

Кадырова Дилорам Абдуллаевна, Исанбаева Ландыш Мухамедзакиевна

## **АНАЛИЗ СТАТУСА МЕТИЛИРОВАНИЯ ГЕНА ОПУХОЛЕВОЙ СУПРЕССИИ RAR?2 КАК МАРКЕРА ДИАГНОСТИКИ И ЭФФЕКТИВНОСТИ ЛЕЧЕНИЯ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ**

Эпигенетическая инактивация генов-супрессоров опухолевого процесса, обусловленная гиперметилированием промоторной области, является таким же характерным признаком опухолей человека, как и генетические нарушения, и служит альтернативным механизмом потери функции генов-супрессоров. Проведен анализ промоторной области гена-супрессора RAR?2 в норме и при раке молочной железы методом метил-чувствительной полимеразной цепной реакции. Показано метилирование CpG-динуклеотидов в промоторной области гена RAR?2. Аномальное метилирование промоторной области гена RAR?2 можно использовать в качестве маркера ранней диагностики и мониторинга эффективности лечения больных при раке молочной железы.

Адрес статьи: [www.gramota.net/materials/1/2017/4-5/13.html](http://www.gramota.net/materials/1/2017/4-5/13.html)

Статья опубликована в авторской редакции и отражает точку зрения автора(ов) по рассматриваемому вопросу.

Источник

**Альманах современной науки и образования**

Тамбов: Грамота, 2017. № 4-5 (118). С. 51-55. ISSN 1993-5552.

Адрес журнала: [www.gramota.net/editions/1.html](http://www.gramota.net/editions/1.html)

Содержание данного номера журнала: [www.gramota.net/materials/1/2017/4-5/](http://www.gramota.net/materials/1/2017/4-5/)

**© Издательство "Грамота"**

Информация о возможности публикации статей в журнале размещена на Интернет сайте издательства: [www.gramota.net](http://www.gramota.net)

Вопросы, связанные с публикациями научных материалов, редакция просит направлять на адрес: [almanac@gramota.net](mailto:almanac@gramota.net)

Резюмируя, хочется сказать, что стилистические трансформации при переводе с английского языка на русский должны учитывать все нюансы оригинального произведения. Среди этих нюансов особенно выделяются: контекстуальный фон оригинального произведения (микро- и макроконтекст), индивидуальность каждого авторского стиля, а также специфика переводимого языка в смысле его стилистических норм и синтаксиса. Нельзя не отметить и то, что переводчик обязан быть всесторонне эрудирован или иметь стремление к познанию, потому что иначе перевод лишается своего шарма, а скудный словарный запас не сможет передать мысль текста оригинала. Также хочется заметить, что именно история каждого языка дала нам такую необъятную и прекрасную почву для применения заложенного в человеке творческого потенциала, который развивался на протяжении предшествующих веков и дальше будет развиваться, преподнося нам новые и новые литературные произведения и их переводы.

*Список источников*

1. Левницкая Т. Р., Фитерман А. М. Проблемы перевода. М.: Международные отношения, 1976. 208 с.
2. Нелюбин Л. Л. Лингвостилистика современного английского языка. М.: Флинта, 2008. 128 с.
3. Нелюбин Л. Л. Толковый переводоведческий словарь. 3-е изд., перераб. М.: Флинта; Наука, 2006. 320 с.
4. Реформатский А. А. Лингвистические вопросы перевода // Иностранные языки в высшей школе. 1952. № 6.
5. Швейцер А. Д. Теория перевода (статус, проблемы, аспекты). М.: Наука, 1988. 275 с.
6. Malloy R. P. Land Use Law and Disability. N. Y.: Cambridge University Press & Sheridan Books, Inc., 2015. 240 p.

**STYLISTIC TRANSFORMATIONS USE WHILE LEGAL TEXT TRANSLATING**

**Zapol'nov Aleksei Sergeevich**

*Moscow State University of Geodesy and Cartography  
personalispax@gmail.com*

The article analyzes peculiarities of transfer of stylistic devices of the English academic text on legal subject matter in the Russian language and compares characteristics of the scientific style of the two languages. The author describes some types of translation transformations in the context of their application while translating the scientific text and, in particular, special vocabulary. The ways of preserving stylistic equivalence in the target language in written monologic speech are studied.

*Key words and phrases:* stylistic transformations; professional legal terminology; translation equivalence; preservation of stylistic equivalence; translation techniques; preserving the style of the original.

УДК 618.14-006.36

**Медицинские науки**

*Эпигенетическая инактивация генов-супрессоров опухолевого процесса, обусловленная гиперметилированием промоторной области, является таким же характерным признаком опухолей человека, как и генетические нарушения, и служит альтернативным механизмом потери функции генов-супрессоров. Проведен анализ промоторной области гена-супрессора RARβ2 в норме и при раке молочной железы методом метил-чувствительной полимеразной цепной реакции. Показано метилирование CpG-динуклеотидов в промоторной области гена RARβ2. Аномальное метилирование промоторной области гена RARβ2 можно использовать в качестве маркера ранней диагностики и мониторинга эффективности лечения больных при раке молочной железы.*

*Ключевые слова и фразы:* рак молочной железы; ген-супрессор RARβ2; метилирование CpG-динуклеотидов; маркеры ранней диагностики.

**Кадырова Дилорам Абдуллаевна**

*Институт биоорганической химии Академии наук Республики Узбекистан, г. Ташкент  
83d.kadyrova1949@mail.ru*

**Исанбаева Ландыш Мухамедзакиевна, к.м.н.**

*Ташкентский институт усовершенствования врачей, Республика Узбекистан  
badyu@mail.ru*

**АНАЛИЗ СТАТУСА МЕТИЛИРОВАНИЯ ГЕНА ОПУХОЛЕВОЙ СУПРЕССИИ RARβ2  
КАК МАРКЕРА ДИАГНОСТИКИ И ЭФФЕКТИВНОСТИ ЛЕЧЕНИЯ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ**

Известно, что рак молочной железы (РМЖ) имеет мультифакторную природу. В патогенезе данного заболевания важную роль играют онкогены и гены опухолевой супрессии. Причиной инактивации генов-супрессоров опухолей и роста злокачественно трансформированных клеток являются генетические и эпигенетические

повреждения. Считается, что эпигенетические нарушения при малигнизации – наиболее ранние и появляются задолго до клинической манифестации заболевания [1, с. 15]. К настоящему времени установлено, что метилирование генов ассоциировано с агрессивной формой опухоли и прогрессией заболевания [2, с. 42; 3, р. 687; 4, р. 691]. Следовательно, определение степени метилирования генов-супрессоров опухолевого роста может служить ранним маркером агрессивности опухолевого процесса и применяться для прогноза. Опухолевые клетки отличаются глобальным изменением паттерна метилирования ДНК, которое носит сложный характер: в одних и тех же опухолях происходят как тотальное деметилирование ДНК и активация транскрипции соответствующих генов, так и локальное гиперметилирование и подавление транскрипции ассоциированных с ними генов [5, р. 924]. Механизмы, активирующие в опухолевых клетках такие разнонаправленные процессы, как гипер- и гипометилирование ДНК, а также механизмы, определяющие специфичность маркеров метилирования для разных типов опухолей, до сих пор неизвестны [6, р. 234].

Рак молочной железы является самой распространенной онкологической патологией женщин, спектр и частота молекулярно-генетических нарушений при РМЖ подробно изучены. При РМЖ происходит метилирование цитозина в составе так называемых «СрG-островков», активируется процесс деацетилирования гистонов, что приводит к изменению конфигурации хроматина и локальному подавлению транскрипции [7, р. 415]. «СрG-островки» представляют собой короткие участки в промоторных областях генов, содержащие повышенное по сравнению с остальным геномом число СG-динуклеотидов; эти районы практически всегда не метилированы в нормальных клетках. Переход «СрG-островков» в гиперметилированное состояние резко снижает экспрессию генов-супрессоров, что приводит к активации опухолевого процесса [8, р. 166]. В связи с этим выявление гиперметилированных «СрG-островков» генов-супрессоров опухолевого роста в ДНК человека является крайне важным и позволяет проводить раннюю диагностику заболевания.

**Цель исследования:** провести анализ гиперметилирования промоторных областей генов-супрессоров p53 и RARβ2 при раке молочной железы.

#### **Материал и методы**

В исследование включены больные с операбельной формой рака стадии T1-4N0-2M (78 больных) в возрасте от 28 до 65 лет и условно здоровые доноры (10 человек). Всем больным была назначена неоадьювантная химиотерапия по стандартной схеме FAC, которая содержала циклофосфан, 5-фторурацил, доксорубин. Дополнительно к этой схеме решили добавить препарат таксанового ряда доцетаксел. Кровь онкологических больных получали в Отделении онкомамологии Республиканского онкологического научного центра МЗ РУз.

#### **Выделение ядерной ДНК из лейкоцитов крови**

Все процедуры проводили в стерильных условиях. К 0,5 мл периферической крови добавляли 2 мл стерильной H<sub>2</sub>O, пробы инкубировали при комнатной температуре 2 часа. Клетки лейкоцитов осаждали при 3000 об./мин, 4°C, в течение 15 мин. Надосадочную жидкость аккуратно удаляли, к осадку желто-красных лейкоцитов добавляли 100 мкл стерильной дистиллированной воды и хранили при -20°C. К суспензии лейкоцитов (1x10<sup>6</sup>) добавляли 1 мл лизирующего буфера (100 мМ Tris-HCl, pH 7,6; 25 мМ ЭДТА, pH 8,0; 0,15 М NaCl; 1% SDS, 2 мМ β-меркаптоэтанол), лизис проводили на льду 3 мин. Затем пробы центрифугировали при 3000 об./мин, 4°C, 15 мин. Супернатант переносили в новые пробирки, добавляли равный объем смеси «фенол – хлороформ» (1:1), инкубация 15-20 мин при покачивании. Пробы центрифугировали 10 мин при 5000 об./мин, 4°C. К супернатанту добавляли хлороформ (1:2), инкубация при покачивании в течение 15-20 мин при 160 об./мин, пробы центрифугировали при 5000 об./мин, 4°C, 10 мин. Супернатант осаждали в 3-кратном объеме 96% этанола в присутствии 3 М раствора ацетата натрия, pH 5,2, пробы оставляли на ночь при -20°C. Препараты ДНК промывали раствором 70%-го этанола. Полученные препараты ДНК можно хранить при -20°C в течение месяца. Препараты ДНК/РНК и интактной ДНК анализировали в 2%-м агарозном геле, содержащем 0,5 мкг/мл этидиум бромид. Электрофорез вели 1 ч при 100 В, гель фотографировали в проходящих лучах УФ.

#### **Рестрикционный анализ ядерной ДНК**

Для рестрикционного анализа вкДНК была использована метилчувствительная рестрикционная эндонуклеаза Hpa II (CCGG). Реакционная смесь обычно содержала 0,2-1 нг ДНК в объеме 20 мкл или менее. К раствору ДНК в стерильной пробирке «эппендорф» добавляли воду до объема 18 мкл и перемешивали. Затем добавляли 2 мкл соответствующего буфера 10-кратной концентрации, перемешивали, добавляли 1 ед. рестриктазы, перемешивали. Полученную смесь инкубировали при 37°C в течение 18 часов. Реакцию останавливали добавлением 0,5 М ЭДТА (pH 7,5) до конечной концентрации 10 мМ.

#### **Электрофорез продуктов гидролиза ДНК**

Электрофорез продуктов гидролиза ДНК рестриктазой Hpa II (CCGG) проводили в 0,8%-м агарозном геле. Электрофорез вели при напряженности 3 В/см. Разделение фрагментов ДНК контролировали под ультрафиолетом.

**Для анализа метилирования гена RARβ2** использовали следующие пары праймеров промоторной области, специфичных для данного гена:

Ген RARβ2

**forward**

**5'-GGGATTAGAATTTTTATGCGAGTTGT-3'**

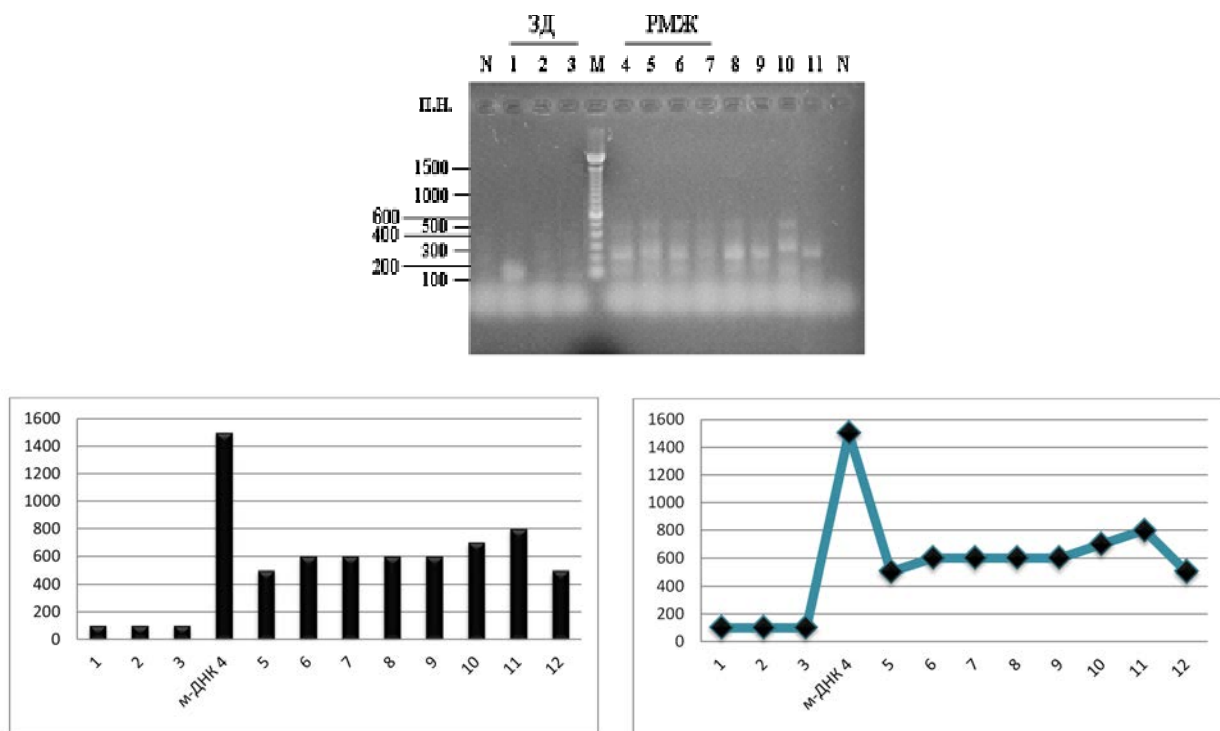
**Reverse**

**5'-TACCCCGACGATACCCAAAC-3'**

**МЧ-ПЦР** проводили в 20 мкл реакционной смеси, содержащей 67 mM трис-HCl, pH 8,8; 16,7 mM  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ; 0,01% Tween-20; 1,5 mM  $\text{MgCl}_2$ ; 0,25 mM каждого dNTP; 10-20 нг ДНК; 25 пмоль каждого праймера; 0,5 ед. Taq-ДНК-полимеразы («СибЭнзим», Россия). ПЦР проводили по программе: (95°C, 2 мин); 35 циклов (92°C, 10 сек); (72°C, 3 мин) на амплификаторе *DNA Engine Dyad Cyclor (Bio-Rad, США)*. Образцы ДНК из плазмы крови здоровых доноров использовали как контроль для неметилированных аллелей. В качестве положительного контроля 100% метилирования использовали препараты ДНК из плазмы, обработанные метилтрансферазой («СибЭнзим», Россия). Продукты ПЦР разделяли с помощью электрофореза в 2,5%-м агарозном геле.

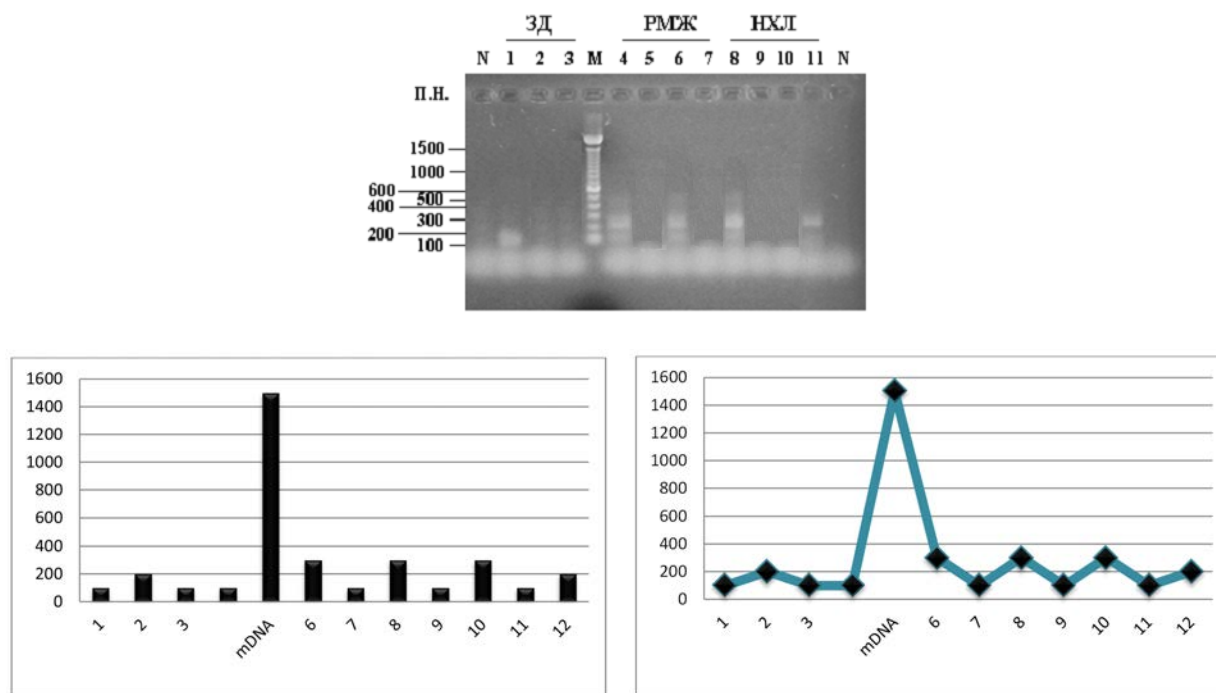
### Результаты и обсуждение

Нашей основной задачей является анализ возможности использования аномального метилирования в качестве биомаркера для ранней диагностики онкологических заболеваний. Анализ маркеров метилирования на сегодняшний день является оптимальным инструментом молекулярно-генетической диагностики и мониторинга в онкологии. По специфичности он не уступает анализу экспрессии генов, значительно превосходя последний по простоте и доступности, в то время как анализ структурных аномалий остается достаточно дорогостоящей процедурой и применяется, в основном, в диагностике наследственных онкологических синдромов и для выявления стандартных мутаций, определяющих чувствительность опухолей к тем или иным химиопрепаратам [9, р. 325]. В этой связи единственным из таких маркеров, технически доступным на сегодняшний день, является аномальное метилирование ДНК. Для опухолей характерен дисбаланс эпигенетической регуляции: на фоне тотального гипометилирования наблюдается локальное гиперметилирование промоторных областей генов-супрессоров. Аномальное метилирование считается одним из ранних признаков канцерогенеза. Для определения метилирования «СpG-островков» промоторных областей исследуемых генов нами был применен метод метил-чувствительной ПЦР (МЧ-ПЦР). Метод основан на способности метил-чувствительных рестриктаз гидролизовать ДНК, не содержащую модифицированных оснований (5-метилцитозин), и оставлять негидролизованными участки, содержащие метилцитозин. В качестве матрицы для полимеразной цепной реакции была использована ДНК, предварительно гидролизованная метил-чувствительной рестриктазой HpaII (CCGG). Была проведена метилчувствительная ПЦР последовательностей ДНК гена-супрессора RAR $\beta$ 2, обработанной рестриктазой HpaII (CCGG), чувствительной к метилированию остатков цитозина. Было показано наличие не гидролизованных рестриктазой HpaII участков, содержащих метилцитозин в промоторной области, при раке молочной железы. На Рис. 1 представлены данные метил-чувствительной ПЦР гена RAR $\beta$ 2. Из рисунка видно, что при РМЖ происходит гиперметилирование «СpG-островков» в промоторной области данного гена-супрессора. Если в опухолевой ДНК присутствует аномальное метилирование промоторов гена RAR $\beta$ 2, то цитозины в составе CpG-динуклеотидов заменены на 5-метилцитозины, в том числе, в сайтах узнавания HpaII. В этом случае рестриктаза HpaII не в состоянии гидролизовать ДНК в сайтах узнавания, матрица для МЧ-ПЦР остается интактной. В результате при электрофорезе в агарозном геле видны фрагменты, соответствующие промоторным районам гена RAR $\beta$ 2 (Рис. 1, дорожки 6-11).



**Рис. 1.** Метил-чувствительная ПЦР гена RAR $\beta$ 2: ЗД – здоровые доноры (1, 2, 3); РМЖ – рак молочной железы (5-11), N – контроль (праймеры + вода), M – маркер ДНК 1500kb

В тех образцах, где метилирование генов отсутствует, происходит гидролиз ДНК в сайтах узнавания HpaII. При первой денатурации матрица для ПЦР разрушается и ПЦР-продукт, соответствующий промотору гена, отсутствует (Рис. 1, дорожки 1-3). Из данного рисунка видно, что дорожка 2 у здорового донора в агарозном геле имеет фрагменты негидролизованной ДНК, на основании чего можно прийти к выводу, что у донора, возможно, существуют опухолевые клетки.



**Рис. 2.** Метил-чувствительная ПЦР гена *RARβ2* после лечения: ЗД – здоровые доноры (1, 2, 3, 4); РМЖ – рак молочной железы (6-11); N – контроль (праймеры + вода), M – маркер ДНК 1500kb

Для нас представляло интерес проверить, как гиперметилирование промоторной области гена опухолевой супрессии *RARβ2* влияет на эффективность лечения. С этой целью нами были исследованы больные, страдающие раком молочной железы, через 6 месяцев после лечения. Все пациенты получали стандартные схемы химиотерапии, включающие 2 курса. Материалом для исследования служила периферическая кровь больных женщин после 6 месяцев лечения. На Рис. 2 представлены данные метил-чувствительной ПЦР гена *RARβ2* больных при раке молочной железы после лечения. Из рисунка видно, что у некоторых онкологических больных при РМЖ (дорожки 7, 9, 11) метилирование гена *RARβ2* не обнаружено, в то время как у других больных (дорожки 6, 8, 10, 12) на электрофореграмме видны негидролизованные, содержащие метилцитозин фрагменты промоторной области гена *RARβ2*, что, возможно, указывает на неэффективность проведенной терапии.

Таким образом, в данном исследовании проанализированы возможности применения метил-чувствительной полимеразной цепной реакции для выявления патологического метилирования генов-супрессоров на примере метилирования 5'-промоторной области гена *RARβ2* в норме и при РМЖ. На основании аномального метилирования промоторных районов гена *RARβ2* можно сделать заключение о высокой вероятности злокачественного процесса в молочной железе. С другой стороны, гиперметилирование можно использовать как прогнозирующий маркер, который обеспечивает информацию об эффективности химиотерапии при лечении онкологических больных.

#### Заключение

Изучение статуса метилирования гена *RARβ2* показало, что их эпигенетическое изменение может быть одним из последовательных молекулярных изменений при РМЖ и коррелирует с тенденцией к развитию опухоли в молочной железе. Возможно, метилирование ДНК является одной из самых значимых причин возникновения опухоли у пациенток. Выявленные особенности эпигенетических изменений гена *RARβ2* могут быть использованы не только с целью ранней диагностики РМЖ, но и в качестве новых прогностических тестов, позволяющих выделять группы риска. На основании полученных результатов можно прийти к заключению, что аномальное метилирование ДНК может быть использовано в практической онкологии в качестве маркера ранней диагностики и эффективности лечения онкологических заболеваний.

#### Список источников

1. Залетаев Д. В., Стрельников В. В., Немцова М. В., Бабенко О. В., Кузнецова Е. Б., Землякова В. С. Маркеры метилирования в диагностике онкологических заболеваний // Медицинская генетика. 2010. Т. 9. № 1. С. 15-21.
2. Шкарупо (Руденко) В. В., Танас А. С., Кузнецова Е. Б., Залетаев Д. В., Стрельников В. В. Современные подходы к скринингу дифференциального метилирования геномов клеток рака молочной железы // Медицинская генетика. 2009. Т. 8. № 12. С. 41-45.

3. Baylin S. B., Esteller M., Rountree M. R. Aberrant Pattern of DNA Methylation, Chromatin and Gene Expression in Cancer // Human Molecular Genetics. 2001. Vol. 10. P. 687-692.
4. Burbee D. C., Forgacs E., Zochbauer-Muller S. Epigenetic Inactivation of RASSF1A in Lung and Breast Cancer and Malignant Phenotype Suppression // National Cancer Institute. 2001. Vol. 93. P. 691-699.
5. Chan A. O., Kim S. G., Bedeir A. et al. CpG Island Methylation in Carcinoid and Pancreatic Endocrine Tumors // Oncogene. 2003. Vol. 13. P. 924-934.
6. Fraga M. F., Esteller M. Hypermethylation of Tumor-suppressing Gene and Diagnostics of Oncological Disease // Cancer. 2009. Vol. 45. P. 234-239.
7. Jones P. A., Baylin S. B. The Fundamental Role of Epigenetic Events in Cancer // Nature Reviews Genetics. 2002. Vol. 3. P. 415-428.
8. Lewis C. M., Cler L. R., Bu D. W. Promoter Hypermethylation in Benign Breast Epithelium in Relation to Predicted Breast Cancer Risk // Clinical Cancer Research. 2005. Vol. 11 (1). P. 166-172.
9. Tanas A. S., Shkarupo (Rudenko) V. V., Kuznetsova E. B., Zaletayev D. V., Strelnikov V. V. Novel Tools for Unbiased DNA Differential Methylation Screening // Epigenomics. 2010. Vol. 2. № 2. P. 325-333.

#### ANALYSIS OF STATUS OF METHYLATION OF THE TUMOR SUPPRESSOR GENE *RARB2* AS A MARKER OF DIAGNOSTICS AND EFFECTIVENESS OF TREATMENT OF BREAST CANCER

Kadyrova Diloram Abdullaevna

A. S. Sadykov Institute of Bioorganic Chemistry of the Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan in Tashkent  
83d.kadyrova1949@mail.ru

Isanbaeva Landysh Mukhamedzakievna, Ph. D. in Medicine

Tashkent Institute of Postgraduate Medical Education, The Republic of Uzbekistan  
badyu@mail.ru

Epigenetic inactivation of tumor suppressor genes conditioned by hypermethylation of the promoter region is the same characteristic feature of human tumors as genetic disorders, and serves as an alternative mechanism for the loss of the function of suppressor genes. The promoter region of the *RARB2* suppressor gene is analyzed in a normal state and in breast cancer by the methylation-sensitive polymerase chain reaction method. Methylation of CpG dinucleotides in the promoter region of the *RARB2* gene is shown. Abnormal methylation of the promoter region of the *RARB2* gene can be used as a marker for early diagnostics and monitoring of effectiveness of treatment of patients with breast cancer.

*Key words and phrases:* breast cancer; *RARB2* suppressor gene; methylation of CpG dinucleotides; markers of early diagnosis.

УДК 512.7

#### Физико-математические науки

*Статья посвящена нахождению единиц измерения физических величин, аналогичных по своим свойствам единицам измерения Планка. Показано, что новые единицы измерения отличаются от предыдущих значений массы элементарной частицы с наименьшей величиной. В качестве такой частицы выступает частица нейтрино, массу которой не удастся установить экспериментально, но имеются основания для её введения, следующие из теории гравитационно-гироскопного поля. С её введением резко изменяются кванты длин, промежутков времени, значений температур. Эти величины более удобны для использования на практике, поскольку они значительно ближе по значениям, используемым в настоящий момент, что отличает их от единиц системы Планка. Это может также привести к существенному увеличению точности данных единиц.*

*Ключевые слова и фразы:* Планк; физические величины; единица измерения; кванты массы, длины, времени, температуры, электрического заряда; изменение квантов и других величин.

Коротков Анатолий Васильевич, д. ф.-м. н.

Международный центр теоретической физики, г. Новочеркасск  
avkorotkov1945@yandex.ru

#### ЕДИНИЦЫ ИЗМЕРЕНИЯ ФИЗИЧЕСКИХ ВЕЛИЧИН ПЛАНКА

Знаменитый швейцарский физик Вольфганг Паули предположил, что при  $\beta$ -распаде ядра из него вылетают две частицы: электрон и нейтрино  $\nu$  (точнее, антинейтрино  $\bar{\nu}$ ). Гипотетическая частица нейтрино должна быть нейтральной, иметь очень малую массу покоя, спин  $-\frac{1}{2}\hbar$ , магнитный момент близкий к нулю. Энергия ядра передаётся электрону и нейтрину. В таком случае выполняются законы сохранения энергии и момента количества движения. Отсутствие заряда (нейтральность) и малость магнитного момента нейтрино обеспечивают чрезвычайно слабое взаимодействие с веществом, что приводит к большому значению длины свободного пробега в твёрдом теле ( $10^{19}$  м), что полностью подтверждают результаты опытов, в которых энергия нейтрино уносится из калориметров.

В настоящий момент экспериментально подтверждено существование без сомнения малой массы [1] нейтрино и найдены выражения, описывающие распределение электронов по энергии. Это позволяет оценить