

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(52) СПК

G01N 33/582 (2018.02); G01N 2800/50 (2018.02); C12Q 1/6804 (2018.02); C12Q 1/6827 (2018.02); C12Q 1/6844 (2018.02); C12Q 1/6858 (2018.02); C12Q 1/686 (2018.02); C12Q 2531/113 (2018.02); C12Q 2561/101 (2018.02); C12Q 2561/113 (2018.02); C12Q 2600/118 (2018.02); C12Q 2600/156 (2018.02); C12Q 2600/166 (2018.02)

(21)(22) Заявка: 2017132091, 13.09.2017

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
13.09.2017Дата регистрации:
17.07.2018

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 13.09.2017

(45) Опубликовано: 17.07.2018 Бюл. № 20

Адрес для переписки:

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

(72) Автор(ы):

Чурносов Михаил Иванович (RU),
Москаленко Мария Ивановна (RU),
Рудых Наталья Александровна (RU),
Миланова Снежана Николовна (RU),
Пономаренко Ирина Васильевна (RU),
Полоников Алексей Валерьевич (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 2458144 C1, 10.08.2012. RU
2480762 C1, 27.04.2013. HOSEINI S.M. et al.
Evaluation of plasma MMP-8, MMP-9 and
TIMP-1 identifies candidate cardiometabolic
risk markerin metabolic syndrome: results from
double-blinded nested case-control study.
Metabolism. 2015 Apr; 64(4): 527-38. Epub 2014
Dec 30. ДОЛЖЕНКОВА Е.М. и др.
Исследование взаимосвязи (см. прод.)

(54) Способ прогнозирования риска развития эссенциальной гипертензии

(57) Реферат:

Изобретение относится к области медицины и предназначено для прогнозирования риска развития эссенциальной гипертензии. У индивидуумов русской национальности, являющихся жителями Центрального Черноземья, осуществляют выделение ДНК из периферической венозной крови и анализ генетических маркеров матриксных металлопротеиназ. Высокий риск развития эссенциальной гипертензии

прогнозируют при выявлении сочетания генотипа ТТ rs11225395 MMP-8, генотипа GG rs17577 MMP-9 и положительного статуса курения. Изобретение обеспечивает получение новых критериев оценки риска развития эссенциальной гипертензии у индивидуумов русской национальности, уроженцев Центрального Черноземья. 3 ил., 3 пр.

RU 2 661 604 C1

RU 2 661 604 C1

(56) (продолжение):

полиморфизмов -1612 5A/6A гена MMP3 и 2003G>A гена MMP9 с риском развития ишемической болезни сердца у русских жителей Центральной России. Курский научно-практический вестник "Человек и его здоровье". 2016; 3: 63-66. DJURIC T. et al. Association of MMP-8 promoter gene polymorphisms with carotid atherosclerosis: preliminary study. Atherosclerosis. 2011 Dec; 219(2): 673-678. Epub 2011 Aug 22.

R U 2 6 6 1 6 0 4 C 1

R U 2 6 6 1 6 0 4 C 1



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(51) Int. Cl.
G01N 33/50 (2006.01)
C12Q 1/68 (2006.01)

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

(52) CPC

G01N 33/582 (2018.02); *G01N 2800/50* (2018.02); *C12Q 1/6804* (2018.02); *C12Q 1/6827* (2018.02); *C12Q 1/6844* (2018.02); *C12Q 1/6858* (2018.02); *C12Q 1/686* (2018.02); *C12Q 2531/113* (2018.02); *C12Q 2561/101* (2018.02); *C12Q 2561/113* (2018.02); *C12Q 2600/118* (2018.02); *C12Q 2600/156* (2018.02); *C12Q 2600/166* (2018.02)

(21)(22) Application: **2017132091, 13.09.2017**

(24) Effective date for property rights:
13.09.2017

Registration date:
17.07.2018

Priority:

(22) Date of filing: **13.09.2017**

(45) Date of publication: **17.07.2018** Bull. № 20

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

(72) Inventor(s):

**Churnosov Mikhail Ivanovich (RU),
Moskalenko Mariya Ivanovna (RU),
Rudykh Natalya Aleksandrovna (RU),
Milanova Snezhana Nikolovna (RU),
Ponomarenko Irina Vasilevna (RU),
Polonikov Aleksej Valerevich (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 ESSENTIAL HYPERTENSION**

(57) Abstract:

FIELD: medicine.

SUBSTANCE: invention relates to medicine and is intended to predict the risk of developing essential hypertension. In individuals of Russian nationality, who are residents of the Central Chernozem Region, perform DNA isolation from peripheral venous blood and analyze genetic markers of matrix metalloproteinases. High risk of developing essential hypertension is

predicted when observing a combination of the genotype TT rs11225395 MMP-8, genotype GG rs17577 MMP-9 and the positive status of smoking.

EFFECT: invention provides new criteria for assessing the risk of developing essential hypertension in individuals of Russian nationality, natives of the Central Chernozem region.

1 cl, 3 dwg, 3 ex

RU 2 661 604 C1

RU 2 661 604 C1

Изобретение относится к области медицинской диагностики, может быть использовано для прогнозирования риска развития гипертонической болезни, иными словами, эссенциальной гипертензии (далее ЭГ).

Эссенциальная артериальная гипертензия (ЭГ) – мультифакториальное полигенное заболевание, встречающееся у 42% населения старше 35 лет. [Артериальная гипертензия и гипертоническая болезнь [текст] / Е. Е. Гогин // Терапевтический архив – 2010. – №82 (4). – С. 5–10; 2013 ESH/ESC guidelines for the management of arterial hypertension [Text] / G. Mancia, R. Fagard, K. Narkiewicz [et al.] // J. Hypertens. – 2013. – Vol. 31. – № 7. – P. 1281-1357]. Установленными факторами риска развития ЭГ являются избыточная масса тела, дислипидемия, низкая физическая активность, предпочтение к жирной и соленой пище, редкое употребление овощей и фруктов, а также вредные привычки, среди которых наиболее важное значение имеет курение [Рекомендации по диагностике и лечению артериальной гипертензии [Текст] / И.Е. Чазова, Е.В. Ощепкова, Ю.В. Жернакова // Кардиологический вестник. – 2015. – № 1. – С. 3-30].

Существенную роль в формировании эссенциальной гипертензии играют генетические факторы – их вклад в этиологию ЭГ в различных популяциях достигает 30-80% [Генетический взгляд на феномен сочетанной патологии у человека [Текст] / В. П. Пузырев // Медицинская генетика. – 2008. – Т. 7. – № 9. – С. 3-9; ECM remodeling in hypertensive heart disease [Text] / В. С. Berk, K. Fujiwara, S. Lehoux J. // Clin. Invest. – 2011. – №117 (3). – P. 568-575; Association between ins4436A in 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 1 gene and essential hypertension in Polish population / P. Hejduk, A. Sakowicz, T. Pietrucha // Postepy Hig. Med. Dosw. – 2015. – №69. – P. 1245-1250].

Высокая смертность, широкая распространенность заболевания, а также значительный риск развития таких грозных осложнений, как инфаркт миокарда и острое нарушение мозгового кровообращения диктуют необходимость выделения критериев индивидуального прогнозирования риска развития эссенциальной гипертензии на основании изучения полиморфных вариантов генов-кандидатов и средовых факторов риска с целью выявления индивидуумов, предрасположенных к данному заболеванию.

Установлено, что значительный вклад в развитие эссенциальной артериальной гипертензии вносит нарушение сосудистого ремоделирования [Invited Commentary: Hypertension and Arterial Stiffness-Origins Remain a Dilemma [Text] / D.A. Duprez, D. Shimbo // Am J Epidemiol. – 2016. – №214 (2). – P. 618-624]. Важнейшую роль в процессах деградации и реорганизации внеклеточного матрикса кровеносных сосудов играют матриксные металлопротеиназы [Матриксные металлопротеиназы и сердечно-сосудистые заболевания [Текст] / А.А. Турна, Р.Т. Тогузов // Артериальная гипертензия. – 2009. – №5. – С. 532-538]. Это группа цинк-зависимых эндопептидаз, отвечающих за гидролитическое расщепление всех компонентов внеклеточного матрикса (ВКМ) [Diverse roles of matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases in neuroinflammation and cerebral ischemia [Text] / E. Candelario-Jalil, Y. Yang, G. A. Rosenberg // Neuroscience – 2012. – №158 (3). – P. 983-994].

Матриксная металлопротеиназа-8 (ММП-8) – представитель семейства коллагеназ, синтез которой, в основном, осуществляется полиморфноядерными лейкоцитами. Цитогенетические координаты кодирующего ММП-8 гена – 11q22.2–q22.3. Установлено, что полиморфизм - rs11225395 ММП-8 ассоциирован с такими сердечно-сосудистыми заболеваниями, как атеросклеротическое поражение сосудов и сердечная недостаточность в бразильской и иранской популяциях [Polymorphisms of matrix metalloproteinases in systolic heart failure: role on disease susceptibility, phenotypic characteristics, and prognosis [Text] / F.M. Velho, C.R. Cohen, K.G. Santose [et al.] // J. Card. Fail. – 2011. –

№17 (2). – P. 115-121; Evaluation of plasma MMP-8, MMP-9 and TIMP-1 identifies candidate cardiometabolic risk marker in metabolic syndrome: results from double-blinded nested case-control study [Text] / S.M. Hoseini, A. Kalantari, M. Afarideh [et al.] // *Metabolism* – 2015. – 64 (4). – P. 527-538].

5 Матриксная металлопротеиназа 9 (ММР-9) – представитель подсемейства желатиназ, отвечающая, преимущественно, за протеолиз денатурированного коллагена I типа [Matrix Metalloproteinases in Lung: Multiple, Multifarious, and Multifaceted [Text] / K.J. Greenlee, Z. Werb, F. Kheradmand // *Physiological Reviews*. – 2011. – №87 (1). – P. 69-98].

10 Цитогенетическое расположение гена, кодирующего ММР-9 – 20q13.12. Функционально значимый полиморфизм rs17577 ММР-9 (замена аденина на гуанин в позиции -668) вовлечен в формирование сердечно-сосудистых заболеваний в китайской популяции Хань [Association of genetic polymorphisms in matrix metalloproteinase-9 and coronary artery disease in the Chinese Han population: a case-control study [Text] / H.D. Wu, X. Bai, D.M. Chen [et al.] // *Genet Test Mol Biomarkers* – 2013. – №17 (9). – P. 707-712].

15 Установлено, что у курильщиков регистрируются более высокие уровни матриксных металлопротеиназ по сравнению с некурящими индивидуумами, при этом курение оказывает важное модифицирующее влияние на характер взаимодействий полиморфизмов матриксных металлопротеиназ при формировании эссенциальной гипертензии [Chronic cigarette smoking causes hypertension, increased oxidative stress, impaired NO bioavailability, endothelial dysfunction, and cardiac remodeling in mice [Text] / M.H. Talukder, W.M. Johnson, S. Varadharaj [et al.] // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* – 2010. – Vol. 300, № 1. – P. 388-396].

25 В Российской Федерации исследования вовлеченности генов матриксных металлопротеиназ в формирование предрасположенности к ЭГ и ее осложнений единичны и фрагментарны, а данные о роли генетических вариантов rs11225395 ММР-8, rs17577 ММР-9 и статуса курения в развитии эссенциальной гипертензии отсутствуют.

30 В изученной научно-медицинской и доступной патентной литературе авторами не было обнаружено способа прогнозирования риска развития эссенциальной гипертензии на основе данных о сочетаниях генетических полиморфизмов генов rs11225395 ММР-8, rs17577 ММР-9 и статуса курения.

35 Из области техники известен «Способ прогнозирования возникновения гипертонической болезни» по патенту РФ № 2257139 от 27.07.2005 г. Заявляемый способ позволяет прогнозировать гипертоническую болезнь, основываясь на оценке показателей гемодинамики в ответ на нагрузочную пробу, в качестве которой

используется задержка пациентом дыхания после глубокого вдоха. Недостаток указанного способа заключается в том, что не рассматриваются сочетания генетических полиморфизмов и средовых факторов с риском развития эссенциальной артериальной гипертензии.

40 Известен патент РФ № 2287158 (дата публикации 10.11.2006) «Способ прогнозирования возникновения гипертонической болезни по генетическим факторам риска». Данный способ разработан для выявления риска развития ГБ у мужчин и заключается в выделении ДНК из лимфоцитов периферической венозной крови, амплификации фрагментов генов PON1 и CETP методом полимеразной цепной реакции синтеза ДНК и проведении анализа полиморфизма длин рестрикционных фрагментов ампликонов. В зависимости от выявляемых генотипов по локусам генов PON1 и CETP пациентов относят в группу с высоким (генотипы AA и GG соответственно) или низким (генотипы GG и CG соответственно) риском возникновения гипертонической болезни. Использование изобретения позволяет повысить эффективность выявления риска

развития гипертонической болезни у мужчин. Недостатками указанного способа являются: 1) невозможность его использования для выявления риска развития гипертонической болезни у женщин, 2) не учитываются генно-средовые взаимодействия при развитии эссенциальной гипертензии.

5 За прототип выбран патент № 2624480 (Опубликовано: 04.07.2017) на изобретение «Способ прогнозирования риска развития эссенциальной гипертензии на основе комбинаций генов матриксных металлопротеиназ» Данный способ включает выделение ДНК из периферической венозной крови индивидуумов русской национальности, уроженцев Центрального Черноземья, анализ полиморфизмов генов матриксных
10 металлопротеиназ и прогнозирование высокого риска развития эссенциальной гипертензии при выявлении сочетания генотипа AA rs1320632 MMP-8 и аллеля C rs11225395 MMP-8.

Задачей настоящего исследования является расширение арсенала способов диагностики, а именно создание способа прогнозирования развития эссенциальной
15 гипертензии на основе комбинаций генов матриксных металлопротеиназ и статуса курения.

Технический результат использования изобретения – получение критериев оценки риска развития эссенциальной гипертензии у индивидуумов русской национальности, уроженцев Центрального Черноземья на основе данных о сочетаниях генетических
20 вариантов локусов rs11225395 MMP-8, rs17577 MMP-9 и статуса курения, включающий:

- установление наличия у респондента средовых факторов риска развития эссенциальной гипертензии, а именно - определение статуса курения;
- выделение ДНК из периферической венозной крови;
- анализ полиморфизмов генов матриксных металлопротеиназ
25 rs11225395 MMP-8 и rs17577 MMP-9;
- прогнозирование высокого риска развития эссенциальной гипертензии при выявлении сочетания генотипа TT rs11225395 MMP-8, генотипа GG rs17577 MMP-9 и положительного статуса курения.

Новизна и изобретательский уровень заключаются в том, что из уровня техники не
30 известна возможность прогноза риска развития эссенциальной гипертензии по наличию сочетания генетических вариантов полиморфных маркеров матриксных металлопротеиназ rs11225395 MMP-8, rs17577 MMP-9 и статуса курения.

Выделение геномной ДНК из периферической крови осуществляют методом фенольно-хлороформной экстракции (Mathew, 1984) в два этапа. На первом этапе к 4
35 мл крови с ЭДТА добавляют 25 мл лизирующего буфера, содержащего 320мМ сахарозы, 1% тритон X-100, 5мМ MgCl₂, 10мМ трис-HCl (pH=7,6). Полученную смесь перемешивают и центрифугируют при 4°C, 4000 об./мин. в течение 20 минут. После центрифугирования надосадочную жидкость сливают, к осадку добавляют 4 мл раствора, содержащего 25 мМ ЭДТА (pH=8,0) и 75 мМ NaCl, ресуспензируют. Затем
40 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
45 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 -20⁰С. Выделенную ДНК используют для проведения полимеразной цепной реакции синтеза

ДНК.

Анализ полиморфизма гена rs11225395 MMP-8 проводят методом ПЦР синтеза ДНК на амплификаторе CFX96 (Bio-Rad) с использованием стандартных олигонуклеотидных праймеров и зондов с последующим анализом полиморфизма методом дискриминации аллелей. Реакционная смесь объемом 25 мкл включает: 67 мМ трис-НСl (рН=8,8), 2,5мМ MgCl₂, 0,1 мкг геномной ДНК, по 10 пМ каждого праймера, по 5 пкмоль каждого зонда, по 200 мкМ dATP, dGTP, dCTP, dTTP и 1 единицу активной Taq-полимеразы. После денатурации (5 мин при 95°С) выполняют 40 циклов амплификации по схеме: отжиг праймеров – 1 мин. при t=54°С; денатурация – 15 сек при t=95°С. При проведении ПЦР в амплификаторе (CFX96) с флуоресцентной детекцией генотипирование осуществляют методом Tag Man зондов по данным величин ОЕФ (относительные единицы флуоресценции). Для rs11225395 MMP-8 зонд с флуоресцентным красителем ROX соответствует аллелю Т, зонд с красителем FAM – аллелю С (фиг.1).

Для исследования полиморфизма rs17577 MMP-9 используют наборы 2,5х реакционной смеси для проведения ПЦР-РВ в объеме 25 мкл на 1 образец, включающие 2,5х реакционную смесь (2,5х ПЦР буфер: (КСl, ТрисНСl (рН 8,8), 6,25 мМ MgCl₂), SynTaq ДНК-полимеразу, дезоксинуклеозидтрифосфаты, глицерол, Tween 20) в объеме 10мкл, 25мМ MgCl₂ в объеме 1,5 мкл, ddH₂O (деионизированная вода), по 10 пкмоль каждого праймера и по 5 пкмоль каждого зонда. При проведении ПЦР в амплификаторе с флуоресцентной детекцией (на амплификаторе CFX96) генотипирование осуществляют методом Tag Man зондов по данным величин ОЕФ (относительные единицы флуоресценции). Для rs17577 MMP-9 зонд с флуоресцентным красителем ROX соответствует аллелю А, зонд с красителем FAM – аллелю G (фиг.2).

Выделенную ДНК подвергают полимеразной цепной реакции с использованием стандартных олигонуклеотидных праймеров [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.].

Изобретение характеризуется фигурами.

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 rs11225395 MMP-8, где ● - СС, ■ - ТТ, ▲ - СТ, ✕ - отрицательный контроль).

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 rs17577 MMP-9, где ● - GG, ■ - AA, ▲ - GA, ✕ - отрицательный контроль.

Фиг. 3. Диаграмма взаимодействий локусов MMP и курения (SMOK) в трехфакторной модели при формировании ЭГ, полученная методом GMDR с коррекцией на коварианты, где столбики слева соответствуют группе больных, столбики справа соответствуют контрольной группе.

Генотипирование полиморфизмов rs11225395 MMP-8 и rs17577 MMP-9 осуществляют методом детекции TagMan зондов по данным величин ОЕФ (относительные единицы флуоресценции) каждого зонда на амплификаторе CFX96 с детектирующей системой в режиме реального времени.

Анализ ассоциаций сочетаний генетических вариантов и статуса курения с эссенциальной гипертензией проводят с помощью методов MDR (Multifactor Dimensionality Reduction) и его модификации GMDR (Generalized Multifactor Dimensionality

Reduction) с использованием соответствующего программного обеспечения (MDR версии 3.0.2, <http://www.epistasis.org/mdr.html>, и GMDR версии 0.9, <http://www.ssg.uab.edu/gmdr/>) (фиг. 3). В основе использованных методов лежит общий принцип выявления переменной, содержащей информацию о нескольких локусах, и формирование кластеров, содержащих комбинации генотипов высокого и низкого риска развития изучаемой патологии.

Возможность использования предложенного способа для оценки риска возникновения и развития эссенциальной гипертензии подтверждает анализ результатов наблюдений 939 пациентов с ЭГ и 466 индивидуумов контрольной группы. Общий объем исследуемой выборки составил 1405 человек. В группе больных насчитывается 564 мужчины (средний возраст составил 57,60 лет) и 375 женщин (средний возраст составил 58,80 лет). В контрольной группе 257 мужчин (средний возраст составил 57,54 лет) и 209 женщин (средний возраст составил 58,17 лет). В исследуемые выборки включались индивидуумы русской национальности, являющиеся уроженцами Центрального Черноземья России и не имеющие родства между собой. Таким образом, группа больных с ЭГ и контрольная группа сопоставимы по полу, возрасту, месту рождения и национальности.

Все клинические и клинико-лабораторные исследования проводили на базе неврологического и кардиологического отделений Белгородской областной клинической больницы Святителя Иоасафа, с информированного согласия пациентов на использование материалов лечебно-диагностических мероприятий, проводимых за период госпитализации и после нее для научно-исследовательских целей. В работе использовалась анкета-опросник, включающая антропометрические, социально-демографические показатели, а также сведения о наличии у респондентов средовых факторов риска эссенциальной гипертензии, таких как курение, злоупотребление алкоголем, низкий уровень физической активности, особенности питания, стрессовые ситуации [Полоников, А.В. Промоторный полиморфизм -1293G>C гена CYP2E1 увеличивает риск развития гипертонической болезни у мужчин, злоупотребляющих алкоголем [Текст] / А.В. Полоников, В.П. Иванов, М.А. Солодилова // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2013. – Т. 155, № 6. – С. 695-698]. Статус курения оценивался по двум категориям: отрицательный статус – обследуемый не курит/ не курил, положительный статус – обследуемый курит ежедневно в течение последнего года и дольше. Полученные материалы протоколировали по стандартам этического комитета Российской Федерации.

Анализ ассоциаций сочетаний генетических вариантов и статуса курения с эссенциальной гипертензией проводили с помощью методов MDR (Multifactor Dimensionality Reduction) и его модификации GMDR (Generalized Multifactor Dimensionality Reduction) с использованием соответствующего программного обеспечения (MDR версии 3.0.2, <http://www.epistasis.org/mdr.html>, и GMDR версии 0.9, <http://www.ssg.uab.edu/gmdr/>), с коррекцией на индекс массы тела, уровни холестерина, триглицеридов, липопротеидов низкой плотности, липопротеидов высокой плотности, низкую физическую активность, предпочтение к жирной пище, редкое употребление овощей и фруктов. Для валидации полученных результатов проводили пермутационный тест – выполнено 1000 пермутаций при 10 кросс-валидациях, что обеспечивает $p_{perm} < 0,001$.

Установлены особенности «конституции» больных с эссенциальной гипертензией на основе комбинаций генов матриксных металлопротеиназ и статуса курения. Выявлена модель генно-средовых взаимодействий полиморфизмов rs11225395 MMP-8 и rs17577 MMP-9 с курением, ассоциированная с высоким риском развития эссенциальной гипертензии с поправкой на индекс массы тела, уровни холестерина, триглицеридов,

липопротеидов низкой плотности, липопротеидов высокой плотности, низкую физическую активность, предпочтение к жирной пище, редкое употребление овощей и фруктов: воспроизводимость модели (CVC) составила 100%, точность предсказания модели (Test.Val.Асс.) равна 58,86%, OR=2,39, 95% CI 1,48-3,85, $p=0,01$ ($p_{perm}<0,001$). В рамках данной модели выявлена комбинация, являющаяся фактором риска развития эссенциальной гипертензии: сочетание генотипа ТТ rs11225395 MMP-8 с генотипом GG rs17577 MMP-9 с положительным статусом курения наблюдается у 6,60% больных с ЭГ и у 3,43% индивидуумов контрольной группы ($X^2=5,38$, $p=0,02$). Наличие данного сочетания является фактором риска развития эссенциальной артериальной гипертензии (OR=1,99, 95% CI 1,10-3,63).

В качестве примеров конкретного применения разработанного способа приведено обследование добровольцев русской национальности, являющихся жителями Центрального Черноземья и не являющихся родственниками между собой: определен статус курения и проведено генетическое обследование по локусам rs11225395 MMP-8 и rs17577 MMP-9.

У пациента Р. была взята венозная кровь, при генотипировании ДНК-маркеров было выявлено, что генотип индивидуума по локусу rs11225395 MMP-8 – ТТ, генотип по локусу rs17577 MMP-9 – GG. При анкетировании установлено, что пациент Р. курит ежедневно в течение 6 лет. Сочетание генотипа ТТ (rs11225395 MMP-8), генотипа GG (rs17577 MMP-9) и положительного статуса курения позволило отнести пациента в группу больных с высоким риском развития эссенциальной гипертензии. Дальнейшее наблюдение подтвердило диагноз эссенциальной гипертензии у пациента.

У пациентки М. произведен забор венозной крови, при генотипировании ДНК-маркеров выявлено, что ее генотип по локусу rs11225395 MMP-8 – ТТ, генотип по локусу rs17577 MMP-9 – АА. При анкетировании установлено, что пациентка М. не курит. По данным генотипирования и отрицательному статусу курения пациентка М. не включается в группу больных с высоким риском развития эссенциальной гипертензии. В дальнейшем было установлено, что артериальное давление пациентки М. соответствует норме.

У пациента В. после забора венозной крови из локтевой вены и последующего генотипирования выявлен генотип СС по локусу rs11225395 MMP-8 и генотип АА по локусу rs17577 MMP-9. При анкетировании установлено, что пациент В. ежедневно курит в течение более 10 лет. По данным генотипирования пациент Р. не включается в группу больных с высоким риском развития эссенциальной гипертензии. В дальнейшем было установлено, что артериальное давление пациента В. соответствует нормальным значениям.

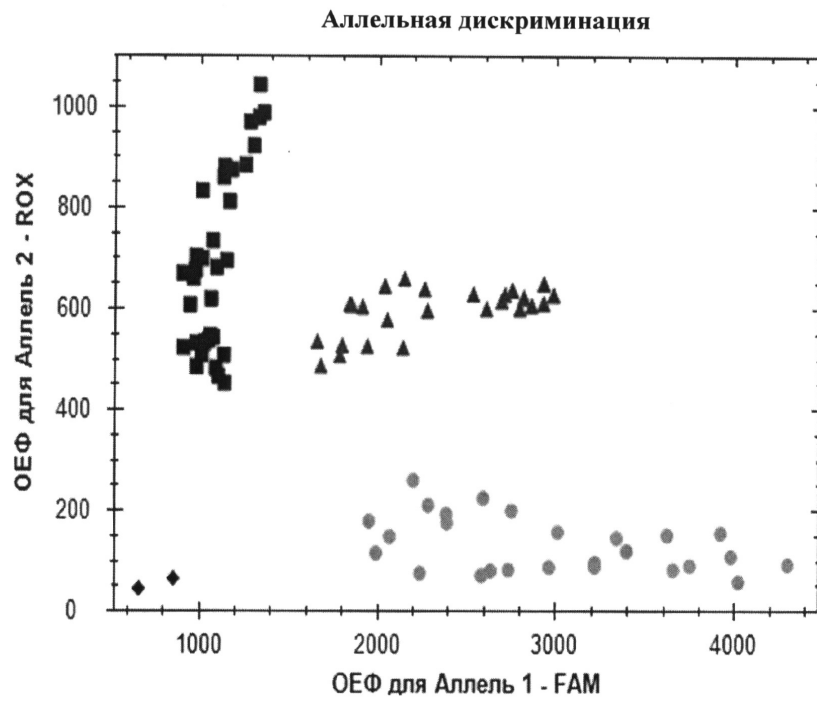
Применение данного способа позволит на доклиническом этапе формировать среди индивидуумов группы риска и своевременно реализовывать в этих группах необходимые лечебно-профилактические мероприятия по предупреждению развития эссенциальной гипертензии.

(57) Формула изобретения

Способ прогнозирования риска развития эссенциальной гипертензии у индивидуумов русской национальности, являющихся жителями Центрального Черноземья, включающий выделение ДНК из периферической венозной крови, анализ генетических маркеров матриксных металлопротеиназ, отличающийся тем, что высокий риск развития эссенциальной гипертензии прогнозируют при выявлении сочетания генотипа ТТ rs11225395 MMP-8, генотипа GG rs17577 MMP-9 и положительного статуса курения.

1

Способ прогнозирования риска развития
эссенциальной гипертензии



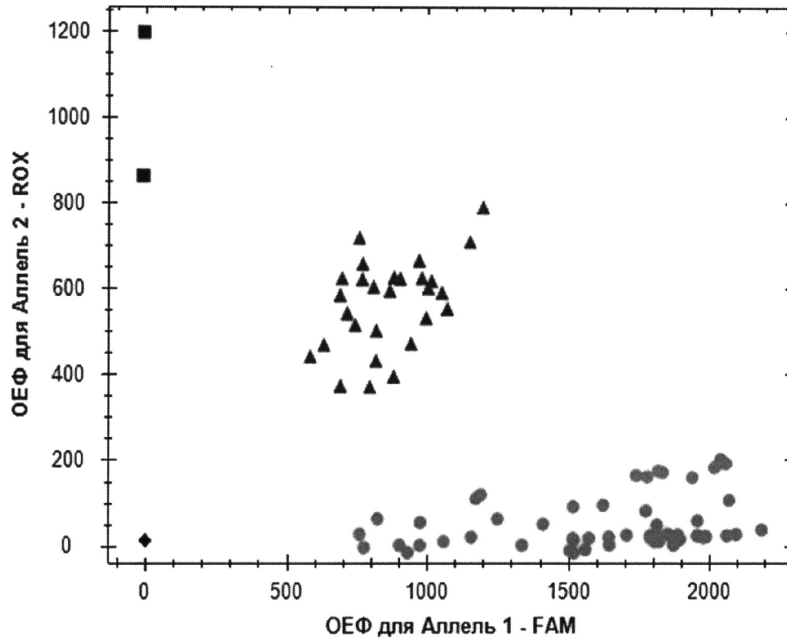
Фиг. 1

1

2

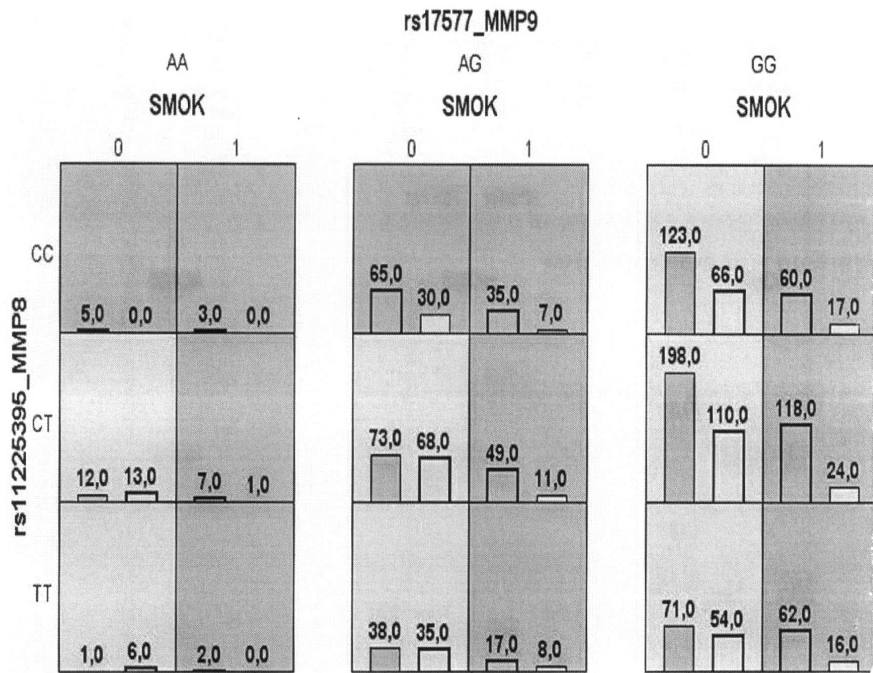
Способ прогнозирования риска развития
эссенциальной гипертензии

Алельная дискриминация



Фиг. 2

Способ прогнозирования риска развития
эссенциальной гипертензии



Фиг. 3