

**Российский национальный исследовательский медицинский
университет**

Кафедра клинической лабораторной диагностики ФДПО

Щербо Сергей Николаевич

ЛАБОРАТОРНЫЕ ОСНОВЫ

ПЕРСОНАЛИЗИРОВАННОЙ МЕДИЦИНЫ.



МЕЖДУНАРОДНЫЙ ЭКОНОМИЧЕСКИЙ ФОРУМ 2012 ГОДА



Лидеры Всемирного экономического форума 2012 года назвали 10 важнейших технологий, которым в этом году стоит уделить повышенное внимание. Персонализированная медицина, синтетическая биология, обработка информации представлены в этом списке.

Синтетическая биология и метаболическая инженерия: появилась возможность разрабатывать новые биологические процессы и организмы, призванные служить особым целям, в том числе создавать новые терапевтические лекарства.

Персонализированная медицина и предотвращение распространения болезней поможет улучшить здравоохранение в мире. Прорыв в таких областях как геномика, протеомика и метаболомика открывают возможности для создания ‘личной’ медицины — лекарств, учитывающих особенности конкретного человека.

**Грядет эра персонализированной медицины и
готовиться к ней нужно уже сегодня.**

Джордж Черч. 2007

Медицина 4 «П»

Медицина XXI века

Предиктивная (предсказательная)

Предупредительная (профилактическая)

Партисипаторная (participatory) – пациент
участник процесса, его информируют и обучают. Ему
помогают в выборе, о нем заботятся.

Персонализированная (индивидуальная)

Лерой Гуд (Leroy Hood) США, 2008)

**Первооткрыватель главного комплекса
гистосовместимости Жан Доссе
(Jean Dausset, 1916-2009 гг.)**

Нобелевская премия 1980 года



**Основатель предиктивной
(предсказательной)**

медицины

**«Чтобы предупредить
болезнь надо ее
предвидеть»**

Жан Доссе

ВРАЧ-КОНСУЛЬТАНТ И ПАЦИЕНТ

МЕДИЦИНА ВО ВСЕ ВРЕМЕНА ОСНОВНОЕ ВНИМАНИЕ УДЕЛЯЛА УЖЕ ЗАБОЛЕВШЕМУ ЧЕЛОВЕКУ.

ВОПРОС «ЧЕМ БОЛЕН ПАЦИЕНТ?» В БУДУЩЕМ МОЖЕТ ПРЕВРАТИТЬСЯ В ЗАДАЧУ «**ЧЕМ МОЖЕТ ЗАБОЛЕТЬ ЭТОТ ЧЕЛОВЕК И ЧТО СЛЕДУЕТ ПРЕДПРИНЯТЬ СЕГОДНЯ, ЧТОБЫ ЭТОГО НЕ ДОПУСТИТЬ**»



Персонализированная превентивная медицина

Согласно результатам научных исследований с помощью новой генетики и принципа взаимодействия между геном и окружающей средой мы можем выиграть до 14 лет жизни с хорошим состоянием здоровья. Затормозить процессы старения.

(Clarke, 2003; Pesch et al., 2004)



Можно выделить три главные проблемы развития ПМ: первая, **научная** (плохое понимание молекулярных механизмов или недостаток биомаркеров связанных с некоторыми заболеваниями), вторая, **организационно-практические вопросы** (сбор электронной диагностической информации, неприкосновенности частной жизни, обучение медицинского персонала и пациентов) и третья, **экономические проблемы**.



**По последним прогнозам в США
к 2018 г. расходы на здравоохранение должны
увеличиваться на 6% в год.**

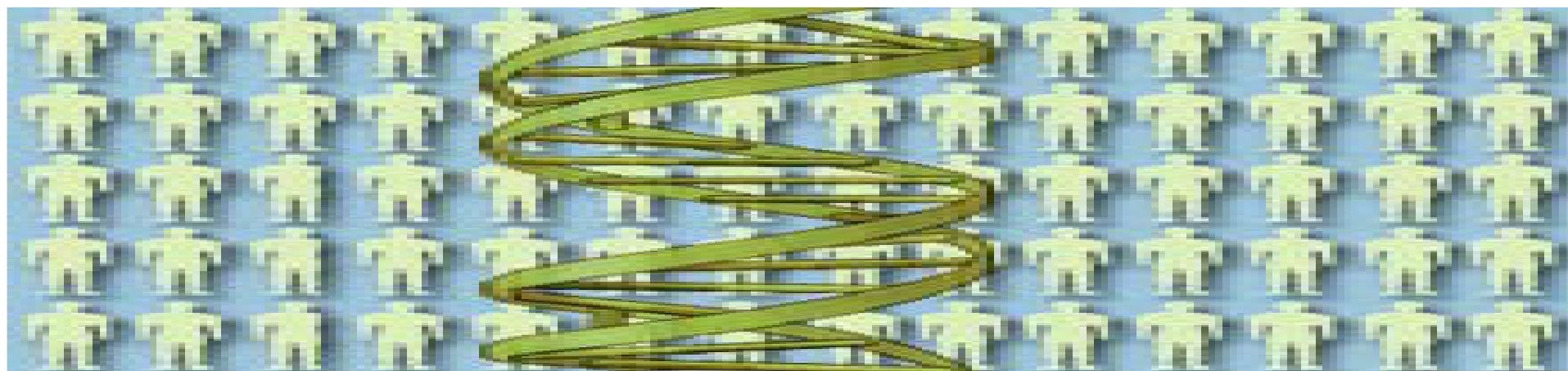
**Рост экономики и ВВП не успевает за этим
процессом. Возникает проблема, когда страна не
может позволить лечить людей.**

**После 2018 г. ожидается еще большее ускорение
роста расходов на здравоохранение.**



В Nature Medicine опубликована статья, в которой крупные мировые стратегии 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%!



1.1. ОПРЕДЕЛЕНИЕ И ОБЛАСТИ ПРИМЕНЕНИЯ ПЕРСОНАЛИЗИРОВАННОЙ МЕДИЦИНЫ

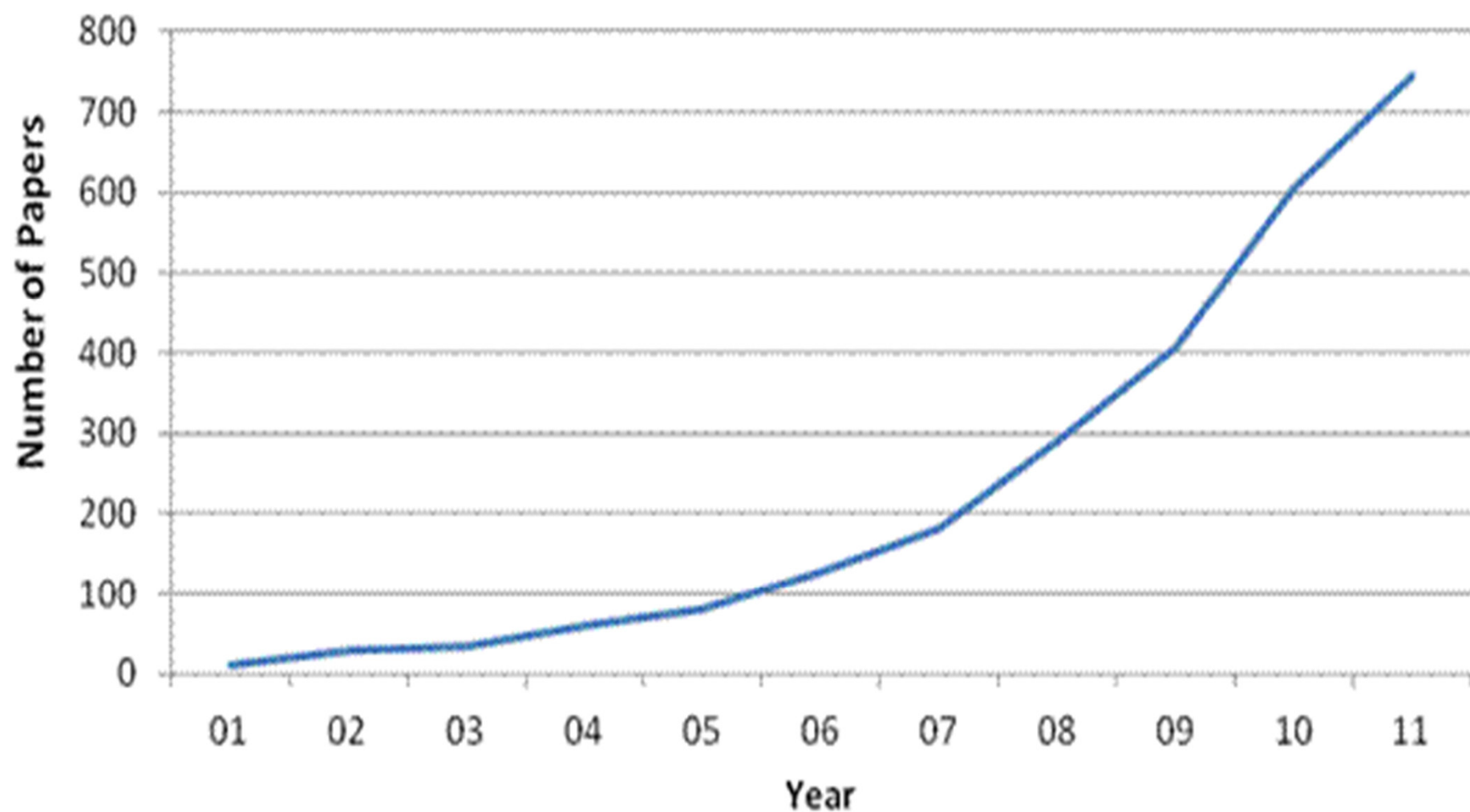


Персонализированная медицина (персонифицированная медицина)

**Термин «personalized medicine»
впервые появился в качестве названия
монографии, изданной в 1998 году:
Jain R.R. Personalized Medicine, Decision
Resources Inc. Waltham, MA, USA, 1998.**

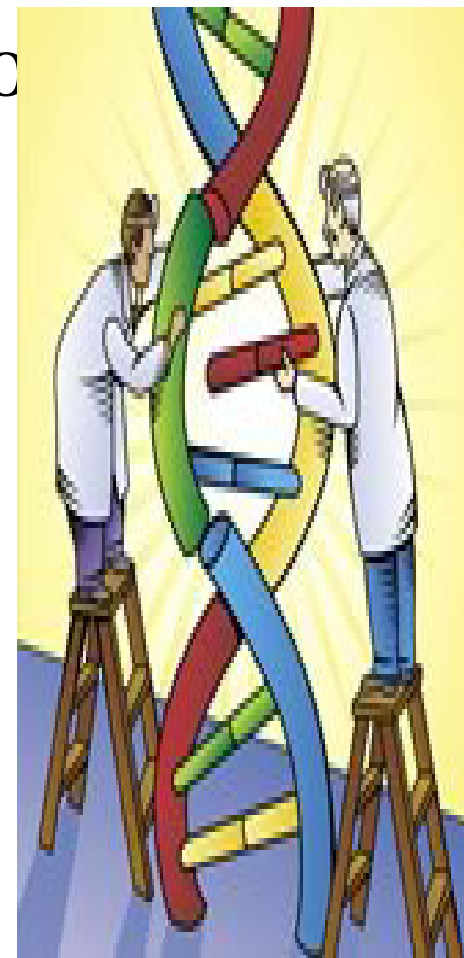


**Number of Thomson Reuters-indexed papers
expressly mentioning "personalized medicine,"
by year, 2001-2011**



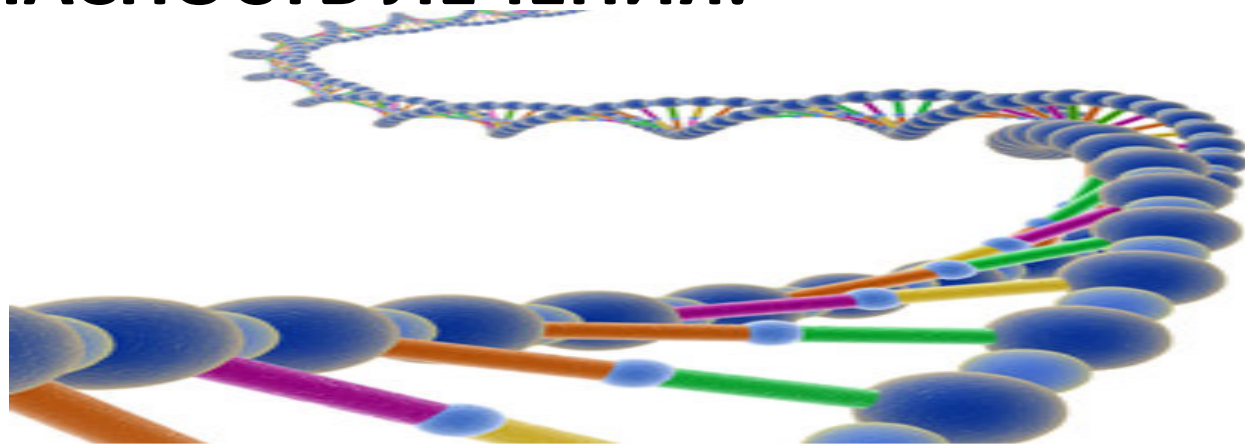
ПЕРСОНАЛИЗИРОВАННАЯ МЕДИЦИНА

**ПЕРСОНАЛИЗИРОВАННАЯ МЕДИЦИНА
ПРЕДСТАВЛЯЕТ СОБОЙ ИНТЕГРАЛЬНУЮ
МЕДИЦИНУ, КОТОРАЯ ВКЛЮЧАЕТ
РАЗРАБОТКУ ПЕРСОНАЛИЗИРОВАННЫХ
СРЕДСТВ ДИАГНОСТИКИ И ЛЕЧЕНИЯ
НА ОСНОВЕ ГЕНОМИКИ, ПРОТЕОМИКИ
И ДРУГИХ «ОМИК», ТЕСТИРОВАНИЯ НА
ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТЬ
К ЗАБОЛЕВАНИЯМ, ПРОФИЛАКТИКУ,
ОБЪЕДИНЕНИЕ ДИАГНОСТИКИ
С ЛЕЧЕНИЕМ И МОНИТОРИНГОМ
ЛЕЧЕНИЯ**



ПЕРСОНАЛИЗИРОВАННАЯ И ДОКАЗАТЕЛЬНАЯ МЕДИЦИНА

ПЕРСОНАЛИЗИРОВАННАЯ И
ДОКАЗАТЕЛЬНАЯ МЕДИЦИНА ДОЛЖНЫ
СТАТЬ **ГОСУДАРСТВЕННОЙ ПОЛИТИКОЙ В
ОБЛАСТИ МЕДИЦИНЫ,** ТАК КАК
ОБЕСПЕЧИВАЮТ КЛИНИЧЕСКУЮ И
ЭКОНОМИЧЕСКУЮ ЭФФЕКТИВНОСТЬ,
БЕЗОПАСНОСТЬ ЛЕЧЕНИЯ.



ПЕРСОНАЛИЗИРОВАННАЯ И ТРАНСЛЯЦИОННАЯ МЕДИЦИНА

**ТРАНСЛЯЦИОННАЯ МЕДИЦИНА
ЗАНИМАЕТСЯ ВОПРОСАМИ ВНЕДРЕНИЯ
НОВЕЙШИХ ДОСТИЖЕНИЙ ЕСТЕСТВЕННЫХ
НАУК И БИОИНФОРМАЦИОННЫХ ТЕХНОЛОГИЙ
В МЕДИЦИНСКУЮ, В ЧАСТНОСТИ
ЛАБОРАТОРНУЮ ПРАКТИКУ.**

**ПРИМЕР: ПРОЕКТ ГЕНОМ ЧЕЛОВЕКА И
ТЕХНОЛОГИЯ СЕКВЕНИРОВАНИЯ.**



ЛАБОРАТОРНАЯ И ПЕРСОНАЛИЗИРОВАННАЯ МЕДИЦИНА

В настоящее время сложились новые предпосылки для **переоценки роли лабораторной медицины в общей системе клинических дисциплин**, что обусловлено требованиями, которые выдвигаются в связи со стремительным развитием современных подходов и принципов **доказательной и персонализированной медицины**, более глубоким пониманием характера междисциплинарных отношений.



ЗАДАЧИ ПЕРСОНАЛИЗИРОВАННОЙ МЕДИЦИНЫ:

- 1. ПОНЯТЬ МОЛЕКУЛЯРНЫЙ МЕХАНИЗМ
ЗАБОЛЕВАНИЯ И НАЙТИ НАИБОЛЕЕ ВАЖНЫЕ
БИОМАРКЕРЫ**
- 2. СОЗДАНИЕ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ,
НАИБОЛЕЕ ЭФФЕКТИВНО ДЕЙСТВУЮЩИХ НА
НУЖНЫЕ МИШЕНИ, СВЯЗАННЫЕ С
ПАТОЛОГИЕЙ**
- 3. БОЛЕЕ ГЛУБОКОЕ ПОНИМАНИЕ ДЛЯ
РАЗЛИЧНЫХ ПОДПОПУЛЯЦИЙ
ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИХ МЕХАНИЗМОВ
ВОЗНИКНОВЕНИЯ И ОСОБЕННОСТИ РАЗВИТИЯ
ЗАБОЛЕВАНИЙ , РАЗДЕЛЕНИЯ ИХ НА ТИПЫ И
ПОДТИПЫ**



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 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 внешнесредовых факторов.
- **Обозначены мишени для эффективной терапии астмы.**

ФИЛОСОФСКИЕ ПРОТИВОРЕЧИЯ И КОНФЛИКТЫ ПМ

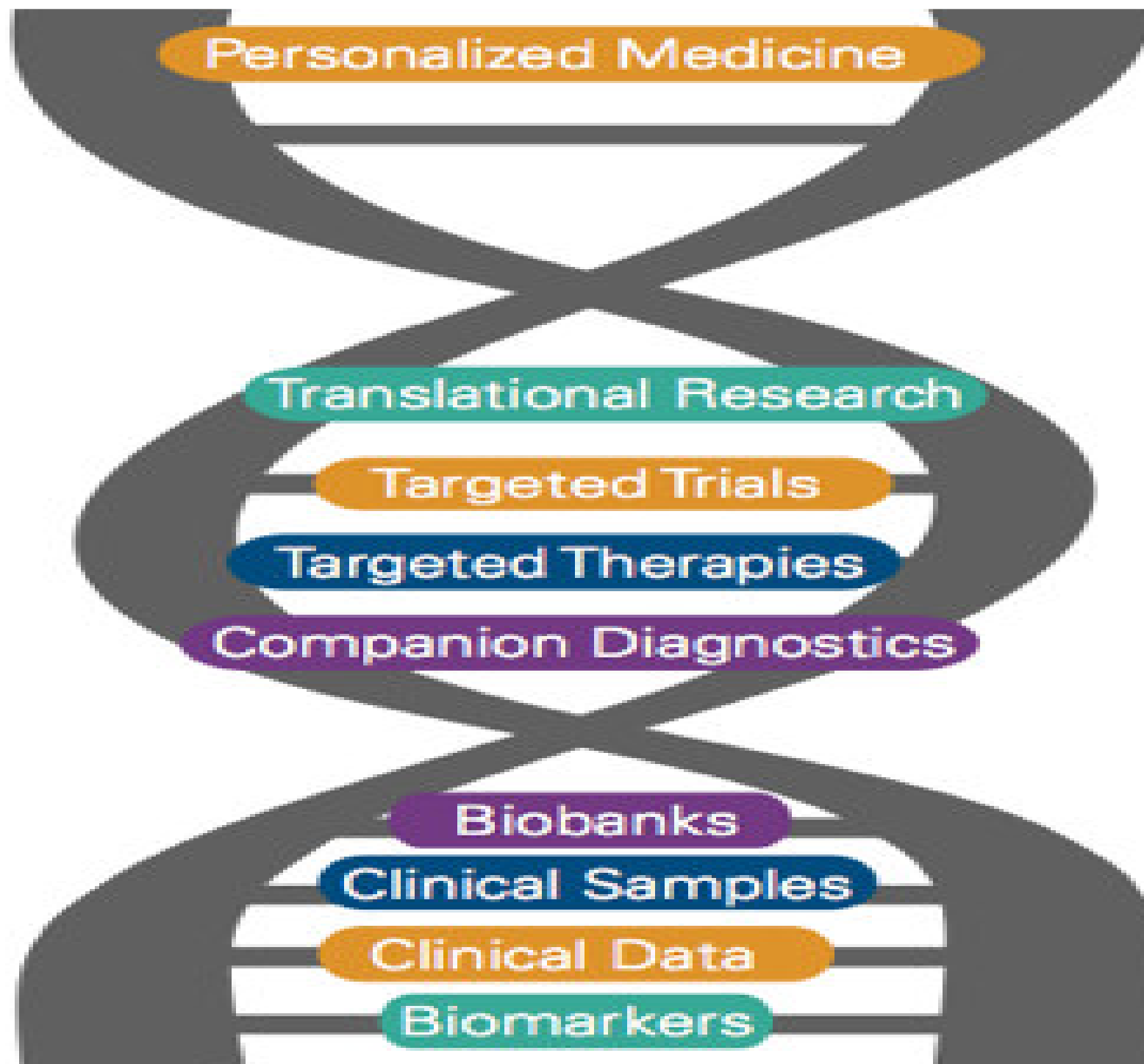
**1. ИДЕЯ ПМ ДЛЯ КАЖДОГО КОНКРЕТНОГО
ЧЕЛОВЕКА НЕВЫПОЛНИМА, Т.К. ДЛЯ ТОГО,
ЧТОБЫ МЕДИЦИНСКОЕ ВМЕШАТЕЛЬСТВО БЫЛО
БЕЗОПАСНЫМ, НЕОБХОДИМО ПРОВОДИТЬ
КЛИНИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ НА ГРУППЕ
ПАЦИЕНТОВ.**

**2. МЕДИЦИНА СТРЕМИТСЯ К
СИСТЕМАТИЗАЦИИ И КЛАССИФИКАЦИИ,
КОТОРЫЕ ИМЕЮТ НЕДОСТАТКИ (СЛОЖНОСТЬ
ОРГАНИЗМА, ГЕТЕРОГЕННОСТЬ ПАТОЛОГИЙ И
ДР.).**

**СТАНДАРТИЗАЦИЯ ПОЗВОЛЯЕТ
ГОСУДАРСТВУ РЕШАТЬ НРАВСТВЕННО-
ЮРИДИЧЕСКИЕ И ЭКОНОМИЧЕСКИЕ ВОПРОСЫ.**

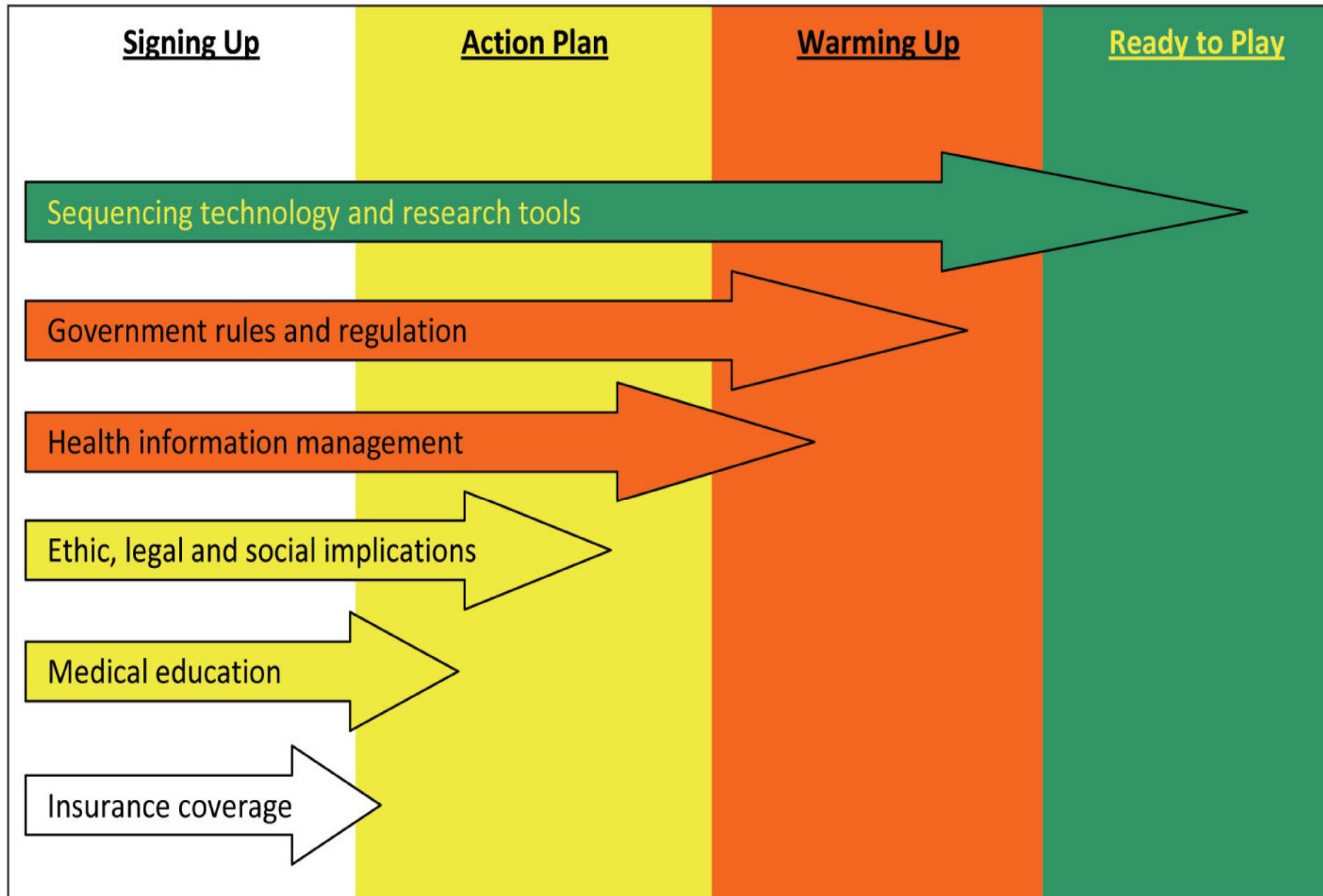
ОБЛАСТИ ПРИМЕНЕНИЯ ПЕРСОНАЛИЗИРОВАННОЙ МЕДИЦИНЫ

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.



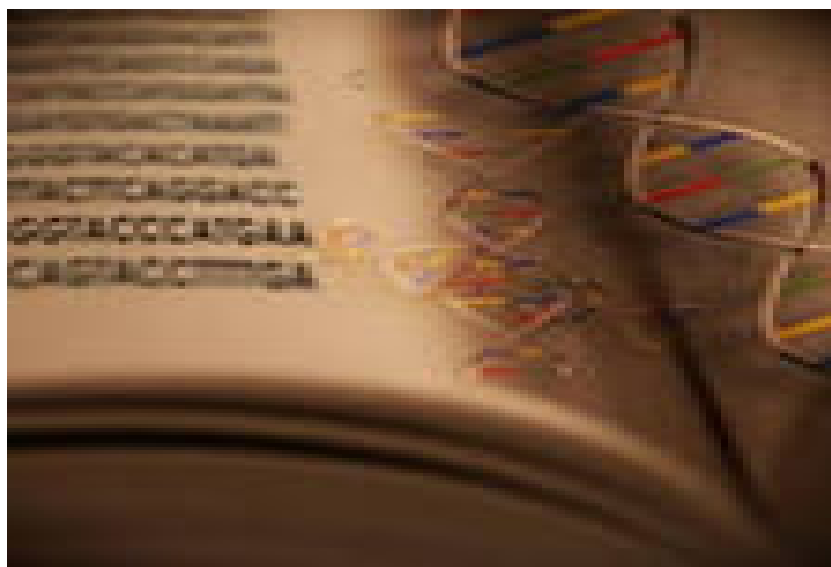
Определение этнической принадлежности пациента – один из способов быстрой оценки вероятности развития у него определенного заболевания. Однако судить об этом можно, только проведя ДНК-тестирование.





This diagram portrays the stage of readiness of the important players for implementation of personalized medicine, according to the Personalized Medicine Coalition.

ИСТОРИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ВОЗНИКНОВЕНИЯ И РАЗВИТИЯ ПЕРСОНАЛИЗИРОВАННОЙ МЕДИЦИНЫ





Гален К.



Мудров М.Я. Пирогов Н.И.



Боткин С.П.



Флоринский В.М.



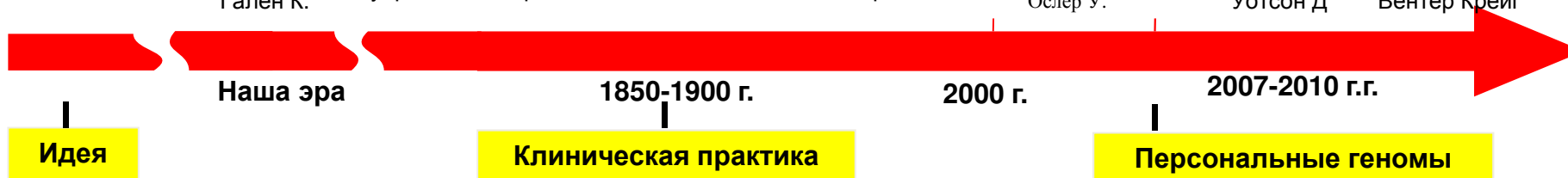
Ослер У.



Уотсон Д.



Вентер Крейг



Российские врачи – персонализированная медицина



1820-ые годы

«Будущее принадлежит медицине профилактической»

«Я вам скажу кратко и ясно: врачевание состоит в лечении самого больного. Вот вам и вся тайна моего искусства ...»

М.Я. Мудров



«Болезнь легче предупредить, чем лечить»

Н.И. Пирогов

1892 г.



**«Если бы не эта огромная
межиндивидуальная
изменчивость, медицина могла
бы быть наукой, а не
искусством»**

У. Ослер



ПОИСК НАИБОЛЕЕ ЗНАЧИМЫХ ЛАБОРАТОРНЫХ БИОМАРКЕРОВ И ОМЫ.



Основные задачи омнох подходов

- **Идентификация информационных объектов, таких как гены, белки, лиганды.**
- **Обнаружение отношений взаимодействия между объектами.**
- **Построение сетей и интегрирование различных подобластей – омов и омиков.**

ОПРЕДЕЛЕНИЯ

СТАТИЧЕСКИХ И ДИНАМИЧЕСКИХ ОМИКОВ

ГЕНОМИКА – ИДЕНТИФИКАЦИЯ ВСЕХ ГЕНОВ И МУТАЦИЙ, ПРИВОДЯЩИХ К НАСЛЕДСТВЕННЫМ ЗАБОЛЕВАНИЯМ ИЛИ ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТИ

ТРАНСКРИПТОМИКА – ИДЕНТИФИКАЦИЯ ВСЕХ МАТРИЧНЫХ РНК, КОДИРУЮЩИХ БЕЛКИ ОПРЕДЕЛЕНИЕ КОЛИЧЕСТВА мРНК И ЗАКОНОМЕРНОСТЕЙ ЭКСПРЕССИИ ВСЕХ ГЕНОВ, КОДИРУЮЩИХ БЕЛКИ У ДАННОГО ЧЕЛОВЕКА В ДАННЫХ УСЛОВИЯХ

РНомика – ИДЕНТИФИКАЦИЯ ВСЕХ НЕКОДИРУЮЩИХ РНК И ИЗМЕРЕНИЕ ИХ У ДАННОГО ЧЕЛОВЕКА В КОНКРЕТНЫХ УСЛОВИЯХ

МЕТАБОЛОМИКА – ИДЕНТИФИКАЦИЯ ВСЕХ МЕТАБОЛИТОВ В КЛЕТКАХ, ТКАНЯХ, ОРГАНАХ, БИОЛОГИЧЕСКИХ ЖИДКОСТЯХ У ДАННОГО ЧЕЛОВЕКА В КОНКРЕТНЫХ УСЛОВИЯХ

Genomics (DNA- 25,000 genes)

Геномика



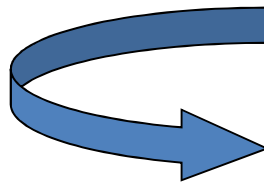
Transcriptomics (RNA - 100,000 mRNA's)

Транскриптомика



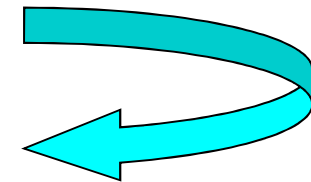
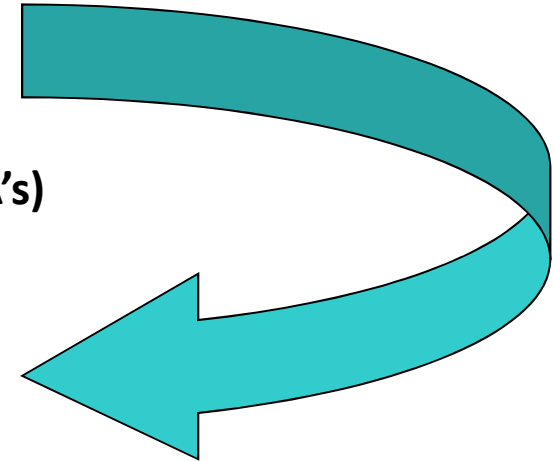
Proteomics (Proteins - 1,000,000 proteins)

Протеомика

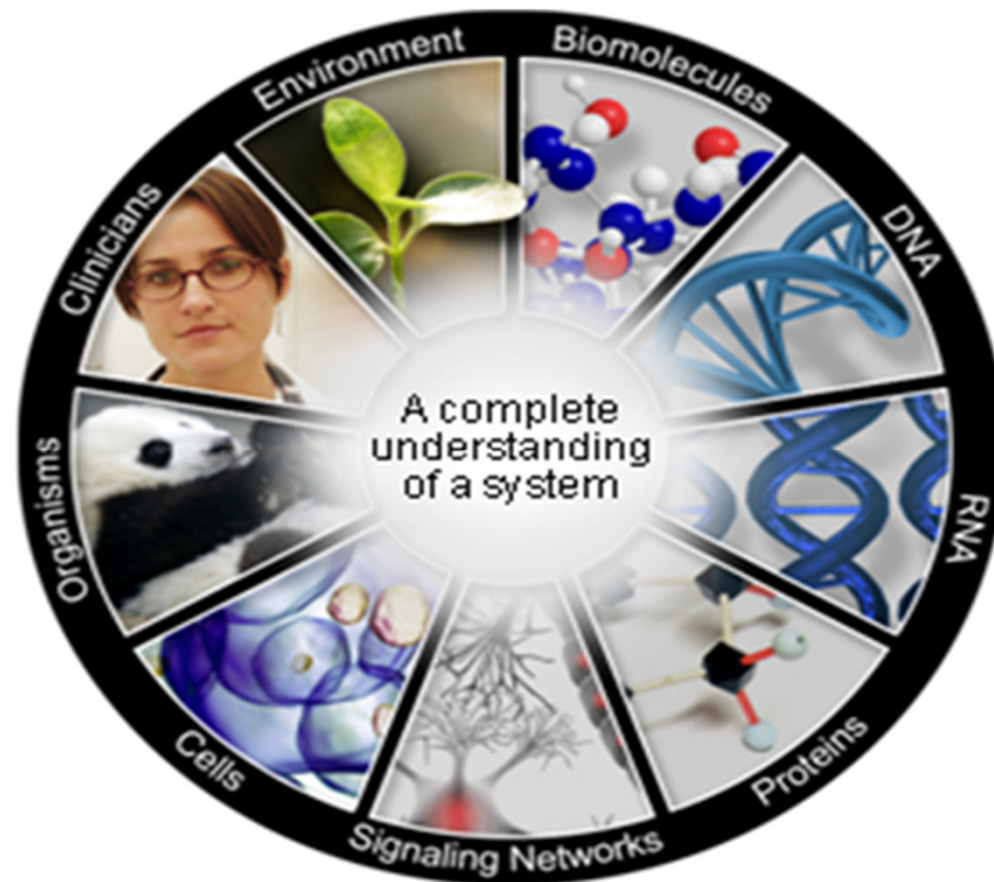


Metabolomics (molecules)

Метабономика



СИСТЕМНАЯ БИОЛОГИЯ И ПЕРСОНАЛИЗИРОВАННАЯ МЕДИЦИНА



СИСТЕМНАЯ БИОЛОГИЯ. ОПРЕДЕЛЕНИЕ

Системная биология представляет собой область науки, которая ищет способы интеграции биологических данных в попытке понять, как функционируют биологические системы.

Путем изучения взаимосвязей и взаимодействий между различными частями биологических систем (например: органелл, клеток, физиологических систем, организмов и пр.) она надеется создать модель целостной системы. Некоторые ученые называли системную биологию "интерактомикой" по аналогии с другими «омиками».

ИНТЕРАКТОМ

Интеркатом – интегрирующие понятие, объединяющее все типы взаимодействий между молекулярно-биологическими объектами, составляющими остальные понятия «омик». Наиболее эффективным способом анализа интерактома является построение сигнальных сетей, т.е. наиболее вероятной модели передачи биологической информации на молекулярном, клеточном и тканевом уровнях. Элементом сигнальной сети является бинарное взаимодействие биомолекул, которые выстраиваются в сигнальные каскады или пути до финальной реакции.

МЕТАБОЛОМИКА



ЛАБОРАТОРНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ МЕТАБОЛОМИКИ , ПРИМЕНЯЕМЫЕ В ПМ

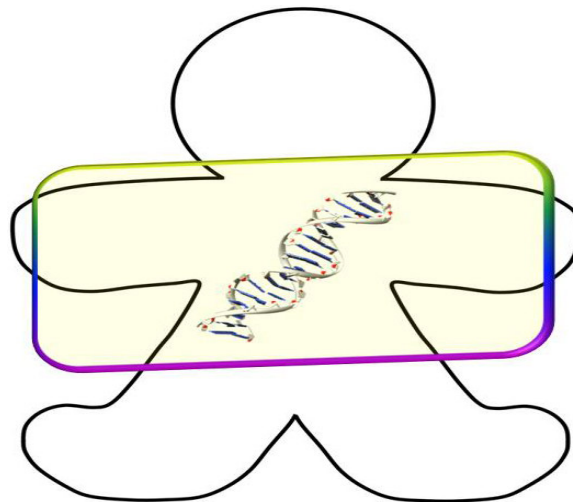
- 1. Спектроскопические методы: оптическая, инфракрасная, ультрафиолетовая спектроскопия;**
- 2. Люминесцентные методы;**
- 3. Хроматографические методы: высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ), газовая хроматография и др.;**
- 4. Ядерный магнитный резонанс;**
- 5. Масс-спектрометрия.**

ГЕНОМИКА. ГЕНЕТИЧЕСКИЕ БИОМАРКЕРЫ.



Геномика – комплексная наука, изучающая геномы.

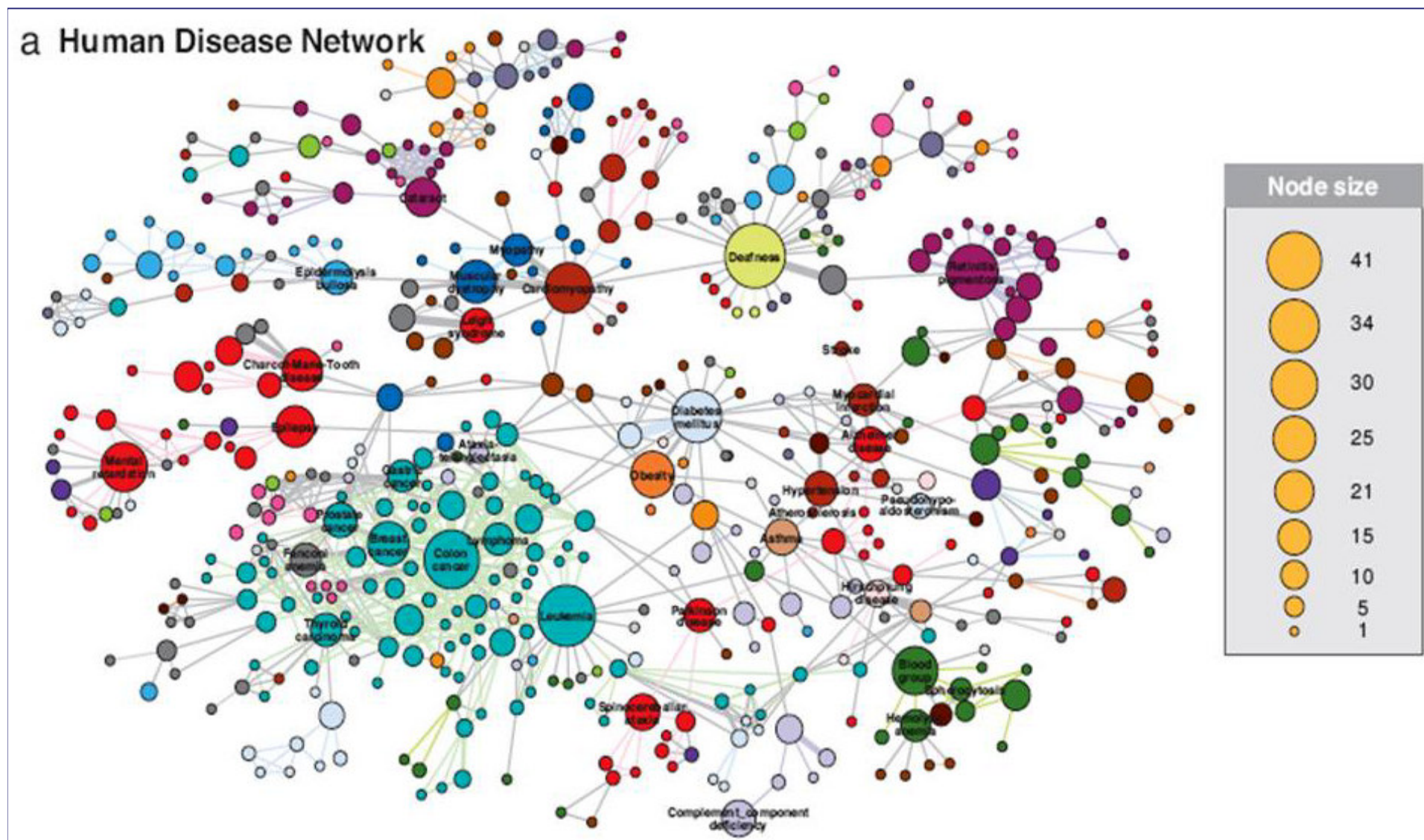
Геном в последнее время рассматривается как открытая система, поэтому возникли новые разделы генетики: экогенетика, фармакогенетика, нутригенетика, токсикогенетика, и др. Одно из интенсивно развивающихся в последнее время направлений-генетика популяций (популяционная генетика).



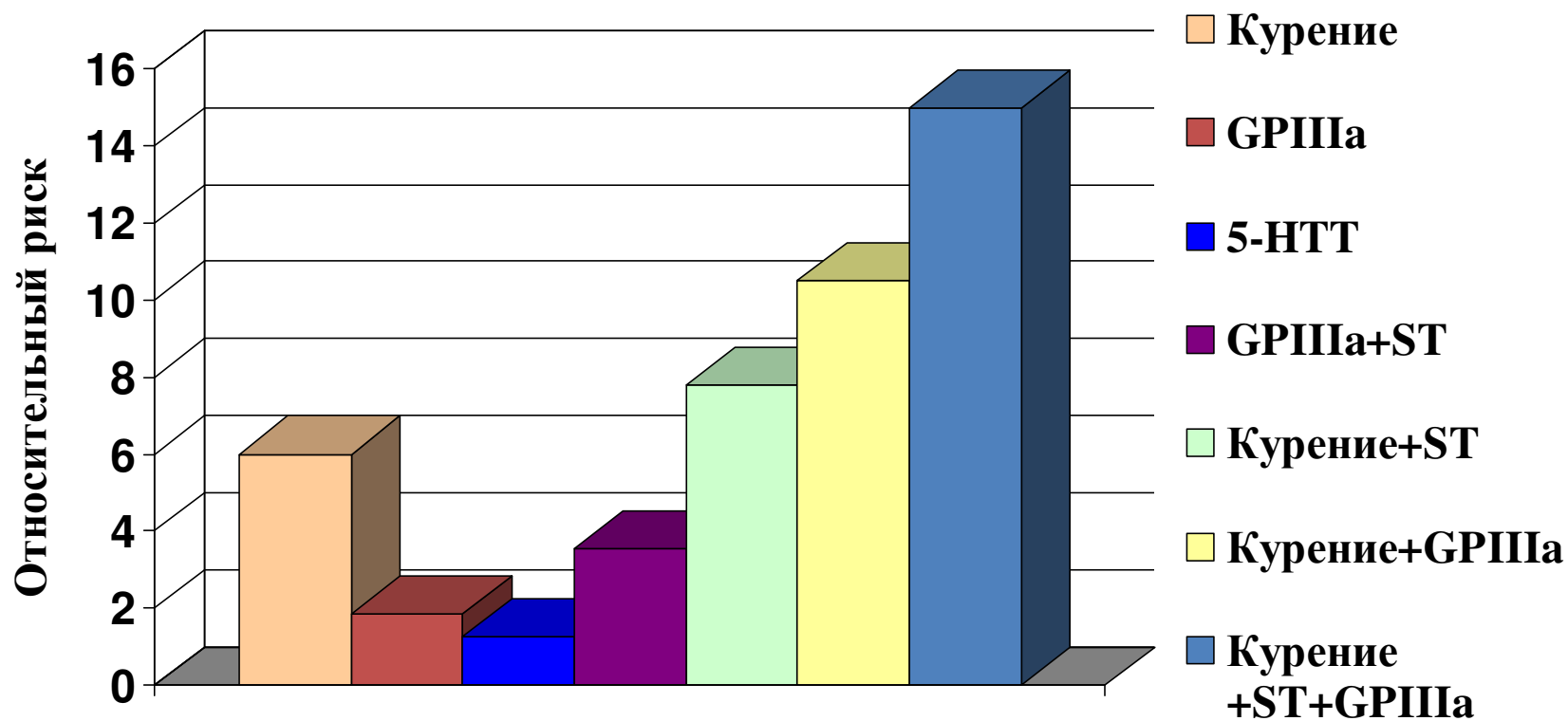
ГЕННЫЕ СЕТИ – ОСНОВА ПРЕДИКТИВНОЙ МЕДИЦИНЫ

**ГЕННАЯ СЕТЬ – ЭТО ГРУППА
КООРДИНИРОВАННО ФУНКЦИОНИРУЮЩИХ
ГЕНОВ, ОБЕСПЕЧИВАЮЩАЯ ФОРМИРОВАНИЕ
ФЕНОТИПИЧЕСКИХ ПРИЗНАКОВ ОРГАНИЗМА
(МОЛЕКУЛЯРНЫХ, БИОХИМИЧЕСКИХ,
ФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ)**

**Составление генной сети для каждого
мультифакториального заболевания, идентификация в
ней центральных генов и генов-модификаторов,
анализ ассоциации их полиморфизма с конкретным
заболеванием, разработка на этой основе комплекса
профилактических мероприятий для конкретного
пациента составляют основу современной
ПРЕДИКТИВНОЙ МЕДИЦИНЫ.**



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



ЭПИГЕНЕТИКА

Изменения экспрессии генов или фенотипа клетки, вызванные механизмами, не затрагивающими изменение нуклеотидной последовательности ДНК изучает эпигенетика. Эпигенетические изменения представляют собой химические модификации последовательности ДНК или гистонов – белков, необходимых для упаковки нитей ДНК в хромосомы.

К эпигенетическим, то есть к внешним по отношению к ДНК механизмам регуляции экспрессии генома относят метилование, ацетилирование, убиквитинилирование (ковалентное присоединение к белку мишени множество молекул убиквитина) и фосфорилирование.

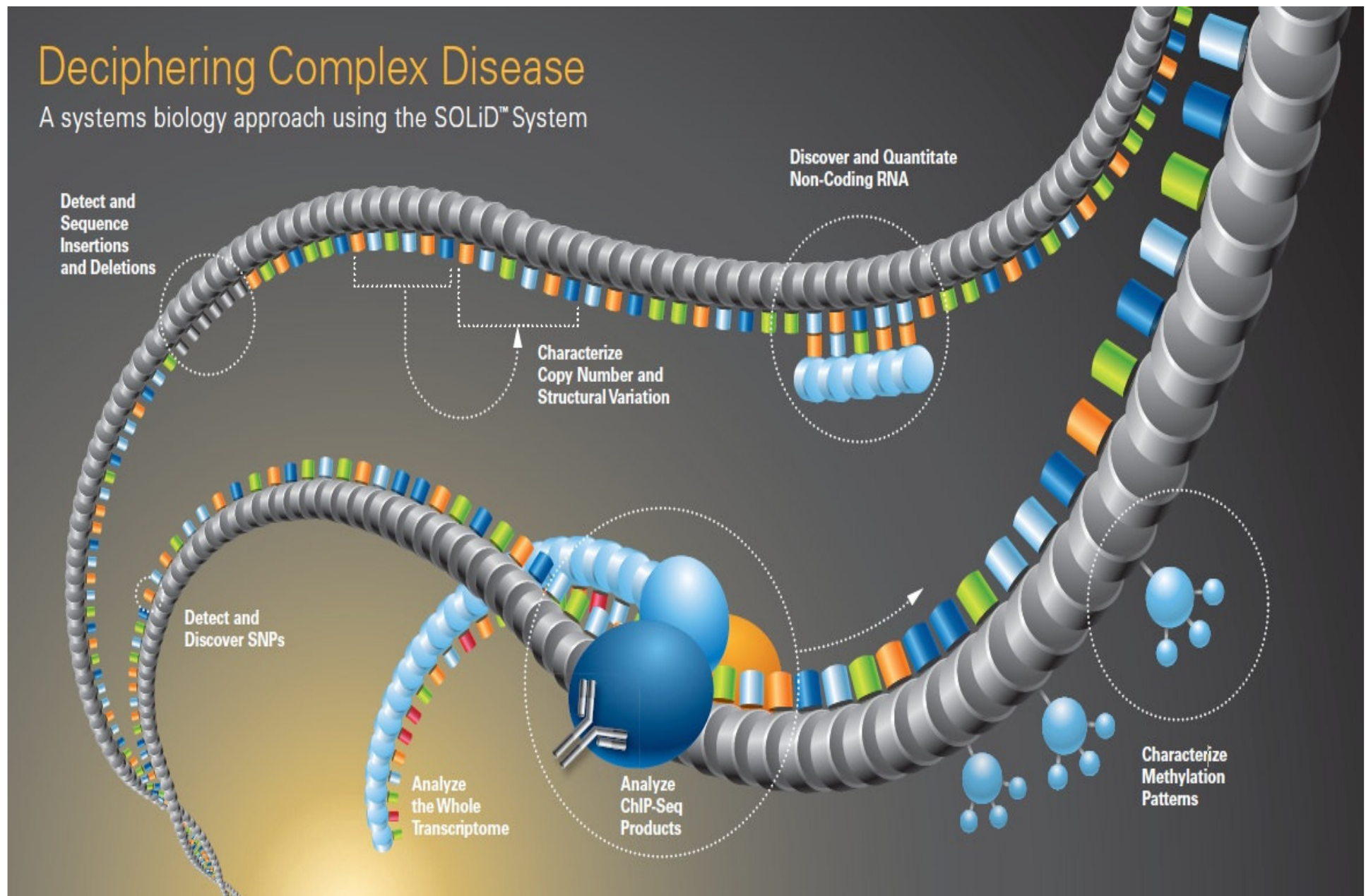
ГЕНЕТИЧЕСКИЕ БИОМАРКЕРЫ



ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ

Deciphering Complex Disease

A systems biology approach using the SOLiD™ System



ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПОЛИМОРФИЗМ (ГП) **-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ВАРИАБЕЛЬНОСТЬ ОГРАНИЧЕННАЯ ОДНИМ ВИДОМ**

КАЧЕСТВЕННЫЙ ГП

ПРЕДСТАВЛЕН ПРЕИМУЩЕСТВЕННО ОДНОНУКЛЕОТИДНЫМИ ЗАМЕНАМИ (ОНП, SNP)

КОЛИЧЕСТВЕННЫЙ ГП

1. ПРЕДСТАВЛЕН ВАРИАЦИЯМИ ЧИСЛА ТАНДЕМНЫХ ПОВТОРОВ (**STR** – Short Tandem). 1-2 либо 3-4 нуклеотидов на повторяющуюся единицу.
2. ПОВТОРЫ ДНК МОГУТ ИМЕТЬ И БОЛЬШУЮ ПРОТЯЖЕННОСТЬ И ВАРИАБЕЛЬНУЮ ПО НУКЛЕОТИДНОМУ СОСТАВУ ВНУТРЕННЮЮ СТРУКТУРУ **VNTR** (Variable Number Tandem Repeats)
3. **CNVs** - copy number variations

Linked SNPs
outside of gene

no effect on
protein production
or function

Causative SNPs
in gene

Non-coding SNP:
● changes amount of
protein produced

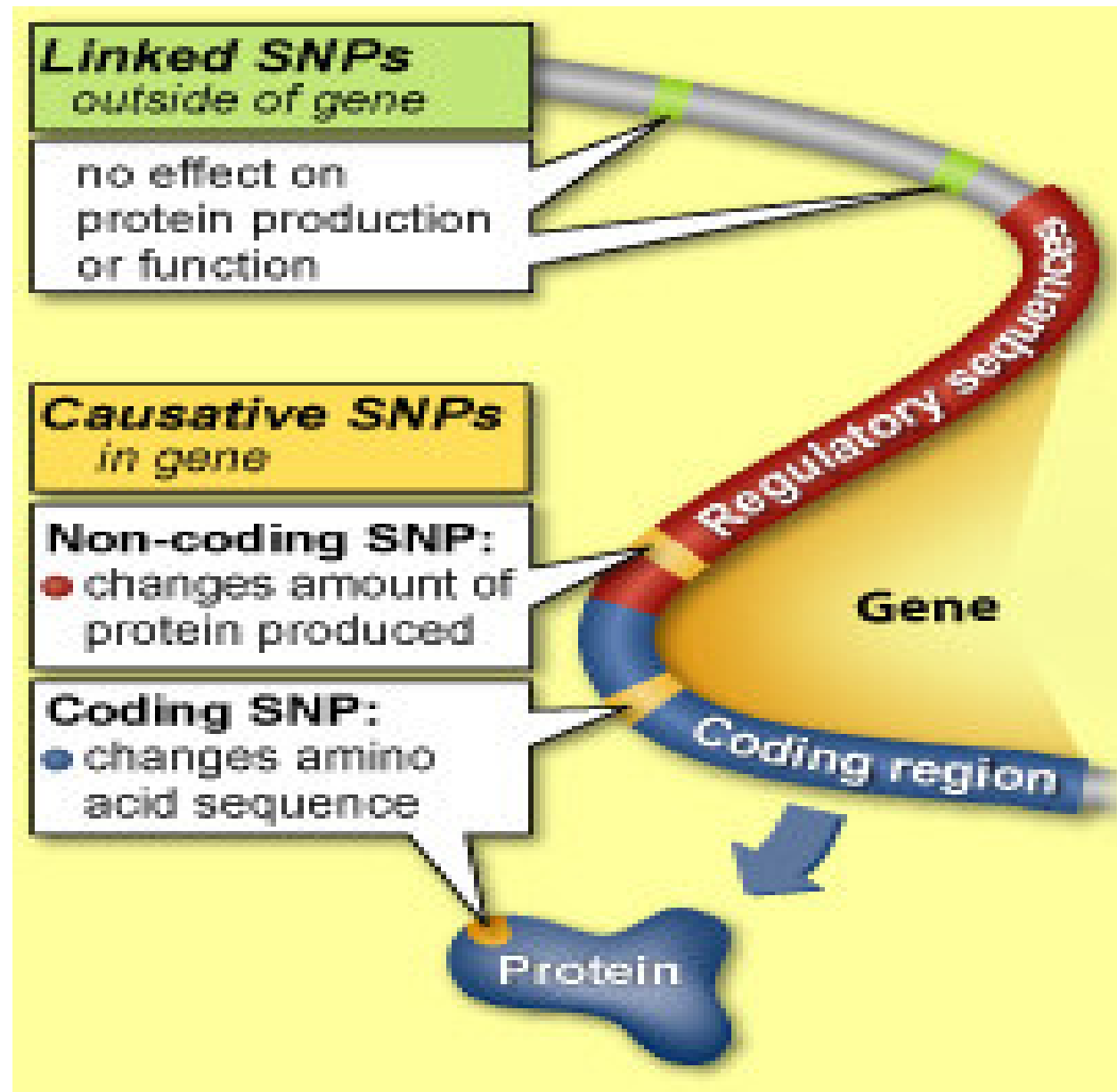
Coding SNP:
● changes amino
acid sequence

Protein

Regulatory sequences

Gene

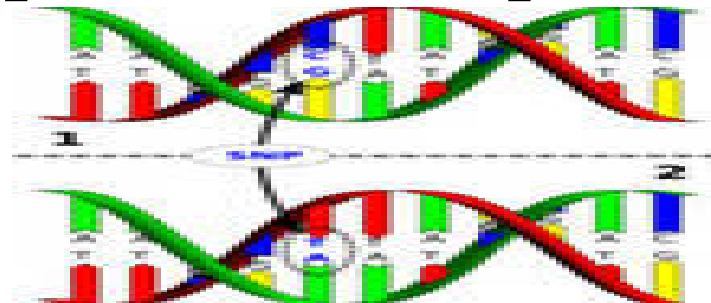
Coding region



Значимость анализа ОНП (SNP).

Индивидуализированное определение уже известных SNP-профилей, ассоциированных с:

- **предрасположенностью к развитию мультифакториальных заболеваний:**
 - Кардиоваскулярные патологии
 - Нейродегенеративные заболевания
 - Злокачественные новообразования
- **индивидуальной чувствительностью к лекарственной терапии**



**ТЕХНОЛОГИЯ ПОЛНОГЕНОМНОГО СКРИНИНГА
АССОЦИАЦИЙ
(GENOME WIDE ASSOCIATION SCREENING)**



**ТЕХНОЛОГИЯ ПОЛНОГЕНОМНОГО СКРИНИНГА
АССОЦИАЦИЙ
(GENOME WIDE ASSOCIATION SCREENING)**

ТЕХНОЛОГИЯ СОЧЕТАЕТ ВОЗМОЖНОСТИ:

ПРОГРАММЫ NapMap

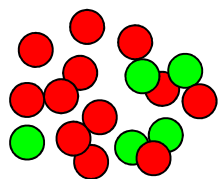
**ТЕХНОЛОГИИ БИОЧИПОВ ВЫСОКОЙ
ПЛОТНОСТИ (300-500 тысяч точек)**

**СПЕЦИАЛЬНОЙ КОМПЬЮТЕРНОЙ ПРОГРАММЫ
ОБРАБОТКИ РЕЗУЛЬТАТОВ**

**С использованием GWAS уточнены геномные
профили, найдены новые гены маркеры и
идентифицированы неблагоприятные (редкие) аллели
почти 10 мультифакторных заболеваний: диабета 1-го
и 2-го типов, болезни Крона, бронхиальной астмы,
остеопороза и др.**

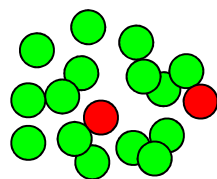
Выявление «генов предрасположенности» к заболеванию проводится путем сопоставлений частот генотипов у больных и здоровых

Группа больных



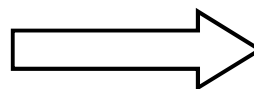
$P_{\text{больные}}$

Контроль (здоровые)



$P_{\text{контроль}}$

>>



● - генотип,
указывающий на
предрасположенность
к заболеванию.

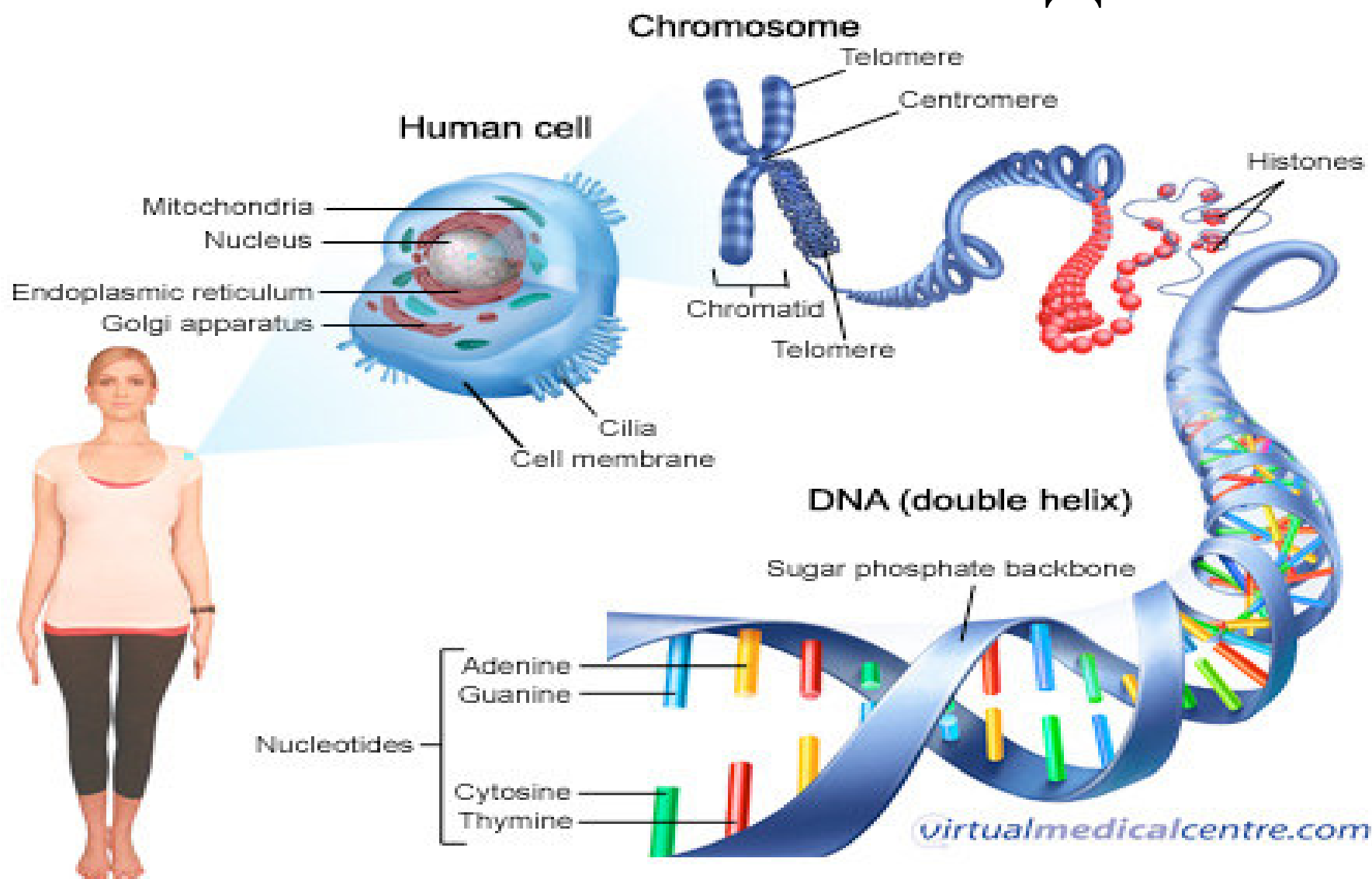
OR – количественная мера предрасположенности (**O**dd **R**atio), показывает во сколько раз повышена вероятность заболеть для носителя «плохого» генотипа

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

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

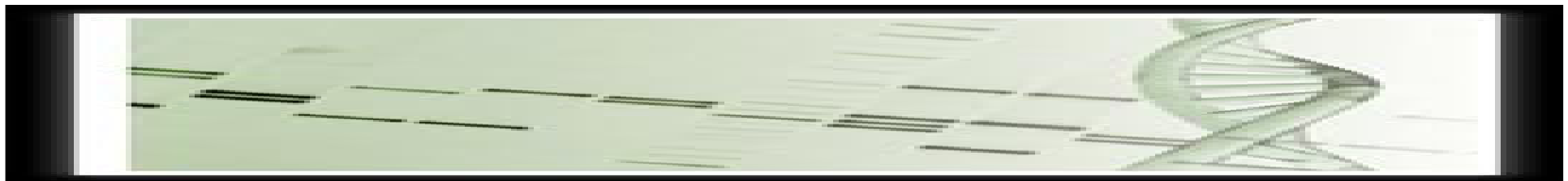
Болезнь	Наименование гена	rs	OR	OMIM	Регион
Возраст-зависимая дегенерация сетчатки	CFH	380390-C	4.60	134370	1q31
Эксфолиативная глаукома	LOXL1	382942-G	20.10	153456	15q24.1
Болезнь Крона	JL23R	10889677	2.13	607562	1p31.3
Рак яичка	KILTG	3782179	3.08	184745	12q22
		4474514	3.07		

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ПМ



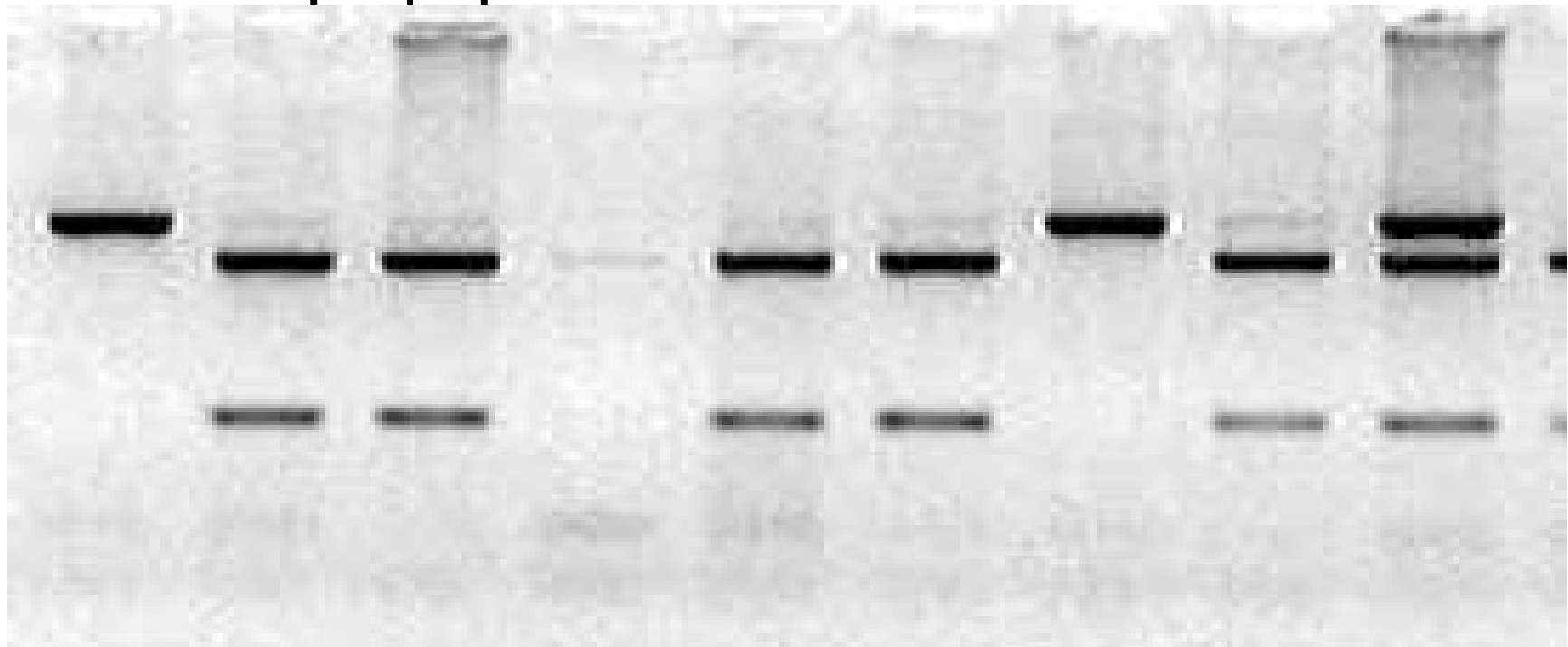
Лабораторные методы персонализированной медицины использующие ферментативные подходы.

- 1. Случайная амплификация полиморфной ДНК (RAPD, AP-PCR)
(ферментативный подход, поиск новых генетических вариантов)**
- 2. Полиморфизм длины рестрикционных фрагментов (ПДРФ, RFLP)
(ферментативный подход, анализ известных аллелей)**
- 3. Полиморфизм длин амплифицированных фрагментов (AFLR)
(ферментативный подход, поиск новых генетических вариантов)**
- 4. Расщепление резольвазой (EMD) (ферментативный подход, поиск
новых генетических вариантов);**
- 5. Инвазивное расщепление олигонуклеотидов Invader
(ферментативный подход, анализ известных аллелей)**
- 6. Расщепление Clevase 1 (CFLP) (ферментативный подход, поиск
новых генетических вариантов);**
- 7. Метод гетеродуплексного анализа (НА) (поиск новых генетических
вариантов);**



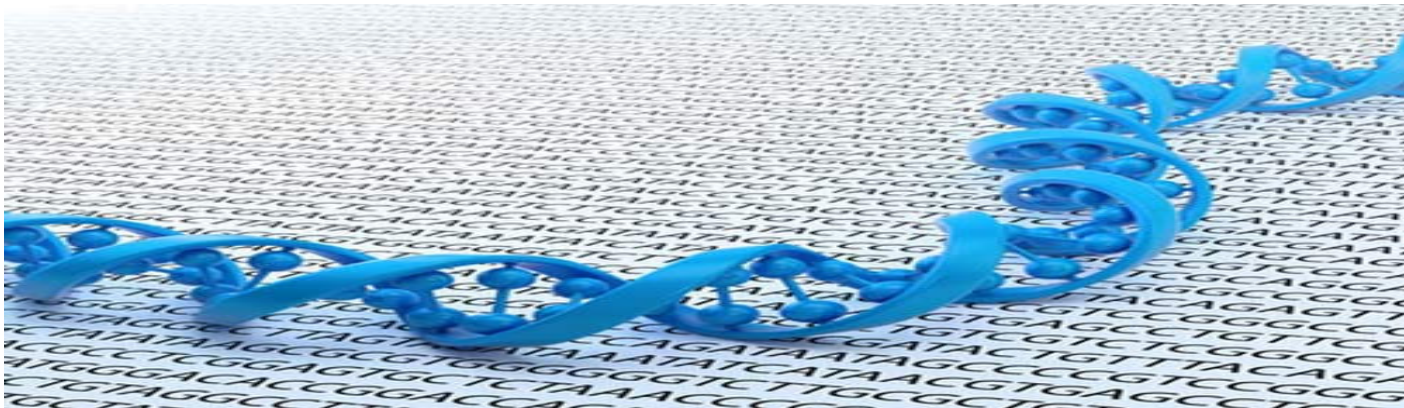
Полиморфизм длины рестрикционных фрагментов

1. ПЦР-амплификация
2. Рестрикция
3. Электрофорез



**Лабораторные методы персонализированной медицины,
основанные на гибридизационном анализе
нуклеиновых кислот и химических методах.**

- 12. Генетические микрочипы;**
- 13. Сравнительная геномная гибридизация (CGH);**
- 14. Флуоресцентная гибридизация in situ (FISH);**
- 15. Метод усиления гибридизационного сигнала на основе
разветвленной ДНК;**
- 16. ДНК/РНК гибридизационный захват;**
- 17. Исследования метилирования ДНК.**



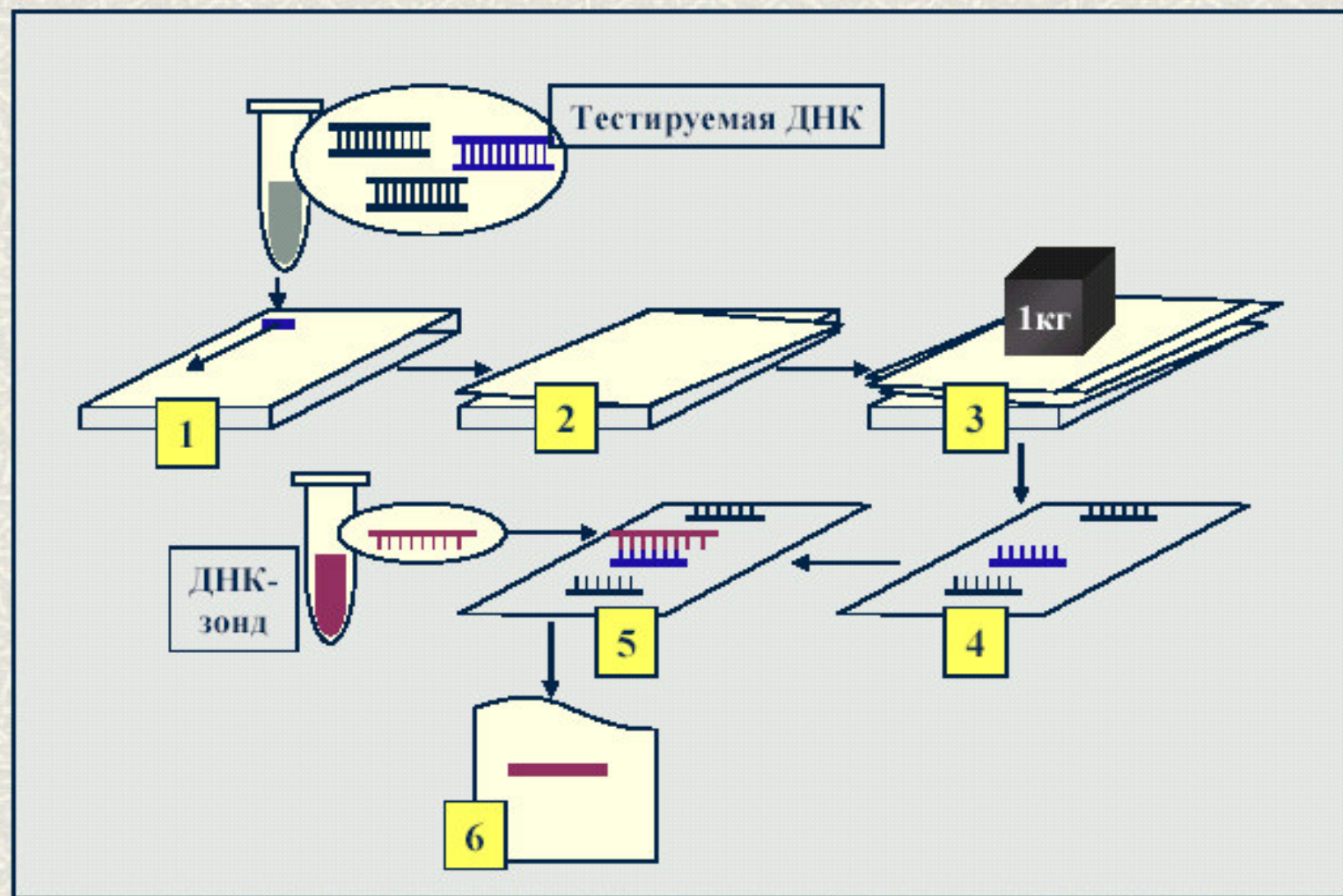
Метод гибридизационного анализа

Метод гибридизационного анализа позволяет идентифицировать специфические нуклеотидные полиморфизмы в сложных смесях с использованием меченной ДНК -зонда для поиска искомой последовательности НК.

ДНК-зонд это любая однонитевая ДНК ограниченного размера, используемая для поиска комплементарных НП в молекуле большего размера или среди пула разнообразных молекул ДНК.

Гибридизация *in situ* проводится с мечеными ДНК или РНК-зондами на гистологических или хромосомных препаратах (FISH: вариант метода, при котором в качестве зондов используются препараты ДНК или РНК, меченные флюорохромами).

ДЕТЕКЦИЯ ДНК В ПРОБЕ МЕТОДОМ ДНК-ГИБРИДИЗАЦИИ (начиная с 1970 года)



1. - разделение молекул, присутствующих в пробе нуклеиновых кислот, методом электрофореза,
- 2-4. – перенос отдельных фракций на другой твердый носитель,
5. - нанесение ДНК-зонда, специфическое связывание с искомой ДНК,
6. – регистрация образовавшегося комплекса

Полимеразная цепная реакция.



Полимеразная цепная реакция

- ПЦР сопряженная с обратной транскрипцией
- Гнездовая ПЦР
- ПЦР in situ
- Количественная ПЦР
- Мультипраймерная ПЦР
- Ассиметричная ПЦР
- ПЦР с «горячим стартом»
- Амплификация больших фрагментов ДНК с высокой точностью
- Аллель-специфическая ПЦР
- ПЦР, чувствительная к метилированию матрицы
- Иммуно-ПЦР

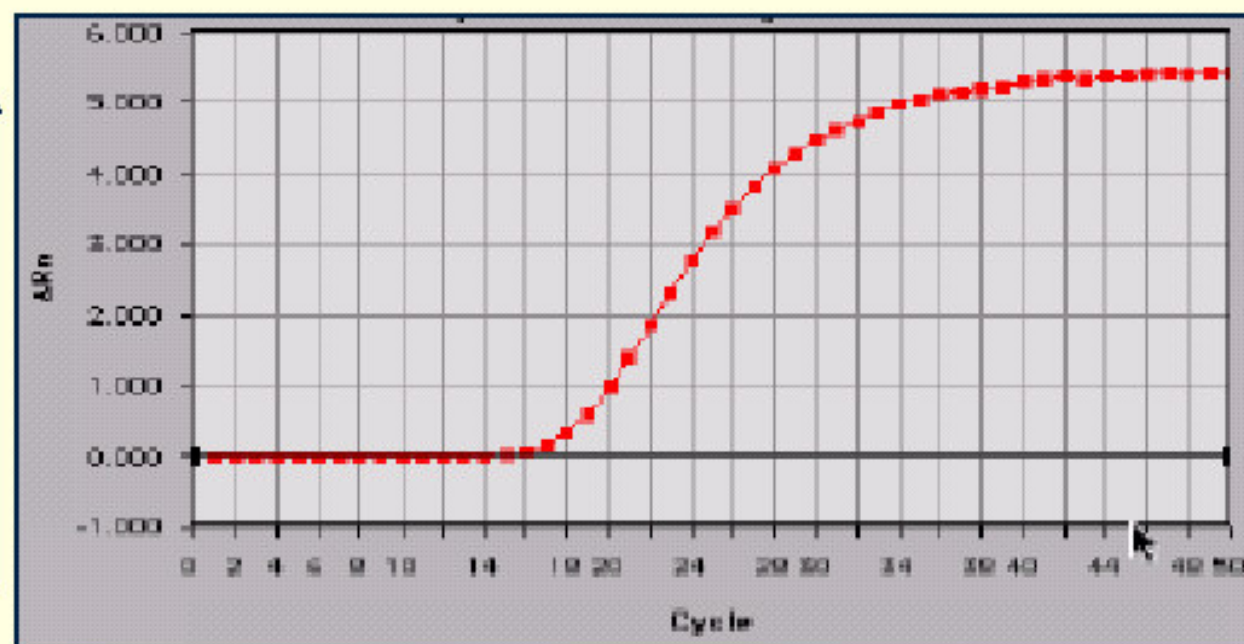
КИНЕТИКА ПЦР В РЕАЛЬНОМ ВРЕМЕНИ

Детекция «ассоциированной с амплификацией флюоресценции» в каждом цикле ПЦР

Не нужно проводить анализ ПЦР-продуктов методом геля-электрофореза после завершения ПЦР

Возможность использования компьютерного анализа в каждом цикле ПЦР

Увеличение
флюоресценции



Циклы ПЦР

Тест-системы для определения SNPs: F2 *G20210A*, F5 *G1691A*, MTHFR *C677T*

Коагуляционный фактор II или F2 свертывания крови. В ходе ферментативного расщепления протромбина образуется тромбин. Полиморфизм *G20210A* приводит к увеличению уровня протромбина в 1,5-2 раза выше, чем в норме. Мутация – по аутосомно-доминантному типу. **Тромбофилия возникает даже у гетерозиготного носителя измененного гена!** Часто встречается в сочетании с мутацией Лейден.

Коагуляционный фактор V или F5 свертывания крови - белковый кофактор при образовании тромбина из протромбина. Полиморфизм *G1691A* Leiden («мутация Лейден») - показатель риска развития венозных тромбозов, придает устойчивость активной форме фактора V к расщепляющему действию специализированного регулирующего фермента, С-белка, что приводит к гиперкоагуляции. Риск образования тромбов повышается.

Метилентетрагидрофолатредуктаза (MTHFR) - ключевая роль в метаболизме фолиевой кислоты. Полиморфизм *C677T* приводит к нарушению фолатного метаболизма и повышенному уровню гомоцистеина => развитию тромбообразования и сердечно-сосудистых заболеваний.

ТЕХНОЛОГИЯ БИОЧИПОВ

НА ОСНОВЕ РАЗВИТИЯ НЕРАДИОИЗОТОПНОГО ГИБРИДИЗАЦИОННОГО, АМПЛИФИКАЦИОННОГО АНАЛИЗА И ДРУГИХ СОВРЕМЕННЫХ ТЕХНОЛОГИЙ РАЗРАБОТАНЫ МОЛЕКУЛЯРНЫЕ БИОЧИПЫ

Основная доля производимых в настоящее время биочипов приходится на ДНК-чипы, то есть матрицы, несущие молекулы ДНК (94 процента, оставшиеся 6 процентов составляют белковые чипы):

- **ВЫЯВЛЕНИЕ ИНФЕКЦИОННЫХ АГЕНТОВ И ИХ АНТИБИОТИКОУСТОЙЧИВЫХ ФОРМ**
- **ПОЛИМОРФИЗМ ПО ЕДИНИЧНЫМ НУКЛЕОТИДАМ**
- **ЭКСПРЕССИЯ ГЕНОВ**

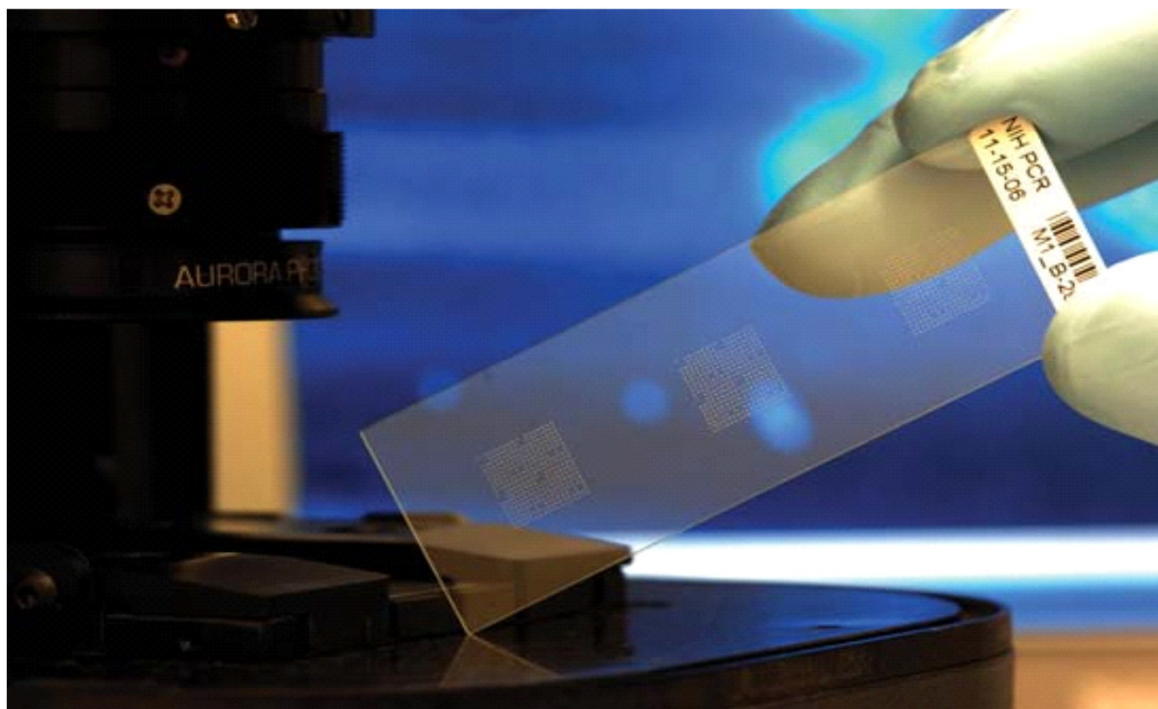
**УКАЗАННЫЕ ТЕХНОЛОГИИ ЯВЛЯЮТСЯ САМЫМИ ВАЖНЫМИ
В МОЛЕКУЛЯРНОЙ ДИАГНОСТИКЕ,
И ИМЕЮТ НЕПОСРЕДСТВЕННОЕ ОТНОШЕНИЕ К
ПЕРСОНАЛИЗИРОВАННОЙ МЕДИЦИНЕ.**



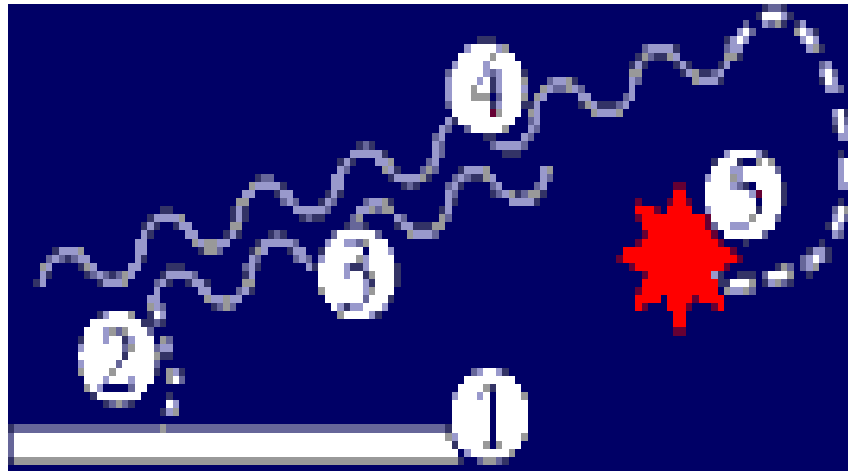
Классификация микробиочипов:

- по биомаркерам (зондам), которые иммобилизуют на поверхность платформы (стекло, полимерные материалы, металлы, мембраны и др.) разделяют четыре основных вида биочипов: ДНК, РНК, белковые и клеточные. Кроме того, могут использоваться олигонуклеотиды, полисахариды, низкомолекулярные лиганды и др.;
- по применяемым технологиям: матричная архитектура, гели, микрофлюидные (или капиллярные) и микросферы с цветовой кодировкой, квантовые точки и др.;
- по области использования универсальные или специализированные для определенных медико-биологических задач или заболеваний;
- по технологии нанесения биомаркеров: готовые олигонуклеотидные зонды или синтезируемые на поверхности биочипа;
- по способу регистрации: радиоизотопные, нерадиоизотопные, оптические, люминесцентные, хемилюминесцентные, электрохимические и др. методы детекции сигнала.

**Молекулярно-генетические и технологические
методы, лежащие в основе создания
микробиочипов для анализа нуклеиновых
кислот.**



Взаимодействие флуоресцентно-меченного образца с иммобилизованным зондом



1. подложка
2. линкер для иммобилизации зонда
3. зонд
4. анализируемый образец
5. флуоресцентная метка

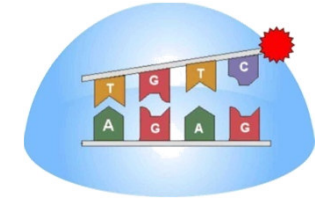
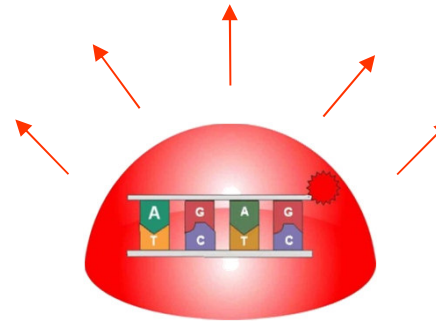
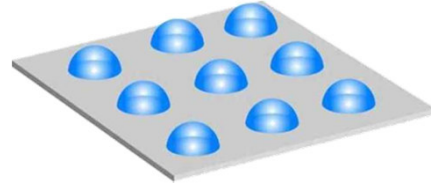
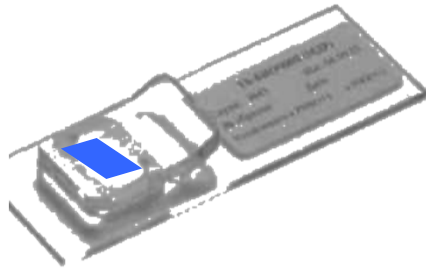
**Институт молекулярной биологии РАН,
Центр биологических микрочипов,
Москва**



А.Д. Мирзабеков



Биологические микрочипы на основе гидрогеля



Преимущества:

- Высокая емкость благодаря иммобилизации биомолекул в трехмерной структуре геля
- Гомогенное водное окружение в геле
- Гелевый элемент биочипа используется как индивидуальная пробирка объемом в доли нанолитра для проведения различных химических и ферментативных реакций
- Универсальность в изготовлении ДНК, белковых и клеточных микрочипов
- Низкая стоимость биочипов и их анализаторов и доступность массовому потребителю

Анализатор биочипов



- Универсален для все типов биочипов, выпускаемых в ИМБ РАН
- Высокая чувствительность и скорость работы
- Дружественный интерфейс ПО
- Прошел клинические испытания и зарегистрирован в Росздравнадзоре (Рег. удостоверение ФС 022а2006/3777-06)

Результат анализа ДНК штаммов *M. tuberculosis* с использованием ТБ-БИОЧИП

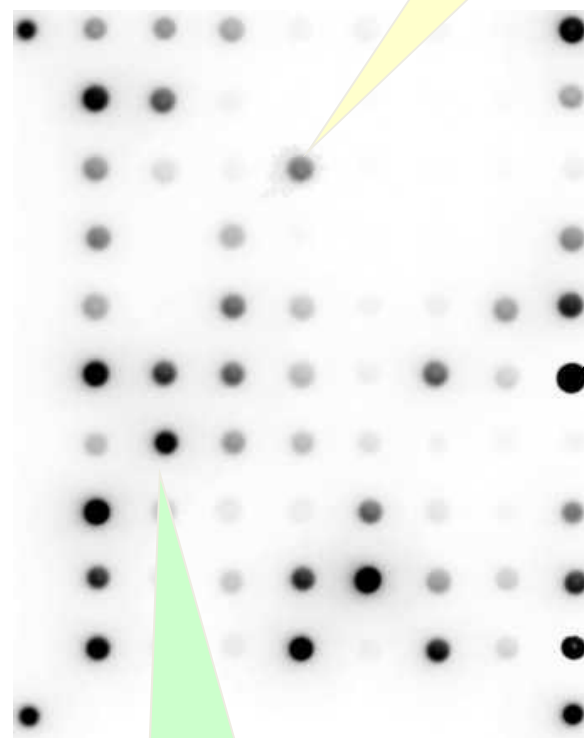
ДНК «Дикого типа»



IS 6110
зонд

Обычная терапия

ТБ с МЛУ



His 526>Tyr (*rpoB*)

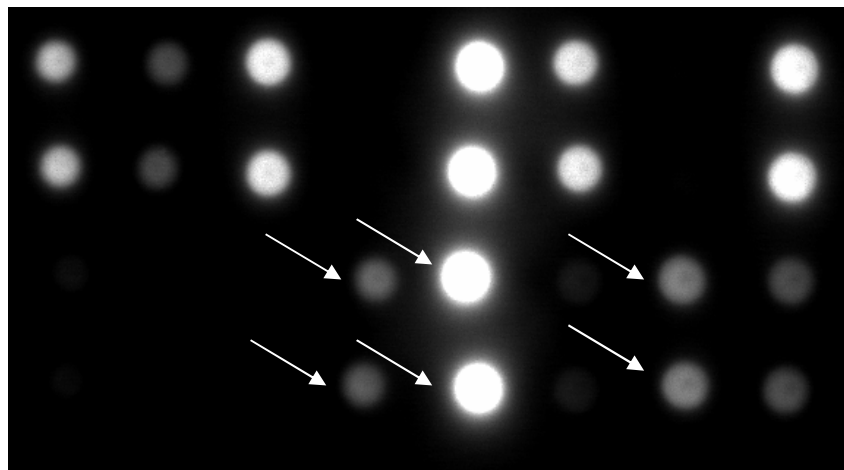
IS 6110
зонд

Ser 315>Thr (*katG*)

Терапия вторым
рядом ПТП

Кардио-Биочип

(Гены: AGT, REN, AGTR1, AGTR2, BKR2, MTHFR, ADRB2)



Генотип:

REN -83G>A функция фермента не изменена (G/G)

AGT M235T функция фермента не изменена (M/M)

AGTR1 1166A>C функция фермента не изменена (A/A)

AGTR2 3123C>A (A/A)

BKR2 -58T>C (T/C)

MTHFR 677C>T функция фермента не изменена (C/C)

ADRB2 48A>G (G/G)

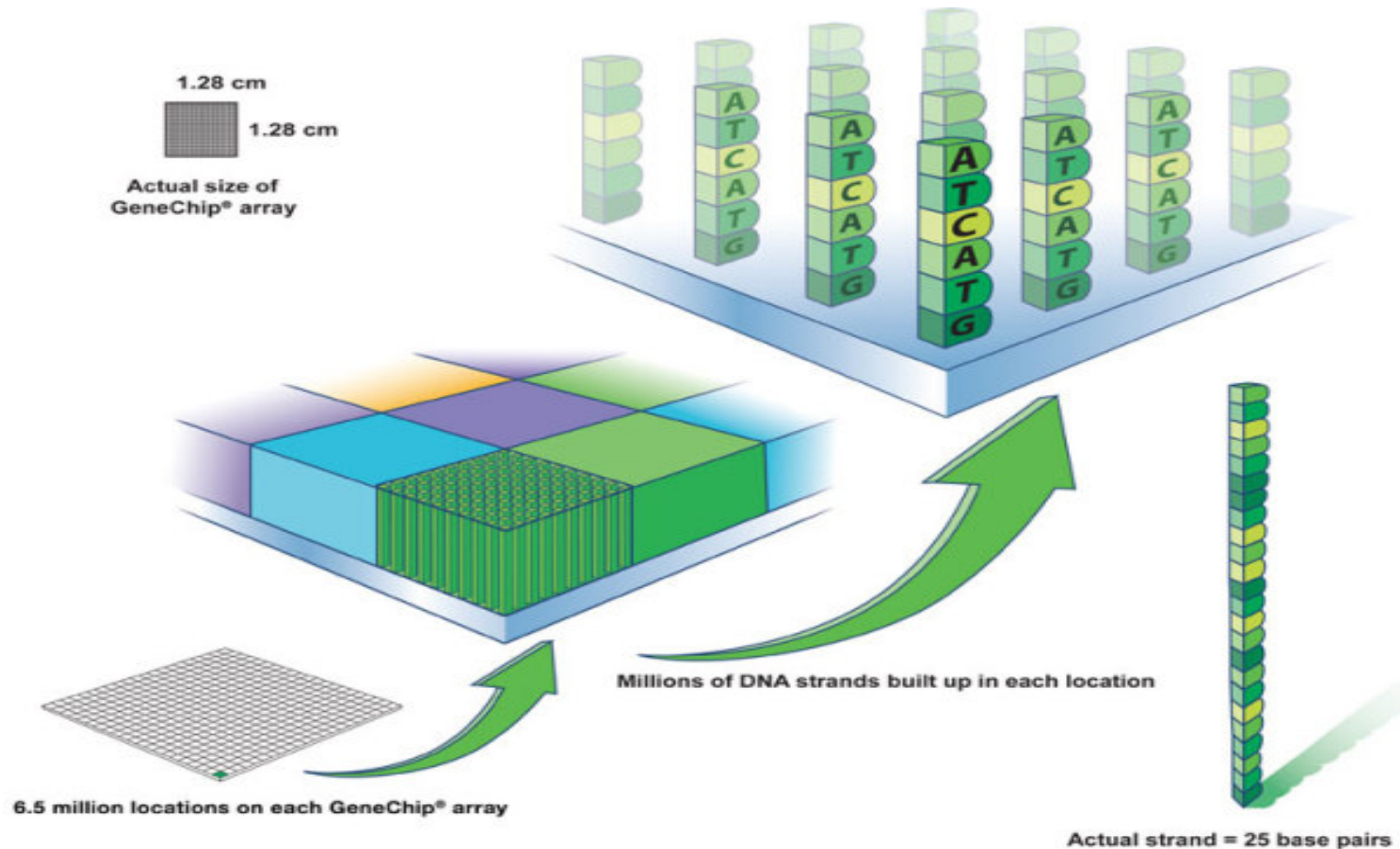
ADRB2 81C>G функция фермента не изменена (C/C)

Повышенный риск артериальной гипертензии.

4.1.1. МАТРИЧНЫЕ МИКРОБИОЧИПЫ С ИММОБИЛИЗОВАННОЙ ДНК



Фотолитография олигомеров на твердую подложку



Преимущества Affymetrix

Высокая плотность = полное покрытие аннотированных генов и ОНП

Максимально полное покрытие базы генов RefSeq многочисленными независимыми зондами

Последние и полные версии ОНП баз данных

До 10 млн. отдельных зондов на ОНП типе



Высокая воспроизводимость данных

Высокая специфичность связывания молекул

Оптимальная длина зонда в 25 олигонуклеотидов позволяет уменьшить вероятность неспецифической гибридизации

Методическая и техническая поддержка пользователя

Развитые сервисы для анализа и обработки данных

Широкая линейка систем

Genome-Wide Human SNP Array 6.0: 1,8 млн маркеров: 906000 ОНП и 946000 для детекции вариаций числа копий (CNV)

МИКРОБИОЧИПЫ НА ЗАКАЗ

В биочипе CombiMatrix синтез олигонуклеотидов осуществляется на полупроводящей платформе фосфорамидитной химией под электронным контролем . Главным преимуществом указанной платформы является ее гибкость, так как чип можно создавать по запросу небольших лабораторий (чип Affymetrix требует финансовых ресурсов например, создание новой фотолитографской маски).

Ряд фирм делают на заказ сами биочипы: самые известные из них Affymetrix и Clontech. Компания Incyte кроме изготовления биочипа на заказ и продажи генетического материала для печати на чип, сама выполняет и гибридизацию, а заказчику предоставляет только готовые данные. Возник рынок приготовления специально обработанных стекол для приготовления биочипов в условиях отдельной молекулярно-биологической лаборатории (Corning).

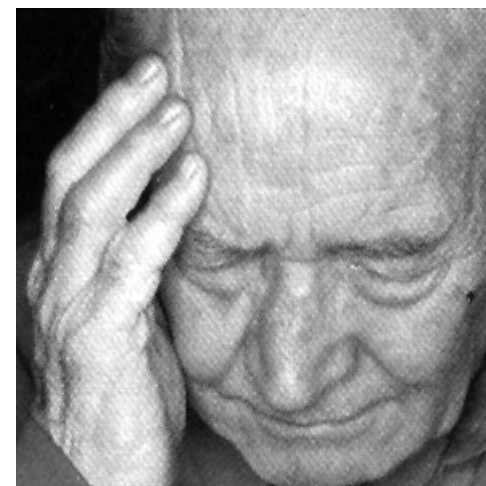
КАЖДЫЙ ЧЕЛОВЕК

И С КАЖДЫМ ДНЕМ

ОТЛИЧАЕТСЯ ОТ ДРУГОГО

ОТЛИЧАЕТСЯ САМ ОТ СЕБЯ

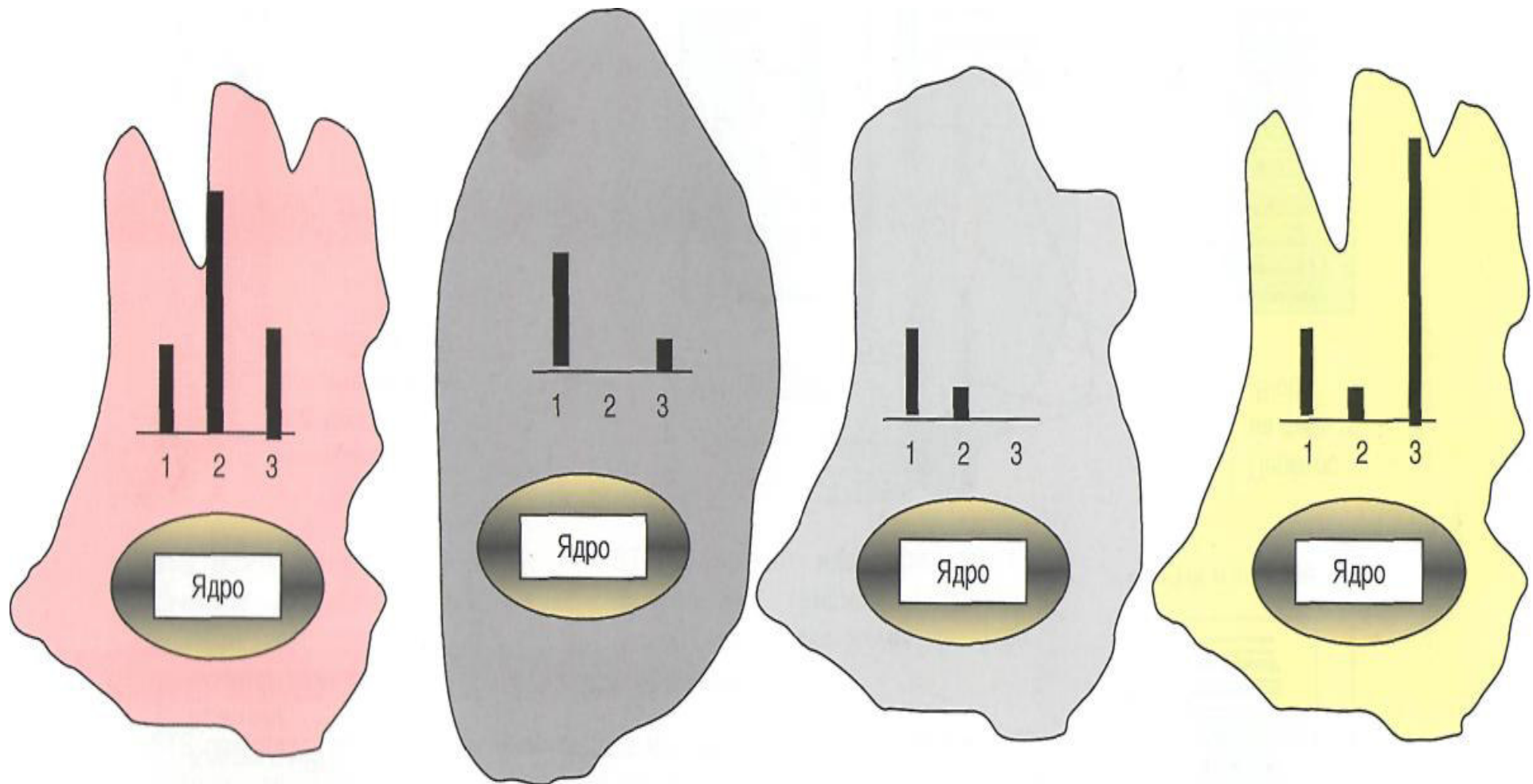
А. ПАП



Транскрипция



Гены-домохозяйки и тканеспецифичные гены
Разная экспрессия одинакового генотипа в разных клетках
1, 2, 3 - гены, одинаковые во всех клетках. Вертикальными
столбиками показано количество РНК (или белка),
синтезированного в разных генах



ЭКСПРЕССИОННЫЕ МИКРОБИОЧИПЫ



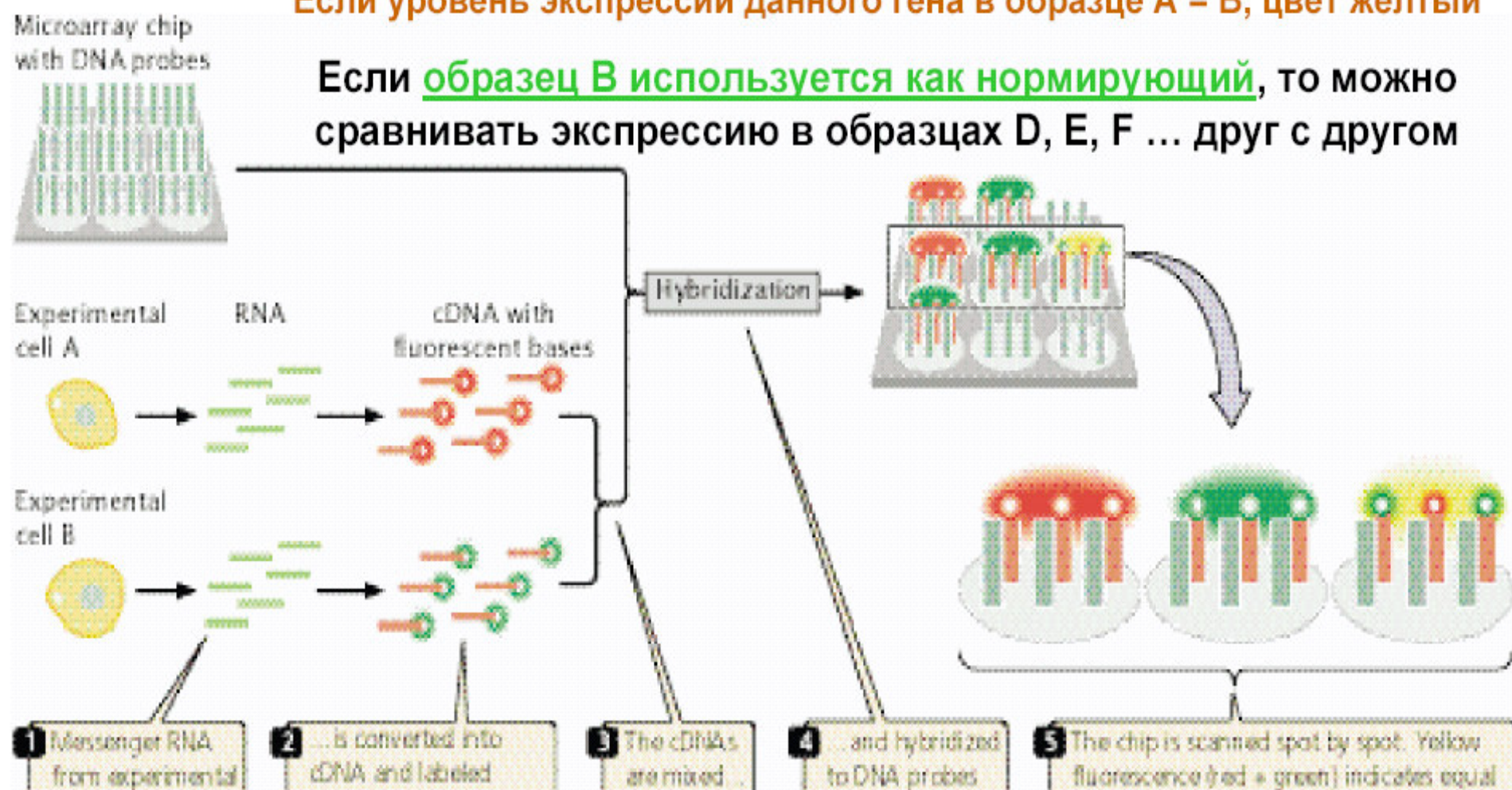
Биологические микрочипы выявляют наличие и относительный уровень экспрессии в клетках различных типов (например, печень – почки, норма – опухоль, зародыш – взрослый организм)

Если уровень экспрессии данного гена в образце A > B, цвет красный

Если уровень экспрессии данного гена в образце A < B, цвет зеленый

Если уровень экспрессии данного гена в образце A = B, цвет желтый

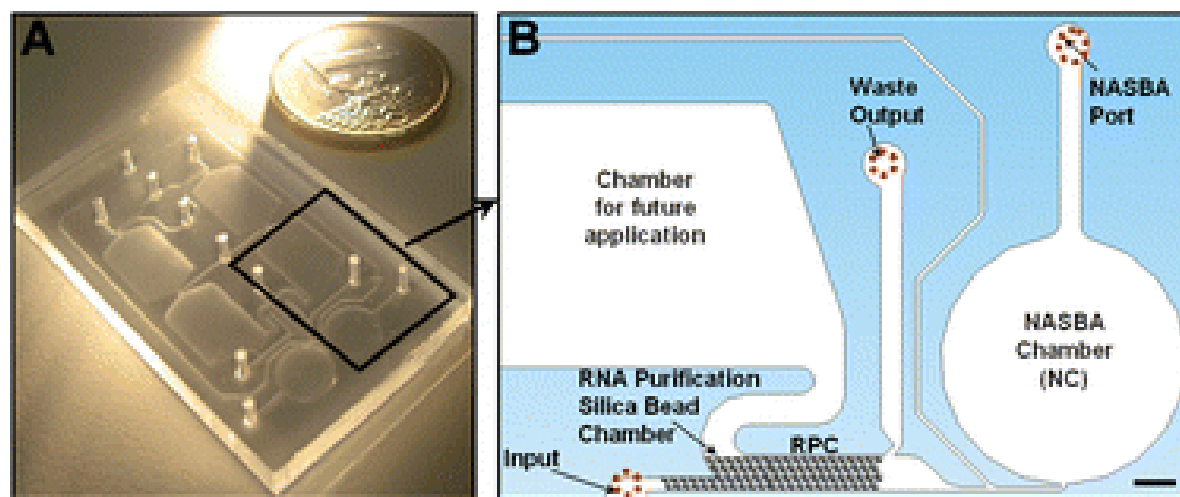
Если образец B используется как нормирующий, то можно сравнивать экспрессию в образцах D, E, F ... друг с другом



ИЗМЕНЕНИЕ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ ИНТЕРЛЕЙКИНОВ С ТЕЧЕНИЕМ ВРЕМЕНИ



4.1.4. Биочипы на основе микрофлюидных технологий



History of Fluidigm



1999 - Founding of Fluidigm to commercialize Integrated Fluidic Circuit (IFC) technology

2006 - Launch of BioMark™ Real-time quantitative PCR System and 48.48 Dynamic Array™ IFCs

ВОЗМОЖНЫЕ ОБЛАСТИ ПРИМЕНЕНИЯ BioMark

ЭКСПРЕССИЯ ГЕНОВ

ЭКСПРЕССИЯ ГЕНОВ ОТДЕЛЬНОЙ КЛЕТКИ

ОПН АНАЛИЗ

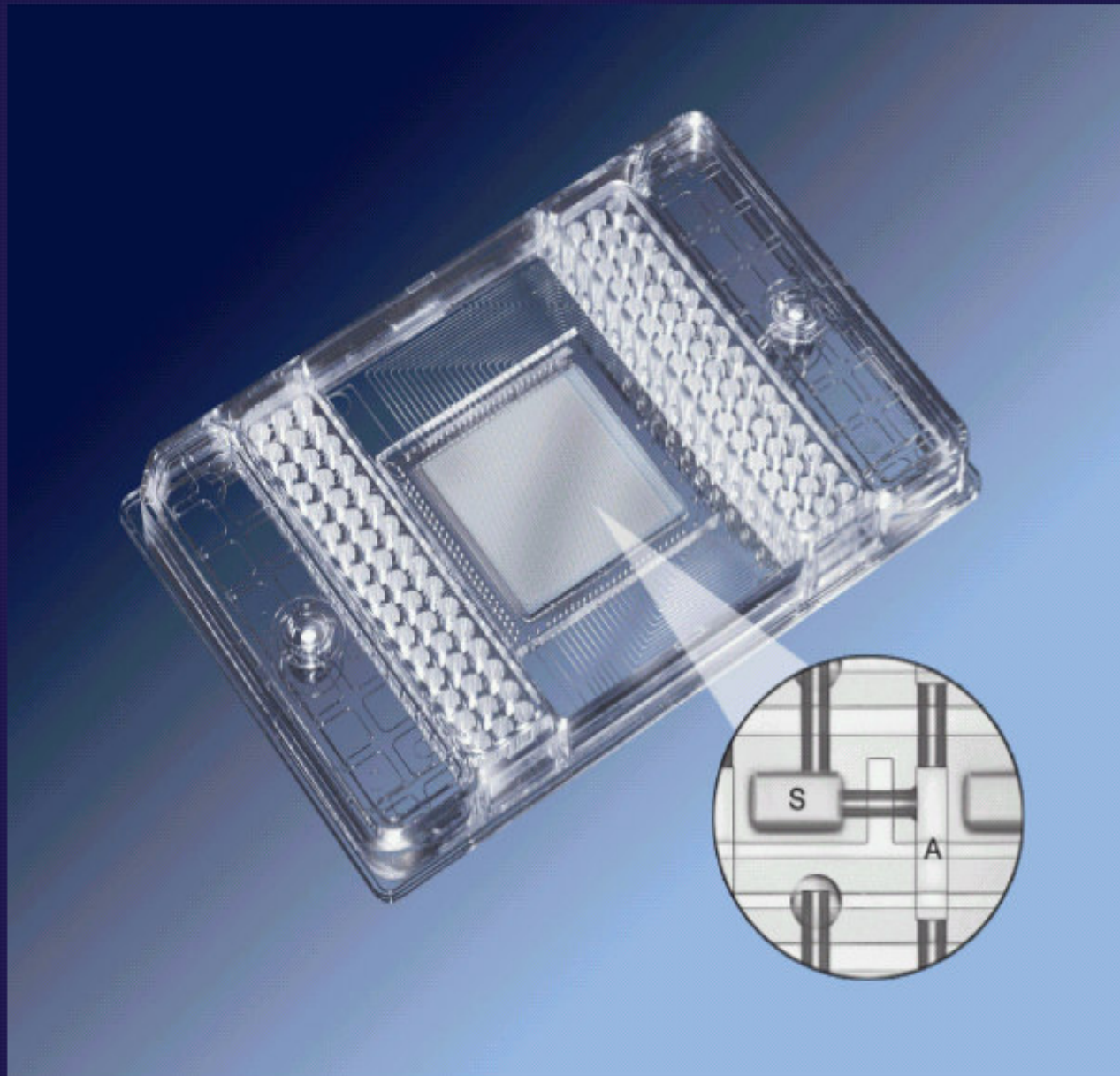
CNV АНАЛИЗ

ДНК СИКВЕНС

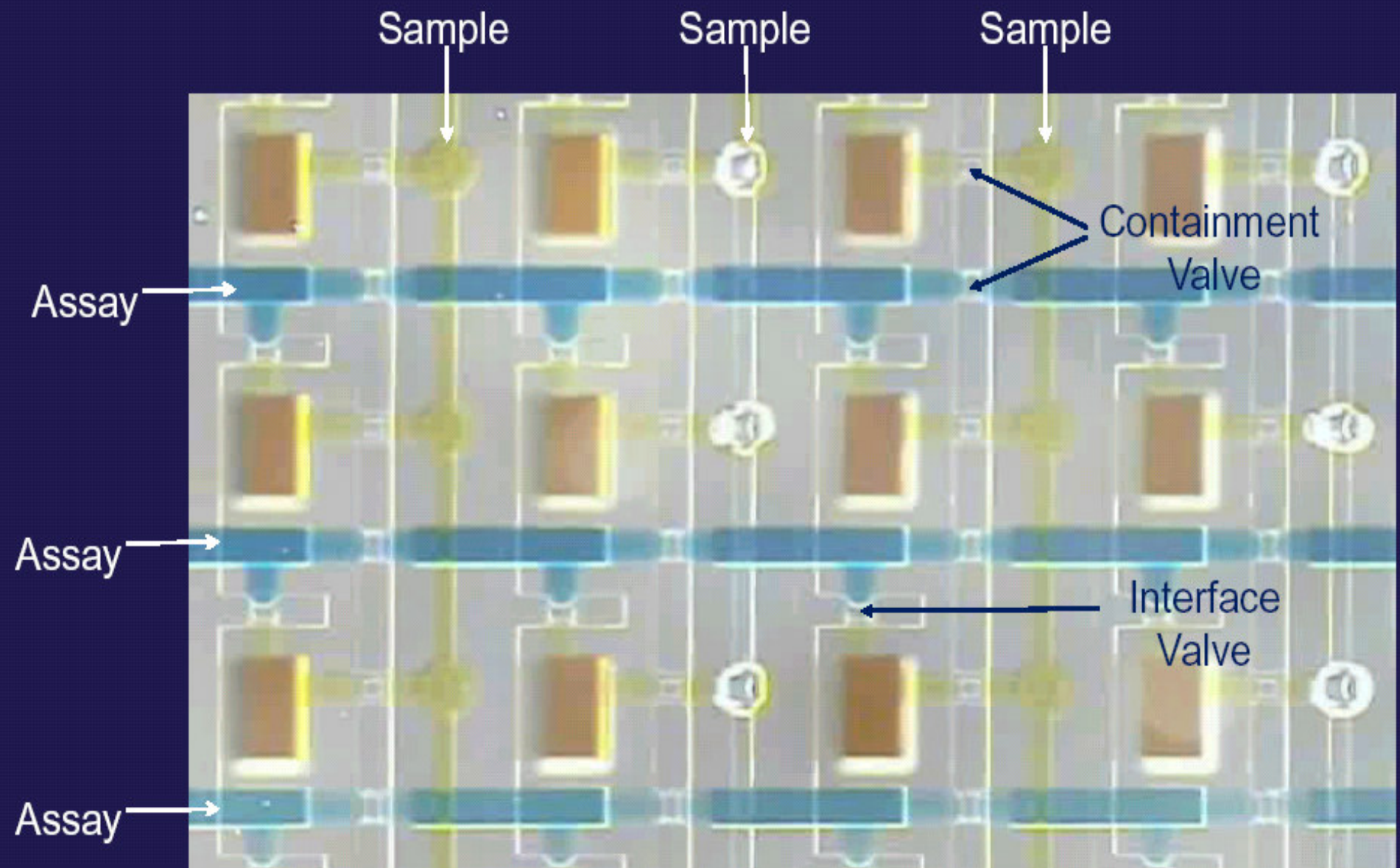
ОТКРЫТАЯ СИСТЕМА:

TaqMan, Roche UPL, интеркалирующие красители

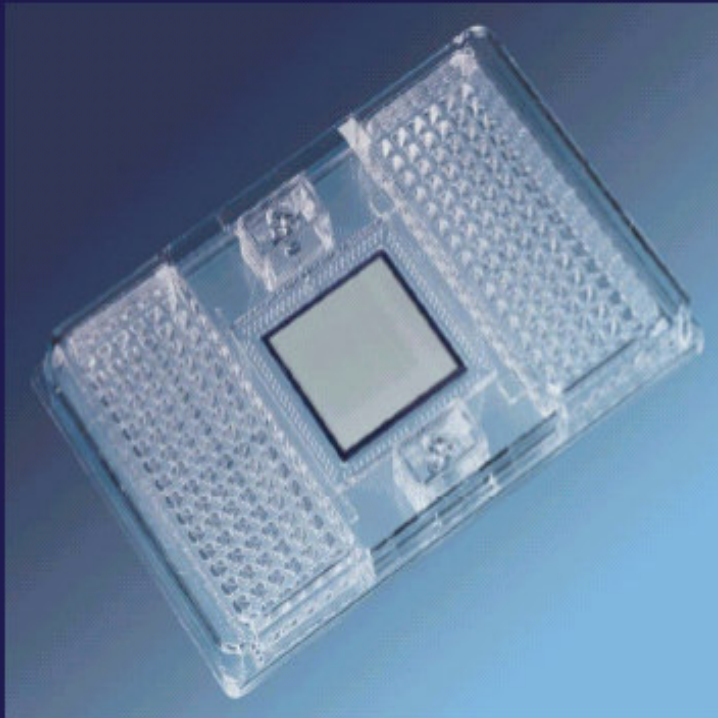
The Dynamic Array™ Architecture



Dynamic Array



96.96



9,216 data points

48.48



2,304 data points

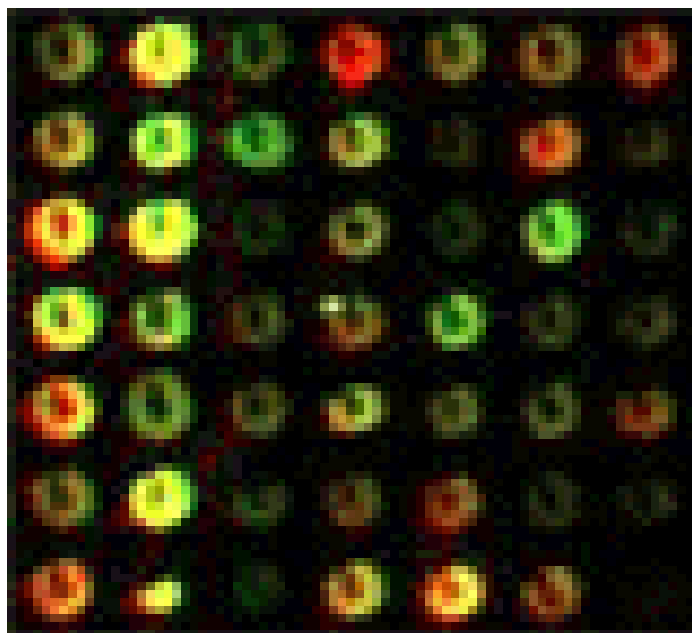
Digital Array Image

Sample

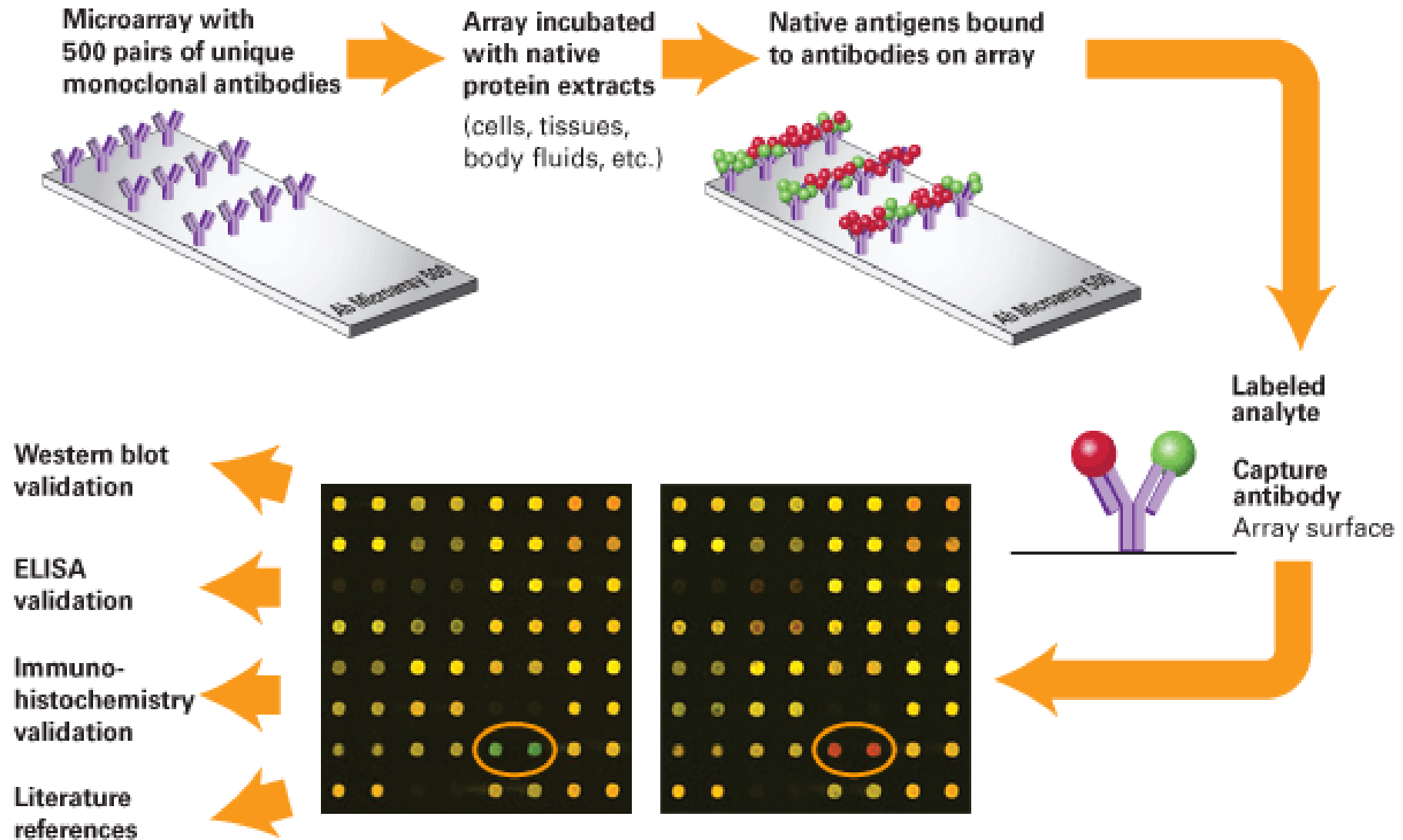
Negative control

Positive control

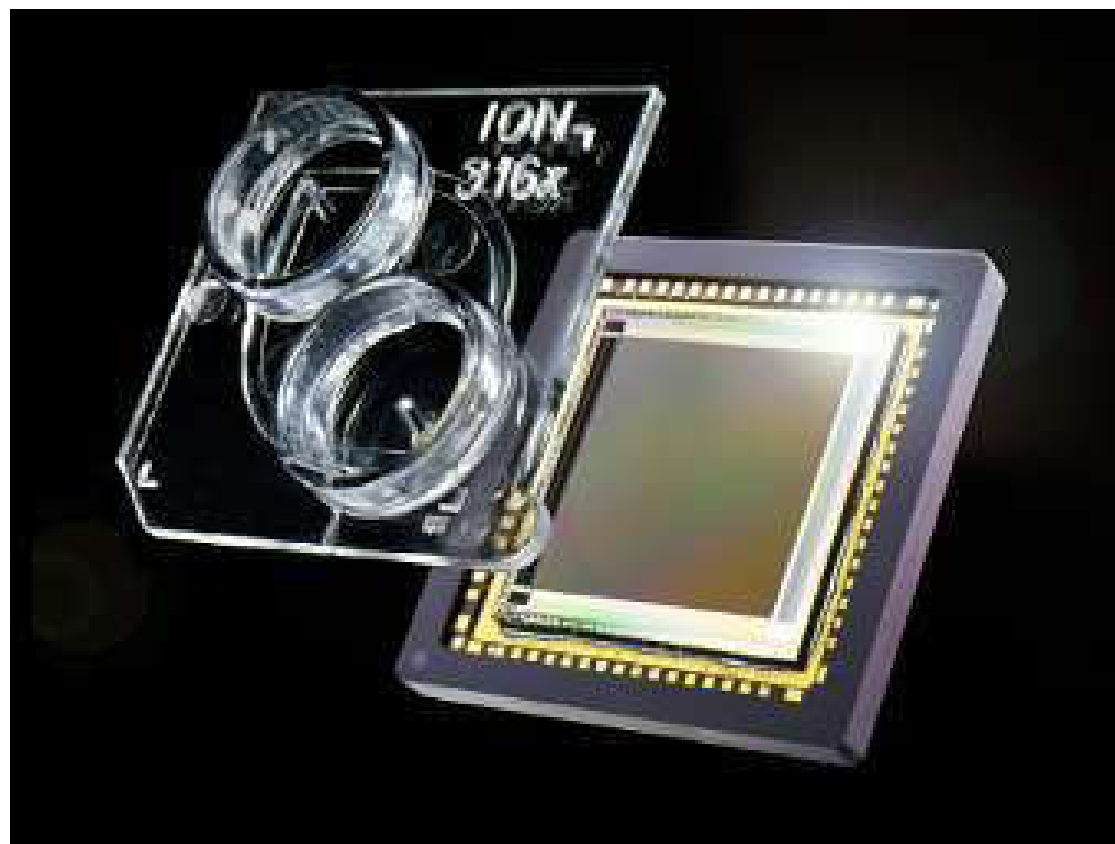
4.2. Белковые микробиочипы.



Clontech



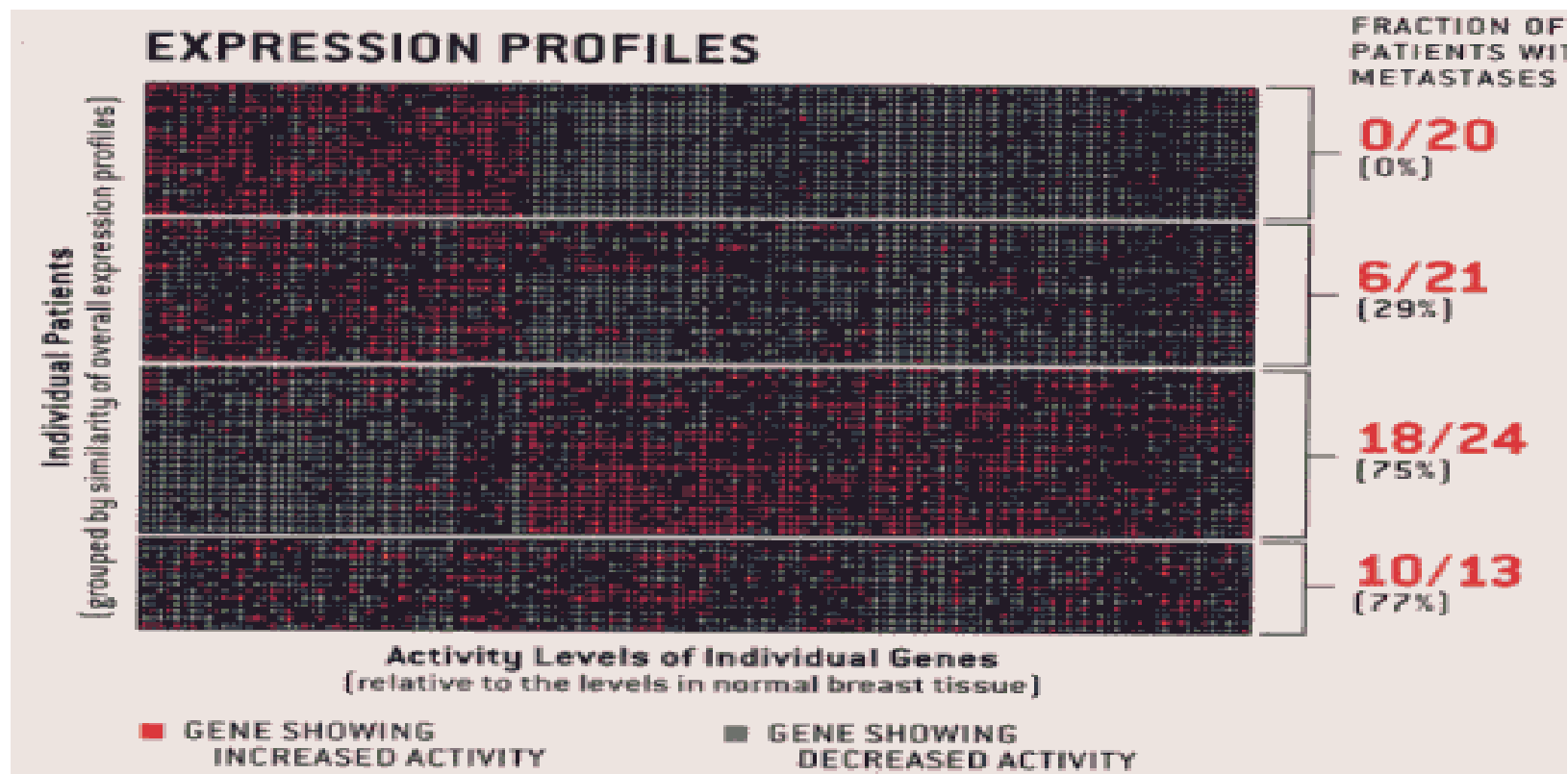
4.4.2. ПРОГНОЗ ТЕЧЕНИЯ ЗАБОЛЕВАНИЙ



Affymetrix

Излечимые виды лейкозов дают одни узоры (паттерны), неизлечимые дают совсем другие паттерны. На рисунке можно видеть, как окрашенная ДНК от разных больных образует различные паттерны на биочипе. Болезнь одна и та же, паттерны — разные. По виду паттернов можно с большой вероятностью предсказать течение болезни на самой ранней ее стадии.

В данном случае при паттерне типа 1 вероятность метастаз равна нулю,
при паттерне типа 2 — уже 29%,
при паттернах типа 3 и 4 соответственно 75% и 77%.



РНОМика

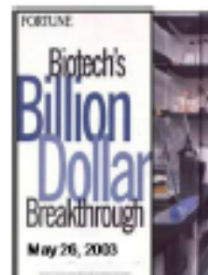
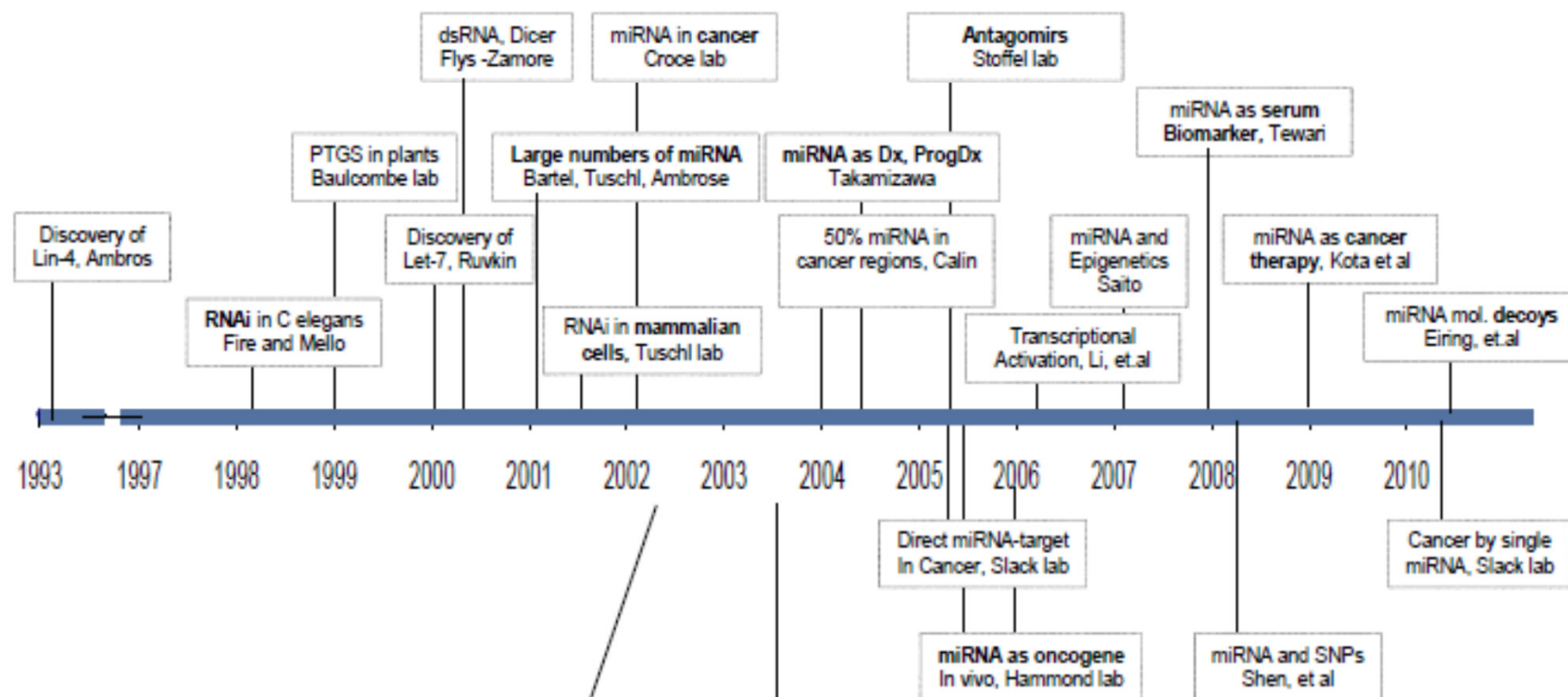
Известно более двух тысяч микроРНК человека (miRBase), каждая из которых может регулировать работу сотен генов-мишеней. Велика роль коротких РНК в регуляции трансляции, формировании неактивного «молчащего хроматина» (silent chromatin) и в обеспечении защиты клетки от перемещающихся подвижных элементов (транспозонов). Функционирование «коротких» РНК осуществляется при их комплементарном взаимодействии с цитоплазматическими и ядерными транскриптами по механизму РНК-интерференции (РНКи).

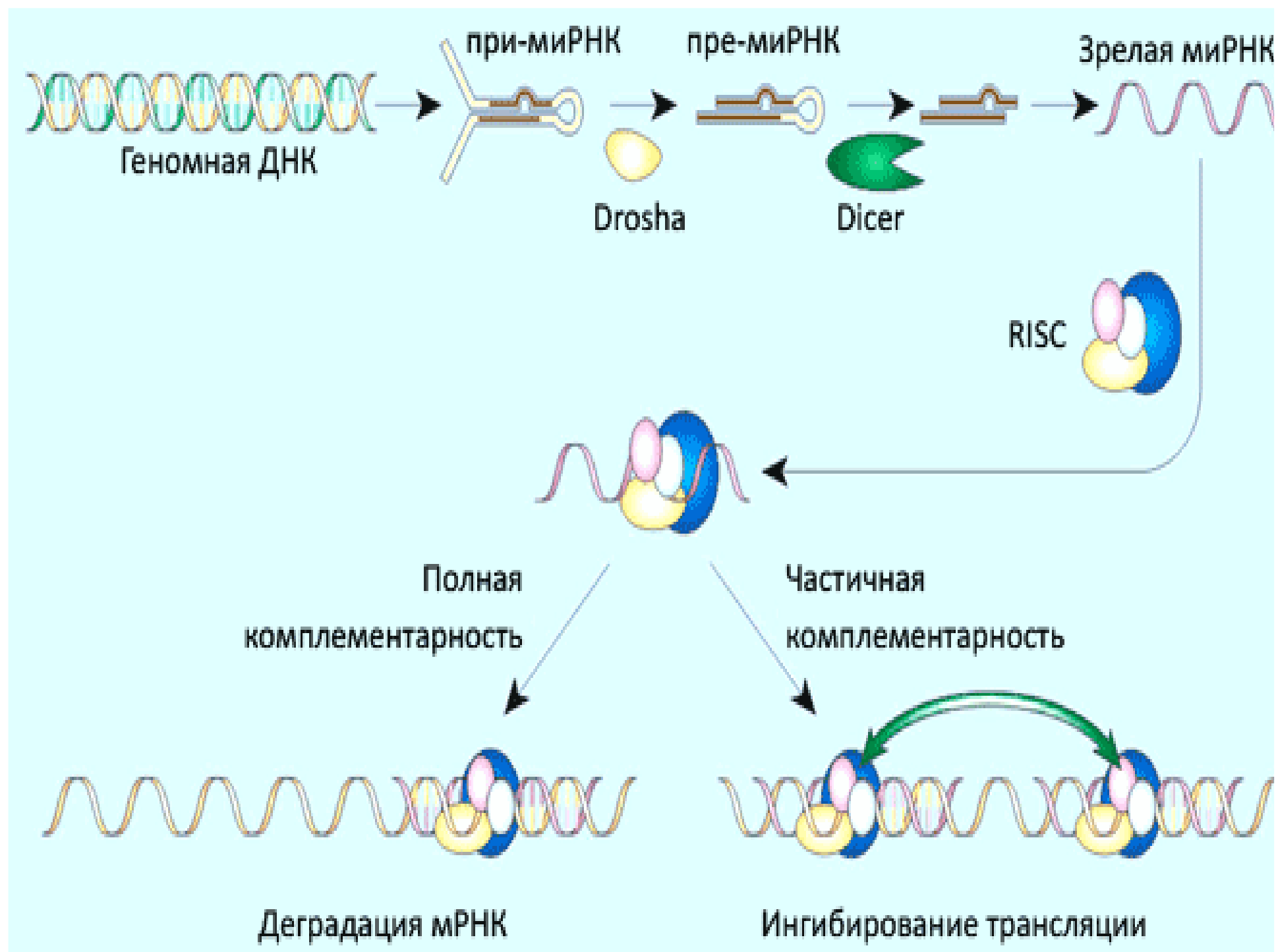
Микро-РНК (miRNA) – это класс малых РНК, которые имеют длину около 22 нуклеотидов. Эти РНК играют важную роль в регуляции трансляции и деградации мРНК. Регуляция осуществляется путем комплементарного связывания микро-РНК с мишенями – частично комплементарными сайтами в нетранслируемых участках мРНК. Как и все виды РНК, микро-РНК кодируются генами.



miRNA timeline

natural phenomenon, tool, potential biomarker and therapeutic





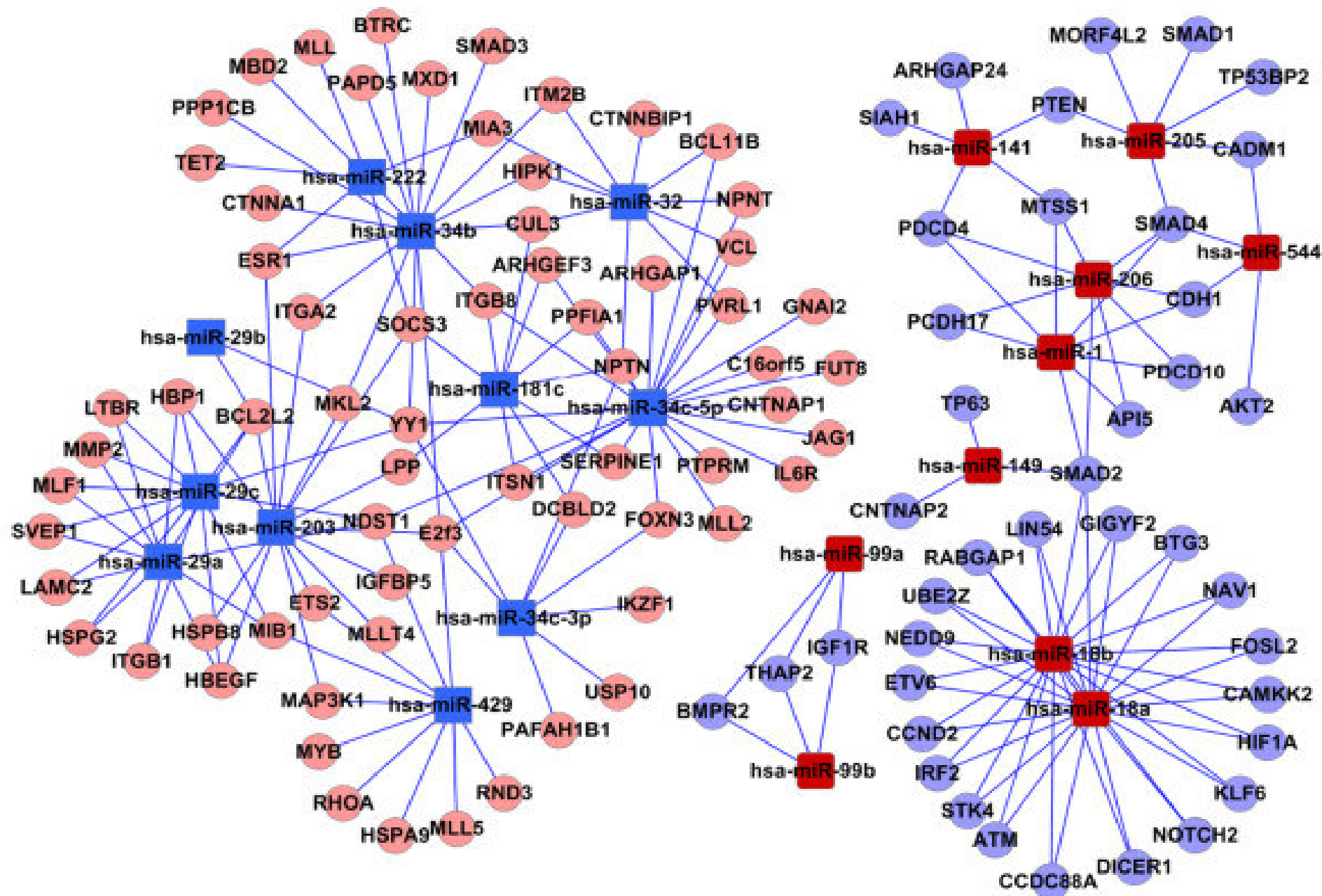
РЕГУЛЯТОРНЫЕ ФУНКЦИИ микроРНК

МикроРНК – негативный регулятор экспрессии генов на посттранскрипционном уровне

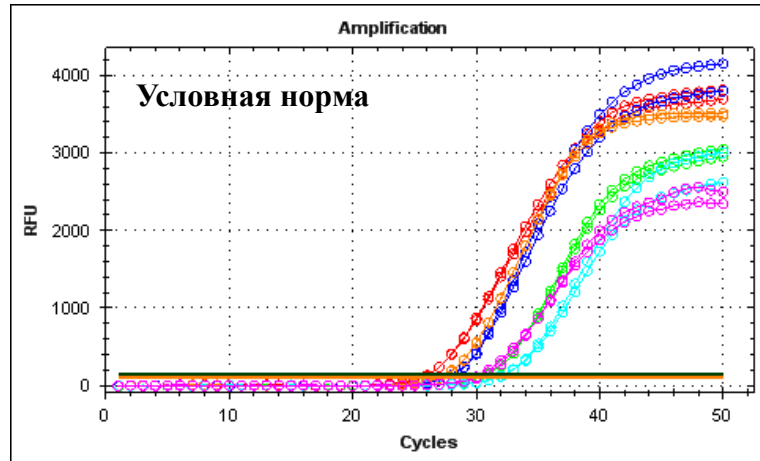
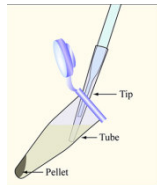
Один белок кодирующий ген может регулироваться десятками разных микроРНК

Одна микроРНК может регулировать работу более сотни разных генов

МикроРНК выступают как онкогены и супрессоры опухолей



Методический подход определения уровня экспрессии микроРНК в раковых клетках vs прилежащих нормальных клеток у одного пациента.



miR-155

miR-205

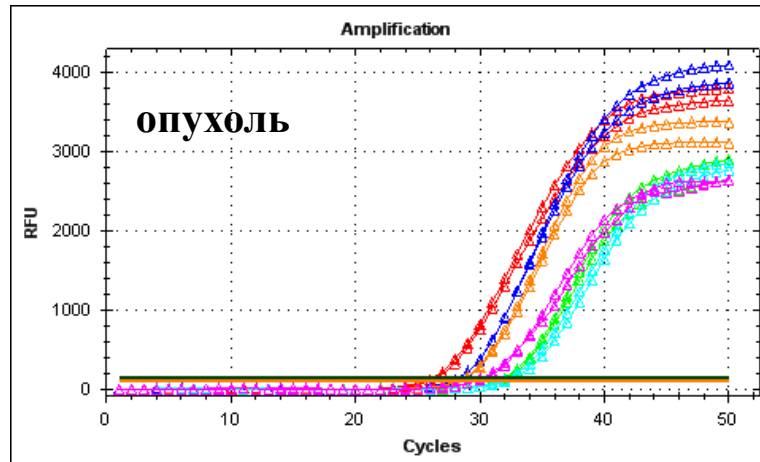
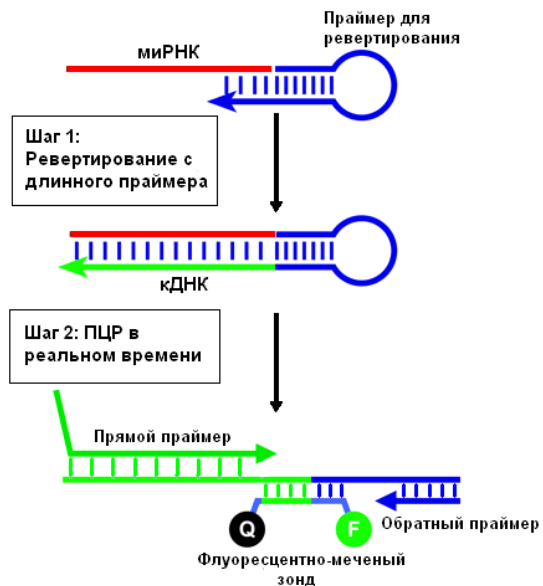
miR-21

miR-221

miR-222

U6

Схема детекции миРНК с помощью обратной транскрипции и ПЦР в реальном времени



Микро РНК И ЗАБОЛЕВАНИЯ

Согласно полученным данным количество различных микро-РНК у человека может достигать 37 тыс. (по сравнению с приблизительно 25 тыс. генов, кодирующих белок).

Многие микроРНК принимают активное участие в развитии нервной системы и могут быть связаны с развитием нейродегенеративных заболеваний, изменяя профиль своей экспрессии при болезнях Альцгеймера и Паркинсона.

МикроРНК, действующие как онкогены и опухолевые супрессоры, могут непосредственно участвовать в образовании и развитии многих видов опухолей человека.

Cancer

Leukemia (CLL),
lung cancer (NSCLC),
colorectal cancer,
papillary thyroid
carcinoma and
breast cancer

Drug resistance

829C>T in DHFR genes
miR-24
MTX resistance

Neurological disorders

Tourette syndrome,
ADHD, hereditary
spastic paraplegia,
aggressive behavior,
Parkinson's
disease

Hypertension and cardiovascular disease

An 1166A>C *AGTR1*
gene miR-155

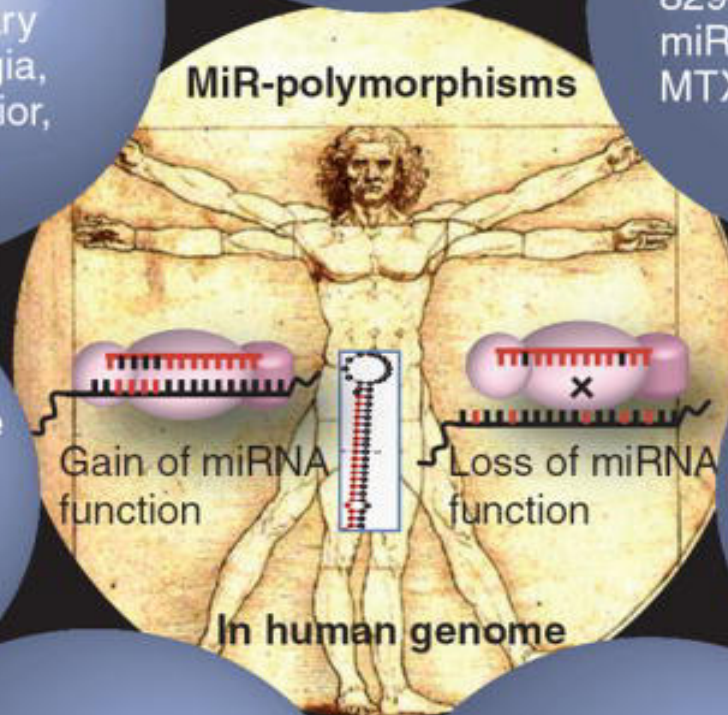
Diarrhea, irritable
bowel syndrome
(IBS-D)

Type 2 diabetes

ACAA- insertion/
deletion

Muscular
hypertrophy &
gastric mucosal
atrophy

MiR-polymorphisms



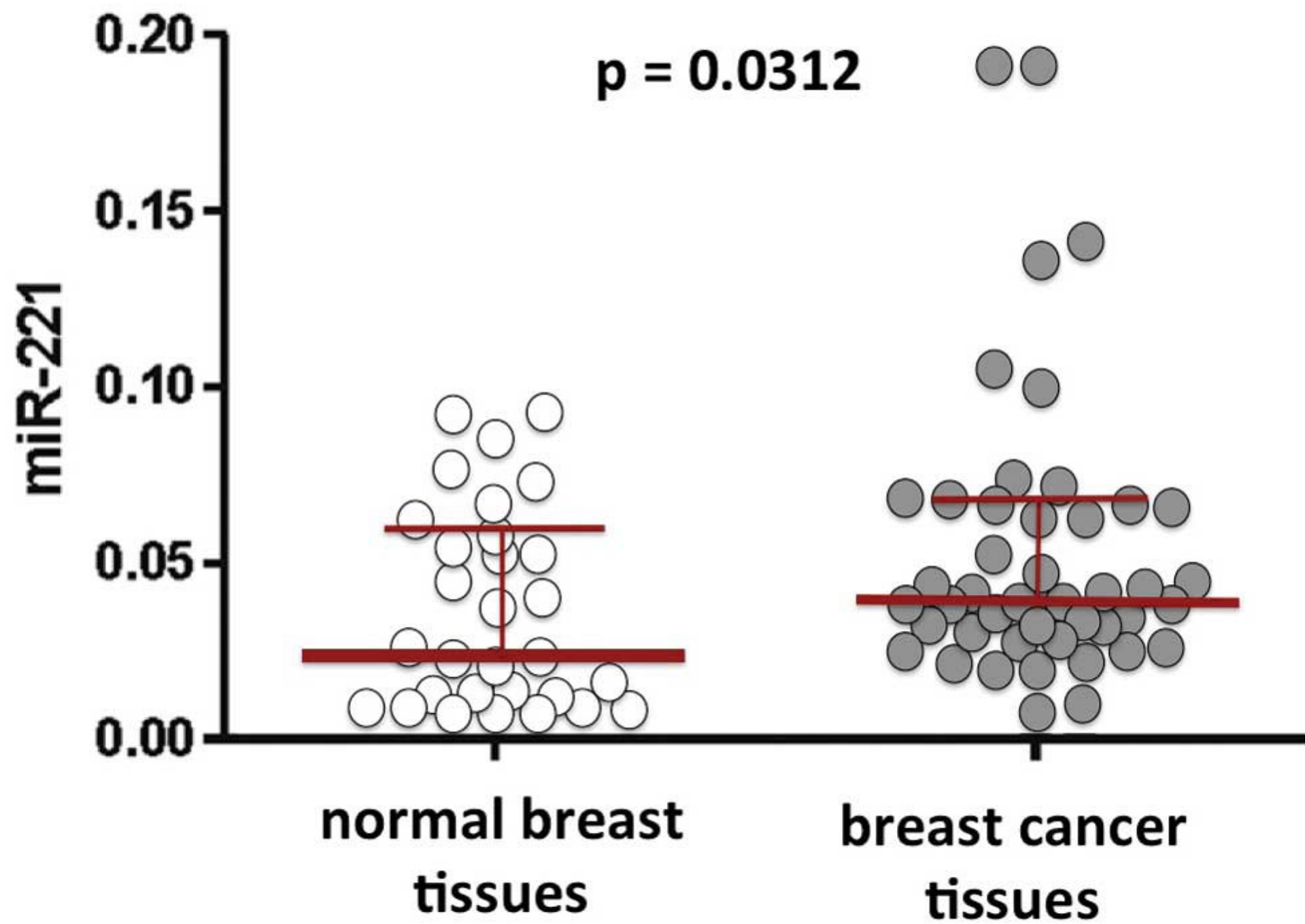
микроРНК И ОНКОЛОГИЯ

микроРНК-21 – хронологически первая идентифицированная микроРНК. Является сильным онкогеном. Её экспрессия увеличивается в большинстве солидных опухолей. Увеличивает пролиферативную и инвазивную активность опухолевых клеток.

микроРНК-221, микроРНК-222 – онкогенные микроРНК, индуцирующие ангиогенез и пролиферацию раковых клеток.

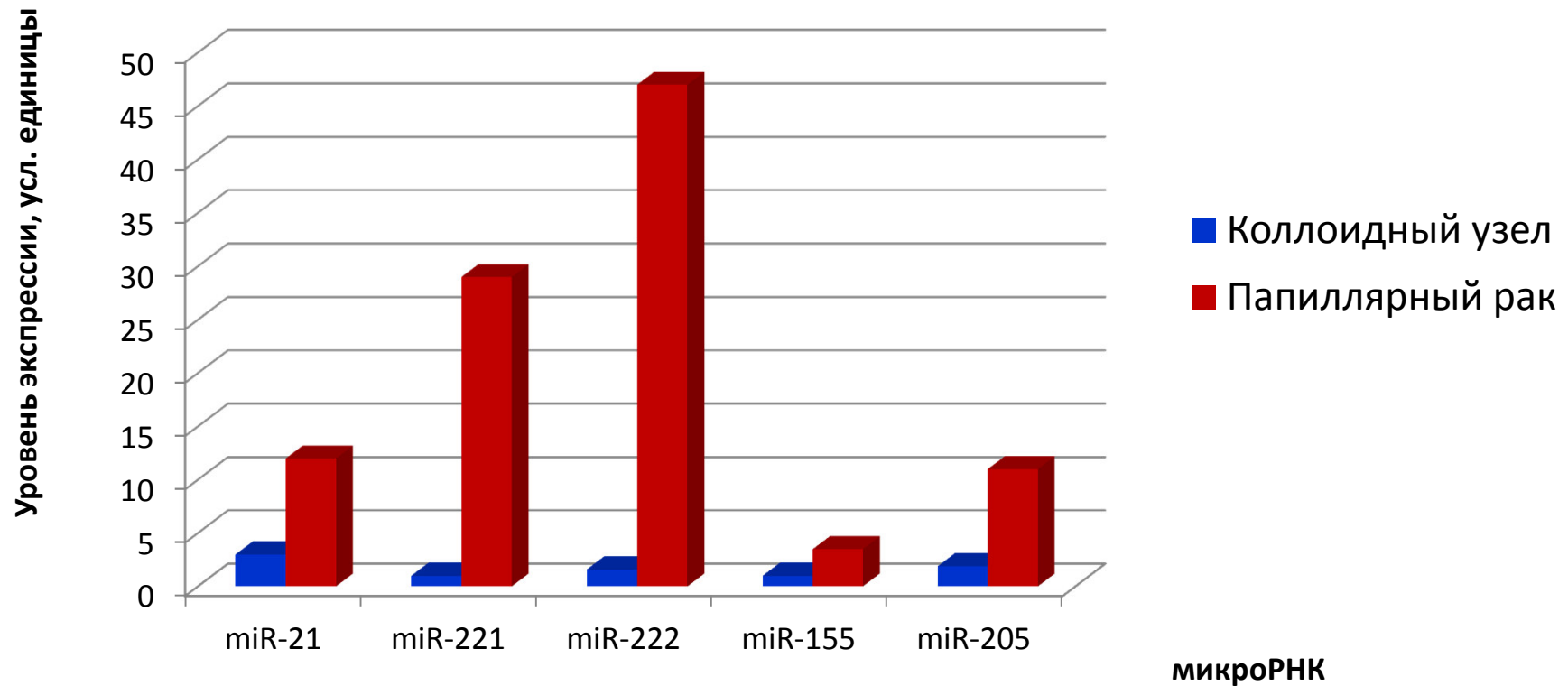
микроРНК-155 – продемонстрировано участие этой микроРНК в инициации как врожденного, так и адаптивного иммунных ответов, а также в развитии иммунной системы в целом. Некоторые работы свидетельствуют об участии микроРНК155 в онкогенезе различной этиологии.

микроРНК-205 – супрессор опухолевого роста, показано, что в случае некоторых видов опухолей микроРНК205 индуцирует апоптоз и тормозит рост опухоли.



МикроРНК при папиллярном раке и коллоидном узле щитовидной железы

Сравнение уровней экспрессии микроРНК при папиллярном раке и коллоидном узле



Возможности микроРНК в диагностике опухолей

Дифференцировать
доброкачественные опухоли
от злокачественных
новообразований

Контролировать эффект
терапевтического воздействия
(лучевая и химиотерапия)

Выявлять различные
патоморфологические типы
опухолей

Разработать алгоритмы
ранней диагностики
онкологических заболеваний

ПРИМЕНЕНИЕ

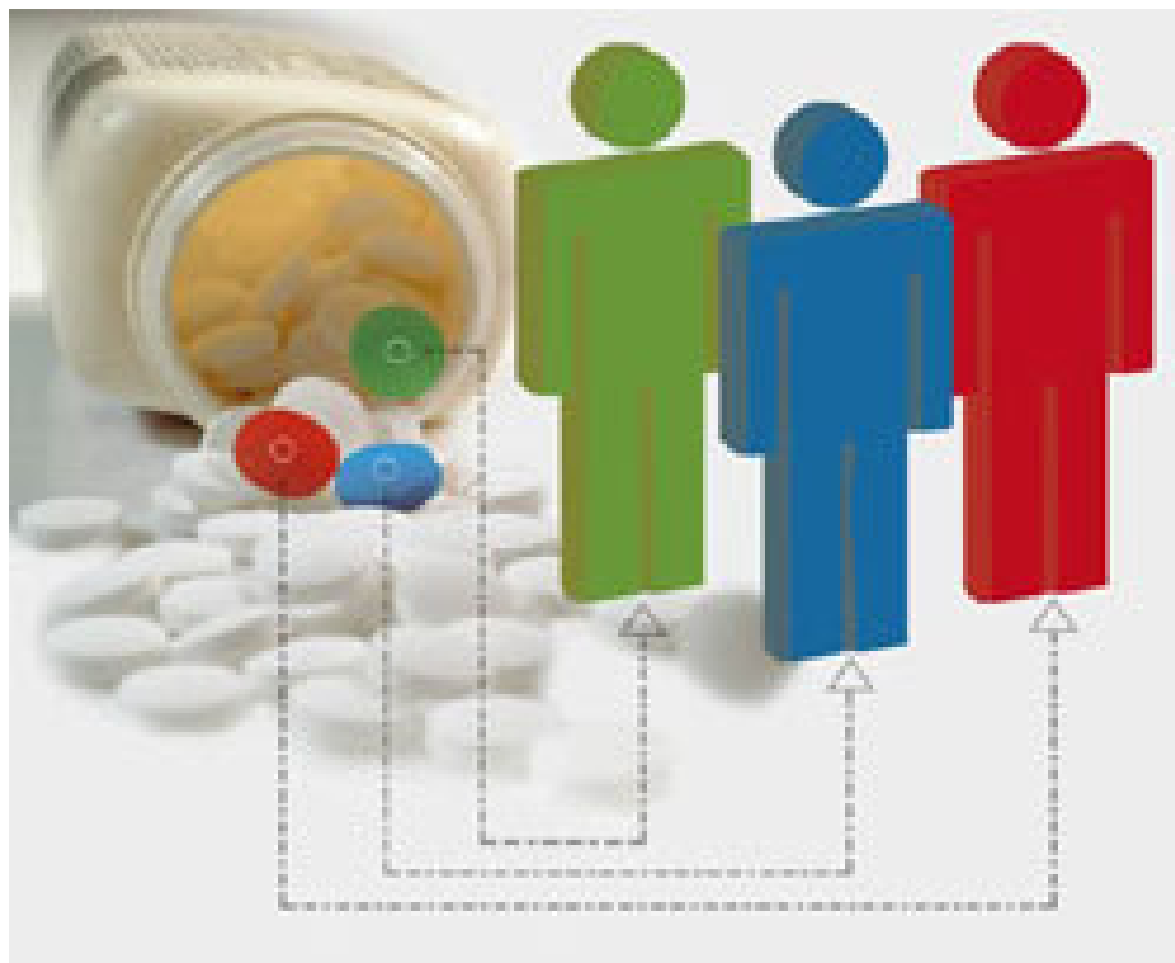
Ранняя диагностика

Определение гистотипа
опухоли, стадии развития,
потенциала к
метастазированию

Прогностическое значение
выживаемости

Потенциальная терапия

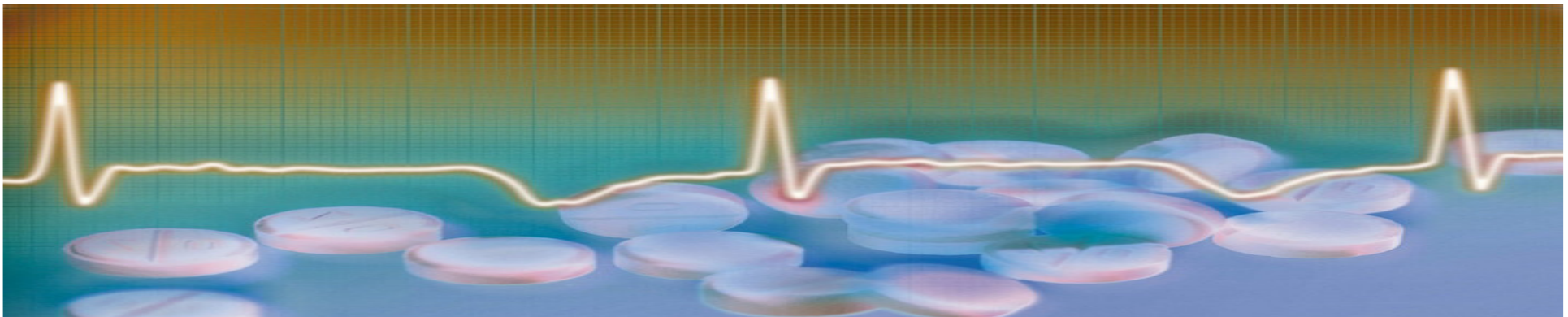
ПОДБОР И МОНИТОРИНГ ЛЕКАРСТВЕННОЙ ТЕРАПИИ



Значимость генотипирования в оценке эффективности проводимой терапии.

Неблагоприятные лекарственные реакции –НЛР (Adverse Drug Reactions – ADR): *Lazarou et al. 1998. JAMA (Journal of the American Medical Association)*

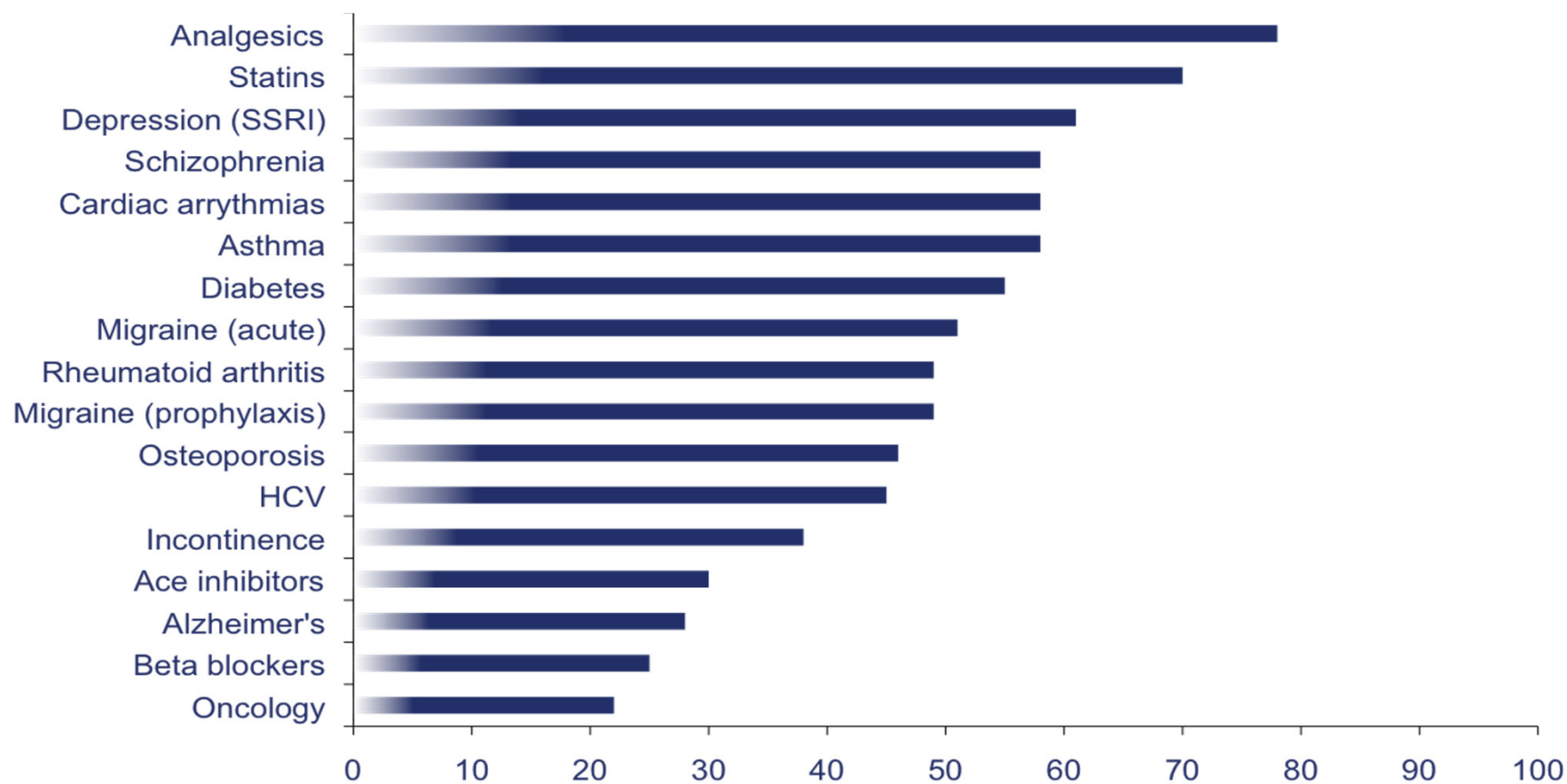
- В 1994 году в США зарегистрировано:
 - 2,2 млн. случаев тяжелых осложнений, обусловленных НЛР от правильно назначенных препаратов, которые стоят приблизительно 25 млрд. долларов. Если бы ПМ уменьшала НЛР в небольшом проценте случаев, получающаяся экономия была бы значительной.
 - Свыше 100 000 случаев со смертельным исходом
 - 4-6 место среди причин смерти



По данным ВОЗ, в начале XXI века стандартная фармакотерапия не давала эффективного результата при лечении депрессий (20–40% больных), язвы (20–70%), бронхиальной астмы (40–75%), сахарного диабета (5–75%), онкологии (70–100%), мигрени (30–60%), артериальной гипертензии (10–75%), шизофрении (25–75%). При этом, что такое неэффективное лечение постоянно дорожало.



ТЕРАПИЯ СЕГОДНЯ – НАСОВЕРШЕННОЕ ИСКУССТВО



Response Rates %

ВОЛЬТЕР:

**« ДОКТОРА – ЭТО ТЕ, КТО
ПРОПИСЫВАЮТ ЛЕКАРСТВА, О
КОТОРЫХ МАЛО ЗНАЮТ,
ЧТОБЫ ЛЕЧИТЬ БОЛЕЗНИ, О
КОТОРЫХ ОНИ ЗНАЮТ ЕЩЕ
МЕНЬШЕ,
У ЛЮДЕЙ, О КОТОРЫХ ОНИ НЕ
ЗНАЮТ ВООБЩЕ НИЧЕГО ».**

Персонализированная медицина

Вчера

Экспериментальное назначение лечения

Препарат А

Препарат В

Попробовать и перейти на другое лечение

Препарат С

Препарат D

Личный опыт врача

Затраты: время, деньги и здоровье

Сегодня

Разумное назначение терапии

Диагностика

Препарат А

Препарат В

Препарат С

Препарат D

Определить и назначить лечение

Осознанный диагноз врача

Экономия: время, деньги и время болезни

ЛАБОРАТОРНЫЕ ТЕСТЫ В ФАРМАКОЛОГИИ

По данным PricewaterhouseCoopers, объем рынка лекарственных средств для ПМ в США с 2010-го по 2015 год должен практически удвоиться и достичь 425 млрд долларов. При прогнозируемом объеме мирового рынка 1,2 трлн долларов к 2016 году доля персонализированных средств будет составлять треть всех препаратов.

Указанный тренд понуждает компании к тесному сотрудничеству с лабораториями, разрабатывающими диагностические тесты и системы. В 2010 году было заключено 16 партнерских соглашений. Три из них пришлись на GlaxoSmithKline, по два — на Pfizer и Merck.



FDA, за последние годы предпринял ряд шагов для развития персонализированной медицины.

Ведомство готовит нормативные документы, которые поощряют совместную разработку лекарственных и диагностических средств, что позволяет сократить сроки и затраты на клинические исследования.

Существуют 33 фармакогенетических биомаркера на рынке, включенных FDA в список одобренных лекарств, такого рода диагностикумов.



**Ответ на
лекарства зависит
от многих
факторов...**

Генетические
особенности
пациента



**«ОТВЕТ» НА
ЛЕКАРСТВЕННОЕ
СРЕДСТВО**

50%

Пол

Возраст

Тяжесть течения
основного
заболевания

Сопутствующие
заболевания,
особенно печени и
почек

Совместно
применяемые ЛС и
БАДы

Особенности питания

Вредные привычки:
курение, алкоголь,
наркотики

50%

ЧАСТОТА «МЕДЛЕННЫХ» АЛЛЕЛЕЙ ГЕНОВ РАЗЛИЧНЫХ ФЕРМЕНТОВ БИОТРАНСФОРМАЦИИ В МОСКОВСКОЙ ПОПУЛЯЦИИ

(исследование проводилось у 800 человек)

CYP2D6



CYP2A6



CYP3A4



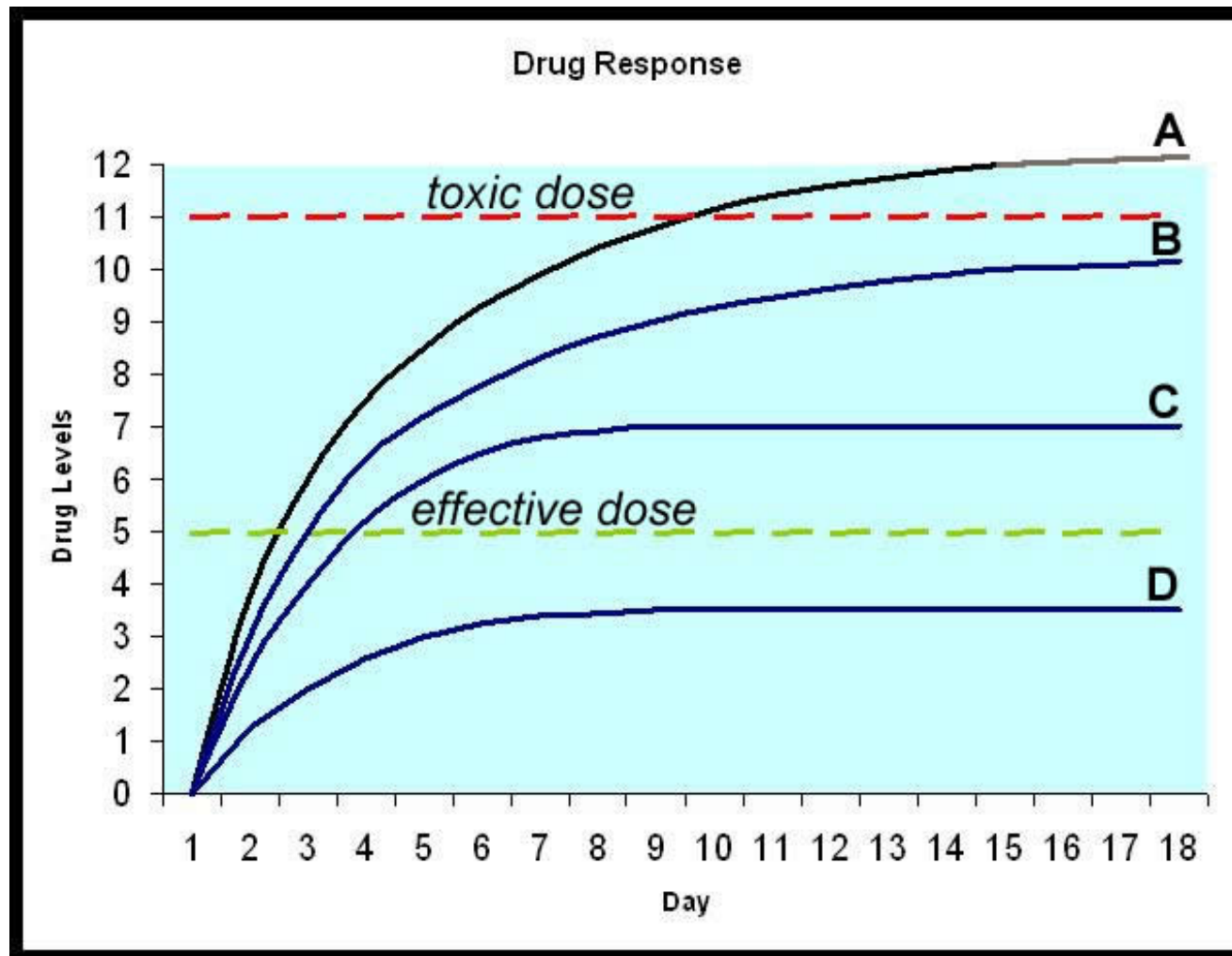
CYP2C9



CYP2C19



- A. **PM** poor metabolizer, absent or greatly reduced ability to clear or activate drugs.
- B. **IM** intermediate metabolizer. Heterozygotes for normal and reduced activity genes.
- C. **EM** extensive metabolizer. The norm.
- D. **UM** Ultra Metabolizer. Greatly increased activity accelerating clearance or activation

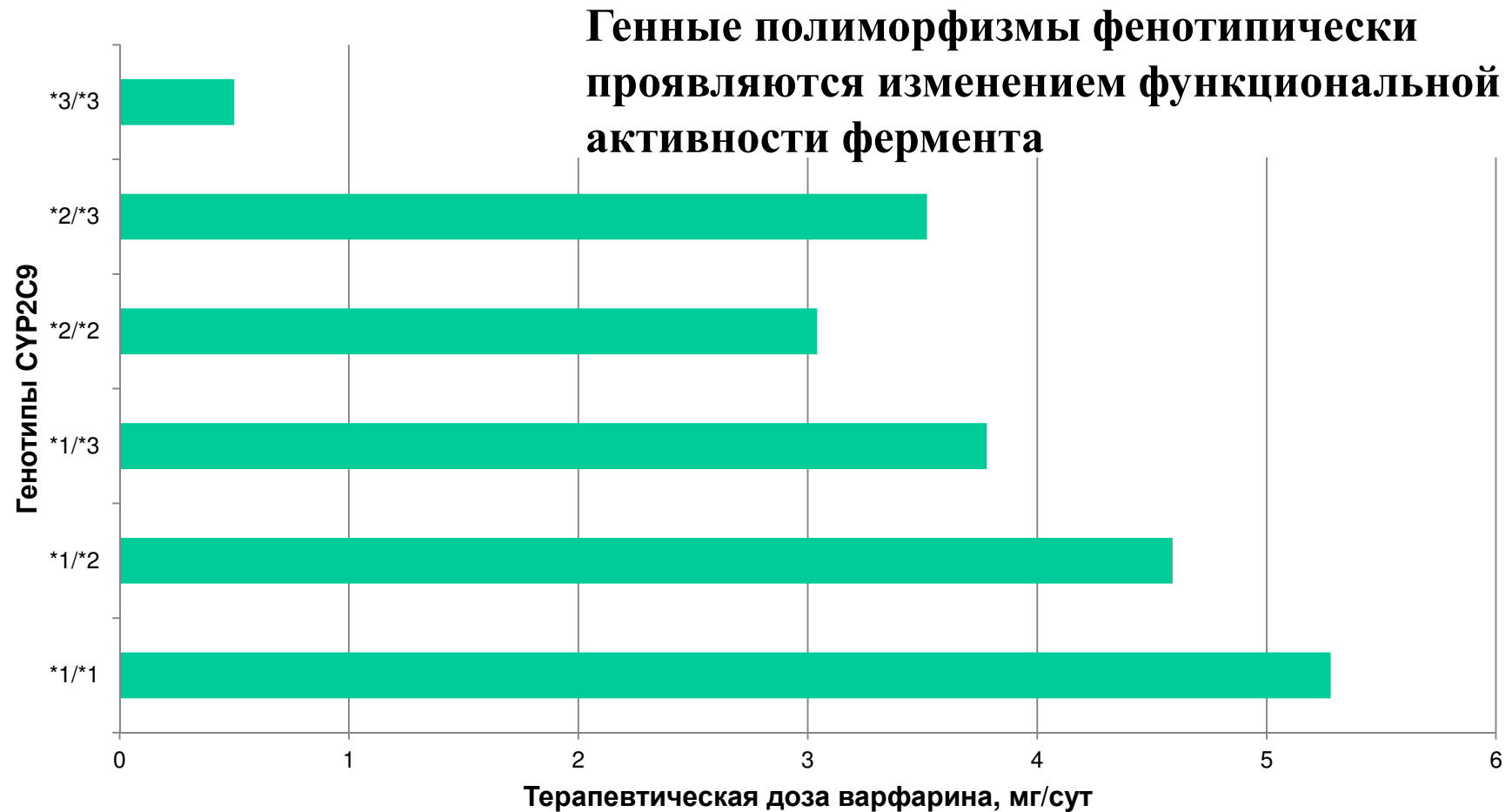


AmpliChip CYP450

Микробиочипы активно используются в фармакологии: опубликован протокол применения биочипов GeneChip для фармакологических исследований. Важнейшей системой метаболизма лекарств является система цитохрома Р-450. Биочип AmpliChip CYP450 содержит более 15000 различных олигонуклеотидных зондов. Практически все известные полиморфизмы и аллели CYP2D6, и два наиболее часто встречающихся для CYP2C19, могут быть обнаружены одновременно. AmpliChip CYP450 обеспечивает всесторонний охват вариаций генов, которые играют роль в метаболизме примерно 25% всех лекарственных препаратов. AmpliChip CYP450 тест предназначен для помощи врачам в индивидуализации лечебной дозы для пациентов при терапии, метаболизирующейся с помощью этих генов.

Набор Affymetrix® DMET™ Plus Premier (DMET - Drug Metabolizing enzymes and Transporters) позволяет выявить полиморфизмы генов с помощью биочипа, который включает маркеры 225 генов документирующих функциональное значение первой и второй фаз метаболизма и транспорта лекарств, в частности варфарина и хлорпидрогеля.

Чувствительность к варфарину в зависимости от генотипа



По материалам Lee CR, Goldstein JA, Pieper JA. Cytochrome P450 2C9 polymorphisms: a comprehensive review of the in-vitro and human data. Review. Pharmacogenetics 2002;12(3):251–263.



Фармакогеномика как лидер персонального генетического тестирования

Где применяют тестирование

- Генетическое тестирование в настоящее время применяются для назначения лекарств при:
 - онкологических заболеваниях
 - психических расстройствах
 - инфекционных заболеваниях (ВИЧ)
 - заболеваниях сердечно-сосудистой системы

Одобрённые FDA фармакогенетические тесты

- Выявление полиморфизмов генов CYP2D6 и CYP2C19 для выбора антидепрессантов и нейролептиков, а также их доз.
- Выявление полиморфизмов гена CYP2D6 для выбора дозы атомоксетина у детей с синдромом дефицита внимания.
- Выявление полиморфизмов TPMT для выбора дозы 6-меркаптопурина у детей с лейкозами.
- Определение экспрессии гена HER2 для выбора трастузумаба (херцептина) у женщин с раком молочной железы.
- Выявление полиморфизмов гена CYP2C9 для выбора дозы варфарина

ПРОТЕОМ

Протеом организма — величина не постоянная, поскольку экспрессия генов может меняться под воздействием множества факторов внешней среды, а также изменений внутри организма, связанных, например, с возрастом, болезнью или другими причинами.

Международная организация по изучению протеома человека (HUPO) объявила о создании международного проекта, в котором участвует и Россия в качестве корпоративного исследователя 18-й хромосомы.

На проект "Протеом печени", который разворачивается в Китае, например, предусмотрено направить 32 миллиона долларов на два года.

С точки зрения диагностики протеом плазмы крови представляет особый интерес, так как включает десятую часть всех белков организма человека.

Протеом плазмы крови

В 2002 г. был начат проект «Протеом плазмы крови», в реализации которого приняли участие 35 лабораторий из 13 стран. Идентифицировано более 10000 белков плазмы крови на основе анализа методом МС одного или двух, и свыше 3000 – при выявлении двух или более пептидов каждого белка. Причем примерно половина белков плазмы существует в виде мультипротеиновых комплексов. Основная проблема при анализе заключается в широком диапазоне концентраций белков и пептидов в образцах: концентрация альбумина обычно составляет 30-50 мг/мл сыворотки, а интерлейкина 0-1,5 пг/мл. Таким образом, при исследовании протеомного состава крови существует огромный (до 10 -12 порядков) разброс концентрации различных белков и преобладание среди них диагностически малозначимых.

БИОИНФОРМАТИКА

Современная биоинформатика (БИ) возникла в конце 70-х годов XX века с появлением эффективных методов расшифровки НП ДНК. В 1980 г. был выпущен спецвыпуск журнала Nucleic Acids Research, посвященный БИ, затем были придуманы некоторые алгоритмы выравнивания последовательностей.

Важной вехой в становлении и развитии БИ стал Проект геном человека, с этого времени БИ перестала быть только вспомогательным инструментом. В 1987 г. оформился GeneBank (коллекция НП). При переходе к анализу полных геномов компьютерные методы информационного анализа стали играть настолько важную роль, что эти исследования вылились в самостоятельное научное направление.



Международные базы данных и банки материалов.

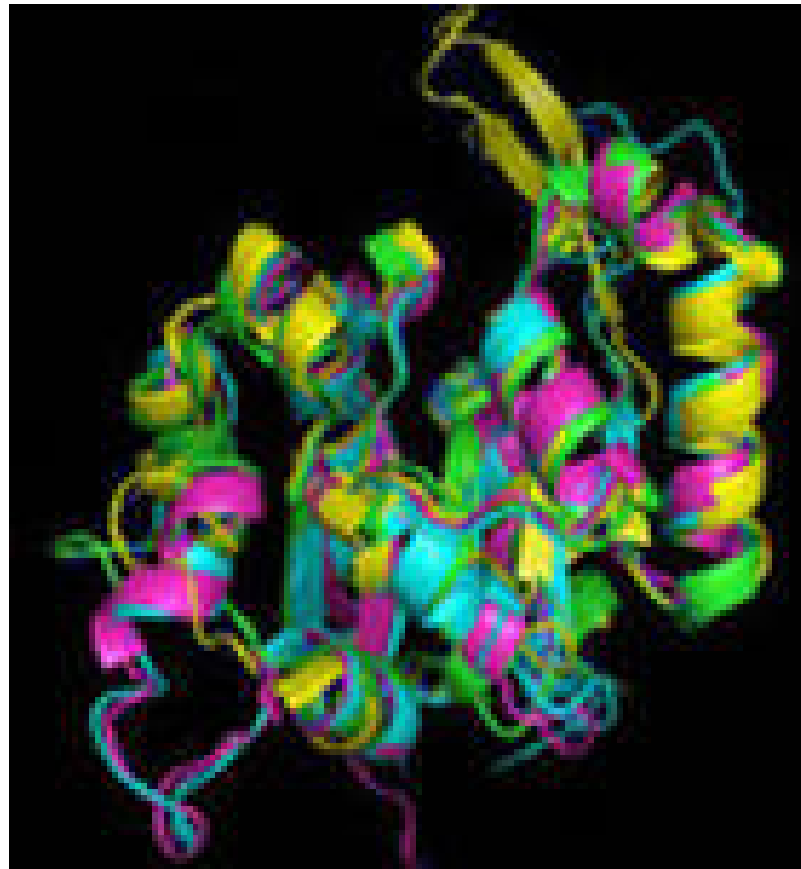
Базу (банк) (БД) данных можно определить как совокупность данных, организованных так, чтобы обеспечить легкое и быстрое нахождение, исследование и анализ требуемой информации. Каждая БД содержит **архив данных** (логически организованную структуру данных) и инструментальные средства, необходимые для получения доступа к этим данным. **Специальная система менеджмента** (database management system, DBMS), создает и взаимодействует с БД, а также может управлять любой формой данных (тексты, изображения, последовательности аминокислот и НП). Данные в БД хранятся специально организованным способом в компьютере таким образом, что программа может использовать информацию для удовлетворения запросов пользователя.

Банки образцов ДНК. Биобанкинг

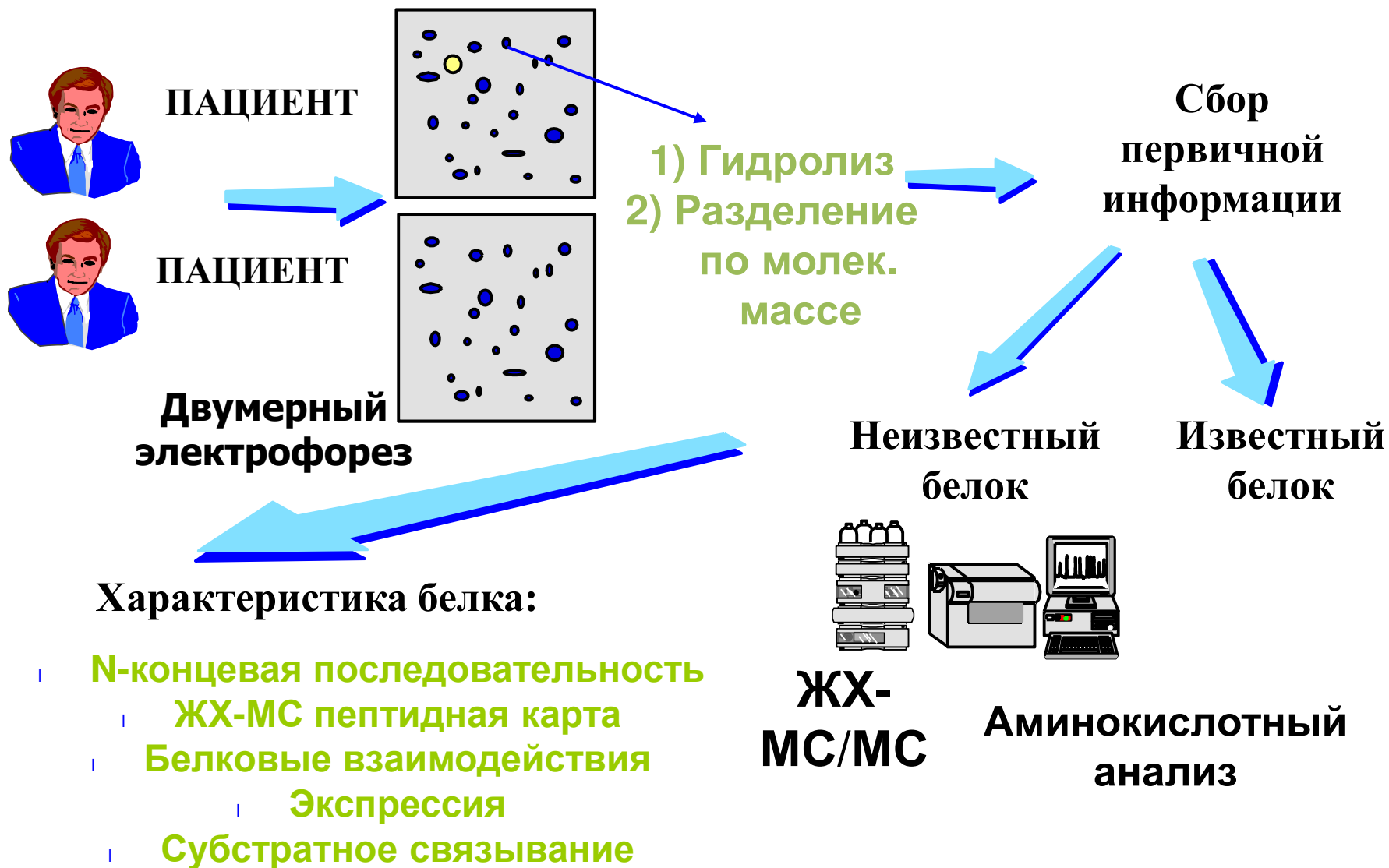
Биобанкинг сопряжен с определенными сложностями, такими как необходимость непрерывного мониторинга клинических образцов и связанной с ними информации, что требует высокой степени интеграции систем, а лавинообразный рост объемов образцов ведет к проблемам с емкостью и продолжительностью хранения.

Возникла потребность выработки эффективных методик хранения и стандартных рабочих процедур (SOP), которые необходимы для грамотного планирования стратегии управления биологическими образцами. Традиционные методы включают хранение образцов в лабораторных морозильных камерах при температуре -20 °C, -80 °C и в жидком азоте. Эти процессы в значительной степени автоматизированы с помощью технологий радиочастотной идентификации (RFID) и микроэлектромеханических систем (MEMS).

Лабораторные методы персонализированной медицины с использованием протеомных подходов.



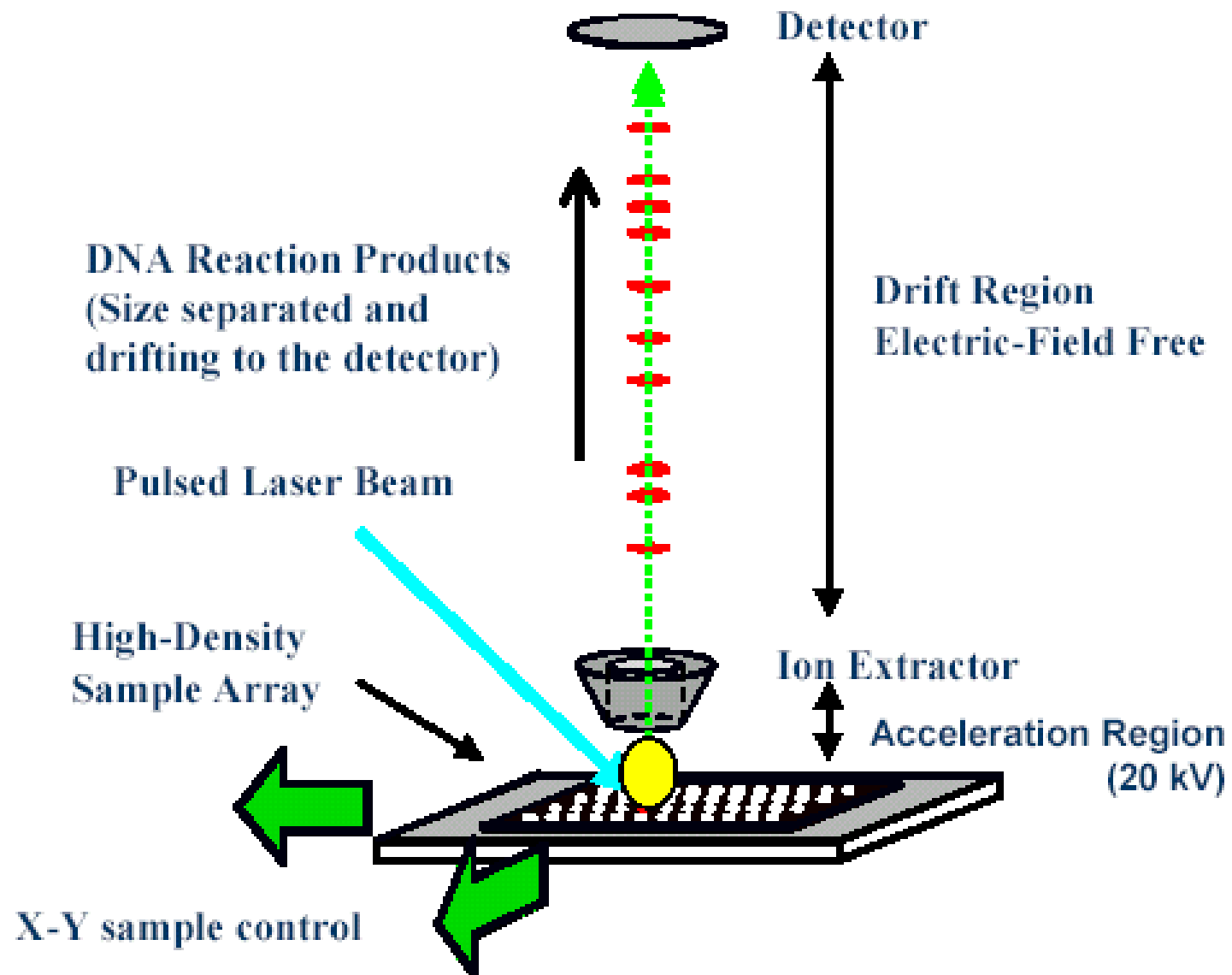
Методика исследований в протеомике



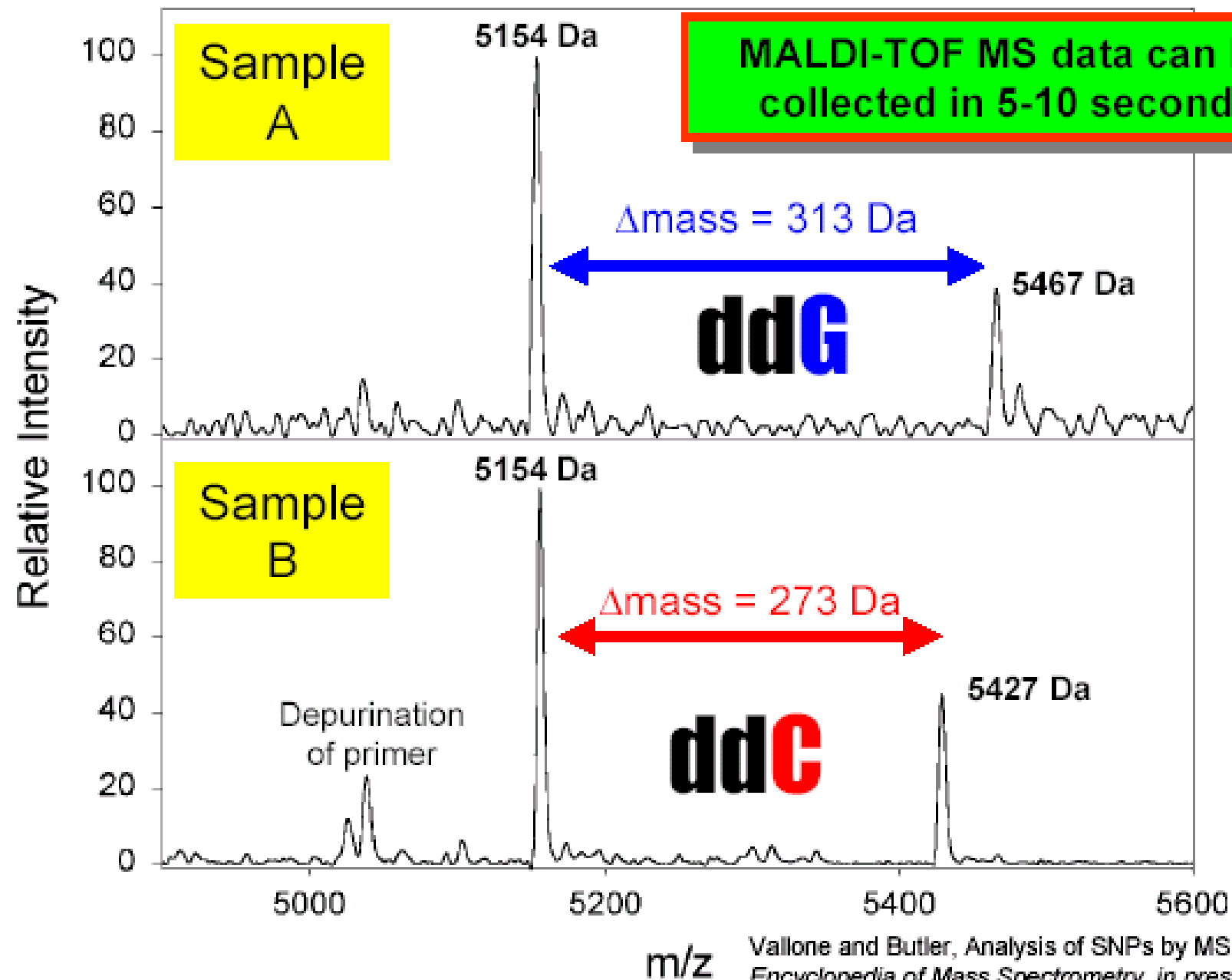
Технология минисеквенирования с последующим анализом продуктов на MALDI-TOF-масс-спектрометре и дает возможность быстро и эффективно идентифицировать ОНП и обладает высокой производительностью

В качестве матрицы, которая подвергается лазерному облучению (MALDI) находится ДНК в которых любые изменения (мутации, аллельные варианты) приводят к изменению массы.

Time-of-Flight Mass Spectrometry (TOF-MS)

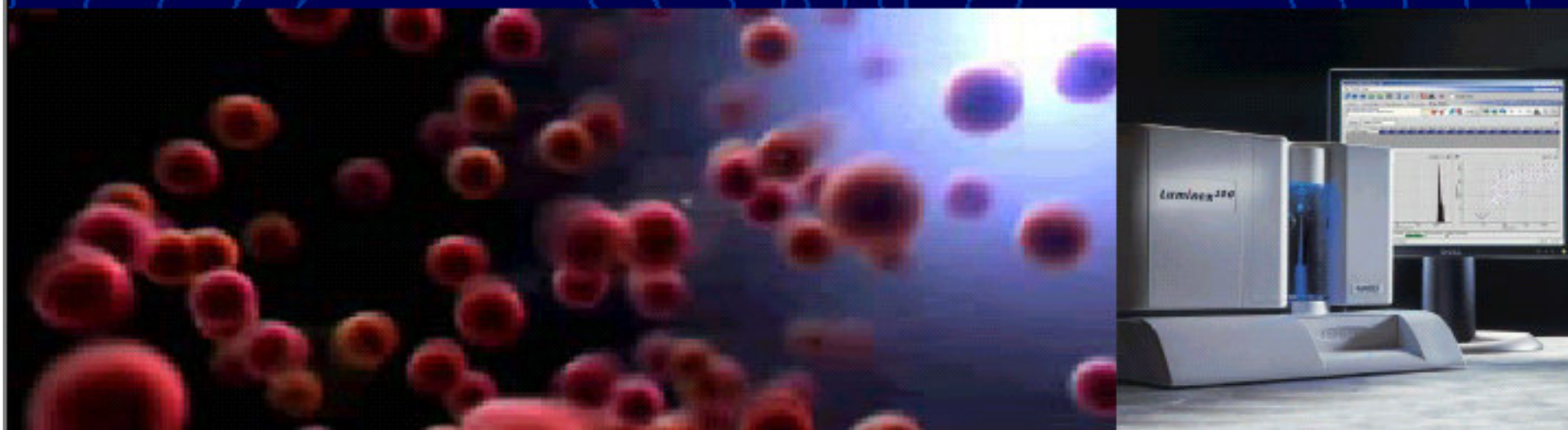


MS Data from Y SNP Marker M96



Что такое технология xMAR?

- Комбинация доказанных технологий



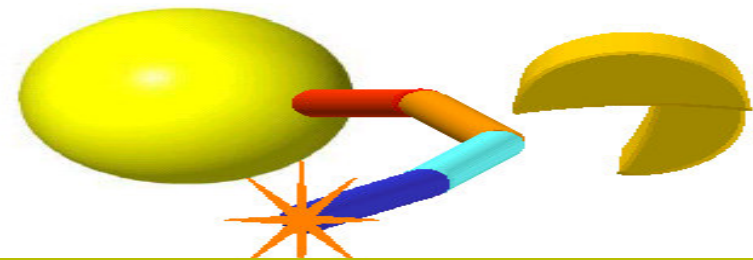
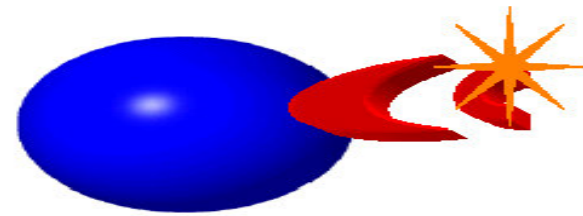
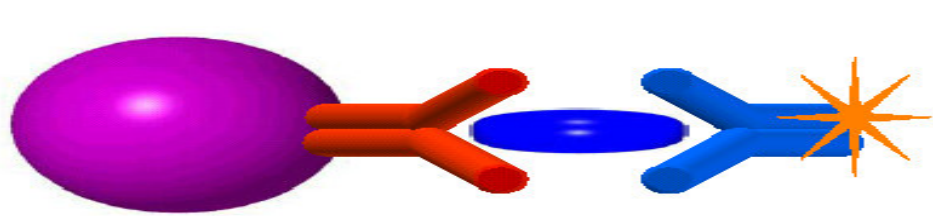
- Микросферы диаметром 5,6 мкм определенного цвета
 - 100 различных цветов, патентованный процесс окрашивания
- Система LumineX 100
 - Совершенная оптика, лазеры, устройство управления потоками, программное обеспечение

Система, основанная на проточной цитометрии (xMAP-технология)

Построена на использовании современных технологий: проточной цитометрии, микросфер из полистирола, маркированных красными и инфракрасными флуорофорами, лазерной детекции, цифровой обработки сигнала и традиционной химии, уникальным образом скомбинированных между собой.

Микросферы покрыты захватывающими реагентами (олигонуклеотидами, антителами) и при смешивании образца с микросферами происходит их гибридизация или взаимодействие с пробами.

Applicable Formats

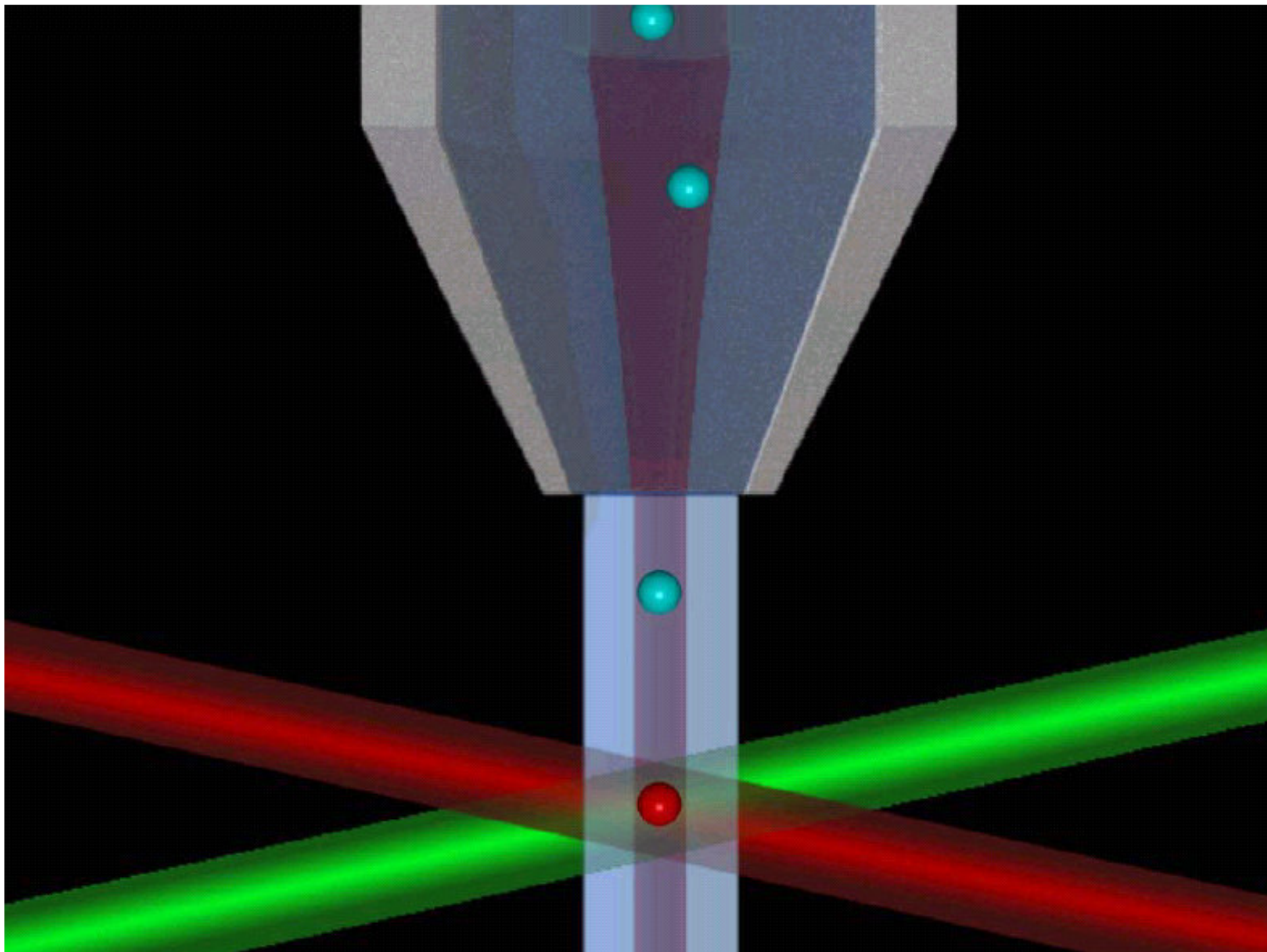


Фермент-субстрат

Рецептор-лиганд

Антиген-антитело

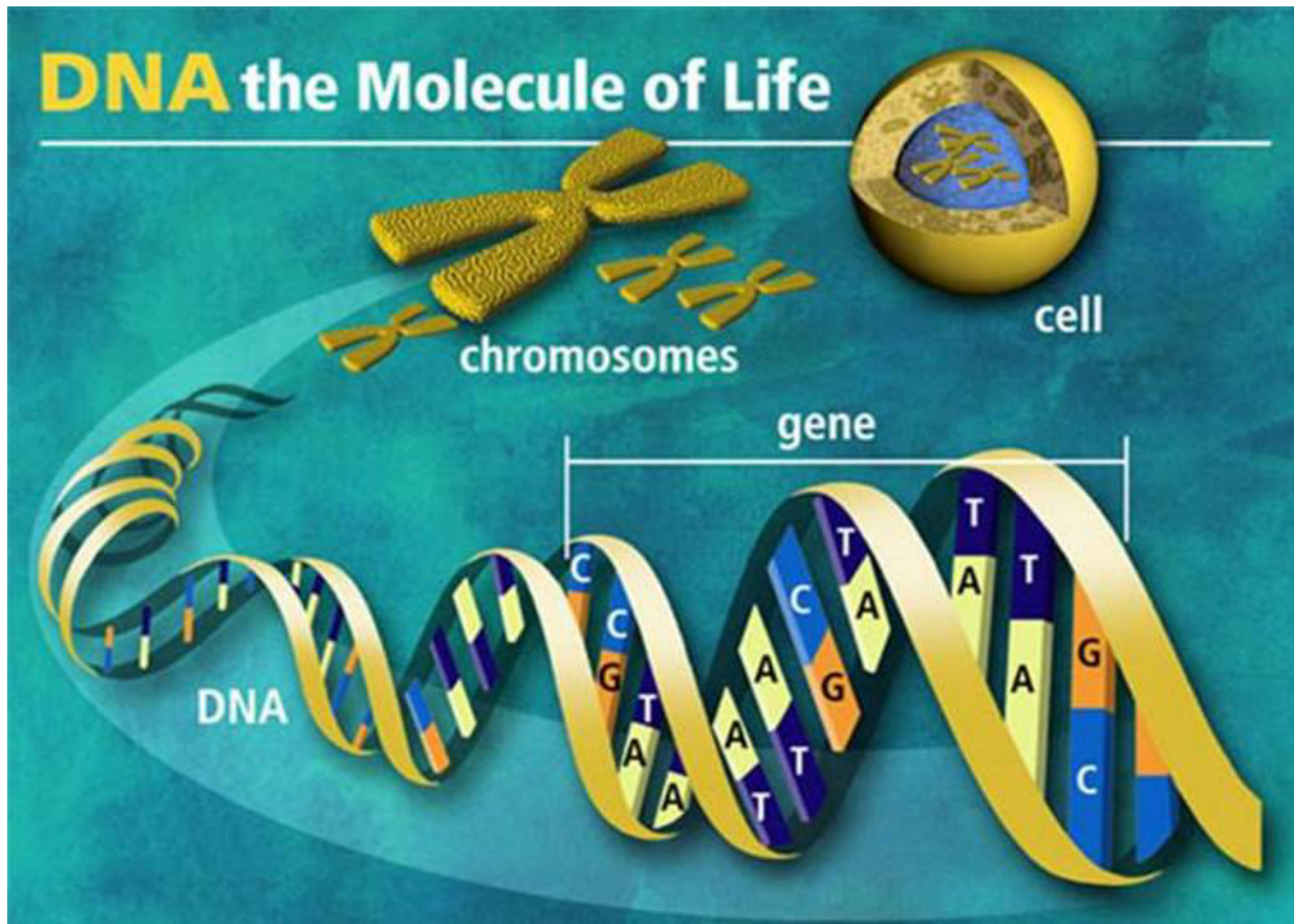
ДНК-ДНК и РНК-ДНК



**Генотипирование с использованием
х-МАР технологии:**

**CFTR, Factor V Leiden, Factor II (Prothrombin),
Mitochondrial DNA Screening, MTHFR, P450-2D6,
P450-2C9, P450-2C19, SSO A Locus, SSO B Locus,
SSO DQB1, SSO DRB1, SSO DRB3,4,5, Y-SNP**

ГЕНЕТИЧЕСКОЕ ТЕСТИРОВАНИЕ



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, таргетной диагностикой 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, связанными с мутациями в нескольких генах, а также при проведении скрининговых исследований для выявления редких и не очевидных фенотипов

Важное замечание...

- Генотипирование – это скрининговая процедура, направленная на анализ наследуемых признаков.
- Процедуру генотипирования достаточно выполнить единственный раз, так как в ходе исследования определяются генетические комбинации единожды унаследованные от генетических родителей.



ПОКАЗАНИЯ К ИССЛЕДОВАНИЮ

ПРИНАДЛЕЖНОСТЬ К ГРУППЕ РИСКА

СЕМЕЙНЫЙ ХАРАКТЕР ЗАБОЛЕВАНИЯ

РАННЕЕ НАЧАЛО ЗАБОЛЕВАНИЯ

ТОЛЕРАНТНОСТЬ К ТЕРАПИИ



Генетическое тестирование на наличие предрасположенности к различным заболеваниям названо величайшим изобретением 2008 года

Time, Sunday, January 11, 2009

ГЕНЕТИЧЕСКОЕ ТЕСТИРОВАНИЕ (ГТ) в США, 2010г.

Всего ГТ наследственной предрасположенности применяется для 213 заболеваний

Особенно часто оно проводится для таких заболеваний: рак толстого кишечника, диабет тип 2, глаукома, инфаркт миокарда, рак легких, рассеянный склероз, целиакия, рак молочной железы, ожирение, рак простаты, фибрилляция предсердий, диабет тип1, болезнь Крона, гемохроматоз, волчанка, дегенерация сетчатки, остеоартриты, псориаз, рестеноз коронарных сосудов, болезнь «беспокойных» ног, тромбофилия

Генетические факторы предрасположенности к раку молочной железы (РМЖ) и яичников (РЯ)

Делеционные мутации в генах BRCA1 и BRCA2.

Охарактеризовано более 15000 мутаций.

Носители таких мутаций имеют на 80% увеличенный риск развития рака молочной железы и/или яичника в возрасте до 60 лет

РМЖ считается наследственным в случае наличия в семье 2 случаев рака с ранней манифестацией –до 45 лет-у близких родственников.

BRCA1 тестирование для предсказания риска развития РМЖ может сэкономить около \$ 25000 на одного пациента, но мутации в популяции настолько редки, что указанный тест, при цене \$ 3000, является экономически эффективным только тогда, когда выявлены пациенты с семейной историей РМЖ.



ГЕНЕТИЧЕСКОЕ СЕКВЕНИРОВАНИЕ

СЕКВЕНИРОВАНИЕ НОВОГО ПОКОЛЕНИЯ NEXT-GENERATION SIQUENCING (NGS)

**В 2005 ГОДУ ВОЗНИКЛИ ПЕРВЫЕ ПЛАТФОРМЫ ДЛЯ ПАРАЛЛЕЛЬНОГО ДНК
СЕКВЕНИРОВАНИЯ, ОТКРЫВ ЭРУ СЕКВЕНИРОВАНИЯ НОВОГО ПОКОЛЕНИЯ;
СЕКВЕНИРОВАНИЕ ПУТЕМ СИНТЕЗА С ОБРАТИМОЙ ТЕРМИНАЦИЕЙ
(ILLUMINA)**

ПИРОСЕКВЕНИРОВАНИЕ (ROCHE)

СЕКВЕНИРОВАНИЕ ПУТЕМ ЛИГИРОВАНИЯ (SOLID)

ПОЛУПРОВОДНИКОВОЕ СЕКВЕНИРОВАНИЕ (ION TORRENT)

**СЕКВЕНИРОВАНИЕ ОДНОЙ МОЛЕКУЛЫ (HELICOS GENETIC ANALYSIS
SYSTEM)**

НАНОСЕКВЕНИРОВАНИЕ (COMPLET GENOMICS)

**В НАСТОЯЩЕЕ ВРЕМЯ НА РЫНКЕ ЛИДИРУЕТ КОМПАНИЯ
ILLUMINA, КОТОРАЯ ЗА ДВА-ТРИ ГОДА СОБИРАЕТСЯ ДОВЕСТИ
СТОИМОСТЬ ПОЛНОГЕНОМНОГО СЕКВЕНИРОВАНИЯ ОДНОГО ГЕНОМА С
30X ПОКРЫТИЕМ (КРАТНОСТЬ ПРОЧТЕНИЯ) ДО СУММЫ МЕНЬШЕ 1000
ДОЛЛАРОВ США.**

**ТАРГЕТНОЕ СЕКВЕНИРОВАНИЕ – ОГРАНИЧЕННОЕ ИНТЕРЕСУЮЩИМИ
ИССЛЕДОВАТЕЛЕЙ УЧАСТКАМИ ГЕНОМА, КОТОРЫЕ МОЖНО ПРОЧИТАТЬ С
БОЛЕЕ ВЫСОКИМ ПОКРЫТИЕМ.**

SOLiD™ System

Иновации SOLiD™

Throughput
(GB)

300

120

100

80

60

40

20

0



SOLiD System

3GB

2007



SOLiD 2 System

6GB

2008



SOLiD 3 System

20GB

2009

+SOLiD 4 &
4hq
System
upgrade

2010



Цена сиквенса генома человека

\$M

100,000.00

10,000.00

1,000.00

100.00

10.00

1.00

0.10

0.01

0.001

1990

2001

2007

2009

2012

~13 years

~\$3,000,000,000

SOLiD
Platform

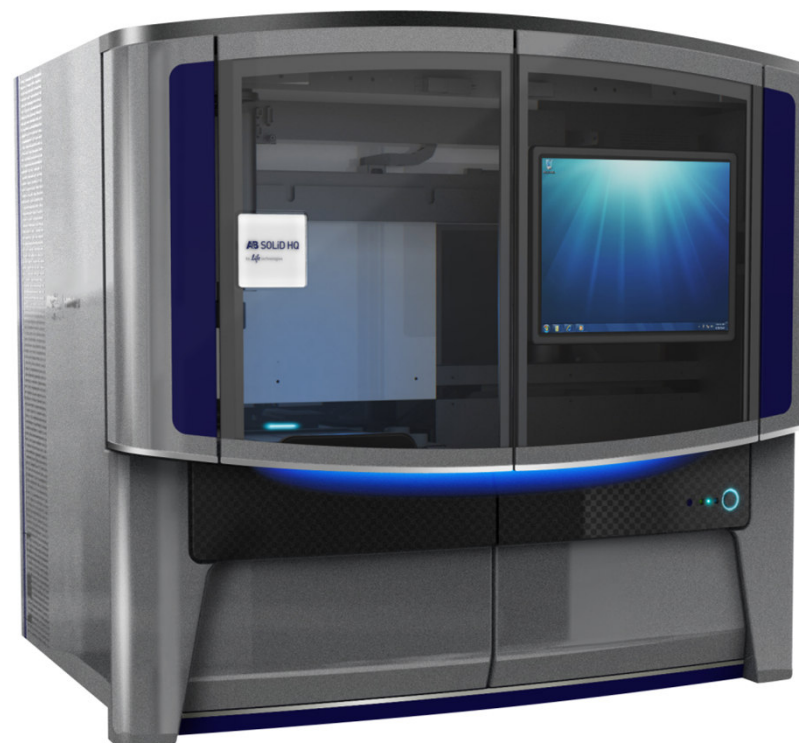
Moore's
Law

<2 weeks
~\$5,000

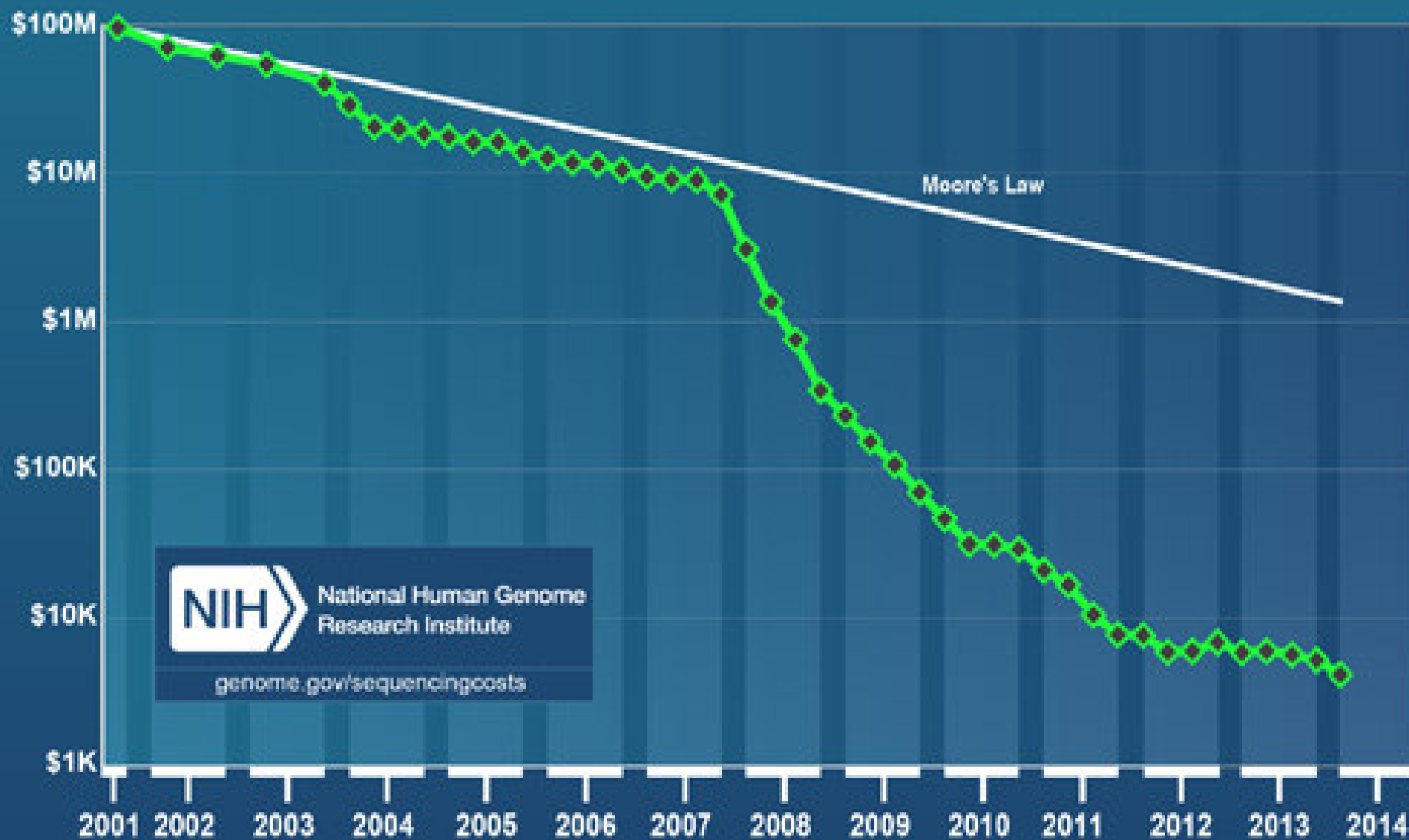
SOLiD™ System

—Высокая точность
(99,99%) системы детекции
минорных вариантов в
гетерогенных образцах

—Высокая
производительность
системы до гигабайт в день



Cost per Genome



СЕКВЕНИРОВАНИЕ 2014 ГОД

К 2011-2014 гг. сложилась более ровная ситуация и целью является достижение цены секвенирования полного генома за 1000 долларов США. Фирма Life Technology представила в 2012 г. секвенатор Ion Proton, который должен был к концу года выйти на уровень 1000 долларов США за геном. Однако в настоящее время стоимость при анализе значительного количества образцов колеблется между 5000 и 4000 долларов США.

Аналогичная попытка предпринята в 2014 г. фирмой Illumina при презентации секвенатора HiSeqX. В настоящее время происходит замена существующих технологий на более производительные: так Roche поглотила ряд перспективных молодых компаний и активно сотрудничает с Pacific Biosciences.

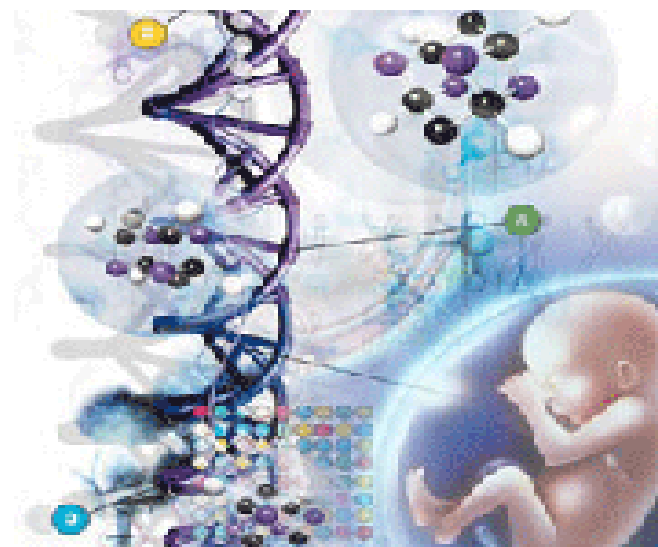
В 2012-2014 гг. в США появились первые рутинные диагностические методы, основанные на технологиях высокопроизводительного секвенирования, а секвенатор MiSeqDx получил одобрение FDA по применению в медицинской практике.

ПЕРСПЕКТИВЫ ГТ

В настоящее время ГТ применяется в диагностике наследственных, онкологических и некоторых МФЗ, однако весьма перспективно применение данных технологий в оценке микробиомного биоценоза человека . С точки зрения организации проведения исследований весьма перспективно **создание крупных сервисных центров по секвенированию и накопления и обработки данных. По данным данным GenBank на протяжении последних 30 лет объемы данных о НП растут экспоненциально, обработка которых значительно отстает из-за недостатка биологических знаний и биоинформационных алгоритмов.**



Генеральный директор компании Illumina, Джей Флэтли, заявил, что полное считывание ДНК для каждого новорожденного будет технически возможным и доступным менее чем за пять лет, что обещает революцию в здравоохранении и к 2019 году оно будет обычным делом.



Использование в ГТ циркулирующей в кровотоке матери внеклеточной ДНК плода (celf-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.

Генетическое тестирование МФЗ

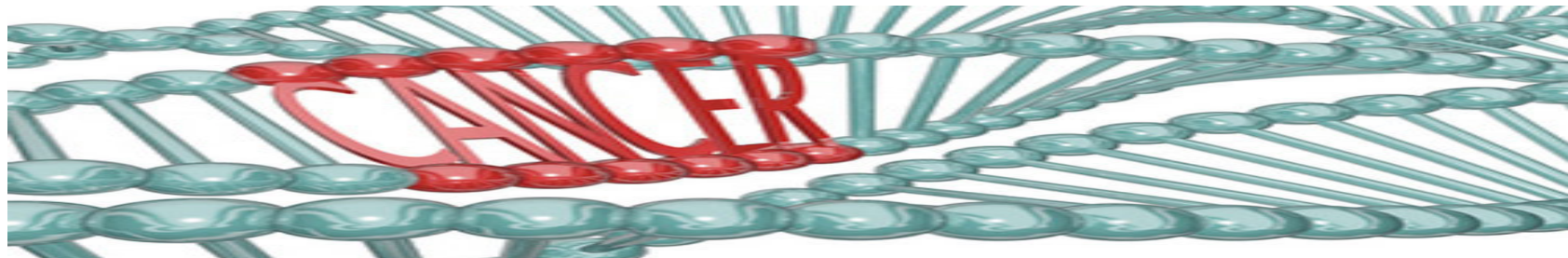
Риск развития МФЗ у данного конкретного человека зависит от ряда факторов: семейной наследственности, стиля жизни, физических нагрузок и разработаны математические модели, которые учитывают вклад указанных рисков. Геном в настоящее время рассматривается в качестве открытой системы и создание полногеномного профиля пациентов даст возможность разделить людей на группы риска и выявить новые диагностические генетические маркеры, а также использовать для предсказания ответа на различные ЛС. Информация, полученная в результате ГТ может быть использована для оценки персонального ответа на ЛС, выбора лекарственного препарата и дозы.

СЛОЖНЫЙ ГЕНОМНЫЙ ЛАНДШАФТ ОПУХОЛИ

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МЕТОДОВ NGS ПОКАЗАЛО ЧТО ОПУХОЛЬ ПРЕДСТАВЛЯЕТ СОБОЙ СОВОКУПНОСТЬ КЛЕТОЧНЫХ ПОПУЛЯЦИЙ С РАЗЛИЧНЫМИ ПРОФИЛЯМИ ГЕНЕТИЧЕСКИХ НАРУШЕНИЙ.

МОДЕЛЬ «ВЕТВЯЩЕЙСЯ ЭВОЛЮЦИИ»: ОПУХОЛЬ ИНИЦИИРОВАНА КЛЕТКАМИ, НЕСУЩИМИ ПЕРВИЧНУЮ МУТАЦИЮ, ЧЕРЕЗ НЕКОТОРОЕ ВРЕМЯ ДАЕТ НАЧАЛО ЦЕЛОМУ РЯДУ КЛОНАЛЬНЫХ КЛЕТОЧНЫХ ПОПУЛЯЦИЙ (ЛОМАЕТСЯ СИСТЕМА ЗАЩИТЫ ДНК)

ТЕХНОЛОГИИ СЕКВЕНИРОВАНИЯ ЕДИНИЧНЫХ КЛЕТОК ПОЗВОЛЯЮТ ВЫЯВЛЯТЬ РАЗНООБРАЗИЕ ИХ ГЕНОМНЫХ НАРУШЕНИЙ И ИЗМЕНЕНИЙ ТРАНСКРИПТОМОВ.

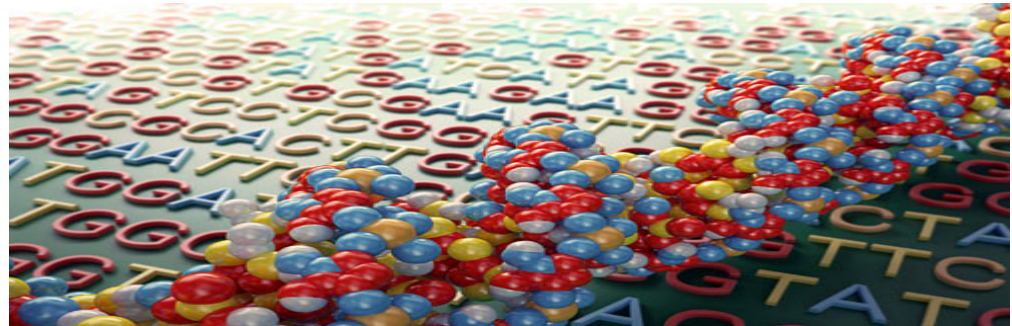


ГТ онкологических заболеваний

С появлением **ГТ онкологические заболевания рассматриваются как генетические**, поэтому в диагностическом и терапевтическом плане весьма актуальным является использование рассматриваемых технологий секвенирования. К настоящему времени известно большое число онкогенов (более 400) и супрессоров опухолей. Сложность анализа генома при раке заключается в том, что 80-90% мутаций не наследственного характера, однако достаточно мутации в одной копии гена для того, чтобы клетка стала раковой. Такие доминантные онкогены обуславливают до 90% всех раковых заболеваний. Остальная часть приходится на мутации в генах-супрессорах, однако в этом случае мутировать должны обе копии гена-супрессора и такие мутации могут передаваться по наследству.

Онкогены и гены супрессоры

Онкогены контролируют в нормальной клетке клеточный цикл и апоптоз и связаны с факторами роста и апоптоза, трансдукторами и транскрипционными факторами и мутации способствуют раковому перерождению. С другой стороны гены супрессоры опухолей ответственны за блокировку неконтролируемого клеточного роста и деления, запускают апоптоз или защищают геном от повреждений. Указанные гены-супрессоры в результате либо мутаций, либо эпигенетических изменений (например, метилирование) могут терять свои функции.



ГТ онкологических заболеваний

По оценкам для злокачественной трансформации клетки в зависимости от типа рака необходимо от 3 до 12 мутаций. Некоторые мутации (TP53, KRAS и ряд других) выявляются в ряде опухолей, а некоторые тканеспецифичны (RB1). Технология высокопроизводительного секвенирования позволяет проанализировать все мутации генома опухолевой клетки в одном секвенировании экзема. Хотя опухоли часто генетически гетерогенны благодаря многократному прочтению генома даже редкие варианты могут быть идентифицированы.

Отметим некоторые особенности и ограничения при анализе раковых геномов: ограниченное количество ДНК в биоптате, некротизация опухолей и примеси нормальных клеток, различные клоны опухоли, а также необходимость одновременного секвенирования генома пациента, опухоли и референсного.

Проекты в онкологии

НОРВЕГИЯ: ЦЕЛЬ ПРОЕКТА
СЕКВЕНИРОВАНИЕ НОРМАЛЬНЫХ И
ОПУХОЛЕВЫХ ТКАНЕЙ КАЖДОГО
ОНКОЛОГИЧЕСКОГО ПАЦИЕНТА В СТРАНЕ.
ПОЛУЧИЛ ПОДДЕРЖКУ ПРАВИТЕЛЬСТВА.
НАЧАЛО: 2000 ПАЦИЕНТОВ ВОСЕМЬ ТИПОВ
РАКОВ.

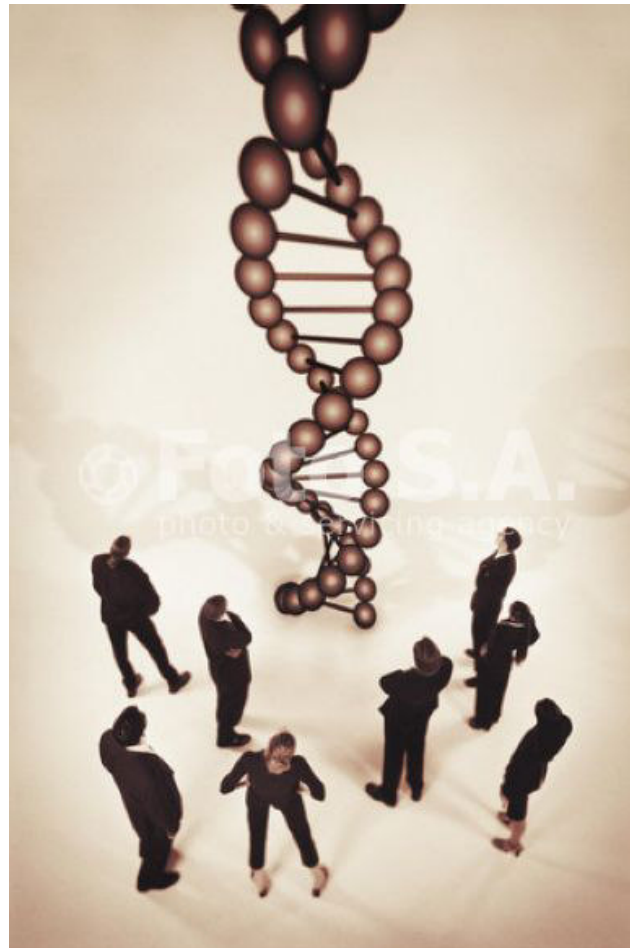
ПРОЕКТ ЕС IT-FUTURE OF MEDICINE
ОБЪЕДИНЕНИЕ ГЕНОМИКИ
ТРАНСКРИПТОМИКИ, ПРОТЕОМИКИ,
МЕТАБОЛОМИКИ ДЛЯ СОЗДАНИЯ ОБЩИХ
ПРЕДСКАЗАТЕЛЬНЫХ МОДЕЛЕЙ,
ПРИГОДНЫХ ДЛЯ ВСЕХ ОНКОЛОГИЧЕСКИХ
ПАЦИЕНТОВ В ЕВРОПЕ

В начале 2007 года журнал “Nature Genetics” обратился к ведущим генетикам с вопросом, что бы Вы сделали, если бы полную последовательность генома человека можно было секвенировать за 1000 долларов. Ответило полсотни выдающихся учёных

- генетический обзор Homo sapiens (секвенирование 100 тыс. геномов представителей основных этнических групп популяции человека);**
- реализация проекта «Персональный экзом» (10 \$ за экзом) для определения генетического статуса, пренатальной диагностики и искоренения наследственных заболеваний;**
- проект «Онкогеном» (секвенирование 10 тыс. онкологических заболеваний различных типов);**
- парное геномное секвенирование (сравнение геномов детей и родителей);**

- проект «Вариом человека» (документирование всех генетических вариаций и их фенотипических проявлений);**
- конструирование онтогенетического дерева человеческого организма (изучение генетической изменчивости различных соматических клеток одного человека);**
- изучение эпигенетических различий здоровых и больных людей по степени метилирования всех динуклеотидов CpG («ДНК-метилом»);**
- изучение полного диапазона генетического разнообразия человека;**
- считывание профилей экспрессии генов (оценка транскрипции всех генов у любых организмов).**

УСЛУГИ ПО ГЕНЕТИЧЕСКОМУ ТЕСТИРОВАНИЮ



ГЕНОМ В ИНТЕРНЕТ

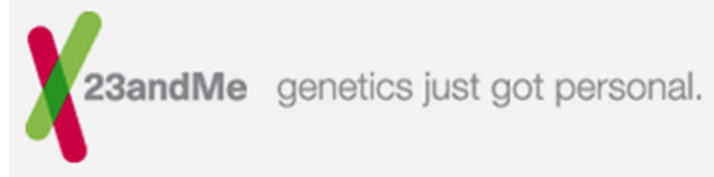
Директор аналитического агентства Digital Bazaar Ману Спорны (Manu Sporny) воспользовался в феврале 2011 г. сервисом GitHub для того, чтобы выложить в открытом доступе для всех пользователей интернет расшифровку своего генома. Для получения этой информации он воспользовался услугами компании, которая за сравнительно небольшую плату анализирует образец слюны, высылаемый на ее адрес в специальном пластиковом контейнере. В результате человек получает информацию примерно о 1 000 000 ОНП.

Генетическое тестирование по заказу по заказу (Direct to consumer testing) проводится для частных МФЗ основными фирмами :

23andme, deCODEme, Navigenics, Pathway Genomics, Gene Essence

Стоимость личного генетического тестирования непосредственно для потребителя отличается в различных компаниях:

23andMe's выполняет анализ за 399\$ и является наиболее дешевой. У Navigenics, которая использует микробиочипы Affymetrix, стоимость анализа 2 500\$, в то время как программа Decode Genetics, которая использует Illumina's Human 1M BeadChips стоит 985\$.

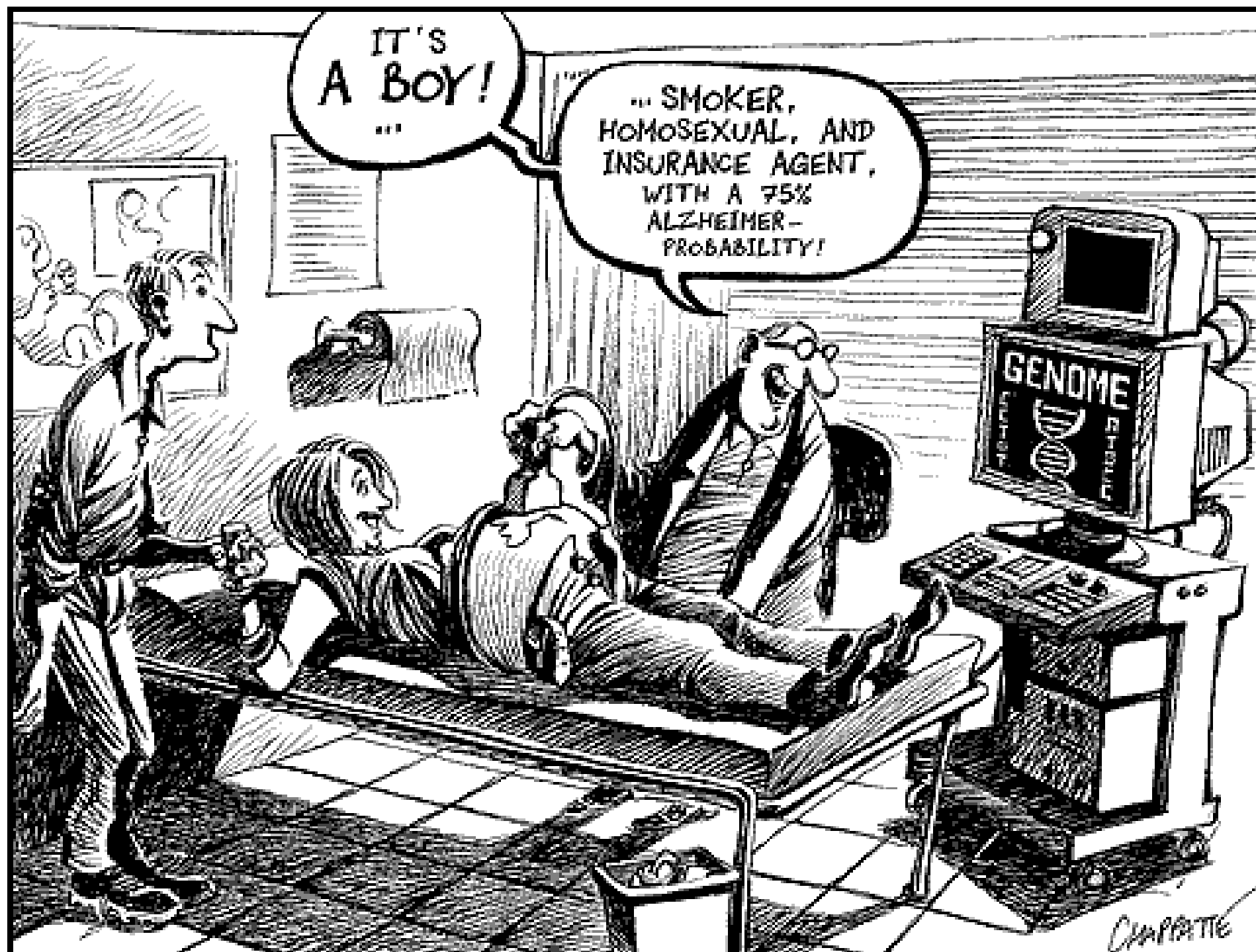


ЛИНДА АВЕЙ Linda Avey основатель 23andMe частной медицинской компании.

Услуги по секвенированию индивидуальных геномов и выявлению генетических вариантов предлагают следующие фирмы:

Компания	Технология и стоимость	Вы получаете информацию о:
23andMe (Маунтинвью, Калифорния)	микронаборы для выявления генетических вариантов	своем происхождении и генетической предрасположенности к различным заболеваниям, в том числе к различным типам рака
DNA Direct (Сан-Франциско, Калифорния)	зависит от субподрядчика	О последовательность всего генома (прилагается анализ, проделанный группой исследователей)
Navigenics (Редвуд-Шорес, Калифорния)	микронаборы для выявления генетических вариантов	рисках развития до 90 заболеваний, своем происхождении, статусе носителя наследственных болезней и чувствительности к определенным препаратам





В конце ноября 2013 года американское управление по контролю за качеством продовольствия и медикаментов Food and Drug Administration (FDA) запретило компании 23andMe продавать генетические тесты Personal Genome Service, которые стоят \$99 и оценивают риск различных заболеваний.

Основанием для запрета послужило отсутствие доказательств надежности тестов. FDA озабочена тем, что результаты тестов могут быть неправильно восприняты клиентами и, например, приведут их к решению сделать операцию по удалению груди. Особое беспокойство у FDA вызывало то, как клиенты воспринимают информацию о наличии у них мутаций гена BRCA, повышающих риск рака молочной железы. Специалисты 23andMe опросили 136 человек, у которых нашлись плохие мутации. Из 32 ответивших 14 мужчин и 11 женщин впервые узнали в ходе тестирования о наличии у них мутации высокого риска. Все женщины пошли со своими результатами на консультацию к врачу-специалисту, и затем все прошли повторное тестирование для контроля. Их поведение, отмечают авторы, не отличалось от поведения тех женщин, кто узнал о своем риске сразу от специалиста.



ЭТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ПЕРСОНАЛИЗИРОВАННОЙ МЕДИЦИНЫ





Большинство этических аспектов ПМ связано с фармакогенетикой, генетическим скринингом и тестированием, основные риски которых связаны с социальным и психологическим ущербом. Особую актуальность представляют вопросы связанные с допуском и использованием генетической информации, образцов ДНК.

Особенностью этических проблем, которые возникают при тестировании на носительство генов предрасположенности к распространенным заболеваниям является то, что эта информация носит вероятностный характер и при мультифакторных заболеваниях связана с генетическими сетями с разным вкладом.

Этические вопросы фармакогенетики.

Этические вопросы фармакогенетики включают проблему равенства в медицинском обслуживании, когда генетика может предсказать, какие пациенты, менее вероятно, получают результат от медикаментозного лечения.

Важным является вопрос о том, что фармакогенетика может вызвать неравенство в здравоохранении, а пациенты могут быть разделены согласно расовым или этническим группам.

Развитие фармакогеномики оценивается FDA очень положительно: в руководствах по применению больше чем 20 лекарственных препаратов включены фармакогенетические данные всего за год. Были одобрены два лекарства от рака, которые включают указанный тип данных для руководства врачам, прописывающим лекарства. FDA также исследует подобные принципы для фармакопротеомных данных.

Этические вопросы персонализированной медицины при общении с пациентом.

Более оправданно тестирование различных заболеваний, генетическая природа которых достаточно хорошо изучена, например рака молочной железы, семейного полипозного рака толстой кишки, болезни Альцгеймера, злокачественных опухолей щитовидной железы.

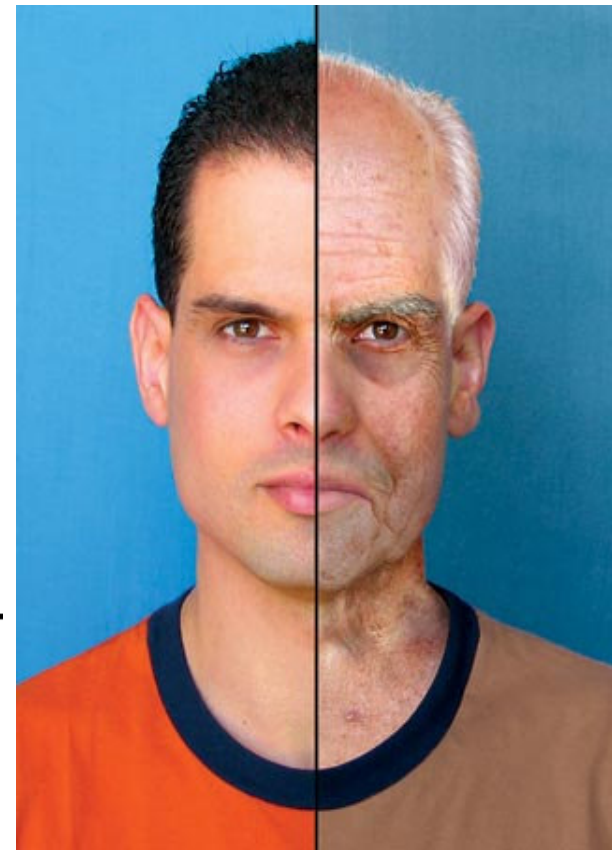
Риск болезни Альцгеймера у гомозигот по ApoE4 аллели увеличен в 33 раза среди японцев, в 15 раз среди европейцев и 6 раз среди темнокожих американцев. В этих случаях тестирование следует максимально поддерживать и рекомендовать, поскольку может быть назначено соответствующее упреждающее лечение и рекомендованы необходимые профилактические мероприятия.

ПАЦИЕНТ-ВРАЧ

Учитывая сугубо вероятностный характер генетического прогноза, в предиктивной медицине в беседе с пациентом следует избегать таких понятий, как «хорошие» или «плохие» гены, а акцентировать внимание на своевременность его обращения на предиктивное тестирование, возможность коррекции работы генома с помощью диеты, пищевых добавок, изменения образа жизни, отказа от вредных привычек, а при необходимости и приема лекарственных препаратов.



ТЕНДЕНЦИИ РАЗВИТИЯ И БУДУЩЕЕ ПЕРСОНАЛИЗИРОВАННОЙ МЕДИЦИНЫ



НАПРАВЛЕНИЯ РАЗВИТИЯ

**СТАНДАРТЫ ЛЕЧЕНИЯ И
ДИАГНОСТИКИ,
КОТОРЫЕ ВКЛЮЧАЮТ
ИНДИВИДУАЛЬНЫЙ
ПОДХОД.**

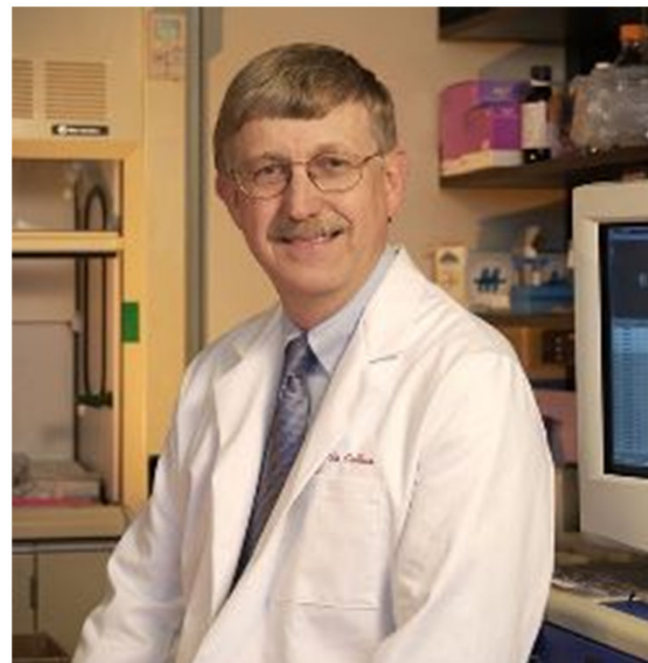
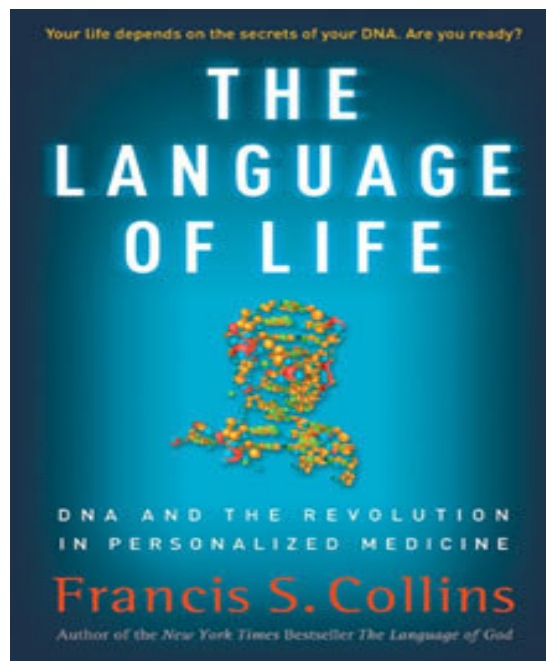
**КОМПЬЮТЕРНЫЕ ПРОГРАММЫ
НЕОБХОДИМОСТЬ ПОДГОТОВКИ
СПЕЦИАЛИСТОВ ПО АНАЛИЗА
ИНФОРМАЦИИ.**

**ПЕРСОНАЛИЗИРОВАННОЙ
МЕДИЦИНЕ И ОБРАЗОВАНИЕ
В ЭТОЙ ОБЛАСТИ ВРАЧЕЙ
РАЗНЫХ СПЕЦИАЛЬНОСТЕЙ.**



Фрэнсис Коллинз, Директор Национального Института Здоровья, 2009г.:

«В оптимальном варианте персонализированная медицина использует информацию об уникальном геноме человека для выработке стратегии по диагностике, лечению и предупреждению болезней»



2000 год ПРЕДСКАЗАНИЯ Ф. КОЛЛИНЗА:

2010 год – генетическое тестирование, профилактические меры, снижающие риск заболеваний, и генная терапия до 25 наследственных заболеваний. Широко доступна преимплантационная диагностика, активно обсуждаются ограничения в применении данного метода. В США приняты законы для предотвращения генетической дискриминации и соблюдения конфиденциальности. Практические приложения геномики доступны не всем, особенно это чувствуется в развивающихся странах;

2020 год – на рынке появляются лекарства от диабета, гипертонии и других заболеваний, разработанные на основе геномной информации. Разрабатывается терапия рака, прицельно направленная на свойства раковых клеток определенных опухолей. Фармакогеномика становится общепринятым подходом для создания многих лекарств. Изменение способа диагностики психических заболеваний, появление новых способов их лечения, изменение отношения общества к таким заболеваниям.

2000 год ПРЕДСКАЗАНИЯ Ф. КОЛЛИНЗА:

2030 год – определение последовательности нуклеотидов всего генома отдельного индивида станет обычной процедурой, стоимость которой менее \$1000. Каталогизированы гены, участвующие в процессе старения. Проводятся клинические испытания по увеличению максимальной продолжительности жизни человека. Лабораторные эксперименты на человеческих клетках заменены экспериментами на компьютерных моделях. Активизируются массовые движения противников передовых технологий в США и других странах;

2000 год ПРЕДСКАЗАНИЯ Ф. КОЛЛИНЗА:

2040 год – Все общепринятые меры здравоохранения основаны на геномике. Определяется предрасположенность к большинству заболеваний (ещё до рождения). Доступна эффективная профилактическая медицина с учетом особенностей индивида. Болезни определяются на ранних стадиях путем молекулярного мониторинга. Для многих заболеваний доступна генная терапия. Замена лекарств продуктами генов, вырабатываемыми организмом при ответе на терапию. Средняя продолжительность жизни достигнет 90 лет благодаря улучшению социально-экономических условий. Проходят серьезные дебаты о возможности человека контролировать собственную эволюцию.

Руководитель международной программы «Геном человека» Ф. Коллинз назвал текст, записанный в геноме человека, «языком Бога».



БЛАГОДАРЮ ЗА ВНИМАНИЕ

