



# МЕТОДЫ ПРОФИЛАКТИКИ И КОРРЕКЦИИ В ВОССТАНОВИТЕЛЬНОЙ МЕДИЦИНЕ

## ГЕНЕТИЧЕСКОЕ ТЕСТИРОВАНИЕ – ОСНОВА ПРЕДИКТИВНО-ПЕРСОНАЛИЗИРОВАННОЙ МЕДИЦИНЫ

УДК 616-03

<sup>1</sup>Жученко Н.А.: доцент кафедры медицинской генетики, к.м.н.;

<sup>2</sup>Титель Ю.Б.: главный врач;

<sup>2</sup>Якоб О.В.: заместитель главного врача, д.м.н.;

<sup>3</sup>Хаммад Е.В.: заведующий отделением, к.м.н.;

<sup>1</sup>Асанов А.Ю.: заведующий кафедрой медицинской генетики, д.м.н., профессор.

<sup>1</sup>ГБОУ ВПО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» Минздрава России, г. Москва, Россия

<sup>2</sup>Клиника «Пятый элемент», г. Москва, Россия

<sup>3</sup>ФГБУ «Лечебно-реабилитационный центр» Минздрава России, г. Москва, Россия

## GENETIC TESTING – THE BASIS OF THE PREDICTIVE PERSONALIZED MEDICINE

Zhuchenko N.A.; Titel' Ju.B.; Jakob O.V.; Hammad E.V.; Asanov A.Ju.

*...Сегодня мы имеем принципиально новую парадигму развития человечества в XXI в., возникшую на основе последних достижений генетики – это зарождение персональной, прогностической (предиктивной) и профилактической медицины...*

*академик РАН К. Скрыбин*

### Введение

Одним из наиболее перспективных направлений современной медицины является разработка методов индивидуальной профилактики и индивидуального лечения, основанных на понимании молекулярных основ этиологии и патогенеза болезни или комплекса заболеваний, развивающихся у определенного больного. В начале XX века С.П. Боткин писал – «есть одинаковые болезни, нет одинаковых больных» и сегодня эти слова получили блестящее подтверждение. Геномы всех людей, не исключая и однояйцевых близнецов, различны. Независимое наследование родительских хромосом и генетическая рекомбинация в мейозе создает неисчерпаемое генетическое разнообразие человека. Расчеты, выполненные Н.П. Бочковым и А.Ю. Асановым (1989) свидетельствуют, что за всю историю человечества на земном шаре не было, нет, и в обозримом будущем не встретится, генетического повторения, т.е. каждый рожденный человек является уникальным явлением во Вселенной. Неповторимость генетической конституции во многом определяет здоровье и особенности развития заболевания у каждого конкретного человека.

В настоящее время не вызывает сомнения тот факт, что в этиологию подавляющего большинства наиболее

частых болезней человека, которые в генетике называют мультифакториальными, существенный вклад вносят генетические составляющие. Революционные достижения генетики человека, связанные с расшифровкой генома человека привели к тому, что задачи классической медицины – диагностика, профилактика и лечение – решаются не только на уровне организма в целом, но и на уровне генов и метаболических сетей, а также отдельных молекул ДНК, РНК, белков. Настоящий обзор посвящен описанию достижений в области поиска и идентификации генов мультифакториальных заболеваний, а также перспектив их использования в клинической практике.

### Генетический груз

*«Генетический груз – это цена, которую вынуждена платить популяция за право эволюционировать.»*

*Д. Холдейн*

Человек, став биологическим видом *Homo sapiens*, как бы заплатил за «разумность» своего вида накоплением патологических мутаций, которые в значительной мере определяют наследственную изменчивость, необходимых виду для возможных эволюционных преобра-

зований (сегрегационный генетический груз). Другие патологические мутации возникают в каждом поколении как результат новых изменений наследственных структур (мутационный груз). Эффекты мутационного и сегрегационного груза получили название генетический груз. Негативные эффекты генетического груза проявляются повышенной летальностью, в том числе гибелью гамет, зигот, эмбрионов и детей, снижением фертильности, уменьшением продолжительности жизни, социальной дизадаптацией и инвалидизацией, повышенной необходимости в медицинской помощи и др. Так например, по данным многочисленных исследований, на 1000 новорожденных приходится примерно 50–70 детей с врожденными пороками развития (ВПР) 2–5%, наследственными болезнями – 1,5% (хромосомные 0,5% и генные 1%), болезнями с выраженным наследственным предрасположением – 3–3,5% [1].

Сегодня достигнуты серьезные успехи в борьбе с моногенными болезнями, так обнаружены и картированы гены всех основных моногенных болезней (около 1500), успешно выясняются молекулярные основы их патогенеза, разрабатываются основы терапии и профилактики моногенных болезней, особенно пренатальная диагностика.

Однако, моногенные болезни встречаются сравнительно редко, на их долю приходится не более 1,5% всей патологии человека, тогда как основную часть заболеваний составляют МФЗ (свыше 98%).

Успехи в идентификации генов МФЗ значительно скромнее, это связано в первую очередь с трудностью выявления роли наследственных факторов в их развитии, со сложностью реализации наследственной предрасположенности, обусловленной тем, что для манифестации данной группы болезней необходимо тесное взаимодействие факторов генетической предрасположенности и внешней среды. Причем эта связь тесная и при наличии, только одного из компонентов (генов или средовых) развития заболевания, как правило, не происходит.

В последние годы изучение генетических факторов риска МФЗ приобретает все большее значение для практического здравоохранения, так как большая значительная часть населения страдает мультифакториальными заболеваниями, т.е. связанными с генетической предрасположенностью.

### Геном человека и генетический полиморфизм

*«Природа подобно великому поэту умеет чрезвычайно экономными средствами достигать удивительного разнообразия».*

*Генрих Гейне*

Расшифровка генома человека, свершившаяся в апреле 2003 года в результате успешного завершения Международной научной программы «Геном человека», представляет собой сегодня не только огромный вклад генетики в фундаментальные науки человека, но и явилась решающей предпосылкой в возникновении нового научно-практического направления – молекулярной медицины [2, 3].

Известно, что секвенирование геномов у представителей разных рас и этнических групп выявило удивительное сходство первичной структуры их ДНК. Все люди, населяющие нашу планету, действительно являются генетическими братьями и сестрами. Более того, межиндивидуальная вариабельность между представителями белой, желтой и черной рас не превысила 0,1%.

Однако, «достаточно взглянуть друг на друга, а тем более пообщаться с себе подобными, чтобы убедиться, что все мы разные как внешне, так и по своим характеристическим качествам. Поскольку наша внешняя и, в значительной мере, внутренняя индивидуальность – продукт деятельности наших генов» [4].

Установлено, что практически все гены человека имеют в своей структуре молекулярные отличия (полиморфизмы), приводящие к синтезу белков с несколько измененными структурными и функциональными характеристиками. Генетическая вариабельность, получила название генетического полиморфизма (ГП), который встречается в популяции по крайней мере в 2 вариантах с частотой не менее 1% для каждого. Эти изменения могут быть качественными, когда они обусловлены заменой или потерей нуклеотидов, или количественными, когда в определенном локусе варьирует число нуклеотидных повторов различной протяженности. И те, и другие варианты генетического полиморфизма встречаются как в смысловых (внутри экзонных), так и в бессмысловых (внегенных или интронных) последовательностях молекулы ДНК.

Существует несколько типов полиморфизма ДНК:

- полиморфизм по числу и распределению мобильных генетических элементов;
- полиморфизм по числу копий тандемных повторов ДНК (VNTR – variable number of tandem repeats);
- однонуклеотидные замены (SNP) в последовательности ДНК.

Главным образом генетический полиморфизм представлен однонуклеотидными заменами (SNP – single nucleotide polymorphisms), под этим термином понимают варианты последовательностей ДНК у разных людей с вовлечением одной пары оснований. Такие замены весьма многочисленны, их общее число в геноме оценивается величиной порядка  $1-13 \times 10^6$ .

Благодаря генетическому полиморфизму каждый человек имеет свой индивидуальный биохимический портрет, свою норму функциональных биохимических реакций, свои адаптационные возможности в условиях действия повреждающих факторов внешней среды. Генетическим разнообразием определяется факт, что люди существенно отличаются друг от друга индивидуальными реакциями на внешние агенты, инфекции, пищевые продукты, на действия токсинов и лекарственных препаратов.

Наиболее ярким примером генетических различий в реакции на пищевые продукты является гиполактазия у взрослых (неспособность усваивать свежее молоко). У всех детей в кишечнике функционирует фермент лактаза (ЛФГ), необходимый для всасывания молочного сахара. Фермент лактаза участвует в расщеплении дисахарида лактозы на глюкозу и галактозу, которые легко всасываются в кишечнике. У части людей ЛФГ кишечника инактивируется после прекращения вскармливания грудным молоком. Поэтому большинство взрослых не усваивают лактозу. Однако существует мутация, при которой способность всасывать лактозу сохраняется. В Центральной и Северной Европе большое число людей имеет мутантный ген, так же мутация выявляется и в некоторых регионах Африки и Азии, где группы людей издревле практиковали молочное животноводство. При употреблении в пищу натурального молока и ряда других продуктов, содержащих лактозу, люди, неспособные к ее усвоению, страдают расстройством пищеварения, диареей.

В связи с огромной социальной значимостью и непрерывным возрастанием распространения синдрома приобретенного иммунодефицита (СПИДа) в любых популяциях человека, были предприняты интенсивные исследования о вкладе генетических факторов в развитие этого заболевания. В конце 1990-х гг. было показано, что наследственная восприимчивость человека к ВИЧ-инфекции и развитию болезни определяется аллельным состоянием ряда конкретных генов [5]. К ним принадлежат гены хемокина SDF1 (CXCL12) и гены рецепторов хемокинов CCR2 и CCR5. Хемокиновый рецептор определяет внедрение макрофаг-тропного вируса в клетку. Делеция в этом гене приводит к синтезу функционально неактивного продукта. Лица, в геноме которых присутствует делеция остаются неинфицированными даже при длительной экспозиции вируса. Стало известно, что быстрая прогрессия (менее, чем за 3 года) СПИДа после инфицирования ВИЧ у 40% больных связана с наличием аллелей только «дикого» типа генов CCR2 и CCR5, тогда как медленная прогрессия, при которой на протяжении 16 и более лет симптомы СПИДа не развиваются, в 30% случаев объясняются носительством мутантных аллелей этих генов.

Каждый человек генетически неповторим. Именно эти его особенности предопределяют врожденную предрасположенность человека к тем или иным заболеваниям. Тестируя полиморфизмы генов, выясняя сильные и слабые стороны, звенья своего генома, мы можем узнать какая патология, и с какой вероятностью ожидает каждого из нас в будущем.

Автор знаменитой модели двухспиральной молекулы ДНК лауреат Нобелевской премии Д.Д. Уотсон так образно выразил эту мысль: «Было принято считать, что наша судьба скрыта в наших звездах. Однако теперь мы точно знаем, что она записана в наших генах».

### Методы идентификации генетических факторов риска МФЗ

Длительное время методические трудности исследования мультифакториальных болезней были связаны с невозможностью выделить патогенетически значимый генетический комплекс, который в сочетании с неблагоприятными факторами среды приводил бы к возникновению заболевания.

Анализ сцепления. Впервые участие генетических факторов в этиологии мультифакториальных заболеваний было показано при исследовании семейных случаев, особенно при сравнении частот этих заболеваний у ди- и монозиготных близнецов. Для поиска хромосомных локусов, в которых предположительно расположен ген, участвующий в контроле данного заболевания, был разработан метод анализа сцепления (linkage analysis), который проводится в семьях больных. Анализ сцепления проведен практически для всех широко распространенных мультифакториальных заболеваний. Для большинства из них найдено несколько хромосомных локусов, ассоциированных с заболеванием.

Поиск генов-кандидатов. Независимым методом поиска генетических факторов риска, предрасполагающих к развитию заболевания, является изучение генетических ассоциаций (GAS – genetic association studies).

Генетические ассоциации означают, что определенный аллель того или иного гена встречается чаще у лиц с определенным заболеванием, чем этот аллель встречается в популяции, или иной группе индивидуумов, подходящей для сравнения.

В таблице 1 приведены данные о генетических ассоциациях (ГА) с некоторыми болезнями, патологическими признаками, индивидуальными реакциями на лекарственные препараты.

Так, у индивидов, являющихся носителями рискового аллеля G гена *LOXL1*, вероятность иметь тяжелую форму глаукомы в 20 раз выше, чем у индивидов, имеющих другие полиморфизмы этого гена. У больных сахарным диабетом 1-го типа выявлена ассоциация с аллелем *DQA1\*0301* – HLA-гена (у 83%) [7]. Примеры ассоциаций генетических полиморфизмов с различными типами опухолей приведены в табл. 2.

Однако следует отметить, что любой отдельный полиморфизм гена обычно объясняет только 1–8% от общего риска заболевания в популяции, т.е. реальный вклад каждого гена-маркера в развитие заболевания не велик.

Патогенез каждого мультифакториального заболевания – это сложный процесс, в который вовлекаются много разных функционально взаимосвязанных генов той или иной генной сети. Так, примерно 20–25% всех пациентов, испытывающих первый приступ сердечно-сосудистого заболевания, имеют только один главный фактор риска заболевания, и только у половины наблюдается повышение уровня холестерина липопротеинов низкой плотности. Наряду с главными генами, провоцирующими начало болезни, всегда присутствуют другие, второстепенные, в том числе многочисленные гены-модификаторы. Расчеты показывают, что аддитивный эффект нескольких таких полиморфизмов может составлять до 20–70% общего риска, обусловленного генетическими факторами.

Например в серии работ, выполненных под руководством проф. В.В. Носикова по изучению частот аллелей генов *DQA1* и *DQB1* у больных СД1 и у здоровых индивидов русского происхождения установлено неслучайное распределение аллелей и выявлены аллельные ассоциации [7]. Так, у больных СД1 достоверно чаще по сравнению с контролем встречаются аллели *DQA1 – 0301; 0401* и *DQB1 – 0201; 0302*. Показатели наследственного риска сахарного диабета 1-го типа (СД1) особенно значительны при учете не отдельных аллелей, а их комбинаций. Гомозиготы по всем 4 предрасполагающим аллелям генов *DQA1* и *DQB1* у больных СД1 составили 52%, а в контроле – только 4%.

Другим примером может служить сочетание генотипов по генам системы детоксикации у больных эндометриозом. Так, в случае генотипа *GSTM1 0/0 + GSTT1 0/0* риск развития эндометриоза увеличивается в 5 раз, *GSTT1 0/0 + NAT2 S/S* – более, чем в 3,5 раза, тогда как каждый в отдельности «функционально неполноценный» генотип (*GSTM1 0/0* и *NAT2 S/S*) не ассоциирован с развитием эндометриоза. Еще более четкие закономерности отмечены при анализе сочетаний трех и четырех «функционально ослабленных» генотипов по генам системы детоксикации. Показано, что сложный сочетанный генотип по трем генам *GSTM1 0/0 + GSTT1 0/0 + NAT2 S/S* увеличивает риск развития эндометриоза в 10 раз [8].

Наиболее опасным для возникновения хронических пневмоний, обтурационных бронхитов, эмфиземы легких и астмы является сочетание неблагоприятных аллелей нескольких генов с аддитивным эффектом: микросомальной эпоксидгидролазы, *CC16*, интерлейкинов 4 и 9, а также альфа-1-антитрипсина.

В настоящее время в компьютерных базах данных имеются сведения о генетических факторах риска,

**Таблица 1.** Примеры надежных генетических ассоциаций для распространенных болезней и признаков человека [6]

Ген (символ)	Название гена	Функция продукта гена	OMIM
Болезни мультифакториальной природы: GAS с высоким уровнем доказательности (P < 10 <sup>-8</sup> )			
Сахарный диабет 1 типа			
HLA-DRB1	Один из генов MHC локуса	Белок имеет отношение к формированию Т-клеточного иммунитета	142857
INS	Ген инсулина	Известен противовоспалительный эффект белка	176730
CTLA4	Ген, ассоциируемый с цитотоксическими Т-лимфоцитами	Неспецифическая активация Т-клеток	123890
Сахарный диабет 2 типа			
KCNQ1	Ген калиевого канала KQT — подобного подсемейства	Белок, участвующий в регуляции транспорта К	607542
TCF7L2	Ген транскрипционного фактора	Транскрипционный фактор, участвующий в регуляции гомеостаза глюкозы	602228
PPARG	Ген гамма- рецептора пероксисомной активации пролиферации	Белок-рецептор подсемейства транскрипционных факторов	601487
Возрастная дегенерация сетчатки			
CFH	Ген фактора Н-комплемента	Гликопротеин, регулирующий процессы клеточной мембраны	134370
HTRA1	Ген серин пептидазы	Серин пептидаза, инсулиноподобный фактор, стимулирующий пролиферацию клеток	602194
Фармакогенетика. Около 40% всех лекарственных средств имеют генетическую информацию (Fruech, 2008)			
CYP2C9	Ген цитохрома P450, подсемейства IIC, полипептида 9	Участник ферментной системы метаболизма ксенобиотиков	601130
VKORC1	Ген субъединицы эпоксид-редуктазы вит.К	Трансмембранный белок эндоплазматического ретикулома	608547
TPMT	Ген тиопурин S-метилтрансферазы	Белок, снимает цитотоксические эффекты тиопуринов	187680
CYP2D6	Ген цитохрома P450, подсемейства IID, полипептида 6	Участник ферментной системы метаболизма ксенобиотиков	124030

**Таблица 2.** Ассоциации генетических полиморфизмов с различными типами опухолей [1]

Ген	Полиморфизм	Тип рака	OR, отношение шансов (95% доверительный интервал)
GSTM1	Нулевой аллель	Рак мочевого пузыря	1,50 (1,30-1,60)
		Лейкоз	1,20 (1,14-1,25)
CYP1A1	Ile462Val	Рак пищевода	2,52 (1,62-3,91)
	Msp1	Рак легкого	2,36 (1,16-4,81)
AR	GGN16	Рак простаты	1,31 (1,06-1,61)
CHEK2	*1100delC	Рак молочной железы	2,40 (1,80-3,20)

исследуемых в отношении более чем 2000 мультифакториальных заболеваний. Тридцатью из них страдает 65% всего взрослого населения, причем для наиболее распространенных болезней часто характерна синтропия, т.е. неслучайное их сочетание у больных. Синтропия родственных заболеваний часто определяется вовлеченностью в патогенез одних и тех же метаболических путей.

Метаболический синдром – представляет «квартет» из следующих состояний: гипертония, гиперхолестеринемия, гипергликемия, ожирение (табл.3). Неслучайность сочетания отдельных патологических форм, объединенных сходством патогенеза у индивидуума и его ближайших родственников, объясняется участием общих генетических факторов, т.к. для человека характерно наличие общих генов, вовлеченных в патогенез разных, но нередко сочетающихся болезней. Поэтому в семье пациента с метаболическим синдромом могут встречаться родственники с полным вариантом синдрома или отдельными его проявлениями.

Метод полногеномного анализа ассоциаций. Разработки и внедрение новых, высокотехнологичных способов анализа генома человека, в том числе с использованием микрочип-технологий, дали возможность определять изменение структуры генов во всех хромосомах. Более эффективным и широко используемым в настоящее время является метод полногеномного анализа ассоциаций (GWAS – genome wide association studies). Принцип метода заключается в сканировании сотен тысяч маркеров, расположенных на всех хромосомах человека. Дизайн современных чипов включает максимальное количество ключевых снипов (SNP) и позволяет оценить частоту как единичных маркеров, так и гаплотипов по всей длине молекулы ДНК.

Начиная с 2005 года, с применением методологии GWAS идентифицированы многие сотни маркерных аллелей, ассоциированных более чем с 89 МФЗ. Для большинства из них характерны следующие особенности: малый вклад в риск развития заболевания ( $OR < 1,2-1,5$ ); увеличение риска у носителей комбинаций полиморфных аллелей; значительное увеличение риска при сочетании неблагоприятных средовых и генетических факторов; присутствие общих кандидатных генов и полиморфизмов, ассоциированных с разными заболеваниями [9, 10].

Классической стала работа, выполненная в рамках WTCCC-консорциума (Wellcome Trust case control consortium). С использованием общего набора из 500, 568 SNPs проведен полногеномный анализ для 7 наиболее частых заболеваний человека, таких как маниакально-депрессивный психоз (МДП), ИБС, болезнь Крона (БК), ЭГ, ревматоидный артрит (РА), сахарный диабет 1 типа (СД1), СД2. При этом для каждого заболевания найдены достоверные ассоциации ( $p < 0,0001$ ) более чем с 1000 SNPs. 24 из них оказались очень

сильными ( $p < 5 \times 10^{-7}$ ) и еще 58 – с уровнем значимости  $5 \times 10^{-7} < p < 10^{-5}$  [11]. Анализ всех ассоциированных с заболеваниями SNPs, а также сцепленными с ними генов, с малым, но достоверным вкладом в каждое из заболеваний позволил идентифицировать метаболические пути, вовлеченные в их патогенез. Полногеномный анализ ассоциаций МФЗ очень популярен и успешно применяется в России в течение последних нескольких лет.

Исследование генетических механизмов широко распространенных болезней особенно важно, так как эта патология вносит основной вклад не только в структуру заболеваемости, но и смертности взрослых и детей.

### На пути к клинической медицине

В.П. Пузырев в статье «Вопросы вокруг идентифицируемых генов подверженности распространенным болезням человека», 2009, выделяет два принципиальных направления, через которые осуществляется переход от теории к практике.

«...Во-первых, исследования генетических ассоциаций обеспечивают широкие возможности для клинического прогресса получаемых теоретических знаний для всех, кто болен или имеет повышенный риск заболевания.

Это касается:

- идентификации новых причинных метаболических путей и терапевтических мишеней в них, приводя к созданию новых терапевтических средств для лечения и профилактики;

- идентификация биомаркеров, позволяет снизить риск заболевания, провести мониторинг его развития и предложить оптимальные схемы лечения,

- более глубокое понимание патогенетики неслучайных сочетаний болезней (синтропий), имеющих общий генетический «корень».

Во-вторых «...в случае, если генетический профиль предполагается к широкому использованию в клинической практике, необходимо: улучшить аккуратность расчета риска с помощью идентификации дополнительных вариантов "предрасположенности"; использовать перспективные исследования, показать, что генетический профиль поможет улучшить качество оказания медицинской помощи и/или индивидуальный ответ на лечение; а также создать соответствующую регулируемую основу для применения таких тестов...».

Для многих МФЗ уже известны такие гены. Согласно зарубежным и отечественным данным, уже разработано и достаточно широко используется генетическое тестирование для оценки наследственной предрасположенности к сердечно-сосудистым заболеваниям, венозным тромбозам, гиперлипидемии, атеросклерозу, в фармакогенетике и др.

Так, сердечно-сосудистые заболевания продолжают оставаться главной причиной смертности населения индустриально-развитых стран Европы (в том числе

**Таблица 3.** Синтропные гены для метаболического синдрома

Ген	Продукт гена	Хромосомная локализация
ACE	Ангиотензин-конвертирующий фермент	17q23
APOE	Аполипопротеин E	19q13.2
CETP	Белок-переносчик эфиров холестерина	16q21
SERPINE1	Ингибитор плазменного активатора - 1	
LPL	Лиопропротеинлипаза	8p22

России) и США. Если в 1900 году на долю ССЗ приходилось менее 10% смертельных исходов, то по данным ВОЗ в 2000 году ССЗ стали основной причиной смертности. Ишемическая болезнь сердца и артериальная гипертензия, их осложнения – инфаркт миокарда, инсульт, внезапная смерть составляют основную долю среди всех сердечно-сосудистых заболеваний. В патогенезе этих болезней большое значение отводится так называемым факторам риска – нарушению липидного обмена (дислипидемии), сахарному диабету, ожирению, курению и др.

Первые исследования в мире по выявлению полиморфных вариантов генов были проведены в начале 90-х годов прошлого века [12, 13, 14]. Выделяют несколько групп генов-кандидатов ССЗ: гены, контролирующие метаболизм липидов; гены регуляции артериального давления; гены свертывания крови и фибринолиза; гены молекулярных мессенджеров (сигнальных белков); гены пролиферации клеток; гены ионных каналов; гены метаболизма гомоцистеина; гены структурной и функциональной организации миокарда.

После почти 20-летних дискуссий и специальных исследований получены убедительные доказательства концепции сердечно-сосудистого континуума. Суть ее состоит в том, что сердечно-сосудистые заболевания рассматриваются как цепь событий, вызванных многочисленными связанными и несвязанными между собой факторами риска, прогрессирующими через вовлечение многих физиологических, метаболических путей и завершающихся развитием конечной стадии заболевания сердца.

В специальном исследовании для 7 болезней, относящихся к сердечно-сосудистому континууму (гипертензия, коронарная болезнь, дислипидемия, инсульт, ожирение, метаболический синдром и сахарный диабет 2-го типа), среди более 2,5 тыс. кандидатных генов, полиморфизмы которых были исследованы на ассоциацию с сердечно-сосудистой патологией, 21 ген оказались общими для семи заболеваний (табл. 4). Эти гены вовлечены в метаболизм липидов, функционирование ренин-ангиотензин-альдостероновой и симпатoadреналовой систем, воспаление, эндотелиальную дисфункцию.

Сегодня появилась возможность описать структуру наследственной предрасположенности в терминах конкретных генов. Молекулярные основы патогенеза еще многих болезней не полностью понятны, а иногда даже неизвестны. Однако, разработанные «геномные профили» к сердечно-сосудистым заболеваниям, тромбозам, атеросклерозу, остеопорозу и др., уже широко используются. В основе «геномных профилей» лежат генетические тесты (тест – выявляющий генетическую информацию) [16].

Согласно последним разработкам Службы генетического тестирования Великобритании (United Kingdom Genetic Testingnetwork), качество генетического теста оценивается исходя из следующих четырех правил:

1. аналитическая пригодность;
2. клиническая достоверность;
3. клиническая полезность;
4. этическое, социальное и юридическое соответствие.

Погоня некоторых лабораторий (особенно коммерческих) за увеличением спектра тестируемых генов, не всегда оправдана, а по сути даже преждевременна, т.к. зачастую результаты не подкреплены серьезными медицинскими исследованиями.

Нежелательные лекарственные реакции – НЛР являются одной из самых значительных медицинских проблем. Смертность от них сопоставима со смертностью от болезней легких. Вследствие ошибок при назначении лекарств только в США за год погибает около 100 000 человек, а у 2,2 млн госпитализированных больных регистрируются реакции несовместимости с медикаментами [17].

Практически ни один препарат не является одинаково эффективным и безопасным для всех пациентов, которым он показан. Пациенты со сходной клинической картиной, получающие одинаковую терапию, демонстрируют различную степень положительной динамики, у разных людей в разной степени выражены побочные действия одного и того же препарата. Возможных причин этому много: назначение препарата в неправильной дозировке, межлекарственные взаимодействия в организме, аллергические реакции, ошибки при приеме лекарства. В этом ряду важное место занимает индивидуальная генетическая предрасположенность пациента.

Все эти годы клиническая фармакология накапливала наблюдения патологических реакций на лекарства, а сегодня медицинская генетика расшифровала механизмы их возникновения. Сегодня, сведения о полиморфизме генов, вовлеченных в биотрансформацию лекарств и генетический контроль их взаимодействия являются базой фармакогенетики, а генетическое тестирование рассматривают как наиболее точный прогностический метод, позволяющий оценить особенности индивидуальной чувствительности пациента до назначения лекарственной терапии. С фармакогенетической точки зрения особенно важны шесть генов – *CYP1A1*, *CYP1A2*, *CYP2C9*, *CYP2C19*, *CYP2D6*, *CYP3A4* т.к. они ответственны за биотрансформацию 90% широко распространенных лекарств.

Так, тромбозы и тромбоэмболии являются одной из основных причин смертности и инвалидизации населения. Частота венозного тромбоэмболизма (тромбоза глубоких вен и/или тромбоэмболизма легочной артерии) при инфаркте миокарда достигает 24%, при инсульте – 42%, в травматологии и ортопедии – 50%, в урологии – 65%, в кардиохирургии – 70%. Достижения медицинской науки в разработке и совершенствовании хирургического лечения, антикоагулянтной, антиагрегантной, тромболитической терапии и профилактики внутрисосудистого тромбообразования позволяют спасти и вернуть к активной жизни миллионы людей. Наибольшее распространение во всем мире при лечении тромбозов и тромбоэмболии получил препарат группы монокумаринов – варфарин. Такую популярность принесли варфарину его несомненные достоинства: оптимальная продолжительность действия, низкая токсичность, хорошая переносимость, хорошее всасывание в желудочно-кишечном тракте, длительный период полужизни в плазме крови, который обеспечивает стабильную гипокоагуляцию. Эти свойства делают его препаратом выбора для длительной профилактики и терапии. В 2002 году варфарин был впервые зарегистрирован в России фирмой Nysomed (Дания) и начал широко использоваться отечественными кардиологами, ангиологами, пульмонологами, кардиохирургами.

В ряде работ была обнаружена различная чувствительность пациентов к действию варфарина и отмечены серьезные геморрагические осложнения при его передозировке. Индивидуальная чувствительность к препарату обусловлена в первую очередь полимор-

Таблица 4. Гены синтропии «сердечно-сосудистый континуум» [15]

Ген	Продукт гена	Локализация на хромосоме	OMIM
ABCA1	АТФ-связывающий кассетный переносчик 1 подсемейства А	9q22-q21	600046
ACE	Ангиотензин-конвертирующий фермент	17q23	106180
ADRB2	$\beta$ 2-адренергический рецептор	5q32-q34	109690
AGT	Ангиотензин 1	1q42-q43	106150
AGTR1	Рецептор ангиотензина 2, тип 1	3q21-q25	106165
APOA1	Аполипопротеин А1	11q23	107680
APOE	Аполипопротеин Е	19q13.2	107741
CETP	Белок переносчик эфиров холестерина	16q21	118470
GNB3	G-белок, $\beta$ -субъединица 3	12p13	139130
IL6	ИЛ-6	7p21	147620
LIPC	Печеночная липаза	15q21-q23	151670
LPL	Липопротеинлипаза	8p22	609708
MTHFR	Метилентетрогидрофолатредуктаза	1p36.3	607093
NOS3	Эндотелиальная синтетаза оксида азота	7q36	163729
SELE	Селектин Е	1q23-q25	131210
TNF	ФНО $\alpha$	6p21.3	191160
PPARG	$\gamma$ – Рецептор, активируемый пролифератором пероксисом	3p25	601487
ADIPOQ	Адипопектин С1Q	3q27	605441
ESR1	Рецептор эстрогена 1	6q25.1.1	133430
LTA	$\alpha$ - Лимфотоксин	6p21.3	153440
PAI1	Ингибитор плазминогенного активатора 1	7q21.3-q22	173360

физмом цитохрома Р450 *CYP2C9*, являющимся ключевым ферментом в окислении варфарина. Ген *CYP2C9* локализован на 10 хромосоме в районе 10q24.2. Каталитические активности ферментов, кодируемых аллельными вариантами *CYP2C9\*2* и *CYP2C9\*3*, снижены относительно варианта *CYP2C9\*1* и составляют 12 и 5%, соответственно. Следует отметить широкую вариабельность в частотах встречаемости вышеуказанных полиморфизмов в различных этнических группах – от 35% в Европе до 3% среди афроамериканцев, в Японии, Корее, Китае. Даже в европейских популяциях частоты носительства *CYP2C9\*2* и *CYP2C9\*3* существенно различаются, достигая в Испании 50%. У носителей *CYP2C9\*2*, \*3 лечебную дозу варфарина необходимо уменьшать в 2–4 раза.

С другой стороны, наряду с высокой чувствительностью к варфарину и геморрагическими осложнениями при его передозировке, существует проблема «варфарин-резистентности». Ген *VKORC1*, кодирующий витамин К-эпоксидредуктазу, был клонирован в начале 2004 года. Аналогичные гены обнаружены у многих организмов и отличаются консервативностью и высокой степенью гомологии — до 97% с человеческим геном. Следует отметить, что варфарин относится к разряду кумаринов — веществ, нашедших свое применение в первую очередь как крысиные яды. Однако некоторые мыши и крысы обладают резистентностью к их действию. У крыс это обусловлено мутацией в гене, подобном *VKORC1*, – *VKORC1-like1*. При исследовании пациентов с резистентностью к варфарину были выявлены мутации гена *VKORC1*, модулирующих как активность фермента, так и его восприимчивость к действию варфарина [18, 19].

Выявление аллельных полиморфизмов в генах (*CYP2C9*, *VKORC1*) определяет дозу варфарина.

Во избежание нежелательных побочных эффектов при назначении антикоагулянта – варфарина (а это геморрагические осложнения) в августе 2007 года Комитетом FDA (Food&Drug Administration, USA) был принят первый генетический тест аллельных вариантов двух генов (*CYP2C9*, *VKORC1*).

Ученные продолжают пополнять перечень генов, определенные формы которых делают людей восприимчивыми к разным болезням. Ставится задача заниматься не только вопросами профилактики заболеваний, но и решать задачу по предвидению возникновения и развития заболеваний, а также использовать генетические методы для решения важнейшей задачи – прогнозирования реакции организма на лекарства.

#### Перспективы использования результатов генетического тестирования в практической медицине

*«Врач работает с конкретным человеком, и задача учёных, обслуживающих медицину, дать ему знания о том, носители каких генотипов более подвержены риску заболеть бронхиальной астмой, ишемической болезнью сердца или онкопатологией. Носители каких генотипов будут болеть более тяжело, и какие лекарственные препараты будут наиболее эффективны для данного конкретного больного».*

Признавая сегодня, реальные возможности в идентификации генов МФЗ следует отметить, что генетические основы мультифакториальных болезней сложны и многообразны:

– так, в основе наследственной предрасположенности к МФЗ лежит широкий генетический балансированный полиморфизм популяций человека по ферментам, структурным и транспортным белкам, антигенам;

– без провоцирующей роли среды не возникают и МФЗ, полигенная предрасположенность определяется сочетанием аллелей нескольких генов, их определенной комбинацией при провоцирующем влиянии внешних факторов, именно они определяют и формируют мультифакториальные болезни;

– каждая нозологическая форма МФЗ является генетически гетерогенной группой; отдельные болезни (например, гипертоническая болезнь, ишемическая болезнь сердца, язвенная болезнь желудка, сахарный диабет и др.) представляют собой не одну болезнь, а группу болезней с одинаковым конечным проявлением, чем выше наследственная предрасположенность и больше вредных воздействий среды, тем выше вероятность заболеть тем или иным заболеванием.

Мультифакториальные болезни отличаются от других форм наследственной патологии (генных и хромосомных болезней) характером клинической картины. В отличие от генных болезней, при которых всех членов семьи пробанда можно разделить на больных и здоровых, клиническая картина МФЗ имеет непрерывные клинические переходы (клинический континуум) в пределах одной и той же нозологической формы.

Для МФЗ характерно различие в их проявлении и тяжести течения в зависимости от пола и возраста. Механизмы популяционной распространенности таких болезней во времени достаточно сложны, поскольку в популяциях могут изменяться в ту или иную сторону и генетические характеристики предрасположенности, и факторы среды.

Однако, достижения исследования генома человека сделали реальной раннюю, досимптоматическую диагностику не только генных, но и многих мультифакториальных заболеваний. И слова французского ученого Жана Доссе, о том, что, «чтобы предупредить болезнь, ее нужно предвидеть», сейчас актуальны как никогда. Это высказывание лежит в основе «предиктивной» медицины. Генетическое тестирование полиморфизмов (аллельных вариантов) генов-кандидатов составляет методическую основу предиктивной медицины.

Практически это достигается путем проведения генетического тестирования генов-кандидатов МФЗ,

ранее идентифицированных в работах отечественных авторов методом GAS или проведение генетического тестирования соответствующих панелей генов-кандидатов, выявленных методом GWAS в странах западной Европы, или сопоставлением результатов этих двух подходов (что уже осуществляется в некоторых Российских клиниках).

Генетическое тестирование – ответственная процедура. Оно должно проводиться в хорошо оснащенной лаборатории с соблюдением всех норм и стандартов молекулярных исследований. Генетическое тестирование обязательно должно быть дополнено соответствующими биохимическими анализами или инструментальными исследованиями, позволяющими оценить функциональную активность исследованных генов. Реальная польза от генетического тестирования может быть только в том случае, если оно завершается полноценной консультацией квалифицированного специалиста по медицинской генетике с представлением соответствующих рекомендаций лечащему врачу и пациенту [20]. На рис. 1 представлен алгоритм работы врача генетика с другими врачами.

В эру молекулярной медицины условно патогенез любого патологического процесса, а в частности МФЗ можно представить в виде последовательных звеньев одной цепи на различных уровнях биологической интеграции. Началом патогенеза и ключевой точкой развития заболеваний являются первичные эффекты генов.

Реализация действия генов это сложные процессы, от эффектов на молекулярном уровне до физиологии и клиники болезни (ген → первичный продукт → биохимические процессы → клетка → орган → организм). Сегодня только развиваются постгеномные технологии, в частности протеомные и метаболомные, которые основаны на изучении белкового продукта гена и его метаболического профиля [21].

Клеточный уровень – означает, что в определенных типах клеток разыгрываются основные патологические процессы, присущие конкретному заболеванию или патологическому состоянию. К сожалению, следует констатировать, что если это происходит, следовательно, ген, гены проявили себя, т.е. они начали свою разрушительную работу в клетке, ведущую к болезни. А диагностику на этом уровне можно расценивать как диагностику «ее начала». Классическими примерами клеточного

#### **Генетическое тестирование+клиническое обследование+ОЖ:**

- *показания к генетическому тестированию;*
- *определение объема генетического тестирования;*
- *базовые панели, генетический паспорт здоровья;*
- *клиническое обследование (объем зависит от: возраста, пола, первичный прием, диспансеризация (ВОЗ стандарт))*

#### **Сопоставление результатов генетического и клинического обследования:**

- *определение континуума патологического состояния;*
- *определение группы риска;*
- *разработка тактики ведения пациента:*
- *профилактика;*
- *коррекция лечения*

#### **Составление «Индивидуального маршрута здоровья» (консилиум).**

#### **Динамическое наблюдение.**

**Рис. 1.** Алгоритм работы врачей

уровня диагностики, являются биохимические анализы крови, которые например, назначаются для оценки сердечно-сосудистой системы: панель «Кардиориск» (АЛТ, АСТ, ЛДГ, ЛДГ-1,2, Креатинкиназа, Креатинкиназа МВ, Триглицериды, Холестерин, Холестерин ЛПНП, Холестерин ЛПВП, Тропонин I, Гомоцистеин, Калий, Натрий, Хлор, С-реактивный белок ультрачувствительный, Протромбиновое время, МНО) и др.

Органный уровень – это проявление молекулярных и клеточных изменений. В результате первичных или вторичных процессов при разных болезнях мишенью патологического процесса служат различные органы. Например, при выявлении прогностически неблагоприятных полиморфизмов гена метилентетрагидрофолатредуктазы, «мишенью» становятся сосуды, т.к. патогенетический процесс связан с дисфункцией эндотелия. При остеопорозе, нарушается метаболизм костной ткани, который определяется с помощью денситометрического анализа. Следовательно, на этом уровне организации применяются параклинические методы исследования.

Организменный уровень – это тот уровень, когда запущенный патологический процесс, приобретает целостность. И на этом уровне мы говорим о болезни. Например, при неблагоприятных полиморфизмах гена метилентетрагидрофолатредуктазы это может реализоваться как в варикозную болезнь, так и в атеросклероз. При остеопорозе, если не проводилась его ранняя диагностика, профилактика и лечение, мы сталкиваемся с переломом костей.

Сегодня медицина находится в поиске четко регистрируемых маркеров патологического процесса, т.е. таких показателей, диагностика которых позволяла бы оценивать начало патологического процесса и мониторить его. Речь идет о выявлении предикторов патологического процесса. Некоторые достижения в этом направлении уже получены. Так, например, для остеопороза, предикторами патологического процесса, являются показатели денситометрического исследования. С-реактивный белок «высокочувствительный» предиктор атеросклероза и острых коронарных событий.

После генетического тестирования, обследуемый получает заключение, в котором указаны протестированные гены, их полиморфные варианты, согласно генотипу дается оценка риска с рекомендациями дальнейших лечебно-диагностических и профилактических мероприятий. Эта информация подготавливается врачом-генетиком и передается отдельно лечащему врачу и пациенту.

Еще раз повторим, каждый человек генетически уникален, поэтому рекомендуемые лечебно-диагностические и профилактические программы ориентированы на конкретного человека, для одного человека программа будет направлена на диагностику и профилактику – артериальной гипертензии, для другого – тромбофилии, для третьего – метаболического синдрома, для четвертого – сахарного диабета, для пятого – остеопороза и т.д., т.е. для каждого индивидуально. Индивидуальный подход к пациенту, основанный на научной интерпретации результатов генетического исследования и их сопоставления с данными клинических, лабораторных и инструментальных методов исследования, позволяет осуществить раннюю диагностику генетически детерминированных заболеваний и предложить максимально эффективную схему профилактических и лечебных мероприятий для предупреждения развития патологического процесса [22].

Однако важная генетическая информация может быть получена сравнительно поздно, когда заболевание или патологический процесс уже развился, т.е. речь идет об организменном уровне. Но и в этом случае генетическое тестирование, позволяет выявить патогенетическое звено, подобрать персонализированное лечение.

Эффективное внедрение достижений генетического тестирования в систему здравоохранения РФ возможно при соблюдении определенных условий к внедряемому генетическому тестированию, знаниями врачей в области медицинской генетики и конечно же осведомленностью населения о клинической полезности такого исследования, а также и желанием в проведении исследования.

Так, практическая значимость генетического тестирования определяется: результатами генетического тестирования, основанными на анализе генов, ассоциация которых с соответствующими заболеваниями доказана в популяции данного региона, а полученные результаты подтверждены адекватным статистическим анализом.

Уровень подготовленности и осведомленности врачей в области предиктивной медицины не высок, а эффективность использования генетического тестирования в практической деятельности зависит от уровня генетических знаний современного врача, например, уметь выделить семью высокого риска по заболеванию и рекомендовать проведение генетического тестирования членом этой семьи.

«Принцип преемственности» между рекомендациями врача-генетика – пациенту и врачу, которые бы учитывались как пациентами (в повседневной жизни), так и врачами, разной специализации при проведении (лечебных и профилактических мероприятий) не всегда соблюдается.

Эффективное внедрение достижений медицинской генетики в систему здравоохранения не возможно без участия в этом процессе самого пациента. Пока человек здоров и не ощущает признаков болезни, он психологически не готов к любым, даже самым простым процедурам. К сожалению, большинство населения старается, как можно дольше пребывать в категории так называемых «здоровых» лиц, которые не посещают врача до тех пор, пока не возникнет серьезная угроза здоровья, пока не возникнут симптомы, требующие срочной или немедленной медицинской помощи. Пациент должен иметь мотивацию к проведению генетического тестирования, и если он дал согласие и тест ему проведен, врачи обязаны обеспечить полноценную, квалифицированную консультацию, а пациент должен быть готов следовать рекомендациям врачей.

### **Заключение**

Благодаря успехам современной науки в области предиктивно-персонализированной медицины, стало возможным получать информацию, как о классических наследственных заболеваниях, так и о генетической предрасположенности к развитию таких заболеваний, как сахарный диабет, ишемическая болезнь сердца, онкологические заболевания и другие, что позволяет разрабатывать индивидуальные программы диагностики, профилактики развития заболеваний, а также определять реакцию организма на различные лекарственные препараты, особенности метаболизма и влияния физических упражнений на организм человека и многое другое.

Совершенно очевидно, что работа по выявлению структурных особенностей генома человека, ассоциированных с риском возникновения широко распространенных заболеваний, необходима, и возможно в скором будущем будет составлена генетическая ана-

томия различных патологических состояний человека. Появление новых, высокоэффективных методов молекулярной диагностики делает неизбежным и научно оправданным внедрение генетического тестирования в клиническую практику.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Клиническая генетика. / Под ред. Н.П. Бочкова. – М.: ГЭОТАР–Медиа. – 2011. – 592 с.
2. Collins F.S., McKusick V.A. Implications of the Human Genome Project for medical science // JAMA. – 2001. – Vol. 285. – N5. – P. 540–544.
3. The Human Genome. // Nature. – 2003. – Vol. 421. – P. 396–453.
4. 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 с.
5. Cooke G.S., Hill A.V.S. Genetics of susceptibility to human infectious disease // Nature Rev. Genet. – 2001. – Vol. 2 – P.967–977.
6. Пузырев В.П. Вопросы вокруг идентифицируемых генов подверженности распространенным болезням человека // Молекулярно-биологические технологии в медицинской практике. – 2009. – выпуск 13. – с. 10–19.
7. Носиков В.В., Серегин Ю.А., Титович Е.В. и др. Генетический анализ семей с сибсами, большими сахарным диабетом 1 типа // Сахарный диабет. – 2002 – №1. – С.34–37.
8. Иващенко Т.Э., Швед Н.Ю., Беспалова О.Н. и др. Генетические основы предрасположенности к акушерской и гинекологической патологии // Молекулярная медицина. – 2007. – №4. – С. 19–26.
9. Luo Li, Peng Gang, Zhu Yun et al. Genome-wide gene and path-way analysis // Eur. J. Hum. Genet. – 2010 – N62. – p. 1–9.
10. Manolio T.A., Collins Fr. S., Cox N et al. Finding the missing heritability of complex diseases. Nature. – 2010. – Vol.461: 747–753.
11. Wellcome Trust Case Control Consortium. Genome-wide association study of 14 000 cases of seven common diseases and 3 000 shared controls// Nature. – 2007. – Vol. 447 – P. 661–678.
12. Нефедова Ю.Б., Шварц Е. Молекулярно-генетические механизмы развития артериальной гипертензии // Артериальная гипертензия. – 1998. – Т.4, №1. – С.63–71.
13. Пузырев В.П. Генетика артериальной гипертензии (современные исследовательские парадигмы) // Клиническая медицина. – 2003. – №1. – С. –12–18.
14. Пузырев В.П., Степанов В.А., Фрейдин М.Б. Молекулярные основы распространенных мультифакториальных заболеваний// Геномика-медицине. – М.: Академкнига, – 2005. – С. 100–150.
15. Пузырев В.П., Степанов В.А., Макеева О.А. Синтропные гены болезней сердечно-сосудистого континуума// Медицинская генетика. – 2009. – Т.3. – С. 31–38.
16. Генетический паспорт – основа индивидуальной и предиктивной медицины. Под ред. В.С. Баранова. – СПб.: Изд-во Н-Л. – 2009. – 528с.
17. Кукес В.Г., Грачев С.В., Сычев Д.А., Раменская Г.В. Метаболизм лекарственных средств: научные основы персонализированной медицины. // М. – ГЭОТАР–Медиа, 2008. – 304 с.
18. Сироткина О.В., Вавилова Т.В., Кадинская М.И. и др. Определение индивидуальной чувствительности к варфарину методом молекулярно-генетического анализа гена цитохрома P450 2C9: пособие для врачей. — СПб: Изд-во СПбГМУ. – 2006.
19. Сычев Д.А. Персонализированная антикоагулянтная терапия на основе результатов фармакогенетического тестирования // Методические рекомендации для врачей. – СПб. – 2010. – 82 с.
20. Баранов В.С. Персонализированная медицина: ожидания, разочарования и надежды// Вестник РАМН. – 2011. – №9. – с.: 27–35.
21. Шендеров Б.А. «ОМИК» – технологии и их значение в современной профилактической и восстановительной медицине // Вестник восстановительной медицины. 2012. №3. С.70–78.
22. Бобровицкий И.П., Василенко А.М. Принципы персонализации и предсказательности в восстановительной медицине // Вестник восстановительной медицины. 2013. №1. С.2–6.

#### РЕЗЮМЕ

В этиологию подавляющего большинства мультифакториальных заболеваний человека, существенный вклад вносит генетическая компонента. Успехи в исследовании генома человека заложили основу персональной персонализированной медицины. Методической основой персональной персонализированной медицины является генетическое тестирование. Рассмотрены возможные методические подходы поиска генетических факторов мультифакториальных заболеваний и условия внедрения генетического тестирования в клиническую практику.

**Ключевые слова:** мультифакториальные заболевания, генетическое тестирование, предиктивная медицина.

#### ABSTRACT

The genetic components are involved in aetiology of the multifactorial human diseases. Impressive advances in the studies of human genome laid the foundation of predictive personalized medicine and its methodological basis is genetic testing. Possibilities for the identification of genetic factors predisposed to the multifactorial diseases and condition for the introduction of genetic testing into clinical practice are discussed.

**Key words:** multifactorial disease, genetic testing, predictive medicine.

#### Контакты:

**Жученко Наталья Александровна.** E-mail: zhychenko64@mail.ru