РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(19) **RU** (11) **2 872 274**(13) **C1**

(51) МПК
G01N 33/58 (2006.01)
C12Q 1/6806 (2018.01)
C12Q 1/6827 (2018.01)
C12Q 1/686 (2018.01)
C12Q 1/6876 (2018.01)
C12Q 1/6883 (2018.01)

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(52) СПК
G01N 33/582 *(2026.08);* ***C12Q 1/6806*** *(2026.08);* ***C12Q 1/6827*** *(2026.08);* ***C12Q 1/686*** *(2026.08);* ***C12Q 1/6876*** *(2026.08);* ***C12Q 1/6883*** *(2026.08);* ***G01N 2800/368*** *(2026.08);* ***G01N 2800/50*** *(2026.08)*

(21)(22) Заявка: **2026111486, 15.04.2026**

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
15.04.2026

Дата регистрации:
20.10.2026

Приоритет(ы):
(22) Дата подачи заявки: **15.04.2026**

(45) Опубликовано: **20.10.2026** Бюл. № **29**

Адрес для переписки:
308015, г. Белгород, ул. Победы, 85, НИУ "БелГУ", Крылова Анна Сергеевна

(72) Автор(ы):
Чурносова Мария Михайловна (RU),
Елыкова Анна Владимировна (RU),
Пономаренко Ирина Васильевна (RU),
Чурносов Михаил Иванович (RU),
Цой Кирилл Владимирович (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 2568891 C1, 20.11.2015. US 20210156870 A1, 27.05.2021. EP 3889612 A1, 06.10.2021. CHURNOSOV M. et al. Polymorphisms of hypertension susceptibility genes as a risk factors of preeclampsia in the Caucasian population of central Russia. Placenta. 2022 Nov; 129: 51-61. Epub 2022 Sep 20. KARGE A. et al. Performance of sFlt-1/PIGF Ratio for the** (см. прод.)

(54) Способ прогнозирования риска развития преэклампсии у женщин с нормальной массой тела (ИМТ<25)

(57) Реферат:

Изобретение относится к медицине, а именно к клинической гинекологии, медицинской генетике, молекулярной диагностике, и может быть использовано для прогнозирования риска развития преэклампсии у женщин с нормальной массой тела (ИМТ<25) русской национальности, являющихся уроженками Центрального Черноземья РФ. Из периферической венозной крови выделяют ДНК. При выявлении комбинации полиморфных локусов rs8023580 TC x rs7910927 GG x rs10454142 TC x rs112295236 CC x rs727428 CC прогнозируют высокий риск развития преэклампсии. Способ обеспечивает получение новых критериев оценки повышенного риска развития преэклампсии у женщин с нормальной массой тела русской национальности, уроженок Центрально-Черноземного региона РФ, за счет анализа полиморфных локусов rs8023580, rs7910927, rs10454142, rs112295236, rs727428. 5 пр.

(56) (продолжение):
Prediction of Perinatal Outcome in Obese Pre-Eclamptic Women. J Clin Med. 2022 May 27; 11(11): 3023.

RU 2872274 C1

RU 2872274 C1

RUSSIAN FEDERATION

FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(19) **RU** (11) **2 872 274**(13) **C1**

(51) Int. Cl.
G01N 33/58 (2006.01)
C12Q 1/6806 (2018.01)
C12Q 1/6827 (2018.01)
C12Q 1/686 (2018.01)
C12Q 1/6876 (2018.01)
C12Q 1/6883 (2018.01)

(12) ABSTRACT OF INVENTION

(52) CPC
G01N 33/582 *(2026.08);* ***C12Q 1/6806*** *(2026.08);* ***C12Q 1/6827*** *(2026.08);* ***C12Q 1/686*** *(2026.08);* ***C12Q 1/6876*** *(2026.08);* ***C12Q 1/6883*** *(2026.08);* ***G01N 2800/368*** *(2026.08);* ***G01N 2800/50*** *(2026.08)*

(21)(22) Application: **2026111486, 15.04.2026**

(24) Effective date for property rights:
15.04.2026

Registration date:
20.10.2026

Priority:
(22) Date of filing: **15.04.2026**

(45) Date of publication: **20.10.2026** Bull. № **29**

Mail address:
308015, g. Belgorod, ul. Pobedy, 85, NIU "BelGU", Krylova Anna Sergeevna

(72) Inventor(s):
Churnosova Mariia Mikhailovna (RU),
Elykova Anna Vladimirovna (RU),
Ponomarenko Irina Vasilevna (RU),
Churnosov Mikhail Ivanovich (RU),
Tsoi Kirill Vladimirovich (RU)

(73) Proprietor(s):
federalnoe gosudarstvennoe avtonomnoe obrazovatelnoe uchrezhdenie vysshego obrazovaniia "Belgorodskii gosudarstvennyi natsionalnyi issledovatelskii universitet" (NIU "BelGU") (RU)

(54) METHOD FOR PREDICTING RISK OF DEVELOPING PREECLAMPSIA IN WOMEN WITH NORMAL BODY WEIGHT (BMI < 25)

(57) Abstract:

FIELD: medicine.

SUBSTANCE: invention relates to clinical gynecology, medical genetics, molecular diagnostics and can be used to predict the risk of developing preeclampsia in women with normal body weight (BMI<25) of Russian nationality, who are natives of the Central Black Earth Region of the Russian Federation. DNA from the peripheral venous blood is isolated. When a combination of polymorphic loci rs8023580 TC x rs7910927 GG x rs10454142 TC x rs112295236 CC x rs727428 CC is detected, a high risk of developing preeclampsia is predicted.

EFFECT: method provides for obtaining new criteria for assessing the increased risk of developing preeclampsia in women with normal body weight of Russian nationality, natives of the Central Black Earth Region of the Russian Federation, through the analysis of polymorphic loci rs8023580, rs7910927, rs10454142, rs112295236, rs727428.

1 cl, 5 ex

RU 2872274 C1

RU 2872274 C1

Изобретение относится к области медицины, в частности к клинической гинекологии, медицинской генетике, молекулярной диагностике, и может быть использовано для прогнозирования риска развития преэклампсии у женщин с нормальной массой тела (ИМТ<25).

Преэклампсия (ПЭ) - это осложнение беременности, возникающее во второй ее половине и характеризующееся появлением отеков, протеинурии, артериальной гипертензии, а также глубокими расстройствами функции сосудистой системы, гемостаза, иммунитета, гемодинамики и микроциркуляции, развитием плацентарной недостаточности, нарушений функции почек, печени, легких [Оленев, А.С. Преэклампсия как угрожающее жизни состояние / А.С. Оленев, В.А. Новикова, В.Е. Радзинский // Акушерство и гинекология. - 2020. - № 3. - С. 48-57.].

В настоящее время ПЭ является одной из самых актуальных проблем современного акушерства ввиду широкой распространенности, сложности этиопатогенеза, высокой частоты материнской и перинатальной заболеваемости и смертности [Сидорова, И.С. Решенные и нерешенные вопросы преэклампсии по результатам анализа материнской смертности за последние 10 лет / И.С. Сидорова, Н.А. Никитина, О.С. Филиппов [и др.] // Акушерство и гинекология. - 2021. - № 4. - С. 64-74.]. Материнская смертность, являясь важным интегрирующим показателем репродуктивного здоровья, отражает итог воздействия экономических, социально-гигиенических и медико-организационных факторов. По данным Росстата в период с 2017 по 2021 г. происходит значительный рост материнской смертности с 8,8 до 34,5 на 100 тыс. родившихся живыми [Федеральная служба государственной статистики: официальный сайт. - Москва. - Обновляется в течение суток. - URL: https://rosstat.gov.ru (дата обращения: 24.07.2024). - Текст: электронный.5].

В основе патогенеза преэклампсии лежит эндотелиальная дисфункция, связанная с развитием окислительного стресса и воспалительных реакций. В формирование этих процессов вовлечены множество различных факторов (материнские, средовые, генетические). При этом генетические факторы играют наиболее значимую роль.

В Российской Федерации исследования вовлеченности полиморфных локусов rs8023580 x rs7910927 x rs10454142 x rs112295236 x rs727428 в формирование развития преэклампсии у женщин с нормальной массой тела (ИМТ<25) единичны и фрагментарны.

Для оценки сложившейся патентной ситуации был выполнен поиск по охранным документам за период с 1990 по 2025 гг. Анализ документов производился по направлению: способ прогнозирования риска развития преэклампсии у женщин с нормальной массой тела (ИМТ<25). Источник информации: сайт Федерального института промышленной собственности http://fips.ru.

В изученной научно-медицинской и доступной патентной литературе авторами не было обнаружено способа прогнозирования повышенного риска развития преэклампсии у женщин с нормальной массой тела (ИМТ<25) на основе данных о полиморфных локусах rs8023580 x rs7910927 x rs10454142 x rs112295236 x rs727428.

Из области техники известен «Способ прогнозирования гестоза» по патенту РФ №2191384 по заявке №2000115821/14, 16.06.2000. Заявляемый способ позволяет прогнозировать развитие гестоза за 2-4 недели до его клинических проявлений (артериальная гипертензия, протеинурия, отеки). Определяемое у беременных время устойчивости эритроцитов к перекисному гемолизу характеризует суммарный показатель состояния клеточных мембран. Недостаток указанного способа заключается в том, что не рассматриваются генетические полиморфизмы и их сочетания с риском развития

ПЭ.

Известен патент РФ №2538661, опубликованный 10.01.2015 по заявке РФ №2011125546/15, 24.11.2009 «Прогнозирование и предупреждение преэклампсии» (Деннис Р. СТЬЮАРТ (US), Керк П. КОНРАД (US), Арундхати ДЖЕЯБАЛАН (US). Способ включает определение концентрации H2-релаксина в биологическом образце, полученном из организма беременной женщины до проявления симптома преэклампсии. Считают, что беременная женщина имеет повышенный риск развития преэклампсии, если концентрация H2-релаксина меньше предельного значения нижнего квартиля концентрации, характерной для беременной женщины. Дополнительно измеряют концентрацию С-реактивного белка (CRP) в биологическом образце и определяют, что беременная женщина имеет повышенный риск развития преэклампсии, если концентрация CRP больше чем примерно 13,5 мкг/мл, даже если концентрация H2-релаксина больше чем примерно 500 пг/мл. Недостаток метода заключается в сложности анализа и дороговизне его проведения.

Также известен патент №2578425 по заявке РФ №2014118506/15, 07.05.2014 «Способ прогнозирования риска развития преэклампсии» (Чурносов М.И.(RU), Елыкова А.В. (RU), Рудых Н.А. (RU), Добродомова И.С. (RU), Полоников А.В. (RU), Верзилина И.Н. (RU)). Сущность способа состоит в том, что осуществляют забор венозной крови, выделение геномной ДНК, проведение полимеразной цепной реакции синтеза ДНК и исследование гена по локусу -344C/T CYP11 B2 и прогнозируют риск развития преэклампсии по результатам уравнения P=ey / (1+ey), где e - математическая константа, равная 2,72, а y находят из уравнения бинарной логистической регрессии следующего вида: y=16,462+0,820*x1+0,680*x2-2,470*x3-2,444*x4-0,132*x5, где

x1 - генетический вариант по локусу - 344C/T CYP11 B2, где CC или TC - 1, TT - 0;

x2 - курение: да - 0, нет - 1;

x3 - наличие ПЭ у родственников: да - 0, нет - 1;

x4 - наличие патологии со стороны сердечно-сосудистой системы: да - 0, нет - 1;

x5 - САД до беременности, мм рт. ст.

Недостаток указанного способа заключается в том, что не рассматриваются другие генетические полиморфизмы и их сочетания с риском развития ПЭ.

За прототип выбран «Способ прогнозирования риска развития преэклампсии на основе комбинаций генов цитокинов» по патенту РФ №2568891, номер заявки 2014135181/15, 28.08.2014, включающий прогнозирование минимального риска развития преэклампсии при сочетании трех генетических вариантов четырех генетических полиморфизмов: G I-TAC (rs4512021) и +36 GG TNFR1; +250 A Ltα, G I-TAC (rs4512021) и +36 GG TNFR1; +250 G Ltα (rs909253), +36 A TNFR1 (rs767455), -403 G/A RANTES (rs2107538). Недостаток данного способа в том, что не рассматриваются другие генетические полиморфизмы и их SNPxSNP взаимодействия.

Задачей настоящего исследования является расширение арсенала способов диагностики, а именно создание способа прогнозирования риска развития преэклампсии у женщин с нормальной массой тела (ИМТ<25) на основе данных о полиморфных локусах rs8023580 x rs7910927 x rs10454142 x rs112295236 x rs727428.

Технический результат использования изобретения - получение критериев оценки повышенного риска развития преэклампсии у женщин с нормальной массой тела (ИМТ<25) русской национальности, уроженок Центрально - Черноземного региона РФ, на основе данных о полиморфных локусах rs8023580 x rs7910927 x rs10454142 x rs112295236 x rs727428, включающий:

- выделение ДНК из периферической венозной крови;

- анализ полиморфных локусов rs8023580, rs7910927, rs10454142, rs112295236, rs727428;

- прогнозирование риска развития преэклампсии у женщин с нормальной массой тела (ИМТ<25) при выявлении комбинации полиморфных локусов rs8023580 TC x rs7910927 GG x rs10454142 TC x rs112295236 CC x rs727428 CC.

Новизна и изобретательский уровень заключаются в том, что из уровня техники не известна возможность прогнозирования риска развития преэклампсии у женщин с нормальной массой тела (ИМТ<25) на основе данных о комбинации полиморфных локусов rs8023580 TC x rs7910927 GG x rs10454142 TC x rs112295236 CC x rs727428 CC.

Способ осуществляют следующим образом:

Производят забор периферической венозной крови. Выделение геномной ДНК из периферической крови осуществляют методом фенольно-хлороформной экстракции (Miller, S.A. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells / S.A. Miller, D.D. Dykes, H.F. Polesky // Nucleic. Acids. Res. - 1988. - Vol. 16, № 3. - P. 1215) в два этапа. На первом этапе к 4 мл крови с ЭДТА добавляют 25 мл лизирующего буфера, содержащего 320мМ сахарозы, 1% тритон X-100, 5мМ $MgCl_2$, 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.

Анализ полиморфных локусов rs8023580, rs7910927, rs10454142, rs112295236, rs727428 осуществляют методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) на термоциклере CFX-96 Real-Time System (Bio-Rad) с использованием стандартных олигонуклеотидных праймеров и зондов (синтезированы в ООО «Тест - Ген» (Ульяновск)).

Амплификацию геномной ДНК производят в реакционной смеси, суммарным объемом 10 мкл, включающей смесь для локусов rs8023580 или rs7910927 или rs10454142 или rs112295236 или rs727428- 4 мкл, Taq-полимеразу - 2 мкл, исследуемый образец (~30 нг ДНК/мкл) - 1 мкл, деионизированная вода - 3мкл.

Генотипирование исследуемых образцов осуществлялось с использованием программного обеспечения «CFX-Manager™» методом дискриминации аллелей по величинам относительных единиц флуоресценции.

На следующем этапе работы моделируют в программном комплексе MB-MDR (доступ-https://github.com/imbs-hl/mbmdR) межлокусные взаимодействия, имеющие рисковое значения для преэклампсии (проводят учет ковариат и выполняют пермутационные процедуры). Оценивают модели с участием 2-,3-,4-локусов. При этом, с целью снижения вероятности ложноположительных результатов для выделения наиболее значимых моделей, детерминирующих риск развития заболевания на каждом уровне отбирают 2-3 наиболее значимые модели, на этапе отбора моделей для пермутационного тестирования, дополнительно вводят поправку Бонферрони с учетом возможных комбинаций 4 рассматриваемых локусов: для 2-х локусных моделей в качестве порогового уровня был установлен показатель p=0,05/36 = 1,39*10-3, для 3-х локусных - p=0,05/84 = 5,95*10-4, для 4-х локусных - p=0,05/126 = 3,97*10-4. Визуализация

межлокусных взаимодействий, связанных с преэклампсией проводят с применением программы MDR (доступ-http://www. multifactordimensionalityreduction.org/).

Возможность использования предложенного способа для оценки прогнозирования риска развития преэклампсии у женщин с нормальной массой тела (ИМТ<25) подтверждает анализ результатов наблюдений 629 беременных, из них 290 беременные с преэклампсией и 339 пациентки контрольной группы. Возрастные характеристики больных и контроля были сопоставимы. В выборки для исследования включались: 1) пациентки русской национальности, являющиеся уроженками Центрального Черноземья РФ, не имеющие родства между собой и проживающие в Белгородской области (Чурносов М.И., Сорокина И.Н., Балановская Е.В. Генофонд населения Белгородской области. Динамика индекса эндогамии в районных популяциях // Генетика. 2008. Т. 44. №8. С. 1117-1125), добровольно согласившиеся на проведение исследования; 2) в группу больных включались пациентки только после установления диагноза заболевания преэклампсия, подтвержденного с помощью клинических и лабораторно-инструментальных, в том числе морфологических методов обследования.

Обследование беременных проводилось на базе перинатального центра Белгородской областной клинической больницы Святителя Иоасафа с 2008 по 2013 гг.

Все беременные с преэклампсией и женщины контрольной группы подписали информированное согласие на участие в исследовании (проведение исследования было согласовано с этическим комитетом медицинского института НИУ «БелГУ»).

Типирование молекулярно-генетических маркеров осуществлялось на кафедре медико-биологических дисциплин медицинского института НИУ «БелГУ».

При изучении SNP x SNP взаимодействий установлена генетическая модель, включающая наличие значимой четырехлокусной модели, вовлеченную в развитие преэклампсии у женщин с нормальной массой тела (ИМТ<25), является rs8023580 x rs7910927 x rs10454142 x rs112295236 x rs727428 ($p_{perm} \leq 0{,}001$). С развитием заболевания наиболее значимая ассоциация выявлена для комбинации локусов rs8023580 TC x rs7910927 GG x rs10454142 TC x rs112295236 CC x rs727428 CC (beta = 2,14 p=0,046)., имеющая рисковую направленность.

В качестве примеров конкретного применения разработанного способа проведено генетическое обследование женщин русской национальности, являющихся уроженками Центрального Черноземья РФ и не имеющих родства между собой: проведено генетическое исследование по полиморфным локусам rs8023580 x rs7910927 x rs10454142 x rs112295236 x rs727428.

У пациентки Ж. была взята венозная кровь, проведено генотипирование ДНК-маркеров, при анализе вовлеченности полиморфных локусов rs8023580 x rs7910927 x rs10454142 x rs112295236 x rs727428 была выявлена комбинация локусов rs8023580 TC x rs7910927 GG x rs10454142 TC x rs112295236 CC x rs727428 CC, что позволило отнести пациентку в группу больных с повышенным риском развития преэклампсии у женщин с нормальной массой тела (ИМТ<25). Дальнейшее наблюдение подтвердило диагноз преэклампсия у пациентки.

У пациентки К. была взята венозная кровь, проведено генотипирование ДНК-маркеров, при анализе вовлеченности полиморфных локусов rs8023580 x rs7910927 x rs10454142 x rs112295236 x rs727428 была выявлена комбинация локусов rs8023580 TT x rs7910927 GT x rs10454142 TC x rs112295236 CC x rs727428 CT, что позволило отнести пациентку в группу пациентов с низким риском развития преэклампсии у женщин с нормальной массой тела (ИМТ<25). Дальнейшее наблюдение не подтвердило диагноз у пациентки.

У пациентки А. была взята венозная кровь, проведено генотипирование ДНК-маркеров, при анализе вовлеченности полиморфных локусов rs8023580 x rs7910927 x rs10454142 x rs112295236 x rs727428 была выявлена комбинация локусов rs8023580 TC x rs7910927 GG x rs10454142 TC x rs112295236 CG x rs727428 TT, что позволило отнести пациентку в группу больных с низким риском развития преэклампсии у женщин с нормальной массой тела (ИМТ<25). Дальнейшее наблюдение не подтвердило диагноз преэклампсия у пациентки.

У пациентки С. была взята венозная кровь, проведено генотипирование ДНК-маркеров, при анализе вовлеченности полиморфных локусов rs8023580 x rs7910927 x rs10454142 x rs112295236 x rs727428 была выявлена комбинация локусов rs8023580 TC x rs7910927 GG x rs10454142 TC x rs112295236 CC x rs727428 CC, что позволило отнести пациентку в группу больных с повышенным риском развития преэклампсии у женщин с нормальной массой тела (ИМТ<25). Дальнейшее наблюдение подтвердило диагноз преэклампсия у пациентки С.

У пациентки Б. была взята венозная кровь, проведено генотипирование ДНК-маркеров, при анализе вовлеченности полиморфных локусов rs8023580 x rs7910927 x rs10454142 x rs112295236 x rs727428 была выявлена комбинация локусов rs8023580 TC x rs7910927 GG x rs10454142 CC x rs112295236 CC x rs727428 TT, что позволило отнести пациентку в группу индивидуумов с низким риском развития преэклампсии у женщин с нормальной массой тела (ИМТ<25). При дальнейшем наблюдении диагноз преэклампсия у пациентки Б. не подтвердился.

Применение данного способа позволит на доклиническом этапе формировать среди женщин группы риска и своевременно реализовывать в этих группах необходимые лечебно-профилактические мероприятия по предупреждению развития преэклампсии у женщин с нормальной массой тела (ИМТ<25).

(57) Формула изобретения

Способ прогнозирования риска развития преэклампсии у женщин с нормальной массой тела (ИМТ<25) русской национальности, являющихся уроженками Центрального Черноземья РФ, включающий выделение ДНК из периферической венозной крови, анализ полиморфных локусов rs8023580, rs7910927, rs10454142, rs112295236, rs727428, где при выявлении комбинации полиморфных локусов rs8023580 TC x rs7910927 GG x rs10454142 TC x rs112295236 CC x rs727428 CC прогнозируют высокий риск развития преэклампсии у женщин с нормальной массой тела (ИМТ<25).