
УДК 612 (470.621)
ББК 28.903 (2Рос.Ады)
А 90

Тугуз А.Р.

Доктор биологических наук, профессор кафедры ботаники факультета естествознания, зав. иммуногенетической лабораторией НИИ комплексных проблем Адыгейского государственного университета, тел. (8772) 59-38-02, e-mail: lab_genetic@mail.ru

Анохина Е.Н.

Аспирант кафедры ботаники факультета естествознания Адыгейского государственного университета, тел. (8772) 59-38-02, e-mail: lab_genetic@mail.ru

Муженя Д.В.

Аспирант кафедры ботаники факультета естествознания Адыгейского государственного университета, тел. (8772) 59-38-02, e-mail: lab_genetic@mail.ru

Алдошина Л.Д.

Зав. радиологическим отделением Адыгейского республиканского клинического онкологического диспансера, тел. (8772) 59-38-02, e-mail: lab_genetic@mail.ru

Руденко К.А.

Аспирант кафедры ботаники факультета естествознания Адыгейского государственного университета, тел. (8772) 59-38-02, e-mail: lab_genetic@mail.ru

Ашканова Т.М.

Врач высшей категории Адыгейской республиканской клинической больницы, тел. (8772) 59-38-02, e-mail: lab_genetic@mail.ru

Кизянов А.Ф.

Кандидат технических наук, доцент кафедры автоматизированных систем обработки информации и управления инженерно-физического факультета Адыгейского государственного университета, тел. (8772) 59-39-11, e-mail: kizianov2002@mail.ru

**Ассоциация G197/197A аллелей гена провоспалительного цитокина IL-17A с низкодифференцированной аденокарциномой при злокачественных новообразованиях женских репродуктивных органов в этнических группах населения Республики Адыгея
(Рецензирована)**

Аннотация

Распределение G197/197A полиморфизмов гена провоспалительного цитокина IL-17A исследовано SNP (single nucleotide polymorphism) методом в этнических группах (русских и адыгов) населения Республики Адыгея: доноров, больных с разными вариантами злокачественных новообразований (ЗНО) женских репродуктивных органов. Наиболее распространенная в популяциях «нормальная» G197 аллель IL-17A ассоциирована с риском развития онкопатологии ($p=0,04$; $OR=1,5$; 95%CI) и опухолевой прогрессией ($p=0,008$; $\chi^2=6,05$). Носительство G197 полиморфизма провоспалительного IL-17A для жителей Республики Адыгея может быть использовано как маркер системных воспалительных реакций организма, вовлеченных в патогенез ЗНО у русских женщин.

Ключевые слова: *провоспалительный интерлейкин IL-17A, SNP-полиморфизмы, частоты G197/197A аллелей гена IL-17A, ассоциированность со злокачественными новообразованиями женских репродуктивных органов.*

Tuguz A.R.

Doctor of Biology, Professor of Botany Department of Natural Science Faculty, Head of Immunogenetic Laboratory of Research Institute of Complex Problems, Adyghe State University, ph. (8772) 59-38-02, e-mail: lab_genetic@mail.ru

Anokhina E.N.

Post-graduate student of Botany Department of Natural Science Faculty, Adyghe State University, ph. (8772) 59-38-02, e-mail: lab_genetic@mail.ru

Muzhenya D.V.

Post-graduate student of Botany Department of Natural Science Faculty, Adyghe State University, ph. (8772) 59-38-02, e-mail: lab_genetic@mail.ru

Aldonina L.D.

Head of Radiological Branch of the Adyghe Republican Clinical Oncological Hospital, ph. (8772) 59-38-02, e-mail: lab_genetic@mail.ru

Rudenko K.A.

Post-graduate student of Botany Department of Natural Science Faculty, Adyghe State University, ph. (8772) 59-38-02, e-mail: lab_genetic@mail.ru

Ashkanova T.M.

Doctor of Higher Category of Adyghe Republican Clinical Hospital, ph. (8772) 59-38-02, e-mail: lab_genetic@mail.ru

Kizyanov A.F.

Candidate of Technical Sciences, Associate Professor of Department of Automated Systems of Processing Information and Control of Engineering-Physics Faculty, Adyghe State University, ph. (8772) 59-39-11, e-mail: kizianov2002@mail.ru

Gene allele association G197/197A of pro-inflammatory cytokine IL-17A with the low-differentiated adenocarcinoma at malignant new growths of the female reproductive organs in ethnic groups of the population of the Adygheya Republic

Abstract

Distribution of G197/197A of polymorphisms in pro-inflammatory cytokine IL-17A gene is investigated by SNP (single nucleotide polymorphism) method in ethnic groups (Russian and Adyghe) of the population of the Adygheya Republic: donors and patients with different malignant new growths of female reproductive organs. «Normal» G197 allele IL-17A, which is most widespread in populations, is associated with risks of development of an oncopathology ($p=0,04$; $OR=1,5$; $95\%CI$) and tumoral progression ($p=0,008$; $\chi^2=6,05$). Presence of G197 of polymorphism of pro-inflammatory IL-17A can be used for inhabitants of the Adygheya Republic as a marker of system inflammatory reactions of the organism involved in pathogeny of malignant new growths in Russian women.

Keywords: *pro-inflammatory interleukin IL-17A, SNP polymorphisms, frequencies of G197/197A allele IL-17A gene, association with malignant new growths of female reproductive organs.*

Интерлейкин 17А (IL-17А) из семейства IL-17 (IL-17А, IL-17В, С, D, Е, F) впервые охарактеризован как цитотоксический Т-лимфоцит-ассоциированный антиген-8 (CTLA-8) с широким спектром биологических эффектов и участвующий в физиологических и патофизиологических воспалительных процессах [1, 2].

Как ключевой медиатор иммунной системы IL-17А синергичен с основными провоспалительными цитокинами IL-1, TNF-а, IL-6. Он стимулирует продукцию других факторов воспаления: циклооксигеназы-2, хемокинов (IL-8, моноцитарного хемотоксического протеина MCP-1, макрофагального воспалительного протеина MIP-2); гранулоцитарных и гранулоцитарно-макрофагальных колониестимулирующих факторов (G-CSF, GM-CSF); активирует нейтрофилы, макрофаги, Т-лф, фибробласты, эндотелиоциты и др. клетки. IL-17А участвует в гемопоэзе, обладает иммуномодулирующими свойствами. Однако в ряде работ отмечена вовлеченность IL-17 в патогенез аутоиммунных, сердечно-сосудистых и онкологических заболеваний посредством тех же механизмов активации клеточной адгезии, стимулирования пролиферации эндотелиоцитов, мезенхимальных стволовых и опухолевых клеток *in vitro* генерацией активных форм кислорода [1, 2].

Фактором, определяющим двойственную роль IL-17 и других эндогенных биорегуляторов (медиаторов иммунной системы – цитокинов) в развитии системных заболеваний, могут быть полиморфизмы их генов в виде точечных мутаций (SNP – single nucleotide polymorphism) с заменой одного нуклеотида на другой, делеций нуклеотидов

или небольших фрагментов гена, инсерций, многочисленных тандемных повторов частей генов. SNP в экзонах, интронах и в промоторных участках регулируют интенсивность экспрессии и, соответственно, биологические эффекты цитокинов, в том числе IL-17, ген которого локализован в 6-ой хромосоме: 6p12.2 (рис. 1) [3, 4].

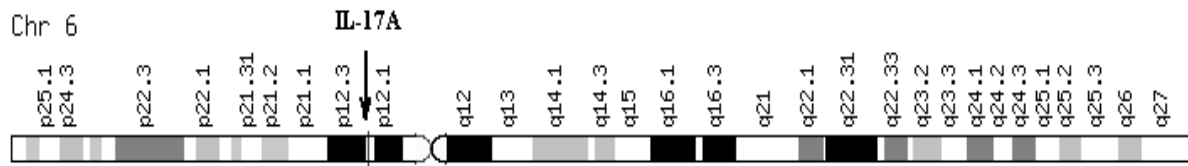


Рис. 1. Локализация гена IL-17A в 6-ой хромосоме (стрелкой указано месторасположение гена)

Ген IL-17A состоит из трех экзонов (с 5'UTR и 3'UTR нетранслируемыми и кодирующими областями) и двух интронов (рис. 2).



Рис. 2. Схема строения гена IL-17A

В гене IL-17A идентифицировано 10 SNP, ассоциированные с заболеваниями: два (-112G>A and -175T>C) в 5' некодирующем регионе, один (+1230G>A) во 2 экзоне. Шесть SNPs [rs8193037 (-121G>A), rs2275913 (-197G>A), rs3819024 (-444A>G), rs9791323 (-525A>C), rs8193036 (-737C>T), rs4711998 (-877A>G)] расположены в 5' кодирующем регионе, один [rs3819025 (+45G>A)] в интроне 1 [5].

Ассоциация этих полиморфизмов гена IL-17A с развитием системных патологических процессов (ревматоидного артрита, сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ), бронхиальной астмы, ЗНО и др.) отмечено в 27 опубликованных за последние пять лет исследованиях. Частотное распределение SNP в 197 позиции промоторной области гена основного провоспалительного цитокина IL-17A (-197G>A исследовано при атеросклерозе, раке желудка и молочной железы для жителей Китая и Японии [6-8].

Shibata T. et al. (2009) установили ассоциацию 197A полиморфизма гена IL-17A с атрофией слизистой желудка (OR, 1,68; 95%CI, 1,06-2,65; $p=0,026$) и развитием интестинального рака желудка (OR, 1,42; 95%CI, 1,09-1,85; $p=0,010$). Гомозиготный A/A генотип IL-17A/-197 достоверно чаще регистрируется у больных раком желудка (OR, 3,02; 95%CI, 1,86-4,91; $p<0,0001$) [9]. По данным Wang L. et al. (2012) из 8 полиморфизмов гена IL-17A и IL-17F у жительниц Китая со злокачественными новообразованиями молочной железы достоверно ($p=0,0029$) ассоциирована 197A аллель гена IL-17A. Частоты G/A аллелей IL-17A в группах доноров и больных с РМЖ у китайских женщин составляли соответственно 0,640:0,360 и 0,574 : 0,426 [10].

В международных базах данных нет сведений о распределении G197 и 197A аллелей IL-17A в зависимости от гистотипов, стадий опухолевой прогрессии в развитии

ЗНО женских репродуктивных органов [5, 6].

Исследования по ассоциации полиморфизмов гена IL-17 с наиболее распространенными злокачественными новообразованиями, сердечно-сосудистыми заболеваниями в России не проводились.

Цель работы: исследование распределения генотипов и G197/197A аллелей гена IL-17A в этнических группах населения Республики Адыгея и их ассоциированности со злокачественными новообразованиями женских репродуктивных органов, гистотипами солидных новообразований, стадиями опухолевой прогрессии.

Материалы и методы

Распределение G197/197A полиморфизмов гена IL-17A исследовано SNP (single nucleotide polymorphism)-методом с использованием коммерческих тест-систем НПФ «Литех» на базе иммуногенетической лаборатории Адыгейского государственного университета (г. Майкоп, Республика Адыгея). *Статистически значимые различия* ($p < 0,05$) вычислены с использованием непараметрического метода Фишера, χ^2 (кхи-квадрата) и расчетом отношения шансов (odds-ratio или OR), 95% доверительного интервала (95%CI).

Контингент обследованных лиц. В проспективное исследование включено 171 человек (адыгов и русских) в возрасте от 17 до 63 лет, проживающих в Республике Адыгея, в том числе 47 доноров, 124 больных с онкопатологией ($n=65$) и ССЗ ($n=59$). Доноры подобраны эмпирически, без клинических проявлений и наследственной отягощенности по онкопатологии, ССЗ.

У онкологических больных радиологического отделения Адыгейского республиканского клинического онкологического диспансера города Майкопа со злокачественными новообразованиями женских репродуктивных органов: молочной железы (РМЖ, $n=50$), яичников (РЯ, $n=2$), тела и шейки матки (РТМ, $n=7$; РШМ $n=6$), I–IV стадии, гистологически верифицирована аденокарцинома 1–3 степени злокачественности ($n=56$), плоскоклеточный рак ($n=4$) и другие гистотипы ($n=5$). В стационарных условиях онкологические больные подвергались пред- и послеоперационному курсу дистанционной гамма-терапии (ДГТ), паллиативному и противорецидивному курсу ПХТ.

Больные кардиологического отделения Адыгейской республиканской клинической больницы находились на стационарном лечении с диагнозами ГБ, ИБС, ИМ, стенозами магистральных сосудов и другими осложнениями коронарного, мультифокального и периферического атеросклероза.

Результаты исследований

1. Сравнение распределения генотипов и G197/197A полиморфизмов гена основного провоспалительного цитокина IL-17A у доноров и онкологических больных

Для исследования роли полиморфного варианта G197A гена IL-17A в патогенезе солидных новообразований проведен сравнительный анализ частот генотипов/аллелей у доноров и больных с онкопатологией (табл. 1).

В группах доноров и онкологических больных выявлены статистически значимые различия ($p < 0,05$) по частоте G197 аллеля гена IL-17A (табл. 1), что при $OR > 1$ сопряжено с высоким риском развития ЗНО женских репродуктивных органов. Следовательно, у жительниц Республики Адыгея в отличие от китайских женщин (Wang L. et al.,

2012) со ЗНО женских репродуктивных органов ассоциирована не 197A, а G197-аллель гена IL-17A [10].

Таблица 1

Распределение генотипов и G197/197A аллелей гена IL-17A в общих выборках доноров и онкологических больных

Группы	Генотипы			Аллели		p^*	OR (95%CI)
	G197G	G197A	A197A	G197	197A		
Доноры (n=47)	31,9%	42,6%	25,5%	0,532	0,468	0,04	1,5 (0,88-2,58)
Онкологические больные (n=65)	40,0%	46,1%	13,9%	0,631	0,369		

Примечание: p^* – достоверность различий между донорами и онкологическими больными.

Распределение аллелей и генотипов по исследуемому локусу гена IL-17A в этнических группах доноров и больных с солидными новообразованиями женских репродуктивных органов представлено в таблице 2.

Таблица 2

Частоты генотипов и G197/197A аллелей гена IL-17A в популяции русских женщин с ЗНО женских репродуктивных органов

Русские	Генотипы			Аллели		χ^2	p^*	OR (95%CI)
	G197G	G197A	A197A	G197	197A			
Доноры (n=22)	22,7%	54,6%	22,7%	0,500	0,500	4,37	0,017	2,15 (1,05-4,42)
Онкологические больные (n=52)	48,1%	40,4%	11,5%	0,683	0,317			

Примечание: p^* – достоверность различий между донорами и больными в популяции русских женщин.

Анализ распределения частоты G197 аллеля выявил достоверные различия ($p=0,017$; $OR>1$) между донорами и больными только в группе русских женщин. Для немногочисленной выборки этнических адыгов на данном этапе исследования не выявлена ассоциированность G197 полиморфизма гена IL-17A с онкопатологией ($p>0,05$). Таким образом G-аллель гена основного провоспалительного цитокина ассоциирована с ЗНО женских репродуктивных органов в основном у русских женщин.

2. Распределение генотипов и G197/197A полиморфизмов гена IL-17A у онкологических больных в зависимости от опухолевой прогрессии и гистотипов аденокарциномы

В зависимости от опухолевой прогрессии по системе TNM [UICC, 2002]: размеров опухоли, вовлечения регионарных лимфатических узлов, метастазов в отдаленные органы, – больные с солидными новообразованиями объединены в группы с ранними (I и II) и поздними (III-IV) стадиями [10]. Распределение частот G197/197A полиморфизмов

гена IL-17A в зависимости от опухолевой прогрессии и степени дифференцировки аденокарциномы представлено в таблицах 3 и 4.

Статистически достоверные различия ($p=0,008$; $\chi^2=6,05$) по частоте G197 аллеля выявлены у больных женщин с распространенными (III-IV) стадиями рака молочной железы, яичников тела и шейки матки (табл. 3). В соответствии с полученными данными G197 аллель является прогностически неблагоприятным фактором при неоплазиях женских репродуктивных органов.

Таблица 3

Соотношение аллелей IL-17A G197A в зависимости от стадии по системе TNM (UICC, 2002) у больных со ЗНО женских репродуктивных органов

Стадия (TNM)	Частоты аллелей		χ^2	p^*
	G197	197A		
T ₁₋₂ N ₀ M ₀	0,579	0,421	6,05	0,008
T ₃₋₄ N ₀₋₁₋₂ M ₀₋₁	0,792	0,208		

Примечание: p^* – уровень значимости различий по точному критерию Фишера.

В зависимости от степени дифференцировки аденокарциномы выявлены достоверные различия в частотном распределении G/A аллелей (табл. 4). «Нормальный» G вариант ассоциирован с прогностически наиболее неблагоприятным гистотипом – низкодифференцированной аденокарциномой.

Таблица 4

Частоты G197/197A аллелей IL-17A в зависимости от степени дифференцировки аденокарциномы

Степень дифференцировки аденокарциномы	Частоты аллелей		χ^2	p^*
	G197	197A		
Высоко- и умеренно дифференцированная	0,605	0,390	3,83	0,031
Низкодифференцированная	0,808	0,192		

Примечание: p^* – достоверность различий по точному критерию Фишера.

Так как системные воспалительные реакции вовлечены в патогенез многих заболеваний, проанализировано частотное распределение аллелей G/A IL-17A у больных с другими нозологиями и, в частности, с ССЗ: ГБ, ИБС, ИМ и другими осложнениями атеросклероза. Достоверных различий между обследованными группами больных с онкопатологией и с ССЗ не выявлено ($p=0,07$). Однако, частоты генотипов и аллелей гена IL-17A G197A в общих выборках больных и доноров достоверно отличаются (соответственно $p=0,008$ и $p=0,04$) (табл. 5).

Достоверное ($p=0,008$; $\chi^2=5,29$) повышение G197 аллели подтверждает вовлеченность системных воспалительных реакций в патогенез таких заболеваний как ССЗ и неоплазии.

Распределение генотипов и G197/197A аллелей гена IL-17A
в общих выборках доноров и онкологических больных

	Генотипы			Аллели		χ^2	<i>p</i>	OR (95%CI)
	G197G	G197A	A197A	G197	197A			
Доноры (<i>n</i> =47)	31,9%	42,6%	25,5%	0,532	0,468	2,21	0,04*	1,5 (0,88-2,58)
Онкологиче- ские больные (<i>n</i> =65)	40,0%	46,1%	13,9%	0,631	0,369			
Больные с ССЗ (<i>n</i> =59)	51,0%	35,5%	13,5%	0,687	0,313	5,29	0,008**	1,9 (1,10-3,38)

Примечание: *p** – достоверность различий по частоте аллелей у онкологических больных и доноров;
*p*** – достоверность различий у больных с ССЗ и доноров.

Выводы

1. G аллель гена IL-17A у жителей РА является неспецифическим маркером, ассоциированным с риском развития системных патологических процессов при злокачественных новообразованиях женских репродуктивных органов и сердечно-сосудистых заболеваниях.

2. Низкодифференцированная аденокарцинома и III–IV стадии опухолевой прогрессии при раке молочной железы, яичников, тела и шейки матки достоверно ассоциированы с повышенной частотой G197 аллеля IL-17A.

Примечания:

1. Afzali B. The role of T helper 17 (Th17) and regulatory T cells (Treg) in human organ transplantation and autoimmune disease / B. Afzali [et al.] // Clinical and Experimental Immunology. 2007. No. 148. P. 32-46.
2. Iyoda M. IL-17A and IL-17F stimulate chemokines via MAPK pathways (ERK1/2 and p38 but not JNK) in mouse cultured mesangial cells: synergy with TNF- α and IL-1 β / M. Iyoda [et al.] // Am. J. Physiol. Renal. Physiol. 2010. No. 3. P. 779-787.
3. [Электронный ресурс]. URL: <http://atlasgeneticsoncology.org/>
4. Кологривова И.В. Молекулярные аспекты функционирования Т-хелперов 17-го типа / И.В. Кологривова [и др.] // Бюллетень си-

References:

1. Afzali B. The role of T helper 17 (Th17) and regulatory T cells (Treg) in human organ transplantation and autoimmune disease / B. Afzali [et al.] // Clinical and Experimental Immunology. 2007. No. 148. P. 32-46.
2. Iyoda M. IL-17A and IL-17F stimulate chemokines via MAPK pathways (ERK1/2 and p38 but not JNK) in mouse cultured mesangial cells: synergy with TNF- α and IL-1 β / M. Iyoda [et al.] // Am. J. Physiol. Renal. Physiol. 2010. No. 3. P. 779-787.
3. [Electronic resource]. URL: <http://atlasgeneticsoncology.org/>
4. Kologrivova I.V. Molecular aspects of functioning of T-helpers of the 17th type / I.V. Kologrivova [etc.] // Bulletin of the Siberian

-
- бирской медицины. 2011. № 4. С. 93-99.
5. [Электронный ресурс]. URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>
6. [Электронный ресурс]. URL: <http://www.hugenavigator.net/HuGENavigator/>
7. Wu X. Association between polymorphisms in interleukin-17A and interleukin-17F genes and risks of gastric cancer / X. Wu [et al.] // *International Journal of Cancer*. 2010. No. 127. P. 86-92.
8. Zhang X. Interleukin-17A gene variants and risk of coronary artery disease: a large angiography-based study / X.Zhang [et al.] // *Clinica Chimica Acta*. 2011. No. 412. P. 327-331.
9. Shibata T. Genetic polymorphism of interleukin-17A and -17F genes in gastric carcinogenesis / T.Shibata [et al.] // *Hum Immunol*. 2009. No. 70 (7). P. 547-551.
10. Wang L. Association analysis of IL-17A and IL-17F polymorphisms in Chinese Han women with breast cancer / L. Wang [et al.] // www.plosone.org. 2012. P. 1-7.
- medicine. 2011. No. 4. P. 93-99.
5. [Electronic resource]. URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>
6. [Electronic resource]. URL: <http://www.hugenavigator.net/HuGENavigator/>
7. Wu X. Association between polymorphisms in interleukin-17A and interleukin-17F genes and risks of gastric cancer / X. Wu [et al.] // *International Journal of Cancer*. 2010. No. 127. P. 86-92.
8. Zhang X. Interleukin-17A gene variants and risk of coronary artery disease: a large angiography-based study / X.Zhang [et al.] // *Clinica Chimica Acta*. 2011. No. 412. P. 327-331.
9. Shibata T. Genetic polymorphism of interleukin-17A and -17F genes in gastric carcinogenesis / T.Shibata [et al.] // *Hum Immunol*. 2009. No. 70 (7). P. 547-551.
10. Wang L. Association analysis of IL-17A and IL-17F polymorphisms in Chinese Han women with breast cancer / L. Wang [et al.] // www.plosone.org. 2012. P. 1-7.