

Сведения об авторах статьи:

Муфазалов Фагим Фанисович, д.м.н., профессор, зам главного врача по радиологии, ГУЗ РКОД МЗ РБ, Проспект Октября 73/1, 450054, fagimf@mail.ru
Мухаметханова Эмма Рашидовна, врач-радиолог радиологическое отделение №1, ГУЗ РКОД МЗ РБ, Проспект Октября 73/1, 450054, emmarash@mail.ru
Штефан Алла Юрьевна, к.м.н., зав. радиологического отделения № 1, ГУЗ РКОД МЗ РБ, Проспект Октября 73/1, 450054

ЛИТЕРАТУРА

1. Бухаркин Б.В. Современные методы лечения местно-распространенного и диссеминированного рака предстательной железы - Автореф. дис. докт. мед. наук. - М, 1995.
2. Голдобенко Г.В., Ткачев С.И. Злокачественные опухоли мужских половых органов. Лучевая терапия злокачественных опухолей. - М., Медицина, 1996;319.
3. Макарова Г.В. Лучевая терапия рака предстательной железы - Дисс. докт. мед. наук. - М, 1992.

УДК 575:599.9

© В.Н. Павлов, И.Р. Гилязова, А.Т. Мустафин, Л.Р. Мингазова, Р.И. Сафиуллин,
 А.А. Измайлов, А.А. Загидуллин, А.О. Папоян, М.Ф. Урманцев, Л.М. Кутлияров, Э.К. Хуснутдинова, 2011

В.Н. Павлов, И.Р. Гилязова, А.Т. Мустафин, Л.Р. Мингазова,
 Р.И. Сафиуллин, А.А. Измайлов, А.А. Загидуллин,
 А.О. Папоян, М.Ф. Урманцев, Л.М. Кутлияров, Э.К. Хуснутдинова
**МЕТИЛИРОВАНИЕ ГЕНА ГЛУТАТИОН-S-ТРАНСФЕРАЗЫ P1 (GSTP1)
 КАК ДИАГНОСТИЧЕСКИЙ МАРКЕР РАЗВИТИЯ
 РАКА ПРЕДСТАТЕЛЬНОЙ ЖЕЛЕЗЫ**

Во время развития и прогрессирования онкологических заболеваний клетки подвергаются эпигенетическим модификациям, таким как метилирование ДНК и деацетилирование гистонов. Изменение степени метилирования ДНК приводит к инактивации генов- супрессоров опухолевого роста, а характер метилирования некоторых генов служит одним из диагностических маркеров онкологических заболеваний. Соматическое гиперметилирование CpG островков в гене, кодирующем глутатион-S-трансферазу P1, характерно для рака предстательной железы. Обзор посвящен изучению роли эпигенетических факторов при онкологических заболеваниях и анализу метилирования гена GSTP1 при раке предстательной железы.

Ключевые слова: эпигенетические факторы, метилирование ДНК, ген глутатион-S-трансферазы P1, рак предстательной железы.

V.N. Pavlov, I.R. Gilyazova, A.T. Mustafin, L.R. Mingazova,
 R.I. Safiullin, A.A. Izmailov, A.A. Zagidullin,
 A.O. Papoyan, M.F. Urmantsev, L.M. Kutliyarov, E.K. Khusnutdinova
**METHYLATION OF GLUTATHIONE-S-TRANSFERASE P1 GENE (GSTP1)
 AS DIAGNOSTIC MARKER FOR PROSTATE CANCER DEVELOPMENT**

During cancer development and progression, tumor cells undergo abnormal epigenetic modifications, including DNA methylation and histone deacetylation. These aberrations promote genomic instability and lead to silencing of tumor-suppressor genes; methylation status of some genes serves as the diagnostic marker for cancer. Somatic hypermethylation of CpG island sequences at GSTP1, the gene encoding the pi-class glutathione S-transferase, appears to be characteristic of human prostatic carcinogenesis. We present here a review of the literature describing the role of epigenetic alteration in cancer development and somatic GSTP1 changes in DNA from prostate cells and tissues.

Key words: epigenetic factors, DNA methylation, glutathione S-transferase P1, prostate cancer.

В последние годы большую роль в возникновении онкологических заболеваний уделяют эпигенетическим факторам, которые обусловлены наследуемыми изменениями в экспрессии генов, ассоциированными с модификациями ДНК или белками хроматина, при которых не происходит изменения последовательности ДНК. Такой модификацией, наиболее интенсивно изучаемой в наши дни, является метилирование ДНК.

Изучение метилирования ДНК при онкологических заболеваниях начато сравнительно недавно. Известно, что при канцерогенезе механизм метилирования ДНК существенно нарушается, происходит гиперметилирование опухолевых генов-супрессоров, гипометилирование онкогенов или гетерохро-

матина, аномальное метилирование генов, контролирующих клеточный цикл, пролиферацию, апоптоз, метастазирование, лекарственную устойчивость и внутриклеточную сигнализацию.

Несмотря на то, что последние достижения в области анализа метилирования генома позволили определить многочисленные дифференцированно метилированные регионы, их функции в значительной степени остаются неизвестными [1, 2], поэтому необходимы дальнейшие исследования для определения диагностических и прогностических маркеров развития онкологических заболеваний, в том числе и маркеров развития рака предстательной железы.

Рак предстательной железы (РПЖ) – это злокачественное новообразование, возникающее из эпителия альвеолярно-клеточных желез. Рак простаты является причиной почти 10% смертей мужчин от рака в мире и одной из главных причин смерти у пожилых мужчин. Так, среди мужчин до 45 лет смертность от рака простаты незначительна (3 случая на 1 млн. чел.), однако после 75 лет эта величина возрастает более чем в 400 раз, достигая 130 случаев на 100 000 чел. Рак предстательной железы в России занимает второе место после меланомы кожи (35%) по темпам прироста (31,4%) и значительно превышает злокачественные заболевания легких (5,0%) и желудка (10,2%). В среднем в год выявляется более 16 000 новых пациентов с раком предстательной железы, что составляет около 7% в структуре общей онкологической заболеваемости мужчин [3].

Наиболее частой гистологической формой рака предстательной железы является аденокарцинома. Аденокарцинома — мелкоацинарный рак (small acinar carcinoma), составляющий 95-97% всех случаев рака простаты. Этот вид рака происходит из ацинарного эпителия преимущественно периферической зоны предстательной железы. Но около 20-25% аденокарцином возникает в переходной зоне простаты. В этих случаях рак может быть диагностирован в ходе гистологического исследования после трансуретральной резекции предстательной железы, и он будет соответствовать стадиям T1a или T1b. По гистологическим признакам различают следующие типы аденокарциномы: протоковый (эндометриоидный) рак, муцинозная аденокарцинома, перстневидноклеточный рак, мелкоклеточный рак, плоскоклеточный рак, базалоидный рак, аденосквамозный рак, кистозная аденокарцинома. Помимо аденокарциномы довольно редко встречаются еще две форма рака предстательной железы - переходно-клеточный рак и плоскоклеточный рак. По данным различных авторов, до 5% случаев рака предстательной железы носит наследственный характер, но большинство случаев (75%) являются спорадическими формами. Около 20% случаев составляют семейные случаи рака простаты, развивающиеся в результате совместного действия наследственных, средовых факторов риска и влияния определенных поведенческих привычек. Установлено, что при наличии рака простаты у родственников первой степени родства вероятность возникновения РП увеличивается в 2-3 раза [4].

В связи с быстрым и неуклонно progressing ростом заболеваемости, высоким уровнем смертности от онкологических заболеваний и от рака предстательной железы в частности, анализ метилирования ДНК является важной задачей, решение которой будет способствовать формированию фундаментальных представлений о патогенезе данной группы заболеваний, а также позволит выявить эпигенетические факторы риска развития рака предстательной железы.

Цель данной работы – анализ современного состояния исследований роли метилирования ДНК в развитии онкологических заболеваний, а также влияние метилирования глутатион-S-трансферазы P1 (GSTP1) на возникновение рака предстательной железы.

Метилирование ДНК и канцерогенез

Многочисленные исследования доказали, что эпигенетические изменения играют определенную роль в канцерогенезе и опухолевой прогрессии [5,6,7]. Метилирование ДНК происходит при помощи ферментов ДНК метилтрансфераз. Чаще всего при метилировании работает фермент метилтрансфераза 1 (DNMT1). Известно, что ДНК метилтрансфераза 3 семейства DNMT3 (DNMT3A и DNMT3B), экспрессия которой координируется белком DNMT3L [8], лимфоидспецифичной геликазой Lsh [9], микро-РНК [10], и рi-РНК [11], осуществляет метилирование *de novo*, а функции ДНК метилтрансферазы 2 до сих пор до конца не изучены. Выяснено, что во время репликации ДНК, метилирование сохраняется комплексом взаимодействующих метилтрансфераз DNMT1 и *de novo* метилтрансфераз DNMT3A и DNMT3B [12], метилмодифицирующих гистонов [13] и убиквитин-подобных белков, содержащих полипептид, ассоциированный с анемией Фанкони (PHD) и RING-finger домена 1 [14].

Основными мишенями метилирования в цепях ДНК являются CpG-последовательности, большая часть которых находится в геноме в виде одиночных динуклеотидов, расположенных чаще всего в интронах [15]. Значительная часть тканеспецифичных генов имеют в своих промоторах одиночные CpG-динуклеотиды. Около 70-90% CpG-динуклеотидов в геноме млекопитающих метилированы, степень их метилирования может быть различной в разных клетках и тканях, но существуют последовательности, где CpG-динуклеотиды распределены кластерами. Такие последовательности получили название CpG-островков. Они часто располагаются в 5'-регуляторных районах генов, но также встре-

чаются и в интронах и на 3'-концах генов [16]. Более половины генов, включая протоонкогены и гены-супрессоры опухолевого роста, содержат CpG-островки [17]. В нормальных соматических клетках большинство CpG-островков не метилированы. Аберрантное метилирование CpG-островка, связанное с каким-либо геном-супрессором опухолевого роста, может приводить к потере его экспрессии, способствуя инициации и прогрессии опухоли. Причина аберрантного метилирования в значительной степени неизвестна. Предполагается, что данное метилирование является важным механизмом «выключения» генов-супрессоров. Оно может быть вызвано регуляцией метилтрансфераз или другими хроматин-связывающими белками [18].

К настоящему времени обнаружено и идентифицировано большое количество метилированных генов, которые связаны с возникновением онкологических заболеваний.

Метилирование может быть сниженным (гипометилирование) и повышенным (гиперметилирование), глобальным (тотальным) и локальным. Глобальное гипометилирование в повторяющейся последовательности ДНК дестабилизирует хромосомы и увеличивает скорость геномных перестроек. Локальное гиперметилирование, распространяющееся на небольшую часть CpG-динуклеотидов, которые входят в состав CpG-островков, приводит к инактивации генов-супрессоров опухолевого роста [1,19].

Показано, что многие гены гипометилированы при онкологических заболеваниях. Так, при раке простаты гипометилированы ген белка, богатого цистеином 1 (*CRIP1*), ген S100 кальций-связывающего белка Р (*S100P*) [20].

Гиперметилирование при онкологических заболеваниях происходит чаще, чем гипометилирование. Последовательность CpG-островка играет важную роль в регуляции транскрипции генов. В обычных соматических клетках многие CpG-островки не метилированы. Тем не менее, приобретение метильной группы CpG-островками наблюдается почти при всех типах первичных опухолей. Механизм гиперметилирования при раке полностью не изучен. Несколько исследований показали, что он может быть связан с взаимодействием *de novo* метилтрансфераз DNMT1 и других ДНК связывающих белков. Например, DNMT1 образует комплекс с ретинобластомой (Rb), фактором транскрипции (E2F1) и деацетилазой гистона 1 (HDAC1) для подавления транскрипции в промоторах, содержа-

щих E2F-сайты связывания при опухолевых клетках [21]. Кроме того, DNMT1 взаимодействует с белком p53 и фосфатазой Cdc25C [22].

Многочисленные исследования свидетельствуют о том, что гиперметилирование ДНК может происходить во многих генах, участвующих в различных биохимических путях, которые имеют отношение к развитию опухоли и ее прогрессии. В их числе гены клеточного цикла (*CDKN2A/p16-INK4*, *CDKN2B/p15-INK4B*, *CCND2*, *RBI*), репарации ДНК (*MGMT*, *BRCA1*, *MLH1*), апоптоза (*DAPK*, *TMS1*, *TP73*), метастазирования (*CDH1*, *CDH13*, *PCDH10*), детоксикации (*GSTP1*), RAS- (*RASSF1*) и Wnt-сигналикации (*APC*, *DKK1*). Некоторые виды рака являются более уязвимыми к эпигенетическим сбоям. В соответствии с базой данных PubMeth (<http://www.pubmeth.org/>), рак чаще всего связан с гиперметилированием ДНК в легких, желудке, толстой кишке, головном мозге, печени, почки, молочной железе и предстательной железе [23]. Тем не менее, частота сообщений о гиперметилировании при этих видах рака не исключают нарушений статуса метилирования при других его типах.

Значение анализа метилирования ДНК для клинической практики

Существует несколько причин, по которым гиперметилирование ДНК может быть использовано в качестве маркера развития онкологических заболеваний. Во-первых, метилирование ДНК является стабильным и может быть проверено в различных образцах. Во-вторых, современные технологии позволяют выявлять метилированные участки ДНК с высокой степенью чувствительности. Так, количественная метил-специфичная ПЦР в режиме реального времени (QMSP) в настоящее время широко используется для сравнения доли метилированных мишеней между образцами. В основе этого подхода лежит бисульфитная модификация геномной ДНК, при которой неметилированный цитозин преобразуется в урацил, а метилированные остатки остаются защищенными от таких преобразований. Олигонуклеотиды для полимеразной цепной реакции создаются таким образом, чтобы специфично проамплифицировать метилированную ДНК.

QMSP может надежно обнаруживать метилирование даже в присутствии 10 000-кратного избытка неметилированных аллелей [24], что делает этот метод удобным для проведения клинических исследований, когда высокая чувствительность необходима из-за

скудного количества опухолевой ДНК и возможности попадания большого количества нормальной ДНК в опухолевую. QMSP в настоящее время используется для определения уровня метилирования генов в тканях, полученных при лазерной микродиссекции клеток опухоли, архивных тканей из парафина, а также клеток предстательной железы, полученных из мочи. Определение статуса метилирования генов в клетках, полученных из мочи, представляет новые возможности для мониторинга изменений уровня метилирования с использованием неинвазивных подходов. Высокая распространенность гиперметилирования ДНК при онкологических заболеваниях, том числе при раке предстательной железы (табл.), является преимуществом для идентификации потенциальных диагностических и прогностических маркеров метилирования как факторов риска развития данной патологии [25,26]. Известно, что в определенных типах опухолей идентифицированы уникальные профили метилирования промоторных CpG-островов [25,27], что является важным для раннего обнаружения маркеров рака простаты. Тканеспецифичность является очевидным фактором при рассмотрении промоторного метилирования в качестве маркера онкологических заболеваний. Однако метилирование некоторых генов, таких как опухолевый ген-супрессор RASSF1A, ретинолсвязывающий белок 1 (CRBP1), ген аденоматозного полипоза толстой кишки и ген $\beta 2$ **рецепторов ретиноевой кислоты** (RAR $\beta 2$) встречается как при раке простаты, так и при доброкачественной гиперплазии предстательной железы с аналогичными частотами [28, 29, 30]. QMSP оценивает количество метилированных копий гена, что позволяет дифференцировать метилированную доброкачественную ткань и злокачественную опухоль. Так, в исследовании Jeronimo *et al.* (2004c), ген аденоматозного полипоза толстой кишки (APC) был метилирован в 100% опухолей и 87% образцов доброкачественной гиперплазии предстательной железы, но средний уровень метилирования (выраженный как отношение (метилированного APC / β -актина) * 1000) существенно отличался, составляя 86 и 0,7, соответственно. Поэтому, хотя метилирование определенных генов происходит и при доброкачественных изменениях предстательной железы, можно различить высокий уровень метилирования ДНК в опухолевых тканях и низкий – при доброкачественных изменениях предстательной железы путем исполь-

зования эмпирических пороговых значений [31].

Гиперметилирование гена GSTP1 при раке предстательной железы

Инактивация генов-супрессоров опухолевого роста в результате метилирования промоторных областей широко распространена в опухолях различного типа, в том числе и при аденокарциноме предстательной железы. Одним из первых генов, для которого при данном заболевании было показано гиперметилирование промоторной области, является ген глутатион- S-трансферазы P1 (GSTP1). GSTP1 – это фермент, отвечающий за детоксикацию электрофильных и кислых ксенобиотиков и выполняющий антиоксидантную роль в организме человека. Метилирование промоторной области гена GSTP1 является одним из наиболее частых и ранних событий из когда-либо описанных при аденокарциноме предстательной железы [32]. Аномальное метилирование промоторной области гена GSTP1 в трансформированной ткани простаты, приводящее к инактивации гена, было выявлено многочисленными исследователями [33, 34, 35, 36]. Инактивация данного гена наблюдается примерно в 90% карцином [37].

Функциональное значение данного феномена остаётся неясным. Предполагается, что утрата GSTP1 негативно отражается на мощности антиоксидантных систем клетки, и, следовательно, увеличивает мутагенную нагрузку на ДНК. Снижение активности GSTP1 связано с угнетением транскрипции гена вследствие метилирования его промотора. Считается, что это одно из немногих генетических изменений, которое является весьма распространенным в начале канцерогенеза при раке простаты и имеет высокую специфичность именно к раку предстательной железы [38]. Кроме GSTP1, в опухолях простаты наблюдается метилирование регуляторных областей и угнетение транскрипции целого ряда генов-супрессоров [39]. Однако метилирование гена GSTP1 происходит и в других типах опухолей, таких как рак молочной железы, почек и печени [25]. Мультигенный профиль метилирования, включая некоторые гены, которые имеют более низкие частоты метилирования, чем GSTP1, могут улучшить простатоспецифичность и обеспечить диагностическое или прогностическое значение. Так, например, сочетание метилирования генов GSTP1 и APC является 100% специфичным для рака простаты (по сравнению с доброкачественными изменениями простаты) и может помочь идентифицировать 77-98% опухолей

[31, 40]. Обширное исследование, проведенное Yegnasubramanian с коллегами, 2004, в котором анализировался профиль метилирования 16 различных генов, позволило описать панель из четырех генов (GSTP1, APC, PTGS2

и MDR1), с помощью которых возможно дифференцировать доброкачественные изменения в ткани простаты от злокачественных с 92% специфичностью и практически 100% чувствительностью [42].

Таблица

Гены, гиперметилированные с высокой частотой (>50%) при раке простаты		
Ген	Стадия рака	Ссылка
Гены метаболизма карциногенов		
GSTP1	первичный и метастатический	Lin <i>et al.</i> (2001b), Maruyama <i>et al.</i> (2002), Yamanaka <i>et al.</i> (2003), Jeronimo <i>et al.</i> (2004c), Kang <i>et al.</i> (2004), Singal <i>et al.</i> (2004a), Woodson <i>et al.</i> (2004a), Yegnasubramanian <i>et al.</i> (2004)
Гены негативного регулятора прогрессии опухоли		
S100A2 ^b	первичный и метастатический	Jeronimo <i>et al.</i> (2004c), Rehman <i>et al.</i> (2005)
APC ^a	первичный и метастатический	Maruyama <i>et al.</i> (2002), Jeronimo <i>et al.</i> (2004c), Kang <i>et al.</i> (2004), Yegnasubramanian <i>et al.</i> (2004)
Гены рецепторов стероидных гормонов		
ER α ^{a,b}	Все стадии, увеличение частоты по мере прогрессирования заболевания	Sasaki <i>et al.</i> (2002), Li <i>et al.</i> (2000)
ER α B	первичный	Sasaki <i>et al.</i> (2002)
ERB	Первичный, уменьшение частоты в отдаленных метастазах	Nojima <i>et al.</i> (2001), Sasaki <i>et al.</i> (2002), Zhu <i>et al.</i> (2004)
RARB2	Все стадии, увеличение частоты по мере прогрессирования заболевания	Nakayama <i>et al.</i> (2001), Maruyama <i>et al.</i> (2002), Yamanaka <i>et al.</i> (2003), Jeronimo <i>et al.</i> (2004b), Singal <i>et al.</i> (2004a), Woodson <i>et al.</i> (2004b)
Гены клеточной адгезии		
CD44	Все стадии, увеличение частоты по мере прогрессирования заболевания	Lou <i>et al.</i> (1999), Verkaik <i>et al.</i> (2000), Kito <i>et al.</i> (2001), Woodson <i>et al.</i> (2003), Singal <i>et al.</i> (2004a), Woodson <i>et al.</i> (2004a), Woodson <i>et al.</i> (2004b)
TIG1	Все стадии, увеличение частоты по мере прогрессирования заболевания	Zhang <i>et al.</i> (2004)
Гены клеточной пролиферации		
MDR1	Все стадии, увеличение частоты по мере прогрессирования заболевания	Enokida <i>et al.</i> (2004), Yegnasubramanian <i>et al.</i> (2004)
RASSF1A ^b	первичный и метастатический	Kuzmin <i>et al.</i> (2002), Maruyama <i>et al.</i> (2002), Jeronimo <i>et al.</i> (2004c), Kang <i>et al.</i> (2004), Singal <i>et al.</i> (2004a), Woodson <i>et al.</i> (2004a), Woodson <i>et al.</i> (2004b), Yegnasubramanian <i>et al.</i> (2004)
ZNF185	Все стадии, увеличение частоты по мере прогрессирования заболевания	Vanaja <i>et al.</i> (2003)
NTRK2	первичный	Yamada <i>et al.</i> (2004)
HIN-1	первичный и метастатический	Krop <i>et al.</i> (2004), Shigematsu <i>et al.</i> (2005)
14-3-3 σ	первичный	Lodygin <i>et al.</i> (2004), Mhawech <i>et al.</i> (2005)
hSPRY2	первичный	McKie <i>et al.</i> (2005)
Гены, отвечающие за нормальное развитие		
EDNRB ^{a,b}	первичный и метастатический	Nelson <i>et al.</i> (1997), Jeronimo <i>et al.</i> (2003), Singal <i>et al.</i> (2004a), Woodson <i>et al.</i> (2004a), Woodson <i>et al.</i> (2004b), Yegnasubramanian <i>et al.</i> (2004)
Гены апоптоза		
RTVP1/GLIPR	первичный	Ren <i>et al.</i> (2004)
CRBP1	Первичный	Jeronimo <i>et al.</i> (2004a), Jeronimo <i>et al.</i> (2004c)
Гены, регулирующие воспаление		
PTGS2/COX2	первичный и метастатический	Kang <i>et al.</i> (2004), Yegnasubramanian <i>et al.</i> (2004)
PTGS2/COX2	первичный и метастатический	Kang <i>et al.</i> (2004), Yegnasubramanian <i>et al.</i> (2004)

Заключение

Несмотря на существенный прогресс в изучении роли метилирования ДНК в развитии рака предстательной железы, остается еще много вопросов, требующих дальнейшего изучения. Известно, что нарушение метилирования ДНК проявляется на ранних стадиях злокачественной трансформации клеток, что, с медицинской точки зрения, открывает возможности для ранней диагностики онкологических заболеваний. С появлением новых, весьма чувствительных инструментов анализа, список потенциальных маркеров рака простаты растет с каждым днем. Изучение паттерна метилирования и идентификация диагностических и прогностических маркеров рака предстательной железы могут способство-

вать своевременной диагностике и лечению данного заболевания. Уровни метилирования различных мишеней часто существенно отличаются в различных исследованиях. Многие из этих расхождений, безусловно, возникают из различных методологий, а также использования не микродиссекционных методов, которые позволяют выделить и проанализировать чистые клетки. Тем не менее, описанные результаты могут отражать и истинную разницу между различными группами пациентов и/или различных этнических групп населения. Эти различия подчеркивают необходимость создания стандартизированной методологии для использования метилирования ДНК в качестве молекулярно-диагностического инструмента.

Сведения об авторах статьи:

Павлов Валентин Николаевич – д.м.н., профессор, зав. кафедрой урологии с курсом ИПО ГОУ ВПО «Башкирский государственный медицинский университет Росздрава». Адрес: 450000, г. Уфа, ул. Ленина 3, e-mail: vpravlov3@yandex.ru;

Гилязова Ирина Ришатовна – к.б.н., н.с. лаборатории молекулярной генетики человека Учреждения Российской академии наук Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра РАН, gilyasova_irina@mail.ru

Мустафин Артур Тагирович – к.м.н., доцент кафедры урологии с курсом ИПО ГОУ ВПО «Башкирский государственный медицинский университет Росздрава». Адрес: 450000, г. Уфа, ул. Шафиева 2, e-mail: sqwer1@yandex.ru;

Мингазова Лилия Разифовна – аспирант лаборатории молекулярной генетики человека Учреждения Российской академии наук Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра РАН, mingazovaliliya@mail.ru

Сафиуллин Руслан Ильясович, д.м.н., профессор кафедры урологии с курсом ИПО ГОУ ВПО «Башкирский государственный медицинский университет Росздрава». Адрес: 450000, г. Уфа, ул. Ленина 3;

Измайлов Аделъ Альбертович – к.м.н., доцент кафедры урологии с курсом ИПО ГОУ ВПО «Башкирский государственный медицинский университет Росздрава». Адрес: 450000, г. Уфа, ул. Шафиева 2, e-mail: izmailov75@mail.ru;

Загидуллин Алмаз Азатович – к.м.н., доцент кафедры урологии с курсом ИПО ГОУ ВПО «Башкирский государственный медицинский университет Росздрава». Адрес: 450000, г. Уфа, ул. Шафиева 2;

Папоян Анушаван Оганезович, врач-уролог Республиканской клинической больницы им. Г.Г. Куватова МЗ РБ, адрес: 450005 Уфа, Достоевского, 132;

Урманцев Марат Фаязович – клин. ординатор кафедры урологии с курсом ИПО ГОУ ВПО «Башкирский государственный медицинский университет Росздрава». Адрес: 450000, г. Уфа, ул. Шафиева 2, e-mail: urmantsev@rambler.ru;

Кутляров Линат Миниханович – врач-уролог Клиники ГОУ ВПО БГМУ, адрес: 450005 Уфа, Шафиева, 2.

Хуснутдинова Эльза Камильевна – д.б.н., проф., зав. лабораторией молекулярной генетики человека Учреждения Российской академии наук Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра РАН, ekkh@anrb.ru, тел. 2356088

ЛИТЕРАТУРА

1. Cheung H., Lee T., Rennett O., Chan W. // Birth Defects Research (Part C). 2009. V. 87. P. 335-350.
2. Пальцев М.А., Залетаев Д.В. Системы генетических и эпигенетических маркеров в диагностике онкологических заболеваний. М.: Медицина. 2009. с.384.
3. Под ред. В.И. Чиссова, В.В. Старинского, Г.В. Петровой Злокачественные новообразования в России в 2009 году (заболеваемость и смертность) // М.: ФГУ «МНИОИ им. П.А. Герцена Минздравсоцразвития России», 2011. - 260 с.: ил.
4. Grönberg H. Prostate cancer epidemiology // Lancet. – 2003. – Vol. 361. – P. 859_864
5. Д.В. Залетаев, М.В. Немцова, В.В. Стрельников, О.В. Бабенко, Е.М. Пальцева, В.В. Землякова, Е.Б. Кузнецова, Т.В. Кекеева, Д.С. Михайленко, И.К. Манохина. Эпигенетическая регуляция экспрессии генов в процессах канцерогенеза. Молекулярная медицина 2008, № 4, с. 46-51.
6. М.В.Немцова, Д.С. Михайленко, Т.В.Кекеева, О.А.Кузнецова, С.В.Башкатов, Р.В.Курынин, А.М.Попов, О.П. Попова, П.В. Шегай, Ю.Ю.Андреева, Б.Я. Алексеев, М.Э.Еникеев, Ю.Г.Аляев, О.Б.Карякин, И.Г.Русakov, Г.А.Франк, Д.В. Залетаев Молекулярно-генетические маркеры в онкоурологии. Молекулярная медицина, 2007, № 3, с. 43-54
7. Donkena KV, Young CY, Tindall DJ.Oxidative stress and DNA methylation in prostate cancer Obstet Gynecol Int. 2010;2010:302051
8. Gowher H., Liebert K., Herman A., Xu G. 2005. Mechanism of stimulation of catalytic activity of Dnmt3A and Dnmt3B DNA-(cytosine-C5-)-methyltransferases by Dnmt3L. J Bid Chem. 280, 13341-13348.
9. Zhu H., Geiman T.M., Xi S., Jiang Q., et al. 2006. Lsh is involved in de novo methylation of DNA. EMBO J. 25, 335-345.
10. Fabbri M., Garzon R., Cimmino A., et al. 2007. MicroRNA-29 family reverts aberrant methylation in lung cancer by targeting DNA methyltransferases 3A and 3B. Proc Natl Acad Sci USA. 104, 15805-15810.
11. Aravin A.A., Sachidanandam R., Bouc'his D., et al. 2008. A piRNA pathway primed by individual transposons is linked to de novo DNA methylation in mice. Mol. Cell. 31, 785-799.
12. El-Osta A. 2003. DNMT cooperativity-the developing links between methylation, chromatin structure and cancer. Bioessays. 25, 1071-1084.
13. Kim J. K., Samaranyake M., Pradhan S. 2009. Epigenetic mechanisms in mammals. Cell Mol Life Sci. 66, 596-612.
14. Arita K., Ariyoshi M., Tochio H., Nakamura Y., Shirakawa M. 2008. Recognition of hemi-methylated DNA by the SRA protein UHRF1 by a base flipping mechanism. Nature. 455, 818-821.
15. Ramsahoye B.H., Biniszkiewicz D., Lyko F., et al. 2000. Non-CpG methylation is prevalent in embryonic stem cells and may be mediated by DNA methyltransferase 3a. Proc Natl Acad Sci USA. 97, 5237-5242.
16. Saxonov S., Berg P., Brutlag D.L. 2006. A genome-wide analysis of CpG dinucleotides in the human genome distinguishes two distinct classes of promoters. Proc Natl Acad Sci USA. 103, 1412-1417.
17. Лихтенштейн А.В., Киселева Н.П. 2001. Роль метилирования ДНК в канцерогенезе. Биохимия. 66, 293-317.
18. Poke F.S., Qadi A., Holloway A.F. 2010.Reversing Aberrant Methylation Patterns in Cancer. Current Medicinal Chemistry. 17, 1246-1254.
19. Shen L., Kondo Y., Guo Y., Zhang J., Zhang L., Ahmed S., Shu J., Chen X., Waterland R.A., Issa J. P. 2007. Genome-wide profiling of DNA reveals a class of normally methylated CpG island promoters. PLoS Genet. 3, 2023-2036.
20. Wang Q., Williamson M., Bott S., et al. 2007. Hypomethylation of WNT5A, CRIP1 and S100P in prostate cancer. Oncogene. 26, 6560-6565.
21. Robertson K.D., Ait-Si-Ali S., Yokochi T. et al. 2000. DNMT1 forms a complex with Rb, E2F1 and HDAC1 and represses transcription from E2F-responsive promoters. Nat Genet. 25, 338-342.
22. Esteve P.O., Chin H.G., Pradhan S. 2005. Human maintenance DNA (cytosine-5)-methyltransferase and p53 modulate expression of p53-repressed promoters. Proc Natl Acad Sci USA. 102, 1000-1005.
23. Ongenaert M., Van Neste L., De Meyer T., et al. 2008. PubMeth: a cancer methylation database combining text-mining and expert annotation. Nucleic Acids Res. 36, D842-D846.
24. Eads CA, Danenberg KD, Kawakami K, Saltz LB, Blake C, Shibata D, Danenberg PV & Laird PW 2000 MethyLight: a high-throughput assay to measure DNA methylation. Nucleic Acids Research 28 E32
25. Esteller M, Corn PG, Baylin SB & Herman JG 2001 A gene hypermethylation profile of human cancer. Cancer Research 61 3225-3229
26. Yan PS, Chen CM, Shi H, Rahmatpanah F, Wei SH, Caldwell CW & Huang TH 2001 Dissecting complex epigenetic alterations in breast cancer using CpG island microarrays. Cancer Research 61 8375-8380
27. Costello JF, Fruhwald MC, Smiraglia DJ, Rush LJ, Robertson GP, Gao X, Wright FA, Feramisco JD, Peltomaki P, Lang JC et al. 2000 Aberrant CpG-island methylation has non-random and tumour-type-specific patterns. Nature Genetics 24 132-138
28. Chu DC, Chuang CK, Fu JB, Huang HS, Tseng CP & Sun CF 2002 The use of real-time quantitative polymerase chain reaction to detect hypermethylation of the CpG islands in the promoter region flanking the GSTP1 gene to diagnose prostate cancer. Journal of Urology 167 1854-1858
29. Jeronimo C, Henrique R, Oliveira J, Lobo F, Pais I, Teixeira MR & Lopes C 2004a Aberrant cellular retinol binding protein 1 (CRBP1) gene expression and promoter methylation in prostate cancer. Journal of Clinical Pathology 57 872-876.

30. Jeronimo C, Henrique R, Hoque MO, Ribeiro FR, Oliveira J, Fonseca D, Teixeira MR, Lopes C & Sidransky D 2004b Quantitative RARbeta2 hypermethylation: a promising prostate cancer marker. *Clinical Cancer Research* 10 4010–4014.
31. Jeronimo C, Henrique R, Hoque MO, Mambo E, Ribeiro FR, Varzim G, Oliveira J, Teixeira MR, Lopes C & Sidransky D 2004c A quantitative promoter methylation profile of prostate cancer. *Clinical Cancer Research* 10 8472–8478.
32. Васильева Е.Б., Савватеева М.В., Кузнецова Е.М., Фиев Д.Н., Аляев Ю.Г., Винаров А.З. Определение метилированного статуса промоторного участка гена GSTP1 при патологических состояниях предстательной железы. *Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии* 2008; N 5 – С. 39–41
33. Brooks JD, Weinstein M, Lin X, Sun Y, Pin SS, Bova GS, Epstein JI, Isaacs WB, Nelson WG. CG island methylation changes near the GSTP1 gene in prostatic intraepithelial neoplasia. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 1998 Jun;7(6):531–6
34. Millar DS, Ow KK, Paul CL, Russell PJ, Molloy PL, Clark SJ. Detailed methylation analysis of the glutathione S-transferase pi (GSTP1) gene in prostate cancer. *Oncogene.* 1999 Feb 11;18(6):1313–24.
35. Kimura F, Franke KH, Steinhoff C, Golka K, Roemer HC, Anastasiadis AG, Schulz WA. Methyl group metabolism gene polymorphisms and susceptibility to prostatic carcinoma. *Prostate.* 2000 Nov 1;45(3):225–31.
36. Jerónimo C, Usadel H, Henrique R, Silva C, Oliveira J, Lopes C, Sidransky D. Quantitative GSTP1 hypermethylation in bodily fluids of patients with prostate cancer. *Urology.* 2002 Dec;60(6):1131–5.
37. Lee W.H., Morton R.A., Epstein J.I., Brooks J.D., Campbell P.A., Bova G.S., Hsieh W.S., Isaacs W.B., Nelson W.G. Cytidine methylation of regulatory sequences near the pi class glutathione S-transferase gene accompanies human prostatic carcinogenesis // *Proc. Natl. Acad. Sci USA.* – 1994. – Vol. 91. – P. 11733–11737.
38. Имянитов Е.Н. Эпидемиология и биология рака простаты. // *Практическая онкология*, Т. 9, № 2 – 2008
39. Perry A.S., Foley R., Woodson K., Lawler M. The emerging roles of DNA methylation in the clinical management of prostate cancer // *Endocr Relat Cancer.* – 2006. – Vol. 13. – P. 357–377.
40. Bastian PJ, Ellinger J, Wellmann A, Wernert N, Heukamp LC, Muller SC & von Ruecker A 2005a Diagnostic and prognostic information in prostate cancer with the help of a small set of hypermethylated gene loci. *Clinical Cancer Research* 11 4097–4106
41. Yegnasubramanian S, Kowalski J, Gonzalgo ML, Zahurak M, Piantadosi S, Walsh PC, Bova GS, De Marzo AM, Isaacs WB & Nelson WG 2004 Hypermethylation of CpG islands in primary and metastatic human prostate cancer. *Cancer Research* 64 1975–1986.
42. Antoinette S Perry, Ruth Foley, Karen Woodson and Mark Lawler The emerging roles of DNA methylation in the clinical management of prostate cancer. *Endocr Relat Cancer.* 2006 Jun;13(2):357–77

УДК 616.62-006.6-036-07:575.174.015.3

© В.Н. Павлов, А.А. Измайлов, Т.В. Викторова, С.М. Измайлова, А.Т. Мустафин,
М.Ф. Урманцев, Л.З. Ахмадишина, А.В. Алексеев, А.Р. Загитов, Л.М. Кутлиаров, 2011

В.Н. Павлов, А.А. Измайлов, Т.В. Викторова, С.М. Измайлова, А.Т. Мустафин,
М.Ф. Урманцев, Л.З. Ахмадишина, А.В. Алексеев, А.Р. Загитов, Л.М. Кутлиаров

ОЦЕНКА РИСКА ЛИМФОГЕННОГО МЕТАСТАЗИРОВАНИЯ ПРИ ИНВАЗИВНОМ РАКЕ МОЧЕВОГО ПУЗЫРЯ

ГОУ ВПО «Башкирский государственный медицинский университет Росздрава», г. Уфа

Проведен анализ результатов комплексного обследования и лечения 104 пациентов с 1998 по 2009 гг. Изучена зависимость частоты лимфогенного метастазирования у больных инвазивным раком мочевого пузыря от стадии, размеров опухоли, степени дифференцировки раковых клеток, а также ассоциации генотипов и аллелей полиморфных вариантов генов *CYP1A1(A2454G)* и *CYP1A2(C-163A и T-2467delT)*. Установлено, что стадия и размеры опухоли, степень дифференцировки раковых клеток, а также наличие генотипа **1A*2C* полиморфного локуса *A2454G* гена *CYP1A1* и генотип **1A*1A* полиморфного локуса *C-163A* гена *CYP1A2* достоверно влияют на частоту лимфогенного метастазирования.

Ключевые слова: рак мочевого пузыря, мышечно-инвазивный, лимфогенное метастазирование, генетические маркеры.

V.N. Pavlov, A.A. Izmailov, T.V. Viktorova, S.M. Izmailova, A.T. Mustafin,
M.F. Urmantsev, L.Z. Akhmadishina, A.V. Alekseyev, A.R. Zagitov, L.M. Kutliyarov

LYMPHAGENOUS INNIADIATION RISK ASSESSMENT IN CASE OF MUSCLE-INVASIVE BLADDER CANCER

An analysis of the results of the integrated assessment and treatment of 104 patients from 1998 to 2009 was carried out. A correlation between lymphogenous innidiation incidence among patients with invasive bladder cancer and the stage, the size of the tumor, the stage of cancer cells differentiation, as well as association of genotypes and alleles of polymorph genes *CYP1A1(A2454G)* and *CYP1A2(C-163A и T-2467delT)* was researched. It was revealed that the stage and the size of the tumor, the stage of cancer cells differentiation and the presence of genotype **1A*2C* polymorphic locus *A2454G* of gene *CYP1A1* и генотип **1A*1A* polymorphic locus *C-163A* of gene *CYP1A2* influence lymphogenous innidiation incidence.

Key words: Bladder cancer, muscle-invasive, lymphogenous innidiation, genetic markers.

В настоящее время рак мочевого пузыря (РМП) – одна из актуальных проблем в урологии и онкологии. В последние десятилетия отмечается рост числа всех онкологических заболеваний, в том числе РМП. По данным Чиссова В.И. (2009, 2010), в период с 1998 по 2008 гг. заболеваемость РМП на 100 тыс. населения в РФ возросла с 7.90 до 9.16 [2]. Прогрессия поверхностного рака в инвазивный наблюдается в 25–65% случаев. 3-летняя

выживаемость при первичном инвазивном раке во всем мире не превышает 67%, а при прогрессирующем из поверхностного — в полнину меньше (37%) [1, 2, 3, 22].

В настоящее время общепризнанно, что радикальная цистэктомия с тазовой лимфаденэктомией является «золотым стандартом» лечения мышечно-инвазивного рака мочевого пузыря. Выживаемость после радикальной цистэктомии предопределяется стадией (Т),