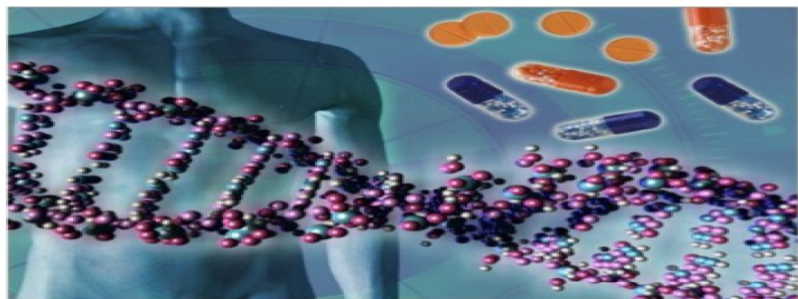


**РОССИЙСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ  
УНИВЕРСИТЕТ имени Н.И. Пирогова**

**Кафедра клинической лабораторной диагностики  
ФДПО**

**Щербо Сергей Николаевич**

**ТРАНСЛЯЦИОННАЯ ЛАБОРАТОРНАЯ МЕДИЦИНА  
КАК ОСНОВА СОВРЕМЕННОГО  
ЗДРАВООХРАНЕНИЯ**



# **ОСНОВНЫЕ ТЕНДЕНЦИИ РАЗВИТИЯ ТРАНСЛЯЦИОННОЙ ЛАБОРАТОРНОЙ МЕДИЦИНЫ**

- **УМЕНЬШЕНИЕ РАЗМЕРОВ, УВЕЛИЧЕНИЕ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ И ПРОИЗВОДИТЕЛЬНОСТИ ЛАБОРАТОРНОГО ОБОРУДОВАНИЯ, А ТАКЖЕ ДОЛИ РОБОТИЗИРОВАННЫХ СИСТЕМ**
- **ИСПОЛЬЗОВАНИЕ НЕИНВАЗИВНЫХ ОБРАЗЦОВ КЛИНИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА**
- **МУЛЬТИПЛЕКСНЫЙ АНАЛИЗ**
- **СОЗДАНИЕ ПАНЕЛЕЙ БИОМАРКЕРОВ РАЗЛИЧНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ И ИХ ПОДТИПОВ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ОМИКСНЫХ И ПЕРСОНАЛИЗИРОВАННЫХ ПОДХОДОВ**
- **ПОНИМАНИЕ ВАЖНОСТИ ИЗМЕРЕНИЯ БИОМАРКЕРОВ В ДИНАМИКЕ, ИСПОЛЬЗОВАНИЕ БИОБАНКИНГА И МОБИЛЬНОГО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ**
- **АКТИВНОЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ БИОИНФОРМАЦИОННЫХ ПОДХОДОВ, БАНКОВ БИОМЕДИЦИНСКИХ ДАННЫХ**
- **ВНЕДРЕНИЕ В МЕДИЦИНУ СИСТЕМ ИСКУССТВЕННОГО ИНТЕЛЛЕКТА (ИИ)**

# Основные перспективные лабораторные платформы медицины 5П

**Генодиагностические технологии**  
(амплификация и секвенирование нуклеиновых кислот);

**Микробиочипы;**

**Масс-спектрометрия;**

**Микрофлюидные технологии;**

**Проточная цитометрия, жидкостная биопсия;**

**Анализ свободноциркулирующей внеклеточной ДНК;**

**Технологии мобильного здравоохранения.**



# Медицина XXI века:

## Медицина 4 «П»

**П**редиктивная (предсказательная)

**П**ревентивная (профилактическая)

**П**ерсонализированная (индивидуальная)

**П**артисипативная (пациент участник процесса, его информируют, обучают, помогают в выборе)

*ЛЕРОЙ ГУД (Leroy Hood, США), 2008 г.*

## Медицина 5 «П»

**П**рецизионная

*ЩЕРБО С.Н., РОССИЯ, Медицинский алфавит. Современная лаборатория №4, 2015 г.*

**Монография: Персонализированная медицина.**

**Медицина 5П. РУДН 2022 г**

# МОНОГРАФИЯ

## «ПЕРСОНАЛИЗИРОВАННАЯ МЕДИЦИНА»

### ТОМ 3 «Медицина 5П»

3

ПЕРСОНАЛИЗИРОВАННАЯ  
МЕДИЦИНА  
*В семи томах*



**Щербо Сергей Николаевич**, доктор биологических наук, профессор, заведующий кафедрой клинической лабораторной диагностики ФДПО РНИМУ имени Н.И. Пирогова, профессор кафедры кожных и венерических болезней Медицинского института РУДН, президент Национальной ассоциации лабораторной, персонализированной и трансляционной медицины, вице-президент Российской ассоциации медицинской лабораторной диагностики.



**Щербо Дмитрий Сергеевич**, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник Института трансляционной медицины РНИМУ имени Н.И. Пирогова.

МЕДИЦИНА 5П

С.Н. Щербо, Д.С. Щербо

Том 3

**С.Н. Щербо, Д.С. Щербо**

**МЕДИЦИНА 5П**



9 785209 110477



Москва

Российский университет дружбы народов  
2022

# МОНОГРАФИЯ

## «ПЕРСОНАЛИЗИРОВАННАЯ МЕДИЦИНА»

Вышли том 1 «Биологические основы» и том 2 «Лабораторные технологии».

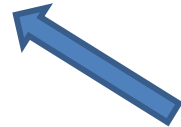


**МЕДИЦИНА 5П**



**БЕСПРОВОДНЫЕ  
СЕНСОРЫ**

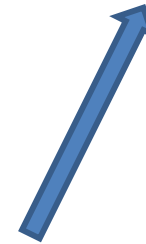
**ОМИКСные  
технологии и  
интегральное  
профилирование**



**СЛИЯНИЕ**

**ИНТЕРНЕТ**

**МОБИЛЬНЫЕ  
ТЕЛЕФОНЫ**



**СОЦИАЛЬНЫЕ  
СЕТИ**



**ТЕХНОЛОГИИ  
ВИЗУАЛЬНОГО  
АНАЛИЗА**

**ИНФОРМАЦИОННЫЕ  
И ОБЛАЧНЫЕ  
ТЕХНОЛОГИИ**



**СТАРАЯ МЕДИЦИНА**

# **ОСНОВНЫЕ НАПРАВЛЕНИЯ РАЗВИТИЯ МОБИЛЬНОГО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ**

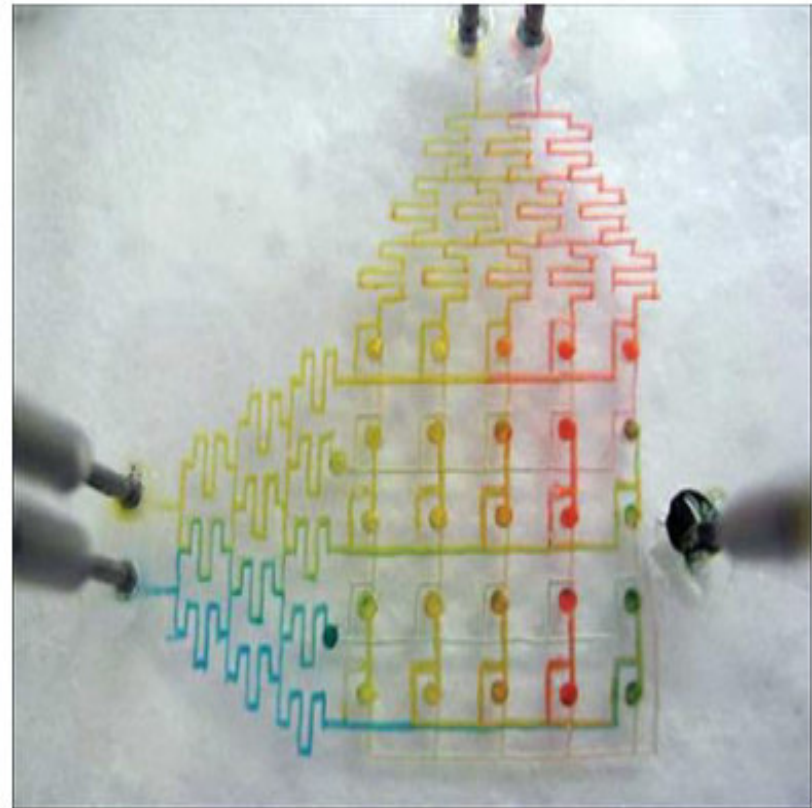
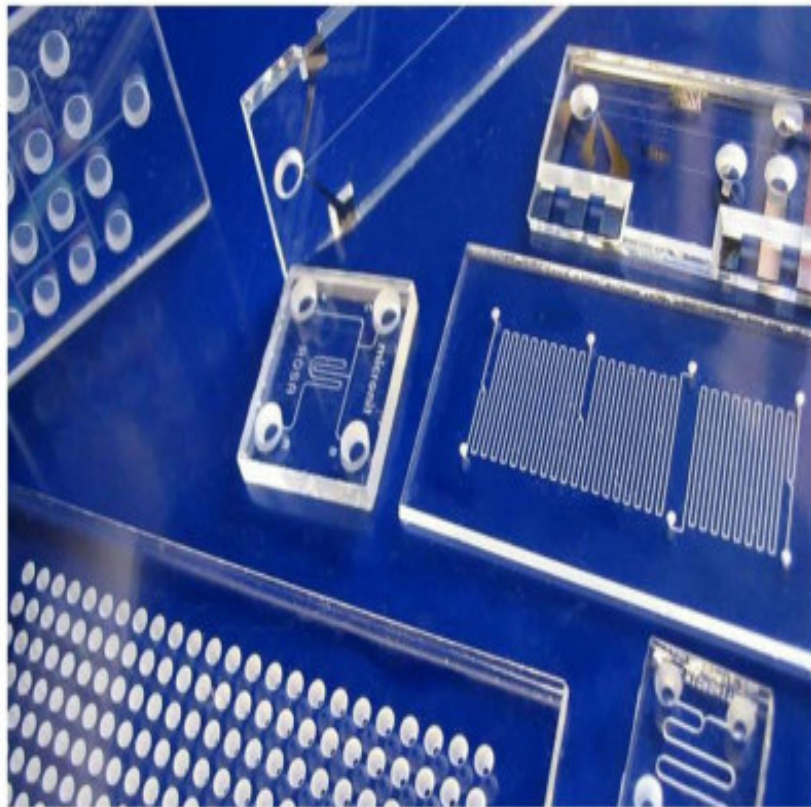
- **Мобильные устройства мониторинга сахарного диабета.**
- **Применение мобильных телефонов в иммуноанализе.**
- **Микроскопия в диагностике онкологических заболеваний.**
- **Аmplификационные технологии мобильного здравоохранения.**
- **Диагностика инфекционных и паразитарных заболеваний.**

**ПЕРСОНАЛИЗИРОВАННАЯ МЕДИЦИНА.  
Т.2. Лабораторные технологии.**

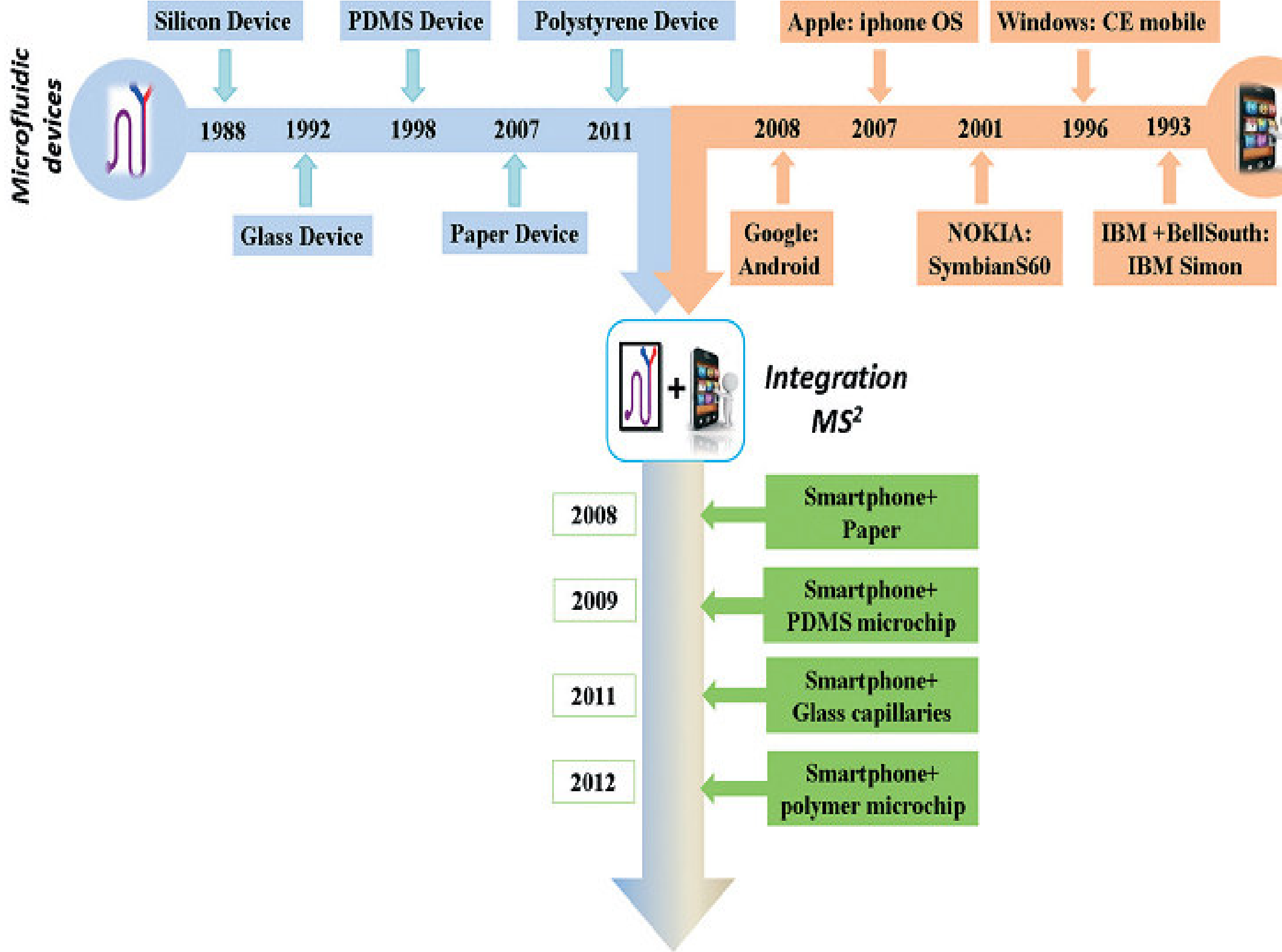


# Микрофлюидные системы для проведения мультиплексного анализа

Системы микроканалов и резервуаров с управляемым движением потоков для проведения многостадийного анализа



Миниатюризация позволяет локализовать на малой площади большое число участков с реагентами разной специфичности для проведения мультиплексного анализа



# Платформы MS<sup>2</sup>

Преимущества рассматриваемых приборов состоят в высокой скорости выполнения теста, низкой цене, мобильности и простоте в использовании, возможности применения в домашних условиях и небольших лабораториях.

Сначала микрофлюидные приборы производили из силикона (1988 г.), стекла (1992 г.), затем и из термопластика и чиповой бумаги (2007 г.). Указанные материалы в созданных микроканальцах под действием капиллярных сил обеспечивают движение растворов, реагентов и анализируемых образцов.

## СОЗДАНЫ:

2008 г. - интегрированы смартфон с бумажным микрофлюидным чипом для измерения концентрации глюкозы и белков;

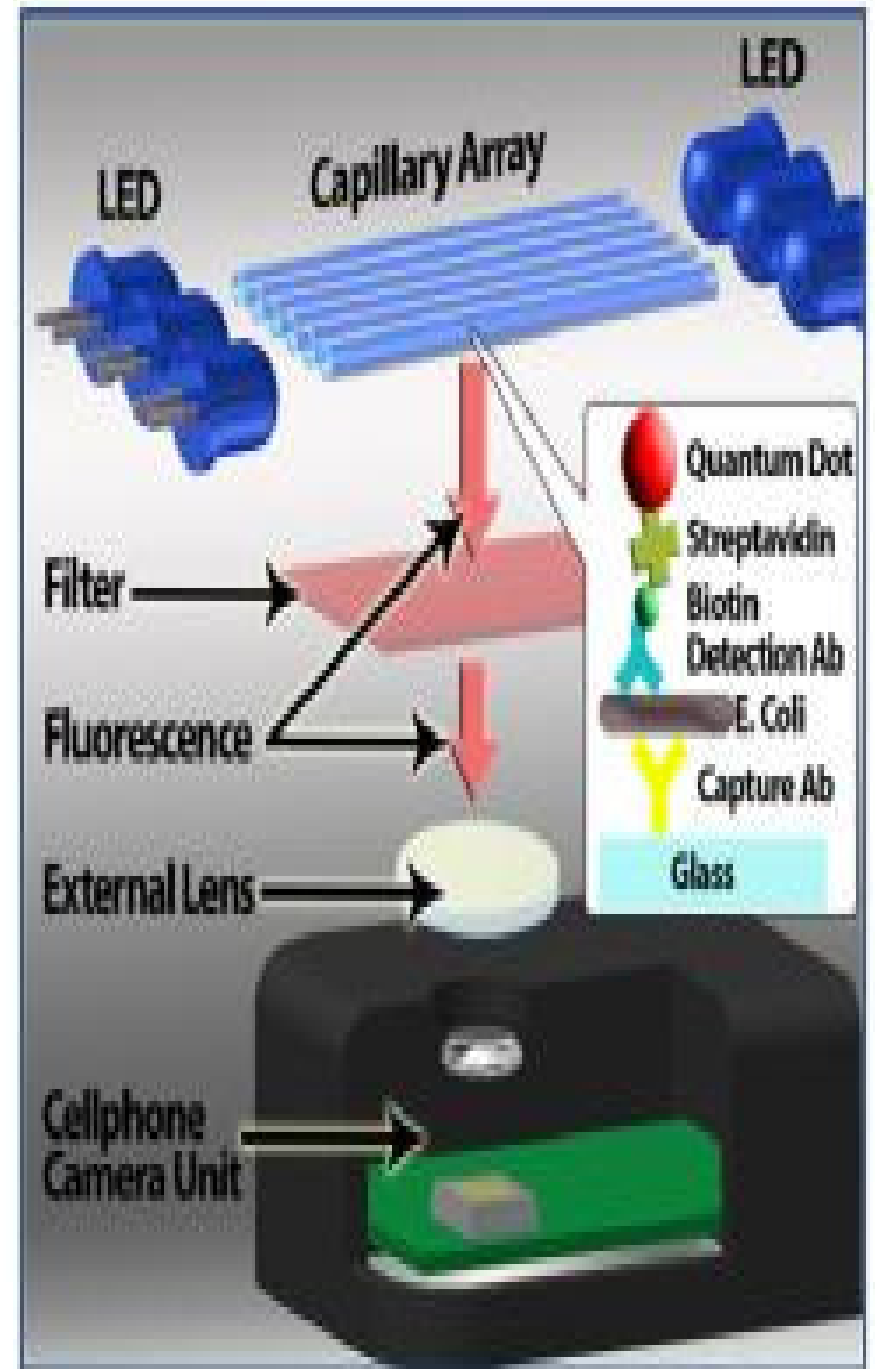
2009 г. - дешевая портативная иммуноферментная система на основе ПДМС микрофлюидомики и смартфона;

2015 г. - портативный количественный микрофлюидный прибор для биохимического анализа.

(a)



(b)



# **В медицине существует два главных тренда: использование больших данных и персонализированный подход.**

**Увеличение объемов и сложности в обработке данных по биомаркерам (к 2025 г. секвенируют до ~40 экзабайт данных по геномам человека), переходу к персонализированным медицинским услугам и анализу ранних стадий заболевания возникнет острая необходимость больших масштабов вычислений. Из-за относительно небольших мощностей текущего поколения квантовых компьютеров с их помощью можно анализировать только геномы микроорганизмов. С ростом производительности компьютеров анализу могут быть подвергнуты и геномы человека.**

# Что такое «Персонализированная медицина»: результаты систематического обзора 683 исследований, в которых определялся этот термин

Schleiden et al. *BMC Medical Ethics* 2013, 14:55  
<http://www.biomedcentral.com/1472-6939/14/55>

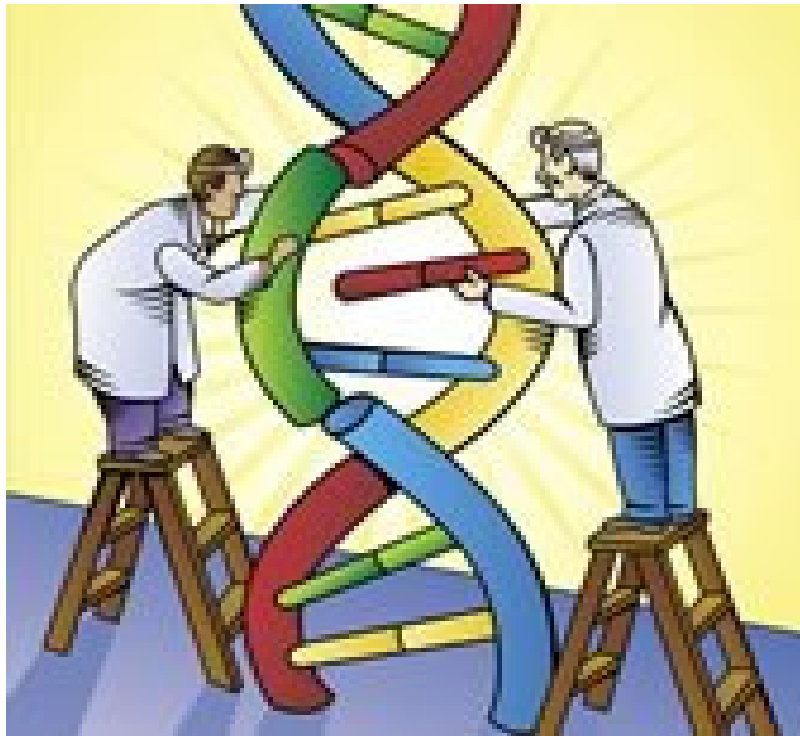


RESEARCH ARTICLE

Open Access

What is personalized medicine: sharpening a vague term based on a systematic literature review

Sebastian Schleiden<sup>1\*</sup>, Corinna Klingler<sup>1</sup>, Teresa Bertram<sup>1</sup>, Wolf H Rogowski<sup>2,3</sup> and Georg Marckmann<sup>1</sup>



Шляйдген с соавт.  
проанализировали **683**  
**медицинские статьи из БД**  
**PubMed, содержащие**  
**определения термина**  
**«персонализированная**  
**медицина».**

*Schleiden S et al. What is personalized medicine: sharpening a vague term based on a systematic literature review. // BMC Med Ethics. – 2013. – 14. – P. 55.*

# **ПЕРСОНАЛИЗИРОВАННАЯ МЕДИЦИНА**

## Итоговое определение

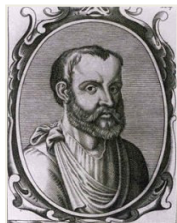
ПМ ищет пути улучшения **стратификации** **пациентов** и оптимизации времени и сроков их лечения благодаря использованию биологической информации на уровне молекулярных путей возникновения и развития заболевания (в частности, биомаркеров).

Первое массовое применение ПМ – разделение людей по группам крови

# Качественное лабораторное исследование это:

- правильно выбранный тест
  - в правильное время
  - у правильного пациента
- } назначение
- правильно выполнен и оформлен результат
  - корректная и своевременная интерпретация
  - верная рекомендация (что делать)





Гален К.



Мудров М.Я. Пирогов Н.И.



Боткин С.П.



Флоринский В.М.



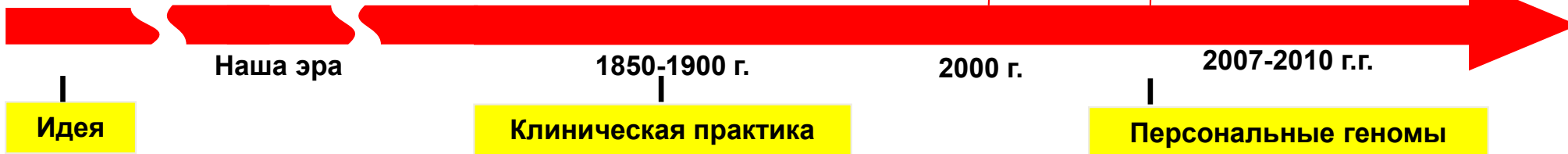
Ослер У.



Уотсон Д.



Вентер Крейг





## **Геном человека: окончательная победа**

**Спецвыпуск *Science* (апрель 2022) — посвящен установлению последовательности полного человеческого генома. Референсный геном человека в 2000 году покрывал около 92%. В геноме человека содержится множество повторяющихся участков, особенно в гетерохроматине центромер и теломер. Консорциум *Telomere-to-Telomere* (T2T) (Рогаев Е.) сообщил о расшифровке тех самых недостающих 8%, сложнейших участков человеческого генома. Новая сборка генома человека T2T-CHM13, состоит из 3,055 миллиардов пар оснований. Консорциум заявил, что смог «заполнить бреши» на всех человеческих хромосомах, за исключением Y-хромосомы, исправили ряд ошибок, дополнили известную последовательность почти 200 миллионами пар оснований, среди которых предсказали 1956 генов, из которых 99 кодируют белки.**

# Цена генома в 2023 году (WGS)

данные Зубов В.В.



**€199**

<https://dantelabs.com/products/whole-genome-sequencing>



**\$299**

<https://nebula.org/whole-genome-sequencing-dna-test/>



**\$399**

<https://www.dnalinkseqlab.com/human-wgs-at-399/>



**\$399**

<https://sequencing.com/our-difference/whole-genome-sequencing>

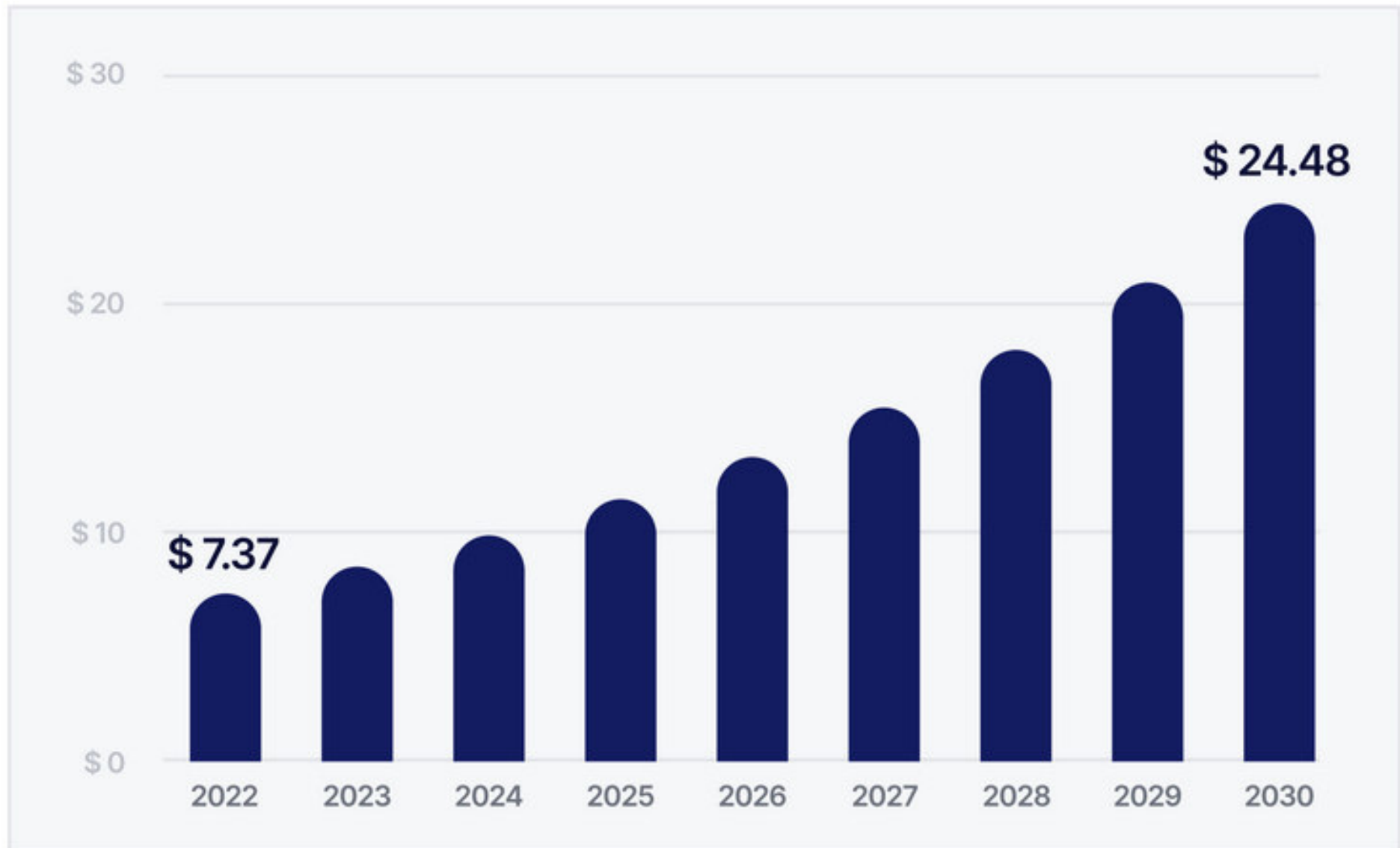


**\$399**

<http://www.yseq.net/>

# Прогноз роста рынка NGS

NGS Market Size 2022 - 2030 (USD Billion)



\*Source: <https://www.precedenceresearch.com/next-generation-sequencing-market>

<https://3billion.io/blog/whole-genome-sequencing>

# Цена генома в России (данные Зубов В.В.)



**70 000** ₺

<https://nextgenseq.tech/>



**75 000** ₺

<https://www.skygen.com/katalog/sekvenirovanie/>



**95 000** ₺

<https://genomed.ru/service/nasledstvennyye-zabolevaniya-i-hromosomnaya-patologiya/sekvenirovanie-genom>



**99 000** ₺

<https://f-genetics.com/genome/>



**99 900** ₺

<https://www.genotek.ru/full-genome/>



**111 000** ₺

<https://atlas.ru/ru/wgs>



**113 000** ₺

<https://genetico.ru/prices>

# РАЗДЕЛ ОБЛАСТЕЙ ПРИМЕНЕНИЙ РАЗЛИЧНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ СЕКВЕНИРОВАНИЯ

ILLUMINA

ThermoFisher  
Scientific

Флуоресцентное  
секвенирование

Полногеномное  
секвенирование

(WGS), секвенирование  
геномов de novo,  
теория эволюции,  
происхождение человека.

Полупроводниковое  
секвенирование

Таргетное  
секвенирование

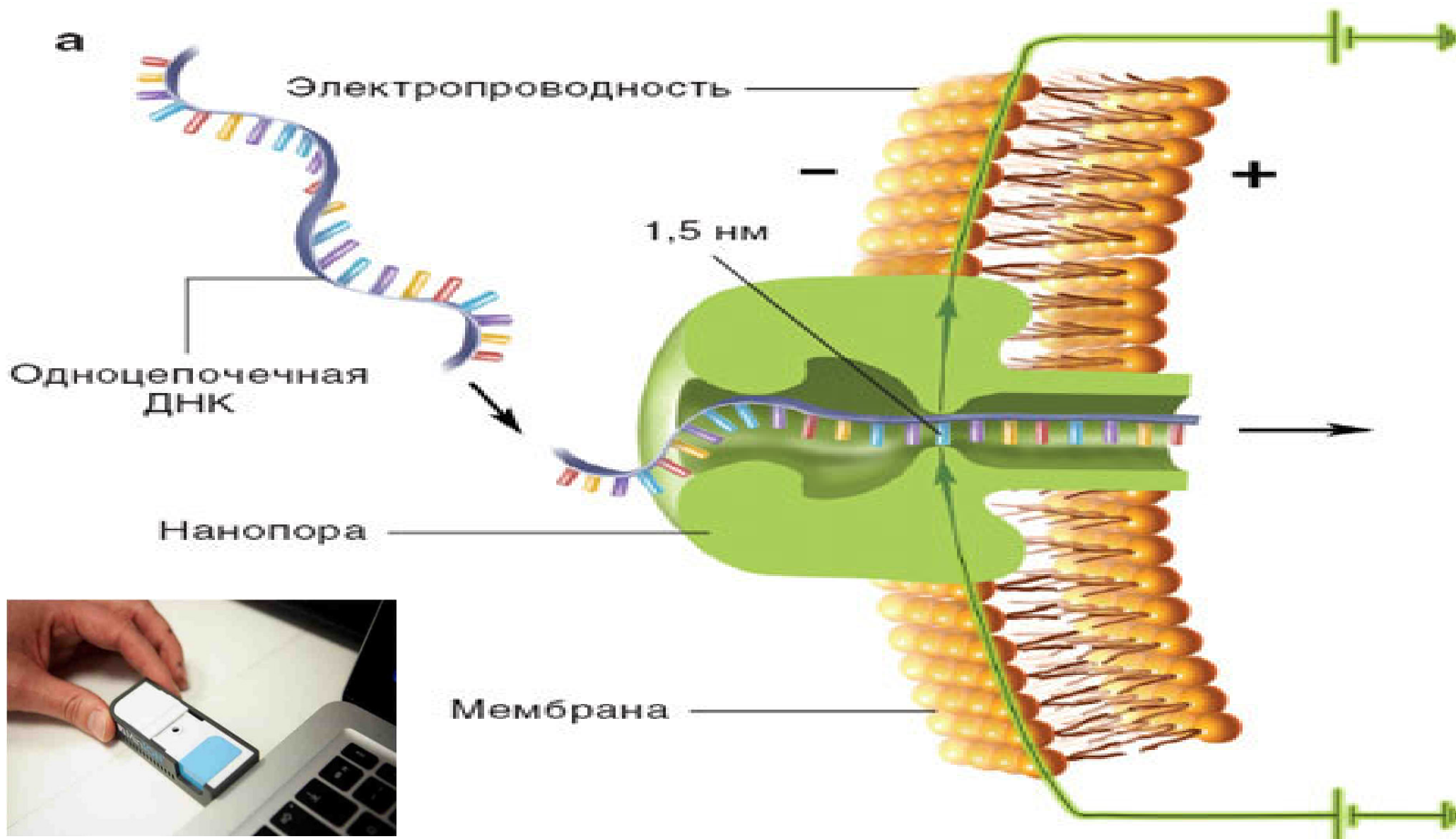
WGS бактерий и вирусов,  
медицинская, фармако и  
этногенетика

Oxford NANOPORE

Нанопоровое секвенирование

Генодиагностика инфекционных болезней, WGS (CNV)

# СИКВЕНС С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ НАНОПОР





MinION

Oxford  
**NANOPORE**  
Technologies®



**Вес – 78 г**

**Мощность – 1 Вт**

**Размеры – 105x23x33 мм**

**Количество нанопор – до 512**

**Интерфейс – USB 3.0 (до 5 Gbps)**

**Стоимость проточной ячейки - \$500...\$900**

**Производительность – 10...20 Gbp за 48 часов**





# Новые модели PromethION

## P2

---



- Self-contained benchtop device with compute inside
- Powerful GPU and built-in screen
- Can run up to two PromethION flow cells
- Simple, preconfigured device - plug in and start running

Developer devices targeted to ship Q1 2023, Early access devices targeted to ship Q3 2023

Packages from: \$59,995.00

[Register to pre-order >](#)

**2** Early Access

## P2 Solo

---



- Modular sequencing unit that plugs into GridION Mk1 or user compute
- Can run up to two PromethION flow cells
- Small footprint device

Packages from: \$10,455.00

[Buy >](#)

**2** Early Access

<https://store.nanoporetech.com/devices.htm>



# GridIONx5

Вес – 10 кг  
Мощность – 600 Вт  
Размеры – 360x200x360 мм  
Количество нанопор – до 512x5  
Стоимость проточной ячейки - \$299...\$900  
Производительность – 50...100 Gbp за 48 часов



Портативные высокопроизводительные секвенаторы PromethION — P2 и P2 Solo -создан для широкого круга исследователей. Любой пользователь сможет самостоятельно и относительно дешево получать данные полногеномного секвенирования в режиме реального времени (до 190–380 геномов человека в год). Используемая в P2 Solo технология позволяет выйти за рамки базового анализа ДНК, она также включает транскриптомный и эпигенетический анализы на одной платформе.



## **Oxford Nanopore — «не инвестируйте в приборы, инвестируйте в технологию».**

Компания создает технологии секвенирования ДНК и РНК, предлагает быструю подготовку библиотек и получение результатов в режиме онлайн. Около четверти геномов коронавируса секвенируется на приборах Oxford Nanopore. Ячейки можно промывать и использовать несколько раз, пока в них есть живые поры, в режиме реального времени видно, что происходит с образцом при секвенировании и можно и что-то скорректировать. Есть технология, которая заставляет возвратиться из нанопоры нежелательную для секвенирования НП (пора пропускает ДНК со скоростью 450 нуклеотидов в секунду). Современные реализации алгоритма позволяют секвенировать **отдельно только экзом**. Ультрадлинные прочтения требуют специальных протоколов, позволяют собрать теломеры.

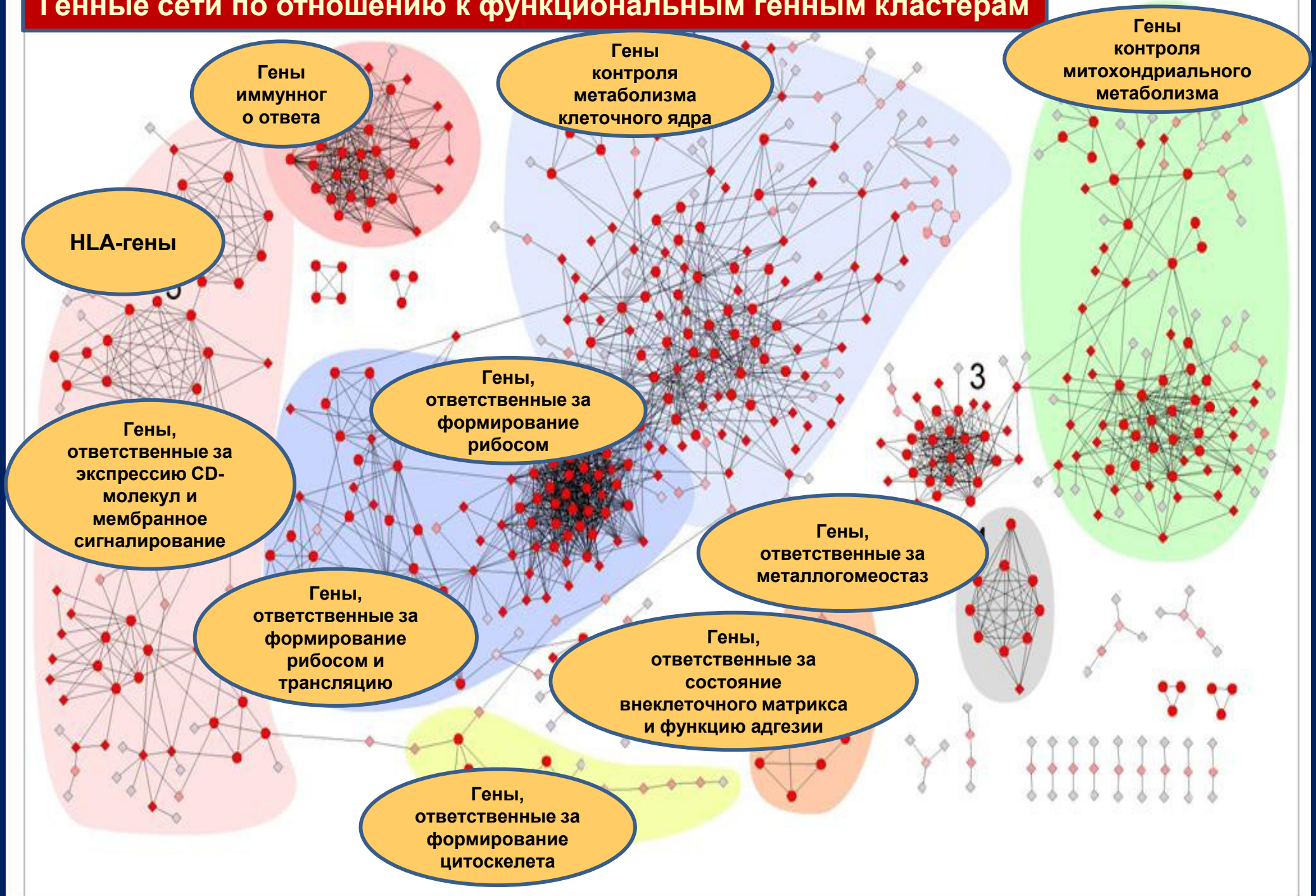
# ГЕНОМ ЧЕЛОВЕКА ФЕВРАЛЬ 2018

В статье, опубликованной в *Nature Biotechnology*, также описан поставленный с помощью MinION рекорд по самому длинному прочтению молекулы ДНК клеточной линии человека GM12878. В итоге получили 91,2 гигабайт данных, что соответствует 30-кратному покрытию генома. Длина более половины прочтенных фрагментов ДНК составила 100 тысяч п. о. и более. Дополнительно исследователи показали, что с оптимизированным протоколом возможно определение последовательности ДНК **до 882 тысяч п. о.** Фактически, максимальная длина прочтения определяется только качеством выделения ДНК. После сравнения с референсным геномом линии GM12878, который был прочтен традиционными методами много раз, оказалось, что точность сборки приближается к 100%.

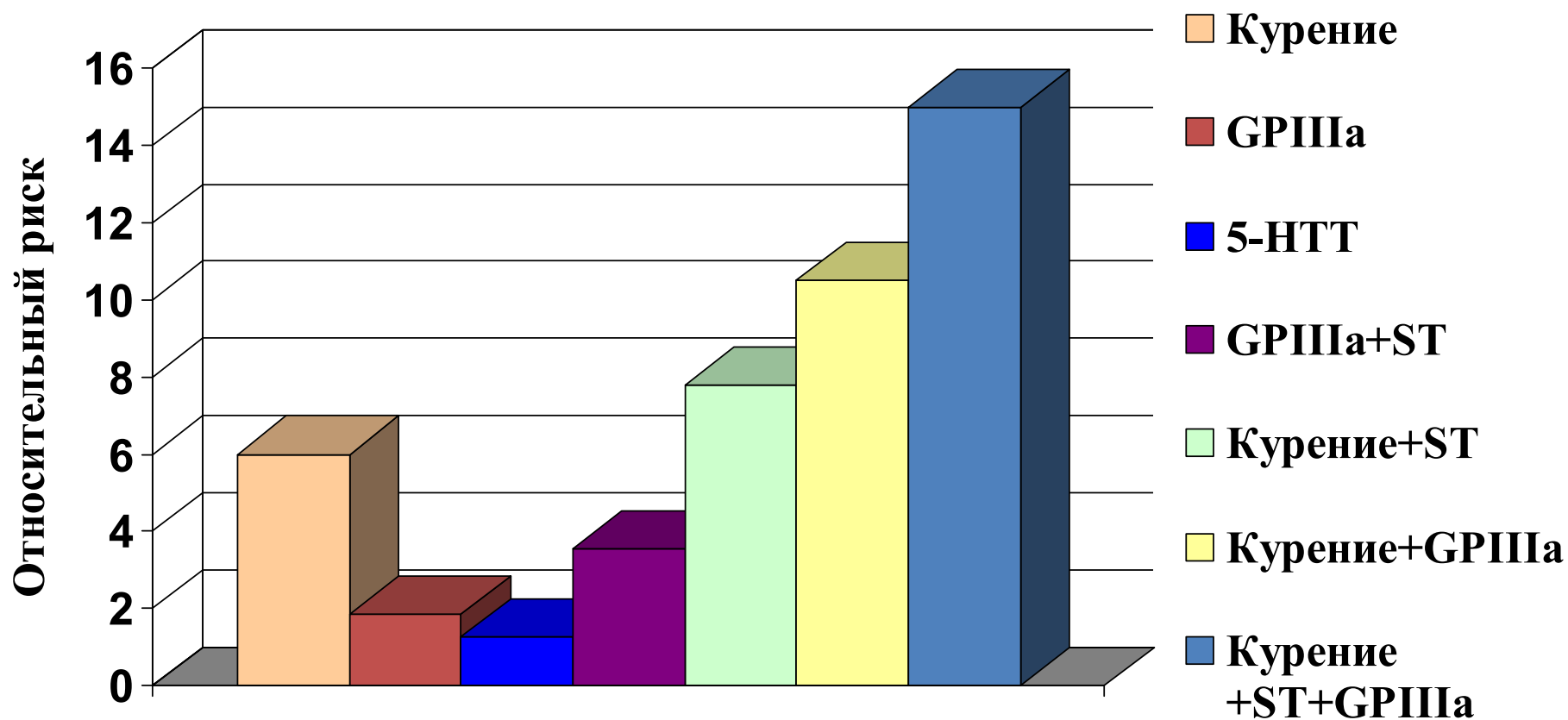
# **ОБЛАСТИ ПРИМЕНЕНИЯ ПЕРСОНАЛИЗИРОВАННОЙ МЕДИЦИНЫ**

**Наибольший прогресс в применении подходов ПМ наблюдается в диагностике и лечении мультифакторных заболеваний: онкологии, кардиологии, эндокринологии, лабораторной медицине, гинекологии, ревматологии, других областях медицины, а также фармакологии (фармакогенетика, фармакогеномика), выявление лекарственной резистентности, разработке и клинических испытаниях лекарственных средств. В организационных аспектах это ранняя диагностика, оценка риска, профилактика, мониторинг лечения.**

# Генные сети по отношению к функциональным генным кластерам



# Кооперативный эффект генетических и средовых факторов, определяющих риск развития инфаркта миокарда у мужчин в возрасте до 45 лет







**Исполнитель:** Европейский консорциум Gabriel

**Сотрудничество:** 164 ученых из 19 стран (23 исследовательских групп)

**Объекты исследования:** 10 000 астматиков (дети и взрослые) и 16 000 здоровых индивидуумов.

## Ключевые результаты проекта GABRIEL (2006-2010 г.г.)

Обнаружены новые гены, участвующие в иммунном ответе, проницаемости эпителия бронхов и контроле скорости восстановления повреждений слизистой оболочки дыхательных путей.

- **Астму ранее считали единой болезнью. Но полученные результаты предполагают биологические различия для трех клинических форм: детская, астма взрослых и тяжелая астма.**
- Аллергия является вторичным по отношению к дефектам слизистой оболочки дыхательных путей при астме и кожного барьера у детей с экземой. Терапия только аллергии не будет эффективна.
- Предсказательная ценность генетических тестов низкая. Необходима идентификация эпигенетических факторов.
- **Обозначены мишени для эффективной терапии астмы.**

# **ЗАДАЧИ ПЕРСОНАЛИЗИРОВАННОЙ МЕДИЦИНЫ:**

- **Выявление подтипов, ранее казавшихся едиными заболеваний**
- **Нахождение на этой основе мишеней для создания новых лекарственных средств**
- **Фармакогенетическая оценка эффективности существующих и вновь создаваемых лекарственных средств**
- **Создание на основе ОМИКСных технологий выявления заболеваний высокоспецифичных диагностических панелей лабораторных биомаркеров**

Главным фактором, запустившим взрывной рост медицинской генетики, стала потребность в развитии персонализированной и превентивной медицины. Считается, что до 20% существующих медицинских протоколов лечения неэффективны, поскольку не учитывают индивидуальные особенности организма человека, а также не учитывают изменения эпидемиологической обстановки в мире (множественная лекарственная устойчивость патогенов, чрезвычайная вариабельность микроорганизмов).<sup>1</sup>

<sup>1</sup><https://www.healthcarebusinessinternational.com/fraud-analytics-set-to-reshape-private-healthcare/>

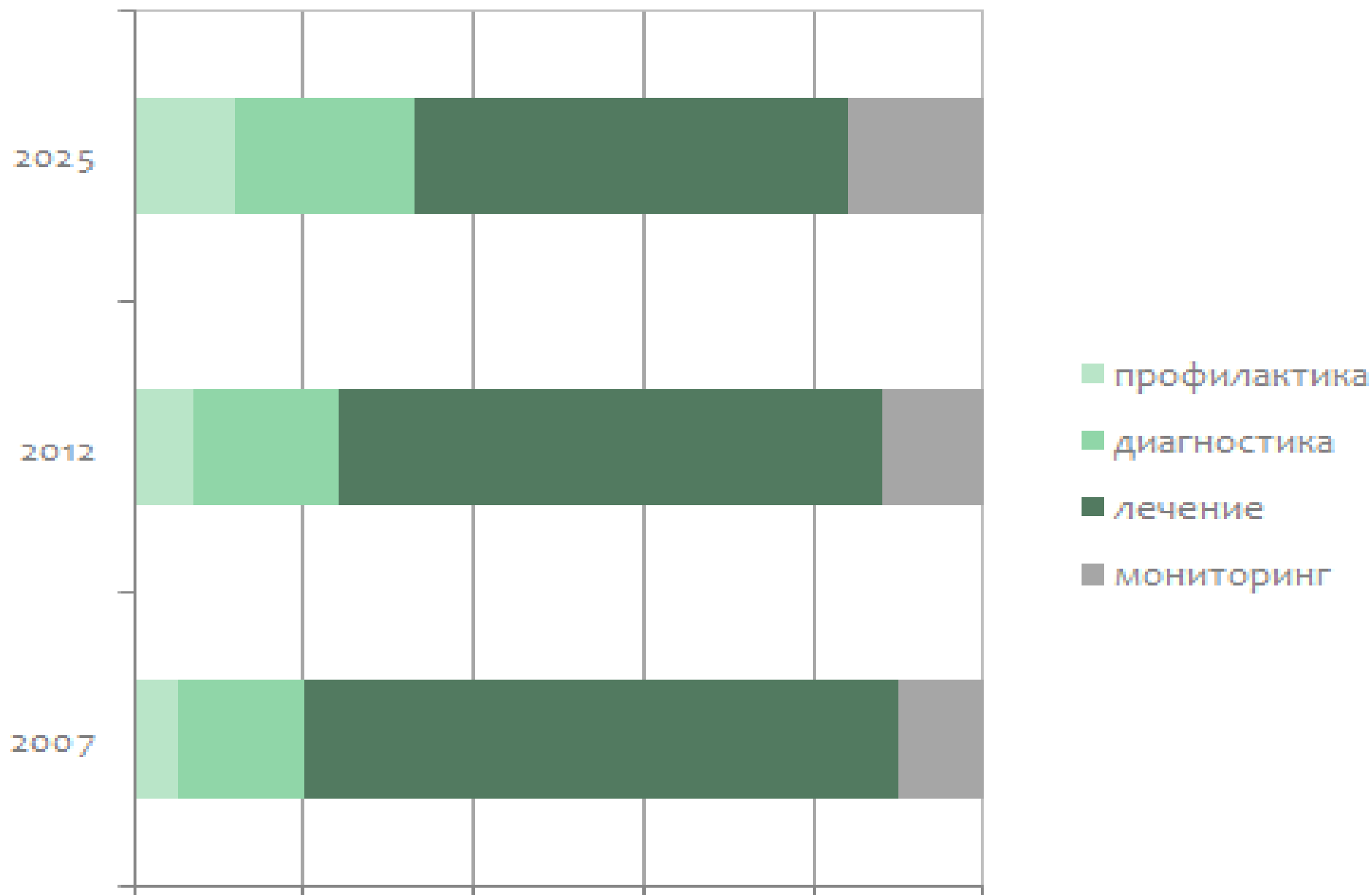
**В Nature Medicine опубликована статья, в которой крупные мировые стратеги здравоохранения задались вопросом определения главных ресурсов здравоохранения с точки зрения эффективности работы.**

**Проведено специальное исследование: к тысяче пациентов с определенной патологией применили современное стандартное лечение, некий средний уровень возможный на сегодня терапии, и эффективность оказалась **30%**. К другой тысяче больных применили подходы ПМ и эффективность составила до **70%**.**

**Таким образом, уже сегодня, опираясь на современные лекарственные и инструментальные ресурсы, эффективность лечения можно повысить на 40%!**



# Прогноз рынков здравоохранения



# ГЕНЕТИЧЕСКИЕ БИОМАРКЕРЫ

## Deciphering Complex Disease

A systems biology approach using the SOLiD™ System

Detect and Sequence Insertions and Deletions

Discover and Quantitate Non-Coding RNA

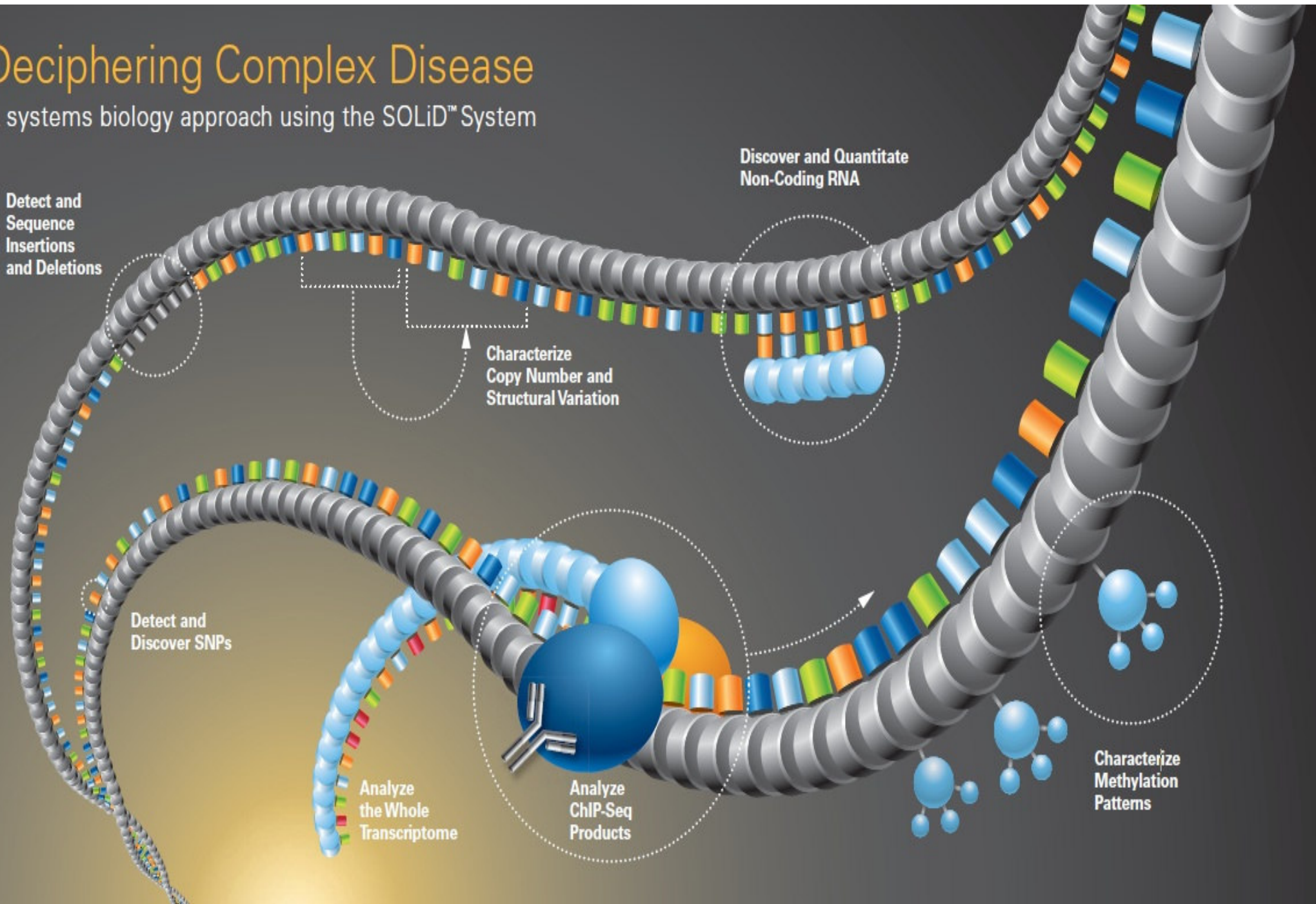
Characterize Copy Number and Structural Variation

Detect and Discover SNPs

Analyze the Whole Transcriptome

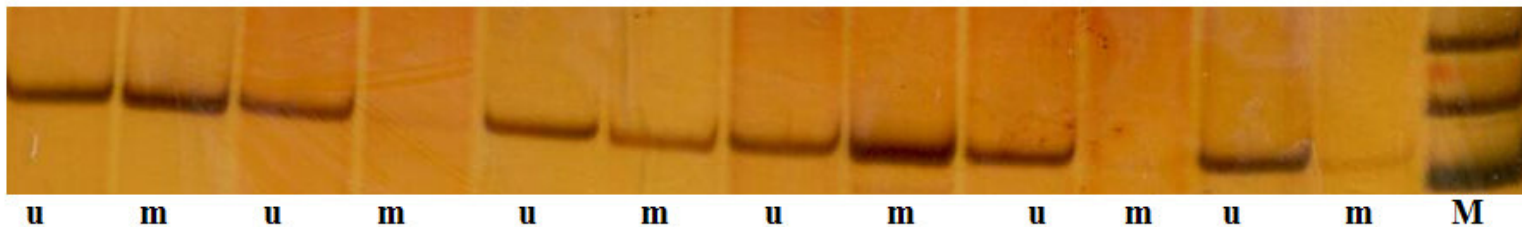
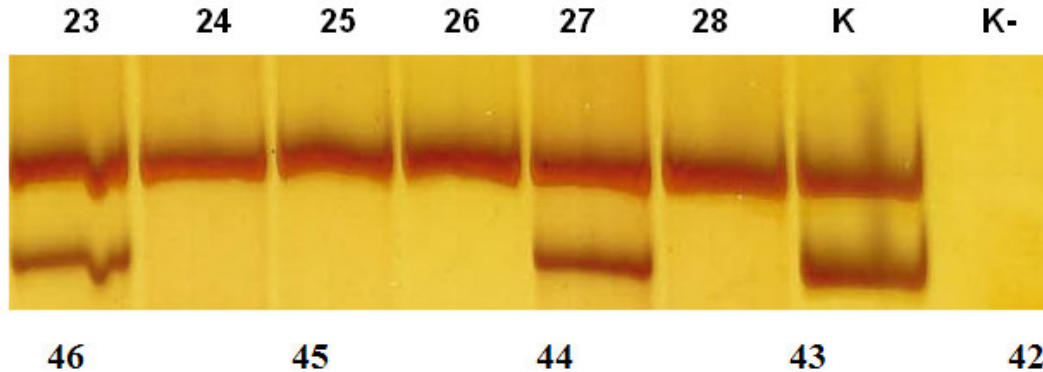
Analyze ChIP-Seq Products

Characterize Methylation Patterns

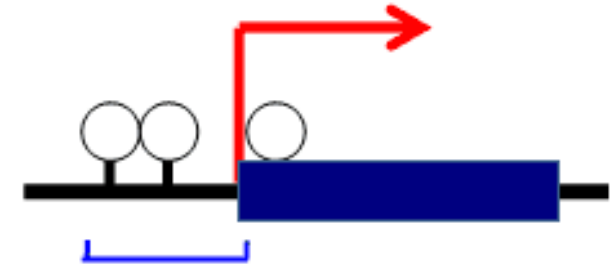


# Аномальное метилирование – раннее событие канцерогенеза

**Аномальное метилирование** - это метилирование промоторных районов генов супрессоров в опухоли, связанное с нарушением экспрессии и отсутствием белкового продукта, регулирующего клеточный цикл, клеточную дифференцировку, пролиферацию, апоптоз и другие процессы.

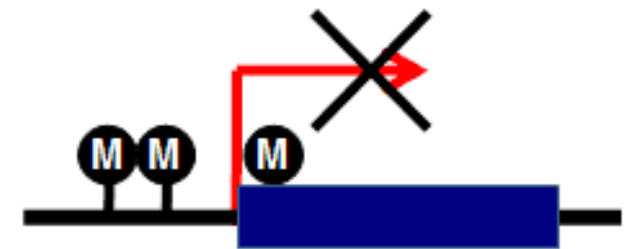


Неметилированный ген



промоторный район

Аномальное метилирование гена



→ экспрессия

● М метилирование

○ отсутствие метилирования

41

**Linked SNPs**  
outside of gene

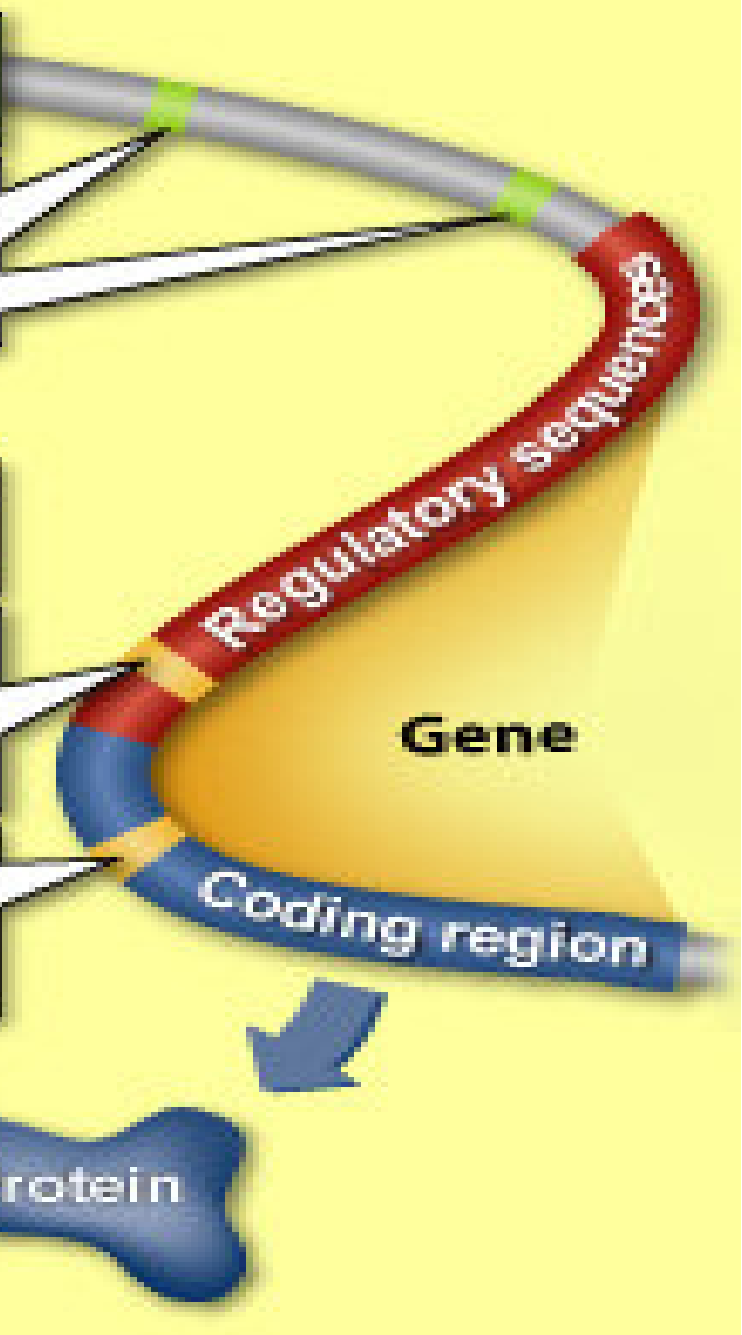
no effect on  
protein production  
or function

**Causative SNPs**  
in gene

**Non-coding SNP:**  
● changes amount of  
protein produced

**Coding SNP:**  
● changes amino  
acid sequence

Protein

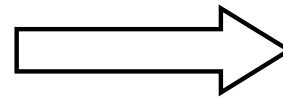
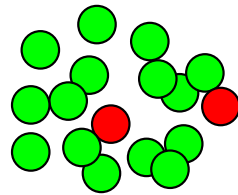
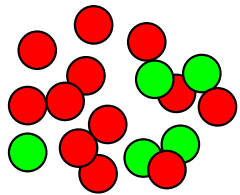




# Выявление «генов предрасположенности» к заболеванию проводится путем сопоставлений частот генотипов у больных и здоровых

Группа больных

Контроль (здоровые)



● - генотип, указывающий на предрасположенность к заболеванию.

$P_{\text{больные}}$

>>

$P_{\text{контроль}}$

**OR** – количественная мера предрасположенности (**O**dd **R**atio), показывает во сколько раз повышена вероятность заболеть для носителя «плохого» генотипа

$$\text{OR} = \frac{P_{\text{больные}} (1 - P_{\text{контроль}})}{P_{\text{контроль}} (1 - P_{\text{больные}})}$$

**Распространенные аллели с большим эффектом,  
обнаруженные в GWAS (по Ch.S. Ku, 2010)**

<b>Болезнь</b>	<b>Наименование гена</b>	<b>rs</b>	<b>OR</b>	<b>OMIM</b>	<b>Регион</b>
<b>Возраст-зависимая дегенерация сетчатки</b>	<b>CFH</b>	<b>380390-C</b>	<b>4.60</b>	<b>134370</b>	<b>1q31</b>
<b>Эксфолиативная глаукома</b>	<b>LOXL1</b>	<b>382942-G</b>	<b>20.10</b>	<b>153456</b>	<b>15q24.1</b>
<b>Болезнь Крона</b>	<b>JL23R</b>	<b>10889677</b>	<b>2.13</b>	<b>607562</b>	<b>1p31.3</b>
<b>Рак яичка</b>	<b>KILTG</b>	<b>3782179</b>	<b>3.08</b>	<b>184745</b>	<b>12q22</b>
		<b>4474514</b>	<b>3.07</b>		

## ТОР 10 ОНП в России в начале века

Ген		Rs#
Coagulation factor V	FV	rs6025
Coagulation factor II	FII	rs1799963
5,10-methylenetetrahydrofolate reductase	MTHFR	rs1801133
Angiotensin-I converting enzyme	ACE	rs4646994
Plasminogen activator inhibitor type 1	PAI-I	Rs1799889
Integrin, beta 3 (platelet glycoprotein IIIa)	ITGB3 (GP IIIa)	rs5918
Cytochrome 2C9	CYP2C9	rs1057910
Cytochrome 2C9	CYP2C9	rs1799853
Glutathione s-transferase m1	GSTM1	del
Glutathione s-transferase t1	GSTT1	del

## ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ПОЛИМОРФИЗМЫ **ОНП** В БОЛЬШИНСТВЕ СЛУЧАЕВ ПЛОХО ПРЕДСКАЗЫВАЮТ РИСКИ БОЛЕЗНЕЙ

Ученые обнаружили исключения (например, болезнь Крона, целиакия и дегенерация желтого пятна), генетический вклад которых приблизительно составляет от 40% до 50%. Исследователи из Университета Альберты проанализировали общедоступные данные 569 генетических исследований, собранных в течение двух десятилетий и охватывающих 219 медицинских состояний. Подавляющее большинство заболеваний, включая многие виды рака, диабет и болезнь Альцгеймера, имеют в лучшем случае генетический вклад от 5 до 10%.

**Schiabor Barrett, et al. Positive predictive value highlights four novel candidates for actionable genetic screening from analysis of 220,000 clinicogenomic records. // Genetics in Medicine (2021). DOI: [10.1038/s41436-021-01293-9](https://doi.org/10.1038/s41436-021-01293-9)**

**В США уже проводят генетический скрининг населения, направленный на выявление рака груди и яичников, связанного с мутациями *BRCA1* и *BRCA2* и вариантов *LDLR* с коронарным атеросклерозом. Скрининг заболеваний необходим, так как заболевания достаточно распространены, риск сильно коррелирует с мутациями в определенных генах, а раннее выявление позволяет существенно облегчить лечение.**

**Показатель значимости генетического варианта при скрининге — положительная прогностическая ценность (positive predictive value, PPV) — вероятность, что человек с обнаруженным «плохим» генетическим вариантом действительно окажется болен.**

Исследователи из американской компании Helix, которая занимается популяционной геномикой, проанализировали экзомы и медицинские карты более 220 000 пациентов, что позволило выявить несколько новых редких генетических состояний, с высокой PPV указывающих на заболевания и могут быть включены в программы генетического скрининга населения. Всего было обнаружено 74 статистически значимых ассоциации между 27 генами. Генетических состояний с PPV более 0,3 (не менее чем у 30% людей с этим вариантом гена разовьется болезнь) оказалось всего семь. Среди них четыре ранее не описанных варианта генов: была показана связь варианта GSK с сахарным диабетом, варианта HBV с гемоглобинопатией, варианта PKD1 с поликистозной болезнью почек и варианта MIP с катарактой.

# ГЕНЕТИЧЕСКОЕ ТЕСТИРОВАНИЕ

В настоящее время в ПМ можно выделить несколько направлений ГТ: преимплантационное, пренатальное, неонатальное, педиатрическое и терапевтическое для взрослого населения. Обычно ГТ применяют в случаях наличия клинических симптомов или родственников, страдающих генетическим заболеванием.

Технологически ГТ осуществляется двумя методами, во-первых, таргетным секвенированием при наличии конкретных генетических полиморфизмов, и, во-вторых, полногеномного секвенирования. В первом случае исследуют конкретные генетические полиморфизмы: ОНП, CNV, вставки, делеции, дупликации и т.д. целевых генов или хромосомного региона. Полногеномные исследования применяют при заболеваниях с не совсем четкой клинической картиной, МФЗ, а также при проведении скрининговых исследований для выявления редких и не очевидных фенотипов

# КОММЕРЧЕСКОЕ ГТ

## **ПРОИСХОЖДЕНИЕ**

Этнический состав, пути миграции предков и наличие генов неандертальцев, а также поиск родственников до десятого поколения

## **ПИТАНИЕ**

Генетические особенности, связанные с непереносимостью продуктов, дефицитом витаминов и другими особенностями питания

## **СПОРТ**

Виды физических нагрузок, которые вам подойдут, и успешные атлеты, с которыми у вас совпадают геномы

## **СПОСОБНОСТИ И ХАРАКТЕР**

Ваши предрасположенности к разным способностям и чертам характера



# КОММЕРЧЕСКОЕ ГТ

## **РИСКИ ЗАБОЛЕВАНИЙ**

Вероятность развития многофакторных заболеваний и наличие мутаций, которые могут вызывать наследственные формы заболеваний

## **ЭФФЕКТИВНОСТЬ ЛЕКАРСТВ**

Какие препараты усваиваются нормально и имеют высокую эффективность, а от каких есть риск побочных эффектов

## **Форматы клинических исследований с использованием геномного секвенирования (NGS):**

**полногеномное секвенирование (whole genome sequencing, WGS);  
полноэкзомное секвенирование (whole exome sequencing, WES);  
секвенирование генных панелей.**

**Полногеномное секвенирование для 50-кратного прочтения необходимо получить 170 млрд. букв. Используется в клинике как альтернатива микрочиповой диагностике или полногеномной гибридизации для поиска крупных структурных изменений хромосом (более 100000 п.н.). Хорошо подходит для неинвазивного скрининга. К WGS прибегают, когда остальные методы генодиагностики себя исчерпали.**

**Полноэкзомное секвенирование наиболее перспективный метод анализа, если генетическая природа заболевания не ясна. Результаты WES кагорт пациентов, подобранных по нозологиям, обобщены в хорошо клинически аннотированные БД и позволят выявлять новые генетические компоненты моногенных и МФЗ.**

## **Результаты проект 100 000 Genomes свидетельствуют о диагностической значимости полногеномного секвенирования по сравнению с экзомным для редких заболеваний**

**Проанализировали данные 4 660 пациентов из 2 183 семей и найлены новые локусы, ассоциированные с зарегистрированными 161 редкими расстройствами: неврологические, офтальмологические и опухолевые синдромов. 13% всех диагнозов, были связаны с мутациями в некодирующих областях или митохондриальных генах, экспансией tandemных повторов и структурными вариантами, что говорит о преимуществе полногеномного секвенирования по сравнению с секвенированием экзома. Для **134 из 533 пациентов с установленным ранее генетическим диагнозом лечение было изменено.****

**Секвенирование генных панелей позволяет исследовать сразу все гены, мутации в которых вызывают клинически сходные поражения. В настоящее время данный формат является наиболее распространенным из-за простоты, дешевизны и относительно простой интерпретации данных. В панель включают только те гены, для которых уже доказана связь с заболеваниями.**

**В настоящее время в различных лабораториях мира предлагают более 1000 генетических тестов, в том числе компании, которые предлагают их пройти, минуя врача, однако точность значение и целесообразность ряда тестов для медицины иногда вызывают сомнения. Развитие рынка ГТ зависит не только от возможностей науки, но и от запросов общества.**

Работа с генетическими панелями – это новое направление мышления в системе работы врача,  
учитывающее его уровень компетенций,  
практический опыт, основываясь на  
индивидуальности пациента. Врач должен уметь  
интерпретировать результаты теста, самостоятельно  
составлять заключение и персональные  
рекомендации пациенту. В этом и состоит суть  
персонализированного подхода. Система принятия  
решений может появиться в будущем на стыке  
генетики и биоинформатики, а пока принятие  
решений по генетическому тестированию пациента  
находится в зоне ответственности его лечащего врача.

**Количество подтвержденных молекулярных диагнозов повышается при повторном анализе экзомов пациентов, секвенированных 6 лет назад.**

Повторный анализ данных 250 экзомов, (первый в 2012 г.) и на основе знаний на декабрь 2017 г., увеличил молекулярно-диагностический выход подтвержденных случаев с 25 до 47%. Новые молекулярные диагнозы были вызваны как открытием новых генов, ассоциированных с заболеваниями, так и применением улучшенной классификации вариантов в генах известных болезней, а также выявлением патогенных вариантов числа копий некоторых участков экзома. Около трех четвертей пациентов после пересмотра их генетических данных были направлены на дополнительное генетическое консультирование, тактика ведения 17 из них была кардинально пересмотрена.

*Pengfei Liu et al. // Reanalysis of Clinical Exome Sequencing Data // N Engl J Med 2019; 380:2478-2480.*

# **РУССКИЕ ГЕНОМЫ**

**Национальные геномные проекты стали уже обычным явлением в разных странах, и с каждым годом их число увеличивается. В 2015 году в Санкт-Петербурге стартовал проект «Российские геномы». В исследовательский консорциум вошли геномные лаборатории из разных городов страны: Москвы, Новосибирска, Томска, Уфы, Хабаровска и др. Координирует проект Центр геномной биоинформатики им. Ф. Г. Добржанского Санкт-Петербургского государственного университета. Итогом работы исследователей и волонтеров (предоставляющих свой биоматериал для анализа) должна стать открытая компьютерная база анонимных геномных данных более 3000 человек из разных регионов России. Предполагается описать геномные вариации и создать информационную базу вариаций, значимых для медицины**

# **ЭКЗАМЕН**

**В Национальном медицинском исследовательском центре акушерства, гинекологии перинатологии имени академика В.И. Кулакова проводят полноэкзомный скрининг всех новорожденных, родители которых дают на это согласие. Пилотный проект ЭКЗАМЕН («Экзомный клинически значимый анализ мутаций единичных нуклеотидов») стартовал в феврале прошлого года. Получено уже около 10 тысяч образцов, проанализировали около 7000 экзомов. Часть детей начинают «диагностическую одиссею» после появления симптомов заболевания. Полноэкзомное секвенирование дает возможность узнать заранее, до клинических проявлений, что болезнь разовьется.**



**Предиктивная медицина**  
- **диагностическая медицина**  
**ранних лабораторных**  
**биомаркеров и генетических**  
**предрасположенностей**  
**(оценка вероятностей)**

# **ИННОВАЦИИ В ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКЕ И ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ АНАЛИЗА**

**1890 г. ГРАВИМЕТРИЯ**

**ТИТРОМЕТРИЯ**

**ФОТОМЕТРИЯ**

**НЕФЕЛОМЕТРИЯ**

**ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ**

**ММОЛЬ/Л**

**1940 г. ХРОМАТОГРАФИЯ**

**ФЛЮОРОМЕТРИЯ**

**АТОМНАЯ АБСОРБЦИЯ**

**МКМОЛЬ/Л**

**1960 г. РАДИОИММУНОАНАЛИЗ**

**ИММУНОФЕРМЕНТНЫЙ АНАЛИЗ**

**ФЛЮОРЕСЦЕНТНЫЙ ИММУНОАНАЛИЗ**

**БИОЛЮМИНЕСЦЕНТНЫЙ АНАЛИЗ**

**НМОЛЬ/Л**

**1980 г. ЛЮМИНЕСЦЕНТНЫЙ ИММУНОАНАЛИЗ**

**ПОЛИМЕРАЗНАЯ ЦЕПНАЯ РЕАКЦИЯ**

**МИКРОБИОЧИПЫ**

**СЕКВЕНИРОВАНИЕ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ**

**ПМОЛЬ/Л**

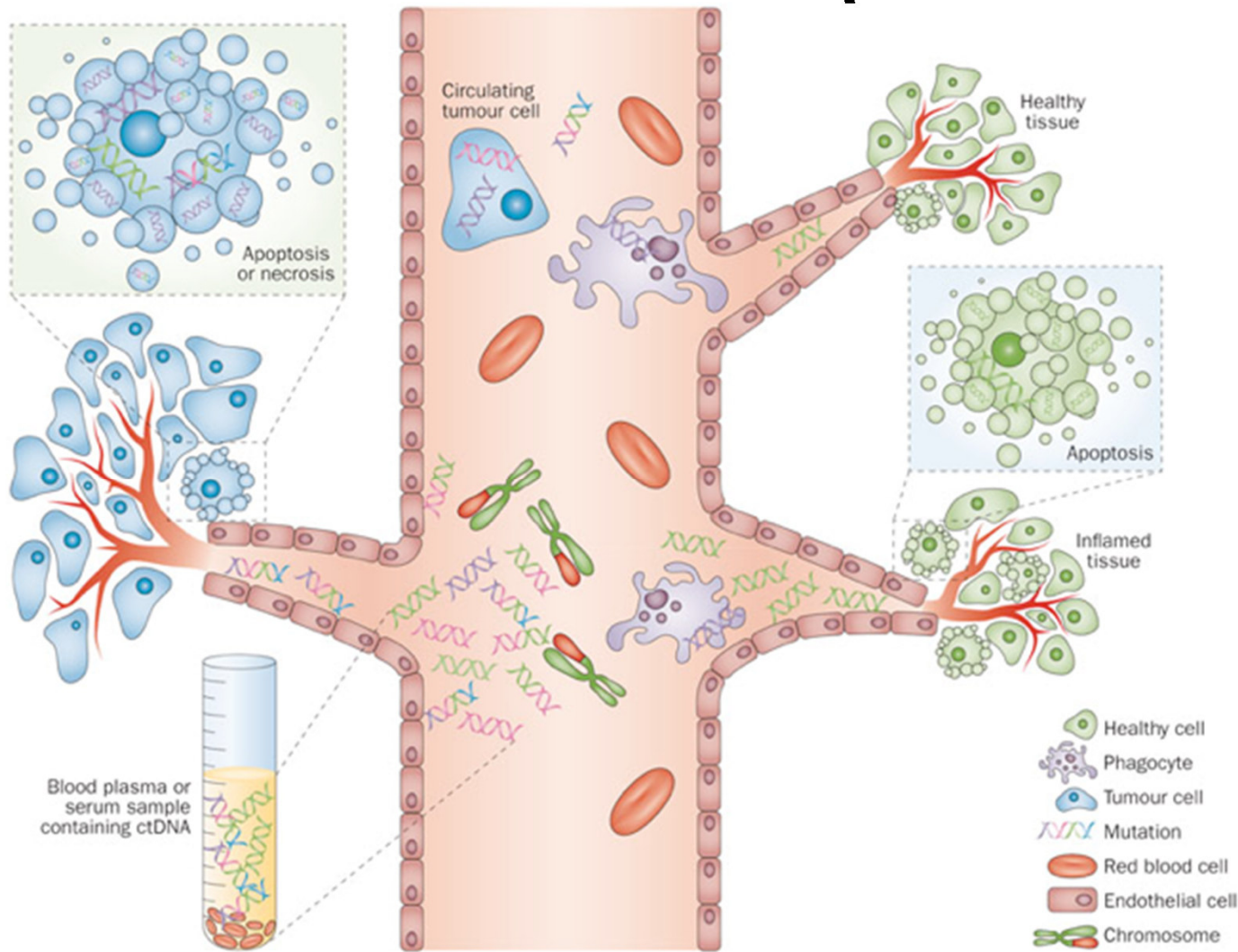
# цПЦР-высокая точность и чувствительность

Метод	Чувствительность	Оптимальная область применения
Капиллярное секвенирование	<b>Больше 10%</b>	Опухолевая ткань
Пиросеквенирование	10%	Опухолевая ткань
NGS	2%	Опухолевая ткань
Количественная ПЦР	1%	Опухолевая ткань
Аллель специфическая ПЦР (ARMS)	0,10%	Опухолевая ткань
Цифровая ПЦР	<b>0,1% и ниже</b>	цДНК, редкие варианты

# **ЖИДКОСТНАЯ БИОПСИЯ**

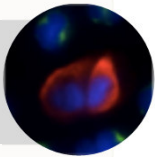
**ВЫЯВЛЕНИЕ ЦИРКУЛИРУЮЩИХ  
ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК (ЦОК,СТС)**

# Мишени для периферийного мониторинга рака

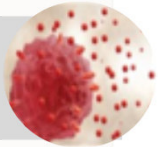


2 главные  
ДНК-мишени:  
ЦОК и вкДНК

- **Циркулирующие Опухолевые Клетки (ЦОК)**



- **Экзосомы**

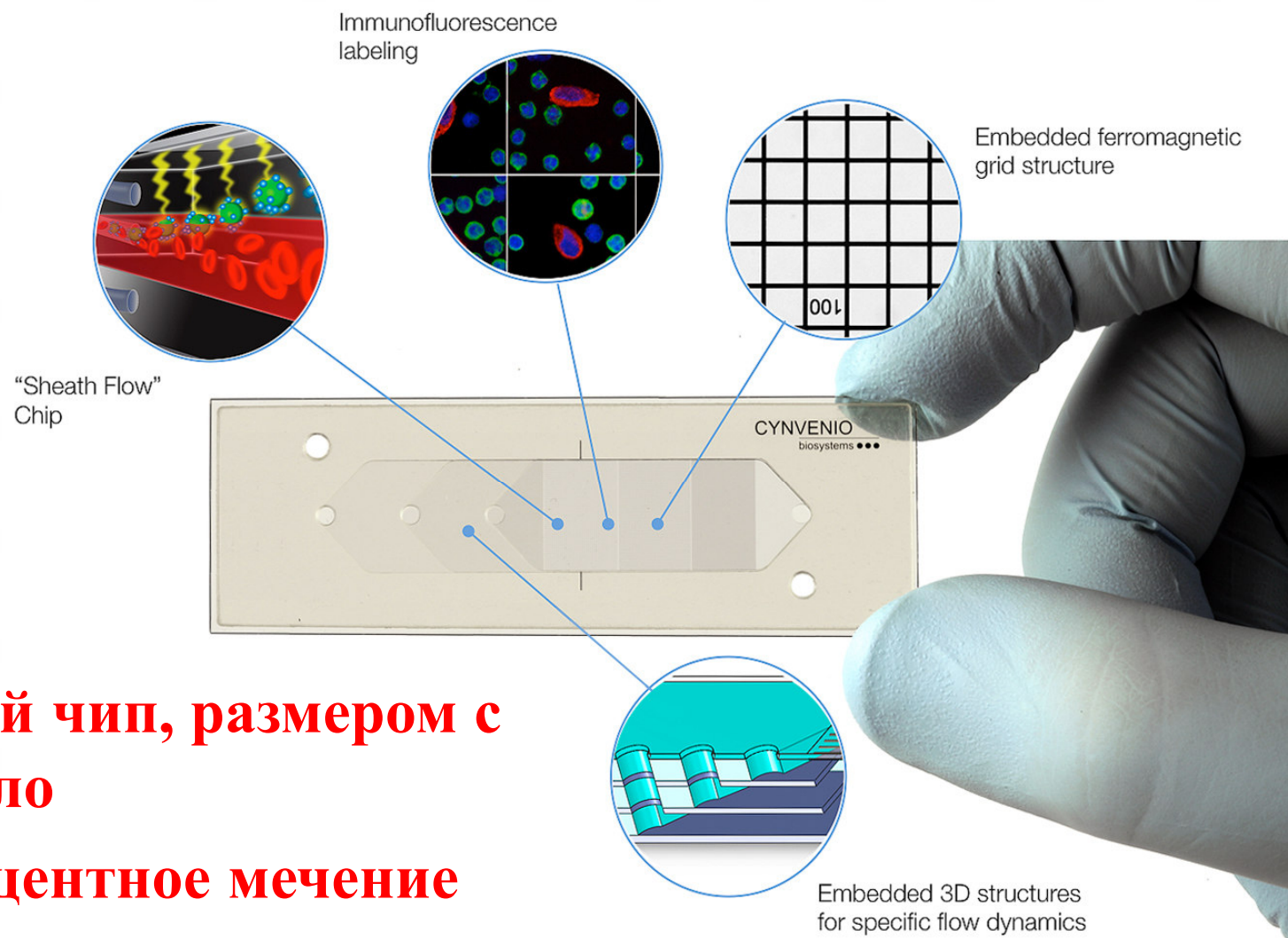


- **Внеклеточная ДНК (вкДНК)**



# Циркулирующие опухолевые клетки, внеклеточная и герминальная ДНК из единого образца крови

В основе –  
специальный  
проточный чип



- **Микрофлюидный чип, размером с предметное стекло**
- **Иммунофлуоресцентное мечение**
- **Встроенная ферромагнитная сетка позволяет проводить подсчет и анализ клеток**

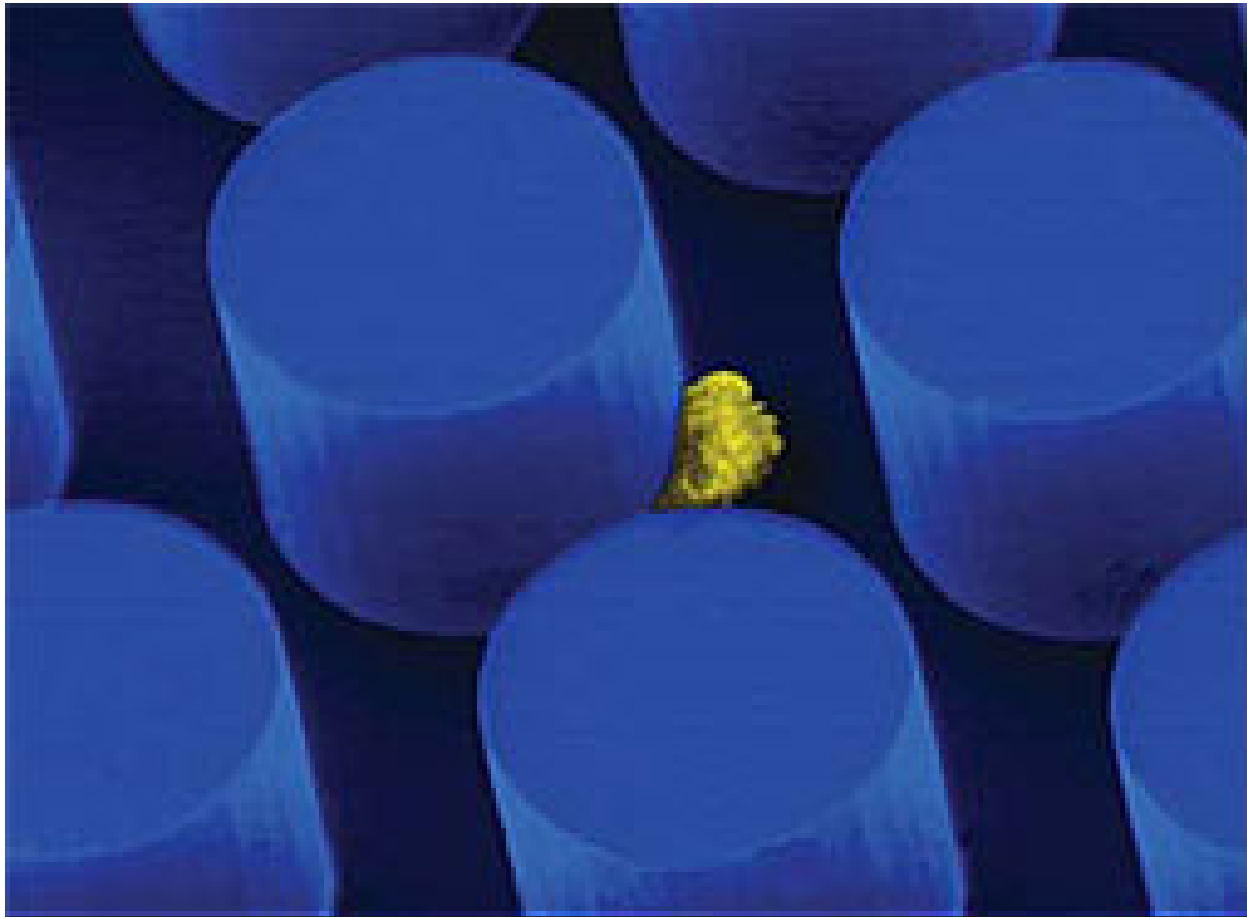
# СТС - МИКРОБИОЧИП

состоит из кремниевого чипа с присоединенными к нему колонками, камеры, и пневматического насоса. Колонки покрыты антителами к адгезивным молекулам эпителиальных клеток (EрСАМ, epithelial cell adhesion molecule) которые играют роль миниатюрных пробирок где смешиваются клетки и химические вещества. СТС-чип содержит **78 тыс. колонок**, выхватывающих раковые клетки. В отличие от обычных клеток почти все клетки карцином несут на поверхности EрСАМ.

Обнаруживает одну ЦОК крови даже среди миллиарда нормальных, в 100 раз превосходя по чувствительности наиболее распространенные методы идентификации аномальных клеток.

**Раковая клетка легких "прилипла" к микроколонке *СТС*-чипа, которая покрыта антителами.**

**Размеры каждой колонки - 100 x 100 мкм**





# Сиквенс одной клетки

**ВОЗМОЖНОСТЬ СИКВЕНСА ИНДИВИДУАЛЬНЫХ КЛЕТОК ОТКРЫВАЕТ НОВЫЕ ВОЗМОЖНОСТИ ДЛЯ БИОЛОГИИ И МЕДИЦИНЫ.**

( Battlich N. et al. Image-based transcriptomics in thousands of single human cells at single-molecule resolution.// Nat. Methods. – 2013. – 10. – P. 1127-1133.

**ГЕТЕРОГЕННОСТЬ ДНК В ОПУХОЛЕВЫХ ТКАНЯХ ПО СРАВНЕНИЮ С НОРМАЛЬНОЙ, ОТ ПАЦИЕНТА К ПАЦИЕНТУ. DE NOVO МУТАЦИИ, НАБЛЮДАЕМЫЕ В СПЕРМЕ С ВОЗРАСТОМ, АССОЦИИРУЮТСЯ С АУТИЗМОМ, ШИЗОФРЕНИЕЙ, И УМСТВЕННОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ.**

( Boycott K.M. et al Rare-disease genetics in he era of next-generation sequencing: discovery to translation.// Nat. Rev. Genet. – 2013. – 14. – P. 681-691.)

# Традиционная биопсия ткани и «жидкая биопсия»

## Образец твердой опухоли

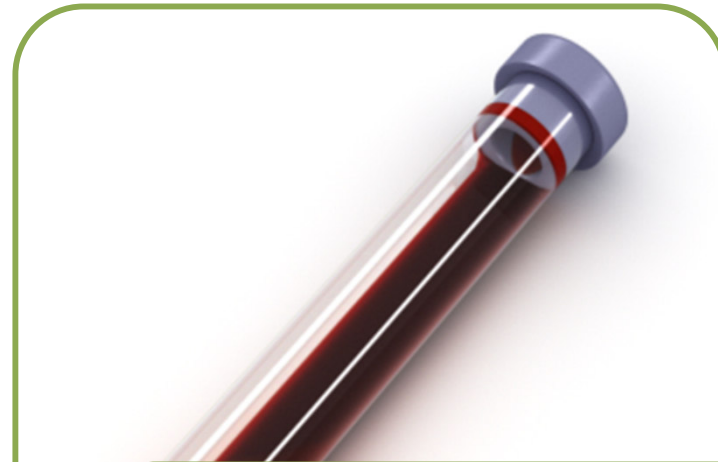


### Трудности

- Инвазивная процедура
- Ограниченное количество подходов
- Ограниченное кол-во материала
- Опухоль может быть недоступна для биопсии
- Не дает информации о гетерогенности опухоли



## Жидкая биопсия



### Преимущества

- Неинвазивный метод – забор образцов может быть многократным в разные моменты времени
- Менее дорогой и более быстрый
- Больше информации о гетерогенности опухоли
- Мониторинг резистентности и эффективности лечения

**ТЕХНОЛОГИИ АНАЛИЗА  
СВОБОДНОЦИРКУЛИРУЮЩЕЙ  
ВНЕКЛЕТОЧНОЙ ДНК**

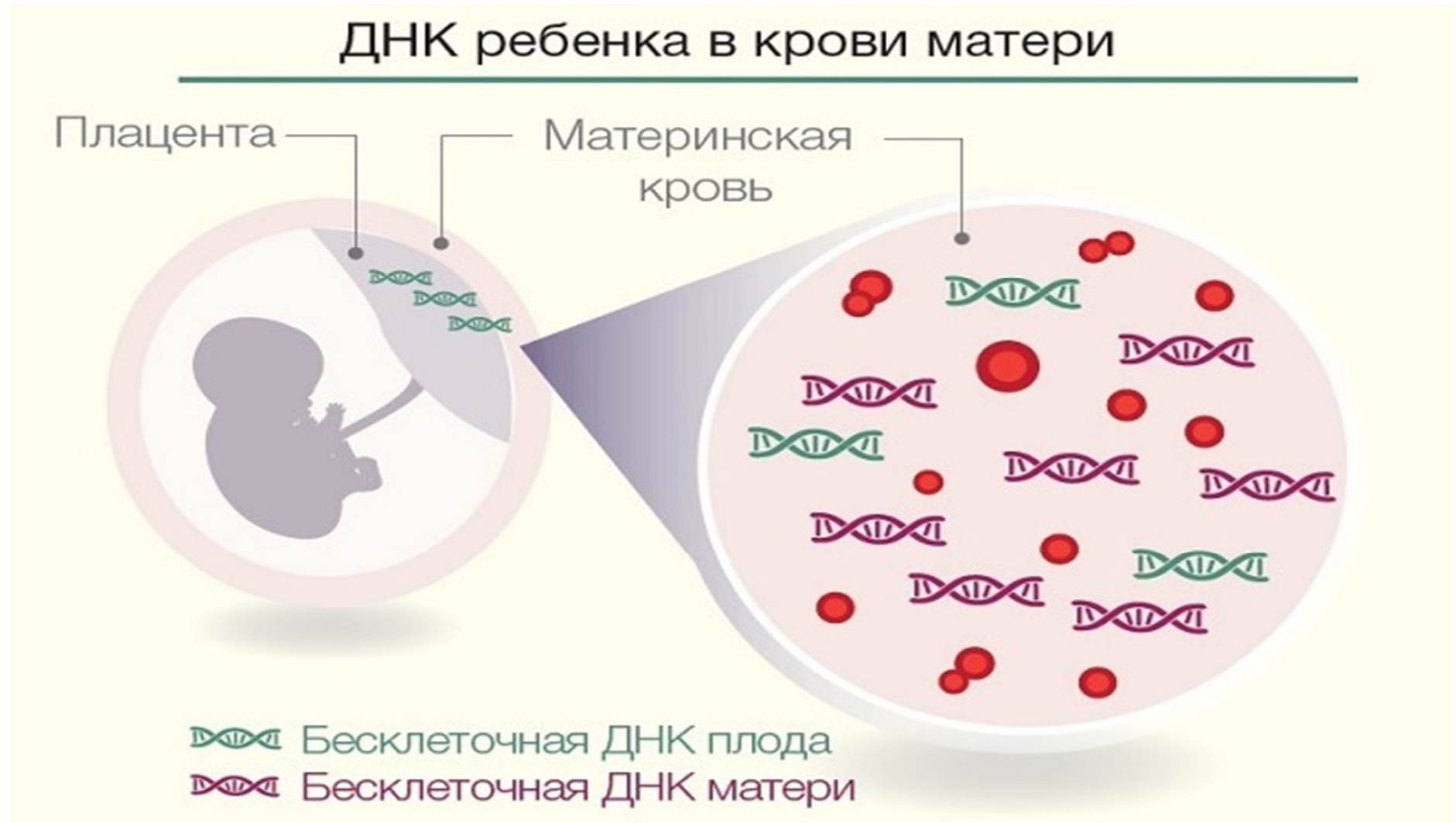
**НЕИНВАЗИВНОЕ ПРЕНАТАЛЬНОЕ  
ТЕСТИРОВАНИЕ (НИПТ)  
АНАЛИЗ ВНЕКЛЕТОЧНОЙ ДНК ПРИ  
РАЗЛИЧНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ**

## **Неинвазивное пренатальное тестирование (НИПТ)**

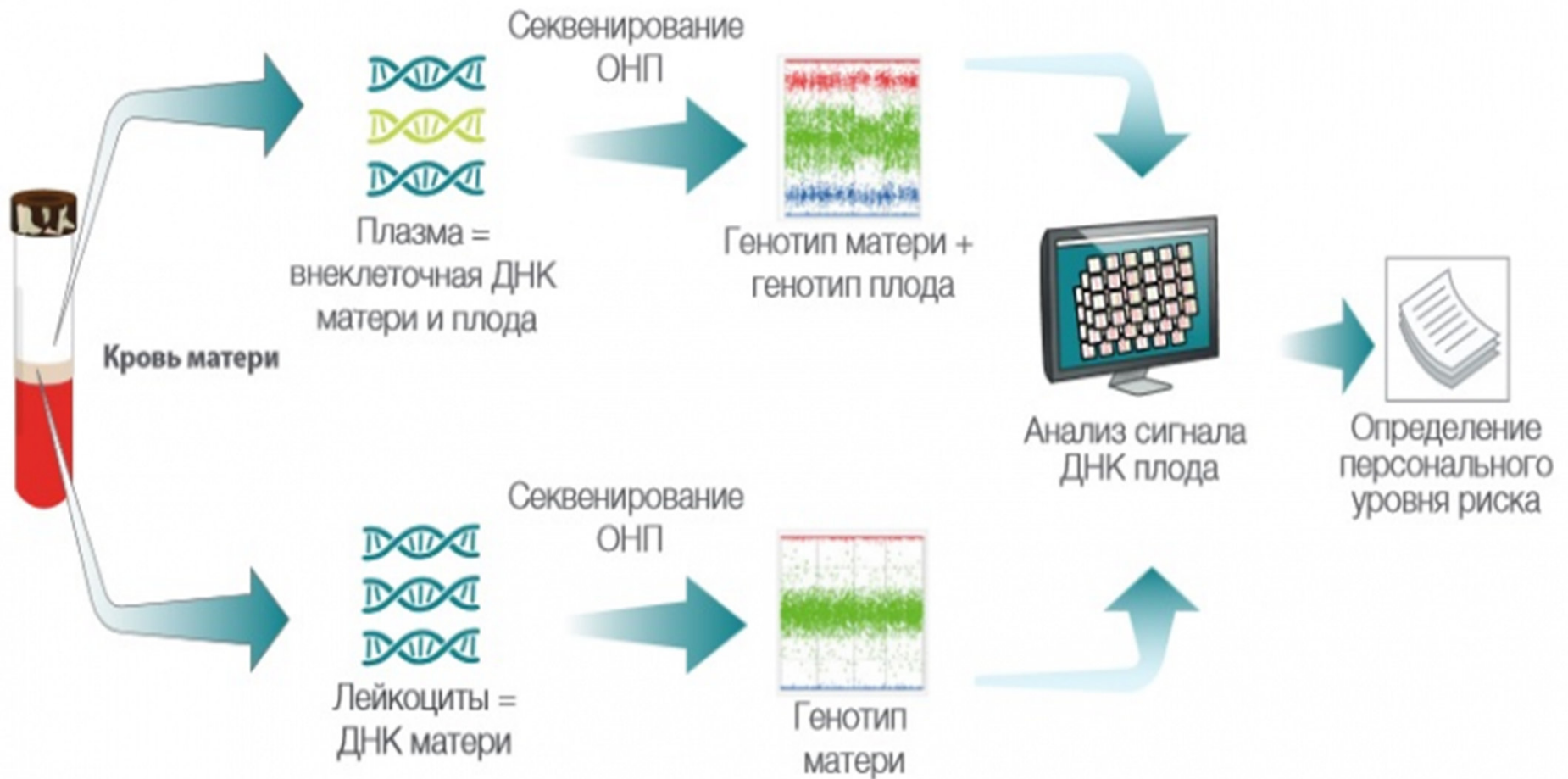
**Использование в ГТ циркулирующей в кровотоке матери внеклеточной ДНК плода (cell-free fetal DNA, cffDNA)**

**Весьма перспективной технологией пренатального ГТ является использование циркулирующей в кровотоке матери внеклеточной ДНК плода, начиная уже с пятой недели беременности. По числу прочтений, которые относятся к исследуемой хромосоме относительно референсной, можно определить случаи анеуплодии, выявить пол будущего ребенка, хромосомные перестройки. Указанный метод в 2012 г. одобрен как дополнение к существующим протоколам в США, но назначается либо при высоком риске наследственных заболеваний, или по желанию. Если проводится высокопроизводительное секвенирование всей внеклеточной ДНК и матери и плода, то это дает возможность диагностировать любое наследственное заболевание.**

# НАЧИНАЯ С 5 НЕДЕЛИ БЕРЕМЕННОСТИ ПРОВОДИТСЯ ЗАБОР 18 МЛ ВЕНОЗНОЙ КРОВИ



**Количественный, когда просто сравнивают количество исследуемых хромосом (13, 18, 21 и половых) относительно шестой и определяют вероятность наличия синдромов Дауна, Эдвардса, Патау, Клайнфельтера и Тернера.**



# **ОБЩЕЕ И РАЗЛИЧИЕ В ПОДХОДАХ ПМ И ПрМ**

## **ОБЩЕЕ:**

**ОМИКсные технологии (ПМ, ПрМ)**

**Таргетные лекарственные препараты (ПМ, ПрМ)**

**Влияние факторов окружающей среды (ПМ, ПрМ)**

## **ПРЕЦИЗИОННАЯ МЕДИЦИНА**

**Электронная медицина (мед. карты, анкеты)**

**Цифровая медицина (ИИ, БД, «аватары»)**

**Мобильное здравоохранение (24/7, телем.)**

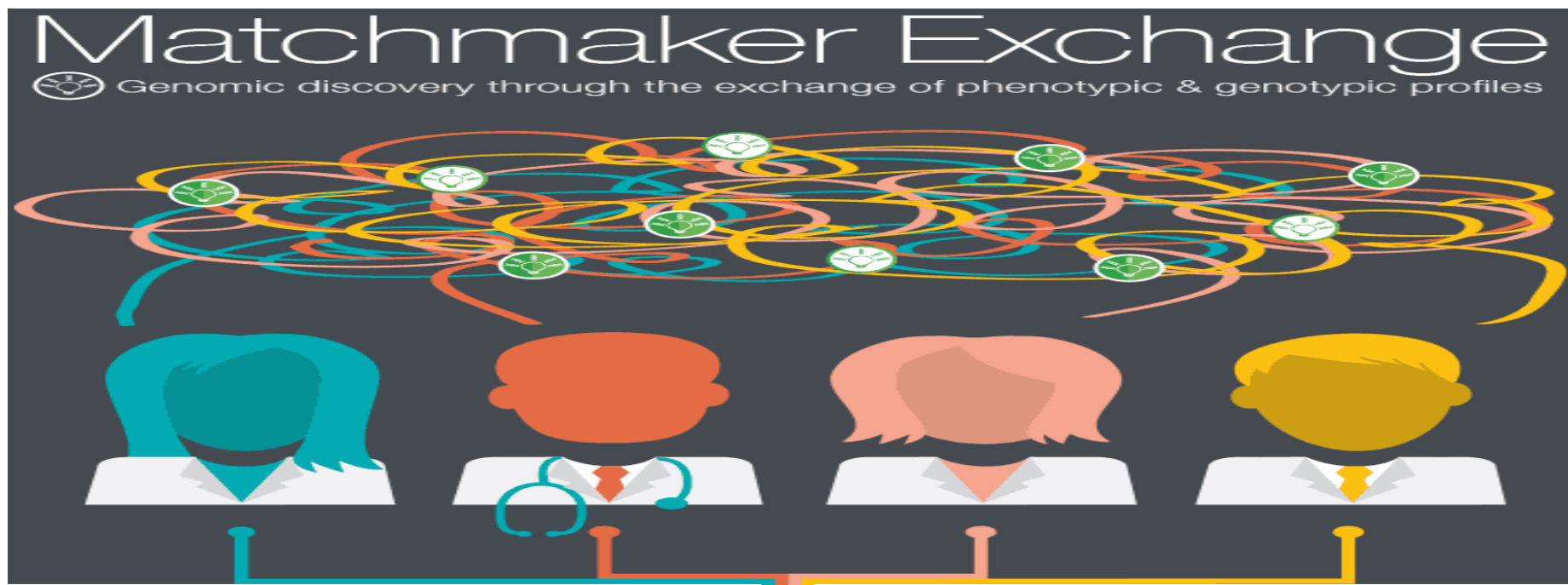
# **ИСТОРИЯ ПОЯВЛЕНИЕ ТЕРМИНА ПРЕЦИЗИОННАЯ МЕДИЦИНА**

**В книге экономистов К. Кристенсена и Дж. Гроссмана «Инновационное предсказание», вышедшей в 2009 г. впервые появляется сам термин прецизионная медицина. Это событие произошло после случая с мальчиком Ником Волкером, у которого в 2 года сильно болел кишечник, а к 6 - он перенёс 160 операций. К лечению мальчика подключился Ховард Джейкоб, секвенировавший его геном и нашедший мутацию в гене XIAP, ответственную за редкий воспалительный процесс в кишечнике, который лечится трансплантацией костного мозга.**



Ной – 6-летний мальчик, который страдает заболеванием, названия для которого просто нет.

В январе **2015** г. программисты из Торонто начали тестировать систему (MatchMaker Exchange) по обмену генетической информацией между больницами и другими медицинскими организациями и пока ее главная цель – налаживание взаимодействия между медиками различных стран, которые занимаются проблемой редких генетических мутаций в одном-единственном гене.



**БЛАГОДАРЮ ЗА ВНИМАНИЕ!**

