

УДК 575:599.9

# Геномика на пути к предиктивной медицине

В.С. Баранов

НИИ акушерства и гинекологии им. Д.О. Отта СЗО РАМН, 199034, Санкт-Петербург,

Менделеевская линия, 3

E-mail: baranov@vb2475.spb.edu

**РЕФЕРАТ** Рассмотрены основные достижения геномики в диагностике и профилактике болезней человека. Для моногенных болезней эти проблемы в значительной степени уже решены. Основное внимание геномики сегодня направлено на выяснение роли наследственных факторов в этиологии частых мультифакторных заболеваний (МФЗ). Патогенетическую основу МФЗ составляет представление о функциональных генетических модулях – ФГМ. Идентификация генов ФГМ, ассоциированных с МФЗ, позволяет подойти к выявлению лиц с наследственной предрасположенностью к болезни и начать ее профилактику, что и составляет основную задачу предиктивной медицины. Рассматривается концепция «генетического паспорта», ее современное состояние, сложности практического внедрения, связанные с достоверностью результатов генетического тестирования (ГТ), выявлением генов-кандидатов ФГМ и адекватной интерпретацией полученных результатов. Успешному решению этих проблем способствуют новые методы ДНК-анализа (GWAS genome wide association studies – полногеномный скрининг ассоциаций, высокоэффективные методы ДНК-секвенирования). Главная задача современной геномики – оценить значение результатов ГТ для клиники, определить условия их внедрения в практическую медицину. Возможные пути решения данной проблемы в РФ включают: сопоставление имеющихся результатов ГТ МФЗ отечественных популяций с мировыми данными их полногеномного скрининга (1); создание репрезентативных (не менее 1000 образцов) ДНК-банков – на каждое МФЗ (2); тестирование на отечественных коллекциях ДНК новых генов-кандидатов (3); создание центров по внедрению полногеномного скрининга GWAS (4).

**Ключевые слова:** геномика, генетическое тестирование, мультифакторные болезни, генетический паспорт, общегеномный скрининг ассоциаций.

**Список сокращений:** ГП – генетический полиморфизм, ФГМ – функциональный генетический модуль; ГТ – генетическое тестирование, генетические тесты; МФЗ – мультифакторные заболевания; GWAS – genome wide association studies – полногеномный скрининг ассоциаций; SNP – single nucleotide polymorphism – однонуклеотидные полиморфизм – снп; ПС – полиморфные сайты; STR – short tandem Repeats – короткие tandemные повторы; HarMap – гаплоидный геном; VNTR – Variable Number Tandem Repeats – варьирующее число tandemных повторов; CNV – copy number variation – варьирование числа копий

## ВВЕДЕНИЕ

Револьюционные достижения генетики человека, связанные с расшифровкой его генома, успешным завершением программы HarMap (гаплоидный геном), бурным развитием биоинформатики и нанотехнологии, успехи в создании высокоэффективных методов анализа генома, знаменуют начало новой эры – эры геномики, а наступивший XXI век позволяют назвать веком генетики [1, 2]. Впечатляющие итоги сравнительной и функциональной геномики способствовали ее широкому внедрению в медицину, привели к появлению и быстрому развитию медицинской геномики, в которой проблемы классической медицины: диагностика, профилактика и лечение решаются на уровне нуклеиновых кислот и продуктов их экспрессии – РНК и белков [3, 4, 5]. Профилактическим направлением молекулярной медицины стала предиктивная (предсказательная) медицина (ПМ), основные особенности которой – индивидуальный характер (геном каждого человека индивидуален) и профилактическая направленность (анализ генома возможен на любой стадии онтогенеза, задолго до начала заболевания). Основные положения предиктивной медицины и генетического тестирования (ГТ) как методической основы ПМ, а также концепция «генетического паспорта» были сформулированы нами еще в 2000 г. [5, 6, 37].

## 1. ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНОВ КАК ОСНОВА ПМ

Геномы всех людей, за исключением однойцовых близнецов, различны. Выраженные популяционные, этнические и, главное, индивидуальные особенности геномов как в их транскрибируемой части (экзоны), так и в их некодирующих последовательностях (межгенные промежутки, интроны), обусловлены мутациями, приводящими к генетическому полиморфизму (ГП). Последний обычно определяют как менделевский признак, встречающийся в популяции, по крайней мере, в двух вариантах с частотой не менее 1 % для каждого [10]. ГП может быть количественным либо качественным.

Количественный ГП представлен факультативными элементами, на долю которых приходится до 50 % всего генома. Это микро- и минисателлитная ДНК, а также образующая tandemные повторы (STR – Short Tandem Repeats), ретротранспозоны, повторы большей протяженности с варибельной по нуклеотидному составу коровой последовательностью – VNTR (Variable Number Tandem Repeats). Наконец, в последние годы, благодаря новым методам ДНК-анализа (сравнительные геномные вариации – CNV – Copy Number Variation) и полногеномному скринингу ассоциаций – GWAS – Genome Wide Association Studies), в геноме человека показано наличие полиморфиз-

ма по большим фрагментам ДНК (1–50 МгБ), т.н. варьирующее число копий (Copy Number Variation – CNV).

Качественный ГП представлен преимущественно однонуклеотидными заменами (ОНЗ) – single nucleotide polymorphism (SNP). Это самый частый ГП – встречается примерно через каждые 300–400 п.о. Соответственно, общее число SNP во всем геноме человека оценивается величиной порядка  $10–13 \cdot 10^6$ . Геномы разных людей по этому ГП обнаруживают удивительное сходство (99.9 %). Стабильные сочетания нескольких соседних аллелей – SNP на одной нити ДНК (гаплотип) позволили использовать их как специфические молекулярные маркеры в программе НарМар (Гаплоидная карта) (см. ниже).

Предполагается, что около половины всех SNP (5 млн) приходится на смысловую (экспрессирующуюся) часть генома. Именно эти замены нередко представляют собой аллельные варианты генов, вызывающих или ассоциированных с различными заболеваниями. Им принадлежит основная роль в ГП человека [5, 7, 8, 9].

На сегодняшний день хорошо известно, что полиморфизм характерен практически для всех генов человека. Установлено, что он имеет выраженную этническую и популяционную специфику. Полиморфизмы, затрагивающие кодирующие части генов, нередко приводят к замене аминокислот и к появлению белков с новыми функциональными свойствами. Существенное влияние на экспрессионную активность генов могут оказывать замены или повторы нуклеотидов в регуляторных (промоторных) областях генов. Наследуемые изменения генов играют решающую роль в определении уникального биохимического профиля каждого человека, в его наследственной предрасположенности к различным МФЗ.

## 2. ПРОГРАММА «ГАПЛОИДНАЯ КАРТА (НАРМАР)»

Решающая роль в изучении ГП принадлежит международному проекту по изучению гаплоидного генома человека – Гаплоидная карта (НарМар).

Цель проекта – получить генетическую карту распределения однонуклеотидных замен (SNP) в гаплоидном наборе всех 23 хромосом человека [11]. Суть проекта состояла в том, что при анализе распределения уже известных SNP у индивидуумов нескольких поколений соседние или близко расположенные в ДНК одной хромосомы SNP наследуются блоками. Такой блок SNP представляет собой гаплотип – набор аллелей, расположенных на одной хромосоме (отсюда и название проекта НарМар). При этом каждый из картированных SNP выступает как самостоятельный молекулярный маркер. По сцеплению таких SNP-маркеров с исследованным признаком (болезнью, симптомом) определяются наиболее вероятные места локализации генов-кандидатов, мутации (полиморфизмы) которых ассоциированы с тем или иным МФЗ. Обычно для картирования выбирают 5 или 6 SNP, тесно сцепленных с уже известным менделирующим признаком. Хорошо охарактеризованные ОНЗ с частотой редких аллелей не менее 5 % получили название маркерных SNP (tagSNP). Предполагается, что, в конечном счете, из примерно 10 миллионов SNP, присутствующих в геноме каждого человека, в процессе выполнения проекта будут отобраны только около 500 000 tagSNP. Но и этого числа вполне достаточно, чтобы перекрыть кар-

той ОНЗ весь геном человека с целью картирования и идентификации новых генов, а также поиска генов-кандидатов, ассоциированных (сцепленных) с различными МФЗ [12].

Благодаря НарМар, которая включает SNP не только уже известных генов, но и SNP еще не идентифицированных генов, ученые получили в руки мощный универсальный навигатор, необходимый для углубленного анализа генома каждого индивидуума, для быстрого и эффективного картирования генов, аллельные варианты которых располагают к различным МФЗ (см. ниже).

Как говорит Фрэнсис Коллинс, директор Национального Института по изучению генома человека (США): «Уже при обсуждении программы «Геном человека» 20 лет назад я мечтал о времени, когда геномный подход станет инструментом для диагностики, лечения и предупреждения тяжелых распространенных болезней, которыми страдают больные, переполняющие наши клиники и кабинеты врачей. Успехи НарМар-проекта позволяют сделать серьезный шаг навстречу этой мечте уже сегодня».

## 3. ГЕНЫ И БОЛЕЗНИ ЧЕЛОВЕКА

Согласно исследованиям заболеваемости у близнецовых пар и данным медицинской генетики только около 1.5 % болезней человека напрямую связаны с мутациями. Это т.н. наследственные болезни. Точность молекулярной диагностики наследственных болезней очень высока и приближается к 100 %.

Все остальные болезни, в т.ч. и такие частые, как сердечно-сосудистые, онкологические, психические и даже инфекционные, являются результатом сочетанного эффекта неблагоприятных внешних факторов и индивидуальных особенностей генома, каким-то образом предрасполагающих конкретного человека к заболеванию. Отсюда и их название – мультифакторные (сочетанные или комплексные) заболевания (МФЗ).

Благодаря расшифровке генома человека, разработке удобных методов картирования новых генов (общее число генов у человека оценивается величиной около 22 000), а также методов идентификации мутаций, проблему диагностики многочисленных и в первую очередь самых частых моногенных наследственных болезней человека (муковисцидоз, гемофилия, миодистрофия Дюшенна/Бэйкера, спинальная мышечная атрофия, иммунодефициты и мн. др.) можно считать решенной [13, 14, 15]. Значительно сложнее обстоит дело с идентификацией генов, вовлеченных в генез МФЗ, т.н. генов «предрасположенности». Согласно существующему определению, «*гены предрасположенности* – это мутантные гены (аллели), которые совместимы с рождением и жизнью, но при определенных неблагоприятных условиях способствуют развитию того или иного МФЗ [14].

В зависимости от участия в метаболических цепях и ассоциации с МФЗ гены предрасположенности условно подразделяют на несколько групп, среди которых выделяют гены системы детоксикации («внешней среды»), гены «метаболические шунты» (гены-триггеры), гены клеточных рецепторов, гены воспаления и иммунной защиты, гены, ассоциированные с конкретными МФЗ [Баранов, 2000, Баранов и др., 2000]. Неблагоприятные аллельные варианты этих генов могут быть причиной атеросклероза, ишемиче-

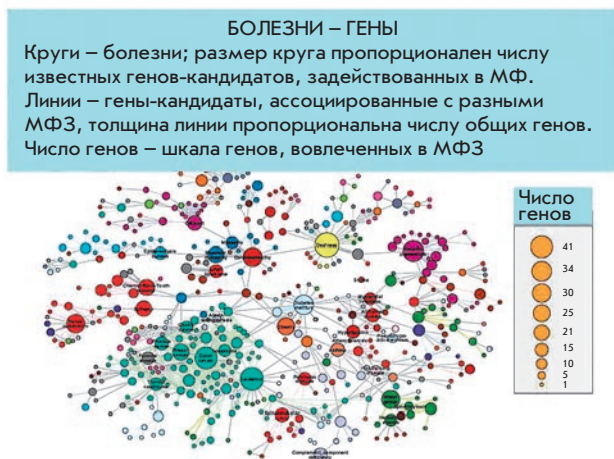


Рис. 1. Генные сети некоторых частых мультифакторных (сочетанных) заболеваний

ской болезни сердца (ИБС), остеопороза, диабета, бронхиальной астмы, опухолей и пр. Сочетания аллельных вариантов различных генов, обеспечивающих метаболические процессы в норме или вовлеченных в развитие конкретной мультифакториальной патологии, получили название «*генных сетей*» [16]. В каждой из таких сетей выделяют главные (центральные) гены и дополнительные (вспомогательные) гены, т.н. гены-модификаторы. Дальнейшее развитие концепция генных сетей получила в исследованиях функциональных генетических модулей МФЗ. С этой целью в серии исследований были сопоставлены различные МФЗ и гены, продукты которых участвуют в этиологии и патогенезе этих болезней [17, 18, 19]. Была сформирована сеть МФБ и генов, общих для этих заболеваний, – human disease network – HDN (рис. 1) и, наоборот, генов, вовлеченных в различные болезни, – disease genetic network – DGN (рис. 2). Совмещение HDN- и DGN-карт позволило создать карту т.н. *дизизасом* – отражающую топологию метаболических сетей и генетики МФЗ (рис. 3). В результате масштабного исследования 1264 МФЗ и ассоциированных с ними 1777 генов [17] было установлено: 1) для каждого МФЗ характерен свой специфический набор генов – генная сеть или т.н. функциональный генетический модуль (ФГМ), в нем различают центральные и периферические гены; 2) большинство МФЗ связаны между собой многими разными генами; 3) 516 МФЗ обнаруживали массу генных связей, т.е. были ассоциированы со многими генами (глухота – 41 ген, лейкемия – 37, рак толстого кишечника – 34); 4) мутации различных генов могут приводить к одинаковым МФЗ, мутации (полиморфизмы) одного гена могут быть ассоциированными с разными МФЗ; 5) мутации центральных (эссенциальных) генов ФГМ чаще ассоциированы с опухолями и являются причиной ранней гибели; 6) мутации (полиморфизмы) периферических генов ФГМ играют основную роль в фенотипической изменчивости и развитии МФЗ; 7) наличие перекрывающихся ФГМ МФЗ доказывает патогенетическую близость разных МФЗ и свидетельствует в пользу представлений о «синтропии» – сочетании



Рис. 2. Функциональные генетические модули разных МФЗ

патогенетически родственных «семейных» МФЗ; 8) гены, входящие в состав ФГМ, по сути являются «синтропными» генами [20], которые функционально близки, но не всегда идентичны генам «предрасположенности». Совпадение многих МФЗ по большому числу ассоциированных генов наглядно продемонстрировано при сравнении генов-кандидатов, ассоциированных с различными аутоиммунными заболеваниями (рис. 4).

Около трети выявленных локусов ассоциированы с двумя, тремя и более заболеваниями. Наличие более 5% общих генов-кандидатов, ассоциированных с целиакией, болезнью Крона, рассеянным склерозом, псориазом, ревматоидным артритом, системной красной волчанкой, сахарным диабетом I типа, неспецифическим язвенным колитом, доказывает патогенетическое сходство этих аутоиммунных заболеваний [21, 22] и позволяет их рассматривать как единую группу синтропных болезней.

Выявление ФГМ каждого МФЗ, идентификация в ней центральных генов и генов-модификаторов, анализ ассоциации их аллелей с заболеванием, разработка на этой основе комплекса профилактических мероприятий для лиц из групп высокого риска, а впоследствии и для конкретного пациента является основной задачей предиктивной (предсказательной) медицины [5].

#### 4. СТРАТЕГИЯ ПОИСКА ГЕНОВ «ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТИ»

В течение последних десятилетий поиск генов-кандидатов осуществлялся двумя способами – анализом ассоциаций и анализом сцепления.

Основной *методом ассоциаций* является неравновесие по сцеплению между мутацией и близко расположенным тестируемым маркером [23]. Метод включает несколько этапов: 1) *выбор наиболее вероятных генов-кандидатов* на основании уже имеющихся данных по этиологии и патогенезу конкретного заболевания, 2) *подбор функционально значимых аллелей соответствующих генов*, 3) *исходно из данных литературы и Интернета, популяционный анализ частот аллелей и генотипов соответствующих генов*,



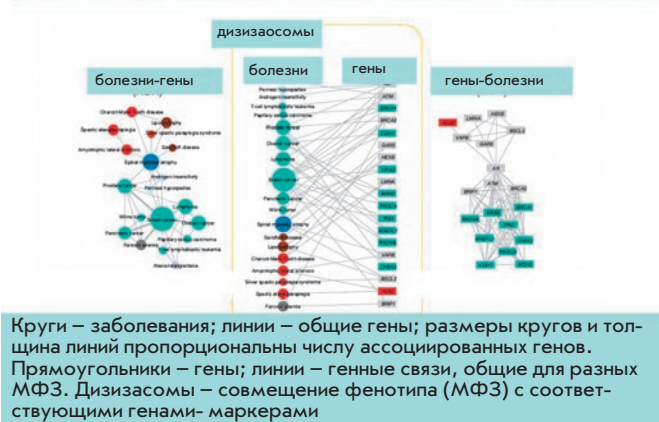


Рис. 3. Топология метаболических сетей и генетика сочетанных заболеваний

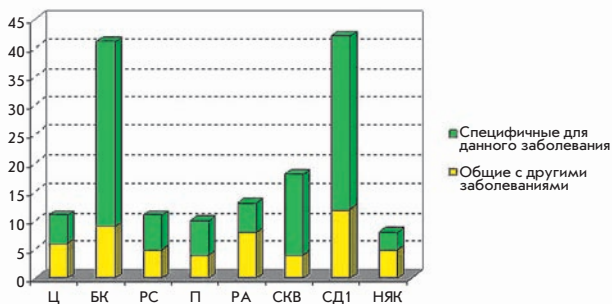


Рис. 4. Число локусов, общих для аутоиммунных заболеваний, и локусов, специфичных для конкретного заболевания. Условные обозначения: Ц – целиакия, БК – болезнь Крона, РС – рассеянный склероз, П – псориаз, РА – ревматоидный артрит, СКВ – системная красная волчанка, СД1 – сахарный диабет I типа, НЯК – неспецифический язвенный колит

4) сравнительный анализ аллельных частот и генотипов этих генов у больных с клинически верифицированным диагнозом и у здоровых лиц той же популяции, подобранных по типу «опыт-контроль».

Исследования проводятся на репрезентативных выборках пациентов и доноров (не менее 100 человек в каждой группе).

Естественно, что такой путь, будучи весьма длительным, трудоемким и дорогостоящим, в то же время никак не гарантирует, что выявленные аллельные различия являются главными в цепи патогенетических механизмов данного заболевания. Он не исключает, что какие-то важные гены и полиморфизмы той же или даже, скорее, другой генной сети, задействованной в заболевании, были пропущены, и что клинически разные формы исследуемой болезни могут иметь разный паттерн генов-кандидатов.

Альтернативная стратегия поиска генов предрасполо-

женности (анализ сцепления) основывается исключительно на позициональном клонировании локуса и не требует наличия предварительной гипотезы о патофизиологии болезни. Первоначально доступным и широко распространенным методом анализа ассоциаций являлся *полногеномный анализ сцепления* – ПГАС (genome-wide linkage study). Метод ПГАС применяется в семьях с несколькими больными сибсами или в расширенных родословных. Он направлен на обнаружение у пациентов блока молекулярных маркеров, которые передаются от родителей больным потомкам, но не передаются здоровым. Метод позволяет локализовать ген на участке 1–10Мб. Такие протяженные участки хромосом, как правило, включают сотни генов, и поиск причинного гена в сцепленном локусе является нелегкой и нередко неразрешимой задачей.

Более продвинутым и широко используемым в настоящее время является метод полногеномного анализа ассоциаций (Genome Wide Association Studies – GWAS). Метод явился настоящим прорывом в генетических исследованиях МФЗ. Он основан на использовании программы НарМар в сочетании с техникой биочипов высокого разрешения. В результате выполнения проекта НарМар в геноме человека было установлено распределение тысяч полиморфных сайтов – однонуклеотидных замен (SNP) и созданы карты гаплотипов – устойчивых сочетаний вариаций SNP в пределах однонитевой (гаплоидной) последовательности ДНК [13]. Другим важным техническим достижением стали гибридационные ДНК – биочипы высокой плотности, позволяющие проводить генотипирование сразу тысяч SNP-сайтов в одном образце ДНК. Зная точное положение каждого SNP на физической карте гаплоидного генома, можно не только идентифицировать ген-кандидат, но и определить все SNP, ассоциированные с МФЗ [24, 25].

Принципом метода GWAS является сканирование сотен тысяч маркеров, расположенных на всех хромосомах человека. Благодаря картам гаплотипов, полученных в рамках проекта НарМар, дизайн современных чипов включает максимальное количество ключевых снипов (tag SNPs) и позволяет оценить частоту как единичных маркеров, так и гаплотипов по всей длине молекулы ДНК. Например, широко используемые чипы фирмы «Иллюмина» (www.illumina.com), включающие в себя 310 000 снипов (Illumina Нар310К), позволяют оценить частоту 81 % частых полиморфизмов в европейской популяции. Следующая разработка той же компании включает в себя 550 000 точечных полиморфизмов (Illumina Нар550К) и покрывает более 90 % частых полиморфизмов [24].

Полногеномный скрининг ассоциаций проводится на больших когортах больных и контроля (более 1500 – 2000 человек), что обеспечивает высокую достоверность ( $p < 0,000005$ ) результатов и включает несколько этапов. На первом – в результате полногеномного скрининга выявляются сотни ассоциаций, большинство из которых, после сотен тысяч независимых тестов, оказываются ложноположительными. На следующем этапе тем же методом анализируются ассоциации в независимой когорте пациентов и контролей. Только результаты, подтвержденные в репликационной когорте, считаются достоверно положительными. Всего в настоящее время методом GWAS проведено сканирование ассоциаций около 300 различ-

ных МФЗ. Результаты этих исследований суммированы на сайте Национального Института здоровья (США) – <http://www.genome.gov/GWastudies/index.cfm?#1>. Данные включают результаты GWAS, полученные с достоверностью  $p < 1 \cdot 10^{-5}$  и содержащие не менее 100.000 SNP. Они регулярно обновляются после публикации очередных результатов [25].

Полногеномный анализ ассоциаций в комплексных заболеваниях очень популярен и успешно применяется в течение последних нескольких лет. Данные о генах, ассоциированных с некоторыми заболеваниями иммунной системы, приведены на рис. 5.

Таким образом, метод GWAS уверенно становится основным в поисках генов-кандидатов при всех МФЗ. К сожалению, эта революционная технология, насколько мне известно, пока малодоступна в России. Учитывая существенные популяционные различия генетического полиморфизма, внедрение технологии общегеномного скрининга аллельных ассоциаций с целью идентификации генов-кандидатов МФЗ в нашей стране представляется настоятельно необходимым.

### 5. ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПАСПОРТ

В настоящее время во многих диагностических центрах России широко применяются молекулярные методы с целью диагностики генных болезней, выявления гетерозиготного носительства патологических мутаций в семьях высокого риска, для досимптоматической диагностики болезней с поздней манифестацией и с целью идентификации личности (геномная дактилоскопия). Постепенно набирает силу генетическое тестирование в рамках предиктивной (предсказательной) медицины. Очевидно, что в результате этих исследований происходит накопление данных как о геноме отдельных индивидуумов, так и о целых семьях, т.е. постепенно формируются индивидуальные и семейные базы ДНК-данных. Такая индивидуальная база ДНК-данных и является «генетическим паспортом».

Таким образом, *генетический паспорт представляет собой индивидуальную базу ДНК-данных, отражающую*

*уникальные генетические особенности каждого человека, его предрасположенность к тем или иным наследственным, мультифакториальным и другим заболеваниям* [4,5, 6, 37].

Информация, содержащаяся в этом поистине уникальном документе, должна помочь избежать жизненных коллизий, связанных с игнорированием индивидуальных особенностей генома, т.е. специфических характеристик своей наследственности. Такие данные позволяют полнее реализовать свои генетические способности и представляют несомненную ценность для потомков.

Повсеместное внедрение в современную медицину методов молекулярной диагностики уже сделало реальной идею генетического паспорта. Он уже существует *de facto*, и число ГТ, составляющих его основу, быстро увеличивается. Вместе с тем приступать к формированию и особенно практическому использованию генетического паспорта можно только при соблюдении достаточно строгих требований. Последние включают:

1. Хорошо изученную геномную сеть каждого МФЗ.
2. Достоверные клинические и популяционные данные, подтверждающие вклад соответствующих генов-маркеров в патогенез МФЗ.
3. Репрезентативные данные для популяции своего региона или соответствующей этнической группы, доказывающие ассоциацию тестируемых генов-маркеров с МФЗ.
4. Взвешенную интерпретацию результатов ГТ наследственной предрасположенности.
5. Рекомендации по результатам ГТ (по данным генетического паспорта).
6. Мониторинг отдаленных результатов состояния здоровья пациента после ГТ и назначения рекомендаций врача-генетика.
7. Конфиденциальность, доступность, юридическую и правовую защищенность для пациента, прошедшего ГТ.

Генетическая карта в полном варианте должна включать результаты исследования не только генов предрасположенности, но и бессимптомного носительства мутаций генов наиболее частых наследственных болезней (гемофи-



Рис. 5. Прогресс в поиске генов МФЗ иммунной системы. Ц – целиакия, БК – болезнь Крона, РС – рассеянный склероз, П – псориаз, РА – ревматоидный артрит, СКВ – системная красная волчанка, СД1 – сахарный диабет I типа, НЯК – неспецифический язвенный колит

### ОБРАЗЕЦ «ГЕНЕТИЧЕСКОГО» ПАСПОРТА

Год рождения – 1997  
Место рождения – Петергоф

**Совершенно секретно**

**Кариотип**

**ПЕРВИЧНОЕ МЕДИКО-ГЕНЕТИЧЕСКОЕ КОНСУЛЬТИРОВАНИЕ**

**Досимптоматическая диагностика**

1. Нейродегенеративные заболевания: HD; SCA1; DRPLA; AR; SCA2; MP1
2. Семейные раки молочной железы: BRCA1; BRCA2
3. Болезнь Альцгеймера: PS-1; PS-2.

**Диагностика гетерозиготного носительства:**

1. Муковисцидоз
2. Миодистрофия Дюшенна
3. Гемофилия А
4. Фенилкетонурия
5. Адреногенит. синдром
6. Спинальная мышечная атрофия

**Наследственная "предрасположенность"**

Остеопороз - VDR3; COL1A1; CALCR  
Рак легкого-GSTM1; GSTT1; NAT-2; CYP1A1; p53-6; p53-16; p-53-72  
Рак простаты AR; p53-6; p53-16; p-53-72  
Рак молочной железы GSTM1; GSTT1; GSTP1; L-MYC; NAT-2; CYP1A1; CYP17; CYP19; p53-6; p53-16  
Рак толстой кишки GSTM1; NAT-2  
GSTT1:  
Диабет I HLA DR и DQ и DR4; DR3; Mic-A; VDR-3  
Ишемическая болезнь сердца ApoE; MTHFR; PON FV; FVII; ACE  
Гипертоническая болезнь AGT; PAII; ACE, ANT; Apo C, ApoB-100  
Алкоголизм DRD3; DAT1  
Наркомания DRD2A; DRD2  
Наследственная тромбофилия MTHFR, FV, PAI-1, FGB, GPIIIa/b, FII  
Устойчивость к ВИЧ-инфекции 32del/CCR5/+

**МЕДИКО-ГЕНЕТИЧЕСКОЕ КОНСУЛЬТИРОВАНИЕ ПО РЕЗУЛЬТАТАМ ТЕСТИРОВАНИЯ**  
ИНФОРМАЦИЯ ДЛЯ ВРАЧА И ПАЦИЕНТА  
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Рис. 6. Вариант «Генетического паспорта» [5,6]

лии, муковисцидоза, фенилкетонурии и др.). В настоящее время диагностические возможности существующих молекулярных лабораторий России, в т.ч. и Санкт-Петербурга, позволяют обеспечить достаточно полный набор необходимых генетических тестов. Один из первых вариантов генетического паспорта был впервые предложен нами еще в 1997 г. (рис. 6)

В настоящее время практическое применение находят только некоторые составляющие генетического паспорта (тестирование гетерозиготного носительства, геномная дактилоскопия, кариотипирование). Реже и только в семьях высокого риска проводится тестирование наследственной предрасположенности к бронхиальной астме, диабету или остеопорозу.

Более продвинутой на пути клинического внедрения является *Генетическая карта репродуктивного здоровья*, которая представляет собой итог многолетних комплексных исследований репродуктивной функции женщин, проводимых в Институте акушерства и гинекологии им. Д.О. Отта РАМН (Санкт-Петербург) [26]. Карта рекомендована к применению в Центре планирования семьи, а также в родовом и других отделениях института. Она широко используется на консультативных амбулаторных приемах врачами-генетиками и акушерами-гинекологами нашего института. Помимо анализа кариотипа и тестирования на носительство мутаций тяжелых наследственных заболеваний у супругов, планирующих ребенка, важное прогностическое значение имеет исследование женщины по генным панелям заболеваний, осложняющих беременность, развитие плода, роды и послеродовой период (гестозы, привычное невынашивание, варикозная болезнь, фетоплацентарная недостаточность) (рис. 7). Для гинекологов и эндокринологов большой интерес представляет тестирование наследственной предрасположенности к эндометриозу, аденомиозу и постменопаузальному остеопорозу.

Особое внимание обращено на тестирование наследственных форм тромбофилии, для диагностики которой был разработан специальный микробиочип «Фиброчип» [27]. Клинические испытания Генетической карты репродуктивного здоровья (ГКРЗ), проводимые в ИАГ им. Д.О. Отта РАМН, сосредоточены преимущественно на отдельных нозологиях, таких как эндометриоз (прогноз заболевания и выбор оптимальной тактики лечения), наследственные тромбофилии, факторы невынашивания беременности и плацентарной недостаточности, гестоз (прогноз и профилактика). Накапливаемая в ходе проспективного тестирования информация о генетических маркерах акушерской патологии является основанием для более широкого внедрения ГКРЗ в клиническую практику.

Согласно рекомендациям ВОЗ, генетическое тестирование должно проводиться с учетом добровольного, сознательного согласия тестируемого, т.е. по достижении им совершеннолетия. Формально это означает, что важная генетическая информация может стать доступной сравнительно поздно, когда ее польза для обследуемого и его близких родственников уже в значительной мере утрачена. Однако, принимая во внимание значение этих данных для здоровья ребенка, гармоничного формирования его личности, рационального питания, эффективного образования, спортивных занятий, оптимальной профориентации

### ГЕНЕТИЧЕСКАЯ КАРТА РЕПРОДУКТИВНОГО ЗДОРОВЬЯ



Рис. 7. Вариант Генетической карты репродуктивного здоровья [26]

и возможности предупредить развитие ряда болезней с поздней манифестацией, составление такого генетического паспорта в раннем возрасте представляется вполне оправданным уже сегодня. Возможный вариант генетической карты ребенка, основанный на результатах исследования генных ассоциаций, приведен на рис. 8.

Нельзя исключить, что по мере решения этических и социальных проблем, связанных с исследованиями генома человека, генетическое тестирование получит все большее распространение и в более раннем возрасте, чем рекомендуется в настоящее время. Во всяком случае, в семьях с высоким риском диабета I типа, бронхиальной астмы, синдрома внезапной смерти, с нарушениями сердечной проводимости и ритма, метаболическим синдромом и ожирением, а также при ряде других нозологий вполне оправданным представляется упреждающее генетическое тестирование уже в раннем возрасте [37]. Естественно, что проводиться оно может только с согласия родителей, по направлению врача-педиатра и после консультации семьи врачом-генетиком, компетентным в вопросах предиктивной медицины.

Стремительно накапливается информация и о генах-маркерах, тестирование аллельных вариантов которых позволяет оценить пригодность подростка к тому или иному виду спорта. В настоящее время имеется информация о почти 150 различных генах, контролирующих физическое развитие человека, важных для правильного занятия фитнесом и для отбора потенциально перспективных спортсменов. Полученные результаты позволили приступить к формированию собственного варианта генетической карты спортсмена, включающего тестирование некоторых генов, определяющих физические характеристики человека.

Несмотря на известные ограничения юридического и морально-этического плана, недостаток информации о генных сетях различных метаболических процессов и мультифакториальных болезней, отсутствие убедительной статистической информации и несовершенство клинической интерпретации результатов генетического тестиро-



вания, составление генетического паспорта любого объема для дееспособных граждан следует приветствовать. Данный медицинский документ может оказать существенную помощь при проведении экспертизы состояния здоровья, а также оценке потенциального риска развития ряда МФЗ у членов семьи высокого риска [37].

Таким образом, несмотря на очевидное несовершенство современной предиктивной медицины, генетическое тестирование семей высокого риска по некоторым тяжелым МФЗ, а также спортсменов-профессионалов, людей экстремальных профессий и лиц, заинтересованных в информации о своем геноме, представляется вполне реальным. Очевидна большая практическая значимость и Генетической карты репродуктивного здоровья.

## 6. ОСНОВНЫЕ ПРОБЛЕМЫ ГЕНЕТИЧЕСКОГО ТЕСТИРОВАНИЯ МФЗ

Тестирование генных ассоциаций, т.е. поиск генов-кандидатов, сцепленных с различными МФЗ, уже приобрело массовый характер и широко представлено во всем мире, включая ведущие лаборатории и генетические центры России. Согласно мировым данным, тысячи полиморфных сайтов тестируются ежедневно для установления ассоциации с болезнями [28]. Для многих частых МФЗ уже идентифицированы или находятся в стадии изучения около 100 главных генов-кандидатов, в каждом из которых имеется несколько полиморфных сайтов, влияющих на функции гена и его продуктов.

В последние годы для поиска генов-маркеров МФЗ все шире применяется метод полногеномного поиска ассоциаций (GWAS) [29]. С помощью этого метода уже идентифицированы сотни новых генов-кандидатов и анонимных полиморфизмов, сцепленных с наиболее частыми МФЗ [29]. Сравнение особенностей распределения аллельных вариантов у больных и здоровых уже привело к понятию «*геномный профиль МФЗ*», соответствующий *распределению по геному SNP-аллелей, характерному для определенного заболевания*. При этом обязательным становится даже идентификация самих генов-маркеров, а результаты записываются по номерам tagSNP, обнаруживших при полногеномном скрининге достоверное сцепление с МФЗ. Например, в обширном перспективном исследовании исландской популяции выявлены 22 варианта геномных профилей риска рака простаты. Наибольшее сцепление ( $OR = 1.23$ ;  $P = 6.7 \cdot 10^{-12}$ ) было установлено для SNP rs11228565 локуса 11q13. Наличие четырех вариантов риска SNP rs10934853 (3q21.3); rs16902094 и rs445114 (8q24.21) rs8102476 (19q13.2) увеличивало вероятность рака простаты у носителей в 2.5 раза в сравнении с популяционным [30]. Возникли и активно рекламируются коммерческие генные тесты, в т.ч. и «*индивидуальные геномные профили*», различными диагностическими центрами Америки (Celera, Myriad genetics, Decode, Navigenics, 23andme) и Западной Европы (Sciona, Gendia) [31]. При этом ассоциации многочисленных генов-маркеров и полиморфных локусов с заболеванием остаются недоказанными, а более 5 % уже выявленных ассоциаций оказываются случайными [28]. По мнению многих специалистов, в молекулярной медицине и медицинской генетике возникла достаточно тревожная ситуация, когда *коммерциализация и бизнес начинают опережать науку*.

Главные проблемы, возникшие на пути внедрения результатов ГТ наследственной предрасположенности в клиническую практику, следующие:

1. Полнота выявления всех генов-кандидатов генной сети (ФГМ) МФЗ.
2. Доказательство достоверности их ассоциации с МФЗ.
3. Медицинская оценка результатов ГТ.
4. Клиническая значимость предиктивного (упреждающего) ГТ.

### 6.1. ПОЛНОТА ВЫЯВЛЕНИЯ ГЕНОВ-КАНДИДАТОВ ФГМ КОНКРЕТНОГО МФЗ

Метод анализа ассоциаций (см. раздел 3) в лучшем случае позволяет выявить наиболее очевидные в плане патогенеза заболевания генов-кандидатов и провести сравнительный анализ частот их аллелей в когортах больных и популяционном контроле.

Метод полногеномного анализа сцепления позволяет более детально установить локусы, сцепленные с конкретным МФЗ, однако достаточно протяженные размеры этих локусов зачастую сильно осложняют возможности точной идентификации в них важных генов-кандидатов.

Основные надежды в решении данной проблемы сегодня возлагаются на метод полногеномного исследования ассоциаций – метод GWAS. Использование биочипов высокой плотности (более 500 000 SNP) позволяет с высокой достоверностью перекрыть весь геном и, таким образом, получить информацию о всех SNP, сцепленных с МФЗ. Однако множество таких ассоциаций в действительности оказываются случайными и могут быть дискриминированы только в результате повторного (репликативного) GWAS-анализа, проведенного на других когортах больных с тем же МФЗ и других группах популяционного контроля. Кроме того, ассоциация в том или ином участке ДНК далеко не всегда совпадает с наличием в нем соответствующего гена-кандидата и отнюдь не обязательно означает идентификацию мутации, ответственной за предрасположенность



Рис. 8. Вариант «Генетической карты здоровья ребенка» [37]

к МФЗ. В большинстве случаев выявленный SNP расположен в межгенных участках ДНК и, по сути, может рассматриваться лишь как молекулярный маркер, сцепленный с одним или даже несколькими соседними генами. Тем не менее на сегодняшний день метод GWAS, дополненный секвенированием сцепленных локусов, анализом экспрессии входящих в него генов, рассматривается как наиболее эффективный метод идентификации генов-кандидатов, составляющих ФГМ каждого МФЗ. Вместе с тем идентификация новых генов-маркеров, ассоциированных с МФЗ, нередко сопряжена с пересмотром величины первоначального индивидуального риска, что было наглядно продемонстрировано при геномном сканировании предрасположенности к диабету II типа [32].

Возможности тестирования наследственной предрасположенности не только по аллельным вариантам генов-предрасположенности, но и по геномному профилю tag-SNP [30] значительно укрепляет позиции предиктивной медицины.

## 6.2. ДОСТОВЕРНОСТЬ АССОЦИИИ ГЕНОВ-КАНДИДАТОВ С КОНКРЕТНЫМ МФЗ

В настоящее время уже существует около 1024 клинических генетических тестов на МФЗ, и более 300 генетических тестов проходят доклинические и клинические испытания [33]. Для многих МФЗ уже идентифицированы некоторые «главные» гены, вовлеченность которых в ту или иную патологию подтверждена исследованиями многих лабораторий на репрезентативных группах больных. К таковым, например, относятся болезнь Альцгеймера (APOE4), диабет II типа (PPARG, TCF7L2, KCNJ11), старческая дегенерация желтого пятна сетчатки (CFH), системная красная волчанка (JRF5), рак простаты (регион JF1H), сахарный диабет I типа (IL2RA, CD25, PTPN22), аутоиммунный тиреоидит (CTLA4), болезнь Гиршпрунга (RET), болезнь Крона (NOD2, CARD15), ревматоидный артрит (PTPN22) [8, 34]. Тем не менее отношение к ГТ остается достаточно скептическим, что в значительной мере определяется отсутствием строгих статистических доказательств достоверности результатов ГТ.

Одной из важных причин такого несоответствия являются сравнительно небольшие выборки групп больных и здоровых. В лучшем случае они ограничиваются сотнями субъектов, тогда как для получения статистически достоверных данных требуется сравнительный генетический анализ нескольких тысяч здоровых и больных [28].

Другой причиной вариабельности генных ассоциаций могут быть популяционные различия аллельных частот для одних и тех же генов-кандидатов. Не случайно выявленные аллельные различия, доказывающие значимость той или иной ассоциации при объединении данных разных работ, выполненных на группах больных, и контроля других популяций нередко усредняются и становятся статистически недостоверными.

Необходимость больших выборок диктуется сравнительно невысокой частотой величины относительного риска – OR, которая показывает, насколько чаще встречается изучаемое заболевание у лиц с определенным аллелем или набором разных аллелей соответствующих генов-маркеров по сравнению с индивидуумами с другими

аллелями тех же генов-кандидатов [35]. Обычно для уже известных генов-маркеров, ассоциированных с МФЗ, величина OR не превышает 1.5, а чаще находится в пределах 1.16–1.2. Так, сочетание нескольких неблагоприятных аллелей гена-кандидата PTPN22 при диабете и системной красной волчанке и гена NOD2 при болезни Крона увеличивают относительный риск заболевания (OR) в 2–3 раза. Для большинства других ассоциаций OR варьирует от 1.1 до 1.5. [22]. В силу этого реальный вклад каждого гена-маркера в развитие МФЗ сравнительно невелик. Поэтому для строгого доказательства наличия ассоциации требуются обширные генетические исследования. Считается, что для доказательства 90 % вероятности какой-то ассоциации между геном и заболеванием при RR, равном 1.25, требуется исследование 5000 больных и не менее 5000 человек контрольной группы. При этом предлагается также увеличить в 10 000 раз уровень значимости ( $p < 0.00005$  вместо обычного  $p < 0.05$ ) [28]. Появление метода GWAS кардинально меняет ситуацию с проблемой достоверности предиктивного ГТ. Так, при оценке риска инфаркта миокарда путем ГТ 85 SNP соответствующих генов-кандидатов достоверность выявленных ассоциаций возросла до  $p < 0.0000001$  [36].

Другим важным фактором, доказывающим состоятельность выявленной ассоциации, является ее репликативность, т.е. воспроизводимость результатов ГТ в работах других исследователей.

Причины вариабельности генетического полиморфизма весьма многообразны:

- генетическая стратификация изучаемой популяции (наличие в ней субпопуляций с исходно различной частотой анализируемых аллелей) [28];

- частоты аллелей в разных популяциях могут варьировать, и их вклад в патогенез конкретного МФЗ может быть различным;

- патогенетические различия МФЗ могут быть обусловлены особенностями действия разных внешних факторов в разных географических условиях;

- неточности клинического диагноза, приводящие к ошибкам при формировании клинических групп;

- аллели, ассоциированные с одним и тем же МФЗ, в разных популяциях могут быть разными.

Существует и ряд других факторов, существенно затрудняющих правильную оценку наблюдаемой ассоциации генотип-фенотип, даже если она вполне достоверная статистически:

- отмеченная ассоциация может относиться не к идентифицированному гену или SNP-маркеру, но к гену или локусу (аллелю), тесно сцепленному с еще неизвестным локусом или аллелем, продукт которого вовлечен в патогенез МФЗ;

- выявленная ассоциация может, в действительности, касаться не самого гена-кандидата, а другого гена, продукт которого функционально компенсирует эффект мутантного гена (*эпистатическое взаимоотношение генов*);

- практически малоизученными остаются не только генные взаимодействия, но и взаимодействия генов-кандидатов с факторами внешней среды;

- патогенез любого МФЗ может быть результатом нарушения функции генов не одной, а чаще разных генных сетей;



- наряду с типичными для МФЗ полигенными формами нередко встречаются и отдельные моногенные формы (остеопороз, болезнь Паркинсона, болезнь Альцгеймера, различные онкологические заболевания) [35].

Естественно, что все перечисленные факторы существенно затрудняют корректную идентификацию генов-маркеров и оценку их объективного вклада в патогенез заболевания.

Признавая все эти ограничения и реально существующие сложности в идентификации генов – маркеров МФЗ, важно обратить внимание на следующие обстоятельства.

Для всех МФЗ взаимоотношения генотип-фенотип всегда носят вероятный характер, а не являются строго детерминированными, т.е. точность ДНК-диагностики МФЗ, в отличие от моногенных болезней, никогда не приблизится к 100 %.

Группы больных и здоровых при анализе методом GWAS включают тысячи человек, что гарантирует высокую достоверность полученных результатов.

В своем подавляющем большинстве маркерные гены и локусы, выявленные с GWAS, всегда включают ассоциации, ранее установленные другими методами.

Эти положения нуждаются в дальнейших уточнениях и проверках, однако уже сейчас они дают основание для более масштабных доклинических и клинических испытаний уже идентифицированных генов-кандидатов частых МФЗ.

Наиболее рациональным на современном этапе развития предиктивной медицины в России представляется сопоставление уже известных генов-кандидатов МФЗ, идентифицированных в работах отечественных авторов, с соответствующими панелями генов-кандидатов, выявленными методом GWAS (1); тестирование аллельных частот новых главных генов-кандидатов на уже существующих выборках больной-здоровый (ДНК-банки) (2); формирование новых панелей генов МФЗ исходя из полученных данных (3).

### 6.3. ОЦЕНКА РЕЗУЛЬТАТОВ ПРЕДИКТИВНОГО ГТ

Оценка результатов генетического тестирования должна проводиться с учетом уже накопленных знаний по генным сетям конкретных МФЗ, популяционных, гендерных и возрастных особенностей частот полиморфных аллелей изучаемых генов [37]. Учитывая сугубо вероятностный характер генетических прогнозов при тестировании наследственной предрасположенности к МФЗ, определенную помощь в оценке риска наследственной предрасположенности уже сегодня может дать достаточно простой метод балльных оценок, который применяется в ряде западных стран (Harvard School of Public Health) и уже используется в некоторых отечественных центрах, проводящих генетическое тестирование [38, 39, 40]. Суть метода заключается в следующем: каждый вариант генотипа оценивается в условных баллах в зависимости от того, являются ли выявленные аллели протективными или, наоборот, предрасполагающими к развитию патологии. С этой целью аллелю с измененной функциональной активностью гена присваивается 1 балл, нормальному (частому) аллелю дикого типа – 0 баллов. Затем записывается генотип по каждому тестированному гену-кандидату, полученные величины складываются и делятся на число протестированных генов. Условно оценивают риск

заболевания как средний, низкий или высокий. При наличии патогенетически сложных МФЗ, включающих несколько разных метаболических цепей, подсчет ведется для каждой генной сети отдельно, а полученные оценки складываются. Некоторые варианты балльных оценок помимо обчета баллов генотипов включают также условные баллы для различных экзогенных факторов (вредные воздействия, привычки, прием лекарственных препаратов и пр.), антропометрические показатели, а также физическую активность, пол, вес [26].

Информация по результатам ГТ подготавливается врачом-генетиком совместно со специалистом, проводившим молекулярный анализ, и передается лечащему врачу и пациенту. Сопоставление этого заключения с результатами клинических, лабораторных и инструментальных исследований позволяет более объективно оценить риск развития того или иного МФЗ и предложить максимальную эффективную программу его профилактики и лечения.

Ответ может быть более объективным, если есть возможность сравнить полученные результаты с данными по генетическому тестированию близкого родственника, уже имеющего данное МФЗ. Однако в любом случае ответ будет носить сугубо вероятностный характер. Подробно метод балльной оценки результатов ГТ приведен в наших методических рекомендациях, посвященных генетической карте репродуктивного здоровья [26].

Существенную помощь в правильной интерпретации результатов ГТ могут оказать специальные компьютерные программы. Таковые уже разработаны и широко используются для сравнения геномных профилей больных с МФЗ, контрольной группы и пациента, что позволяет оценить риск наследственной предрасположенности к МФЗ конкретного человека [29]. Создана карта, которая облегчает врачам понимание результатов ГТ, помогает находить генные вариации, соответствующие определенным заболеваниям, и отслеживать их передачу по наследству. Считается, что такая карта поможет снизить стоимость поиска генов предрасположенности к тому или иному МФЗ, а также сделает реальным разработку индивидуального лечения [41]. Нет сомнений в том, что создание подобной компьютерной программы для оценки результатов ГТ в России могло бы так же существенно ускорить внедрение предиктивной медицины в клиническую практику.

Согласно зарубежным данным, уже разработаны и достаточно широко используются ГТ для оценки наследственной предрасположенности к сердечно-сосудистым заболеваниям, венозным тромбозам, гиперлипидемии, атеросклерозу [41]. Важно подчеркнуть, что эти исследования пока не имеют статуса тестов, рекомендуемых для клинического применения, однако они уже начали применяться клиницистами. В таком же состоянии находятся уже более 1000 предиктивных ГТ, многие из которых проходят доклинические и клинические испытания. Объектами ГТ являются такие гены, как APOE4, гомозиготность по которому в 14 раз увеличивает риск болезни Альцгеймера, ген Filaggrin, мутации которого R501X или 2282del14 в 4 раза увеличивают риск атопической экземы и тяжелых форм бронхиальной астмы, неблагоприятные аллели гена CD-KN22a2b (на 64 % увеличивают риск ИМ) и 4a/4b аллели гена IN, наличие которых вдвое увеличивает риск диабета

II типа. Однако клиническое значение этих генетических тестов остается неясным, их полезность для врачей и пациентов нуждается в более строгих доказательствах [36].

16 августа 2007 г. успешно прошел сертификацию и получил официальное одобрение Администрации по Контролю за пищевыми продуктами и лекарственными препаратами США (Food & Drug Administration) первый предиктивный генетический тест для расчета индивидуальной дозы антикоагулянта варфарина. Тест включает тестирование генов CYP2C9, VKORC1 с учетом возраста, пола и веса пациента.

В 2008 г. Комиссией EuroGentest в Европе разработано положение о стандартизации ГТ и подготовлена необходимая документация для сертификации тех генетических анализов, которые по результатам клинических испытаний могут быть уже переведены в разряд ГТБ, рекомендованных для клинического применения [Nippert et al., 2008].

#### 6.4. РЕКОМЕНДАЦИИ ПО РЕЗУЛЬТАТАМ ГЕНЕТИЧЕСКОГО ТЕСТИРОВАНИЯ

Реальная польза от ГТ может быть только в том случае, если оно завершается полноценной консультацией квалифицированного специалиста по медицинской генетике, с предоставлением соответствующих рекомендаций лечащему врачу и пациенту. ГТ может иметь практическую значимость при соблюдении следующих условий: результаты ГТ основаны на анализе генов, ассоциация которых с соответствующим заболеванием показана в популяции данного региона (1), обследуемый является членом семьи высокого риска, где уже есть больной с данной патологией (2), данные ГТ прошли адекватный статистический анализ (3). Эффективность использования такой информации во многом определяется уровнем генетических знаний врачей, их умением применять полученные данные для диагностики, профилактики и лечения заболевания, а также готовностью самого пациента следовать рекомендациям врачей по результатам генетического тестирования. [39]. Но даже при соблюдении этих условий результаты ГТ наследственной предрасположенности следует интерпретировать очень осторожно. По возможности, ГТ должно быть дополнено соответствующими биохимическими анализами, позволяющими оценить функциональную активность исследованных генов. Следует помнить, что более объективная информация может быть получена при тестировании генов, контролируемых лишь какой-то один метаболический процесс, т.е. относящихся к одной генной сети. Так, уже сегодня на основании генетического тестирования достаточно объективно можно оценить функциональное состояние систем детоксикации, свертывания крови, липидного или углеводного обменов, ренин-ангиотензиновой системы и др. Значительно более сложными для оценки результатов и прогноза наследственной предрасположенности являются МФЗ, обусловленные повреждениями сразу нескольких генных сетей.

Основные трудности широкого внедрения предиктивной медицины в клиническую практику связаны с отсутствием объективных данных, доказывающих полезность для пациента досимптоматического тестирования наследственной предрасположенности к МФЗ.

Согласно Генетическому Досье (Gene Dossier), недав-

но разработанному Службой генетического тестирования Великобритании (United Kingdom Genetic Testing Network [www.ukgtn.nhs.uk](http://www.ukgtn.nhs.uk)), сертификация каждого нового ГТ должна включать информацию об аналитической точности использованного молекулярно-генетического метода (1), клинической достоверности ГТ, т.е. о его способности диагностировать или предсказывать наличие или отсутствие определенного фенотипа (2), клинической полезности ГТ (3), его этическом, юридическом и социальном соответствии, т.е. ГТ должен быть ориентирован на определенную популяцию и нацелен на решение конкретной задачи (4) ([www.labtestonline.org.ru](http://www.labtestonline.org.ru)).

Британский Фонд Wellcome Trust, ранее финансировавший программу Геном человека, в 2008 г. начал финансирование проекта, направленного на улучшение и усиление доказательной базы генетического тестирования, а также подготовку справочника для координации и интеграции в клиническую практику ГТ с необходимыми разъяснениями их полезности для врачей и пациентов. При этом оценка клинической полезности ГТ приравнивается к фазе III клинических испытаний, однако остается не ясным, должны ли они оплачиваться государством или фирмами, разрабатывающими и рекламирующими ГТ [43].

Окончательная цель проекта – перевести предиктивную медицину из области научных исследований особенностей генетического полиморфизма и идентификации генов – маркеров МФЗ на уровень доказательной медицины

Итогом всякого ГТ должны быть не только информация об особенностях аллельных вариантов генов той или иной метаболической цепи, но и соответствующие рекомендации для пациента и врача [44]. «Генетическая» переориентация всего здравоохранения уже происходит в развитых странах Западной Европы и Америки. В скором будущем она достигнет и России. Значительное повышение уровня генетических знаний, особенно в области предиктивной медицины, у врачей всех специальностей – важнейшее условие эффективного внедрения достижений медицинской генетики и геномики в систему здравоохранения РФ.

#### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Благодаря впечатляющим успехам геномики, появлению новых, высокоэффективных методов молекулярного анализа стремительное развитие получил поиск генов-маркеров, ассоциированных с МФЗ. В результате были идентифицированы тысячи новых генов-маркеров, аллельные варианты которых предрасполагают к развитию патологических процессов (1); созданы генетические панели большинства частых хронических заболеваний (2); идентифицированы гены-маркеры, определяющие тяжесть течения болезни, предрасположенность к тем или иным осложнениям (3).

Беспрецедентные по масштабу исследования по генотипированию представителей разных рас, национальностей и этнических групп потребовали совместной напряженной работы клиницистов и молекулярных биологов. Итогом их работы стали многочисленные банки ДНК-данных, содержащие информацию обо всех уже известных мутациях и вариациях ДНК, ассоциированных с хроническими заболеваниями (4).

Обширная информация по генотипированию частых хронических заболеваний у жителей РФ накоплена к этому

времени и во многих научных центрах РФ (Институт медицинской генетики СО РАМН (Томск), Медико-генетический научный центр РАМН (Москва), Институт биохимии и генетики РАН (Уфа), Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН (Москва), Институт молекулярной генетики РАН (Москва), Институт молекулярной медицины РАМН и др.). Только в нашей лаборатории НИИ акушерства и гинекологии им. Д.О. Отта СЗО РАМН (Санкт-Петербург) за это время были изучены частоты аллельных вариантов 80 генов-маркеров у 5000 больных с различными частыми МФЗ и у такого же числа человек из групп контроля.

Как индивидуальная база ДНК-данных, генетический паспорт (ГП) уже существует, постепенно усложняясь по мере выявления все новых генных маркеров, увеличения числа генных сетей и панелей генов предрасположенности, определяющих наследственную склонность к МФЗ. Если на ранних этапах ГП представлял собой достаточно простую карту, включающую результаты тестирования около 100 генов-маркеров, соответствующих генным панелям 15–20 частых хронических МФЗ, то после появления технологии GWAS число генов-кандидатов стало стремительно нарастать. Для каждого заболевания с помощью этой технологии определяется свой характерный *генетический профиль*, соответствующий распределению по геному более 30–500 000 SNP в карте однонуклеотидных замен. Сравнение генетических профилей больных и здоровых с таковым у пациента позволяет с высокой степенью достоверности определить предрасположенность тестируемого к соответствующему заболеванию.

Очевидно, что к результатам ГТ пока следует относиться с большой осторожностью. Клиническую полезность такого тестирования даже при использовании технологии GWAS еще требуется доказать. Особую озабоченность вызывает отсутствие сведений о том, каким образом и какие именно факторы внешней среды провоцируют развитие МФЗ у конкретного человека. С этой целью перед научным сообществом уже поставлена задача количественно оценить генетические и экзогенные факторы риска и их комбинации в патогенез МФЗ [45]. Несмотря на все отмеченные сложности, внедрение предиктивной медицины в клиническую практику научно оправдано и стратегически неизбежно.

В заключение отмечу, что появление новых, высокоэффективных методов секвенирования ДНК сделало реальным полное «прочтение» текста индивидуального генома. Особенно перспективно в этом отношении массивное параллельное секвенирование [46]. Недавно появилось сообщение, что каждый американец уже может получить свой геном всего за 50 000 долл., т.е. в 20 раз дешевле, чем в 2007 г. Следует, однако, отметить, что полностью секвенированный индивидуальный геном вряд ли в обозримом будущем заменит генетический паспорт, который значительно удобней и практичней для повседневной работы как специалиста-генетика, так и врача, использующего данные ГТ. Полногеномный сиквенс, безусловно, будет иметь значение для более углубленного анализа уникальных особенностей индивидуального генома, т.е. он может

играть роль универсального генетического справочника каждого человека, тогда как ГП будет содержать информацию о состоянии генов – предрасположенности частых МФЗ. Предполагается, что в течение ближайших 2–3 лет каждый человек сможет получить полную карту своего генома всего за 1000 долл., а стоимость генетического паспорта с комментариями специалиста-интерпретатора составит около 300 долл. Следовательно, наряду с обычными важнейшими тестами медицинского и антропометрического обследования личная медицинская карта каждого человека будет включать и результаты ГТ, число которых будет неизменно увеличиваться. При этом, по мнению академика В.П. Пузырева, ГТ будут не подменять, а лишь дополнять результаты других лабораторных исследований [20].

Предвидя такое развитие событий, в странах Западной Европы и Америки уже ведется большая работа по интеграции геномики в исследование национального (общественного) здоровья, политику и практику. Знания генома необходимо интегрировать в доктрину здоровья каждой страны, при этом основное внимание отводится именно предиктивной медицине. Для этого, однако, еще надо разобраться, какую клиническую ценность представляет «повышенная генетическая чувствительность» и каким образом количественно, с соблюдением принципов доказательной медицины, оценить генетические и экзогенные риски [45].

Проникновение геномики в общество и в медицину можно ускорить, но остановить уже нельзя. В полной мере это относится и к предиктивной медицине. Внедрение технологии общегеномного скрининга для идентификации всех генов-кандидатов МФЗ, сопоставление индивидуального профиля аллельных вариантов генов-кандидатов обследуемого с таковыми у больных данным МФЗ и у заведомо здоровых, подкрепленные отдаленными результатами проспективного генетического тестирования, откроют человечеству широкий путь в новую и так много обещающую эру предиктивной медицины. Главная задача современной геномики – оценить значение результатов ГТ для клиники, определить условия их внедрения в практическую медицину. Возможные пути решения данной проблемы в РФ включают: сопоставление имеющихся результатов ГТ МФЗ отечественных популяций с мировыми данными их полногеномного скрининга (1), создание репрезентативных (не менее 1000 образцов) ДНК-банков – на каждое МФЗ (2); тестирование на отечественных коллекциях ДНК новых генов-кандидатов (3); создание центров по внедрению полногеномного скрининга GWAS (4). ●

*Авторы выражают глубокую признательность сотруднику отдела биомедицинской генетики Университета медицинского центра г. Утрехт (Голландия) Александре П. Жернаковой за ценные советы при работе над рукописью и возможность использования ее данных по Общегеномному скринингу ассоциаций ряда аутоиммунных заболеваний.*



## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Collins F.S., McKusick V.A. // *J. Am. Med. Ass.* 2001. V. 285. № 5. P. 540–544.
2. Collins F.S., Shattuck. // *New Engl. J. Med.* 1999. V. 341. №1. P. 28–37.
3. Бочков Н.П. // *Рос. Мед. Вестн.* 2001. № 4. С. 4–13.
4. Баранов В.С., Киселев Л.Л. Геном человека и молекулярная медицина. В кн.: Геномика – медицине. / Ред. В.И. Иванов, Л.Л. Киселев. М.: ИКЦ «Академкнига», 2005. С. 4–13.
5. Баранов В.С., Баранова Е.В., Иващенко Т.Э., Асеев М.В. // Геном человека и гены предрасположенности. Введение в предиктивную медицину. СПб.: «Интермедика», 2000. 263 стр.
6. Баранов В.С., Асеев М.В., Баранова Е.В. // *Природа.* 1999. № 3. С. 17–27.
7. Пузырев В.П. // *Мед. Генетика.* 2003. Т. 2. № 12. С. 498–508.
8. Пузырев В.П., Фрэйдин М.Б., Кучер А.Н. Генетическое разнообразие народонаселения и болезни человека. Томск: Печатная мануфактура, 2007. 320 с.
9. Пузырев В.П., Степанов В.А. Патологическая анатомия генома человека. Новосибирск: Наука, 1997. 223 с.
10. Фогель Ф., Мотульски А. Генетика человека. М.: Мир, 1989. Т. 1. 308 с.
11. The Intern.HapMap Project // *Nature.* 2003. V. 426. P. 789–796.
12. Gabriel S.B., Schaffner S.F., Nguyen H. et al. // *Science.* 2002. V. 296. № 5576. P. 2225–2229.
13. Горбунова В.Н., Баранов В.С. Введение в молекулярную диагностику и генотерапию наследственных заболеваний. СПб.: Специальная литература, 1997. 287 с.
14. Баранов В.С. // *Вестник РАМН.* 2000. № 10. С. 27–37.
15. Горбунова В.Н. Молекулярные основы медицинской генетики. Интермедика СПб, 1999. 213 с.
16. Колчанов Н.А., Подколдная О.А., Игнатъева Е.В. и др. // *Вестник ВОГИС.* 2005. Т. 9. № 2. С. 179–199.
17. Kwang-II Goh, Cusick M.E., Valle D. et al. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2007. V. 104. № 21. P. 8685–8690.
18. Lee D.S., Park J., Kay K.A. et al. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2008. V. 105. № 29. P. 9880–9885.
19. Hidalgo C.A., Blumm N., Barabasi A-L., Christakis N.A. // A dynamic network approach to the study of human phenotype. *PLoS Computational Biology* www.ploscompbiol.org 2009. V. 5. is41-11. e1000353.
20. Пузырев В.П. // *Мед. Генетика.* 2008. Т. 8. № 9. С. 3–9.
21. Zhernakova A., van Diemen C.C. and Wijmenga C. // *Nat Rev Genet.* 2009. 10, 43–55.
22. Zhernakova A. and Wijmenga C. HLA and Non-HLA Genes in Celiac Disease. In Fasano, A. (ed) // *Frontiers in Celiac Disease.* Karger, Basel. 2008. V. 12. P. 32–45.
23. Аульченко Ю.С., Аксенович Т.И. // *Вестник ВОГИС.* 2006. № 10. С. 189–202.
24. Xavier R.J., Rioux J.D. // *Nat. Rev. Immunol.* 2008. V. 8. P. 631–43.
25. Hindorf L.A., Sethupathy P., Junkins H.A., et al. // *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* 2009. V. 106. P. 9362–7.
26. Баранов В.С., Айламазян Э.К. (ред.) Определение наследственной предрасположенности к некоторым частым заболеваниям при беременности. Генетическая карта репродуктивного здоровья. Методические рекомендации. СПб., 2009. 67 с.
27. Глогов А.С., Наседкина Т.В., Иващенко Т.Э. и др. // *Молекулярная биология.* 2005. Т. 39. № 3. С. 403–412.
28. Colhoun H.M., McKeigue, Smith G.D. // *Lancet.* 2003. V. 361. P. 865–871.
29. Seng K.Ch., Seng Ch. K. // *Europ. J. Hum. Genet.* 2008. V. 16. P. 554–564.
30. Gundmundsson J., Sulem P., Gudbjartsson D.F., Blondal Th., Gylfason A. et al. // *Nature Genetics.* 2009. V. 41. P. 1122–1126.
31. Bouchie A.A. // *The Scientist.* 2006. V. 20. № 4. P. 78.
32. Mihaescu R, van Hock M., Sindjbrand E.M., Uitterlinden A.G. et al. // *Genet. Med.* 2009. V. 11. № 8. P. 588–594.
33. Berry T.A., Wiliams J.K. // *Genetic Testing.* 2007. V. 11. № 2. P. 111–117.
34. Diego C.D., Alcantara M., Valle J. et al. // *Genet. Testing.* 2006. V. 10. № 3. P. 178–185.
35. Гинтер Е.К. Медицинская генетика. М.: Медицина, 2003. 447 с.
36. Meltzer D., Hogarth St., Liddel K., Ling T., Sanderson S., Zimmern R.L. // *Brit. Med. J.* 2008. V. 336. P. 590–593.
37. Баранов В.С. (ред.) Генетический паспорт – основа индивидуальной и предиктивной медицины. СПб.: Изд-во «Н-Л», 2009. 527 с.
38. Минайчева Л.И., Степанов В.А., Пузырев В.П., Назаренко Л.П., Спиридонова М.Г., Макеева О.А. Проблемы внедрения достижений геномной медицины в клиническую практику. В кн.: Молекулярно-биологические технологии в медицинской практике. // Новосибирск: Альфа Виста, 2004. С. 115–120.
39. Погрбенкова В.В., Макеева О.А. Анализ востребованности услуг по генетическому тестированию болезней с наследственной предрасположенностью среди населения и врачей г. Томска. В кн.: Генетика человека и патология. Томск: Печатная литература, С. 103–105.
40. Глогов А.С., Иващенко Т.Э., Образцова Г.И., Наседкина Т.В., Баранов В.С. // *Молекулярная биология.* 2007. Т. 41. № 1. С. 18–25.
41. Humphries S.E., Ridker P.M., Talmud P.J. // *Arterioscler.Thromb.Vasc.Biol.* 2004.
42. Nippert I., Krisoffersson U., Schmidtke J. et al. // *Europ. J. Human Genetics.* 2008. V.16. Suppl. 2. P. 421.
43. Furness P., Zimmern R.L., Wright C., Adams M. The evaluation of diagnostic laboratory tests and complex biomarkers. Summary of a Diagnostic Summit 14–15 January 2008. www.phgfoundation.org March 2008.
44. Баранова Е.В. ДНК: знакомство с собой, или как продлить молодость. М.: АСТ, СПб.: Астрель-СПб, 2006. 222 с..
45. Brand A., Brand H., Baumen T.C. // *Europ. J. Human Gene.* 2008. V.16. P. 5–13.
46. Tucker T., Marta V., Friedman J.M. // *Am. J. Hum.Genet.* 2009. V. 85. P. 142–154.