

В.Ю. Кравцов, А.И. Соловьев, И.А. Иванов

Генетические исследования в стандартах оказания медицинской помощи

Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова, Санкт-Петербург

Резюме. Представлен анализ нормативной базы, регламентирующей проведение цитогенетических и молекулярно-генетических исследований в клинической практике. Проанализированы современные стандарты оказания медицинской помощи, определен перечень заболеваний и патологических состояний, требующих выполнения генетических исследований, а также перечень медицинских услуг, предполагающих проведение цитогенетических и молекулярно-генетических исследований. Показано, что в современной номенклатуре медицинских услуг около 10% видов медицинской помощи связаны с проведением различных генетических исследований. Из них около 60% видов помощи обеспечивают диагностику соматической патологии, остальные направлены на выявление нуклеиновых кислот возбудителей инфекционных и паразитарных заболеваний. Генетические исследования выполняются преимущественно на этапе специализированной, реже – первичной медицинской помощи. Более 20% видов помощи включают медицинские услуги по молекулярно-генетической диагностике наследственных, мультифакториальных, инфекционных и онкологических заболеваний. Проведение генетических исследований требуется в отношении 15 классов болезней. Наиболее широко генетические методы применяются с целью выявления возбудителей скрытых инфекций, диагностики энзимопатий, болезней обмена, а также для уточнения природы патологических мутаций при новообразованиях, в том числе связанных с действием некоторых вирусов. Обозначены некоторые проблемные вопросы, связанные с проведением молекулярно-генетических исследований в лечебно-профилактических учреждениях. Показано, что широкое использование генетических исследований в клинической практике в настоящее время ограничено значительными трудозатратами и стоимостью их выполнения, а также сложностью интерпретации полученных результатов. Обоснована необходимость разработки отраслевых стандартов генодиагностики и дальнейшего совершенствования нормативно-правовой базы применения в клинической практике методов молекулярно-цитогенетических и молекулярно-генетических исследований.

Ключевые слова: генетика, цитогенетические исследования, молекулярно-цитогенетические исследования, молекулярно-генетические исследования, молекулярно-генетическая диагностика, нормативные документы, медицинские услуги, стандарты оказания медицинской помощи.

Введение. Генетическая диагностика – активно развивающееся направление, использующее цитогенетические, молекулярно-цитогенетические, молекулярно-генетические методы исследований, которые позволяют диагностировать наследственные, мультифакториальные, инфекционные заболевания. Особую актуальность представляет перспектива использования этих методов с целью диагностики новообразований, идентификации мишеней для лекарственной терапии онкологических больных и выбора наиболее эффективных и безопасных препаратов. В основе генетических исследований лежат технологии, позволяющие распознавать молекулы нуклеиновых кислот (дезоксирибонуклеиновая кислота – ДНК; рибонуклеиновая кислота – РНК) и анализировать их структуру. Цитогенетические методы (кариотипирование) основаны на световой или флуоресцентной микроскопии конденсированных хромосом и позволяют выявлять геномные (изменение количества хромосом), а также некоторые хромосомные мутации (грубые изменения структуры хромосом). Молекулярно-цитогенетические методы (флуоресцентная гибридизация *in situ* – fluorescence *in situ* hybridization (FISH)) применяются для идентификации тонких

хромосомных aberrаций. Они основаны на флуоресцентной и электронной микроскопии хромосом после гибридизации ДНК с олиго- или полинуклеотидными зондами. При этом широко используются и микрочиповые технологии. Наиболее разнообразную группу представляют молекулярно-генетические методы, которые позволяют идентифицировать гены и анализировать их структуру. Они используют способность полинуклеотидов к специфической амплификации и гибридизации со специальными мечеными зондами. Для молекулярно-генетических исследований применяются технологии полимеразной цепной реакции, Саузерн- и Нозерн-гибридизации, микрочипирования, масс-спектрометрии, секвенирования по Сенгеру, а также различные модификации секвенирования нового поколения (next generation sequencing data – NGS). Каждый из молекулярно-генетических методов отличается чувствительностью, специфичностью, а также сроками выполнения и стоимостью исследований.

До недавнего времени молекулярно-цитогенетические и молекулярно-генетические исследования в основном проводились в научных целях. Однако в последние годы в мире наблюдается активное вне-

дрение этих методов в практическую диагностику. Широкие возможности данного направления послужили основанием для включения целого ряда методов генодиагностики в номенклатуру медицинских услуг и стандарты оказания медицинской помощи. Эти нормативные документы разработаны Министерством здравоохранения в соответствии с принятой в России «Концепцией развития национальной системы стандартизации».

В настоящее время нормативно-правовая база насчитывает около 11 тысяч медицинских услуг и более 800 стандартов оказания различных видов медицинской помощи. Однако в литературе пока еще недостаточно обобщенных сведений о том, какие услуги и стандарты связаны с проведением генетических исследований. Это может затруднять организацию лечебно-диагностического процесса, страховую деятельность, медицинское снабжение и подготовку кадров.

Цель исследования. Проанализировать стандарты оказания медицинской помощи и действующую номенклатуру медицинских услуг.

Материалы и методы. Проанализировано содержание более 800 стандартов медицинской помощи, в том числе 287 стандартов первичной медико-санитарной помощи, 454 – специализированной, 66 – скорой и 7 – паллиативной медицинской помощи (официальный сайт Минздрава России – электронный

ресурс: <https://www.rosminzdrav.ru>). Также изучена нормативная база, регламентирующая проведение генетических исследований в клинической практике. В том числе проанализированы Федеральные законы (от 21.11.2011 №323-ФЗ «Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации»; от 29.06.2015 г. № 162-ФЗ «О стандартизации в Российской Федерации»); постановление Правительства Российской Федерации (РФ) от 24.09.2012 года № 1762-р «О концепции развития национальной системы стандартизации Российской Федерации на период до 2020 года»; приказ Министерства здравоохранения РФ от 13 октября 2017 г. № 804н «Об утверждении номенклатуры медицинских услуг», приказ Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии Министерства промышленности и торговли Российской Федерации от 31.03.2015 г. № 200-ст. «Об утверждении национального стандарта», отраслевые стандарты выполнения медицинских услуг (официальный сайт Росстандарта – электронный ресурс: <http://www.gost.ru>).

Результаты и их обсуждение. Показано, что из всех утвержденных на сегодняшний день стандартов оказания медицинской помощи медицинские услуги, связанные с проведением генетических исследований, включены в 141 стандарт (около 20% от всех действующих стандартов). Среди них 38 стандартов первичной и 103 – специализированной медицинской помощи (табл. 1).

Таблица 1

Стандарты оказания медицинской помощи, включающие генодиагностику по классам заболеваний

Класс заболеваний (МКБ-10)	Стандарты оказания мед.помощи, включающие медицинские услуги по выполнению генетической диагностики		
	первичная мед. помощь	специализированная мед. помощь	всего
Класс I. Некоторые инфекционные и паразитарные болезни (A00-B99)	1	19	20
Класс II. Новообразования (C00-D48)	5	17	22
Класс III. Болезни крови, кроветворных органов и отдельные нарушения, вовлекающие иммунный механизм (D50-D89)	4	24	28
Класс IV. Болезни эндокринной системы, расстройства питания и нарушения обмена веществ (E00-E90)	8	–	8
Класс V. Психические расстройства и расстройства поведения (F00-F99)	–	2	2
Класс VI. Болезни нервной системы (G00-G99)	1	12	13
Класс IX. Болезни системы кровообращения (I00-I99)	–	1	1
Класс X. Болезни органов дыхания (J00-J99)	–	5	5
Класс XII. Болезни кожи и подкожной клетчатки (L00-L99)	1	–	1
Класс XIII. Болезни костно-мышечной системы и соединительной ткани (M00-M99)	2	8	10
Класс XIV. Болезни мочеполовой системы (N00-N99)	8	5	13
Класс XV. Беременность, роды и послеродовой период (O00-O99)	1	–	1
Класс XVI. Отдельные состояния, возникающие в перинатальном периоде (P00-P96)	–	2	2
Класс XVII. Врожденные аномалии (пороки развития), деформации и хромосомные нарушения (Q00-Q99)	–	5	5
Класс XX. Внешние причины заболеваемости и смертности (V01-Y98)	–	1	1
Класс XXI. Факторы, влияющие на состояние здоровья и обращения в учреждения здравоохранения (Z00-Z99)	7	2	9

Показано, что на этапе первичной медицинской помощи стандарты регламентируют проведение генетических исследований при заболеваниях, относящихся преимущественно к классам: «Новообразования», «Болезни эндокринной системы, расстройства питания и нарушения обмена веществ», «Болезни мочеполовой системы», а также при трансплантациях органов и тканей, отнесенных к XXI классу заболеваний. На этапе специализированной медицинской помощи генетические исследования регламентированы в основном для заболеваний классов: «Некоторые инфекционные и паразитарные заболевания», «Новообразования», «Болезни крови, кроветворных органов», «Болезни нервной системы», «Болезни органов дыхания», «Болезни костно-мышечной системы и соединительной ткани», «Болезни мочеполовой системы», а также «Врожденные аномалии (пороки развития), деформации и хромосомные нарушения».

Нозологические формы и патологические состояния, требующие проведения генетических исследований, представлены в таблице 2. В случаях инфекционной патологии генетические методы применяются с целью диагностики скрытых инфекций, а

также для выявления возбудителей, отличающихся разнообразием жизненных форм и полиморфностью антигенного состава. В классе «Новообразования» генетические исследования должны проводиться при состояниях, требующих уточнения природы патологических мутаций, в том числе связанных с действием некоторых вирусов. Среди других нозологических форм, в отношении которых регламентировано проведение генетических исследований, преобладают мультифакториальные заболевания, энзимопатии, а также болезни обмена.

В номенклатуре медицинских услуг более 1100 услуг (около 10% номенклатуры) связаны с проведением различных генетических исследований. Из них около 60% обеспечивают диагностику соматической патологии, остальные направлены на выявление нуклеиновых кислот возбудителей инфекционных и паразитарных заболеваний.

Большинство генетических исследований представляют самостоятельные диагностические методики (медицинские услуги «А» класса). Методы генодиагностики наследственных заболеваний направлены на исследование кариотипа, идентификацию генов

Таблица 2

Заболевания и патологические состояния, требующие проведения генетических исследований (в соответствии с утвержденными стандартами оказания медицинской помощи)

Класс I. Некоторые инфекционные и паразитарные болезни: вирусная инфекция неясной этиологии; вирусный конъюнктивит; вирусный энцефалит, миелит; герпес; дифтерия; клещевой энцефалит; коклюш; краснуха; мононуклеоз у детей; псевдотуберкулез; стрептококковая септицемия; хроническая бактериальная инфекция у детей; цитомегаловирусная инфекция у детей; вирусные гепатиты А, В, С; ВИЧ-инфекция.
Класс II. Новообразования: глиобластома; миелома; нейробластома; неходжкинская лимфома; новообразования гипофиза; новообразование головного мозга и мозговых оболочек; ретинобластома.
Класс III. Болезни крови, кроветворных органов и отдельные нарушения, вовлекающие иммунный механизм: апластическая анемия; болезнь Вильсона; болезнь Нимана-Пика; гипогонадизм; гипопаратиреоз; задержка полового развития у детей; задержка роста у детей; преждевременное половое созревание у детей; инсулинзависимый сахарный диабет; миелопролиферативные заболевания; муковисцидоз; мукополисахаридоз; нарушения обмена аминокислот; нарушения формирования пола у детей; неадекватная секреция антидиуретического гормона; пропионовая ацидемия; талассемия; тирозинемия; тромбоцитопеническая пурпура; фенилкетонурия; хроническая надпочечниковая недостаточность.
Класс IV. Болезни эндокринной системы, расстройства питания и нарушения обмена веществ: аденогенитальные нарушения; кистозный фиброз; метилмалоновая ацидемия; олиго- и аменорея.
Класс V. Психические расстройства и расстройства поведения: аутизм.
Класс VI. Болезни нервной системы: внутричерепные и внутрипозвоночные абсцессы; паралич Белла; рассеянный склероз; рассеянный энцефаломиелит; спинальные мышечные атрофии; экстрапирамидные и двигательные нарушения; эпилепсия.
Класс IX. Болезни системы кровообращения: сердечная недостаточность.
Класс X. Болезни органов дыхания: одонтогенные верхнечелюстные синуситы; грипп; острые респираторные заболевания; хронические болезни органов дыхания у детей; тонзиллит.
Класс XII. Болезни кожи и подкожной клетчатки: герпетиформный дерматит; буллезный пемфигоид; склеродермия; эксфолиативный дерматит.
Класс XIII. Болезни костно-мышечной системы и соединительной ткани: дерматополимиозит; системная красная волчанка; системные поражения соединительной ткани; системный склероз; спондилоартриты.
Класс XIV. Болезни мочеполовой системы: воспалительные заболевания половых органов; воспалительные процессы семенного пузырька, семенного канатика, влагалищной оболочки и семявыносящего протока; доброкачественные заболевания шейки матки; нефротический синдром; сальпингит и оофорит; тубулопатии (дисфункция почечных канальцев); уретриты; цистит.
Класс XV. Беременность, роды и послеродовой период: привычное невынашивание беременности.
Класс XVI. Отдельные состояния, возникающие в перинатальном периоде: гипоксии плода, недостаточный рост плода, другие плацентарные нарушения.
Класс XVII. Врожденные аномалии (пороки развития), деформации и хромосомные нарушения: врожденный стеноз аортального клапана; врожденные аномалии (пороки развития) сердечной перегородки; задержка полового развития у детей; стеноз легочной артерии и другие врожденные аномалии легочной артерии; туберозный склероз.
Класс XXI. Факторы, влияющие на состояние здоровья и обращения в учреждения здравоохранения: бесплодие; трансплантация кишки; легкого; сердца; печени; поджелудочной железы; почки; костного мозга.

методом полимеразной цепной реакции или флюоресцентной гибридизации *in situ*, а также определение полиморфизма генов и выявление точечных мутаций (по типу замены азотистых оснований или нуклеотидов). В ряде случаев предполагается проведение комплексных генетических обследований (медицинские услуги «В» класса), в том числе комплексы исследований пробанда (В03.006.001), диагностики болезни Дауна (В03.006.002), аденогенитального синдрома (В03.006.003), скрининг наследственно обусловленных заболеваний обмена (В03.006.004). Генодиагностика при инфекционных заболеваниях направлена на выявление возбудителей скрытых и редких инфекций.

Анализ отечественной [1–3, 5–10] и иностранной [4, 11–17] литературы позволил выявить ряд проблемных вопросов, связанных с молекулярно-генетической диагностикой, решение которых может повлиять на дальнейшее развитие этой отрасли. Так, в номенклатуру медицинских услуг включены некоторые молекулярно-генетические исследования без указания конкретных диагностических методов и их модификаций. Практическим специалистам предлагается самостоятельно принимать решения об использовании тех или иных методов молекулярно-генетических исследований, имеющих в их распоряжении. С одной стороны, это расширяет диагностические возможности, с другой – повышает ответственность за принятое решение, поскольку диапазон методов широк [4, 10], все они отличаются как сроками выполнения и стоимостью исследований [1, 5], так и особенностями интерпретации полученных результатов [6, 15]. Решение этой проблемы видится в разработке отраслевых стандартов оказания соответствующих медицинских услуг, которые в настоящее время еще не приняты.

Несмотря на высокие чувствительность и специфичность, молекулярно-генетические методы не являются абсолютными [1, 5]. При диагностике различных наследственных заболеваний частота ложноположительных и ложноотрицательных результатов генетических методов может составлять от 0,5 до 3–5% [4, 10]. Это объясняется сложностью выполнения исследований, спецификой исследуемого материала и технологическими особенностями методов генодиагностики [5, 11, 13].

Большинство молекулярно-генетических исследований относятся к непрямым диагностическим методам. Они позволяют судить о заболевании по косвенным признакам, например наличию или отсутствию в пробе маркерных полинуклеотидных последовательностей [12, 16, 17]. При этом нуклеиновые кислоты не всегда стабильны, сведения об особенностях их экспрессии и динамике циркуляции ограничены [2, 4, 10, 12]. Поэтому интерпретация результатов молекулярно-генетических исследований требует от клиницистов специалистов опыта и широкого медико-биологического кругозора.

Эффективное применение методов молекулярно-генетической диагностики предполагает дополнительную подготовку практических врачей. Недостаточно глубокие знания основ молекулярной генетики, геномики и транскриптомики затрудняют определение показаний к назначению генетических исследований и интерпретации их результатов [5, 14, 17]. Решением этой проблемы может служить организация курсов повышения квалификации по вопросам генодиагностики для практических специалистов. Это особенно актуально для врачей, обучавшихся в медицинских вузах по старым Государственным образовательным стандартам, когда молекулярно-генетические исследования имели ограниченное применение. Такая работа уже проводится в ряде ведущих медицинских вузов. Например, с 2017 г. в Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова организован цикл повышения квалификации «Геномика, протеомика». Цикл рассчитан на 36 часов, предназначен для врачей широкого спектра специальностей. Обучение направлено на повышение уровня подготовки практических специалистов по применению молекулярно-генетических методов диагностики, а также интерпретации их результатов.

Заключение. Генодиагностика представляет высокотехнологичное, активно развивающееся направление, которое постепенно выделяется в самостоятельную отрасль медицины. Дальнейшее развитие этого направления связано с широким внедрением генетических методов исследования в практику. Вместе с тем нормативно-правовая база применения в клинической практике методов молекулярно-цитогенетических и молекулярно-генетических исследований требует дальнейшего совершенствования.

Литература

1. Амвросьева, Т.В. Генодиагностика инфекционных болезней / Т.В. Амвросьева // Медицинские новости. – 2004. – № 2. – С. 21–23.
2. Амосенко, Ф.А. Сравнение различных методов молекулярно-генетического анализа соматических мутаций в гене K-ras при колоректальном раке / Ф.А. Амосенко [и др.] // Вестн. РАМН. – 2012. – № 2. – С. 35–41.
3. Андосова, Л.Д. Выявление вируса папилломы человека высокого канцерогенного риска у женщин репродуктивного возраста / Л.Д. Андосова [и др.] // Мед. альманах. – 2010. – № 4. – С. 155–157.
4. Глик, Б. Молекулярная биотехнология. Принципы и применение / Б. Глик, Дж. Пастернак. – М.: Мир, 2002. – 589 с.
5. Гинцбург, А.Л. Генодиагностика инфекционных заболеваний / А.Л. Гинцбург // Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол. – 1998. – № 3. – С. 86–95.
6. Дятлов, И.А. Состояние и тенденции развития клинической и санитарной микробиологии в Российской Федерации и проблема импортозамещения / И.А. Дятлов [и др.] // Клин. лаб. диагностика. – 2015. – № 8. – С. 61–64.
7. Дубровин, Е.В. Применение атомно-силовой микроскопии для 3D-анализа результатов гибридизации нуклеиновых кислот на микрочипах / Е.В. Дубровин [и др.] // ACTA NATURAE. – 2015. – № 2. – С. 117–124.
8. Иммель, Л.А. Защита прав пациентов при проведении клинических испытаний новейших достижений биотехнологии в медицине: общая характеристика / Л.А. Иммель // Про-

- белы в российском законодательстве. – 2014. – № 2. – С. 103–105.
9. Романовский, Г.Б. Правовое регулирование генетических исследований в России и за рубежом / Г.Б. Романовский // Сравнительное право. – 2016. – № 7. – С. 93–102.
 10. Фомченко, Н.Е. Перспективы использования генодиагностики в медицине / Н.Е. Фомченко [и др.] // Проблемы здоровья и экологии. – 2011. – № 3. – С. 33–39.
 11. Crannell, Z. Quantification of HIV-1 DNA Using Real-Time Recombinase Polymerase Amplification / Z. Crannell [at al.] // Analytical Chemistry. – 2014. – Vol. 86, № 12. – P. 5615–5619.
 12. Dinardo, C.D. Beyond morphology: Minimal residual disease detection in acute myeloid leukemia / C.D. Dinardo, S.M. Luger // Curr. Opin. Hematol. – 2012. – Vol. 19. – P. 82–88.
 13. Khan, A.H. Application of immuno-PCR for the detection of early stage cancer / A.H. Khan, E. Sadroddiny // Molecular and cellular probes. – 2016. – Vol. 30. – P. 106–112.
 14. Ochman, H. Genetic applications of an inverse polymerase chain reaction / H. Ochman [at al.] // Genetics. – 1988. – Vol. 120, № 3. – P. 621–623.
 15. Waldenström, J. New Nested Polymerase Chain Reaction Method Very Efficient in Detecting Plasmodium and Haemoproteus Infections From Avian Blood / J. Waldenström [at al.] // Journal of Parasitology. – 2004. – Vol. 90, № 1. – P. 191–194.
 16. Weiss, G.J. A Pilot Study Using Next-Generation Sequencing in Advanced Cancers: Feasibility and Challenges / G.J. Weiss [at al.] // PLOS ONE. – 2013. – Vol. 8. – P. 1–7.
 17. Young, R. Circulating tumor cells in lung cancer / R. Young [at al.] // Acta Cytol. – 2012. – Vol. 56. – P. 655–660.

V.Yu. Kravtsov, A.I. Solovov, I.A. Ivanov

Genetic researches in standards of delivery of health care

Abstract. The analysis of legal base of genetic researches in clinical practice is carried out. Modern standards of medical care are analyzed. The list of the diseases and pathological states demanding performance of genetic researches is made. The list of the medical services connected with genetic researches is also made. It is shown, that genetic researches make 10% of the nomenclature of medical services. From them about 60% medical services provide diagnosis of somatic pathology, the others are directed to identification of nucleic acids of causative agents of infectious and parasitic diseases. Genetic researches are carried out mainly at a stage of specialized and primary medical care. Genetic researches are included in 20% of standards of medical care. Genetic researches are conducted concerning 15 classes of diseases. More often genetic researches are conducted for diagnosis of the latent infections, enzymopatiya, hereditary diseases of a metabolism, and also cancer. There are some problems of cytogenetic and molecular genetic diagnostics in hospitals. Genetic researches are complex and expensive. Interpretation of the received results is difficult. It is necessary to develop standards of genetic researches. It is necessary to improve legal base of genetic researches.

Key words: cytogenetic researches, molecular cytogenetic researches, molecular and genetic researches, molecular and genetic diagnostics, normative documents, medical services, standards of medical care.

Контактный телефон: +7-911-811-32-49; e-mail: solopiter@gmail.com