



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА  
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

## (12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(52) СПК  
C12Q 1/68 (2021.08)

(21)(22) Заявка: 2021125458, 30.08.2021

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:  
30.08.2021

Дата регистрации:  
24.12.2021

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 30.08.2021

(45) Опубликовано: 24.12.2021 Бюл. № 36

Адрес для переписки:

101000, Москва, Петроверигский пер., 10, стр.  
3, в отдел инновационной и патентно-правовой  
деятельности ФГБУ "НМИЦ ТПМ"  
Минздрава России, Учеваткиной Н.В.

(72) Автор(ы):

Мешков Алексей Николаевич (RU),  
Киселева Анна Витальевна (RU),  
Ершова Александра Игоревна (RU),  
Жарикова Анастасия Александровна (RU),  
Раменский Василий Евгеньевич (RU),  
Сотникова Евгения Андреевна (RU),  
Вяткин Юрий Викторович (RU),  
Драпкина Оксана Михайловна (RU)

(73) Патентообладатель(и):

Федеральное государственное бюджетное  
учреждение "Национальный медицинский  
исследовательский центр терапии и  
профилактической медицины" Министерства  
здравоохранения Российской Федерации  
(ФГБУ "НМИЦ ТПМ" Минздрава России)  
(RU)

(56) Список документов, цитированных в отчете  
о поиске: RU 2612630 C2, 09.03.2017. WO 2017/  
218798 A1, 21.12.2017. SONG Y. et al,  
Rare mutation of angiopoitin-like protein 8 gene  
and severe hypertriglyceridemia, Basic and  
Clinical Medicine, Vol.38, No.5, May 2018, с.622-  
625. WO 2019/237209 A1, 24.04.2020. CN  
111057755 A, 12.01.2018.

(54) Способ прогнозирования риска развития ишемической болезни сердца на основании данных генетического тестирования

(57) Реферат:

Изобретение относится к области медицины, а именно к кардиологии. Описан способ прогнозирования риска развития ИБС у лиц на основании данных генетической диагностики методом секвенирования следующего поколения (NGS). Выявляют факт наличия редких и низкочастотных ВНП. Затем на основании отобранных по критериям редких и низкочастотных ВНП в генах LDLR, APOB, PCSK9, APOC2, APOA5, LPL, ANGPTL3, APOC3 и ANGPTL4 осуществляют разделение на две

группы: ВНП с повышенным риском ИБС и ВНП со сниженным риском ИБС, и каждый ВНП получает соответствующий риску балл, при этом к группе редких и низкочастотных ВНП с повышенным риском ИБС относят: все отобранные редкие и низкочастотные ВНП гена LDLR за исключением ВНП rs72658867, и признак оценивают в 4 балла на каждую минорную аллель ВНП гена LDLR; все отобранные редкие и низкочастотные ВНП гена LPL, APOC2 и APOA5, и признак оценивают в 2 балла на каждую

минорную аллель ВНП генов LPL, APOC2 и APOA5; редкие и низкочастотные ВНП генов APOB и PCSK9, связанные с развитием семейной гиперхолестеринемии, и признак оценивают в 2 балла на каждую минорную аллель отобранных ВНП генов APOB и PCSK9. К группе редких и низкочастотных ВНП со сниженным риском ИБС относят: все отобранные редкие и низкочастотные ВНП генов ANGPTL3 и ANGPTL4, и признак оценивают в (-1) балл на каждую минорную аллель ВНП генов ANGPTL3 и ANGPTL4; редкие и низкочастотные ВНП генов APOB, PCSK9 и APOC3, приводящие к развитию семейной гипобетапопротеинемии, и признак оценивают в (-1) балл на каждую минорную аллель отобранных ВНП; редкие и низкочастотные ВНП rs11591147 гена PCSK9 и rs72658867 гена LDLR, и признак оценивают в (-0,5) балла на каждую минорную аллель отобранных ВНП. Для учета совместного эффекта нескольких редких и низкочастотных ВНП генов LDLR, APOB, PCSK9, APOC2, APOA5, LPL, ANGPTL3, APOC3, ANGPTL4 у пациента суммируются полученные для каждого аллеля, каждого редкого и низкочастотного ВНП баллы. На основании полученного суммарного балла за редкие и низкочастотные ВНП пациентов делят на 3 основные группы: со значением балла за редкие и низкочастотные ВНП 2 балла и более - с очень высоким генетическим риском развития ИБС; со значением балла за редкие и низкочастотные ВНП (-0,5) балла или менее - с референтным генетическим риском развития ИБС; со значением балла за редкие и низкочастотные ВНП от 0 до 1,5, для которых дополнительно на основании генетического анализа генотипов 59 частых ВНП рассчитывают значение балла единой шкалы генетического риска для 59 частых ВНП (ШГР59) по формуле. При этом минимальное значение

ШГР59 составило (-4,416) балла, максимальное значение ШГР59 (-2,01) балла, а значение для 50 перцентиля ШГР59 (-3,186) балла. После определения ШГР59 за частые ВНП все пациенты со значением балла за редкие и низкочастотные ВНП от 0 до 1,5 делятся дополнительно еще на 2 группы: с высоким генетическим риском развития ИБС, и со значением ШГР59 более (-3,186) балла ((-3,186) - значение для 50 перцентиля ШГР59, экспериментально полученное в группе участников данного исследования); с минимально повышенным генетическим риском развития ИБС, и со значением ШГР59 (-3,186) баллов или менее. На основании полученных результатов делают вывод об очень высоком риске развития ИБС у лиц из группы с очень высоким генетическим риском развития ИБС, высоком риске развития ИБС у лиц из группы с высоким генетическим риском развития ИБС и об относительном низком риске развития ИБС у лиц из групп с минимально повышенным генетическим риском развития ИБС и с референтным генетическим риском развития ИБС. При очень высоком или высоком риске развития ИБС пациента направляют к терапевту или кардиологу для проведения диагностики ИБС, постановки на диспансерный учет и раннего начала профилактических и лечебных мероприятий. При относительном низком риске развития ИБС у пациента абсолютный риск развития ИБС не равен нулю, и поэтому таким пациентам рекомендуется оценка сердечно-сосудистого риска на основании действующих клинических рекомендаций. Изобретение позволяет выявлять лиц с повышенным риском развития ИБС. Технический результат изобретения - повышение эффективности прогнозирования риска развития ИБС, особенно у лиц молодого возраста. 1 ил., 5 табл.



FEDERAL SERVICE  
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

(52) CPC  
*C12Q 1/68 (2021.08)*

(21)(22) Application: **2021125458, 30.08.2021**

(24) Effective date for property rights:  
**30.08.2021**

Registration date:  
**24.12.2021**

Priority:

(22) Date of filing: **30.08.2021**

(45) Date of publication: **24.12.2021** Bull. № 36

Mail address:

101000, Moskva, Petroverigskij per., 10, str. 3, v  
otdel innovatsionnoj i patentno-pravovoj  
deyatelnosti FGBU "NMITS TPM" Minzdrava  
Rossii, Uchevatkinoj N.V.

(72) Inventor(s):

**Meshkov Aleksej Nikolaevich (RU),  
Kiseleva Anna Vitalevna (RU),  
Ershova Aleksandra Igorevna (RU),  
Zharikova Anastasiya Aleksandrovna (RU),  
Ramenskij Vasilij Evgenevich (RU),  
Sotnikova Evgeniya Andreevna (RU),  
Vyatkin Yuriy Viktorovich (RU),  
Drapkina Oksana Mihajlovna (RU)**

(73) Proprietor(s):

**Federalnoe gosudarstvennoe byudzhetnoe  
uchrezhdenie "Natsionalnyj meditsinskij  
issledovatel'skij tsentr terapii i profilakticheskoy  
meditsiny" Ministerstva zdravookhraneniya  
Rossijskoj Federatsii (FGBU "NMITS TPM"  
Minzdrava Rossii) (RU)**

(54) **METHOD FOR PREDICTING THE RISK OF DEVELOPING CORONARY HEART DISEASE BASED ON GENETIC TESTING DATA**

(57) Abstract:

FIELD: medicine.

SUBSTANCE: invention relates to medicine, namely to cardiology. The article describes a method for predicting the risk of developing ischemic heart disease (IHD) in individuals based on the data of genetic diagnostics using the next generation sequencing (NGS) method. The fact of the presence of rare and low-frequency NSVs is revealed. Then, on the basis of rare and low-frequency NSVs selected according to the criteria in the genes LDLR, AROV, PCSK9, AROS2, AROA5, LPL, ANGPTL3, AROSZ and ANGPTL4, they are divided into two groups: NSV with an increased risk of IHD and NSV with a reduced risk of IHD, and each NSV receives a score corresponding to the risk, while the group of rare and low-frequency NSV with an increased risk of IHD includes: all selected rare and low-frequency NSV of the LDLR gene, with the exception of NSV rs72658867, and the sign is assessed 4 points for each minor allele of NSV of the LDLR gene; all selected rare and low-frequency NSVs of the

LPL gene, APOC2 and APOA5, and the trait is evaluated at 2 points for each minor allele of the NSV of the LPL, APOC2 and APOA5 genes; rare and low-frequency NSVs of the AROB and PCSK9 genes associated with the development of familial hypercholesterolemia, and the trait is estimated at 2 points for each minor allele of the selected NSV of the AROM and PCSK9 genes. The group of rare and low-frequency NSVs with a reduced risk of CHD includes: all selected rare and low-frequency NSVs of the ANGPTL3 and ANGPTL4 genes, and the trait is estimated at (-1) point for each minor NSV allele of the ANGPTL3 and ANGPTL4 genes; rare and low-frequency NSVs of the AROV, PCSK9 and AROSZ genes, leading to the development of familial hypobetalipoproteinemia, and the trait is estimated at (-1) point for each minor allele of the selected NSV; rare and low-frequency NSVs rs11591147 of the PCSK9 gene and rs72658867 of the LDLR gene, and the trait is estimated at (-0.5) points for each minor allele of the

selected NSVs. To take into account the combined effect of several rare and low-frequency NSV genes LDLR, AROV, PCSK9, AROS2, AROA5, LPL, ANGPTL3, AROSZ, ANGPTL4 in a patient, the scores obtained for each allele, each rare and low-frequency NSV are summed up. Based on the obtained total score for rare and low-frequency NSVs, patients are divided into 3 main groups: with a score for rare and low-frequency NSVs of 2 points or more - with a very high genetic risk of developing coronary artery disease; with a point value for rare and low-frequency NSV (-0.5) points or less - with a reference genetic risk of developing coronary artery disease; with a score value for rare and low-frequency NSVs from 0 to 1.5, for which, additionally, based on the genetic analysis of genotypes of 59 frequent NSVs, the value of a single scale of genetic risk for 59 frequent NSVs (ShGR59) is calculated using the formula. In this case, the minimum value of ShGR59 was (-4.416) points, the maximum value of ShGR59 (-2.01) points, and the value for the 50th percentile was ShGR59 (-3.186) points. After determining the ShGR59 for frequent NSVs, all patients with a score for rare and low-frequency NSVs from 0 to 1.5 are additionally divided into 2 groups: with a high genetic risk of developing coronary artery disease, and with a value of SHGR59 more than (-3.186) points

((-3.186) - the value for the 50th percentile ShGR59, experimentally obtained in the group of participants in this study); with a minimally increased genetic risk of developing coronary artery disease, and with a value of ShGR59 (-3.186) points or less. Based on the results obtained, it is concluded that there is a very high risk of developing IHD in individuals from the group with a very high genetic risk of developing IHD, a high risk of developing IHD in individuals from the group with a high genetic risk of developing IHD, and a relatively low risk of developing IHD in individuals from groups with minimally increased genetic risk of developing IHD and with a reference genetic risk of IHD. With a very high or high risk of developing IHD, the patient is referred to a therapist or cardiologist for diagnostics of IHD, registration and early initiation of preventive and therapeutic measures. With a relatively low risk of developing IHD in a patient, the absolute risk of developing IHD is not zero, and therefore such patients are recommended to assess cardiovascular risk based on current clinical guidelines. The invention makes it possible to identify persons with an increased risk of developing IHD.

EFFECT: increasing the efficiency of predicting the risk of developing IHD, especially in young people.

1 cl, 1 dwg, 5 tbl

Изобретение относится к области медицины, а именно кардиологии, и может быть использовано для определения риска развития ишемической болезни сердца (ИБС) на основании данных генетического теста. Изобретение позволяет выявлять лиц с повышенным риском развития ИБС при проведении превентивного генетического тестирования с целью постановки их на диспансерный учет и раннего начала профилактических и лечебных мероприятий.

В Российской Федерации сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ) на протяжении многих лет являются основной причиной смерти населения. Так в 2014 году около 1 миллиона смертей (940 489), то есть 50,1% от всех смертей (у мужчин - 44,9%, у женщин - 55,4%), произошло в результате ССЗ. Более 80% случаев смерти связаны с ИБС и инсультами головного мозга [Самородская И.В., 2016]. В 2017 году от ССЗ умерло 862 895 человек, а доля ИБС составила 52% [Российский статистический ежегодник, 2018]. Для предотвращения смертельных случаев от ИБС необходимо максимально рано начинать профилактику данного заболевания в группах повышенного риска [Бойцов С.А. и др, 2019]. Для оценки риска развития ССЗ, у лиц без клинических проявлений, в клинической практике применяются системы основанные на учете основных факторов риска, такие как: Framingham, разработанная в США, Q-RISK - в Великобритании, SCORE - в Европейских странах и РФ и др. [Gorenói V, 2015]. Системы специфичны для стран, в которых они были созданы, так как связаны с национальными данными по распространенности факторов риска (ФР) и смертности от ССЗ. Так оценка сердечно-сосудистого риска (ССР) по системе SCORE основывается на пяти факторах риска: пол, возраст, факт курения, уровень систолического артериального давления (САД) и общего холестерина сыворотки крови (ОХС). Шкала SCORE разработана на основании результатов когортных исследований в 12 европейских странах, включая Россию, с участием более 200 000 пациентов, из которых 7934 умерли от ССЗ в течение периода наблюдения. Шкала SCORE оценивает риск смерти от сердечно сосудистых осложнений (включая коронарные события, инсульт, аневризму брюшной аорты) в течение ближайших 10 лет [Conroy RM, 2003]. К достоинствам системы SCORE относятся: простота и дешевизна применения, возможность оценки риска во всех странах Европы, учет многофакторной этиологии ССЗ [Бойцов С.А., 2018]. В тоже время у системы SCORE есть и существенные недостатки: она имеет ограниченный возрастной диапазон применения (40-65 лет) и ограничена использованием только основных 5 факторов риска и не учитывает другие факторы, влияющие на ССР (например, отягощенную наследственность, ожирение, уровень физической активности и др.) [Бойцов С.А., 2018, Gorenói V, 2015]. Это может приводить к занижению оцениваемого риска у ряда категорий пациентов и соответственно к недостаточному применению мер профилактики и лечения данных категорий пациентов. Наиболее недооцененной категорией являются молодые мужчины и женщины с отягощенным семейным анамнезом по раннему развитию ССЗ [Brindle P, 2006]. В эту категорию могут попадать как пациенты с моногенными, так и с полигенными формами заболеваний с высоким ССР.

В 1939 году профессор К. Мюллер описал 17 норвежских семей с близкородственными браками, где в нескольких поколениях были лица с четким фенотипом наследственного заболевания: раннее развитие ИБС, выраженная гиперхолестеринемия и наличием сухожильных и кожных ксантом [Muller C, 1939]. В 1990 году исследование FHS показало, что положительный анамнез по развитию ИБС у родителей или родных сибсов является независимым фактором риска развития ИБС у пациента [Mayer B, 2007]. В 1994 году на данных 10 502 шведских пар близнецов было показано, что риск смерти от ИБС моложе 55 лет у мужчин монозиготных близнецов (МБ) выше более чем в 2

раза, чем у мужчин дизиготных близнецов (ДБ), у женщин МБ риск смерти был выше в 5 раз, чем у женщин ДБ. Эти данные четко показали вклад генетической компоненты в развитие ИБС [Marenberg ME, 1994]. В последующем, по данным 36-летнего наблюдения за этой когорте близнецов было показано, что вклад наследуемости в развитие смерти от ИБС составил 57% у мужчин и 38% у женщин. Схожие результаты были получены в когорте из 7955 пар датских близнецов, где вклад наследуемости в развитие смерти от ИБС был одинаков для мужчин и женщин и составил 53% [Mangino M, 2013] Кроме того, в последние 40 лет близнецовые и семейные исследования показали существенный вклад наследуемости (от 50 до 80%) в наличие или степень выраженности таких факторов риска ИБС как артериальная гипертензия (АГ), гиперхолестеринемия, курение, масса тела и т.п. [Dai X, 2016].

Исследования больших семей с ранним развитием ИБС у их членов, выполняемые с помощью анализа сцепления полиморфных маркеров, а в дальнейшем исследование больших когорт пациентов с ИБС для поиска ассоциаций редких вариантов нуклеотидной последовательности (ВНП) с ИБС предоставили возможность выявить гены, связанные с риском развития атеросклероза и ИБС: LDLR, APOB, PCSK9, APOC2, APOC3, ANGPTL3, APOA5, APOA1, ANGPTL4, LPL, LRP6 [Jorgensen AB, 2014; Мешков А.Н., 2016; Helgadóttir A, 2016; Khera AV, 2017; Khera AV, 2017]. В большинстве своем эти гены связаны с нарушением липидного обмена и изменением уровней холестерина липопротеинов низкой плотности (ХС-ЛПНП) и/или триглицеридов (ТГ) в крови пациентов. При этом можно выделить редкие ВНП (с частотой минорного аллеля в популяции менее 1%), которые повышают уровень ХС-ЛПНП и/или ТГ и соответственно увеличивают риск ИБС, также показан вклад 59 частых ВНП (с частотой минорного аллеля в популяции более 5%) генов, связанных с повышенным уровнем ХС-ЛПНП, в увеличение риска развития ИБС. Помимо этого, можно выделить редкие ВНП и низкочастотные ВНП (с частотой минорного аллеля в популяции от 1% до 5%), которые снижают уровень ХС-ЛПНП и/или ТГ и соответственно снижают риск ИБС. [Wilier CJ, 2013; Futema M, 2015; Erdmann J, 2018]. Оценка совместного вклада частых ВНП генов, ассоциированных с заболеванием на индивидуальном уровне возможна с помощью объединения информации о нескольких ВНП в единую систему оценки риска, часто называемую «шкала генетического риска» (ШГР). Создание ШГР в настоящее время стало полезным инструментом для прогнозирования индивидуального риска развития ИБС на основе генетических данных [Мешков А.Н., 2016; Khera, A.V., 2018; Khera, A.V., 2019]. Показано совместное влияние ШГР на основе частых ВНП, ассоциированных с повышенным уровнем ХС-ЛПНП, а также редких ВНП генов LDLR, APOB и PCSK9 связанных с повышенным уровнем ХС-ЛПНП на риск развития ИБС [Trinder M., 2019; Trinder M., 2020].

Следует однако, отметить, что ранее не было попыток создания ШГР, которые учитывали бы помимо частых и редких ВНП, ассоциированных с повышенным уровнем ХС-ЛПНП и риском ИБС, еще и редкие и низкочастотные ВНП генов LDLR, APOB, PCSK9, ANGPTL3, APOC3 и ANGPTL4 связанные с низким уровнем ХС-ЛПНП и/или ТГ и соответственно с более низким риском развития ИБС, при этом у одного и того же пациента могут быть как ВНП повышающие риск ИБС, так и ВНП снижающие риск ИБС, такие сочетания существенно изменяют риск ИБС. Кроме того, ранее в ШГР не учитывались редкие ВНП генов APOC2, APOA5 и LPL связанные с увеличением уровня ТГ и/или ХС-ЛПНП и с увеличением риска ИБС. Известен способ прогнозирования риска раннего развития ишемической болезни сердца у пациентов с клиническим диагнозом семейная гиперхолестеринемия по патенту на изобретение РФ

№2 483 116 (заявка №2012109402/10, 13.03.2012, МПК C12Q 1/68, A61B 5/00). В способе определяют наличие ВНП гена LDLR и при выявлении хотя бы одного из указанных ВНП: 478T>G (C139G), 1252G>T (E397X), 1696A>T (I545F), 2389+5G>A или 2389+5G>C прогнозируют крайне высокий риск раннего развития ИБС. Недостатком заявленного способа является малое число редких ВНП гена LDLR, которые учитываются для

5 расчета риска ИБС, не учет редких ВНП в других генах, связанных с риском ИБС и не учет частых ВНП, связанных с повышенным уровнем ХС-ЛПНП и риском ИБС.

Задачей изобретения является расширение возможностей генетической диагностики для оценки риска ИБС, а именно создание достоверного способа прогнозирования

10 риска развития ИБС на основании данных генетической диагностики наличия: редких ВНП генов LDLR, APOB, PCSK9, APOC2, APOA5 и LPL связанных с повышенным уровнем ХС-ЛПНП и/или ТГ и повышенным риском ИБС; редких и низкочастотных ВНП генов LDLR, APOB, PCSK9, ANGPTL3, APOC3 и ANGPTL4 связанных с

15 пониженным уровнем ХС-ЛПНП и/или ТГ и пониженным риском ИБС; а также 59 частых ВНП, ассоциированных с повышенным уровнем ХС-ЛПНП и повышенным риском ИБС.

Технический результат изобретения - выделение на основании данных генетической диагностики четырех категорий риска развития ИБС, что будет способствовать

20 повышению эффективности прогнозирования риска развития ИБС, особенно у лиц молодого возраста.

Поставленная задача решается тем, что в способе прогнозирования риска развития ИБС у лиц на основании данных генетической диагностики методом секвенирования

следующего поколения (NGS) выявляется факт наличия редких (с частотой минорного аллеля в популяции менее 1%) и низкочастотных (с частотой минорного аллеля в популяции

25 от 1% до 5%) ВНП в генах LDLR, APOB, PCSK9, APOC2, APOA5, LPL, ANGPTL3, APOC3, ANGPTL4 и 59 частых ВНП: rs2479409, rs629301, rs12027135, rs2642442, rs514230, rs2131925, rs 12748152, rs267733, rs 1367117, rs4299376, rs2710642, rs10490626, rs2030746, rs1250229, rs11563251, rs7640978, rs17404153, rs6831256, rs12916, rs6882076, rs4530754, rs3757354, rs1800562, rs1564348, rs3177928, rs9488822, rs12670798, rs2072183, rs4722551,

30 rs9987289, rs11136341, rs2081687, rs2954029, rs10102164, rs3780181, rs2255141, rs11220462, rs174546, rs964184, rs11065987, rs1169288, rs4942486, rs8017377, rs3764261, rs2000999, rs7206971, rs1801689, rs314253, rs6511720, rs4420638, rs10401969, rs6029526, rs2902940, rs364585, rs2328223, rs5763662, rs4253772, rs429358, rs7412 (таблица 1).

Далее из всех выявленных в результате генетической диагностики редких и

35 низкочастотных ВНП в генах LDLR, APOB, PCSK9, APOC2, APOA5, LPL, ANGPTL3, APOC3 и ANGPTL4 отбирают ВНП, которые удовлетворяют следующим двум общим критериям:

частота минорного аллеля ВНП менее 5% или отсутствие в базе Genome Aggregation Database (gnomAD), доступной по <https://gnomad.broadinstitute.org/>, и

40 тип ВНП - делеция, инсерция или несинонимичная замена в протеин-кодирующей части гена или преждевременный стоп-кодон или мутация в сайтах сплайсинга,

а также по крайней мере одному дополнительному критерию редких и низкочастотных ВНП:

тип ВНП по классификации American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG) 2015 года [Richards S, 2015] - «патогенный» или «вероятно-патогенный» или

45 ВНП, аннотированные в базе данных ClinVar, доступной по <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/> как «патогенный» или «вероятно-патогенный», или

ВНП rs11591147 гена PCSK9, или

ВНП rs72658867 гена LDLR.

Затем на основании отобранных по критериям редких и низкочастотных ВНП в генах LDLR, APOB, PCSK9, APOC2, APOA5, LPL, ANGPTL3, APOC3 и ANGPTL4 осуществляют разделение на две группы: ВНП с повышенным риском ИБС и ВНП со сниженным риском ИБС, и каждый ВНП получает соответствующий риску балл (значение балла получено опытным путем и коррелирует со значениями отношения шансов развития ИБС для каждого из изучаемых генов полученными на основании ранее проведенных исследований (таблица 3), при этом:

к группе редких и низкочастотных ВНП с повышенным риском ИБС относят:

• все отобранные редкие и низкочастотные ВНП гена LDLR за исключением ВНП rs72658867, и признак оценивают в 4 балла на каждую минорную аллель ВНП гена LDLR;

• все отобранные редкие и низкочастотные ВНП гена LPL, APOC2 и APOA5, и признак оценивают в 2 балла на каждую минорную аллель ВНП генов LPL, APOC2 и APOA5;

• редкие и низкочастотные ВНП генов APOB и PCSK9, связанные с развитием семейной гиперхолестеринемии, и признак оценивают в 2 балла на каждую минорную аллель отобранных ВНП генов APOB и PCSK9.

к группе редких и низкочастотных ВНП со сниженным риском ИБС относят:

- все отобранные редкие и низкочастотные ВНП генов ANGPTL3 и ANGPTL4, и признак оценивают в (-1) балл на каждую минорную аллель ВНП генов ANGPTL3 и ANGPTL4;

- редкие и низкочастотные ВНП генов APOB, PCSK9 и APOC3, приводящие к развитию семейной гипобетапопротеинемии, и признак оценивают в (-1) балл на каждую минорную аллель отобранных ВНП;

- редкие и низкочастотные ВНП rs11591147 гена PCSK9 и rs72658867 гена LDLR, и признак оценивают в (-0,5) балла на каждую минорную аллель отобранных ВНП.

Учитывая, что пациент может быть носителем более чем одного редкого и низкочастотного ВНП (причем как из одной группы, так и из разных групп), а число минорных аллелей для каждого редкого и низкочастотного ВНП может принимать значения 0,1 или 2, (число минорных аллелей определяется на основании данных генетической диагностики и принимает значение 0 - при отсутствии у пациента минорной аллели в определяемом ВНП, 1 - гетерозигота, при наличии у пациента одной минорной аллели в определяемом ВНП или 2 - гомозигота, при наличии у пациента двух минорных аллелей в определяемом ВНП), для учета совместного эффекта нескольких редких и низкочастотных ВНП генов LDLR, APOB, PCSK9, APOC2, APOA5, LPL, ANGPTL3, APOC3, ANGPTL4 у пациента суммируются полученные для каждого аллеля, каждого редкого и низкочастотного ВНП баллы.

На основании полученного суммарного балла за редкие и низкочастотные ВНП пациентов делят на 3 основные группы:

- со значением балла за редкие и низкочастотные ВНП 2 балла и более - с очень высоким генетическим риском развития ИБС;

- со значением балла за редкие и низкочастотные ВНП (-0,5) балла или менее - с минимальным относительным генетическим риском развития ИБС;

- со значением балла за редкие и низкочастотные ВНП от 0 до 1,5, дополнительно на основании генетического анализа генотипов 59 частых ВНП рассчитывают значение балла шкалы генетического риска для 59 частых ВНП (ШГР59) по формуле:

$$\text{ШГР59} = -(b\text{-коэффициент для ВНП rs2479409} * \text{число аллелей риска для ВНП rs2479409} + b\text{-коэффициент для ВНП rs629301} * \text{число аллелей риска для ВНП rs629301} +$$



b-коэффициент для ВВП rs12027135\*число аллелей риска для ВВП rs12027135+b-  
 коэффициент для ВВП rs2642442\*число аллелей риска для ВВП rs2642442+b-  
 коэффициент для ВВП rs514230\*число аллелей риска для ВВП rs514230+b-коэффициент  
 для ВВП rs2131925\*число аллелей риска для ВВП rs2131925+b-коэффициент для ВВП  
 5 rs12748152\*число аллелей риска для ВВП rs12748152+b-коэффициент для ВВП  
 rs267733\*4Ноio аллелей риска для ВВП rs267733+b-коэффициент для ВВП  
 rs1367117\*число аллелей риска для ВВП rs1367117+b-коэффициент для ВВП  
 rs4299376\*4Ndio аллелей риска для ВВП rs4299376+b-коэффициент для ВВП  
 rs2710642\*число аллелей риска для ВВП rs2710642+b-коэффициент для ВВП  
 10 rs10490626\*число аллелей риска для ВВП rs10490626 + b-коэффициент для ВВП  
 rs2030746\*число аллелей риска для ВВП rs2030746+ b-коэффициент для ВВП  
 rs1250229\*число аллелей риска для ВВП rs1250229+ b-коэффициент для ВВП  
 rs11563251\*число аллелей риска для ВВП rs11563251+ b-коэффициент для ВВП  
 rs7640978\*число аллелей риска для ВВП rs7640978+ b-коэффициент для ВВП  
 15 rs17404153\*число аллелей риска для ВВП rs17404153+ b-коэффициент для ВВП  
 rs6831256\*число аллелей риска для ВВП rs6831256+ b-коэффициент для ВВП  
 rs12916\*число аллелей риска для ВВП rs12916+ b-коэффициент для ВВП rs6882076\*число  
 аллелей риска для ВВП rs6882076+ b-коэффициент для ВВП rs4530754\*число аллелей  
 риска для ВВП rs4530754+ b-коэффициент для ВВП rs83757354\*число аллелей риска  
 20 для ВВП rs3757354+ b-коэффициент для ВВП rs51800562\*число аллелей риска для ВВП  
 rs1800562+ b-коэффициент для ВВП rs1564348\*число аллелей риска для ВВП rs1564348+  
 b-коэффициент для ВВП rs3177928\*число аллелей риска для ВВП rs 3177928+ b-  
 коэффициент для ВВП rs89488822\*число аллелей риска для ВВП rs9488822+ b-  
 коэффициент для ВВП rs12670798\*число аллелей риска для ВВП rs12670798+ b-  
 25 коэффициент для ВВП rs2072183\*число аллелей риска для ВВП rs2072183+ b-  
 коэффициент для ВВП rs84722551\*число аллелей риска для ВВП rs4722551+ b-  
 коэффициент для ВВП rs9987289\*число аллелей риска для ВВП rs9987289+ b-  
 коэффициент для ВВП rs11136341\*число аллелей риска для ВВП rs11136341+ b-  
 коэффициент для ВВП rs2081687\*число аллелей риска для ВВП rs2081687+ b-  
 30 коэффициент для ВВП rs2954029\*число аллелей риска для ВВП rs2954029+ b-  
 коэффициент для ВВП rs810102164\*число аллелей риска для ВВП rs10102164+ b-  
 коэффициент для ВВП rs53780181\*число аллелей риска для ВВП rs3780181+ b-  
 коэффициент для ВВП rs2255141\*число аллелей риска для ВВП rs2255141+ b-  
 коэффициент для ВВП rs11220462\*число аллелей риска для ВВП rs11220462+ b-  
 35 коэффициент для ВВП rs174546\*число аллелей риска для ВВП rs174546+ b-коэффициент  
 для ВВП rs964184\*число аллелей риска для ВВП rs964184+ b-коэффициент для ВВП  
 rs11065987\*число аллелей риска для ВВП rs11065987+ b-коэффициент для ВВП  
 rs1169288\*число аллелей риска для ВВП rs1169288+ b-коэффициент для ВВП  
 rs4942486\*число аллелей риска для ВВП rs4942486+ b-коэффициент для ВВП  
 40 rs8017377\*число аллелей риска для ВВП rs8017377+ b-коэффициент для ВВП  
 rs3764261\*число аллелей риска для ВВП rs3764261+ b-коэффициент для ВВП  
 rs2000999\*число аллелей риска для ВВП rs2000999+ b-коэффициент для ВВП  
 rs7206971\*число аллелей риска для ВВП rs7206971+ b-коэффициент для ВВП  
 rs1801689\*число аллелей риска для ВВП rs1801689+ b-коэффициент для ВВП  
 45 rs314253\*число аллелей риска для ВВП rs314253+ b-коэффициент для ВВП  
 rs6511720\*число аллелей риска для ВВП rs6511720+ b-коэффициент для ВВП  
 rs4420638\*число аллелей риска для ВВП rs4420638+ b-коэффициент для ВВП  
 rs510401969\*число аллелей риска для ВВП rs10401969+ b-коэффициент для ВВП

rs6029526\*число аллелей риска для ВВП rs6029526+ b-коэффициент для ВВП rs82902940\*число аллелей риска для ВВП rs2902940+ b-коэффициент для ВВП rs364585\*число аллелей риска для ВВП rs364585+ b-коэффициент для ВВП rs2328223\*число аллелей риска для ВВП rs2328223+ b-коэффициент для ВВП rs5763662\*число аллелей риска для ВВП rs5763662++b-коэффициент для ВВП rs4253772\*число аллелей риска для ВВП rs4253772)) + значение b-коэффициента для гаплотипа АРОЕ, рассчитанного на основании комбинаций аллелей ВВП rs429358 и ВВП rs7412 у данного пациента (таблица 2)), где:

значение b-коэффициента отражающего силу эффекта для каждого ВВП определяется в соответствии с таблицей 1 (данные значения b-коэффициентов получены на основании ранее проведенных исследований [Wilier CJ, 2013; Futema M, 2015])

Выбор аллелей риска для каждого ВВП сделан на основании ранее проведенных исследований [Wilier CJ, 2013; Futema M, 2015]. Число аллелей риска определяется на основании данных генетической диагностики и принимает значение 0 - при отсутствии у пациента аллелей риска в определяемом ВВП, 1 - гетерозигота, при наличии у пациента одной аллели риска в определяемом ВВП или 2 - гомозигота, при наличии у пациента двух аллелей риска в определяемом ВВП. Гаплотипы АРОЕ определяются на основании комбинаций выявленных аллелей ВВП rs429358 и ВВП rs7412, а значения b-коэффициентов для гаплотипов АРОЕ определяется в соответствии с таблицей 2 (данные значения b-коэффициентов получены на основании ранее проведенных исследований [Futema M, 2015]).

По данным настоящего исследования минимальное значение ШГР59 составило (-4,416) балла, максимальное значение ШГР59 (-2,01) балла, а значение для 50 перцентиля ШГР59 (-3,186) балла.

После определения ШГР59 за частые ВВП все пациенты со значением балла за редкие и низкочастотные ВВП от 0 до 1,5 делятся дополнительно еще на 2 группы:

- с высоким генетическим риском развития ИБС, и со значением ШГР59 более (-3,186) балла ((-3,186) - значение для 50 перцентиля ШГР59, экспериментально полученное в группе участников данного исследования);
- с минимально повышенным генетическим риском развития ИБС, и со значением ШГР59 (-3,186) баллов или менее.

На основании полученных результатов делают вывод об очень высоком риске развития ИБС у лиц из группы с очень высоким генетическим риском развития ИБС, высоком риске развития ИБС у лиц из группы с высоким генетическим риском развития ИБС и об относительном низком риске развития ИБС у лиц из групп с минимально повышенным генетическим риском развития ИБС и с минимальным относительным генетическим риском развития ИБС. При очень высоком или высоком риске развития ИБС пациента направляют к терапевту или кардиологу для проведения диагностики ИБС, постановки на диспансерный учет и раннего начала профилактических и лечебных мероприятий. При относительном низком риске развития ИБС у пациента, абсолютный риск развития ИБС не равен нулю, и поэтому таким пациентам рекомендуется оценка сердечнососудистого риска на основании действующих клинических рекомендаций.

Таблица 1.

**Перечень 59 частых вариантов нуклеотидной последовательности (ВНП)  
вошедших в шкалу генетического риска (ШГР59)**

<b>№</b>	<b>№ ВНП в базе dbSNP</b>	<b>№ хромосомы</b>	<b>b-коэффициент</b>	<b>Аллель риска</b>
1	rs2479409	1	0,0640	A
2	rs629301	1	0,1670	G
3	rs12027135	1	0,0300	A
4	rs2642442	1	0,0360	C
5	rs514230	1	0,0360	A
6	rs2131925	1	0,0490	G
7	rs12748152	1	0,0500	C
8	rs267733	1	0,0330	G
9	rs1367117	2	0,1190	G
10	rs4299376	2	0,0810	T
11	rs2710642	2	0,0240	G
12	rs10490626	2	0,0510	A
13	rs2030746	2	0,0210	C
14	rs1250229	2	0,0240	T
15	rs11563251	2	0,0340	C
16	rs7640978	3	0,0390	T
17	rs17404153	3	0,0340	T
18	rs6831256	4	0,0220	A
19	rs12916	5	0,0730	T

20	rs6882076	5	0,0460	T
21	rs4530754	5	0,0280	G
22	rs3757354	6	0,0380	T
23	rs1800562	6	0,0620	A
24	rs1564348	6	0,0480	T
25	rs3177928	6	0,0450	G
26	rs9488822	6	0,0310	A
27	rs12670798	7	0,0340	T
28	rs2072183	7	0,0390	G
29	rs4722551	7	0,0390	T
30	rs9987289	8	0,0710	A
31	rs11136341	8	0,0450	A
32	rs2081687	8	0,0310	C
33	rs2954029	8	0,0560	T
34	rs10102164	8	0,0320	G
35	rs3780181	9	0,0440	G
36	rs2255141	10	0,0300	G
37	rs11220462	11	0,0590	G
38	rs174546	11	0,0510	T
39	rs964184	11	0,0860	C
40	rs11065987	12	0,0270	G
41	rs1169288	12	0,0380	A
42	rs4942486	13	0,0240	C
43	rs8017377	14	0,0300	G

44	rs3764261	16	0,0530	A
45	rs2000999	16	0,0650	G
46	rs7206971	17	0,0290	G
47	rs1801689	17	0,1030	A
48	rs314253	17	0,0240	C
49	rs6511720	19	0,2210	T
50	rs4420638	19	0,2250	A
51	rs10401969	19	0,1180	C
52	rs6029526	20	0,0440	T
53	rs2902940	20	0,0270	G
54	rs364585	20	0,0250	A
55	rs2328223	20	0,0300	A
56	rs5763662	22	0,0770	C
57	rs4253772	22	0,0310	C
58	rs429358	19	См. таблицу №2	
59	rs7412	19		

Таблица 2

Перечень гаплотипов АРОЕ и их  $b$ -коэффициенты для ШГР59

Гаплотип АРОЕ	Комбинация аллелей	$b$ -коэффициент
e2/e2	Rs429358 - T/T; Rs7412-T/T	-0,9
e2/e3	Rs429358 - T/T; Rs7412-C/T	-0,4
e2/e4	Rs429358 - C/T; Rs7412-C/T	-0,2
e3/e3	Rs429358 - T/T; Rs7412-C/C	0
e3/e4	Rs429358 - C/T; Rs7412-C/C	0,1
e4/e4	Rs429358 - C/C; Rs7412-C/C	0,2

Классификация редких и низкочастотных ВНП генов *LDLR*, *APOB*, *PCSK9*, *APOC2*, *APOA5*, *LPL*, *ANGPTL3*, *APOC3* и *ANGPTL4*

Тип ВНП	Значение балла на каждую минорную аллель ВНП
<i>ВНП со сниженным риском ИБС</i>	
Все отобранные ВНП генов <i>ANGPTL3</i> и <i>ANGPTL4</i>	-1
ВНП генов <i>APOB</i> , <i>PCSK9</i> и <i>APOC3</i> , связанные с развитием семейной гипобеталипопротеинемии	-1
ВНП rs11591147 гена <i>PCSK9</i> и rs72658867 гена <i>LDLR</i>	-0,5
<i>ВНП с повышенным риском ИБС</i>	
ВНП гена <i>LDLR</i> , связан с развитием семейной гиперхолестеринемии	4
Все отобранные ВНП генов <i>LPL</i> , <i>APOC2</i> и <i>APOA5</i>	2
ВНП генов <i>APOB</i> и <i>PCSK9</i> , связанные с развитием семейной гиперхолестеринемии	2

Изобретение позволяет выявлять лиц с повышенным риском развития ИБС при проведении превентивного генетического тестирования с целью постановки их на диспансерный учет и раннего начала профилактических и лечебных мероприятий.

Изобретение поясняется следующими фигурами:

Фиг. 1 - График Каплана-Мейера, отражающий накопленный риск развития ИБС в зависимости от данных генетической диагностики. Осуществление изобретения.

Было проведено исследование по оценке риска развития ИБС на основании данных генетической диагностики в зависимости от наличия редких и низкочастотных ВНП генов *LDLR*, *APOB*, *PCSK9*, *APOC2*, *APOA5*, *LPL*, *ANGPTL3*, *APOC3*, *ANGPTL4* и 59 частых ВНП из ШГР59 (таблица 1) и выделения групп пациентов с повышенным риском развития ИБС.

Исследования проводились на выборке из 2405 пациентов, в возрасте от 20 до 76 лет с разной категорией ССР, в том числе с наличием ИБС. Всем пациентам проводилось клиническое, лабораторное и инструментальное обследование на предмет исключения или подтверждения у них наличия ИБС и генетическая диагностика. В результате исследования показано, что у лиц из группы «очень высокого генетического риска развития ИБС» отношение рисков (Hazard ratio - HR) развития ИБС выше в 5,26 раза  $HR=5,26$  (95%ДИ 2,4-11,54;  $p < 0,001$ ), а у лиц из группы «высокого генетического риска развития ИБС» в 2,12 раза  $HR=2,12$  (95%ДИ 1,14-3,96;  $p=0,018$ ) по сравнению с лицами из группы «минимальным относительного генетического риска развития ИБС» с поправкой на другие факторы риска ИБС: пол, возраст, факт курения, уровень ХС-ЛПНП, наличие АГ и сахарный диабет (СД). Лица из группы «минимально повышенного генетического риска развития ИБС» достоверно не различались по сравнению с лицами

из группы «минимального относительного генетического риска развития ИБС» HR=1,64 (95%ДИ 0,88-3,08; p=0,12) (фиг. 1, таблица 4 и таблица 5).

Таблица 4

Группа	Число человек, достигших определенного возраста					
	20 лет	30 лет	40 лет	50 лет	60 лет	70 лет
Лица с очень высоким генетическим риском развития ИБС	160	135	95	55	24	2
Лица с высоким генетическим риском развития ИБС	1019	1006	838	619	276	5
Лица с минимально повышенным генетическим риском развития ИБС	1027	1015	815	612	307	10
Лица с минимальным относительным генетическим риском развития ИБС	199	198	162	122	64	1

Таблица 5

#### Отношение рисков развития ИБС по данным регрессии Кокса

Тип модели: с поправкой на пол, возраст, ХС-ЛПНП, курение, АГ, СД (p<0,001)			
Группа	Число событий/число человек	HR (95%ДИ)	p
Лица с очень высоким генетическим риском развития ИБС	41/160	5,26 (2,4-11,54)	p<0,001
Лица с высоким генетическим риском развития ИБС	126/1019	2,12 (1,14-3,96)	p=0,018
Лица с минимально повышенным генетическим риском развития ИБС	89/1027	1,64 (0,88-3,08)	p=0,12
Лица с минимальным относительным генетическим риском развития ИБС	11/199	1	

Таким образом, наиболее оправданным выглядит проведение профилактических мероприятий, направленных на снижение риска развития ИБС в группах высокого и очень высокого генетического риска, даже при отсутствии других факторов риска. При

этом оценку риска возможно проводить у молодых лиц или детей, что невозможно, при использовании системы оценки риска SCORE.

Ниже представлено подробное описание исследования.

Критерии отбора больных для исследования.

5 Данное исследование реализовывалась в виде наблюдения на выборке пациентов с разной категорией ССР, в том числе с наличием ИБС.

Всем пациентам проводилось обследование с применением клинических, лабораторных и инструментальных методов исследования, в том числе обследование на наличие ИБС, а также генетическая диагностика.

10 Диагностика ИБС.

Диагноз ИБС устанавливали при наличии: 1) положительного электрокардиографического (ЭКГ) теста с нагрузкой, 2) в анамнезе пациента перенесенного документированного инфаркта миокарда (ИМ), 3) на коронарографии гемодинамически значимое поражение коронарного русла - более 50% для ствола левой коронарной артерии или более 70% при иной локализации, 4) в анамнезе пациента документированных эндоваскулярных коронарных вмешательств или операции коронарного шунтирования. Так же учитывался возраст развития ИБС у пациента.

Нагрузочные тесты.

1) Велоэргометрическая (ВЭМ) проба.

20 За 2 дня до проведения этого теста, если это было возможно, отменяли антиангинальные препараты ( $\beta$ -адреноблокаторы, нитраты, антагонисты кальция), кроме нитроглицерина сублингвально. Пробу выполняли по методике ступенеобразно возрастающей непрерывной нагрузки, в положении сидя при скорости вращения педалей 60 оборотов в мин. ЭКГ регистрировали до нагрузки, в конце каждой ступени и  
25 несколько раз в течение 10 мин после прекращения нагрузки при скорости движения ленты 25 мм/сек. Исследование начинали с нагрузки 25 Вт в течение 3-х мин и последовательно увеличивали при непрерывной работе на 25 Вт на каждой ступени до прекращения пробы. Исходно, в конце каждой ступени и каждые 2 мин после прекращения нагрузки измеряли артериальное давление (АД). Пробу прекращали либо  
30 из-за достижения субмаксимальной (75% от возрастной максимальной) частоты сердечных сокращений (ЧСС), либо вследствие появления клинических или ЭКГ-критериев прекращения пробы. Пробу считали положительной при появлении приступа стенокардии и/или ишемических изменений сегмента ST (косонисходящей или горизонтальной депрессии  $\geq 1$  мм от изоэлектрической линии).

35 2) Тредмил-тест.

Исследование проводили по стандартному протоколу Bruce до достижения субмаксимальной ЧСС или до появления других общепринятых критериев прекращения пробы. Регистрацию ЭКГ в 12 отведениях и измерение АД осуществляли исходно, в конце каждой ступени, на пике нагрузки и на 3-й, 6-й и 9-й минутах восстановительного  
40 периода, а также при необходимости. Критерии «положительной пробы» были такие же, как при проведении ВЭМ пробы. Коронароангиография.

Коронароангиография (КАТ) проводилась по методике Judkins (1967 г.) с использованием, как правило, трансфеморального доступа в условиях рентгенооперационной с использованием ангиографической установки «Philips Integris АНига» и «General Electric Innova 4100». Для количественной оценки стенозов применяли компьютерную программу установки «General Electric Innova 4100». Гемодинамически значимое поражение коронарного русла считали при наличии стеноза - более 50% для  
45 ствола левой коронарной артерии или более 70% при стенозе иной локализации.



Генетическая диагностика.

Кровь от пациентов собирали в пробирки с ЭДТА в качестве антикоагулянта. Хранили при  $-20^{\circ}\text{C}$ . Геномная ДНК была выделена из 200 мкл замороженной крови с ЭДТА при помощи набора Qiagen DNA blood mini kit (Qiagen, США). Концентрацию ДНК определяли на спектрофотометре NanoPhotometer (IMPLEN, Германия). Генетическая диагностика проведена методом секвенирования следующего поколения (NGS) на секвенаторах Illumina NextSeq 550 (Illumina, США) или Ion S5 (Thermo Fisher Scientific, США).

Для секвенирования на приборе Illumina NextSeq 550 (Illumina, США) геномные библиотеки были приготовлены с помощью набора SeqCap EZ Prime Choice Library kit (Roche, Швейцария). Далее было выполнено таргетное обогащение кодирующих последовательностей и экзон-интронных участков генов LDLR, АРОВ, PCSK9, АРОС2, АРОА5, LPL, ANGPTL3, АРОС3 и ANGPTL4 и 59 частых ВНП из ШГР59 (таблица 1) с использованием набора NimbleGen SeqCap EZ (Roche, Швейцария). Контроль качества был проведен с помощью Agilent 2100 Bioanalyzer (Agilent, США) и Qubit 4.0 (Thermo Fisher Scientific, США). Все этапы эксперимента проводились согласно протоколам производителей.

Для секвенирования на приборе Ion S5 (Thermo Fisher Scientific, США), использовалось 4 мкг геномной ДНК. Геномные библиотеки готовились с помощью готовых наборов в автоматическом режиме на приборе Ion Chef (Thermo Fisher Scientific, США), и включали кодирующие последовательности и экзон-интронные участки генов LDLR, АРОВ, PCSK9, АРОС2, АРОА5, LPL, ANGPTL3, АРОС3 и ANGPTL4 и 59 частых ВНП из ШГР59 (таблица 1) Контроль качества проводился с помощью Agilent 2100 Bioanalyzer (Agilent, США) и Qubit 2.0 (Thermo Fisher Scientific, США). Далее проводилось обогащение полученных библиотек и нанесение их на чипы в автоматическом режиме на том же приборе. После нанесения обогащенных библиотек на чипы, чипы переносились в секвенатор Ion S5 (Thermo Fisher Scientific, США) для секвенирования. Все этапы эксперимента проводились согласно протоколам производителей.

Биоинформатический анализ.

Парные чтения, полученные после секвенирования на приборе Illumina NextSeq 550 (Illumina, США), были предоставлены для анализа в формате.fastq. Оценка качества чтений была проведена с помощью программы FastQC, после чего были удалены с конца каждого чтения нуклеотиды, вероятность ошибки в которых была более 1 на 100, при помощи программы Trimmomatic. Прошедшие процедуру фильтрации пары чтений были картированы на геном человека версии hg19, в качестве картировщика выбрана программа bwa mem. Удаление дублированных чтений осуществлено с помощью программы samtools. В результате для каждого пациента был получен BAM файл, содержащий информацию об уникальных чтениях, картированных на референсный геном. Неточности выравнивания в областях вставок и делеций были устранены при помощи программы GATK, также с помощью GATK проводили поиск SNP в рамках целевых участков генома. В результате для каждого пациента были получены файлы, содержащие список ВНП, их координаты, данные о покрытии и прочие характеристики. Найденные ВНП были проаннотированы с помощью программы VEP.

Результаты секвенирования на приборе Ion S5 (Thermo Fisher Scientific, США) были представлены для каждого пациента BAM файлом, содержащий информацию об уникальных чтениях, картированных на референсный геном. После чего найденные ВНП были проаннотированы с помощью программы Torrent Server (Thermo Fisher Scientific, США).

Все найденные варианты аннотировались и фильтровались согласно данным о частоте встречаемости минорного аллеля, результатах компьютерного предсказания влияния на структуру белка изменений нуклеотидной последовательности (SIFT и PolyPhen2). Варианты проходили проверку на соответствие критериям патогенности согласно рекомендациям ACMG 2015 года. Отфильтрованные варианты перед включением в результаты генетического исследования анализировались врачом и исследовались на предмет упоминания в новейших публикациях.

Статистический анализ. Статистический анализ выполнен с помощью программы IBM SPSS Statistics версия 28.0.0.0. Проводился анализ выживаемости с помощью процедуры Каплана-Мейера и регрессии Кокса для пациентов четырех групп: лица с очень высоким генетическим риском развития ИБС, лица с высоким генетическим риском развития ИБС, лица с минимально повышенным генетическим риском развития ИБС и лица с минимальным относительным генетическим риском развития ИБС. Учитывался факт и возраст развития ИБС. При проведении процедуры Каплана-Мейера построен график накопленного риска развития ИБС для каждой из четырех групп, в качестве статистического теста использован лог-ранговый критерий (фиг. 1, таблица 4). При проведении регрессии Кокса в качестве переменных использованы: факт отнесения пациентов к одной из четырех групп на основании данных генетической диагностики, пол, возраст, уровень ХС-ЛПНП до начала гиполипидемической терапии, наличие АГ, факт курения, наличие СД 2 типа и в качестве оценки вклада параметра приводится отношение рисков (Hazard ratio - HR) и 95% доверительный интервал (ДИ). Уровень значимости принят равным 0,05.

Полученные результаты.

Данное исследование реализовывалось в виде наблюдения на выборке из пациентов с разной категорией ССР, в том числе с наличием ИБС. Всего в исследование было включено 2405 пациентов - 905 мужчин и 1500 женщин. Средний возраст пациентов составил  $51,32 \pm 12,22$  лет. ИБС была подтверждена у 267 пациентов (11%). При проведении процедуры Каплана-Мейера выявлено, что группы достоверно различаются по накопленному риску развития ИБС ( $p < 0,001$  для лог-рангового критерия), максимальный риск был в группе лиц с очень высоким генетическим риском развития ИБС, а минимальный риск в группе лиц с минимальным относительным генетическим риском развития ИБС (рисунок 1). При проведении регрессии Кокса было выявлено, что у лиц из группы «очень высокого генетического риска развития ИБС» отношение рисков (Hazard ratio - HR) развития ИБС выше в 5,26 раза  $HR=5,26$  (95% ДИ 2,4-11,54;  $p < 0,001$ ), а у лиц из группы «высокого генетического риска развития ИБС» в 2,12 раза  $HR=2,12$  (95% ДИ 1,14-3,96;  $p=0,018$ ) по сравнению с лицами из группы «минимального относительного генетического риска развития ИБС» с поправкой на другие факторы риска ИБС: пол, возраст, факт курения, уровень ХС-ЛПНП, наличие АГ и сахарный диабет (СД). Лица из группы «минимально повышенного генетического риска развития ИБС» достоверно не различались по сравнению с лицами из группы «минимального относительного генетического риска развития ИБС»  $HR=1,64$  (95% ДИ 0,88-3,08;  $p=0,12$ ) (таблица 5).

Изобретение позволяет выявлять лиц с повышенным риском развития ИБС при проведении превентивного генетического тестирования с целью постановки их на диспансерный учет и раннего начала профилактических и лечебных мероприятий.

Применение данного подхода будет способствовать снижению показателей смертности от ИБС в РФ. Способ был апробирован в лаборатории молекулярной генетики ФГБУ «НМИГД ТПМ» Минздрава России. Он дал достоверно положительные

результаты и найдет широкое применение в медицинской практике.

Примеры осуществления изобретения

Пример №1. Пациент Г. 37 лет, жалоб активно не предъявлял, проходил диспансеризацию в октябре 2020 года в ФГБУ «НМИЦ ТПМ» Минздрава России.

5 Пациент курит, уровень АД 120/70 мм рт.ст., при обследовании было выявлено повышение уровня общего холестерина до 8,5 ммоль/л, и отягощенный семейный анамнез по раннему развитию ИБС. Было рекомендовано проведение генетической диагностики, по результатам которой у пациента был выявлен только один редкий ВНП гена LDLR в гетерозиготном состоянии (rs112029328, с. 313+1G > A, частота

10 минорного аллеля 0,002784%) удовлетворяющий критериям: у него частота минорного аллеля менее 5%, тип ВНП - мутация в каноническом сайте сплайсинга, ВНП классифицирован как вероятно-патогенный по классификации ACMG 2015 года. Данный ВНП вызывает развитие семейной гиперхолестеринемии и поэтому относится в группу ВНП с повышенным риском ИБС, так как других ВНП нет, пациент получает суммарно

15 4 балла за данный ВНП (значение балла 4\*1 аллель) и пациент был классифицирован в группу лиц с очень высоким генетическим риском развития ИБС. Пациент был направлен на тредмил-тест, при проведении которого выявлена ишемия миокарда левого желудочка, в дальнейшем при проведении коронароангиографии у пациента было выявлено однососудистое поражение передней межжелудочковой артерии со

20 стенозом до 80% в проксимальном сегменте и проведена ангиопластика со стентированием. Таким образом, диагноз ИБС был верифицирован у пациента, и он прошел оперативное лечение.

Пример №2. Пациентка М. 54 года, проходила амбулаторное обследование в декабре 2020 года в ФГБУ «НМИЦ ТПМ» Минздрава России в связи с жалобами на повышение

25 АД максимально до 170/90 мм рт.ст. При обследовании выявлено повышение уровня ХС-ЛПНП до 5,1 ммоль/л. Было рекомендовано проведение генетической диагностики, по результатам которой у пациентки выявлено два ВНП удовлетворяющих критериям rs5742904 гена APOB и ранее неописанный в базе dbSNP ВНП в гене ANGPTL3 -

30 p.Gln73Ter каждый в гетерозиготном состоянии, которые удовлетворяют критериям: ВНП rs5742904 гена APOB имеет частоту минорного аллеля 0,1%, приводит к несинонимичной замене в протеин-кодирующей части гена - p.Arg3527Gln, аннотирован в базе данных ClinVar как патогенный ВНП. Данный ВНП вызывает развитие семейной гиперхолестеринемии и поэтому относится в группу ВНП с повышенным риском ИБС, и пациентка получает 2 балла за данный ВНП(значение балла 2\* 1 аллель); ВНП в гене

35 ANGPTL3 - p.Gln73Ter отсутствует в базе gnomAD, приводит к появлению преждевременного стоп-кодона, классифицирован как вероятно-патогенный ВНП и относится к группе ВНП со сниженным риском ИБС, и пациентка получает (-1) балл за данный ВНП (значение балла (-1)\*1 аллель). Суммарно за 2 данных ВНП пациентка получает 1 балл и ей для оценки риска необходимо было рассчитать значение балла

40 ШГР на основе 59 частых ВНП, которое составило (-2,566), таким образом пациентка была классифицирована в группу лиц с высоким генетическим риском развития ИБС. Риск ИБС был определен как «высокий» и пациентка была направлена на стресс-эхокардиографию, при проведении которой выявлена ишемия миокарда левого желудочка, в дальнейшем при проведении коронароангиографии было выявлено

45 однососудистое атеросклеротическое поражение огибающей артерии со стенозом 80% в проксимальном сегменте и проведена ангиопластика со стентированием. Таким образом, диагноз ИБС у пациентки был верифицирован, и ей было проведено оперативное лечение.

Пример №3. Пациентка М. 63 года, проходила диспансеризацию в апреле 2021 года в ФГБУ «НМИЦ ТПМ» Минздрава России. Пациентка не курит, уровень АД 140/70 мм.рт.ст., уровень общего холестерина 5,5 ммоль/л, имеется отягощенный семейный анамнез по раннему развитию ИБС. Было рекомендовано проведение генетической диагностики, по результатам которой у пациентки выявлено два ВНП, удовлетворяющих критериям rs5742904 гена АРОВ в гетерозиготном состоянии и rs11591147 гена PCSK9 в гомозиготном состоянии: ВНП rs5742904 гена АРОВ имеет частоту минорного аллеля 0,1%, приводит к несинонимичной замене в протеин-кодирующей части гена - р.Arg3527Gln, аннотирован в базе данных ClinVar как патогенный ВНП. Данный ВНП вызывает развитие семейной гиперхолестеринемии и поэтому относится в группу ВНП с повышенным риском ИБС, и пациентка получает 2 балла за данный ВНП (значение балла 2\*1 аллель); ВНП rs11591147 гена PCSK9 имеет частоту минорного аллеля 4%, приводит к несинонимичной замене в протеин-кодирующей части гена -р.Arg46Leu, данный ВНП напрямую относится к группе ВНП со сниженным риском ИБС и пациентка получает (-1) балл за данный ВНП (значение балла (-0,5)\*2 аллеля). Суммарно за 2 данных ВНП пациентка получает 1 балл и ей для оценки риска необходимо было рассчитать значение балла ШГР на основе 59 частых ВНП, которое составило (-4,32) балла, таким образом пациентка была классифицирована в группу лиц с минимально повышенным генетическим риском развития ИБС. Пациентка была направлена на стресс-эхокардиографию, при проведении которой данных за ишемию миокарда левого желудочка не выявлено. Таким образом, при проведении комплексного обследования, данных за наличие ИБС у пациентки не получено.

Пример №4. Пациент М. 67 лет, жалоб активно не предъявлял, проходил диспансеризацию в марте 2021 года в ФГБУ «НМИЦ ТПМ» Минздрава России. Пациент курит, уровень АД 130/80 мм рт.ст., уровень общего холестерина 4,5 ммоль/л, имеется отягощенный семейный анамнез по раннему развитию ИБС. Было рекомендовано проведение генетической диагностики, по результатам которой у пациента были выявлены два низкочастотных ВНП rs11591147 гена PCSK9 и rs72658867 гена LDLR, каждый в гетерозиготном состоянии, которые удовлетворяют критериям: ВНП rs11591147 гена PCSK9 имеет частоту минорного аллеля 4%, приводит к несинонимичной замене в протеин-кодирующей части гена - р.Arg46Leu, данный ВНП напрямую относится к группе ВНП со сниженным риском ИБС; и ВНП rs72658867 гена LDLR имеет частоту минорного аллеля 3%, приводит к мутации в сайте сплайсинга - с.2140+5G > A, данный ВНП напрямую относится к группе ВНП со сниженным риском ИБС. Пациент получает суммарно -1 балл за два данных ВНП (значение балла (-0,5)\*1 аллель + значение балла (-0,5)\*1) и соответственно классифицируется в группу с минимальным относительным генетическим риском развития ИБС. Однако, учитывая возраст пациента, факт курения и отягощенный семейный анамнез по раннему развитию ИБС, пациент был направлен на тредмил-тест, при проведении которого данных за наличие ишемии миокарда левого желудочка не получено. Таким образом, данных за наличие ИБС у пациента, не получено.

Заявленный способ позволяет сделать вывод об очень высоком риске развития ИБС у лиц из группы с очень высоким генетическим риском развития ИБС, высоком риске развития ИБС у лиц из группы с высоким генетическим риском развития ИБС и об относительном низком риске развития ИБС у лиц из групп с минимально повышенным генетическим риском развития ИБС и с минимальным относительным генетическим риском развития ИБС. При очень высоком или высоком риске развития ИБС пациента направляют к терапевту или кардиологу для проведения диагностики ИБС, постановки

на диспансерный учет и раннего начала профилактических и лечебных мероприятий. При относительном низком риске развития ИБС у пациента, абсолютный риск развития ИБС не равен нулю, и поэтому таким пациентам рекомендуется оценка сердечнососудистого риска на основании действующих клинических рекомендаций.

5 Список используемой литературы

1. Самородская, И.В. Нозологическая и возрастная структура смертности от болезней системы кровообращения в 2006 и 2014 годах. / И.В. Самородская, М.А. Старинская, В.Ю. Семенов, Е.П. Какорина. // Российский кардиологический журнал. - 2016. - Т. 21, №6. - С. 7-14.
- 10 2. Российский статистический ежегодник. 2018: Стат. сб. // Росстат-М., Р76. - 2018. - С. 694.
3. Бойцов, С.А. Достижения и проблемы практической кардиологии в России на современном этапе / С.А. Бойцов, А.Е. Демкина, Е.В. Ощепкова, Ю.А. Долгушева // Кардиология. - 2019. - Т. 59, №3. - С. 53-59.
- 15 4. Gorenoi, V. Overview of risk-estimation tools for primary prevention of cardiovascular diseases in european populations. / V. Gorenoi, A. Hagen. // Cent Eur J Public Health. - 2015. - Vol. 23, №2. - P 91-9.
5. Conroy, R.M. Estimation of ten-year risk of fatal cardiovascular disease in Europe: the SCORE project. / R.M. Conroy, K. Pyorala, A.P. Fitzgerald, S. Sans, A. Menotti, [et al.] // Eur
- 20 Heart J. - 2003. - Vol. 24, №11. - P. 987-1003.
6. Бойцов, С.А. Кардиоваскулярная профилактика 2017. Российские национальные рекомендации. / С.А. Бойцов, Н.В. Погосова, М.Г. Бубнова, О.М. Драпкина, Н.Е. Гаврилова, и др. // Российский кардиологический журнал. - 2018. - Т. 23, №6. - С. 7-122.
7. Brindle, P. Accuracy and impact of risk assessment in the primary prevention of cardiovascular
- 25 disease: a systematic review / P. Brindle, A. Beswick, T. Fahey, S. Ebrahim. // Heart.-2006. - Vol. 92, №12. - P 1752-9.
8. Müller, C. Angina pectoris in hereditary xanthomatosis. / C. Müller. // Archives of Internal Medicine. - 1939. - Vol. 64. - P. 675-700.
9. Mayer, B. Genetics and heritability of coronary artery disease and myocardial infarction /
- 30 B. Mayer, J. Erdmann, H. Schunkert // Clin Res Cardiol. - 2007. - Vol. 96, №1. - p. 1-7
10. Marenberg, M.E. Genetic susceptibility to death from coronary heart disease in a study of twins / M.E. Marenberg, N. Risch, L.F. Berkman, B. Floderus, U. de Faire // N Engl J Med. - 1994. - Vol. 330, №15. - P. 1041-6.
11. Mangino, M. Understanding coronary artery disease using twin studies. / M. Mangino, T.
- 35 Spector. // Heart. - 2013. - Vol. 99, №6. - P. 373-5.
12. Dai, X. Genetics of coronary artery disease and myocardial infarction. / X. Dai, S. Wiernek, J.P. Evans, M.S. Runge. // World J Cardiol. - 2016. - Vol. 8, №1. - P. 1-23.
13. Jørgensen, AB. Loss-of-function mutations in APOC3 and risk of ischemic vascular disease. / AB Jørgensen, R Frikke-Schmidt, BG Nordestgaard, A Tybjaerg-Hansen. // N Engl J Med.-2014.
- 40 - Vol. 371, №1. - P. 32-41.
14. Мешков, А.Н. Молекулярно-генетическая диагностика предрасположенности к развитию ишемической болезни сердца: современное состояние проблемы. / А.Н. Мешков, Н.В. Щербакова. // Consilium Medicum. - 2016. - Т. 18, №12. - С. 22-6.
15. Helgadottir, A. Variants with large effects on blood lipids and the role of cholesterol and
- 45 triglycerides in coronary disease. / A. Helgadottir, S. Gretarsdottir, G. Thorleifsson, E. Hjartarson, A. Sigurdsson, [et al.] // Nat Genet. - 2016. - Vol. 48, №6. - P. 634-9.
16. Khera, A.V. Association of rare and common variation in the lipoprotein lipase gene with coronary artery disease. / A.V. Khera, H.H. Won, G.M. Peloso, C. O'Dushlaine, D. Liu, [et al.] //

JAMA. - 2017. - Vol. 317, №9 - P. 937-46.

17. Khera, A.V. Genetics of coronary artery disease: discovery, biology and clinical translation. / A.V. Khera, S. Kathiresan. // Nat Rev Genet. - 2017. - Vol. 18, №6. - P. 331-44.

18. Wilier, C.J. Discovery and refinement of loci associated with lipid levels. / C.J. Wilier, E.M. Schmidt, S. Sengupta, G.M. Peloso, S. Gustafsson, [et al.] // Nat Genet. - 2013. - Vol. 45, №11. - P. 1274-83.

19. Erdmann, J. A decade of genome-wide association studies for coronary artery disease: the challenges ahead. / J. Erdmann, T. Kessler, L.M. Venegas, H. Schunkert. // Cardiovasc Res. - 2018. - Vol. 114, №9. - P. 1241-57.

20. Futema, M. Refinement of variant selection for the LDL cholesterol genetic risk score in the diagnosis of the polygenic form of clinical familial hypercholesterolemia and replication in samples from 6 countries. / M. Futema, S. Shah, J.A. Cooper, K. Li, R.A. Whittall, [et al.] // Clin Chem. - 2015. - Vol. 61, №1. - P. 231-8.

21. Khera, A.V. Genome-wide polygenic scores for common diseases identify individuals with risk equivalent to monogenic mutations. / A.V. Khera, M. Chaffin, K.G. Aragam, M.E. Haas, C. Roselli, [et al.] // Nat Genet - 2018. - Vol. 50, №9. - P. 1219-24.

22. Khera, A.V. Whole-genome sequencing to characterize monogenic and polygenic contributions in patients hospitalized with early-onset myocardial infarction. / A.V. Khera, M. Chaffin, S.M. Zekavat, R.L. Collins, C. Roselli, [et al.] // Circulation. - 2019. - Vol. 139, №13. - P. 1593-1602

23. Trinder, M. Association of monogenic vs polygenic hypercholesterolemia with risk of atherosclerotic cardiovascular disease. / M. Trinder, G.A. Francis, L.R. Brunham. // JAMA Cardiol. - 2020. - Vol. 5, №4. - P. 390-9.

24. Trinder, M. Risk of premature atherosclerotic disease in patients with monogenic versus polygenic familial hypercholesterolemia. / M. Trinder, X. Li, M.L. DeCastro, L. Cermakova, S. Sadananda, [et al.] // J Am Coll Cardiol. - 2019. - Vol. 74, №4. - P. 512-22.

25. Richards S, Aziz N, Bale S, Bick D, Das S, Gastier-Foster J, Grody WW, Hegde M, Lyon E, Spector E, Voelkerding K, Rehm HL; ACMG Laboratory Quality Assurance Committee. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. Genet Med. 2015 May;17(5):405-24.

#### (57) Формула изобретения

Способ прогнозирования риска развития ишемической болезни сердца на основании данных генетического тестирования, характеризующийся тем, что проводят генетическую диагностику пациентов методом секвенирования следующего поколения (NGS), на основании которого выявляют факт наличия редких, с частотой минорного аллеля в популяции менее 1%, и низкочастотных, с частотой минорного аллеля в популяции от 1% до 5%, вариантов нуклеотидной последовательности (ВНП) в генах LDLR, APOB, PCSK9, APOC2, APOA5, LPL, ANGPTL3, APOC3, ANGPTL4 и 59 частых, с частотой минорного аллеля в популяции более 5%, ВНП: rs2479409, rs629301, rs12027135, rs2642442, rs514230, rs2131925, rs12748152, rs267733, rs1367117, rs4299376, rs2710642, rs10490626, rs2030746, rs1250229, rs11563251, rs7640978, rs17404153, rs6831256, rs12916, rs6882076, rs4530754, rs3757354, rs1800562, rs1564348, rs3177928, rs9488822, rs12670798, rs2072183, rs4722551, rs9987289, rs11136341, rs2081687, rs2954029, rs10102164, rs3780181, rs2255141, rs11220462, rs174546, rs964184, rs11065987, rs1169288, rs4942486, rs8017377, rs3764261, rs2000999, rs7206971, rs1801689, rs314253, rs6511720, rs4420638, rs10401969, rs6029526, rs2902940, rs364585, rs2328223, rs5763662, rs4253772, rs429358, rs7412,

далее из всех выявленных в результате генетической диагностики редких и низкочастотных ВНП в генах LDLR, АРОВ, PCSK9, АРОС2, АРОА5, LPL, ANGPTL3, АРОС3 и ANGPTL4 отбирают ВНП, которые удовлетворяют следующим двум общим критериям:

5 частота минорного аллеля ВНП менее 5% или отсутствие в базе Genome Aggregation Database, и тип ВНП как делеция, инсерция или несинонимичная замена в протеин-кодирующей части гена или преждевременный стоп-кодон или мутация в сайтах сплайсинга,

а также по крайней мере одному дополнительному критерию редких и низкочастотных ВНП: тип ВНП по классификации American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG) 2015 года как «патогенный» или «вероятно-патогенный», или ВНП, аннотированные в базе данных ClinVar как «патогенный» или «вероятно-патогенный», или ВНП rs11591147 гена PCSK9, или ВНП rs72658867 гена LDLR,

10 затем на основании отобранных по критериям редких и низкочастотных ВНП в генах LDLR, АРОВ, PCSK9, АРОС2, АРОА5, LPL, ANGPTL3, АРОС3 и ANGPTL4 осуществляют разделение пациентов на две группы: ВНП с повышенным риском ИБС и ВНП со сниженным риском ИБС, и каждый ВНП получает соответствующий риску балл, при этом

к группе редких и низкочастотных ВНП с повышенным риском ИБС относят: редкие и низкочастотные ВНП гена LDLR за исключением ВНП rs72658867, и признак оценивают в 4 балла на каждую минорную аллель ВНП гена LDLR,

редкие и низкочастотные ВНП гена LPL, АРОС2 и АРОА5, и признак оценивают в 2 балла на каждую минорную аллель ВНП генов LPL, АРОС2 и АРОА5,

25 редкие и низкочастотные ВНП генов АРОВ и PCSK9, связанные с развитием семейной гиперхолестеринемии, и признак оценивают в 2 балла на каждую минорную аллель отобранных ВНП генов АРОВ и PCSK9,

а к группе редких и низкочастотных ВНП со сниженным риском ИБС относят:

редкие и низкочастотные ВНП генов ANGPTL3 и ANGPTL4, и признак оценивают в (-1) балл на каждую минорную аллель ВНП генов ANGPTL3 и ANGPTL4,

30 редкие и низкочастотные ВНП генов АРОВ, PCSK9 и АРОС3, приводящие к развитию семейной гипобеталипопротеинемии, и признак оценивают в (-1) балл на каждую минорную аллель отобранных ВНП,

редкие и низкочастотные ВНП rs11591147 гена PCSK9 и rs72658867 гена LDLR, и признак оценивают в (-0,5) балла на каждую минорную аллель отобранных ВНП,

35 далее проводят суммирование полученных баллов для каждой минорной аллели каждого редкого и низкочастотного ВНП генов LDLR, АРОВ, PCSK9, АРОС2, АРОА5, LPL, ANGPTL3, АРОС3, ANGPTL4, при этом значения числа минорных аллелей у пациента могут иметь значения 0, 1 или 2, которые определяются на основании данных генетической диагностики и могут соответствовать значениям: 0 - при отсутствии у пациента минорной аллели в определяемом ВНП, 1 - гетерозигота, при наличии у пациента одной минорной аллели в определяемом ВНП или 2 - гомозигота, при наличии у пациента двух минорных аллелей в определяемом ВНП,

затем на основании полученного суммарного балла за редкие и низкочастотные ВНП пациентов делят на 3 основные группы:

45 со значением балла за редкие и низкочастотные ВНП 2 балла и более - с очень высоким генетическим риском развития ишемической болезни сердца (ИБС);

со значением балла за редкие и низкочастотные ВНП (-0,5) балла или менее - с минимальным относительным генетическим риском развития ИБС,

а при значении балла за редкие и низкочастотные ВНП от 0 до 1,5, дополнительно на основании генетического анализа генотипов 59 частых ВНП рассчитывают значение балла шкалы генетического риска для 59 частых ВНП (ШГР59) по формуле:

$$\begin{aligned}
 \text{ШГР59} = & -(b\text{-коэффициент для ВНП rs2479409} * \text{число аллелей риска для ВНП rs2479409} \\
 & + b\text{-коэффициент для ВНП rs629301} * \text{число аллелей риска для ВНП rs629301} + b\text{-} \\
 & \text{коэффициент для ВНП rs12027135} * \text{число аллелей риска для ВНП rs12027135} + b\text{-} \\
 & \text{коэффициент для ВНП rs2642442} * \text{число аллелей риска для ВНП rs2642442} + b\text{-} \\
 & \text{коэффициент для ВНП rs514230} * \text{число аллелей риска для ВНП rs514230} + b\text{-коэффициент} \\
 & \text{для ВНП rs2131925} * \text{число аллелей риска для ВНП rs2131925} + b\text{-коэффициент для ВНП} \\
 & \text{rs12748152} * \text{число аллелей риска для ВНП rs12748152} + b\text{-коэффициент для ВНП} \\
 & \text{rs267733} * \text{число аллелей риска для ВНП rs267733} + b\text{-коэффициент для ВНП} \\
 & \text{rs1367117} * \text{число аллелей риска для ВНП rs1367117} + b\text{-коэффициент для ВНП} \\
 & \text{rs4299376} * \text{число аллелей риска для ВНП rs4299376} + b\text{-коэффициент для ВНП rs} \\
 & \text{2710642} * \text{число аллелей риска для ВНП rs2710642} + b\text{-коэффициент для ВНП} \\
 & \text{rs10490626} * \text{число аллелей риска для ВНП rs10490626} + b\text{-коэффициент для ВНП} \\
 & \text{rs2030746} * \text{число аллелей риска для ВНП rs2030746} + b\text{-коэффициент для ВНП} \\
 & \text{rs1250229} * \text{число аллелей риска для ВНП rs1250229} + b\text{-коэффициент для ВНП} \\
 & \text{rs11563251} * \text{число аллелей риска для ВНП rs11563251} + b\text{-коэффициент для ВНП} \\
 & \text{rs7640978} * \text{число аллелей риска для ВНП rs7640978} + b\text{-коэффициент для ВНП} \\
 & \text{rs17404153} * \text{число аллелей риска для ВНП rs17404153} + b\text{-коэффициент для ВНП} \\
 & \text{rs6831256} * \text{число аллелей риска для ВНП rs6831256} + b\text{-коэффициент для ВНП} \\
 & \text{rs12916} * \text{число аллелей риска для ВНП rs12916} + b\text{-коэффициент для ВНП rs6882076} * \text{число} \\
 & \text{аллелей риска для ВНП rs6882076} + b\text{-коэффициент для ВНП rs4530754} * \text{число аллелей} \\
 & \text{риска для ВНП rs4530754} + b\text{-коэффициент для ВНП rs3757354} * \text{число аллелей риска} \\
 & \text{для ВНП rs3757354} + b\text{-коэффициент для ВНП rs1800562} * \text{число аллелей риска для ВНП} \\
 & \text{rs1800562} + b\text{-коэффициент для ВНП rs1564348} * \text{число аллелей риска для ВНП rs1564348} \\
 & + b\text{-коэффициент для ВНП rs3177928} * \text{число аллелей риска для ВНП rs3177928} + b\text{-} \\
 & \text{коэффициент для ВНП rs9488822} * \text{число аллелей риска для ВНП rs9488822} + b\text{-} \\
 & \text{коэффициент для ВНП rs12670798} * \text{число аллелей риска для ВНП rs12670798} + b\text{-} \\
 & \text{коэффициент для ВНП rs2072183} * \text{число аллелей риска для ВНП rs2072183} + b\text{-} \\
 & \text{коэффициент для ВНП rs4722551} * \text{число аллелей риска для ВНП rs4722551} + b\text{-} \\
 & \text{коэффициент для ВНП rs9987289} * \text{число аллелей риска для ВНП rs9987289} + b\text{-} \\
 & \text{коэффициент для ВНП rs11136341} * \text{число аллелей риска для ВНП rs11136341} + b\text{-} \\
 & \text{коэффициент для ВНП rs2081687} * \text{число аллелей риска для ВНП rs2081687} + b\text{-} \\
 & \text{коэффициент для ВНП rs2954029} * \text{число аллелей риска для ВНП rs2954029} + b\text{-} \\
 & \text{коэффициент для ВНП rs10102164} * \text{число аллелей риска для ВНП rs10102164} + b\text{-} \\
 & \text{коэффициент для ВНП rs3780181} * \text{число аллелей риска для ВНП rs3780181} + b\text{-} \\
 & \text{коэффициент для ВНП rs2255141} * \text{число аллелей риска для ВНП rs2255141} + b\text{-} \\
 & \text{коэффициент для ВНП rs11220462} * \text{число аллелей риска для ВНП rs11220462} + b\text{-} \\
 & \text{коэффициент для ВНП rs174546} * \text{число аллелей риска для ВНП rs174546} + b\text{-коэффициент} \\
 & \text{для ВНП rs964184} * \text{число аллелей риска для ВНП rs964184} + b\text{-коэффициент для ВНП} \\
 & \text{rs11065987} * \text{число аллелей риска для ВНП rs11065987} + b\text{-коэффициент для ВНП} \\
 & \text{rs169288} * \text{число аллелей риска для ВНП rs1169288} + b\text{-коэффициент для ВНП} \\
 & \text{rs4942486} * \text{число аллелей риска для ВНП rs4942486} + b\text{-коэффициент для ВНП} \\
 & \text{rs8017377} * \text{число аллелей риска для ВНП rs8017377} + b\text{-коэффициент для ВНП} \\
 & \text{rs3764261} * \text{число аллелей риска для ВНП rs3764261} + b\text{-коэффициент для ВНП} \\
 & \text{rs2000999} * \text{число аллелей риска для ВНП rs2000999} + b\text{-коэффициент для ВНП} \\
 & \text{rs7206971} * \text{число аллелей риска для ВНП rs7206971} + b\text{-коэффициент для ВНП}
 \end{aligned}$$



rs1801689\*число аллелей риска для ВВП rs1801689 + b-коэффициент для ВВП  
 rs314253\*число аллелей риска для ВВП rs314253 + b-коэффициент для ВВП  
 rs6511720\*число аллелей риска для ВВП rs6511720 + b-коэффициент для ВВП  
 rs4420638\*число аллелей риска для ВВП rs4420638 + b-коэффициент для ВВП  
 5 rs10401969\*число аллелей риска для ВВП rs10401969 + b-коэффициент для ВВП  
 rs6029526\*число аллелей риска для ВВП rs6029526 + b-коэффициент для ВВП  
 rs2902940\*число аллелей риска для ВВП rs2902940 + b-коэффициент для ВВП  
 rs364585\*число аллелей риска для ВВП rs364585 + b-коэффициент для ВВП  
 rs2328223\*число аллелей риска для ВВП rs2328223 + b-коэффициент для ВВП  
 10 rs5763662\*число аллелей риска для ВВП rs5763662 + b-коэффициент для ВВП  
 rs4253772\*число аллелей риска для ВВП rs4253772)) + значение b-коэффициента для  
 гаплотипа АРОЕ, рассчитанного на основании комбинаций аллелей ВВП rs429358 и  
 ВВП rs7412 у данного пациента, где:

значение b-коэффициента для каждого отдельного ВВП определяют в соответствии  
 15 с таблицей 1, а значение b-коэффициента для гаплотипа АРОЕ - в соответствии с таблицей  
 2,

число аллелей риска определяют на основании данных генетической диагностики,  
 оно имеет значение 0 - при отсутствии у пациента аллелей риска в определяемом ВВП,  
 1 - гетерозигота, при наличии у пациента одной аллели риска в определяемом ВВП,  
 20 или 2 - гомозигота, при наличии у пациента двух аллелей риска в определяемом ВВП,  
 после определения значения балла ШГР59, рассчитанного на основании генетического  
 анализа генотипов 59 частых ВВП, всех пациентов со значением балла за редкие и  
 низкочастотные ВВП от 0 до 1,5 дополнительно делят еще на 2 группы:

с высоким генетическим риском развития ИБС, при значении ШГР59 более (-3,186)  
 25 балла,

с минимально повышенным генетическим риском развития ИБС, при значении  
 ШГР59 (-3,186) баллов или менее,

далее на основании полученных результатов делают вывод об очень высоком риске  
 развития ИБС у лиц из группы с очень высоким генетическим риском развития ИБС,  
 30 высоком риске развития ИБС у лиц из группы с высоким генетическим риском развития  
 ИБС и об относительно низком риске развития ИБС у лиц из групп с минимально  
 повышенным генетическим риском развития ИБС и с минимальным относительным  
 генетическим риском развития ИБС, при этом при очень высоком или высоком риске  
 развития ИБС пациента направляют к терапевту или кардиологу для проведения  
 35 диагностики ИБС, постановки на диспансерный учет и раннего начала  
 профилактических и лечебных мероприятий, при относительном низком риске развития  
 ИБС пациенту рекомендуют проводить оценку сердечно-сосудистого риска на основании  
 действующих клинических рекомендаций.

40

45

