



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(21)(22) Заявка: 2016103160, 01.02.2016

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
01.02.2016Дата регистрации:
13.04.2017

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 01.02.2016

(45) Опубликовано: 13.04.2017 Бюл. № 11

Адрес для переписки:

308015, обл. Белгородская, г. Белгород, ул.
Победы, 85, НИУ "БелГУ", ОИС, Токтаревой
Т.М.

(72) Автор(ы):

Чурносов Михаил Иванович (RU),
Алтухова Оксана Борисовна (RU),
Сиротина Светлана Сергеевна (RU),
Овчарова Вероника Сергеевна (RU)

(73) Патентообладатель(и):

Федеральное государственное автономное
образовательное учреждение высшего
образования "Белгородский государственный
национальный исследовательский
университет" (НИУ "БелГУ") (RU)(56) Список документов, цитированных в отчете
о поиске: RU 2433402 C1, 10.11.2011. RU
2475740 C1, 20.02.2013. KALAI M. et al.
Frequency of three polymorphisms of the
CCL5 gene (rs2107538, rs2280788 and
rs2280789) and their implications for the
phenotypic expression of sickle cell anemia in
Tunisia. Pol J Pathol. 2013 Jun; 64(2): 84-89.
GONG H. et al. The CXCL12 G801A
polymorphism and cancer risk: (см. прод.)

(54) Способ прогнозирования риска развития миоматозных узлов больших размеров у пациенток с миомой матки

(57) Реферат:

Изобретение относится к области медицинской диагностики и предназначено для прогнозирования риска развития миоматозных узлов больших размеров у пациенток с миомой матки. У уроженок Центрального Черноземья России русской национальности осуществляют выделение ДНК из периферической венозной крови и анализ полиморфных вариантов генов rs2107538 RANTES, rs1801157 SDF1 и rs16944 IL-

1 β методом полимеразной цепной реакции. В случае выявления сочетания генотипов GG SDF1, CC IL-1 β и AA RANTES прогнозируют повышенный риск развития миоматозных узлов больших размеров. Изобретение обеспечивает получение новых критериев оценки риска развития миоматозных узлов больших размеров более 4 см на основе данных о генотипах. 4 ил., 2 пр.

(56) (продолжение):

evidence from 17 case-control studies. Gene. 2012 Nov 10; 509(2): 228-231. Epub 2012 Aug 23. WANG X. et al. Interleukin-1 β -31C/T and -511T/C polymorphisms were associated with preeclampsia in Chinese Han population. PLoS One. 2014 Sep 15; 9(9): e106919. eCollection 2014.

RU 2 616 246 C1

RU 2 616 246 C1



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(51) Int. Cl.
G01N 33/50 (2006.01)
C12Q 1/68 (2006.01)

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

(21)(22) Application: **2016103160, 01.02.2016**

(24) Effective date for property rights:
01.02.2016

Registration date:
13.04.2017

Priority:

(22) Date of filing: **01.02.2016**

(45) Date of publication: **13.04.2017** Bull. № 11

Mail address:

**308015, obl. Belgorodskaya, g. Belgorod, ul. Pobedy,
85, NIU "BelGU", OIS, Toktarevoj T.M.**

(72) Inventor(s):

**Churnosov Mikhail Ivanovich (RU),
Altukhova Oksana Borisovna (RU),
Sirotnina Svetlana Sergeevna (RU),
Ovcharova Veronika Sergeevna (RU)**

(73) Proprietor(s):

**Federalnoe gosudarstvennoe avtonomnoe
obrazovatelnoe uchrezhdenie vysshego
obrazovaniya "Belgorodskij gosudarstvennyj
natsionalnyj issledovatel'skij universitet" (NIU
"BelGU") (RU)**

(54) **METHOD OF PREDICTING RISK OF DEVELOPMENT OF MYOMATOUS NODES OF LARGE SIZES IN PATIENTS WITH MYOMA**

(57) Abstract:

FIELD: medicine.

SUBSTANCE: invention relates to field of medical diagnostics and is intended for prediction of risk of development of myomatous nodes of large sizes in patients with myoma. Separation of DNA from peripheral venous blood and analysis of polymorphous versions of genes rs2107538 RANTES, rs1801157 SDF1 and rs16944 IL-1 β is performed from women born in Central Chernozem region of Russia of Russian nationality by method of polymerase chain reaction. In

case of determination of combination of genotypes GG SDF1, CC IL-1 β and AA RANTES increased risk of development of myomatous nodes of large sizes is predicted.

EFFECT: invention ensures obtaining novel criteria of evaluating risk of development of myomatous nodes of large sizes over 4 cm on the base of data about genotypes.

4 dwg, 2 ex

RU 2 616 246 C1

RU 2 616 246 C1

Изобретение относится к области медицинской диагностики, может быть использовано для прогнозирования риска развития миоматозных узлов больших размеров у пациенток с миомой матки, уроженок Центрального Черноземья России русской национальности.

5 Миома матки представляет собой доброкачественную и, как правило, множественную опухоль, растущую из незрелых миоцитов сосудистой стенки матки [Киселев В.И., Сидорова И.С., Унанян А.Л. и др. Гиперпластические процессы органов женской репродуктивной системы: теория и практика. Москва: Медпрактика-М, 2011, 467 с.]. К факторам, которые способствуют возникновению заболевания, относятся: позднее менархе, обильные менструации, высокая частота медицинских аборт, наличие
10 экстрагенитальной патологии (особенно сердечно-сосудистой) и гинекологических заболеваний, длительная антибиотикотерапия, использование различных гормональных препаратов, изменение иммунитета, наличие инфекций, передаваемых половым путем [Вихляева Е.М. Постменопаузальная терапия: влияние на связанные с менопаузой
15 симптомы, течение хронических заболеваний и качество жизни. Москва: МЕДпресс-информ, 2008, 448 с.].

Одной из характеристик миоматозного узла, определяющей тактику лечения, является его размер. Миома матки больших размеров сопровождается такими клиническими признаками, как болевой синдром, обильные и длительные маточные кровотечения,
20 сдавление смежных органов, бесплодие, снижая качество жизни женщины. Наиболее рациональным методом лечения миомы матки больших размеров (размер доминантного узла более 4 см), как правило, является метод консервативной миомэктомии [Тихомиров А.Л. Миома матки. М.: МИА, 2006, 174 с.]. Таким образом, разработка способа прогнозирования риска развития миоматозных узлов больших размеров у пациенток
25 с миомой матки является актуальной для гинекологии.

Анализ литературных данных по патогенезу миомы матки позволяет заключить, что до настоящего времени имеются разные взгляды на природу этого заболевания и в основе развития миомы матки лежат сложные многоэтапные иммунопатологические механизмы. Одним из ключевых звеньев в реализации каскада этих механизмов являются
30 процессы взаимодействия цитокинов [Кадагидзе З.Г. Цитокины //Практическая онкология. – 2003. Т. 4, №3. С. 131-139]. При этом центральное место в данных взаимодействиях занимает фактор стромальных клеток (rs1801157) (далее SDF), регулятор активности нормальной экспрессии и секреции Т-клеток (rs2107538) (далее RANTES) и интерлейкин 1 β (rs16944) (далее IL-1 β).

35 Согласно данным литературы, в группе цитокинов, относящихся к семейству α -хемокинов, ключевую роль в обеспечении иммунного ответа играет фактор стимулятора роста предшественников β -клеток (фактор стромальных клеток - SDF-1). Фактор стромальных клеток является хемоаттрактантом для лейкоцитов, под его влиянием происходит перестройка их цитоскелета. Ген SDF-1 находится на 10 хромосоме. [Structure and chromosomal localization of the human stromal cell-derived factor 1 (SDF1) gene [Text] /M. Shirozu, T. Nakano, J. Inazawa [et al.] //Genomics. – 1995. – Vol.28, №3. – P. 495-500]. Данный хемокин обеспечивает стимуляцию хоумина CXCR4+стволовых клеток в поврежденные органы, ингибирует апоптоз, стимулирует пролиферацию, усиливает адгезию и
40 подвижность клеток. Так, в исследованиях Li X.P. и др. [The correlation between monocyte chemoattractant protein-1 and the arthritis of systemic lupus erythematosus among Chinese [Text] /D. Q. Ye, Y. S. Hu, X. P. Li [et al.] //Arch. Dermatol. Res. – 2005. – Vol.296, №8. – P. 366-371] при иммуногистохимическом исследовании выявлено статистически значимое различие в экспрессии SDF-1 в ткани нормального эндометрия и миометрия и при карциноме

эндометрия. Установлено, что содержание SDF-1 в ткани нормального эндометрия было достоверно ниже аналогичного показателя при карциноме.

Наряду с SDF-1 важное значение в прогрессировании патологий женской репродуктивной системы играет хемокин - RANTES. Он является низкомолекулярным протеином с молекулярным весом около 10 kDa, ген RANTES у человека расположен на 17 хромосоме. RANTES играет важную роль в регуляции движения лимфоцитов, в частности миграции различных популяций лейкоцитов в место повреждения или внедрения инфекционного агента. Синтез RANTES осуществляется, главным образом, циркулирующими Т-клетками, активированными IL-1 и TNF α [Mehrad, B. Chemokines as mediators of angiogenesis [Text] /B. Mehrad, M. P. Keane, R. M. Strieter //Thromb. Haemost. – 2007. – Vol.97, №5. – P. 755-762]. В исследованиях *in vivo* и *in vitro* показано, что RANTES синтезируется непосредственно в стромальном компоненте нормального миометрия, при этом интерлейкин-1 β (IL-1 β) индуцирует экспрессию этих молекул через активацию транскрипционного ядерного фактора каппа-B (NF- κ B). Также существуют данные, что рассматриваемый хемокин может регулировать снижение антипролиферативного потенциала в эндометриоидных имплантах, что обеспечивает их жизнеспособность и распространение патологического процесса [Содержание хемокинов и провоспалительных цитокинов в перитонеальной жидкости больных наружным генитальным эндометриозом [Текст] /П. Г. Кондратьева, Д. И. Соколов, А. В. Селютин [и др.] //Медицинская иммунология. – 2006. – Т. 8, №2-3. – С. 311].

Интерлейкин 1 β - цитокин с широким диапазоном биологических и физиологических эффектов. Этот цитокин полифункционален и выполняет не менее 50 различных функций, мишенями которых служат клетки практически всех органов и тканей [Интерлейкин 1 β -зависимый механизм развития неспецифического реактивного гепатита при стрессе /О.Б. Цейликман, В.Э. Цейликман, А.И. Синицкий [и др.] //Цитокины и воспаление. – 2011. – Т. 10, №1. – С. 24-26]. Ген, кодирующий L-1 β , картирован на длинном плече хромосомы 2 в области q14. Интерлейкин 1 β участвует в формировании местной воспалительной реакции, острофазного ответа при инфекционном поражении. Индуцирует синтез IL-2, IL-4, осуществляет стимуляцию продукции ИЛ-6, фактора некроза опухоли. Установлена ассоциация носительства отдельных аллелей генов семейства IL-1 с рядом опухолевых, аутоиммунных, инфекционных и воспалительных заболеваний [IL-1B gene promoter haplotype pairs predict clinical levels of interleukin-1beta and C-reactive protein /J. Rogus, J. D. Beck, S. Offenbacher [et al.] //Hum. Genet. – 2008. – Vol.123, №4. – P. 387-398].

Для оценки сложившейся патентной ситуации был выполнен поиск по базе данных рефератов Российских патентных документов (RUPATABRU) на сайте Федерального института промышленной собственности за период с 1994 по 2014 гг. Анализ документов производился по направлению: способ прогнозирования риска развития миоматозных узлов больших размеров у пациенток с миомой матки на основе молекулярно-генетических данных в зависимости от полиморфных маркеров генов цитокинов.

В патенте РФ №1236684 (дата публикации 20.09.2004) предложен «Способ прогнозирования роста лейомиомы матки», заключающийся в исследовании периферической крови, отличающийся тем, что определяют относительное содержание CD38+лимфоцитов и при их значениях, равных или больших 23%, прогнозируют быстрый рост миомы матки в течение года.

В патенте РФ №2332167 (дата публикации заявки 27.08.2008) предложен «Способ диагностики быстрорастущей миомы матки», который основан на определении объема матки, рассчитанный по формуле $V=V_0+V_i$. При этом V_0 - объема матки, определяемый

по формуле вытянутого эллипсоида, $V_i=0,5236 (D_i)^3$ - объем конкретных исследуемых миоматозных узлов различной локализации, D_i - их диаметр и значение малонового диальдегида в супернатанте смыва из полости матки или менструальной крови. При нарастании объема матки более 465 см^3 и значения малонового диальдегида более 1,21 нмоль судят о быстром росте миомы матки.

Общий недостаток указанных способов заключается в том, что не рассматриваются генетические полиморфизмы и их сочетания с риском развития миоматозных узлов больших размеров у пациенток с миомой матки.

В патенте РФ №2453850 (дата публикации заявки 20.06.2012) предложен «Способ прогнозирования характера поражения матки миоматозными узлами», согласно которому прогнозируют характер поражения матки миоматозными узлами у больной миомой матки, включающий выделение ДНК из периферической венозной крови, анализ генотипов локуса+36 A/G рецептора фактора некроза опухоли 1 типа TNFR1 и анализ миоматозных узлов, а также размер матки. При выявлении генотипов+36 GG и+36 AG TNFR1 прогнозируют наименьшую степень поражения матки. При выявлении генотипа+36 AA TNFR1 прогнозируют наибольшую степень поражения матки.

Недостаток метода заключается в том, что он позволяет прогнозировать характер поражения матки миоматозными узлами на ранних стадиях развития, но не дает возможности прогноза развития миоматозных узлов больших размеров.

За прототип выбран патент РФ №2475740 по заявке РФ №2011139007/15, 26.09.2011 «Способ выявления наследственной предрасположенности к быстрому росту миомы матки», сущность которого заключается в выделении из лимфоцитов ДНК, из которой амплифицируют фрагменты генов глутатион-S-трансферазы GSTM1 и метионин-синтазы-редуктазы MTRR, и при выявлении генотипа GSTM1 del/del в сочетании с генотипом MTRR 66G/G или MTRR 66A/G делают вывод о наличии у женщины генетической предрасположенности к быстрому росту миоматозных узлов в течение 5 лет с момента их появления.

Недостаток метода заключается в том, что способ расширяет арсенал прогностических средств выявления быстрого роста миоматозных узлов в течение 5 лет с момента их появления, но не дает прогноза риска развития миоматозных узлов больших размеров более 4 см, которые требуют оперативного вмешательства.

В изученной научно-медицинской и доступной патентной литературе авторами не было обнаружено способа прогнозирования риска развития миоматозных узлов больших размеров у пациенток с миомой матки на основе данных о сочетаниях генетических полиморфизмов rs2107538 RANTES, rs1801157 SDF 1, rs16944 IL-1 β .

Задачей настоящего изобретения является расширение арсенала способов прогнозирования риска развития миоматозных узлов больших размеров у пациенток с миомой матки на основе данных о сочетаниях генетических вариантов.

Технический результат использования изобретения – получение критериев оценки риска развития миоматозных узлов больших размеров более 4 см у женщин русской национальности, уроженок Центрального Черноземья на основе данных о сочетаниях генетических вариантов локусов rs2107538 RANTES, rs1801157 SDF 1, rs16944 IL-1 β .

В соответствии с поставленной задачей был разработан способ прогнозирования риска развития миоматозных узлов больших размеров у пациенток с миомой матки, включающий:

- выделение ДНК из периферической венозной крови;
- анализ полиморфизмов генов rs2107538 RANTES, rs1801157 SDF 1 и rs16944 IL-1 β ;
- прогнозирование повышенного риска развития миоматозных узлов больших

размеров в случае выявления сочетания генотипа GG SDF-1 rs1801157 с генотипом CC IL-1 β rs16944 и генотипом AA RANTES rs2107538.

Новизна и изобретательский уровень заключается в том, что из уровня техники не известна возможность прогноза риска развития миоматозных узлов больших размеров по данным о сочетании генотипа GG SDF-1 rs1801157 с генотипом CC IL-1 β rs16944 и генотипом AA RANTES rs2107538.

Способ осуществляют следующим образом

ДНК выделяют из образцов периферической венозной крови в 2 этапа. На первом этапе к 4 мл крови добавляют 25 мл лизирующего буфера, содержащего 320 мМ сахарозы, 1% тритон X-100, 5 мМ MgCl₂, 10 мМ трис-HCl (pH=7,6). Полученную смесь перемешивают и центрифугируют при 4°C, 4000 об/мин в течение 20 минут. После центрифугирования надосадочную жидкость сливают, к осадку добавляют 4 мл раствора, содержащего 25 мМ ЭДТА (pH=8,0) и 75 мМ NaCl, ресуспензируют. Затем прибавляют 0,4 мл 10% SDS, 35 мкл протеиназы К (10 мг/мл) и инкубируют образец при 37°C в течение 16 часов.

На втором этапе из полученного лизата последовательно проводят экстракцию ДНК равными объемами фенола, фенол-хлороформа (1:1) и хлороформа с центрифугированием при 4000 об/мин в течение 10 минут. После каждого центрифугирования производят отбор водной фазы. ДНК осаждают из раствора двумя объемами охлажденного 96% этанола. Сформированную ДНК растворяют в бидистиллированной, деионизованной воде и хранят при -20°C. Выделенную ДНК используют для проведения полимеразной цепной реакции синтеза ДНК.

Анализ всех локусов (rs2107538 RANTES, rs1801157 SDF 1 и rs16944 IL-1 β) осуществляют методами полимеразной цепной реакции (ПЦР) синтеза ДНК.

Для локусов rs2107538 RANTES и rs1801157 SDF 1 ПЦР проводят на аппарате IQ5 Bio-Rad в режиме real time с использованием ДНК-полимеразы *Thermus aquaticus* производства фирмы «Силекс-М» и стандартных олигонуклеотидных праймеров и зондов, синтезированных фирмой «Синтол» с последующим анализом полиморфизмов методом дискриминации аллелей. Для дискриминации аллелей используют программу Bio-Rad «IQ5-Standard Edition».

Для локуса rs16944 IL-1 β ПЦР производят методом анализа полиморфизма длины рестрикционных фрагментов (ПДРФ) продуктов ПЦР-амплификации специфических участков генома с использованием соответствующих ферментов рестрикции производства фирмы «Сибэнзим» (Новосибирск).

Изобретение характеризуется следующими изображениями.

На фиг.1. представлена дискриминация аллелей по локусу rs2107538 RANTES, где ● – гомозиготы по аллелю GG, ■ – гомозиготы по аллелю AA, ▲ – гетерозиготы GA, ◆ – отрицательный контроль, которая осуществляется методом Tag Man зондов по данным величин уровня относительной флуоресценции (далее УОФ) каждого зонда. Зонд с флуоресцентным красителем ROX соответствует аллелю 1, зонд с красителем FAM – аллелю 2.

На фиг.2. представлена дискриминация аллелей по локусу rs1801157 SDF 1 (где ● – гомозиготы по аллелю GG, ■ – гомозиготы по аллелю AA, ▲ – гетерозиготы GA, ◆ – отрицательный контроль), также осуществленная методом Tag Man зондов по данным величин УОФ. Зонд с флуоресцентным красителем ROX соответствует аллелю 1, зонд с красителем FAM – аллелю 2.

На фиг. 1 и 2 две полосы, вертикальная и горизонтальная, делят график на четыре секции: одна для каждого гомозиготного состояния, одна для гетерозиготного состояния

и секция без реакции. Присвоение генотипов неизвестным образцам определяется вычерчиванием УОФ для одного флуорофора на оси x относительно УОФ, для другого флуорофора на оси y на диаграмме дискриминации аллелей.

• Если значения УОФ неизвестного образца находятся выше горизонтальной полосы и правее вертикальной полосы, генотип гетерозиготен, GA RANTES rs2107538, GA SDF1 rs1801157, соответственно.

• Если значения УОФ неизвестного образца находятся выше горизонтальной полосы и левее вертикальной полосы, генотип гомозиготен по аллелю A RANTES rs2107538 и аллелю A SDF1 rs1801157, соответственно, т.к. УОФ для данных аллелей отложены по оси y.

• Если значения УОФ неизвестного образца находятся ниже горизонтальной полосы и правее вертикальной, генотип гомозиготен по аллелю G RANTES rs2107538 и аллелю G SDF1 rs1801157, соответственно, т.к. УОФ для данных аллелей отложены по оси x.

• Если значения УОФ неизвестного образца находятся ниже горизонтальной полосы и левее вертикальной, определение генотипа невозможно, в данном случае неопределенный образец – отрицательный контроль.

На фиг.3 представлено электрофоретическое разделение продуктов рестрикции гена IL-1 β rs16944, где 1, 9 – гомозиготы ТТ; 2, 3, 5, 7, 8, 12 – гетерозиготы СТ, 4, 6, 10,11 – гомозиготы СС.

Реакцию проводят в 12,5 мкл общего объема смеси, содержащей 33,5 мМ трис-НСl (рН=8,8), 1,25 мМ MgCl₂, 0,5 мкг геномной ДНК, по 5 пМ каждого праймера, по 100 мкМ dATP, dGTP, dCTP, dTTP и 1 единицу активной Taq-полимеразы. После денатурации (4 мин при 95°C) выполняют 35 циклов амплификации по схеме: денатурация – 30 с при 95°C; отжиг праймеров – 30 с при 55°C; элонгация – 40 с при 72°C. Затем пробы выдерживают 10 мин при 72°C и охлаждают. После ПДРФ-анализа продукты рестрикции разделяют в 2% агарозном геле, предварительно окрашенном бромистым этидием, в течение 20 мин при 160V. В качестве электрофорезного буфера используют 1xTAE (трис-ацетатный буфер). Результаты анализируют в проходящем ультрафиолетовом свете. Фрагменты длиной 304 п.н. соответствуют аллелю Т, 190 и 114 п.н. – С, а 304, 190 и 114 п.н. выявлены у гетерозигот СТ.

На фиг. 4 представлена таблица, где показана распространенность сочетаний генотипов генов цитокинов у женщин русской национальности, являющихся уроженками Центрального Черноземья РФ, больных миомой матки с миоматозными узлами больших размеров и в группе пациенток с малыми размерами миоматозных узлов.

Возможность использования предложенного способа для оценки риска развития миоматозных узлов больших размеров у больных миомой матки русской национальности, являющихся уроженками Центрального Черноземья РФ, подтверждает анализ результатов наблюдений 120 больных миомой матки с большими миоматозными узлами с размером доминантного узла более 4 см и 107 пациенток с миоматозными узлами небольших размеров до 4 см. Формирование выборок больных миомой матки с большими и малыми миоматозными узлами осуществляли на базе гинекологического отделения Белгородской областной клинической больницы Святителя Иоасафа.

Критерии включения в исследуемые выборки:

1. Индивидуумы русской национальности, являющиеся уроженками Центрального Черноземья РФ и не имеющие родства между собой.

2. Добровольное согласие пациенток на проведение исследования.

3. В группу больных включали индивидуумов только после установления диагноза миомы матки, который подтверждался клиническими и лабораторно-

инструментальными методами обследования, в соответствии с обязательными диагностическими стандартами.

5 Типирование молекулярно-генетических маркеров осуществляли в лаборатории «Молекулярной генетики человека» медицинского института Белгородского государственного национального исследовательского университета.

10 Изучение роли комбинаций генетических вариантов rs2107538 RANTES, rs1801157 SDF 1 и rs16944 IL-1 β в формировании миоматозных узлов больших размеров у пациенток с миомой матки проводили с помощью программного обеспечения APSampler [<http://sources.redhat.com/cygwin/>], использующего метод Монте-Карло марковскими цепями и байесовскую непараметрическую статистику [A Gibbs sampler for identification of symmetrically structured, spaced DNA motifs with improved estimation of the signal length [Text] /A. V.Favorov, M. S. Gelfand, A. V. Gerasimova [et al.] //Bioinformatics. – 2005. – Vol.21, №10. – P. 2240-2245].

15 Применение данного способа позволит прогнозировать риск развития миоматозных узлов больших размеров у пациенток с миомой матки для женщин русской национальности, уроженок Центрального Черноземья России и своевременно подбирать индивидуальную тактику ведения больной миомой матки.

20 В качестве примеров конкретного выполнения предложенного способа было проведено генетическое обследование по локусам rs2107538 RANTES, rs1801157 SDF 1 и rs16944 IL-1 β трех добровольцев больных миомой матки на ранних стадиях заболевания, русской национальности уроженок Центрального Черноземья России.

25 Пример 1. Пациентка В. в дебюте заболевания имела миоматозный узел размером 2,5 см. При обследовании было выявлено наличие сочетания следующих генетических вариантов: GG SDF-1 rs1801157, CC IL-1 β rs16944, AA RANTES rs2107538. При поступлении в стационар через 21 месяц у данной пациентки был выявлен миоматозный узел размером 7 см. Таким образом выявление комбинации генетических вариантов GG SDF-1 rs1801157, CC IL-1 β rs16944, AA RANTES rs2107538 могут служить основанием для включения в группу риска по развитию миоматозных узлов больших размеров.

30 Пример 2. У пациентки А., имеющей миоматозные узлы размером до 3 см, были выявлены следующие генетические варианты: GG SDF-1 rs1801157, CC IL-1 β rs16944, AA RANTES rs2107538. На основании этих результатов данная пациентка включена в группу риска по развитию миоматозных узлов больших размеров и ей назначен соответствующий комплекс профилактических мероприятий (динамический контроль роста миоматозных узлов, гормональная терапия, нормализация психо-эмоционального состояния и др.). При контрольном обследовании через 18 месяцев размеры миоматозных узлов не увеличились. Данный пример подтверждает, что своевременное определение риска развития миоматозных узлов больших размеров позволяет своевременно принять профилактические меры и остановить процесс роста миоматозных узлов.

40 У пациентки С., имеющей миоматозные узлы размером до 3 см, были выявлены следующие генетические варианты: AA SDF-1 rs1801157, CT IL-1 β rs16944, GG RANTES rs2107538. На основании этих результатов у данной пациентки прогнозируют минимальный риск развития миоматозных узлов больших размеров. При контрольном обследовании через 18 месяцев установлено, что размеры миоматозных узлов не увеличились.

45 Применение данного способа позволит формировать среди пациенток с миомой матки группы риска развития миоматозных узлов больших размеров и своевременно реализовывать в этих группах необходимые лечебно-профилактические мероприятия по предупреждению оперативных вмешательств из-за развития миомы матки больших

размеров.

Результаты, полученные с помощью биоинформатического анализа, свидетельствуют о вовлеченности указанного сочетания полиморфных вариантов генов регулятора активности нормальной экспрессии и секреции Т-клеток (rs2107538 RANTES), фактора стромальных клеток (rs1801157 SDF-1) и интерлейкина 1 β (rs16944 IL-1 β) в формирование миоматозных узлов больших размеров при миоме матки. Как следует из данных, представленных в таблице на фиг. 4, в группе больных с большими миоматозными узлами сочетание генотипа GG SDF-1 rs1801157 с генотипом CC IL-1 β rs16944 и генотипом AA RANTES rs2107538. (19,81%) встречается в 4,5 раз чаще, чем в группе пациенток с малыми размерами миоматозных узлов (4,30%, pf=0,0006, pperm=0,009). Следовательно, данное сочетание генетических вариантов цитокинов повышает риск формирования больших миоматозных узлов при миоме матки (OR=5,56).

Таким образом, поставленная задача решена. Использование данного способа позволит еще до появления признаков заболевания миомой матки на основании одного анализа выявлять у женщин риск развития миоматозных узлов больших размеров и проводить профилактические мероприятия по предупреждению оперативных вмешательств.

(57) Формула изобретения

Способ прогнозирования риска развития миоматозных узлов больших размеров у пациенток с миомой матки, включающий выделение ДНК из периферической венозной крови, анализ полиморфизмов методом полимеразной цепной реакции синтеза ДНК, отличающийся тем, что анализируют полиморфизмы генов вариантов rs2107538 RANTES, rs1801157 SDF1 и rs16944 IL-1 β и прогнозируют повышенный риск развития миоматозных узлов больших размеров при миоме матки у уроженок Центрального Черноземья России русской национальности в случае выявления сочетания генотипа GG SDF1 rs1801157 с генотипом CC IL-1 β rs16944 и генотипом AA RANTES rs2107538.

30

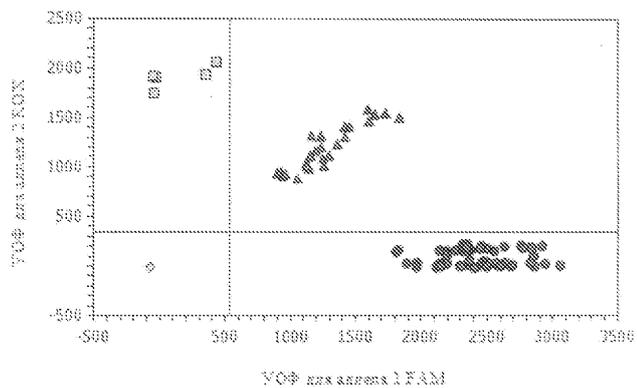
35

40

45

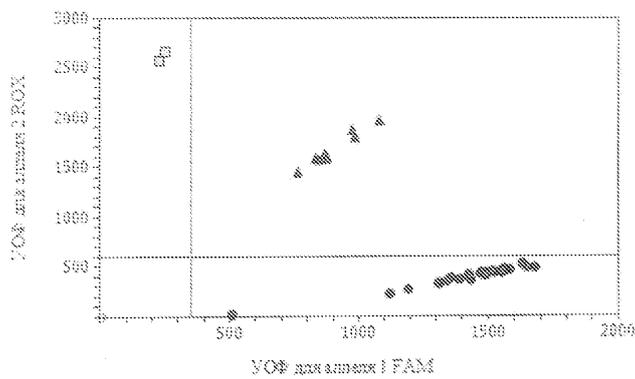
Способ прогнозирования риска развития
миоэпителиальных узлов больших размеров
у пациентки с миксомой матки

■ – аллель 1, ▨ – аллель 2, ▲ – гетерозиготы, ◆ – отрицательный контроль



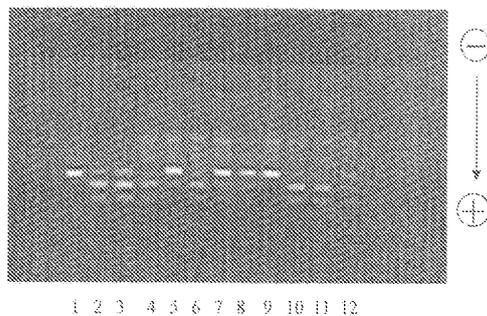
Фиг.1

■ – аллель 1, ▨ – аллель 2, ▲ – гетерозиготы, ◆ – отрицательный контроль



Фиг.2

Способ прогнозирования риска развития
многоточных узлов больших размеров
у пациенток с миомой матки



Фиг. 3

Распространенность сочетаний некоторых генотипов
генов цитокинов у больных миомой матки в зависимости
от размеров миоматозных узлов

Полиморфизмы	Сочетание генотипов	Больные с большими миоматозными узлами (n=120)		Больные с небольшими миоматозными узлами (n=107)		P _{ген} (P _{ген})	OR (95% CI)
		n/N	%	n/N	%		
<i>rs1861157 SDF-1</i>	GG <i>SDF-1</i>						
<i>rs2107538 RANTES</i>	AA <i>RANTES</i>	21/106	19,81	4/93	4,30	0,0006 (0,009)	5,56 (1,83- 16,87)
<i>rs1800587 IL-1α</i>	CC <i>IL-1β</i>						

Фиг. 4