



(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: 2024107957, 27.03.2024

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
27.03.2024

Дата регистрации:

14.10.2024

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 27.03.2024

(45) Опубликовано: 14.10.2024 Бюл. № 29

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),
Решетников Евгений Александрович (RU),
Елыкова Анна Владимировна (RU),
Пономаренко Ирина Васильевна (RU),
Чурносова Мария Михайловна (RU),
Пономаренко Марина Сергеевна (RU),
Чурносков Владимир Иванович (RU),
Решетникова Юлия Николаевна (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 2795720 C1, 11.05.2023. WO
2010127399 A1, 11.11.2010. KZ 30556 A4,
16.11.2015. ПОСПЕХОВА Н.И. и др.
Молекулярно-биологические подтипы рака
молочной железы у носителей мутаций в гене
BRCA1. Успехи молекулярной онкологии.
2020; 7 (4): 29-36.

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

(57) Реферат:

Изобретение относится к медицине, а именно к клинической онкологии, медицинской генетике и молекулярной диагностике, и может быть использовано для прогнозирования риска развития люминального подтипа рака молочной железы у женщин русской национальности, являющихся уроженками Центрального Черноземья РФ. Из периферической венозной крови выделяют ДНК. Проводят анализ полиморфных маркеров rs12150660 гена SHBG, rs440837 гена ZBTB10 и rs10454142 гена PPP1R21. При выявлении комбинации генотипов

rs12150660-ТТ гена SHBG - rs440837-АА гена ZBTB10 - rs10454142-СС гена PPP1R21 прогнозируют высокий риск развития люминального подтипа рака молочной железы у женщин. Способ обеспечивает получение новых критериев оценки повышенного риска развития люминального подтипа рака молочной железы у женщин русской национальности, уроженок Центрального Черноземья РФ, на основе данных о полиморфных маркерах rs12150660 SHBG, rs440837 ZBTB10 и rs10454142 PPP1R21. 3 ил., 5 пр.



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: 2024107957, 27.03.2024

(24) Effective date for property rights:
27.03.2024

Registration date:
14.10.2024

Priority:

(22) Date of filing: 27.03.2024

(45) Date of publication: 14.10.2024 Bull. № 29

Mail address:

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

(72) Inventor(s):

Churnosov Mikhail Ivanovich (RU),
Pasenov Konstantin Nikolaevich (RU),
Reshetnikov Evgenii Aleksandrovich (RU),
Elykova Anna Vladimirovna (RU),
Ponomarenko Irina Vasilevna (RU),
Churnosova Mariia Mikhailovna (RU),
Ponomarenko Marina Sergeevna (RU),
Churnosov Vladimir Ivanovich (RU),
Reshetnikova Iuliia Nikolaevna (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 LUMINAL SUBTYPE OF BREAST CANCER IN WOMEN**

(57) Abstract:

FIELD: medicine.

SUBSTANCE: invention relates to medicine, namely to clinical oncology, medical genetics and molecular diagnostics, and can be used to predict the risk of developing luminal subtype of breast cancer in Russian women who are natives of the Central Black Earth Region of the Russian Federation. DNA is recovered from peripheral venous blood. Carried out is analysis of polymorphic markers rs12150660 of the SHBG gene, rs440837 of the ZBTB10 gene and rs10454142 of the PPP1R21 of the. When detecting a combination of genotypes rs12150660-TT of the SHBG

gene – rs440837-AA of the ZBTB10 gene – rs10454142-CC of the PPP1R21 gene, high risk of developing luminal subtype of breast cancer in females is predicted.

EFFECT: method provides obtaining new criteria for assessing an increased risk of developing a luminal subtype of breast cancer in Russian women, natives of the Central Black Earth Region of the Russian Federation, based on data on polymorphic markers rs12150660 SHBG, rs440837 ZBTB10 and rs10454142 PPP1R21.

1 cl, 3 dwg, 5 ex

RU 2 828 523 C1

RU 2 828 523 C1

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 у женщин.

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 с 42,83 в 2008 г. до 51,63 в 2018 г., параметр среднегодового темпа прироста
25 заболеваемости составил 1,97%, а показатель прироста заболеваемости за данный временной период - 22,15% [5. 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 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.

35 Гормон-рецептор-положительный рак молочной железы - это разновидность рака молочной железы, который экспрессирует рецепторы эстрогена (ER) и/или рецепторы прогестерона (PR). Опухоли с рецепторами эстрогена называются «ER-положительными», а рецепторы прогестерона - «PR-положительными». Гормон-рецептор-положительный рак молочной железы может произойти в любом возрасте,
40 но чаще встречается в постменопаузе. Эстроген-рецепторный подтип классифицируется как люминальный А и люминальный тип В [Do Nascimento RG, Otoni KM (2020) Histological and molecular classification of breast cancer: what do we know? Mastology 30:1-8].

Люминальный рак молочной железы А является наиболее распространенным подтипом. Около 50% всех случаев рака молочной железы указывают на высокую
45 экспрессию генов, связанных с HR (ER+/PR+ с низким индексом пролиферации), низкую экспрессию генов HER2 и генов, связанных с пролиферацией, таких как белок Ki-67 [Do Nascimento RG, Otoni KM (2020) Histological and molecular classification of breast cancer: what do we know? Mastology 30:1-8].

Люминальный подтип В встречается реже, чем люминальный подтип А (около 20% всех случаев рака молочной железы), и имеет относительно худший прогноз. Люминальный подтип В имеет гетерогенные генетические мутации. Опухоли люминального подтипа В более агрессивны, чем люминального подтипа А [Tsang J, Tse GM (2020) Molecular classification of breast cancer. Adv Anat Pathol 27(1):27-35].

Одной из важных задач современной онкологии является изучение причин и механизмов развития люминального подтипа рака молочной железы у женщин, среди которых значимую роль играют генетические факторы.

В Российской Федерации исследования вовлеченности генетических маркеров rs12150660 гена SHBG - rs440837 гена ZBTB10 - rs10454142 гена PPP1R21 в формирование предрасположенности к люминальному подтипу рака молочной железы у женщин единичны и фрагментарны, а данные о роли генетических вариантов rs12150660 гена SHBG - rs440837 гена ZBTB10 - rs10454142 гена PPP1R21 в развитии люминального подтипа рака молочной железы у женщин 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 люминального подтипа 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 повышенного риска развития люминального подтипа рака молочной железы у женщин на основе данных о полиморфных маркерах rs12150660 гена SHBG - rs440837 гена ZBTB10 - rs10454142 гена PPP1R21.

Известен патент RU № 2642623 (опубл. 25.01.2018), в котором описан способ прогнозирования риска развития злокачественного новообразования или диагностики злокачественного новообразования у особи женского пола. Изобретение относится к диагностике, в частности способу прогнозирования риска развития рака молочной железы у особи женского пола, которая не страдает от рака молочной железы. Способ прогнозирования риска развития рака молочной железы у особи женского пола, которая не страдает от рака молочной железы, включает: определение уровня про-нейротензина 1-117 с аминокислотной последовательностью, представленной на SEQ ID No. 5, или его фрагментов из по меньшей мере 5 аминокислот, или пептидов, содержащих этот про-нейротензин 1-117, в полученной из указанной особи женского пола биологической жидкости, выбранной из группы, включающей кровь, сыворотку, плазму, мочу, цереброспинальную жидкость и слюну, где уровень про-нейротензина 1-117 определяют натошак; и корреляцию указанного уровня про-нейротензина 1-117 или его фрагментов или пептидов, содержащих про-нейротензин 1-117, с риском развития рака молочной железы, где повышенный уровень является прогностическим для повышенного риска развития рака молочной железы. Вышеописанный способ позволяет эффективно прогнозировать риск развития рака молочной железы у особи женского пола. Недостатками данного технического решения являются трудоемкость метода для его реализации, инвазивность и потенциальная травматичность, особенно при заборе цереброспинальной жидкости в процессе спинальной пункции.

Известен патент RU № 2717148 (опубл. 18.03.2020), в котором описан способ отбора женщин в группу риска по развитию рака молочной железы в перименопаузальном периоде. Изобретение относится к медицине, а именно к онкологии, и может быть использовано для отбора женщин в группу риска развития рака молочной железы в

перименопаузальном периоде. Проводят сбор анамнестических данных. Выявляют женщин в возрасте от 44 до 58 лет, имеющих не менее двух родов и не более 1 аборта в анамнезе, устанавливают возраст наступления первой беременности и пол рожденных детей. Если первые роды наступили в возрасте 23 лет и закончились рождением ребенка мужского пола, а вторые роды - рождением ребенка женского пола, дополнительно определяют в суточной моче уровень метаболитов эстрогенов 2-гидроксиэстрон (2-ОНЕ1) и 16 α -гидроксиэстрон (16 α -ОНЕ1), рассчитывают их соотношение 2-ОНЕ1/16 α -ОНЕ1. Если выявляют значение индекса 2-ОНЕ1/16 α -ОНЕ1 1,64 и менее, то данную женщину относят в группу высокого риска по развитию рака молочной железы. Способ обеспечивает простой экспресс-метод определения риска развития рака молочной железы у женщин в перименопаузальном периоде за счет анализа анамнестических данных и определения в суточной моче уровня метаболитов эстрогенов 2-ОНЕ1 и 16 α -ОНЕ1. Недостатками данного технического решения являются инвазивность метода, и ограниченность временных рамок его использования (метод эффективен только в менопаузальном периоде), не учитываются генетические данные.

Известен патент RU № 2671578 (опубл. 02.11.2018), в котором описан способ прогнозирования риска возникновения рака или диагностирования рака у женщины. Изобретение относится к медицине и касается способа прогнозирования риска возникновения рака молочной железы или рака легких у женщины, которая не страдает раком, включающего определение уровня проэнкефалина или его фрагментов, состоящих по меньшей мере из 5 аминокислот, в общей воде организма, взятой у указанной женщины, и установление корреляции между указанным уровнем проэнкефалина (PENK) или его фрагментов и риском возникновения рака молочной железы или рака легких. При этом пониженный уровень является прогностическим критерием повышенного риска возникновения рака молочной железы или рака легких. Изобретение обеспечивает эффективный способ прогнозирования риска возникновения рака молочной железы или рака легких у женщины, которая не страдает раком. Недостатками данного технического решения являются трудоемкость и высокая себестоимость метода, заключающаяся в необходимости использования специальных биохимических наборов, имеющих высокую стоимость и недоступных для амбулаторно-поликлинического звена.

Известен патент RU № 2480763 (опубл. 27.04.2013), в котором описан способ прогнозирования риска развития доброкачественной дисплазии молочной железы у женщин с генитальным эндометриозом. Настоящее изобретение относится к области медицины, в частности к молекулярно-генетическим исследованиям, и описывает способ прогнозирования риска развития доброкачественной дисплазии молочной железы у женщин с генитальным эндометриозом, включающий выделение ДНК из периферической венозной крови, определение полиморфизма гена рецептора фактора некроза опухоли α 1-го типа (+36 A/G TNFR1), причем при выявлении генотипов +36 AA TNFR1 и +36 AG TNFR1 прогнозируют высокий риск развития доброкачественной дисплазии молочной железы при генитальном эндометриозе. Использование способа позволяет прогнозировать риск возникновения доброкачественной гиперплазии молочной железы среди больных генитальным эндометриозом и на основании этого определять дальнейшую тактику ведения пациенток с генитальным эндометриозом. Недостатком известного способа является то, что он включают данные только об одном полиморфном локусе.

В патенте RU № 2522501 (опубл. 20.07.2014) 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 прогнозирования наследственной предрасположенности к раку молочной железы. Способ характеризуется тем, 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 абберрантным профилем плавления для секвенирования, секвенируют выбранный фрагмент и при выявлении мутации гена BLM прогнозируют наследственную предрасположенность к раку молочной железы. Способ повышает точность детекции мутации, прост в исполнении и высокоинформативен: позволяет выявлять до 100% мутаций в гене BLM. Недостатком этого способа является его трудоемкость, он не учитывает роль генетических полиморфизмов.

Известен патент RU № 2795720 (опубл. 11.05.2023), в котором описан Способ прогнозирования риска развития люминального подтипа рака молочной железы, включающий выделение ДНК из периферической венозной крови, анализ полиморфных локусов гена MMP-9, 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.

Задачей настоящего исследования является расширение арсенала способов диагностики, а именно создание способа прогнозирования риска развития люминального подтипа рака молочной железы у женщин на основе данных о полиморфных маркерах rs12150660 гена SHBG - rs440837 гена ZBTB10 - rs10454142 гена PPP1R21.

Технический результат использования изобретения - получение критериев оценки повышенного риска развития люминального подтипа рака молочной железы у женщин русской национальности, уроженок Центрально - Черноземного региона РФ, на основе данных о полиморфных маркерах rs12150660 гена SHBG - rs440837 гена ZBTB10 - rs10454142 гена PPP1R21, включающий:

- выделение ДНК из периферической венозной крови;
- анализ полиморфных маркеров rs12150660 гена SHBG - rs440837 гена ZBTB10 - rs10454142 гена PPP1R21;
- прогнозирование риска развития люминального подтипа рака молочной железы у женщин при выявлении комбинации генотипов rs12150660-ТТ гена SHBG - rs440837-АА гена ZBTB10 - rs10454142-СС гена PPP1R21.

Новизна и изобретательский уровень заключаются в том, что из уровня техники не известна возможность прогнозирования риска развития люминального подтипа рака молочной железы у женщин на основе данных о комбинации генотипов rs12150660-ТТ гена SHBG - rs440837-АА гена ZBTB10 - rs10454142-СС гена PPP1R21.

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-НСl (рН=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 (рН=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 -20°C.

Анализ полиморфных маркеров rs12150660 гена SHBG - rs440837 гена ZBTB10 - rs10454142 гена PPP1R21 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 rs12150660 гена SHBG или rs440837 гена ZBTB10 или rs10454142 гена PPP1R21 - 4 мкл, Taq-полимераза - 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).

Изобретение характеризуется фигурами:

фиг. 1 - визуализация дискриминации генотипов rs12150660 SHBG (где ● - гомозиготы ТТ, ▲ - гетерозиготы GT, ■ - гомозиготы GG, ◆ - неопределённый образец);

фиг. 2 - визуализация дискриминации генотипов rs440837 ZBTB10 (где ● - гомозиготы АА, ▲ - гетерозиготы AG, ■ - гомозиготы GG, ◆ - неопределённый образец);

фиг. 3 - визуализация дискриминации генотипов rs10454142 PPP1R21 (где ● - гомозиготы ТТ, ▲ - гетерозиготы ТС, ■ - гомозиготы СС, ◆ - неопределённый образец).

На следующем этапе работы, моделировались в программном комплексе MB-MDR (доступ <https://github.com/imbs-hl/mbmdR>) межлокусные взаимодействия, имеющие 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 Бонферрони с учетом возможных комбинаций 3 рассматриваемых локусов: для 2-х локусных моделей в качестве «порогового» уровня был установлен показатель $p=0,05/36 = 1,39*10^{-3}$, для 3-х локусных - $p=0,05/84 = 5,95*10^{-4}$, для 4-х локусных - $p=0,05/126 = 3,97*10^{-4}$, для 5-ти локусных - $p=0,05/126 = 3,97*10^{-4}$. Визуализация межлокусных взаимодействий, связанных с РМЖ, была проведена с применением программы MDR (доступ <http://www.multifactorialdimensionalityreduction.org/>).

Возможность использования предложенного способа для оценки прогнозирования риска развития люминального подтипа РМЖ у женщин подтверждает анализ результатов наблюдений 1293 пациенток, из них 153 больные и 1140 пациенток контрольной группы. Возрастные характеристики больных и контроля были сопоставимы. В выборки для исследования включались: 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 люминального подтипа 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.

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 медуко-биологических дисциплин медицинского института НИУ «БелГУ».

При изучении SNP x SNP взаимодействий установлена генетическая модель, включающая наличие значимой трехлокусной модели, вовлеченную в формирование люминального подтипа РМЖ у женщин, является rs12150660 гена SHBG - rs440837 гена ZBTB10 - rs10454142 гена PPP1R21 ($p_{perm} \leq 0,001$). С развитием заболевания наиболее значимая ассоциация выявлена для комбинации генотипов rs12150660-ТТ гена SHBG - rs440837-АА гена ZBTB10 - rs10454142-СС гена PPP1R21 ($\beta=1,86$; $p=0,044$), 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 локусам rs12150660 гена SHBG - rs440837 гена ZBTB10 - rs10454142 гена PPP1R21.

У пациентки Ч. была взята венозная кровь, проведено генотипирование ДНК-маркеров, при анализе вовлеченности полиморфных маркеров rs12150660 гена SHBG - rs440837 гена ZBTB10 - rs10454142 гена PPP1R21 была выявлена комбинация генотипов rs12150660-ТТ гена SHBG - rs440837-АА гена ZBTB10 - rs10454142-СС гена PPP1R21, что позволило отнести пациентку в группу больных с повышенным риском развития люминального подтипа рака молочной железы у женщин. Дальнейшее наблюдение подтвердило диагноз рака молочной железы люминального подтипа у пациентки.

У пациентки У. была взята венозная кровь, проведено генотипирование ДНК-маркеров, при анализе вовлеченности полиморфных маркеров rs12150660 гена SHBG - rs440837 гена ZBTB10 - rs10454142 гена PPP1R21 была выявлена комбинация генотипов rs12150660-GG гена SHBG - rs440837-AG гена ZBTB10 - rs10454142-СС гена PPP1R21, что позволило отнести пациентку в группу пациентов с низким риском развития люминального подтипа РМЖ у женщин. Дальнейшее наблюдение не подтвердило диагноз у пациентки.

У пациентки П. была взята венозная кровь, проведено генотипирование ДНК-маркеров, при анализе вовлеченности полиморфных маркеров rs12150660 гена SHBG - rs440837 гена ZBTB10 - rs10454142 гена PPP1R21 была выявлена комбинация генотипов rs12150660-GT гена SHBG - rs440837-GG гена ZBTB10 - rs10454142-ТС гена PPP1R21, что позволило отнести пациентку в группу больных с низким риском развития люминального подтипа РМЖ у женщин. Дальнейшее наблюдение не подтвердило диагноз РМЖ люминального подтипа у пациентки.

У пациентки Д. была взята венозная кровь, проведено генотипирование ДНК-

маркеров, при анализе вовлеченности полиморфных маркеров rs12150660 гена SHBG - rs440837 гена ZBTB10 - rs10454142 гена PPP1R21 была выявлена комбинации генотипов rs12150660-GT гена SHBG - rs440837-AA гена ZBTB10 - rs10454142-ТТ гена PPP1R21, что позволило отнести пациентку в группу индивидуумов с низким риском развития люминального подтипа РМЖ у женщин. При дальнейшем наблюдении диагноз РМЖ у пациентки Д. не подтвердился.

У пациентки В. была взята венозная кровь, проведено генотипирование ДНК-маркеров, при анализе вовлеченности полиморфных маркеров rs12150660 гена SHBG - rs440837 гена ZBTB10 - rs10454142 гена PPP1R21 была выявлена комбинации генотипов rs12150660-ТТ гена SHBG - rs440837-AA гена ZBTB10 - rs10454142-СС гена PPP1R21, что позволило отнести пациентку в группу больных с повышенным риском развития люминального подтипа рака молочной железы у женщин, Дальнейшее наблюдение подтвердило диагноз рака молочной железы люминального подтипа у пациентки В.

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

(57) Формула изобретения

Способ прогнозирования риска развития люминального подтипа рака молочной железы у женщин русской национальности, являющихся уроженками Центрального Черноземья РФ, включающий выделение ДНК из периферической венозной крови, анализ полиморфных маркеров rs12150660 гена SHBG - rs440837 гена ZBTB10 - rs10454142 гена PPP1R21, прогнозируют высокий риск развития люминального подтипа рака молочной железы у женщин при выявлении комбинации генотипов rs12150660-ТТ гена SHBG - rs440837-AA гена ZBTB10 - rs10454142-СС гена PPP1R21.

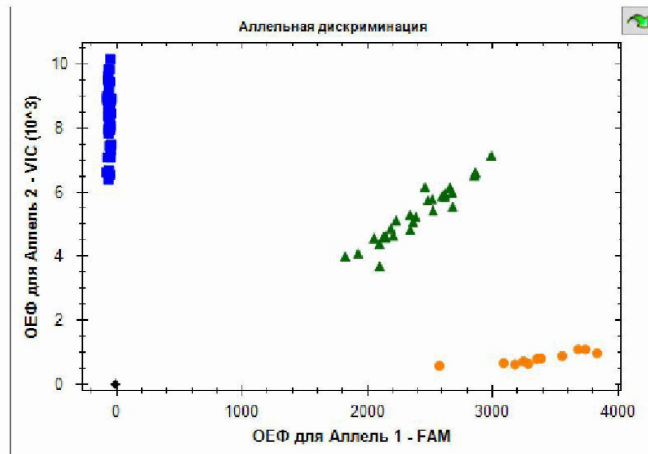
30

35

40

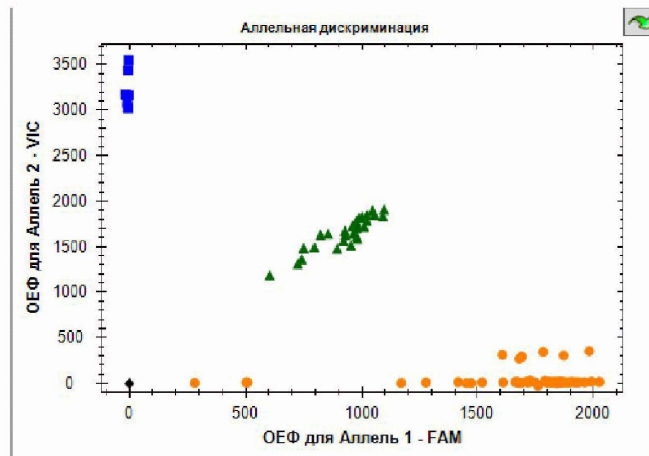
45

1

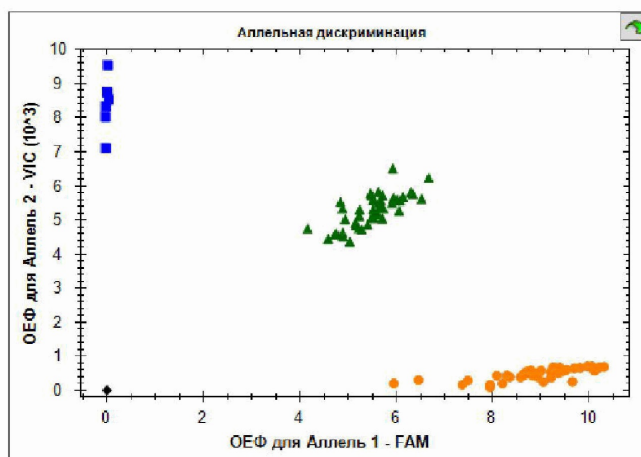


Фиг. 1

2



Фиг. 2



Фиг. 3