

(mol). Narkologiya: Nacional'nyj pidruchnik. Harkiv, Ukraïna: Kolegium; 2014. 1428 p.

2. Kirpichenko AnA. Remissii u zhenshchin s alkogol'noj zavisimost'yu. *Medicina*. 2003;43(4):37-39. (in Russ.)

3. Ivanov VV. Remissiya pri zavisimostyah. *Psihiatriya Psihoterapiya i Klin Psihologiya*. 2012;10(4):149-152. (in Russ.)

4. Fahlke C, Berggren U, Berglund KJ. Neuroendocrine assessment of serotonergic, dopaminergic, and noradrenergic functions in alcohol-dependent individuals. *Alcohol Clin Exp Res*. 2012;36(1):97-103.

5. Ob"edkov VG, Skugarevskij OA. Ob effektivnosti raboty v psihiatrii i narkologii, itogah raboty psihiatricheskoj i narkologicheskoy sluzhb RB za 2010 god i zadachah na 2011 god. *Psihiatriya Psihoterapiya i Klin Psihologiya*. 2011;4(2):142-150. (in Russ.)

6. Dubinina LA, Bakman IJu. Osobennosti readaptacii bol'nyh alkogol'noj zavisimost'ju na jetape stanovlenija remissii. Materialy nauch.-prakt. konf. K 110-ju kafedry psihiatrii i narkologii SPb-go

GMU im. Akademika I.P. Pavlova, SPb., 10 dek. 2010 g. Sankt Peterburg, RF: NIPNI im VM Behtereva; 2010. 110 p. (in Russ.)

7. Skvira IM. Kompleksnyj podhod k opredeleniyu kachestva remissii u lic s alkogol'noj zavisimost'yu. *Problemy Zdorov'ya i Ekologii*. 2016(3):35-39. (in Russ.)

8. Krupickij EM. Fenomenologiya patologicheskogo vlecheniya k alkogolyu u bol'nyh alkogolizmom v remissii: svyaz' s recidivom zabolevaniya. *Vopr Narkologii*. 2003;6:15-20. (in Russ.)

9. Alkogolizm: Rukovodstvo dlya vrachej / pod red. N.N. Ivanca, M.A. Vinnikovej. Moskva, RF: Med informacionnoe agentstvo; 2011. 856 p. (in Russ.)

10. Skvira IM. Kolichestvennaya ocenka struktury recidivooopasnyh klinicheskikh situacij remissionnogo perioda pri alkogolizme. Aktual'nye problemy mediciny. Gomel', Belarus': GomGMU; 2008;3:190-193. (in Russ.)

11. Petri A, Sebin K. Naglyadnaya medicinskaya statistika. Moskva, RF: GEOTAR-Media; 2009. 168 p. (in Russ.)

Поступила 26.04.2018

УДК 618.19-006:616.65-006-071:575.174.2

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ МЕТИЛИРОВАНИЯ ГЕНОВ, АССОЦИИРОВАННЫХ С ОНКОПАТОЛОГИЕЙ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ И ПРЕДСТАТЕЛЬНОЙ ЖЕЛЕЗЫ, И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ВОЗМОЖНОСТИ МЕТОДА НА ЕГО ОСНОВЕ

В. Н. Мартинков

Государственное учреждение
«Республиканский научно-практический центр
радиационной медицины и экологии человека»
г. Гомель, Республика Беларусь

Цель: сопоставить частоты метилирования девяти генов при раке предстательной железы (РПЖ) и раке молочной железы (РМЖ) и выделить единую панель генов, перспективную для использования в качестве дополнительного маркера при диагностике данных форм рака.

Материалы и методы. Анализ метилирования промоторных областей девяти генов (*RARβ*, *HIN1*, *DAPK*, *RASSF1A*, *GSTP1*, *CCND2*, *p16*, *APC* и *hMLH1*) выполнен посредством метилспецифической полимеразной цепной реакции с электрофоретической детекцией.

Результаты. Определены и сопоставлены частоты метилирования девяти генов в биопсийном материале 68 пациентов с РПЖ, 39 пациентов с доброкачественной гиперплазией предстательной железы/простатической интраэпителиальной неоплазией (ДГПЖ/ПИН), операционном материале 104 пациенток с РМЖ и 38 пациенток с доброкачественными узловыми образованиями молочной железы (ДУОМЖ) (фиброаденома, узловатая мастопатия).

Заключение. Установлено, что в образцах злокачественной опухолевой ткани по сравнению с таковой в образцах с доброкачественной патологией как среди пациентов с заболеваниями предстательной железы, так и среди пациенток с патологией молочной железы статистически значимо чаще выявляется метилирование пяти генов (*RARβ*, *HIN1*, *CCND2*, *APC* и *GSTP1*) из девяти проанализированных. В опухолевой ткани пациентов с РПЖ частота метилирования каждого из указанных пяти генов значительно больше в сравнении с пациентками с РМЖ. Метилирование двух или более генов из пяти при РПЖ определялось в 89,7 % случаев, при ДГПЖ/ПИН — в 23,1 %, что в 3,9 раза меньше, ОШ — 29,1 (95 % ДИ [9,9–85,6]), $p < 0,001$. Диагностическая чувствительность метода составила 89,7 % при специфичности 76,9 % и точности 85 %. Метилирование одного или более генов из пяти в группе пациенток с РМЖ определялось в 80,8 % случаев, при ДУОМЖ — в 13,2 %, что в 6,1 раза меньше, ОШ — 27,7 (95 % ДИ [9,6–80,0]), $p < 0,001$. Соответственно, чувствительность метода была равна 80,8 %, специфичность — 86,8 % и точность — 82,4 %.

Ключевые слова: рак молочной железы, рак предстательной железы, метилирование ДНК.

Objective: to compare the methylation rates of nine genes in prostate cancer and breast cancer and to identify a single panel of genes that is promising for its use as an additional marker in the diagnosis of these types of cancer.

Material and methods. The methylation analysis of promoter areas of 9 genes (*RARβ*, *HIN1*, *DAPK*, *RASSF1A*, *GSTP1*, *CCND2*, *p16*, *APC* and *hMLH1*) was performed by means of methylspecific polymerase chain reaction with electrophoretic detection.

Results. We have identified and compared the methylation rates of the 9 genes in the biopsy material of 68 patients with prostate cancer, 39 patients with benign prostatic hyperplasia / prostatic intraepithelial neoplasia (BPH/PIN), surgical material from 104 female patients with breast cancer and 38 patients with benign tumors of the mammary gland (fibroadenoma, nodal mastopathy).

Conclusion. It has been found that methylation of five genes (*RARβ*, *HIN1*, *CCND2*, *APC* and *GSTP1*) out of the nine analyzed genes is statistically significantly more common in samples of malignant tumor tissue compared to that in samples with benign pathology both among patients with prostate diseases and among patients with breast pathology. The methylation rate of each of these five genes is significantly higher in the tumor tissue of patients

with prostate cancer compared to those with breast cancer. Methylation of two or more genes out of five in prostate cancer was detected in 89.7 % of cases, in BPH / PIN — in 23.1 %, which is 3.9 times as little, OR — 29.1 (95 % CI [9.9–85, 6]), $p < 0.001$. The diagnostic sensitivity of the method was 89.7 % with specificity of 76.9 % and accuracy of 85.0 %. Methylation of one or more genes out of five in the group of patients with breast cancer was detected in 80.8 % cases, with benign tumors of the mammary gland in 13.2 % cases, which is 6.1 times as little, OR — 27.7 (95 % CI [9.6–80.0]), $p < 0.001$. Accordingly, the sensitivity of the method was equal to 80.8 %, specificity — 86.8 %, and accuracy — 82.4 %.

Key words: breast cancer, prostate cancer, DNA methylation.

Problemy zdorov'ya i ekologii. 2018 Oct-Dec; Vol 58 (4): 103-109

Comparative Analysis of Methylation of Genes Associated with Breast Cancer and Prostate Cancer, and the Diagnostic Potential of the Method on its Basis

V.N. Martinkov

Введение

К настоящему времени вопросы ранней диагностики онкологических заболеваний продолжают сохранять свою актуальность, так как выявление рака на поздних стадиях остается одной из основных причин смертности при онкопатологии. Интерес к изучению аномалий метилирования генома обоснован применением результатов в целях диагностики и прогнозирования исходов при многих формах злокачественных новообразований.

В результате многочисленных исследований показано, что aberrантное метилирование промоторных областей ряда генов обнаруживается со значительными частотами при онкопатологии различной локализации, в том числе при раке молочной железы (РМЖ) и раке предстательной железы (РПЖ) [1]. В то же время особый интерес для диагностики представляют гены, метилирование которых редко выявляется у пациентов с доброкачественными изменениями и лиц без патологии.

Из генов, метилирование которых характерно для РПЖ, наиболее часто рассматриваются *GSTP1*, *APC*, *RASSF1A*, *RARβ* [2, 3, 4]. Метилирование генов *RASSF1A*, *RARβ*, *HIN1*, *CCND2*, *p16*, *APC* считается свойственным для РМЖ [5, 6, 7].

Показано, что определение метилирования небольшой группы генов позволяет с высокой чувствительностью и специфичностью диагностировать РПЖ (*GSTP1*, *RASSF1A*, *RARβ2* и *APC*) и дифференцировать доброкачественную гиперплазию предстательной железы (ДГПЖ) и рак (*GSTP1*, *APC* и *PTGS1*) [3, 8].

Также описана возможность применения анализа метилирования генов *GSTP1*, *RASSF1* и *APC* в качестве критерия для принятия решения о необходимости выполнения повторной биопсии у пациентов с подозрением на наличие злокачественного процесса в предстательной железе и отрицательными результатами гистологического исследования при первой биопсии [9].

Определение молекулярных маркеров на основе анализа метилирования четырех генов

(*APC*, *CRIP3*, *GSTP1*, *HOXD8*) описано как метод, который позволяет прогнозировать прогрессирование заболевания и является независимым и более качественным предиктором в сравнении с такими факторами, как уровень ПСА при постановке диагноза или процент положительных проб при первичной биопсии, что полезно при активном наблюдении за пациентами с РПЖ [10].

Анализ метилирования группы генов (*APC*, *RASSF1*, *GSTP1* и *RARβ*) в плазме крови оценен как перспективный метод для диагностики РМЖ с чувствительностью 87 % и специфичностью 62 % [11]. В обзорной публикации Jovanovic et al. приведены данные нескольких исследований, в которых показана возможность использования для диагностики РМЖ анализа метилирования в материале протокового лаважа [5].

Показана взаимосвязь метилирования генов *HIN1*, *RASSF1A*, *RIL* и *CDH13* с такими факторами прогноза, как рецепторный статус и размер опухоли, метилирование гена *RASSF1A* было связано с общей и безрецидивной выживаемостью пациенток [6]. Обнаружена взаимосвязь между метилированием отдельных генов и определенными клинико-патологическими характеристиками злокачественных опухолей молочной железы, что важно для понимания этиологии данного заболевания [12].

Однако результаты определения уровней метилирования указанных генов и взаимосвязи метилирования с исходами в разных исследованиях существенно различаются, что может быть связано с небольшим количеством пациентов в группах, отличающимися в исследуемом материале, методах анализа и обработки результатов [13]. Кроме того, большинство из исследований сфокусировано на изучении метилирования при раке какой-либо одной определенной локализации. В то же время обращает на себя внимание то, что факты метилирования некоторых из генов (*RASSF1A*, *RARβ*, *APC*) рассматриваются в качестве потенциальных диагностических маркеров при изучении как РПЖ, так и РМЖ. Поэтому целесообразным является проведение анализа частоты метили-

рования одних и тех же генов при РМЖ и РПЖ и сопоставление результатов для оценки возможности выделения группы генов, применимой для улучшения диагностики обеих патологий.

Цель работы

Сопоставить частоты метилирования девяти генов при РМЖ и РПЖ и выделить единую панель генов, перспективную для использования в качестве дополнительного маркера при диагностике данных форм рака.

Материалы и методы

В исследование были включены 68 пациентов с РПЖ с медианой возраста 71 года (25 % и 75 % — 65 и 76 года) и 39 пациентов с доброкачественной гиперплазией предстательной железы/простатической интраэпителиальной неоплазией (ДГПЖ/ПИН) с медианой возраста 65 года (25 % и 75 % — 59 и 74 года). Материалом для анализа являлись образцы ткани предстательной железы, полученные при проведении биопсии под ультразвуковым контролем. Во всех случаях РПЖ был представлен мелкоацинарными аденокарциномами с распределением по клиническим стадиям: I — 1,5 %, II — 22 %, III — 64,7 % IV — 11,8 %. Диагноз ДГПЖ был указан для 10,3 % пациентов, ДГПЖ/ПИН1 — для 12,8 %, ДГПЖ/ПИН2 — в 76,9 % случаев.

Также в исследование были включены 104 пациентки с РМЖ, медиана возраста — 58 года (25 % и 75 % — 48 и 67,5 года), и 38 пациенток с доброкачественными узловыми образованиями молочной железы (ДУОМЖ) (фиброаденома, узловатая мастопатия), медиана возраста — 39,5 года (25 % и 75 % — 32 и 49 года). В данном случае для анализа забирались образцы операционного материала ткани молочной железы. Распределение РМЖ по клиническим стадиям было следующим: I — 20,2 %, II — 60,6 %, III — 19,2 %.

Все участники исследования постоянно проживали на территории Гомельской области. От всех пациентов было получено письменное

информированное согласие на участие в исследовании.

Анализ метилирования промоторных областей девяти генов: *RARβ*, *HIN1*, *DAPK*, *RASSF1A*, *GSTP1*, *CCND2* (*Cyclin D2*), *p16* (*CDKN2*), *APC* и *hMLH1* выполняли посредством метилспецифической полимеразной цепной реакции, после бисульфитной модификации ДНК в соответствии с описанными ранее условиями [14, 15].

При проведении статистической обработки данных для определения различий между группами по частоте качественных признаков использовали точный критерий Фишера. Критическим значением уровня значимости считали $p = 0,05$. Также рассчитывали отношение шансов (ОШ) с 95 % доверительным интервалом [95 % ДИ] по стандартной формуле. Для оценки характеристик диагностических тестов использовали ROC-анализ с расчетом площади под характеристической кривой. Определяли чувствительность, специфичность и точность диагностического теста.

Результаты исследования

В группе из 68 пациентов с РПЖ с наибольшей частотой определено метилирование гена *RARβ*: промоторная область этого гена была метилирована в 88,2 % случаев. Частота метилирования генов *HIN1*, *GSTP1*, *RASSF1A*, *APC*, *CCND2* была несколько меньше, в данном ряду она варьировала от 83,8 до 72,1 % соответственно.

Метилирование генов *hMLH1* и *p16* определено в обоих случаях с низкой частотой — 1,4 %. Метилирование промоторной области гена *DAPK* не было выявлено ни у одного из пациентов.

Чаще всего в образцах ткани предстательной железы в группе из 39 пациентов с ДГПЖ/ПИН обнаруживалось метилирование промоторной области гена *RASSF1A* — в 48,7 % случаев. Частота метилирования генов *RARβ*, *HIN1*, *CCND2*, *GSTP1*, *APC* составляла от 23,1 до 12,8 %. В данной группе не выявлено метилирование промоторной области генов *DAPK*, *hMLH1* и *p16* ни в одном из случаев (таблица 1).

Таблица 1 — Частота метилирования промоторной области девяти генов при патологии предстательной и молочной железы

Гены	РПЖ, n = 68	ДГПЖ, n = 39	Fisher p	ОШ	РМЖ, n = 104	ДУОМЖ, n = 38	Fisher p	ОШ
<i>RARβ</i>	88,2 % (60)	23,1 % (9)	< 0,001	25,0	28,8 % (30)	2,6 % (1)	< 0,001	15,0
<i>HIN1</i>	83,8 % (57)	23,1 % (9)	< 0,001	17,3	49,0 % (51)	5,3 % (2)	< 0,001	17,3
<i>GSTP1</i>	83,8 % (57)	12,8 % (5)	< 0,001	35,2	17,3 % (18)	0	0,003	16,5
<i>APC</i>	75,0 % (51)	12,8 % (5)	< 0,001	20,4	40,4 % (42)	5,3 % (2)	< 0,001	12,2
<i>CCND2</i>	72,1 % (49)	15,4 % (6)	< 0,001	14,2	48,1 % (50)	5,3 % (2)	< 0,001	16,7
<i>RASSF1A</i>	79,4 % (54)	48,7 % (19)	0,002	4,1	79,3 % (83)	65,8 % (25)	0,119	2,1
<i>p16</i>	1,4 % (1)	0	1,000	1,8	2,9 % (3)	0	0,564	2,7
<i>hMLH1</i>	1,4 % (1)	0	1,000	1,8	5,8 % (6)	0	0,192	5,1
<i>DAPK</i>	0	0	—	—	22,1 % (23)	15,8 % (6)	0,487	1,5

Между группами РПЖ и ДГПЖ/ПИН были определены статистически значимые различия в частоте метилирования для генов *GSTP1*, *RARβ*, *APC*, *HIN1*, *CCND2* и *RASSF1A*. Частота метилирования гена *GSTP1* в группе РПЖ была больше, чем в группе ДГПЖ/ПИН в 6,5 раза, а гена *RASSF1A* — лишь в 1,6 раза, ОШ соответственно варьировало от 35,2 до 4,1.

Среди 104 проанализированных образцов опухолевой ткани пациенток с РМЖ наиболее часто метилирование определялось в промоторной области гена *RASSF1A* — 79,3 % случаев. Кроме того, со значительными частотами выявлялись факты гиперметилирования таких генов, как *HIN1*, *APC* и *CCND2* — от 49,0 до 40,4 %. Несколько реже метилирование было определено в области промоторов генов *RARβ*, *DAPK* и *GSTP1* — от 28,8 до 17,3 % случаев соответственно. С относительно небольшими частотами метилирование обнаружено в генах *hMLH1* и *p16* — 5,8 и 2,9 %.

В результате анализа метилирования в группе ДУОМЖ было установлено, что наибольшая частота его была характерна для гена *RASSF1A* — 65,8 %, также как и в группе РМЖ. Частота метилирования гена *DAPK* была меньше — 15,8 %. С одинаковой невысокой частотой метилирование было определено в образцах пациентов из этой группы в промоторной области генов *HIN1*, *APC* и *CCND2* — 5,3 %. Метилирование генов *GSTP1*, *hMLH1* и *p16* не было выявлено ни в одном из образцов — 0 %.

Частоты метилирования в группе РМЖ значимо превышали таковые в группе ДУОМЖ для генов *RARβ*, *HIN1*, *GSTP1*, *APC*, *CCND2*. Метилирование гена *HIN1* в группе РМЖ встречалось в 9,2 раза чаще, чем в группе ДУОМЖ, а наименьшее соотношение частот метилирования между группами соответствовало гену *APC* — 7,6 раза, отношение шансов ОШ варьировало от 17,3 до 12,2 соответственно.

Были сопоставлены результаты анализа метилирования изучаемых генов при заболеваниях предстательной и молочной железы. При этом было установлено, что наиболее существенные различия в частоте метилирования между злокачественной и доброкачественной патологией при обеих локализациях выявлены для одних и тех же пяти генов: *RARβ*, *HIN1*, *GSTP1*, *APC*, *CCND2*. Однако при сравнении групп РПЖ и РМЖ между собой частота метилирования этих пяти генов была статистически значимо больше в образцах ткани предстательной железы в сравнении с образцами ткани молочной железы (*GSTP1* — в 4,8 раза, $p < 0,001$; *RARβ* — в 3,1 раза больше, $p < 0,001$; *APC* — в 1,9 раза, $p < 0,001$; *HIN1* — в 1,7 раза, $p < 0,001$; *CCND2* — в 1,5 раза, $p = 0,003$). При сравнении групп ДГПЖ и ДУОМЖ наблюда-

лась сходная тенденция, но различия лишь для двух из пяти генов были значимыми (*RARβ* — в 8,8 раза больше, $p < 0,014$; *HIN1* — в 4,4 раза, $p = 0,047$; *CCND2* — в 2,9 раза, $p = 0,263$; *APC* — в 2,4 раза, $p = 0,431$; *GSTP1* — 12,8 и 0 %, $p = 0,055$).

Не выявлено значимых различий в частоте метилирования генов *RASSF1A*, *hMLH1* и *p16* между группами пациентов с новообразованиями предстательной и молочной железы.

Метилирование гена *DAPK* не обнаружено в ткани предстательной железы, но определялось в образцах ткани молочной железы как при злокачественной патологии (0 и 22,1 %, $p < 0,001$), так и при доброкачественных изменениях (0 и 15,8 %, $p = 0,012$).

Для оценки возможности использования анализа метилирования в качестве дополнительного способа дифференциальной диагностики злокачественных новообразований были проанализированы диагностические характеристики методов на основе определения метилирования групп генов.

В нашей работе метилирование одного или более из девяти изучаемых генов при РПЖ было определено в 91,2 % случаев, что всего лишь в 1,3 раза больше, чем при ДГПЖ/ПИН — 71,8 %, ОШ — 4,1 (95 % ДИ [1,4–12,1]), $p = 0,263$. Наличие в образце метилирования двух или более генов из девяти было определено в 89,7 % образцов РПЖ, что в 3,2 раза больше, чем при ДГПЖ/ПИН — 28,2 %, ОШ — 22,2 (95 % ДИ [7,8–63,3]), $p < 0,001$.

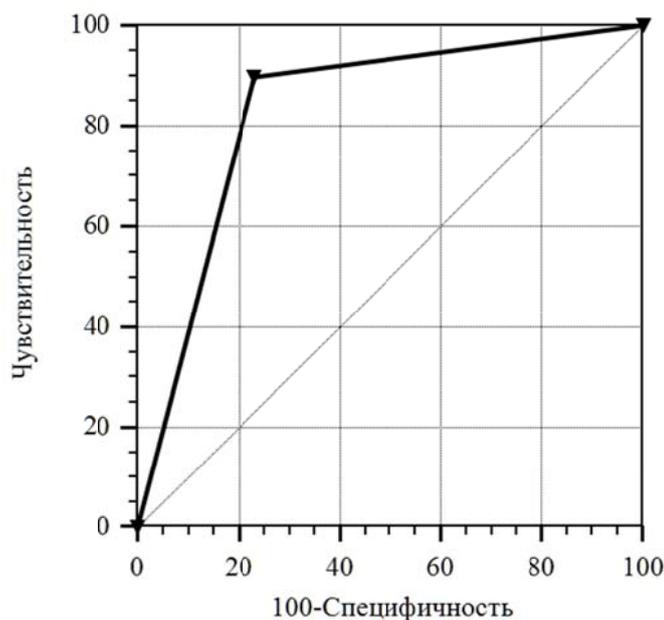
Была проанализирована распространенность метилирования при выделении группы из пяти генов, частота которых значимо различалась при злокачественной и доброкачественной патологии предстательной железы (*GSTP1*, *RARβ*, *APC*, *HIN1*, *CCND2*). Частота метилирования одного или более генов из пяти при РПЖ была 89,7 %, при ДГПЖ/ПИН — 35,9 %, что в 2,5 раза меньше, ОШ — 15,6 (95 % ДИ [5,6–43,1]), $p < 0,001$. Метилирование двух или более генов из пяти при РПЖ определялось с такой же частотой — 89,7 % и реже при ДГПЖ/ПИН — в 23,1 % случаев, соотношение частот было равно 3,9, ОШ — 29,1 (95 % ДИ [9,9–85,6]), $p < 0,001$.

Диагностические характеристик панелей маркеров на основе анализа метилирования групп генов приведены в таблице 2.

На основании данных ROC-анализа можно сделать вывод, что для дифференциальной диагностики РПЖ наилучшими характеристиками обладает модель на основе анализа метилирования пяти генов и определения положительного результата теста при наличии метилирования двух или более генов из пяти. Чувствительность модели — 89,7 % при специфичности 76,9 % и точности 85 % (рисунок 1).

Таблица 2 — Диагностические характеристики панелей маркеров на основе анализа метилирования при патологии предстательной железы

Состав панели	Площадь под кривой [95 % ДИ]	Чувствительность, % [95 % ДИ]	Специфичность, % [95 % ДИ]	Точность, %
Метилирование одного или более генов из девяти	0,60 [0,59–0,68]	91,2 [81,8–96,7]	28,2 [15,0–44,9]	68,2
Метилирование двух или более генов из девяти	0,81 [0,78–0,89]	89,7 [79,9–95,8]	71,8 [55,1–85,0]	83,2
Метилирование одного или более генов из пяти	0,77 [0,69–0,85]	89,7 [79,9–95,8]	64,1 [47,2–78,8]	80,4
Метилирование двух или более генов из пяти	0,83 [0,76–0,91]	89,7 [79,9–95,8]	76,9 [60,7–88,9]	85,0

Рисунок 1 — Соотношение между чувствительностью и специфичностью (ROC-кривая) для метода диагностики РПЖ на основе определения метилирования двух или более генов из пяти (*RARβ*, *HIN1*, *CCND2*, *APC* и *GSTP1*)

В образцах опухолевой ткани пациентов с РМЖ метилирование одного или более из девяти изучаемых генов обнаружено в 92,3 % случаев, а при ДУОМЖ метилирование присутствовало в 71,1 %, частота в первом случае была в 1,3 раза больше, ОШ — 4,9 (95 % ДИ [1,8–13,4]), $p = 0,004$. Метилирование двух или более генов из девяти было определено в 76 % образцов РМЖ и 21,1 % ДУОМЖ, соотношение частот — 3,6, ОШ — 11,9 (95 % ДИ [4,8–29,2]), $p < 0,001$.

На следующем этапе проанализирована частота метилирования в группе из пяти генов (*RARβ*, *HIN1*, *GSTP1*, *APC*, *CCND2*) среди пациентов с РМЖ и ДУОМЖ. Ген *RASSF1A* не был включен в анализ, так как была определена довольно высокая частота его метилирования при ДУОМЖ (48,7 %), что негативно влияло на специфичность модели.

Частота метилирования одного или более из пяти генов в группе пациенток с РМЖ со-

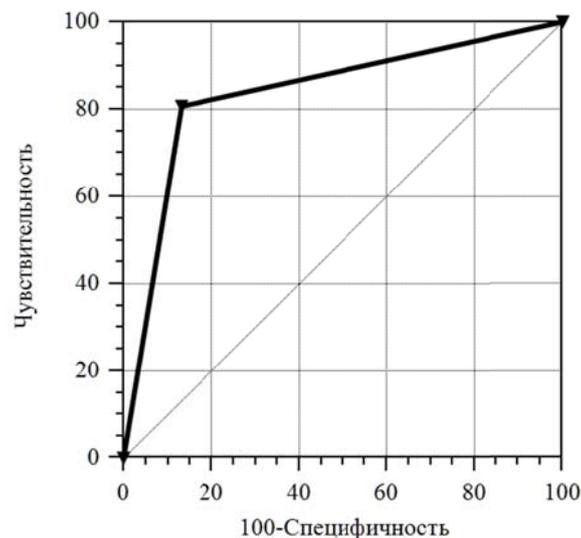
ставила 80,8 %, что больше в 6,1 раза, чем при ДУОМЖ — 13,2 %, ОШ — 27,7 (95 % ДИ [9,6–80,0]), $p < 0,001$. Метилирование двух и более генов при РМЖ встречалось в 57,7 % случаев, тогда как при ДУОМЖ — лишь в 5,3 % образцов, то есть частота при РМЖ была в 10,9 раза больше, ОШ — 24,6 (95 % ДИ [5,6–107,4]), $p < 0,001$.

Была проведена оценка диагностических характеристик панелей маркеров на основе анализа метилирования групп генов (таблица 3).

Панель на основе анализа метилирования одного или более генов из пяти по результатам ROC-анализа обладала наилучшими характеристиками. Площадь под характеристической кривой была равна 0,84. Чувствительность метода дифференциальной диагностики РМЖ на основе анализа метилирования одного или более генов из пяти составила 80,8 % при специфичности 86,8 % и точности 82,4 % (рисунок 2).

Таблица 3 — Диагностические характеристики панелей маркеров на основе анализа метилирования при патологии молочной железы

Состав панели	Площадь под кривой [95 % ДИ]	Чувствительность, % [95 % ДИ]	Специфичность [95 % ДИ]	Точность, %
Метилирование одного или более генов из девяти	0,61 [0,53–0,68]	92,3 [85,4–96,6]	29,0 [15,4–45,9]	75,4
Метилирование двух или более генов из девяти	0,77 [0,70–0,85]	76,0 [66,6–83,8]	79,0 [62,7–90,4]	76,8
Метилирование одного или более генов из пяти	0,84 [0,77–0,90]	80,8 [71,9–87,8]	86,8 [71,9–95,6]	82,4
Метилирование двух или более генов из пяти	0,76 [0,70–0,82]	57,7 [47,6–67,3]	94,7 [82,3–99,4]	67,6

Рисунок 2 — Соотношение между чувствительностью и специфичностью (ROC-кривая) для метода диагностики РМЖ на основе определения метилирования одного или более генов из пяти (*RARβ*, *HIN1*, *CCND2*, *APC* и *GSTP1*)

Заключение

На основании полученных результатов можно сделать вывод, что частота метилирования промоторных областей каждого из генов — *RARβ*, *HIN1*, *CCND2*, *APC* и *GSTP1* статистически значимо больше в образцах злокачественной опухолевой ткани по сравнению с таковой в образцах с доброкачественной патологией как среди пациентов с патологией предстательной железы, так и у пациенток с заболеваниями молочной железы. При этом в опухолевой ткани пациентов с РПЖ частота метилирования указанных генов значимо больше в сравнении с пациентками с РМЖ (*RARβ* — в 3,1 раза больше, *HIN1* — в 1,7 раза, *GSTP1* — в 4,8 раза, *APC* — в 1,9 раза, *CCND2* — в 1,5 раза). Между пациентами с ДГПЖ и пациентками с ДУОМЖ различия в частотах были значимыми лишь для двух из пяти генов (*RARβ* — в 8,8 раза больше и *HIN1* — в 4,4 раза больше).

Показано, что тестирование метилирования одних и тех же пяти генов (*RARβ*, *HIN1*, *CCND2*, *APC* и *GSTP1*) может быть использо-

вано в качестве дополнительной процедуры для дифференциальной диагностики как РПЖ, так и РМЖ. Однако критерии определения положительного результата теста при данных патологиях различны. При диагностике РПЖ в качестве положительного результата теста следует рассматривать наличие у пациента метилирования двух или более генов из пяти, чувствительность метода — 89,7 % при специфичности 76,9 % и точности 85 %. Для дифференциальной диагностики РМЖ наиболее эффективным является метод на основе определения в качестве положительного результата теста метилирования одного или более генов из пяти при чувствительности 80,8 %, специфичности 86,8 % и точности 82,4 %.

ЛИТЕРАТУРА

1. Delpu Y, Cordelier P, Cho WC, Torrisani J. DNA methylation and cancer diagnosis. *Int J Mol Sci*. 2013;14(7):15029-58. doi: 10.3390/ijms140715029.
2. Perry AS, Foley R, Woodson K, Lawler M. The emerging roles of DNA methylation in the clinical management of prostate cancer. *Endocr Relat Cancer*. 2006;13(2):357-77. doi: 10.1677/erc.1.01184.

3. Bastian PJ, Ellinger J, Wellmann A, Wernert N, Heukamp LC, Müller SC, et al. Diagnostic and prognostic information in prostate cancer with the help of a small set of hypermethylated gene loci. *Clin Cancer Res.* 2005;11(11):4097-106. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-04-1832.
4. Long MD, Smiraglia DJ, Campbell MJ. The genomic impact of DNA CpG methylation on gene expression; relationships in prostate cancer. *Biomolecules.* 2017 Feb 14;7(1):1-20. doi: 10.3390/biom7010015.
5. Jovanovic J, Rønneberg JA, Tost J, Kristensen V. The epigenetics of breast cancer. *Mol Oncol.* 2010;4(3):242-54. doi: 10.1016/j.molonc.2010.04.002.
6. Xu J, Shetty PB, Feng W, Chenault C, Bast RC, Issa J-PJ, et al. Methylation of HIN-1, RASSF1A, RIL and CDH13 in breast cancer is associated with clinical characteristics, but only RASSF1A methylation is associated with outcome. *BMC Cancer.* 2012;12:243. doi: 10.1186/1471-2407-12-243.
7. Hoque MO, Feng Q, Toure P, Dem A, Critchlow CW, Hawes SE, et al. Detection of aberrant methylation of four genes in plasma DNA for the detection of breast cancer. *J Clin Oncol.* 2006;24(26):4262-69. doi: 10.1200/JCO.2005.01.3516.
8. Roupêt M, Hupertan V, Yates DR, Catto JWF, Rehman I, Meuth M, et al. Molecular detection of localized prostate cancer using quantitative methylation-specific PCR on urinary cells obtained following prostate massage. *Clin Cancer Res.* 2007;13(6):1720-25. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-06-2467.
9. Van Neste L, Partin AW, Stewart GD, Epstein JI, Harrison DJ, Van Criekinge W. Risk score predicts high-grade prostate cancer in DNA-methylation positive, histopathologically negative biopsies. *Prostate.* 2016;76(12):1078-87. doi: 10.1002/pros.23191.
10. Zhao F, Olkhov-Mitsel E, van der Kwast T, Sykes J, Zdravic D, Venkateswaran V, et al. Urinary DNA methylation biomarkers for non-invasive prediction of aggressive disease in patients with prostate cancer on Active Surveillance. *J Urol.* 2017;197(2):335-41. doi: 10.1016/j.juro.2016.08.081.
11. Hoque MO, Feng Q, Toure P, Dem A, Critchlow CW, Hawes SE, et al. Detection of aberrant methylation of four genes in plasma DNA for the detection of breast cancer. *J Clin Oncol.* 2006;24(26):4262-69. doi: 10.1200/JCO.2005.01.3516.
12. Tao MH, Shields PG, Nie J, Millen A, Ambrosone CB, Edge SB, et al. DNA hypermethylation and clinicopathological features in breast cancer: the Western New York Exposures and Breast Cancer (WEB) Study. *Breast Cancer Res Treat.* 2009;114(3):559-68. doi: 10.1007/s10549-008-0028-z.
13. Strand SH, Orntoft TF, Sorensen KD. Prognostic DNA methylation markers for prostate cancer. *Int J Mol Sci.* 2014;15(9):16544-76. doi: 10.3390/ijms150916544.
14. Силин АЕ, Мартинков ВН, Надыров ЭА, Пестриков ЕВ, Либуркин ОМ, Задорожнюк АА, и др. Сравнительный анализ статуса метилирования 11 генов-супрессоров в ткани предстательной железы пациентов с доброкачественной патологией, раком предстательной железы и лиц без патологии. *Проблемы Здоровья и Экологии.* 2012;4:92-8.
15. Силин АЕ, Мартинков ВН, Надыров ЭА, Мартыненко СМ, Родько ДБ. Частоты гиперметилирования промоторных областей генов-супрессоров при раке молочной железы. *Мед-Биол Проблемы Жизнедеятельности.* 2010;1:56-63.
2. Perry AS, Foley R, Woodson K, Lawler M. The emerging roles of DNA methylation in the clinical management of prostate cancer. *Endocr Relat Cancer.* 2006;13(2):357-77. doi: 10.1677/erc.1.01184.
3. Bastian PJ, Ellinger J, Wellmann A, Wernert N, Heukamp LC, Müller SC, et al. Diagnostic and prognostic information in prostate cancer with the help of a small set of hypermethylated gene loci. *Clin Cancer Res.* 2005;11(11):4097-106. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-04-1832.
4. Long MD, Smiraglia DJ, Campbell MJ. The genomic impact of DNA CpG methylation on gene expression; relationships in prostate cancer. *Biomolecules.* 2017 Feb 14;7(1):1-20. doi: 10.3390/biom7010015.
5. Jovanovic J, Rønneberg JA, Tost J, Kristensen V. The epigenetics of breast cancer. *Mol Oncol.* 2010;4(3):242-54. doi: 10.1016/j.molonc.2010.04.002.
6. Xu J, Shetty PB, Feng W, Chenault C, Bast RC, Issa J-PJ, et al. Methylation of HIN-1, RASSF1A, RIL and CDH13 in breast cancer is associated with clinical characteristics, but only RASSF1A methylation is associated with outcome. *BMC Cancer.* 2012;12:243. doi: 10.1186/1471-2407-12-243.
7. Hoque MO, Feng Q, Toure P, Dem A, Critchlow CW, Hawes SE, et al. Detection of aberrant methylation of four genes in plasma DNA for the detection of breast cancer. *J Clin Oncol.* 2006;24(26):4262-69. doi: 10.1200/JCO.2005.01.3516.
8. Roupêt M, Hupertan V, Yates DR, Catto JWF, Rehman I, Meuth M, et al. Molecular detection of localized prostate cancer using quantitative methylation-specific PCR on urinary cells obtained following prostate massage. *Clin Cancer Res.* 2007;13(6):1720-25. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-06-2467.
9. Van Neste L, Partin AW, Stewart GD, Epstein JI, Harrison DJ, Van Criekinge W. Risk score predicts high-grade prostate cancer in DNA-methylation positive, histopathologically negative biopsies. *Prostate.* 2016;76(12):1078-87. doi: 10.1002/pros.23191.
10. Zhao F, Olkhov-Mitsel E, van der Kwast T, Sykes J, Zdravic D, Venkateswaran V, et al. Urinary DNA methylation biomarkers for non-invasive prediction of aggressive disease in patients with prostate cancer on Active Surveillance. *J Urol.* 2017;197(2):335-41. doi: 10.1016/j.juro.2016.08.081.
11. Hoque MO, Feng Q, Toure P, Dem A, Critchlow CW, Hawes SE, et al. Detection of aberrant methylation of four genes in plasma DNA for the detection of breast cancer. *J Clin Oncol.* 2006;24(26):4262-69. doi: 10.1200/JCO.2005.01.3516.
12. Tao MH, Shields PG, Nie J, Millen A, Ambrosone CB, Edge SB, et al. DNA hypermethylation and clinicopathological features in breast cancer: the Western New York Exposures and Breast Cancer (WEB) Study. *Breast Cancer Res Treat.* 2009;114(3):559-68. doi: 10.1007/s10549-008-0028-z.
13. Strand SH, Orntoft TF, Sorensen KD. Prognostic DNA methylation markers for prostate cancer. *Int J Mol Sci.* 2014;15(9):16544-76. doi: 10.3390/ijms150916544.
14. Silin A, Martinkov V, Nadyrov E, Pestrikov E, Liburkin O, Zadorozhnyuk A, et al. Comparative analysis of methylation status of suppressor genes in the prostate gland tissue in patients with benign pathology, prostate cancer and in patients without pathology. *Problemy Zdorov'ya i EHkologii.* 2012;4:92-8.
15. Silin A, Martinkov V, Nadyrov E, Martynenko S, Rodjko D. Frequencies of hypermethylation of promoter areas of genes-suppressors in patients with breast cancer. *Med-Biol Problemy Zhiznedeyatel'nosti.* 2010;1:56-63.

REFERENCES

1. Delpu Y, Cordelier P, Cho WC, Torrisani J. DNA methylation and cancer diagnosis. *Int J Mol Sci.* 2013;14(7):15029-58. doi: 10.3390/ijms140715029.

Поступила 09.11.2018

УДК 616.728.13-007.17:617.546
АЛГОРИТМ ЛУЧЕВОЙ ДИАГНОСТИКИ ДИСТРОФИЧЕСКИХ ПОРАЖЕНИЙ СВЯЗОК ПОЯСНИЧНО-КРЕСТЦОВОГО ОТДЕЛА ПОЗВОНОЧНИКА ПРИ СИНДРОМЕ БОЛИ В НИЖНЕЙ ЧАСТИ СПИНЫ: ВОЗМОЖНОСТИ СОНОГРАФИИ

А. Н. Михайлов¹, А. М. Юрковский², И. В. Назаренко²

**¹Государственное учреждение образования
«Белорусская медицинская академия последипломного образования»**

г. Минск, Республика Беларусь

²Учреждение образования

«Гомельский государственный медицинский университет»

г. Гомель, Республика Беларусь

Цель: сформировать основные положения алгоритма лучевого исследования при синдроме боли в нижней части спины (синдроме БНЧС), вызванного патологией подвздошно-поясничной (ППС), задней длинной