

СЕРОЛОГИЧЕСКИЙ УРОВЕНЬ ИЛ-18 ПРИ ПРЕДОПУХОЛЕВЫХ ЗАБОЛЕАНИЯХ И РАКЕ ЖЕЛУДКА

Матвеева Л. В., Мосина Л. М.

ФГБОУ ВПО «Мордовский государственный университет имени Н. П. Огарева», медицинский институт, г. Саранск

Матвеева Любовь Васильевна
 430017, Республика Мордовия, г. Саранск, Лямбирское шоссе, 19, кв. 27
 Тел.: 8 (927) 640-78-23, 8 (8342) 35-25-16
 E-mail: MatveevaLjubov1@mail.ru

РЕЗЮМЕ

Цель исследования — определить сывороточные концентрации и патогенетическое значение изменений интерлейкина-18 у больных хроническим атрофическим гастритом, язвенной болезнью и раком желудка.

Материал и методы. Проведено комплексное обследование 192 пациентов с заболеваниями гастродуоденальной зоны. Диагностический упор был сделан на иммуноферментный метод с определением в сыворотке крови количества интерлейкина-18, — 1β, интерферона-γ, канцерного антигена 19–9, фактора роста эндотелия сосудов, суммарных антител к CagA *Helicobacter pylori*.

Результаты. У обследованных пациентов выявлено увеличение концентрации интерлейкина-18, коррелирующее со стадией опухолевого процесса, уровнем фактора роста эндотелия сосудов, суммарных антител к CagA *Helicobacter pylori*.

Заключение. Полученные данные позволяют рекомендовать использование интерлейкина-18 в серологической диагностике атрофического гастрита, язвенной болезни, рака желудка.

Ключевые слова: интерлейкин-18, — 1β; интерферон-γ; суммарные антитела к CagA *Helicobacter pylori*; хронический гастрит; язвенная болезнь желудка; рак желудка

SUMMARY

The purpose of the study — to determine the serum concentration and the pathogenetic significance of changes of interleukin-18 in patients with chronic atrophic gastritis, peptic ulcer disease and gastric cancer. Material and methods. A comprehensive survey of 192 patients with diseases gastroduodenal zone. Diagnostic emphasis was placed on ELISA method as defined in the serum of IL-18, — 1β, interferon-γ, kantsernogo antigen 19–9, vascular endothelial growth factor, total antibodies to CagA *Helicobacter pylori*. Results. We examined patients revealed an increase in the concentration of interleukin-18, which correlated with tumor stage, the level of vascular endothelial growth factor, total antibodies to CagA *Helicobacter pylori*. Conclusion. The data obtained allow to recommend the use of interleukin-18 in serum for diagnostic of atrophic gastritis, peptic ulcer diseases and gastric cancer.

Keywords: interleukin-18; — 1β; interferon-γ; total antibody to CagA *Helicobacter pylori*; chronic gastritis; peptic ulcer; gastric cancer

ВВЕДЕНИЕ

В последние годы активно исследуются механизмы цитокиновой регуляции соматических заболеваний, в том числе органов желудочно-кишечного тракта. Неустойчивая тенденция к снижению заболеваемости хроническим гастритом, язвенной болезнью желудка, наличие осложнений, высокие инвалидизация и смертность от рака желудка [1; 2] указывают на необходимость улучшения их ранней

диагностики, чему может помочь изучение цитокинов с плеiotропностью действия, к числу которых относится интерлейкин-18 (IL-18).

IL-18 — провоспалительный цитокин семейства IL-1 [3], открытый как интерферон-γ (IFN-γ) — индуцирующий фактор, синтезируется многими клетками организма в виде пробелка, превращающегося в зрелый пептид под действием каспазы-1 или IL-1-конвертирующего энзима (ICE) [4]. Инициация

синтеза IL-18 может приводить к усилению цикла IFN- γ /IL-18: IL-18 индуцирует образование лимфоцитами IFN- γ , который стимулирует моноциты/макрофаги с увеличением их ICE-активности, что способствует синтезу IL-18 [5]. Установлено, что инфицирование организма *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) стимулирует сериновую протеазу каспазу-1 к ферментации pro-IL-18 с увеличением уровня активного полифункционального IL-18 [6]. Рядом ученых [3–10] изучены и описаны эффекты действия IL-18: стимуляция пролиферации и FasL-опосредованной цитотоксичности CD4⁺-, NK-клеток, продукции IL-6, — 12, IFN- γ , оксида азота; усиление экспрессии на эндотелиоцитах рецепторов хемокинов, адгезионных молекул; угнетение секреции IL-10, пролиферации эндотелиоцитов, опухолевых клеток, фибринолиза, васкуляризации опухоли. Приводятся экспериментальные данные об индукции IL-18 повреждения слизистой оболочки желудка (СОЖ) в условиях стресса путем увеличения активности гистидиндекарбоксилазы и продукции гистамина [10]. Увеличение синтеза IL-18 в плазме крови может блокировать рост и пролиферацию эндотелиоцитов, ангиогенез за счет прямой ингибиции фактора роста фибробластов (FGF) [8; 11]. В то же время имеются данные, указывающие на проонкогенную активность IL-18 при раке желудка. У больных обнаружены высокие экспрессия IL-18R, уровень IL-18, плотность сосудов в биоптатах опухолевой ткани по сравнению с неизменной СОЖ [12]. Выявлена положительная взаимосвязь между IL-18 и проангиогенными факторами (vascular endothelial growth factor (VEGF), thrombospondin-1 (TSP-1)) [13].

Приведенные научные данные указывают на неоднозначность изменений IL-18 в условиях патологического процесса и обосновывают необходимость определения его количества при заболеваниях гастродуоденальной зоны.

Цель исследования — определить сывороточные концентрации и патогенетическое значение изменений интерлейкина-18 у больных хроническим атрофическим гастритом, язвенной болезнью и раком желудка.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Проведено комплексное клиничко-лабораторное и инструментальное (эзофагогастродуоденоскопия (ЭГДС) с биопсией, 2-часовая рН-метрия) обследование 192 пациентов лечебно-профилактических учреждений г. Саранска с заболеваниями гастродуоденальной зоны.

Больные с обострением хронического гастрита (мужчины — 55,9%, женщины — 44,1%, средний возраст по группе — $43,9 \pm 7,5$ года, длительность заболевания в среднем — $13,2 \pm 5,1$ года) были разделены на группы в зависимости от стадии атрофии, определенной морфологически [14; 15], и нарушения желудочной секреции. В 1-ю группу вошли 42 пациента с хроническим неатрофическим гастритом

с сохраненной секреторной функцией (рН 1,6–2,0), во 2-ю — 40 больных очагово-атрофическим (I — II ст.) гастритом с умеренной секреторной недостаточностью (рН 2,1–3,4), в 3-ю — 36 пациентов с распространенным атрофическим (III — IV ст.) гастритом с выраженной гипосекретцией (рН 3,8–5,0).

Пациенты с обострением язвенной болезни желудка (рН 1,0–2,1) (мужчины — 57,5%, женщины — 42,5%) были объединены в 4-ю группу ($n = 42$). Средний возраст больных — $52,5 \pm 10,1$ года, длительность заболевания — $16,4 \pm 8,6$ года.

Средний возраст 32 больных (мужчины — 71,9%, женщины — 28,1%) раком желудка (5-я группа) составил $57,7 \pm 3,9$ года. II стадия опухолевого процесса была определена у 21,9% пациентов, III — у 37,5%, IV — у 40,6%. При гистологическом исследовании в 87,5% случаев обнаруживалась аденокарцинома разной степени дифференцировки, в 12,5% — перстневидноклеточный рак.

В контрольную группу по принципу случайной выборки вошли 30 практически здоровых добровольцев (мужчины — 53,3%, женщины — 46,7%, средний возраст — $36,2 \pm 10,3$ года), не имеющих на момент обследования клинических и инструментальных (ЭГДС) признаков онко- и обострения гастропатологии.

Кровь на иммунологическое обследование забиралась до проведения оперативного вмешательства при получении информированного согласия в утренние часы натощак из локтевой вены в объеме 5 мл в пробирку без консервантов. Время коагуляции в пробирке не превышало 30 минут при комнатной температуре (20–25 °С). Сыворотка выделялась центрифугированием в течение 10 минут и помещалась в отдельные стерильные пробирки, образцы хранились при температуре не выше –20 °С до процедуры иммуноферментного анализа.

Твердофазным иммуноферментным методом в сыворотке крови обследуемых определяли уровни IL-1 β , — 18, IFN- γ , канцерного антигена 19–9 (CA 19–9), VEGF, суммарных антител к CagA *Helicobacter pylori* (CAT к CagA *H. pylori*) с применением наборов реагентов ЗАО «Вектор-Бест» (Новосибирск), следуя приложенным инструкциям. Фирмой-производителем рекомендовано считать нормальной концентрацию IL-1 β в пределах 0–11 пг/мл, IL-18–104–640 пг/мл, IFN- γ — 0–10 пг/мл, CA 19–9–0–30 Ед/мл, VEGF — 10–700 пг/мл. Интерпретация результатов по уровню CAT к CagA *H. pylori* предусматривала отрицательный, сомнительный (титр < 1:5), слабоположительный (1:5), положительный (1:10–1:20) и сильноположительный (1:40–1:80) результат.

Статистическую обработку данных проводили на компьютере с использованием пакета программ *Microsoft Excell 7.0* с вычислением средней арифметической (M), средней ошибки средней арифметической (m). О значимости различий в группах судили по критерию Стьюдента — t и степени вероятности — p . Статистически значимыми считали различия при $p \leq 0,05$. Для оценки взаимосвязи



величин определяли коэффициент r_s ранговой корреляции Спирмена.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Сывороточный уровень IL-18 у обследованных пациентов (табл. 1) достоверно повышался относительно средних значений контрольной группы во 2–5-й группах (см. рис.), в 1-й группе статистически значимых отличий не выявлено, что объясняется минимальной (относительно других групп сравнения) выраженностью воспаления СОЖ (согласно гистологической картине биоптатов). Концентрация IL-18 в среднем у больных раком желудка была выше значений пациентов с хроническим неатрофическим гастритом на 43,5% ($p < 0,001$), с очагово-атрофическим гастритом — на 25,8% ($p \leq 0,05$), с распространенным атрофическим гастритом — на 11,2% ($p > 0,05$), с обострением язвенной болезни желудка — на 20,4% ($p > 0,05$). Количество IL-18 более 640 пг/мл определилось лишь у 6,25% больных 5-й группы, что указывало на участие данного цитокина в опухолевом процессе.

У пациентов с хроническим гастритом и язвенной болезнью желудка определились положительные корреляции уровня IL-18 и VEGF, наибольшие — во 2-й ($r_s = +0,719$, $p < 0,01$) и 4-й ($r_s = +0,706$,

$p < 0,01$) группах, что могло способствовать репарации СОЖ, и IL-18 и титра САТ к CagA *H. pylori*, наибольшие в этих же группах ($r_s = +0,405$, $p < 0,01$; $r_s = +0,401$, $p < 0,01$). Статистически значимой взаимосвязи количества IL-18, IL-1 β , IFN- γ , СА 19–9 у данных больных не выявлено.

У больных раком желудка отмечались статистически значимые положительные корреляционные связи уровня IL-18 со стадией опухолевого процесса, количеством СА 19–9, VEGF, IFN- γ , титром САТ к CagA *H. pylori* (табл. 2). Выявленные зависимости свидетельствуют о формировании порочного круга провоспалительной гиперцитокинемии, пусковым фактором которого, по литературным данным [6; 12], может явиться инфицирование *H. pylori*, а также о костимуляторном проангиогенном действии IL-18 [13]. Слабая тенденция достоверной положительной связи количества IL-18 и IL-1 β может быть обусловлена одновременной реализацией противоположных механизмов: с одной стороны, индуцирующего продукцию цитокинов действия *H. pylori*, с другой — способности каспазы-1, превращающей IL-18, к подавлению активности каспазы-1, превращающей IL-1 β , и, следовательно, к уменьшению его секреции [6].

Таблица 1

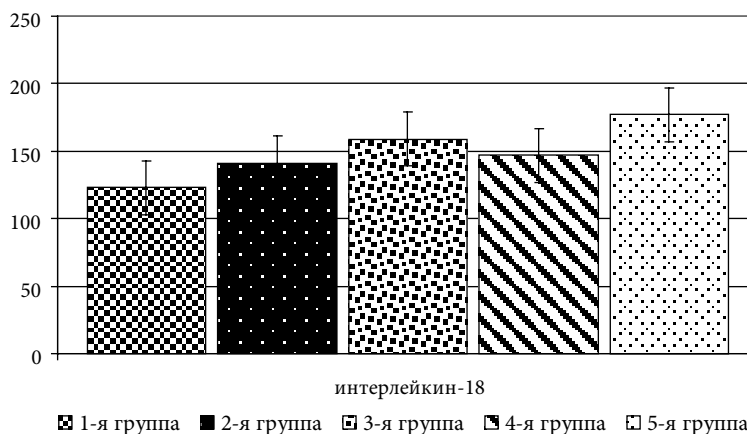
КОНЦЕНТРАЦИЯ ИНТЕРЛЕЙКИНА-18 В СЫВОРОТКЕ КРОВИ ОБСЛЕДОВАННЫХ ЛИЦ ($M \pm M$)	
Группа обследованных лиц	Интерлейкин-18
Контрольная группа	246,8 \pm 20,6
1-я группа	304,1 \pm 23,8
2-я группа	346,7 \pm 32,5, $p_k < 0,01$
3-я группа	392,4 \pm 43,6, $p_k < 0,001$
4-я группа	362,5 \pm 27,4, $p_k < 0,001$
5-я группа	436,3 \pm 31,1, $p_k < 0,001$, $p_1 < 0,001$, $p_2 \leq 0,05$

Примечание: статистически значимые различия при сравнении с контрольной группой — p_k , относительно 1-й группы больных — p_1 , относительно 2-й группы больных — p_2 .

Таблица 2

КОРРЕЛЯЦИЯ ПОКАЗАТЕЛЕЙ У БОЛЬНЫХ РАКОМ ЖЕЛУДКА (R_s)	
Показатели	Интерлейкин-18
Стадия опухолевого процесса	+0,454**
Канцерный антиген 19–9	+0,390*
Фактор роста эндотелия сосудов	+0,376*
Интерлейкин-1 β	+0,253
Интерферон- γ	+0,465**
Титр суммарных антител к CagA <i>Helicobacter pylori</i>	+0,368*

Примечания: +/– — положительная/отрицательная корреляция, * — статистически значимая корреляция при $p < 0,05$, ** — высокая значимая корреляция при $p < 0,01$, сила взаимосвязи при $r_s = 0,2–0,29$ — слабая, $r_s = 0,3–0,49$ — умеренная.



Уровень интерлейкина-18 у обследованных лиц (в %). Значения обследованных лиц контрольной группы приняты за 100%
 * — статистически значимые изменения при сравнении с контрольной группой.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Сывороточный уровень IL-18 при хроническом атрофическом гастрите, язвенной болезни, раке желудка превышает значения практически здоровых лиц, патогенетически взаимосвязан с уровнем

VEGF, антител к CagA *H. pylori* и может использоваться в серологической диагностике заболеваний желудка с дальнейшим решением об индивидуальном назначении ингибиторов IL-18.

ЛИТЕРАТУРА

1. http://www.mednet.ru/images/stories/files/statistika/zabolevaemost_vsego_naseleniya/2010/Zabolevaemost2010_chast1.pdf
2. http://www.mednet.ru/images/stories/files/Bolezni_organov_pishzevareniya_Yazvennaya_bolezn_izeludka_i_dvenadzatiperstnoy_kishki.pdf
3. *Теблочева, Л. М.* Новые члены цитокинов интерлейкина-1 и их роль в деструктивных воспалительных заболеваниях / Л. М. Теблочева, Л. А. Дмитриева, С. С. Григорян, К. Г. Гуревич // Мед. альманах. — 2011. — Т. 5, № 18. — С. 274–276.
4. *Dinarello, C. A.* Interleukin-18 and host defense against infection / C. A. Dinarello, G. Fantuzzi // J. Infect. Dis. — 2003. — Vol. 187, Suppl. 2. — S. 370–384.
5. <http://laboratory.rusmedserv.com/immunstatus/citokin/>
6. *Hitzler, I.* Caspase-1 has both proinflammatory and regulatory properties in Helicobacter infections, which are differentially mediated by its substrates IL-1 β and IL-18 / I. Hitzler, A. Sayi, E. Kohler et al. // J. Immunol. — 2012. — Vol. 188 (8). — S. 3694–3702.
7. *Кадагидзе, З. Г.* Цитокины / З. Г. Кадагидзе // Практик. онколог. — 2003. — Т. 4, № 3. — С. 131–139.
8. *Cao, R.* Interleukin-18 acts as an angiogenesis and tumor suppressor / R. Cao, J. Farnebo, M. Kurimoto, Y. Cao // The FASEB J. — 1999. — Vol. 13, No. 15. — S. 2195–2202.
9. *Gracie, J. A.* Interleukin-18 / J. A. Gracie, S. E. Robertson, I. B. McInnes // J. Leucocyte Biol. — 2003. — Vol. 73. — S. 213–214.
10. *Seino, H.* IL-18 mediates the formation of stress-induced, histamine-dependent gastric lesions / H. Seino, H. Ueda, M. Kokai et al. // Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver. Physiol. — 2007. — Vol. 292, No. 1. — S. 262–267.
11. *Iigo, M.* Orally administered bovine lactoferrin induces caspase-1 and interleukin-18 in the mouse intestinal mucosa a possible explanation for inhibition of carcinogenesis and metastasis / M. Iigo, M. Shimamura, E. Matsuda et al. // Cytocine. — 2004. — Vol. 25. — S. 36–44.
12. *Sakai, K.* Levels of interleukin-18 Are Markedly increased in *Helicobacter pylori* — infected Gastric Mucosa among Patients with Specific IL18 Genotypes / K. Sakai, M. Kita, N. Sawai et al. // J. Infect. Dis. — 2008. — Vol. 197, No. 12. — S. 1752–1761.
13. *Park, S.* The dual effects of interleukin-18 in tumor progression / S. Park, S. Cheon, D. Cho // Cellular & Molecular Immunology. — 2007. — Vol. 4, No. 5. — S. 329–335.
14. *Аруин, Л. И.* Новая классификация хронического гастрита / Л. И. Аруин, А. В. Кононов, С. И. Мозговой. — М., 2009. — 19 с. — Режим доступа: www.patolog.ru
15. *Мозговой С. И.* Атрофия слизистой оболочки желудка при хроническом воспалении как общепатологический процесс и прогностический критерий канцерогенеза: автореф. дис.... докт. мед. наук. — Омск, 2011. — 52 с.