



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА  
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ,  
ПАТЕНТАМ И ТОВАРНЫМ ЗНАКАМ

## (12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(21), (22) Заявка: 2006141964/15, 27.11.2006

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:  
27.11.2006

(45) Опубликовано: 20.05.2008 Бюл. № 14

(56) Список документов, цитированных в отчете о поиске: TANG Y et al. A study on the association between polymorphism of the interleukin-4 receptor alpha gene and bronchial asthma in a population of Han nationality. Zhonghua Jie He He Hu Xi Za Zhi, 2006 Jul, 29(7), p.440-3, PMID: 17045041, реф., [он-лайн], [найдено 20.08.2007], найдено из базы данных PubMed. LEE SG et al. Gene-gene interaction between (см. прод.)

Адрес для переписки:  
450000, г.Уфа-Центр, Ленина, 3,  
БАШГОСМЕДУНИВЕРСИТЕТ, патентный отдел

(72) Автор(ы):

Карунас Александра Станиславовна (RU),  
Шалухина Анита Ринатовна (RU),  
Загидуллин Шамиль Зарифович (RU),  
Исламгулов Денис Владимирович (RU),  
Хуснутдинова Эльза Камиловна (RU)

(73) Патентообладатель(и):

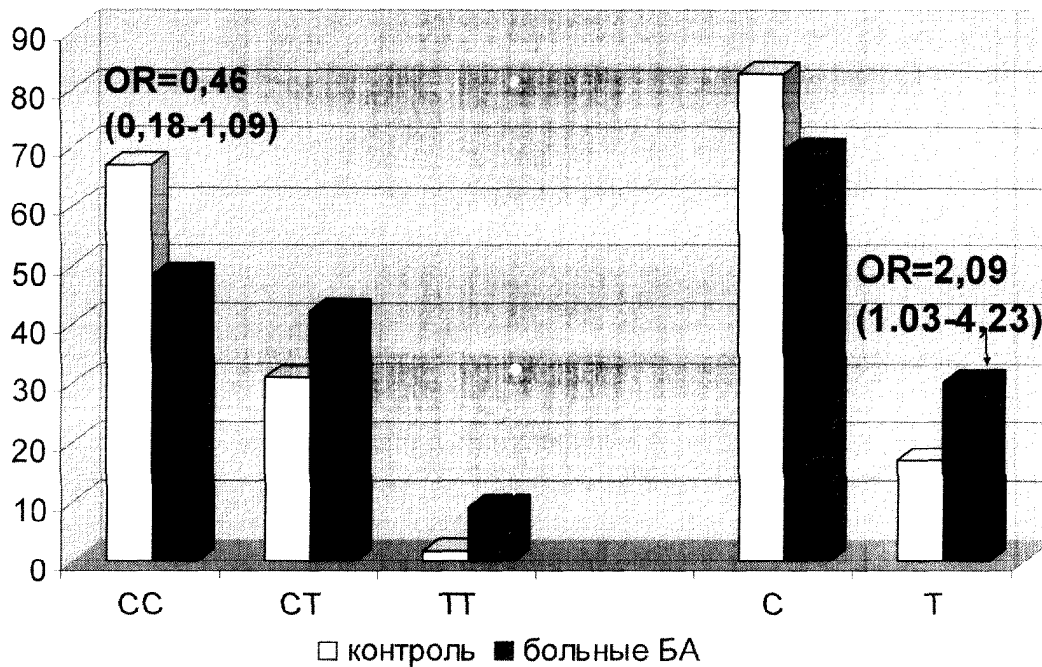
ИНСТИТУТ БИОХИМИИ И ГЕНЕТИКИ  
УФИМСКОГО НАУЧНОГО ЦЕНТРА  
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК (ИБГ УНЦ  
РАН) (RU),  
Государственное образовательное учреждение  
высшего профессионального образования  
"БАШКИРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ  
МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ  
ФЕДЕРАЛЬНОГО АГЕНТСТВА ПО  
ЗДРАВООХРАНЕНИЮ И СОЦИАЛЬНОМУ  
РАЗВИТИЮ" (ГОУ ВПО БГМУ РОСЗДРАВА) (RU)

## (54) СПОСОБ ПРОГНОЗИРОВАНИЯ РИСКА РАЗВИТИЯ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЫ

(57) Реферат:

Изобретение относится к медицине, а именно к пульмонологии. Для прогнозирования риска развития бронхиальной астмы исследуют ДНК из лимфоцитов периферической венозной крови. Определяют генотипы и аллели полиморфных вариантов генов интерлейкина 4 методом полимеразной цепной реакции синтеза ДНК с последующим рестрикционным анализом у

индивидов. При выявлении аллеля IL4\*Т промоторного полиморфизма -590 С>Т гена IL4 у татар, генотипа \*Ile50/\*Ile50 полиморфизма Ile50Val гена IL4Ra у русских прогнозируют риск развития бронхиальной астмы у обследуемого. Использование способа позволяет повысить точность и объективность прогноза развития заболевания. 2 ил., 2 табл.



Фиг. 1

(56) (продолжение):

interleukin-4 and interleukin-4 receptor alpha in Korean children with asthma. Clin Exp Allergy, 2004, 34(8), p.1202-8, PMID: 15298559, реф., [он-лайн], [найдено 20.08.2007], найдено из базы данных PubMed.

IMMERVOLL T et al. Fine mapping and single nucleotide polymorphism association results of candidate genes for asthma and related phenotypes. Hum Mutat, 2001, 18(4), p.327-36, PMID: 11668616, реф., [он-лайн], [найдено 20.08.2007], найдено из базы данных PubMed. RU 2275863 С1, 10.05.2006.

ВАСИЛЕВСКИЙ И.В. Маркеры и формы наследственного предрасположения как основа прогнозирования бронхиальной астмы у детей: Автореф. канд. мед. наук., 1992, с.3-14.

АСКАРОВА З.Ф. Прогнозирование угрозы возникновения бронхиальной астмы у ближайших родственников больных бронхиальной астмой. Медицинская наука - практике, 1989, с.158-160.

RU 2 3 2 4 9 3 7 С 1

RU 2 3 2 4 9 3 7 С 1



FEDERAL SERVICE  
FOR INTELLECTUAL PROPERTY,  
PATENTS AND TRADEMARKS

(51) Int. Cl.

*G01N 33/48* (2006.01)*C12Q 1/68* (2006.01)(12) **ABSTRACT OF INVENTION**(21), (22) Application: **2006141964/15, 27.11.2006**(24) Effective date for property rights: **27.11.2006**(45) Date of publication: **20.05.2008 Bull. 14**

Mail address:

**450000, g.Ufa-Tsentr, Lenina, 3,  
BASHGOSMEDUNIVERSITET, patentnyj otdel**

(72) Inventor(s):

**Karunas Aleksandra Stanislavovna (RU),  
Shalukhina Anita Rinatovna (RU),  
Zagidullin Shamil' Zarifovich (RU),  
Islamgulov Denis Vladimirovich (RU),  
Khusnutdinova Ehl'za Kamilevna (RU)**

(73) Proprietor(s):

**INSTITUT BIOKhimII I GENETIKI UFIMSKOGO  
NAUCHNOGO TsENTRA ROSSIJSKOJ AKADEMII  
NAUK (IBG UNTs RAN) (RU),  
Gosudarstvennoe obrazovatel'noe uchrezhdenie  
vysshego professional'nogo obrazovaniya  
"BASHKIRSKIJ GOSUDARSTVENNYJ  
MEDITSINSKIJ UNIVERSITET FEDERAL'NOGO  
AGENTSTVA PO ZDRAVOOKhrANENIJu I  
SOTSIAL'NOMU RAZVITIJu" (GOU VPO BGMU  
ROSZDRAVA) (RU)**

(54) **METHOD OF RISK PREDICTION OF BRONCHIAL ASTHMA**

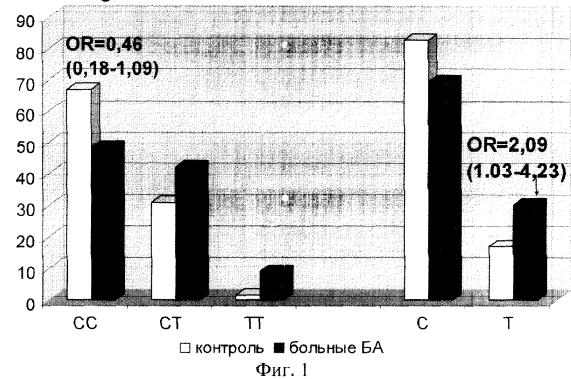
(57) Abstract:

FIELD: medicine; pulmonology.

SUBSTANCE: lymphocyte DNA of peripheral venous blood is studied. The genotypes and alleles of interleukin 4 polymorphic genes are determined by DNA synthesis polymerase chain reaction with following restriction enzyme digest analysis, in subjects. If IL4\*T allele of the promoter polymorphism -590 C>T of IL4 gene in Tatar, and genotype \*Ile50/\*Ile50 polymorphism Ile50Val of IL4Ra gene in Russian are revealed, the risk of bronchial asthma is predicted.

EFFECT: precision and impartiality of disease prediction are increased.

2 dwg, 2 tbl, 2 ex



Предлагаемое изобретение относится к медицине, а именно к пульмонологии, и может быть использовано для прогнозирования риска развития бронхиальной астмы.

Бронхиальная астма (БА) - хроническое воспалительное заболевание дыхательных путей, характеризующееся периодическими приступами удушья с нормальным дыханием в межприступный период. Бронхиальная астма относится к числу наиболее распространенных и тяжелых хронических заболеваний как среди детей, так и среди взрослых. Высокая распространенность и неуклонный рост в последние два десятилетия данной патологии, а также высокая степень инвалидизации больных с бронхиальной астмой определяют важное социально-экономическое и медицинское значение этой проблемы, необходимость исследования механизмов развития данного заболевания с целью разработки эффективных методов диагностики, профилактики и патогенетической терапии с учетом этнической принадлежности и генетической предрасположенности каждого больного. Изучение структурных особенностей генома, предрасполагающих к развитию различных многофакторных заболеваний, особенно с использованием значительного числа полиморфных локусов, позволяет оценить их вклад в этиопатогенез и выявлять факторы риска развития заболевания, а также разрабатывать профилактические мероприятия. Исследование полиморфных вариантов генов-кандидатов бронхиальной астмы дает возможность установить генетические факторы повышенного и пониженного риска развития этой патологии, представляющие собой различные сочетания тех или иных аллелей и генотипов.

Применение разработанного способа обеспечит выявление лиц с повышенным риском развития бронхиальной астмы с целью формирования групп высокого риска и осуществления своевременных, целенаправленных мероприятий по профилактике развития данной патологии.

Известен способ прогнозирования риска возникновения бронхиальной астмы на основании учета роли наследственного фактора, согласно которому считается, что, если один из родителей болен БА, то риск развития БА у ребенка достигает 20-30%, а если больны оба - 75% (Аллергология. Т.1. Под редакцией чл-кор. РАМН Г.Б.Федосеевой, СПб.: Нормед-Издат, 2001. С.138). Недостатком данного способа является недостаточная точность и информативность, а также возможность расчета риска только в том случае, если в семье есть больные БА.

Известен способ прогнозирования риска возникновения БА, заключающийся в том, что пациенту проводят пробы на пыльцевую, пылевую и пищевую аллергии, на непереносимость антибиотиков, анальгетиков, аспирина и при положительных пробах, а также при наличии родственных, страдающих БА, подверженности респираторным инфекциям более двух раз в году, атопического дерматита, экземы, крапивницы и других аллергических синдромов, заболеваний желудочно-кишечного тракта или печени, и профессиональной вредности прогнозируют риск развития заболевания по определенной формуле (патент РФ 2275863, 2006). При значении R более 70% прогнозируют высокий риск возникновения БА, 50-70% - средний риск, менее 50% - низкий риск. Несмотря на то, что данный способ основан на расчете риска заболевания по целому ряду различных признаков, в нем не учитываются индивидуальные генетические особенности больного, определяющие генетическую предрасположенность к развитию заболевания.

Задачей изобретения стала разработка объективного, высокоинформативного способа прогнозирования риска развития бронхиальной астмы.

Технический результат при использовании изобретения - повышение точности прогноза.

Указанный технический результат достигается тем, что выделяют ДНК методом фенольно-хлороформной экстракции, проводят генотипирование промоторного -590C>T полиморфизма гена интерлейкина 4 и Ile50Val полиморфизма гена  $\alpha$ -цепи рецептора интерлейкина 4, при выявлении аллеля IL4\*Tu генотипа IL4\*T/\*T у татар, генотипа IL4RA\*Ile50/\*Ile50 у русских прогнозируют риск развития бронхиальной астмы.

Способ осуществляется следующим образом. ДНК выделяют из периферической крови методом фенольно-хлороформной экстракции. Кровь набирают в пробирку с консервантом,

содержащим 0,48% лимонной кислоты, 1,32% лимоннокислого натрия, 1,47% глюкозы, в соотношении 6:1, тщательно перемешивают и хранят при температуре 40°C не более одной недели. Для выделения ДНК к 8 мл крови добавляют 32 мл лизирующего буфера, содержащего 320 мМ сахарозы, 1% тритон X-100, 5 мМ MgCl<sub>2</sub>, 10 мМ трис-HCl, pH 7,6.

5 Полученную смесь перемешивают и центрифугируют при 4°C, 4000 об/мин в течение 20 минут. Надосадочную жидкость сливают, к осадку повторно приливают 20 мл лизирующего буфера и центрифугируют при тех же условиях в течение 10 мин. К полученному осадку добавляют 400 мкл буфера Soline ЭДТА (25 мМ ЭДТА, pH 8,0 и 75 мМ NaCl), 40 мкл 10% SDS, 30-40 мкл протеиназы K (10 мг/мл) и инкубируют при 37°C в течение 16 часов. После  
10 этого из лизата последовательно в три этапа проводят экстракцию ДНК равными объемами забуференного фенола (200 мкл меркаптоэтанола на 50 мл фенола - Трис-HCl, pH 7,8), смесью фенол-хлороформа (1:1) и хлороформа с центрифугированием при 10000 об/мин в течение 10 минут и отбором водной фазы после каждого этапа. ДНК осаждают двумя  
15 объемами 96% этанола. Осадок промывают 70% этанолом, подсушивают на воздухе, растворяют в дистиллированной воде и хранят при -20°C. Выделенная ДНК используется для проведения полимеразной цепной реакции синтеза ДНК (ПЦР).

Аmplification изученных ДНК-локусов (-590C>T полиморфизма гена IL4 и Ile50Val полиморфизма гена IL4R<sub>α</sub>) проводят методом ПЦР синтеза ДНК в 25 мкл общего объема смеси, содержащей 2,5 мкл 10xTaq-буфера (67 мМ трис-HCl (pH 8,8), 16,6 мМ (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>,  
20 1,5 мМ MgCl<sub>2</sub>, 0,01% Tween-20), 0,1 мкг геномной ДНК, смесь dNTP (dATP, dGTP, dCTP, dTTP по 200 мкМ каждого), 1 ед. ДНК-полимеразы *Termus aquaticus* (производства фирмы «Силекс», г.Москва) и 5-10 пМ локуспецифичных олигонуклеотидных праймеров. Перечень исследуемых локусов, последовательности праймеров, размеры  
25 амплифицируемых фрагментов представлены в таблице 1; температурные режимы ПЦР - в таблице 2.

Для определения нуклеотидных замен проводят гидролиз амплифицированных фрагментов соответствующей рестриктазой. Данные о рестрикционных локусах, названия рестриктаз и длины продуктов расщепления представлены в таблице 1. Рестрикцию  
30 полиморфного локуса -590C>T гена IL4 проводят эндонуклеазой рестрикции Avall, Ile50 Val полиморфизма гена IL4R<sub>α</sub> - эндонуклеазой MslI в соответствии с рекомендациями фирм-производителей.

Разделение фрагментов ДНК после амплификации и рестрикции проводят при помощи электрофореза в 7% полиакриламидном геле (ПААГ), приготовленном из 30% раствора ПААГ (соотношение акриламид: N,N'-метиленабисакриламид - 29:1). Электрофорез проводят  
35 в 1xTBE-буфере (0,089 М трис-HCl; 0,089 М борная кислота; 0,002 М ЭДТА, pH 8,0). Перед нанесением на гель пробы смешивают в соотношении 5:1 с краской, содержащей 0,25% бромфенолового синего, 0,25% ксиленцианола и 15% фикола. После окончания электрофореза гель окрашивают раствором бромистого этидия и визуализируют при УФ-освещении на трансиллюминаторе.

40 Частоты аллелей определяются по формуле [Животовский Л.А., Популяционная биометрия. - М.: Наука, 1991].

$$p_i = N_i / N,$$

где N<sub>i</sub> - число i-ых аллелей, N - объем выборки.

45 Стандартная ошибка частоты аллелей рассчитывается по формуле:

$$S = \sqrt{p_i(1-p_i)/2N}$$

При попарном сравнении частот генотипов и аллелей в группах больных и здоровых лиц используется критерий  $\chi^2$  (P) для таблиц сопряженности 2x2 с поправкой Иэйтса на  
50 непрерывность, вычисляемый по формуле:

$$\chi^2 = \frac{1}{n_1 \cdot n_2} \sum \frac{(n_{1p_2} - n_{2p_1})^2}{p_1 + p_2}$$

где n<sub>1</sub> и n<sub>2</sub> - объемы сравниваемых распределений; p<sub>1</sub> и p<sub>2</sub> - частоты соответствующих классов. При числе наблюдаемых случаев <5 используется точный двусторонний критерий

Фишера  $p(F_2)$ .

Для выявления факторов повышенного и пониженного риска развития бронхиальной астмы, проводится, для статистически значимо различающихся вариаций вышеуказанных полиморфных ДНК-локусов, оценка статистики связи - показателя отношения шансов (OR - odds ratio), а также границ его 95% доверительного интервала (CI 95%). OR является мерой ассоциации, количественно определяющей взаимосвязь между фактором риска и развитием определенного признака. Степень ассоциаций оценивается в значениях показателя соотношения шансов по формуле:

$$OR = (a \times d) / (b \times c),$$

где  $a$  - число лиц с наличием,  $b$  - с отсутствием маркера среди больных;  $c$  и  $d$  - число лиц соответственно с наличием и отсутствием маркера среди здоровых. При  $OR=1$  нет ассоциации,  $OR>1$  рассматривается как положительная ассоциация с аллелем или генотипом («фактор повышенного риска») и  $OR<1$  - как отрицательная ассоциация («фактор пониженного риска»). Доверительный интервал для показателя отношения шансов рассчитывается по следующей формуле:

$$OR' = \exp\left(\ln OR - 1.96 \sqrt{\frac{1}{a} + \frac{1}{b} + \frac{1}{c} + \frac{1}{d}}\right)$$

$$OR'' = \exp\left(\ln OR + 1.96 \sqrt{\frac{1}{a} + \frac{1}{b} + \frac{1}{c} + \frac{1}{d}}\right)$$

Проведено клинико-генетическое изучение группы больных с бронхиальной астмой ( $N=156$ ), проживающих в Республике Башкортостан. Нозологический диагноз бронхиальной астмы основывался на данных комплексного клинико-параclinical обследования больных с учетом диагностических критериев, представленных в МКБ-10. Диагноз верифицировался на основании клинико-anamnestического обследования, лабораторного обследования, данных спирографии, R-графии, кожных аллергологических проб. В контрольную группу вошли здоровые доноры ( $N=169$ ) соответствующего возраста и этнической принадлежности.

Проведен анализ промоторного полиморфизма гена IL4 (-590C>T) у пациентов с БА и здоровых доноров из республики Башкортостан. Интерлейкин 4 (IL4) является ключевым цитокином в развитии аллергического воспаления дыхательных путей. Интерлейкин 4 участвует в дифференцировке Т-хелперов: индуцирует дифференцировку CD4 Т-лимфоцитов в Т-хелперы второго типа и подавляет развитие Т-хелперов первого типа; стимулирует пролиферацию и дифференцировку В-лимфоцитов. При взаимодействии со своим рецептором на поверхности В-лимфоцитов, он переключает их на синтез IgE. Ген интерлейкина 4 локализован в области 5q31, состоит из 4-х экзонов и расположенных между ними интронов, охватывает около 10 kb геномной ДНК (Arai N. et al., 1989). В ходе исследования достоверные отличия в распределении частот аллелей и генотипов -590C>T полиморфизма гена IL4 обнаружены между больными БА и здоровыми донорами татарской этнической принадлежности ( $\chi^2=4,8$ ;  $p=0,05$ ) (фиг.1). У больных БА была достоверно выше частота аллеля IL4\*Т (30,3% по сравнению с 17,21% в контрольной группе,  $\chi^2=2,09$ ,  $p=0,038$ ). Для оценки риска развития заболевания использовалась таблица сопряженности 2x2 с вычислением статистик связи (с поправкой Йэйтса).

Показатель соотношения шансов для носителей аллеля IL4\*Т составил 2,09 (CI95% 1,03-4,23). Кроме того, выявлена тенденция увеличения у больных частоты генотипов IL4\*Т/Т (9,09% по сравнению с 1,64% в контроле) и IL4\*С/Т (42,42% по сравнению с 31,15%). Генотип IL4\*С/С среди больных БА определялся гораздо реже (в 48,48% случаев), чем в контрольной группе (67,21%).  $OR=0,46$  (0,18-1,09),  $\chi^2=3,15$ ,  $p=0,076$ .

Интерлейкин 4 осуществляет свои функции, взаимодействуя с клетками-мишенями через специфические рецепторы, расположенные на их поверхности. Ген, кодирующий альфа-субъединицу рецептора интерлейкина 4 (IL4R $\alpha$ ), локализован на коротком плече 16 хромосомы в области 16p12.1, с которой неоднократно было показано сцепление БА (Daniels S.E. et al., 1996).

Проведенное исследование Ile50Val полиморфизма гена IL4R $\alpha$  выявило выраженные отличия между больными БА и здоровыми донорами русской этнической принадлежности. У больных БА частота генотипа IL4RA\*Ilе50/\*Ilе50 была выше (40%), чем в соответствующей контрольной группе русских (24,14%). OR=2,1 (0,95-4,63),  $\chi^2=3,4$ , p=0,056 (фиг.2). Таким образом, анализ Ile50Val полиморфизма гена рецептора IL4 выявил ассоциацию IL4RA\*Ilе50/\*Ilе50 генотипа с астмой у больных русской этнической принадлежности.

Таким образом, исследование полиморфных вариантов генов IL4 и рецептора IL4RA показало наличие ассоциации аллеля IL4\*T с бронхиальной астмой у татар и генотипа IL4RA\*Ilе50/\*Ilе50 с БА у больных русской этнической принадлежности.

На фиг.1 изображено распределение частот аллелей и генотипов - 590 C>T полиморфизма гена IL4 у пациентов БА и здоровых доноров татарской этнической принадлежности. На фиг.2 изображено распределение частот аллелей и генотипов Ile50Val полиморфизма гена IL4R $\alpha$  у пациентов БА и здоровых доноров русской этнической принадлежности.

Пример 1. Больная Б., 1955 г.р., татарка.

Клинический диагноз: Аллергическая бронхиальная астма, средней степени тяжести, стадия обострения. Сопутствующие: аллергический ринит.

С целью проведения анализа -590C>T полиморфизма гена интерлейкина 4 у больной было взято 8 мл венозной крови, из которой выделена ДНК методом фенольно-хлороформной экстракции. Амплификация полиморфных ДНК-локусов проводилась в 25 мкл общего объема смеси, содержащей 67 мМ трис-HCl (pH 8,8), 16,6 мМ (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 2,5 мМ MgCl<sub>2</sub>, 0,1 мкг геномной ДНК, по 10 пМ каждого праймера (табл.1), по 200 мкМ dATP, dGTP, dCTP, dTTP и 1 единицу ДНК-полимеразы. Температурные режимы ПЦР представлены в таблице 2. Затем был проведен электрофорез ПЦР-продуктов в 7% полиакриламидном геле при постоянном напряжении 280-300 вольт в течение 1 часа. После окончания электрофореза гель был окрашен раствором бромистого этидия в течение 10 минут и проанализирован при ультрафиолетовом освещении. Далее, после определения наличия продукта амплификации, проводился анализ полиморфизма длин рестрикционных фрагментов (ПДРФ) путем гидролиза амплификационного фрагмента эндонуклеазой рестрикции Avall в течение 3 часов при 37°C. После этого для разделения продуктов ПДРФ-анализа проводился электрофорез в 7% полиакриламидном геле с последующим окрашиванием раствором бромистого этидия и визуализацией при ультрафиолетовом освещении. В результате проведенного исследования выявлено, что больная Б. является носителем генотипа, гомозиготного по аллелю повышенного риска развития БА у татар, IL4\*T/\*T.

Пример 2. Больной Р., 1980 г.р., русский.

Клинический диагноз: Аллергическая бронхиальная астма, тяжелое течение, стадия обострения. Сопутствующие: аллергический ринит, atopический дерматит.

Для проведения анализа Ile50Val полиморфизма гена  $\alpha$ -цепи рецептора интерлейкина 4 у больного было взято 8 мл венозной крови, из которой выделена ДНК методом фенольно-хлороформной экстракции. Амплификация полиморфных ДНК-локусов проводилась в 25 мкл общего объема смеси, содержащей 67 мМ трис-HCl (pH 8,8), 16,6 мМ (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 2,5 мМ MgCl<sub>2</sub>, 0,1 мкг геномной ДНК, по 10 пМ каждого праймера (табл.1), по 200 мкМ dATP, dGTP, dCTP, dTTP и 1 единицу ДНК-полимеразы. Температурные режимы ПЦР представлены в таблице 2. После определения наличия продукта амплификации путем электрофореза в 7% полиакриламидном геле, проводился анализ полиморфизма длин рестрикционных фрагментов (ПДРФ) с использованием эндонуклеазы рестрикции MslI в течение 3 часов при 37°C. Затем проводился электрофорез продуктов ПДРФ-анализа в 7% полиакриламидном геле с последующим окрашиванием раствором бромистого этидия и визуализацией при ультрафиолетовом освещении. В результате проведенного исследования выявлено, что больной Б. является носителем генотипа IL4RA\*Ilе50/\*Ilе50, являющегося генотипом риска развития бронхиальной астмы у русских.

Использование данного способа выявления генотипов повышенного риска развития бронхиальной астмы на доклинической стадии заболевания позволило бы провести у больных, носителей аллелей и генотипов риска по изученным полиморфным ДНК-локусам, профилактические мероприятия, ограничивающие воздействие факторов внешней среды, способствующих развитию бронхиальной астмы при наличии генетической предрасположенности: исключение воздействия табачного дыма и поллютантов, уменьшение экспозиции аллергенов помещений (домашняя пыль, животные, тараканы), исключение из пищи продуктов с высокой сенсибилизирующей активностью, поддержание низкой влажности, адекватная вентиляция в помещениях, где находится ребенок и др. Эффективность первичной профилактики бронхиальной астмы напрямую зависит от своевременности ее проведения, в связи с чем ее надо начинать как можно раньше. Определение генетических факторов риска возникновения заболевания дает возможность определить риск развития патологии на любой стадии развития организма, учитывая его индивидуальные особенности и этническую принадлежность, что обеспечивает своевременность проведения превентивных мероприятий.

Таблица 1  
Тип полиморфизма, последовательности праймеров и номенклатура аллелей полиморфных ДНК-локусов

Ген, хромосомная локализация	Полиморфизм, рестриктаза	Последовательность праймеров	Аллели (размер фрагментов, п.о.)
IL4	-590C>T	5'-TAAACTTGGGAGAAC ATG GT-3'	IL4*С (177,18)
5q31-33	A <sub>v</sub> all	5'-TGGGGAAAGATAGAGTAATA-3'	IL4*Т(195)
IL4R <sub>α</sub> 16p12	Ile50Val M <sub>s</sub> I	5'-CTGTTGCTATGACCCACCT-3' 5'-AGGTGACCAGCCTAACCCAG-3'	*Ile50 (308) *Val50 (254, 54)

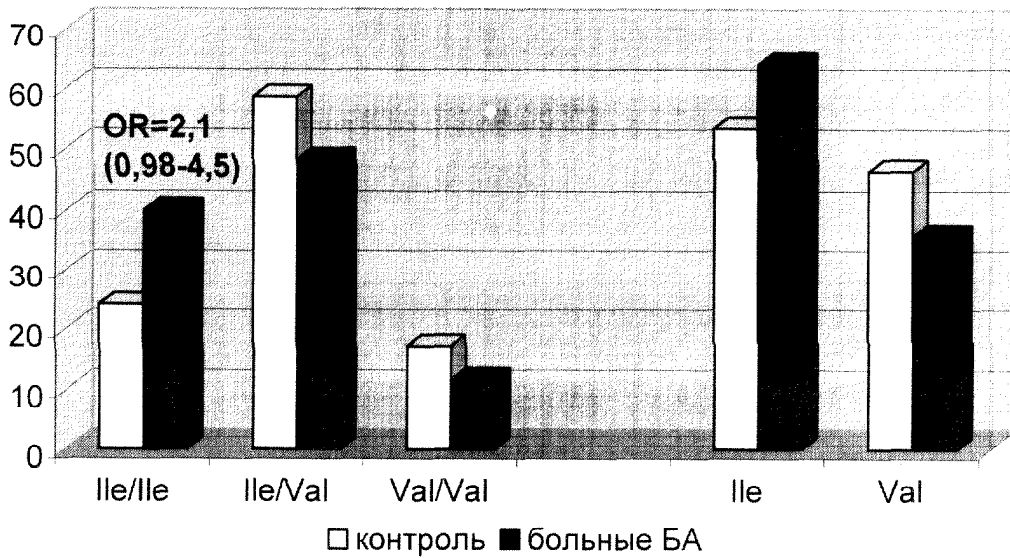
Таблица 2  
Температурные режимы полимеразной цепной реакции

Этапы ПЦР	IL4*-590C>T		IL4R <sub>α</sub> *Ile50Val	
	t°C	мин', сек"	t°C	мин', сек"
1. Начальная денатурация	94	4'	94	4'
2. Денатурация	95	45"	95	45"
Отжиг	60	45"	57	45"
Элонгация	72	45"	72	1'
Число циклов	28		28	
3. Пост-ПЦР	72	10'	72	10'

### Формула изобретения

Способ прогнозирования риска развития бронхиальной астмы, отличающийся тем, что выделяют ДНК методом фенольно-хлороформной экстракции, проводят генотипирование промоторного -590с>Т полиморфизма гена интерлейкина 4 и Ile50Val полиморфизма гена α-цепи рецептора интерлейкина 4, при выявлении аллеля IL4\*Т у татар, генотипа IL4RA \*Ile50/\*Ile50 у русских прогнозируют риск развития бронхиальной астмы.





Фиг. 2