

Polimorfizm genów metaloproteinaz MMP-1 i MMP-2 w ocenie predyspozycji do zachorowania na raka krtani

Polymorphism of metalloproteinases MMP-1 and MMP-2 in risk of laryngeal cancer

Izabela Olejniczak¹, Wojciech Fendler², Maciej Borowiec², Wojciech Młynarski², Wioletta Pietruszewska¹

SUMMARY

Introduction: The laryngeal cancer is the most common malignancy of the head and neck squamous cell carcinoma. Recent studies have revealed the role of genetic variations in the risk for laryngeal cancer. Polymorphic genes of matrix metalloproteinases may affect an individual genetic predisposition to the occurrence and clinical implications of the disease.

The aim of the present study: was to evaluate the role of polymorphic variants of MMP-1 and MMP-2 genes in the development of laryngeal carcinoma.

Material and methods: DNA was extracted from 633 individuals including 261 patients with laryngeal carcinoma and 372 healthy volunteers. Genotyping was carried out using TaqMan[®] SNP Genotyping Assays (Applied Biosystems, USA). The distribution of polymorphisms of metalloproteinases were analysed: -1607 1G/2G MMP-1 and -1306 C/T MMP-2 gene.

Results: The distribution of genotypes of -1607 1G/2G MMP-1 polymorphism was significantly different in controls vs patients (χ^2 15.05, $p < 0.001$). The 2G allele carriers of MMP-1 -1607 1G/2G polymorphism were at higher risk for laryngeal carcinoma development ($p < 0.001$). In the present study, 2G/2G polymorphic variant was the independent factor of cancer development ($p = 0.0015$).

Conclusion: Presented data suggest an implication of MMP-1 polymorphisms in the laryngeal carcinoma susceptibility. The presence of the MMP-1 2G allele seemed to be associated with increased risk for the disease. In summary, the current study have provided the evidence that an individual's risk for carcinoma of larynx is modulated by genetic factors.

Hasła indeksowe: rak krtani, macierz zewnątrzkomórkowa, metaloproteinazy, polimorfizm

Key words: laryngeal cancer, extra cellular matrix, metalloproteinases, polymorphism

©by Polskie Towarzystwo Otolaryngologów – Chirurgów Głowy i Szyi

Otrzymano/Received:

30.06.2012

Zaakceptowano do druku/Accepted:

04.07.2012

¹Klinika Otolaryngologii i Laryngologii Onkologicznej, I Katedra Otolaryngologii, Uniwersytet Medyczny w Łodzi

Kierownik: prof. dr hab. med. Tomasz Durko

²Klinika Pediatrii, Onkologii, Hematologii i Diabetologii, Uniwersytet Medyczny w Łodzi

Kierownik: prof. dr hab. med. Wojciech Młynarski

Wkład pracy autorów/Authors contribution:

Wg kolejności

Konflikt interesu/Conflicts of interest:

Autorzy pracy nie zgłaszają konfliktu interesów.

Adres do korespondencji/

Address for correspondence:

imię i nazwisko: Izabela Olejniczak

adres pocztowy:

I Katedra Otolaryngologii UM w Łodzi

ul. Kopcińskiego 22

90-153 Łódź

Otolaryngol Pol 2012;
66 (4a): 30-35

Wstęp

W przypadku raka krtani udowodniono już wpływ czynników egzogennych, takich jak palenie papierosów czy spożywanie alkoholu, na rozwój tego nowotworu. Wiadomo jednak, że także u osób o niskiej ekspozycji na kancerogeny może dojść do rozwinięcia choroby nowotworowej w obrębie głowy i szyi. Potwierdzono genetyczne predyspozycje do zachorowania na raka krtani, ale nie ulega kwestii, że ten nowotwór nie jest wynikiem prostego dziedziczenia genów. Ryzyko rozwoju raka krtani wiąże się bowiem z indywidualną odpowiedzią organizmu na czynniki kancerogenne, a sam proces transformacji nowotworowej może być spowodowany szeregiem mutacji w obrębie protoonkogenów i genów supresorowych [1]. Zgodnie z modelem rozwoju raków głowy i szyi wg Califano i wsp. [2], proces transformacji nowotworowej wynika z mutacji, które prowadzą do aktywacji protoonkogenów i zaha-

mowania ochronnego działania genów supresorowych. Prowadzone przez wiele lat badania molekularne doprowadziły do wykrycia i opisanego około 150 genów związanych z karcynogenezą w krtani. Większość z nich była związana z regulacją cyklu komórkowego, procesami różnicowania się komórek i apoptozą. Zbadano dotychczas wiele mutacji, z których kilka uważa się za typowe dla raka krtani: delecję 18q21 (geny supresorowe *DBC4*, *DCC*), złamanie 3p14, amplifikację 11q13 (cyklina D1), delecję 17p (mutacja genu 53 uważana za najważniejszą w powstawaniu nowotworów głowy i szyi) i 9p, utratę chromosomu Y, częściową lub całkowitą utratę ramienia p chromosomu 3 (gen supresorowy *FHIT*) [3, 4].

W procesie rozwoju i progresji nowotworu, poza mutacjami w obrębie genów supresorowych i protoonkogenów, biorą udział geny uczestniczące w mechanizmach

degradacji macierzy zewnątrzkomórkowej i procesie angiogenezy. Należą do nich geny metaloproteinaz, które odgrywają istotną rolę w chorobach rozrostowych i przerzutowaniu nowotworów oraz biorą udział w tworzeniu środowiska odpowiedniego dla progresji nowotworowej. Zbadano i potwierdzono udział *MMP-1* w patogenezie raka przełyku, jelita grubego, płuca, trzustki, raków głowy i szyi, czerniaka, a także *MMP-2* w rakach głowy i szyi (w tym gruczołów ślinowych i krtani), prostaty, sutka, płuca i czerniaka [5–7]. Podkreśla się także rolę różnych wariantów polimorficznych wymienionych genów [8].

Celem pracy było przeprowadzenie badań genetycznych wybranych polimorfizmów genów metaloproteinaz (*MMP-1* i *MMP-2*) oraz dokonanie analizy rozkładu poszczególnych wariantów polimorficznych i ich związku z rozwojem raka krtani.

Materiał i metoda

Badania przeprowadzono u 633 osób. Grupę chorych stanowiło 261 pacjentów leczonych operacyjnie z powodu raka krtani w Klinice Otolaryngologii i Laryngologii Onkologicznej UM w Łodzi w latach 1994–2000. Grupę kontrolną stanowiło 372 potencjalnie zdrowych ochotników. Byli to chorzy hospitalizowani w Klinice z powodu innych chorób laryngologicznych: skrzywienia przegrody nosa, otosklerozy, nagłej głuchoty czy krwawienia z nosa. Nie byli oni wcześniej leczeni z powodu choroby nowotworowej, wywiad rodzinny co do jej występowania był ujemny.

Na przeprowadzenie badań uzyskano zgodę Komisji Bioetycznej Uniwersytetu Medycznego w Łodzi (nr RNN/144/11/KE z dnia 12 lipca 2011 r.).

Do izolacji DNA wykorzystano materiał biologiczny pobrany z: komórek jednojądrzastych krwi obwodowej zdrowych ochotników (N=372) oraz wycinków z guza nowotworowego krtani (raka krtani) operowanych pacjentów, utrwalonych w formalinie i zatopionych w bloczkach parafinowych (N=261). Izolację DNA przeprowadzono metodą kolumnkową z zastosowaniem AxyPrep Blood Genomic DNA MiniPrep Kit (Axygen, Germany).

W celu analizy polimorfizmów pojedynczego nukleotydu (SNP) wykorzystano system zoptymalizowanych odczynników do badania mutacji punktowych genów – TaqMan® SNP Genotyping Assays (Applied Biosystems, USA). Wyizolowany DNA przenoszono na 96-dółkową płytkę reakcyjną (4 µl). Dodawano mieszaninę SNP Genotyping Assays (40 x SNP Genotyping Assay – 0,3 µl/studzienkę; 2 x TaqMan Universal PCR Master Mix – 6 µl/studzienkę; wolną od DN-azy wodę – 2 µl/studzienkę), następnie wirowano. Objętość mieszaniny reakcyjnej wynosiła 8 µl/studzienkę. Amplifikację DNA metodą PCR prowadzono z wykorzystaniem aparatu 2720 ThermoCycler (Applied Biosystems, USA)

– wstępna denaturacja DNA w temp. 95°C przez 10 min, następnie 40 cykli: denaturacja 92°C przez 15 sek., elongacja 60°C przez 1 min. Analizę wyników przeprowadzono z użyciem Applied Biosystems 7900 HT Fast Real-Time PCR (Applied Biosystems, USA). Uzyskane wyniki analizowano w Sequence Detection System (SDS) Software.

W celu analizy różnic liczebności między grupami wykorzystano test χ^2 z poprawką Yatesa. Dla nosicieli alleli i genotypów, których częstości różniły się pomiędzy grupami obliczono wartość ilorazu szans (*odds ratio*; OR) wraz z 95% przedziałem ufności (95% CI). Analizy wieloczynnikowej dokonano metodą regresji logistycznej. Do końcowych analiz za znamienne statystycznie przyjęto wartości $p < 0,05$.

Wyniki

Charakterystykę grupy badanej przedstawiono w tabelach I i II. Częstość obserwowanych genotypów polimorfizmu 1G/2G w pozycji -1607 genu *MMP-1* nie różniła się istotnie od rozkładu Hardy'ego-Weinberga (HW-E $p=0,26$). Porównując rozkład genotypów z kontrolą, stwierdzono, że heterozygoty 1G/2G występowały z podobną częstością w grupie chorych na raka krtani i w grupie kontrolnej (50,39% vs 52,70%). Obserwowano także, że homozygota polimorficzna 2G/2G występowała istotnie częściej u chorych na raka krtani w porównaniu z grupą kontrolną (32,56% vs 20,54%). Znamienne częstsze było nosicielstwo insercji G u chorych na raka krtani (82,95%) w stosunku do zdrowych ochotników (73,24%).

Oceniano także ryzyko zachorowania na nowotwór złośliwy krtani, porównując poszczególne genotypy u chorych na raka krtani względem zdrowych ochotników. Stwierdzono znamienne zależności pomiędzy rozkładem genotypów a ryzykiem zachorowania na raka krtani (χ^2 15,05; 2 stopnie swobody; $p=0,0005$). Osoby z homozygotami polimorficznymi (2G/2G) lub heterozygotami (1G/2G) chorowały prawie 2-krotnie częściej na ten nowotwór niż z homozygotami dzikimi (1G/1G) (OR 1,77; 95% CI 1,19–2,64; $p=0,0043$). Na podstawie uzyskanych wyników można wnioskować, że nosicielstwo allela 2G było związane ze zwiększeniem ryzyka zachorowania na raka krtani, a genotypy podwyższonego ryzyka stanowiły: homozygota polimorficzna 2G/2G oraz heterozygota 1G/2G. Genotyp dziki 1G/1G traktowano jako ochronny.

Częstość obserwowanych genotypów polimorfizmu C/T w pozycji -1306 genu *MMP-2* różniła się od rozkładu Hardy'ego-Weinberga (HW-E $p=0,0014$), ale wykazywała podobieństwo z rozkładem w HapMap Project w populacji europejskiej (CC/CT/TT odpowiednio: 58%/36%/6%). Rozkład genotypów w HapMap Project wykazuje zgodność z prawem Hardy'ego-Weinberga, czego nie stwierdzono jednak w przypadku badanego

Download English Version:

<https://daneshyari.com/en/article/3171106>

Download Persian Version:

<https://daneshyari.com/article/3171106>

[Daneshyari.com](https://daneshyari.com)