



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(52) СПК
G01N 33/53 (2018.08); C12Q 1/37 (2018.08)

(21)(22) Заявка: 2018123944, 02.07.2018

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
02.07.2018

Дата регистрации:
29.01.2019

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 02.07.2018

(45) Опубликовано: 29.01.2019 Бюл. № 4

Адрес для переписки:

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

(72) Автор(ы):

Чурносов Михаил Иванович (RU),
Москаленко Мария Ивановна (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 2624480 C1, 04.07.2017. US
7127355 B2, 24.10.2006. ЛЮТОВ В.В. и др.
Наследственная природа гипертонической
болезни //Обзоры по клинической
фармакологии и лекарственной терапии. -
2004. - Т. 3. - No. 1. ERLANDSSON M. C. et
al. Smoking functions as a negative regulator
of IGF1 and impairs adipokine network in
patients with rheumatoid arthritis (см. прод.)

(54) Способ прогнозирования риска развития гипертонической болезни с учетом генетических и средовых факторов

(57) Реферат:

Изобретение относится к области медицины, а именно к прогнозированию риска развития гипертонической болезни у индивидуумов русской национальности, являющихся жителями Центрального Черноземья. Для этого проводят выделение ДНК из периферической венозной крови. Анализ полиморфизмов генов, отличающийся тем, что анализируют полиморфизмы генов факторов роста rs6214 IGF-1 и rs2981582 FGFR2. Устанавливают наличие у респондента средовых факторов риска развития

гипертонической болезни, а именно определяют статус курения. Прогнозируют высокий риск развития гипертонической болезни при выявлении сочетания генотипа GG rs6214 IGF-1, генотипа TT rs2981582 FGFR2 и положительного статуса курения. Изобретение обеспечивает получение критериев оценки риска развития гипертонической болезни у указанной категории пациентов с учетом сочетания генетических и средовых факторов. 3 ил., 3 пр.

(56) (продолжение):

//Mediators of inflammation. - 2016. - Т. 2016.



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(51) Int. Cl.
G01N 33/53 (2006.01)
C12Q 1/37 (2006.01)

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

(52) CPC
G01N 33/53 (2018.08); C12Q 1/37 (2018.08)

(21)(22) Application: **2018123944, 02.07.2018**

(24) Effective date for property rights:
02.07.2018

Registration date:
29.01.2019

Priority:

(22) Date of filing: **02.07.2018**

(45) Date of publication: **29.01.2019** Bull. № 4

Mail address:

308015, Belgorodskaya obl., g. Belgorod, ul. Pobeda, 85, NIU "BelGU", Toktarevoj T.M.

(72) Inventor(s):

**Churnosov Mikhail Ivanovich (RU),
Moskalenko Mariya Ivanovna (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 RISK OF DEVELOPMENT OF HYPERTENSIVE DISEASE FACTORED IN GENETIC AND ENVIRONMENTAL FACTORS**

(57) Abstract:

FIELD: medicine.

SUBSTANCE: invention relates to the field of medicine, namely to predicting the risk of developing hypertension in individuals of Russian nationality who are residents of the Central Black Earth Oblast. For this purpose carry out the isolation of DNA from peripheral venous blood. Analysis of gene polymorphisms, characterized in analyzing the gene polymorphisms of growth factors rs6214 IGF-1 and rs2981582 FGFR2. Respondent is determined to have environmental risk factors for the development of hypertension in the

respondent, namely, to determine the smoking status. Predict the high risk of developing hypertension in identifying a combination of the GG rs6214 IGF-1 genotype, the TT rs2981582 FGFR2 genotype, and a positive smoking status.

EFFECT: invention provides criteria for assessing the risk of developing hypertension in this category of patients, taking into account a combination of genetic and environmental factors.

1 cl, 3 dwg, 3 ex

C 1
1
4
4
1
2
6
7
8
4
4
1
R U

R U
2
6
7
8
4
4
1
C 1

Изобретение относится к области медицинской диагностики, может быть использовано для прогнозирования риска развития гипертонической болезни (далее ГБ).

5 Гипертоническая болезнь (ГБ) является самым распространенным сердечно-сосудистым заболеванием, частота которого в общей популяции людей старше 65 лет превышает 50%, а смертность в результате осложнений ГБ составляет 9,4 млн. случаев в год [Перспективы лечения артериальной гипертонии [Текст] / Ж.Д. Кобалова, Ю.В. Котовская, С.В. Виллевалде [и др.] // Артериальная гипертензия. – 2013. – Т. 19, № 4. – С. 280-289]. Системное повышение уровня артериального давления является
10 результатом сложных взаимодействий между генетическими факторами, факторами окружающей среды и образом жизни [Рекомендации по диагностике и лечению артериальной гипертензии [Текст] / И.Е. Чазова, Е.В. Ощепкова, Ю.В. Жернакова // Кардиологический вестник. – 2015. – № 1. – С. 3-30].

15 Значимый вклад в развитие гипертонической болезни вносят генетические факторы (от 30 до 80%, в зависимости от популяции) [Генетический взгляд на феномен сочетанной патологии у человека [Текст]/ В.П. Пузырев // Медицинская генетика. – 2008. – Т. 7. – № 9. – С. 3-9]. 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
20 индивидуального прогнозирования риска развития гипертонической болезни на основании изучения полиморфных вариантов генов-кандидатов и средовых факторов риска с целью выявления индивидуумов, предрасположенных к данному заболеванию.

В патогенез гипертонической болезни вовлечены многочисленные механизмы, в настоящее время интерес отечественных и зарубежных исследователей направлен на
25 изучение роли неспецифического воспаления в развитии данного заболевания [Role of inflammatory gene polymorphisms in left ventricular dysfunction (LVD) susceptibility in coronary artery disease (CAD) patients [Text] / A. Mishra, A. Srivastava, T. Mittal [et al.] // Cytokine. – 2013. – №61 (3). – P. 856-861].

Установлено, что важнейшую роль в процессах воспаления играют цитокины [Анализ
30 межгенных взаимодействий полиморфных локусов генов цитокинов у больных эссенциальной гипертензией [Текст] / Я.Р. Тимашева, Т.Р. Насибуллин, И.А. Туктарова [и др.] // Артериальная гипертензия. – 2012. – №5. – С. 431-437]. Это обширная группа пептидов, отвечающих за регуляцию воспаления, ангиогенеза, неспецифических защитных реакций организма, а также участвующих в процессах роста и
35 дифференцировки клеток и регенерации тканей [Pro-inflammatory cytokine gene polymorphisms and threat for coronary heart disease in a North Indian Agrawal population [Text] / P.R. Garg, K.N. Saraswathy, A.K. Kalla [et al.] // Gene. – 2013. – №514 (1). – P. 69-74]. Особый интерес с точки зрения вовлеченности в патогенез ГБ среди цитокинов представляют факторы роста, а именно, инсулиноподобный фактор роста первого типа и рецептор
40 фактора роста фибробластов второго типа.

Инсулиноподобный фактор роста 1 (IGF1) – полипептид с молекулярной массой 7,6 кДа, сходный по структуре и выполняемым функциям с инсулином. Активный белок состоит из 70 аминокислот, образуется из неактивного предшественника при связывании
45 со специфическим рецептором. Ген, кодирующий IGF1, расположен на длинном плече 12 хромосомы (12q23.2) и включает семь экзонов [Insulinlike Growth Factor-1 and Its Binding Protein-3 Polymorphisms Predict Circulating IGF-1 Level and Appendicular Skeletal Muscle Mass in Chinese Elderly [Text] / C.W. Yang, T.C. Li, C.I. Li [et al.] // J Am Med Dir Assoc. – 2015. – Vol. 1, №16 (5). – P. 365-370]. В 3'-нетранслируемой области гена

находится полиморфизм rs6214 IGF-1, представляющий собой замену гуанина на аденин в позиции 2750. Установлено, что при носительстве аллеля А по локусу rs6214 IGF-1 снижается экспрессия соответствующего белка [Associations of IGF-1 gene variants and milk protein intake with IGF-I concentrations in infants at age 6 months – results from a randomized clinical trial (European Childhood Obesity Trial Study Group) [Text] / P. Rzehak, V. Grote, E. Lattka [et al.] // Growth Horm IGF Res. – 2013. – №23 (5). – P. 149-158]. Согласно данным литературы, данный SNP ассоциирован с развитием сердечно-сосудистых заболеваний [Polymorphisms of IGF1 contribute to the development of ischemic stroke [Text] / H.J. Kim, S.K. Kim, H.J. Park [et al.] // Exp Ther Med. – 2012. – №3(1). – P. 93-98].

Рецептор фактора роста фибробластов 2 (FGFR2) – представитель семейства рецепторов фактора роста фибробластов, отличающегося высокой консервативностью аминокислотной последовательности. Ген, кодирующий FGFR2, расположен на длинном плече хромосомы 10, в локусе 10q26.13 и включает 26 экзонов. Интронный полиморфизм rs2981582 FGFR2 представляет собой замену цитозина на тимин в позиции 906, что приводит к увеличению транскрипционной активности гена и экспрессии FGFR2 [Allele-specific up-regulation of FGFR2 increases susceptibility to breast cancer [Text] / K.B. Meyer, A.T. Maia, M. O'Reilly [et al.] // PLoS Biol. – 2008. – № 5. – P. 108-112]. Данный полиморфизм ассоциирован с развитием осложнений гипертонической болезни [Effects of FGF receptor peptide agonists on animal behavior under normal and pathological conditions [Text] / O. Rudenko, V. Tkach, V. Berezin [et al.] // Original Research Article Neuroscience Research. – 2010. – Vol. 68, №1. – P. 35-43].

В исследованиях последних лет показано, что у курильщиков регистрируются более высокие уровни цитокинов по сравнению с некурящими индивидуумами, при этом курение оказывает важное модифицирующее влияние на характер взаимодействий полиморфизмов генов-кандидатов факторов роста при формировании гипертонической болезни [Smoking Functions as a Negative Regulator of IGF1 and Impairs Adipokine Network in Patients with Hypertension [Text] / M.C. Erlandsson, M.R. Doria, S.S. Toyra [et al.] // Mediators of Inflammation. – 2016. – № 3 (8). – P. 282-290].

Отечественные исследования, посвященные исследованию вовлеченности генов факторов роста в формирование предрасположенности к ГБ и ее осложнений единичны и фрагментарны, а данные о роли генетических вариантов rs6214 IGF-1, rs2981582 FGFR2 и статуса курения в развитии гипертонической болезни отсутствуют.

В изученной научно-медицинской и доступной патентной литературе авторами не было обнаружено способа прогнозирования риска развития гипертонической болезни на основе данных о сочетаниях генетических полиморфизмов генов rs6214 IGF-1, rs2981582 FGFR2 и статуса курения.

Из области техники известен «Способ прогнозирования риска развития артериальной гипертензии» по патенту РФ №2505814 от 14.08.2012. Способ включает учет возраста, группы крови систем резус и MN, наличия или отсутствия курения, ожирения, гиперхолестеринемии, злоупотребление солью, массы тела по индексу Кетле, отношения окружности талии к окружности бедер, лабораторные показатели, социальные факторы и вычисление прогностических коэффициентов в баллах, по которым судят о риске развития заболевания. Недостаток указанного способа заключается в том, что не рассматриваются сочетания генетических полиморфизмов генов факторов роста с риском развития гипертонической болезни и применим только для коренных жителей Республики Алтай (тубаларов).

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 металлопротеиназ и прогнозирование высокого риска развития эссенциальной гипертонии при выявлении сочетания генотипа AA rs1320632 MMP-8 и аллеля C rs11225395 MMP-8.

Недостатком прототипа является ограниченность его применения, т.к. используется только анализ полиморфизмов генов матриксных металлопротеиназ и не учитывается статус курения.

Задачей настоящего исследования является расширение арсенала способов диагностики, а именно создание способа прогнозирования риска развития гипертонической болезни на основе комбинаций генов факторов роста и статуса курения.

Технический результат использования изобретения – получение критериев оценки риска развития гипертонической болезни у индивидуумов русской национальности, уроженцев Центрального Черноземья с учетом генетических и средовых факторов сочетаниях, а именно, сочетания генетических вариантов локусов rs6214 IGF-1, rs2981582 FGFR2 и статуса курения.

Предложенный способ, включающий выделение ДНК из периферической венозной крови индивидуумов русской национальности, уроженцев Центрального Черноземья, анализ полиморфизмов генов, содержит новые и неизвестные из уровня техники признаки:

- анализируют полиморфизмы генов факторов роста rs6214 IGF-1, rs2981582 FGFR2;
- устанавливают наличие у респондента средовых факторов риска развития гипертонической болезни, а именно - определение статуса курения;
- прогнозируют высокий риск развития гипертонической болезни при выявлении сочетания генотипа GG rs6214 IGF-1, генотипа TT rs2981582 FGFR2 и положительного статуса курения.

Новизна и изобретательский уровень заключаются в том, что из уровня техники не известна возможность прогноза риска развития гипертонической болезни по наличию сочетания генетических вариантов полиморфных маркеров факторов роста rs6214 IGF-1, rs2981582 FGFR2 и статуса курения.

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 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 прибавляют 0,4 мл 10% SDS, 35 мкл протеиназы К (10мг/мл) и инкубируют образец при 37°C в течение 16 часов.

На втором этапе из полученного лизата последовательно проводят экстракцию ДНК равными объемами фенола, фенол-хлороформа (1:1) и хлороформа с центрифугированием при 4000 об/мин. в течение 10 минут. После каждого центрифугирования производят отбор водной фазы. ДНК осаждают из раствора двумя объемами охлажденного 96% этанола. После лиофилизации полученную ДНК растворяют в бидистиллированной, деионизованной воде и хранят при -20°C. Выделенную ДНК используют для проведения полимеразной цепной реакции синтеза ДНК.

Анализ полиморфизма гена rs6214 IGF-1 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 rs6214 IGF-1 зонд с флуоресцентным красителем ROX соответствует аллелю G, зонд с красителем FAM – аллелю A (фиг.1).

Для исследования полиморфизма rs2981582 FGFR2 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: (KCl, 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 rs2981582 FGFR2 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 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 IGF-1 (rs6214):

● - AA, ■ - GG, ▲ - AG, ■ - 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 FGFR-2 (rs2981582):

● - CC, ■ - TT, ▲ - CT, ■ - отрицательный контроль.

Фиг. 3. Диаграмма взаимодействий локусов IGF-1 (rs6214), FGFR-2 (rs2981582) и курения (SMOK) в трехфакторной модели при формировании ГБ, полученная методом GMDR с коррекцией на коварианты, где столбики слева соответствуют группе больных, столбики справа соответствуют контрольной группе.

Генотипирование полиморфизмов rs6214 IGF-1 и rs2981582 FGFR-2 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 гипертонической болезнью 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.csb.cmu.edu/~gavin/MDR/>).

<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.

5 Возможность использования предложенного способа для оценки риска возникновения и развития гипертонической болезни подтверждает анализ результатов наблюдений 939 пациентов с ГБ 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
10 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 ГБ и контрольная группа сопоставимы по полу, возрасту, месту рождения и национальности.

15 Все клинические и клиничко-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
20 использовалась анкета-опросник, включающая антропометрические, социально-демографические показатели, а также сведения о наличии у респондентов средовых факторов риска гипертонической болезни, таких как курение, злоупотребление алкоголем, низкий уровень физической активности, особенности питания, стрессовые ситуации [Полоников, А.В. Промоторный полиморфизм -1293G>C гена CYP2E1
25 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
30 года и дольше. Полученные материалы протоколировали по стандартам этического комитета Российской Федерации.

Анализ ассоциаций сочетаний генетических вариантов и статуса курения с гипертонической болезнью проводили с помощью методов MDR (Multifactor Dimensionality Reduction) и его модификации GMDR (Generalized Multifactor Dimensionality
35 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
40 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 гипертонической болезнью на основе комбинаций генов факторов роста и статуса курения. Выявлена модель генно-средовых взаимодействий полиморфизмов rs6214 IGF-1 и rs2981582 FGFR-2 с курением,
45 ассоциированная с высоким риском развития гипертонической болезни 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.Bal.Acc.) равна 57,24%, OR=2,63, 95% CI 1,69-4,10, p=0,01 ($p_{perm} < 0,001$).

В рамках данной модели выявлена комбинация, являющаяся фактором риска развития гипертонической болезни: сочетание генотипа GG rs6214 IGF-1 с генотипом TT rs2981582 FGFR2 и положительным статусом курения наблюдается у 5,11% пациентов с ГБ и у 2,14% индивидуумов контрольной группы ($X^2=6,19$, p=0,01). Таким образом, наличие данного сочетания генотипа GG rs6214 IGF-1 с генотипом TT rs2981582 FGFR2 и положительного статуса курения является фактором риска развития гипертонической болезни (OR=2,46, 95% CI 1,19-5,22) независимо от влияния прочих средовых факторов.

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 rs6214 IGF-1 и rs2981582 FGFR2.

Пример 1. У пациента С. была взята венозная кровь, при генотипировании ДНК-маркеров было выявлено, что генотип индивидуума по локусу rs6214 IGF-1 – GG, генотип по локусу rs2981582 FGFR2 – TT. При анкетировании установлено, что пациент С. курит ежедневно в течение 8 лет. Сочетание генотипа GG (rs6214 IGF-1), генотипа TT (rs2981582 FGFR2) и положительного статуса курения позволило отнести пациента в группу больных с высоким риском развития гипертонической болезни. Дальнейшее наблюдение подтвердило диагноз гипертонической болезни у пациента.

Пример 2. У пациентки К. произведен забор венозной крови, при генотипировании ДНК-маркеров выявлено, что ее генотип по локусу rs6214 IGF-1 – GG, генотип по локусу rs2981582 FGFR2 – CC. При анкетировании установлено, что пациентка К. не курит. По данным генотипирования и отрицательному статусу курения пациентка К. не включается в группу больных с высоким риском развития гипертонической болезни. В дальнейшем было установлено, что артериальное давление пациентки К. соответствует норме.

Пример 3. У пациента Р. после забора венозной крови из локтевой вены и последующего генотипирования выявлен генотип AA по локусу rs6214 IGF-1 и генотип CC по локусу rs2981582 FGFR2. При анкетировании установлено, что пациент Р. ежедневно курит в течение более 5 лет. По данным генотипирования пациент Р. не включается в группу больных с высоким риском развития гипертонической болезни. В дальнейшем было установлено, что артериальное давление пациента Р. соответствует нормальным значениям.

Приведенные примеры подтверждают осуществимость предложенного способа и достижение заявленного технического результата.

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 гипертонической болезни.

(57) Формула изобретения

Способ прогнозирования риска развития гипертонической болезни у индивидуумов русской национальности, являющихся жителями Центрального Черноземья, включающий выделение ДНК из периферической венозной крови, анализ полиморфизмов генов, отличающийся тем, что анализируют полиморфизмы генов факторов роста rs6214 IGF-1 и rs2981582 FGFR2, устанавливают наличие у респондента

средовых факторов риска развития гипертонической болезни, а именно определяют статус курения, прогнозируют высокий риск развития гипертонической болезни при выявлении сочетания генотипа GG rs6214 IGF-1, генотипа TT rs2981582 FGFR2 и положительного статуса курения.

5

10

15

20

25

30

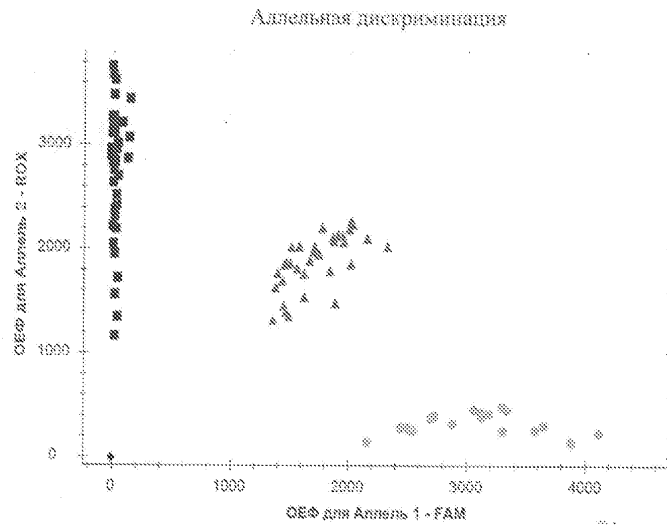
35

40

45

1

Способ прогнозирования риска развития гипертонической болезни с учетом генетических и средовых факторов



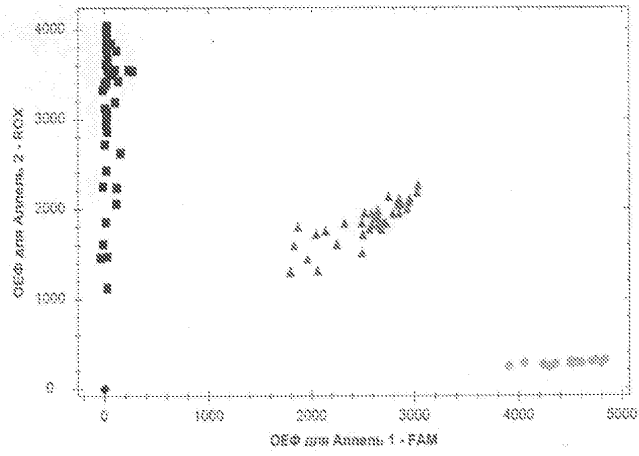
Фиг. 1

3

2

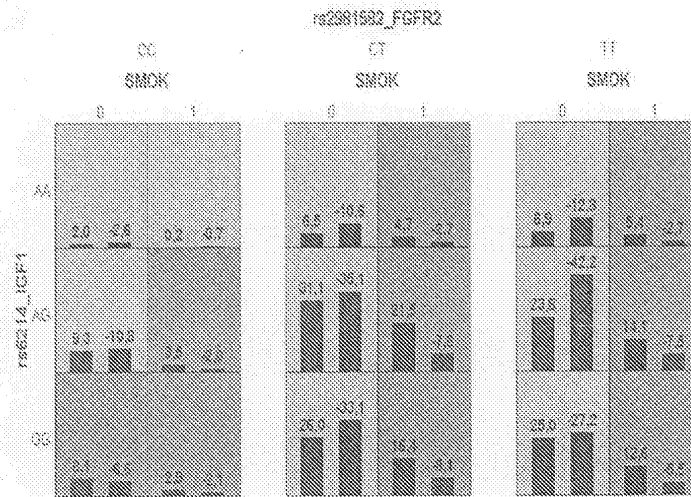
Способ прогнозирования риска развития гипертонической
болезни с учетом генетических и средовых факторов

Аллельная дискриминация



Фиг. 2

Способ прогнозирования риска развития гипертонической болезни с учетом генетических и средовых факторов



Фиг. 3