



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(52) СПК
C12Q 1/68 (2019.02)

(21) (22) Заявка: 2018124465, 04.07.2018

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
04.07.2018

Дата регистрации:
23.04.2019

Приоритет(ы):
(22) Дата подачи заявки: 04.07.2018

(45) Опубликовано: 23.04.2019 Бюл. № 12

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 2602451 C1, 20.11.2016. RU
2617060 C1, 19.04.2017. WO 2013049674 A1,
04.04.2013. EP 2725360 A1, 30.04.2014.

(54) Способ прогнозирования риска развития ишемического инсульта

(57) Реферат:

Изобретение относится к биотехнологии и представляет собой способ прогнозирования риска развития ишемического инсульта. Способ может быть использован для выявления риска развития острого нарушения мозгового кровообращения у индивидуумов русской национальности, являющихся жителями Центрального Черноземья. Способ включает

установление статуса употребления алкоголя, выделение ДНК из периферической венозной крови, анализ генетических полиморфизмов rs909253 Lta и rs1800629 TNFα. Сочетание генотипа AA rs909253 Lta с генотипом GG rs1800629 TNFα и злоупотребление алкоголем является фактором риска развития ишемического инсульта. 3 ил., 3 пр.



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**(19) **RU** (11)**2 685 859**⁽¹³⁾ **C1**(51) Int. Cl.
C12Q 1/68 (2006.01)(52) CPC
C12Q 1/68 (2019.02)(21) (22) Application: **2018124465, 04.07.2018**(24) Effective date for property rights:
04.07.2018Registration date:
23.04.2019

Priority:

(22) Date of filing: **04.07.2018**(45) Date of publication: **23.04.2019** Bull. № 12

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 PREDICTION OF RISK OF DEVELOPING ISCHEMIC STROKE**

(57) Abstract:

FIELD: biotechnology.

SUBSTANCE: invention relates to biotechnology and represents a method for predicting the risk of developing ischemic stroke. Method can be used to detect a risk of developing acute cerebral circulation disorder in individuals of Russian nationality who are inhabitants of the Central Black Earth Region. Method involves determining the status of alcohol consumption, recovering DNA from peripheral venous blood,

analyzing genetic polymorphisms rs909253 Lta and rs1800629 TNFα. Combination of the genotype AA rs909253 Lta with the GG genotype rs1800629 TNFα and alcohol abuse is a risk factor for developing ischemic stroke.

EFFECT: what is presented is a method for prediction of ischemic stroke risk.

1 cl, 3 dwg, 3 ex

RU 2 6 8 5 8 5 9 C 1

RU 2 6 8 5 8 5 9 C 1

Изобретение относится к области медицинской диагностики, может быть использовано для прогнозирования риска развития ишемического инсульта у индивидуумов русской национальности, уроженцев Центрального Черноземья.

Ишемический инсульт – это клинический синдром, характеризующийся быстро возникшими клиническими жалобами и/или симптомами утраты очаговых и общемозговых функций, длящимися дольше 24 часов или приводящими к смерти [Хронические сосудистые заболевания головного мозга [Текст] / А.С. Кадыков, Л.С. Манвелов [и др.] // М.: ГЭОТАР-Медиа. – 2013. – 232 с.]. В настоящее время инсульт занимает первые позиции по заболеваемости, инвалидизации и смертности, поэтому исследование молекулярно-генетических механизмов предрасположения к данному заболеванию остается актуальной проблемой современной генетики человека. Установлено, что инсульт – это этиологически гетерогенное заболевание, возникающее в результате взаимодействия внешнесредовых и генетических факторов [Факторы риска, первичная и вторичная профилактика острых нарушений мозгового кровообращения [Текст] / Л.А. Цукурова, Ю.А. Бурса // Российский медицинский журнал, 2012. – №10. – С. 494-499]. В крупномасштабных эпидемиологических исследованиях выявлено, что чрезмерное употребление алкоголя является серьезным фактором риска развития инсульта. Этанол ухудшает регуляцию нейрогенеза, индуцирует возникновение воспалительных процессов в головном мозге, снижает способность клеток и тканей мозга к репарации [New insights on neurobiological mechanisms underlying alcohol addiction [Text] / С. Cui, А. Noronha, Н. Morikawa [et al.] // Neuropharmacology, 2013. – Vol. 67. – P. 223-232].

Наряду со средовыми факторами риска, идентифицированы гены-кандидаты, ассоциированные с восприимчивостью к инсульту, среди которых важное значение имеют гены цитокинов [Insulin-like growth factor I serum levels influence ischemic stroke outcome [Text] / А. De Smedt, R. Brouns, M. Uyttenboogaart [et al.] // Stroke, 2011. – Vol. 42, №8. – P. 2180-2185]. Цитокины продуцируются нейронами, микроглией, макрофагами, моноцитами, и отвечают за модуляцию размера ишемического повреждения при инсульте [Polymorphisms of IGFI contribute to the development of ischemic stroke [Text] / Н.Н. Kim, S.K. Kim, Н.Н. Park [et al.] // Exp Ther Med., 2012. – Vol. 3, №1. – P. 93-98].

Фактор некроза опухоли альфа (TNF α) – провоспалительный цитокин с молекулярной массой 17 кДа, в состав которого входят 157 аминокислотных остатков [The TNF Superfamily: Methods and Protocols [Text] / В. Jagadeesh // Springer, Berlin; Springer New York; Humana Press. – 2016. – 240 P.]. Установлено, что TNF α выступает в качестве вазоактивного медиатора – ингибирует синтез NO эндотелиоцитами, вызывает вазоконстрикцию сосудов и повышение артериального давления [Tumor necrosis factor- α reduces argininosuccinate synthase expression and nitric oxide production in aortic endothelial cells [Text] / В.Л. Goodwin, L.C. Pendleton, М.М. Levy [et al.] // Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol. – 2007. – Vol. 293, № 2. – P. 1115-1121].

Ген, кодирующий TNF α , расположен на коротком плече шестой хромосомы, в области главного комплекса гистосовместимости HLA (6p21.1-6p21.3). При изучении греческой и мексиканской популяций показано, что полиморфизм rs1800629 TNF α вовлечен в формирование таких сердечно-сосудистых заболеваний, как ишемическая болезнь сердца и инфаркт миокарда [Inflammatory cytokine gene variants in coronary artery disease patients in Greece [Text] / А. Manginas, А. Tsiavou, А. Chaidaroglou [et al.] // Artery Dis. – 2008. – №19. – P. 575-582].

Лимфотоксин альфа (L α , TNF β) – плейотропный цитокин, гомологичный по структуре и функциям TNF α , участвующий в процессах сосудистого воспаления, поддержания Т-

клеточного гомеостаза и отвечающий за иммуномодуляцию, пролиферацию и дифференцировку клеток [Ассоциация генов TNF и Lta с осложнениями атеросклероза у больных, перенесших обострение ишемической болезни сердца [Текст] / Д.А.

Затейщиков, А.А. Пушков, А.Г. Никитин [и др.] // Клиническая практика. – 2013. – №1
5 (13). – С. 4-11]. Цитогенетическое расположение гена, кодирующего Lta – 6p21.1-6p21.3. Установлено, что замена аллеля А на G по локусу rs909253 Lta приводит к повышению экспрессии соответствующего гена. Исследования показали, что полиморфизм rs909253 Lta ассоциирован с развитием осложнений гипертонической болезни [Tumor necrosis factor beta NcoI polymorphism (rs909253) is associated with inflammatory and metabolic markers in acute ischemic stroke [Text] / J. de Sousa Parreira, A.P. Kallaur, M.F. Lehmann [et al.] // Metab
10 Brain Dis. – 2015. – Vol. 30 (1). – P. 169].

В Российской Федерации исследования вовлеченности генов цитокинов в формирование предрасположенности к ишемическому инсульту единичны и фрагментарны, а данные о роли генетических вариантов rs909253 Lta, rs1800629 TNFα
15 и злоупотребления алкоголем в развитии ишемического инсульта отсутствуют.

В изученной научно-медицинской и доступной патентной литературе авторами не было обнаружено способа прогнозирования риска развития ишемического инсульта на основе данных о сочетаниях генетических полиморфизмов rs909253 Lta, rs1800629 TNFα и злоупотребления алкоголем.

Из области техники известен способ прогнозирования развития острого ишемического инсульта по патенту РФ №2012134988 от 20.02.2014. Способ включает учет показателей ферментов антиокислительной защиты в периферической крови, при этом в качестве ферментов антиокислительной защиты определяют каталазу, пероксидазу и показатель перекисного окисления липидов. При увеличении показателей пероксидазы и перекисной
20 резистентности эритроцитов и снижении показателя каталазы более, чем на 70% от референтных значений, судят о высоком риске развития ишемического инсульта. Однако данный способ не является достаточно информативным, так как не включает генетические маркеры и применим только на клиническом этапе, что исключает раннюю
25 диагностику и проведение профилактических мероприятий по предотвращению развития инсульта.
30

За прототип выбран патент РФ № 2422523 от 22.04.2010 «Аллель SNP41 гена PDE4D, его применение для прогнозирования индивидуальной предрасположенности к инсульту в русской популяции, применение молекулярно-генетического маркера индивидуальной предрасположенности к инсульту и способ прогнозирования индивидуальной
35 предрасположенности к инсульту». Способ включает анализ полиморфизма гена PDE4D на наличие аллеля А SNP41 и в случае выявления наличия указанного аллельного варианта прогноз предрасположенности к инсульту в русской популяции. Изобретение позволяет диагностировать предрасположенность к инсульту в русской популяции и своевременно назначать соответствующие медикаменты. Недостатками указанного
40 способа являются использование в качестве маркера только одного генетического полиморфизма, что снижает статистическую мощность проведенного исследования; а также то, что при прогнозировании риска развития инсульта не используются средовые факторы риска.

Задачей настоящего исследования является расширение арсенала способов
45 диагностики, а именно создание способа прогнозирования развития ишемического инсульта на основе комбинации генов цитокинов при условии злоупотребления алкоголем.

Технический результат использования изобретения – получение критериев оценки

риска развития ишемического инсульта у индивидуумов русской национальности, уроженцев Центрального Черноземья на основе данных о сочетаниях генетических вариантов локусов rs909253 Lta, rs1800629 TNFα при условии злоупотребления алкоголем.

- 5 Способ прогнозирования развития ишемического инсульта в русской популяции, включающий
- выделение ДНК из периферической венозной крови;
 - анализ полиморфизмов генов, содержит следующие новые признаки:
- 10 - проводят анализ полиморфизмов генов цитокинов rs909253 Lta и rs1800629 TNFα;
- устанавливают наличие средовых факторов риска развития ишемического инсульта, а именно – выявление злоупотребления алкоголем;
 - прогнозируют высокий риск развития ишемического инсульта у индивидуумов русской национальности, уроженцев Центрального Черноземья при выявлении сочетания
- 15 генотипа AA rs909253 Lta с генотипом GG rs1800629 TNFα при условии злоупотребления алкоголем.

Новизна и изобретательский уровень заключаются в том, что из уровня техники не известна возможность прогноза риска развития ишемического инсульта по наличию сочетания генетических вариантов полиморфных маркеров цитокинов rs909253 Lta и

20 rs1800629 TNFα и злоупотребления алкоголем.

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

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

30 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

35 растворяют в бидистиллированной, деионизованной воде и хранят при -20°C. Выделенную ДНК используют для проведения полимеразной цепной реакции синтеза ДНК.

Анализ полиморфизма гена rs909253 Lta 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-HCl (pH=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.

45 После денатурации (5 мин при 95°C) выполняют 40 циклов амплификации по схеме: отжиг праймеров – 1 мин. при t=54°C; денатурация – 15 сек при t=95°C. При проведении ПЦР в амплификаторе (CFX96) с флуоресцентной детекцией генотипирование осуществляют методом Tag Man зондов по данным величин ОЕФ (относительные единицы флуоресценции). Для rs909253 Lta зонд с флуоресцентным красителем ROX

соответствует аллелю А, зонд с красителем FAM – аллелю G (фиг.1).

Для исследования полиморфизма rs1800629 TNF α 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, ТрисHCl (pH 8,8), 6,25 mM MgCl₂),

5 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 rs1800629 TNF α зонд с флуоресцентным красителем ROX соответствует аллелю G, зонд с красителем FAM – аллелю А (фиг.2).

Выделенную ДНК подвергают полимеразной цепной реакции с использованием стандартных олигонуклеотидных праймеров [Hulkkonen J., 2002; Mirjam M. de Jong et al., 2003].

15 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 Lta (rs909253):

20 ● - GG, ■ - AA, ▲ - 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 TNF α (rs1800629):

● - AA, ■ - GG, ▲ - GA, ■ - отрицательный контроль.

25 Фиг. 3. Диаграмма взаимодействий локусов цитокинов и злоупотребления алкоголем (ALK) в трехфакторной модели при формировании инсульта, полученная методом GMDR с коррекцией на коварианты, где столбики слева соответствуют группе больных, столбики справа соответствуют контрольной группе.

Генотипирование полиморфизмов rs909253 Lta и rs1800629 TNF α осуществляют методом детекции TagMan зондов по данным величин ОЕФ (относительные единицы флуоресценции) каждого зонда на амплификаторе CFX96 с детектирующей системой в режиме реального времени.

30 Анализ ассоциаций сочетаний генетических вариантов и злоупотребления алкоголем с ишемическим инсультом 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.

40 Возможность использования предложенного способа для оценки риска возникновения и развития ишемического инсульта подтверждает анализ результатов наблюдений 303 пациентов с инсультом и 527 индивидуумов контрольной группы. Общий объем исследуемой выборки составил 830 человек. Средний возраст пациентов с инсультом составил 59,58 \pm 8,21 лет, а средний возраст представителей контрольной группы – 58,81 \pm 7,74 лет. В группе больных с инсультом оказались 201 мужчина и 102 женщины, а в контрольной группе – 322 мужчины и 205 женщин. В исследуемые выборки включались индивидуумы русской национальности, являющиеся уроженцами Центрального Черноземья России и не имеющие родства между собой. Группа больных

с инсультом и контрольная группа полностью сопоставимы по возрасту, полу, 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 цереброваскулярных заболеваний, 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]. Пациентов, употребляющих алкогольные напитки несколько раз в неделю и чаще, относили в группу с высоким употреблением алкоголя (что соответствует ≥ 40 г этанола в день для мужчин и ≥ 20 г этанола в день для женщин). Пациенты, не употребляющие или употребляющие алкогольные напитки не чаще 1 раза в неделю, относились в группу с умеренным/низким употреблением алкоголя. Полученные материалы протоколировали по стандартам этического комитета Российской Федерации.

Анализ ассоциаций сочетаний генетических вариантов цитокинов и статуса употребления алкоголя с ишемическим инсультом 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 $p_{\text{perm}} < 0,001$

Установлены особенности «конституции» больных с ишемическим инсультом на основе комбинаций генов цитокинов и злоупотребления алкоголем. Выявлена модель генно-средовых взаимодействий полиморфизмов rs909253 Lta, rs1800629 TNF α и злоупотребления алкоголем, ассоциированная с высоким риском развития ишемического инсульта: воспроизводимость модели (CVC) составила 100%, точность предсказания модели (Test.Val. Acc.=53,72), отношение шансов OR=2,56 (95% CI 1,42-4,61) при уровне значимости $p=0,01$ ($p_{\text{perm}} < 0,001$). В рамках данной модели выявлена комбинация, являющаяся фактором риска развития ишемического инсульта: сочетание генотипа AA rs909253 Lta с генотипом GG rs1800629 TNF α и злоупотреблением алкоголем наблюдается у 6,93% пациентов с инсультом и у 1,52% индивидуумов контрольной группы ($X^2=15,15$, $p=0,001$). Наличие данного сочетания генотипов со злоупотреблением алкоголем является фактором риска развития ишемического инсульта (OR=4,83, 95% CI 2,01-12,03) 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 злоупотребления алкоголем и проведено генетическое обследование по локусам rs909253 Lta и rs1800629 TNF α .

Пример 1. У пациента П. была взята венозная кровь, при генотипировании ДНК-маркеров было выявлено, что генотип мужчины по локусу rs909253 Lta – AA, генотип по локусу rs1800629 TNF α – GG. При анкетировании установлено, что пациент П. употребляет крепкие спиртные напитки 2-3 раза в неделю (что соответствует злоупотреблению алкоголем). Сочетание генотипа AA rs909253 Lta, генотипа GG rs1800629 TNF α и злоупотребление алкоголем позволило отнести пациента в группу больных с высоким риском развития ишемического инсульта. Дальнейшее наблюдение и результаты ультразвукового дуплексного сканирования (УЗДС) выявили у пациента окклюзивное заболевание сонных артерий, а именно, нарушение мозгового кровоснабжения, что подтвердило высокий риск развития инсульта по ишемическому типу.

Пример 2. У пациентки С. произведен забор венозной крови, при генотипировании ДНК-маркеров выявлено, что ее генотип по локусу rs909253 Lta – GG, генотип по локусу rs1800629 TNF α – GG. При анкетировании установлено, что пациентка С. Употребляет алкоголь не чаще одного раза в месяц. По данным генотипирования и отрицательному статусу злоупотребления алкоголем пациентка С. не включается в группу больных с высоким риском развития инсульта. При дальнейшем наблюдении не было зафиксировано нарушений мозгового кровообращения.

Пример 3. У пациента Е. после забора венозной крови из локтевой вены и последующего генотипирования выявлен генотип GG по локусу rs909253 Lta и генотип AA по локусу rs1800629 TNF α . При анкетировании установлено, что пациент Е. употребляет более 40 грамм алкоголя в сутки (что соответствует злоупотреблению алкоголем). По данным генотипирования пациент Е. не включается в группу больных с высоким риском развития ишемического инсульта. Дальнейшее обследование и результаты компьютерной томографии показали, что мозговое кровообращение пациента Е. соответствует норме.

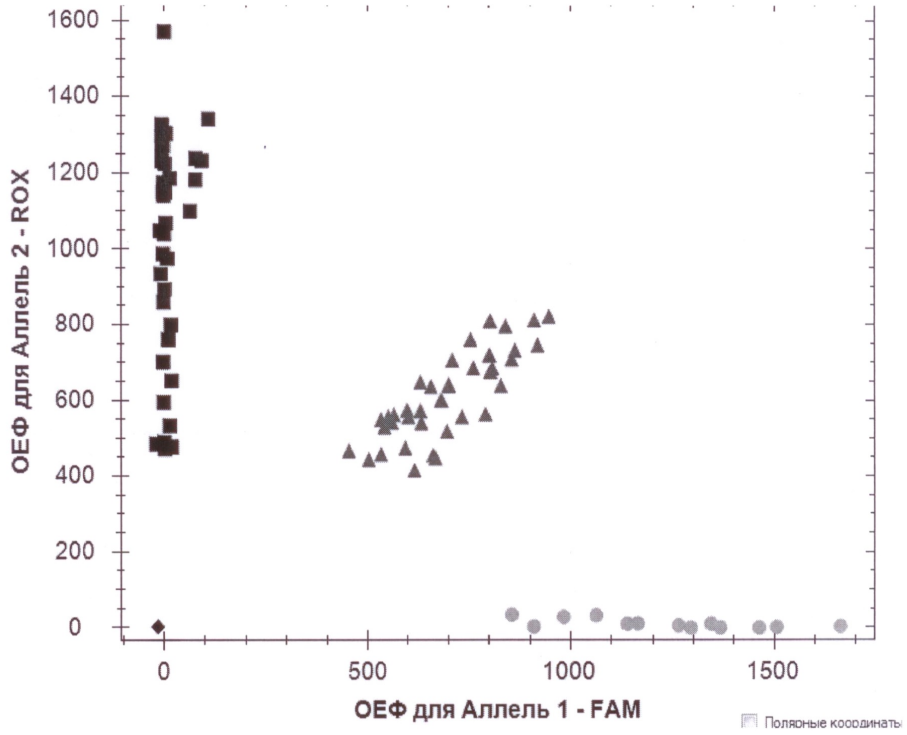
Применение данного способа позволит на доклиническом этапе формировать среди индивидуумов группы риска и своевременно реализовывать в этих группах необходимые лечебно-профилактические мероприятия по предупреждению развития ишемического инсульта.

(57) Формула изобретения

Способ прогнозирования риска развития ишемического инсульта в русской популяции, включающий выделение ДНК из периферической венозной крови, анализ полиморфизмов генов, отличающийся тем, что проводят анализ генетических полиморфизмов цитокинов rs909253 Lta и rs1800629 TNF α , устанавливают наличие средовых факторов риска развития ишемического инсульта, а именно – выявление злоупотребления алкоголем, прогнозируют высокий риск развития ишемического инсульта у индивидуумов русской национальности, являющихся жителями Центрального Черноземья, при выявлении сочетания генотипа AA rs909253 Lta с генотипом GG rs1800629 TNF α и злоупотреблении алкоголем.

Способ прогнозирования риска развития ишемического инсульта

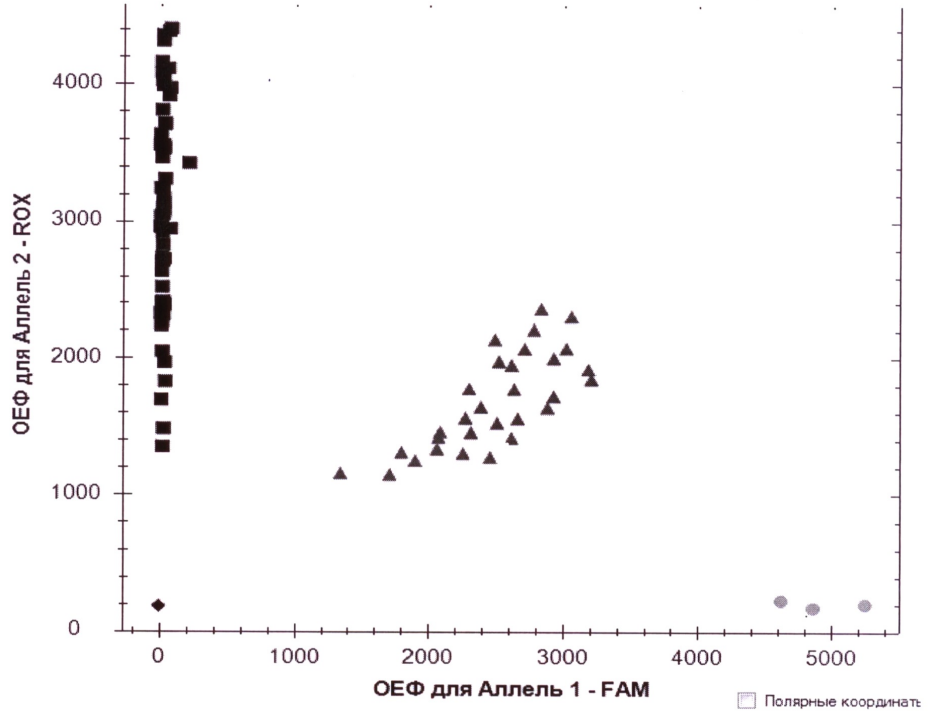
Аллельная дискриминация



Фиг. 1

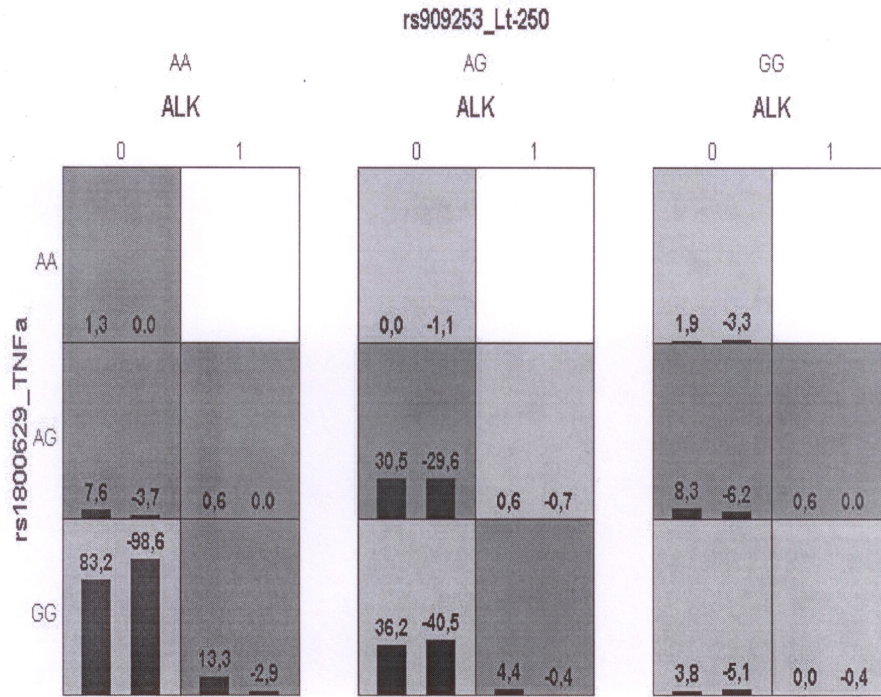
Способ прогнозирования риска
развития ишемического инсульта

Аллельная дискриминация



Фиг. 2

Способ прогнозирования риска развития ишемического инсульта



Фиг. 3