



(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 33/582 (2024.08); G01N 33/57415 (2024.08); C12Q 1/6806 (2024.08); C12Q 1/6827 (2024.08); C12Q 1/686 (2024.08); C12Q 1/6876 (2024.08); C12Q 1/6886 (2024.08)

(21)(22) Заявка: 2024104141, 19.02.2024

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
19.02.2024

Дата регистрации:

18.11.2024

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 19.02.2024

(45) Опубликовано: 18.11.2024 Бюл. № 32

Адрес для переписки:

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

(72) Автор(ы):

Чурносов Михаил Иванович (RU),
Пасенов Константин Николаевич (RU),
Елыкова Анна Владимировна (RU),
Пономаренко Ирина Васильевна (RU),
Чурносова Мария Михайловна (RU),
Пономаренко Марина Сергеевна (RU),
Чурносов Владимир Иванович (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: CN 105986024 A, 05.10.2016.

ПОНОМАРЕВА Т.А. Анализ
функционального потенциала полиморфного
локуса rs8023580 гена NR2F2. Актуальные
вопросы совершенствования медицинской
помощи и медицинского образования: сборник
материалов VII Междисциплинарного
медицинского форума с международным
участием (г. Белгород, 10-11 марта 2022 г.). -
Белгород: ИД (см. прод.)

(54) Способ прогнозирования риска развития тройного негативного рака молочной железы у женщин с использованием молекулярно-генетических данных

(57) Реферат:

Изобретение относится к медицине, а именно к клинической онкологии, медицинской генетике и молекулярной диагностике, и может быть использовано для прогнозирования риска развития тройного негативного рака молочной железы у женщин. Из периферической венозной крови выделяют ДНК. Проводят анализ генетических маркеров rs8023580 гена NR2F2, rs440837 гена ZBTB10, rs17496332 гена PRMT6. При выявлении комбинации генотипов

rs8023580TT гена NR2F2 - rs440837AA гена ZBTB10 - rs17496332GG гена PRMT6 прогнозируют высокий риск развития тройного негативного рака молочной железы. Способ обеспечивает получение новых критериев оценки риска развития тройного негативного рака молочной железы у женщин русской национальности, уроженок Центрально-Черноземного региона РФ, на основе данных о полиморфных маркерах rs8023580 NR2F2 -

(56) (продолжение):

"БелГУ" НИУ "БелГУ", 2022; с. 117. SHIMELIS H. et al. Triple-Negative Breast Cancer Risk Genes Identified by Multigene Hereditary Cancer Panel Testing. J Natl Cancer Inst. 2018 Aug 1; 110(8): 855-862. DIMOU N.L. et al. Sex hormone binding globulin and risk of breast cancer: a Mendelian randomization study. Int J Epidemiol. 2019 Jun 1; 48(3): 807-816.

R U 2 8 3 0 3 4 6 C 1

R U 2 8 3 0 3 4 6 C 1



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(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 33/582 (2024.08); *G01N 33/57415* (2024.08); *C12Q 1/6806* (2024.08); *C12Q 1/6827* (2024.08); *C12Q 1/686* (2024.08); *C12Q 1/6876* (2024.08); *C12Q 1/6886* (2024.08)

(21)(22) Application: **2024104141, 19.02.2024**

(24) Effective date for property rights:
19.02.2024

Registration date:
18.11.2024

Priority:

(22) Date of filing: **19.02.2024**

(45) Date of publication: **18.11.2024** Bull. № 32

Mail address:

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

(72) Inventor(s):

**Churnosov Mikhail Ivanovich (RU),
Pasenov Konstantin Nikolaevich (RU),
Elykova Anna Vladimirovna (RU),
Ponomarenko Irina Vasilevna (RU),
Churnosova Mariia Mikhailovna (RU),
Ponomarenko Marina Sergeevna (RU),
Churnosov Vladimir Ivanovich (RU)**

(73) Proprietor(s):

**federalnoe gosudarstvennoe avtonomnoe
obrazovatelnoe uchrezhdenie vysshego
obrazovaniia "Belgorodskii gosudarstvennyi
natsionalnyi issledovatel'skii universitet" (NIU
"BelGU") (RU)**

(54) **METHOD FOR PREDICTION OF RISK OF DEVELOPING TRIPLE NEGATIVE BREAST CANCER IN WOMEN USING MOLECULAR GENETIC DATA**

(57) Abstract:

FIELD: medicine.

SUBSTANCE: invention relates to clinical oncology, medical genetics and molecular diagnostics, and can be used to predict the risk of triple negative breast cancer in women. DNA is recovered from peripheral venous blood. Analysis of genetic markers rs8023580 of the NR2F2 gene, rs440837 of the ZBTB10 gene, rs17496332 of the PRMT6 gene. When detecting a combination of genotypes rs8023580TT of the NR2F2 gene—rs440837AA of the ZBTB10

gene—rs17496332GG of the PRMT6 gene, high risk of developing triple negative breast cancer is predicted.

EFFECT: method provides obtaining new criteria for assessing the risk of developing triple negative breast cancer in women of Russian nationality, natives of the Central Black Earth Region of the Russian Federation, based on data on polymorphic markers rs8023580 NR2F2—rs440837 ZBTB10—rs17496332 PRMT6.

1 cl, 3 dwg, 4 ex

C1
2 830 346
RU

RU
2 830 346
C1

Изобретение относится к области медицины, в частности, к клинической онкологии, медицинской генетике, молекулярной диагностике и может быть использовано для прогнозирования риска развития тройного негативного рака молочной железы у женщин с использованием молекулярно-генетических данных.

5 Рак молочной железы (РМЖ) - это опухоль молочной железы злокачественного характера, имеющая эпителиальное происхождение [Gradishar W.J., Anderson B.O., Blair S.L. et al. Breast cancer version 3.2014. J Natl Compr Canc Netw 2014;12(4):542-590]. Согласно данным мировой статистики (материалы Международного агентства по изучению рака) в настоящее время ежегодно среди населения мира выявляется более 2 миллионов
10 новых случаев РМЖ. Среди всех случаев рака (ежегодно в мире регистрируется 19,3 млн новых случаев онкопатологии) РМЖ является наиболее частым (11,7%) [Ferlay J., Colombet M., Soerjomataram I., Parkin D.M., Piñeros M., Znaor A., Bray F. Cancer statistics for the year 2020: An overview. Int. J. Cancer. 2021;149:778-789. doi: 10.1002/ijc.33588]. Среди женского населения удельный вес РМЖ среди всех онкозаболеваний составляет 24,5%
15 [Sung H., Ferlay J., Siegel R.L., Laversanne M., Soerjomataram I., Jemal A., Bray F. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. CA Cancer J. Clin. 2021;71:209-249. doi: 10.3322/caac.21660]. По данным Росстата в 2020 году в Российской Федерации количество женщин у которых был впервые в жизни установлен диагноз РМЖ составило 65,0 тыс. человек, а показатель
20 заболеваемости был равен 82,8 на 100000 человек [Здравоохранение в России. 2021: Стат.сб./Росстат. - М., 3-46 2021. - 171 с.]. Обращает на себя внимание имеющаяся тенденция к росту заболеваемости РМЖ в РФ: стандартизованный показатель заболеваемости на 100000 населения (мировой стандарт) за последние десять лет вырос
25 с 42,83 в 2008 г. до 51,63 в 2018 г., параметр среднегодового темпа прироста заболеваемости составил 1,97%, а показатель прироста заболеваемости за данный временной период - 22,15% [Каприн А.Д., Старинский В.В., Петрова Г.В. Злокачественные новообразования в России в 2018 году. М., 2019. 250 с. [Kaprin A.D., Starinskij V.V., Petrova G.V. Malignant neoplasms in Russia in 2018. Moscow: 2019. 250 p. (in Russian)]]].

30 Тройной негативный рак молочной железы (ТН РМЖ) охватывает гетерогенную группу принципиально разных заболеваний с различными гистологическими, геномными и иммунологическими профилями, которые объединяются под этим термином из-за отсутствия в них эстрогеновых рецепторов (ЭР), прогестероновых рецепторов (ПР) и рецепторов эпидермального фактора роста человека 2 типа (HER2).

35 ТН РМЖ представляет собой гетерогенную опухоль, на долю которой приходится от 15 до 20% всех случаев рака молочной железы, поэтому ее распространенность варьируется среди разных этнических групп и обычно является отрицательной (трижды отрицательной) для экспрессии ЭР, ПР и HER2. ТН РМЖ поражает 170 000 женщин во всем мире в год, из общего миллиона диагнозов рака молочной железы. Заболевание
40 также протекает более агрессивно, характеризуется более высокой частотой рецидивов и худшим прогнозом, чем гормон-рецептор-позитивные опухоли. Опасность ТН РМЖ заключается в высокой распространенности высокопролиферационных опухолей 3 степени при постановке диагноза [Sporikova Z., Koudelakova V., Trojanec R., Hajdуч M. Genetic Markers in Triple-Negative Breast Cancer. Clin Breast Cancer. 2018;18(5):e841-e850. doi:10.1016/j.clbc.2018.07.023].
45

ТН РМЖ имеет отчетливый клинический фенотип из-за его молекулярных характеристик. Его отличают отдаленные метастазы (висцеральные и мозговые метастазы), отсутствие метастазов в кости и ранние рецидивы (обычно в течение трех

лет). ТН РМЖ ассоциирован с агрессивным клиническим поведением, которое быстрее растёт и распространяется на окружающие ткани, менее поддается лечению и имеет более низкий прогноз [Sarhangi N., Hajjari S., Heydari S.F., Ganjizadeh M., Rouhollah F., Hasanzad M. Breast cancer in the era of precision medicine. Mol Biol Rep. 2022;49(10):10023-10037. doi:10.1007/s11033-022-07571-2].

Несмотря на активное исследование генетических основ РМЖ, которое активно проводится многочисленными научными коллективами, в течении последних десятилетий, значительная часть генетических детерминант, вовлеченных в возникновение заболевания до настоящего времени остается неизвестной, что диктует необходимость продолжения генетико-эпидемиологических исследований РМЖ.

В Российской Федерации исследования вовлеченности генетических маркеров rs8023580 гена NR2F2 - rs440837 гена ZBTB10 - rs17496332 гена PRMT6 в формирование предрасположенности к тройному негативному раку молочной железы у женщин единичны и фрагментарны, а данные о роли генетических вариантов rs8023580 гена NR2F2 - rs440837 гена ZBTB10 - rs17496332 гена PRMT6 в развитии тройного негативного рака молочной железы у женщин с использованием молекулярно-генетических данных отсутствуют.

Для оценки сложившейся патентной ситуации был выполнен поиск по охраняемым документам за период с 1990 по 2023 гг. Анализ документов производился по направлению: способ прогнозирования риска развития тройного негативного рака молочной железы у женщин. 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 тройного негативного рака молочной железы у женщин на основе данных о полиморфных маркерах rs8023580 гена NR2F2 - rs440837 гена ZBTB10 - rs17496332 гена PRMT6.

Известен патент RU № 2741232 (опубл. 22.01.2021) описан способ прогнозирования прогрессирования рака молочной железы. Изобретение относится к медицине, а именно к онкологии, и может быть использовано для прогнозирования прогрессирования рака молочной железы. Проводят 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. 27.10.2008), в котором описан способ прогнозирования рака молочной железы. Изобретение относится к области медицины, в частности к онкологии, и может быть использовано в качестве способа ранней диагностики рака молочной железы. Проводят 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. Способ позволяет прогнозировать рак молочной железы на этапе лабораторного обследования и может применяться в ранней диагностике рака молочной железы, характеризуется доступностью и простотой выполнения. 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. Изобретение относится к медицине, а именно к биохимическим методам исследования в онкологии. Сущность способа заключается в том, что в динамике наблюдения за менопаузальными женщинами после комплексного лечения констатируют развитие рецидива рака молочной железы при снижении соотношения концентрации эстриола к сумме концентраций эстрогена и эстрадиола в моче с $1,68 \pm 0,23$ у больных без рецидива до $0,74 \pm 0,12$ - у пациенток, проживших без рецидива менее одного года, до $0,65 \pm 0,13$ у больных, проживших без рецидива от 2-х до 6 лет, и до $0,50 \pm 0,10$ у больных с безрецидивным периодом от 6 до 10 лет. Изобретение обеспечивает доклиническое выявление рецидива рака молочной железы, а также точность и простоту способа. 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. Изобретение относится к области медицины, в частности, к клинической онкологии, медицинской генетике, молекулярной диагностике и может быть использовано для

5 Способ характеризуется тем, что проводят амплификацию коротких фрагментов гена VLM протяженностью до 200 п.о., с последующим высокоразрешающим плавлением, включающим оптимизированный для гена VLM 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
10 выбранный фрагмент и при выявлении мутации гена VLM прогнозируют наследственную предрасположенность к раку молочной железы. Способ повышает точность детекции мутации, прост в исполнении и высокоинформативен: позволяет выявлять до 100% мутаций в гене VLM. Недостатком этого способа является его трудоемкость, он не учитывает роль генетических полиморфизмов.

15 Задачей настоящего исследования является расширение арсенала способов диагностики, а именно создание способа прогнозирования риска развития тройного негативного рака молочной железы у женщин с использованием молекулярно-генетических данных о полиморфных маркерах rs8023580 гена NR2F2 - rs440837 гена ZBTB10 - rs17496332 гена PRMT6.

20 Технический результат использования изобретения - получение критериев оценки риска развития тройного негативного рака молочной железы у женщин русской национальности, уроженок Центрально-Черноземного региона РФ, на основе молекулярно-генетических данных о полиморфных маркерах rs8023580 гена NR2F2 - rs440837 гена ZBTB10 - rs17496332 гена PRMT6, включающий:

25 - выделение ДНК из периферической венозной крови;
- анализ полиморфных маркеров rs8023580 гена NR2F2 - rs440837 гена ZBTB10 - rs17496332 гена PRMT6;
- прогнозирование риска развития тройного негативного рака молочной железы у женщин с использованием молекулярно-генетических данных при выявлении комбинации
30 генотипов rs8023580TT гена NR2F2 - rs440837AA гена ZBTB10 - rs17496332GG гена PRMT6.

Новизна и изобретательский уровень заключаются в том, что из уровня техники не известна возможность прогноза риска развития тройного негативного рака молочной железы у пациенток на основе данных о комбинации генотипов rs8023580 гена NR2F2
35 - rs440837 гена ZBTB10 - rs17496332 гена PRMT6.

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
40 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 320 мМ 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
45 мМ ЭДТА (pH=8,0) и 75 мМ NaCl, ресуспендируют. 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 -20°C .

5 Анализ полиморфных маркеров rs8023580 гена NR2F2 - rs440837 гена ZBTB10 - rs17496332 гена PRMT6 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)).

10 Амплификация геномной ДНК производилась в реакционной смеси, суммарным объемом 10 мкл, включающей смесь для ПЦР rs7910927 гена rs8023580 гена NR2F2 или rs440837 гена ZBTB10 или rs17496332 гена PRMT6- 4 мкл, Taq-полимеразу - 2 мкл, исследуемый образец (~30 нг ДНК/мкл) - 1 мкл, деионизованная вода - 3 мкл.

15 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).

Изобретение характеризуется фигурами:

фиг. 1 - Визуализация дискриминации генотипов rs8023580 NR2F2 (где красный круг - гомозиготы TT, зеленый треугольник - гетерозиготы TC, синий квадрат - гомозиготы 20 CC, голубой ромб - неопределённый образец);

фиг. 2 - Визуализация дискриминации генотипов rs440837 ZBTB10 (где красный круг - гомозиготы AA, зеленый треугольник - гетерозиготы AG, синий квадрат - гомозиготы GG, голубой ромб - неопределённый образец);

25 фиг. 3 - Визуализация дискриминации генотипов rs 17496332 PRMT6 (где красный круг - гомозиготы AA, зеленый треугольник - гетерозиготы AG, синий квадрат - гомозиготы GG, голубой ромб - неопределённый образец).

На следующем этапе работы, моделировались в программном комплексе MB-MDR (доступ-<https://github.com/imbs-hl/mcmdR>) межлокусные взаимодействия, имеющие 30 рисковое значения для РМЖ (проводился учет ковариат и выполнялись пермутационные процедуры). Оценивались модели с участием 2-,3-,4-,5- локусов. При этом, с целью снижения вероятности ложноположительных результатов для «выделения» наиболее значимых моделей, детерминирующих риск развития заболевания (на каждом уровне мы отбирали 2-3 наиболее значимые модели), на этапе отбора моделей для пермутационного тестирования, нами дополнительно была введена поправка 35 Бонферрони с учетом возможных комбинаций 3 рассматриваемых локусов: для 2-х локусных моделей в качестве «порогового» уровня был установлен показатель $p=0,05/36 = 1,39 \cdot 10^{-3}$, для 3-х локусных - $p=0,05/84 = 5,95 \cdot 10^{-4}$, для 4-х локусных - $p=0,05/126 = 3,97 \cdot 10^{-4}$, для 5-ти локусных - $p=0,05/126 = 3,97 \cdot 10^{-4}$. Визуализация межлокусных взаимодействий, связанных с РМЖ, была проведена с применением программы MDR 40 (до ступ-<http://www.multifactorialdimensionalityreduction.org/>).

Возможность использования предложенного способа для оценки прогнозирования риска развития тройного негативного РМЖ у женщин с использованием молекулярно-генетических данных, подтверждает анализ результатов наблюдений 1248 пациенток, из них 108 пациентки с тройным негативным РМЖ и 1140 женщины контрольной 45 группы. Возрастные характеристики больных и контроля были сопоставимы. В выборки для исследования включались (критерии включения): 1) пациентки русской национальности, являющиеся уроженками Центрального Черноземья РФ, не имеющие родства между собой и проживающие в Белгородской области (Чурносоев М.И.,

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 тройного негативного РМЖ, подтвержденного с помощью клинических и лабораторно-инструментальных (в т.ч. морфологических) методов обследования.

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

Все больные тройным негативным раком молочной железы 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 изучении SNP x SNP взаимодействий установлена генетическая модель, включающая наличие значимой трехлокусной модели, вовлеченной в формирование тройного негативного РМЖ у женщин с использованием молекулярно-генетических данных, является rs8023580 гена NR2F2 - rs440837 гена ZBTB10 - rs17496332 гена PRMT6 ($p_{perm} \leq 0,001$). С развитием заболевания наиболее значимая ассоциация выявлена для комбинации rs8023580-ТТ гена NR2F2 - rs440837АА гена ZBTB10 - rs17496332GG гена PRMT6 ($\beta = 1,091$; $p = 0,008$), имеющая рисковую направленность.

В качестве примеров конкретного применения разработанного способа проведено генетическое обследование женщин русской национальности, являющихся уроженками Центрального Черноземья РФ и не имеющих родства между собой: проведено генетическое исследование по полиморфным маркерам rs8023580 гена NR2F2 - rs440837 гена ZBTB10 - rs17496332 гена PRMT6.

У пациентки О. была взята венозная кровь, проведено генотипирование ДНК-маркеров, при анализе вовлеченности полиморфных маркеров rs8023580 гена NR2F2 - rs440837 гена ZBTB10 - rs17496332 гена PRMT6 была выявлена комбинация генотипов rs8023580-ТТ гена NR2F2 - rs440837АА гена ZBTB10 - rs17496332GG гена PRMT6, что позволило отнести пациентку в группу больных с риском развития тройного негативного рака молочной железы у женщин с использованием молекулярно-генетических данных. Дальнейшее наблюдение подтвердило диагноз тройного негативного рака молочной железы у пациентки.

У пациентки Ю. была взята венозная кровь, проведено генотипирование ДНК-маркеров, при анализе вовлеченности полиморфных маркеров rs8023580 гена NR2F2 - rs440837 гена ZBTB10 - rs17496332 гена PRMT6 была выявлена комбинация генотипов rs8023580GG гена NR2F2 - rs440837АА гена ZBTB10 - rs17496332АА гена PRMT6, что позволило отнести пациентку в группу пациенток с низким риском развития тройного негативного рака молочной железы у женщин с использованием молекулярно-генетических данных. Дальнейшее наблюдение не подтвердило диагноз у пациентки.

У пациентки Л. была взята венозная кровь, проведено генотипирование ДНК-маркеров, при анализе вовлеченности полиморфных маркеров rs8023580 гена NR2F2 - rs440837 гена ZBTB10 - rs17496332 гена PRMT6 была выявлена комбинация генотипов rs8023580-ТС гена NR2F2 - rs440837GG гена ZBTB10 - rs17496332AG гена PRMT6, что

позволило отнести пациентку в группу больных с низким риском развития тройного негативного рака молочной железы у женщин с использованием молекулярно-генетических данных. Дальнейшее наблюдение не подтвердило диагноз рака молочной железы у пациентки.

5 У пациентки Ж. была взята венозная кровь, проведено генотипирование ДНК-маркеров, при анализе вовлеченности полиморфных маркеров rs8023580 гена NR2F2 - rs440837 гена ZBTB10 - rs17496332 гена PRMT6 была выявлена комбинации генотипов rs8023580-CC гена NR2F2 - rs440837GG гена ZBTB10 - rs17496332GG гена PRMT6, что
10 позволило отнести пациентку в группу индивидуумов с низким риском развития тройного негативного рака молочной железы у женщин с использованием молекулярно-генетических данных. При дальнейшем наблюдении диагноз рака молочной железы у пациентки Р. не подтвердился.

Применение данного способа позволит на доклиническом этапе формировать среди женщин группы риска и своевременно реализовывать в этих группах необходимые
15 лечебно-профилактические мероприятия по предупреждению развития тройного негативного рака молочной железы у женщин с использованием молекулярно-генетических данных.

(57) Формула изобретения

20 Способ прогнозирования риска развития тройного негативного рака молочной железы у женщин, включающий выделение ДНК из периферической венозной крови, анализ генетических маркеров rs8023580 гена NR2F2, rs440837 гена ZBTB10, rs17496332 гена PRMT6, где при выявлении комбинации генотипов rs8023580TT гена NR2F2 - rs440837AA гена ZBTB10 - rs17496332GG гена PRMT6 прогнозируют высокий риск
25 развития тройного негативного рака молочной железы у женщин.

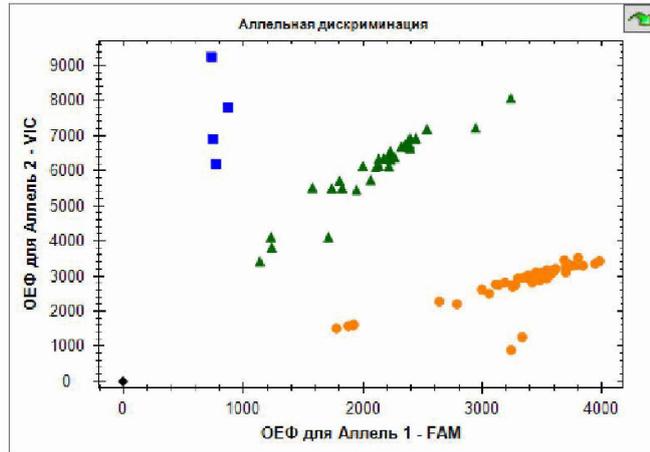
30

35

40

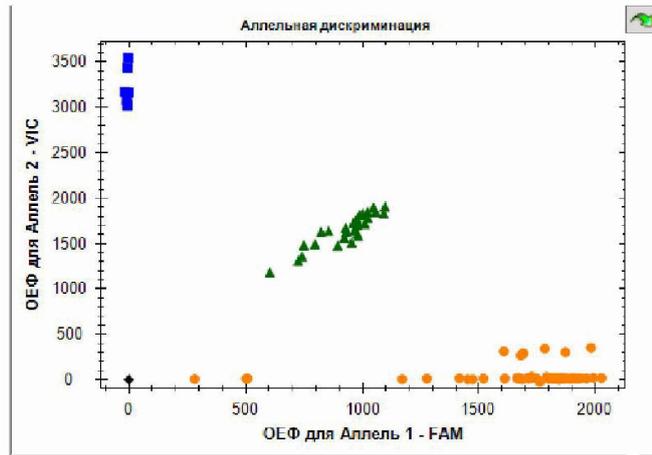
45

1

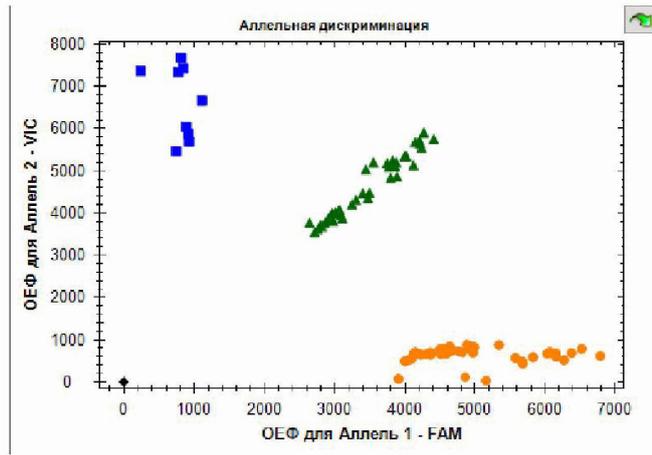


Фишера 1

2



Фигура 2



Фигура 3