

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ МОНИТОРИНГ РАННЕЙ ДИАГНОСТИКИ РАКА ПРЕДСТАТЕЛЬНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Ф.И. Костев, Р.В. Бахчиев, К.В. Литовкин

Одесский национальный медицинский университет

Проблема рака предстательной железы (РПЖ) приобрела на сегодняшний день особую актуальность вследствие неуклонного роста заболеваемости и смертности, а также в связи с трудностями своевременной диагностики. Смертность от РПЖ у мужчин стоит на втором месте после рака лёгких. Во многих странах РПЖ является одним из наиболее часто встречающихся злокачественных новообразований у мужчин среднего и пожилого возраста [16].

Летальность на первом году жизни после установления диагноза составляет около 30%, что свидетельствует о крайне низкой выявляемости начальных стадий заболевания [15].

До 40% мужчин в возрасте 60–70 лет имеют микроскопические фокусы рака предстательной железы. В связи с особенностями клинического течения опухоль может долгие годы не сказываться на самочувствии больного.

Современный подход к ранней диагностике РПЖ заключается в отборе пациентов с подозрением на РПЖ, основанном на триаде исследований: пальцевое ректальное исследование (ПРИ), трансректальное ультразвуковое исследование предстательной железы (ТРУЗИ), определение уровня простатспецифического антигена (ПСА) в сыворотке крови.

Известно, 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 местно-распространённого РПЖ составляет 50–92%, специфичность 58–68% [17].

Согласно рекомендациям Европейской ассоциации урологов, пациентам с подозрением на РПЖ для верификации диагноза выполняется мультифокальная биопсия предстательной железы, на основании которой диагноз подтверждается гистологически.

При этом использование традиционных методов гистологического исследования не всегда позволяет проводить дифференциальную

диагностику пограничных изменений эпителия, между простатической интраэпителиальной неоплазией (ПИН), мелкоацинарной атипической пролиферацией и раком предстательной железы (РПЖ). Согласно рекомендациям Европейской ассоциации урологов в таком случае можно использовать иммуногистохимическое исследование или повторное исследование материала.

Известно также, что по статистике около 30% гистологических исследований дают ложноположительный или ложноотрицательный результат.

На основании изложенных данных очевидно, что диагностика доклинических стадий РПЖ и дифференциальная диагностика пограничных изменений эпителия предстательной железы остается актуальной и нерешенной задачей.

Таким образом, в настоящее время актуальным представляется поиск новых диагностических маркеров РПЖ и создание на их основе высокочувствительных методов, которые, наряду с традиционными методами, позволят существенно повысить точность диагностики ранних, доклинических стадий РПЖ, а также дифференциальную диагностику пограничных изменений эпителия предстательной железы.

Уровень знаний и возможности современных молекулярно-генетических технологий, а также исследования, выполненные за последние десятилетия, демонстрируют тесную связь между эпигенетическими изменениями генов и канцерогенезом [4, 8, 6, 10]. Определён ряд генетических изменений, связанных с раком предстательной железы [7, 9]. 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 [17, 2, 3, 14, 5, 11].

Основные соматические генетические изменения при раке предстательной железы:

– Ген системы детоксикации GSTP1 на хромосоме 11q13 участвует в детоксикации кан-

церогенов. Он инактивирован в более чем 90% случаев рака предстательной железы, вследствие гиперметилирования островков CpG.

– Ген NKX3.1 расположен на хромосоме 8p21.2, относится к опухоли супрессорным генам, кодирует белок, который может подавлять рост эпителиальных клеток предстательной железы.

– Ген PTEN расположен на хромосоме 10q23.31, также относится к опухоли супрессорным генам, участвует в активации целого ряда молекулярных каскадов, вовлеченных в процессы пролиферации, клеточного бессмертия, ангиогенеза и т.д.

– Ген TP53 на хромосоме 17p13.1 имеет много функций, в том числе блокировку клеточного цикла в ответ на повреждение ДНК. Мутации не всегда ранние, но встречаются примерно в 50% запущенного или гормонорефрактерного рака предстательной железы.

– Ген андрогенового рецептора (AR) расположен на хромосоме Xq11–12. Кодирует рецептор андрогенов. Экспрессия белка определяется в большинстве опухолей предстательной железы, и локус усиливается или мутирован в поздних стадиях заболевания и гормонорефрактерном раке.

В связи с тем, что генетические изменения хорошо изучены, доказана их связь и диагностическая ценность при РПЖ, а также методики их определения достаточно легко воспроизводимы с высокой точностью, идет активный поиск маркеров и создание на их основе высокочувствительной диагностической панели, которая, наряду с традиционными методами, позволит существенно повысить точность диагностики на ранних стадиях развития злокачественного процесса [17, 13].

Одним из характерных эпигенетических изменений при опухолях разной локализации, является гиперметилирование промоторной области генов супрессоров. Функциональное значение данного феномена остается неизвестным.

Метилирование ДНК – это процесс ковалентного присоединения метильной группы к цитозину в составе CpG-динуклеотида в позиции С5 цитозинового кольца. Оно участвует в таких процессах жизнедеятельности клетки, как регуляция экспрессии генов и поддержание стабильности генома. Гиперметилирование CpG-островков приводит к стабильной инактивации прилежащего гена, то есть феномену MAGI (methylation-associated gene inactivation).

Было установлено, что профиль метилирования в неопластических клетках значитель-

но изменяется по сравнению с нормальными клетками, причем глобальное деметилирование генома сопровождается локальным гиперметилированием промоторных участков. Во всех, без исключения, исследованных неоплазиях наблюдается подобный дисбаланс метилирования. Очевидно, что эти нарушения могут изменять структуру хроматина и функции ДНК, внося тем самым значительный вклад в создание генетической и фенотипической нестабильности опухолевой клетки.

Метилирование CpG-островков является ранним событием в процессе возникновения опухоли. Например, гиперметилирование промоторного региона гена супрессора опухолевого роста p16^{INK4A} при плоскоклеточном раке лёгкого было обнаружено уже в гиперплазии [1].

Типичной особенностью рака предстательной железы является инактивация гена GSTP1, наблюдаемая примерно в 90% карцином [13].

Многими зарубежными исследователями этот ген рассматривается как потенциальный кандидат в молекулярные маркеры ранней диагностики РПЖ.

Считается, что метилирование промоторной зоны гена GSTP1 ведет к инактивации его функции, которая заключается в трансформации ксенобиотиков в процессе второй фазы детоксикации. Это ведет к накоплению промежуточных, высокотоксичных метаболитов после первой фазы детоксикации, которые зачастую являются более токсичными соединениями чем исходные и оказывают выраженное мутагенное действие на ДНК. Это может привести к мутации ДНК и развитию опухоли.

Гиперметилирование генов, вовлеченных в канцерогенез, в том числе GSTP1 происходит на ранних стадиях опухолеобразования и может служить молекулярным маркером ранней диагностики.

Цель: оценить возможность дифференцирования патологического процесса и выбора молекулярно-генетического критерия ранней диагностики рака простаты путем сравнения уровней метилирования промоторной области гена GSTP1 в ткани предстательной железы при доброкачественной гиперплазии, простатической интраэпителиальной неоплазии и раке предстательной железы.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Клиническая группа исследования была сформирована из 80 больных, проходивших об-

следование и лечение в урологическом отделении на базе Городской клинической больницы №10 г. Одессы. В первую группу вошли 45 образцов больных с ДГПЖ, а во вторую – 35 образцов больных РПЖ. Больные первой и вто-

рой групп были сопоставимы по возрасту 67,8(±1,6) лет и 69,7(±1,8) лет соответственно (табл. 1), и сопутствующей патологии, среди которой преобладали заболевания сердечно-сосудистой системы.

Таблица 1
Распределение пациентов по возрасту

Возраст	ДГПЖ	РПЖ
40 – 49	1 (2,2%)	–
50 – 59	7 (15,5%)	5 (14,2%)
60 – 69	12 (26,6%)	9 (25,7%)
70 – 79	21 (46,6%)	17 (48,5%)
80 – 89	4 (8,8%)	4 (11,4%)
Всего	45 (100%)	35 (100%)

В группе ДГПЖ средний объем предстательной железы составил 71,5(±5,07) мл, уровень ПСА – 9,99(±2,7) нг/мл.

В группе РПЖ средний объем предстательной железы составил 62,7 (±5,3) мл, уровень ПСА – 52,1 (±24,9) нг/мл (табл. 2).

Таблица 2
Показатели среднего объема предстательной железы и уровня ПСА в зависимости от возраста

Возраст	ДГПЖ			РПЖ		
	n	объем простаты (мл)	ПСА (нг/мл)	n	объем простаты (мл)	ПСА (нг/мл)
40 – 49	1	62	11,4	–	–	–
50 – 59	7	73 ± 19,3	7,6 ± 2,8	5	60 ± 6,5	80 ± 151,8
60 – 69	12	72 ± 31,3	8,6 ± 5,7	9	54 ± 15,4	11,5 ± 6,5
70 – 79	21	76 ± 29,6	12 ± 19,2	17	61 ± 23,1	38,2 ± 35,1
80 – 89	4	70 ± 26,1	7,07 ± 7,6	4	92 ± 31,7	156,8 ± 322,5

Объектом исследования была ткань, полученная путем выполнения трансректальной мультифокальной биопсии предстательной железы из 12 точек под ультразвуковым контролем, при помощи автоматического биопсийного пистолета фирмы «BARD», иглой размером 16G.

Молекулярно-генетический анализ. Выделение ДНК осуществляли при помощи набора GenElute Mammalian Genomic DNA Purification Kit (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA). Концентрацию выделенной ДНК определяли с помощью спектрофотометра NanoDrop ND-1000 (Thermo Fisher Scientific, Wilmington, DE, USA). Бисульфитную обработку ДНК всех образцов в количестве 500 нг/образец проводили при помощи набора EZ DNA methylation kit (Zymo Research Corp., Orange, CA, USA) согласно инструкции производителя. Модифицированную ДНК использовали в качестве матрицы для двухэтапного количественного метил-специфического ПЦР-анализа. На первом этапе производили преамплификацию фрагмента CpG-островка длиной

124 пн в первом экзоне гена GSTP1 с помощью пары метилнезависимых праймеров F 5'-GGCGGGATTATTTTATAAGGTT -3' и R 5'-СТААААСТСТАААССССАТСС -3 (метилнезависимая ПЦР). Реакцию осуществляли в объеме 25 мкл, содержащем 10×ПЦР-буфер (16,6 мМ (NH₄)₂SO₄, 67,0 мМ Tris pH 8,8, 6,7 мМ MgCl₂×6H₂O, 10,0 мМ β-меркаптоэтанол), 2,5 мкл смеси дНТФ 2мМ каждый (Fermentas GmbH, St. Leon-Rot, Germany), 2,5 мкл 10× смеси праймеров 2мкМ каждый (Sigma-Aldrich N.V. Bornem, Belgium), 0,5U IMMOLASE DNA polymerase (Bioline USA Inc., Boston, MA, USA), 6 мкл ДНК-матрицы. Реакция была проведена в трех повторах при следующих условиях: 95 °С 10 мин, затем 30 циклов (95 °С 30 сек, 57 °С 30 сек, 69 °С 30 сек) и завершающая элонгация при 69 °С 3 мин в амплификаторе Biometra (Biometra GmbH, Goettingen, Germany). В качестве негативного контроля вместо ДНК-матрицы использовали стерильную дистиллированную воду. Продукты ПЦР-амплификации каж-

дого из трех повторов разводили стерильной дистиллированной водой в соотношении 1:500. На втором этапе осуществляли отдельный подсчет преамплифицированных на первом этапе метилированных (М) и неметилированных (нМ) фрагментов посредством двух независимых количественных ПЦР. В реакции М использовали праймеры специфические для М последовательности: MSP F 5'- GGAGGTCGCGAGGTTTTTC-3' и MSP R 5'- СТААТААСGAAAАСТАСGАСGАСGA-3'; в реакции нМ использовали праймеры специфические для нМ последовательности: USP F 5'- GTTTGGAGGTTGTGAGGTTTTT-3' и USP R 5'- САТАСТСАСТААТААСАААААСТАСААСААСА-3'. Данные пары праймеров амплифицировали участки длиной 52 пн и 64 пн соответственно. Реакции проводили в трех повторах в объеме 15 мкл вышеуказанного состава (ПЦР-буфер и дНТФ) с добавлением 0,75 мкл красителя EvaGreen® (Biotium Inc, Hayward, CA, USA), 0,4 мкМ of каждого из соответствующей пары праймеров, 0,3U IMMOLASE DNA polymerase (Bioline, London, UK) и 5 мкл разведенного ПЦР-продукта преамплификации первого этапа. Реакции проводили в амплификаторе Rotor-Gene TM 6000 (Corbett Life Science Pty Ltd, Mortlake, NSW, Australia) при следующих условиях: 95 °C 10 мин, затем 35 циклов (95 °C 20 сек, 61 °C 15 сек, 69 °C for 15 сек). Стандартные кривые были построены отдельно для М и нМ реакции с использованием 5 серийных разведений плазмидных векторов (3×10^7 - 3×10^3 копий на реакцию в трех повторах), содержащих клонированные фрагменты участка первого экзона гена GSTP1, соответствующие 100% метилированной и 100% неметилированной последовательности. Количество М и нМ фрагментов подсчитывали при помощи соответствующей стандартной кривой, процент метилирования подсчитывали по формуле $\%M = [M / (нМ + M)] \times 100$.

Плазмидные векторы, содержавшие М и нМ последовательности участка первого экзона GSTP1, были получены путем амплификации данного участка длиной 124 пн при помощи пары метилнезависимых праймеров (см. выше) с использованием двух контрастных по статусу метилирования GSTP1 генотипов: клеточной линии LNCaP (рак предстательной железы, 100% метилирования GSTP1) и геномной ДНК из клеток крови (0% метилирования GSTP1). ДНК данных генотипов предварительно подвергали бисульфитной обработке в соответствии с вышеуказанными условиями. Амплифицированные М и нМ фрагменты данных генотипов клонировали путем трансформации компетентных кле-

ток *E. coli* штамма DH56 (Invitrogen Ltd, Paisley, UK), используя набор pGEM®-T Easy Vector System (Promega Corporation, Madison, WI, USA) в соответствии с инструкцией производителя.

Статистическая обработка производилась с использованием непараметрических критериев Краскелла–Уоллеса и χ^2 .

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Нами была изучена доля (%) метилированных копий гена GSTP1 (уровень метилирования) во всех образцах.

При любом диагнозе мы наблюдали метилирование гена GSTP1, но выраженное в разной степени (рис. 1).

Даже при подтвержденной ДГПЖ частота метилирования гена GSTP1 составила 55,3% (рис. 1) от числа проанализированных образцов. С другой стороны, и при раке ПЖ наблюдали 5 случаев (14,3%) отсутствия метилирования промоторной области гена GSTP1.

Уровень метилирования гена GSTP1 тесно связан с диагнозом и максимален при аденокарциноме (табл. 3). В образцах, полученных от больных РПЖ, уровень метилирования в среднем составил $30,1 \pm 27, \%$, что на два порядка выше чем в образцах больных ДГПЖ.

Попарные сравнения групп пациентов с разным гистологическим строением образцов по непараметрическому тесту Манна–Уитни показали высокозначимое различие крайних групп – больных ДГПЖ и РПЖ ($p < 0,000001$). При данной численности выборки ДГПЖ в сочетании с PIN (4 образца) и ДГПЖ в сочетании с ASAP (4 образца) установить их отличия от морфологической картины типичной ДГПЖ не представляется возможным. Однако различие между ДГПЖ в сочетании с переходным состоянием эпителия ацинусов и РПЖ статистически значимо ($p < 0,05$).

Известно, что при гистологическом исследовании биопсийного материала нередко встречаются изменения эпителия ацинусов предстательной железы в виде PIN. В настоящее время принято разделять PIN низкой степени и PIN высокой степени. PIN низкой степени мы рассматриваем как доброкачественные изменения эпителия, не склонные к малигнизации. PIN высокой степени рассматриваем как пограничное изменение эпителия и предшественник развития рака предстательной железы.

Мы разделили группу больных ДГПЖ с типичной доброкачественной гиперплазией и сочетание ДГПЖ с PIN I или II степени.

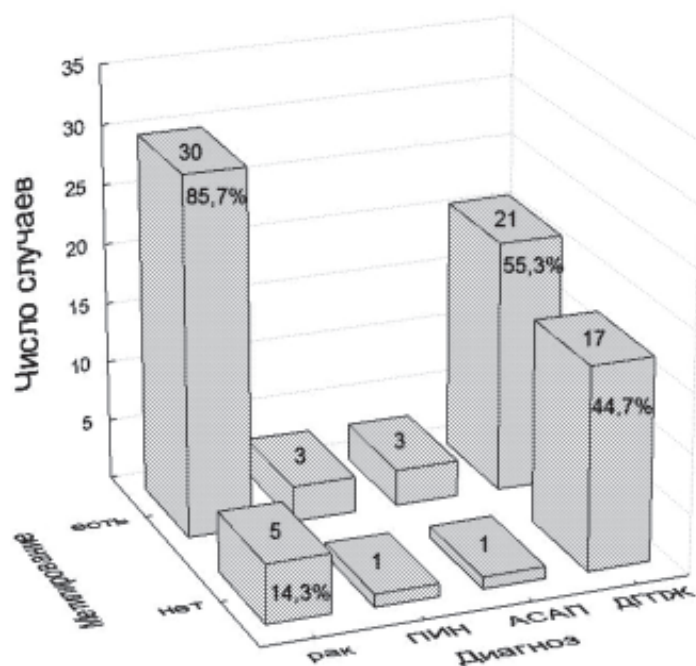


Рис. 1. Распределение частот уровней метилирования гена GSTP1 по нозоформам

Таблица 3

Уровень метилирования гена GSTP1 (образцы с наличием метилирования)

Диагноз	N	Уровень метилирования, %*
ДГПЖ	37	0,28 (0,07; 3,10)
ДГПЖ+PIN	4	1,88 (0,56; 6,66)
ДГПЖ+АСАП	4	1,36 (0,08; 5,25)
РПЖ	33	29,4 (1,67; 59,7)

* – даны медиана, нижний и верхний квартили (в скобках)

Статистика Краскелла–Уоллеса $H=20,4$; $p=0,0001$

Статистика $\chi^2 = 11,2$; $p=0,011$

В группе с типичной доброкачественной гиперплазией уровень метилирования в среднем составил $1,54 \pm 1,99\%$. Максимальное значение показателя при ДГПЖ составило $5,9\%$. При этом выявлено, что в $86,2\%$ уровень метилирования не превышал $1,5\%$, а в $13,8\%$ соответственно был выше $1,5\%$.

В группе, где ДГПЖ сочеталась с PIN, средний уровень метилирования составил $3,0 \pm 3,2\%$, что превышает почти в два раза уровень метилирования при ДГПЖ, а максимальное значение показателя составило $6,66\%$.

Пограничное изменение эпителия предстательной железы расцениваем как атипическую мелкоацинарную пролиферацию (АСАП), которая встречается в гистологических образцах ДГПЖ. АСАП рассматриваем как предшественник инвазивного рака предстательной железы. По нашему мнению, АСАП – это ткань, окружа-

ющая опухоль и прилежащая непосредственно к ней, предположительно «край» опухоли, который попадает в столбик ткани при прохождении иглы в непосредственной близости к опухолевому очагу. Для изучения метилирования при наличии АСАП мы выделили образцы ткани ДГПЖ в сочетании с АСАП. Средний уровень метилирования в этих образцах составил $2,23 \pm 2,69\%$, что сопоставимо с уровнем метилирования при ДГПЖ в сочетании с PIN. Максимальное значение показателя составило $5,25\%$.

Полученные данные демонстрируют идентичные эпигенетические изменения при обоих пограничных процессах. Но если PIN является факультативным предопухолевым процессом, то АСАП – это облигатный предопухолевый процесс, а эпигенетические изменения у них одинаковые.

Литературные данные показывают, что по разным источникам метилирование гена GSTP1 свойственно 90% – 100% аденокарцином. По нашим данным – 85,7%.

В соответствии с принятым нами пороговым уровнем были рассчитаны чувствительность и специфичность метода диагностирования РПЖ только по одной процедуре измерения уровня метилирования без учёта иных данных. Чувствительность составила 60%. Специфичность – 94%.

Таким образом, с пограничными изменениями эпителия в любом случае связано повышение уровня метилирования в сравнении с чистым ДГПЖ, несмотря на разное гистологическое строение, диагностическое и прогностическое значение PIN и ASAP. С другой стороны, уровень метилирования при РПЖ в среднем гораздо выше, чем при ДГПЖ (даже с PIN или ASAP), несмотря на встречающиеся случаи низкого уровня метилирования или даже его полного отсутствия при РПЖ. На основании этого следует полагать, что эпигенетические изменения в виде метилирования промоторной зоны гена GSTP1 свойственны для любых пограничных изменений эпителия предстательной железы, однако выражены с различной силой. Иными словами, метилирование гена GSTP1, являющееся характерной чертой рака предстательной железы, присутствует в PIN и ASAP на уровне более высоком, чем при типичной ДГПЖ.

Уровень метилирования более 7% не встречался ни при типичной ДГПЖ, ни в сочетании ДГПЖ с пограничными изменениями эпителия предстательной железы. Это дает основание принять уровень метилирования 7% как порого-

вый, превышение которого позволяет утверждать наличие РПЖ.

Уровень метилирования гена GSTP1 от 1,5% до 7% характерен для ДГПЖ с пограничными изменениями эпителия простаты и дает основания подозревать такие случаи как невыявленный рак предстательной железы, который может развиваться в будущем.

ВЫВОДЫ

1. Средний уровень метилирования промоторной зоны гена GSTP1 при доброкачественной гиперплазии предстательной железы не превышает 1,5%.

2. При сочетании ДГПЖ с простатической интраэпителиальной неоплазией или мелкоацинарной атипической пролиферацией, являющихся промежуточными изменениями эпителия простаты, характерен более высокий уровень метилирования, чем при типичной ДГПЖ, но в среднем не превышающий 3%.

3. Максимально высокий уровень метилирования при ДГПЖ в сочетании с PIN или ASAP по нашим данным не превысил 7%.

4. Уровень метилирования промоторной зоны гена GSTP1 от 1,5% до 7% может являться показателем невыявленного рака или рака предстательной железы, который может развиваться в будущем.

5. Полученные пороговые значения можно рассматривать как критерии дифференциальной диагностики предопухолевых состояний и ранней диагностики рака предстательной железы.

Список литературы

1. *Alterations in DNA methylation: a fundamental aspect of neoplasia* / S.B. Baylin, J.G. Herman, J.R. Graff et al. // *Adv. Cancer Res.* – 1998. – V. 72. – P. 141–196.
2. *Combined Hypermethylation of APC and GSTP1 as a Molecular Marker for Prostate Cancer: Quantitative Pyrosequencing Analysis* / H.Y. Yoon, S.K. Kim, Y.W. Kim et al. // *J. Biomol. Screen.* – 2012. – V. 17, N 7. – P. 987–992.
3. *DNA Methylation of GSTP1 in Human Prostate Tissues: Pyrosequencing Analysis* / H.Y. Yoon, Y.W. Kim, H.W. Kang et al. // *Korean J. Urol.* – 2012. – V. 53, N 3. – P. 200–205.
4. *Dumitrescu R.G. Epigenetic markers of early tumor development* / R.G. Dumitrescu // *Methods Mol. Biol.* – 2012. – V. 863. – P. 3–14.
5. *Evaluation of GSTP1 and APC methylation as indicators for repeat biopsy in a high-risk cohort of men with negative initial prostate biopsies* / B.J. Trock, M.J. Brotzman, L.A. Mangold et al. // *BJU Int.* – 2012. – V. 110, N 1. – P. 56–62.
6. *Global methylation profiling for risk prediction of prostate cancer* / S. Mahapatra, E.W. Klee, C.Y. Young et al. // *Clin. Cancer Res.* – 2012. – V. 18, N 10. – P. 2882–2895.
7. *Goering W. DNA methylation changes in prostate cancer* / W. Goering, M. Kloth, W.A. Schulz // *Methods Mol. Biol.* – 2012. – V. 863. – P. 47–66.
8. *Hanahan D. The hallmarks of cancer* / D. Hanahan, R.A. Weinberg // *Cell.* – 2000. – V. 100. – P. 57–70.

9. *Inflammation in prostate carcinogenesis / A.M. De Marzo, E.A. Platz, S. Sutcliffe et al. // Nature Reviews Cancer. – 2007. – V. 7. – P. 256–269.*
10. *The Epigenetic promise for prostate cancer diagnosis / L. Van Neste, J.G. Herman, G. Otto et al. // Prostate. – 2012. – V. 72, N 11. – P. 1248–1261.*
11. *Аномальное метилирование генов p16, HIC1, N33 и GSTP1 в эпителии и стромальных клетках рака предстательной железы / Т.В. Кекеева, О.П. Попова, П.В. Шегай и др. // Молекулярная биология. – 2007. – Т. 41, № 1. – С. 79–85.*
12. *Губанов Е.С. Современные гипотезы происхождения рака предстательной железы [Электронный ресурс] / Е.С. Губанов, М.Б. Пряничникова // Официальный сайт кафедры урологии Самарского ГМУ. – 2009. – Режим доступа: <http://samara.uroweb.ru/articles/id-37>.*
13. *Имянитов Е.Н. Эпидемиология и биология рака простаты / Е.Н. Имянитов // Практическая онкология. – Т. 9, № 2. – 2008. – С. 1–2.*
14. *Определение метилированного статуса промоторного участка гена GSTP1 при патологических состояниях предстательной железы / Ю.Г. Аляев, А.З. Винаров, М.В. Саватеева и др. // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2008. – № 5. – С. 39–41.*
15. *Пушкарь Д.Ю. Простатспецифический антиген и биопсия предстательной железы / Д.Ю. Пушкарь. – М.: Медпресс-информ, 2003. – 159 с.*
16. *Рак предстательной железы в Донецкой области [Электронный ресурс] / П.С. Серняк, Ю.А. Виненцов, С.А. Золочевский и др. // Актуальные вопросы диагностики и лечения рака предстательной железы : междунар. науч.-практ. конф. – 2006. – Режим доступа: <http://uroweb.ru/db/article/2042.html>.*
17. *Статус метилирования промоторных областей 11 генов-супрессоров при злокачественном новообразовании предстательной железы / А.Е. Силин, В.Н. Мартинков, Э.А. Надыров и др. // Медико-биологические проблемы жизнедеятельности. – 2011. – № 2(6). – С. 14–19.*

Реферат

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧНИЙ МОНІТОРИНГ РАННЬОЇ ДІАГНОСТИКИ РАКУ ПЕРЕДМІХУРОВОЇ ЗАЛОЗИ

Ф.І. Костєв, Р.В. Бахчєв, К.В. Літовкін

В роботі представлені результати вивчення рівня метилювання промоторної ділянки гена GSTP1 у хворих з гістологічно верифікованим РПЗ, ДГПЗ та поєднання ДГПЗ з такими перехідними станами як PIN і ASAP. Було обстежено 80 хворих, серед яких 45 – з ДГПЗ та 35 – з РПЗ. Об'єктом дослідження була тканина, отримана шляхом здійснення трансректальної мультифокальної біопсії передміхурової залози. Встановлено, що метилювання гена GSTP1 за нашими даними, властиво 85,7% аденокарцином простати. Розрахована чутливість та специфічність методу діагностики РПЗ за рівнем метилювання гена GSTP1, яка становила 60% та 94% відповідно. Встановлено, що середній рівень метилювання гена GSTP1 при РПЗ значно вищий ніж при ДГПЗ. Також встановлено, що середній рівень метилювання при ДГПЗ у поєднанні з PIN чи ASAP відрізняється, він вищий ніж при типовій ДГПЗ, але нижчий ніж при РПЗ. Визначені порогові значення рівня метилювання промоторної ділянки гена GSTP1 при різних пато-

Summary

MOLECULAR AND GENETIC MONITORING OF EARLY DIAGNOSIS OF PROSTATE CANCER

F.I. Kostev, R.V. Bakhchiev, K.V. Litovkin

This paper presents the results of studying the level of methylation of GSTP1 gene promoter region in patients with histologically verified prostate cancer, BPH and BPH combination with such transition state as PIN and ASAP. There were examined 80 patients, including 45 with BPH and 35 with prostate cancer. The object of the study was the tissue obtained by means of performing multifocal transrectal prostate biopsy. It was found out that methylation of GSTP1 gene according to our data, is intrinsic to 85.7% of prostate adenocarcinomas. The calculated sensitivity and specificity was based on the method for the diagnosis of prostate cancer gene GSTP1 methylation with the resulted level of 60% and 94% respectively. It was found that the average level of methylation of GSTP1 gene in prostate cancer was significantly higher than in BPH. It was also found that the average level of methylation in BPH combined with PIN or ASAP was different, being higher than the typical BPH, but lower than in prostate cancer. Defined thresholds levels of methylation of the gene

логічних станах, які можуть бути використані як критерії диференційної діагностики передпухлинних станів та ранньої діагностики РПЗ.

Ключові слова: рак передміхурової залози, гіперметилування генів-супресорів, GSTP1, полімеразна ланцюгова реакція.

Адреса для листування

Бахчиев Рубен Владимирович
65044, г. Одесса,
просп. Шевченко, 11а, кв. 17
E-mail: ruben76@mail.ru

GSTP1 promoter region in various pathological conditions that can be used as criteria for differential diagnosis of precancerous conditions and early detection of prostate cancer.

Keywords: prostate cancer, hypermethylation of suppressor genes, GSTP1, polymerase chain reaction.