



(51) МПК  
*G01N 33/58* (2006.01)  
*G01N 33/49* (2006.01)  
*C12Q 1/6806* (2018.01)  
*C12Q 1/686* (2018.01)  
*C12Q 1/6876* (2018.01)

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА  
 ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(52) СПК

*G01N 33/582* (2021.08); *G01N 33/49* (2021.08); *C12Q 1/6806* (2021.08); *C12Q 1/686* (2021.08); *C12Q 1/6876* (2021.08)

(21)(22) Заявка: 2021108253, 29.03.2021

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:  
29.03.2021

Дата регистрации:  
01.12.2021

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 29.03.2021

(45) Опубликовано: 01.12.2021 Бюл. № 34

Адрес для переписки:

308015, Белгородская обл., г. Белгород, ул.  
Победы, 85, НИУ "БелГУ", ОИС, Токтаревой  
Т.М.

(72) Автор(ы):

Чурносов Михаил Иванович (RU),  
Свинарева Дина Ильсуровна (RU),  
Елыкова Анна Владимировна (RU),  
Рудых Наталья Александровна (RU),  
Пономаренко Ирина Васильевна (RU)

(73) Патентообладатель(и):

федеральное государственное автономное  
образовательное учреждение высшего  
образования "Белгородский государственный  
национальный исследовательский  
университет" (НИУ "БелГУ") (RU)

(56) Список документов, цитированных в отчете  
о поиске: RU 2483306 C1, 27.05.2013. RU  
2592205 C1, 20.07.2016. СВИНАРЕВА Д.И. и  
др. Роль матриксных металлопротеиназ в  
патогенезе первичной открытоугольной  
глаукомы. Вестник офтальмологии. 2020;  
136(4): 146-150. Принята к печати 08.07.2019.  
ZHAO F. et al. Role of matrix metalloproteinase-  
9 gene polymorphisms in glaucoma: A hospital-  
based study in Chinese (см. прод.)

(54) Способ прогнозирования риска развития первичной открытоугольной глаукомы без синдрома эксфолиации с использованием данных о полиморфизме генов матриксных металлопротеиназ

(57) Реферат:

Изобретение относится к области медицины. Предложен способ прогнозирования риска развития первичной открытоугольной глаукомы (ПОУГ) без эксфолиативного синдрома у уроженцев Центрально-Черноземного региона РФ русской национальности. Из периферической венозной крови выделяют ДНК. Проводят анализ генетических маркеров матриксных металлопротеиназ. При выявлении гаплотипа GGG по локусу rs17576, и rs3787268, и rs2250889

гена MMP9 прогнозируют высокий риск развития ПОУГ без эксфолиативного синдрома. Изобретение обеспечивает получение новых критериев оценки риска развития ПОУГ без эксфолиативного синдрома у индивидуумов русской национальности, уроженцев Центрально-Черноземного региона РФ из Белгородской, Курской, Воронежской, Тамбовской и Липецкой областей. 3 ил., 2 пр.

(56) (продолжение):

patients. J Clin Lab Anal. 2020 Mar; 34(3): e23105.



FEDERAL SERVICE  
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(51) Int. Cl.  
*G01N 33/58* (2006.01)  
*G01N 33/49* (2006.01)  
*C12Q 1/6806* (2018.01)  
*C12Q 1/686* (2018.01)  
*C12Q 1/6876* (2018.01)

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

(52) CPC

*G01N 33/582* (2021.08); *G01N 33/49* (2021.08); *C12Q 1/6806* (2021.08); *C12Q 1/686* (2021.08); *C12Q 1/6876* (2021.08)

(21)(22) Application: **2021108253, 29.03.2021**(24) Effective date for property rights:  
**29.03.2021**Registration date:  
**01.12.2021**

Priority:

(22) Date of filing: **29.03.2021**(45) Date of publication: **01.12.2021** Bull. № 34

Mail address:

**308015, Belgorodskaya obl., g. Belgorod, ul.  
Pobedy, 85, NIU "BelGU", OIS, Toktarevoj T.M.**

(72) Inventor(s):

**Churnosov Mikhail Ivanovich (RU),  
Svinareva Dina Ilurovna (RU),  
Elykova Anna Vladimirovna (RU),  
Rudykh Natalya Aleksandrovna (RU),  
Ponomarenko Irina Vasilevna (RU)**

(73) Proprietor(s):

**federalnoe gosudarstvennoe avtonomnoe  
obrazovatelnoe uchrezhdenie vysshego  
obrazovaniya "Belgorodskij gosudarstvennyj  
natsionalnyj issledovatel'skij universitet" (NIU  
"BelGU") (RU)**

(54) **METHOD FOR PREDICTING THE RISK OF DEVELOPING INITIAL OPEN-ANGLE GLAUCOMA WITHOUT EXFOLIATION SYNDROME USING DATA ON POLYMORPHISM OF MATRIX METAL PROTEINASE GENES**

(57) Abstract:

FIELD: medicine.

SUBSTANCE: invention relates to the field of medicine. A method for predicting the risk of developing primary open-angle glaucoma (POAG) without exfoliative syndrome in Russian natives of the Central Black Earth Region of the Russian Federation is proposed. DNA is isolated from the peripheral venous blood. Analysis of genetic markers of matrix metalloproteinases is carried out. When detecting the GGG haplotype at the rs17576 locus, both rs3787268

and rs2250889 of the MMP9 gene predict a high risk of POAG development without exfoliative syndrome.

EFFECT: invention provides for obtaining new criteria for assessing the risk of POAG development without exfoliative syndrome in individuals of Russian nationality, natives of the Central Black Earth region of the Russian Federation from Belgorod, Kursk, Voronezh, Tambov and Lipetsk regions.

1 cl, 3 dwg, 2 ex

Изобретение относится к области медицинской диагностики, может быть использовано для прогнозирования риска развития первичной открытоугольной глаукомы без синдрома эксфолиации с использованием данных о полиморфизме генов матриксных металлопротеиназ.

5 Глаукома - одно из наиболее распространенных глазных заболеваний, которое может привести к серьезным необратимым изменениям и значительной потере зрения, вплоть до слепоты. (Национальное руководство по глаукоме под редакцией проф. Е.А. Егорова, проф. Ю.С. Астахова, проф. В.П. Еричева, Изд. 3-е, исправленное и дополненное. - Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2015 г. - 452 с.).

10 Среди клинических форм заболевания наиболее распространенной является первичная открыто-угольная глаукома (ПОУГ), на долю которой приходится от 72,3 до 96,1% всех форм глауком [MicroRNA-related polymorphisms in pseudoexfoliation syndrome, pseudoexfoliative glaucoma, and primary open-angle glaucoma [Text] / A. Chatzikiyiakidou, P. Founti, A. Melidou [et al.] // Ophthalmic. Genet. – 2018. – Vol. 39, № 5. – P. 603-609].

15 Первичная открытоугольная глаукома считается полиэтиологическим заболеванием, обусловленным влиянием ряда факторов, в качестве которых рассматриваются: величина передне-задней оси глаза, толщина роговицы, анатомические особенности и степень пигментации трабекулы, наличие системной сердечно-сосудистой патологии, характер питания, курение, возраст, пол [Miglior S., Pfeiffer N., Torri V. et al. Predictive  
20 factors for open-angle glaucoma among patients with ocular hypertension in the European Glaucoma Prevention Study // Ophthalmology. - 2007. - Vol.114. -No.1. - P. 3-9].

Эксфолиативный синдром (ЭС) - это возрастное генерализованное нарушение внеклеточного матрикса, характеризующееся производством и прогрессирующим накоплением фибриллярного внеклеточного материала во многих тканях глаза, и  
25 является наиболее частой идентифицируемой причиной открытоугольной глаукомы во всем мире. ЭС играет этиологическую роль при открытоугольной глаукоме, закрытоугольной глаукоме, катаракте и окклюзии вены сетчатки [Robert R. The management of exfoliative glaucoma / Progress in Brain Research [Text] // Volume 173, 2008, Pages 211-224.].

30 Современные литературные данные свидетельствуют о вовлеченности экстрацеллюлярного матрикса в ремоделирование структур глаза, играющих значимую роль в развитии глаукомы (трабекулярная ткань, ткани диска зрительного нерва, зона увеосклерального пути оттока внутриглазной жидкости) [Белецкая, И. С. Роль матриксных металлопротеиназ (ММР) в патогенезе глаукомы [Текст / И. С. Белецкая,  
35 С. Ю. Астахов // Офтальмологические ведомости. – 2015. – Т. 8, № 3. – С. 28-43.].

В формировании ПОУГ важное значение имеют матриксные металлопротеиназы (ММР). Матриксные металлопротеиназы (ММРs) являются эндопептидазами, регулирующими характер структурно-функциональных свойств внеклеточного матрикса в норме и патологии. Характер экспрессии металлопротеиназ и их активное участие в  
40 процессах ремоделирования биологических структур весьма сходны с экспрессией классических острофазных белков.

ММР вовлечены в патогенез различных типов глаукомы [WDR36 variants in East Indian primary open-angle glaucoma patients [Text] / S. Mookherjee, S. Chakraborty, M. Vishal [et al.] // Mol. Vis. – 2011. – Vol. 17. – P. 2618-2627.], их содержание существенно выше в  
45 глаукоматозных глазах [TIMP1, TIMP2, and TIMP4 are increased in aqueous humor from primary open angle glaucoma patients [Text] / E. L. Ashworth-Briggs, T. Toh, R. Eri [et al.] // Mol. Vis. – 2015. – Vol. 21. – P. 1162-1172.]. Установлено существенное увеличение уровня ММР-9 в слезной жидкости больных с ПОУГ (в 7 раз по сравнению с контролем

[Иммунологические аспекты патогенеза первичной открытоугольной глаукомы [Текст] / Д. А. Рукина, Л. П. Догадова, Е. В. Маркелова [и др.] // Русский медицинский журнал. Клиническая офтальмология. – 2011. – Т. 12, № 4. – С. 162-165.]

Матриксная металлопротеиназа 9 (ММР-9, желатиназа В) – представитель подсемейства желатиназ, отвечающая, преимущественно, за протеолиз денатурированного коллагена I типа. Полипептид состоит из 707 аминокислот, молекулярная масса 78,5 кДа. В доменной структуре ММР-9 присутствует фибронектиновый домен, благодаря которому осуществляется специфическое связывание с субстратом [Active matrix metalloprotease-9 is associated with the collagen capsule surrounding the Madurella mycetomatis grain in mycetoma [Text] / K. Geneugeljik, W. Kloezen, A. H. Fahal [et al.] // PLoS. Negl. Trop. Dis. – 2014. – Vol. 8, № 3]. Предшественник желатиназы В секретируется в моноцитах, макрофагах, нейтрофилах, кератиноцитах, клетках эндотелия, костной и мышечной тканях, клетках опухолей. Активность экспрессии ММР-9 повышается под действием плазмина, ММР-3, ММР-7, факторов некроза опухолей (TNF $\alpha$ , Lta), интерлейкинов (IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ ), трансформирующих факторов роста (TGF- $\alpha$ , TGF- $\beta$ 1). Основным ингибитором синтеза желатиназы В является TIMP-1 [Castro M.M. et al., 2013]. Под действием ММР-9 гидролизуются различные желатины, фибронектин, коллагены (V, VII, X, XIV типа), интерлейкины, фибриноген, энтактин. Эндопептидаза обладает протеолитической активностью, а также выполняет регуляторную функцию благодаря способности к инаktivации ингибиторов ММР –  $\alpha$ 2-макроглобулина и  $\alpha$ 1-протеиназного ингибитора, а также выступает в роли индуктора для цитокинов и факторов роста. Желатиназа В задействована в таких процессах, как воспаление, тканевое ремоделирование и регенерация. Разрушая внеклеточный матрикс сосудов, ММР-9 способствует высвобождению VEGF и активирует ангиогенез [Association of Matrix Metalloproteinase-9 (MMP9) Variants with Primary Angle Closure and Primary Angle Closure Glaucoma [Text] / X. Chen, Y. Chen, J.L. Wiggs [et al.] // Acott. TS ed. PLoS ONE. – 2016. – Vol. 11, № 6. – P. 157-193]. Цитогенетическое расположение гена, кодирующего ММР-9 – 20q13.12.

В Российской Федерации исследования вовлеченности генов матриксных металлопротеиназ в формирование предрасположенности к ПОУГ без ЭС единичны и фрагментарны, а данные о роли генетических вариантов rs17576, 3787268 и rs2250889 ММР-9 в развитии ПОУГ без ЭС отсутствуют.

Для оценки сложившейся патентной ситуации был выполнен поиск по охраняемым документам за период с 1990 по 2020 гг. Анализ документов производился по направлению: способ прогнозирования риска развития первичной открытоугольной глаукомы без ЭС на основе молекулярно-генетических данных в зависимости от полиморфных маркеров генов матриксных металлопротеиназ. 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 ПОУГ без ЭС на основе данных о гаплотипе GGG генетических полиморфизмов rs17576, 3787268 и rs 2250889 гена ММР-9.

Известен способ прогнозирования риска развития и прогрессирования глаукомы по патенту РФ №2354287 (опубликован 10.05.2009), в котором определяют корнеальный гистерезис и центральную толщину роговицы и затем по формуле рассчитывают биомеханический коэффициент роговицы:  $K=КГ/ЦТР\cdot 50$ , где К - биомеханический коэффициент роговицы, КГ - корнеальный гистерезис, ЦТР - центральная толщина роговицы, и при значении менее 0,82 прогнозируют риск развития и прогрессирования

глаукомы. Способ обеспечивает адекватное прогнозирование риска развития и прогрессирования глаукомы с учетом эластических свойств роговицы и ее центральной толщины и проведение соответствующего лечения. К недостаткам данного способа относится то, что он не учитывает роль генетических полиморфизмов и, кроме того, предусматривает необходимость наличия дорогостоящего офтальмологического оборудования: анализатор биомеханических свойств глаза и пахиметр.

Патент РФ №2483306 (опубликован 27.05.2013), в котором описан способ прогнозирования заболевания первичной открытоугольной глаукомы путем забора слезной жидкости и крови, исследования слезной жидкости и сыворотки крови методом иммуноферментного анализа с использованием специфических тест-систем. Повышенные уровни металлопротеиназы-9 (ММР-9), показатели которой превышают 52,5 нг/мл в слезной жидкости и 274,49 нг/мл в сыворотке крови; повышенные уровни комплекса металлопротеиназы-9 с ее тканевым ингибитором (ММР-9/ТИМР-1), показатели которого превышают 0,19 нг/мл в слезной жидкости и 4,93 нг/мл в сыворотке крови, и повышенные уровни секреторного иммуноглобулина А (sIgA), показатели которого превышают 47,38 мг/л в слезной жидкости и 2,1 г/л в сыворотке крови, являются критериями, диагностирующими первичную открытоугольную глаукому. Этот способ может быть использован для ранней диагностики первичной открытоугольной глаукомы у пациентов, страдающих миопией, гипертонической болезнью, сахарным диабетом 2 типа и относящихся к группе риска развития заболевания. К недостаткам данного способа относится то, что он не учитывает роль генетических полиморфизмов и кроме того предусматривает необходимость проводить исследования двух биологических проб: слезной жидкости и сыворотки крови.

Известен способ прогнозирования риска развития псевдоэкзофолиативной глаукомы по патенту РФ №2 710 885 (опубликован 2020.01.14), включающий исследование параметров диска зрительного нерва (ДЗН) и макулы, отличающийся тем, что для исследований используют оптическую когерентную томографию сетчатки, при этом у пациентов с глазными проявлениями псевдоэкзофолиативного синдрома (ПЭС) определяют морфометрические показатели ДЗН: толщину слоя нервных волокон, площадь нейроретинального пояса и толщину ганглиозных комплексов макулярной области, и микрогемодинамические показатели ДЗН: плотность сосудов и плотность перфузии, и если у пациентов с ПЭС на фоне нормального внутриглазного давления при динамическом наблюдении морфометрические показатели стабильны, а микрогемодинамические показатели в центральной и перипапиллярной зонах ДЗН имеют отрицательную динамику, то прогнозируют возможный переход ПЭС в ПЭГ начальной стадии. Недостатком является то, что он не учитывает роль генетических полиморфизмов, трудоемкость исследования.

Патент РФ №2517233, опубликованный 27.05.2014, описывает способ прогноза прогрессирования первичной открытоугольной глаукомы, заключающийся в том, что отбирают пробы слезной жидкости и крови, затем в слезной жидкости и сыворотке крови определяют содержание антиапоптотического белка Bcl-2. При отсутствии его в слезной жидкости и/или сыворотке прогнозируют прогрессирование глаукоматозного процесса. Способ позволяет прогнозировать прогрессирование глаукоматозного процесса с дальнейшим проведением соответствующих адекватных лечебных мероприятий. Недостатком является то, что он не учитывает роль генетических полиморфизмов, трудоемкость исследования, т.к. необходимо исследовать сразу два биологических материала.

Известен патент РФ № 2508043С1 от 2014-02-27 «Способ прогнозирования развития

открытоугольной глаукомы у пациентов с глазными проявлениями псевдоэкзофалиативного синдрома». Патент описывает способ прогнозирования развития открытоугольной глаукомы (ОУГ), включающем измерение параметров глаза, согласно изобретению, у пациентов с глазными проявлениями псевдоэкзофалиативного синдрома (ПЭС) определяют стадию ПЭС на глазу, измеряют толщину хрусталика, отмечают возраст пациента и наличие или отсутствие атеросклероза, ишемической болезни сердца, хронической недостаточности сосудов головного мозга, гипертонической болезни, после чего вычисляют индекс риска развития открытоугольной глаукомы (ИРР) по формуле:

$$\text{ИРР} = 0,0035 \times \text{ВОЗР} + 0,173 \times \text{ПЭС} + 0,094 \times \text{ХР} + 0,528 \times \text{АТ} + 0,377 \times \text{ИБС} + 0,276 \times \text{ХНСГМ} + 0,388 \times \text{ГБ} - 0,322, \text{ где:}$$

ВОЗР - возраст пациента, лет, ПЭС - стадия ПЭС от 1 до 3, ХР - толщина хрусталика в мм; наличие - 1, отсутствие - 0 сопутствующих сердечнососудистых заболеваний: АТ - атеросклероз, ИБС - ишемическая болезнь сердца, ХНСГМ - хроническая недостаточность сосудов головного мозга, ГБ - гипертоническая болезнь, 0,322 - независимая константа; и если значение ИРР > 2, то прогнозируют развитие открытоугольной глаукомы на глазах с проявлениями ПЭС. Недостатком является то, что он не учитывает роль генетических полиморфизмов, трудоемкость исследования.

Задачей настоящего исследования является расширение арсенала методов диагностики, а именно создание способа прогнозирования риска развития первичной открытоугольной глаукомы без синдрома эксфолиации с использованием данных о полиморфизме генов матриксных металлопротеиназ.

Технический результат использования изобретения – получение критериев оценки риска развития ПОУГ без эксфолиативного синдрома у индивидуумов русской национальности, уроженцев Центрально – Черноземного региона РФ из Белгородской, Курской, Воронежской, Тамбовской и Липецкой областей, на основе данных о полиморфных локусах rs17576, rs3787268 и rs2250889 гена MMP-9, включающий:

- выделение ДНК из периферической венозной крови;
- анализ полиморфизмов rs17576, rs3787268 и rs2250889 гена MMP 9;
- прогнозирование высокого риска развития ПОУГ без ЭС у индивидуумов при выявлении гаплотипа GGG генетических полиморфизмов rs17576 и rs3787268 и rs 2250889 MMP-9.

Новизна и изобретательский уровень заключаются в том, что из уровня техники не известна возможность прогноза развития ПОУГ у пациентов на основе данных о гаплотипе GGG генетических полиморфизмов локусов rs17576 и rs3787268 и rs2250889 гена MMP-9.

Способ осуществляют следующим образом:

Выделение геномной ДНК из периферической крови осуществляют методом фенольно-хлороформной экстракции (Mathew, 1984) 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-HCl (pH=7,6). Полученную смесь перемешивают и центрифугируют при 4°C, 4000 об./мин. в течение 20 минут. После центрифугирования надосадочную жидкость сливают, к осадку добавляют 4 мл раствора, содержащего 25 мМ ЭДТА (pH=8,0) и 75 мМ NaCl, ресуспензируют. Затем прибавляют 0,4 мл 10% SDS, 35 мкл протеиназы К (10мг/мл) и инкубируют образец при 37°C в течение 16 часов.

На втором этапе из полученного лизата последовательно проводят экстракцию ДНК равными объемами фенола, фенол-хлороформа (1:1) и хлороформа с

центрифугированием при 4000 об./мин. в течение 10 минут. После каждого центрифугирования производят отбор водной фазы. ДНК осаждают из раствора двумя объемами охлажденного 96% этанола. После лиофилизации полученную ДНК растворяют в бидистиллированной, деионизованной воде и хранят при  $-20^{\circ}\text{C}$ .

5 Анализ полиморфных маркеров rs17576, rs3787268 и rs2250889 гена MMP-9 осуществляют методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) на термоциклере CFX-96 Real-Time System (Bio-Rad) с использованием стандартных олигонуклеотидных праймеров и зондов [Elevated MMP-8 and decreased myeloperoxidase concentrations associate significantly with the risk for atherosclerosis disease and abdominal aortic aneurysm [Text] / P. Pradhan-Palikhe, P. Vikatmaa, T. Lajunen [et al.] // Scand. J. Immunol. – 2010. – Vol. 72, № 2. – P. 150-157.] (синтезированы в ООО «Тест - Ген» (Ульяновск)).

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

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

Изобретение характеризуется фигурами:

20 Фиг. 1. Дискриминации аллелей методом детекции TaqMan зондов по данным величин ОЕФ (относительные единицы флуоресценции) каждого зонда на амплификаторе CFX96 с детектирующей системой в режиме реального времени полиморфизма rs3787268 MMP-9 (● - AA, ■ - GG, ▲ - GA, ■ - отрицательный контроль)

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

30 Фиг. 3. Дискриминации аллелей методом детекции TaqMan зондов по данным величин ОЕФ (относительные единицы флуоресценции) каждого зонда на амплификаторе CFX96 с детектирующей системой в режиме реального времени полиморфизма rs2250889 MMP-9 (● - CC, ■ - GG, ▲ - CG, ■ - отрицательный контроль).

35 Определение частот гаплотипов и анализ ассоциаций гаплотипов с развитием ПОУГ проводили с помощью логистического регрессионного анализа в программе PLINK v. 2.050 (<http://zzz.bwh.harvard.edu/plink/>). При необходимости в исследование включали ковариаты (возраст, пол, индекс массы тела). После проведения пермутационного теста (выполнялось 1000 пермутаций) за статистически значимый уровень принимали  $P_{perm} < 0,05$ .

40 Возможность использования предложенного способа для оценки прогнозирования риска развития ПОУГ без ЭС подтверждает анализ результатов наблюдений 604 пациентов, из которых 208 больных с первичной открытоугольной глаукомой без ЭС и 396 пациентов контрольной группы (ПОУГ отсутствовала). Среди больных средний возраст –  $70,93 \pm 8,70$  лет, в контрольной группе средний возраст –  $62,02 \pm 11,54$  лет. Изучаемые группы включали неродственных русских индивидуумов, уроженцев Центрально-Черноземного региона РФ (из Белгородской, Курской, Воронежской, Тамбовской и Липецкой областей). В группу больных были включены пациенты с 45 диагнозом ПОУГ без ЭС, подтвержденного необходимыми методами исследования в клинических условиях. Для диагностики глаукомы использовали следующие критерии : высокое внутриглазное давление, наличие глаукоматозной экскавации диска зрительного нерва и характерных изменений периферического поля зрения. Больных

обследовали на базе офтальмологического центра «Поколение» г. Старый Оскол, отделения офтальмологии областной клинической больницы им. Святителя Иоасафа г. Белгорода, медицинского центра микрохирургии глаза «Ковчег» г. Белгорода. Все  
5  
необходимые процедуры по осмотру и обследованию больных и индивидуумов контрольной группы проводились с их информированного согласия. Исследование проводили под контролем этического комитета медицинского института НИУ «БелГУ».

Типирование молекулярно-генетических маркеров осуществляли на кафедре медико-биологических дисциплин факультета лечебного дела и педиатрии медицинского  
10  
института Белгородского государственного национального исследовательского университета.

При расчете частот гаплотипов и анализе их ассоциаций с формированием ПОУГ без ЭС у индивидуумов установлена связь с формированием заболевания гаплотипа GGG генетических полиморфизмов rs17576 и rs3787268 и rs2250889 гена MMP-9. Гаплотип GGG rs17576 и rs3787268 и rs2250889 гена MMP-9 является фактором риска развития  
15  
ПОУГ без ЭС у индивидуумов ( $OR=2,55$ ;  $p=0,014$ ).

В качестве примеров конкретного применения разработанного способа приведено обследование русских пациентов, уроженцев Центрально-Черноземного региона РФ (из Белгородской, Курской, Воронежской, Тамбовской и Липецкой областей) и не являющихся родственниками между собой: проведено генетическое обследование по  
20  
локусам rs17576 и rs3787268 и rs2250889 гена MMP9.

#### Пример 1

У пациентки Д. была взята венозная кровь, при генотипировании ДНК-маркеров был выявлен гаплотип GGG по локусу rs17576 и rs3787268 и rs2250889 гена MMP9, что  
25  
позволило отнести пациента в группу больных с высоким риском развития ПОУГ без ЭС. Дальнейшее наблюдение подтвердило диагноз первичной открытоугольной глаукомы без эксфолиативного синдрома у пациентки.

#### Пример 2

У пациента В. была взята венозная кровь, при генотипировании ДНК-маркеров был выявлен гаплотип AGG по локусу rs17576 и rs3787268 и rs2250889 гена MMP9, что  
30  
позволило отнести пациента в группу с низким риском развития ПОУГ без ЭС. Дальнейшее наблюдение не подтвердило диагноз первичной открытоугольной глаукомы без эксфолиативного синдрома у пациента В.

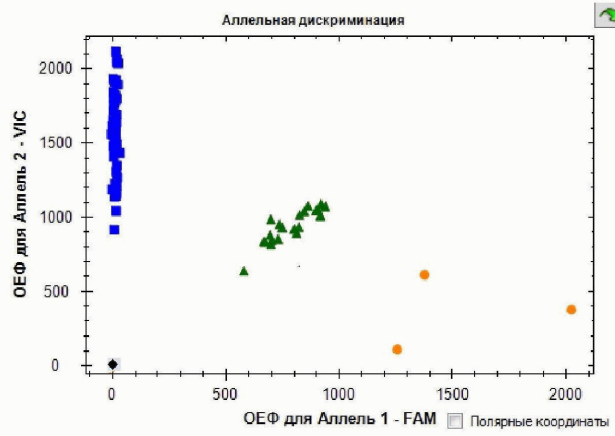
Применение данного способа позволит на доклиническом этапе формировать среди пациентов группы риска и своевременно реализовывать в этих группах необходимые  
35  
лечебно-профилактические мероприятия по предупреждению развития ПОУГ без эксфолиативного синдрома.

### (57) Формула изобретения

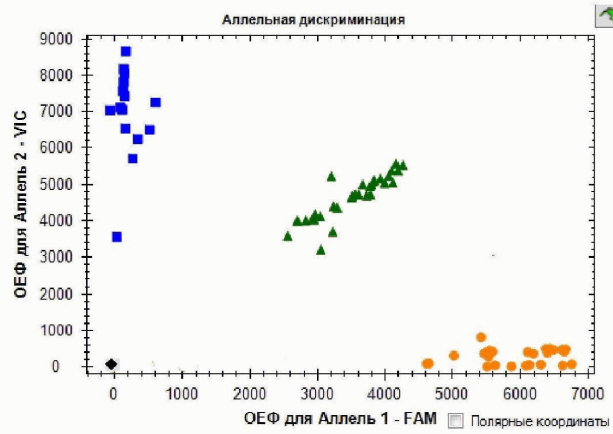
Способ прогнозирования риска развития первичной открытоугольной глаукомы без эксфолиативного синдрома у уроженцев Центрально-Черноземного региона РФ  
40  
русской национальности, включающий выделение ДНК из периферической венозной крови, анализ генетических маркеров матриксных металлопротеиназ, прогнозирование высокого риска развития первичной открытоугольной глаукомы без эксфолиативного синдрома при выявлении гаплотипа GGG по локусу rs17576, и rs3787268, и rs2250889  
45  
гена MMP9.



1

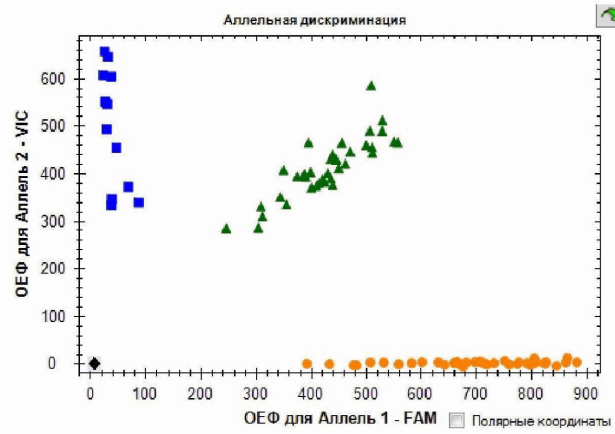


Фиг. 1



Фиг. 2

2



Фиг. 3