

9. Скворцова, В. И., Лимборская С. А., Сломинский П. А. Генетические аспекты ишемического инсульта // Российский медицинский журн. — 2006. — № 5. — С. 28-31.

10. Смит К. Пульс-электрофорез и методы работы с большими молекулами ДНК // Анализ генома / Под ред. К. Дейвиса: пер. с англ. — М.: Мир, 1990. — С. 58-94.

11. Bak S., Sindrup H. Genetic liability in stroke: a long-term follow-up study of Danish twins // Stroke. — 2002. — Vol. 33. — P. 769-774.

12. Bersano A., Ballabio E., Bresolin N. Genetics polymorphism for the study of multifactorial stroke // Hum. Mutation. — 2008. — Vol. 29. — P. 776-795.

13. Bland J.M., Altman D. G. Statistics note // Br. Med. J. — 2000. — Vol. 320, № 7247. — P. 1468.

14. Zhu S., Mtng Q. H. Association of angiotensin II type

1 receptor gene polymorphism with carotid atherosclerosis // Clin. Chem. Lab. Med. Stroke. — 2006. — Vol. 44 — P. 282-284.

Сведения об авторах

Платунова Ирина Михайловна — врач МБУЗ ГКБ №20; e-mail: platonova_irina@mail.ru.

Никулина Светлана Юрьевна — г. м. н., проф., зав. кафедрой внутренних болезней № 1 КрасГМУ; e-mail: nicoulina@mail.ru.

Черкашина Ирина Ивановна — г. м. н., доцент кафедры внутренних болезней № 1 КрасГМУ; e-mail: cherkashina@list.ru.

Воевода Михаил Иванович — член-корр. РАМН, директор ФГБУНИИ терапии СО РАМН; e-mail: Mvoevola@ya.ru.

Орлов Павел Сергеевич — м. н. с. ФГБУ Институт цитологии и генетики СО РАН; e-mail: orlovpavel186@gmail.com.

Максимов Владимир Николаевич — г. м. н., старший научный сотрудник ФГБУ НИИ терапии СО РАМН; e-mail: medik11@mail.ru.

Никулин Дмитрий Александрович — врач отделения функциональной диагностики ФГБУЗ СКЦ ФМБА России; e-mail: nikulin@inbox.ru.

Прокопенко Семен Владимирович — г. м. н., проф., зав. кафедрой неврологии и традиционной медицины с курсом ПО КрасГМУ; e-mail: s.v.proc.58@mail.ru.

© АГЕЕВА Е. С., ШТЫГАШЕВА О. В.

УДК 616.33-002.27

РОЛЬ TNF-А В РАЗВИТИИ *HELICOBACTER PYLORI*-АССОЦИИРОВАННОГО ХРОНИЧЕСКОГО АТРОФИЧЕСКОГО ГАСТРИТА

Е. С. Агеева, О. В. Штыгашева

ФГБОУ ВПО Хакасский государственный университет имени Н. Ф. Катанова Министерства здравоохранения РФ, ректор — д. м. н. О. В. Штыгашева; кафедра фундаментальной медицины и гигиены, зав. — к. м. н. Е. С. Агеева.

Резюме. В статье представлены данные исследования уровня продукции TNF α в сыворотке крови у больных с *Helicobacter pylori*-ассоциированным хроническим атрофическим гастритом, среди жителей Республики Хакасия европеоидного происхождения, а также характер распределения полиморфизма G-308A гена TNF α . Показано, что у больных характерно увеличение уровня интерлейкина по сравнению с группой здоровых доноров. Выявлено, что риск развития хронического атрофического гастрита, при инфицировании *Helicobacter pylori*, ассоциирован с генотипом GA-308 TNF α .

Ключевые слова: *Helicobacter pylori*, атрофический гастрит, фактор некроза опухоли, полиморфизм генов.

Установлено, что хронический атрофический гастрит увеличивает риск рака желудка [14]. Результаты исследований показывают, что рак желудка возникает в 6-8 раз чаще у пациентов с атрофическим гастритом, чем у лиц без атрофического гастрита [4]. Ключевая роль в развитии хронического атрофического гастрита и последующая его трансформация в рак желудка ассоциирована с инфекцией *H. pylori* [5]. Попадая в слизистую оболочку желудка инфект, индуцирует синтез провоспалительных цитокинов (IL-1 β , TNF α). Оба цитокина IL-1 β , TNF α — обладают способностью вызывать воспаление и оказывать гипоацидный эффект [9, 10]. При этом выраженность воспаления приводит к атрофическим изменениям, а, следовательно, способствует дальнейшему прогрессированию гипоацидоза за счет функциональной инактивации специализированных структур слизистой оболочки желудка [1]. Интенсивность воспалительной реакции может модулироваться индивидуальными особенностями человека — полиморфизмом генов [1].

Ген TNF α расположен на 6-й хромосоме в локусе p21.3, промоторная зона гена TNF α включает 8 полиморфных участков с единичными нуклеотидными заменами, из них наиболее

изученными являются C-857T, G-308A и G-237A [12].

Известно, что аллель G в позиции -308 гена TNF α в гомозиготном состоянии является благоприятным прогностическим фактором, препятствующим клиническим проявлениям инфекционно-воспалительных заболеваний. В то время как наличие аллеля A -308 гена TNF α приводит к повышенной экспрессии данного цитокина и ассоциирован с высоким уровнем *H. pylori*-инфекции и риском рака желудка [7].

Целью исследования являлось определение концентрации TNF α и характера распределения полиморфизма G-308A гена TNF α у больных с *H. pylori*-ассоциированным хроническим атрофическим гастритом.

Материалы и методы

Исследование проведено у 21 пациента с хроническим атрофическим гастритом, из них 13 мужчин и 8 женщин, жителей Республики Хакасия европеоидного происхождения. Средний возраст обследованных составил 43,4 \pm 7,1 лет. Диагноз хронического гастрита устанавливался при морфологическом исследовании в соответствии с классификацией, разработанной на основе Сиднейской

системы [6] с использованием эзофагогастроуденоскопии (ЭФГДС) (оценивались признаки, разработанные на основе Лос-Анджелеской системы). Группу контроля составили 27 здоровых доноров с аналогичными характеристиками по полу и возрасту.

Работа проведена с соблюдением принципов добровольности и конфиденциальности, получено разрешение локального этического комитета (протокол № 1934 от 28.03.2011).

Наличие *H. pylori* должно было быть подтверждено хотя бы одним из четырех методов: цитологическим, быстрым уреазным, серологическим – исследование IgG к *H. pylori* методом твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА) тест-системой «Вектор-Бест» (г. Новосибирск) и/или методом ПЦР в биоптатах слизистой оболочки желудка.

Уровень TNF α в сыворотке крови определяли ИФА, используя тест-системы «Протеиновый контур», г. Санкт-Петербург. Учет результатов проводили с использованием спектрофотометра Immunochem 2100 («ThermoLabSistems», Финляндия). Результаты выражали в пкг/мл.

Для анализа частоты распределения аллельных вариантов G-308A гена TNF α был выполнен рестрикционный анализ. ДНК выделяли из венозной крови методом фенол-хлороформной экстракции. Амплификацию проводили с использованием праймеров: F 5'-aggcaatagggttttgaggccat-3' и R 5'-acactcccccctctcccggt-3'. Для рестрикции к амплификату добавляли рестрикционную смесь, содержащую 0,3 мкл фермента Bsp19 I (3 ед), 0,15 мкл BSA, 1,5 мкл буфера из расчета на 1 пробу. Инкубировали при 37 °C в течение 12 часов, наличие аллеля А формировало сайт рестрикции. Полученные ПЦР-продукты анализировали электрофорезом в 4 % агарозном геле.

Результаты измерений уровня TNF α представлены в виде медианы (Me) и интерквартильного размаха 25 и 75 перцентилей (Q25 и Q75). Для проверки статистической значимости различий показателей в сравниваемых группах использовали критерий Вилкоксона-Манна-Уитни. Различия считались достоверными при уровне значимости $p < 0,05$. При описании генетических характеристик исследованных групп использовали следующие методы: распределение генотипов проверяли на соответствие равновесию Харди-Вайнберга (ХВ) с помощью критерия χ^2 . Для проверки значимости общей меры связи использовали критерий χ^2 Мантла-Ханзела, позволяющего оценить значение критерия отношения шансов (OR – Odds Ratio) с расчетом для него 95% доверительного интервала (CI – Confidence Intervals).

Результаты и обсуждение

В результате исследования было показано, что у пациентов с атрофическим хроническим гастритом уровень TNF α в сыворотке крови был значительно выше, чем в контроле. У больных содержание TNF α составило 1200,0 (720,0-2000,0) пкг/мл, в группе здоровых доноров значения интерлейкина находились на уровне 40,0 (24,0-56,0) пкг/мл, $p < 0,05$.

Известно, что в очаге воспаления TNF α запускает «цитокиновый каскад», увеличивает продукцию IL-1 β , IL-2, IL-6, IL-10, оказывая провоспалительную функцию,

а, следовательно, увеличивая повреждение слизистой оболочки желудка [2]. Эффекты цитокина зависят от его концентрации. Гиперпродукция TNF α может быть одним из основных механизмов активации инфекционного процесса при переходе от бессимптомного носительства к фазе клинических проявлений, что свидетельствует о прогрессировании заболевания. Кроме того, уровень цитокина в сыворотке крови значительно увеличивается при антигенной нагрузке, а так же в результате генетического полиморфизма.

В результате исследования распределения частот аллелей и генотипов G – 308A TNF α показано, что распределение генотипов соответствовало ожидаемому при распределении Харди-Вайнберга (табл. 1).

Таблица 1

Частота генотипов и аллелей G-308A гена TNF α у пациентов с хроническим атрофическим гастритом

Группы	Здоровые доноры		Больные атрофическим гастритом	
	%	n	%	n
Генотипы				
GG	55,5	15	38,1 ¹	8
GA	33,3	9	52,4 ¹	11
AA	11,2	3	9,5	2
Аллели				
G	72,2		64,3	
A	27,3		35,7	
Равновесие Харди-Вайнберга (χ^2)	0,77 ²		0,41 ²	

Примечание: ¹ – $p < 0,05$ – достоверность различий показателей по сравнению со здоровыми донорами, ² – $p > 0,05$ – распределение частот генотипов, соответствующее закону Харди-Вайнберга.

Доминирующим генотипом среди обследованных контрольной группы был гомозиготный по дикому аллелю GG-308 TNF α (55,5 %). Подобное распределение является характерным как для европеоидов, так и для монголоидов, где гомозиготный генотип дикого типа GG-308 TNF α является преобладающим [3]. Второй по частоте встречаемости в этой группе был – гетерозиготный генотип GA-308 TNF α (33,3 %). Несколько реже встречался генотип AA-308 TNF α (11,2 %).

В группе пациентов с атрофическим гастритом доля гетерозигот GA – 308 TNF α увеличивалась (52,4 %) и была выше по сравнению с контролем ($\chi^2 = 7,35$; $p < 0,05$, табл. 1). И, наоборот, доля GG – 308 TNF α (38,1 %) у пациентов с атрофическим гастритом снижалась относительно контроля ($\chi^2 = 5,78$; $p < 0,05$). Частота генотипа AA – 308 TNF α у больных атрофическим гастритом составила 9,5 % и не имела достоверных различий по сравнению с частотой данного генотипа в контроле (табл. 1).

Учитывая значение критерия отношения шансов (OR = 2,20 при 95 % CI (1,19 – 4,06)), можно сделать вывод о положительной ассоциации генотипа GA-308 TNF α

с риском развития атрофического гастрита. В то же время на основании значения критерия отношения шансов (OR = 0,50 при 95 % CI (0,27-0,92)) уместно положение о протективном эффекте генотипа GG-308 TNF α в отношении риска развития хронического гастрита.

Сравнивая, полученные нами результаты о взаимосвязи генотипов и риска развития атрофического гастрита, можно отметить, подобные результаты были получены N. Moorchung et al. (2007), D Szoke et al. (2008), которые показали взаимосвязь между носительством генотипа GA-308 TNF α и риском развития хронического гастрита [11, 13]. В то время как W.K. Leung (2006) и J.H. Yoon et al. (2010), наоборот, показали протективный эффект генотипа GA-308 TNF α [8, 15].

Таким образом, в результате проведенного нами исследования можно заключить, что у больных с атрофическим гастритом наблюдается увеличение концентрации TNF α . Данный факт, несомненно, является одним из звеньев иммунопатогенеза *H. pylori*-ассоциированного атрофического гастрита. У европеоидов, проживающих на территории Республики Хакасия, риск развития атрофического гастрита, при инфицировании *H. pylori*, ассоциирован с генотипом GA-308 TNF α . Одновременно с этим фактором, оказывающим протективное действие, является GG-308 TNF α .

THE ROLE OF TNF-A IN THE DEVELOPMENT OF HELICOBACTER PYLORI-ASSOCIATED CHRONIC ATROPHIC GASTRITIS

E. S. Ageeva, O. V. Shtygasheva
Khakas State University of N.F. Katanov

Abstract. The paper presents the data of the level of production of TNF α in blood serum in patients with Helicobacter pylori-associated chronic atrophic gastritis among the inhabitants of the Republic of Khakassia of Europeoid origin, as well as the distribution of G-308A polymorphism of the gene TNF α . It is shown that patients are characterized by increased levels of interleukin compared with healthy donors. It was revealed that the risk of chronic atrophic gastritis when infected with Helicobacter pylori, is associated with genotype GA-308 TNF α .

Key words: Helicobacter pylori, atrophic gastritis, tumor necrosis factor, gene polymorphism.

Литература

1. Имянитов Е.Н. Эпидемиология и биология рака желудка // Практическая онкология. – 2009. – Т. 10, № 1. – С. 1-7.
2. Телетаева Г.М. Цитокины и противоопухолевый иммунитет // Практическая онкология. – 2007. – Т. 8, № 4. – С. 211-218.
3. Шевченко А.В., Голованова О.В., Коненков В.И. Особенности полиморфизма промоторных регионов генов цитокинов IL1, IL4, IL5, IL6, IL10 и TNF α у европеоидного

населения Западной Сибири // Иммунология. – 2010. – № 4. – С. 176-181.

4. Янкин А.В. Скрининг рака желудка // Практическая онкология. – 2010. – Т. 11, № 2. – С. 96-101.

5. Ando T., Goto Y., Maeda O. et al. Causal role of Helicobacter pylori infection in gastric cancer // World J. Gastroenterol. – 2006. – Vol. 12. – P. 181-186.

6. Dixon, M.F., Genta R.M., Yardley J.H. Histological classification of gastritis and Helicobacter Pylori infection: an agreement at last? The International Workshop on the Histopathology of Gastritis // Helicobacter. – 1997. – Vol. 2 (S. 1). – P. 17-24.

7. Hamajima N., Naito M., Kondo T., Goto Y. Genetic factors involved in the development of Helicobacter pylori-related gastric cancer // Cancer Sci. – 2006. – Vol. 97. – P. 1129-1138.

8. Leung W.K., Chan M.C., To K.F. et al. H. pylori genotypes and cytokine gene polymorphisms influence the development of gastric intestinal metaplasia in a Chinese population // Am. J. Gastroenterol. – 2006. – Vol. 101. – P. 714-720.

9. Lochhead P., El-Omar E.M. Gastric cancer // Brit. Med. Bull. – 2008. – Vol. 85. – P. 87-100.

10. Lochhead P., El-Omar E.M. Helicobacter pylori infection and gastric cancer // Best Pract Res Clin Gastroenterol. – 2007. – Vol. 21. – P. 281-297.

11. Moorchung N., Srivastava A.N., Gupta N.K. et al. Cytokine gene polymorphisms and the pathology of chronic gastritis // Singapore Med. J. – 2007. – Vol. 48. – P. 447-454.

12. Ohyama I., Ohmiya N., Niwa Y. et al. The association between tumour necrosis factor-alpha gene polymorphism and the susceptibility to rugal hyperplastic gastritis and gastric carcinoma // European Journal of Gastroenterology and Hepatology. – 2004. – Vol. 16. – P. 693-700.

13. Szoke D., Molnar B., Solymosi N. et al. T-251A polymorphism of IL-8 relating to the development of histological gastritis and G-308A polymorphism of TNF- α relating to the development of macroscopic erosion // Eur. J. Gastroenterol. Hepatol. – 2008. – Vol. 20. – P. 191-195.

14. Uemura N., Okamoto S., Yamamoto S. et al. Helicobacter pylori infection and the development of gastric cancer // N. Engl. J. Med. – 2001. – Vol. 345. – P. 784-789.

15. Yoon J.H., Jae H.S., Young H.K., et al. TNF- α and TNF- β polymorphisms with susceptibility to gastric cancer in a Korean population // Molecular and Cellular Toxicology. – 2010. – Vol. 6, № 2. – P. 161-167.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ (№ 11-04-98051-04-350 p_сибирь_a).

Сведения об авторах

Агеева Елизавета Сергеевна – к. м. н., зав. кафедрой фундаментальной медицины и гигиены ФГБОУ ВПО Хакасский государственный университет им. Н. Ф. Катанова; e-mail: Ageevaeliz@rambler.ru.

Штыгашева Ольга Владимировна – г. м. н., ректор ФГБОУ ВПО Хакасский государственный университет им. Н. Ф. Катанова; e-mail: Olgashtygasheva@rambler.ru.