

## ИЗУЧЕНИЕ АССОЦИАЦИЙ ПОЛИМОРФНЫХ МАРКЕРОВ ГЕНОВ ИНТЕРЛЕЙКИНОВ С ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИ ЗНАЧИМЫМИ КАЧЕСТВЕННЫМИ ПРИЗНАКАМИ ХРОНИЧЕСКОГО ЛИМФОЛЕЙКОЗА

**С.С. СИРОТИНА**

*Белгородский  
государственный  
национальный  
исследовательский  
университет*

*e-mail: sirotina@bsu.edu.ru*

В статье изложены результаты изучения ассоциаций полиморфных маркеров генов интерлейкинов с патогенетически значимыми качественными признаками хронического лимфолейкоза при манифестации заболевания. Установлены значимые взаимосвязи генетических полиморфизмов (-889С/Т IL-1A, -584С/Т IL-4, -703С/Т IL-5) с развитием осложнений и симптомов интоксикации у больных в дебюте заболевания.

Ключевые слова: гены интерлейкинов, хронический лимфолейкоз, качественные признаки хронического лимфолейкоза.

Проблема лейкозов является одной из важнейших в современной медицине. В мире наблюдается непрерывный рост заболеваемости лейкозами. При этом одной из наиболее распространенных форм лейкоза является хронический лимфолейкоз (ХЛЛ) [1, 2]. Хронический лимфолейкоз — опухолевое заболевание лимфатической ткани, в основе развития которого лежит моноклоновая пролиферация патологических лимфоидных элементов. Ежегодная заболеваемость ХЛЛ составляет 2,5-3% на 100 тыс. населения, а для лиц старше 60 лет — до 10% на 100 тысяч населения [3, 4].

Хронический лимфолейкоз является медленно текущим заболеванием, длительность которого измеряется годами и обычно считается неизлечимой с помощью современной терапии [5]. Течение хронического лимфолейкоза характеризуется развитием различных осложнений: инфекционных (у 85% пациентов), цитопенических — анемия (15–30%) и тромбоцитопения (5–15%), снижающих продолжительность жизни больных [6].

Среди генов-кандидатов, регулирующих, преимущественно, процессы неспецифической защиты организма, гемопоэза, апоптоза и опухолевой прогрессии, важное значение для хронического лимфолейкоза имеют гены интерлейкинов [7]. Интерлейкины — полипотентные вещества белковой природы, обладающие множественными биологическими эффектами. Являясь начальным звеном активации иммунного ответа, они определяют эффективность и тип иммунного реагирования, принимают непосредственное участие в регуляции апоптотических и аутоиммунных процессов [8, 9].

Цель работы — выявить взаимосвязи полиморфных маркеров генов интерлейкинов с качественными патогенетически значимыми признаками хронического лимфолейкоза при манифестации заболевания.

Анализ полиморфизмов генов интерлейкинов проводили на материале двух выборок: 206 больных хроническим лимфолейкозом (114 мужчин и 92 женщины) и 307 человек популяционного контроля (162 мужчины и 145 женщин) в возрасте от до 79 лет ( $p < 0,05$ ). Всем больным ХЛЛ и индивидуумам популяционного контроля проводилось типирование десяти генов интерлейкинов: интерлейкина 1В (-511С/Т IL-1В), интерлейкина 1А (-889С/Т IL-1), интерлейкина 4 (-584С/Т IL-4), интерлейкина 5 (-703С/Т IL-5), интерлейкина 6 (-174G/С IL-6), интерлейкина 8 (-251А/Т IL-8), интерлейкина 9 (Т113М IL-9), интерлейкина 10 (-592С/А IL-10) антагониста рецептора интерлейкина 1 (VNTR IL-1Ra). Исследование полиморфизмов проводили с помощью методов полимеразной цепной реакции с использованием стандартных олигонуклеотидных праймеров с последующим анализом полиморфизма гена методом детекции TaqMan зондов с помощью real-time полимеразной цепной реакции (ПЦР). Расчет фенотипических и генных частот проводили стандартными методами. Для сравнения частот аллелей и генотипов между различными группами использовали критерий  $\chi^2$  с

поправкой Йетса на непрерывность. Вычисления производили в таблицах сопряженности 2x2 [10].

Выборка больных с известным дебютом заболевания составила 201 человек. Установлено, что среди 201 больных различные осложнения при возникновении заболевания были зарегистрированы у 51 пациентов (25,36%), в том числе цитопенические осложнения (анемия, тромбоцитопения) наблюдались у 29 больных (14,42%), септические осложнения – у 7 пациентов (3,48%) и сочетание осложнений было выявлено у индивидуумов (7,46%).

При изучении распределения полиморфных генетических маркеров интерлейкинов среди больных ХЛЛ в зависимости от наличия осложнений в дебюте заболевания, а также в контрольной группе выявлены статистически достоверные различия в частотах генотипов и аллелей по локусу -703С/Т IL-5. Так, установлена наибольшая концентрация аллеля -703Т IL-5 (37,25%) среди больных ХЛЛ, имеющих осложнения в дебюте заболевания в сравнении как с популяционным контролем (26,41%,  $\chi^2=4,56$ ,  $p=0,03$ ,  $OR=1,65$ , 95%CI 1,04-2,62), так и с пациентами без осложнений в дебюте заболевания (29,14%,  $\chi^2=1,92$ ,  $p=0,16$ ,) (рис. 1).

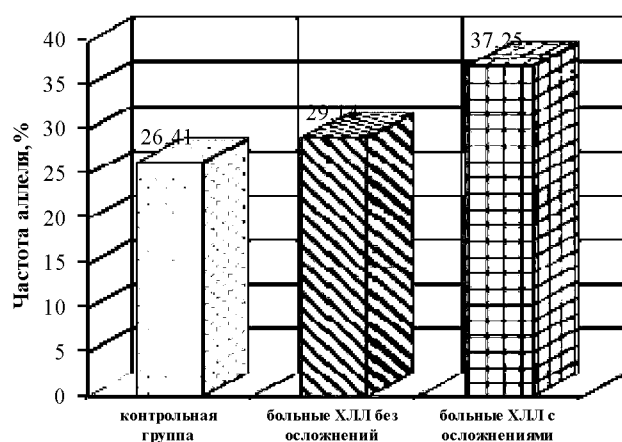


Рис. 1. Частота аллеля -703Т IL-5 среди больных ХЛЛ в зависимости от наличия осложнений в дебюте заболевания и в контрольной группе, %

Наряду с этим выявлена низкая концентрация генотипа -703СС IL-5 (35,29%) (рис. 2) в группе больных ХЛЛ, имеющих осложнения в дебюте заболевания в сравнении как с контрольной группой (54,48%,  $\chi^2=5,68$ ,  $p=0,01$ ,  $p_{cor}=0,03$ ,  $OR=0,45$ , 95%CI 0,23-0,87), так и с группой пациентов без осложнений в дебюте заболевания (50,35%,  $\chi^2=2,82$ ,  $p=0,09$ ).

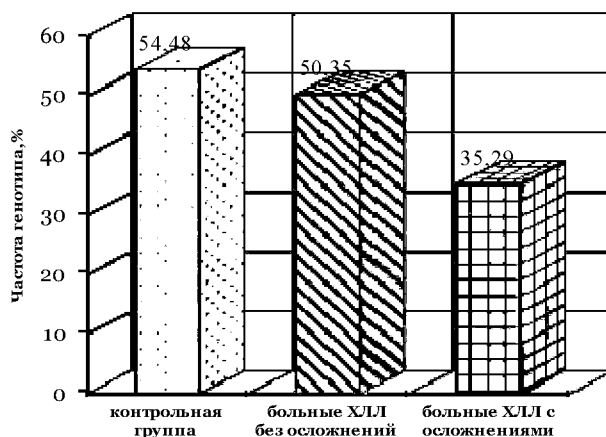


Рис. 2. Частота генотипа -703СС IL-5 среди больных ХЛЛ в зависимости от наличия осложнений в дебюте заболевания и в контрольной группе, %

Установлены особенности «генетической конституции» индивидуумов, не имеющих осложнений в дебюте заболевания (рис.3): концентрация генотипа -584ТТ IL-4 среди пациентов этой группы составляет 12,60%, что в 4,8 раза превышает соответствующий показатель контрольной группы (2,61%,  $\chi^2=16,06$ ,  $p=0,0006$ ,  $p_{cor}=0,002$ ,  $OR=5,38$ ,  $95\%CI$  2,14-13,88) и в 1,6 раза выше аналогичного значения среди больных, не имеющих осложнения при возникновении ХЛЛ (7,85%,  $\chi^2=0,43$ ,  $p=0,50$ ).

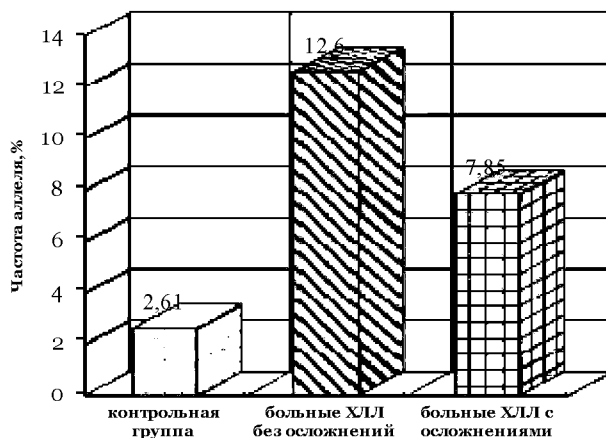


Рис. 3. Частота генотипа -584ТТ IL-4 среди больных ХЛЛ в зависимости от наличия осложнений в дебюте заболевания и в контрольной группе, %

На следующем этапе нашей работы мы изучили взаимосвязи рассматриваемых генетических полиморфизмов интерлейкинов с такими клинически значимыми качественными признаками ХЛЛ, как симптомы интоксикации при возникновении заболевания. К группе данных симптомов (В-симптомы), согласно литературным данным, относятся слабость, потливость, лимфоаденопатия, спленомегалия, гепатомегалия, а также снижение массы тела.

Анализ различий в генетических характеристиках между больными хроническим лимфолейкозом с наличием или отсутствием токсических симптомов в дебюте заболевания и контрольной группой выявил более высокую частоту генотипа -889 СС IL-1А (в 2,2 раза) у больных без токсических симптомов (17,25%) в сравнении с контрольной группой (3,63%,  $\chi^2=7,92$ ,  $p=0,005$ ,  $p_{cor}=0,015$ ,  $OR=5,53$ ,  $95\%CI$  1,52-19,22). Наряду с этим выявлена более высокая концентрация аллеля -584Т IL-4 (27,01%) и генотипа -584ТТ IL-4 (20,08%) у пациентов с наличием токсических симптомов в сравнении с контрольной группой (18,24%,  $\chi^2=9,63$ ,  $p=0,002$ ,  $OR=1,65$ ,  $95\%CI$  1,19-2,29, и 2,61%,  $\chi^2=15,92$ ,  $p=0,0006$ ,  $p_{cor}=0,0018$ ,  $OR=5,13$ ,  $95\%CI$  2,09-12,93, соответственно).

Таким образом, в результате исследования выявлены молекулярно-генетические маркеры интерлейкинов, которые ассоциированы с развитием осложнений и токсических симптомов при манифестации хронического лимфолейкоза. Так, фактором риска возникновения осложнений ХЛЛ в дебюте заболевания является – 703Т IL-5 ( $OR=1,65$ ), а протективными факторами являются маркеры – 703С IL-5 ( $OR=0,60$ ) и – 703СС IL-5 ( $OR=0,69$ ). Отсутствие осложнений в дебюте хронического лимфолейкоза связано с маркером -584ТТ IL-4 ( $OR=2,61$ ). Фактором риска появления симптомов интоксикации в дебюте ХЛЛ, следует считать аллель -584Т IL-4 ( $OR=1,65$ ) и генотип – 584ТТ IL-4 ( $OR=5,13$ ).



Таблица

**Сравнительный анализ частот аллелей и генотипов полиморфных маркеров генов интерлейкинов у больных ХЛЛ в зависимости от наличия токсических симптомов в дебюте заболевания и в контроле**

Ген	Аллели генотипы	Контрольная группа (n=307)	Токсические симптомы		Уровень значимости	
			Не наблюдаются (n=30)	Наблюдаются (n=174)	$\chi^2$ (p)	
			1 n (%)	2 n (%)	3 n (%)	1-2
-889C/T IL-1A (rs 1800587)	-889T	468(77,23)	40 (68,97)	255 (74,56)	1,57 (0,20)	0,71 (0,39)
	-889C	138(22,77)	18 (31,03)	87 (25,44)		
	-889TT	176(58,09)	16 (55,17)	95 (55,55)	0,01 (0,91)	0,19 (0,66)
	-889CT	116(38,28)	8 (27,58)	65 (38,01)	0,87 (0,34)	0,00 (1,00)
	-889CC	11(3,63)	<b>5 (17,25)</b>	11 (6,44)	<b>7,92 (0,005)</b>	1,35 (0,24)
-511C/T IL-1B (rs419598)	-511C	397(64,50)	37 (61,67)	220 (63,58)	0,10 (0,74)	0,06 (0,79)
	-511T	217(35,50)	23 (38,33)	126 (36,42)		
	-511CC	120(39,1)	13 (43,33)	70 (40,46)	0,06 (0,78)	0,03 (0,84)
	-511CT	156(50,81)	11 (36,66)	80 (46,24)	1,65 (0,19)	0,75 (0,38)
	-511TT	31(10,09)	6 (20,01)	23 (13,30)	1,82 (0,17)	0,83 (0,36)
VNTR IL-1Ra	IL-1Ra*1	405(70,31)	45 (75,00)	257 (73,85)	0,37 (0,54)	1,16 (0,28)
	IL-1Ra*2	154(26,74)	14 (23,33)	80 (22,70)	0,17 (0,67)	1,41 (0,23)
	IL-1Ra*4	16(2,78)	1 (1,67)	11 (3,45)	0,00 (0,93)	0,01 (0,89)
	IL-1Ra*5	1(0,28)	0	0	0,00 (1,00)	0,00 (1,00)
	2R/2R	20(6,94)	1 (3,33)	10 (5,74)	0,13 (0,71)	0,09 (0,75)
	2R/4R	113(39,23)	12 (40,00)	57 (32,75)	0,00 (1,00)	1,68 (0,19)
	2R/5R	1(0,34)	0	2 (1,14)	0,00 (1,00)	0,00 (1,00)
	4R/4R	140(48,65)	16 (53,34)	96 (55,24)	0,09 (0,76)	1,61 (0,20)
	4R/5R	12(4,16)	1 (3,33)	8 (4,56)	0,00 (1,00)	0,00 (1,00)
	5R/5R	1(0,34)	0	0	0,00 (1,00)	0,00 (1,00)
	5R/6R	1(0,34)	0	1 (0,57)	0,00 (1,00)	0,00 (1,00)
-584 C/T IL-4 (rs 2243250)	-584C	502(81,76)	46 (76,67)	254 (72,99)	0,62 (0,42)	<b>9,63 (0,002)</b>
	-584T	112(18,24)	14 (23,33)	<b>94 (27,01)</b>		
	-584CC	203(66,12)	18 (60,00)	101 (50,04)	0,22 (0,63)	2,77 (0,09)
	-584CT	96(31,27)	10 (33,33)	52 (29,88)	0,00 (1,00)	0,36 (0,54)
	-584TT	8(2,61)	2 (6,67)	<b>21 (20,08)</b>	0,47 (0,49)	<b>15,92 (0,0006)</b>

Ген	Аллели генотипы	Контрольная группа (n=307)	Токсические симптомы		Уровень значимости	
			Не Наблюдается (n=30)	Наблюдается (n=174)	$\chi^2$ (p)	
			1 n (%)	2 n (%)	3 n (%)	1-2
-703C/Г IL-5	-703C	443(73,59)	37 (63,79)	237 (69,30)	2,08 (0,14)	1,78 (0,18)
	-703T	159(26,41)	21 (36,21)	105 (30,70)		
	-703CC	164(54,48)	12 (41,37)	82 (47,95)	1,33 (0,24)	1,61 (0,20)
	-703CT	115(38,21)	13 (44,82)	73 (42,69)	0,24 (0,61)	0,73 (0,39)
	-703TT	22(7,31)	4 (13,81)	16 (9,36)	0,76 (0,38)	0,37 (0,54)
-174 G/C IL-6 (rs1800795)	-174G	319(54,62)	30 (51,72)	191 (56,18)	0,08 (0,77)	0,65 (0,69)
	-174C	265(45,38)	28 (48,28)	149 (43,82)		
	-174GG	88(30,14)	11 (37,93)	56 (32,94)	0,43 (0,51)	0,27 (0,60)
	-174CG	143(48,97)	8 (27,58)	79 (46,47)	0,04 (1,02)	0,17 (0,67)
	-174CC	61(20,89)	10 (34,49)	35 (20,59)	2,09 (0,14)	0,00 (1,00)
-251A/Г IL-8 (rs4073)	-251A	305(50,83)	35 (58,33)	178 (52,35)	0,99 (0,31)	0,18 (0,66)
	-251T	297(49,17)	25 (41,67)	162 (47,65)		
	-251AA	79(26,24)	9 (30,00)	44 (25,88)	0,05 (0,81)	0,00 (1,00)
	-251AT	148(49,46)	17 (56,66)	90 (52,94)	0,35 (0,55)	0,49 (0,47)
	-251TT	74(24,30)	4 (13,34)	36 (21,18)	1,31 (0,24)	0,52 (0,46)
T113M IL-9 (rs 2069885)	113T	493(82,17)	47 (78,33)	288 (82,76)	0,31 (0,57)	0,02 (0,88)
	113M	107(17,83)	13 (21,67)	60 (17,24)		
	113TT	207(69,00)	19 (63,33)	119 (68,39)	0,18 (0,66)	0,00 (0,97)
	113TM	79(26,33)	9 (30,00)	50 (28,73)	0,04 (0,82)	0,21 (0,64)
	113MM	14(4,67)	2 (6,67)	5 (2,88)	0,00 (0,96)	0,51 (0,47)
-592C/A IL-10 (rs 1800872)	-592C	456(75,24)	41 (68,33)	253 (73,12)	1,03 (0,30)	0,41 (0,51)
	-592A	150(24,76)	19 (31,67)	93 (26,88)		
	-592CC	170(56,10)	14 (46,66)	89 (51,44)	0,63 (0,42)	0,78 (0,37)
	-592AC	116(38,28)	13 (43,33)	75 (43,35)	0,11 (0,73)	0,97 (0,32)
	-592AA	17(5,62)	3 (10,01)	9 (5,21)	0,31 (0,57)	0,00 (1,00)

Итак, проведенный анализ связей генетических полиморфизмов интерлейкинов с качественными признаками хронического лимфолейкоза показал важное патогенетическое значение для ХЛЛ генетических вариантов локусов -889C/T IL-1A, -584C/T IL-4 и -703 C/T IL-5. Получено, что, во-первых, генетические полиморфизмы -584C/T IL-4 и C-703T IL-5 имеют важное этиопатогенетическое значение в развитии осложнений в дебюте хронического лимфолейкоза. Во-вторых, выявлена важная роль молекулярно-генетических маркеров -889C/T IL-1A и -584C/T IL-4 с развитием симптомов интоксикации у больных хроническим лимфолейкозом.



### Литература

1. Никитин, Е.А. Обзор работ, посвященных В-клеточному хроническому лимфолейкозу, представленных на конференции в Лугано (Швейцария) / Е.А. Никитин // Онкогематология. – 2008. – № 3. – С. 80-85.
2. Hyperforin inhibits P-gr end BCRP activities in chronic lymphocytic leukemia cells and myeloid cells / C.Quiney [et al.] // Leuk. Lymphoma. – 2007. -№48. – P. 1587-1599.
3. Руководство по гематологии: в 3 т. / под ред. А. И. Воробьева. – 3-е изд., перераб. и допол. – М.: Ньюдиамед. – 2003. – 280 с.
4. Хронический лимфолейкоз / Ю.А. Алексеева [и др.] // Клиническая онкогематология. Фундаментальные исследования и клиническая практика. – 2008. – Т. 1, № 1. – С. 95-98.
5. Damle, R.N. Chronic lymphocytic leukaemia: a disease of activated monoclonal B cells. / R.N. Damle, C. Calissano, N. Chiorazzi // Best Pract. Res. Clin. Haematol. – 2010. – Mar (№23). – P. 33-45.
6. Диагностическая иммуноцитохимия опухолей [Текст]: Д.Ф. Глузман, Л.М. Склярченко, В.А. Надгорная. – Киев : Морион, 2003. – 156с.
7. Expression of soluble CD27 and interleukins-8 and -10 in B-cell chronic lymphocytic leukemia: correlation with disease stage and prognosis / I.O. Kara [et al.] // Adv. Ther. – 2007. – №24. – P. 29-40.
8. Interleukin-1B (IL1B) and interleukin-6 (IL6) gene polymorphisms are associated with risk of chronic lymphocytic leukaemia / Maria G. Ennas [et al.] // Hematological Oncology. – 2008, №26. – P.98-103
9. Genetic polymorphisms of interleukin (IL)-1B, IL-1RN, IL-8, IL-10 and tumor necrosis factor {alpha} and risk of gastric cancer in a Chinese population / W. Lu [et al.] // Carcinogenesis. – 2005. – №26. – P. 631-636.
10. Реброва, О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA / О. Ю. Реброва. – М. : Медиасфера, 2006. – 305 с.

## STUDY OF ASSOCIATIONS OF POLYMORPHIC MARKERS OF INTERLEUKINES GENES WITH PATHOGENIC SIGNIFICANT QUALITATIVE FEATURES OF CHRONIC LYMPHOCYTIC LEUKEMIA

**S.S. SIROTINA**

*Belgorod National  
Research University*

*e-mail: sirotina@bsu.edu.ru*

The article presents the results of a study of association of polymorphic markers of interleukin genes with high-quality pathogenetically significant signs of chronic lymphocytic leukemia with manifestations of the disease. Established significant relationship of genetic polymorphisms (-889C / T IL-1A, -584C / T IL-4, -703C / T IL-5) with high-quality features of chronic lymphocytic leukemia: development of complications and symptoms of intoxication at patients at the onset of the disease.

Key words: interleukin genes, chronic lymphocytic leukemia, chronic lymphocytic leukemia qualitative features.