

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

**Анохина Е.Н.**

*Аспирант кафедры ботаники факультета естествознания Адыгейского государственного университета, Майкоп, тел. (8772) 59-38-02, e-mail: lab\_genetic@mail.ru*

**Тугуз А.Р.**

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

**Руденко К.А.**

*Аспирант кафедры ботаники факультета естествознания Адыгейского государственного университета, Майкоп, тел. (8772) 59-38-02, e-mail: lab\_genetic@mail.ru*

**Муженя Д.В.**

*Кандидат биологических наук, инженер-генетик иммуногенетической лаборатории НИИ комплексных проблем Адыгейского государственного университета, Майкоп, тел. (8772) 59-38-02, e-mail: lab\_genetic@mail.ru*

**Ассоциация полиморфизмов генов IL-4, IL-2 со злокачественными новообразованиями женских репродуктивных органов**  
(Рецензирована)

**Аннотация**

*Частоты SNP (single nucleotide polymorphisms) промоторных регионов генов цитокинов IL-4 (C589T; rs2243250) и IL-2 (T330G; rs2069762) типированы при злокачественных новообразованиях женских репродуктивных органов (молочной железы, тела и шейки матки) с использованием аллель-специфичных праймеров (НПО Литех, г. Москва) у жителей Республики Адыгея. Межэтнических различий по распределению аллелей и генотипов IL-2 и IL-4 у адыгов (n=39) и русских (n=65) не выявлено. У онкологических больных в отличие от доноров достоверно ( $P \leq 0,05$ ;  $\chi^2 = 10,96$ ) повышены частоты 589T аллелей и TT генотипов основного противовоспалительного цитокина IL-4. В зависимости от гистотипов и органной локализации новообразований женских репродуктивных органов статистически значимых отличий по распределению SNP генов IL-2 и IL-4 не установлено. С опухолевой прогрессией ассоциирована 589T аллель IL-4. Носительство 589T (IL-4) и T330 (IL-2) аллелей сопряжено с быстрым прогрессированием неоплазий женских репродуктивных органов.*

**Ключевые слова:** полиморфизмы генов IL-4, IL-2, ассоциированность со злокачественными новообразованиями женских репродуктивных органов.

**Anokhina E.N.**

*Post-graduate Student of Botany Department of Natural Science Faculty, Adyghe State University, Maikop, ph. (8772) 59-38-02, e-mail: lab\_genetic@mail.ru*

**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, Maikop, 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, Maikop, ph. (8772) 59-38-02, e-mail: lab\_genetic@mail.ru*

**Muzhenya D.V.**

*Candidate of Biology, Engineer-Geneticist of Immunogenetic Laboratory of Research Institute of Complex Problems, Adyghe State University, Maikop, ph. (8772) 59-38-02, e-mail: lab\_genetic@mail.ru*

**Association of IL-4 and IL-2 gene polymorphisms with the malignant growths of female reproductive organs**

**Abstract**

*Frequencies of single nucleotide polymorphisms (SNP) in the promotor regions of the IL-4 (C589T; rs2243250) and IL-2 (T330G; rs2069762) cytokine genes are typified for malignant growths of female reproductive organs (a mammary gland, a body and a uterus neck) using an allele-specific primers (NPO Litex, Moscow)*

at inhabitants of the Adyghea Republic. No interethnic distinctions in distribution of alleles and IL-2 and IL-4 genotypes at the Adyghes ( $n=39$ ) and Russians ( $n=65$ ) were detected. The oncological patients unlike donors show the authentically ( $P \leq 0,05$ ;  $\chi^2=10,96$ ) increased frequencies of 589T of alleles and TT of genotypes of the main anti-inflammatory IL-4 cytokine. Depending on histotypes and organ localization of new growths of female reproductive organs, no statistically significant differences in distribution of SNP of IL-2 and IL-4 genes were found. 589T IL-4 allele is associated with a tumoral progression. The availability of 589T (IL-4) and T330 (IL-2) of alleles is interfaced to fast progressing of neoplasia of female reproductive organs.

**Keywords:** IL-4 and IL-2 gene polymorphisms, association with malignant growths of female reproductive organs.

## Введение

Плейотропность и риданденс (избыточность) медиаторов иммунной системы обуславливают их биологические эффекты на различные типы клеток и тканей. Про- и противовоспалительные цитокины, регулирующие системные воспалительные реакции организма, могут быть вовлечены в патофизиологические процессы, включая и неопластические [1-3]. В ряде работ представлены весьма противоречивые сведения о роли цитокинов при некоторых злокачественных новообразованиях (ЗНО). По данным Gooch J.L. et al. (1998), противовоспалительный IL-4 ингибирует опухолевый рост при раке молочной железы (РМЖ) посредством активации макрофагов и индукции апоптоза клеток апокринного эпителия. Участие IL-4 в опухолевой трансформации некоторых линий клеток отмечено в исследованиях Nagai S. et al. (2000) при РМЖ [4-5]. Неоднозначна роль и IL-2 (фактора роста Т-лимфоцитов), проявляющего противоопухолевые свойства, что не исключает его участия в патогенезе новообразований [6]. Изменение соотношения концентраций IL-4 и IL-2 в сыворотке крови отмечено при некоторых злокачественных новообразованиях [4, 7, 8]. Уровни продукции и, соответственно, биологические эффекты медиаторов иммунной системы регулируются полиморфными вариантами промоторных регионов соответствующих генов [1].

Данные по распределению частот T330G (IL-2), C590T или C589T (IL-4) SNP в мировых популяциях, их роли в развитии ЗНО женских репродуктивных органов немногочисленны [2]. Показана ассоциация ( $P=0,0021$ ) гетерозигот T330G и гомозигот G330G ( $P<0,0001$ ) IL-2 с РМЖ у китайских женщин [9]. Для соответствующих SNP IL-4 не отмечено статистически значимых различий между больными РМЖ и донорами [10].

*Цель исследования:* анализ распределения аллельных вариантов и генотипов IL-4 (C589T) и IL-2 (T330G) в этнических группах населения Республики Адыгея (РА), их ассоциированность с риском развития, гистотипами, распространенностью и прогнозом течения опухолевого процесса при ЗНО женских репродуктивных органов.

## Материалы и методы

Распределение полиморфизмов генов IL-2 и IL-4 исследовано на базе иммуногенетической лаборатории Адыгейского государственного университета (г. Майкоп, РА) SNP-методом с использованием коммерческих тест-систем НПФ «Литех» и тестированием качества геномной ДНК на спектрофотометре «NanoDrop 2000c» (Termo Scientific, USA). Всего обследовано 104 женщин двух этнических групп (адыгов и русских), проживающих в РА, в том числе 51 доноров, 53 онкологических больных. Доноры в возрасте 17-63 лет подобраны эмпирически, без клинических проявлений и наследственной отягощенности по онкопатологии. У больных со ЗНО женских репродуктивных органов I-IV стадии РМЖ ( $n=37$ ), тела и шейки матки (РТМ,  $n=6$ ; РШМ  $n=10$ ), гистологически верифицирована аденокарцинома 1-3 степени злокачественности ( $n=37$ ), плоскоклеточный рак ( $n=11$ ) и другие гистотипы ( $n=5$ ). В зависимости от стадии опухолевого процесса больные распределены на две группы: с медленным (I-IIa) и быстрым (IIb-IV) прогрессированием основного заболевания. Статистически значимые

различия ( $P < 0,05$ ) вычислены с использованием непараметрического метода Фишера,  $\chi^2$  (хи-квадрат) и расчетом отношения шансов (odds-ratio или OR), доверительного интервала (CI).

### Результаты и обсуждение

Для установления ассоциации аллельных вариантов генов IL-4 (C589/589T) и IL-2 (T330/330G) со злокачественными новообразованиями женских репродуктивных органов проанализировано распределение SNP в общих выборках доноров и онкологических больных (табл. 1).

Таблица 1

Распределение генотипов и C589/589T аллелей гена IL-4 и T330/330G аллелей гена IL-2 в общих выборках доноров и онкологических больных

Ген	Аллели/генотипы	Больные	Доноры	<i>P</i>	OR (95% CI)
IL-4	C589	0,654	0,853	0,0009*	0,33 (0,16-0,64)
	589T	0,346	0,147		3,07 (1,55-6,07)
	C589C	23 (44,2%)	37 (72,5%)	0,007*	0,30 (0,13-0,68)
	C589T	22 (42,3%)	13 (25,5%)		2,14 (0,93-4,95)
	T589T	7 (13,5%)	1 (2,0%)		7,78 (0,92-65,69)
IL-2	T330	0,651	0,608	0,52**	1,2 (0,68-2,11)
	330G	0,349	0,392		0,83 (0,47-1,46)
	T330T	23 (43,4%)	17 (33,3%)	0,49**	1,53 (0,69-3,40)
	T330G	23 (43,4%)	28 (54,9%)		0,63 (0,29-1,37)
	G330G	7 (13,2%)	6 (11,8%)		1,14 (0,36-3,66)

Примечание: *P* – достоверность различий между донорами и онкологическими больными:

\* – по IL-4; \*\* – по IL-2

По сравнению с донорами у онкологических больных достоверно повышена частота T589T генотипа ( $P=0,007$ ) и 589T аллеля ( $P=0,0009$ ) противовоспалительного IL-4. Статистически значимых отличий для SNP (rs2069762) IL-2 в обследованных группах не установлено.

Учитывая этногенетические особенности распределения полиморфизмов генов в мировых популяциях, нами определены частоты исследуемых SNP в норме и при онкопатологии для этнических групп адыгов и русских, проживающих в РА (таблица 2).

Статистически значимое повышение частоты 589T аллеля IL-4 при ЗНО женских репродуктивных органов у русских и адыгов (соответственно  $P=0,02$  и  $P=0,03$ ) позволяет рассматривать 589T полиморфизм IL-4 как ассоциированный с РМЖ, РШМ и РТМ. По T330G SNP гена IL-2 какой-либо достоверной связи с неоплазиями женских репродуктивных органов в обследованных этнических группах не установлено.

Ассоциация полиморфизмов гена IL-4, IL-2 с опухолевой прогрессией проанализирована в зависимости от вовлеченности регионарных лимфатических узлов в опухолевый процесс и стадии заболевания по международной системе TNM (UICC, 2002) (табл. 3, 4).

Метастазирование в регионарные лимфатические узлы сопровождается достоверным ( $P=0,03$ ) повышением частоты 589T аллеля противовоспалительного IL-4 и T330 полиморфизма IL-2, что подтверждает их ассоциированность с опухолевой прогрессией и неблагоприятным фактором прогноза течения РМЖ (табл. 3).

Между степенью дифференцировки аденокарциномы и частотами генотипов/аллелей генов IL-4 и IL-2 нет зависимости ( $P > 0,05$ ; данные не представлены). При быстром и медленном прогрессировании ЗНО установлены статистически значимые

различия сочетаний SNP IL-4 (C589T; rs2243250) и IL-2 (T330G; rs2069762) (табл. 4).

Таблица 2

Частоты генотипов и аллелей SNP генов IL-4 и IL-2 в этнических группах здоровых и больных женщин

Ген	Генотипы/ аллели	Русские		P*	Адыги		P**
		больные	контроль		больные	контроль	
IL-4	C589C	16 (41,0%)	17 (68,0%)	0,08	7 (50,0%)	20 (80,0%)	0,10
	C589T	17 (43,6%)	7 (28,0%)		6 (42,9%)	5 (20,0%)	
	T589T	6 (15,4%)	1 (4,0%)		1 (7,1%)	0 (0%)	
	C589	0,628	0,820	0,02	0,714	0,900	0,03
	589T	0,372	0,180		0,256	0,100	
IL-2	T330T	20 (48,8%)	8 (32,0%)	0,54	3 (25,0%)	9 (34,6%)	0,63
	T330G	17 (41,5%)	14 (56,0%)		6 (50,0%)	14 (53,9%)	
	G330G	4 (9,7%)	3 (12,0%)		3 (25,0%)	3 (11,5%)	
	T330	0,695	0,600	0,34	0,500	0,615	0,45
	330G	0,305	0,400		0,500	0,385	

Примечание: P – достоверность различий между: \* – русскими; \*\* – адыгами

Таблица 3

Соотношения генотипов и полиморфизмов генов IL-4 и IL-2 при метастазировании опухолевого процесса в регионарные лимфатические узлы

Ген	Генотипы/аллели	T <sub>1-4</sub> N <sub>0</sub> M <sub>0</sub>	T <sub>1-4</sub> N <sub>1-3</sub> M <sub>0</sub>	P	$\chi^2$
IL-4	C589C	14 (56,0%)	9 (33,3%)	0,09*	4,77
	C589T	10 (40,0%)	12 (44,4%)		
	T589T	1 (4,0%)	6 (22,2%)		
	C589	0,760	0,556	0,03**	4,79
	589T	0,240	0,444		
IL-2	T330T	9 (32,2%)	14 (56,0%)	0,09*	4,90
	T330G	13 (46,4%)	10 (40,0%)		
	G330G	6 (21,4%)	1 (4,0%)		
	T330	0,554	0,760	0,03**	4,95
	330G	0,446	0,240		

Примечание: P – достоверность различий между: \* – генотипами; \*\* – аллелями

Таблица 4

Сочетание SNP генов IL-2 и IL-4 (T330/589T) при медленно и быстро прогрессирующих неоплазиях

SNP	Быстрое прогрессирование	Медленное прогрессирование	$\chi^2$	P*
T330 / 589T	13 (52,0%)	12 (48,0%)	3,71	0,05
330G / C589	9 (33,3%)	18 (66,7%)		

Примечание: P\* – достоверность различий по точному критерию Фишера

Наследование 330G (IL-2) и C589 (IL-4) аллелей наиболее характерно для медленно развивающихся неоплазий. Быстрое прогрессирование заболевания независимо от локализации опухолей достоверно ассоциировано с двумя полиморфными вариантами: T330 (IL-2) и 589T (IL-4). Прогностически неблагоприятным фактором раннего метастазирования является сочетание T330 (IL-2) и 589T (IL-4) аллелей генов цитокинов.

### Выводы

1. 589T аллель основного противовоспалительного IL-4 ассоциирована с неоплазиями женских репродуктивных органов, метастазированием в регионарные лимфатические узлы.

2. Носительство аллельных вариантов 589T (IL-4) и T330 (IL-2) сопряжено с быстрым прогрессированием злокачественных новообразований молочной железы, тела и шейки матки.

### Примечания:

1. Cytokines in cancer immunity and immunotherapy / M.J. Smyth, E. Cretney, M.H. Kershaw, Y. Hayakawa // Immunological Reviews. 2004. No. 202. P. 275-293.
2. IL-4 inhibits IL-2-mediated induction of human lymphokine-activated killer cells, but not the generation of antigen-specific cytotoxic T-lymphocytes in mixed leukocyte cultures / H. Spits, H. Yssel, X. Paliard, R. Kastelein, C. Figdor // Journal of Immunology. 1988. No. 141 (1). P. 29-36.
3. Callard R.E. Immunoregulation by interleukin-4 in man // British Journal of Haematology. 1991. No. 78 (3). P. 293-299.
4. Gooch J.L., Lee A.V., Yee D. Interleukin 4 inhibits growth and induces apoptosis in human breast cancer cells // Cancer Research. 1998. No. 58. P. 4199-4205.
5. Nagai S., Toi M. Interleukin-4 and breast cancer // Breast Cancer. 2000. No. 7 (3). P. 181-186.
6. Waldmann T. The IL-2/IL-2 receptor system: a target for rational immune intervention // Immunology Today. 1993. No. 14. P. 264-270.
7. Association of the interleukin-2 polymorphisms with interleukin-2 serum levels and risk of nasopharyngeal carcinoma / Y.S. Wei, Y. Lan, L. Zhang, J.C. Wang // DNA and Cell Biology. 2010. No. 29 (7). P. 363-368.
8. Forones N.M., Mandowsky S.V., Lourenço L.G. Serum levels of interleukin-2 and tumor necrosis factor-alpha correlate to tumor progression in gastric cancer // Hepatogastroenterology. 2001. No. 48 (40). P. 1199-11201.
9. Hu X.B., Ouyang L.Z., Tang L.L. Interleukin-2 gene polymorphisms and prognosis of breast cancer // Genetic Testing and Molecular Biomarkers. 2013. No. 17 (6). P. 453-457.
10. Breast cancer risk associated with polymorphisms of IL-1RN and IL-4 gene in Indian women / R. Konwar, P. Chaudhary, S. Kumar [et al.] // Oncology Research. 2009. No. 17 (8). P. 367-372.

### References:

1. Cytokines in cancer immunity and immunotherapy / M.J. Smyth, E. Cretney, M.H. Kershaw, Y. Hayakawa // Immunological Reviews. 2004. No. 202. P. 275-293.
2. IL-4 inhibits IL-2-mediated induction of human lymphokine-activated killer cells, but not the generation of antigen-specific cytotoxic T-lymphocytes in mixed leukocyte cultures / H. Spits, H. Yssel, X. Paliard, R. Kastelein, C. Figdor // Journal of Immunology. 1988. No. 141 (1). P. 29-36.
3. Callard R.E. Immunoregulation by interleukin-4 in man // British Journal of Haematology. 1991. No. 78 (3). P. 293-299.
4. Gooch J.L., Lee A.V., Yee D. Interleukin 4 inhibits growth and induces apoptosis in human breast cancer cells // Cancer Research. 1998. No. 58. P. 4199-4205.
5. Nagai S., Toi M. Interleukin-4 and breast cancer // Breast Cancer. 2000. No. 7 (3). P. 181-186.
6. Waldmann T. The IL-2/IL-2 receptor system: a target for rational immune intervention // Immunology Today. 1993. No. 14. P. 264-270.
7. Association of the interleukin-2 polymorphisms with interleukin-2 serum levels and risk of nasopharyngeal carcinoma / Y.S. Wei, Y. Lan, L. Zhang, J.C. Wang // DNA and Cell Biology. 2010. No. 29 (7). P. 363-368.
8. Forones N.M., Mandowsky S.V., Lourenço L.G. Serum levels of interleukin-2 and tumor necrosis factor-alpha correlate to tumor progression in gastric cancer // Hepatogastroenterology. 2001. No. 48 (40). P. 1199-11201.
9. Hu X.B., Ouyang L.Z., Tang L.L. Interleukin-2 gene polymorphisms and prognosis of breast cancer // Genetic Testing and Molecular Biomarkers. 2013. No. 17 (6). P. 453-457.
10. Breast cancer risk associated with polymorphisms of IL-1RN and IL-4 gene in Indian women / R. Konwar, P. Chaudhary, S. Kumar [et al.] // Oncology Research. 2009. No. 17 (8). P. 367-372.