

Работа выполнена на базе Института Цитологии и Генетики СО РАН

«Изучение полиморфизма rs7593557 у больных
раком желудка»

Выполнила: Губина Екатерина Юрьевна

Научный руководитель: Губина Марина Александровна, к.б.н,
старший научный сотрудник, Институт Цитологии и Генетики
СО РАН

АКТУАЛЬНОСТЬ ТЕМЫ

Рак желудка (РЖ) является одной из наиболее распространенных локализаций рака, которая ассоциируется с высокими показателями смертности во всем мире. Хотя генетические факторы и факторы окружающей среды, помимо инфекций *Helicobacter pylori*, определены как важные для развития рака желудка, точная этиология заболевания остается неясной. Многочисленные исследования показали, что связанные с воспалением генные полиморфизмы могут быть вовлечены в развитие РЖ. Экспрессии TRPM8 наблюдаются при некоторых типах рака, что послужило поводом рассматривать этот ионный канал в качестве маркера РЖ.

Научная новизна. В прошлом году, занимаясь исследованием полиморфизма rs7593557, при изучении литературы было выявлено, что данный полиморфизм может быть связан с возникновением некоторых видов раковых заболеваний. Изучив rs7593557 у больных раком желудка, мы сможем получить более полную картину о возможных причинах возникновения данного заболевания

Цель:

Изучить полиморфизм rs7593557 у здоровых и больных раком желудка

Задачи:

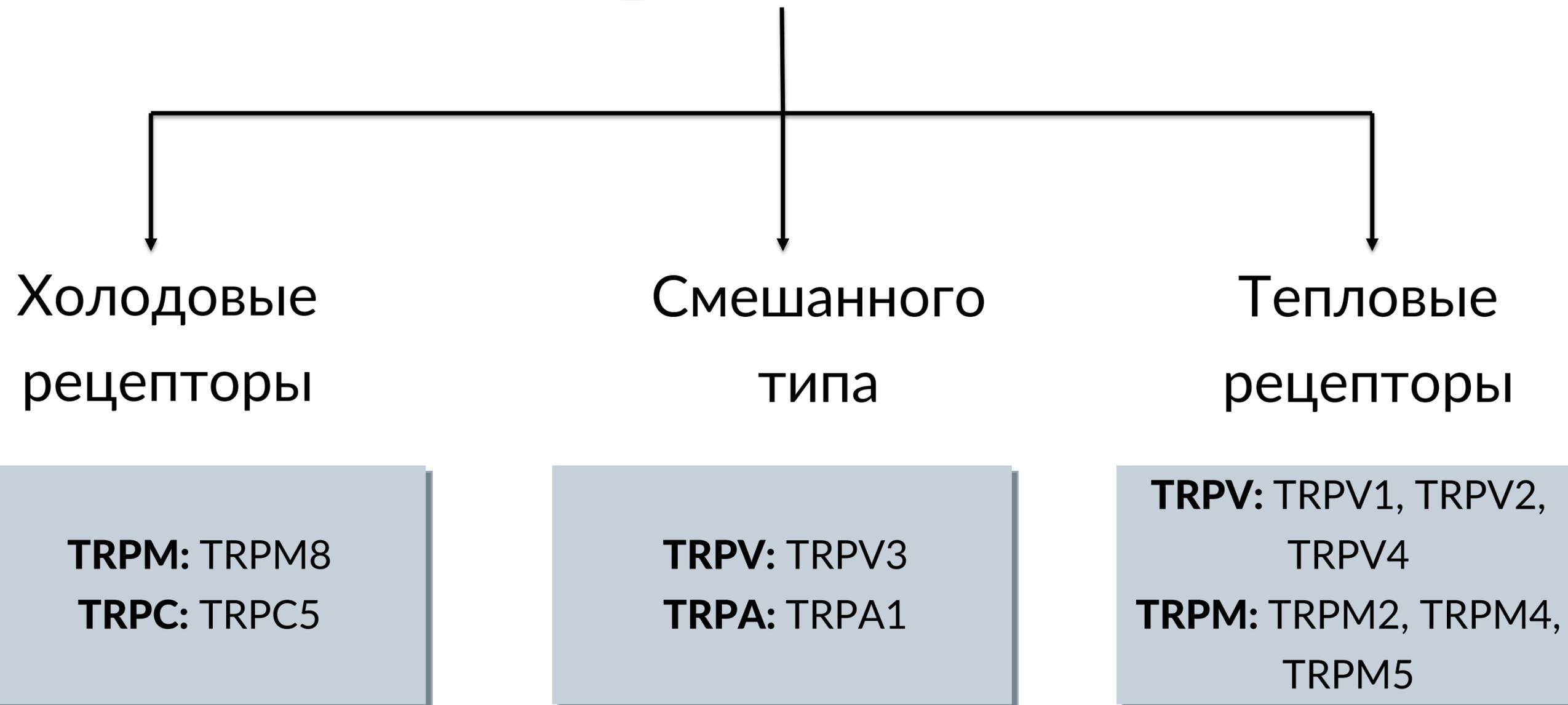
- 1) Изучить литературу
- 2) Изучить полиморфизм гена TRPM8 (rs7593557) у здоровых и больных раком желудка
- 3) Провести анализ полученных данных
- 4) На основе анализа сделать вывод о взаимосвязи полиморфизма и возникновении заболевания

Используемые методы

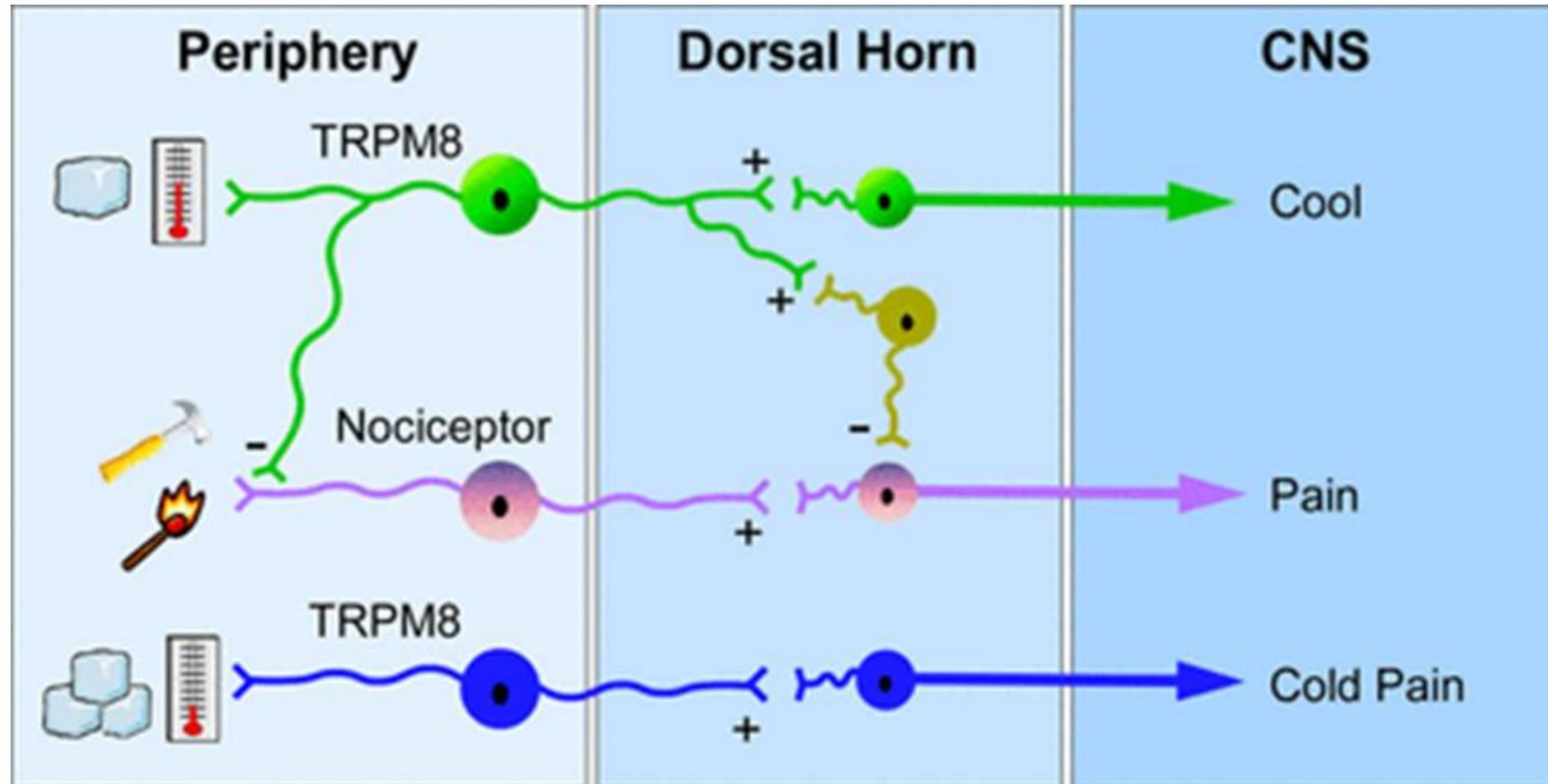
- 1) Полимеразная цепная реакция
- 2) Электрофорез
- 3) Статистические методы



Рецепторы класса TRP



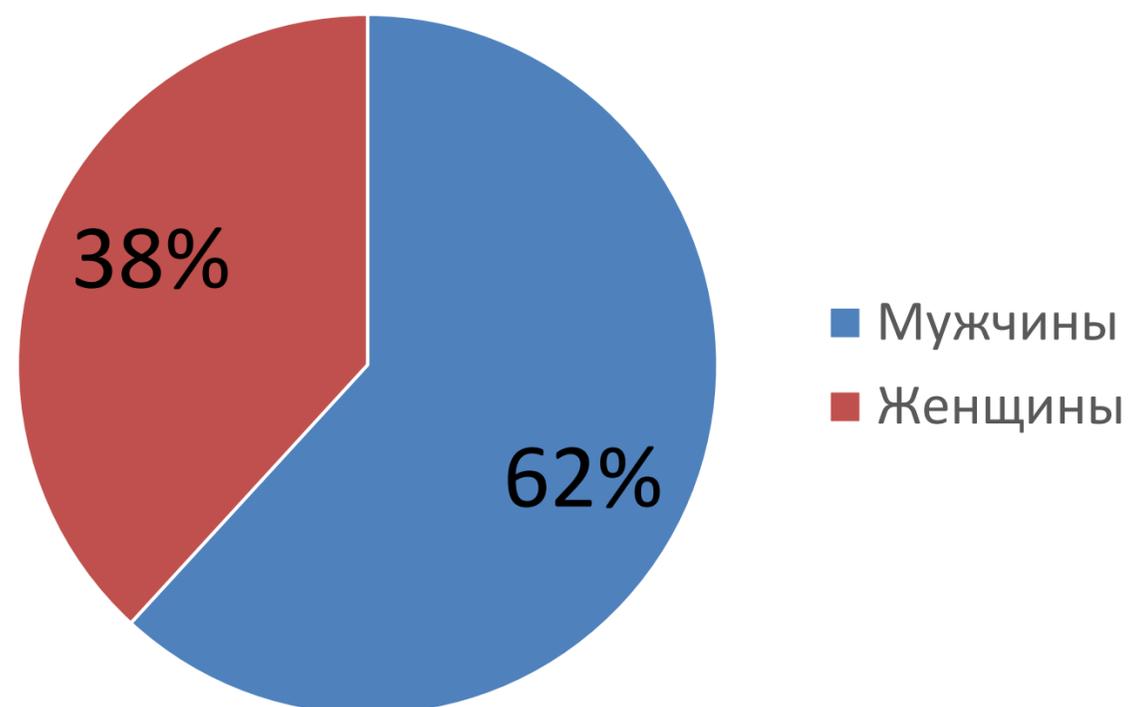
TRPM8



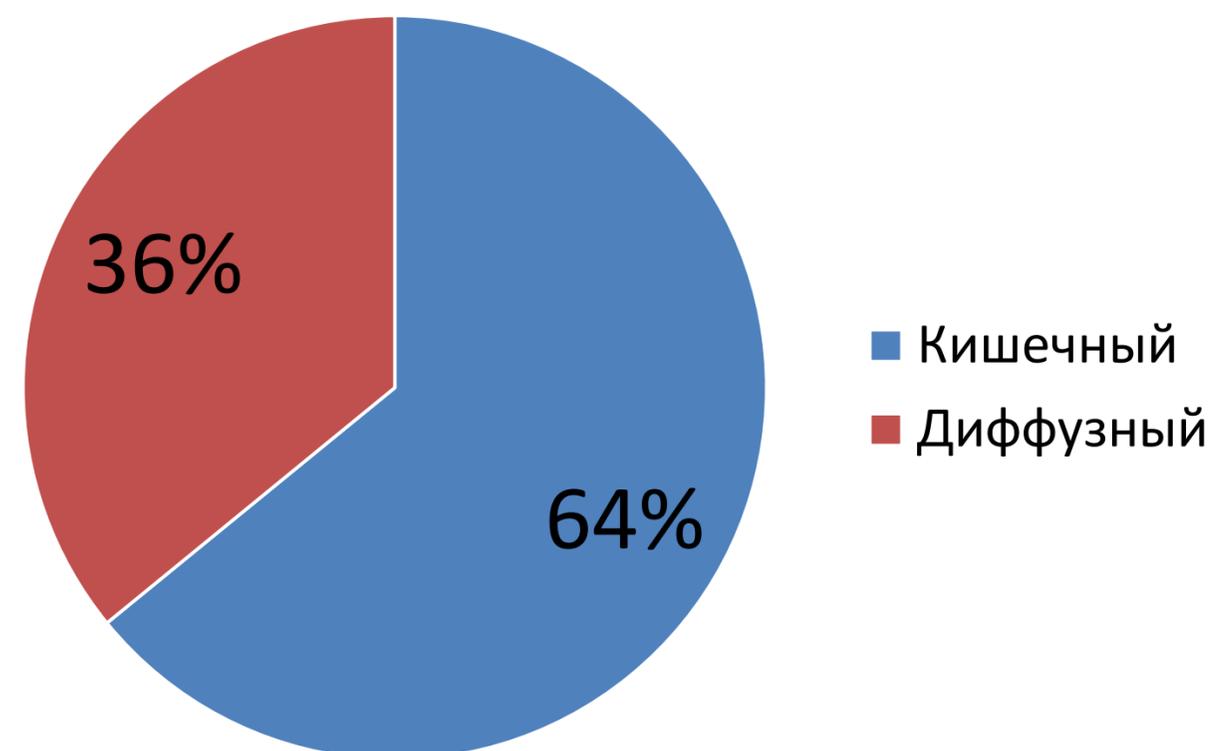
Ген холодового рецептора TRPM8 человека размером приблизительно в 95 тыс. п.н. расположен на второй хромосоме в районе 2q37.1. Экспрессия гена TRPM8 зафиксирована в ядрах клеток тройничного нерва и в клетках симпатических ганглиев.

Исследованные выборки

Соотношение больных мужчин и женщин



Гистологический тип опухоли



Среди обследуемых пациентов I-II стадия РЖ диагностирована у 71 пациента, III и IV стадия у 79 человек (TNM классификация, 1987). Группу контроля составили 90 человека европеоидного происхождения (сопоставимых по полу и возрасту с группой больных), жители г. Новосибирска.

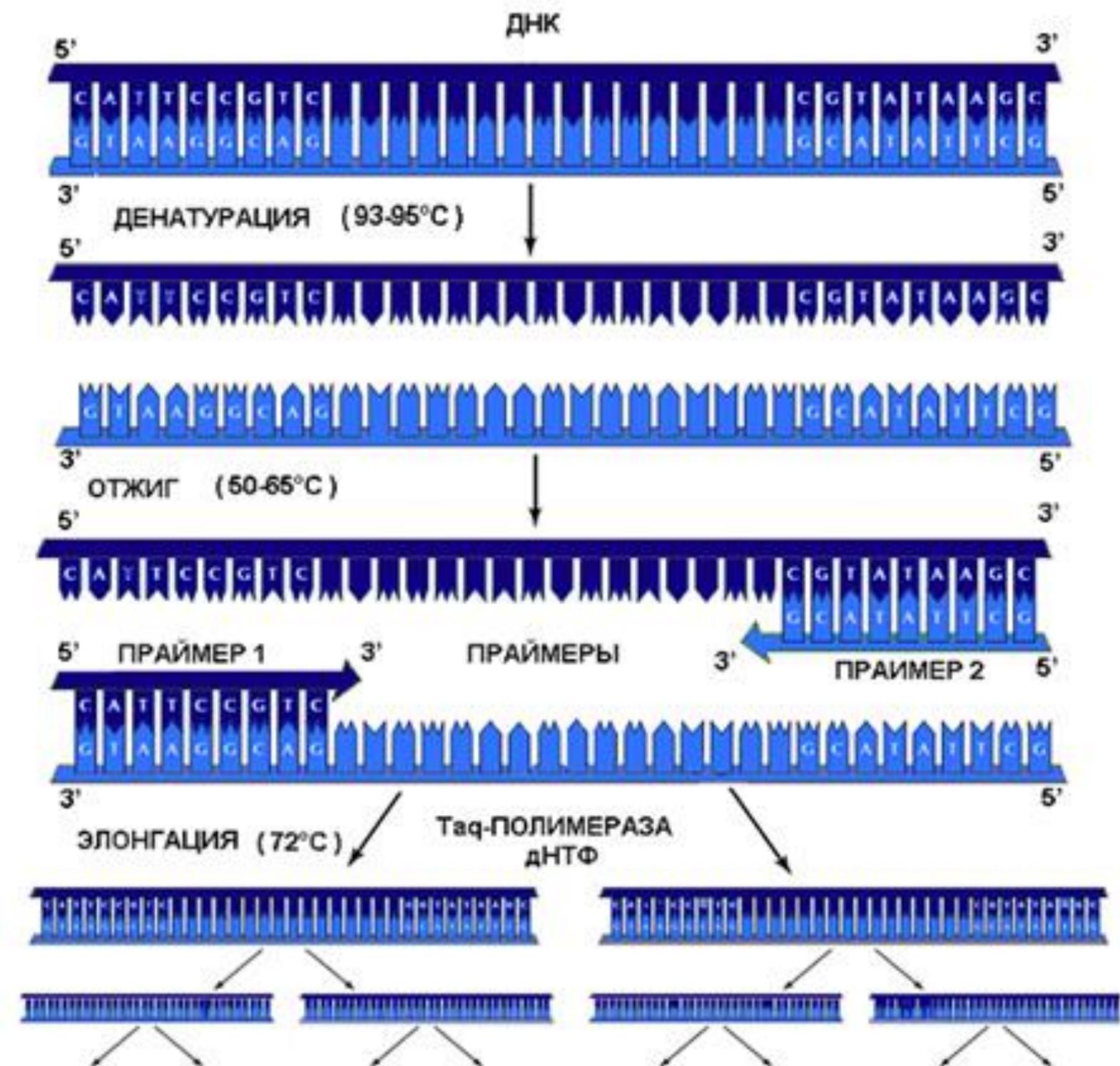
Проведение эксперимента

ПЦР с использованием аллель-специфичных праймеров

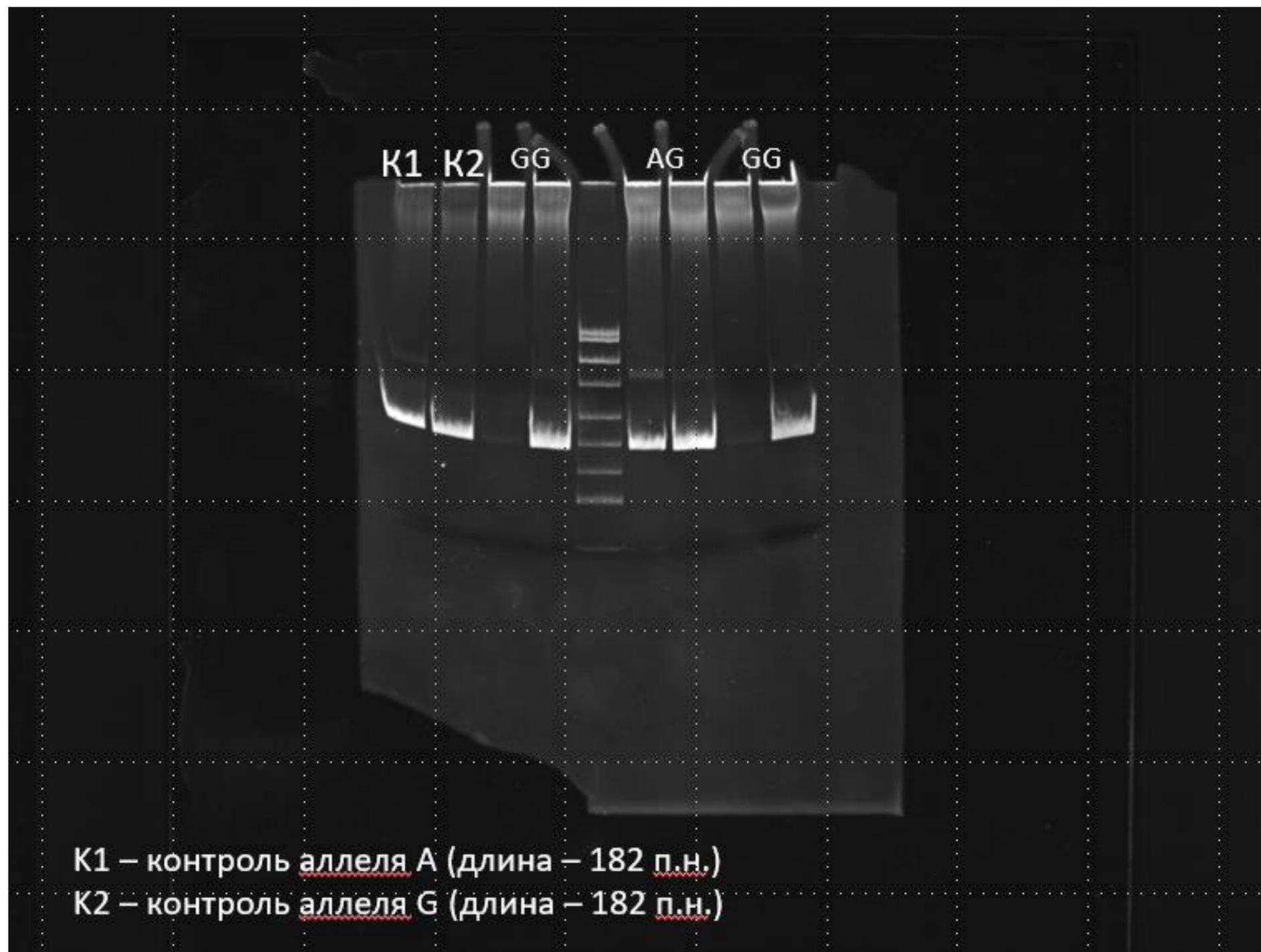
rs7593557 5'-ctctcacagccttcagcaccag-3' (G-allele)

5'-ctctcacagccttcagcассаа-3' (A-allele)

(G→A) 5'-cagассасagtсссagасссаас-3' (Total)



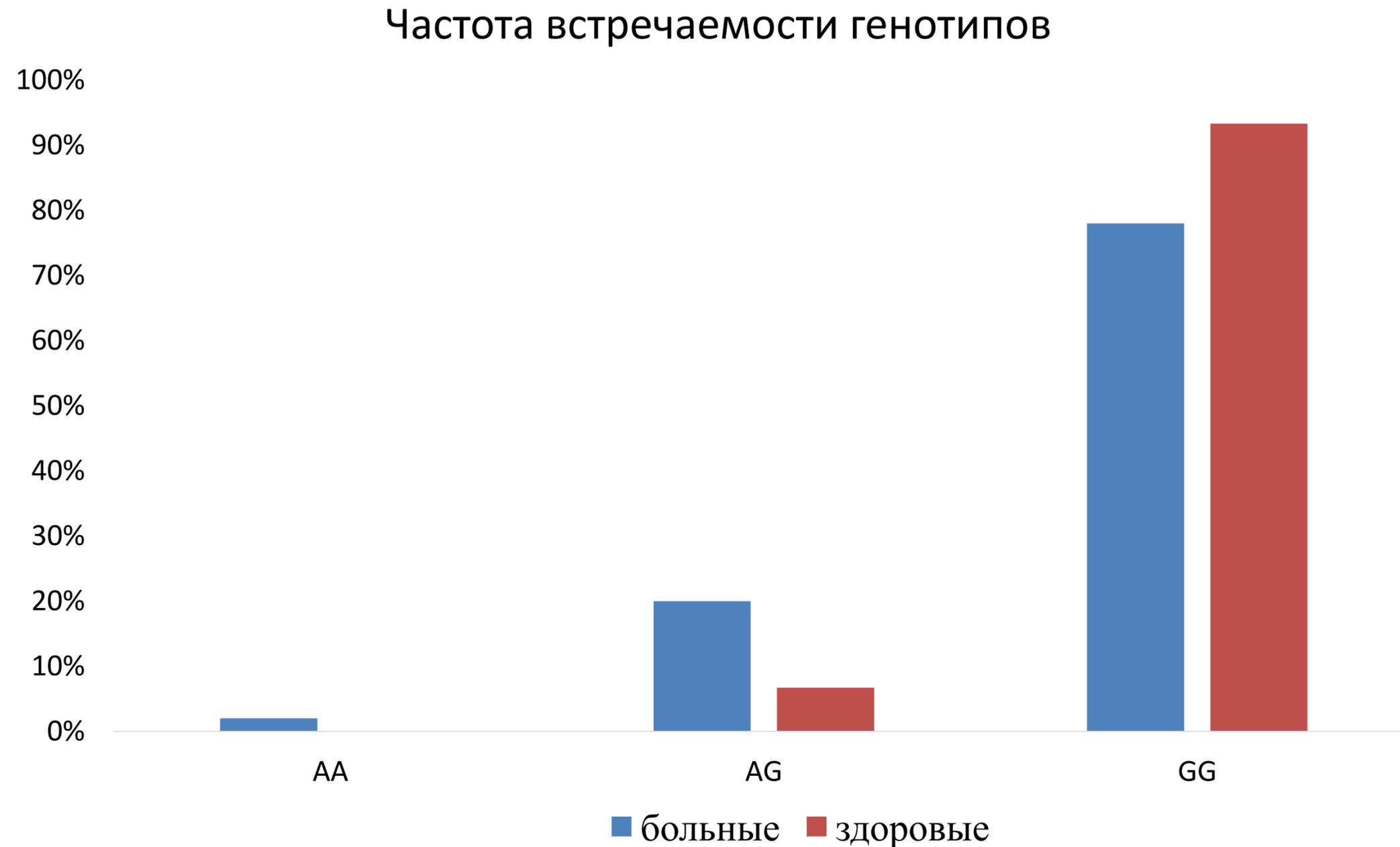
Результаты



Частота встречаемости генотипов и аллелей в исследованных выборках

Генотипы	Больные N=150		Здоровые N=90	
	n	%	n	%
AA	3	2%	0	0%
AG	30	20%	6	6,70%
GG	117	78%	84	93,30%
аллели				
A	36	12%	6	3.3%
G	264	88%	174	96,70%

Частота встречаемости генотипов в исследованных выборках



Статистика

закон Харди—Вайнберга (закон популяционного равновесия)

утверждает, что в теоретической идеальной популяции распределение генотипов будет оставаться постоянным из поколения в поколение и соответствовать уравнению:

$$p^2 + 2pq + q^2 = 1, \text{ где}$$

p^2 — доля гомозигот по одному из аллелей;

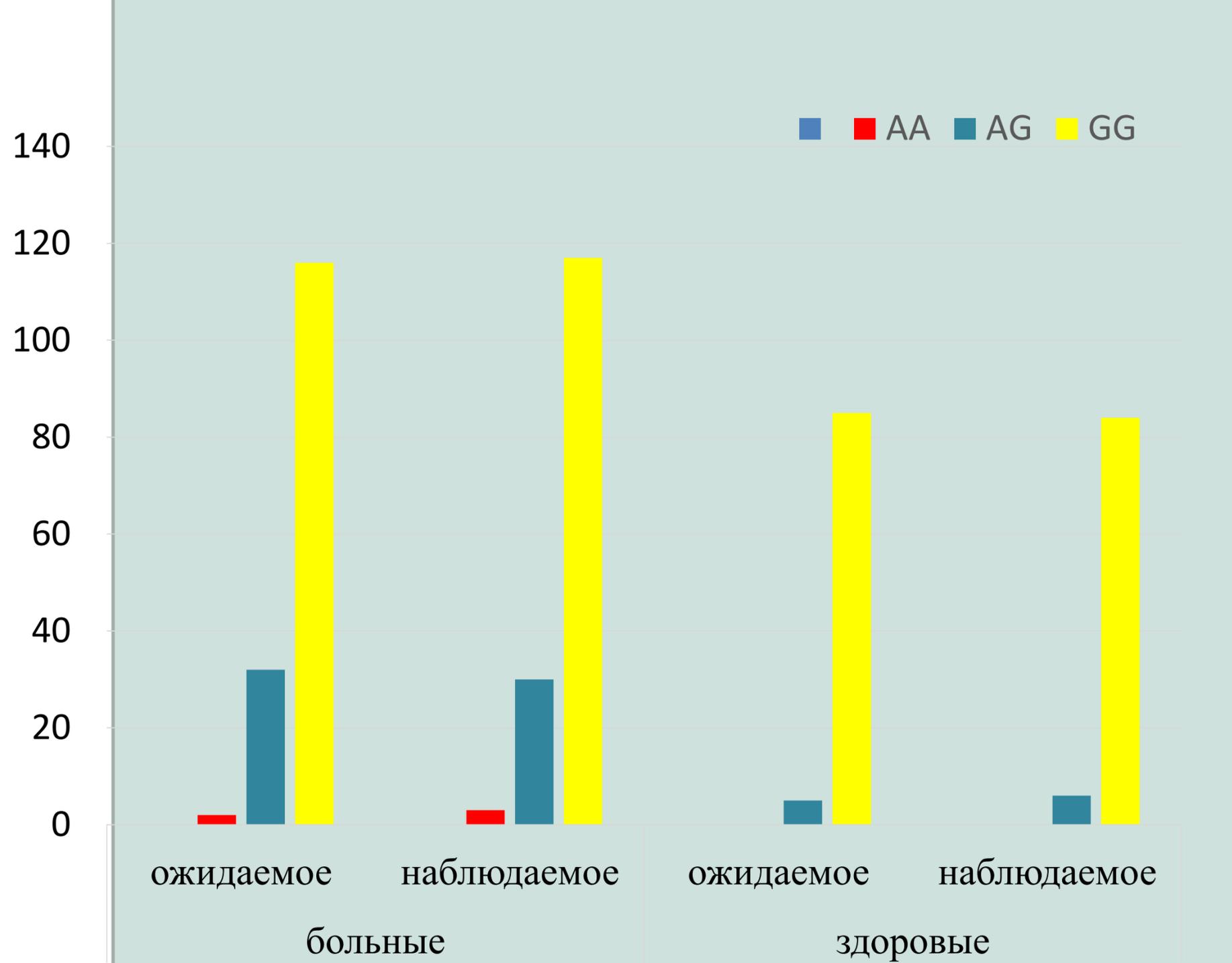
p — частота этого аллеля;

q^2 — доля гомозигот по альтернативному аллелю;

q — частота соответствующего аллеля;

$2pq$ — доля гетерозигот.

Статистические данные, основанные на частотах генотипов



P-value	0.0143
χ^2	8.482

Выявлены достоверные статистические различия.

Сохраняется закон равновесия Харди-Вайнберга.

Выводы

1. Выборка больных раком желудка отличалась от выборки здоровых по частотам генотипов и аллелей.
2. Частота редкого аллеля А у больных РЖ выявлена с частотой 12%, а в выборке здоровых 3%.
3. Гомозиготы по редкому аллелю А выявлены только в выборке больных РЖ.
4. Все гомозиготы по редкому аллелю А были выявлены у больных с кишечным типом РЖ, 17% гетерозигот принадлежат к диффузному, а 83% - к кишечному типу РЖ.
5. Выявлены достоверные статистические различия между двумя выборками.
6. Показано, что в обеих выборках наблюдается соответствие закону Харди-Вайнберга, а также одинаковые значения по ожидаемой и наблюдаемой гетерозиготности.

Список литературы

1. Hartgrink H.H., Jansen E.P., van Grieken N.C. and van de Velde C.J. (2009) Gastric cancer. *Lancet*. 374, 477-490.
2. Siegel R., Naishadham D. and Jemal A. (2012) Cancer statistics. *CA Cancer J Clin* 62 10-29.
3. Houghton J. and Wang T.C. (2005) Helicobacter pylori and gastric cancer: a new paradigm for inflammation-associated epithelial cancers. *Gastroenterology*. 128, 1567-1578.
4. Merchant J.L. (2005) Inflammation, atrophy, gastric cancer: connecting the molecular dots. *Gastroenterology* 129, 1079-1082.
5. Dong L.M., Potter J.D., White E., et al (2008) Genetic susceptibility to cancer: the role of polymorphisms in candidate genes. *JAMA*. 299, 2423-2436.
6. Bai, V.U. S. Murthy, K. Chinnakannu, F et al. Androgen regulated TRPM8 expression: A potential mRNA marker for metastatic prostate cancer detection in body fluids // *Int. J. Oncol.* – 2010. – № 36. – P. 443–450.
Yee, N.S. W. Zhou, M. Lee Transient receptor potential channel TRPM8 is over-expressed and required for cellular proliferation in pancreatic adenocarcinoma // *Cancer Lett.* – 2010. – Vol. 297. – P. 49–55.
7. Wendy M. Knowlton, Radhika Palkar, Erika K. Lippoldt, Daniel D. McCoy, Farhan Baluch, Jessica Chen and David D. McKemy A Sensory-Labeled Line for Cold: TRPM8-Expressing Sensory Neurons Define the Cellular Basis for Cold, Cold Pain, and Cooling-Mediated Analgesia // *JNeurosci* . 2013.
8. Diaz-Franulicl, Poblete H, Miño-Galaz G. et al. Allosterism and Structure in Thermally Activated Receptor Potential Channels // *Annu Rev Biophys.* 2016. V. 5. P. 371-398

Кишечный тип рака

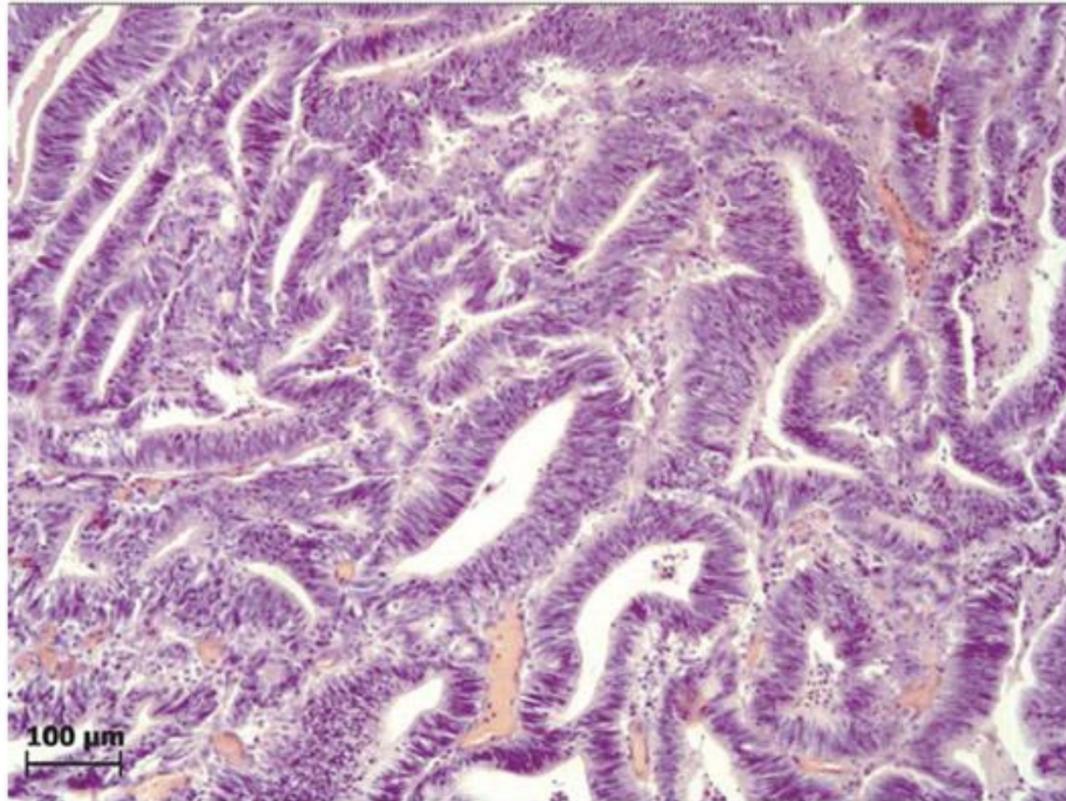
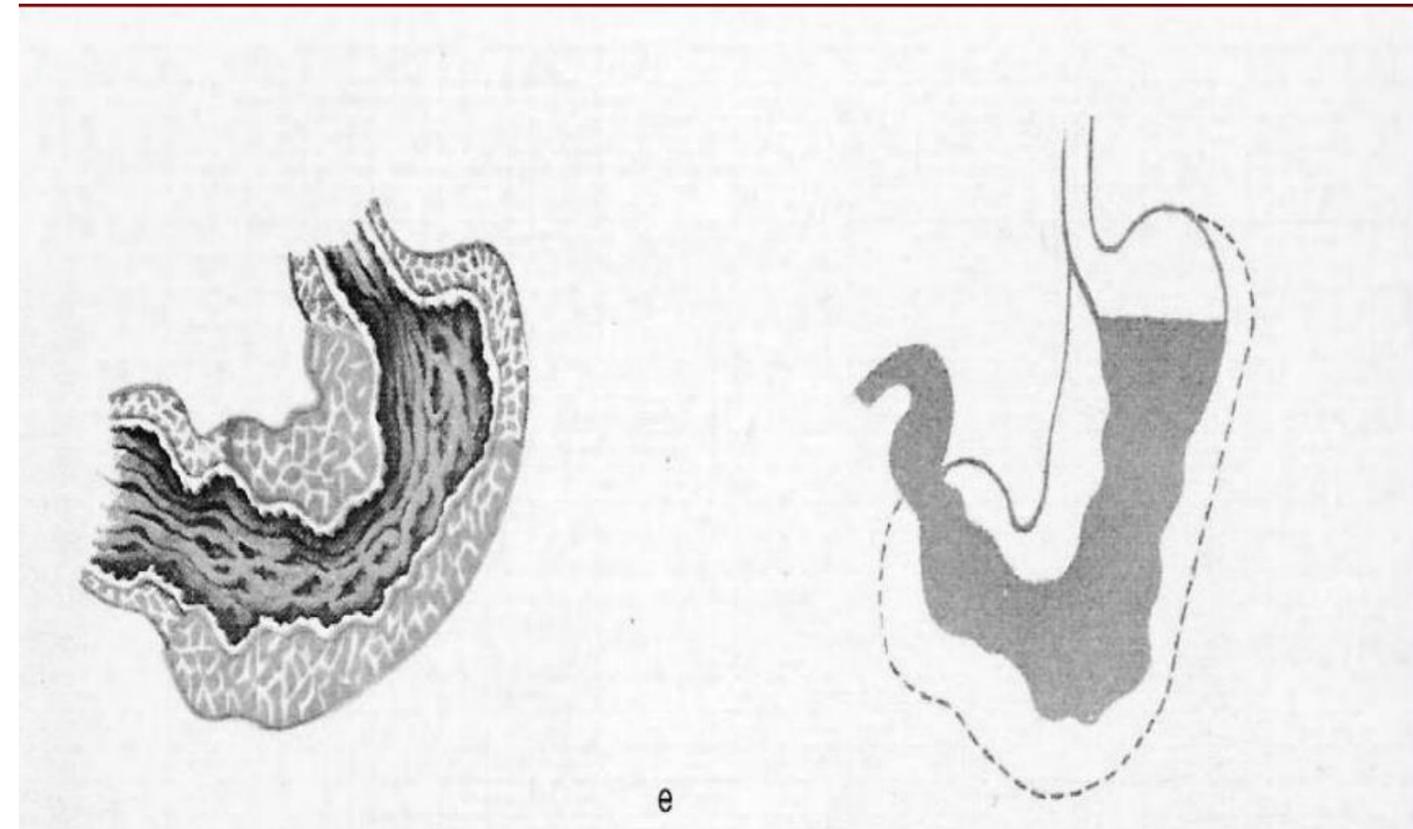


Рис. 1. Кишечный тип рака желудка. Окраска гематоксилин-эозином. Ув. x100 (микрофото)

По строению опухоль похожа на рак кишечника, состоит из четких железистых структур, включающих высокодифференцированный цилиндрический эпителий с развитыми микроскопическими ворсинками.

Диффузный тип рака



Характеризуется слабым клеточным сцеплением. По этой причине клетки после деления начинают прорастать в желудочные стенки и соседние органы. Для диффузного рака свойственно агрессивное течение и быстрое метастазирование.