



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **114431** (13) **U**  
(51) МПК (2017.01)  
**A61B 10/00**  
**C12N 15/00**

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ  
УКРАЇНИ

**(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ**

<b>(21)</b> Номер заявки: <b>u 2016 09075</b>	<b>(72)</b> Винахідник(и): <b>Моїсеєнко Ірина Олегівна (UA),</b> <b>Приступа Людмила Никодимівна (UA)</b>
<b>(22)</b> Дата подання заявки: <b>29.08.2016</b>	<b>(73)</b> Власник(и): <b>СУМСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ УНІВЕРСИТЕТ,</b> вул. Римського-Корсакова, 2, м. Суми, 40007 (UA)
<b>(24)</b> Дата, з якої є чинними права на корисну модель: <b>10.03.2017</b>	
<b>(46)</b> Публікація відомостей про видачу патенту: <b>10.03.2017, Бюл.№ 5</b>	

**(54) СПОСІБ ПРОГНОЗУВАННЯ РОЗВИТКУ АРТЕРІАЛЬНОЇ ГІПЕРТЕНЗІЇ (АГ)**

**(57)** Реферат:

Спосіб прогнозування розвитку артеріальної гіпертензії (АГ) включає проведення молекулярно-генетичних досліджень. Дослідження проводять шляхом визначення генотипу за поліморфним варіантом С825Т гена GNB3 і при наявності в генотипі мінорного Т алеля гена GNB3 роблять висновок про підвищений ризик розвитку АГ у даних пацієнтів.

UA 114431 U



Корисна модель належить до галузі клінічної медицини, а саме до внутрішніх хвороб, кардіології та медичної генетики, і може бути використана з метою прогнозування та профілактики есенціальної артеріальної гіпертензії (АГ) як для чоловіків, так і жінок.

5 АГ - основний фактор ризику розвитку хвороб системи кровообігу та є нозологічною  
 10 одиницею, яка заслуговує на першочергову увагу з медико-соціальної точки зору [Голяченко  
 О.М. Демографічні процеси в Україні в роки незалежності / О.М. Голяченко, А.О. Голяченко // Вісник наукових досліджень (Тернопільська державна медична академія ім. І.Я. Горбачевського). - 2011. - № 4. - С. 38-41; Оцінка ефективності "Програми профілактики і лікування артеріальної гіпертензії в Україні" за даними епідеміологічних досліджень / І.М. Горбась, І.П. Смирнова, О.О. Кваша [та ін.] // Артериальная гипертензия. - 2010. - № 6 (14). -С 51-82]. Близько 25 % дорослого населення світу має АГ. За прогнозами, у 2025 році кількість хворих на АГ зросте до 1,5 млрд. осіб, а передчасних смертей - до 7,6 млн (близько 13,5 % від загального числа) [Медико-демографічна ситуація та основні показники медичної допомоги населенню в регіональному аспекті: 2012 рік / МОЗ України, ДУ "Український інститут стратегічних досліджень МОЗ України". - К., 2013р. - 190 с.]. Особливістю перебігу АГ є безсимптомність або малосимптомність, що призводить до пізньої діагностики захворювання, коли вже з'являються ускладнення. Вищезазначене визначає необхідність розробки способів прогнозування розвитку АГ, що дуже важливо для оптимізації ранньої профілактики цього захворювання.

20 Останніми роками ведеться активний пошук "генів-кандидатів", відповідальних за розвиток АГ: важливе значення в патогенезі АГ відіграють гени ренін-ангіотензин-альдостеронової (РААС), симпато-адреналової систем (САС), ген хімази серця, ген ендотеліальної NO-синтетази, ген синтетази альдостерону. [Кравчук П. Г. Сучасне уявлення про значення поліморфізму генів у патогенезі артеріальної гіпертензії у хворих на хронічну серцеву недостатність: контент-аналіз / П.Г. Кравчук., Д.В. Ольховський, В.І. Кадикова. // Клініч. та експерим. патологія. - 2012. - Т. 11. - № 1 (39) - С. 186-190; Основы кардиологии. Принципы и практика / Под ред. Проф. Клива Розендорфа - 2-е изд. - Львов: Медицина світу, 2007. - С. 735-761; Тарасова К.В. Патогенез артеріальної гіпертензії: деякі сучасні уявлення / К.В. Тарасова, В.Г. Шевчук, І.С. Чекман // Биомедицинская и биосоциальная антропология. - 2008. - № 10. - С. 304-311]. Крім того, чільне місце у розвитку АГ посідають гени, що кодують синтез білків-трансдукторів, які здійснюють передачу сигналів від гормонів і вазоактивних речовин до клітинних структур, тому велику увагу приділяють дослідженню С825Т поліморфізму гена GNB3, основною функцією якого є передача сигналів від мембранних рецепторів до внутрішніх структур [Siffert W. G-protein B3 subunit 825T allele and hypertension / W. Siffert // Cur. Hypertens. Rep. - 2003. - Vol. 1. - № 5. - P. 47-53.174]. Таким чином, визначення генотипів за С825Т поліморфізмом гена GNB3 дає можливість прогнозування розвитку АГ до клінічних проявів хвороби та ранньої профілактики у групі ризику.

40 Відомий спосіб прогнозування АГ з урахуванням поліморфізмів генів [Пат. №29994 U, UA, МПК (2006) А61В 10/00, опубл. 11.02.2008, Бюл. № 3], що включає встановлення сімейного генетичного імпринтингу та визначення поліморфізмів генів рецептора ангіотензину II першого типу, ангіотензинперетворюючого ферменту,  $\beta_1$ -адренорецептора, ендотеліальної NO-синтази та PPAR- $\gamma$ 2 рецептора, але недоліком цього способу є суб'єктивізм при визначенні сімейного імпринтингу та значні фінансові затрати при індивідуальному генотипуванні за п'ятьма генами.

45 Найбільш близьким до запропонованого, а тому прийнятним за прототип, є спосіб прогнозування розвитку гіпертонічної хвороби у жінок, що включає дослідження поліморфного варіанта С108Т гена параоксонази (пат. № 75386, U, UA, МПК А61В10/00, опубл. 26.11.2012, Бюл. № 22).

Недоліком вибраного прототипу можна назвати прогнозування розвитку хвороби лише у жінок, що не дає вірогідних даних щодо розвитку захворювання в популяції.

50 В основу корисної моделі поставлена задача розробити спосіб прогнозування ризику розвитку АГ у загальній популяції (чоловіки та жінки) шляхом визначення генотипів за С825Т поліморфізмом гена GNB3, що дозволить більш інформативно та з меншими затратами сформулювати групи високого ризику для того, щоб здійснити заходи з профілактики даної патології.

55 Поставлена задача вирішується тим, що у відомому способі прогнозування АГ, що включає проведення молекулярно-генетичних досліджень, згідно із корисною моделлю, дослідження проводять шляхом визначення генотипу за поліморфним варіантом С825Т гена GNB3 і при наявності в генотипі мінорного Т алеля гена GNB3 роблять висновок відносно підвищеного ризику розвитку АГ.

Виконання способу прогнозування розвитку АГ, що заявляється, з усіма суттєвими ознаками, включаючи відмінні, дозволяє по оцінці результатів в генотипі мінорного Т алеля сформулювати групи ризику серед пацієнтів для ранньої профілактики захворювання.

Спосіб виконують наступним чином: розвиток АГ прогнозують шляхом виділення із цільної крові за допомогою реагенту поліморфних ДНК-локусів методом полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) на ампліфікаторі з наступною детекцією ампліфікованих фрагментів шляхом електрофорезу в 2,5 %-ому агарозному гелі, забарвленому бромистим етидієм. ПЛР проводили з використанням послідовностей праймерів: прямого 5' TGACCCACTTGCCACCCGTGC 3' і зворотного 5' GCAGCAGCCAGGGCTGGC 3'. ПЛР проводили в термоциклері GeneAmp PCR System 2700 ("Applied Biosystems", США). Ампліфікація фрагмента 10-го екзону складалася з 33 циклів: денатурація - 94 °С (50 с), гібридизація праймерів - 64,5 °С (45 с) і елонгація - 72 °С (1 хв). Потім 6 мкл продукту ампліфікації інкубували при 55 °С протягом 18 годин з 3 ОД рестриктази BseDI (BsaJI) ("Thermo Scientific", США) у буфері Tango такого складу: 33 мМ триацетату (рН 7,9), 10 мМ ацетату магнію, 66 мМ ацетату калію, 0,1 мг/мл альбуміну. Якщо у 825-й позиції гена GNB3 містився тимін, то рестриктаза BseDI розщеплює ампліфіковану ділянку (довжина - 267 пар азотистих основ) на два фрагменти - 115 і 152 пар основ. Ампліфікати після рестрикції розділяли в 2,5 % агарозному гелі, що містив 10 мкг/мл бромистого етидію. Горизонтальний електрофорез (0,1 ЗА; 200V) проводили протягом 40 хв. Візуалізацію ДНК після електрофорезу здійснювали за допомогою транслюмінатора ("Біоком", Росія).

При дослідженні С825Т поліморфізму гена GNB3 наявність фрагмента ДНК розміром 267 пар нуклеотидів (п.н.) відповідає генотипу Т825Т, наявність трьох фрагментів довжиною 267 п.н., 115 п.н. і 152 п.н. - генотипу С825Т, а наявність двох фрагментів довжиною 115 п.н. і 152 п.н. - генотипу С825С. Наявність фрагментів розміром 267 пар нуклеотидів (п.н.) та трьох фрагментів довжиною 267 п.н., 115 п.н. і 152 п.н. свідчить про присутність мінорного Т алеля в генотипі та вказує на ризик розвитку АГ.

Запропонованим способом було проведено обстеження 155 пацієнтів із верифікованим діагнозом АГ II стадії, 1, 2 та 3 ступенів (основою діагностики АГ є рекомендації адаптованої клінічної настанови "Артеріальна гіпертензія" (2012) (Наказ МОЗ України № 384 від 24.05.12р.) за результатами детального клініко-інструментального обстеження хворих) та 50 практично здорових осіб.

Статистичну обробку отриманих даних проводили за допомогою програми SPSS Statistics 21,0. Для порівняння розподілу алельних варіантів між групами хворих та контролю використовували критерій  $\chi^2$ -Пірсона. Про асоціацію генотипів та алеля зі схильністю до захворювань оцінювали за величиною відношення шансів (ВШ) з 95 % довірчим інтервалом (ДІ). Статистично достовірними вважали відмінності при р (показник вірогідності відмінностей) <0,05.

Результати молекулярно-генетичного аналізу поліморфізму С825Т гена GNB3 в досліджуваних групах наведено в таблиці.

Таблиця

Генотип	Контрольна група, n=50		Хворі на артеріальну гіпертензію, n=155		P
	n	%	n	%	
С825С	28	56	49	31,6	0,002
С825Т	19	38	86	55,5	0,035
Т825Т	3	6	20	12,9	0,81
С825С	28	56	49	31,6	0,002
С825Т+Т825Т	22	44	106	68,4	<0,001
$\chi^2=50,8$					
p<0,001					

Примітки:

n - кількість пацієнтів;

$\chi^2$  - критерій узгодженості Пірсона;

p - показник вірогідності відмінностей.

Із таблиці видно, що серед хворих на АГ частота гомозигот та гетерозигот за Т алелем у 2 рази є вища, ніж частота гомозигот за С алелем, крім того у групі контролю носіїв С825С генотипу на 25 % більше порівняно з такими серед пацієнтів із АГ.

Ризик розвитку АГ у носіїв мінорного Т алеля у 2,7 рази вищий, ніж у носіїв С825С генотипу (ВШ=2,7, 95 % ДІ 1,43-5,29; p=0,002), що свідчить про його асоціацію із даним захворюванням.

Відносний ризик розвитку АГ асоційований із наявністю Т алеля (ВШ=2,7, 95 % ДІ 1,43-5,29;  $p=0,002$ ).

5 Технічним результатом, що досягається запропонованим способом, є прогнозування ризику розвитку АГ у осіб, які мають Т алель у генотипі за С825Т поліморфізмом гена GNB3, що дозволяє сформувати групи ризику щодо розвитку АГ. Для таких осіб можна рекомендувати контроль факторів ризику серцево-судинних захворювань, корекцію способу життя шляхом проведення профілактичних заходів, що дозволило б суттєво знизити ризик розвитку АГ.

#### 10 ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Спосіб прогнозування розвитку артеріальної гіпертензії (АГ), що включає проведення молекулярно-генетичних досліджень, який **відрізняється** тим, що дослідження проводять шляхом визначення генотипу за поліморфним варіантом С825Т гена GNB3 і при наявності в генотипі мінорного Т алеля гена GNB3 роблять висновок про підвищений ризик розвитку АГ у 15 даних пацієнтів.

---

Комп'ютерна верстка Т. Вахричева

---

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Василя Липківського, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

---

ДП "Український інститут інтелектуальної власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601