уровня L-FABP в 2,1 раза ( $p < 0,001$ ) по отношению контроля, на 65,4 ( $p < 0,01$ ) по сравнению больными АЦЖ. Повышение L-FABP способствует митогенезу и развитию и прогрессированию опухоли [15].

результатов площадь под ROC кривой (AUC) ИЛ-6 и ФНО составила, соответственно  $0,624 \pm 0,063$  (при  $p = 0,077$ ) и  $0,616 \pm 0,069$  (при  $p = 0,100$ ), что свидетельствовало об удовлетворительной способности диагностических тестов прогнозировать развитие болезни. (рис.1).



Изменчивость теста (ов)	Площадь	Станд. откл.	Р дост.	95% доверительный интервал	
				Ниж. пред.	Верх. пред.
ФНО	0,616	0,069	0,100	0,480	0,751
ИЛ-6	0,624	0,063	0,077	0,501	0,747
CEA	0,731	0,058	0,001	0,616	0,845

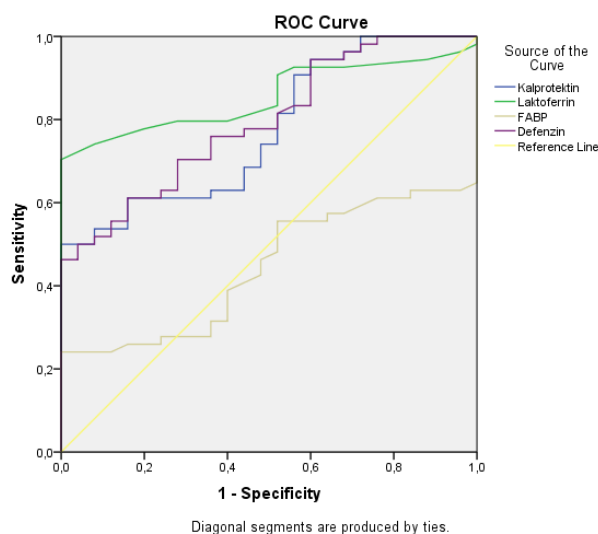
Рисунок 1. ROC-графики цитокинов и АМП при раннем выявлении метастазов у больных РШМ

Площадь под ROC кривой (AUC) кальпротектина и лактоферрина, отражающая диагностическую значимость тестов, определена

в размере, соответственно  $0,776 \pm 0,053$  (при  $p = 0,001$ ) и  $0,855 \pm 0,042$  (при  $p = 0,001$ ) (рис.2).

## Impact Factor:

ISRA (India) = 1.344	SIS (USA) = 0.912	ICV (Poland) = 6.630
ISI (Dubai, UAE) = 0.829	ПИИЦ (Russia) = 0.156	PIF (India) = 1.940
GIF (Australia) = 0.564	ESJI (KZ) = 4.102	IBI (India) = 4.260
JIF = 1.500	SJIF (Morocco) = 5.667	



Изменчивость теста (ов)	Площадь	Станд. откл.	Р дост.	95% доверительный интервал	
				Ниж. пред.	Верх. пред.
Кальпротектин	0,776	0,053	0,000	0,672	0,879
Лактоферрин	0,855	0,042	0,000	0,773	0,937
L-FABP	0,444	0,063	0,426	0,320	0,568
Дефензин	0,794	0,050	0,000	0,697	0,892

Рисунок 2. ROC-графики цитокинов и АМП при раннем выявлении метастазов у больных РШМ

Площадь под ROC кривой (AUC) L-FABP и дефензина составила, соответственно  $0,444 \pm 0,063$  (при  $p=0,426$ ) и  $0,794 \pm 0,050$  (при  $p=0,001$ ).

### Заключение

На основании результатов ROC анализа можно сделать вывод, что ИЛ-6,  $\alpha$ -ФНО и кальпротектин, лактоферрин и дефензин являются полезными диагностическими и потенциальными маркерами для раннего выявления и дифференциации патологии, а также

для определения злокачественности опухоли. При фолликулярном типе отмечено прогрессирующее увеличение содержание в крови цитокинов и АМП.

Таким образом, присоединение к инструментальным методам диагностики данных цитокинового и АМП профиля повышает частоту выявления РЦЖ.

### References:

1. Siegel, R., Naishadham, D., & Jemal, A. (2013). Cancer statistics, 2013. CA: A Cancer Journal for Clinicians, v. 63, No. 1, 11–30.
2. Bershtejn, L.M. (2007). Rak shhitovidnoj zhelezy: jepidemiologija, jendokrinologija, faktory i mehanizmy kancerogeneza. Prakt. onkol., №8, 1-8.
3. Berichvili, Q.V. (2002). Diagnostika zabolovaniy chitovidnoj jelezi. Spravocnik endokrinoloqa, Tbilisi, pp.56-57.
4. Braverman, L.I. (2000). Bolezni shhitovidnoj zhelezy. M.: Medicina, pp. 25-29.
5. Pinskiy, S.B., & Beloborodov, V.A. (2010) Adenoma shhitovidnoj zhelezy. Sibirskij medicinskij zhurnal, № 3, 73-76.

## Impact Factor:

ISRA (India) = 1.344	SIS (USA) = 0.912	ICV (Poland) = 6.630
ISI (Dubai, UAE) = 0.829	PIHHI (Russia) = 0.156	PIF (India) = 1.940
GIF (Australia) = 0.564	ESJI (KZ) = 4.102	IBI (India) = 4.260
JIF = 1.500	SJIF (Morocco) = 5.667	

- Berejnaya, N.M. (2009). Rol kletok sistemi immuniteta v mikrookrujenii opuxoli. Vzaimodeystvie kletok sistemi immuniteta s drugimi kmponentami mikrookrujeniya. *Onkologiya, t.11, No2*, 86-93.
- Teletaeva, G.M. (2007). Citokiny i protivopuholevyj immunitet. *Prakticheskaja onkologija, t.8, №4*, 211-218.
- Ketlinskij, S.A., & Simbircev, A.S. (2008) *Citokiny*. – SPb.: Foliant, Ekaterinburg, pp.1-552.
- Ara, T., & De Clerck, Y.A. (2010). Interleukin-6 in bone metastasis and cancer progression. *European Journal of Cancer, v. 46, No. 7*, 1223–1231.
- Balkwill, F. (2009). Tumour necrosis factor and cancer. *Nature Reviews Cancer, No 9(5)*, 361-371.
- Aleshina, G.M., et al. (2010). Covremennaja koncepcija ob antimikrobnih peptidah kak molekularnyh faktorah immuniteta. *Medicinskij akademicheskij zhurnal, № 4*, 149-160.
- Thomas, V., Anna, L.G., & Morozova-Roche L.A. (2012). Pro-Inflammatory S100A8 and S100A9 Proteins: Self-Assembly into Multifunctional Native and Amyloid Complexes. *Int. J. Mol. Sci, No13*, 2893-2917.
- Sorimachi, K., et al. (1997). Activation of macrophages by lactoferrin: secretion of TNF-alpha, IL-8 and NO. *Biochem. Mol. Biol. Int., Vol.43, No1*, 79-87.
- Levay, P.F., & Viljoen, M. (1995). Lactoferrin: a general review. *Haematologica, No80 (3)*, 252-267.
- Kazantzis, M., Stahl, A. (2012). Fatty acid transport proteins, implications in physiology and disease. *Biochim Biophys Acta, 2012, No5*, 852-855.
- Droin, N., et al. (2009). Human defensins as cancer biomarkers and antitumour molecules. *J Proteomics, No 72*, 918–27.
- Lumachi, F., Basso, S.M., & Orlando, R. (2010). Cytokines, thyroid diseases and thyroid cancer. *Cytokine, 2010, No 50(3)*, 229-33.
- Mitsiades, C.S., Poulaki, V., & Mitsiades, N. (2003) The role of apoptosis-inducing receptors of the tumor necrosis factor family in thyroid cancer. *J. Endocrinol, No 178*, 205-216.

