

РОЛЬ SNP-МУТАЦИЙ ГЕНОВ IL10 И TNFA У ПАЦИЕНТОВ С ПЛОСКОКЛЕТОЧНЫМИ КАРЦИНОМАМИ ГОЛОВЫ И ШЕИ

К. А. Головнова

*Волгоградский государственный медицинский университет,
кафедра клинической лабораторной диагностики с курсом клинической лабораторной диагностики
факультета усовершенствования врачей*

Изучен полиморфизм промоторной области генов IL10 и TNFa у 84 пациентов с плоскоклеточными карциномами головы и шеи и 36 здоровых добровольцев. Выявлены значимые различия в распределении частот генотипов SNP-мутаций в позициях IL10 G1082A и IL10 592C>A. Показано влияние различных генотипов гена IL10 на характер опухолевого процесса.

Ключевые слова: опухоли головы и шеи, гены цитокинов, персонализированная медицина.

THE ROLE OF IL10 AND TNFA GENES SNP-MUTATIONS IN PATIENTS WITH SQUAMOUS CELL CARCINOMA OF HEAD AND NECK

K. A. Golovnova

We studied polymorphism of promoter region of IL10 and TNFa genes in 84 patients with squamous cell carcinoma of head and neck and 36 healthy volunteers. There were significant differences in the distribution of genotype frequencies of SNP-mutations IL10 G1082A и IL10 592C>A. It was shown the effect of different genotypes on the nature of the tumor process.

Key words: head and neck cancer, cytokines genes, personalized medicine.

Согласно концепции развития здравоохранения России злокачественные заболевания относятся к группе наиболее социально значимых болезней, в значительной степени определяющих качество трудового потенциала общества. Злокачественные опухоли головы и шеи занимают 6-е место по распространенности во всем мире, 5-е место в России, по приросту смертности — одно из первых. Развитие персонализированной медицины поможет оценить вклад генетических факторов в развитие карцином головы и шеи и может способствовать их ранней диагностике, что позволит снизить смертность от этой патологии. В мире проводятся исследования, посвященные изучению SNP-мутаций различных генов, среди которых и гены цитокинов [1, 2, 3], как молекул, лежащих в основе иммунного ответа, в том числе у пациентов с опухолями головы и шеи, однако в этих публикациях приводятся противоречивые результаты.

Фактор некроза опухолей синтезируется активированными макрофагами и обладает цитотоксическим действием, иммуномодулирующим и противовоспалительным эффектами. В отношении некоторых опухолей ФНО обладает цитостатическим и цитолитическим эффектом, стимулирует макрофаги. Пациенты с AA генотипом в положении -308 TNF- α имеют повышенный риск развития карцином верхних дыхательных путей по сравнению с носителями G аллеля. -308G/A полиморфизм был ассоциирован с повышенным риском развития опухолей ротоглотки, но не пищевода и гортани [7]. Наличие AA генотипа и A аллеля у пациентов с плоскоклеточными опухолями головы и шеи может быть связано с агрессивностью и злокачественностью заболевания [4].

Интерлейкин 10 является одним из важнейших противовоспалительных цитокинов. При различных опухолях отмечено повышение уровня IL10, при этом считается, что повышение уровня продукции IL10 является плохим прогностическим признаком и сочетается с выраженной прогрессией опухолевого роста. J. Zhou и др., оценивая взаимосвязь частот полиморфизмов IL10 и предрасположенности к лейкоплакии голосовых связок, показали, что частоты генотипа AC в -592 положении и -819 положении гена IL10 и генотипа AG в -1082 положении гена IL10 были выше у пациентов с лейкоплакией голосовых связок, чем у контрольной группы. Также эти пациенты имели более высокий уровень IL10 в плазме по сравнению с контрольной группой [8]. G аллель в 1082 положении гена IL10 связан с повышенным риском рака ротовой полости, а также GCC гаплотип (определенный по SNPs в позициях -1082, -819 и -592) гена IL10 ассоциирован с повышенным риском развития рака ротовой полости по сравнению с АТА гаплотипом [8]. -1082G аллель был ассоциирован с высоким уровнем экспрессии IL10 и чаще встречается у пациентов с недифференцированными назофарингеальными карциномами по сравнению с контрольной группой [6].

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Дать оценку особенностям распределения аллелей полиморфных локусов генов IL10 и TNF- α у пациентов с плоскоклеточными карциномами головы и шеи.

Для достижения данной цели были поставлены следующие задачи:

1) оценить частоты распределения генотипов и аллелей и комбинаций генотипов SNP-мутаций в позициях

IL10 G1082A, IL10 592C>A, TNF G308A у пациентов с опухолями головы и шеи и здоровых добровольцев;

2) выявить особенности опухолевого процесса в зависимости от генотипов изучаемых SNP-мутаций.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Была исследована периферическая кровь пациентов с раком гортани, глотки и ротовой полости у 84 пациентов ВОКОД № 1 возрастом от 39 до 81 лет, среди которых женщины 10,71 %, мужчины 89,29 %. На базе ГУЗ «Поликлиника № 20» была сформирована контрольная группа, в которую вошли 36 здоровых добровольцев, не имеющих онкологической патологии, возрастом от 30 до 74 лет, среди которых женщины 11,1 %, мужчины 88,9 %. Исследование осуществлялось на базе лаборатории геномных и протеомных исследований отдела фармакологии Волгоградского медицинского научного центра ВолгГМУ. Определение SNP-мутаций производилось методом ПЦР с помощью наборов производства «НПФ Литех». Статистическая обработка проводилась с помощью программы Statistica 8.0.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При оценке распределения частот генотипов SNP-мутации в позиции IL10 G1082A у исследуемой и контрольной групп были выявлены значимые различия между группами в распределении генотипов ($\chi^2 = 10,17$, $p = 0,006$) и аллелей ($\chi^2 = 4,86$, $p = 0,027$). Частоты встречаемости генотипов и аллелей приведены в табл. 1.

Таблица 1

Частота встречаемости генотипов SNP-мутации в позиции IL10 G1082A у пациентов и здоровых людей

Группы	Генотипы, %			Аллели, %	
	GG	GA	AA	G	A
Контрольная	38,89*	47,22	13,89	62,5	37,5
Исследуемая	24,1*	55,42	20,48	51,81	48,19

*Отмечены значения частот, для которых выявлены достоверные различия между исследуемой и контрольной группами при сравнении с помощью критерия χ^2 наблюдаемых и ожидаемых частот генотипов [GG ($\chi^2 = 9,2$, $p = 0,002$)].

Несмотря на то что, по данным литературы, G аллель в позиции 1082 отвечает за повышение сывороточного уровня IL10, что приводит к ингибированию клеточного иммунитета, в исследуемой группе частота GG генотипа и G аллеля ниже, чем в контрольной. Повышение уровня IL10 сочетается с агрессивным течением опухолевого роста, и анализ значений коэффициента тяжести (отношение стадии опухолевого процесса к протяженности клинического периода) иллюстрирует более быструю прогрессию опухолевого роста у пациентов с генотипом GG. Кроме того, при анализе показателей общего анализа крови проведенное сравнение

двух независимых групп с использованием U-критерия Манна-Уитни показало, что носители аллеля A в позиции IL10 G1082A имеют в крови достоверно большее относительное количество палочкоядерных лейкоцитов, меньшее абсолютное количество лимфоцитов и большее относительное количество моноцитов по сравнению с носителями генотипа GG, что свидетельствует о вкладе каждого из аллелей в регуляцию иммунного ответа организма.

При оценке распределения частот генотипов SNP-мутации в позиции IL10 592C > A у исследуемой и контрольной групп были выявлены значимые различия между группами в распределении генотипов ($\chi^2 = 9,99$, $p = 0,007$) и аллелей ($\chi^2 = 4,2$, $p = 0,041$). Частоты встречаемости генотипов и аллелей приведены в табл. 2.

Таблица 2

Частота встречаемости генотипов SNP-мутации в позиции IL10 592C > A у пациентов и здоровых людей

Группы	Генотипы, %			Аллели, %	
	CC	CA	AA	C	A
Контрольная	55,55*	41,67*	2,78	76,38	23,62
Исследуемая	40,24*	54,88*	4,88	67,68	32,32

*Отмечены значения частот, для которых выявлены достоверные различия между исследуемой и контрольной группами при сравнении с помощью критерия χ^2 наблюдаемых и ожидаемых частот генотипов [GG ($\chi^2 = 9,49$, $p = 0,002$), GA ($\chi^2 = 7,18$, $p = 0,007$)].

Наличие аллеля A (частота аллеля A в исследуемой группе выше по сравнению с контрольной) в позиции 592 приводит к снижению сывороточного IL10 и соответствующей активации клеточного иммунитета. Анализ значения коэффициента тяжести у пациентов с карциномами головы и шеи также показывает, что прогрессия опухолевого роста снижена у больных с генотипом AA, в то время как наличие аллеля C связано с увеличением тяжести заболевания. Кроме того, большая распространенность гомозигот по аллелю A в позиции IL10 G1082A и аллелю A в позиции IL10 592C > A среди больных раком подтверждается и литературными данными [5].

При оценке распределения комбинаций генотипов были выявлены статистически достоверные различия между контрольной и исследуемой группами. Так, сочетание генотипов AA в позиции IL10 G1082A и CA в позиции IL10 592C > A можно рассматривать как фактор риска развития карцином головы и шеи.

При оценке распределения частот генотипов SNP-мутации в позиции TNF G308A у исследуемой и контрольной групп значимых различий между группами выявлено не было. Однако носители генотипа AA при сравнении двух независимых групп с использованием U-критерия Манна-Уитни имели достоверно большее относительное количество лимфоцитов и меньшее

относительное количество гранулоцитов по сравнению с носителями аллеля G, что иллюстрирует влияние TNF на состояние иммунной системы организма.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Оценка распределения частот генотипов показала, что GG генотип в позиции IL10 G1082A и CC генотип в позиции IL10 592C > A обладают протективными свойствами, в то время как генотип CA в позиции IL10 592C > A чаще встречается у пациентов по сравнению с контрольной группой, а аллель A в позиции IL10 G1082A можно рассматривать как фактор риска изучаемых опухолей. Также выявлена комбинация генотипов, которая могут обладать канцерогенными свойствами (сочетание генотипов AA в позиции IL10 G1082A и CA в позиции IL10 592C > A). Кроме того, показано влияние различных генотипов генов IL10 на характер опухолевого процесса. Таким образом, знание иммуногенетического аспекта развития опухолей в дальнейшем может позволить диагностировать карциномы головы и шеи на ранней стадии и оценивать возможную тяжесть заболевания.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ковалева Е. С., Гумилевский Б. Ю. Состояние иммунного статуса и полиморфизм генов IFN как прогностические критерии эффективности лечения вирусного гепатита С у ВИЧ-инфицированных пациентов // Инфекция и иммунитет. — 2013. — Т. 3, № 1. — С. 83—88.
2. Ракина Н. С. Роль полиморфизма генов CYP3A5, MDR1 и IL2 у реципиентов почки в развитии посттрансплантационных ЦМВ-пневмоний / Н. С. Ракина, О. П. Гумилевская, Б. Ю. Гумилевский // Вестник Волгоградского государственного медицинского университета. — 2014. — № 3 (51). — С. 80—82.
3. Рудой А. С. Маленькая молекула и большая болезнь / А. С. Рудой, А. В. Москалев, В. Я. Апчел,

О. П. Гумилевская // Вестник Российской военной-медицинской академии. — 2009. — № 3. — С. 166—172.

4. Correa G. T., Bandeira G. A., Cavalcanti B. G., et al. Association of -308 TNF- α promoter polymorphism with clinical aggressiveness in patients with head and neck squamous cell carcinoma // Oral Oncology. — 2011. — Sep; № 47 (9). — P. 888—894.

5. Langsenlehner U., Krippel P., Renner W., et al. Interleukin-10 promoter polymorphism is associated with decreased breast cancer risk // Breast Cancer Res Treat. — 2005. — Mar; № 90 (2). — P. 113—115.

6. Pratesi C., Bortolin M.T., Bidoli E., et al. Interleukin-10 and interleukin-18 promoter polymorphisms in an Italian cohort of patients with undifferentiated carcinoma of nasopharyngeal type // Cancer Immunology, Immunotherapy: CII. — 2006. — Jan; № 55 (1). — P. 23—30.

7. Wang J., Jin X., Wang H., et al. The -308G/A polymorphism of the tumor necrosis factor- α gene is associated with the risk of upper aerodigestive tract cancer: a meta-analysis // Tohoku Journal of Experimental Medicine. — 2013. — № 229(4). — P. 245—254.

8. Yao J.G., Gao L.B., Liu Y.G., et al. Genetic variation in interleukin-10 gene and risk of oral cancer // Clinica Chimica Acta; international journal of clinical chemistry. — 2008. — Feb; № 388 (1—2). — P. 84—88.

9. Zhou J., Tao L., Zhang D., et al. Association of IL-10 promoter polymorphism and plasma levels with susceptibility to vocal cords leukoplakia // Zhonghua Er Bi Yan Hou Tou Jing Wai Ke Za Zhi. — 2013. — Dec; № 48 (12). — P. 1017—1021.

Контактная информация

Головнова Ксения Андреевна — аспирант кафедры клинической лабораторной диагностики с курсом клинической лабораторной диагностики ФУВ, Волгоградский государственный медицинский университет, e-mail: olkav1@yandex.ru