

Статья поступила в редакцию 12.12.2019 г.

Архипова А.А., Анищенко В.В.
Городская клиническая больница № 2,
Новосибирский государственный медицинский университет,
г. Новосибирск, Россия.

СВЯЗЬ МЕЖДУ ПОЛИМОРФИЗМОМ ГЕНА TNF- α -308G/A И РИСКОМ РАКА ЖЕЛУДКА

Предмет исследования. Венозная кровь больных раком желудка, поступивших по скорой помощи с желудочно-кишечным кровотечением. В исследуемой группе 14 мужчин (45 %) и 17 женщин (55 %), средний возраст $63,2 \pm 3,5$ года ($M \pm m$). Группу сравнения составили 58 пациентов, проходивших обследование перед оперативным лечением (эндопротезирование суставов). Гендерное распределение из обследуемых – 19 мужчин (33 %) и 39 женщин (67 %), средний возраст $62,4 \pm 1,8$ года ($M \pm m$).

Цель исследования – определить риск развития рака желудка на основании анализа полиморфизма фактора некроза опухоли альфа.

Методы исследования. Выделение ДНК выполнено с помощью фенол-хлороформной экстракции. Генотипирования однонуклеотидных замен в гене TNF- α при -308 (G; A) проводилось с помощью ПЦР в режиме реального времени с использованием конкурирующих TaqMan-зондов, комплементарных полиморфным участкам ДНК. Достоверность генотипирования подтверждалась секвенированием.

Основные результаты. Распределение генотипов TNF- α при -308 (G; A) составило: GG 58 %, GA 42 % и AA 0 % у пациентов с раком желудка и GG 79 %, GA 21 % и AA 0 % в группе сравнения. В группе больных с раком желудка гетерозиготный генотип GA гена TNF- α встречался чаще, чем в группе сравнения: 42 % против 21 % ($\chi^2 = 4.514$; $p = 0,034$). При вычислении показателя отношения шансов было обнаружено, что генотип GA ассоциирован с риском развития рака желудка (OR = 2.769; нижняя граница 95% ДИ (CI) = 1.065, верхняя граница 95% ДИ (CI) = 7,197).

Область применения. Формирование групп риска по развитию рака желудка.

Выводы. Результаты нашего исследования демонстрируют связь между гетерозиготным генотипом GA TNF- α -308 и риском развития рака желудка.

Ключевые слова: рак желудка; кровотечение; полиморфизм; риск; фактор некроза опухоли

Arkhipova A.A., Anischenko V.V.

City Clinical Hospital N 2,
Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia

ASSOCIATION BETWEEN TNF- α -308 G/A GENE POLYMORPHISM AND GASTRIC CANCER RISK

Subject of research. Venous blood of patients with gastric cancer hospitalized with gastrointestinal bleeding. The study group included 14 men (45 %), 17 women (55 %), average age 63.2 ± 3.5 ($M \pm m$). The comparison group included 58 patients undergoing medical examination prior to surgical treatment (replacement arthroplasty). Gender distribution of the patients in the comparison group – 19 men (33 %), 39 women (67 %), average age 62.4 ± 1.8 ($M \pm m$).

Objective – to determine the risk of development of gastric cancer based on the analysis of polymorphism of tumor necrosis factor alpha.

Research methods. DNA isolation was performed using phenol-chloroform extraction. Genotyping of single nucleotide substitutions in the TNF- α gene at -308 (G; A) was performed using real-time PCR with competitive TaqMan probes complementary to polymorphic DNA regions. The accuracy of the genotyping is confirmed by sequencing.

Key findings. The distribution of TNF- α genotypes at -308 (G; A): GG 58 %, GA 42 % and AA 0 % in patients with gastric cancer and GG 79 %, GA 21 % and AA 0 % in the comparison group. In the group of patients with cancer the heterozygous GA genotype of the TNF- α gene was more frequent than in the comparison group: 42 % versus 21 % ($\chi^2 = 4.514$; $p = 0,034$). Calculation of odds ratio has shown that the GA genotype is associated with risk of gastric cancer development (OR = 2.769; lower limit 95% CI = 1.065, upper limit 95% CI = 7.197).

Scope of application. Formation of gastric cancer development risk groups.

Conclusions. The results of our study demonstrate the association between the heterozygous GA TNF- α -308 genotype and the risk of development of gastric cancer.

Key words: gastric cancer; bleeding; polymorphism; risk; tumor necrosis factor

В 2017 году в России зарегистрированы 34651 пациентов со злокачественными новообразованиями желудка. При этом летальность на первом году жизни с момента установления диагноза составила 46,6 % [1]. Распространенность

рака желудка увеличивается с возрастом, пик заболеваемости приходится на пожилой возраст [2]. Исследователи связывают эту тенденцию с увеличением продолжительности жизни, с появлением новых эффективных методов лечения хронических

Корреспонденцию адресовать:

АРХИПОВА Анна Александровна,
630051, г. Новосибирск, ул. Ползунова, д. 21,
ГБУЗ НСО ГKB № 2.
Тел: 8 (3833) 63-95-18. E-mail: ierusalimova@gmail.com

Информация для цитирования:

Архипова А.А., Анищенко В.В. Связь между полиморфизмом гена TNF- α -308G/A и риском рака желудка // Медицина в Кузбассе. 2020. №1. С. 42-45.

DOI: 10.24411/2687-0053-2020-10007

заболеваний [2, 3]. У большинства пациентов рак желудка выявляется на поздних стадиях (III стадия – 23,8 %, IV стадия – 39,9 %). Гастрэктомия у пожилых пациентов сопряжена с высоким риском осложнений. Несмотря на успехи химиотерапии, в основном с применением цисплатина, медиана выживаемости составляет около года. Пятилетняя выживаемость не превышает 5 %. Недавнее введение трастузумаба позволило повысить показатели выживаемости, но его применение ограничено образованиями экспрессирующими Her-2 / neu [4].

И также следует отметить, что наша страна занимает большую территорию, а эндоскопические исследования имеют высокую себестоимость, в связи с чем выполнить всему взрослому населению 45-50 лет эзофагогастродуоденоскопию в качестве скрининга не представляется возможным. Как следствие, рак желудка нередко выявляется при развитии осложнений в общехирургических стационарах. 11,5 % кровотечений из верхних отделов пищеварительного тракта приходится на злокачественные новообразования желудка. При этом опухоль, как правило, локализуется в антральном отделе или ближе к малой кривизне. Чаще кровотечения отмечаются при III-IV стадиях и являются результатом распада опухоли [5]. Кроме того, 79 % пациентов с кровотечением опухолевой этиологии не знают о том, что у них рак и у 75 % из них уже есть метастазы [6].

Изложенное выше подчеркивает необходимость обнаружения факторов риска развития рака желудка. Предполагается, что рак желудка имеет отношение ко многим факторам, включая поражение *Helicobacter pylori*. Однако из 100 % инфицированных *Helicobacter pylori* только у 15-20 % разовьется язвенная болезнь желудка и двенадцатиперстной кишки, и менее чем у 1 % развивается аденокарцинома. Реакция на инфекцию и последующий характер воспаления зависит от генотипа пациента. Среди всех полиморфизмов наиболее полно изучены варианты противовоспалительных цитокинов, таких как IL2 и TNF. TNF- α – цитокин, играющий важную роль в защите хозяина от инфекционных заболеваний, однако, избыточная продукция может привести к выраженному воспалительному ответу, который способен влиять на развитие рака [7].

Цель исследования – определить риск развития рака желудка на основании анализа полиморфизма фактора некроза опухоли альфа.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектом исследования стала венозная кровь больных раком желудка поступивших по скорой

помощи в ГБУЗ НСО «ГКБ № 2» г. Новосибирска с желудочно-кишечным кровотечением за период с 20.06.2018 по 01.09.2019. В группе пациентов с раком желудка мужчин было 14 (45 %), женщин – 17 (55 %), средний возраст $63,2 \pm 3,5$ года ($M \pm m$). По данным эзофагогастродуоденоскопии, макроскопическая форма рака представляла собой язвенный дефект или инфильтративно-язвенное поражение с локализацией в антральном отделе и/или на малой кривизне. При морфологическом исследовании операционных препаратов или биоптатов, полученных при эзофагогастродуоденоскопии в постгеморрагическом периоде, установлены: в 11 случаях – высокодифференцированная аденокарцинома, в 15 – умеренно дифференцированная, у пяти больных – низкодифференцированная. В одном случае новообразование соответствовало стадии 0 (TisN0M0), в 8 случаях выставлена стадия II (IIA: T2N1M0; IIB: T3N1M0 и T2N2M0), у 14 больных – стадия III (IIIA: T3N2M0, T2N3M0; IIIB: T4aN3M0, T3N3M0; IIIC: T4aN3M0) и у 8 больных выставлена IV стадия (наличие отдаленных метастазов).

Группу сравнения составили 58 пациентов, проходивших обследование перед оперативным лечением (эндопротезирование суставов) в условиях поликлиники в ГБУЗ НСО «ГКБ № 2» за аналогичный период. Гендерное распределение обследуемых: 19 мужчин (33 %) и 39 женщин (67 %), средний возраст $62,4 \pm 1,8$ года ($M \pm m$) У пациентов группы сравнения отмечалось снижение уровня гемоглобина (ниже 120 г/л). При гастроскопии были выявлены эрозии и язвы антрального отдела желудка (все пациенты принимали препараты группы НПВС). Больные в группе сравнения не имели онкологических заболеваний в анамнезе и отрицали онкологические заболевания у родственников первой степени родства.

Сравнение статуса инфекции *Helicobacter pylori* не проводилось.

Выделение ДНК выполнено с помощью фенол-хлороформной экстракции. Генотипирование однонуклеотидных замен в гене TNF- α при -308 (G; A) проводилось с помощью ПЦР в режиме реального времени с использованием конкурирующих TaqMan-зондов, комплементарных полиморфных участкам ДНК. Достоверность генотипирования подтверждалась секвенированием.

Для анализа различий использовали хи-квадрат (χ^2). Результат считался достоверным при значении абсолютного показателя точности $p < 0,05$. Для определения риска развития заболевания вычисляли отношение шансов (OR) с помощью онлайн-калькулятора, доступного по ссылке: <http://medstatistic.ru/calculators/calccodds.html>.

Сведения об авторах:

АРХИПОВА Анна Александровна, канд. мед. наук, зав. эндоскопическим отделением, ГБУЗ НСО ГКБ № 2, г. Новосибирск, Россия.

E-mail: ierusalimova@gmail.com

АНИЩЕНКО Владимир Владимирович, доктор мед. наук, доцент, зав. кафедрой хирургии ФПК и ППВ, ФГБОУ ВО НГМУ Минздрава России, г. Новосибирск, Россия.

Исследование одобрено локальным этическим комитетом ГБУЗ НСО «ГКБ № 2». От всех пациентов было получено информированное согласие.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Распределение генотипов и частот аллелей показано в таблице.

Распределение генотипов TNF- α при -308 (G; A) составило: GG 58 %, GA 42 % и AA 0 % у пациентов с раком желудка и GG 79 %, GA 21 % и AA 0 % в группе сравнения. В группе больных с раком желудка гетерозиготный генотип GA гена TNF- α встречался чаще, чем в группе сравнения: 42 % против 21 % (хи-квадрат = 4.514; $p = 0,034$). При вычислении показателя отношения шансов было обнаружено, что генотип GA ассоциирован с риском развития рака желудка (OR = 2.769; нижняя граница 95% ДИ (CI) = 1.065, верхняя граница 95% ДИ (CI) = 7,197). В нашем исследовании генотип AA не встретился ни в исследуемой группе, ни в группе контроля. Согласно данным литературы, генотип TNF- α -308 AA встречается редко [7]. В исследовании с выборкой более 100 случаев этот показатель колебался от 0 до 16 % [8].

Воспаление считается важным фактором в патогенезе рака, и полиморфизмы генов, связанных с воспалением, широко изучались в течение послед-

них лет. TNF- α является наиболее хорошо изученным геном, до сих пор сообщалось, что полиморфизм в 308 (rs1800629) положении связан с риском развития рака, но выводы остаются спорными, а результаты предыдущих исследований неоднозначными [8]. Результаты варьируют при смене объектов исследования, предполагалась некоторая расово-специфическая ассоциация с повышенным риском рака желудка у разных этнических групп [9]. Метаанализ, проведенный Zheng W. с соавт. [7], направленный на установление взаимосвязи между полиморфизмом фактора некроза опухоли α и риском развития рака желудка, показал связь между генотипами (GA и AA) TNF- α при -308 и риском развития этого заболевания в популяциях по всему миру. Результаты нашего исследования согласуются с выводами метаанализа и демонстрируют связь между гетерозиготным генотипом GA TNF- α -308 и риском развития рака желудка.

Однако наше исследование имеет два ограничения. Во-первых, небольшой размер выборки. Во-вторых, в основной группе не установлен статус *Helicobacter pylori*, так как пациенты с раком желудка поступали по скорой помощи с признаками желудочно-кишечного кровотечения и только 6 (19 %) из них смогли предоставить предыдущие заключения эзофагогастродуоденоскопии. В двух описаниях было отмечено определение *Helicobacter pylori* уреазным тестом. Этих данных недостаточно,

Таблица
Частота генотипов и аллелей G-308A гена TNF- α у больных раком желудка и пациентов группы сравнения
Table
Frequencies of genotypes and TNF- α gene G-308A alleles in patients with gastric cancer and in patients of the comparison group

Обследуемые	Аллели и генотипы	Больные раком I		Группа сравнения II		P
		n	%	n	%	
Все обследуемые	AA	0	0	0	0	-
	GA	13	42	12	21	0,034
	GG	18	58	46	79	0,034
	A	13	20,97	12	10,34	NS
	G	49	79,03	104	89,66	NS
Мужчины	AA	0	0	0	0	-
	GA	6	42,86	4	21,05	NS
	GG	8	57,14	15	78,95	NS
	A	6	21,43	4	10,53	NS
	G	22	78,57	34	89,47	NS
Женщины	AA	0	0	0	0	-
	GA	7	41,18	8	20,51	NS
	GG	10	58,82	31	79,49	NS
	A	7	20,59	8	10,26	NS
	G	27	79,41	70	89,74	NS

Примечание: NS – различие не значимо.

Note: NS – the difference is not significant.

Information about authors:

ARKHIPOVA Anna Aleksandrovna, candidate of medical science, head of the endoscopic department, City Clinical Hospital N 2, Novosibirsk, Russia.
E-mail: ierusalimova@gmail.com

ANISCHENKO Vladimir Vladimirovich, doctor of medical sciences, docent, head of the surgery chair, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia.

чтобы оценить связь инфекции с гетерозиготным генотипом TNF- α -308 у пациентов с раком желудка. А, согласно данным литературы [7], полиморфизм гена TNF- α -308 G/A влияет на экспрессию цитокина, изменяет интенсивность воспалительного ответа на *Helicobacter pylori* и, таким образом, запускает канцерогенез.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Наше исследование показало связь между генотипом GA TNF- α -308 и риском развития рака

желудка. Однако для понимания механизма взаимодействия между организмом пациента и *Helicobacter pylori*, который приводит к неоплазии, необходимо дальнейшее проспективное исследование полиморфизма гена TNF- α -308 G/A.

Информация о финансировании и конфликте интересов

Исследование не имело спонсорской поддержки. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES:

1. Statua of cancer the population of Russia in 2017 /ed. Caprina AD, Starinsky VV, Petrova GV. М.: P.A. Hertsen Moscow Oncology Research Center. 2018. 236 p. Russian (Состояние онкологической помощи населению России в 2017 году /под ред. Каприна А.Д., Старинского В.В., Петровой Г.В. - М.: МНИОИ им. П.А. Герцена. 2018. 236 с.)
2. Bausys R, Bausys A, Vysniauskaite I, Maneikis K, Stratilatovas E, Strupas K. Surgical treatment outcomes of patients with T1-T2 gastric cancer: does the age matter when excellent treatment results are expected? *World J of Surgical Oncology*. 2018; 16(1): 40. DOI: 10.1186/s12957-018-1388-4
3. Fujiwara Y, Fukuda S, Tsujie M, Ishikawa H, Kitani K, Inoue K, et al. Effects of age on survival and morbidity in gastric cancer patients undergoing gastrectomy. *World J Gastrointest Oncol*. 201; 9(6): 257-262. DOI: 10.4251/wjgo.v9.i6.257
4. Ben Kridis W, Marrekchi G, Mzali R, Daoud J, Khanfir A. Prognostic factors in metastatic gastric carcinoma. *Experimental Oncology*. 2019; 41(2): 173-175. DOI: 10.32471/exp-oncology.2312-8852.vol-41-no-2.13283.
5. Zemlyanoy VP, Sigua BV, Gubkov II, Zakharov EA, Mavidi IP, Mikhailov GA, Sakhno DS. Diagnosis and treatment of gastric cancer complicated by bleeding. *Herald of North-Western State Medical University named after II Mechnikov*. 2017; 9(1): 15-20. Russian (Земляной В.П., Сигуа Б.В., Губков И.И., Захаров Е.А., Мавиди И.П., Михайлов Г.А., Сахно Д.С. Диагностика и лечение рака желудка, осложненного кровотечением //Вестник СЗГМУ им. И.И. Мечникова. 2017. Т. 9, № 1. С. 15-20.)
6. Kim Y-I, Choi J. Endoscopic Management of Tumor Bleeding from Inoperable Gastric Cancer. *Clinical Endoscopy*. 2015; 48(2): 121-127. DOI: 10.5946/ce.2015.48.2.121
7. Zheng W, Zhang S, Zhang S, Min L, Wang Y, Xie J, et al. The relationship between tumor necrosis factor- α polymorphisms and gastric cancer risk: An updated meta-analysis. *Biomedical Reports*. 2017; 7(2): 133-142. DOI: 10.3892/br.2017.934.
8. Novikov DG, Kononov AV, Pomorgailo EG, Mozgovoy SI. Assessment of the risk of development of intestinal-type gastric cancer in patients with cytokine gene polymorphisms. *Medicine in Kuzbass*. 2010; 4: 21-24. Russian (Новиков Д.Г., Кононов А.В., Поморгайло Е.Г., Мозговой С.И. Оценка риска развития рака желудка кишечного типа у носителей полиморфных аллелей генов цитокинов //Медицина в Кузбассе. 2010. № 4. С. 21-24.)
9. Yang JP, Hyun MH, Yoon JM, Park MJ, Kim D, Park S. Association between TNF- α -308 G/A gene polymorphism and gastric cancer risk: a systematic review and meta-analysis. *Cytokine*. 2014; 70(2): 104-114. DOI: 10.1016/j.cyt.2014.07.005.

