



(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: 2024107959, 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),  
Чурносов 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 2795726 C1, 11.05.2023. WO  
2016085944 A1, 02.06.2016. ХВОСТОВА Е.П.  
Полиморфизм генов ферментов метаболизма  
эстрогенов и молекулярная характеристика  
опухолей молочной железы и эндометрия.  
Автореф. дисс. канд. биол. наук. Новосибирск,  
2011, 26 с.

(54) Способ прогнозирования риска развития рака молочной железы у женщин без ожирения по результатам генетического тестирования

(57) Реферат:

Изобретение относится к медицине, а именно к клинической онкологии, медицинской генетике и молекулярной диагностике, и может быть использовано для прогнозирования риска развития рака молочной железы у женщин без ожирения русской национальности, являющихся уроженками Центрального Черноземья РФ. Из периферической венозной крови выделяют ДНК. Проводят анализ полиморфных маркеров rs8023580 гена NR2F2, rs4149056 гена SLCO1B1 и rs440837 гена ZBTB10. При выявлении

комбинации генотипов rs8023580-ТТ гена NR2F2 - rs4149056-ТТ гена SLCO1B1 - rs440837-GG гена ZBTB10 прогнозируют высокий риск развития рака молочной железы у женщин без ожирения. Способ обеспечивает получение новых критериев оценки повышенного риска развития рака молочной железы у женщин без ожирения русской национальности, уроженок Центрального Черноземья РФ, на основе данных о полиморфных маркерах rs8023580 NR2F2, rs4149056 SLCO1B1 и rs440837 ZBTB10. 3 ил., 5

пр.

R U 2 8 2 8 5 2 5 C 1

R U 2 8 2 8 5 2 5 C 1



(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: **2024107959, 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 BREAST CANCER IN WOMEN WITHOUT OBESITY BY RESULTS OF GENETIC TESTING**

(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 breast cancer in women without obesity of Russian nationality, which 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 rs8023580 of the NR2F2 gene, rs4149056 of the SLCO1B1 gene and rs440837 of the ZBTB10 gene. When detecting a combination of genotypes rs8023580-TT of the NR2F2

gene – rs4149056-TT of the SLCO1B1 gene – rs440837-GG of the ZBTB10 gene high risk of developing breast cancer in women without obesity is predicted.

EFFECT: method provides obtaining new criteria for assessing an increased risk of developing breast cancer in women without obesity of Russian nationality, natives of the Central Black Earth Region of the Russian Federation, based on data on polymorphic markers rs8023580 NR2F2, rs4149056 SLCO1B1 and rs440837 ZBTB10.

1 cl, 3 dwg, 5 ex

Изобретение относится к области медицины, в частности, к клинической онкологии, медицинской генетике, молекулярной диагностике, и может быть использовано для прогнозирования риска развития рака молочной железы у женщин без ожирения по результатам генетического тестирования.

5 Рак молочной железы является наиболее распространенным онкологическим заболеванием у женщин во всем мире [Информационные материалы ВОЗ, 2023. <https://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/breast-cancer>]. На сегодня, есть множество данных, показывающих влияние образа жизни и факторов окружающей среды на развитие рака молочной железы. К таким факторам можно отнести диету с высоким содержанием жиров, употребление алкоголя, недостаточная физическая активность. Эти факторы поддаются коррекции, что влечет за собой снижение заболеваемости и смертности [А.Б. Шертаева, Д.А. Оспанова, А.М. Гржибовский, А.С. Аубакирова, Т.Р. Фазылов. Факторы риска развития рака молочной железы / Вестник КазНМУ №1.- 2022. С. 192-202].

15 Известно, что генетические факторы и факторы окружающей среды, действующие вместе, значительно повышают риск заболеваемости раком молочной железы. К факторам окружающей среды и поведенческим факторам зачастую относят: ионизирующее излучение, гормональная терапия, репродуктивное поведение (например, поздний возраст первых родов) [Powell M, Jamshidian F, Cheyne K, Nititham J, Prebil LA, Ereman R. Assessing breast cancer risk models in Marin County, a population with high rates of delayed childbirth. Clin Breast Cancer. 2014;14(3):212-220.e1. doi:10.1016/j.clbc.2013.11.003], алкоголь, диетические факторы, ожирение и недостаточная физическая активность [Coughlin SS, Smith SA. The Impact of the Natural, Social, Built, and Policy Environments on Breast Cancer. J Environ Health Sci. 2015;1(3):10.15436/2378-6841.15.020. doi:10.15436/2378-6841.15.020]. Чрезмерное употребление калорийных блюд ведет к увеличению веса и, в конечном итоге, к ожирению, которое связано с повышенным риском развития рака [Davoodi SH, Malek-Shahabi T, Malekshahi-Moghadam A, Shahbazi R, Esmaeili S. Obesity as an important risk factor for certain types of cancer. Iran J Cancer Prev. 2013;6(4):186-194].

Ожирением, определяемым сегодня как индекс массы тела (ИМТ)  $>30 \text{ кг / м}^2$ , страдают более 13 % взрослого населения планеты, что составляет более 600 млн человек [World Health Organization. Obesity and overweight. World Health Organization, 2017. Available at: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>]. Избыточная масса тела и ожирение связаны с повышенным риском развития рака пищевода, желудка, щитовидной железы, толстой кишки, поджелудочной железы, прямой кишки, матки, предстательной железы, желчного пузыря, яичников, молочной железы [World Cancer Research Fund (WCRF). Continuous Update Project: 2016. London: WCRF International, 2016.]. Увеличение ИМТ на 5 кг / м<sup>2</sup> повышает риск развития рака молочной железы на 12 % [Renehan A.G., Tyson M., Egger M. et al. Body-mass index and incidence of cancer: A systematic review and meta-analysis of prospective observational studies. Lancet 2008;371:569–78]. Женщины с избыточной массой тела и РМЖ имеют худшие результаты онкоспецифической выживаемости [Protani M., Coory M., Martin J.H. Effect of obesity on survival of women with breast cancer: Systematic review and meta-analysis. Breast Cancer Res Treat 2010;123:627–35.]. Ожирение связано с повышением риска смерти от РМЖ как в пре-, так и в постменопаузе [Chan D.S., Vieira A.R., Aune D. et al. Body mass index and survival in women with breast cancer – systematic literature review and meta-analysis of 82 follow-up studies. Ann Oncol 2014;25:1901–14].

РМЖ с генетических позиций (близнецовые, семейные, ассоциативные, полно-геномные (GWAS) исследования) активно изучается в последние десятилетия. По этому

вопросу накоплен значительный фактический материал, убедительно показывающий существенный вклад наследственных факторов в подверженность к заболеванию. Согласно данным крупномасштабных близнецовых исследований, выполненных в европейских популяциях и включающих материалы о нескольких сотнях [Mucci LA, Hjelmborg JB, Harris JR, et al. Familial Risk and Heritability of Cancer Among Twins in Nordic Countries [published correction appears in JAMA. 2016 Feb 23;315(8):822]. JAMA. 2016;315(1):68-76. doi:10.1001/jama.2015.17703] тысяч пар близнецов, вклад «генетики» в развитие РМЖ составляет 31%.

В Российской Федерации исследования вовлеченности полиморфных маркеров rs8023580 гена NR2F2 - rs4149056 гена SLCO1B1 - rs440837 гена ZBTB10 в формирование предрасположенности к РМЖ у женщин без ожирения по результатам генетического тестирования единичны и фрагментарны, а данные о роли полиморфных маркеров rs8023580 гена NR2F2 - rs4149056 гена SLCO1B1 - rs440837 гена ZBTB10 в развитии рака молочной железы у женщин без ожирения по результатам генетического тестирования 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 рака молочной железы у женщин без ожирения по результатам генетического тестирования. 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 рака молочной железы у женщин без ожирения на основе данных о полиморфных маркерах rs8023580 гена NR2F2 - rs4149056 гена SLCO1B1 - rs440837 гена ZBTB10.

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 $\alpha$ -гидроксиэстрон (16 $\alpha$ -ОНЕ1), рассчитывают их соотношение 2-ОНЕ1/16 $\alpha$ -ОНЕ1. Если выявляют значение индекса 2-ОНЕ1/16 $\alpha$ -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 $\alpha$ -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  $\alpha$  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 aberrантным 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 №2795726 (опубл. 11.05.2023), в котором описан Способ прогнозирования риска развития рака молочной железы у женщин без ожирения. Способ включает: выделение ДНК из периферической венозной крови, анализ генетических полиморфизмов rs3918242-rs3918249-rs17576 гена MMP-9, которые являются прогностически значимыми факторами развития РМЖ. Гаплотип ССА полиморфных локусов rs3918242-rs3918249-rs17576 гена MMP-9 является фактором риска развития рака молочной железы у женщин без ожирения.

Задачей настоящего исследования является расширение арсенала способов диагностики, а именно создание способа прогнозирования риска развития рака молочной железы у женщин без ожирения на основе данных о полиморфных маркерах rs8023580 гена NR2F2 - rs4149056 гена SLCO1B1 - rs440837 гена ZBTB10.

Технический результат использования изобретения – получение критериев оценки повышенного риска развития рака молочной железы у женщин без ожирения русской национальности, уроженок Центрально – Черноземного региона РФ, на основе данных о полиморфных маркерах rs8023580 гена NR2F2 - rs4149056 гена SLCO1B1 - rs440837 гена ZBTB10, включающий:

- выделение ДНК из периферической венозной крови;
- анализ полиморфных маркеров rs8023580 гена NR2F2 - rs4149056 гена SLCO1B1 - rs440837 гена ZBTB10;
- прогнозирование риска развития рака молочной железы у женщин без ожирения при выявлении комбинации генотипов rs8023580-ТТ гена NR2F2 - rs4149056-ТТ гена SLCO1B1 - rs440837-GG гена ZBTB10.

Новизна и изобретательский уровень заключаются в том, что из уровня техники не известна возможность прогнозирования риска развития рака молочной железы у женщин без ожирения на основе данных о комбинации генотипов rs8023580-ТТ гена NR2F2 - rs4149056-ТТ гена SLCO1B1 - rs440837-GG гена ZBTB10.

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 MgCl<sub>2</sub>, 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<sup>0</sup>С.

Анализ полиморфных маркеров rs8023580 гена NR2F2 - rs4149056 гена SLCO1B1 - rs440837 гена ZBTB10 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 rs8023580 гена NR2F2 или rs4149056 гена SLCO1B1 или rs440837 гена ZBTB10 – 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).

Изобретение характеризуется фигурами:

Фиг. 1 – Визуализация дискриминации генотипов rs8023580 NR2F2 (где ● - гомозиготы ТТ, ▲ - гетерозиготы ТС, ■ - гомозиготы СС, ◆ - неопределённый образец).

Фиг. 2 – Визуализация дискриминации генотипов rs4149056 SLCO1B1 (где ● - гомозиготы ТТ, ▲ - гетерозиготы ТС, ■ - гомозиготы СС, ◆ - неопределённый образец)

Фиг. 3. – Визуализация дискриминации генотипов rs440837 ZBTB10 (где ● - гомозиготы АА, ▲ - гетерозиготы АГ, ■ - гомозиготы GG, ◆ - 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 9 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 РМЖ у женщин без ожирения подтверждает анализ результатов наблюдений 1126 пациенток без ожирения, из них 239 больные и 887 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 (Чурносков 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 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. осмотров).

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 изучении SNP x SNP взаимодействий установлена генетическая модель, включающая наличие значимой трехлокусной модели, вовлеченную в формирование РМЖ у женщин без ожирения, является rs8023580 гена NR2F2 - rs4149056 гена SLCO1B1 - rs440837 гена ZBTB10 ( $p_{perm} \leq 0,001$ ). С развитием заболевания наиболее значимая ассоциация выявлена для комбинации генотипов rs8023580-ТТ гена NR2F2 - rs4149056-ТТ гена SLCO1B1 - rs440837-GG гена ZBTB10 ( $\beta=1,154$ ;  $p=0,023$ ), 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 - rs4149056 гена SLCO1B1 - rs440837 гена ZBTB10.

У пациентки С. была взята венозная кровь, проведено генотипирование ДНК-маркеров, при анализе вовлеченности полиморфных маркеров rs8023580 гена NR2F2 - rs4149056 гена SLCO1B1 - rs440837 гена ZBTB10 была выявлена комбинация генотипов rs8023580-ТТ гена NR2F2 - rs4149056-ТТ гена SLCO1B1 - rs440837-GG гена ZBTB10, что позволило отнести пациентку в группу больных с повышенным риском развития РМЖ у женщин без ожирения. Дальнейшее наблюдение подтвердило диагноз РМЖ у пациентки.

У пациентки Б. была взята венозная кровь, проведено генотипирование ДНК-маркеров, при анализе вовлеченности полиморфных маркеров rs8023580 гена NR2F2 - rs4149056 гена SLCO1B1 - rs440837 гена ZBTB10 была выявлена комбинация генотипов rs8023580-ТС гена NR2F2 - rs4149056-ТС гена SLCO1B1 - rs440837-AG гена ZBTB10, что позволило отнести пациентку в группу пациентов с низким риском развития РМЖ у женщин без ожирения. Дальнейшее наблюдение не подтвердило диагноз у пациентки.

У пациентки Я. была взята венозная кровь, проведено генотипирование ДНК-маркеров, при анализе вовлеченности полиморфных маркеров rs8023580 гена NR2F2 - rs4149056 гена SLCO1B1 - rs440837 гена ZBTB10 была выявлена комбинация генотипов rs8023580-СС гена NR2F2 - rs4149056-ТС гена SLCO1B1 - rs440837-AG гена ZBTB10, что позволило отнести пациентку в группу больных с низким риском развития РМЖ у женщин без ожирения. Дальнейшее наблюдение не подтвердило диагноз РМЖ у

пациентки.

У пациентки Х. была взята венозная кровь, проведено генотипирование ДНК-маркеров, при анализе вовлеченности полиморфных маркеров rs8023580 гена NR2F2 - rs4149056 гена SLCO1B1 - rs440837 гена ZBTB10 была выявлена комбинация генотипов rs8023580-ТТ гена NR2F2 - rs4149056-ТТ гена SLCO1B1 - rs440837-GG гена ZBTB10, что позволило отнести пациентку в группу больных с повышенным риском развития РМЖ у женщин без ожирения. Дальнейшее наблюдение подтвердило диагноз РМЖ у пациентки Х.

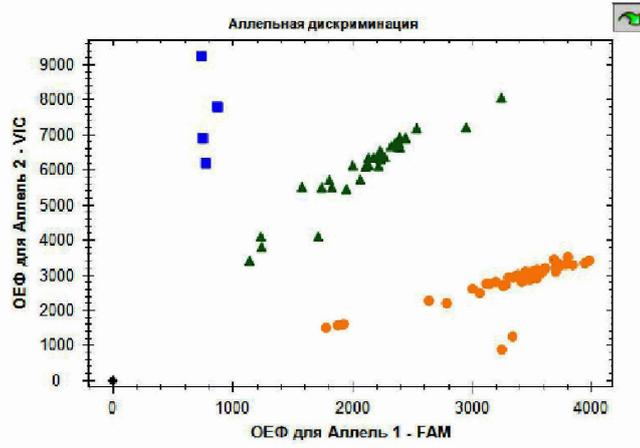
У пациентки И. была взята венозная кровь, проведено генотипирование ДНК-маркеров, при анализе вовлеченности полиморфных маркеров rs8023580 гена NR2F2 - rs4149056 гена SLCO1B1 - rs440837 гена ZBTB10 была выявлена комбинация генотипов rs8023580-СС гена NR2F2 - rs4149056-СС гена SLCO1B1 - rs440837-АА гена ZBTB10, что позволило отнести пациентку в группу индивидуумов с низким риском развития РМЖ у женщин без ожирения. При дальнейшем наблюдении диагноз РМЖ у пациентки И. не подтвердился.

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 РМЖ у женщин без ожирения.

#### (57) Формула изобретения

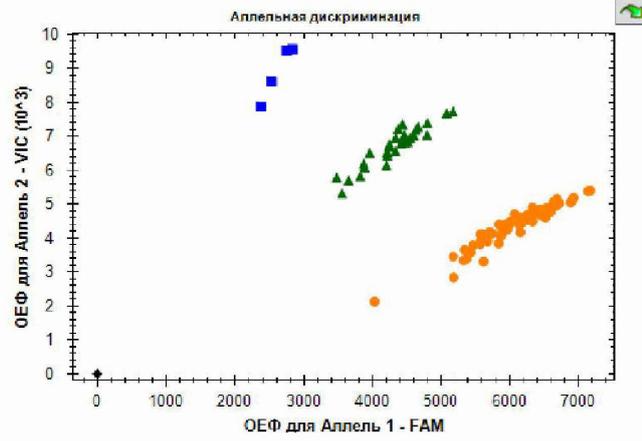
Способ прогнозирования риска развития рака молочной железы у женщин без ожирения русской национальности, являющихся уроженками Центрального Черноземья РФ, включающий выделение ДНК из периферической венозной крови, анализ полиморфных маркеров rs8023580 гена NR2F2 - rs4149056 гена SLCO1B1 - rs440837 гена ZBTB10, прогнозируют высокий риск развития рака молочной железы у женщин без ожирения при выявлении комбинации генотипов rs8023580-ТТ гена NR2F2 - rs4149056-ТТ гена SLCO1B1 - rs440837-GG гена ZBTB10.

1

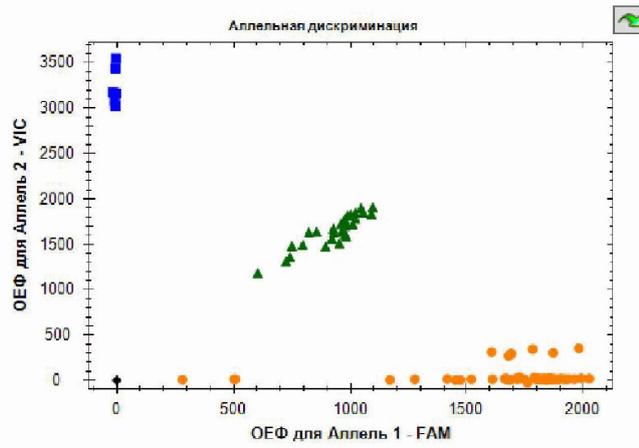


Фиг. 1

2



Фиг. 2



Фиг. 3