

DOI: 10.38095/2181-466X-20211014-87-91

УДК 616.432 - 006.55: 612.017.1: 575.21

РОЛЬ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНОВ ФАКТОРА РОСТА ЭНДОТЕЛИЯ СОСУДОВ (VEGF), ГИПОКСИИ ИНДУЦИРОВАННОГО ФАКТОРА-1А (HIF-1 α) И ИНТЕРЛЕЙКИНА 17А (IL-17A) В ПОВЕДЕНИИ АГРЕССИВНЫХ АДЕНОМ ГИПОФИЗА

З. Ю. Халимова^{1,2}, О. Т. Азимова¹¹Республиканский специализированный научно-практический медицинский центр
эндокринологии имени академика Ё.Х. Туракулова,²Ташкентский педиатрический медицинский институт, Ташкент, Узбекистан**Ключевые слова:** Агрессивные аденомы гипофиза, генетика, VEGFA, HIF-1 α , IL-17A.**Таянч сўзлар:** Гипофиз агрессив аденомалари, генетика, VEGFA, HIF-1 α , IL-17A.**Key words:** Aggressive pituitary adenomas, genetics, VEGFA, HIF-1 α , IL-17A.

Аденомы гипофиза считаются доброкачественными образованиями, однако, в 20-50% случаях они имеют агрессивное течение. Основные критерии агрессивности — это частые рецидивы после хирургической аденомэктомии, резистентность к традиционной терапии и массивная инвазия в близлежащие структуры. Цель исследования: изучить молекулярно-генетические особенности инвазивных агрессивных аденом гипофиза (ААГ). У 81 пациента (основная группа) и 83 практически здоровых (контрольная группа) изучены полиморфизмы генов VEGFA, HIF-1 α и IL-17A при инвазивных и неинвазивных аденомах гипофиза. В результате исследования установлено, что частота встречаемости исследуемых полиморфизмов чаще наблюдается при инвазивных аденомах и выявляемость генотипов варьирует в зависимости от течения ААГ. Выводы: посредством генетического анализа возможно выявить течение и характеристику ААГ, что может служить одним из современных диагностических подходов раннего выявления и индивидуального подхода к терапии ААГ.

АГРЕССИВ ГИПОФИЗ АДЕНОМАСИДА ҚОН ТОМИРЛАРИ ЭНДОТЕЛИАЛ ЎСИШ ФАКТОРИНИНГ (VEGFA), ГИПОКСИЯ ЙЎНАЛТИРУВЧИ ФАКТОР-1А (HIF-1 α) ВА ИНТЕРЛЕЙКИН 17-А (IL-17A) НИНГ ЎРНИ

З. Ю. Халимова^{1,2}, О. Т. Азимова¹¹Академик Я.Х. Туракулов номидаги Республика Ихтисослаштирилган Илмий Амалий
Эндокринология Тиббиет Маркази,²Тошкент педиатрия тиббиёт институти, Тошкент, Ўзбекистон

Гипофиз аденомалари кўп ҳолатларда яхши сифатли ўсимта ҳисобланади, бироқ, 20%-50% ҳолатларда улар агрессив йўналишда ривожланишади. Агрессивлик асосий характеристикалари бу – жарроҳлик аденомэктомиядан кейин тез-тез қайталаниш, анъанавий терапияга резистентлик ва ёндош тўқималарга массив инвазияси. Тадқиқотлар мақсади: агрессив гипофиз аденомаларида молекуляр-генетик хусусиятларини ўрганиш. Материал ва методлар инвазив ва ноинвазив гипофиз аденомали 81 беморларда (асосий гуруҳ) VEGFA, HIF-1 α ва IL-17A генларининг полиморфизмини ўрганиш ва уларни 83 амалда соғлом (назорат гуруҳ) одамлар ген билан таққослаш. Натижалар: олинган натижаларга кўра VEGFA, HIF-1 α ва IL-17A полиморфизмлари инвазив аденомаларда кўпроқ учраши кузатилди. Агрессив аденомалар генотиби аденома хусусияти билан боғлиқлик кузатилди. Хулоса: Агрессив аденомалар генетик анализи ёрдами билан агрессив аденомаларни эрта ташхислаш ва аденоманинг кечишини ўрганишида замонавий ёндашувлардан бири бўлиши мумкинлиги ва бу агрессив ҳолатларда ўзига хос терапевтик ёндашув йўллари кўрсатиши мумкин.

ROLE OF POLIMORPHISM OF GENE VASCULAR ENDOTHELIAL GROWTH FACTOR (VEGF), HYPOXIA INDUCED FAKTORA-1A (HIF-1 α) AND INTERLEUKIN 17A (IL-17A) IN AGGRESSIVE PITUITARY ADENOMAS

Z. Yu. Khalimova^{1,2}, O. T. Azimova¹¹Republican Specialized Scientific and Practical Medical Center of
Endocrinology named after Academician Y.Kh. Turakulova,²Tashkent pediatric medical institute, Tashkent, Uzbekistan

Pituitary adenomas are considered benign, however, in 20-50% of cases they have an aggressive course. The main criteria for aggressiveness are frequent recurrences after surgical adenomectomy, resistance to traditional therapy, and massive invasion into nearby structures. The aim of the study was to study the molecular genetic features of invasive aggressive pituitary adenomas (APA). Gene polymorphism of VEGFA, HIF-1 α , and IL-17A have been studied in 81 patients (main group) with invasive and non-invasive pituitary adenomas (main group) and 83 healthy (control group). As a result of the study, it was found that the frequency of occurrence of the studied polymorphisms is more often observed in invasive adenomas and the detection of genotypes varies depending on the course of APA.

Conclusions: through genetic analysis, it is possible to identify the course and characteristic of APA, which can serve as one of the modern diagnostic approaches for early detection and an individual approach to APA therapy.

Актуальность. Среди существенных особенностей агрессивных аденом гипофиза (ААГ) является инвазия, резистентность к традиционной терапии и рецидивирующее течение несмотря на то, что подавляющее большинство аденом гипофиза рассматриваются как доброкачественные опухоли [8]. Проведены многочисленные биологические и клинические исследования, с целью дифференциации агрессивных опухолей гипофиза от опухолей с менее агрессивным течением [6]. Однако не существует конкретных отличительных признаков между инвазивными и неинвазивными типами агрессивных аденом гипофиза [4].

Гиперваскуляризация имеет важную роль в онкогенезе, включая инвазивную аденому гипофиза [12]. В патогенезе злокачественных новообразований особое место занимает фактор роста эндотелия сосудов (VEGF), являющийся пусковым сигналом роста [3].

Неопластический ангиогенез, запущенный сверхэкспрессией VEGF, способствует возрастанию плотности микрососудов, в результате чего опухолевая ткань получает больше питания. Более того, продуцируемый VEGF провоцирует эскалацию синтеза проангиогенных факторов роста. Вследствие запуска неоангиогенеза, малигнизированная ткань снабжается кислородом и питательными веществами, вырабатывается большее количество VEGF и опухоль растет. В дополнении, по принципу обратной связи VEGF способствует гиперэкспрессии рецептора VEGFR2 эндотелиоцитами опухолевых микрососудов, что способствует клеточному росту и пролиферации эндотелиальных клеток. [1].

Одним из регуляторов VEGF является гипоксия индуцированного фактора-1 α (HIF-1 α) [10]. Изучена апоптотическая защитная функция HIF-1 α в клеточной линии аденомы гипофиза человека (HP75) в условиях гипоксии [11]. Более того подтверждено, что VEGF активируется под действием HIF-1 α , что отображает полную картину инвазии индуцированного пути HIF-1 α -VEGF в аденомах гипофиза [2].

В недавних исследованиях показана роль провоспалительных интерлейкинов в развитии аденом гипофиза, в частности, IL-17, который связан с пролиферацией и инвазией опухоли. Кроме того, IL-17R в клинических исследованиях был обнаружен также в образцах ткани гипофиза [9]. Существуют исследования, продемонстрировавшие онкогенную роль IL-17, который непосредственно ингибирует апоптоз опухолевых клеток, стимулируя ангиогенез, метастазирование и инвазию опухолей [13].

Согласно исследованиям показано, что IL-17 связан с ангиогенезом опухоли, который может быть инициирован фактором роста эндотелия сосудов (VEGF) [7]. По последнему метаанализу [5] G-197A полиморфизм связан с повышенным риском развития рака у азиатов.

Таким образом, изучение генетических полиморфизмов вышеперечисленных молекул как VEGFA, HIF-1 α , IL-17, а также их взаимосвязь между собой может стать основным предиктором агрессивности аденом, что в свою очередь направило наше исследование на изучение патоморфологического механизма аденом гипофиза на молекулярном уровне.

В связи с этим, **целью исследования** явилось изучение роли полиморфизмов VEGFA, HIF-1 α , IL-17A в зависимости от течения агрессивных аденом гипофиза.

Материал и методы исследования. Обследованы 81 пациент (54 женщин и 27 мужчин) основной группы с диагнозом аденома гипофиза, подтвержденным при помощи МРТ-диагностики и клинического анализа и 83 практически здоровых людей, составивших группу контроля. Основная группа была разделена на 2 подгруппы: 1.1 – с инвазивным ростом аденомы (n=52) и 1.2 – с неинвазивными аденомами (n=29).

Критериями включения явились: гормонально активные и гормонально неактивные аденомы с эндо-, пара-, инфра- и супраселлярным ростом, микроаденомы (менее 1 см) и макроаденомы (более 1 см).

Критериями исключения были: возраст до 10 лет, история онкологии, генетические заболевания.

Генетический анализ был произведен на базе Республиканского Специализированного Научно-Практического Центра Гематологии МЗ РУз.

Полиморфизм областей изученных генов в гене VEGFA положения G634C (rs2010963 локус), ген TP53_2 C/T (rs17884159 локус), ген HIF1A C/T (rs11549465 локус) и G-197A в гене IL-17A, выполненного методом аллель-специфичной полимеразно-цепной реакцией (ПЦР) с использованием наборов реагентов (Sintol, Россия) (RT-PCR).

Результаты исследования и их обсуждение. Исследования особенностей однонуклеотидного полиморфизма регуляторных регионов генов показал, что частота VEGFA 634 G→C, HIF-1α C→T, IL-17A 197 G→A у пациентов с инвазивными и неинвазивными агрессивными аденомами гипофиза относительно группы здоровых лиц значительно выше (табл.1).

Частота встречаемости гетерозиготной мутации (G/C) гена VEGFA выявилась в 2,5 раза чаще (32.7%) при инвазивном росте аденом по сравнению с неинвазивной группой аденом (13.2%). Гомозиготная мутация (C/C) выявилась в 7.7% случаях при инвазивных аденомах.

Это что еще раз подтверждает тот факт, что ангиогенез является основой механизма инвазивного роста аденом, проявляющийся агрессивностью.

Генетический анализ гетерозиготной (C/T) и гомозиготной (T/T) мутаций регулятора неоваскуляризации HIF-1α также выявлено почти в 2 раза чаще при инвазивных аденомах – у 25% и 5.8% пациентов соответственно (табл.1).

Учитывая возможную корреляционную связь полиморфных сайтов одного гена на поведение агрессивности аденом гипофиза, нами было проанализирована частота встречаемости мутаций комплекса полиморфных вариантов исследуемых генов, выявляемых в геноме каждого отдельного подтипа аденом по агрессивности. ААГ по поведенческим особенно-

Таблица 1.

Частота распределения аллелей и генотипов полиморфизма G634C гена VEGFA (rs2010963) у пациентов с ААГ и в группе контроля											
№	Группа	Частота аллелей				Частота распределения генотипов					
		G		C		G/G		G/C		C/C	
		n	%	n	%	n	%	N	%	n	%
1	Основная группа n=81	133	82.1	29	17.9	56	69.1	21	25.9	4	4.9
1.1	Инвазивные n=52	79	76.0	25	24.0	31	59.6	17	32.7	4	7.7
1.2	Неинвазивные n=29	54	93.1	4	6.9	25	86.2	4	13.8	0	0.0
2	Контрольная группа n=83	149	89.8	17	10.2	68	81.9	13	15.7	2	2.4
Частота распределения аллелей и генотипов полиморфизма C/T гена HIF-1α, (rs11549465) у пациентов с ААГ и в группе контроля											
№	Группа	Частота аллелей				Частота распределения генотипов					
		C		T		C/C		C/T		T/T	
		n	%	n	%	n	%	N	%	n	%
1	Основная группа n=81	139	85.8	23	14.2	61	75.3	17	20.9	3	3.7
1.1	Инвазивные n=52	85	81.7	19	18.3	36	69.2	13	25.0	3	5.8
1.2	Неинвазивные n=29	54	93.1	4	6.9	25	86.2	4	13.8	0	0.0
2	Контрольная группа n=83	156	94.0	10	6.0	74	89.2	8	9.6	1	1.2
Частота распределения аллелей и генотипов полиморфизма G-197A в гене IL17A у пациентов с ААГ и в группе контроля											
№	Группа	Частота аллелей				Частота распределения генотипов					
		G		C		G/G		G/A		A/A	
		n	%	n	%	n	%	N	%	n	%
1	Основная группа n=81	125	77.2	37	22.8	49	60.5	27	33.3	5	6.2
1.1	Неинвазивные n=29	77	74.0	27	26.0	29	55.8	19	36.5	4	7.7
1.2	Неинвазивные n=29	48	82.8	10	17.2	20	69.0	8	27.6	1	3.4
2	Контрольная группа n=83	132	79.5	4	2.4	53	63.9	26	31.3	4	4.8

стям были разделены на: преимущественно с рецидивирующим течением аденом после трансфеноидальной аденомэктомии ($n=35$), резистентные аденомы к медикаментозным препаратам ($n=12$) и с первичной инвазией с охватом кавернозного синуса 3-4 степени ($n=34$). В зависимости от поведения было дифференцирована частота мутирующих аллелей, где установлена гетерезиготная мутация VEGFA в наибольшей степени при рецидивирующем течении 31% и в большей степени при первичных инвазиях 33,3% ААГ. Гетерозиготная мутация HIF-1 α , превалировала при первичных инвазиях с охватом кавернозного синуса 3-4 степени по Кнопсу, в то время как мутирующие аллели полиморфизма генов IL-17A в наибольшей степени наблюдались при резистентном течении ААГ (рис.1).

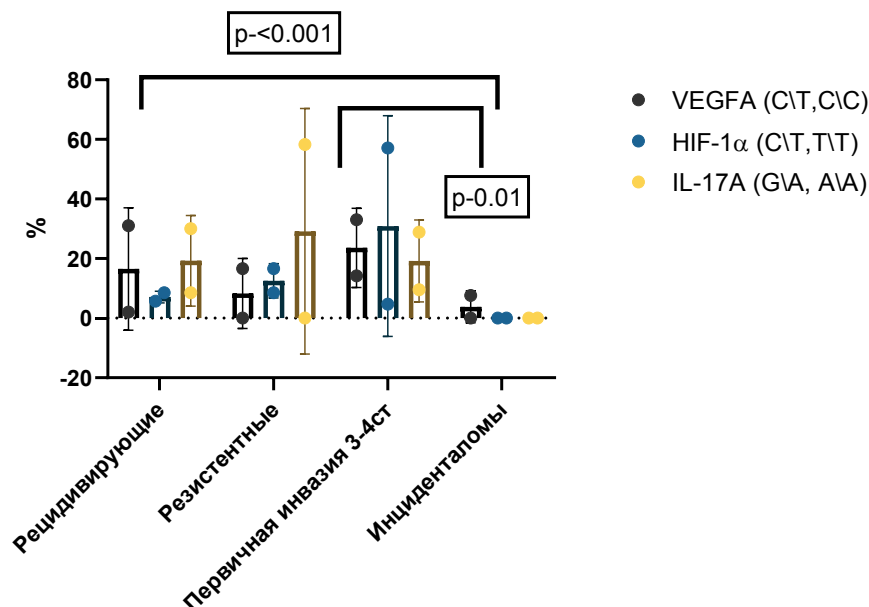


Рис. 1. Частота встречаемости различных генотипов в зависимости от течения ААГ.

Выводы. Генетический анализ показал особое значение роли полиморфизма мутаций генов VEGFA, HIF-1 α и IL-17A в механизме развития инвазивных агрессивных аденом гипофиза.

В зависимости от характеристики и течения агрессивных аденом, частота встречаемости генетических мутаций варьирует. Так, при рецидивирующем течении наиболее информативно изучение генетической мутации VEGFA, при резистентном течении – ААГ HIF-1 α , тогда как, при массивных инвазиях 3-4 степени по Кнопсу частота встречаемости мутаций IL-17A наблюдается чаще.

Таким образом, посредством генетического анализа возможно выявить течение и характеристику ААГ, что может служить одним из современных диагностических подходов раннего выявления и индивидуального подхода к терапии агрессивных аденом гипофиза.

Использованная литература:

1. Apte RS, Chen DS, Ferrara N. VEGF in Signaling and Disease: Beyond Discovery and Development. Cell. 2019 Mar 7;176(6):1248-1264.
2. Carbia-Nagashima A, Gerez J, Perez-Castro C, Paez-Pereda M, Silberstein S, Stalla G, et al. RSUME, a small RWD-containing protein, enhances SUMO conjugation and stabilizes HIF-1 α during hypoxia. Cell (2007) 131:309–23
3. Carmeliet P. VEGF as a key mediator of angiogenesis in cancer. Oncology. 2005;69Suppl 3:4-10
4. Kovacs K, Horvath E, Vidal S. Classification of pituitary adenomas. J Neurooncol. 2001 Sep;54(2):121-7

5. Long ZW, Yu HM, Wang YN, Liu D, Chen YZ, Zhao YX, Bai L. Association of IL-17 polymorphisms with gastric cancer risk in Asian populations. *World J Gastroenterol*. 2015 May 14;21(18):5707-18.
6. Mastronardi L. Atypical pituitary adenomas: clinical characteristics and role of Ki-67 and p53 in prognostic and therapeutic evaluation. A series of 50 patients. *Neurosurg Rev*. 2017 Apr;40(2):357-358.
7. McGeachy MJ, Cua DJ, Gaffen SL. The IL-17 Family of Cytokines in Health and Disease. *Immunity*. 2019 Apr 16;50(4):892-906.
8. Picó A. Aggressive pituitary tumours: a diagnostic and therapeutic challenge for multidisciplinary pituitary units. *Endocrinol Diabetes Nutr (Engl Ed)*. 2020 Feb;67(2):75-77. English, Spanish.
9. Qiu L, He D, Fan X, Li Z, Liao C, Zhu Y, Wang H. The expression of interleukin (IL)-17 and IL-17 receptor and MMP-9 in human pituitary adenomas. *Pituitary*. 2011 Sep;14(3):266-75.
10. Shan B, Schaaf C, Schmidt A, Lucia K, Buchfelder M, Losa M, et al. Curcumin suppresses HIF1A synthesis and VEGFA release in pituitary adenomas. *J Endocrinol*. (2012) 214:389–98.
11. Tatsi C, Stratakis CA. Aggressive pituitary tumors in the young and elderly. *Rev EndocrMetabDisord*. 2020 Jun;21(2):213-223.
12. Turner HE, Nagy Z, Gatter KC, Esiri MM, Harris AL, Wass JA. Angiogenesis in pituitary adenomas - relationship to endocrine function, treatment and outcome. *J Endocrinol*. 2000;165(2):475–81.
13. Yang Q, Li X. Molecular Network Basis of Invasive Pituitary Adenoma: A Review. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2019 Jan 24;10:7.