



(51) МПК
G01N 33/50 (2006.01)
C12Q 1/6806 (2018.01)
C12Q 1/6827 (2018.01)
C12Q 1/686 (2018.01)
C12Q 1/6876 (2018.01)

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
 ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(52) СПК

G01N 33/50 (2022.08); *C12Q 1/6806* (2022.08); *C12Q 1/6827* (2022.08); *C12Q 1/686* (2022.08); *C12Q 1/6876* (2022.08)

(21)(22) Заявка: 2022104029, 16.02.2022

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
16.02.2022

Дата регистрации:
28.10.2022

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 16.02.2022

(45) Опубликовано: 28.10.2022 Бюл. № 31

Адрес для переписки:

308015, Белгородская обл., г. Белгород, ул.
Победы, 85, НИУ "БелГУ", ОИС, Шевцовой
И.В.

(72) Автор(ы):

Чурносов Михаил Иванович (RU),
Миняйло Оксана Николаевна (RU),
Елыкова Анна Владимировна (RU),
Пономаренко Ирина Васильевна (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 2542459 C1, 20.02.2015. RU
2143684 C1, 27.12.1999. RU 2652275 C2,
25.04.2018. ВУ 19026 C1, 28.02.2015.

МИНЯЙЛО О.Н. Распределение аллелей и гаплоглобальная структура полиморфизма генов матриксных металлопротеиназ у больных *H. pylori*-негативной язвенной болезнью желудка и двенадцатиперстной кишки. Научные результаты биомедицинских исследований. (см. прод.)

(54) Способ прогнозирования риска развития *H. pylori*-позитивной язвенной болезни двенадцатиперстной кишки с использованием данных о полиморфизме гена *MMP-9*

(57) Реферат:

Изобретение относится к медицине, а именно к медицинской диагностике, и может быть использовано для прогнозирования риска развития *H. pylori*-позитивной язвенной болезни двенадцатиперстной кишки у неродственных русских индивидуумов, уроженцев Центрально-Черноземного региона РФ. Осуществляют забор венозной крови, выделение ДНК из периферической венозной крови и анализ полиморфных локусов rs17576-rs3787268-rs2250889-rs17577 гена *MMP-9*. Высокий риск развития *H. pylori*-позитивной язвенной болезни

двенадцатиперстной кишки прогнозируют при выявлении гаплотипа GACG полиморфных локусов rs17576-rs3787268-rs2250889-rs17577 гена *MMP-9*. Способ обеспечивает получение новых критериев оценки риска развития *H. pylori*-позитивной язвенной болезни двенадцатиперстной кишки у индивидуумов русской национальности, уроженцев Центрально-Черноземного региона РФ, на основе данных о полиморфных локусах rs17576-rs3787268-rs2250889-rs17577 гена *MMP-9*. 4 ил., 4 пр.

(56) (продолжение):

2020; 6(4): 488-502. МИНЯЙЛО О.Н. и др. Гендерные особенности ассоциаций полиморфизма генов матричных металлопротеиназ с развитием язвенной болезни у населения Центрального Черноземья России. Генетика. 2021; 57(10): 1185-1193. Принята к публикации 11.02.2021.

R U 2 7 8 2 4 9 6 C 1

R U 2 7 8 2 4 9 6 C 1



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(51) Int. Cl.
G01N 33/50 (2006.01)
C12Q 1/6806 (2018.01)
C12Q 1/6827 (2018.01)
C12Q 1/686 (2018.01)
C12Q 1/6876 (2018.01)

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

(52) CPC

G01N 33/50 (2022.08); *C12Q 1/6806* (2022.08); *C12Q 1/6827* (2022.08); *C12Q 1/686* (2022.08); *C12Q 1/6876* (2022.08)

(21)(22) Application: **2022104029, 16.02.2022**(24) Effective date for property rights:
16.02.2022Registration date:
28.10.2022

Priority:

(22) Date of filing: **16.02.2022**(45) Date of publication: **28.10.2022** Bull. № 31

Mail address:

**308015, Belgorodskaya obl., g. Belgorod, ul.
Pobedy, 85, NIU "BelGU", OIS, Shevtsovoj I.V.**

(72) Inventor(s):

**Churnosov Mikhail Ivanovich (RU),
Minyajlo Oksana Nikolaevna (RU),
Elykova Anna Vladimirovna (RU),
Ponomarenko Irina Vasilevna (RU)**

(73) Proprietor(s):

**federalnoe gosudarstvennoe avtonomnoe
obrazovatelnoe uchrezhdenie vysshego
obrazovaniya "Belgorodskij gosudarstvennyj
natsionalnyj issledovatel'skij universitet" (NIU
"BelGU") (RU)**

(54) **METHOD FOR PREDICTING THE RISK OF DEVELOPING H. PYLORI-POSITIVE DUODENAL ULCER USING DATA ON MMP-9 GENE POLYMORPHISM**

(57) Abstract:

FIELD: medicine.

SUBSTANCE: invention relates to medicine, namely to medical diagnostics, and can be used to predict the risk of developing H. pylori-positive duodenal ulcer in unrelated Russian individuals, natives of the Central Black Earth region of the Russian Federation. Venous blood is taken, DNA is isolated from peripheral venous blood, and polymorphic loci rs17576-rs3787268-rs2250889-rs17577 of the MMP-9 gene are analyzed. A high risk of developing H. pylori-

positive duodenal ulcer is predicted by detecting the GACG haplotype of polymorphic loci rs17576-rs3787268-rs2250889-rs17577 of the MMP-9 gene.

EFFECT: method provides for obtaining new criteria for assessing the risk of developing H. pylori-positive duodenal ulcer in individuals of Russian nationality, natives of the Central Black Earth region of the Russian Federation, based on data on polymorphic loci rs17576-rs3787268-rs2250889-rs17577 of the MMP-9 gene.

1 cl, 4 dwg, 4 ex

Изобретение относится к области медицинской диагностики и предназначено для прогнозирования риска развития *H. pylori*-позитивной язвенной болезни двенадцатиперстной кишки.

Язвенная болезнь желудка и двенадцатиперстной кишки (ЯБЖ и ДПК) относится к группе многофакторных заболеваний, в формирование которого вовлечены ряд факторов риска и полигенная основа. Этиология и патогенез язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки активно изучаются как российскими, так и зарубежными исследователями (Malfertheiner, P. *Helicobacter pylori* Infection: New Facts in Clinical Management / P. Malfertheiner, M. Venerito, C. Schulz // *Cur. Treat. Options Gastroenterol.* - 2018. - Vol. 16, № 4. - P. 605-615), однако, несмотря на это, к настоящему времени, не создана единая теория патогенеза ЯБЖ и ДПК (Осипова А.С. Язвенная болезнь желудка и двенадцатиперстной кишки и ее осложнения / А.С. Осипова, Ю.К. Саитова, С.Н. Стяжкина // *Вопросы науки и образования.* - 2017. - № 9. - С. 66-69).

Эпидемиологические исследования свидетельствуют о значимой связи между инфекцией *H. pylori* и язвенной болезнью. Однако, при этом, следует отметить, что около половины населения мира имеет хроническую инфекцию *H. pylori* слизистой оболочки желудка и двенадцатиперстной кишки, но только у 5-15% развиваются язвы. Среди факторов, определяющих будет ли инфекция вызывать заболевание, важное значение имеют следующие: характер гистологических изменений, вызванных гастритом, выраженность нарушений в гомеостазе гормонов желудка и секреции соляной кислоты, наличие метаплазии желудка в двенадцатиперстной кишки, взаимодействие *H. pylori* со слизистым барьером, иммунные факторы, ульцерогенность штамма *H. pylori*, генетические факторы, прием НПВП и др. (Chaperone activity of serine protease HtrA of *Helicobacter pylori* as a crucial survival factor under stress conditions / U. Zarzecka, A. Harrer, A. Zawilak-Pawlik [et al.]. - DOI: 10.1186/s12964-019-0481-9 // *Cell Commun. Signal.* - 2019. - Vol. 17, № 1. - Art. 161. - URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6892219/pdf/12964_2019_Article_481.pdf (date of the application 12.05.2021)).

Развитие язвенной болезни включает в себя взаимосвязь между поражением, защитой и восстановлением слизистой оболочки, поскольку она постоянно незащищена от воздействия травмирующих факторов среды (Diagnosis and Treatment of Peptic Ulcer Disease / R. T. Kavitt, A. M. Lipowska, A. Anyane-Yeboah, I. M. Gralnek // *Am. J. Med.* - 2019. - Vol. 132, № 4. - P. 447-456). Регулярное употребление нестероидных противовоспалительных препаратов, чрезмерное употребление алкоголя, нездоровое питание, курение и эмоциональный стресс являются важными этиологическими факторами развития ЯБЖ и ДПК (Se-Hwan Yeo et al., 2016). Согласно современным представлениям развитие язвенного поражения в слизистой оболочке желудка или 12-перстной кишки обусловлено нарушением в равновесии между факторами агрессии (высокая продукция соляной кислоты за счет повышения числа обкладочных клеток и увеличения образования гастрина, нарушенная нервная и гуморальная регуляция кислотообразования в желудке, повышенная выработка пепсина и пепсиногена, нарушенная моторика желудка и 12-перстной кишки, приводящая к поражению слизистой оболочки) и защитными факторами (уменьшение образования желудочной слизи и изменения в ее качественном составе, снижение содержания бикарбонатов в секрете желудка и поджелудочной железы, нарушение процесса регенерации и ухудшение кровоснабжения в слизистой желудка и 12-перстной кишки, снижение уровня простагландинов в слизистой оболочке гастродуоденальной зоны). Следует отметить, что наиболее значимую роль в патогенезе язвенной болезни желудка играет инфекция *H. pylori*.

Согласно данным литературы, важное значение в этиопатогенезе ЯБЖ и ДПК имеют матриксные металлопротеиназы (ММП). Данное семейство внеклеточных цинк-зависимых эндопептидаз играет ключевую роль в расщеплении компонентов экстрацеллюлярного матрикса, базальных мембран и ряда клеточных поверхностных белков (Expression pattern and association analysis of porcine matrix metalloproteinase 9 (MMP9) with diarrhea and performance traits in piglets / M. Kou, D. Guo, L. Liu [et al.] // Res. Vet. Sci. - 2020. - Vol. 129. - P. 53-58).

Эти медико-биологические эффекты матриксных металлопротеиназ, как свидетельствуют литературные материалы, имеют важное значение в патогенезе ЯБЖ и ДПК (Fields, G.B. The Rebirth of Matrix Metalloproteinase Inhibitors: Moving Beyond the Dogma / G.B. Fields. - DOI: 10.3390/cells8090984 // Cells. - 2019. - Vol. 8, № 9. - 984. - URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6769477/pdf/cells-08-00984.pdf> (date of the application 02.05.2021)).

В настоящее время *H. pylori* признана одним из основных факторов развития ЯБЖ и ДПК и служит наиболее значимым патогенным агентом, колонизирующим слизистую оболочку антрального отдела желудка человека (Gastric Damage and Cancer-Associated Biomarkers in Helicobacter pylori- Infected Children / S. George, Y. Lucero, J.P. Torres [et al.]. - DOI: 10.3389/fmicb.2020.00090 // Front. Microbiol. - 2020. - Vol. 11. - Art. 90. - URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7029740/pdf/fmicb-11-00090.pdf> (date of the application 02.05.2021)), который выявляется в 70-90% всех случаев язв желудка и 90% язв двенадцатиперстной кишки у человека. Патогенное действие *H. pylori* определяется наличием у нее вирулентных генов, обуславливающих развитие болезни. К генам вирулентности *H. pylori* относятся вакуолизирующий цитотоксин (VacA) и цитотоксин-ассоциированный ген A (CagA) (Farshad, S. Association of *H. pylori* virulence genes CagA, VacA and UreAB with ulcer and nonulcer diseases in Iranian population / S. Farshad, A. Alborzi, A. Abbasian // Pak. J. Biol. Sci. - 2007. - Vol. 10, № 8. - P. 1185-1189).

Одной из важных задач современной гастроэнтерологии является изучение причин и механизмов развития *H. pylori*-позитивной язвенной болезни двенадцатиперстной кишки, среди которых значимую роль играют генетические факторы.

В Российской Федерации исследования вовлеченности гена ММП-9 в формирование предрасположенности к *H. pylori*-позитивной ЯБ ДПК единичны, а данные о роли генетических вариантов rs17576-rs3787268-rs2250889-rs17577 гена ММП-9 в развитии *H. pylori*-позитивной ЯБ ДПК отсутствуют.

Для оценки сложившейся патентной ситуации был выполнен поиск по охраняемым документам за период с 1990 по 2021 гг. Анализ документов производился по направлению: способ прогнозирования риска развития язвенной болезни двенадцатиперстной кишки на основе молекулярно-генетических данных в зависимости от полиморфных маркеров гена ММП-9. Источники информации: сайты Федерального института промышленной собственности <http://fips.ru>.

В изученной научно-медицинской и доступной патентной литературе авторами не было обнаружено способа прогнозирования риска развития *H. pylori*-позитивной ЯБ ДПК на основе данных о полиморфных локусах rs17576-rs3787268-rs2250889-rs17577 гена ММП-9.

Известен способ прогнозирования риска развития язвенной болезни (патент RU №2231794, опубл. 27.06.2004), включающий исследования желудочных проб, основанный на измерении скорости диффузии ионов водорода через слой слизи, покрывающей слизистой оболочки желудка, путем введения в желудок тестового 0,1 N раствора соляной кислоты и исследования динамики проникновения ионов водорода в слизистую

оболочки путем эвакуации содержимого желудка, тем самым определяют риск развития язвенной болезни. Недостатком этого способа является трудоемкость выполнения, которая заключается в многократной эвакуации содержимого желудка и введении в желудок большого количества соляной кислоты, сложность подсчетов, и кроме того не учитывается роль генетических полиморфизмов.

Известен способ и устройство для прогнозирования риска развития язвенной болезни (патент RU №2318217, опубл. 27.02.2008), сущность способа заключается в том, что электрохимическим методом измеряют диффузионный (жидкостной) или мембранный потенциал между желудочным соком и тестовой жидкостью, и при величине потенциала более порогового уровня, установленного для тестовой жидкости, прогнозируют риск развития язвенной болезни, в качестве тестовой жидкости можно использовать воду. В этом случае пороговый уровень составляет 10 мв, одновременно с измерением диффузионного или мембранного потенциала может быть измерен рн желудочного сока, при этом риск развития язвенной болезни прогнозируют при величине диффузионного или мембранного потенциала более порогового уровня, установленного для тестовой жидкости, и рн менее 1,5. Устройство для осуществления способа при исследовании желудочного сока *in vitro* состоит из двух емкостей, разделенных диафрагмой: с желудочным соком и с тестовой жидкостью. В них опущены электроды сравнения, напряжение между которыми равно диффузионному потенциалу, устройство для исследования желудочного сока *in vivo* содержит камеру с тестовой жидкостью, через диафрагму, контактирующую с желудочным соком, и два электрода сравнения, один из которых контактирует с желудочным соком, а другой - с тестовой жидкостью. Напряжение между электродами равно диффузионному потенциалу, использование способа позволяет своевременно начать профилактическое лечение язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки. Недостатком этого способа является его трудоемкость, он не учитывает роль генетических полиморфизмов.

Известен способ прогнозирования развития язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки (патент RU №2281037, опубл. 10.08.2006). Сущность способа заключается в том, что осуществляют определение календарного возраста пациента, биологического возраста, соотношение биологического и календарного возрастов, рост, массу тела, показатели качества жизни. Затем рассчитывают вероятность развития язвенной болезни по формуле:

$$P_1 = \frac{e^{D1}}{e^{D1} + e^{D2}} \times 100\%$$

$$P_2 = \frac{e^{D2}}{e^{D1} + e^{D2}} \times 100\%,$$

где e - экспонента, число оснований натурального логарифма, равное - 2,71, $D1$ - сумма показателей, умноженных на коэффициент B дискриминантных функций для больных, $D2$ - сумма показателей, умноженных на коэффициент A дискриминантных функций для здоровых, при этом значения коэффициентов A и B выбирают из таблицы «Коэффициенты дискриминантных функций» и при $P1 > P2$ прогнозируют риск развития язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки. Недостатком этого способа является то, что он не учитывает роль генетических полиморфизмов.

Известен способ оценки риска развития язвенной болезни двенадцатиперстной кишки у хакасов на основе генетического анализа (патент RU №2563828, опубликован 20.09.2015) Способ характеризуется тем, что устанавливают факторы риска - определяют

полиморфизм интерлейкина IL-8 методом рестрикционного анализа при выделении ДНК из лимфоцитов венозной крови, а также определяют генотип *Helicobacter pylori* методом ПЦР при выделении ДНК из биоптатов слизистой оболочки желудка у пациентов, относящихся к коренным жителям Республики Хакасия. Факторам риска присваивают числовые значения и затем определяют прогностические коэффициенты P1, P2. При P1>P2 прогнозируют низкий риск, а при P1<P2 прогнозируют высокий риск развития язвенной болезни. Недостатком данного метода является трудоемкость подсчета и применим только для коренных жителей Республики Хакасия.

Задачей настоящего исследования является расширение арсенала методов диагностики, а именно создание способа прогнозирования риска развития *H. pylori*-позитивной ЯБ ДПК на основе данных о полиморфных локусах rs17576-rs3787268-rs2250889-rs17577 гена MMP-9.

Технический результат использования изобретения - получение критериев оценки риска развития *H. pylori*-позитивной язвенной болезни двенадцатиперстной кишки у индивидуумов русской национальности, уроженцев Центрально - Черноземного региона РФ, на основе данных о полиморфных локусах rs17576-rs3787268-rs2250889-rs17577 гена MMP-9, включающий:

- забор венозной крови;
- выделение ДНК из периферической венозной крови;
- анализ полиморфизмов rs17576-rs3787268-rs2250889-rs17577 гена MMP-9;
- прогнозирование высокого риска развития *H. pylori*-позитивной язвенной болезни двенадцатиперстной кишки у индивидуумов при выявлении гаплотипа GACG полиморфных локусов rs17576-rs3787268-rs2250889-rs17577 гена MMP-9.

Новизна и изобретательский уровень заключаются в том, что из уровня техники не известна возможность прогноза развития *H. pylori*-позитивной ЯБ ДПК у пациентов на основе данных о гаплотипе GACG полиморфных локусов rs17576-rs3787268-rs2250889-rs17577 гена MMP-9.

Способ осуществляют следующим образом:

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 320 мМ сахарозы, 1% тритон X-100, 5мМ 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 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.

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 маркеров rs17576-rs3787268-rs2250889-rs17577 гена MMP-9 осуществлялся 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)).

Амплификация геномной ДНК производилась в реакционной смеси, суммарным объемом 10 мкл, включающей смесь для ПЦР ММР-9 - 4 мкл, Taq-полимеразу - 2 мкл, исследуемый образец (~30 нг ДНК/мкл) - 1 мкл, деионизированная вода – 3 мкл.

5 Генотипирование исследуемых образцов осуществлялось с использованием программного обеспечения «CFX-Manager™» методом дискриминации аллелей по величинам относительных единиц флуоресценции (ОЕФ) (фиг. 1, фиг. 2, фиг. 3, фиг. 4).

Изобретение характеризуется фигурами:

10 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 rs17576 ММР-9 (● - AA, ■ - GG, ▲ - AG, ■ - отриц. контр.).

15 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 rs3787268 ММР-9 (● - AA, ■ - GG, ▲ - GA, ■ - отриц. контр.).

Фиг. 3 - 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 rs2250889 ММР-9 (● - CC, ■ - GG, ▲ - CG, ■ - отриц. контр.).

20 Фиг. 4 - 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 rs17577 ММР-9 (● - AA, ■ - GG, ▲ - GA, ■ - отриц. контр.).

25 Определение частот гаплотипов и анализ ассоциаций гаплотипов с развитием Н. pylori-позитивной ЯБ ДПК проводились с помощью логистического регрессионного анализа в программе PLINK v. 2.050 (<http://zzz.bwh.harvard.edu/plink/>). При необходимости в исследование включали ковариаты (возраст, пол, индекс массы тела). После проведения пермутационного теста (выполнялось 1000 пермутаций) за статистически значимый уровень принимали $p_{perm} < 0,05$.

30 Возможность использования предложенного способа для оценки прогнозирования риска развития Н. pylori-позитивной язвенной болезни двенадцатиперстной кишки у индивидуумов подтверждает анализ результатов наблюдений 451 пациентов, из них 104 больных с Н. pylori-позитивной язвенной болезнью двенадцатиперстной кишки и 347 индивидуумов контрольной группы. Среди больных средний возраст-48,86±13,13, в контрольной группе средний возраст-48,47±13,69 лет. В выборки для исследования включались (критерии включения): 1) индивидуумы русской национальности, родившиеся в Центральном Черноземье России и проживающие в Белгородской области (Чурносков 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), не имеющие родства между собой, добровольно согласившиеся на проведение исследования; 2) в группу больных включались пациенты с язвенной болезнью двенадцатиперстной кишки, после установления диагноза заболевания, подтвержденного с помощью клинических, клинико-инструментальных и клинико-лабораторных методов исследования. Диагноз язвенной болезни двенадцатиперстной кишки устанавливался на основании: анамнестических данных (характерные жалобы, собирався анамнез заболевания), физикального обследования (обнаружение болезненности и резистентности мышц брюшной стенки при пальпации), инструментального обследования (обнаружение язвенного дефекта при эндоскопическом исследовании желудка и двенадцатиперстной

кишки). (Клинические рекомендации, 2019).

Для выявления инфекции *H. pylori* использовались два метода:

- иммуноферментный (выявление антител к *H. pylori* в сыворотке крови)

- гистологический (определялось наличие *H. pylori* в биоптате слизистой оболочки гастродуоденальной зоны).

Обследование больных *H. pylori*-положительной ЯБ ДПК проводилось на базе гастроэнтерологического отделения Белгородской областной клинической больницы Святителя Иоасафа; 3) в контрольную группу входили пациенты, не имеющие клинических и эндоскопических признаков *H. pylori*-положительной ЯБ ДПК. Контрольная группа формировалась при профилактических осмотрах (обследованиях) населения, проводимого в Белгородской областной клинической больнице Святителя Иоасафа.

Все исследования проводились под контролем этического комитета ОГБУЗ БОКБ Святителя Иоасафа (протокол № 15 от 21.12.2016) с информированного согласия пациентов на использование материалов лечебно-диагностических мероприятий, связанных с заболеванием, для научно-исследовательских целей и протоколировались по стандартам этического комитета Российской Федерации.

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

При расчете частот гаплотипов и анализе их ассоциаций у индивидуумов установлена связь с формированием *H. pylori*-положительной ЯБ ДПК гаплотипа GACG полиморфных локусов rs17576-rs3787268-rs2250889-rs17577 гена MMP-9. Гаплотип GACG полиморфных локусов rs17576-rs3787268-rs2250889-rs17577 гена MMP-9 является фактором риска развития *H. pylori*-положительной ЯБ ДПК у индивидуумов (OR=2,00, $p_{perm}=0,010$).

В качестве примеров конкретного применения разработанного способа приведено обследование русских пациентов, уроженцев Центрально-Черноземного региона РФ и не являющихся родственниками между собой: проведено генетическое исследование по локусам rs17576-rs3787268-rs2250889-rs17577 гена MMP-9.

У пациента Б. была взята венозная кровь, при генотипировании ДНК-маркеров был выявлен гаплотип GACG полиморфных локусов rs17576-rs3787268-rs2250889-rs17577 гена MMP-9, что позволило отнести пациента в группу больных с высоким риском развития *H. pylori*-положительной ЯБ ДПК. Дальнейшее наблюдение подтвердило диагноз *H. pylori*-положительной язвенной болезни двенадцатиперстной кишки у пациента.

У пациента О. была взята венозная кровь, при генотипировании ДНК-маркеров был выявлен гаплотип AACG полиморфных локусов rs17576-rs3787268-rs2250889-rs17577 гена MMP-9, что позволило отнести пациента в группу индивидуумов с низким риском развития *H. pylori*-положительной ЯБ ДПК. Дальнейшее наблюдение не подтвердило диагноз *H. pylori*-положительной язвенной болезни двенадцатиперстной кишки у пациента О.

У пациента Л. была взята венозная кровь, при генотипировании ДНК-маркеров был выявлен гаплотип AACG полиморфных локусов rs17576-rs3787268-rs2250889-rs17577 гена MMP-9, что позволило отнести пациента в группу больных с низким риском развития *H. pylori*-положительной ЯБ ДПК. Дальнейшее наблюдение не подтвердило диагноз *H. pylori*-положительной язвенной болезни двенадцатиперстной кишки у пациента.

У пациентки П. была взята венозная кровь, при генотипировании ДНК-маркеров был выявлен гаплотип GGCG полиморфных локусов rs17576-rs3787268-rs2250889-rs17577 гена MMP-9, что позволило отнести пациентку в группу индивидуумов с низким риском развития *H. pylori*-положительной ЯБ ДПК. При дальнейшем наблюдении диагноз *H. pylori*-положительной язвенной болезни двенадцатиперстной кишки у пациентки П. не

подтвердился.

Применение данного способа позволит на доклиническом этапе формировать среди пациентов группы риска и своевременно реализовывать в этих группах необходимые лечебно-профилактические мероприятия по предупреждению развития Н. pylori-
5 позитивной ЯБ ДПК.

(57) Формула изобретения

Способ прогнозирования риска развития Н. pylori-позитивной язвенной болезни двенадцатиперстной кишки у неродственных русских индивидуумов, уроженцев
10 Центрально-Черноземного региона РФ, включающий забор венозной крови, выделение ДНК из периферической венозной крови, анализ полиморфных локусов rs17576-
rs3787268-rs2250889-rs17577 гена MMR-9 и прогнозирование высокого риска развития Н. pylori-позитивной язвенной болезни двенадцатиперстной кишки при выявлении гаплотипа GACG полиморфных локусов rs17576-rs3787268-rs2250889-rs17577 гена MMR-
15 9.

20

25

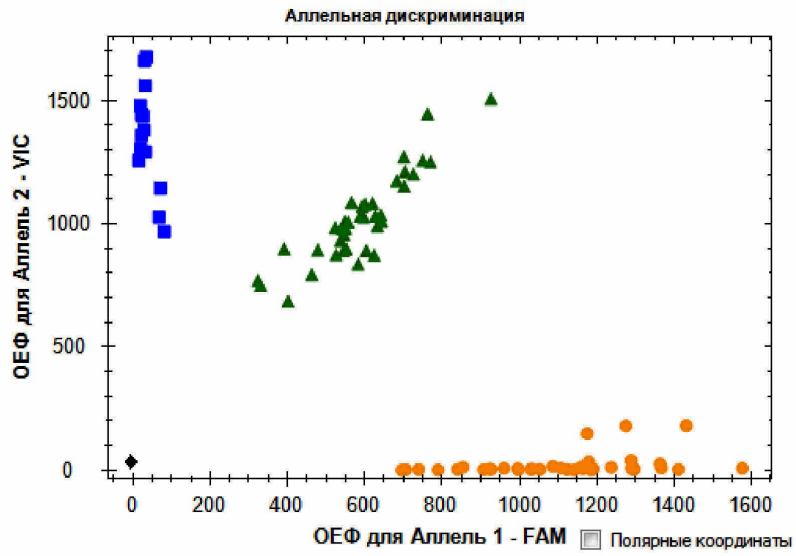
30

35

40

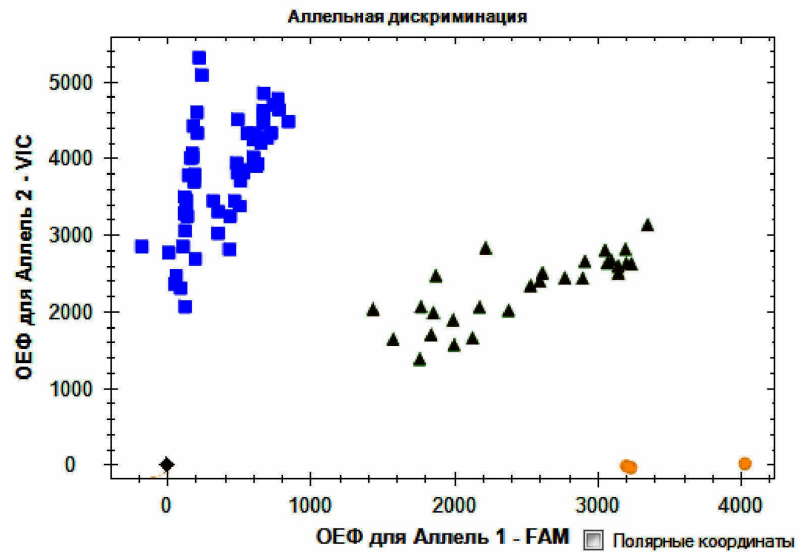
45

1

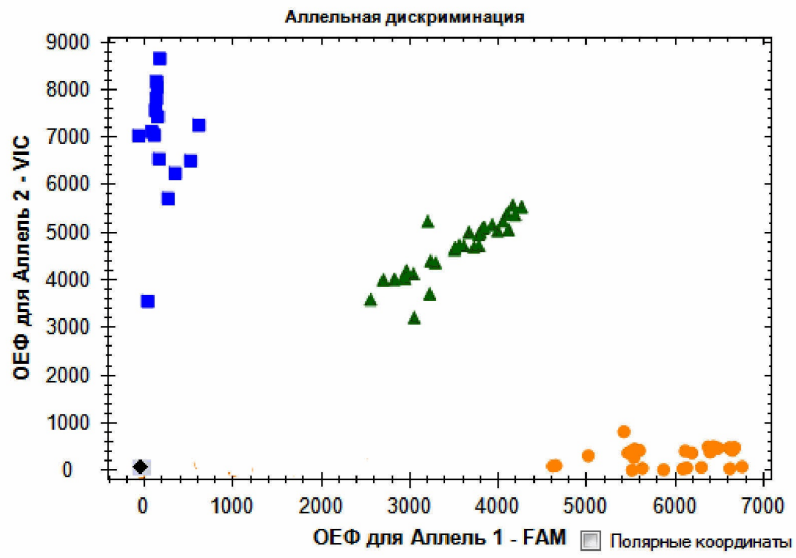


Фигура 1

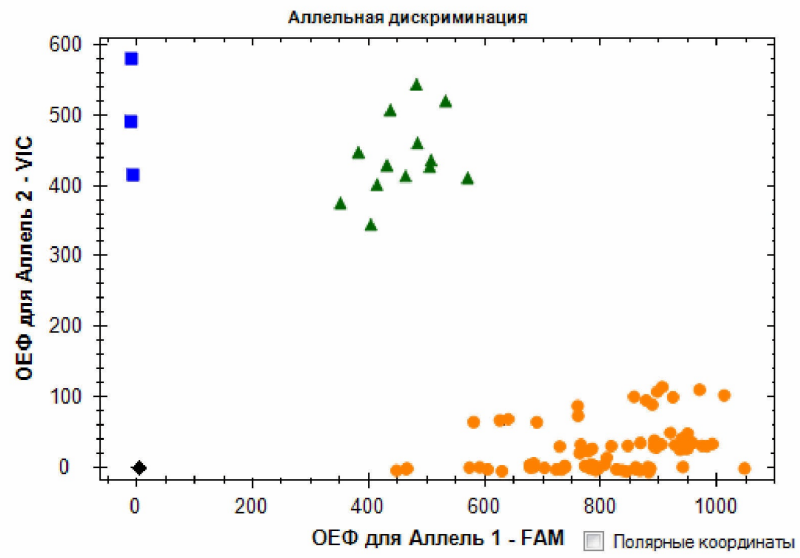
2



Фигура 2



Фигура 4



Фигура 3