



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(21)(22) Заявка: 2016150862, 23.12.2016

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
23.12.2016Дата регистрации:
04.07.2017

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 23.12.2016

(45) Опубликовано: 04.07.2017 Бюл. № 19

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),
Пономаренко Ирина Васильевна (RU),
Миланова Снежана Николовна (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
2287158 C1, 10.11.2006. 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.

(54) Способ прогнозирования риска развития эссенциальной гипертензии на основе комбинаций генов матриксных металлопротеиназ

(57) Реферат:

Изобретение относится к области медицинской диагностики. Предложен способ прогнозирования риска развития эссенциальной гипертензии у индивидуумов русской национальности, уроженцев Центрального Черноземья, включающий выделение ДНК из периферической венозной крови и анализ полиморфизмов генов. При выявлении сочетания генетических вариантов матриксных металлопротеиназ: генотипа АА

rs1320632 MMP-8 и аллеля С rs11225395 MMP-8 прогнозируют высокий риск развития эссенциальной гипертензии. Изобретение позволяет на доклиническом этапе формировать среди индивидуумов группы риска и своевременно реализовывать в этих группах необходимые лечебно-профилактические мероприятия по предупреждению развития заболевания. 3 ил., 3 пр.



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

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

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

(21)(22) Application: **2016150862, 23.12.2016**

(24) Effective date for property rights:
23.12.2016

Registration date:
04.07.2017

Priority:

(22) Date of filing: **23.12.2016**

(45) Date of publication: **04.07.2017** Bull. № 19

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),
Ponomarenko Irina Vasilevna (RU),
Milanova Snezhana Nikolovna (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 ESSENTIAL HYPERTENSION DEVELOPMENT BASED ON MATRIX METAL PROTEINASE GENES COMBINATIONS**

(57) Abstract:

FIELD: medicine.

SUBSTANCE: method to predict the risk of essential hypertension development in individuals of Russian nationality, natives of the Central Chernozem Region, including DNA isolation from peripheral venous blood and gene polymorphisms analysis is proposed. When a combination of genetic variants of matrix metalloproteinases is identified: AA rs1320632 MMP-8 genotype and C rs11225395 MMP-8 allele,

high risk of essential hypertension development is predicted.

EFFECT: invention allows to form risk groups among individuals at the preclinical stage and to timely implement the necessary therapeutic and preventive measures in these groups to prevent the disease development.

3 dwg, 3 ex

RU 2 624 480 C1

RU 2 624 480 C1

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

Эссенциальная артериальная гипертензия является одним из самых распространенных сердечно-сосудистых заболеваний и важным предрасполагающим фактором развития инфаркта миокарда, ишемической болезни сердца, сердечной недостаточности, инсультов и др. [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].

Эссенциальная гипертензия является мультифакториальным заболеванием, существенный вклад в ее этиологию вносят генетические факторы. Вклад генетических факторов в формирование 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].

Широкая распространенность, высокий уровень смертности, а также наличие грозных осложнений ЭГ диктуют необходимость выделения критериев индивидуального прогнозирования риска развития эссенциальной гипертензии на основании изучения полиморфных вариантов генов-кандидатов с целью выявления индивидуумов, предрасположенных к данному заболеванию.

Исследования последних лет демонстрируют вовлеченность в патогенез эссенциальной артериальной гипертензии 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]. Основополагающую 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 (ММР-8) – представитель семейства коллагеназ, синтез которой в основном осуществляется полиморфноядерными лейкоцитами. Цитогенетические координаты кодирующего ММР-8 гена – 11q22.2–q22.3. Установлено, что полиморфизм - rs11225395 ММР-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]. Однако эти данные не согласуются с результатами, полученными при

исследовании китайской популяции, где не было выявлено ассоциаций между полиморфизмом rs11225395 MMP-8 и сердечно-сосудистой патологией [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]. У носителей аллеля G MMP-8 (rs1320632) регистрируется высокая транскрипционная активность гена, что приводит к повышению содержания металлопротеиназы-8 в сыворотке крови и избыточной деградации внеклеточного матрикса [Matrix Metalloproteinases in Lung: Multiple, Multifarious, and Multifaceted [Text] / K.J. Greenlee, Z. Werb, F. Kheradmand // Physiological Reviews. – 2011. – №87 (1). – P. 69-98]. Согласно литературным данным генетический маркер rs1320632 MMP-8 ассоциирован с церебральной аневризмой в германской популяции [Matrix metalloproteinase-8 (MMP-8) and the risk of cerebral aneurysm [Text] / A. Arning, A. Jeibmann, S. Köhnemann [et al.] // J Neurosurg – 2016. – №8. – P. 1-6]. У представителей индийской популяции не было выявлено ассоциаций полиморфизма rs1320632 MMP-8 с развитием сердечно-сосудистых заболеваний [Association of matrix metalloproteinases genetic variants with left ventricular dysfunction in coronary artery disease patients [Text] / A. Mishra, A. Srivastava, T. Mittal [et al.] // Clin Chim Acta – 2012. – №413 (19-20). – P. 1668-1674].

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 генетические полиморфизмы и их сочетания с риском развития эссенциальной артериальной гипертензии.

За прототип выбран 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. Недостатком указанного способа является невозможность его использования для выявления риска развития гипертонической болезни у женщин.

В Российской Федерации исследования вовлеченности генов матриксных металлопротеиназ в формирование предрасположенности к ЭГ и ее осложнений у индивидуумов русской национальности единичны и фрагментарны, а данных о роли генетических вариантов rs1320632 MMP-8 и rs11225395 MMP-8 в развитии эссенциальной гипертонии нет совсем.

В изученной научно-медицинской и доступной патентной литературе авторами не было обнаружено способа прогнозирования риска развития эссенциальной гипертензии у индивидуумов русской национальности на основе данных о сочетаниях генетических полиморфизмов генов rs1320632 MMP-8 и rs11225395 MMP-8.

Задачей настоящего изобретения является расширение арсенала способов

диагностики, а именно создание способа прогнозирования развития эссенциальной гипертензии у мужчин и женщин русской национальности на основе комбинаций генов матриксных металлопротеиназ.

5 Технический результат использования изобретения – получение критериев оценки риска развития эссенциальной гипертензии у индивидуумов русской национальности, уроженцев Центрального Черноземья на основе данных о сочетаниях генетических вариантов локусов rs1320632 MMP-8 и rs11225395 MMP-8, включающий:

- выделение ДНК из периферической венозной крови;
- анализ полиморфизмов генов матриксных металлопротеиназ rs1320632 MMP-8 и 10 rs11225395 MMP-8;
- прогнозирование высокого риска развития эссенциальной гипертензии при выявлении сочетания следующих генетических вариантов матриксных металлопротеиназ: генотипа AA rs1320632 MMP-8 и аллеля С rs11225395 MMP-8.

15 Новизна и изобретательский уровень заключаются в том, что из уровня техники не известна возможность прогноза риска развития эссенциальной гипертензии у индивидуумов русской национальности, уроженцев Центрального Черноземья по наличию сочетания генетических вариантов полиморфных маркеров матриксных металлопротеиназ rs1320632 MMP-8 и rs11225395 MMP-8.

20 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 320 мМ сахарозы, 1% тритон X-100, 5 мМ MgCl₂, 10 мМ 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 25 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.

30 На втором этапе из полученного лизата последовательно проводят экстракцию ДНК равными объемами фенола, фенол-хлороформа 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.

35 Для исследования полиморфизма rs1320632 MMP-8 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 мМ MgCl₂), SynTaq ДНК-полимеразу, дезоксинуклеозидтрифосфаты, глицерол, Tween 20) в объеме 40 10 мкл, 25 мМ 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 CFX96 с флюоресцентной детекцией генотипирование осуществляют методом Tag Man зондов по данным величин ОЕФ (относительные единицы флуоресценции). Для rs1320632 MMP-8 зонд с флуоресцентным красителем ROX соответствует аллелю G, зонд с красителем FAM – аллелю А (фиг.1).

45 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:

5 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.2).

10 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].

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 rs1320632 MMP-8, где -AA, - GG, - AG, - отрицательный контроль.

20 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 rs11225395 MMP-8, где - CC, - TT, - CT, - отрицательный контроль).

25 Фиг. 3. Распространенность аллелей/генотипов матриксных металлопротеиназ у индивидуумов русской национальности, уроженцев Центрального Черноземья больных ЭГ и в контрольной группе.

30 Анализ ассоциаций сочетаний генетических вариантов с эссенциальной гипертензией проводят с помощью программного обеспечения APSampler (<http://sources.redhat.com/cygwin/>), использующего метод Монте-Карло марковских цепей и байесовскую непараметрическую статистику.

Статистическую обработку данных проводят на персональном компьютере с использованием программных пакетов «STATISTICA for Windows 8.0» и «Microsoft Excel 2007».

35 Возможность использования предложенного способа для оценки риска возникновения и развития эссенциальной гипертензии подтверждает анализ результатов наблюдений 1020 пациентов с ЭГ и 487 индивидуумов контрольной группы. Общий объем исследуемой выборки составил 1507 человек. В группе больных насчитывается 572 мужчины (средний возраст составил 56,08%) и 448 женщин (средний возраст составил 43,92%). В контрольной группе 258 мужчин (средний возраст составил 52,77%) и 229

40 женщин (средний возраст составил 47,22%). В исследуемые выборки включали индивидуумов русской национальности, являющихся уроженцами Центрального Черноземья России и не имеющих родства между собой. Таким образом, группа больных с ЭГ и контрольная группа сопоставимы по полу, возрасту, месту рождения и национальности.

45 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. Полученные материалы протоколировали по стандартам этического комитета Российской Федерации. Анализ ассоциаций сочетаний генетических вариантов с ЭГ проводили с помощью программного обеспечения APSampler (<http://sources.redhat.com/cygwin/>), с целью минимизации ошибок 1-го рода, связанных с получением ложноположительных результатов при проведении множественных сравнений, вводили поправку Бонферрони – производили перерасчет уровня значимости p для множественных парных сравнений по формуле: $p_{cor} = p \times n$, где p – полученный уровень статистической значимости, n – количество парных сравнений. За статистически значимый уровень принимали $p_{cor} \leq 0,05$ [A Gibbs sampler for identification of symmetrically structured, spaced DNA motifs with improved estimation of the signal length [Text] / A. V. Favorov, M. S. Gelfand, A. V. Gerasimova [et al.] // Bioinformatics. – 2005. – Vol. 21. – № 10. – P. 2240-2245].

Выявлены особенности «генетической конституции» больных с эссенциальной гипертензией по генам матриксных металлопротеиназ (Фиг. 3).

По результатам анализа ассоциаций сочетаний генетических вариантов с эссенциальной гипертензией, проведенного с помощью программного обеспечения APSampler (<http://sources.redhat.com/cygwin/>), установлено, что сочетание генотипа AA по локусу rs1320632 MMP-8 и аллеля C по локусу rs11225395 MMP-8 наблюдается у 70,29% больных с ЭГ и у 59,79% индивидуумов контрольной группы ($p_{Bonf}=0,04$)

Следовательно, наличие данного сочетания является фактором риска развития эссенциальной артериальной гипертензии (OR=1,59, 95% CI 1,27-1,99).

В качестве примеров конкретного применения разработанного способа приведено генетическое обследование добровольцев русской национальности, являющихся жителями Центрального Черноземья и не являющихся родственниками между собой по локусам rs1320632 MMP-8 и rs11225395 MMP-8.

У пациента К. была взята венозная кровь, при генотипировании ДНК-маркеров было выявлено, что генотип индивидуума по локусу rs1320632 MMP-8 – AA, а генотип по локусу rs11225395 MMP-8 – CC. Сочетание генотипа AA (rs1320632 MMP-8) и аллеля C (rs11225395 MMP-8) позволило отнести пациента в группу больных с высоким риском развития эссенциальной гипертензии. Дальнейшее наблюдение подтвердило диагноз эссенциальной гипертензии у пациента.

У пациентки В. произведен забор венозной крови, при генотипировании ДНК-маркеров выявлено, что по локусу rs1320632 MMP-8 она является носителем генотипа AA, а по локусу rs11225395 MMP-8 – носителем генотипа CT. Выявленное сочетание генотипа AA (rs1320632 MMP-8) и аллеля C (rs11225395 MMP-8) у данной пациентки позволило отнести ее в группу с высоким риском развития эссенциальной гипертензии, что подтвердилось при дальнейшем наблюдении.

У пациента Р. после забора венозной крови из локтевой вены и последующего генотипирования выявлен генотип GG по локусу rs1320632 MMP-8 и генотип TT по локусу rs11225395 MMP-8. По данным генотипирования пациент Р. не включается в группу больных с высоким риском развития эссенциальной гипертензии. В дальнейшем было установлено, что артериальное давление пациента Р. 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 эссенциальной гипертензии.

(57) Формула изобретения

Способ прогнозирования риска развития эссенциальной гипертензии у индивидуумов русской национальности, уроженцев Центрального Черноземья, включающий выделение ДНК из периферической венозной крови, анализ полиморфизмов генов, отличающийся тем, что анализируют генетические маркеры матриксных металлопротеиназ rs1320632 ММР-8 и rs11225395 ММР-8 и прогнозируют высокий риск развития эссенциальной гипертензии при выявлении сочетания генетических вариантов матриксных металлопротеиназ: генотипа АА rs1320632 ММР-8 и аллеля С rs11225395 ММР-8.

10

15

20

25

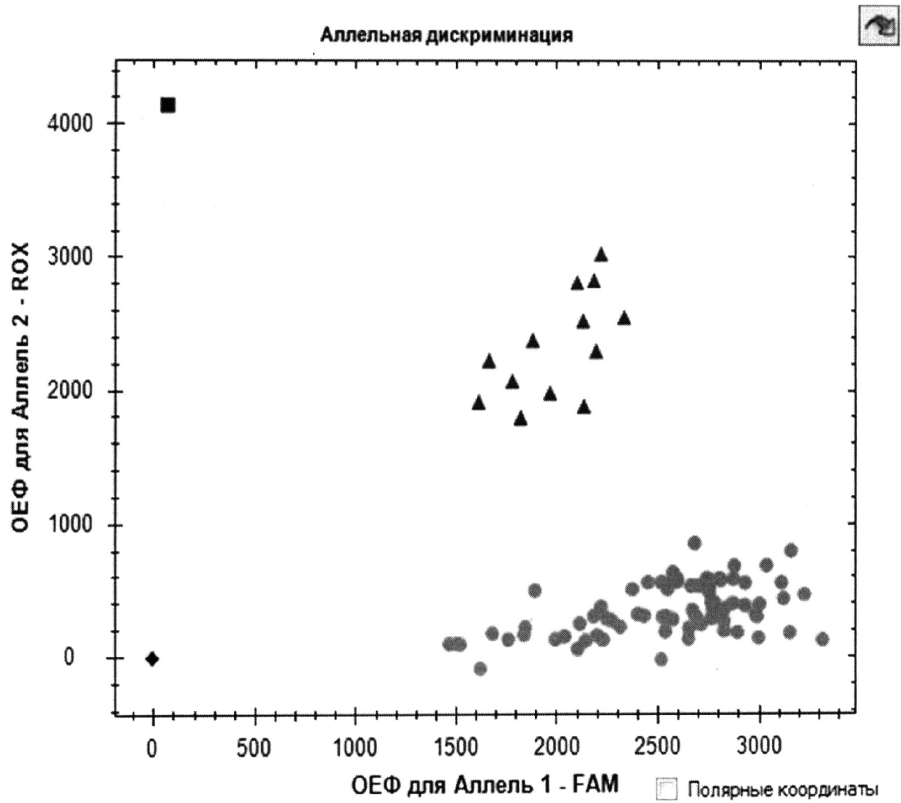
30

35

40

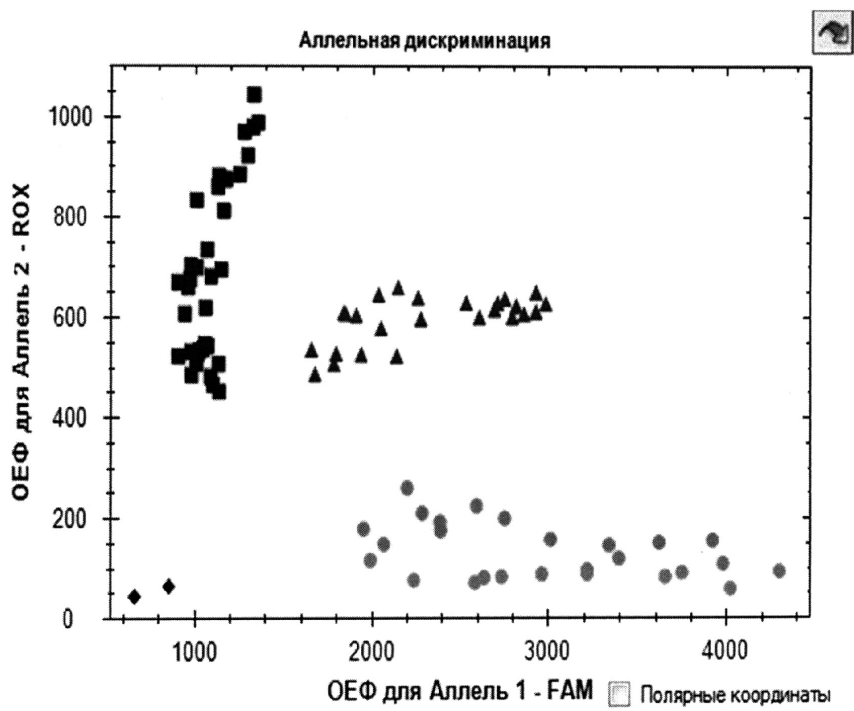
45

Способ прогнозирования риска развития
эссенциальной гипертензии на основе комбинаций
генов матричных металлопротеиназ



Фиг. 1

Способ прогнозирования риска развития
эссенциальной гипертензии на основе комбинаций
генов матричных металлопротеиназ



Фиг. 2

Способ прогнозирования риска развития
эссенциальной гипертензии на основе комбинаций
генов матриксных металлопротеиназ

Распространенность аллелей/генотипов матриксных металлопротеиназ у индивидуумов русской национальности, уроженцев Центрального Черноземья больных ЭГ и в контрольной группе					
Локусы	Аллели, генотипы	Больные ГБ (n=1020)		Контрольная группа (n=487)	
		n	%	n	%
rs1320632 <i>MMP-8</i>	A	1856	92,15	865	90,10
	G	158	7,85	95	9,90
	AA	857	85,11	389	81,04
	AG	142	14,10	87	18,13
	GG	8	0,79	4	0,83
rs1122539 <i>5 MMP-8</i>	C	1144	56,13	482	50,0
	T	894	43,87	482	50,0
	CC	322	31,60	125	25,93
	CT	500	49,07	232	48,14
	TT	197	19,33	125	25,93

Фиг. 3