

Медико-биологические проблемы жизнедеятельности

Научно-практический рецензируемый журнал

№ 2(6)

2011 г.

Учредитель

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

Журнал включен в Перечень
научных изданий Респуб-
лики Беларусь для опублико-
вания диссертационных иссле-
дований по медицинской и
биологической отраслям науки
(31.12.2009, протокол 25/1)

Журнал зарегистрирован

Министерством информации
Республики Беларусь,
Свид. № 762 от 6.11.2009

Компьютерная верстка
А.А. Гурин

Подписано в печать 22.09.11.
Формат 60×90/8. Бумага офсетная.
Гарнитура «Times New Roman».
Печать цифровая. Тираж 155 экз.
Усл. печ. л. 16,75. Уч.-изд. л. 11,9.
Зак. 938.

Издатель ГУ «Республиканский
научно-практический центр
радиационной медицины и экологии
человека»
ЛИ № 0230/0131895 от 3.01.2007 г.

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

ISSN 2074-2088

Главный редактор

В.П. Сытый (д.м.н., профессор)

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.М. Дорофеев (к.м.н., доцент), В.В. Евсеенко (к.п.с.н.), А.В. Коротаев А.В. (к.м.н.), Н.Б. Кривелевич (к.м.н.), А.Н. Лызикив (д.м.н., профессор), А.В. Макарович (к.м.н.), С.Б. Мельнов (д.б.н., профессор), Э.А. Надыров (к.м.н., доцент), Э.Н. Платошкин (к.м.н., доцент), А.В. Рожко (к.м.н., доцент), Г.Н. Романов (к.м.н.), А.М. Скрябин (к.м.н.), А.Е. Силин (к.б.н.), А.Н. Стожаров (д.б.н., профессор), О.В. Черныш (к.м.н.), Н.И. Шевченко (к.б.н.), А.Н. Цуканов (к.м.н.)

Редакционный совет

С.С. Алексанин (д.м.н., профессор, Санкт-Петербург), 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), 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), И.А. Новикова (д.м.н., профессор, Гомель), В.Ю. Рыбников (д.м.н., профессор, Санкт-Петербург), В.П. Ситников (д.м.н., профессор, Гомель), 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), В.Е. Шевчук (к.м.н., Минск)

Технический редактор

С.Н. Никонович

Адрес редакции

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

© Государственное учреждение
«Республиканский научно-
практический центр радиационной
медицины и экологии человека», 2011

№ 2(6)

2011

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

- Ю.И. Ефремова, Л. Навратил
Влияние низкоинтенсивного лазерного излучения на продукцию цитокинов 6

Медико-биологические проблемы

- А.Е. Силин, В.Н. Мартинков, Э.А. Надыров, Е.В. Пестриков, О.М. Либуркин, А.А. Задорожнюк, Э.А. Повелица, С.М. Мартыненко, А.А. Силина, И.Б. Тропашко, А.В. Воропаева Статус метилирования промоторных областей 11 генов-супрессоров при злокачественном новообразовании предстательной железы 14

- А.М. Скрябин, Н.Н. Савва, Ю.А. Бельский, А.Н. Матарас Ретроспективная оценка уровня облучения детей в ранние сроки после чернобыльской аварии на примере реальных случаев врожденного лейкоза 20

- А.В. Тарасова, Т.В. Шман Определение репарации двунитевых разрывов ДНК в лимфоцитах крови по накоплению фосфорилированной формы гистона H2AX 28

- В.В. Шевляков, В.А. Филонюк, Т.С. Студеничник, Г.И. Эрм, Н.А. Щурская, А.В. Буйницкая, Е.В. Чернышова, Т.В. Козловская Новый комплексный биологический препарат «Гулливер»: особенности вредного действия на организм 34

Клиническая медицина

- Т.В. Бобр Применение чрескожной электростимуляции в лечении частичной атрофии зрительного нерва сосудистого генеза 42

- А.В. Богданович, В.Н. Шиленок, Л.Н. Кирпиченок Энтеральная дезин-

Reviews and problem articles

- Yul. Efremova, L. Navrátil Effects of low level laser irradiation on cytokine production

Medical-biological problems

- A. Silin, V. Martinkov, E. Nadyrov, E. Pestrikov, O. Liburkin, A. Zadorozhnyuk, E. Povilitsa, S. Martynenko, A. Silina, I. Tropashko, A. Voropayeva DNA methylation status of promoter regions of 11 suppressor genes in malignant neoplasm of prostate

- A.M. Skryabin, N.N. Savva, Yu.A. Belsky, A.N. Mataras Retrospective population-based study of irradiation exposure in infant leukemia cases registered within the early period after Chernobyl accident (reconstruction of the individualized accumulated doses)

- A. Tarasova, T. Shman DNA double-strand breaks repair detection in lymphocytes based on histone H2AX phosphorylation

- V. Shevlaykov, V. Filanyuk, T. Studenichnik, G. Erm, N. Stchurskaya, A. Buinitskaya, E. Chernyshova, T. Kozlovskaya New complex biological product «Gulliver»: peculiar features of harmful effects on the organism

Clinical medicine

- T. Bobr Estimation of transcutaneous electrostimulation application in patients with partial optic nerve atrophy of vascular origin

- A.V. Bogdanovich, V.N. Shilenok, I.N. Kirpichenok Enteral dezintoxica-

токсикация в раннем послеоперационном периоде у больных острой спаечной кишечной непроходимостью	47	tion in early postoperative period in treatment patients with acute adhesive intestinal obstruction	
<i>Н.В. Галиновская, Н.Н. Усова, О.В. Лыщенко, Е.В. Иванашко, В.Я. Латышева</i> Особенности биохимического спектра у лиц с преходящими нарушениями мозгового кровообращения	53	<i>N.V. Galinovskaya, N.N. Usova, O.V. Lyshchenko, E.V. Ivanashko, V.Ja. Latysheva</i> Features of a biochemical spectrum in persons with transient ischaemic attack	
<i>В.И. Григорьев, С.А. Игумнов, И.В. Григорьева</i> Применение ароматихотерапии в системе реабилитации пациентов с артериальной гипертензией	59	<i>V. Grigoryev, S. Igumnov, I. Grigoryeva</i> Application of aromatherapy in rehabilitation of the patients suffering arterial hypertension	
<i>И.А. Давыдова, М.Г. Русаленко</i> Психоэмоциональное состояние и качество жизни пациентов с сахарным диабетом 1 типа	65	<i>I. Davydova, M. Rusalenko</i> Psychoemotional state and quality of life in patients with type 1 diabetes	
<i>И.Г. Деменкова, В.И. Ковалева</i> Генетическая характеристика детей, родители которых подверглись радиационному воздействию в детском и подростковом возрасте вследствие аварии на ЧАЭС	74	<i>I.G. Demenkova, V.I. Kovaleva</i> Genetic characteristic of children whose parents were subject to radiation impact in their childhood or at puberty as a result of the Chernobyl accident	
<i>Н.В. Николаева</i> Прогнозирование возникновения ИБС с помощью математической модели, построенной по результатам дискриминантного анализа	80	<i>N.V. Nikolaeva</i> Prediction of coronary heart disease using a mathematical model, constructed from the results discriminant analysis	
<i>В.М. Мицура</i> Оценка выраженности фиброза печени у пациентов с хроническим гепатитом С, роль непрямых маркеров фиброза	87	<i>V.M. Mitsura</i> Assessment of liver fibrosis extent in patients with chronic hepatitis C, role of indirect markers of liver fibrosis	
<i>Г.К. Молдабек</i> Влияние эмоционального фона на качество жизни у больных гипотиреозом	93	<i>G.K. Moldabek</i> Influence of an emotional background on quality of a life at patients with hypothyroidism	
<i>Г.Н. Романов, Н.Ф. Чернова, Э.В. Руденко</i> Факторы риска в развитии низкотравматичных переломов у пациентов с нарушением минеральной плотности костной ткани	98	<i>G.N. Romanov, N.F. Chernova, E.V. Rudenko</i> Risk factors in development of fragility fractures at patients with deficit of bone mineral density	
<i>Г.Н. Хованская, Т.А. Новицкая, Н.А. Филина</i> Практическая реализация методики медицинской реабили-		<i>G.N. Hovanskaya, T.A. Novitskaya, N.A. Filina</i> Practical realization of the technique of medical aftertreatment	

тации пациентов с периферическими
невропатиями верхних и нижних ко-
нечностей

103

*Н.П. Шилова, И.А. Байкова,
О.В.Курс* Психоэмоциональные осо-
бенности пациентов с рецидивирую-
щим простым герпесом

108

Обмен опытом

М.Г. Зубрицкий, М.К. Недзведь
Морфологическая диагностика гер-
петических инфекций при хрониче-
ском гастрите у взрослых

114

*А.В. Рожко, В.Б. Масыа-
кин, Э.А. Надыров, А.В. Башилов,
В.К. Иванов, М.А. Максютков* История
создания, структура и функции Еди-
ного чернобыльского регистра Рос-
сии и Беларуси

122

of patients with peripheric neuropathies
of the upper and lower extremities

*N.P. Shilova, I.A. Baikova,
O.V. Kurs* Personal features of patients
with recurrent herpes simplex

Experience exchange

M.G. Zubritsky, M.K. Nedzvedz
Morphological diagnostics of the herpet-
ic infections at chronic gastritis in adults

*A.V. Rozhko, V.B. Masyakin,
E.A. Nadyrov, A.V. Bashylau, V.K. Ivanov,
M.A. Maksutov* History of creation, struc-
ture and functions of the Common Cher-
nobyl Register of Russia and Belarus

УДК 616.65–006.04:575.21

А.Е. Силин¹, В.Н. Мартинков¹,
Э.А. Надыров¹, Е.В. Пестриков²,
О.М. Либуркин², А.А. Задорожнюк²,
Э.А. Повелица¹, С.М. Мартыненко¹,
А.А. Силина¹, И.Б. Тропашко¹,
А.В. Воропаева¹

СТАТУС МЕТИЛИРОВАНИЯ ПРОМОТОРНЫХ ОБЛАСТЕЙ 11 ГЕНОВ-СУПРЕССОРОВ ПРИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННОМ НОВООБРАЗОВАНИИ 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 гиперметилирования промоторных областей 11 генов-супрессоров (RAR β , HIN1, DAPK, GSTP1, APC, Cyclin D2, RASSF1A, p16, E-Cadherin, hMLH1 и BRCA1) в группе из 20 пациентов с диагнозом «рак предстательной железы». Показано, что гиперметилирование хотя бы по одному гену присутствует в 95% случаев. Наиболее метилированными оказались 6 из 11 анализируемых генов: RAR β , HIN1, RASSF1A, GSTP1, APC и Cyclin D2 что позволяет рассматривать их в качестве кандидатов для формирования диагностической панели маркеров рака предстательной железы. Для оценки специфичности данных маркеров требуется проведение дополнительных исследований.

Ключевые слова: рак предстательной железы, гиперметилирование генов-супрессоров, полимеразная цепная реакция

Введение

Общепринятая в настоящее время методология обследования пациентов с патологией предстательной железы (ПЖ) – пальцевое ректальное исследование (ПРИ), трансректальное ультразвуковое исследование (ТРУЗИ), определение ПСА, и, при наличии показаний, пункционная биопсия ПЖ, которая позволяет на основании параллельных цитологических и гистологических исследований выставить заключение о характере патологического процесса. При этом использование традиционных методов цитологических и гистологических окрасок не всегда позволяет проводить дифференциальную диагностику пограничных изменений эпителия между простатической интраэпителиальной неоплазией 2-3 степени и раком предстательной железы (РПЖ).

Следует отметить, что чувствительность ПРИ в дифференциальной диагностике доброкачественной гиперплазии

предстательной железы (ДГПЖ) и локализованного РПЖ составляет 52%, а специфичность 81%. Чувствительность ТРУЗИ в дифференциальной диагностике ДГПЖ и местнораспространенного РПЖ составляет 50-92%, специфичность 58-68%. ПСА является органоспецифическим маркером, относящимся к ткани ПЖ и метастазам РПЖ. Определение уровня ПСА в сыворотке крови считается наиболее точным в диагностике РПЖ. Диагноз РПЖ вероятен, если уровень ПСА в сыворотке крови выше 30 нг/мл. Когда же он находится в пределах от 4 до 30 нг/мл, более чем половина случаев оказывается при биопсии ложноположительными.

Таким образом, в настоящее время актуальным представляется поиск новых дополнительных маркеров РПЖ и создание на их основе высокочувствительной диагностической панели, которая, наряду с традиционными методами, позволит существенно повысить точность диагноза на ранних стадиях развития злокачественного процесса.

В последнее десятилетие при поиске новых маркеров злокачественных новообразований, включая РПЖ, все большее внимание уделяется молекулярно-генетическим маркерам. В настоящее время известно несколько десятков генов и их продуктов, которые потенциально вовлечены в развитие РПЖ и могут в той или иной степени рассматриваться в качестве маркеров злокачественного процесса.

Особое внимание в настоящее время уделяется эпигенетическим событиям, происходящим в опухолевых клетках, а именно – изменение статуса метилирования ДНК в области промоторов генов-супрессоров. Так называемое сверхметилирование (гиперметилирование) приводит к полной инактивации генов, чьи продукты являются ключевым фактором регуляции клеточной пролиферации и апоптоза.

Исследования последнего десятилетия показали, что инактивация генов-супрессоров опухоли, ассоциированная с гиперметилированием промоторной области, является таким же характерным признаком опухолей человека, как и генетические нарушения, и служит альтернативным механизмом потери функции генов-супрессоров [1-3].

Как было установлено в ряде исследований, гиперметилирование генов-супрессоров сопровождается такими заболеваниями, как рак печени, рак легкого, рак мочевого пузыря, рак щитовидной железы [4-7] и злокачественные новообразования ряда других локализаций. Существуют данные о фактах гиперметилирования при раке предстательной железы [8].

Исходя из вышесказанного, исследования, направленные на изучение сопряженности гиперметилирования различных генов-супрессоров со злокачественными процессами предстательной железы на различных стадиях канцерогенеза, дадут возможность существенно уточнить наши знания о значимости эпигенетических событий при раке предстательной железы.

Целью данной работы являлось изучение статуса метилирования 11 различных генов-супрессоров в ткани предстатель-

ной железы у пациентов с диагнозом «рак предстательной железы».

Материалы и методы исследования

Группа исследования и пробоподготовка

Группа исследования была сформирована из 20 пациентов У «Гомельский областной клинический онкологический диспансер» с диагнозом «рак предстательной железы», проходивших обследование и лечение в 2010-2011 гг. Материал для исследования в виде ткани предстательной железы, взятой посредством пункционной биопсии, был получен после подписания пациентом формы информированного согласия. Все исследуемые случаи 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.

Анализ гиперметилирования предусматривает этап модификации ДНК бисульфитным методом. В нашей работе образцы ДНК модифицировали с использованием набора для бисульфитной модификации CpGenome™ Universal DNA Modification Kit (Chemicon) в соответствии с прилагаемой инструкцией.

Молекулярно-генетический анализ

Анализ гиперметилирования промоторных областей генов-супрессоров осуществлялся посредством метилспецифической полимеразной цепной реакции (МС-ПЦР) с последующей детекцией результатов амплификации при помощи агарозного гелеэлектрофореза. Исследование проводилось по 11 различным генам: RAR β , HIN1, DAPK, GSTP1, APC, Cyclin D2, RASSF1A, p16, E-Cadherin, hMLH1 и BRCA1. Следуя методике МС-ПЦР, для анализа каждого из генов были использованы две пары олигонуклеотидных праймеров – для выявления неметилированной ДНК и для определения метилированной последовательности. Вы-

бренные для исследования праймеры представлены в таблице 1 с указанием основных параметров ПЦР.

Состав реакционной смеси для проведения МС-ПЦР в нашей работе был следующим: 2,5 мкл 10× HotStart ПЦР бу-

Таблица 1 – Праймеры для анализа гиперметилирования промоторных областей 11 генови оптимальные условия проведения МС-ПЦР

Ген/ Локализация	Название праймера	Последовательность нуклеотидов 5'-3'	Параметры МС-ПЦР	
			MgCl ₂ , мМ	T _{отж} , °C
RARβ 3p24	RAR-U-F	GGATTGGGATGTTGAGAATGT	2,0	60
	RAR-U-R	CAACCAATCCAACCAAAACAA		
	RAR-M-F	GAACGCGAGCGATTTCGAGT		
	RAR-M-R	GACCAATCCAACCGAAACG		
RASSF1A 3p21.3	PAN-F	GGAGGGAAGGAAGGGTAAG	2,5	54
	PAN-R	CAACTCAATAAACTCAAACCTCCC		
	MSP-F	GGGTTTTGCGAGAGCGCG		
	MSP-R	GCTAACAAACGCGAACCG	2,5	60
	USP-F	GGTTTTGTGAGAGTGTGTTTAG		
	USP-R	CACTAACAAACACAAACCAAAC		
HIN1 1q23.1	HIN-U-F	GGTATGGGTTTTTTATGGTTTGT	2,0	60
	HIN-U-R	CAAACTTCTTATACCCAATCCTCA		
	HIN-M-F	GGTACGGGTTTTTTACGGTTCGTC		
	HIN-M-R	AACTTCTTATACCCGATCCTCG		
DAPK 9q34.1	DAPUF	GGAGGATAGTTGGATTGAGTTAATGTT	2,5	60
	DAPUR	CAAATCCCTCCCAACACCAA		
	DAPMF	GGATAGTCGGATCGAGTTAACGTC		
	DAPMR	CCCTCCCAACGCCGA		
GSTP1 11q13-qter	MS-F	TTCGGGGTGTAGCGGTCGTC	2,5	59
	MS-R	GCCCAATACTAAATCACGACG		
	UMS-F	GATGTTTGGGGTGTAGTGGTTGTT		
	UMS-K	CCACCCAATACTAAATCACAACA		
Cyclin D2 12p13	D2UM-F	AGAGTATGTGTTAGGGTTGATT	2,5	56
	D2UM-R	ACATCCTCACCAACCTCCA		
	D2M-F	GGCGGATTTTATCGTAGTCG		
	D2M-R	CTCCACGCTCGATCCTTCG		
hMLH1 3p22.3	H1UM-F	TTTTGATGTAGATGTTTTATTAGGGTTGT	2,5	56
	H1UM-R	ACCACCTCATCATAACTACCCACA		
	H1M-F	ACGTAGACGTTTTATTAGGGTCGC		
	H1M-R	CCTCATCGTAACTACCCGCG		
APC 5q21-q22	APCUM-F	GTGTTTTATTGTGGAGTGTGGGTT	2,5	61
	APCUM-R	CCAATCAACAACTCCCAACAA		
	APCM-F	TATTGCGGAGTGCGGGTC		
	APCM-R	TCGACGAACTCCCGACGA		
p16 9p21	p16UM-F	TTATTAGAGGGTGGGGTGGATTGT	2,5	59
	p16UM-R	CAACCCCAAACCACAACCATAA		
	p16M-F	TTATTAGAGGGTGGGGCGGATCGC		
	p16M-R	GACCCGAACCGCGACCGTAA		
E-Cadherin 16q22.1	CDH1-UF	TAATTTTAGGTTAGAGGGTTATTGT	2,5	56
	CDH1-UR	CACAACCAATCAACAACACA		
	CDH1-MF	TTAGGTTAGAGGGTTATCGCGT		
	CDH1-MR	TAACATAAAATTCACCTACCGAC		
BRCA1 17q21	BRCAUM-F	GGTTAATTTAGAGTTTTGAGAGATG	2,5	61
	BRCAUM-R	TCAACAACTCACACCACACAATCA		
	BRCAM-F	GGTTAATTTAGAGTTTCGAGAGACG		64
	BRCAM-R	TCAACGAACTCACGCCGCGCAATCG		

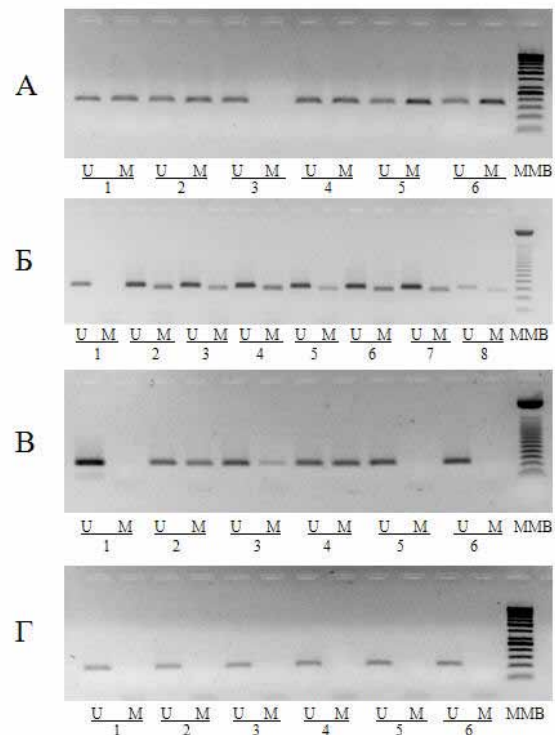
фер (200 мМТрис-НСlрН 8,3, 200 мМКСl, 50мМ (NH₄)₂SO₄), 1 мкл 10мМ смеси dNTP, 0,1 мкл каждого 100 мкМ праймера, 2,0-2,5 мкл 25мМ MgCl₂ (см. таблицу 1), 0,1 мкл HotStart Taq-полимеразы (5ед./мкл), 1 мкл образца модифицированной ДНК, вода ПЦР-качества до объема 25 мкл. Для ПЦР используются специальные пробирки объемом 0,2 мл.

Общая схема программы для амплификатора выглядит следующим образом: начальная денатурация – 4 мин. при 95°C, затем 40 циклов 30-секундной денатурации при 94°C, отжиг праймеров – 30 сек. при температуре 54-64°C (см. таблицу 1) и элонгация 30 сек. при 72°C. В завершении – финальная элонгация 5 мин. при 72°C и охлаждение до 4°C. Реакцию амплификации осуществляли в приборе GeneAmp 2400 PCR System (Perkin-Elmer).

Анализ продуктов МС-ПЦР осуществлялся посредством агарозного геле-электрофореза и окраской бромистым этидием в камере SE-2 (Helicon) с источником питания Эльф-4 (ДНК-технология). Гелевым и электродным буфером был 1x TBE буфер рН 8,0 с 0,05% бромистым этидием. Продукты амплификации объемом 7,5 мкл смешивали с 2,5 мкл загрузочного буфера (70% водный р-р глицерина и 0,05% бромфеноловый синий) и вносили в лунки 1,75% агарозного геля. Электрофорез проводили в течение 30 мин. при 200 В. Маркерами молекулярного веса являлись фрагменты ДНК из набора «50pb DNA StepLadder» (Promega), масса которых составляла 50-800 пар нуклеотидов с шагом в 50 п.н. Визуализация результатов осуществлялась посредством трансиллюминатора UVT 1 (Biosom) и камеры для фотодокументирования гелей. Примеры электрофоретической детекции гиперметилирования представлены на рисунке 1.

Результаты исследований

В результате проведенного молекулярно-генетического анализа были получены данные о статусе метилирования промоторных областей 11 генов-



У – результат амплификации неметилированной ДНК, М – результат амплификации метилированной ДНК, ММВ – маркер молекулярного веса

Рисунок 1 – Результат электрофоретической детекции продуктов МС-ПЦР по генам RASSF1A (А), RARβ (Б), HIN1 (В) и DAPK (Г)

супрессоров в ткани предстательной железы у 20 пациентов с РПЖ. Результаты анализа представлены в таблице 2. Как видно из таблицы, метилирование в изученной группе полностью отсутствовало по трем из 11 генов – DAPK, E-Cadherin и hMLH1.

Относительно редкими были случаи метилирования генов p16 и BRCA1 (5 и 10%, соответственно). По остальным 6 генам гиперметилирование промоторных областей выявлено в подавляющем большинстве случаев. Наиболее метилированные оказались гены RARβ, HIN1 и RASSF1A (95% по каждому гену). Гены GSTP1, APC и Cyclin D2 были метилированы в 90%, 80% и 70% случаев соответственно. В целом метилирование по какому-либо из генов было выявлено в 95% исследованных случаев рака предстательной железы.

Таким образом, в результате проведенного исследования среди 11 проанализиро-

Таблица 2 – Результаты анализа гиперметилирования 11 генов-супрессоров

№	ID	RARβ	HIN1	DAPK	GSTP1	APC	CyclinD2	RASSF1A	p16	E-Cadherin	hMLH1	BRCA1	В целом
1	Pt61	+	+	-	+	+	+	+	-	-	-	-	+
2	Pt62	+	+	-	+	+	+	+	-	-	-	-	+
3	Pt63	+	+	-	+	+	+	+	-	-	-	-	+
4	Pt64	+	+	-	+	+	-	+	-	-	-	-	+
5	Pt66	+	+	-	+	+	+	+	-	-	-	-	+
6	Pt68	+	+	-	+	+	-	+	-	-	-	-	+
7	Pt69	+	+	-	+	+	+	+	-	-	-	-	+
8	Pt70	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	-	+
9	Pt72	+	+	-	+	+	+	+	-	-	-	-	+
10	Pt74	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
11	Pt78	+	+	-	+	+	-	+	-	-	-	-	+
12	Pt84	+	+	-	+	+	+	+	-	-	-	-	+
13	Pt85	+	+	-	+	+	+	+	-	-	-	-	+
14	Pt87	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-	-	+
15	Pt88	+	+	-	+	+	+	+	-	-	-	-	+
16	Pt89	+	+	-	+	-	+	+	-	-	-	+	+
17	Pt90	+	+	-	+	+	-	+	-	-	-	+	+
18	Pt91	+	+	-	+	+	+	+	-	-	-	-	+
19	Pt94	+	+	-	+	-	+	+	-	-	-	-	+
20	Pt95	+	+	-	+	-	-	+	-	-	-	-	+

ванных генов кандидатами в генетические маркеры рака предстательной железы могут быть отобраны RARβ, HIN1, RASSF1A, GSTP1, APC и Cyclin D2. В тоже время полученные данные носят предварительный характер и требуют уточнения посредством увеличения количества исследованных случаев рака предстательной железы. Продолжение данного исследования будет также направлено на изучение специфичности генов-кандидатов при дифференциальной диагностике патологии предстательной железы. Для достижения данной цели необходимо проведение исследования в группах сравнения из числа случаев доброкачественной гиперплазии предстательной железы, предраковых состояний, а также в нормальной ткани предстательной железы.

Заключение

В результате проведенного исследования определен статус метилирования промоторных областей 11 генов-супрессоров. Шесть генов определены в качестве канди-

датов в генетические маркеры рака предстательной железы. Для формирования генетической панели маркеров требуется проведение дополнительных исследований с привлечением большего количества случаев рака предстательной железы, а также групп сравнения из числа пациентов с доброкачественной патологией и без патологии.

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. Alterations in DNA methylation: a fundamental aspect of neoplasia. / S.B. Baylin [et al.] // Adv. Cancer Res. – 1998. – V. 72. – P. 141-196.

2. Herman, J. G. Hypermethylation of tumor suppressor genes in cancer. / J. G. Herman // Sem. Cancer Biol. – 1999. – V. 9. – P. 359-367.
3. Метилирование ДНК канцерогенез. / А.В. Лихтенштейн [и др.] // Биохимия. – 2001. – № 66. – С. 235-255.
4. Detection of Aberrant p16 Methylation in the Plasma and Serum of Liver Cancer Patients / I.H. Wong [et al.] // Cancer Research. – 1999. – V. 59. – P. 71-73.
5. Detection of Aberrant Promoter Hypermethylation of Tumor Suppressor Genes in Serum DNA from Non-Small Cell Lung Cancer Patients / M. Esteller [et al.] // Cancer Research. – 1999. – V. 59. – P. 67-70.
6. Detection of Bladder Cancer in Urine by a Tumor Suppressor Gene Hypermethylation Panel / E. Dulaimi [et al.] // Clinical Cancer Research. – 2004. – V. 10. – P. 1887-1893.
7. Xing, M. BRAF mutation in thyroid cancer / M. Xing // Endocrine-Related Cancer. – 2005. – V. 12. – P. 245-262.
8. Hypermethylation of CpG Islands in Primary and Metastatic Human Prostate Cancer / S. Yegnasubramanian [et al.] // Cancer Research. – 2004. – V. 64. – P. 1975-1986.

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

**DNA METHYLATION STATUS OF PROMOTER REGIONS OF 11 SUPPRESSOR
GENES IN MALIGNANT NEOPLASM OF PROSTATE**

The results of molecular genetic analysis of hypermethylated promoter regions of 11 suppressor genes (RAR β , HIN1, DAPK, GSTP1, APC, Cyclin D2, RASSF1A, p16, E-Cadherin, hMLH1, BRCA1) are given for the group of 20 patients diagnosed with prostate cancer. Hypermethylation of at least one gene is found to be present in 95 percent of all cases. The six genes found to be most methylated (RAR β , HIN1, RASSF1A, GSTP1, APC, Cyclin D2) may be considered as candidates for the panel of prostate cancer tumor markers. Assessment of specificity of the given markers is necessary.

Key words: prostate cancer, hypermethylation of genes-suppressors, polymerase chain reaction

Поступила 02.09.11