

УДК 616-006.484.04: 575.174.015.3

[https://doi.org/10.32345/USMYJ.2\(139\).2023.80-89](https://doi.org/10.32345/USMYJ.2(139).2023.80-89)

Received: February 02, 2023

Accepted: May 17, 2023

Асоціація поліморфізмів генів GSTP1(A313G), MTHFR (C677T) та IL-10 (C819T) із ризиком виникнення гліобластоми

Горбач Олександр¹, Скачкова Оксана¹, Шимон Дар'я¹, Храновська Наталя¹,
Главацький Олександр², Земскова Оксана²

¹Державне некомерційне підприємство «Національний інститут раку», м. Київ, Україна

²Державна установа «Інститут нейрохірургії ім. акад. А. П. Ромоданова НАМН України», м. Київ, Україна

Address for correspondence:

Gorbach Oleksandr

E-mail: horbach.alex@gmail.com

Анотація. гліобластома одна з найбільш поширених злоякісних пухлин головного мозку з вкрай низькою виживаністю. Незважаючи на досягнення у вивченні молекулярного патогенезу та біології пухлин мозку, причини виникнення гліобластоми залишаються нез'ясованими. Дослідження останніх років вказують, що зміни у генах, які беруть участь у проліферації, диференціації та апоптозі клітин, можуть впливати на ризик виникнення онкологічних захворювань. Тож метою роботи було дослідити поліморфізми генів GSTP1(A313G), MTHFR (C677T) та IL-10 (C819T) у хворих на гліобластоми та проаналізувати їх зв'язок із ризиком розвитку цієї патології. Біологічним матеріалом для аналізу поліморфізмів генів GSTP1, MTHFR та IL-10 слугувала периферична кров хворих на гліобластоми та практично здорових людей. Дослідження поліморфізмів генів проводилось за допомогою методу алель-специфічної ПЛР із використанням власних пар детекторів TaqMan MGB на основі флуоресцентних барвників, що призначені для виявлення однонуклеотидних замін. Встановлено, що частота мутантного алеля G гена GSTP1 у хворих становила 53,6% проти 32% у групі практично здорових людей. Розподіл генотипів гена GSTP1 у групі хворих відповідав закону генетичної рівноваги Харді-Вайнберга та статистично відрізнялась від показника у групі практично здорових людей і становив 0,538 проти 0,320 ($\chi^2 = 13,10$, $p = 0,003$). Визначено, що ризик виникнення гліобластоми є в 4,88 разів вищим у осіб, що є гомозиготними носіями мутантного алелю гена GSTP1 (генотип G313G) у порівнянні з іншими поліморфними варіантами. В результаті наших досліджень, було встановлено, що частота мутантного алеля C гена IL-10 у хворих становила 48,8%, що значно перевищує відповідний показник у групі практично здорових людей – 25%. Встановлено, що розподіл генотипів гена IL-10 у групі хворих відповідав закону генетичної рівноваги Харді-Вайнберга, частота мутантного алеля C гена IL-10 статистично відрізнялась від показника у групі практично здорових людей та становила 0,488 проти 0,250 ($\chi^2 = 18,32$, $p = 0,00002$). Встановлено, що існує асоціація між поліморфізмом гена IL-10 (C819T) та ризиком виникнення гліобластоми, у гомозиготних носіїв із генотипом T819T, ризик захворіти збільшується у 6,40 рази. Також нами було встановлено, що частота мутантного алелю T гена MTHFR у хворих становила 35,0% проти 28,1% у групі практично здорових людей. Розподіл генотипів гена MTHFR у групі хворих відповідав закону генетичної

рівноваги Харді-Вайнберга, а розподіл частот поліморфних варіантів ген показав відсутність статистично достовірних відмінностей між групою хворих та групою практично здорових людей ($\chi^2 = 1,43$ $p = 0,23$). Не було встановлено асоціації між поліморфізмом гена MTHFR (C677T) і ризиком виникнення гліобластоми.

Ключові слова: гліобластома, глутатіон S-трансфераза, метилентетрагідрофолат редуктаза, інтерлейкін-10 та однонуклеотидні поліморфізми.

Вступ

Пухлини центральної нервової системи становлять близько 2% від усіх типів пухлин, а серед пухлин головного мозку більше 70% займають гліобластоми (ГБ). ГБ – найбільш поширена серед первинних злоякісних пухлин головного мозку з вкрай низькою виживаністю: лише 6,8% пацієнтів живуть ≤ 5 років (Miller et al., 2021).

Багаторічні дослідження показали існування деяких провокуючих факторів, що здатні підвищувати ризик виникнення ГБ: чоловіча стать; вік від 40 до 60 років; астроцитоматоз 1 або 2 ступеня злоякісності за класифікацією WHO; генетичні порушення (нейрофіброматоз); тривалий вплив токсичних, хімічних речовин, радіації, іонізуючого випромінювання; спадкова схильність, а саме наявність в анамнезі родичів із злоякісними новоутвореннями та інші (Ostrom, Francis, & Barnholtz-Sloan, 2021).

Незважаючи на нові досягнення у вивченні молекулярного патогенезу та біології пухлин мозку, причини виникнення ГБ залишаються нез'ясованими. Дослідження останніх років вказують, що зміни у генах, які беруть участь у проліферації, диференціації та апоптозі клітин, можуть впливати на ризик виникнення онкологічних захворювань (Al-Shaheri, Al-Shami, & Gamal, 2020).

Все більше досліджень проводиться у напрямку вивчення спадкового індивідуального потенціалу організму, а саме вивченню впливу поліморфізмів генів ферментів та цитокінів на розвиток онкологічних захворювань (Koberle, Koch, & Fischer, 2016). Ключову роль у II фазі детоксикації відіграє надродина глутатіон-S-трансфераз (GST), що метаболізують переважну більшість ксенобіотиків. Ферменти даної групи каталізують кон'югацію глутатіону з електрофільними атомами C, N, S, O як ксе-

нобіотиків, так і ендогенних сполук (Okamura et al., 2016).

Встановлено, що саме глутатіон-опосередкована детоксикація, значною мірою захищає клітини від вільних радикалів, продуктів перекисного окислення ліпідів, алкілування білків та нейтралізує дію широкого спектру ксенобіотиків (канцерогенів, фосфорорганічних пестицидів та хіміотерапевтичних засобів) (Palmirotta et al., 2018). Для ферментів GST характерний природній поліморфізм, а саме, поліморфізм гену GSTP1 (A313G). В позиції 313 відбувається заміна аденіну (A) на гуанін (G), призводить до заміни амінокислоти у ферменті, що у свою чергу призводить до зниження його ферментативної активності, а отже, до збільшення в організмі токсичних речовин. Враховуючи вищенаведене, носії із гомозиготним генотипом G/G мають підвищений ризик розвитку різних форм раку (Chatterjee & Gupta, 2018; Kap et al., 2014).

Також привертає увагу ген ключового ферменту фолатного обміну – метилентетрагідрофолат редуктази (MTHFR), що каталізує перетворення 5,10-метилентетрагідрофолата в 5-метилтетрагідрофолат – основну форму доступного для клітин фолату. Для даного гена відомо декілька поліморфних варіантів, найважливішим з яких є заміна цитозину (C) на тимін (T) у положенні 677, що у гетерозиготному стані (генотип 677CT) призводить до зниження функціональної активності продукта гена на 30%, а в гомозиготному (генотип 677TT) – на 60%. Зниження активності даного ферменту призводить до дефіциту активної форми фолату, що впливає на ключові фази життя клітини (метилування ДНК, поділ, регуляцію активності генів тощо) (Xu, Yuan, & Tian, 2013).

Нещодавно процеси запалення було додано до факторів, що можуть впливати на ризик виникнення онкологічних захворювань. Оскільки

запалення сприяє проліферації клітин, ангиогенезу, виникненню метастазів, та може негативно впливати на модуляцію адаптивної імунної відповіді та впливати на чутливість до гормонів і хіміотерапевтичних засобів. Інтерлейкін-10 (IL-10) є протизапальним цитокином, що головним чином виробляється моноцитами і в меншій кількості лімфоцитами. IL-10 негативно регулює продукцію цитокинів клітинами Т-хелперів, посилює проліферацію В-клітин, тимоцитів і тучних клітин, а також стимулює вироблення антитіл (Widodo, Dinevska, & Furst, 2021).

Повідомляється про численні поліморфізми гена IL-10, але клінічно важливі три поліморфізми промоторної області, а саме: -1082A > G, -819C > T і -592C > A. Вони були найбільш досліджені при різних формах онкологічної патології, таких, як рак молочної залози, легені, шлунку, шийки матки та сечового міхура. Незважаючи на те, що взаємозв'язок між IL-10 і онкологічними захворюваннями був досить ретельно вивчений, точна роль IL-10 у розвитку раку все ще невідома, оскільки IL-10 має як стимулюючі, так і пригнічуючі властивості (Shamran et al., 2015; Yu, Liu, & Huang, 2013).

Мета

Метою роботи було дослідити поліморфізми генів GSTP1(A313G), MTHFR (C677T) та IL-10 (C819T) у хворих на гліобластому та проаналізувати наявність зв'язку із ризиком розвитку цієї патології.

Матеріали і методи

У дослідження були залучені 40 хворих на ГБ, 21 чоловік та 19 жінок, вік хворих складав 27-70 років. У всіх хворих діагноз, був підтверджений патогістологічно.

Біологічним матеріалом для аналізу поліморфізмів генів GSTP1, MTHFR та IL-10 слугувала периферична кров хворих на ГБ та практично здорових людей. В рамках роботи було опрацьовано біологічний матеріал (периферичну кров) 202 практично здорових осіб віком від 18 до 65 років (109 осіб жіночої статі та 93 особи чоловічої статі) без онкологічної патології в анамнезі.

Геномну ДНК з периферичної крові виділяли методом адсорбції нуклеїнових кислот на «silica» мембрані за допомогою ко-

лонок «QIAampDNA MiniKit» («QIAGEN», США), згідно рекомендації фірми-виробника. Перед проведенням реакції ампліфікації концентрацію отриманої ДНК доводили до 2–8 нг/мкл. Вимірювання концентрації ДНК проводили методом спектрофотометрії на спектрофотометрі NanoDrop1000 («Thermo Scientific», США).

Виявлення поліморфізмів генів проводилось за допомогою методу алель-специфічної ПЛР. Досліджували наступні поліморфізми генів GSTP1(A313G), MTHFR (C677T) та IL-10 (C819T).

Для проведення аналізу поліморфізму гена IL-10 (C819T) використовували комерційний набір rs3021097 «Applied Biosystems» (США). ПЛР та аналіз результатів проводили згідно рекомендації фірми-виробника.

Для аналізу поліморфізму генів GSTP1(A313G) та MTHFR (C677T) нами були підбрані послідовності праймерів та TaqMan зондів з використанням програми Primer Express® Software v3.0 («Applied Biosystems», США) та синтезовані фірмою «Applied Biosystems» (США) (див. таб.1) При виконанні аналізу для кожного зразка використовувалась власна пара детекторів TaqMan MGB на основі флуоресцентних барвників, що призначені для виявлення SNP.

Праймери використовували в концентрації 0,9 μМ, та зонди в концентрації 0,2 μМ. Реакційну суміш для проведення реакції ампліфікації готували безпосередньо перед використанням. Реакційна суміш містила: 1 мкл прямого праймеру, 1 мкл зворотного праймеру, 0,5 мкл TaqMan зонду 1 та 0,5 мкл TaqMan зонду 2, 4,5 мкл ПЛР-води, 12,5 мкл TaqMan Universal PCR Master Mix фірми «Applied Biosystems» (США). До отриманої суміші додавали 5 мкл розчину ДНК.

Алель-специфічну ПЛР проводили на приладі 7500 Real-Time PCR Systems (Applied Biosystems, США) та використовували наступний температурний режим: цикл до зчитування (Pre-Read): 2 хвилини при 50°C; ампліфікація: початок ампліфікації при 90 °C – 10 хв, і накопичення ампліфікаційного продукту протягом 45 циклів: 92 °C – 30 с і 60 °C – 1 хв; цикл після зчитування (Post-Read): 1 хв при 50 °C.

Таблиця 1. Послідовність праймерів та зондів

№	Назва гена	Послідовність праймерів і зондів	
1	GSTP1	Прямий праймер	5'CCT-GGT-GGA-CAT-GGT-GAA-TG3'
		Зворотний праймер	3'TGG-TGC-AGA-TGC-TCA-CAT-AGT-TG5'
		ТaqMan зонд 1 (Probe GSTP1/Ple)	VIC-TGC-AAA-TAC-ATC-TCC-MGB
		ТaqMan зонд 2 (Probe GSTP1/Val)	6FAM-CTG-CAA-ATA-CGT-CTC-C-MGB
2	MTHFR	Прямий праймер	5'GCACTTGAAGGAGAAGGTGTCT3'
		Зворотний праймер	3'TGTGTCAGCCTCAAAGAAAAGCT5'
		ТaqMan зонд 1 (Probe MTHFR/C)	VIC-ATGAAATCGGCTCCCGC-MGB
		ТaqMan зонд 2 (Probe MTHFR/T)	6FAM-ATGAAATCGACTCCCGC-MGB

Після закінчення реакції ампліфікації проводили облік одержаних результатів згідно рекомендацій фірми-виробника приладу.

Статистика. Експериментальні дані опрацьовували за допомогою програмних пакетів Statistica 10 (StatSoft, США) та MedCalc 12 (MedCalc Software, Бельгія) із використанням параметричних та непараметричних методів статистичного аналізу. Різниця вважалася статистично достовірною при $p < 0,05$. Відповідність розподілу генотипів перевіряли за допомогою тесту Харді – Вайнберга (Zhou, Lange, & Rapp, 2009). Для встановлення статистично значимої різниці у пацієнтів із ГБ з наявністю або відсутністю мутацій використовували метод χ^2 Пірсона (Waldmann, 2019).

З метою оцінки сили асоціації генетичного чинника з патологією розраховували показник відношення шансів (OR) – співвідношення шансів прояву певного стану дихотомічної змінної в двох групах суб'єктів. Відносний ризик розраховано шляхом порівняння ризиків розвитку даного захворювання в групі людей, що володіють даною ознакою (пацієнти із гліобластомою) і в контрольній групі, в яку входять люди випадковим чином обрані із загальної популяції.

Для розрахунку відношення шансів обчислювали вірогідність впливу факторів ризику (в даному випадку поліморфного алеля або певного генотипу) в контрольній та дослідній групах. Шанс знайти генетичний маркер в дослідній групі $= (A(A+B))/(B(A+B)) = A/B$. Шанс знайти генетичний маркер в контрольній групі $= (C(C+D))/(D(C+D)) = C/D$, де А – кількість

осіб з генетичним маркером в дослідній групі, В – кількість індивідів без маркера в дослідній групі, С – кількість осіб з генетичним маркером в контрольній групі, D – кількість індивідів без маркера в контрольній групі. Таким чином показник OR, розраховується за формулою: $OR = (A/B)/(C/D) = (A \times D)/(B \times C)$ (Andrade, 2015; Bland & Altman, 2000).

Результати

Нами було проаналізовано розподіл частот поліморфних варіантів генів GSTP1(A313G), MTHFR (C677T) та IL-10 (C819T) у хворих на ГБ та практично здорових людей та встановлено особливості розподілу їх генотипів, дані представлено на рис.1.

За результатами досліджень у групі практично здорових людей (158 осіб) було отримано такий розподіл генотипів гена GSTP1: A/A – 48,1% (76 осіб), A/G – 39,9% (63 особи), G/G – 12% (19 осіб). У групі хворих на ГБ було виявлено 32,5% (13 хворих) – гомозиготні носії дикого типу алелі гена GSTP1 (генотип A/A), 40,0% (16 хворих) – гомозиготні носії мутантного типу алелі (генотип G/G) та 27,5% (11 хворих) – гетерозиготні носії дикого та мутантного алелів (генотип A/G). Частота мутантного алеля G гена GSTP1 у хворих на ГБ становила 53,6% проти 32% у групі практично здорових людей. Розподіл генотипів гена GSTP1 у групі хворих на ГБ відповідав закону генетичної рівноваги Харді-Вайнберга, а частота мутантного алеля G гена GSTP1 статистично відрізнялась від показника у групі практично здорових людей та становила 0,538 проти 0,320 ($\chi^2 = 13,10$, $p = 0,003$).

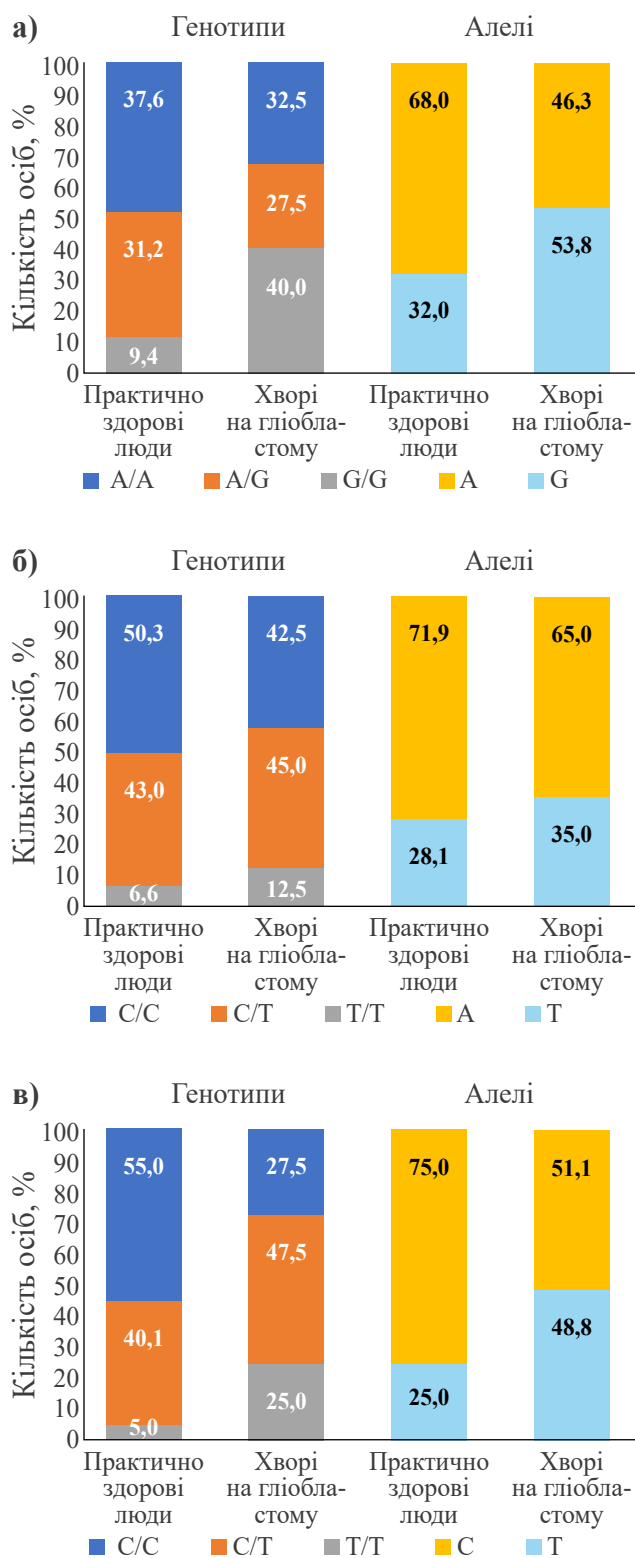


Рисунок 1. Розподіл генотипів і частот алелей генів GSTP1, MTHFR та IL-10 у хворих на гліобластому та у практично здорових людей: а) поліморфні варіанти гену GSTP1(A313G); б) поліморфні варіанти гену MTHFR (C677T); в) поліморфні варіанти гену IL-10 (C819T).

Аналіз отриманих результатів показав наступний розподіл генотипів гену MTHFR в групі практично здорових людей (151 особа): C/C – 50,3% (76 осіб), C/T – 43% (65 особи), T/T – 6,6% (10 осіб), див. рис.1. У групі хворих на ГБ гомозиготний генотип MTHFR по дикому типу алелі C/C було виявлено у 42,5% (17 хворих); гомозиготний генотип MTHFR по мутантному типу алелі T/T – було виявлено у 12,5% (5 хворих); гетерозиготний генотип MTHFR C/T – було виявлено у 45% (18 хворих). Нами було встановлено, що частота мутантного алелю T гену MTHFR у хворих на ГБ становила 35,0% проти 28,1% у групі практично здорових людей. Розподіл генотипів гену MTHFR у групі хворих на ГБ відповідав закону генетичної рівноваги Харді-Вайнберга, а розподіл частот поліморфних варіантів ген показав відсутність статистично достовірних відмінностей між групою хворих та групою практично здорових людей ($\chi^2 = 1,43$ $p = 0,23$).

Результати наших досліджень показали наступний розподіл генотипів гену IL-10: гомозиготний генотип по дикому типу алелі T/T було виявлено у 27,5% (11 хворих) проти 55% (111 осіб) у групі практично здорових людей; гетерозиготний генотип IL-10 T/C – було виявлено у 47,5% (19 хворих) проти 40,1% (81 особа) у контрольній групі та гомозиготний генотип IL-10 по мутантному типу алелі C/C – було виявлено у 25,0% (10 хворих) проти 5,0% (10 осіб) відповідно, див рис.1. Встановлено, що частота мутантного алеля C гену IL-10 у хворих на ГБ становила 48,8%, що значно перевищує відповідний показник у групі практично здорових людей – 25%. Встановлено, що розподіл генотипів гену IL-10 у групі хворих на ГБ відповідав закону генетичної рівноваги Харді-Вайнберга, частота мутантного алеля C гену IL-10 статистично відрізнялась від показника у групі практично здорових людей та становила 0,488 проти 0,250 ($\chi^2 = 18,32$, $p = 0,00002$).

Наступним завданням нашого дослідження було дослідити асоціацію поліморфізмів генів GSTP1, MTHFR та IL-10 із ризиком виникнення ГБ у пацієнтів. Результати представлені в таб. 2. 3. 4.

Таблиця 2. Загальна модель успадкування гена GSTP1

Генотипи гена GSTP1	Хворі на ГБ	Практично здорові люди	χ^2	P	OR	
	n = 40	n = 158			Значення	95% CI
Генотип А/А	0,325	0,481	17,17	0,0002	0,52	0,25 – 1,08
Генотип А/Г	0,275	0,399			0,57	0,27 – 1,23
Генотип Г/Г	0,400	0,120			4,88	2,21 – 10,79

Примітки: χ^2 – тест, число ступенів свободи $df = 2$, OR – відношення шансів.

Встановлено, що ризик виникнення ГБ є в 4,88 разів вищим у осіб, що є гомозиготними носіями мутантного алелю гена GSTP1 (генотип G313G), на відміну від осіб, які є гомозиготними носіями дикого типу гена (генотип A313A) чи гетерозиготними носіями (A313G) (OR = 4,88; 95% CI = 2,21 – 10,79; $\chi^2 = 17,17$, $p = 0,0002$).

Таблиця 3. Загальна модель успадкування гена MTHFR

Генотипи гена MTHFR	Хворі на ГБ	Практично здорові люди	χ^2	P	OR	
	n = 40	n = 151			Значення	95% CI
Генотип С/С	0,425	0,503	1,82	0,4	0,73	0,36 – 1,47
Генотип С/Т	0,450	0,430			1,08	0,54 – 2,18
Генотип Т/Т	0,125	0,066			2,01	0,65 – 6,27

Примітки: χ^2 – тест, число ступенів свободи $df = 2$, OR – відношення шансів.

Отримані нами результати свідчать про відсутність кореляції між даним поліморфізмом гена MTHFR і ризиком виникнення ГБ (OR = 2,01; 95%CI = 0,65 – 6,27; $\chi^2 = 1,82$, $p = 0,4$).

Таблиця 4. Загальна модель успадкування гена IL-10

Генотипи гена IL-10	Хворі на ГБ	Практично здорові люди	χ^2	P	OR	
	n = 40	n = 202			Значення	95% CI
Генотип С/С	0,275	0,550	21,67	0,00002	0,31	0,15 – 0,66
Генотип С/Т	0,475	0,401			1,35	0,68 – 2,67
Генотип Т/Т	0,250	0,050			6,40	0,46 – 16,6

Примітки: χ^2 – тест, число ступенів свободи $df = 2$, OR – відношення шансів.

Результати наших досліджень показали, що існує асоціація між поліморфізмом гена IL-10 (C819T) та ризиком виникнення ГБ. Встановлено, що носії мутантного генотипу T819T гена IL-10, на відміну від осіб, що є гомозиготними носіями дикого типу гена (генотип C819C) чи гетерозиготними носіями (C819T), мають 6,4 рази вищий ризик виникнення ГБ (OR = 4,88; 95% CI = 2,21 – 10,79; $\chi^2 = 17,17$, $p = 0,0002$).

Обговорення

Точні причини виникнення ГБ все ще не встановлені. Ризик виникнення цього захворювання лише на 5-10% пов'язаний зі спадковою схильністю (Grochans et al., 2022). На

сьогоднішній день досліджують поліморфізми багатьох генів в якості можливих факторів ризику виникнення ГБ, прогнозування перебігу захворювання, відповіді на хіміо- та променевою терапію. Серед них і гени цитокінів,

хемокінів та їх рецепторів, гени системи репарації ДНК, гени системи детоксикації, і т.д. (Ko & Brody, 2021).

Для деяких онкологічних захворювань, таких як множинна мієлома, лімфобластна лейкемія, рак молочної залози та колоректальний рак, було встановлено асоціацію мутантного генотипу G/G гена GSTP1 із ризиком виникнення та несприятливим перебігом захворювання (Zhang et al., 2014). Однак для ГБ такі дослідження майже не проводились, основні напрямки дослідження були зосереджені на вивченні впливу поліморфізму гена GSTP1 на оцінку ефективності лікування та виживаність пацієнтів із ГБ. Так, Pasqualetti F. та співавтори встановили, що загальна виживаність у пацієнтів з генотипом A313A гена GSTP1 була достовірно нижчою порівняно з іншими поліморфними варіантами (Pasqualetti et al, 2018). Тож отримані нами дані можуть бути використані в подальших дослідженнях мутацій гена GSTP1 та механізмів їх дії у хворих на ГБ.

За даними різних авторів, індивідуальні відмінності у ферментативній активності MTHFR, опосередковані поліморфізмом гена, можуть бути асоційовані з ризиком розвитку онкологічних захворювань, їх перебігом, формуванням резистентності до хіміотерапії та впливати на розвиток токсичності (Petroni, Bernardo, & Dos Santos, 2021). Отримані нами результати не встановили кореляції між поліморфізмом гена MTHFR (C677T) і ризиком виникнення ГБ у пацієнтів, що збігаються з даними мета-аналізу Xu C. та ін. в якому також не виявлено зв'язку поліморфізму гена MTHFR із ризиком виникнення ГБ для європейців (Xu, Yuan, & Tian, 2013).

IL-10 – добре відомий імуномодельючий цитокін. У деяких типах пухлин відзначено підвищення рівня IL-10 та зниження активності Т-кілерів, експресії антигенів головного комплексу гістосумісності, ослаблення процесу презентації пухлино-асоційованих антигенів (Widodo, Dinevska, & Furst, 2021). Протизапальна активність IL-10 проявляється здатністю знижувати продукцію прозапальних цитокінів, і саме у такий спосіб сприяє росту пухлини. При цьому вважається, що підвищення рівня продукції IL-10 є поганим прогностичним маркером. Однак відомо, що введення високих концентрацій IL-10 сприяє активації пухлиноспецифічної імунної відповіді та пригнічує ріст експериментальних пухлин (меланоми, саркоми та колоректального раку) (Ni et al, 2020).

Встановлено, що поліморфізми гена IL-10 асоціюються з кількома видами онкологічних захворювань, наприклад раком шлунка, молочної залози і недрібноклітинного раку легень, а також гліоми (Hishida et al., 2019; Hu et al., 2016). Результати наших досліджень співпали з іншими дослідженнями, та встановили наявність асоціації поліморфізму T819T гена IL-10 із ризиком виникнення ГБ. Однак слід зазначити, що найбільш вивченим є інший поліморфізм гена, а саме G1082A, для нього підтверджено наявність асоціації як для ризику виникнення захворювання, так і з рівнем експресії мРНК цитокіну, так і загальною виживаністю хворих на ГБ у проведених мета-аналізах (Palivonaite et al, 2022).

Отримані нами результати є лише попередніми і потребують подальшого продовження із залученням більш широкої когорти хворих. Дослідження мутацій генів та механізмів їх дії є перспективним напрямком наукових досліджень як щодо розробки ефективних стратегій з попередження розвитку онкологічних захворювань, так і заходів, спрямованих на вдосконалення контролю за ростом пухлин, зокрема, за допомогою інноваційної протипухлинної генної терапії.

Отримані нами результати є лише попередніми і потребують подальшого продовження із залученням більш широкої когорти хворих. Дослідження мутацій генів та механізмів їх дії є перспективним напрямком наукових досліджень як щодо розробки ефективних стратегій з попередження розвитку онкологічних захворювань, так і заходів, спрямованих на вдосконалення контролю за ростом пухлин, зокрема, за допомогою інноваційної протипухлинної генної терапії.

Висновки

Отже, за результатами проведеного дослідження було встановлено, що ризик виникнення ГБ є в 4,88 разів вищим у осіб, що є гомозиготними носіями мутантного алелю гена GSTP1 (генотип G313G) у порівнянні з іншими поліморфними варіантами (OR = 4,88; 95% CI = 2,21 – 10,79; $\chi^2 = 17,17$, $p = 0,0002$). Також встановлено, що існує асоціація між поліморфізмом гена IL-10 (C819T) та ризиком виникнення ГБ. У гомозиготних носіїв із генотипом T819T ризик захворіти на ГБ збільшується у 6,40 рази (OR = 4,88; 95%CI = 2,21 – 10,79; $\chi^2 = 17,17$, $p = 0,0002$). Тоді як, не було встановлено асоціації між поліморфізмом гена MTHFR (C677T) і ризиком виникнення ГБ. Отримані

результати досліджень можна буде використати в якості побудови комплексної прогностичної моделі ризику розвитку гліобластоми. На даний час, поки не встановлено, які мутації та яких саме генів мають вирішальне значення для виникнення та прогресування онкологічних захворювань або клінічної відповіді на їх лікування. Очевидно, велику роль відіграють не так окремі алелі генів, скільки їх поєднання. У зв'язку з цим перспективним напрямом імунотерапевтичних досліджень в онкології є вивчення ролі поєднань алелів їх генів у схильності до виникнення онкологічних захворювань, зокрема гліобластоми.

Фінансування

Дана стаття є фрагментом науково-дослідної роботи Державної установи «Інститут нейрохірургії ім. акад. А.П. Ромоданова НАМН України» «Дослідити ефективність ад'ювантних імунотерапевтичних та радіотерапевтичних технологій в комплексному лікуванні злоякісних гліальних пухлин головного мозку» (№ держреєстрації 0119U03900).

Конфлікт інтересів

Автори засвідчують відсутність конфліктів інтересів.

Згода на публікацію

Всі автори ознайомлені з текстом рукопису та надали згоду на його публікацію.

ORCID ID та внесок авторів

[0000-0003-2922-6049](https://orcid.org/0000-0003-2922-6049) (A, C, D) Gorbach Oleksandr

[0000-0002-0645-6397](https://orcid.org/0000-0002-0645-6397) (A, B, D) Skachkova Oksana

[0000-0002-4634-607X](https://orcid.org/0000-0002-4634-607X) (A, B) Shymon Daria

[0000-0002-0800-2540](https://orcid.org/0000-0002-0800-2540) (A, E, F) Khranovska Natalia

[0000-0003-0889-9762](https://orcid.org/0000-0003-0889-9762) (A, E, F) Glavatskyi Oleksandr

[0000-0001-9462-8330](https://orcid.org/0000-0001-9462-8330) (A, B, D) Zemskova Oksana

A – Research concept and design, B – Collection and/or assembly of data, C – Data analysis and interpretation, D – Writing the article, E – Critical revision of the article, F – Final approval of article

ЛІТЕРАТУРА

Al-Shaheri, F. N. & Al-Shami, K. M., Gamal, E. H., Mahasneh, A. A., & Ayoub, N. M. (2020). Association of DNA repair gene polymorphisms with colorectal cancer risk and treatment outcomes. *Experimental and molecular pathology*, 113, 104364. <https://doi.org/10.1016/j.yexmp.2019.104364>.

Andrade C. (2015). Understanding relative risk, odds ratio, and related terms: as simple as it can get. *The Journal of clinical psychiatry*, 76(7), e857–e861. <https://doi.org/10.4088/JCP.15f10150>

Bland, J. M., & Altman, D. G. (2000). Statistics notes. The odds ratio. *BMJ (Clinical research ed.)*, 320(7247), 1468. <https://doi.org/10.1136/bmj.320.7247.1468>

Chatterjee, A., & Gupta, S. (2018). The multifaceted role of glutathione S-transferases in cancer. *Cancer letters*, 433, 33–42. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2018.06.028>

Grochans, S., Cybulska, A. M., Simińska, D., Korbecki, J., Kojder, K., Chlubek, D., & Baranowska-Bosiacka, I. (2022). Epidemiology of Glioblastoma Multiforme-Literature Review. *Cancers*, 14(10), 2412. <https://doi.org/10.3390/cancers14102412>.

Hishida, A., Okugawa, Y., Morimoto, Y., Shirai, Y., Okamoto, K., Momokita, S., Ogawa, A., Tanaka, K., Nishikawa, R., Toiyama, Y., Inoue, Y., Sakurai, H., Urata, H., Tanaka, M., McMillan, D. C., & Miki, C. (2019). Genetic influence of cytokine polymorphisms on the clinical outcome of Japanese gastrointestinal cancer patients in palliative care. *Oncology letters*, 17(1), 623–629. <https://doi.org/10.3892/ol.2018.9614>

Hu, M., Du, J., Cui, L., Huang, T., Guo, X., Zhao, Y., Ma, X., Jin, T., Li, G., & Song, J. (2016). IL-10 and PRKDC polymorphisms are associated with glioma patient survival. *Oncotarget*, 7(49), 80680–80687. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.13028>

Kap, E. J., Richter, S., Rudolph, A., Jansen, L., Ulrich, A., Hoffmeister, M., Ulrich, C. M., Brenner, H., & Chang-Claude, J. (2014). Genetic variants in the glutathione S-transferase genes and survival in colorectal cancer patients after chemotherapy and differences according to treatment with oxaliplatin. *Pharmacogenetics and genomics*, 24(7), 340–347. <https://doi.org/10.1097/FPC.0000000000000059>

Ko, C., & Brody, J. P. (2021). A genetic risk score for glioblastoma multiforme based on copy number variations. *Cancer treatment and research communications*, 27, 100352. <https://doi.org/10.1016/j.ctarc.2021.100352>

Koberle, B., Koch, B., Fischer, B. M., & Hartwig, A. (2016). Single nucleotide polymorphisms in DNA repair genes and putative cancer risk. *Archives of toxicology*, 90(10), 2369–2388. <https://doi.org/10.1007/s00204-016-1771-2>.

Miller, K. D., Ostrom, Q. T., Kruchko, C., Patil, N., Tihan, T., Cioffi, G., Fuchs, H. E., Waite, K. A., Jemal, A., Siegel, R. L., & Barnholtz-Sloan, J. S. (2021). Brain and other central nervous system tumor statistics, 2021. *CA: a cancer journal for clinicians*, 71(5), 381–406. <https://doi.org/10.3322/caac.21693>

Ni, G., Zhang, L., Yang, X., Li, H., Ma, B., Walton, S., Wu, X., Yuan, J., Wang, T., & Liu, X. (2020). Targeting interleukin-10 signalling for cancer immunotherapy, a promising and complicated task. *Human vaccines & immunotherapeutics*, 16(10), 2328–2332. <https://doi.org/10.1080/21645515.2020.1717185>

Okamura, T., Antoun, G., Keir, S. T., Friedman, H., Bigner, D. D., & Ali-Osman, F. (2015). Phosphorylation of Glutathione S-Transferase P1 (GSTP1) by Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR) Promotes Formation of the GSTP1-c-Jun N-terminal kinase (JNK) Complex and Suppresses JNK Downstream Signaling and Apoptosis in Brain Tumor Cells. *The Journal of biological chemistry*, 290(52), 30866–30878. <https://doi.org/10.1074/jbc.M115.656140>

Ostrom, Q. T., Francis, S. S., & Barnholtz-Sloan, J. S. (2021). Epidemiology of Brain and Other CNS Tumors. *Current neurology and neuroscience reports*, 21(12), 68. <https://doi.org/10.1007/s11910-021-01152-9>

Palivonaite, M., Gedvilaite, G., Glebauskiene, B., Kriauciuniene, L., Rovite, V., & Liutkeviciene, R. (2022). IL-10 Gene Rs1800871, Rs1800872, and Rs1800896 Polymorphisms and IL-10 Serum Levels Association with Pituitary Adenoma. *Biomedicines*, 10(8), 1921. <https://doi.org/10.3390/biomedicines10081921>

Palmirotta, R., Carella, C., Silvestris, E., Cives, M., Stucci, S. L., Tucci, M., Lovero, D., & Silvestris, F. (2018). SNPs in predicting clinical efficacy and toxicity of chemotherapy: walking through the quicksand. *Oncotarget*, 9(38), 25355–25382. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.25256>

Pasqualetti, F., Gonnelli, A., Cantarella, M., Delishaj, D., Molinari, A., Ortenzi, V., Carbone, F., Montrone, S., Ursino, S., Franceschi, S., Morganti, R., Orlandi, P., Di Desidero, T., Mazzanti, C. M., Zavaglia, K., Naccarato, A. G., Bocci, G., & Paiar, F. (2018). Association of Glutathione S-Transferase P-1 (GSTP-1) rs1695 polymorphism with overall survival in glioblastoma patients treated with combined radio-chemotherapy. *Investigational new drugs*, 36(2), 340–345. <https://doi.org/10.1007/s10637-017-0516-2>

Petrone, I., Bernardo, P. S., Dos Santos, E. C., & Abdelhay, E. (2021). MTHFR C677T and A1298C Polymorphisms in Breast Cancer, Gliomas and Gastric Cancer: A Review. *Genes*, 12(4), 587. <https://doi.org/10.3390/genes12040587>

Shamran, H. A., Ghazi, H. F., Al-Salman, A., Al-Juboory, A. A., Taub, D. D., Price, R. L., Nagarkatti, M., Nagarkatti, P. S., & Singh, U. P. (2015). Single Nucleotide Polymorphisms in IL-10, IL-12p40, and IL-13 Genes and Susceptibility to Glioma. *International journal of medical sciences*, 12(10), 790–796. <https://doi.org/10.7150/ijms.12609>

Waldmann P. (2019). On the Use of the Pearson Correlation Coefficient for Model Evaluation in Genome-Wide Prediction. *Frontiers in genetics*, 10, 899. <https://doi.org/10.3389/fgene.2019.00899>

Widodo, S. S., Dinevska, M., Furst, L. M., Stylli, S. S., & Mantamadiotis, T. (2021). IL-10 in glioma. *British journal of cancer*, 125(11), 1466–1476. <https://doi.org/10.1038/s41416-021-01515-6>

Xu, C., Yuan, L., Tian, H., Cao, H., & Chen, S. (2013). Association of the MTHFR C677T polymorphism with primary brain tumor risk. *Tumour biology : the journal of the International Society for Oncodevelopmental Biology and Medicine*, 34(6), 3457–3464. <https://doi.org/10.1007/s13277-013-0922-9>

Yu, Z., Liu, Q., Huang, C., Wu, M., & Li, G. (2013). The interleukin 10 -819C/T polymorphism and cancer risk: a HuGE review and meta-analysis of 73 studies including 15,942 cases and 22,336 controls. *Omics : a journal of integrative biology*, 17(4), 200–214. <https://doi.org/10.1089/omi.2012.0089>

Zhang, J., Grek, C., Ye, Z. W., Manevich, Y., Tew, K. D., & Townsend, D. M. (2014). Pleiotropic functions of glutathione S-transferase P. *Advances in cancer research*, 122, 143–175. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-420117-0.00004-9>

Zhou, J. J., Lange, K., Papp, J. C., & Sinsheimer, J. S. (2009). A heterozygote-homozygote test of Hardy-Weinberg equilibrium. *European journal of human genetics : EJHG*, 17(11), 1495–1500. <https://doi.org/10.1038/ejhg.2009.57>

The association of GSTP1 (A313G), MTHFR (C677T) and IL-10 (C819T) genes polymorphisms with the glioblastoma risk

Gorbach Oleksandr¹, Skachkova Oksana¹, Shymon Daria¹, Khranovska Natalia¹, Glavatskyi Oleksandr², Zemskova Oksana²

¹SNE «National cancer institute», Kyiv, Ukraine

²SI «Romodanov Neurosurgery Institute of National Academy of Medical Sciences of Ukraine», Kyiv, Ukraine

Address for correspondence:

Gorbach Oleksandr

E-mail: horbach.alex@gmail.com

Annotation: glioblastoma is one of the most common malignant brain tumors with an extremely low survival rate. The causes of glioblastoma disease are still unclear. Research in past years showed that genes involved in cell proliferation, differentiation and apoptosis can affect the risk of cancer. The aim was to investigate the distribution of GSTP1(A313G), MTHFR (C677T) and IL-10 (C819T) gene polymorphisms in patients with glioblastoma and to analyze their association with the glioblastoma risk. For the GSTP1, MTHFR and IL-10 gene polymorphism analysis was used the peripheral blood of patients with glioblastoma and practically healthy people. The gene polymorphism detection was carried by allele-specific PCR using specific pairs of TaqMan MGB detectors. The frequency of the mutant G allele in GSTP1 gene in patients was 53.6% compared to 32.0% in the group of healthy people was established. The GSTP1 genotype distribution was corresponded to the Hardy-Weinberg principle in the group of patients and was statistically different in the group of healthy people (0.538 versus 0.320 respectively, $\chi^2 = 13.10$, $p = 0.003$). The risk of glioblastoma is 4.88 times higher in mutant homozygous variant GSTP1 gene (genotype G313G) compared to other polymorphic variants was established. According to our research, the mutant C allele frequency in the IL-10 gene was 48.8% than higher in healthy group (frequency 25%) was evaluated. In addition, the IL-10 genotype distribution was corresponded to the Hardy-Weinberg principle in the group of patients and was statistically different in the group of healthy people (0.488 versus 0.250 respectively, $\chi^2 = 18.32$, $p = 0.00002$). We established the association between the polymorphism IL-10 (C819T) and glioblastoma risk. Namely, the presence of mutant IL-10 gene (T819T) variant increased in 6.40 times the glioblastoma risk compared to other polymorphic variants ($\chi^2 = 17.17$, $p = 0.0002$). We also established that, the mutant T allele frequency of the MTHFR gene (C677T) was 35.0% versus 28.1% in the group of healthy people. The MTHFR genotype distribution was corresponded to the Hardy-Weinberg principle in the group of patients and wasn't statistically different in the group of healthy people ($\chi^2 = 1.43$, $p = 0.23$). The association of MTHFR gene polymorphism (C677T) and glioblastoma risk wasn't established.

Keywords: [glioblastoma](#), [glutathione s-transferase pi](#), [interleukin-10](#), [NADPH](#), [nucleotides](#).



Copyright: © 2022 by the authors; licensee USMYJ, Kyiv, Ukraine.

This article is an **open access** article distributed under the terms

and conditions of the Creative Commons Attribution License (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>)