

ТРАНСПЛАНТАЦИЯ КОСТНОГО МОЗГА

BONE MARROW TRANSPLANTATION

Значение полиморфизма генов интерлейкинов и фактора некроза опухолей α у пациентов с трансплантацией аутологичных гемопоэтических стволовых клеток при множественной миеломе

Polymorphism of Interleukins and Tumor Necrosis Factor α Genes in Multiple Myeloma Patients with Autologous Hematopoietic Stem Cell Transplantation

С.П. Свитина, Ж.Ю. Сидорова, И.И. Кострома, А.А. Жернякова, А.В. Четкин, Ж.В. Чубукина, С.В. Грицаев, С.И. Капустин, С.С. Бессмельцев

SP Svitina, ZhYu Sidorova, II Kostroma, AA Zhernyakova, AV Chechetkin, ZhV Chubukina, SV Gritsaev, SI Kapustin, SS Bessmeltsev

ФГБУ «Российский НИИ гематологии и трансфузиологии ФМБА России», ул. 2-я Советская, д. 16, Санкт-Петербург, Российская Федерация, 191024

Russian Research Institute of Hematology and Transfusiology, 16 2-ya Sovetskaya str., Saint Petersburg, Russian Federation, 191024

РЕФЕРАТ

Цель. Оценить значение полиморфизма генов интерлейкинов (*IL6*, *IL1B*, *IL10*) и фактора некроза опухолей α (*TNF*) у больных множественной миеломой (ММ), которым выполнена трансплантация аутологичных гемопоэтических стволовых клеток (аутоТГСК).

Материалы и методы. Обследовано 37 пациентов с ММ (15 мужчин и 22 женщины) в возрасте 38–66 лет (средний возраст $54,5 \pm 6,4$ года), которым выполнена аутоТГСК. После трансплантации частичный (ЧО), очень хороший частичный (оХЧО) и полный (ПО) ответы были констатированы у 11, 7 и 19 больных соответственно. У 23 (62,2 %) пациентов количество клеток CD34+, заготовленных в день первого сеанса лейкоцитафереза, было выше субоптимального уровня $2,5 \times 10^6/\text{кг}$. В контрольную группу вошло 236 здоровых лиц. Генотипирование проводили методом ПЦР с последующим анализом полиморфизма длин рестрикционных фрагментов продуктов амплификации. Для выявления межгрупповых различий в распределении генотипов использовался точный критерий Фишера с определением отношения шансов (ОШ) и значения *p*.

Результаты. Исследуемую группу больных отличало от контрольной увеличение доли гомозигот по варианту *IL1B* –31С более чем в 2 раза (ОШ 2,7; *p* = 0,029). Доля гетерозигот по аллельному варианту –174G/C гена *IL6* в подгруппе пациентов с ПО после проведения аутоТГСК была существенно выше, чем у больных с оХЧО или ЧО (ОШ 5,6; *p* = 0,022). В подгруппе пациентов с количеством заготовленных клеток CD34+ более $2,5 \times 10^6/\text{кг}$ доля лиц с генотипом *IL10* –592C/C в 2 раза превышала таковую у больных с низким количеством заготовленных клеток CD34+ (ОШ 3,9; *p* = 0,091).

Заключение. В настоящем исследовании подтверждена связь полиморфизма –31С/Т гена *IL1B* в гомозиготном состоянии с повышенным риском развития ММ.

ABSTRACT

Aim. To assess polymorphism value of interleukins (*IL6*, *IL1B*, *IL10*) and tumor necrosis factor α (*TNF*) genes in multiple myeloma (MM) patients who received autologous hematopoietic stem cell transplantation (auto-HSCT).

Materials & Methods. The study enrolled 37 MM patients (15 men and 22 women) aged 38–66 years (mean age 54.5 ± 6.4 years), who received auto-HSCT. After transplantation, partial (PR), very good partial (VGPR), and complete (CR) responses were reported in 11, 7, and 19 patients, respectively. In 23 (62.2 %) patients CD34+ cell collection on the day of the first leukocytapheresis session exceeded the suboptimal level of $2.5 \times 10^6/\text{kg}$. The control group included 236 healthy subjects. Genotyping by PCR with subsequent analysis of restriction fragment length polymorphism of amplified products was performed. To identify between-group differences in genotype distribution, Fisher's exact test with measurements of odds ratio (OR) and *p*-value was used.

Results. The study group of patients was distinguished from the control group by more than twofold increased proportion of homozygous *IL1B* –31C (OR 2.7; *p* = 0.029). The proportion of heterozygous –174G/C allelic variant of *IL6* gene in the subgroup of patients with CR after auto-HSCT was considerably higher than in patients with VGPR and PR (OR 5.6; *p* = 0.022). In the subgroup of patients with CD34+ cell collection $> 2.5 \times 10^6/\text{kg}$ the proportion of those with *IL10* –592C/C genotype was twice as high as in patients with lower CD34+ cell collection (OR 3.9; *p* = 0.091).

Conclusion. The present study confirms the relationship of –31C/T polymorphism in *IL1B* gene in homozygous state with higher MM risk. It proved the association of –174G/C polymorphism in *IL6* gene and –592C/A polymorphism in *IL10* gene with the chosen criteria for auto-HSCT efficacy.

Выявлена ассоциация полиморфизма –174G/C гена *IL6* и –592C/A гена *IL10* с выбранными критериями эффективности аутоТГСК. Для уточнения значимости вариантов в указанных генах при прогнозировании эффекта противоопухолевой терапии при ММ необходимы дальнейшие исследования с большим числом пациентов.

Ключевые слова: множественная миелома, полиморфизм генов, иммунный ответ, цитокины, трансплантация аутологичных гемопоэтических стволовых клеток.

Получено: 4 марта 2021 г.

Принято в печать: 10 июня 2021 г.

Для переписки: Светлана Павловна Свитина, ул. 2-я Советская, д. 16, Санкт-Петербург, Российская Федерация, 191024; e-mail: shvetikova@gmail.com

Для цитирования: Свитина С.П., Сидорова Ж.Ю., Кострома И.И. и др. Значение полиморфизма генов интерлейкинов и фактора некроза опухолей α у пациентов с трансплантацией аутологичных гемопоэтических стволовых клеток при множественной миеломе. Клиническая онкогематология. 2021;14(3):340–6.

DOI: 10.21320/2500-2139-2021-14-3-340-346

To precisely clarify the value of variants in the above genes for predicting chemotherapy effect in MM, further studies involving more patients are required.

Keywords: multiple myeloma, genes polymorphism, immune response, cytokines, autologous hematopoietic stem cell transplantation.

Received: March 4, 2021

Accepted: June 10, 2021

For correspondence: Svetlana Pavlovna Svitina, 16 2-ya Sovetskaya str., Saint Petersburg, Russian Federation, 191024; e-mail: shvetikova@gmail.com

For citation: Svitina SP, Sidorova ZhYu, Kostroma II, et al. Polymorphism of Interleukins and Tumor Necrosis Factor α Genes in Multiple Myeloma Patients with Autologous Hematopoietic Stem Cell Transplantation. Clinical oncohematology. 2021;14(3):340–6. (In Russ).

DOI: 10.21320/2500-2139-2021-14-3-340-346

ВВЕДЕНИЕ

Множественная миелома (ММ) является одним из наиболее распространенных вариантов злокачественных лимфопролиферативных заболеваний. Опухоль встречается во всех странах мира и характеризуется неконтролируемой пролиферацией клональных плазматических клеток, продуцирующих моноклональный иммуноглобулин [1, 2]. ММ считается «болезнью пожилого возраста» (медиана возраста пациентов составляет примерно 70 лет) [1]. Однако в последние десятилетия все чаще отмечаются случаи данного заболевания среди лиц молодого возраста. В целом заболеваемость ММ составляет 1 % всех злокачественных новообразований и чуть более 10 % опухолей системы крови [1]. Несмотря на интенсивные исследования, патогенез ММ изучен недостаточно, что отчасти объясняет тот факт, что до сих пор данное заболевание относится к числу неизлечимых [2].

В настоящее время трансплантация аутологичных гемопоэтических стволовых клеток (аутоТГСК) является одним из стандартных методов лечения пациентов с ММ в возрасте до 65 лет [3]. Внедрение в клиническую практику ингибиторов протеасом, иммуномодуляторов и моноклональных антител в совокупности с выполнением аутоТГСК больным, которые по возрасту и наличию сопутствующих заболеваний рассматриваются кандидатами на высокодозную химиотерапию, значительно изменило результаты лечения ММ с увеличением медианы общей выживаемости (ОВ) до 7–10 лет [3, 4]. Вместе с тем как в отдельных случаях, так и в целых клинических группах больных отмечается отсутствие долгосрочных результатов, удовлетворяющих и врачей, и

пациентов. Нередко наблюдаются рецидивы опухоли или развивается лекарственная устойчивость [5]. В связи с этим неувидительна актуальность проблемы индивидуализации интенсивности и длительности проводимой терапии, включая число планируемых аутоТГСК и консолидирующих курсов. Это вызвано, с одной стороны, желанием достичь отрицательного статуса минимальной остаточной болезни, связанного с улучшением выживаемости, а с другой — вероятностью развития токсических, нередко тяжелых, осложнений, существенно снижающих качество и продолжительность жизни больных ММ в случае избыточного и необоснованного назначения большого числа лекарственных препаратов.

Принципиальным решением обозначенной выше проблемы является прогнозирование течения заболевания и подбор наиболее эффективных схем его лечения. С этой целью активно используются специальные международные системы стадирования [5]. Однако недостатком существующих систем, в частности ISS и ISS-R, является ограниченное число биологических маркеров в списке рекомендуемых критериев (небольшой перечень цитогенетических aberrаций), а также невозможность прогнозировать эффективность конкретных схем терапии, включая и аутоТГСК. Таким образом, будучи предикторами ОВ, данные системы не позволяют достаточно точно оценить вероятность ответа на конкретный вид лечебного пособия.

Гены, кодирующие белки, которые участвуют в реализации иммунного ответа и воспалительной реакции, представляют особый интерес при изучении гематологических злокачественных новообразований. Они задействованы в отборе и дифференцировке гемопоэтических клеток, а также играют важную

роль в канцерогенезе. В настоящее время появляется все больше исследований, в которых подтверждается связь между генетической вариабельностью генов и риском развития ММ, а также результатами ее лечения [6–8].

Принимая во внимание вышеизложенное, изучение индивидуальных особенностей генов, участвующих в реализации иммунного ответа, рассматривается как одно из перспективных направлений поиска новых факторов, связанных с улучшением качества ответа после аутоТГСК и показателей ОВ.

В этой связи **цель настоящего исследования** — оценить значение полиморфизма генов интерлейкинов (*IL6*, *IL1B*, *IL10*) и фактора некроза опухоли α (*TNF*) у пациентов с ММ, которым выполнена аутоТГСК.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Проанализированы результаты обследования 37 больных ММ (15 мужчин и 22 женщины). Средний возраст составил $54,5 \pm 6,4$ года (диапазон 38–66 лет). Всем пациентам выполнена аутоТГСК. Частичный (ЧО), очень хороший частичный (охЧО) и полный (ПО) ответы констатированы у 11, 7 и 19 больных соответственно. По количеству клеток CD34+, заготовленных в день первого сеанса лейкоцитафереза, были сформированы две группы. В первую включено 23 (62,2 %) пациента с количеством клеток выше субоптимального уровня $2,5 \times 10^6$ /кг. Во вторую группу вошло 14 (37,8 %) больных, у которых число заготовленных клеток было ниже субоптимального уровня. Контрольную группу (КГ) для проведения молекулярно-генетического исследования составили 236 здоровых лиц, сопоставимых по полу и возрасту с обследованной группой пациентов.

В качестве материала исследования использовалась геномная ДНК, выделенная из лейкоцитов периферической крови больных ММ и лиц КГ. Выделение ДНК из цельной венозной крови, стабилизированной раствором этилендиаминтетрауксусной кислоты (ЭДТА) в конечной концентрации 0,25 %, выполнялось стандартным солевым методом [9]. Генотипирование (табл. 1) проводили на основе амплификации ДНК *in vitro* методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с последующим анализом полиморфизма длин рестрикционных фрагментов продуктов ПЦР, полученных с помощью обработки специфической эндонуклеазой рестрикции [10].

Статистический анализ

Статистическая обработка результатов проводилась с помощью компьютерной программы GraphPad Prism 5.0 (GraphPad Software Inc., США). Частоту генотипов определяли методом прямого подсчета. Для оценки степени различий частоты генотипов в исследуемых группах использовался точный критерий Фишера. Рассчитывали отношение шансов (ОШ) с 95%-м доверительным интервалом (95% ДИ), а также значение *p*. Статистически значимыми считались различия при $p < 0,05$.

Таблица 1. Исследованные генетические варианты

Ген	Локализация на хромосоме	Идентификационный номер SNP в базе данных NCBI	
		Локализация на хромосоме	Полиморфизм
<i>IL6</i>	7p21	rs1800795	–174G>C [11]
<i>IL1B</i>	2q13	rs1143627	–31T>C [12]
<i>IL10</i>	1q31-q32	rs1800872	–592C>A [8]
<i>TNF</i>	6q21.33	rs1800629	–308G>A [11]

NCBI — Национальный центр биотехнологической информации США; SNP — однонуклеотидный полиморфизм.

Таблица 2. Распределение генотипов по исследуемым полиморфным вариантам в генах у больных ММ и здоровых лиц из контрольной группы

Полиморфизм	Генотип	Частота генотипа, %		ОШ (95% ДИ)	<i>p</i>
		ММ, <i>n</i> = 37	КГ, <i>n</i> = 236		
<i>IL6</i> –174G>C	G/G	35,1	32,2		
	G/C	48,7	50,0		
	C/C	16,2	17,8		
<i>IL1B</i> –31T>C	T/T	32,4	49,2	0,5 (0,2–1,0)	0,076
	T/C	43,3	40,2		
	C/C	24,3	10,6		
<i>IL10</i> –592C>A	C/C	48,7	54,0	2,7 (1,2–6,4)	0,029
	C/A	43,2	39,0		
	A/A	8,1	7,0		
<i>TNF</i> –308G>A	G/G	78,4	77,5		
	G/A	18,9	21,2		
	A/A	2,7	1,3		

95% ДИ — 95%-й доверительный интервал; КГ — контрольная группа; ММ — множественная миелома; ОШ — отношение шансов.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Результаты сравнительного анализа распределения генотипов по исследуемым полиморфным вариантам в генах у больных ММ и в КГ представлены в табл. 2. Наиболее выраженные различия между группой больных ММ и лиц из КГ выявлены при исследовании полиморфизма гена *IL1B*. В частности, доля гомозигот по варианту *IL1B* –31C в исследуемой группе пациентов более чем в 2 раза превышала таковую в КГ — 24,3 vs 10,6 % соответственно (ОШ 2,7; 95% ДИ 1,2–6,4; $p = 0,029$). Напротив, частота генотипа *IL1B* –31T/T в группе больных ММ была в 1,5 раза ниже по сравнению с КГ и составила 32,4 vs 49,2 % соответственно (ОШ 0,5; 95% ДИ 0,2–1,0; $p = 0,076$).

Частота генотипов полиморфных вариантов в других генах у больных ММ существенно не отличалась от показателей в КГ. При сравнительной оценке частоты исследуемых генотипов статистически значимых различий между группами не выявлено.

Ряд результатов, заслуживающих внимания, был получен при сравнительном анализе частоты исследуемых генотипов у больных ММ в зависимости от количества заготовленных клеток CD34+ в день первого сеанса лейкоцитафереза (табл. 3). В подгруппе пациентов с оптимальными значениями данного показателя ($> 2,5 \times 10^6$ /кг) доля лиц с генотипом *IL10* –592C/C оказалась существенно выше, чем в подгруппе с низким количеством заготовленных клеток

Таблица 3. Частота генотипов изученных аллельных вариантов в подгруппах больных ММ с различным количеством заготовленных клеток CD34+

Полиморфизм	Генотип	Частота генотипа в подгруппах с разным количеством ГСК в продукте лейкоцитафереза, %			
		CD34+ > 2,5 × 10 ⁶ /кг, n = 23	CD34+ ≤ 2,5 × 10 ⁶ /кг, n = 14	ОШ (95% ДИ)	p
IL6 -174G>C	G/G	34,8	35,7		
	G/C	47,8	50,0		
	C/C	17,4	14,3		
IL1B -31T>C	T/T	34,8	28,6		
	T/C	39,1	50,0		
	C/C	26,1	21,4		
IL10 -592C>A	C/C	60,9	28,6	3,9 (0,9–16,3)	0,091
	C/A	30,4	64,3	0,2 (0,1–1,0)	0,086
	A/A	8,7	7,1		
TNF -308G>A	G/G	82,6	75,0		
	G/A	17,4	16,7		
	A/A	0	8,3		

95% ДИ — 95%-й доверительный интервал; ГСК — гемопоэтические стволовые клетки; ММ — множественная миелома; ОШ — отношение шансов.

Таблица 4. Частота изучаемых генотипов при оценке результатов лечения больных ММ после проведения аутоТГСК

Полиморфизм	Генотип	Частота генотипа, %		
		ЧО (n = 11)	охЧО (n = 7)	ПО (n = 19)
IL6 -174G>C	G/G	45,4	57,1	21,1
	G/C	36,4	14,3*	68,4*
	C/C	18,2	28,6	10,5
IL1B -31T>C	T/T	27,3	28,6	36,8
	T/C	45,4	57,1	36,8
	C/C	27,3	14,3	26,4
IL10 -592C>A	C/C	63,6	14,3	52,6
	C/A	36,4	71,4	36,8
	A/A	0,0	14,3	10,6
TNF -308G>A	G/G	81,8	85,7	73,7
	G/A	9,1	14,3	26,3
	A/A	9,1	0,0	0,0

аутоТГСК — трансплантация аутологичных гемопоэтических стволовых клеток; ММ — множественная миелома; ПО — полный ответ; охЧО — очень хороший частичный ответ; ЧО — частичный ответ.

* $p < 0,05$.

CD34+ (60,9 vs 28,6 % соответственно; ОШ 3,9; 95% ДИ 0,9–16,3; $p = 0,091$). В то же время частота гетерозигот по изучаемому варианту гена *IL10* в первой подгруппе была более чем в 2 раза снижена (30,4 vs 64,3 % у больных с низким количеством заготовленных клеток CD34+; ОШ 0,2; 95% ДИ 0,1–1,0; $p = 0,086$). Однако, возможно, в связи с небольшим числом пациентов в сравниваемых подгруппах выявленные различия не были статистически значимыми ($p > 0,05$). Частота генотипов по другим изученным генам в указанных подгруппах имела сходный характер.

Одновременно проводилась оценка ассоциативных связей между особенностями аллельного полиморфизма изученных генов у больных ММ и результатами лечения после выполнения аутоТГСК (табл. 4).

Ряд отличительных особенностей наблюдался в подгруппе больных, у которых был констатирован ПО после проведенной терапии. Доля гетерозигот по полиморфизму *IL6* -174G>C в этой подгруппе была существенно выше, чем среди больных с охЧО (68,4 vs 14,3 % соответственно; ОШ 13,0; 95% ДИ 1,3–133,4; $p = 0,026$) и с ЧО (68,4 vs 36,4 % соответственно; ОШ

3,8; 95% ДИ 0,8–18,1; $p = 0,13$). В результате зафиксировано статистически значимое отличие подгруппы пациентов с полным ответом после проведения аутоТГСК от больных, у которых ПО не достигнуто при данном виде терапии (68,4 vs 27,8 % соответственно; ОШ 5,6; 95% ДИ 1,4–23,2; $p = 0,022$).

В то же время у пациентов с ПО отмечалось более чем двукратное снижение доли гомозигот по аллелю -174G гена *IL6*, причем при сравнении как с подгруппой охЧО (21,1 vs 57,1 % соответственно; ОШ 0,2; 95% ДИ 0,03–1,3; $p = 0,15$), так и с ЧО (21,1 vs 45,5 % соответственно; ОШ 0,3; 95% ДИ 0,1–1,6; $p = 0,23$). Кроме того, в подгруппе больных с ПО после проведенной аутоТГСК наблюдалось более чем двукратное снижение частоты обнаружения генотипа *IL6* -174C/C по сравнению с остальными пациентами (10,5 vs 22,2 % соответственно; ОШ 0,4; 95% ДИ 0,1–2,6; $p = 0,4$).

Сравнительный анализ частоты генотипов по аллелю *IL10* -592C>A в подгруппах больных ММ, распределенных в зависимости от характера ответа после аутоТГСК, также позволил обнаружить ряд различий. Группу больных с охЧО отличала от остальных доля гомозиготных носителей варианта -592C гена *IL10* (14,3 %), которая была в несколько раз ниже, чем в группах с ЧО (63,6 %) и ПО (52,6 %). Тем не менее эти различия не были статистически значимыми, что, вероятно, связано с малым числом обследованных пациентов и свидетельствует о необходимости дальнейшего накопления данных.

ОБСУЖДЕНИЕ

К настоящему времени известно, что в развитии ММ существенную роль играют не только генетические аномалии и дисбаланс костномозгового микроокружения, но и нарушения противоопухолевого иммунитета [13]. Целый ряд цитокинов, в т. ч. IL-6, IL-10, IL-1 β , влияет на выживание патологического клона плазматических клеток [1]. Миеломные клетки, в свою очередь, взаимодействуют со многими клеточными компонентами костного мозга (КМ), включая остеокласты, остеобласты, мезенхимные стволовые клетки, стромальные клетки и эндотелиальные клетки сосудов [14]. В ответ на эти межклеточные

взаимодействия секретируются цитокины и хемокины, что приводит к росту опухоли, ингибированию остеобластов и повышению активности остеокластов. Известно также, что цитокины могут индуцировать лекарственную устойчивость клеток ММ [15].

В патогенезе ММ большое значение имеют изменения в костномозговом микроокружении, включающие активацию ангиогенеза, нарушение функции клеточно-опосредованного иммунитета [1]. Это относится прежде всего к избыточной продукции IL-6, IL-1 β и фактора роста эндотелия сосудов (VEGF).

Плейотропный провоспалительный цитокин IL-1 β играет фундаментальную роль в развитии многих острых и хронических воспалительных заболеваний. Он индуцирует синтез других провоспалительных цитокинов, таких как TNF- α и IL-6, низкомолекулярных медиаторов воспаления, хемокинов, привлекающих нейтрофилы в зону воспаления, экспрессию молекул адгезии на лейкоцитах и эндотелиальных клетках, способствуя высвобождению нейтрофилов из КМ, усиливает гранулопоз [16]. Хотя IL-1 β продуцируется главным образом стромальными клетками КМ, он также экспрессируется клетками миеломы и, в меньшей степени, плазматическими клетками у пациентов с моноклональной гаммапатией неопределенного генеза (МГНГ) [17, 18]. Установлено, что в стромальных клетках КМ пациентов с ММ продукция IL-6, индуцированная IL-1 β , существенно выше, чем аналогичный показатель в стромальных клетках пациентов с МГНГ, причем этот эффект нивелируется антагонистами IL-1 β [18, 19]. Это явление указывает на возможную связь IL-1 β с прогрессированием МГНГ в ММ.

Гены, кодирующие цитокины, обладают высокой степенью аллельного полиморфизма, а их промоторные области, как правило, содержат аллельные варианты, которые существенным образом влияют на экспрессию данных генов. A.J. Vangsted и соавт. исследовали взаимосвязь полиморфизма гена *IL1B* -31T>C и показателей ОВ у больных ММ после проведения аутоТГСК [7]. Носители мутантного С-аллеля имели значительно лучшую медиану ОВ (80,4 мес.) в сравнении с гомозиготными носителями Т-аллеля дикого типа *IL1B* (48,5 мес.). В то же время у гомозиготных носителей С-аллеля гена *IL1B* был более высокий риск развития ММ. Эти данные совпадают с результатами нашего исследования. Среди больных ММ доля гомозигот по варианту *IL1B* -31C более чем в 2 раза превышала таковую в КГ. Однако взаимосвязь этого полиморфизма с выбранными показателями эффективности аутоТГСК на данном этапе исследования обнаружить не удалось.

Интерлейкин-6 (IL-6) является провоцирующим воспаление цитокином и играет ключевую роль в патогенезе ММ. Он действует как фактор роста для многих клеточных линий миеломы, способствует пролиферации и выживанию плазматических клеток посредством активации таких сигнальных путей, как ERK и фактор транскрипции STAT3 [20, 21]. Этот цитокин индуцирует активацию поликлональных В-клеток, что приводит к гипергаммаглобулинемии. Более высокий уровень IL-6 связывают с более поздней стадией заболевания и менее благоприятным прогнозом [20, 22].

Однонуклеотидные варианты гена *IL6* модулируют уровень этого цитокина в плазме и/или его биологическую активность, оказывая влияние на течение заболевания и клинический исход [23]. Полиморфизм rs1800795 (-174G>C) является функционально значимой нуклеотидной заменой в промоторной области гена [24] и оказывает негативное регуляторное влияние на его экспрессию [25].

Следует отметить, что у исследователей до настоящего времени нет единого мнения относительно влияния однонуклеотидных полиморфизмов гена *IL6* на риск развития ММ и особенности ее течения. Так, одни авторы сообщают о том, что пациенты с генотипом -174G/C имеют более высокий сывороточный уровень IL-6 и более тяжелое течение заболевания по сравнению с гомозиготными носителями аллеля С или G [22]. Другие исследователи не выявили связи между этим полиморфизмом и риском развития ММ [26, 27]. Однако в одной из работ он все же коррелировал с показателями выживаемости [27]. По данным A.J. Vangsted и соавт. [7], полиморфизм -174G>C гена *IL6* не оказывает какого-либо влияния на ОВ больных ММ после аутоТГСК. Однако в работе Е.Л. Назаровой и соавт. показано, что этот полиморфизм имеет независимое прогностическое значение в отношении выживаемости без прогрессирования [6]. С. Vanu и соавт. [28] выявили генотип -174G/G почти у 1/3 пациентов с ММ и обнаружили его связь с ухудшением прогноза заболевания. Этот генотип коррелировал с повышением сывороточного уровня IL-6 у одних больных и со значительно более высоким уровнем IL-10 — у других. Полученные нами результаты подтверждают эти данные и демонстрируют положительную связь между носительством генотипа -174G/G и ухудшением качества ответа на терапию, включающую аутоТГСК.

Интерлейкин-10 (IL-10) является многофункциональным противовоспалительным цитокином, который усиливает пролиферацию В-лимфоцитов и выработку иммуноглобулинов [29]. Он ингибирует антигенспецифическую Т-клеточную пролиферацию, препятствует синтезу интерферона- γ и IL-2 [30]. Таким образом, IL-10 способен подавлять противоопухолевые эффекты иммунитета и участвовать в патогенезе многих видов рака [31]. В гене, кодирующем IL-10, существует несколько полиморфных сайтов, в т. ч. три в области промотора (-1082G>A, -819C>T, -592C>A), которые могут влиять на транскрипцию мРНК и экспрессию IL-10 *in vitro* [32]. Полиморфизм rs1800872 (-592C>A) вовлечен в патогенез многих заболеваний, в т. ч. онкогематологических. В частности, показана его связь с агрессивными формами неходжкинских лимфом [33].

T. Kasamatsu и соавт. [8] исследовали влияние однонуклеотидных полиморфизмов гена *IL10* на прогноз ММ при лечении пациентов талидомидом и/или бортезомибом. Авторы установили взаимосвязь между заменой -592C>A и показателями ОВ. Так, у лиц с генотипом -592A/A медиана ОВ была существенно выше, чем у пациентов с наличием С-аллеля (74,5 vs 46,3 соответственно). В своей работе авторы отмечают, что генотипы -592C/C и -592C/A характеризуются более высокой продукцией IL-10 в сравнении с генотипом

–592A/A [34, 35]. В нашем исследовании носительство мутантного аллеля –592A в 2 раза чаще встречалось у пациентов с низким количеством заготовленных клеток CD34+, что может свидетельствовать о потенциальном значении этого маркера при прогнозировании эффективности лечения, включающего аутоТГСК.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящем исследовании подтверждена связь полиморфизма –31С/Т гена *IL1B* с повышенным риском развития ММ, а также обнаружена корреляция однонуклеотидных полиморфизмов в генах *IL6* (–174G>C) и *IL10* (–592C>A) с выбранными критериями эффективности аутоТГСК. Для уточнения значения вариантов указанных генов в прогнозировании эффекта терапии, включающей аутоТГСК, необходимы дальнейшие исследования с большим числом пациентов. Полученные нами результаты, подкрепленные данными литературы, позволяют предположить целесообразность использования этих маркеров в сочетании с другими клиническими и биологическими параметрами в качестве индивидуализированных прогностических факторов для оценки эффективности планируемой аутоТГСК у пациентов с ММ.

КОНФЛИКТЫ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликтов интересов.

ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Исследование не имело спонсорской поддержки.

ВКЛАД АВТОРОВ

Концепция и дизайн: С.И. Капустин, Ж.Ю. Сидорова, С.П. Свитина, С.С. Бессмельцев, С.В. Грицаев.

Предоставление материалов исследования: С.В. Грицаев, А.А. Жернякова, И.И. Кострома, Ж.В. Чубукина.

Сбор и обработка данных: С.П. Свитина, Ж.Ю. Сидорова, А.А. Жернякова, И.И. Кострома.

Анализ и интерпретация данных: все авторы.

Подготовка рукописи: С.П. Свитина, С.И. Капустин.

Окончательное одобрение рукописи: все авторы.

Административная поддержка: С.С. Бессмельцев, А.В. Четчин, С.И. Капустин.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Бессмельцев С.С. Множественная миелома (патогенез, клиника, диагностика, дифференциальный диагноз). Часть I. Клиническая онкогематология. 2013;6(3):237–57. [Bessmeltsev SS. Multiple myeloma (pathogenesis, clinical features, diagnosis, differential diagnosis). Part I. Klinicheskaya onkogematologiya. 2013;6(3):237–57. (In Russ)]
2. Бессмельцев С.С., Абдулкадыров К.М. Множественная миелома: руководство для врачей. М.: СИМК, 2016. 512 с.

- [Bessmeltsev SS, Abdulkadyrov KM. Mnozhestvennaya mieloma: rukovodstvo dlya vrachei. (Multiple myeloma: manual for physicians.) Moscow: SIMK Publ.; 2016. 512 p. (In Russ)]
3. Грицаев С.В., Кузяева А.А., Бессмельцев С.С. Отдельные аспекты аутологичной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток при множественной миеломе. Клиническая онкогематология. 2017;10(1):7–12. doi: 10.21320/2500-2139-2017-10-1-7-12.
- [Gritsaev SV, Kuzyaeva AA, Bessmel'tsev SS. Certain Aspects of Autologous Hematopoietic Stem Cell Transplantation in Patients with Multiple Myeloma. Clinical oncohematology. 2017;10(1):7–12. doi: 10.21320/2500-2139-2017-10-1-7-12. (In Russ)]
4. Бессмельцев С.С. Множественная миелома (лечение первичных больных): обзор литературы и собственные данные. Часть II. Клиническая онкогематология. 2013;6(4):379–414. [Bessmeltsev SS. Multiple myeloma (management of newly diagnosed patients): literature review and our on data. Part II. Klinicheskaya onkogematologiya. 2013;6(4):379–414. (In Russ)]
5. Бессмельцев С.С., Абдулкадыров К.М. Множественная миелома. Современный взгляд на проблему. Алматы: Коста, 2007. 480 с. [Bessmeltsev SS, Abdulkadyrov KM. Mnozhestvennaya mieloma. Sovremennyy vzglyad na problemu. (Multiple myeloma. Current view on the problem.) Almaty: Kosta Publ.; 2007. 480 p. (In Russ)]
6. Назарова Е.Л., Минаева Н.В., Хоробрых М.Н. и др. Прогностическое значение генетических маркеров в оценке эффективности индукционной терапии, включающей аутологичную трансплантацию гемопоэтических стволовых клеток, у больных множественной миеломой. Клиническая онкогематология. 2018;11(1):54–69. doi: 10.21320/2500-2139-2018-11-1-54-69. [Nazarova EL, Minaeva NV, Khorobrykh MN, et al. Prognostic Value of Genetic Markers for Efficacy Estimation of Induction Treatment Including Autologous Hematopoietic Stem Cell Transplantation in Multiple Myeloma Patients. Clinical oncohematology. 2018;11(1):54–69. doi: 10.21320/2500-2139-2018-11-1-54-69. (In Russ)]
7. Vangsted AJ, Klausen TW, Ruminski W, et al. The polymorphism IL-1β T-31C is associated with a longer overall survival in patients with multiple myeloma undergoing auto-SCT. Bone Marrow Transplant. 2009;43(7):539–45. doi: 10.1038/bmt.2008.351.
8. Kasamatsu T, Saitoh T, Ino R, et al. Polymorphism of IL-10 receptor β affects the prognosis of multiple myeloma patients treated with thalidomide and/or bortezomib. Hematol Oncol. 2017;35(4):711–18. doi: 10.1002/hon.2322.
9. Miller SA, Dykes DD, Polesky HF. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. Nucl Acids Res. 1988;16(3):1215–8. doi: 10.1093/nar/16.3.1215.
10. Mullis KB, Faloona FA. Specific synthesis of DNA via a polymerase-catalysed chain reaction. Methods Enzymol. 1987;155:335–50. doi: 10.1016/0076-6879(87)55023-6.
11. Zheng C, Huang DR, Bergenbrant S, et al. Interleukin 6, tumor necrosis factor alpha, interleukin 1 beta and interleukin 1 receptor antagonist promoter or coding gene polymorphisms in multiple myeloma. Br J Haematol. 2000;109(1):39–45. doi: 10.1046/j.1365-2141.2000.01963.x.
12. Wang X, Jiang F, Liang Y, et al. Interleukin-1β -31C/T and -511T/C Polymorphisms Were Associated with Preeclampsia in Chinese Han Population. PLoS One. 2014;9(9):1–5. doi: 10.18632/oncotarget.23472.
13. Alexander DD, Mink PJ, Adami HO, et al. Multiple myeloma: a review of the epidemiologic literature. Int J Cancer. 2007;120(S12):40–61. doi: 10.1002/ijc.22718.
14. Павлова А.А., Павлова И.Е., Бубнова Л.Н. и др. Взаимосвязь однонуклеотидного полиморфизма генов цитокинов и клинико-лабораторных показателей у больных множественной миеломой. Медицинская иммунология. 2019;21(4):703–14. doi: 10.15789/1563-0625-2019-4-703-714. [Pavlova AA, Pavlova IE, Bubnova LN, et al. Relationship between single nucleotide polymorphisms in cytokine genes and clinical laboratory parameters in patients with multiple myeloma. Meditsinskaya Immunologiya. 2019;21(4):703–14. doi: 10.15789/1563-0625-2019-4-703-714. (In Russ)]
15. Ghobrial IM. Myeloma as a model for the process of metastasis: implications for therapy. Blood. 2012;120(1):20–30. doi: 10.1182/blood-2012-01-379024.
16. Насонов Е.Л. Роль интерлейкина 1 в развитии заболеваний человека. Научно-практическая ревматология. 2018;56:19–27. doi: 10.14412/1995-4484-2018-19-27. [Nasonov EL. The role of interleukin 1 in the development of human diseases. Nauchno-Prakticheskaya Revmatologiya. 2018;56:19–27. doi: 10.14412/1995-4484-2018-19-27. (In Russ)]
17. Costes V, Portier M, Lu ZY, et al. Interleukin-1 in multiple myeloma: producer cells and their role in the control of IL-6 production. Br J Haematol. 1998;103(4):1152–60. doi: 10.1046/j.1365-2141.1998.01101.x.
18. Lacy MQ, Donovan KA, Heimbach JK, et al. Comparison of interleukin-1 beta expression by in situ hybridization in monoclonal gammopathy of undetermined significance and multiple myeloma. Blood. 1999;93(1):300–5. doi: 10.1182/blood.V93.1.300.
19. Xiong Y, Donovan KA, Kline MP, et al. Identification of two groups of smoldering multiple myeloma patients who are either high or low producers of interleukin-1. J Interferon Cytokine Res. 2006;26(2):83–95. doi: 10.1089/jir.2006.26.83.
20. Honemann D, Chatterjee M, Savino R, et al. The IL-6 receptor antagonist SANT-7 overcomes bone marrow stromal cell-mediated drug resistance of multiple myeloma cells. Int J Cancer. 2001;93(5):674–80. doi: 10.1002/ijc.1388.

- 21.** Lauta VM. A review of the cytokine network in multiple myeloma: diagnostic, prognostic, and therapeutic implications. *Cancer*. 2003;97(10):2440–52. doi: 10.1002/cncr.11072.
- 22.** Chakraborty B, Vishnoi G, Gowda SH, Goswami B. Interleukin-6 gene-174 G/C promoter polymorphism and its association with clinical profile of patients with multiple myeloma. *Asia Pac J Clin Oncol*. 2014;13(5):402–7. doi: 10.1111/ajco.12290.
- 23.** Terry CF, Loukaci V, Green FR. Cooperative influence of genetic polymorphisms on interleukin 6 transcriptional regulation. *J Biol Chem*. 2000;275(24):18138–44. doi: 10.1074/jbc.M000379200.
- 24.** Ray A, Sassone-Corsi P, Sehgal PB. A multiple cytokine- and second messenger-responsive element in the enhancer of the human interleukin-6 gene: similarities with c-fos gene regulation. *Mol Cell Biol*. 1989;9(12):5537–47. doi: 10.1128/mcb.9.12.5537.
- 25.** Duch CR, Figueiredo MS, Ribas C, et al. Analysis of polymorphism at site -174 G/C of interleukin-6 promoter region in multiple myeloma. *Braz J Med Biol Res*. 2007;40(2):265–7. doi: 10.1590/s0100-879x2007000200014.
- 26.** Mazur G, Bogunia-Kubik K, Wrobel T, et al. IL-6 and IL-10 promoter gene polymorphisms do not associate with the susceptibility for multiple myeloma. *Immunol Lett*. 2005;96(2):241–6. doi: 10.1016/j.imlet.2004.08.015.
- 27.** Miller SA, Dykes DD, Polesky HF. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucl Acids Res*. 1988;16(3):1215–8. doi: 10.1093/nar/16.3.1215.
- 28.** Banu C, Moise A, Arion CV, et al. Cytokine Gene Polymorphisms support diagnostic monitoring of Romanian multiple myeloma patients. *J Med Life*. 2011;4(3):264–8.
- 29.** Rousset F, Garcia E, Defrance T, et al. Interleukin 10 is a potent growth and differentiation factor for activated human B lymphocytes. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1992;89(5):1890–3. doi: 10.1073/pnas.89.5.1890.
- 30.** Taga K, Tosato G. IL-10 inhibits human T cell proliferation and IL-2 production. *J Immunol*. 1992;148(4):1143–8.
- 31.** Mosser DM, Zhang X. Interleukin-10: new perspectives on an old cytokine. *Immunol Rev*. 2008;226(1):205–18. doi: 10.1111/j.1600-065X.2008.00706.x.
- 32.** Kingo K, Ratsep R, Koks S, et al. Influence of genetic polymorphisms on interleukin-10 mRNA expression and psoriasis susceptibility. *J Dermatol Sci*. 2005;37(2):111–3. doi: 10.1016/j.jdermsci.2004.10.002.
- 33.** Howell MW. Interleukin-10 Gene Polymorphisms and Cancer. *Madame Curie Bioscience Database* [Internet]. Landes Bioscience; 2000–2013. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK6117/> (accessed 4.03.2021).
- 34.** Sabouri AH, Saito M, Lloyd AL, et al. Polymorphism in the interleukin-10 promoter affects both provirus load and the risk of human T lymphotropic virus type I-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis. *J Infect Dis*. 2004;190(7):1279–85. doi: 10.1086/423942.
- 35.** Zhang X, Hei P, Deng L, Lin J. Interleukin-10 gene promoter polymorphism and their protein production in peritoneal fluid in patients with endometriosis. *Mol Hum Reprod*. 2007;13(2):135–40. doi: 10.1093/molehr/gal106.

