

**(12) МЕЖДУНАРОДНАЯ ЗАЯВКА, ОПУБЛИКОВАННАЯ В
СООТВЕТСТВИИ С ДОГОВОРОМ О ПАТЕНТНОЙ КООПЕРАЦИИ (РСТ)**

(19) Всемирная Организация
Интеллектуальной Собственности
Международное бюро



(43) Дата международной публикации
29 сентября 2022 (29.09.2022)

(10) Номер международной публикации
WO 2022/203533 A1

(51) Международная патентная классификация:
C12Q 1/6876 (2018.01) *G01N 33/48* (2006.01)

(21) Номер международной заявки: PCT/RU2021/000118

(22) Дата международной подачи:
25 марта 2021 (25.03.2021)

(25) Язык подачи: Русский

(26) Язык публикации: Русский

(72) Изобретатель; и

(71) Заявитель: **ВОЛОБУЕВ, Владимир Валерьевич** (*VOLOBUEV, Vladimir Valerevich*) [RU/RU]; ул. Таженская, д. 8, к. 2, помещение 1, муниципальный округ Лосиноостровский, Москва, 129336, Moscow (RU).

(72) Изобретатели: **КОЛЕСНИКОВА, Ирина Станиславовна** (*KOLESNIKOVA, Irina Stanislavovna*); Красный проспект, д. 73, кв. 46, Новосибирск, 630091, Novosibirsk (RU). **ПОЛУНОВСКИЙ, Валерий Владимирович** (*POLUNOVSKIY, Valerij Vladimirovich*); ул. Нарымская, д. 7, кв. 10, г. Новосибирск, 630001, g. Novosibirsk (RU). **ХОЛЯНДРА, Инна Сергеевна** (*HOLYANDRA, Inna Sergeevna*); ул. Демакова, д. 14, кв. 43, г. Новосибирск, 630090, g. Novosibirsk (RU). **ДРУЖИНИНА, Софья Викторовна** (*DRUZHININA, Sof'ya Viktorovna*); ул. Кузьмы Минина, д. 9/3, кв. 205, г. Новосибирск, 630047, g. Novosibirsk (RU). **РЕШЕТНИКОВ, Василий Владимирович** (*RESHETNIKOV, Vasilij Vladimirovich*); ул. Технопарковая, д. 5, кв.

230, районный поселок Кольцово, 630559, таюшук poselok Kol'covo (RU). **ЕРМОЛЕНКО, Наталья Александровна** (*ERMOLENKO, Natal'ya Aleksandrovna*); Академическая, д. 8, кв. 50, г. Новосибирск, 630090, g. Novosibirsk (RU).

(74) Агент: **СКОРЫЙ, Вадим Витальевич** (*SKORY, Vadim Vitalievich*); а/я 21, г. Новосибирск-97, 630097, g. Novosibirsk-97 (RU).

(81) Указанные государства (если не указано иначе, для каждого вида национальной охраны): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, IT, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW.

(84) Указанные государства (если не указано иначе, для каждого вида региональной охраны): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), евразийский (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), европейский патент (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE,

(54) Title: METHOD FOR ASSESSING PREDISPOSITION TO DIFFERENT FORMS OF TYPE II DIABETES MELLITUS

(54) Название изобретения: СПОСОБ ОЦЕНКИ ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТИ К РАЗЛИЧНЫМ ФОРМАМ САХАРНОГО ДИАБЕТА 2ГО ТИПА

(57) Abstract: The claimed method includes carrying out a genetic analysis and assessing on the basis of said analysis a predisposition to the development of one of three possible forms of diabetes mellitus, i.e. autoimmune, insulin-deficient or insulin-resistant, detected on the basis of the DNA analysis. A predisposition to the development of the autoimmune form of diabetes mellitus is assessed on the basis of an analysis of the genes HLA-DQA1, HLA-DQB1, HLA-DRB1, MICB, NFAT5, RASGRP1, PRRC2A; the likelihood of the development of the insulin-deficient form of diabetes mellitus is assessed on the basis of an analysis of the genes AGER, ARAP1, HHEX, HNF1A, KCNJ11, NOTCH, NUDT5, SLC2A2, SLC30A8, TCF7L2, THADA, WFS1, ZMIZ1; and a predisposition to the development of the insulin-resistant form of diabetes mellitus is assessed on the basis of an analysis of the genes FTO, GCKR, IRS1, NOTCH4, PPARG, PPIP5K2, SLC2A2, THADA, which entails calculating the overall contribution of detected polymorphisms of said genes, associated with each of the given forms of diabetes mellitus, and establishing a relative risk threshold which, if exceeded, indicates a significant increase in the risk of development of the given form of diabetes mellitus.

(57) Реферат: Заявленный способ включает проведение генетического анализа и, на его основании, оценки предрасположенности к развитию сахарного диабета одной из трех возможных форм: аутоиммунной, инсулинодефицитной, инсулинерезистентной, выявляемой на основе ДНК-анализа. На основании анализа генов HLA-DQA1, HLA-DQB1, HLA-DRB1, MICB, NFAT5, RASGRP1, PRRC2A оценивают предрасположенность к развитию аутоиммунной формы сахарного диабета, на основании анализа генов AGER, ARAP1, HHEX, HNF1A, KCNJ11, NOTCH, NUDT5, SLC2A2, SLC30A8, TCF7L2, THADA, WFS1, ZMIZ1 оценивают вероятность развития инсулино-дефицитной формы сахарного диабета, а на основании анализа генов FTO, GCKR, IRS1, NOTCH4, PPARG, PPIP5K2, SLC2A2, THADA оценивают предрасположенность к развитию инсулинерезистентной форме сахарного диабета, для чего, вычисляют суммарный вклад выявленных полиморфизмов генов, ассоциированных с каждой из выделенных форм сахарного диабета, и устанавливают пороговое значение относительного риска, превышение которого считают значимым повышением риска развития выделенной формы сахарного диабета.

WO 2022/203533 A1

WO 2022/203533 A1



SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Опубликована:

- с отчётом о международном поиске (статья 21.3)
- с перечнем последовательностей в соответствии с Правилом 5.2(a)

СПОСОБ ОЦЕНКИ ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТИ К РАЗЛИЧНЫМ ФОРМАМ САХАРНОГО ДИАБЕТА 2ГО ТИПА

Область техники

5 Изобретение относится к медицине, в частности к скринингу и профилактике сахарного диабета 2-го типа (СД2) и может быть использовано для оценки предрасположенности к развитию СД2 к одной из трёх возможных приоритетных форм: аутоиммунной, инсулинодефицитной, инсулинерезистентной, выявляемой на основе ДНК-анализа. На основании одной 10 из указанных форм могут быть сформулированы персонализированные рекомендации по профилактике и лечению заболевания для каждого обследуемого, что значительно повышает эффективность лечения. Способ может быть использован в практике врача-эндокринолога или терапевта.

Предшествующий уровень техники

15 Сахарный диабет является одной из серьезнейших мировых медико-социальных проблем. По оценкам Международной федерации диабета (International Diabetes Federation, IDF), на 2019 год в мире насчитывалось 463 миллиона больных сахарным диабетом [7]. То есть, примерно каждый 11 взрослый в мире имеет диагностированный сахарный диабет; при этом полагают, 20 что половина случаев СД остаются не диагностированными. Заболеваемость СД ежегодно растет, и по прогнозам IDF к 2045 году она может достигнуть 700 млн. Смертность от СД и его осложнений в 2019 году составила порядка 4.2 млн человек, что оценивается как 11.3% от всех смертей, причем почти половина этих смертей (46.2%) - люди младше 60 лет, то есть трудоспособное население [7].
25 Кроме того, сахарный диабет является существенной экономической проблемой. Ежегодно в мире общие затраты на лечение СД и его осложнений и последствий составляют 760 млрд долларов - 10% от всех медицинских затрат; к 2045 эти затраты могут превысить 840 млрд долларов в год. В высокоразвитых странах на лечение человека с диагностированным СД2 тратится в среднем порядка 5000 долларов в год (в некоторых странах - в среднем 9-11 тысяч) [7]. Развитие сахарного диабета в значительной степени зависит от генетики. Наследуемость СД2 составляет по различным оценкам от 30 до 70% [16], при этом для лиц, у которых один из родителей имеет СД2, риск развития составляет в среднем 30

порядка 40%, если оба родителя больны – 70% [10]. На сегодняшний день известно, что более 80 генов включают полиморфизмы, которые влияют на предрасположенность к СД2. Существуют также моногенные формы диабета (MODY-диабеты), которые развиваются в результате мутации в конкретном гене 5 и составляют 2–5% от всех диагнозов СД [13].

На текущий момент выделяют основные две формы заболевания - сахарный диабет 1 типа (инсулинзависимый) и сахарный диабет 2 типа (инсулиновнезависимый), также выделяется латентный аутоиммунный диабет (LADA), характеризующийся промежуточным течением заболевания между 1-м и 10 2-м типами, и гестационный диабет, проявляющийся исключительно во время беременности. Сахарный диабет 2-го типа является наиболее распространенным среди всех сахарных диабетов и составляет примерно 93% случаев; LADA встречается в 5,2% случаев, и только 1,2% - это люди с сахарным диабетом 1-го типа. В тоже время сахарный диабет 2-го типа очень гетерогенен даже на уровне 15 симптомокомплекса, имея сходные диагностические критерии, молекулярные механизмы развития заболевания различаются и, соответственно, требуют различной стратегии лечения.

Снижению распространенности сахарного диабета и предотвращению осложнений может помочь ранняя диагностика или скрининг для выявления 20 преддиабетического состояния. В этом состоянии модификация образа жизни может быть достаточно эффективной и снижать риск развития заболевания на 40-70% [14]. На сегодняшний день основным методом исследования геномных вариантов - детерминант заболеваний и приоритизации их функциональной значимости являлся GWAS-анализ (полногеномный поиск ассоциаций от англ. 25 genome-wide association studies) [9]. Основным преимуществом данного подхода является ранжирование эффекта вкладов разных (обычно часто встречающихся в популяции) геномных вариантов в признак в контексте исследования интересующей группы индивидуумов, на двух или более контрастных подгруппах, имеющих различное фенотипическое проявление интересующего 30 признака [9, 15]. С недавних пор популярность приобрели также так называемые мета-исследования GWAS и полногеномных секвенирований, обобщающие данные однотипных GWAS-исследований на разных популяциях и

полногеномных секвенирований, стратифицированных по разным частотам встречаемости изучаемых аллельных вариантов [11, 17]. Однако, несмотря на статистическую мощность последних, молекулярно-генетическая основа детерминации признаков до недавнего времени оставалась неуловимой для исследователей, т.к. большую часть ассоциированных с признаком вариантов в GWAS составляют регуляторные, некодирующие генетические варианты [4, 8], эффект которых на функцию/признак чрезвычайно мал и контекст-специфичен, опосредован как внутренней средой (компаундами аллелей, физиологическим состоянием, возрастом, полом и т.д.) так и внешними факторами (инфекционной 5 нагрузкой, социальным статусом, питанием, и т.д.). Группа американских исследователей под руководством Джонатана Притчарда, детально 10 систематизировав многочисленные GWAS-данные, предложила омнигенную модель детерминации признаков, в которой есть немногочисленные гены центральной генной сети, представляющие собой молекулярную машину 15 формирования признака, и многочисленные (вплоть до размеров всего оставшегося генома) гены-модификаторы изменяющие как непосредственно работу генов центральной сети, так и генов-модификаторов модифицирующих работу центральной сети, генов модификаторов модификаторов и т.п. [4, 8]. Затем, в 2019 году, группа американских математических биологов под 20 руководством Алкиса Прайса, задавшись вопросом причины универсальности такой странной генетической детерминации признаков (омнигенной модели Притчарда) и смоделировав эволюцию в режиме стабилизирующего отбора, доказала как необходимую и достаточную причину (стабилизирующий отбор), так и универсальное следствие - генетическую детерминацию признаков по 25 омнигенной модели [12]. В результате этого стало очевидно, что одних данных GWAS для функциональной приоритизации недостаточно как в контексте приоритизации отдельных генетических вариантов, так и для приоритизации функциональной значимости генов. Таким образом, появилась чрезвычайная необходимость производить приоритизацию функциональной значимости, 30 учитывая как можно большее количество биологически значимых особенностей, как отдельных аллельных вариантов генов, так и генов в целом. Любые показанные с помощью GWAS ассоциации генетических вариантов с заболеваниями должны быть объяснимы с молекулярно биологической,

биохимической, биомедицинской точки зрения, а также согласоваться с результатами экспериментов на лабораторных животных и *in vitro*.

Исходя из последних данных исследований полногеномных анализов ассоциаций появляются и новые подходы к классификации сахарного диабета на 5 основе так называемого “data-driven” подхода. Этот подход позволяет на основе данных о генетических, биохимических, транскрипционных данных выделять группы, отражающие реальные процессы в организме. Использование таких подходов может стать основой для новых классификаций сахарного диабета.

Один из способов применения “data driven” подхода к классификации 10 механизмов патогенеза сахарного диабета заключаются в выделении ключевых генных сетей диабета. На основе этого подхода выделяются сигнальные пути связанные с гомеостазом глюкозы, путями регуляции транскрипции при дифференциации мышечных клеток, клеточным ответом на стресс через WNT сигнальный путь, поддержанием теломер, процессингом белков в аппарате 15 Гольджи и другими. Однако данный подход далек от клинической классификации сахарного диабета и может привести к появлению исследовательских артефактов.

Большинство изобретений, направленных на оценку риска СД2, предполагают в основном, исследование отдельных полиморфных вариантов 20 генов [WO2008065682, WO2011004405, RU2688208, RU2655635] [18-21]. Причем некоторые из этих изобретений, направлены на оценку риска в отдельных популяциях [RU2688208] [20]. Другое изобретение [WO2007128884] оценивает 25 отдельные полиморфизмы, выбранные на основе GWAS данных [22]. В этих работах [WO2007128884, JP2015007985, WO2010030929] помимо генетических рисков учитывают также наличие или отсутствие ожирения, а также другие средовые факторы, такие как вес, возраст, образ жизни [22-24].

Известен способ прогнозирования риска развития СД2 согласно заявке 30 WO2011004405 [19], который предполагает анализ SNP (single nucleotide polymorphisms – однонуклеотидных полиморфизмов) в локусах 11p15 и 7q32. Авторы изобретения показали ассоциацию полиморфизмов в данных локусах с развитием СД2. В локусе 11p15 находится также ранее известный маркер СД2 rs231362 (полиморфная замена в кодирующей последовательности гена *KCNQ1*). В этом же регионе находится кластер ассоциированных с кератином генов *KRTAP5 1-5*, а также *DUSP8*; кроме того, инtron гена *HCCA2* содержит ген *CTSD*.

В одном из вариантов изобретения предлагается анализ одного из полиморфизмов: rs2334499, rs1O38727, rs7131362, rs748541, rs4752779, rs4752780, rs4752781, rs4417225, rs10769560, rs17245346, rs1l607954, rs1l0839220, и rs1l600502, фактором риска считают аллель T rs2334499.

5 Недостатками указанного изобретения являются:

- учёт всего лишь отдельных локусов, которые не позволяют комплексно оценить риск развития сахарного диабета;
- в изобретении не описаны алгоритм и формула расчёта возможной тяжести симптомов СД2 и вероятной выраженности ответа на препараты, несмотря на 10 упоминание о таковой возможности;
- оценка эффективности препаратов данным методом, по-видимому, не специфична по отношению к конкретным препаратам и распространяется на все возможные к применению препараты в целом, не учитывая мишени или механизмы действия препаратов, равно как их особенности их метаболизма;
- 15 - отсутствует возможность выявления и выделения вероятных конкретных механизмов развития сахарного диабета;
- на основании данного изобретения невозможна направленная профилактика и терапия сахарного диабета и его осложнений.

Наиболее близким к заявляемому техническому решению, является взятый в 20 качестве прототипа, новый способ классификации диабета, опубликованный в 2018 году в журнале Lancet Diabetes Endocrinology [1]. Способ основан на кластерном анализе данных о клинических параметрах людей. Основные параметры, используемые для новой классификации, были следующими: уровень антител к глутаматдекарбоксилазе, уровень гликированного гемоглобина, индекс 25 массы тела, возраст манифестации заболевания, индекс функциональной активности бета-клеток (HOMA-B) и индекс инсулинорезистентности (HOMA-IR). На основании вышеописанных параметров в исследовании было выделено 5 кагорт, разделяющих сахарные диабеты на более специализированные группы.

1. SAID=severe autoimmune diabetes - тяжелый аутоиммунный диабет. Имеет наибольшее перекрытие с сахарным диабетом 1 типа и LADA диабетом.

2. SIDD=severe insulin-deficient diabetes - тяжелый инсулин-дефицитный диабет. Одна из групп сахарного диабета 2-го типа, характеризующаяся дефицитом инсулина и последующей гипергликемией.

3. SIRD=severe insulin-resistant diabetes - тяжелый инсулинерезистентный диабет. Также является подгруппой сахарного диабета 2-го типа, однако имеет особое проявление - высокую инсулинерезистентность и высокий уровень инсулина. В наибольшей степени в этой группе проявляются нарушения функций почек.

4. MOD=mild obesity-related diabetes - сахарный диабет, связанный с ожирением. Наиболее часто встречающийся в группе людей с высоким индексом массы тела.

5. MARD=mild age-related diabetes - возраст-ассоциированный сахарный диабет. Было показано, что разные выделенные подтипы диабета характеризуются различной тяжестью протекания и развитием различных осложнений. Так, в то время как для SIDD наиболее характерными осложнениями являются ретинопатия и нефропатия, при SIRD чаще всего наблюдаются сопутствующие неалкогольная жировая болезнь печени и/или нефропатия. MARD характеризуется наиболее мягким течением заболевания и наименьшими нарушениями гликемического контроля, в то время как SAID с этой точки зрения является, по-видимому, наиболее тяжёлым. Также авторы приводят ассоциации некоторых (всего 10) генетических полиморфизмов с выделенными подтипами диабета.

Недостатками известного способа являются:

- малое количество предполагаемых генетических детерминант, связанных с риском развития того или иного подтипа сахарного диабета;

- неспецифичность большей части указанных генетических полиморфизмов по отношению к подтипам сахарного диабета (например, полиморфизм rs7903146 гена TCF7L2 ассоциирован одновременно с SIDD, MOD и MARD; rs10401969 в гене TM6SF2 - с SAID, SIDD, SIRD и MARD);

- отсутствие количественных методов расчета рисков;

- как следствие, невозможность прогнозирования и расчета риска развития того или иного подтипа сахарного диабета.

Раскрытие изобретения

Техническим результатом заявляемого способа, является устранение указанных недостатков известного технического решения, а именно: расширение количества предполагаемых генетических детерминант, связанных с риском 5 развития того или иного подтипа сахарного диабета с привязкой большей части указанных генетических полиморфизмов к подтипам сахарного диабета; отсутствие количественных методов расчета рисков и невозможность прогнозирования и расчета риска развития того или иного подтипа сахарного диабета.

10 Указанный технический результат в способе оценки предрасположенности к различным формам сахарного диабета 2 типа с выдачей персонализированных рекомендаций по его профилактике и терапии, включающий проведение генетического анализа и на его основании определение разновидности диабета 2 типа, достигается тем, что на основании анализа генов HLA-DQA1, HLA-DQB1, 15 HLA-DRB1, MICB, NFAT5, RASGRP1, PRRC2A оценивают предрасположенность к развитию «Автоиммунной формы сахарного диабета», на основании анализа генов AGER, ARAP1, HHEX, HNF1A, KCNJ11, NOTCH, NUDT5, SLC2A2, SLC30A8, TCF7L2, THADA, WFS1, ZMIZ1 оценивают вероятность 20 развития «Инсулино-дефицитной формы сахарного диабета», а на основании анализа генов FTO, GCKR, IRS1, NOTCH4, PPARG, PPIP5K2, SLC2A2, THADA оценивают предрасположенность к развитию «Инсулино-резистентной форме сахарного диабета», для чего, вычисляют суммарный вклад выявленных полиморфизмов генов, ассоциированных с каждой из выделенных форм сахарного диабета, и устанавливают пороговое значение относительного 25 риска, превышение которого считают значимым повышением риска развития выделенной формы сахарного диабета, а уже после выявления риска развития одной или нескольких форм сахарного диабета, дают персонализированные рекомендации по его профилактике и терапии.

Необходимо учитывать, что количественный вклад каждого полиморфизма 30 в риск развития заболевания может быть разным. Поэтому, вычисляют суммарный вклад выявленных полиморфизмов генов, ассоциированных с каждой из выделенных форм сахарного диабета, и устанавливают пороговое значение относительного риска, превышение которого считают значимым повышением

риска развития выделенной формы сахарного диабета, риск считается выявленным.

Следует отметить, что может быть выявлена не одна форма сахарного диабета. Более одной приоритетной формы сахарного диабета выявляют в случае, 5 когда значимое превышение суммарного риска выявляют более чем для одной приоритетной формы .

При выявлении риска развития одной или нескольких форм сахарного диабета в каждом случае выдаются персонализированные рекомендации по профилактике и терапии сахарного диабета 2 типа. В случае выявления 10 нескольких приоритетных форм диабета выдаются рекомендации по профилактике каждой из выявленных форм.

Также следует отметить, что приоритетных форм сахарного диабета может быть не выявлено; это происходит в том случае, если суммарный риск ни для 15 одной из выделенных приоритетных форм не превышает установленного порогового значения.

В случае, если не было выявлено значимого повышения риска развития ни одной из выделенных форм сахарного диабета, выдаются стандартные рекомендации по профилактике данного заболевания и здоровому образу жизни; рекомендации по фармакотерапии выдаются исходя из выявленного генотипа 20 соответствующих генов (см. Приложение 3).

В рамках данного изобретения, был проведен поиск функционально-значимых полиморфизмов, включающий в себя многостадийный анализ GWAS данных и позволяющий выделить приоритетный список из 27 наиболее значимых полиморфизмов в 26 генах.

25 Анализ молекулярных функций генов, в которых были расположены данные полиморфизмы, хорошо соотносится с известными молекулярными механизмами развития сахарного диабета. Это позволило сопоставить гены и связанные с ними полиморфизмы с молекулярными механизмами и на основании этих данных оценивать риск развития отдельных эндофенотипов сахарного диабета 2-го типа, 30 выделив при этом три формы сахарного диабета.

Вышеуказанные особенности являются существенным отличием изобретения от прототипа и решает проблему недостаточного количества и

неспецифичности выявленных в прототипе генетических детерминант подтипов сахарного диабета.

Также изобретение дает возможность выявлять предрасположенность к сочетанным формам СД2, что обеспечивает более точную диагностику и более 5 полную профилактику заболевания. В частности, изобретение позволяет выявить склонность к дополнительным патогенетическим процессам в случаях, если общая клиническая картина маскируется преобладающим проявлением приоритетной формы.

На основании генотипа и выявленных приоритетных форм (механизмов) 10 изобретение предполагает выдачу индивидуальных рекомендаций соответственно выявленному подтипу или подтипам в каждом конкретном случае. В случае отсутствия выявленных приоритетных форм развития сахарного диабета возможна выдача общих рекомендаций по профилактике заболевания и здоровому образу жизни.

15 Помимо этого, данное изобретение на основании генетических данных позволяет оценить эффективность различных фармацевтических препаратов (ФП). Такие рекомендации выдаются как в случае выявления одной или нескольких приоритетных форм развития сахарного диабета, так и в случае отсутствия значимого повышения риска по всем трем выделенным формам 20 сахарного диабета.

Таким образом, заявляемый способ оценки предрасположенности к различным формам сахарного диабета 2 типа с выдачей персонализированных рекомендаций по его профилактике и терапии позволяет не только выявить 25 наиболее вероятную форму развития диабета 2 типа, а значит, определить наиболее эффективную профилактику заболевания, но и выявить склонность к дополнительным патогенетическим процессам, маскирующим приоритетную форму диабета 2 типа, что не имеет аналогов, среди способов прогнозирующих возникновение у пациента диабета 2 типа, а значит, заявляемое техническое решение соответствует критерию «изобретательский уровень».

30 Для разработки генетической панели, позволяющей выявлять и прогнозировать приоритетные механизмы развития СД2, а также выдавать

соответствующие персонализированные рекомендации по профилактике данного заболевания, первостепенной задачей был выбор наиболее информативных генов и SNP, значимо ассоциированных с СД2. Отобранные гены необходимо было охарактеризовать с точки зрения биологических процессов, в которых они 5 принимают участие, и вероятной функциональной роли этих генов и их продуктов в патогенезе СД2. Для этого брали SNP, значимо связанные с риском развития СД2.

В качестве основного источника данных использовали GeneAtlas [5], единственный в мире ресурс GWAS-информации, имеющий наибольшее на 10 сегодняшний день количество маркеров (от 700 тысяч до 9 млн. экспериментально генотипированных для разных признаков и >34.5 млн. импутированных для всех признаков, т.е. алгоритмически восстановленных по известным гаплогруппам) для каждого из более чем 650 полигенных клинических и более 110 нормальных признаков человека. Важно, что для получения этого 15 объема данных исследователями (авторами базы данных UK biobank, лежащей в основе GeneAtlas) было проанализировано более 450 000 экспериментально генотипированных, неродственных людей, что позволило:

- получить отчетливую, статистически значимую связь между числом статистически значимых полиморфизмов и наследуемостью исследованных 20 признаков (существенно снизить эффект потери наследуемости);
- полностью избавиться от артефакта завышения силы эффекта отдельных снипов на малых выборках.

Отбор однонуклеотидных генетических вариантов, ассоциированных с признаками E11 (инсулиннезависимый сахарной диабет по МКБ-10) в составе 25 группы E10-E14 - сахарный диабет, производился по импутированным данным (качество импутации $\geq 0,8$) с двумя порогами статистической значимости ассоциации $p \leq 1E-7$ и $p \leq 1E-8$ (порог для значения beta не использовался). В анализ взяли все стабильные SNP, однозначно аннотированные начиная с базы данных DB SNP версии 150 (dbSNP: the NCBI database of genetic variation). Используя 30 данные о геномных позициях экзонов и кодонов, им принадлежащих (ENSEMBL v. 97), были отобраны SNP, которые располагались внутри кодирующих белок

областей генов и приводили к заменам аминокислот, или концентрировались по границам этих областей – в сайтах сплайсинга. Используя уточненные экспериментальные данные о локализации активных промоторов (на основе базы данных EPDnew (EPD in 2020: enhanced data visualization and extension to ncRNA promoters)) и активных энхансеров (на основе базы данных HACER (HACER: an atlas of human active enhancers to interpret regulatory variants)) генов, непересекающихся с кодирующими белок областями, были отобраны гены, имеющие 3 и более SNP в этих регуляторных областях, тем самым одновременно выбраны регуляторные SNP и гены, обогащенные этими регуляторными SNP.

Для частотной фильтрации SNP, используя платформу ANNOVAR (Genomic variant annotation and prioritization with ANNOVAR and wANNOVAR) была проведена селекция SNP, имеющих максимальную частоту встречаемости в изученных популяциях большую чем 0,01. Частоты встречаемости аллелей в популяциях человека брались по данным баз данных ExAC-03, gnomAD 2.1.1, Kaviar-2015.09.23, 1000 genomes-2015.04.13, ESP 6500.

Для функциональной фильтрации SNP использовали следующие обязательные характеристики: эффект каждого SNP, расположенного в кодирующих областях гена и сайтах сплайсинга, должен был обязательно протестирован не менее 20 (из 40) методами предсказания изменений в структуре и функции белка, описанными в DB NSFP4.0a (dbNSFP v3.0: A One-Stop Database of Functional Predictions and Annotations for Human Nonsynonymous and Splice-Site SNVs); для каждого регуляторного SNP должен быть синтетический скор важности регуляторных районов генома PAFA (Prioritization and functional assessment of noncoding variants associated with complex diseases). Кроме того, все SNP должны были:

- быть охарактеризованы синтетическим рейтингом (скором) эволюционно-функциональной значимости FitCons2 (An evolutionary framework for measuring epigenomic information and estimating cell-type-specific fitness consequences);
- попадать внутрь (а не между) ранее охарактеризованных независимых блоков неравновесия по сцеплению для азиатской и европейской популяции (Approximately independent linkage disequilibrium blocks in human populations. Bioinformatics);

- иметь охарактеризованные частотные характеристики аллелей для восточно-азиатской, европейской (исключая финнов), финской популяций и синтетической группы других евразийских популяций в базе данных gnomAD 2.1.1 (Variation across 141,456 human exomes and genomes reveals the spectrum of loss-of-function intolerance across human protein-coding genes).

В качестве дополнительных (необязательных) характеристик всех SNP использовали доступную информацию о pLI-скоре, учитывающем данные о гаплонедостаточности гена (Analysis of protein-coding genetic variation in 60,706 humans), GADO-скоре, учитывающем положение гена в генной сети исследуемого признака (Improving the diagnostic yield of exome- sequencing by predicting gene-phenotype associations using large-scale gene expression analysis), TISSUES 2 скоре, описывающем ткане-/органо-специфичность экспрессии гена (TISSUES 2.0: an integrative web resource on mammalian tissue expression). В качестве дополнительных (необязательных) характеристик регуляторных SNP 10 дополнительно использовали характеристику RegulomeDB, учитывающую значимость SNP в контексте регуляторного района (Annotation of functional variation in personal genomes using RegulomeDB), и количество тканей с измененной экспрессией гена(ов) при наличии SNP/eQTL, по данным GTEx (Using an atlas of gene regulation across 44 human tissues to inform complex disease- 15 and trait-associated variation).

После аннотации и селекции (см. выше) SNP для каждого из исследованных клинических и нормальных признаков для 9 характеристик SNP проводились последовательно 1) попарный корреляционный анализ и вычисление среднего бутстрепированного Spearman Rho значения (с использованием пакета R boot 25 (Systematic comparison of phenome-wide association study of electronic medical record data and genome-wide association study data)) и 2) назначение рангов при помощи прямой (пс) или обратной (ос) сортировки для каждого значения этих 9 характеристик. В анализ брались следующие 9 характеристик SNP: GWAS данные Beta (пс) и P-value (ос), максимальная частота в популяциях (ос), PAFA- скор (пс), максимальный (если генов несколько) pLI-скор (пс), FitCons2 - скор (пс), RegulomeDB- ранг (ос), количество тканей с измененной экспрессией по данным GTEx (пс), dbNSFP4.0 бутстрепированный медианный скор (пс). После назначения рангов для каждого значения этих 9 характеристик, ранги умножались 30

на средние бутстрепированные Spearman Rho этих 9 характеристик. Итоговый ранг SNP вычислялся как среднее бутстрепированное (полученное с использованием пакета R boot (Bootstrap Methods and Their Applications)) среди нормированных рангов этих 9 характеристик. При наличии прямого соответствия между изучаемым признаком (кодом ICD-10 (ICD-10 : international statistical classification of diseases and related health problems : tenth revision, 2nd ed)) и терминами HPO (Expansion of the Human Phenotype Ontology (HPO) knowledge base and resources) по данным PheWAS (Systematic comparison of phenome-wide association study of electronic medical record data and genome-wide association study data), описывающими этот признак, а также однозначной информации о тканевой и/или органной приуроченности работы генов, в которых содержатся SNP, итоговый ранг SNP нормировался (домножался) на 1) суммы GADO-скоров гена(ов) для этого SNP, которые вычислялись на основе генных сетей, охарактеризованных терминами HPO и 2) на суммы TISSUES 2 скоров, описывающих тканевую / органную специфику работы генов. В итоге на основании всех указанных рангов для каждого SNP был сформирован итоговый скор - взвешенный медианный ранг.

На основании взвешенного медианного ранга авторами изобретения были выделены 27 не сцепленных друг с другом SNP, связанных с 26 генами (приложение 1). Анализ функций этих генов, позволил нам разделить их на три группы:

- связанные с передачей сигнала инсулина;
- связанные с биосинтезом инсулина;
- связанные с воспалительными и аутоиммунными процессами.

Поскольку эти группы генов хорошо соотносятся с известными молекулярными механизмами развития диабета нами были выделены три возможных эндофенотипа:

- 1.Инсулиновидицтная форма;
- 2.Инсулинерезистентная форма;
- 3.Аутоиммунная форма.

Для определения полиморфизмов выделенных генов использовались праймеры и зонды, которые приведены в Приложении 2.

Таким образом, данное изобретение позволит оценить генетический риск возникновения различных эндофенотипов сахарного диабета. Кроме этого, анализ литературных данных показал, что белковые продукты найденных нами генов связаны с различной чувствительностью к различным фармакологическим 5 препаратам, которые применяются в терапии сахарного диабета (см. Приложение 3). Принимая все это во внимание, авторами изобретения описаны эндофенотипы и к каждому из них разработаны специфические рекомендации.

Ниже приводится алгоритм расчета предрасположенности к различным формам СД2.

10 Основные принципы расчета:

- для каждого SNP проводится независимый тест;
- ассоциации SNP (патология проверяются путем сравнения частот SNP в экспериментальной группе и контроле);
- есть возможность учитывать частоту в популяции каждого из 3 возможных 15 генотипов (2 гомозиготы и 1 гетерозигота) при сравнениях.

Отношения шансов и отношение правдоподобий:

- а) мера величины эффекта или силы ассоциации, $odds = P/(1-P)$;
- б) $odds\ ratio$ или отношение шансов (OR) = odds (событие при воздействии или условии) / odds (событие при отсутствии воздействия или условия), например 20 если $P(\text{заболевания} | \text{генотип "GC"}) = 0.15$, $P(\text{заболевания} | \text{генотип "CC"}) = 0.1$, а средний риск заболевания в популяции 0.3, то $OR=(0.15/0.1)/(0.3/0.7)=\sim 3.5$;

В случае если средний риск заболевания в популяции не известен, но известны частоты генотипов в контроле (здоровые) и экспериментальной группе (больные), например, если:

- 25 в) в контроле с генотипом "CC" 400 человек, с генотипом "CG" - 800, с генотипом "GG" - 350, всего – 1550;
- г) в экспериментальной группе с генотипом "CC" 250 человек, с генотипом "CG" - 380, с генотипом "GG" - 200, всего – 830;

то

д) $OR_{gg} = odds(\text{заболевание | "GG"})/odds(\text{заболевание | "CC"}) = (350*250)/(400*200) = 1.1;$

е) $OR_{gc} = odds(\text{заболевание | "CG"})/odds(\text{заболевание | "CC"}) = (800*250)/(400*380) = 1.3.$

5 Как видно из примера, отношение шансов рассчитывается по отношению к какому-то одному генотипу, обычно чаще представленному в гомозиготах (в процентном соотношении) в контрольной группе. Иными словами, интерпретировать в индивидуальном плане полученные OR нельзя, т.к. требуется учет частот генотипов в популяции, что возможно сделать на основе расчета
10 отношения правдоподобий (LR).

Отношения правдоподобий для описанного выше случая рассчитывается как:

ж) $LR_{gg} = p(\text{заболевание | "GG"})/p(\text{контроль | "GG"}) = (200/830)/(350/1550) = 1.06$

з) $LR_{gc} = p(\text{заболевание | "CG"})/p(\text{контроль | "CG"}) = (380/830)/(800/1550) = 0.89$

15 и) $LR_{cc} = p(\text{заболевание | "CC"})/p(\text{контроль | "CC"}) = (250/830)/(400/1550) = 1.17$

Очевидно, что в указанном выше примере предположение о повышенной связи генотипа GG с болезнью ошибочно, т.к. не учитывает частоты генотипов в популяции. Таким образом, чаще целесообразнее использовать именно отношение правдоподобий, а не отношение шансов для определения
20 индивидуальных рекомендаций.

В случае если имеется множество анализируемых SNP, то итоговая вероятность заболевания для человека рассчитывается с помощью LR отдельных i-ых SNP как:

25 к) $P = p(\text{заболевания в популяции})/(1-p(\text{заболевания в популяции})) * LR_i * LR_{i+1} * LR_{i+2} * LR_{...}$

л) $P_{final} = P/(P+1).$

Если все-таки используются OR, то итоговая вероятность заболевания для человека рассчитывается с помощью OR отдельных i-ых SNP на усредненной популяции как:

м) $OR_{final} = OR_{ среды} * OR_i * OR_{i+1} * OR_{i+2} * OR_{...}$.

На конечной стадии анализа, для определения степени значимости риска выявленных форм диабета устанавливаются граничные значение повышения либо понижения риска для итоговых LR и OR. Например, итоговый риск считается повышенным, если наблюдается повышение риска на 10% и более ($OR >= 1.1$). Альтернативно, риск можно считать повышенным, если наблюдается повышение риска на 20% и более ($OR >= 1.2$).

Формы сахарного диабета согласно различным механизмам развития.

Полиморфизмы и гены, связанные с риском развития сахарного диабета 2-го 10 типа и различных его форм, приведены в Приложении 1.

Инсулинодефицитная форма.

При наличии полиморфизмов генов AGER, ARAP1, HHEX, HNF1A, KCNJ11, NOTCH, NUDT5, PRRC2A, SLC2A2, SLC30A8, TCF7L2, THADA, WFS1, ZMIZ1 выявляют предрасположенность к развитию «Инсулинодефицитной 15 формы сахарного диабета».

Дисфункция бета-клеток поджелудочной железы и нарушение секреции инсулина играют важную роль в патогенезе СД2. Примечательно, что существенная часть генов, полиморфизмы которых связаны с СД2, связаны именно с развитием и функционированием поджелудочной железы, 20 поддержанием и восстановлением пула бета-клеток, регуляцией биосинтеза и секреции инсулина и др. Важную роль в развитии и функционировании бета-клеток поджелудочной железы и секреции инсулина играет Wnt-бета-катениновый сигнальный путь – один из основных сигнальных путей, регулирующих процессы эмбрионального развития, дифференцировки, 25 поддержания фенотипа стволовых клеток, определения полярности клетки и миграции. Нарушение работы генов, связанных с этим сигнальным путем, является одним из факторов риска и механизмов патогенеза как сахарного диабета, так и многих других заболеваний, в частности нейродегенеративных и особенно онкологических. Кроме того, в развитии и функционировании бета- 30 клеток и биосинтезе и секреции инсулина играют важную роль другие гены, в частности, сенсоров глюкозы, ионных каналов, сигнального пути Notch и др., а

также ряд известных диабетических генов, значимо влияющих на секрецию инсулина, но непосредственная функция которых изучена не до конца.

В случае выявления преобладания риска данной формы СД2 рекомендуется проведение мероприятий, направленных на поддержание нормального 5 функционирования поджелудочной железы, биосинтеза и секреции инсулина:

1. Рекомендуется сбалансированное питание с ограничением количества простых сахаров до 5% от общей суточной калорийности или ниже, насыщенных жиров и поваренной соли. Основу рациона должны составлять овощи и фрукты, сложные углеводы (цельнозерновые крупы, хлеб, паста), которые обладают 10 низким гликемическим индексом, а также источники белка,mono- и полиненасыщенных жирных кислот.

2. При развитии СД2 и инсулинотерапии рекомендован самоконтроль или суточное мониторирование уровня сахара крови для оценки эффективности диетотерапии и индивидуального подбора оптимального рациона.

15 3. Подчеркивается особая важность отказа от алкоголя и курения.

4. Рекомендуется дополнительный приём биологически активной добавки (БАД) цинка под контролем уровня данного элемента в крови. Дозировка цинка может быть скорректирована с учетом полиморфизма rs13266634 (ген SLC30A8).

В случае обнаружения генотипа CC определяется относительно высокая 20 потребность в цинке, рекомендуется увеличение доли богатых цинком продуктов в рационе, при назначении препаратов цинка - относительно высокая профилактическая доза (до 15 мг в сутки). В случае обнаружения генотипа CT определяется умеренно сниженная потребность в цинке, рекомендуется 25 умеренная профилактическая доза (до 12-13 мг в сутки). В случае обнаружения генотипа TT определяется сниженная потребность в цинке, рекомендуется минимальная рекомендуемая профилактическая доза (8-10 мг в сутки). Итоговая дозировка должна быть определена специалистом, необходим контроль уровня цинка в крови.

30 5. При наличии клинических показаний возможно назначение инсулина.

6. Рекомендуется регулярный контроль уровня инсулина, также важно обратить внимание на индекс HOMA-B. Если у обследуемого имеются нарушения уровня инсулина и ему назначена инсулинотерапия, рекомендуется оценка усваиваемых углеводов по системе хлебных единиц (ХЕ) для коррекции дозы инсулина перед едой.

7. При гипоинсулинемии физические нагрузки рекомендуются под контролем уровня глюкозы, с осторожностью.

8. Возможно снижение эффективности препаратов сульфонилмочевины, поэтому в случае необходимости их назначения рекомендуется коррекция их дозировки или рассмотрение других классов препаратов. Целесообразность назначения и дозировка препаратов сульфонилмочевины (ПСМ) могут быть определены с учетом генетических полиморфизмов: rs5219 (ген KCNJ11), rs12255372 (ген TCF7L2). В случае обнаружения генотипа CC rs5219 эффективность ПСМ считают средней. В случае обнаружения генотипа CT rs5219 10 эффективность ПСМ считают умеренно повышенной. В случае обнаружения генотипа TT rs5219 эффективность ПСМ считают повышенной. В случае обнаружения генотипа GG rs12255372 эффективность ПСМ считают высокой. В случае обнаружения генотипа GT rs12255372 эффективность ПСМ считают умеренно сниженной. В случае обнаружения генотипа TT rs12255372 15 эффективность ПСМ считают сниженной. Прогноз вероятной эффективность ПСМ выдаётся исходя из результатов исследования обоих генетических маркеров.

Инсулинерезистентная форма.

При наличии полиморфизмов генов FTO, GCKR, IRS1, NOTCH4, PPARG, 20 PPIP5K2, SLC2A2, THADA выявляют предрасположенность к развитию «Инсулинерезистентной формы сахарного диабета». Инсулинерезистентность – это существенное снижение чувствительности клеток организма к инсулину – гормону, вырабатываемому поджелудочной железой и играющему ключевую роль в углеводном обмене и гомеостазе глюкозы. Именно развитие инсулинерезистентности в основном и в первую очередь лежит в основе патогенеза сахарного диабета 2-го типа (СД2) и является основной его причиной. Большинство метаболических эффектов инсулина опосредовано специфическим сигнальным путем посредством мембранных рецепторов (инсулина). К данному эндофенотипу отнесён ряд полиморфизмов в генах, 25 связанных с чувствительностью к инсулину и развитием инсулинерезистентности.

В случае выявления преобладания риска данной формы СД2 рекомендуется проведение мероприятий по предотвращению инсулинерезистентности:

1. Рекомендуются следующие модификации рациона: высокое потребление растительной пищи (овощей, зелени, фруктов, сложные углеводы), включение в питание источниковmono- и полиненасыщенных жирных кислот: оливкового масла как основного источника жира, умеренного количества рыбы; молочных продуктов и птицы, а также низкое употребление красного мяса. За основу могут быть взяты принципы Средиземноморской диеты, которую Американская диабетическая ассоциация и Американская кардиологическая ассоциация рекомендуют для улучшения гликемического контроля и снижения факторов риска развития сердечно-сосудистых заболеваний при сахарном диабете 2-го типа. В пищу рекомендуется добавлять корицу.
2. Актуальны стандартные мероприятия и обследования в рамках клинических рекомендаций для СД2.
3. Рекомендуется контроль массы тела, доли жировой ткани в организме, формирование у обследуемого правильного пищевого поведения, оптимизация режима питания.
4. Рекомендуется назначение БАД липоевой кислоты, инозитола, таурина, препаратов хрома.
5. Обеспечение достаточной физической активности (способствует повышению чувствительности тканей к инсулину).
6. При обследованиях рекомендуется обращать особое внимание на индекс HOMA-IR.
7. Целесообразно назначение метформина специалистом исходя из текущих клинических показателей. Дозировка препарата может быть скорректирована с учетом генетических полиморфизмов: rs8192675 (ген SLC2A2/GLUT2), rs12255372 (ген TCF7L2). При обнаружении генотипа TT rs8192675 эффективность метформина считают средней. При обнаружении генотипа TC rs8192675 эффективность метформина считают умеренно повышенной. При обнаружении генотипа CC rs8192675 эффективность метформина считают повышенной. В случае обнаружения генотипа GG rs12255372 эффективность метформина считают средней. В случае обнаружения генотипа GT rs12255372 эффективность метформина считают умеренно повышенной. В случае обнаружения генотипа TT rs12255372 эффективность метформина считают повышенной. Прогноз вероятной эффективность метформина выдаётся исходя из результатов исследования обоих генетических маркеров.

Аутоиммунная форма.

При наличии полиморфизмов генов HLA-DQA1, HLA-DQB1, HLA-DRB1, MICB, NFAT5, RASGRP1, PRRC2A выявляют предрасположенность к развитию «Аутоиммунной формы сахарного диабета». Иммунные процессы играют 5 существенную роль в патогенезе не только инсулинзависимого сахарного диабета (для которого кроме иммунной составляющей выявлен ряд ассоциированных с ним полиморфизмов именно в генах иммунного ответа), но и, как показывают последние исследования, сахарного диабета 2-го типа (СД2). Кроме того, эти процессы вносят существенный вклад в патогенез осложнений СД, в том числе 10 инсулиннезависимого. В частности, развитие аутоиммунных процессов возможно в клетках поджелудочной железы, а также в гипертрофированной жировой ткани. Также, антиген-презентация может играть существенную роль в развитии осложнений сахарного диабета, в частности диабетической нефропатии. Несмотря на то что некоторые клинические рекомендации предусматривают 15 дифференциальную диагностику СД2 и СД1 на основе маркеров HLA на уровне полногеномных ассоциаций некоторые полиморфизмы этих генов и регулирующих их участков показывают значимую ассоциацию также с СД2 и его осложнениями. Поэтому на основе некоторых из этих полиморфизмов, значимо ассоциированных с СД2, был выделен данный эндофенотип.

20 В случае выявления преобладания риска данной формы СД2 рекомендуется профилактика аутоиммунных процессов и поддержание оптимального состояния здоровья:

1. Сбалансированное питание, удовлетворяющее потребности организма в основных нутриентах, витаминах и микроэлементах. Регулярное включение в 25 рацион минимально обработанных продуктов замедляет выработку провоспалительных агентов, а достаточное количество антиоксидантов в питании может уменьшать проявления окислительного стресса.

2. Рекомендуется дополнительный приём БАД антиоксидантов, ресвератрола, куркумина.

30 3. Рекомендуется дополнительная диагностика на потенциальные аллергены и пищевые непереносимости.

4. Если дополнительная диагностика выявит наличие пищевой непереносимости, то может быть рекомендована элиминационная диета с подбором адекватных замен для исключаемых продуктов.

5. Ограничение контакта с потенциальными аллергенами в быту.
6. Ограничение стрессов, поскольку стрессы могут быть триггерами аутоиммунных процессов.
7. Своевременное выявление и лечение инфекционных заболеваний и воспалительных процессов.
8. Контроль массы тела и доли жировой ткани в организме.
9. Рекомендуется проведение исследования на антитела к глутаматдекарбоксилазе (GADA), инсулину (IAA), тирозинфосфатазе (IA-2 и IA-2 β), поверхностным антигенам (ICA), транспортеру цинка (ZnT8).
10. Иммуносупрессоры могут быть назначены специалистом при наличии симптомов исходя из текущих клинических показателей.

Отсутствие приоритетной формы сахарного диабета.

В случае, если ни для одной из выделенных форм не выявлен повышенный риск её развития, выдаются стандартные рекомендации по профилактике сахарного диабета и здоровому образу жизни, рекомендации относительно коррекции дозировок фармпрепаратов и БАД выдаются на основе выявленного генотипа.

Лучший вариант осуществления изобретения

Вариант №1 осуществления изобретения.

Для обследуемого пациента «А» был проведен генетический анализ и получены результаты, представленные в Таблице 1, где:

Аутоиммунная форма (АИ форма);

Инсулино-дефицитная форма (ИД форма);

Инсулино-резистентная форма (ИР форма).

Результаты генетического анализа пациента «А» приведены в Таблице 1.

Таблица 1.

| Тип | Ген | Полиморфизм | Результат анализа | Значение риска | Встречаемость |
|----------|----------|-------------|-------------------|----------------|---------------|
| АИ форма | HLA-DQA1 | rs1047989 | AC | 0,58% | 49,7% |
| АИ форма | HLA-DQB1 | rs1130399 | GG | 0,00% | 60,3% |
| АИ форма | HLA-DRB1 | rs35445101 | AA | 0,00% | 81,3% |
| АИ форма | MICB | rs1051788 | GG | 0,87% | 54,4% |
| АИ форма | NFAT5 | rs889398 | TT | 0,00% | 17,9% |
| АИ форма | RASGRP1 | rs12912777 | CC | 0,00% | 77,0% |

| | | | | | |
|----------|---------|------------|----|--------|-------|
| АИ форма | PRRC2A | rs1046080 | AC | 0,48% | 35,7% |
| ИД форма | AGER | rs3131300 | AA | 0,00% | 70,6% |
| ИД форма | ARAP1 | rs56200889 | GG | -0,52% | 54,4% |
| ИД форма | HHEX | rs7898054 | CC | 0,00% | 39,1% |
| ИД форма | HNF1A | rs1169288 | AA | 0,00% | 43,7% |
| ИД форма | KCNJ11 | rs5219 | CT | -0,34% | 45,7% |
| ИД форма | NOTCH4 | rs915894 | TG | -0,40% | 45,6% |
| ИД форма | NUDT5 | rs11257655 | TT | -0,69% | 5,1% |
| ИД форма | SLC2A2 | rs5400 | GG | 0,00% | 74,8% |
| ИД форма | SLC30A8 | rs13266634 | CC | 0,00% | 51,4% |
| ИД форма | TCF7L2 | rs12255372 | GG | 0,00% | 50,1% |
| ИД форма | THADA | rs7578597 | TT | 0,00% | 82,7% |
| ИД форма | WFS1 | rs734312 | GG | 0,76% | 19,1% |
| ИД форма | ZMIZ1 | rs703977 | GG | 0,72% | 19,9% |
| ИР форма | FTO | rs11642015 | CC | 0,00% | 32,2% |
| ИР форма | GCKR | rs1260326 | CC | 0,00% | 34,8% |
| ИР форма | IRS1 | rs2943656 | AA | 0,71% | 14,2% |
| ИР форма | NOTCH4 | rs915894 | TG | -0,40% | 45,6% |
| ИР форма | PPARG | rs1801282 | CC | 0,00% | 77,4% |
| ИР форма | PPIP5K2 | rs36046591 | GG | -1,35% | 1,4% |
| ИР форма | SLC2A2 | rs5400 | GG | 0,00% | 74,8% |
| ИР форма | THADA | rs7578597 | TT | 0,00% | 82,7% |

Оценка предрасположенности пациента «А» к различным формам сахарного диабета приведена в Таблице 2.

Таблица 2.

| Форма | Оценка риска | Отношение шансов |
|-----------------------------|--------------|------------------|
| Автоиммунная форма | +1,93% | 1,23 |
| Инсулино-дефицитная форма | -0,47% | 0,94 |
| Инсулино-резистентная форма | -1,04% | 0,88 |
| Общепопуляционный риск | 8,50% | |

Отношение шансов для «аутоиммунной формы» превышает пороговое 1.2. Таким образом, в качестве приоритетной формы развития СД2 у обследуемого определяется **«аутоиммунная форма»**.

Для обследуемого выдаются следующие рекомендации:

- 5 1. Сбалансированное питание, удовлетворяющее потребности организма в основных нутриентах, витаминах и микроэлементах. Регулярное включение в рацион минимально обработанных продуктов, достаточное количество антиоксидантов в питании.
- 10 2. Дополнительный приём БАД антиоксидантов, ресвератрола, куркумина.
3. Дополнительная диагностика на потенциальные аллергены и пищевые непереносимости.
- 15 4. Если дополнительная диагностика выявит наличие пищевой непереносимости, то может быть рекомендована элиминационная диета с подбором адекватных замен для исключаемых продуктов.
5. Ограничение контакта с потенциальными аллергенами в быту.
6. Ограничение стрессов, поскольку стрессы могут быть триггерами аутоиммунных процессов.
7. Своевременное выявление и лечение инфекционных заболеваний и воспалительных процессов.
- 20 8. Контроль массы тела и доли жировой ткани в организме.
9. Исследования на антитела к глутаматдекарбоксилазе (GADA), инсулину (IAA), тирозинфосфатазе (IA-2 и IA-2 β), поверхностным антигенам (ICA), транспортеру цинка (ZnT8).
10. При необходимости специалист может рассмотреть назначение иммуносупрессоров.

Фармакологическая коррекция:

- rs12255372 GG: средняя (относительно низкая) эффективность метформина, рекомендуется начальная дозировка 1500 мг с последующей коррекцией в зависимости от текущих клинических показателей;
- 30 - rs12255372 GG, rs5219 CT: повышена эффективность ПСМ, их назначение целесообразно, возможно назначение стандартных дозировок с последующей коррекцией с учетом текущих клинических показателей;
- rs13266634 CC: относительно высокая потребность в цинке, рекомендуемая профилактическая дозировка 15 мг.

Вариант №2 осуществления изобретения.

Для обследуемого пациента «Б» был проведен генетический анализ и получены результаты, которые приведены в Таблице 3.

Таблица 3

| Тип | Ген | Полиморфизм | Результат анализа | Значение риска | Встречаемость |
|----------|----------|-------------|-------------------|----------------|---------------|
| АИ форма | HLA-DQA1 | rs1047989 | AA | 0 | 0,2871 |
| АИ форма | HLA-DQB1 | rs1130399 | GG | 0,00% | 60% |
| АИ форма | HLA-DRB1 | rs35445101 | AA | 0,00% | 81% |
| АИ форма | MICB | rs1051788 | AA | 0,00% | 7% |
| АИ форма | NFAT5 | rs889398 | TT | 0,00% | 18% |
| АИ форма | RASGRP1 | rs12912777 | CC | 0,00% | 77% |
| АИ форма | PRRC2A | rs1046080 | AC | 0,48% | 36% |
| ИД форма | AGER | rs3131300 | AG | 0,40% | 27% |
| ИД форма | ARAP1 | rs56200889 | CC | 0,00% | 7% |
| ИД форма | HHEX | rs7898054 | CC | 0,00% | 39% |
| ИД форма | HNF1A | rs1169288 | CC | 0,00% | 11% |
| ИД форма | KCNJ11 | rs5219 | CC | 0,00% | 42% |
| ИД форма | NOTCH4 | rs915894 | TG | -0,40% | 46% |
| ИД форма | NUDT5 | rs11257655 | CT | -0,35% | 35% |
| ИД форма | SLC2A2 | rs5400 | GA | 0,00% | 23% |
| ИД форма | SLC30A8 | rs13266634 | CC | 0,00% | 51% |
| ИД форма | TCF7L2 | rs12255372 | TT | 2,53% | 9% |
| ИД форма | THADA | rs7578597 | TT | 0,00% | 83% |
| ИД форма | WFS1 | rs734312 | GG | 0,76% | 19% |
| ИД форма | ZMIZ1 | rs703977 | TG | 0,36% | 49% |
| ИР форма | FTO | rs11642015 | TT | 1,03% | 19% |
| ИР форма | GCKR | rs1260326 | CC | 0,00% | 35% |
| ИР форма | IRS1 | rs2943656 | GG | 0,00% | 39% |
| ИР форма | NOTCH4 | rs915894 | TG | -0,40% | 46% |
| ИР форма | PPARG | rs1801282 | CC | 0,00% | 77% |
| ИР форма | PPIP5K2 | rs36046591 | AA | 0,00% | 93% |
| ИР форма | SLC2A2 | rs5400 | GA | 0,00% | 23% |

| | | | | | |
|----------|-------|-----------|----|-------|-----|
| ИР форма | THADA | rs7578597 | ТТ | 0,00% | 83% |
|----------|-------|-----------|----|-------|-----|

Оценка предрасположенности пациента «Б» к различным формам сахарного диабета приведена в Таблице 4.

Таблица 4

| Форма | Оценка риска | Отношение шансов |
|-----------------------------|--------------|------------------|
| Автоиммунная форма | +0,5% | 1,06 |
| Инсулино-дефицитная форма | +3,3% | 1,39 |
| Инсулино-резистентная форма | +0,6% | 1,07 |
| Общепопуляционный риск | 8,5% | |

5

Отношение шансов для «инсулинодефицитной формы» превышает пороговое 1.2. Таким образом, у обследуемого выявлен риск развития **«инсулинодефицитной формы»**.

Для обследуемого выдаются следующие рекомендации:

10

1. Ограничение количества простых сахаров до 5% от общей суточной калорийности или ниже, насыщенных жиров и поваренной соли.

2. Важен отказ от алкоголя и курения.

3. При наличии клинических показаний возможно назначение инсулина.

15

4. Рекомендуется регулярный контроль уровня инсулина, также важно обратить внимание на индекс НОМА-В. Если у обследуемого имеются нарушения уровня инсулина и ему назначена инсулинотерапия, рекомендуется оценка усваиваемых углеводов по системе хлебных единиц (ХЕ) для коррекции дозы инсулина перед едой.

20

5. При развитии СД2 и инсулинотерапии рекомендован самоконтроль или суточное мониторирование уровня сахара крови для оценки эффективности диетотерапии и индивидуального подбора оптимального рациона.

6. При гипоинсулинемии физические нагрузки рекомендуются под контролем уровня глюкозы, с осторожностью.

Фармакологическая коррекция:

25

- rs12255372 ТТ: высокая эффективность метформина, рекомендуется начальная дозировка от 500 мг, коррекция в соответствии с текущими

клиническими показателями; возможно назначение метформина для повышения эффективности коррекции веса;

- rs12255372 TT, rs5219 CC: средняя эффективность ПСМ; в случае необходимости медикаментозной терапии предпочтение рекомендуется отдать 5 метформину. В случае назначения ПСМ желательна коррекция дозировки в сторону увеличения с учетом текущих клинических показателей;
- rs13266634 CC: относительно высокая потребность в цинке, рекомендуемая профилактическая дозировка 15 мг.

Вариант №3 осуществления изобретения.

10 Для обследования пациента «В» был проведен генетический анализ и получены результаты, представленные в таблице 5.

Таблица 5

| Тип | Ген | Полиморфизм | Результат анализа | Значение риска | Встречаемость |
|----------|----------|-------------|-------------------|----------------|---------------|
| АИ форма | HLA-DQA1 | rs1047989 | AA | 0,00% | 29% |
| АИ форма | HLA-DQB1 | rs1130399 | GG | 0,00% | 60% |
| АИ форма | HLA-DRB1 | rs35445101 | AA | 0,00% | 81% |
| АИ форма | MICB | rs1051788 | GG | 0,87% | 54% |
| АИ форма | NFAT5 | rs889398 | CC | -0,60% | 33% |
| АИ форма | RASGRP1 | rs12912777 | CC | 0,00% | 77% |
| АИ форма | PRRC2A | rs1046080 | AA | 0,00% | 59% |
| ИД форма | AGER | rs3131300 | AA | 0,00% | 71% |
| ИД форма | ARAP1 | rs56200889 | GG | -0,52% | 54% |
| ИД форма | HHEX | rs7898054 | TT | 0,94% | 14% |
| ИД форма | HNF1A | rs1169288 | CC | 0,00% | 11% |
| ИД форма | KCNJ11 | rs5219 | CC | 0,00% | 42% |
| ИД форма | NOTCH4 | rs915894 | TT | 0,00% | 42% |
| ИД форма | NUDT5 | rs11257655 | CC | 0,00% | 60% |
| ИД форма | SLC2A2 | rs5400 | GG | 0,00% | 75% |

| | | | | | |
|----------|---------|------------|----|-------|-----|
| ИД форма | SLC30A8 | rs13266634 | CC | 0,00% | 51% |
| ИД форма | TCF7L2 | rs12255372 | GG | 0,00% | 50% |
| ИД форма | THADA | rs7578597 | CC | 1,05% | 1% |
| ИД форма | WFS1 | rs734312 | AA | 0,00% | 32% |
| ИД форма | ZMIZ1 | rs703977 | TT | 0,00% | 31% |
| ИР форма | FTO | rs11642015 | TT | 1,03% | 19% |
| ИР форма | GCKR | rs1260326 | CT | 0,38% | 48% |
| ИР форма | IRS1 | rs2943656 | AA | 0,71% | 14% |
| ИР форма | NOTCH4 | rs915894 | TT | 0,00% | 42% |
| ИР форма | PPARG | rs1801282 | CC | 0,00% | 77% |
| ИР форма | PPIP5K2 | rs36046591 | AA | 0,00% | 93% |
| ИР форма | SLC2A2 | rs5400 | GG | 0,00% | 75% |
| ИР форма | THADA | rs7578597 | CC | 1,05% | 1% |

Оценка предрасположенности пациента «В» к различным формам сахарного диабета приведена в Таблице 6.

Таблица 6

| Форма | Оценка риска | Отношение шансов |
|-----------------------------|--------------|------------------|
| Автоиммунная форма | +0,3% | 1,03 |
| Инсулино-дефицитная форма | +1,5% | 1,17 |
| Инсулино-резистентная форма | +3,2% | 1,37 |
| Общепопуляционный риск | +8,5% | |

5

Отношение шансов для «инсулинерезистентной формы» превышает пороговое 1.2. Таким образом, в качестве приоритетной формы развития СД2 у обследуемого определяется **«инсулинерезистентная форма»**.

Для обследуемого выдаются следующие рекомендации:

- 10 1. Высокое потребление растительной пищи (овощей, зелени, фруктов, сложные углеводы), включение в питание источников моно- и

полиненасыщенных жирных кислот: оливкового масла как основного источника жира, умеренного количества рыбы; молочных продуктов и птицы, а также низкое употребление красного мяса. За основу могут быть взяты принципы Средиземноморской диеты. Полезно добавлять корицу.

- 5 2. Назначение БАД липоевой кислоты, инозитола, таурина, препаратов хрома.
3. Стандартные рекомендации по профилактике СД2 и соответствующим обследованиям.
4. Контроль массы тела, доли жировой ткани в организме, формирование у 10 обследуемого правильного пищевого поведения, оптимизация режима питания.
5. Обеспечение достаточной физической активности.
6. При обследованиях рекомендуется обращать особое внимание на индекс HOMA-IR.
7. При необходимости фармакотерапии целесообразно назначение 15 метформина.

Фармакологическая коррекция:

- rs12255372 GG: средняя (относительно низкая) эффективность метформина, рекомендуется начальная дозировка 1500 мг с последующей коррекцией в зависимости от текущих клинических показателей;

20 - rs12255372 GG, rs5219 CC: высокая эффективность ПСМ, их назначение целесообразно, рекомендуется назначение дозировок от минимальной до стандартной в зависимости от текущих клинических показателей;

- rs13266634 CC: относительно высокая потребность в цинке, рекомендуемая профилактическая дозировка 15 мг.

25 **Вариант №4 осуществления изобретения.**

Для обследования пациента «Г» был проведен генетический анализ и получены результаты, представленные в таблице 7.

Таблица 7

| Тип | Ген | Полиморфизм | Результат анализа | Значение риска | Встречаемость |
|----------|----------|-------------|-------------------|----------------|---------------|
| АИ форма | HLA-DQA1 | rs1047989 | AA | 0,00% | 29% |
| АИ форма | HLA-DQB1 | rs1130399 | GG | 0,00% | 60% |

| | | | | | |
|----------|----------|------------|----|--------|-----|
| АИ форма | HLA-DRB1 | rs35445101 | AA | 0,00% | 81% |
| АИ форма | MICB | rs1051788 | AA | 0,00% | 7% |
| АИ форма | NFAT5 | rs889398 | CC | -0,60% | 33% |
| АИ форма | RASGRP1 | rs12912777 | CC | 0,00% | 77% |
| АИ форма | PRRC2A | rs1046080 | AC | 0,48% | 36% |
| ИД форма | AGER | rs3131300 | AA | 0,00% | 71% |
| ИД форма | ARAP1 | rs56200889 | CC | 0,00% | 7% |
| ИД форма | HHEX | rs7898054 | CC | 0,00% | 39% |
| ИД форма | HNF1A | rs1169288 | CC | 0,00% | 11% |
| ИД форма | KCNJ11 | rs5219 | CT | -0,34% | 46% |
| ИД форма | NOTCH4 | rs915894 | GG | -0,81% | 12% |
| ИД форма | NUDT5 | rs11257655 | CC | 0,00% | 60% |
| ИД форма | SLC2A2 | rs5400 | GG | 0,00% | 75% |
| ИД форма | SLC30A8 | rs13266634 | CC | 0,00% | 51% |
| ИД форма | TCF7L2 | rs12255372 | GG | 0,00% | 50% |
| ИД форма | THADA | rs7578597 | TT | 0,00% | 83% |
| ИД форма | WFS1 | rs734312 | AG | 0,38% | 49% |
| ИД форма | ZMIZ1 | rs703977 | TT | 0,00% | 31% |
| ИР форма | FTO | rs11642015 | CC | 0,00% | 32% |
| ИР форма | GCKR | rs1260326 | CC | 0,00% | 35% |
| ИР форма | IRS1 | rs2943656 | AA | 0,71% | 14% |
| ИР форма | NOTCH4 | rs915894 | GG | -0,81% | 12% |
| ИР форма | PPARG | rs1801282 | CC | 0,00% | 77% |
| ИР форма | PPIP5K2 | rs36046591 | AA | 0,00% | 93% |
| ИР форма | SLC2A2 | rs5400 | GG | 0,00% | 75% |
| ИР форма | THADA | rs7578597 | TT | 0,00% | 83% |

Оценка предрасположенности пациента «Г» к различным формам сахарного диабета приведена в Таблице 8.

Таблица 8

| Форма | Оценка риска | Отношение шансов |
|-----------------------------|--------------|------------------|
| Автоиммунная форма | -0,12% | 0,99 |
| Инсулино-дефицитная форма | -0,77% | 0,91 |
| Инсулино-резистентная форма | -0,10% | 0,99 |
| Общепопуляционный риск | 8,50% | |

5 Таким образом, обнаружено отсутствие приоритетной формы сахарного диабета, т.к. ни одна из возможных форм СД2 не достигает порогового значения риска.

Для обследуемого выдаются следующие рекомендации:

- 10 1. Рекомендуется придерживаться принципов сбалансированного здорового питания, контролировать количество белков, жиров и углеводов и потребляемых калорий, существенно не превышать допустимые нормы.
2. Рекомендуется включать в ежедневный рацион достаточное количество овощей и фруктов.
- 15 3. Рекомендуется отказ от курения или по крайней мере сокращение количества выкуриваемых в день сигарет.
4. Рекомендуется поддерживать нормальную массу тела, не допуская её увеличения или излишнего снижения.
5. В случае наличия избыточной массы тела рекомендуется ее снижение, при необходимости возможна медикаментозная коррекция.
- 20 6. Рекомендуется поддерживать достаточный уровень физической активности.
7. Полезен контроль артериального давления, возможна профилактика артериальной гипертензии: контроль потребления соли, потребление умеренного, но достаточного количества воды, при необходимости - медикаментозная коррекция.

25 Фармакологическая коррекция:

- rs12255372 GG: средняя (относительно низкая) эффективность метформина, рекомендуется начальная дозировка 1500 мг с последующей коррекцией в зависимости от текущих клинических показателей;
- rs12255372 GG, rs5219 CT: повышена эффективность ПСМ, их назначение целесообразно, возможно назначение стандартных дозировок с последующей коррекцией с учетом текущих клинических показателей;
- rs13266634 CC: относительно высокая потребность в цинке, рекомендуемая профилактическая дозировка 15 мг.

Список цитируемых источников

1. Ahlgqvist, E. et al. (2018) Novel subgroups of adult-onset diabetes and their association with outcomes: a data-driven cluster analysis of six variables. *The lancet Diabetes & endocrinology.* 6(5). 361-369.
- 5 2. Ahlgqvist, E., Prasad, R.B., Groop, L. (2020) Subtypes of Type 2 Diabetes Determined From Clinical Parameters. *Diabetes.* 69(10), 2086-2093.
3. Aly, D.M., Dwivedi, O.P., Prasad, R.B. et al. (2020). Aetiological differences between novel subtypes of diabetes derived from genetic associations. medRxiv; DOI: 10.1101/2020.09.29.20203935.
- 10 4. Boyle, E.A., Li, Y.I., Pritchard, J.K. An Expanded View of Complex Traits: From Polygenic to Omnigenic. (2017). *Cell,* 169(7), 1177–1186. doi:10.1016/j.cell.2017.05.038
5. Canelas-Xandri O, R. K. (2018). An atlas of genetic associations in UK Biobank. *Nat Genet,* 1593-1599. <http://geneatlas.roslin.ed.ac.uk/>
- 15 6. Galicia-Garcia, U., Benito-Vicente, A., Jebari, S., Larrea-Sebal, A., Siddiqi, H., Uribe, K. B., . . . Martin, C. (2020). Pathophysiology of Type 2 Diabetes Mellitus. [Review]. *International Journal of Molecular Sciences,* 21(17). doi: 10.3390/ijms21176275
7. IDF Allas (2019), 9th edition.
- 20 8. Liu, X., Li, Y.I., Pritchard, J.K. (2019) Trans Effects on Gene Expression Can Drive Omnigenic Inheritance. *Cell.* 177(4), 1022–1034.e6. doi:10.1016/j.cell.2019.04.014
9. Marigorta, U.M., Rodríguez, J.A., Gibson, G., Navarro A. (2018). Replicability and Prediction: Lessons and Challenges from GWAS. *Trends Genet.* 34(7), 504–517. doi:10.1016/j.tig.2018.03.005
- 25 10. Meigs, J.B., Cupples, L.A., Wilson, P.W. (2000). Parental transmission of type 2 diabetes: the Framingham Offspring Study. *Diabetes,* 12, 2201-2207. doi: 10.2337/diabetes.49.12.2201.
11. Michailidou K. (2018). Meta-Analysis of Common and Rare Variants. *Methods Mol Biol.* 1793, 73–88. doi:10.1007/978-1-4939-7868-7_6

12. O'Connor, L.J., Schoech, A.P., Hormozdiari, F., Gazal, S., Patterson, N., Price, A.L. (2019). Extreme Polygenicity of Complex Traits Is Explained by Negative Selection. *Am J Hum Genet*, 105(3), 456–476. doi:10.1016/j.ajhg.2019.07.00
13. Peixoto-Barbosa, R., Reis, A. F., & Giuffrida, F. M. A. (2020). Update on clinical screening of maturity-onset diabetes of the young (MODY). *Diabetology & Metabolic Syndrome*, 12(1). doi: Artn 50 10.1186/S13098-020-00557-9
14. Tabák, A. G. et al. (2012). Prediabetes: a high-risk state for diabetes development. *The Lancet*, 379(9833), 2279-2290.
15. Tam, V., Pate, I N., Turcotte, M., Bossé, Y., Paré, G., Meyre, D. (2019). Benefits and limitations of genome-wide association studies. *Nat Rev Genet*, 20(8), 467–484. doi:10.1038/s41576-019-0127-1
16. Willemsen, G., Ward, K.J., Bell, C.G., Christensen, K., Bowden, J., Dalgård, C., Harris, J.R., Kaprio, J., Lyle, R., Magnusson, P.K., Mather, K.A., Ordoñana, J.R., Perez-Riquelme, F., Pedersen, N.L., Pietiläinen, K.H., Sachdev, P.S., Boomsma, D.I., Spector, T. (2015). The Concordance and Heritability of Type 2 Diabetes in 34,166 Twin Pairs From International Twin Registers: The Discordant Twin (DISCOTWIN) Consortium. *Twin Res Hum Genet*, 18(6), 762-71. doi: 10.1017/thg.2015.83. PMID: 26678054.
17. Xue, A., Wu, Y., Zhu, Z., et al. (2018). Genome-wide association analyses identify 143 risk variants and putative regulatory mechanisms for type 2 diabetes. *Nat Commun*, 9(1), 2941. doi:10.1038/s41467-018-04951-w
18. WO2008065682, кл. C12Q 1/68, 2008г.
19. WO2011004405, кл. C12Q 1/68, 2011г.
20. RU2688208, кл. G01N 33/48, 2019г.
21. RU2655635, кл. G01N 33/582, 2018г.
22. WO2007128884, кл. C12Q 1/68, 2007г.
23. JP2015007985, кл. C12Q 1/68, 2015г.
24. WO2010030929, кл. G06F19/00, 2010г.

Формула изобретения

Способ оценки предрасположенности к различным формам сахарного диабета 2 типа с выдачей персонализированных рекомендаций по его профилактике и терапии, включающий проведение генетического анализа и на его основании определение разновидности диабета 2 типа, **отличающейся тем, что** на основании анализа генов HLA-DQA1, HLA-DQB1, HLA-DRB1, MICB, NFAT5, RASGRP1, PRRC2A оценивают предрасположенность к развитию «Аутоиммунной формы сахарного диабета», на основании анализа генов AGER, ARAP1, HHEX, HNF1A, KCNJ11, NOTCH, NUDT5, SLC2A2, SLC30A8, TCF7L2, THADA, WFS1, ZMIZ1 оценивают вероятность развития «Инсулино-дефицитной формы сахарного диабета», а на основании анализа генов FTO, GCKR, IRS1, NOTCH4, PPARG, PPIP5K2, SLC2A2, THADA оценивают предрасположенность к развитию «Инсулино-резистентной форме сахарного диабета», для чего, вычисляют суммарный вклад выявленных полиморфизмов генов, ассоциированных с каждой из выделенных форм сахарного диабета, и устанавливают пороговое значение относительного риска, превышение которого считают значимым повышением риска развития выделенной формы сахарного диабета, а уже после выявления риска развития одной из форм сахарного диабета, дают персонализированные рекомендации по его профилактике и терапии.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/RU 2021/000118

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

C12Q 1/6876 (2018.01) G01N 33/48 (2006.01)

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

C12Q, G01N

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

Espacenet, USPTO DB, CIPO(Canada PO), SIPO DB, KIPRIS, EAPATIS, RUPTO, Google, PatSearch

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category* | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. |
|-----------|---|-----------------------|
| A | RU 2685713 C2 (SFINGOTEK GMBKH) 23.04.2019, abstract, p.3 lines 7-15, p.6 lines 3-11, the claims, fig.1, example 3 | 1 |
| A | CN 101631876 A (DECODE GENETICS EHF) 20.01.2010, the claims | 1 |
| A | AHLQVIST E. et al. Novel subgroups of adult-onset diabetes and their association with outcomes: a data-driven cluster analysis of six variables. Lancet Diabetes Endocrinol. 2018; 6(5): 361-369 p.3 fig.1, p.7 | 1 |
| A | WO 2008/065682 A2 (DECODE GENETICS EHF et al.), 05.06.2008, the claims | 1 |

Further documents are listed in the continuation of Box C.

See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

29 November 2021 (29.11.2021)

Date of mailing of the international search report

09 December 2021 (09.12.2021)

Name and mailing address of the ISA/ RU

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

ОТЧЕТ О МЕЖДУНАРОДНОМ ПОИСКЕ

Номер международной заявки

PCT/RU 2021/000118

A. КЛАССИФИКАЦИЯ ПРЕДМЕТА ИЗОБРЕТЕНИЯ

C12Q 1/6876 (2018.01)
G01N 33/48 (2006.01)

Согласно Международной патентной классификации МПК

B. ОБЛАСТЬ ПОИСКА

Проверенный минимум документации (система классификации с индексами классификации)

C12Q, G01N

Другая проверенная документация в той мере, в какой она включена в поисковые подборки

Электронная база данных, использовавшаяся при поиске (название базы и, если, возможно, используемые поисковые термины)

Espacenet, USPTO DB, CIPO(Canada PO), SIPO DB, KIPRIS, EAPATIS, RUPTO, Google, PatSearch

C. ДОКУМЕНТЫ, СЧИТАЮЩИЕСЯ РЕЛЕВАНТНЫМИ:

| Категория* | Цитируемые документы с указанием, где это возможно, релевантных частей | Относится к пункту № |
|------------|---|----------------------|
| A | RU 2685713 C2 (SFINGOTEK GMBKH) 23.04.2019, реферат, с.3 строки 7-15, с.6 строки 3-11, формула изобретения, фиг.1, пример 3 | 1 |
| A | CN 101631876 A (DECODE GENETICS EHF) 20.01.2010, формула | 1 |
| A | AHLQVIST E. et al. Novel subgroups of adult-onset diabetes and their association with outcomes: a data-driven cluster analysis of six variables. Lancet Diabetes Endocrinol. 2018; 6(5): 361-369 с.3 фиг.1, с.7 | 1 |
| A | WO 2008/065682 A2 (DECODE GENETICS EHF et al.), 05.06.2008, формула | 1 |



последующие документы указаны в продолжении графы С.



данные о патентах-аналогах указаны в приложении

| | |
|--|---|
| * Особые категории ссылочных документов: | |
| “A” документ, определяющий общий уровень техники и не считающийся особо релевантным | “T” более поздний документ, опубликованный после даты международной подачи или приоритета, но приведенный для понимания принципа или теории, на которых основывается изобретение |
| “D” документ, цитируемый заявителем в международной заявке | “X” документ, имеющий наиболее близкое отношение к предмету поиска; заявленное изобретение не обладает новизной или изобретательским уровнем, в сравнении с документом, взятым в отдельности |
| “E” более ранняя заявка или патент, но опубликованная на дату международной подачи или после нее | “Y” документ, имеющий наиболее близкое отношение к предмету поиска; заявленное изобретение не обладает изобретательским уровнем, когда документ взят в сочетании с одним или несколькими документами той же категории, такая комбинация документов очевидна для специалиста |
| “L” документ, подвергающий сомнению притязание(я) на приоритет, или который приводится с целью установления даты публикации другого ссылочного документа, а также в других целях (как указано) | “&” документ, являющийся патентом-аналогом |
| “O” документ, относящийся к устному раскрытию, использованию, экспонированию и т.д. | |
| “P” документ, опубликованный до даты международной подачи, но после даты исправляемого приоритета | |

| | |
|---|--|
| Дата действительного завершения международного поиска 29 ноября 2021 (29.11.2021) | Дата отправки настоящего отчета о международном поиске 09 декабря 2021 (09.12.2021) |
| Наименование и адрес ISA/RU: Федеральный институт промышленной собственности, Бережковская наб., 30-1, Москва, Г-59, ГСП-3, Россия, 125993 Факс: (8-495) 531-63-18, (8-499) 243-33-37 | Уполномоченное лицо: Титова Е.С. Телефон № (8-499) 240-25-91 |