



Ассоциация полиморфизмов генов с биологическими особенностями рака желудка

Куликов Е. П., Григоренко В. А., Пикушин И. С.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования Рязанский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова Минздрава России, (ул. Высоковольная, д. 9, г. Рязань, 390026, Россия)

Для цитирования: Куликов Е. П., Григоренко В. А., Пикушин И. С. Ассоциация полиморфизмов генов с биологическими особенностями рака желудка. Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2024;(7): 62–67. doi: 10.31146/1682-8658-ecg-227-7-62-67

✉ Для переписки:
**Пикушин
Илья Сергеевич**
pikushini@gmail.com

Куликов Евгений Петрович, д.м.н., проф., зав. кафедрой онкологии с курсом анестезиологии и реаниматологии
Григоренко Владимир Андреевич, к.м.н., ассистент кафедры онкологии с курсом анестезиологии и реаниматологии
Пикушин Илья Сергеевич, ординатор 2 года кафедры онкологии с курсом анестезиологии и реаниматологии

Резюме

Цель исследования: Оценка ассоциаций полиморфных вариантов генов TNF (G308A), XPC (Lys939Gln), MTHFR (Ala222Val) с некоторыми биологическими особенностями рака желудка.

Материалы и методы. Произведена оценка полиморфных вариантов генов у 74 пациентов с верифицированным раком желудка или кардиоэзофагеальным раком (Siewert III). Генотипирование выполнялось методом выделения ДНК из лейкоцитов венозной крови обследуемых с последующей ПЦР с электрофоретической детекцией результата. Оценивалась связь полиморфных вариантов генов с такими биологическими особенностями опухоли как локализация процесса, морфологический тип, степень дифференцировки, тип роста опухоли, наличие или отсутствие лимфоваскулярной или перинеуральной инвазии.

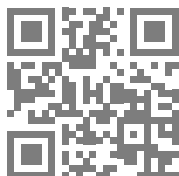
Результаты. Установлено, что у носителей гетерозиготного генотипа Lys/Gln гена XPC (Lys939Gln) в 3,3 раза чаще развивается рак тела желудка ($p=0,04$). Наличие гомозиготного генотипа по доминантному аллелю GG гена TNF (G308A) в 5,3 раза повышает развитие аденокарциномы желудка в сравнении с другими гистологическими типами ($p=0,018$), а у носителей гетерозиготного генотипа GA того же гена в 5,2 раза чаще развивается опухоль со степенью дифференцировки high-grade ($p=0,032$). У носителей рецессивного гомозиготного генотипа Val/Val гена MTHFR (Ala222Val) в сравнении с носителями другого генотипа достоверно реже развивается лимфо/васкулярная инвазия ($p=0,029$).

Заключение. Полученные данные говорят о том, что генетический статус самого пациента может повлиять на биологические характеристики рака желудка, что в свою очередь может привести к изменению тактики лечения пациента.

Ключевые слова: рак желудка, полиморфизм генов, TNF (G308A), XPC (Lys939Gln), MTHFR (Ala222Val)

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

EDN: UTMVEA





Association of gene polymorphisms with biological features of gastric cancer

E. P. Kulikov, V. A. Grigorenko, I. S. Pikushin

Ryazan State Medical University (9, Vysokovoltynaya street, Ryazan, 390026, Russia)

For citation: Kulikov E. P., Grigorenko V. A., Pikushin I. S. Association of gene polymorphisms with biological features of gastric cancer. *Experimental and Clinical Gastroenterology*. 2024;(7): 62–67. (In Russ.) doi: 10.31146/1682-8658-ecg-227-7-62-67

✉ **Corresponding author:**

Ilya S. Pikushin
pikushini@gmail.com

Evgeny P. Kulikov, MD, PhD, Professor, Head of the Department of Oncology with a course of anesthesiology and reanimatology; ORCID: 0000–0003–4926–6646, SPIN: 8925–0210, Scopus Author ID: 7003962212

Vladimir A. Grigorenko, Candidate of Medical Sciences, assistant of the Department of Oncology with a course of anesthesiology and reanimatology; ORCID: 0000–0002–4664–5723, SPIN: 7174–5611, Scopus Author ID: 57226855932

Ilya S. Pikushin, resident of the Department of Oncology with a course of anesthesiology and reanimatology; ORCID: 0000–0002–2628–0288, SPIN: 9790–3050, Scopus Author ID: 58632576800

Summary

Aim of the investigation. To evaluate associations of polymorphic variants of TNF (G308A), XPC (Lys939Gln), MTHFR (Ala222Val) genes with some biological features of gastric cancer.

Materials and Methods. We evaluated polymorphic gene variants in 74 patients with verified gastric cancer or gastroesophageal junction cancer (Siewert III). Genotyping was performed by DNA isolation from venous blood leukocytes of the subjects followed by PCR with electrophoretic detection of the result. The association of polymorphic variants of genes with such biological features of the tumor as localization of the process, morphological type, degree of differentiation, type of tumor growth, presence or absence of lymphovascular or perineural invasion was evaluated.

Results. Lys/Gln genotype of XPC gene (Lys939Gln) are 3.3 times more likely to develop gastric body cancer ($p=0.04$). Genotype GG of TNF gene (G308A) 5.3 times increases the development of gastric adenocarcinoma in comparison with other histological types ($p=0.018$), genotype GA of the same gene 5.2 times more often develop tumor with high-grade differentiation degree ($p=0.032$). Val/Val genotype of the MTHFR gene (Ala222Val) are significantly less likely to develop lymphatic/vascular invasion compared to carriers of the other genotype ($p=0.029$).

Conclusion. The obtained data suggest that the genetic status of the patient itself may affect the biological characteristics of gastric cancer, which in turn may lead to a change in the patient's treatment tactics.

Keywords: gastric cancer, gene polymorphism, TNF (G308A), XPC (Lys939Gln), MTHFR (Ala222Val)

Conflict of interests. The authors declare no conflict of interest.

Введение

Рак желудка занимает одну из лидирующих позиций в структуре онкологической заболеваемости в Российской Федерации. Ежегодно в нашей стране он диагностируется более чем у 19 тысяч человек [1].

В последние годы заболеваемость раком желудка в большинстве стран снизилась. Однако результаты лечения данной категории больных остаются неудовлетворительными. Высокие показатели смертности от рака желудка во многом связаны с поздней диагностикой, около 57% всех раков желудка выявляются на 3–4 стадии [2].

Важным компонентом лечения рака желудка на поздних стадиях является лекарственная терапия. Но из-за биологической гетерогенности

некоторые опухоли оказываются к ней малочувствительны [3, 4].

В связи с широким внедрением генетического тестирования в клиническую практику, ведутся попытки создания молекулярной классификации рака желудка, на основании которой, было бы возможно предсказать ответ опухоли на лечение. Наиболее перспективными в этом плане являются классификации TCGA и ACRG, предложенные в 2014 и 2015 годах. Однако они включают в себя определение молекулярного профиля только опухоли, не учитывая генетический статус конкретного пациента. [5, 6].

Биологические особенности рака желудка и ответ на проводимое лечение во многом могут быть

обусловлено индивидуальным генотипом пациента. В связи с этим, весьма актуальным является поиск ассоциаций полиморфных вариантов генов с различными характеристиками опухолевого процесса. Такая связь доказана для многих локализаций, например, для колоректального рака. Литературных данных по раку желудка встречается значительно меньше. [7, 8].

Материалы и методы

Проспективно проанализированы образцы крови 74 пациентов с верифицированным раком желудка или кардиоэзофагеальным раком (Siewert III), которые получали лечение на базе ГБУ РО ОКОД в 2023 году. Критериями включения являлись: подписанное добровольное согласие на проведение исследования, наличие морфологической верификации опухоли. Критериями исключения явились: отсутствие морфологической верификации опухоли, иные опухоли желудка, не попадающие под критерии включения (кардиоэзофагальный рак Siewert I–II, плоскоклеточный рак пищевода-желудочного перехода, НЭО, ГИСО желудка и т.п.).

Определение полиморфных вариантов генов выполнялось на базе ЦНИЛ ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России методом выделения ДНК из лейкоцитов венозной крови с последующей ПЦР и электрофоретической детекцией результата реактивами «SNP-ЭКСПРЕСС» (НПФ «Литех», Россия).

В исследуемой группе преобладали мужчины – 58 человек (78.4%), женщин было 16 (21.6%). Соотношение мужчин к женщинам составило 3,6 к 1, что соответствует общей заболеваемости при раке желудка.

Минимальный возраст заболевшего составил 42 года, максимальный – 82 года. Медиана возраста

Цель исследования – оценка ассоциаций полиморфных вариантов генов TNF (G308A), XPC (Lys939Gln), MTHFR (Ala222Val) с такими биологическими особенностями опухоли как локализация процесса, морфологический тип, степень дифференцировки, тип роста опухоли, наличие или отсутствие лимфоваскулярной или периневральной инвазии.

67 лет [Q1-Q3; 60;70]. Возрастной состав группы представлен на рисунке 1.

Распределение по стадиям на момент лечения (по клиническим стадиям) было относительно равномерное и представлено в таблице 1:

Локализации опухоли распределились следующим образом: на долю рака верхней трети желудка (рак кардии, субкардиальный отдел) приходится 24,3% (18 случаев), средней трети (рак тела желудка) – 58,1% (43 случая), нижней трети (рак антрального, пилорического отделов) – 17,6% (13 случаев)

Подавляющее большинство опухолей было представлено аденокарциномой. В исследовании их было 63, что составляет 85,1%, перстневидноклеточный рак встречался в 10 случаях (13,7%), в 1 случае данные о морфологическом типе опухоли не получены (1,2%).

Для определения типа опухолевого роста использовалась классификация Bormann (1926). Наиболее часто встречались блядцеобразный и язвенно-инфильтративный типы рака желудка. Распределение по типам роста представлено в таблице 2

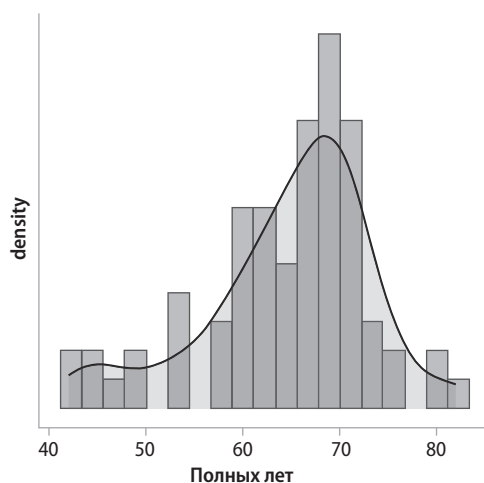
Для определения степени дифференцировки опухоли использовалась бинарная система ВОЗ, которая делит рак желудка на low-grade (G1-G2) и high-grade (G3-G4, все перстневидноклеточные раки). Распределение по критерию G в исследуемой группе было равномерным и составило 36 случаев (49,3%) опухолей low-grade и 34 случая (46,6%) high-grade. В 4 случаях (4,1%) данные отсутствуют.

У 51 пациента, которые были подвергнуты радикальному хирургическому лечению, определялось наличие лимфо/васкулярной и периневральной инвазии. Распределение по данным показателям отображено в таблице 3

Сравнение процентных долей при анализе многопольных таблиц сопряженности выполнялось при помощи критерия χ^2 Пирсона с последующим анализом четырехпольных таблиц для результатов показавших достоверную разницу. В качестве количественной меры эффекта при сравнении относительных показателей нами использовался показатель отношения шансов (odds ratio/OR) с построением границ 95% доверительного интервала (95% CI). Статистический анализ проводился с использованием программы Jamovi 2.4.14

Рисунок 1.
Возрастной состав
исследуемой
группы

Figure 1.
Age structure of the
study group



Результаты

При проведении анализа в отношении гена TNF (G308A) было установлено, что подавляющее большинство пациентов имело гомозиготный генотип по

доминантному аллелю GG, они составили 85,1%, 13,5% – имели гетерозиготный генотип GA, В 1,4% встречался гомозиготный генотип по рецессивному аллелю AA.

Таблица 1.
Распределение по стадиям на момент начала лечения (клинические стадии)

I		II		III		IV	
Количество	% от общего количества	Количество	% от общего количества	Количество	% от общего количества	Количество	% от общего количества
13	17,6%	21	28,4%	27	36,5%	13	17,6%

Таблица 2.
Распределение по типам опухолевого роста

Тип роста	Количество	% от общего количества
Полиповидный	9	12,2%
Блюдцеобразный	26	35,2%
Язвенно-инфильтративный	27	36,5%
Linitis plastica	11	14,9%
Нет данных	1	1,2%

Таблица 3.
Распределение по наличию лимфо/васкулярной и периневральной инвазии

	Лимфо/васкулярная инвазия		Периневральная инвазия	
	Количество	% от общего количества	Количество	% от общего количества
Нет	32	62,7%	37	72,5%
Да	19	37,3%	14	27,5%

Таблица 4.
Распределение по генотипам

Ген/ Генотип	Ген TNF (G308A)		Ген XPC (Lys939Gln)		Ген MTHFR (Ala222Val)	
	Количество	% от общего количества	Количество	% от общего количества	Количество	% от общего количества
AA	63	85,1%	35	47,3%	36	48,6%
A/a	10	13,5%	28	37,8%	30	40,5%
a/a	1	1,4%	11	14,9	8	10,8

Таблица 5.
Общий анализ ассоциации полиморфизма гена XPC (Lys939Gln) с локализацией опухолевого процесса

	Ген XPC (Lys939Gln)			
	Lys/ Lys	Lys/Gln	Gln/Gln	Всего
Верхняя треть	13	3	2	18
Тело	17	21	5	43
Средняя треть	5	4	4	13
Всего	35	28	11	74

Таблица 6.
Углубленный анализ ассоциации полиморфизма гена XPC (Lys939Gln) с локализацией опухолевого процесса

	Ген XPC (Lys939Gln)		
	Гетерозиготный генотип Lys/Gln	Негетерозиготный генотип	Всего
Тело желудка	21	22	43
Другая локализация	7	24	31
Всего	28	46	74

Анализ полиморфизма гена XPC (Lys939Gln) показал, что на долю гомозиготного генотипа по доминантному аллелю Lys/Lys приходится 47,3%, гетерозиготного генотипа Lys/Gln – 37,8%, генотипа по рецессивному аллелю – 14,9%.

Практически аналогичное распределение по генотипам наблюдается и при анализе гена MTHFR (Ala222Val). Генотип Ala/Ala встречается в 48,6%, Ala/Val – 40,5%, Val/Val – 10,8.

Распределение по генотипам представлено в таблице 4

При проведении анализа в отношении локализации опухоли были выявлены следующие закономерности: полиморфные варианты гена TNF (G308A) не оказывают значимого влияния на локализацию опухоли (p=0.865). Аналогичные данные наблюдаются и в отношении полиморфизма MTHFR (Ala222Val) (p=0. 921). Однако

была выявлена достоверная связь между локализацией и вариантами гена XPC (Lys939Gln) (p=0.05). Установлено, что у носителей гетерозиготного генотипа Lys/ Gln в сравнении с носителями другого генотипа в 3,3 раза чаще развивается рак тела желудка (p=0,04; OR = 3,3; CI 1,2–9,2). Результаты анализа представлены в таблицах 5 и 6.

При анализе ассоциаций с морфологическим типом опухоли, связи между вариантами генов XPC (Lys939Gln) и MTHFR (Ala222Val) установлено не было (p=0.438 и p=0.586 соответственно). В отличие от них ген TNF (G308A) демонстрирует достоверную разницу среди групп с разным гистологическим типом опухоли (p=0.032). Так у носителей доминантного гомозиготного генотипа GG в 5,3 раза чаще развивается аденокарцинома желудка в сравнении с носителями другого генотипа

Таблица 7.
Общий анализ ассоциации полиморфизма гена TNF (G308A) с морфологическим типом опухоли

Ген TNF (G308A)			
	GG	GA	AA
Аденокарцинома	56	6	1
Перстневидноклеточный рак	6	4	0
Всего	62	10	1

Таблица 8.
Углубленный анализ ассоциации полиморфизма гена TNF (G308A) с морфологическим типом опухоли

Ген TNF (G308A)			
	Гомозиготный доминантный генотип	Другой генотип	Всего
Аденокарцинома	56	7	63
Перстневидноклеточный рак	6	4	10
Всего	62	11	73

Таблица 9.
Общий анализ ассоциации полиморфизма гена TNF (G308A) со степенью дифференцировки опухоли

Ген TNF (G308A)			
	GG	GA	AA
low-grade	34	2	0
high-grade	25	8	1
Всего	59	10	1

Таблица 10.
Углубленный анализ ассоциации полиморфизма гена TNF (G308A) со степенью дифференцировки опухоли

Ген TNF (G308A)			
	Гетерозиготный генотип GA	Гомозиготные генотипы	Всего
low-grade	2	34	36
high-grade	8	26	34
Всего	10	60	70

Таблица 11.
Общий анализ ассоциации полиморфизма MTHFR (Ala222Val) с наличием или отсутствием лимфо/васкулярной инвазии

Ген MTHFR (Ala222Val)			
	Ala/Ala	Ala/Val	Val/Val
Отсутствие лимфо/васкулярной инвазии	15	10	7
Наличие лимфо/васкулярной инвазии	6	13	0
Всего	21	23	7

Таблица 12.
Углубленный анализ ассоциации полиморфизма MTHFR (Ala222Val) с наличием или отсутствием лимфо/васкулярной инвазии

Ген MTHFR (Ala222Val)			
	Гомозиготный рецессивный генотип	Другой генотип	Всего
Отсутствие лимфо/васкулярной инвазии	7	25	32
Наличие лимфо/васкулярной инвазии	0	19	19
Всего	7	44	51

($p=0,018$; OR = 5,3; CI 1,2–23,7). Результаты анализа представлены в таблицах 7 и 8.

При проведении анализа связи вариантов полиморфизмов исследуемых генов с типом опухолевого роста достоверных различий не получено: TNF (G308A) ($p=0.834$) XPC (Lys939Gln) ($p=0.240$) MTHFR (Ala222Val) ($p=0.304$)

Другие данные получены при анализе ассоциаций со степенью дифференцировки опухоли. Установлено, что варианты гена TNF (G308A) влияют на опухолевый grade ($p=0.05$). Углубленный анализ показал, что у носителей гетерозиготного генотипа GA в 5,2 раза чаще развивается опухоль со степенью дифференцировки high-grade

в сравнении с носителями другого генотипа ($p=0,032$; OR = 5,2; CI 1,02–26,7). Результаты представлены в таблицах 9 и 10. Связи с генами XPC (Lys939Gln) ($p=0.623$) MTHFR (Ala222Val) ($p=0.996$) не получено.

При сравнении пациентов с наличием или отсутствием периневральной инвазии ни один ген не показал достоверных различий.

При сравнении пациентов с наличием или отсутствием лимфо/васкулярной инвазии, также не получены достоверные данные в отношении генов TNF (G308A) и XPC (Lys939Gln). Однако ген MTHFR (Ala222Val) демонстрирует статистически значимое различие в группах. У носителей

рецессивного гомозиготного генотипа Val/Val в сравнении с носителями другого генотипа достоверно реже развивается Лимфо/васкулярная инвазия ($p=0,029$). Однако, это может быть связано

с отсутствием в группе лимфоваскулярной инвазии пациентов с аллелем Val/Val. Оценить отношение шансов в связи с этим не удастся. Результаты анализа представлены в таблицах 11 и 12.

Обсуждение и выводы

Генотип гена TNF (G308A) по доминантному аллелю демонстрирует связь с развитием аденокарциномы желудка, которая является наиболее благоприятным гистологическим вариантом опухоли. Гетерозиготный генотип этого же гена ассоциирован с развитием более неблагоприятной степени дифференцировки high-grade, что в свою очередь может оказать влияние на чувствительность к химиотерапии.

У носителей гетерозиготного генотипа Lys/ Gln гена XPC (Lys939Gln) чаще развивается рак тела желудка, который, как правило, ведет к более агрессивной хирургической тактике лечения.

Вариант Val/Val гена MTHFR (Ala222Val) показывает связь с отсутствием лимфо/васкулярной инвазии. Однако эти данные требуют уточнения при накоплении большего количества анализируемых случаев.

Полученные данные говорят о том, что генетический статус самого пациента может повлиять на биологические характеристики рака желудка, что в свою очередь может привести к изменению тактики лечения пациента.

Исследование полиморфных вариантов генов может стать одним из путей развития персонализированных алгоритмов лечения рака желудка.

Литература | References

1. Kaprin A.D., Starinsky V. V., Shakhzadova A. O. [Malignant neoplasms in Russia in 2021 (incidence and mortality)]. Moscow. P. A. Herzen Moscow Oncology Research Institute – branch of the Federal State Budgetary Institution «NMITS of Radiology» of the Ministry of Health of Russia, 2022, 252 p. (in Russ.)
Каприн А. Д. Злокачественные новообразования в России в 2021 году (заболеваемость и смертность) / Под ред. А. Д. Каприна, В. В. Старинского, А. О. Шахзадовой – М.: МНИОИ им. П. А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, – 2022. – илл. – 252 с.
2. Kaprin A.D., Starinsky V. V., Shakhzadova A. O. [The state of oncological care for the population of Russia in 2021]. Moscow. P. A. Herzen Moscow Oncology Research Institute – branch of the Federal State Budgetary Institution «NMITS of Radiology» of the Ministry of Health of the Russian Federation, 2022. 239 p. (in Russ.)
Под ред. А. Д. Каприна, В. В. Старинского, А. О. Шахзадовой Состояние онкологической помощи населению России в 2021 году. – М.: МНИОИ им. П. А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, 2022. – илл. – 239 с.
3. Danilova I. A. [The state and prospects of modern clinical and morphological population assessment of gastric cancer]. *Russian Medical and Biological Bulletin named after Academician I. P. Pavlov*. 2010;18(4):15–23. (in Russ.)
Данилова И. А. Состояние и перспективы современной клинико-морфологической популяционной оценки рака желудка. *Российский медико-биологический вестник им. академика И. П. Павлова*. 2010;18(4):15–23.
4. Machlowska J., Baj J., Sitarz M., Maciejewski R., Sitarz R.. Gastric Cancer: Epidemiology, Risk Factors, Classification, Genomic Characteristics and Treatment Strategies. *Int J Mol Sci*. 2020 Jun 4;21(11):4012. doi: 10.3390/ijms21114012.
5. Röcken C. Predictive biomarkers in gastric cancer. *J Cancer Res Clin Oncol*. 2023 Jan;149(1):467–481. doi: 10.1007/s00432–022–04408–0.
6. Bonelli P., Borrelli A., Tuccillo F. M., Silvestro L., Palaia R., Buonaguro F. M. Precision medicine in gastric cancer. *World J Gastrointest Oncol*. 2019 Oct 15;11(10):804–829. doi: 10.4251/wjgo.v11.i10.804.
7. Kulikov E. P., Mertsalov S. A., Nikiforov A. A., Sudakov A. I., Grigorenko V. A. Polymorphism of xpd gene in colorectal cancer. *SCIENCE OF THE YOUNG (Eruditio Juvenium)*. 2019;7(3):340–8. (in Russ.) doi: 10.23888/HMJ201973340–348.
Куликов Е. П., Мерцалов С. А., Никифоров А. А., и др. Полиморфизм гена XPD при колоректальном раке. *Наука молодых (Eruditio Juvenium)*. 2019;7(3):340–8. doi: 10.23888/HMJ201973340–348.
8. Kulikov E. P., Sudakov A. I., Nikiforov A. A., Mertsalov S. A., Grigorenko V. A. Significance of gene polymorphism in development of colorectal cancer. *I. P. Pavlov Russian Medical Biological Herald*. 2020;28(2):127–134. (in Russ.) doi: 10.23888/PAVLOVJ2020282127–134.
Куликов Е. П., Судаков А. И., Никифоров А. А., Мерцалов С. А., Григоренко В. А. Значение полиморфизма генов в развитии колоректального рака. *Российский медико-биологический вестник им. академика И. П. Павлова*. 2020;28(2):127–134.