



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(52) СПК

C12Q 1/68 (2024.01); C12Q 1/6886 (2024.01); C12Q 1/686 (2024.01)

(21)(22) Заявка: 2023129726, 16.11.2023

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
16.11.2023Дата регистрации:
25.03.2024

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 16.11.2023

(45) Опубликовано: 25.03.2024 Бюл. № 9

Адрес для переписки:

308015, г.Белгород, ул. Победы, 85, НИУ
"БелГУ", Шевцовой Ирине Владимировне

(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: RU2723585 C2, 16.06.2020. RU2795897
C1, 15.05.2023. STEFANIE H MUELLER et al.
Aggregation tests identify new gene associations
with breast cancer in populations with diverse
ancestry, *Genome Med.*, 26.01.2023, vol. 15, article
number 7. ИСАКОВА Ж.Т. и др. Ассоциация
полиморфных маркеров Arg399Gln гена *xgcc1*,
Arg72Pro гена *tp53* и T309G гена *Mdm2* с (см.
прод.)

(54) Способ прогнозирования риска развития рака молочной железы у женщин на основе данных о межлокусных взаимодействиях

(57) Реферат:

Изобретение относится к области биотехнологии, в частности к способу прогнозирования риска развития рака молочной железы у женщин русской национальности, уроженок Центрально-Черноземного района России, на основе данных о межлокусных взаимодействиях. Способ включает анализ полиморфных маркеров rs4149056 гена *SLCO1B1* - rs440837 гена *ZBTB10* - rs10454142 гена *PPP1R21*.При выявлении комбинации генотипов rs4149056-CC гена *SLCO1B1* - rs440837-AA гена *ZBTB10* - rs10454142-CC гена *PPP1R21* прогнозируют высокий риск развития рака молочной железы. Изобретение эффективно для оценки риска развития рака молочной железы на основе данных о межлокусных взаимодействиях. 3 ил., 1 пр.

(56) (продолжение):

раком молочной железы у женщин кыргызской популяции, Рос. онкол. журнал, 2016, том 21, номер 3, стр. 131-135. RU2522501 C1, 20.07.2014.

R U 2 8 1 5 9 3 2 C 1

R U 2 8 1 5 9 3 2 C 1



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(51) Int. Cl.
C12Q 1/68 (2006.01)
C12Q 1/6886 (2018.01)
C12Q 1/686 (2018.01)

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

(52) CPC
C12Q 1/68 (2024.01); C12Q 1/6886 (2024.01); C12Q 1/686 (2024.01)

(21)(22) Application: **2023129726, 16.11.2023**

(24) Effective date for property rights:
16.11.2023

Registration date:
25.03.2024

Priority:

(22) Date of filing: **16.11.2023**

(45) Date of publication: **25.03.2024** Bull. № 9

Mail address:
**308015, g.Belgorod, ul. Pobedy, 85, NIU "BelGU",
Shevtsovoj Irine Vladimirovne**

(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 BREAST CANCER IN WOMEN BASED ON DATA ON INTERLOCUS INTERACTIONS**

(57) Abstract:

FIELD: biotechnology.

SUBSTANCE: invention relates to the field of biotechnology, in particular to a method for predicting the risk of developing breast cancer in Russian women, natives of the Central Black Earth Region of Russia, based on data on interlocus interactions. Method involves analysis of polymorphic markers rs4149056 of gene SLCO1B1 – rs440837 of gene ZBTB10 – rs10454142 of gene PPP1R21. When detecting a

combination of genotypes rs4149056-CC of gene SLCO1B1 – rs440837-AA of gene ZBTB10 – rs10454142-CC of gene PPP1R21, high risk of developing breast cancer is predicted.

EFFECT: invention is effective for assessing the risk of developing breast cancer based on data on interlocus interactions.

1 cl, 3 dwg, 1 ex

RU 2 815 932 C1

RU 2 815 932 C1

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 на основе данных о межлокусных взаимодействиях.

5 Рак молочной железы (РМЖ) представляет собой наиболее распространенную злокачественную опухоль у женского населения, происходящую из эпителия молочной железы [Giaquinto AN, Sung H, Miller KD, et al. Breast Cancer Statistics, 2022. CA Cancer J Clin. 2022;72(6):524-541. doi:10.3322/caac.21754]. Согласно статистическим материалам Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) РМЖ является наиболее частым раком
10 - в 2020 г. в мире на учете состояло 7,8 миллионов женщин, у которых за последние пять лет было диагностировано данное заболевание и число утраченных лет здоровой жизни (DALYs) женщин с этим диагнозом в мире превышает аналогичный показатель в отношении любого другого вида рака [Информационные материалы ВОЗ, 2023. <https://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/breast-cancer>].

15 В Российской Федерации РМЖ так же является приоритетной медицинской проблемой [Здравоохранение в России. 2021: Стат.сб./Росстат. - М., 3-46 2021. - 171 с.] - занимает первое место в структуре онкологической патологии у женского населения (22,1%, 2021г.), при чем максимальные значения этот показатель имеет среди женщин в возрасте 30-59 лет (29,0%) [Злокачественные новообразования в России в 2021 году
20 (заболеваемость и смертность)/ Под ред. А.Д. Каприна, В.В. Старинского, А.О. Шахзадовой - М.: МНИОИ им. П.А. Герцена - филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, - 2022. - 252 с.]. За 10-летний период (2011-2021 гг.) показатель заболеваемости РМЖ у женского населения РФ увеличился с 74,87 до 89,25 на 100 тыс. населения (прирост составил 18,98% при среднегодовом темпе прироста 1,72%)
25 [Злокачественные новообразования в России в 2021 году (заболеваемость и смертность)/ Под ред. А.Д. Каприна, В.В. Старинского, А.О. Шахзадовой - М.: МНИОИ им. П.А. Герцена - филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, - 2022. - 252 с.]. В 2021 г в структуре причин смертности женского населения от злокачественных новообразований РМЖ занимает первую позицию, и его доля составляет 15,8%
30 [Злокачественные новообразования в России в 2021 году (заболеваемость и смертность)/ Под ред. А.Д. Каприна, В.В. Старинского, А.О. Шахзадовой - М.: МНИОИ им. П.А. Герцена - филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, - 2022. - 252 с.]. Согласно прогнозам ВОЗ (данные Global Cancer Observatory) среди женщин РФ в ближайшие 20 лет (2020-2040 гг) число заболевших РМЖ увеличится в 1,37 раза (с 75,1 тыс. до 102,8 тыс.) а количество умерших от РМЖ возрастет в 1,49 раза (с 23,1 тыс. до 34,5 тыс.) [<https://gco.iarc.fr>].

РМЖ является гормон-зависимым заболеванием, в патофизиологии которого широко «задействованы» половые гормоны (эстрогены, тестостерон, прогестерон и др.) [Tang SN, Zuber V, Tsilidis KK. Identifying and ranking causal biochemical biomarkers for breast
40 cancer: a Mendelian randomisation study. BMC Med. 2022;20(1):457. Published 2022 Nov 23. doi:10.1186/s12916-022-02660-2]. Считается, что более высокий уровень половых гормонов повышает риск развития РМЖ, однако, эти взаимосвязи (наличие/направленность) зависят от пре-/пост-менопаузального статуса, индекса массы тела (ИМТ) женщины, рецепторного статуса опухоли и др. [Chen F, Wen W, Long J, et al. Mendelian randomization analyses of 23 known and suspected risk factors and biomarkers for breast cancer overall and by molecular subtypes. Int J Cancer. 2022;151(3):372-380. doi:10.1002/ijc.34026]. В регуляцию концентрации биодоступных тестостерона и эстрадиола вовлечен глобулин,
45 связывающий половые гормоны (SHBG), высокий уровень которого в организме

приводит к снижению содержания свободных («активных») половых гормонов [Qu X, Donnelly R. Sex Hormone-Binding Globulin (SHBG) as an Early Biomarker and Therapeutic Target in Polycystic Ovary Syndrome. *Int J Mol Sci.* 2020;21(21):8191. Published 2020 Nov 1. doi:10.3390/ijms21218191], что имеет важное значение для патофизиологии РМЖ [He XY, Liao YD, Yu S, Zhang Y, Wang R. Sex hormone binding globulin and risk of breast cancer in postmenopausal women: a meta-analysis of prospective studies. *Horm Metab Res.* 2015;47(7):485-490. doi:10.1055/s-0034-1395606].

В мировой литературе представлено достаточно большое количество генетико-эпидемиологических исследований (более 50), посвященных изучению роли функционально значимых полиморфизмов в формировании РМЖ в различных этно-территориальных группах народонаселения. Однако, несмотря на это, полученные в результате проведенных исследований результаты, нередко неоднозначны, а для отдельных полиморфных локусов - противоречивы.

В Российской Федерации исследования вовлеченности rs4149056 гена SLCO1B1 - rs440837 гена ZBTB10 - rs10454142 гена PPP1R21 в формирование предрасположенности к РМЖ у женщин единичны и фрагментарны, а данные о роли полиморфных маркеров rs4149056 SLCO1B1 - rs440837 ZBTB10 - rs10454142 PPP1R21 в развитии рака молочной железы 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 на основе молекулярно-генетических данных в зависимости от полиморфных маркеров rs4149056 SLCO1B1 - rs440837 ZBTB10 - rs10454142 PPP1R21. 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 рака молочной железы на основе данных о полиморфных маркерах rs4149056 SLCO1B1 - rs440837 ZBTB10 - rs10454142 PPP1R21.

Известен патент RU №2741232 (опубл. 22.01.2021) 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. 27.10.2008), 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

10 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

15 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

20 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)

25 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.

30 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, эстрогена и эстрадиола в моче, вычисляют

35 соотношение эстриола к эстрогену 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

40 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

45 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. Недостатком этого способа является его трудоемкость, он не учитывает роль генетических полиморфизмов.

5 Известен патент RU №2204836 (опубл. 20.05.2003), описывающий 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
10 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
15 активности MAO-B в период генерализации процесса при наличии отдаленных метастазов, что делает невозможным применение способа в ранней диагностике рака молочной железы.

Известен патент РФ №2 631940 (опубл. 28.09.2017), в котором описан способ прогнозирования рака молочной железы. Сущность способа заключается в том, что
20 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),
25 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. 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
30 риск рака молочной железы. Недостатком способа является сложность расчетов и не учитываются генетические факторы.

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
35 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
40 применение только для коренных жителей Республики Башкортостан и Ханты-Мансийского автономного округа.

Задачей настоящего исследования является расширение арсенала способов диагностики, а именно создание способа прогнозирования повышенного риска развития рака молочной железы у женщин на основе данных о межлокусных взаимодействиях
45 полиморфных маркеров rs4149056 гена SLCO1B1 - rs440837 гена ZBTB10 - rs10454142 гена PPP1R21.

Технический результат использования изобретения - получение критериев оценки повышенного риска развития рака молочной железы у женщин русской национальности,

уроженок Центрально - Черноземного региона РФ, на основе данных о полиморфных маркерах rs4149056 гена SLCO1B1 - rs440837 гена ZBTB10 - rs10454142 гена PPP1R21, включающий:

- выделение ДНК из периферической венозной крови;

5 - анализ полиморфных маркеров rs4149056 гена SLCO1B1 - rs440837 гена ZBTB10 - rs10454142 гена PPP1R21;

- прогнозирование высокого риска развития рака молочной железы у женщин при выявлении комбинации генотипов rs4149056-CC гена SLCO1B1 - rs440837-AA гена ZBTB10 - rs10454142-CC гена PPP1R21.

10 Новизна и изобретательский уровень заключаются в том, что из уровня техники не известна возможность прогнозирования риска развития рака молочной железы у пациенток на основе данных о комбинации генотипов rs4149056-CC гена SLCO1B1 - rs440837-AA гена ZBTB10 - rs10454142-CC гена PPP1R21.

Способ осуществляют следующим образом:

15 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-
20 100, 5мМ MgCl₂, 10мМ трис-НСl (рН=7,6). Полученную смесь перемешивают и центрифугируют при 4°С, 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°С в течение 16 часов.

25 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
30 растворяют в бидистиллированной, деионизованной воде и хранят при -20°С.

Анализ полиморфных маркеров rs4149056 гена SLCO1B1 - 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»
35 (Ульяновск)).

Аmplification геномной ДНК производилась в реакционной смеси, суммарным объемом 10 мкл, включающей смесь для ПЦР rs4149056 гена SLCO1B1 или rs440837 гена ZBTB10 или rs10454142 гена PPP1R21 - 4 мкл, Taq-полимеразу - 2 мкл, исследуемый образец (~30 нг ДНК/мкл) - 1 мкл, деионизованная вода - 3мкл.

40 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:

45 Фигура 1 - Визуализация дискриминации генотипов rs4149056 SLCO1B1 (где ● - гомозиготы ТТ, ▲ - гетерозиготы ТС, ■ - гомозиготы СС, ◆ - неопределённый образец).

Фигура 2 - Визуализация дискриминации генотипов rs440837 ZBTB10 (где ● - гомозиготы АА, ▲ - гетерозиготы АG, ■ - гомозиготы GG, ◆ - неопределённый образец).

Фигура 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 5 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 10 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 15 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 на основе данных о межлокусных взаимодействиях подтверждает анализ результатов наблюдений 1498 пациенток, из них 358 больные с 20 раком молочной железы и 1140 женщин контрольной группы (Таблица 1). 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 25 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 30 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-анамнестических признаков РМЖ) проводилось на базе перинатального центра БОКБ Святителя Иоасафа 35 (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 40 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 на основе данных о межлокусных взаимодействиях, является rs4149056 гена SLCO1B1 - rs440837 гена ZBTB10 - rs10454142 гена PPP1R21 ($p_{perm} \leq 0,001$). С 45 развитием заболевания наиболее значимая ассоциация выявлена для комбинации rs4149056-CC гена SLCO1B1 - rs440837-AA гена ZBTB10 - rs10454142-CC гена PPP1R21 ($\beta=3,756$; $p=0,016$), 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 rs4149056 гена SLCO1B1 - rs440837 гена ZBTB10 - rs10454142 гена PPP1R21.

5 У пациентки У. была взята венозная кровь, проведено генотипирование ДНК-маркеров, при анализе вовлеченности полиморфных маркеров rs4149056 гена SLCO1B1 - rs440837 гена ZBTB10 - rs10454142 гена PPP1R21 была выявлена комбинации генотипов rs4149056-CC гена SLCO1B1 - rs440837-AA гена ZBTB10 - rs10454142-CC гена PPP1R21, что позволило отнести пациентку в группу больных с высоким риском развития рака
10 молочной железы у женщин. Дальнейшее наблюдение подтвердило диагноз рака молочной железы у пациентки.

У пациентки Ф. была взята венозная кровь, проведено генотипирование ДНК-маркеров, при анализе вовлеченности полиморфных маркеров rs4149056 гена SLCO1B1 - rs440837 гена ZBTB10 - rs10454142 гена PPP1R21 была выявлена комбинации генотипов
15 rs4149056-TC гена SLCO1B1 - rs440837-AG гена ZBTB10 - rs10454142-TC гена PPP1R21, что позволило отнести пациентку в группу пациенток с низким риском развития рака молочной железы у женщин. Дальнейшее наблюдение не подтвердило диагноз у пациентки.

У пациентки В. была взята венозная кровь, проведено генотипирование ДНК-маркеров, при анализе вовлеченности полиморфных маркеров rs4149056 гена SLCO1B1 - rs440837 гена ZBTB10 - rs10454142 гена PPP1R21 была выявлена комбинации генотипов
20 rs4149056-TT гена SLCO1B1 - rs440837-AA гена ZBTB10 - rs10454142-TT гена PPP1R21, что позволило отнести пациентку в группу больных с низким риском развития рака молочной железы у женщин. Дальнейшее наблюдение не подтвердило диагноз рака
25 молочной железы у пациентки.

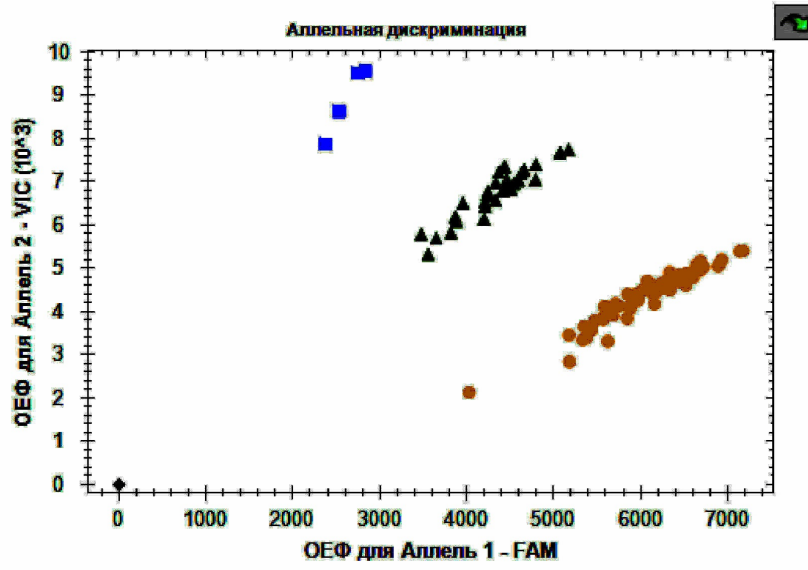
У пациентки Р. была взята венозная кровь, проведено генотипирование ДНК-маркеров, при анализе вовлеченности полиморфных маркеров rs4149056 гена SLCO1B1 - rs440837 гена ZBTB10 - rs10454142 гена PPP1R21 была выявлена комбинации генотипов
30 rs4149056-CC гена SLCO1B1 - rs440837-GG гена ZBTB10 - rs10454142-TC гена PPP1R21, что позволило отнести пациентку в группу индивидуумов с низким риском развития рака молочной железы у женщин. 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
35 лечебно-профилактические мероприятия по предупреждению развития рака молочной железы у женщин на основе данных о межлокусных взаимодействиях.

(57) Формула изобретения

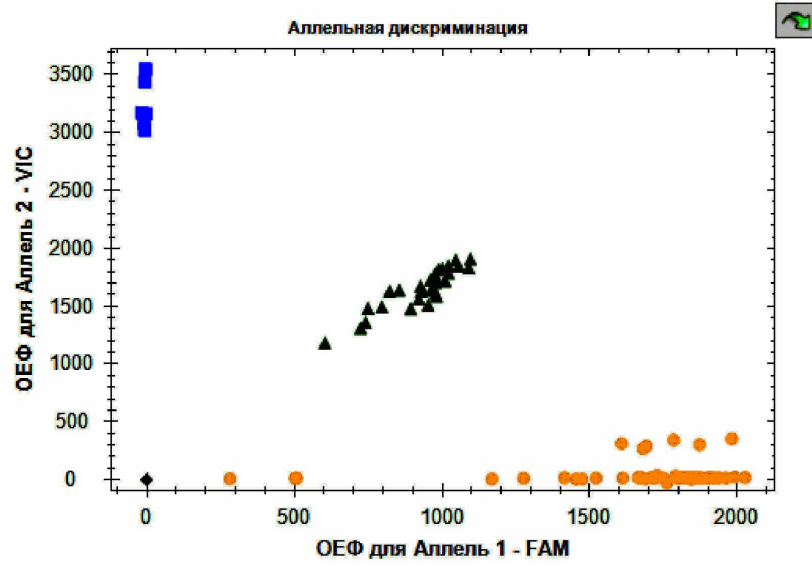
Способ прогнозирования риска развития рака молочной железы у женщин на основе
40 данных о межлокусных взаимодействиях, включающий выделение ДНК из периферической венозной крови, анализ полиморфных маркеров rs4149056 гена SLCO1B1 - rs440837 гена ZBTB10 - rs10454142 гена PPP1R21, прогнозирование высокого риска развития рака молочной железы у женщин на основе данных о межлокусных взаимодействиях при выявлении комбинации генотипов rs4149056-CC гена SLCO1B1 -
45 rs440837-AA гена ZBTB10 - rs10454142-CC гена PPP1R21.

1

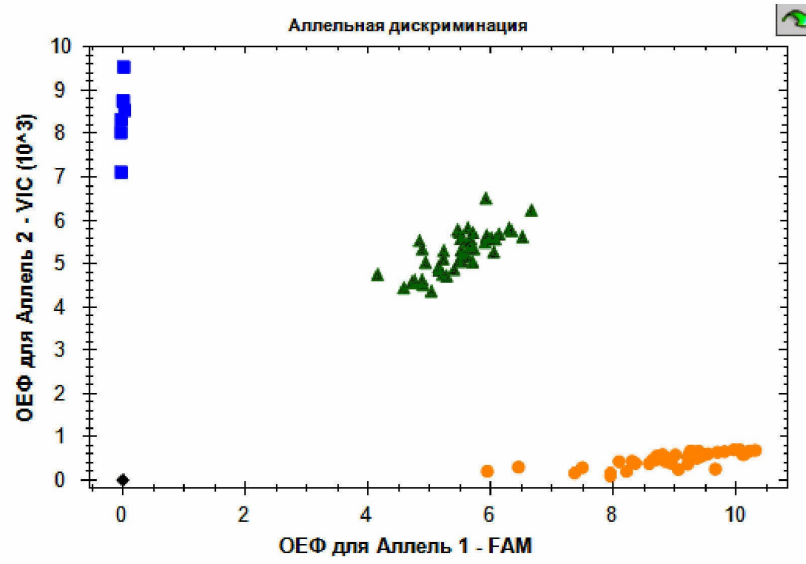


Фиг. 1

2



Фиг. 2



Фиг. 3