

УДК 616.33–002.2–006:571.27

ИЗМЕНЕНИЯ СЫВОРОТОЧНОГО УРОВНЯ ТУМОРНЕКРОТИЗИРУЮЩЕГО ФАКТОРА-α ПРИ ЗАБОЛЕВАНИЯХ ЖЕЛУДКА

Матвеева Л. В.¹, Капкаева Р. Х.¹, Чудайкин А. Н.¹, Мишанина Л. С.²

¹ ФГБОУ ВО «МГУ им. Н. П. Огарёва»

² ГБУЗ РМ «Мордовская республиканская клиническая больница» (г. Саранск, Россия)

CHANGES OF THE SERUM LEVELS OF TUMOR NECROSIS FACTOR-α AT DISEASES GASTRIC

Matveeva L. V.¹, Kapkaeva R. H.¹, Chudajkin A. N.¹, Mishanina L. S.²

¹ Ogarev Mordovia State University

² Mordovia Republican clinical hospital (Saransk, Russia)

Для цитирования: Матвеева Л. В., Капкаева Р. Х., Чудайкин А. Н., Мишанина Л. С. Изменения сывороточного уровня туморнекротизирующего фактора-α при заболеваниях желудка. Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2018;151(3): 53–57.

For citation: Matveeva L. V., Kapkaeva R. H., Chudajkin A. N., Mishanina L. S. Changes of the serum levels of tumor necrosis factor-α at diseases gastric. Experimental and Clinical Gastroenterology. 2018;151(3): 53–57.

Матвеева Любовь Васильевна — к.м.н., доцент кафедры иммунологии, микробиологии и вирусологии ФГБОУ ВО «МГУ им. Н. П. Огарёва»

Капкаева Регина Харисовна — ассистент кафедры иммунологии, микробиологии и вирусологии ФГБОУ ВО «МГУ им. Н. П. Огарёва»

Чудайкин Александр Николаевич — аспирант кафедры иммунологии, микробиологии и вирусологии ФГБОУ ВО «МГУ им. Н. П. Огарёва»

Мишанина Лидия Сергеевна — врач-гастроэнтеролог ГБУЗ РМ «Мордовская республиканская клиническая больница»

Matveeva Ljubov Vasilevna — PhD, Associate Professor, Department of Immunology, Microbiology and Virology, Ogarev Mordovia State University

Kapkaeva Regina H. — assistant, Department of Immunology, Microbiology and Virology, Ogarev Mordovia State University

Chudajkin Alexandr N. — PhD student, Department of Immunology, Microbiology and Virology, Ogarev Mordovia State University

Mishanina Lidiya Sergeevna — doctor-gastroenterologist, Mordovia Republican clinical hospital

**Матвеева
Любовь Васильевна**
Matveeva Ljubov V.
MatveevaLjubov1@mail.ru

Резюме

Цель исследования — определить сывороточный уровень туморнекротизирующего фактора-α (TNF-α) при заболеваниях желудка в сопоставлении с морфологическими изменениями слизистой оболочки желудка (СОЖ).

Материалы и методы. Обследовали при информированном согласии 204 пациентов с предопухолевыми заболеваниями желудка, 40 больных раком желудка, 40 здоровых добровольцев. Количество TNF-α в сыворотке крови определяли методом иммуноферментного анализа.

Результаты. Сывороточный уровень TNF-α у больных хроническим гастритом, язвенной болезнью, полипозом, раком желудка значимо превышал значения здоровых лиц, коррелировал со стадией атрофии, степенью воспаления, обсемененности СОЖ *Helicobacter pylori*, тяжестью ulcerозного процесса, стадией опухолевого роста.

Заключение. Определение количества TNF-α в сыворотке крови можно использовать для иммуно-лабораторной оценки тяжести и прогнозирования течения патологического процесса в СОЖ.

Ключевые слова: туморнекротизирующий фактор-α, гастрит, язвенная болезнь, полипоз, рак желудка, *Helicobacter pylori*

Summary

The aim of the study was to determine the serum level of tumor necrosis factor-α (TNF-α) with diseases of the stomach in correlation with the morphological changes of the gastric mucosa (GM).

Materials and methods. Examined with the informed consent of the 204 patients with precancerous diseases of the stomach, 40 patients with gastric cancer, and 40 healthy volunteers. The amount of TNF-α in serum was determined by enzyme immunoassay.

Results. The serum level of TNF- α in patients with chronic gastritis, peptic ulcer, polyposis, gastric cancer significantly exceeded the values of healthy individuals, correlated with the stage of atrophy, the degree of inflammation, colonization of GM *Helicobacter pylori*, severity ulcerative process, stage of tumor growth. Conclusion. Determining the number of TNF- α in serum can be used for immuno-laboratory assessment of severity and prognosis of the pathological process in the GM.

Keywords: tumor necrosis factor- α , gastritis, peptic ulcer disease, polyposis, gastric cancer, *Helicobacter pylori*

Введение

Цитокины являются факторами, опосредующими взаимосвязь между хроническим воспалением и канцерогенезом [1].

Туморнекротизирующий фактор- α (TNF- α) проявляет эффекты провоспалительного цитокина: активирует тканевые протеазы, повышает экспрессию молекул межклеточной и сосудисто-клеточной адгезии на поверхности эндотелиоцитов, усиливая сосудистую проницаемость, облегчая трансэндотелиальную миграцию и инфильтрацию ткани лейкоцитами. TNF- α в очаге воспаления запускает цитокиновый каскад, увеличивая выработку интерлейкина (IL)-1, IL-2, IL-4, IL-6, IL-8 разными типами клеток и аутокринно стимулируя мононуклеарные фагоциты и другие продуценты [2–6]. IL-1, TNF- α в совокупности с содружественными провоспалительными цитокинами усиливают свертывание, ингибируют фибринолиз, приводя к тромбозам в микроциркуляторном русле и микрокровоизлияниям в тканях [7].

TNF- α опосредует процессы апоптоза клеток, а также может стимулировать внутриклеточные антиапоптотические механизмы и оказывать репаративное действие [3–5]. Показано [8], что *Helicobacter (H.) pylori*, активируя продукцию IL-1 β и TNF- α нейтрофилами, моноцитами, усиливает Fas-опосредованный апоптоз эпителиоцитов, лимфоцитов и моноцитов; выявлена положительная корреляция между уреазной активностью *H. pylori* и выраженностью апоптоза клеток слизистой оболочки желудка (СОЖ). Кроме того отмечено [9], что непосредственно *H. pylori*-инфицированные клетки желудка способны секретировать IL-1 β , IL-6, IL-8, TNF- α , инициируя активацию клеток врожденного

и адаптивного иммунитета. Также имеются данные [10; 11] о продукции TNF- α и приобретении прямой цитолитической активности CD4⁺-клетками при стимуляции цитомегаловирусом, обнаруживаемым с большой частотой в СОЖ [12].

Биологические эффекты цитокина зависят от его концентрации. Низкий уровень продукции TNF- α необходим для поддержания противоопухолевой защиты. Значительное повышение активности, как правило, сопряжено с реакцией повреждения и воспаления, а сверхвысокие концентрации – с развитием тяжелых генерализованных расстройств, полиорганной недостаточности [3].

Ранее установлено [13], что в начале обострения язвенной болезни желудка в сыворотке крови определяются повышенные концентрации ранних провоспалительных цитокинов, затем увеличивается уровень TNF- α , становясь максимальным в разгар заболевания. Увеличение концентрации TNF- α на фоне сниженного уровня IL-4, наблюдающееся при часто рецидивирующей, длительно незаживающей язве желудка, является неблагоприятным прогностическим признаком заболевания.

По данным А. В. Сосниной и соавт. [1], у больных хроническим атрофическим гастритом отмечается положительная корреляционная связь средней силы между индексом влияния поликлональных активаторов на продукцию TNF- α клетками крови и степенью дисплазии эпителия СОЖ.

Цель исследования – определить сывороточный уровень TNF- α при предраковых заболеваниях и раке желудка в сопоставлении с морфологическими изменениями СОЖ.

Материал и методы

Обследовали при информированном согласии 204 пациента с предопухолевыми заболеваниями, 40 больных раком желудка, 40 здоровых добровольцев, не имеющих признаков онко- и обострения гастропатологии (контрольная группа) на базе Мордовской республиканской клинической больницы, Мордовского республиканского онкологического диспансера.

Больные с обострением хронического гастрита в зависимости от стадии атрофии, определенной морфологически, были разделены на группы: 1-я группа – 42 пациента с хроническим неатрофическим гастритом, 2-я – 40 больных очагово-атрофическим (I–II стадия) гастритом, 3-я – 40 пациентов с распространенным атрофическим (III–IV стадия) гастритом. В 4-ю группу вошли 42 пациента с обострением язвенной болезни желудка,

в 5-ю группу – 40 больных полипозом желудка, в 6-ю группу – 40 больных раком желудка (при гистологическом исследовании в 82,5% случаев обнаруживалась аденокарцинома разной степени дифференцировки, в 17,5% – перстневидноклеточный рак). По полу и возрасту между группами отмечался относительный паритет.

У обследованных лиц при эзофагогастродуоденоскопии проводили забор материала при прицельной биопсии из антрального, фундального отделов, тела желудка, гастробиоптаты доставляли в патогистологическую лабораторию для исследования. Наличие и выраженность обсеменения слизистой оболочки *H. pylori* определяли при помощи тест-системы оценки уреазной активности биоптата и микроскопии мазков-отпечатков, окрашенных по Романовскому-Гимзе.

Группа	Показатель	TNF-α	
		Me [Q1; Q3]	Отклонение от нормы, %
Контрольная группа		2,8 [0; 4,5]	—
1-я группа		8,4 [6,4; 11] *	78,6
2-я группа		9 [5,2; 10,2] *	65,0
3-я группа		9,3 [6,5; 11,5] *	85,0
4-я группа		10,4 [7,2; 12,5] *# \$ Δ	88,1
5-я группа		9,4 [6,5; 10,5] *ϕ	77,5
6-я группа	до операции	19,25 [15; 23] *# \$ Δ ϕ o	100
	после операции	15,5 [11; 19] *# \$ Δ ϕ o	100

Таблица 1.
Сывороточная концентрация (пг/мл) TNF-α при заболеваниях желудка

Примечание:
значимые различия относительно контрольной группы – *, 1-й группы – #, 2-й группы – \$, 3-й группы – Δ, 4-й группы – ϕ, 5-й группы – o.

Группа	Показатель	TNF-α	
		Me [Q1; Q3]	Отклонение от нормы, %
4-я группа	Легкое течение (n=12)	6,2 [3,7; 7,4] *	58,3
	Течение средней тяжести (n=20)	10,65 [9; 12] *	100
	Тяжелое течение (n=10)	12,55 [11,8; 19,5] *	100

Таблица 2.
Сывороточный уровень (пг/мл) TNF-α в зависимости от течения язвенного процесса в желудке

Примечание:
* – значимые различия относительно контрольной группы.

Группа	Показатель	TNF-α	
		Me [Q1; Q3]	Отклонение от нормы, %
6-я группа	II стадия (n=11)	13,8 [13,5; 16] *	100
	III стадия (n=15)	18,5 [16,5; 20,5] *	100
	IV стадия (n=14)	23,25 [22; 25] *	100

Таблица 3.
Сывороточный уровень (пг/мл) TNF-α при гастроканцерогенезе

Примечание:
* – значимые различия относительно контрольной группы.

Кровь на иммунологическое обследование забиралась в утренние часы натощак из локтевой вены в объеме 5 мл в пробирку без консервантов. Время коагуляции в пробирке не превышало 30 минут при температуре 20–25 °С. Сыворотку отделяли центрифугированием, помещали в пробирки типа Эппендорф, хранили при температуре не выше –20 °С до процедуры иммуноферментного анализа.

Количество TNF-α в сыворотке крови обследованных лиц определяли методом

иммуноферментного анализа с применением тест-системы ЗАО «Вектор-Бест» (Россия), диапазоном нормальных значений, согласно рекомендации производителя, считали 0–6 пг/мл.

Результаты обрабатывали с помощью программы Microsoft Excel 2010, выражали в виде медианы (Me), 1, 3 квартилей (Q1; Q3). Показатели сравнивали с помощью критерия Манна-Уитни, коэффициента ранговой корреляции Спирмена (r_s), оценивали их статистическую значимость по степени вероятности – p. Значимыми считали различия при $p \leq 0,05$.

Результаты и обсуждение

Количество TNF-α в сыворотке крови обследованных больных превышало ($p < 0,001$) средние значения здоровых лиц во всех группах сравнения: на 222,0% в 1-й, на 199,3% во 2-й, на 251,9% в 3-й, на 285,1% в 4-й, на 238,1% в 5-й, на 620,9% в 6-й группе.

Статистически значимых различий по средним значениям TNF-α между группами больных с предраковыми состояниями не выявлено, тогда как при сравнении индивидуальных значений при помощи непараметрического теста Манна-Уитни определилось достоверное преобладание показателя при язвенном процессе (4-я группа) над данными 1–3-й и 5-й групп (табл. 1), что соответствовало большей воспалительной инфильтрации СОЖ. Ранее установлено, что TNF-α индуцирует поляризацию макрофагов в направлении M1-фенотипа, участвующих в активной фазе воспаления [14; 15].

Концентрация TNF-α > 6 пг/мл определялась у 161 (78,9%) больных с предраковыми состояниями

желудка: у 33 (78,6%) пациентов 1-й, 26 (65,0%) 2-й, 34 (85,0%) 3-й, 37 (88,1%) 4-й и 31 (77,5%) 5-й групп. У больных была выявлена положительная умеренной силы корреляция уровня TNF-α и стадии атрофии СОЖ ($r_s = +0,440$, $p < 0,01$). Кроме того при язвенном процессе наблюдалась сильная прямая взаимосвязь тяжести его течения и количества TNF-α (табл. 2) в сыворотке крови – $r_s = +0,785$, $p < 0,01$.

Сывороточный уровень TNF-α у всех обследованных больных раком желудка превышал верхнюю границу нормальных значений и значительно доминировал над значениями при предраковых состояниях: на 123,9, 140,9, 104,9, 87,2, 113,2% относительно 1-й, 2-й, 3-й, 4-й, 5-й групп ($p < 0,001$) соответственно. Количество исследуемого цитокина у больных раком желудка было сильно связано со стадией опухолевого процесса (табл. 3); $r_s = +0,887$, $p < 0,01$, превышало значения контрольной группы: до операции в 7,2 раза ($p < 0,001$) и не зависело

от гистотипа опухоли, что согласуется с литературными данными [16]. При сравнении средних и индивидуальных значений TNF- α на разных стадиях рака желудка определилось значимое увеличение показателя в ряду: II стадия < III стадия < IV стадия. После гастрэктомии уровень TNF- α у большинства больных уменьшался, особенно при низкодифференцированной аденокарциноме (на 41,0%), но границ нормы не достигал и в среднем по группе был выше значений клинически здоровых лиц на 476,0% ($p < 0,001$).

Заключение

Учитывая изменения, выявленные у обследованных больных, определение количества TNF- α в сыворотке крови можно использовать для

При корреляционном анализе изменений уровня TNF- α и степени обсемененности СОЖ *H. pylori* [17] во всех группах обследованных определилась прямая сильная взаимосвязь показателей ($r_s = +0,743 - 0,865$, $p < 0,01$), наибольшая у больных раком желудка. Полученные нами результаты подтверждают установленные ранее [18] о том, что секреция TNF- α достоверно выше у больных гастритом, инфицированных *H. pylori*, чем у здоровых лиц и не инфицированных *H. pylori* больных, коррелирует со степенью воспаления.

иммуно-лабораторной оценки тяжести и прогнозирования течения патологического процесса в СОЖ.

Литература | Reference

1. Соснина А.В., Михайлова Е. С., Аутеншилус А. И. и соавт. Цитокинпродуцирующий потенциал клеток крови и цитокины сыворотки больных хроническим атрофическим гастритом // Мед. иммунол. – 2013. – Т. 15, № 3. – С. 247–254
Sosnina A. V., Mikhaylova E. S., Autenshlyus A. I. et al. Tsitokinprodutsiruyushchiy potentsial kletok krovi i tsitokiny syvorotki bolnykh khronicheskim atroficheskim gastritom // Med. immunol. – 2013. – T. 15. № 3. – S. 247–254
2. Агеева Е. С. Эффекты цитокинов в патогенезе *Helicobacter pylori*-ассоциированных хронического гастрита и язвенной болезни // Сиб. мед. журн. – 2014. – № 2. – С. 5–8
Ageyeva E. S. Effekty tsitokinov v patogeneze Helicobacter pylori-assotsirovannykh khronicheskogo gastrita i yavvennoy bolezni // Sib. med. zhurn. – 2014. – № 2. – S. 5–8
3. Ешану В. С. Цитокины и их биологические эффекты при некоторых болезнях печени // Клин. персп. гастроэнтерол., гепатол. – 2004. – № 5. – С. 11–16.
Eshanu V. S. Tsitokiny i ikh biologicheskiye effekty pri nekotorykh boleznyakh pecheni // Klin. persp. gastroenterol., gepatol. – 2004. – № 5. – S. 11–16.
4. Кетлинский С.А., Симбирцев А. С. Цитокины. – СПб.: Фолиант, 2008.
Ketlinskiy S. A., Simbirtsev A. S. Tsitokiny. – SPb.: Foliant. 2008.
5. Ярилин А. А. Иммунология. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010.
Yarilin A. A. Immunologiya. M.: GEOTAR-Media. 2010.
6. Матвеева Л.В., Стенина М. А., Мосина Л. М. Цитокиновая регуляция ульцерогенеза слизистой оболочки гастродуоденальной зоны // Мед. иммунол. – 2013. – Т. 15, № 2. – С. 107–119.
Matveyeva L. V., Stenina M. A., Mosina L. M. Tsitokinovaya regulatsiya ultserogeneza slizistoy obolochki gastroduodenalnoy zony // Med. immunol. – 2013. – T. 15. № 2. – S. 107–119.
7. Фрейдлин И. С., Шейкин Ю. А. Эндотелиальные клетки в качестве мишеней и продуцентов цитокинов // Мед. иммунол. – 2001. – Т. 3, № 4. – С. 499–514.
Freydlin I. S., Sheykin Yu. A. Endotelialnyye kletki v kachestve misheney i produtsentov tsitokinov // Med. immunol. – 2001. – T. 3. № 4. – S. 499–514.
8. Останин А.А., Пальцев А. И., Лебедев А. Г. и соавт. Характеристика апоптоза и функциональной активности лимфоцитов у больных язвенной болезнью // Бюлл. СО РАМН. – 2004. – № 1 (111). – С. 129–134.
Ostanin A. A., Paltsev A. I., Lebedev A. G. i soavt. Kharakteristika apoptoza i funktsionalnoy aktivnosti limfotsitov u bolnykh yavvennoy boleznyu // Byull. SO RAMN. – 2004. – № 1 (111). – S. 129–134.
9. Bäckhed F., Rokbi B., Torstensson E. et al. Gastric mucosal recognition of *Helicobacter pylori* is independent of Toll-like receptor 4 // J. Inf. Dis. – 2003. – Vol. 187, no. 5. – P. 829–836.
10. Casazza J.P., Betts M. R., Price D. A. et al. Acquisition of direct antiviral effector functions by CMV-specific CD4⁺T lymphocytes with cellular maturation // J. Exp. Med. – 2006. – Vol. 203. – P. 2865–2877.
11. Матвеева Л. В. Механизмы индукции клеточной цитотоксичности при воспалительном процессе в слизистой оболочке желудка // Мед. иммунол. – 2017. – Т. 19, № 6. – С. 673–682.
Matveyeva L. V. Mekhanizmy induksii kletchoynoy tsitotoksichnosti pri vospalitelnom protsesse v slizistoy obolochke zheludka // Med. immunol. – 2017. – T. 19. № 6. – S. 673–682.
12. Дудаева Н.Г., Гречушников В.Б., Бугаева И. О. и соавт. Иммунологические и морфологические аспекты диагностики инфекции *Helicobacter pylori* и вирусов семейства *Herpesviridae* // Саратов. науч. мед. журн. – 2010. – № 6. – С. 361–364.
Dudayeva N. G., Grechushnikov V. B., Bugayeva I. O. i soavt. Immunologicheskiye i morfologicheskiye aspekty diagnostiki infektsii Helicobacter pylori i virusov semeystva Herpesviridae // Saratov. nauch. med. zhurn. – 2010. – № 6. – S. 361–364.
13. Соколова Г.Н., Потапова В. Б. Клинико-патогенетические аспекты язвенной болезни желудка. – М.: Анахарсис, 2009.
Sokolova G. N., Potapova V. B. Kliniko-patogeneticheskiye aspekty yavvennoy bolezni zheludka. – M.: Anakharsis. 2009.
14. Ярилин Д. А. Роль фактора некроза опухолей в регуляции воспалительного ответа моноцитов и макрофагов // Иммунология. – 2014. – № 4. – С. 195–201.
Yarilin D. A. Rol faktora nekroza opukholey v regulatsii vospalitelnogo otveta monotsitov i makrofagov // Immunologiya. – 2014. – № 4. – S. 195–201.

15. *Ivashkiv L. B.* Epigenetic regulation of macrophage polarization and function // *Trends Immunol.* – 2013. – Vol. 34. – P. 216–223.
16. *Szaflarska A., Szczepanik A., Siedlar M. et al.* Preoperative Plasma Level of IL-10 but not of Proinflammatory Cytokines Is an Independent Prognostic Factor in Patients with Gastric Cancer // *Anticancer Res.* – 2009. – Vol. 29, no. 12. – P. 5005–5012.
17. *Курусин В.М., Матвеева Л.В.* Гендерные особенности изменений микробиоты желудка при заболеваниях гастродуоденальной зоны // *Эксп. и клин. гастроэнтерол.* – 2016. – № 126 (2). – С. 25–29.
- Kurusin V. M., Matveyeva L. V.* Gendernyye osobennosti izmeneniy mikrobioty zheludka pri zabolevaniyakh gastroduodenalnoy zony // *Eksp. i klin. gastroenterol.* – 2016. – № 126 (2). – С. 25–29.
18. *Шавлакадзе Н., Пурцхванидзе Б., Чхиквадзе Л., Кинцурашвили А.* Интерлейкин-10 и фактор некроза опухоли у пациентов с хроническим гастритом, индуцированным *H. pylori* // *Аллергол. и иммунол.* – 2012. – Т. 13, № 3. – С. 243–246.
- Shavlakadze N., Purtskhvanidze B., Chkhikvadze L., Kintsurashvili A.* Interleykin-10 i faktor nekroza opukholi u patsiyentov s khronicheskim gastritom. indutsirovannym *H. pylori* // *Allergol. i immunol.* – 2012. – Т. 13, № 3. – С. 243–246.