

Медико-биологические проблемы жизнедеятельности

Научно-практический рецензируемый журнал

№ 2(10)

2013 г.

Учредитель

Государственное учреждение
«Республиканский научно-
практический центр
радиационной медицины
и экологии человека»

Журнал включен в:

- Перечень научных изданий Республики Беларусь для опубликования диссертационных исследований по медицинской и биологической отраслям науки (31.12.2009, протокол 25/1)
- Перечень журналов и изданий ВАК Минобрнауки РФ (редакция май 2012г.)

Журнал зарегистрирован

Министерством информации
Республики Беларусь,
Свид. № 762 от 6.11.2009

Подписано в печать 25.09.13.
Формат 60×90/8. Бумага офсетная.
Гарнитура «Times New Roman».
Печать цифровая. Тираж 211 экз.
Усл. печ. л. 17,8. Уч.-изд. л. 16,01.
Зак. 1203.

Издатель ГУ «Республиканский
научно-практический центр
радиационной медицины и экологии
человека»
ЛИ № 02330/619 от 3.01.2007 г.
Продлена до 03.01.2017

Отпечатано в Филиале БОРБИЦ
РНИУП «Институт радиологии».
220112, г. Минск,
ул. Шпилевского, 59, помещение 7Н

ISSN 2074-2088

Главный редактор

А.В. Рожко (д.м.н., доцент)

Редакционная коллегия

В.С. Аверин (д.б.н., зам. гл. редактора), В.В. Аничкин (д.м.н., профессор), В.Н. Беляковский (д.м.н., профессор), Ю.В. Висенберг (к.б.н., отв. секретарь), Н.Г. Власова (к.б.н., доцент), А.В. Величко (к.м.н., доцент), В.В. Евсеенко (к.п.н.), С.А. Игумнов (д.м.н., профессор), А.В. Коротаяев (к.м.н.), А.Н. Лызииков (д.м.н., профессор), А.В. Макарович (к.м.н., доцент), С.Б. Мельнов (д.б.н., профессор), Э.А. Надыров (к.м.н., доцент), И.А. Новикова (д.м.н., профессор), Э.Н. Платошкин (к.м.н., доцент), Э.А. Повелица (к.м.н.), Ю.И. Рожко (к.м.н.), М.Г. Русаленко (к.м.н.), А.Е. Силин (к.б.н.), А.Н. Стожаров (д.б.н., профессор), О.В. Черныш (к.м.н.), А.Н. Цуканов (к.м.н.), Н.И. Шевченко (к.б.н.)

Редакционный совет

А.В. Аклев (д.м.н., профессор, Челябинск), С.С. Алексин (д.м.н., профессор, Санкт-Петербург), Д.А. Базыка (д.м.н., профессор, Киев), А.П. Бирюков (д.м.н., профессор, Москва), Л.А. Бокерия (д.м.н., академик РАМН, Москва), А.Ю. Бушманов (д.м.н., профессор, Москва), И.И. Дедов (д.м.н., академик РАМН, Москва), Ю.Е. Демидчик (д.м.н., член-корреспондент НАН РБ, Минск), В.И. Жарко (министр здравоохранения Республика Беларусь, Минск), М.П. Захарченко (д.м.н., профессор, Санкт-Петербург), Л.А. Ильин (д.м.н., академик РАМН, Москва), Я.Э. Кенигсберг (д.б.н., профессор, Минск), К.В. Котенко (д.м.н., профессор, Москва), В.Ю. Кравцов (д.б.н., профессор, Санкт-Петербург), Н.Г. Кручинский (д.м.н., Минск), Т.В. Мохорт (д.м.н., профессор, Минск), Д.Л. Пиневич (Минск), В.Ю. Рыбников (д.м.н., профессор, Санкт-Петербург), В.П. Сытый (д.м.н., профессор, Минск), Н.Д. Тронько (д.м.н., профессор, Киев), В.П. Филонов (д.м.н., профессор), В.А. Филонюк (к.м.н., доцент, Минск), А.Ф. Цыб (д.м.н., академик РАМН, Обнинск), Р.А. Часнойть (к.э.н., Минск), В.Е. Шевчук (к.м.н., Минск)

Технический редактор

С.Н. Никонович

Адрес редакции

246040 г. Гомель, ул. Ильича, д. 290,
ГУ «РНИЦ РМ и ЭЧ», редакция журнала
тел (0232) 38-95-00, факс (0232) 37-80-97
<http://www.mbr.rcrm.by> e-mail: mbr@rcrm.by

© Государственное учреждение
«Республиканский научно-практический
центр радиационной медицины и
экологии человека», 2013

№ 2(10)

2013

Medical and Biological Problems of Life Activity

Scientific and Practical Journal

Founder

Republican Research Centre
for Radiation Medicine
and Human Ecology

Journal registration
by the Ministry of information
of Republic of Belarus

Certificate № 762 of 6.11.2009

© Republican Research Centre
for Radiation Medicine
and Human Ecology

ISSN 2074-2088

Обзоры и проблемные статьи

Д.В. Кравченко, Д.К. Новик, В.К. Шпудейко
Трансплантация гемопоэтических
стволовых клеток в онкогематологии
(обзор литературы) 6

Н.А. Ляхнович, Л.В. Гутикова
Роль йода и селена в гормональной ре-
гуляции функции щитовидной железы
при беременности 13

Н.А. Юдина, В.И. Азаренко, Н.Н. Пиванкова
Рентгенологическая диагностика в те-
рапевтической стоматологии (лекция) 24

Медико-биологические проблемы

**Т.В. Андрияшина, В.С. Пятенко, Е.А. Са-
ратовских, И.К. Хвостунов, Н.Б. Козло-
ва, А.М. Колесникова, И.А. Домашнев,
М.А. Чижова**
Оценка токсичности и генотоксично-
сти водной среды различными метода-
ми биоиндикации на примере обследо-
вания природных водоемов Орловской
области 37

И.А. Бехтерева, А.Е. Доросевич
Морфофункциональные характери-
стики сосудистого компонента комму-
никационных систем в тканях рака шей-
ки матки 52

Ф.И. Висмонт, М.А. Глебов
Роль детоксикационной функции пече-
ни в формировании тиреоидного ста-
туса организма и терморегуляции 61

**Н.Н. Ильинских, А.Е. Янковская, И.Н. Ильин-
ских, Е.Н. Ильинских, Е.В. Ямковая**
Цитогенетическая нестабильность
и типы темперамента как проблема
адаптогенеза человека к условиям не-
фтепромыслов севера Сибири 66

Reviews and problem articles

D.V. Kravchenko, D.C. Novik, V.K. Shpudeyko
Hematopoetic stem cell transplantation in
oncohematology (literature review)

N.A. Liakhnovich, L.V. Gutikova
The iodine and selenium work on the hor-
monal regulation of thyroid during preg-
nancy

N.A. Yudina, V.I. Azarenko, N.N. Pivankova
Roentgenologic diagnostics in therapeu-
tic stomatology

Medical-biological problems

**T.V. Andriyashina, V.S. Pyatenko, E.A.
Saratovskikh, I.K. Khvostunov, N.B. Ko-
zlova, A.M. Kolesnikova, I.A. Domashnev,
M.A. Chizhova**
The estimation of toxicity and genotox-
icity of aquatic medium by different bio-
logical benchmarks using monitoring of
native water bodies located in the terri-
tory of Orel region

I.A. Bekhtereva, A.E. Doroceovich
Morphofunctional characteristics of vas-
cular component of communication sys-
tems in tissue of cervical carcinoma

F.I. Vismont, M.A. Glebov
Role of the liver detoxication function in
thyroid status formation and thermoregu-
lation

**N.N. Ilyinskikh, A.E. Yankovskaya, I.N. Ilyin-
skikh, E.N. Ilyinskikh, E.V. Yamkovaya**
Cytogenetic instability and the type of
temperament as an issue of human adap-
togenesis in oilfield areas of the Arctic
North of Siberia

Ю.С. Корнева, А.Е. Доросевич
 Экспрессия каспазы-3 клетками паренхимы и стромы в различных топографо-анатомических зонах сердца при организации инфаркта миокарда 72

А.Г. Моренко
 Особенности электрической активности коры головного мозга у женщин с высокой и низкой исходной α -частотой во время выполнения привычных мануальных движений 78

В.Б. Смычек, Н.В. Галиновская, А.Н. Цуканов, Н.Н. Усова, О.В. Лыщенко
 Клинико-патофизиологические особенности транзиторной глобальной амнезии 86

Клиническая медицина

В.В. Аничкин, В.В. Мартынюк
 Применение жидкой лекарственной формы альбендазола при сочетанном лечении эхинококкоза печени 96

Д.Н. Бонцевич, Э.А. Надыров
 Морфологические особенности реактивного ответа органов и тканей при имплантации обычного и модифицированного капрона 102

В.Ф. Горобец
 Анализ динамики заболеваемости тиреопатиями в допубертатном возрасте детей из Калужской области, облученных вследствие инкорпорации техногенного ^{131}I в антенатальном, неонатальном и грудном периодах развития 109

И.Н. Мороз, Т.Г. Светлович
 О потребности в медико-социальной помощи на дому пожилых людей и инвалидов (по данным социологического исследования) 117

Yu. S. Korneva A.E. Dorosevich
 Expression of caspase-3 in parenchymal and stromal cells in different topographo-anatomical zones of heart during organization of myocardial infarction

A.G. Morenko
 Peculiarities of electrical activity of the cerebral cortex in women having high or low output α -frequencies while performing usual manual movements

V.B. Smychek, N.V. Halinouskaya, A.N. Tsukanov, N.N. Usova, O.V. lyshchenko
 Feature cliniko-patophiziologi of transient global amnesia

Clinical medicine

V.V Anichkin, V.V. Martinuck
 Application of the liquid medical form of albendazole in the combined treatment of hepatic echinococcosis

D. Bontsevich, E. Nadyrov
 Morphological features of reactive response of organs and tissues at implantation of ordinary and modified caprone

V.F. Gorobets
 Analyses of dynamics of thyroid diseases incidence in the period before puberty at the Kaluga region children irradiated owing to technogenic ^{131}I incorporation on antenatal, neonatal and breast-feeding stages of development

I.N Moroz., T.G Svetlovich
 On the needs for medico-social home care of elderly and disabled people (based on the sociological research data)

А.Е. Силин, В.Н. Мартинков, Э.А. Надьров, Е.В. Пестриков, О.М. Либуркин, А.А. Задорожнюк, И.Б. Тропашко, А.А. Силина, С.М. Мартыненко, А.В. Воропаева

Состав и распространенность соматических мутаций гена p53 в биопсийном материале пациентов с доброкачественной гиперплазией и раком предстательной железы

122

A. Silin, V. Martinkov, E. Nadyrov, E. Pestrikov, O. Liburkin, A. Zadorozhnyuk, I. Tropashko, A. Silina, S. Martynenko, A. Voropayeva

The composition and the prevalence of somatic mutations of the p53 gene in biopsy material of patients with benign hyperplasia and prostate cancer

Обмен опытом

Experience exchange

С.Д. Бринкевич, О.Г. Суконко, Г.В. Чиж, А.С. Наумович

Позитронно-эмиссионная томография. Часть 1: Характеристика метода. получение радиофармпрепаратов

129

S.D. Brinkevich, O.G. Sukonko, G.V. Chizh, A.S. Naumovich

Positron emission tomography. Part 1: method description. Production of radiopharmaceuticals

И.Н. Мороз, Т.Г. Светлович

Мнение специалистов об организации медико-социальной помощи на дому пожилым людям

138

I.N. Moroz, T.G. Svetlovich

Opinion of experts on the organization of medico-social home care to the elderly

В.И. Садовский, А.В. Черныш

Опыт лечения вирусных инфекций верхних дыхательных путей

143

V.I. Sadowski A.V. Chernysh

Experience in the treatment of viral infections of the upper respiratory tract

Правила для авторов

147

УДК 575.174.2:616.65-006+575.174.2:616-007.61-071

А.Е. Силин¹, В.Н. Мартинков¹,
Э.А. Надыров¹, Е.В. Пестриков²,
О.М. Либуркин², А.А. Задорожнюк²,
И.Б. Тропашко¹, А.А. Силина¹,
С.М. Мартыненко¹, А.В. Воропаева¹

СОСТАВ И РАСПРОСТРАНЕННОСТЬ СОМАТИЧЕСКИХ МУТАЦИЙ ГЕНА p53 В БИОПСИЙНОМ МАТЕРИАЛЕ ПАЦИЕНТОВ С ДОБРОКАЧЕСТВЕННОЙ ГИПЕРПЛАЗИЕЙ И РАКОМ ПРЕДСТАТЕЛЬНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

¹ГУ «РНПЦ радиационной медицины и экологии человека», г. Гомель, Беларусь

²У «Гомельский областной клинический онкологический диспансер», г. Гомель, Беларусь

В статье приводятся результаты молекулярно-генетического анализа 5-8 экзонов гена p53 в ткани предстательной железы у пациентов с доброкачественной гиперплазией и раком предстательной железы.

В результате исследования не выявлено каких-либо генетических нарушений p53 в биопсийном материале пациентов с доброкачественной гиперплазией предстательной железы.

В группе пациентов с диагнозом «рак предстательной железы» у семи пациентов в биопсийном материале было выявлено 8 различных мутаций. Посредством прямого секвенирования фрагментов ДНК и сопоставление полученных результатов с доступными мировыми базами данных дана характеристика каждой из выявленных соматических мутаций. Семь мутаций оказались известными генетическими событиями, а одна мутация описана впервые.

Большинство генетических нарушений оказались миссенс-мутациями, что является характерным для гена p53. В двух случаях выявлены делеции одного и двух нуклеотидов.

Частота встречаемости соматических мутаций в группе пациентов с раком предстательной железы составила $7,7 \pm 0,3\%$.

Ключевые слова: рак предстательной железы, соматические мутации, ген p53 полимеразная цепная реакция

Введение

Соматические мутации гена p53 являются наиболее распространенными генетическими событиями, сопровождающими более половины всех случаев злокачественных новообразований человека [1]. Их спектр и частоты встречаемости варьируют в широких пределах в зависимости от локализации рака [2].

Одной из особенностей мутирования p53 является наличие на протяжении кодирующей последовательности «горячих точек», где мутационные события происходят значительно чаще, чем в других локализациях. Кроме этого отмечается, что большинство мутаций гена p53 локализовано в пределах 5-8 экзонов, которые и

становятся объектом изучения во многих исследованиях [1].

Функционально белок, продуцируемый геном p53, является супрессором злокачественного роста клеток, транскрипционным фактором, регулятором клеточного цикла и апоптоза [3]. Вследствие этого мутации, приводящие к инактивации или снижению функции белка p53, могут провоцировать возникновение злокачественного процесса [3] и во многих случаях определяют неблагоприятный прогноз заболевания [1].

Поиск прогностических маркеров при злокачественных заболеваниях является очень актуальной проблемой, поскольку своевременная оценка прогноза заболевания позволяет выбрать более адекватную и

эффективную тактику лечения. Это в полной мере относится к раку предстательной железы (РПЖ). Для данной локализации отмечается более агрессивное течение заболевания при наличии в клетках опухоли соматических мутаций гена p53 [4; 5; 6]. При этом в различных исследованиях приводятся отличающиеся данные по спектру и частотам встречаемости мутаций p53 в случае РПЖ, а также отмечаются их межпопуляционные различия [7]. Таким образом, для использования соматических мутаций гена p53 в качестве прогностических маркеров при РПЖ посредством максимально специфического и экономичного молекулярно-генетического анализа требуется проведение исследований по выявлению региональных особенностей спектра и распространенности мутаций p53.

Целью данной работы являлось изучение спектра и частот встречаемости соматических мутаций гена p53 в пределах 5-8 экзонов в ткани предстательной железы у пациентов с диагнозом «Доброкачественная гиперплазия предстательной железы» и «Рак предстательной железы».

Материал и методы исследования

Группа исследования и пробоподготовка. Группа исследования была сформирована из 46 пациентов с диагнозом «Доброкачественная гиперплазия предстательной железы» (ДГПЖ) и 91 пациента с диагнозом «Рак предстательной железы» (РПЖ), проходивших обследование и лечение в У «Гомельский областной клинический онкологический диспансер» в 2010-2012 гг. Материал для исследования в виде ткани предстательной железы, взятой посредством пункционной биопсии, был получен после подписания пациентом формы информированного согласия. Все исследуемые случаи РПЖ были представлены мелкоацинарными аденокарциномами.

Выделение ДНК из ткани предстательной железы проводилось с использованием набора реагентов Genomic DNA Purification Kit (Fermentas) в соответствии с прилагаемой инструкцией. Дополнительно к набору

были использованы хлороформ (осаждение белка), изопропанол (осаждение ДНК), а также 70% этанол для отмывки ДНК.

Выявление соматических мутаций p53 в нашем исследовании осуществляли методом SSCP-PCR, который является наиболее точным и распространенным для подобного рода молекулярно-генетического анализа [1].

Известно, что большинство клинически значимых мутаций гена p53 локализованы в пределах 5-8 экзонов. В нашей работе для амплификации указанных экзонов использовались пары специфических олигонуклеотидных праймеров, параметры которых представлены в таблице 1.

ПЦР проводилась в 25 мкл смеси следующего состава: 2,5 мкл 10x Hot Start PCR Buffer (200 mM Tris-HCl pH 8,3, 200 mM KCl, 50mM $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$) (Fermentas), 0,5 мкл 10mM dNTP mix (Fermentas), 0,1 мкл каждого праймера (10 pM), 2,5 мкл 25mM MgCl_2 , 0,1мкл Hot Start Taq Polymerase (5ед./мкл) (Fermentas), 2-5 мкл образца ДНК, вода ПЦР-качества до объема 25 мкл.

Реакцию амплификации осуществляли в приборе GeneAmp 2400 PCR System (Perkin-Elmer) по следующей программе: начальная денатурация – 5 мин. при 95°C, затем 35 циклов 30-секундной денатурации при 95°C, отжиг праймеров - 30 сек. при соответствующей температуре (таблица 1) и элонгация 40 сек. при 72°C. В завершении – финальная элонгация 5 мин. при 72°C и охлаждение до 4°C.

Следующий этап анализа SSCP-PCR заключался в денатурации продуктов амплификации с целью получения однонитевых фрагментов ДНК. Для этого в пробирку с продуктами амплификации добавляли формамид, содержащий краситель бромфеноловый синий (на 25 мл формамида 10 мг бромфенолового синего) в пропорции 1:1. Затем пробирку помещали в амплификатор на 5 мин при температуре 99°C. По окончании этого этапа пробирку быстро перемещали в кювету с ледяной водой на 5 мин и непосредственно после этого образцы наносили на гель для электрофореза.

Таблица 1 – Олигонуклеотидные праймеры для анализа 5-8 экзонов гена p53 и оптимальные условия проведения ПЦР

Экзон	Название праймера	Последовательность нуклеотидов 5'-3'	Размер фрагмента, п.н.	Параметры ПЦР (T _{отж} , °C)
5	ex5-F	CTGTTCACTTGTGCCCTGA	273	61
	ex5-R	CAACCAGCCCTGTCGTCTCT		
6	ex6-F	GAGACGACAGGGCTGGTT	230	61
	ex6-R	CCACTGACAACCACCCTT		
7	ex7-F	CCAAGGCGCACTGGCCTC	213	68
	ex7-R	GAGGCAAGCAGAGGCTGG		
8	ex8-F	GGGACAGGTAGGACCTGATT	233	61
	ex8-R	CACCGCTTCTTGTCTGCTT		

Электрофорез и окраску гелей нитратом серебра проводили в электрофоретической системе Multiphor II (GE) с использованием предварительно приготовленных 12,5% неденатурирующих полиакриламидных гелей в соответствии с инструкцией по применению, прилагаемой к электрофоретической системе.

При выявлении фактов однонитевого конформационного полиморфизма образцы ДНК секвенировали с использованием генетического анализатора АВ 3500. Секвенирующую реакцию осуществляли как с прямым, так и с обратным праймером с использованием реагентов из набора для секвенирования ABI PRISM BigDye Terminator v 3.1 Ready Reaction Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems Int.) в соответствии с прилагаемой инструкцией. Очистка продуктов секвенирующей реакции проводилась с использованием реагентов из набора BigDye X Terminator TM Purification Kit (Applied Biosystems Int.) в соответствии с прилагаемой инструкцией.

Результаты исследований

Среди 46 пациентов, входящих в группу ДГПЖ, по результатам SSCP-анализа не выявлено ни одного случая различий в исследуемых образцах ДНК.

В ходе проведенного исследования ткани предстательной железы у пациентов, включенных в группу РПЖ, в процессе SSCP-анализа у семи пациентов выявлены 8 различных вариантов конформационно-

го полиморфизма. В образце ДНК одного пациента наблюдалось два различных паттерна однонитевого полиморфизма.

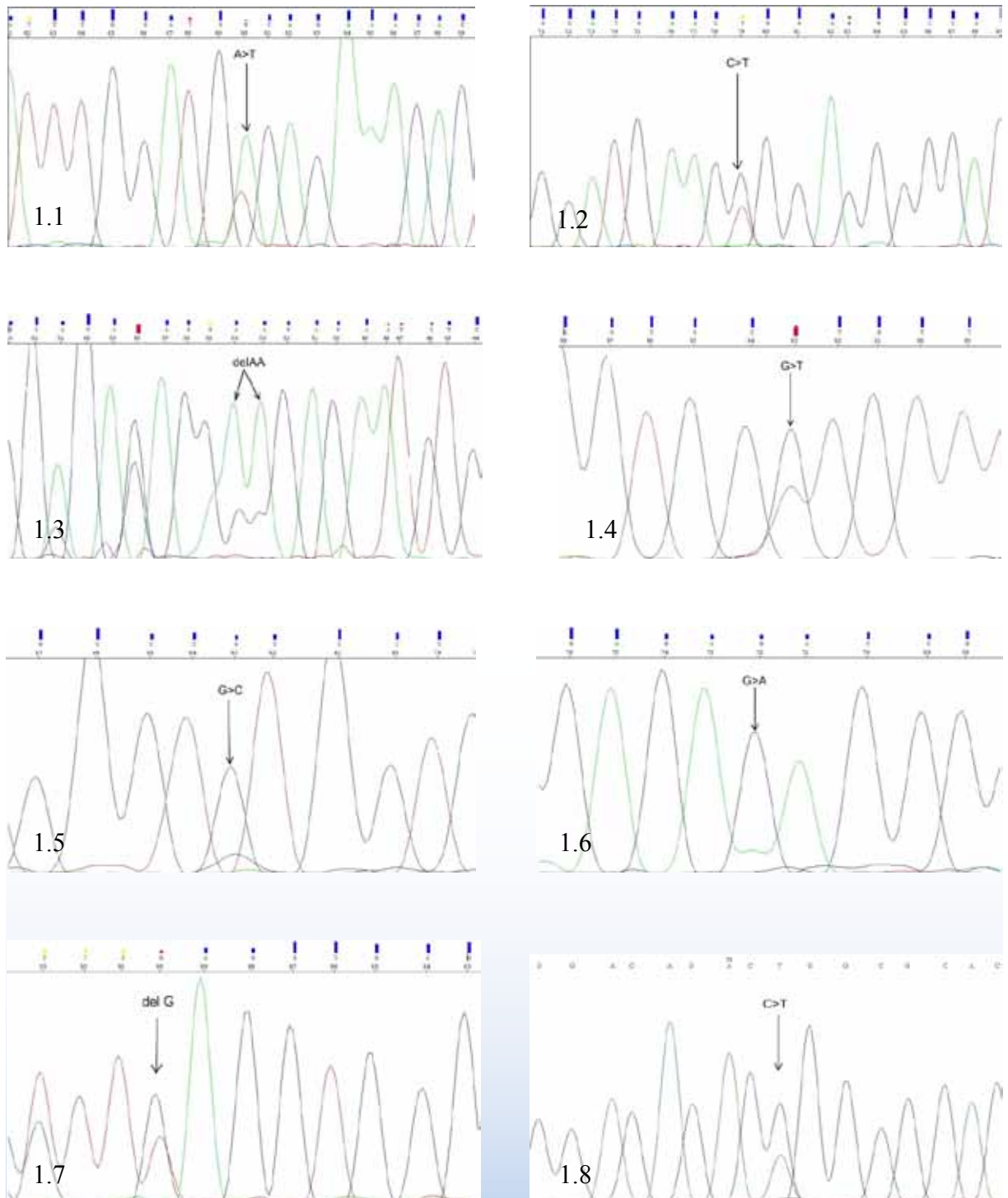
Сводные данные анализа секвенирования по всем выявленным случаям мутаций представлены на рисунке 1. Характеристика выявленных мутаций представлена в таблице 2.

Как видно из таблицы 2, выявленные мутации гена p53 в группе пациентов с РПЖ были локализованы в пределах 6-8 экзонов. В 5-м экзоне мутации отсутствовали. Подавляющее большинство мутаций обнаружены в 8-ом экзоне гена p53.

Проведенное прямое секвенирование позволило идентифицировать каждую из выявленных мутаций и сравнить полученные нами данные с данными мировой литературы об их распространенности как при раке предстательной железы, так и раке других локализаций. Для этого мы использовали ресурс открытой базы данных UMD TP53 Mutation Database, включающей более 36 тысяч записей [8].

Выявленная в нашем исследовании мутация с.623A>T (p.Asp208Val) в 6-м экзоне p53 оказалась не характерной для рака предстательной железы, но, по данным литературы, встречается при немелкоклеточном раке легких [8], а также злокачественных новообразованиях ряда других локализаций.

Мутация с.742C>T (p.Arg248Trp), выявленная в 7-м экзоне, затрагивает 248 кодон гена p53. Данный кодон в литературе описы-



1.1 – фрагмент 6 экзона, пациент Pt94; 1.2 – фрагмент 7 экзона, пациент Pt98;
 1.3 – фрагмент 8 экзона, пациент Pt84; 1.4 – фрагмент 8 экзона, пациент Pt88;
 1.5 – фрагмент 8 экзона, пациент Pt105; 1.6 – фрагмент 8 экзона, пациент Pt105;
 1.7 – фрагмент 8 экзона, пациент Pt137; 1.8 – фрагмент 8 экзона, пациент Pt191

Рисунок 1 – Результаты анализа секвенирования у семи пациентов с выявленными фактами однонуклеотидного конформационного полиморфизма

Таблица 2 – Характеристика выявленных соматических мутаций гена p53 в ткани предстательной железы из группы пациентов с установленным диагнозом «РПЖ»

Образец	Экзон	Genome coordinates (GRCh37/hg19)	Coding description	Genomic description	AA change	pTNM G	Стадия
Pt94	6	g.7578226T>A	c.623A>T	g.12692A>T	p.Asp208Val	pT3bN1M1 G3	IV
Pt98	7	g.7577539G>A	c.742C>T	g.18325C>T g.13379C>T	p.Arg248Trp	pT3NxM1 G2	IV
Pt84	8	g.7577081delTT	c.857_858delAA c.857del2b	g.13837_13838delAA	p.Glu286GlyfsX18	pT3NxMx G2	III
Pt88	8	g.7577120C>A	c.818G>T	g.13798G>T	p.Arg273Leu	pT3NxM1 G2	IV
Pt105	8	g.7577108C>G	c.830G>C	g.13810G>C	p.Cys277Ser	pT1NxMx HD*	I
		g.7577097C>T	c.841G>A	g.13821G>A	p.Asp281Asn		
Pt137	8	g.7577157delC	c.811delG c.811del1a	g.13742delG	p.Glu271ArgfsX73	pT3aNxMx G2	IV
Pt191	8	g.7577094G>A	c.844C>T	g.18775C>T	p.Arg282Trp	pT3N1Mx HD	IV

Примечание: HD – нет данных.

вается как «горячая» точка (hot-spot codon) в связи с высокой частотой возникновения в его пределах различных мутаций [2]. Это оказалась наиболее часто упоминаемая из числа выявленных нами мутаций. Она описывается в литературе для более 80 различных видов злокачественных новообразований. В то же время наибольшее количество работ с упоминанием данной мутации были посвящены колоректальному раку [8]. Кроме этого, мутация с.742C>T выявлялась и при раке предстательной железы [8].

Делеция двух нуклеотидов, выявленная в 8-м экзоне (с.857_858delAA) в биопсийном материале пациента с РПЖ, ранее не описана в литературе, и информация о ней отсутствует в доступных базах данных.

Идентифицированная как однонуклеотидная замена с.818G>T (p.Arg273Leu) в 8-м экзоне оказалась одной из наиболее распространенных мутаций гена p53, локализованной в 273 hot-spot кодоне. Данная мутация упоминается в литературе при изучении более 30 различных онкологических заболеваний. Однако наиболее часто описана для немелкоклеточного рака легких, плоскоклеточной карциномы головы и шеи, рака яичника [8].

Выявленная в 8-м экзоне однонуклеотидная замена с.830G>C (p.Cys277Ser) описана ранее для случаев нейрофибросаркомы и неходжкинской лимфомы [8]. Данная мутация оказалась одной из двух, выявленных в нашем исследовании у одного пациента (Pt105). Вторая мутация оказалась однонуклеотидной заменой с.841G>A (p.Asp281Asn), также локализованной в 8-м экзоне. Эта мутация описана в литературе для более чем 20 различных локализаций рака, но чаще других упоминается при раке молочной железы и немелкоклеточном раке легких [8].

Мутация в виде делеции одного нуклеотида в 8-м экзоне по результатам секвенирования описана нами как с.811delG (p.Glu271ArgfsX73). Данный тип мутации выявлен ранее при исследовании гепатоцеллюлярной карциномы, немелкоклеточном раке легких и раке молочной железы [8].

Еще одна мутация, выявленная в нашем исследовании, была локализована в 282 hot-spot кодоне 8-го экзона. По результатам секвенирования она была идентифицирована как с.844C>T (p.Arg282Trp). Это оказалась крайне часто упоминаемая мутация. Она описывается в литературе для более 70 различных видов злокачественных

новообразований. Однако в подавляющем большинстве случаев данная мутация выявлялась при колоректальном раке [8].

Большинство идентифицированных в нашей работе соматических изменений гена p53 являются миссенс-мутациями. В результате данных мутаций измененный триплет кодирует другую аминокислоту, что во многих случаях приводит к синтезу полномерного белка с измененными свойствами. Подобный тип мутаций является наиболее характерным для гена p53 [1].

Еще одной особенностью мутаций p53 при раке предстательной железы является их относительно низкая частота встречаемости в первичных опухолях. В нашем исследовании частота встречаемости случаев мутации p53 в группе пациентов с РПЖ составила $7,7 \pm 0,3\%$.

У трех из семи пациентов с мутациями были выявлены отдаленные метастазы, а в двух случаях – пораженные региональные лимфоузлы. Это может косвенно свидетельствовать в пользу заключения ряда исследований о более частом мутировании p53 на поздних стадиях развития РПЖ.

Заключение

В результате проведенного исследования 5-8 экзонов гена p53 не выявлено каких-либо генетических нарушений p53 в биопсийном материале пациентов с доброкачественной гиперплазией предстательной железы.

В группе пациентов с диагнозом «Рак предстательной железы» у семи пациентов в биопсийном материале было выявлено 8 различных мутаций. Посредством прямого секвенирования фрагментов ДНК и сопоставления полученных результатов с доступными мировыми базами данных дана характеристика каждой из выявленных соматических мутаций. Семь мутаций оказались известными генетическими событиями, а одна мутация описана впервые.

Большинство генетических нарушений оказались миссенс-мутациями, что является характерным для гена p53. В двух случаях выявлены делеции одного и двух нуклеотидов.

Частота встречаемости соматических мутаций в группе пациентов с раком предстательной железы составила $7,7 \pm 0,3\%$.

Работа выполнена в рамках Государственной программы научных исследований «Фундаментальная и прикладная медицина и фармация» подпрограмма «Фундаментальная и прикладная медицина», раздел 2 «Изучение патогенетических основ социально-значимых заболеваний человека для разработки методов их диагностики, лечения и профилактики» (договор № 1.2.27 от 28.02.2011 г.).

Библиографический список

1. Soussi, Th. Assessing TP53 status in human tumours to evaluate clinical outcome / Th. Soussi, Ch. Bérout // *Nature Reviews Cancer*. – 2001. – V. 1. – P. 233-239.
2. Lasky, T. p53 Mutations Associated with Breast, Colorectal, Liver, Lung, and Ovarian Cancers / T. Lasky, E. Silbergeld // *Environmental Health Perspectives*. – 1996. – V. 104. – № 12. – P. 1324-1331.
3. Чумаков, П.М. Белок p53 и его универсальные функции в многоклеточном организме / П.М. Чумаков // *Успехи биологической химии*. – 2007. – Т. 47. – С. 3-52.
4. P53 mutations in prostate cancer bone metastases suggest that selected p53 mutants in the primary site define foci with metastatic potential / Navone [et al.] // *The Journal of Urology*. – 1999. – V. 161. – P. 304-308.
5. Association of p53 mutations with metastatic prostate cancer / J.A. Eastham [et al.] // *Clin Cancer Res*. – 1995. № 1. – P. 1111-1118.
6. TP53 Gene Mutations in Prostate Cancer Progression / Th. Ecke [et al.] // *Anticancer Research*. – 2010. – № 30. – P. 1579-1586.
7. P53 Gene Mutations in Human Prostate Cancer in Japan: Different Mutation Spectra between Japan and Western Countries / M. Watanabe [et al.] // *Jpn. J. Cancer Res*. – 1994. – V. 85. – P. 904-910.
8. UMD TP53 Mutation Database [Electronic resource] / ed. Th. Soussi. – University P.M. Curie, 2012. – Mode of access : http://p53.free.fr/Database/p53_database.html. – Date of access : 02.09.2013.

**A. Silin, V. Martinkov, E. Nadyrov, E. Pestrikov, O. Liburkin, A. Zadorozhnyuk,
I. Tropashko, A. Silina, S. Martynenko, A. Voropayeva**

**THE COMPOSITION AND THE PREVALENCE OF SOMATIC
MUTATIONS OF THE P53 GENE IN BIOPSY MATERIAL OF PATIENTS
WITH BENIGN HYPERPLASIA AND PROSTATE CANCER**

The article presents the results of a molecular genetic analysis of 5-8 exons of the p53 gene in the tissue of the prostate in patients with benign hyperplasia and prostate cancer.

As a result of the study there have been revealed no genetic mutations p53 in biopsy material of patients with benign hyperplasia of prostate.

In the group of patients with diagnosis “prostate cancer” in biopsy material of seven patients there have been found 8 different mutations. Through direct sequencing of DNA fragments and comparing the results with the available international databases the characteristic of each of the identified somatic mutations has been given. Seven mutations appeared to be genetic events, and one mutation is described for the first time.

Most of the genetic disorders were missense mutations, which is typical for the p53 gene. In two cases there has been revealed deletion of one or two nucleotides.

The incidence of somatic mutations in patients with prostate cancer was $7,7 \pm 0,3\%$.

Key words: *prostate cancer, somatic mutations, the p53 gene, polymerase chain reaction*

Поступила 16.08.13