



(51) МПК

G01N 33/58 (2006.01)

G01N 33/574 (2006.01)

C12Q 1/6806 (2018.01)

C12Q 1/6827 (2018.01)

C12Q 1/686 (2018.01)

C12Q 1/6876 (2018.01)

C12Q 1/6886 (2018.01)

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(52) СПК

G01N 33/58 (2023.02); G01N 33/57415 (2023.02); C12Q 1/6806 (2023.02); C12Q 1/6827 (2023.02); C12Q 1/686 (2023.02); C12Q 1/6876 (2023.02); C12Q 1/6886 (2023.02)

(21)(22) Заявка: 2023102771, 07.02.2023

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
07.02.2023Дата регистрации:
11.05.2023

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 07.02.2023

(45) Опубликовано: 11.05.2023 Бюл. № 14

Адрес для переписки:

308015, г.Белгород, ул. Победы, 85, НИУ
"БелГУ", Шевцова Ирина Владимировна

(72) Автор(ы):

Чурносов Михаил Иванович (RU),
Павлова Надежда Витальевна (RU),
Елыкова Анна Владимировна (RU),
Пономаренко Ирина Васильевна (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: KZ 30556 A4, 16.11.2015. WO
2010127399 A1, 11.11.2010. ПАВЛОВА Н.В. и
др. Роль высокопенетрантных мутаций в генах
BRCA1 и SNEK2 в характере ассоциаций
полиморфизма генов матриксных
металлопротеиназ с раком молочной железы.
Научные результаты биомедицинских
исследований. 2022; 8(2): 180-197. Принята к
печати 2 марта 2022 г. DOFARA S.G. et al. Gene
(см. прод.)

(54) Способ прогнозирования риска развития люминального подтипа рака молочной железы

(57) Реферат:

Изобретение относится к медицине, а именно к клинической онкологии, медицинской генетике, молекулярной диагностике, и может быть использовано для прогнозирования риска развития люминального подтипа рака молочной железы (РМЖ) у женщин русской национальности. Из периферической венозной крови выделяют ДНК. Проводят анализ полиморфных локусов гена MMP-9. При выявлении гаплотипа ТААСG полиморфных

локусов rs3918249-rs17576-rs3787268-rs2250889-rs17577 гена MMP-9 прогнозируют высокий риск развития люминального подтипа РМЖ. Способ обеспечивает получение новых критериев оценки риска развития РМЖ у женщин русской национальности, уроженок Центрально-Черноземного региона РФ, на основе данных о полиморфных локусах rs3918249-rs17576-rs3787268-rs2250889-rs17577 гена MMP-9. 5 ил., 4 пр.

(56) (продолжение):

Polymorphisms and Circulating Levels of MMP-2 and MMP-9: A Review of Their Role in Breast Cancer Risk. *Anticancer Research*. 2020 Jul; 40(7): 3619-3631.



(51) Int. Cl.

G01N 33/58 (2006.01)*G01N 33/574* (2006.01)*C12Q 1/6806* (2018.01)*C12Q 1/6827* (2018.01)*C12Q 1/686* (2018.01)*C12Q 1/6876* (2018.01)*C12Q 1/6886* (2018.01)**(12) ABSTRACT OF INVENTION**

(52) CPC

G01N 33/58 (2023.02); G01N 33/57415 (2023.02); C12Q 1/6806 (2023.02); C12Q 1/6827 (2023.02); C12Q 1/686 (2023.02); C12Q 1/6876 (2023.02); C12Q 1/6886 (2023.02)(21)(22) Application: **2023102771, 07.02.2023**(24) Effective date for property rights:
07.02.2023Registration date:
11.05.2023

Priority:

(22) Date of filing: **07.02.2023**(45) Date of publication: **11.05.2023** Bull. № 14

Mail address:

**308015, g.Belgorod, ul. Pobedy, 85, NIU "BelGU",
Shevtsova Irina Vladimirovna**

(72) Inventor(s):

**Churnosov Mikhail Ivanovich (RU),
Pavlova Nadezhda Vitalevna (RU),
Elykova Anna Vladimirovna (RU),
Ponomarenko Irina Vasilevna (RU)**

(73) Proprietor(s):

**federalnoe gosudarstvennoe avtonomnoe
obrazovatelnoe uchrezhdenie vysshego
obrazovaniia "Belgorodskii gosudarstvennyi
natsionalnyi issledovatel'skii universitet" (NIU
"BelGU") (RU)****(54) METHOD FOR PREDICTING THE RISK OF DEVELOPMENT OF THE LUMINAL SUBTYPE OF BREAST
CANCER**

(57) Abstract:

FIELD: medicine; clinical oncology; medical genetics; molecular diagnostics.

SUBSTANCE: invention can be used to predict the risk of developing the luminal subtype of breast cancer in women of the Russian nationality. DNA from the peripheral venous blood is isolated. Polymorphic loci of MMP-9 gene are analyzed. When detecting the TAACG haplotype of polymorphic loci rs3918249-rs17576-rs3787268-rs2250889-rs17577 of the MMP-9

gene, a high risk of developing the luminal subtype of breast cancer is predicted.

EFFECT: method provides obtaining new criteria for assessment of breast cancer risk developing in patients of Russian nationality, natives of the Central Black Earth region of the Russian Federation, based on data on polymorphic loci rs3918249-rs17576-rs3787268 of the MMP-9 gene.

1 cl, 5 dwg, 4 ex

Изобретение относится к области медицины, в частности, к клинической онкологии, медицинской генетике, молекулярной диагностике и может быть использовано для прогнозирования риска развития люминального подтипа рака молочной железы.

5 Рак молочной железы (РМЖ) занимает первое место в структуре онкопатологии у женщин во всем мире. Ежегодно в мире регистрируется более 1 млн случаев данной патологии, влекущей за собой летальный исход более чем 685 тыс. заболевших пациенток [Sung H., Ferlay J., Siegel R.L. et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries // *CA Cancer J. Clin.* 2021. V.71. P. 209–249. doi: 10.3322/caac.21660.].

10 В настоящее время установлено, что РМЖ является гетерогенным заболеванием, поэтому успехи лечения и прогноза РМЖ напрямую зависят от правильной и своевременной морфологической, иммуногистохимической, молекулярно-генетической диагностики данного заболевания.

15 Рак молочной железы является наиболее ярким примером опухоли, гормональный профиль которой в дополнение к распространенности и стадии заболевания предоставляет важную информацию о его агрессивности. Гормональный фон злокачественной опухоли имеет свои особенности в зависимости от биологического подтипа РМЖ. [Бандовкина В.А., Франциянц Е.М., Черярина Н.Д., Саманева Н.Ю., Владимирова Л.Ю., Сторожакова А.Э., Салатова А.М. Ответ на химиотерапию у
20 больных раком молочной железы может зависеть не только от биологического подтипа опухоли, но и от гормонального статуса пациентки // *Современные проблемы науки и образования.* – 2020. – № 5.]. Рак молочной железы имеет следующие молекулярно-биологические подтипы: люминальный, тройной негативный фенотип, HER2 положительный (HER2+).

25 Среди «потенциальных» генов-кандидатов РМЖ активно изучаются гены матриксных металлопротеиназ (ММП) [Dofara SG, Chang SL, Diorio C. Gene Polymorphisms and Circulating Levels of MMP-2 and MMP-9: A Review of Their Role in Breast Cancer Risk. *Anticancer Res.* 2020;40(7):3619-3631. doi:10.21873/anticancer.14351].

30 Проведённые зарубежные исследования показали значимую роль ММПs в канцерогенезе при РМЖ [Wang QM, Lv L, Tang Y, Zhang L and Wang LF: MMP 1 is overexpressed in triple negative breast cancer tissues and the knockdown of MMP 1 expression inhibits tumor cell malignant behaviors in vitro. *Oncol Lett* 17: 1732-1740, 2019]. Показано, что дисбаланс матриксных металлопротеиназ вызывает повреждение ДНК и нестабильность генома, при этом ММПs формируют опухолевое микроокружение,
35 открывая пути для ангиогенеза, а также воздействуя на фибробласты стромы и адипоциты, формируя условия для эпителиально-мезенхимального перехода [Candido S., Abrams S.L., Steelman L.S., Lertpiriyapong K., Fitzgerald T.L., Martelli A.M., Cocco L., Montalto G., Cervello M., Polesel J., et al. Roles of ngal and MMP-9 in the tumor microenvironment and sensitivity to targeted therapy. *Biochim. Biophys. Acta.* 2016;1863:438–448.].

40 В отдельных исследованиях показаны ассоциации с развитием РМЖ полиморфизма генов матриксных металлопротеиназ. Однако, следует отметить, что подавляющее большинство этих исследований выполнено зарубежными учеными, тогда как в Российской Федерации подобные исследования единичны. Также, следует отметить, что полученные в разных популяциях результаты нередко отличаются между собой,
45 что может быть обусловлено как этиопатогенетическими особенностями возникновения и течения РМЖ у индивидуумов из различных этнотерриториальных групп народонаселения, так и разным дизайном исследований.

Одной из важных задач современной онкологии является изучение причин и

механизмов развития рака молочной железы, среди которых значимую роль играют генетические факторы.

В Российской Федерации исследования вовлеченности гена ММР-9 в формирование предрасположенности к люминальному подтипу рака молочной железы единичны, а данные о роли генетических вариантов rs3918249-rs17576-rs3787268-rs2250889-rs17577 гена ММР-9 в развитии люминального подтипа РМЖ отсутствуют.

Для оценки сложившейся патентной ситуации был выполнен поиск по охраняемым документам за период с 1990 по 2022 гг. Анализ документов производился по направлению: способ прогнозирования риска развития рака молочной железы на основе молекулярно-генетических данных в зависимости от полиморфных локусов гена ММР-9. Источники информации: сайты Федерального института промышленной собственности <http://fips.ru>.

В изученной научно-медицинской и доступной патентной литературе авторами не было обнаружено способа прогнозирования риска развития РМЖ на основе данных о полиморфных локусах rs3918249-rs17576-rs3787268-rs2250889-rs17577 гена ММР-9.

Известен патент RU №2741232 (опубл. 22.01.2022), в котором описан способ прогнозирования прогрессирования рака молочной железы, включающий определение в периферической крови промежуточного метаболита витамина D 25(OH)D. При значении его содержания в сыворотке крови $\leq 18,9$ нг/мл прогнозируют прогрессирование заболевания. Способ обеспечивает повышение точности прогнозирования прогрессирования рака молочной железы за счет определения промежуточного метаболита витамина D 25(OH)D в венозной крови, проявляющееся в снижении показателя промежуточного метаболита витамина D 25(OH)D, предшествующем прогрессированию заболевания. Недостатком этого способа является трудоемкость выполнения и кроме того не учитывается роль генетических полиморфизмов.

Известен патент RU №2336822 (опубл. 27.08.2008), в котором описан способ прогнозирования рака молочной железы, включающий исследование крови пациента. Дополнительно при обследовании определяют показатели: возраст, социальный статус, сопутствующие заболевания, количество моноцитов крови, скорость оседания эритроцитов (СОЭ), общий билирубин крови, креатинин крови, удельный вес мочи, реакцию мочи. Затем определяют прогностический коэффициент (ПК) для каждого показателя. В системе возраст при маркере до 20 лет устанавливают ПК равным (0), при маркере 20-29 лет - равным (-10), при маркере 30-39 лет - равным (-7), при маркере 40-49 лет - равным (+4), при маркере 50-59 лет - равным (+3), при маркере 60-69 лет - равным (+2), при маркере 70-79 лет - равным (+4), при маркере 80 и более лет - равным (-3). В системе социальный статус при маркере рабочие устанавливают ПК равным (+4), при маркере служащие - равным (-1), при маркере учащиеся - равным (0), при маркере безработные - равным (-12), при маркере пенсионеры и инвалиды труда (ИТР) - равным (+1). В системе сопутствующие заболевания при маркере заболевания желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) устанавливают ПК равным (-10), при маркере заболевания сердечно-сосудистой системы - равным (+2), при маркере заболевания эндокринной системы - равным (+1,5), при маркере заболевания дыхательной системы - равным (0), при маркере заболевания опорно-двигательного аппарата - равным (0), при маркере заболевания мочеполовой системы - равным (-13), при маркере сочетание сопутствующий заболеваний - равным (-1), при маркере отсутствие сопутствующих заболеваний - равным (+2). В системе моноциты крови при маркере нет устанавливают ПК равным (0), при маркере 1-3% - равным (-2,5), при маркере 4-6% - равным (+2), при

маркере 7-10% - равным (+2,5), при маркере более 10% - равным (0). В системе скорость оседания эритроцитов при маркере - 1-10 мм/ч устанавливают ПК равным (-1), при маркере 11-20 мм/ч - равным (-3), при маркере 21-30 мм/ч - равным (+7), при маркере 31-40 мм/ч - равным (0), при маркере более 40 мм/ч - равным (0). В системе общий билирубин при маркере менее 8,8 мкмоль/л устанавливают ПК равным (0), при маркере 8,8-17 мкмоль/л - равным (-1), при маркере более 17 мкмоль/л - равным (+5,5). В системе креатинин при маркере менее 0,07 ммоль/л устанавливают ПК равным (+11), при маркере 0,07-0,17 - равным (-3), при маркере более 0,17 мкмоль/л - равным (0). В системе удельный вес мочи при маркере менее 1008 устанавливают ПК равным (0), при маркере 1008-1026 - равным (+2), при маркере более 1026 - равным (+6). В системе реакция мочи при маркере кислая, устанавливают ПК равным (+3), при маркере нейтральная - равным (-3), при маркере щелочная - равным (-12). При сумме ПК от (-54,5) до (-21,5) прогнозируют низкую вероятность рака молочной железы, при сумме от (+11) до (+44,5) прогнозируют высокую вероятность рака молочной железы. Однако прогнозирование таким способом рака молочной железы сопряжено с профилактическими осмотрами, при этом диспансеризация лиц из групп повышенного риска должна проводиться длительное время вплоть до возраста 55 лет.

Известен патент RU №2263319 (опубл. 27.10.2005), в котором описан способ прогнозирования рецидива рака молочной железы, включающий биохимическое исследование биологической жидкости пациента, отличающийся тем, что у менопаузальных женщин после комплексного лечения рака молочной железы в динамике определяют концентрацию эстриола, эстрона и эстрадиола в моче, вычисляют соотношение эстриола к эстрону и эстрадиолу и при значении его $1,68 \pm 0,23$ констатируют отсутствие рецидива, а при его снижении до значений $0,74 \pm 0,12$ у пациенток, проживающих без рецидива менее 1 года, до $0,65 \pm 0,13$ у пациенток, проживших без рецидива от 2 до 6 лет, и до $0,50 \pm 0,10$ у пациенток, проживших без рецидива от 6 до 10 лет, констатируют развитие рецидива. Недостатком данного способа является высокая стоимость анализа, что особенно важно при его многократном повторении в ходе наблюдения за больными после комплексного лечения.

Известен патент RU №2522501 (опубл. 20.07.2014), в котором описан способ прогнозирования наследственной предрасположенности к раку молочной железы. Сущность способа заключается в том, что проводят амплификацию коротких фрагментов гена BLM протяженностью до 200 п.о., с последующим высокоразрешающим плавлением, включающим оптимизированный для гена BLM этап формирования гетеродуплексов: быстрый нагрев до 95°C и медленное снижение температуры до 50°C ; выбирают один фрагмент с абберантным профилем плавления для секвенирования, секвенируют выбранный фрагмент и при выявлении мутации гена BLM прогнозируют наследственную предрасположенность к раку молочной железы. Недостатком этого способа является его трудоемкость, он не учитывает роль генетических полиморфизмов.

Известен патент RU №2204836 (опубл. 20.05.2003), в котором описан способ прогнозирования генерализации рака молочной железы. В данном способе проводят диагностическое наблюдение больных раком молочной железы. Определяют тромбоцитарную активность MAO-B в плазме крови, что обеспечивает доклиническое выявление генерализации рака молочной железы. При снижении тромбоцитарной активности MAO-B в 4-6 раз по отношению к норме прогнозируют генерализацию процесса. Недостатком предлагаемого способа является использование в качестве маркера только одного показателя - тромбоцитарной активности MAO-B в плазме

крови, применение способа в отношении уже больных раком молочной железы, преимущественная информативность предлагаемого показателя тромбоцитарной активности MAO-B в период генерализации процесса при наличии отдаленных метастазов, что делает невозможным применение способа в ранней диагностике рака

5 молочной железы.

Известен патент RU №2631940 (опубл. 28.09.2017), в котором описан способ прогнозирования рака молочной железы. Сущность способа заключается в том, что определяют факторы риска: ношение тугого бюстгалтера (Б), возраст (В), перенесенные воспалительные заболевания молочной железы (ЗМЖ), перенесенные заболевания щитовидной железы (ЗЩЖ), индекс массы тела (ИМТ), частое употребление жирной, жареной и копченой пищи (Калл), некормление ребенка грудью (НКГ), кормление ребенка грудью год и более ($КГ \geq 1$ год), позднее наступление менструации (ПНМ), длительное проживание в военных городках (ПВО), перенесенные травмы молочной железы (ТМЖ). Отсутствие каждого из указанных факторов оценивают как «0 баллов», а наличие - «1 балл». Показатели ПНМ, В, ИМТ оценивают количественно.

10

15

Рассчитывают прогностический коэффициент ПК по заявленной формуле. Если значение ПК меньше 0,2197, то прогнозируют низкий риск, а если ПК от 0,2197 и более - высокий риск рака молочной железы. Недостатком способа является сложность расчетов и не учитываются генетические факторы.

20

Прогнозирование риска рака молочной железы на основе естественных исследований // Зиннатуллина Г.Ф., Бермишева М.А., Кононова В.А., Фарахтдинова А.Р., Хуснутдинова Э.К. // Креативная хирургия и онкология. 2009. №2. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/prognozirovanie-vozniknoveniya-riska-raka-molochnoy-zhelezy-na-osnove-geneticheskikh-issledovaniy> (дата обращения: 24.07.2022), характеризуется

25

проведением анализа распространенности двух вариантов гена NBN (с.657del5 и р.R215W) у больных раком молочной железы в Республике Башкортостан и Ханты-Мансийском автономном округе. Недостатком данного исследования является применение только для коренных жителей Республики Башкортостан и Ханты-Мансийского автономного округа.

30

Задачей настоящего исследования является расширение арсенала методов диагностики, а именно создание способа прогнозирования риска развития РМЖ на основе данных о полиморфных локусах rs3918249-rs17576-rs3787268-rs2250889-rs17577 гена MMR-9.

35

Технический результат использования изобретения – получение критериев оценки риска развития РМЖ русской национальности, уроженок Центрально – Черноземного региона РФ, на основе данных о полиморфных локусах rs3918249-rs17576-rs3787268-rs2250889-rs17577 гена MMR-9, включающий:

- выделение ДНК из периферической венозной крови;
- анализ полиморфных локусов rs3918249-rs17576-rs3787268-rs2250889-rs17577 гена

40

MMR-9;

- прогнозирование высокого риска развития РМЖ при выявлении гаплотипа ТААСГ полиморфных локусов rs3918249-rs17576-rs3787268-rs2250889-rs17577 гена MMR-9.

45

Новизна и изобретательский уровень заключаются в том, что из уровня техники не известна возможность прогноза развития РМЖ у пациенток на основе данных о гаплотипе ТААСГ полиморфных локусов rs3918249-rs17576-rs3787268-rs2250889-rs17577 гена MMR-9.

Способ осуществляют следующим образом:

Выделение геномной ДНК из периферической крови осуществляют методом

фенольно-хлороформной экстракции (Miller, S. A. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells / S. A. Miller, D. D. Dykes, H. F. Polesky // *Nucleic Acids. Res.* – 1988. – Vol. 16, № 3. – P. 1215) в два этапа. На первом этапе к 4 мл крови с ЭДТА добавляют 25 мл лизирующего буфера, содержащего 320мМ сахарозы, 1% тритон X-100, 5мМ MgCl₂, 10мМ 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 (10мг/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. После лиофилизации полученную ДНК растворяют в бидистиллированной, деионизованной воде и хранят при -200С.

Анализ полиморфных локусов rs3918249-rs17576-rs3787268-rs2250889-rs17577 гена ММР-9 осуществлялся методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) на термоциклере CFX-96 Real-Time System (Bio-Rad) с использованием стандартных олигонуклеотидных праймеров и зондов (синтезированы в ООО «Тест - Ген» (Ульяновск)).

Аmplification геномной ДНК производилась в реакционной смеси, суммарным объемом 10 мкл, включающей смесь для ПЦР ММР-9 – 4 мкл, Taq-полимеразу – 2 мкл, исследуемый образец (~30 нг ДНК/мкл) – 1 мкл, деионизованная вода – 3мкл.

Генотипирование исследуемых образцов осуществлялось с использованием программного обеспечения «CFX-Manager™» методом дискриминации аллелей по величинам относительных единиц флуоресценции (ОЕФ) (фиг. 1, фиг. 2, фиг. 3, фиг. 4, фиг. 5).

Изобретение характеризуется фигурами:

Фиг. 1. Дискриминации аллелей методом детекции TaqMan зондов по данным величин ОЕФ (относительные единицы флуоресценции) каждого зонда на амплификаторе CFX96 с детектирующей системой в режиме реального времени полиморфизма rs3918249 ММР-9 (● - ТТ, ■ - СС, ▲ - ТС, ■ - отриц. контр.).

Фиг. 2. Дискриминации аллелей методом детекции TaqMan зондов по данным величин ОЕФ (относительные единицы флуоресценции) каждого зонда на амплификаторе CFX96 с детектирующей системой в режиме реального времени полиморфизма rs17576 ММР-9 (● - АА, ■ - GG, ▲ - AG, ■ - отриц. контр.).

Фиг. 3. Дискриминации аллелей методом детекции TaqMan зондов по данным величин ОЕФ (относительные единицы флуоресценции) каждого зонда на амплификаторе CFX96 с детектирующей системой в режиме реального времени полиморфизма rs3787268 ММР-9 (● - АА, ■ - GG, ▲ - GA, ■ - отриц. контр.).

Фиг. 4. Дискриминации аллелей методом детекции TaqMan зондов по данным величин ОЕФ (относительные единицы флуоресценции) каждого зонда на амплификаторе CFX96 с детектирующей системой в режиме реального времени полиморфизма rs2250889 ММР-9 (● - СС, ■ - GG, ▲ -CG, ■ - отриц. контр.).

Фиг. 5. Дискриминации аллелей методом детекции TaqMan зондов по данным величин ОЕФ (относительные единицы флуоресценции) каждого зонда на амплификаторе CFX96 с детектирующей системой в режиме реального времени полиморфизма rs17577 ММР-9 (● - АА, ■ - GG, ▲ - GA, ■ - отриц. контр.).

Определение частот гаплотипов и анализ ассоциаций гаплотипов с развитием

люминального подтипа рака молочной железы проводилось с помощью логистического регрессионного анализа в программе PLINK v. 2.050 (<http://zzz.bwh.harvard.edu/plink/>). При необходимости в исследование включали ковариаты (возраст, индекс массы тела). После проведения пермутационного теста (выполнялось 1000 пермутаций) за статистически значимый уровень принимали $p_{perm} < 0,05$.

Возможность использования предложенного способа для оценки прогнозирования риска развития люминального подтипа РМЖ подтверждает анализ результатов наблюдений 899 пациенток, из них 153 больные с люминальным подтипом рака молочной железы и 746 женщин контрольной группы. Средний возраст больных составил $54,74 \pm 12,73$ лет (варьировал от 25 до 84 лет). Возрастные характеристики больных и контроля были сопоставимы. В выборки для исследования включались (критерии включения): 1) пациентки русской национальности, являющиеся уроженками Центрального Черноземья РФ, М.И., не имеющие родства между собой и проживающие в Белгородской области (Чурносов Сорокина И.Н., Балановская Е.В. Генофонд населения Белгородской области. Динамика индекса эндогамии в районных популяциях // Генетика. 2008. Т. 44. № 8. С. 1117-1125), добровольно согласившиеся на проведение исследования; 2) в группу больных включались пациентки только после установления диагноза заболевания РМЖ, подтвержденного с помощью клинических и лабораторно-инструментальных (в т.ч. морфологических) методов обследования.

Обследование больных РМЖ проводилось на базе поликлинического и химиотерапевтического отделений Белгородского областного онкологического диспансера; формирование контрольной группы (без клинико-anamnestических признаков РМЖ) проводилось на базе перинатального центра БОКБ Святителя Иоасафа (в ходе проф. осмотра).

Все больные РМЖ и женщины контрольной группы подписали информированное согласие на участие в исследовании (проведение исследования было согласовано с этическим комитетом медицинского института НИУ «БелГУ»).

Типирование молекулярно-генетических маркеров осуществлялось на кафедре медико-биологических дисциплин медицинского института НИУ «БелГУ».

При расчете частот гаплотипов и анализе их ассоциаций у пациенток установлена связь с формированием люминального подтипа рака молочной железы гаплотипа ТААСG полиморфных локусов rs3918249-rs17576-rs3787268-rs2250889-rs17577 гена MMP-9. Гаплотип ТААСG полиморфных локусов rs3918249-rs17576-rs3787268-rs2250889-rs17577 гена MMP-9 является фактором риска развития люминального подтипа рака молочной железы ($OR=4,45$).

В качестве примеров конкретного применения разработанного способа приведено обследование русских женщин, уроженок Центрально-Черноземного региона РФ и не являющихся родственницами между собой: проведено генетическое исследование по полиморфным локусам rs3918249-rs17576-rs3787268-rs2250889-rs17577 гена MMP-9.

У пациентки Л. была взята венозная кровь, при генотипировании ДНК-маркеров был выявлен гаплотип CGGGG полиморфных локусов rs3918249-rs17576-rs3787268-rs2250889-rs17577 гена MMP-9, что позволило отнести пациентку в группу женщин с низким риском развития люминального подтипа рака молочной железы. При дальнейшем наблюдении диагноз люминального подтипа рака молочной железы у пациентки Л. не подтвердился.

У пациентки О. была взята венозная кровь, при генотипировании ДНК-маркеров был выявлен гаплотип ТААСG полиморфных локусов rs3918249-rs17576-rs3787268-rs2250889-rs17577 гена MMP-9, что позволило отнести пациента в группу пациенток с

повышенным риском развития люминального подтипа рака молочной железы. Дальнейшее наблюдение подтвердило диагноз люминального подтипа рака молочной железы у пациентки О.

5 У пациентки В. была взята венозная кровь, при генотипировании ДНК-маркеров был выявлен гаплотип CGAGA полиморфных локусов rs3918249-rs17576-rs3787268-rs2250889-rs17577 гена MMP-9, что позволило отнести пациентку в группу больных с пониженным риском развития люминального подтипа рака молочной железы. Дальнейшее наблюдение не подтвердило диагноз люминального подтипа рака молочной железы у пациентки.

10 У пациентки Г. была взята венозная кровь, при генотипировании ДНК-маркеров был выявлен гаплотип ТААСG полиморфных локусов rs3918249-rs17576-rs3787268-rs2250889-rs17577 гена MMP-9, что позволило отнести пациентку в группу индивидуумов с повышенным риском развития люминального подтипа рака молочной железы. При дальнейшем наблюдении диагноз люминального подтипа рака молочной железы у
15 пациентки Г. подтвердился.

Применение данного способа позволит на доклиническом этапе формировать среди пациенток группы риска и своевременно реализовывать в этих группах необходимые лечебно-профилактические мероприятия по предупреждению развития люминального подтипа рака молочной железы.

20

(57) Формула изобретения

Способ прогнозирования риска развития люминального подтипа рака молочной железы у женщин русской национальности, включающий выделение ДНК из периферической венозной крови, анализ полиморфных локусов гена MMP-9,
25 отличающийся тем, что при выявлении гаплотипа ТААСG полиморфных локусов rs3918249-rs17576-rs3787268-rs2250889-rs17577 гена MMP-9 прогнозируют высокий риск развития люминального подтипа рака молочной железы.

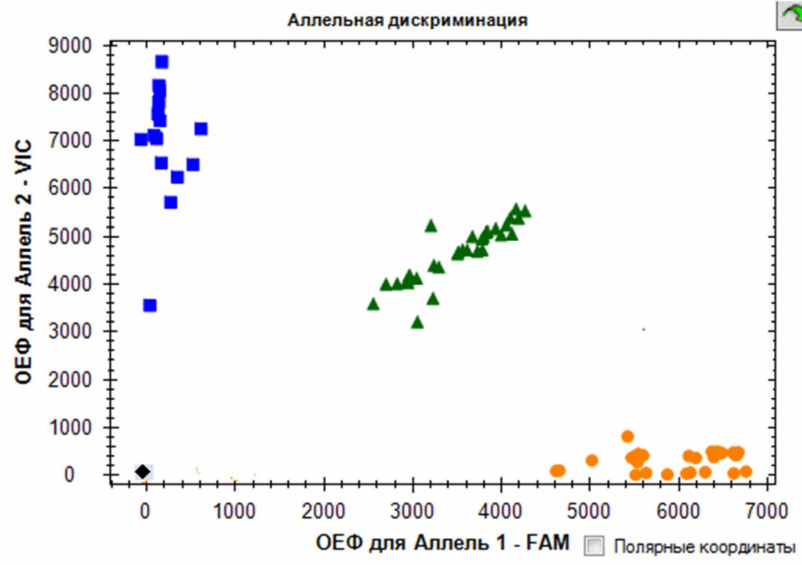
30

35

40

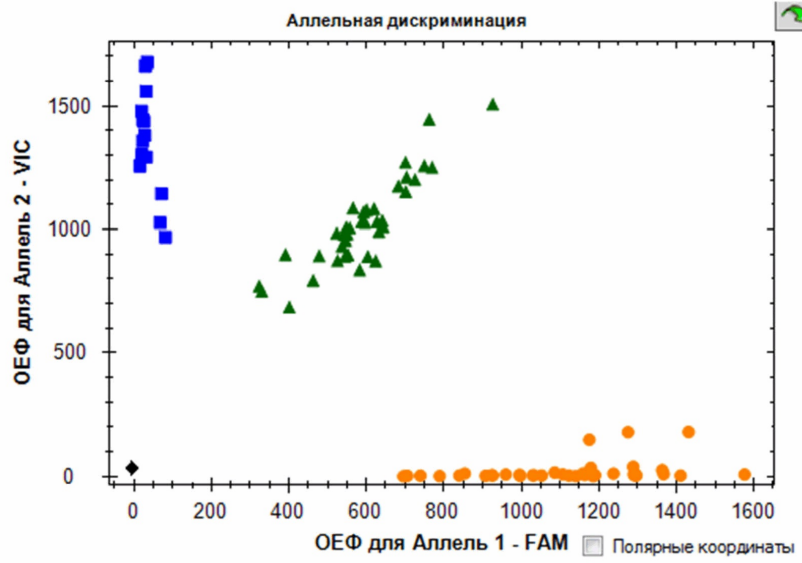
45

1

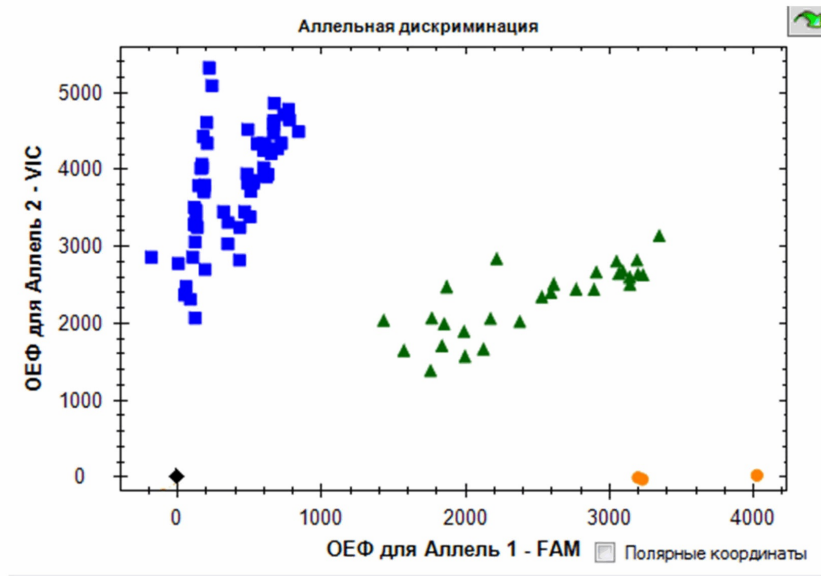


Фигура 1

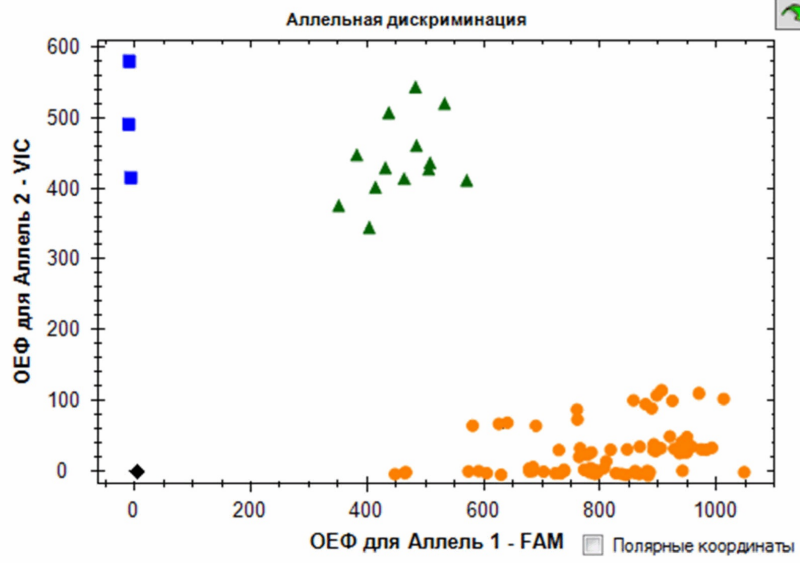
2



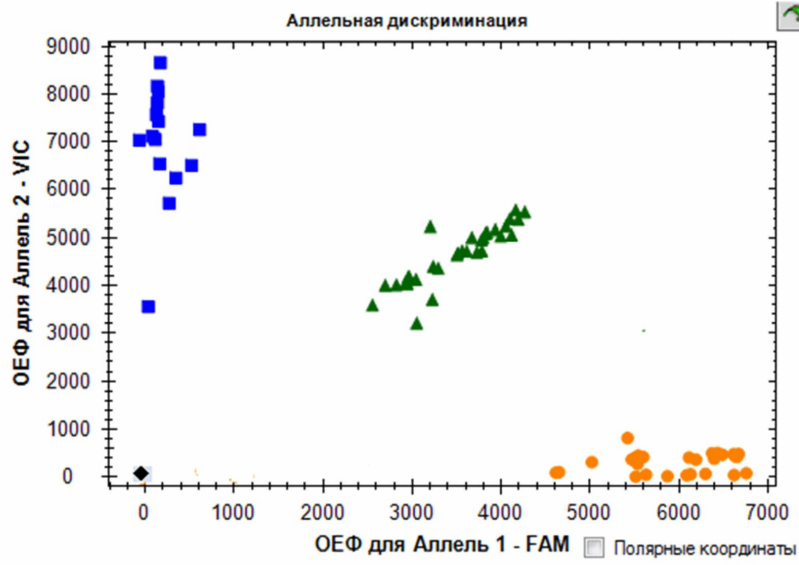
Фигура 2



Фигура 3



Фигура 4



Фигура 5