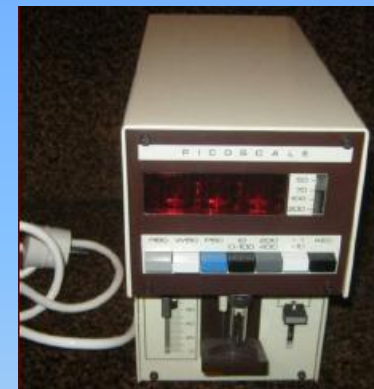
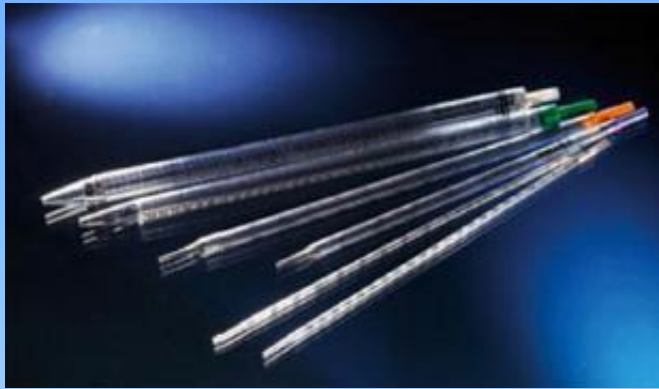


Генетика и генетические исследования на Урале

**Дерябина С.С.
Екатеринбург 2019**

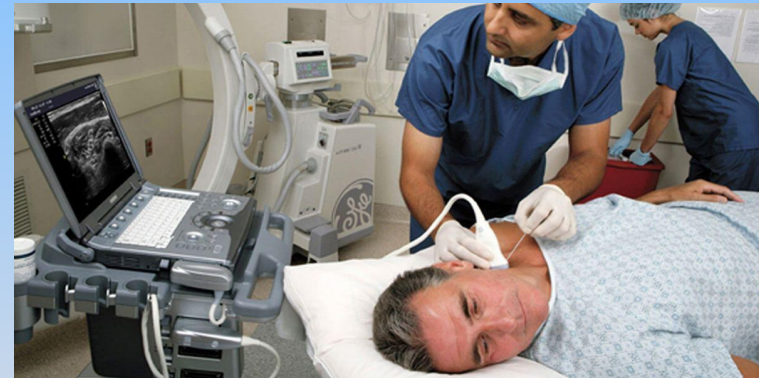
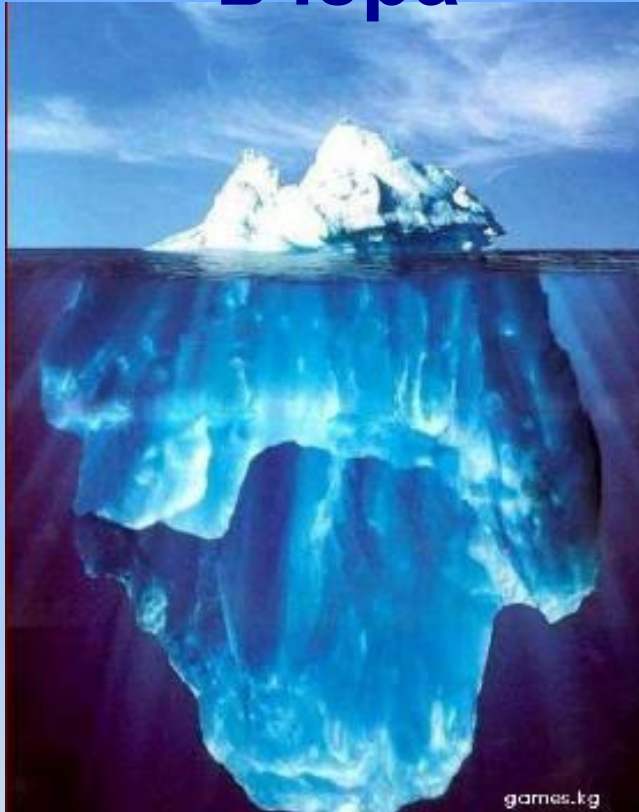
Лабораторная диагностика вчера



До середины XX века лабораторная диагностика оставалась вспомогательной параклинической дисциплиной

- Ограниченная номенклатура диагностических показателей
- Несовершенство методов лабораторных исследований
- Слабые аналитические характеристики результатов измерений

Лабораторная диагностика вчера

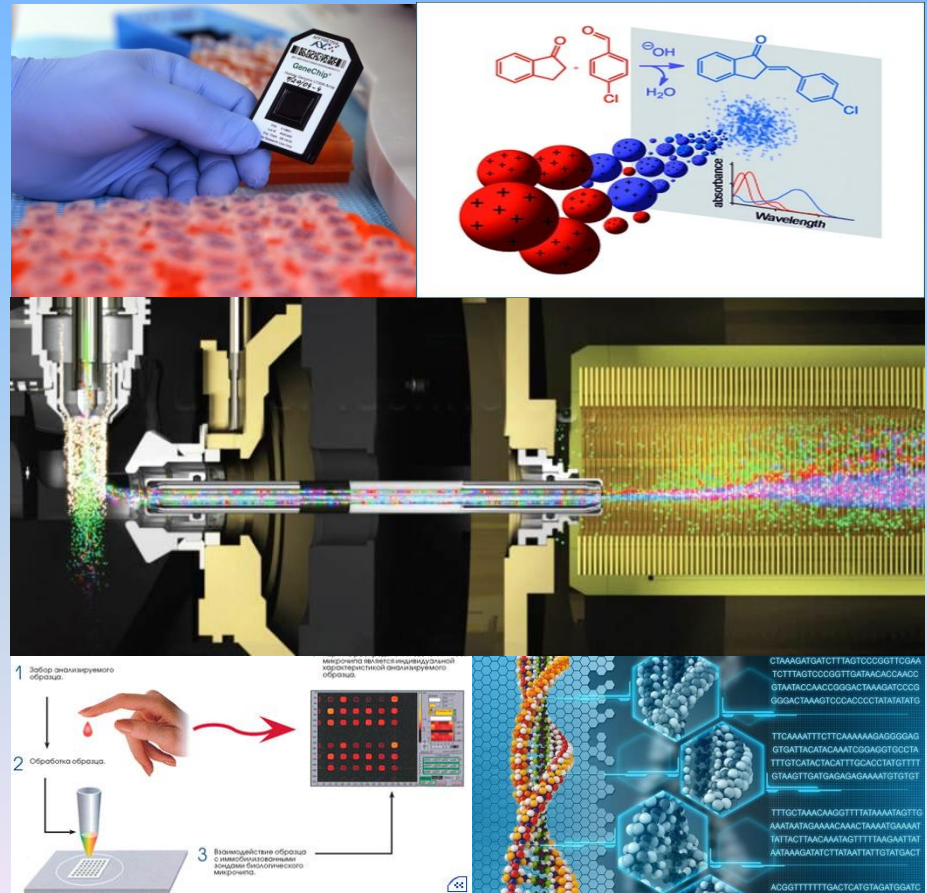


- Диагностика строилась на клинических симптомах и результатах инструментальных методов – рентген, ЭКГ, ЭЭГ, УЗИ и др., что позволяло видеть лишь «надводную часть айсберга» заболевания
- В клинической медицине господствовала нозология – наука о болезни

Лабораторная диагностика сегодня

Новые аналитические технологии кардинально расширили возможности современной клинической лабораторной диагностики

- Аналитические приборы – более тысячи наименований
- Специализированные наборы реагентов – десятки тысяч наименований
- Расходные материалы – тысячи наименований
- Вспомогательное оборудование около тысячи наименований



Лабораторная диагностика сегодня

*геномика *протеомика *транскриптомика
*метабономика



Современные методы КЛД
сделали возможным изучение
«подводной части айсберга»



Современная клиническая медицина постепенно
переходит от диагностики болезни к комплексному
анализу состояния организма пациента

Завтрашняя медицина 4П

- **Предсказательность**
- **Превентивность**
- **Персонализированное лечение**
- **Партисипативность (вовлеченность пациента)**

Персонализированная медицина

ПЕРСОНАЛИЗИРОВАННАЯ МЕДИЦИНА – это использование индивидуальных биомаркеров, прежде всего, генетических характеристик для оптимизации диагностики и лечения больного

Управление по санитарному надзору за
качеством пищевых продуктов и медикаментов, США

Food and Drug Administration, FDA

ПЕРСОНАЛИЗИРОВАННАЯ МЕДИЦИНА – это искусство подобрать «правильное лечение правильному пациенту» (“Right drug to a right patient”)

Mayo Clinics

Особенности современного этапа развития медицины



- Рост технической оснащённости лабораторий медицинских учреждений
- Снижение стоимости молекулярно-генетических исследований для подтверждающей диагностики
- Лаборатория становится полноправным элементом общей медицинской системы
- Активное внедрение достижений генетики в практическое здравоохранение. Плюсы и минусы

Актуальность проблемы

- **Общее количество форм наследственной патологии около 7 000**
- **Доля наследственных заболеваний в общей структуре патологии новорожденных – не менее 6%**
- **В РФ ежегодно рождается около 80 тыс. детей с наследственной патологией**
- **Высокий удельный вес НЗ в структуре детской инвалидности и смертности**
- **Болезни нервной системы, психические расстройства, врожденные аномалии развития – генетический вклад – до 70%!!!**

Проблема редких заболеваний

- **350** млн человек (**80%** - **350** заболеваний)
- Если бы все жили в **1** стране – это была бы **3-я** по численности населения страна в мире
- **80%** редких заболеваний – генетические
- **50%** - дети
- **30%** детей не доживут до **5-го** дня рождения
- **35%** смертей – в первый год жизни
- **95%** не имеют ни **1** одобренного **FDA** препарата для лечения
- **50%** не имеют фонда поддержки или исследования редкого заболевания

источник: www.globalgenes.org



УКАЗ

ПРЕЗИДЕНТА РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

О развитии генетических технологий в Российской Федерации

В целях комплексного решения задач ускоренного развития генетических технологий, в том числе технологий генетического редактирования, обеспечения разработки биологических препаратов, диагностических систем и иммунобиологических средств для сферы здравоохранения, биотехнологий для сельского хозяйства и промышленности, а также совершенствования мер по предупреждению чрезвычайных ситуаций биологического характера и осуществлению контроля в этой области **п о с т а н о в л я ю:**

1. Правительству Российской Федерации:

а) в 3-месячный срок разработать и утвердить Федеральную научно-техническую программу развития генетических технологий на 2019 - 2027 годы (далее - Программа);

б) обеспечить при разработке и реализации Программы:

взаимодействие и координацию деятельности Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, Министерства промышленности и торговли Российской Федерации, Министерства здравоохранения Российской Федерации, Министерства сельского хозяйства Российской Федерации, Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Федерального медико-биологического агентства, Федеральной службы по ветеринарному и фитосанитарному надзору, органов исполнительной власти субъектов Российской Федерации, федерального государственного бюджетного учреждения "Российская академия наук", федерального государственного бюджетного



2 100039 05129 0

Клинико-диагностический центр "Охрана здоровья матери и ребенка"



- открыт в 1989 г. в структуре ОДКБ №1
- 1998 год МГЦ реорганизован в СОЦПСИР
- 2010 год переименован в
«КДЦ «Охрана здоровья матери и ребенка»

***Основная задача Центра**

оказание доступной, бесплатной, консультативно-диагностической медицинской помощи в сфере охраны здоровья матери и ребенка гражданам Российской Федерации, проживающим в Свердловской области

***Основные направления деятельности**

- Пренатальный скрининг***
- Неонатальный скрининг***
- Вспомогательные репродуктивные технологии***

ЧАСТОТА НАСЛЕДСТВЕННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ПО РЕЗУЛЬТАТАМ НС В СВЕРДЛОВСКОЙ ОБЛАСТИ (2006-2016 гг)

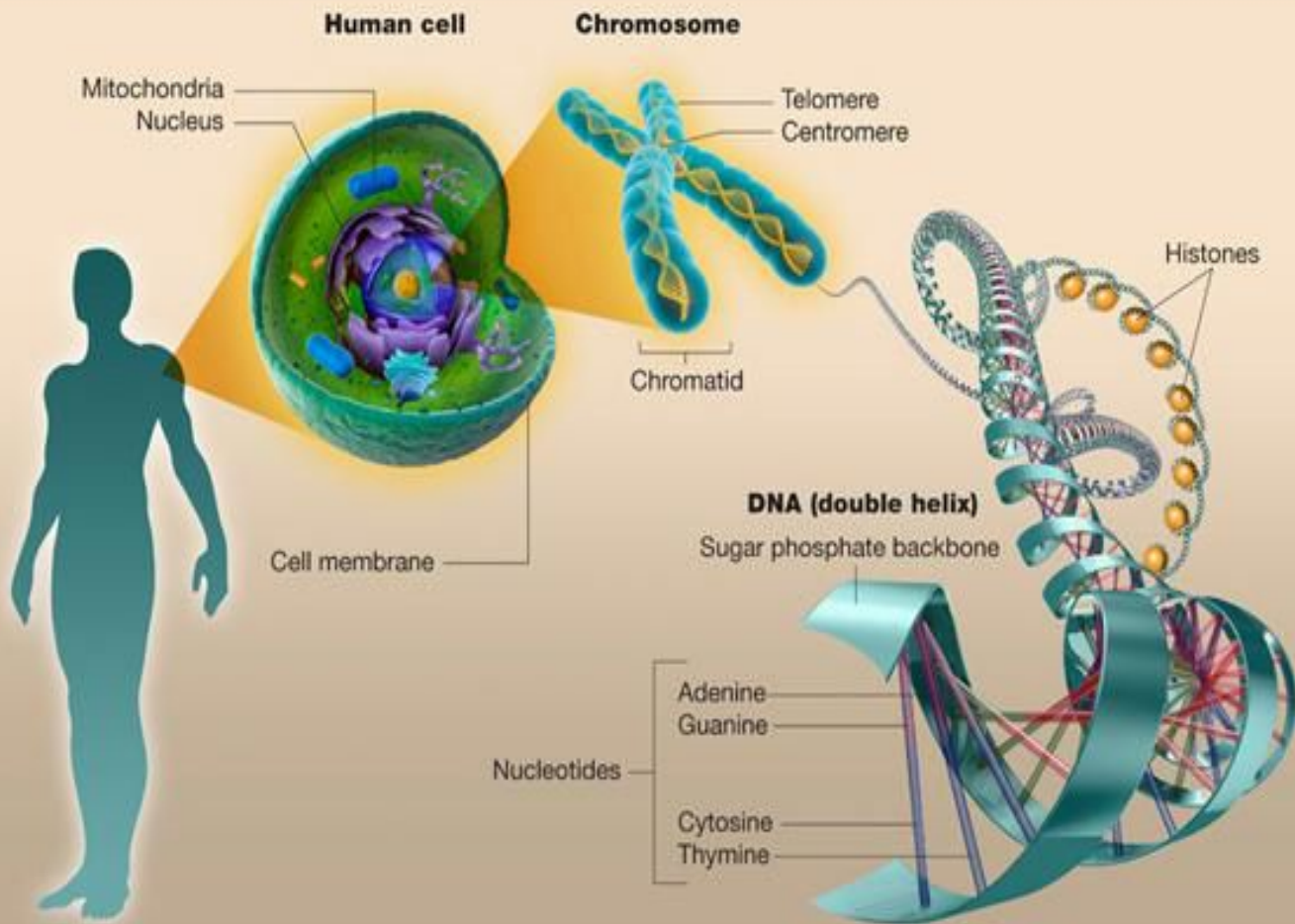
- ФКУ - **1:6 354** (общероссийская - **1:7 000**)
- ВГ - **1:2 667** (**1:3 689**)
- АГС – **1:9 563** (**1: 10 000**),
- МВ – **1:9 362** (**1:7 000**)
- Классическая галактоземия I типа (без учета варианта Дуарте) **1:95 108** детей (общероссийские данные с учетом варианта Дуарте - **1:20 000**)

Генетический анализ -

(генетическое тестирование) – расшифровка геномной информации и её обязательная интерпретация врачом-генетиком

Зачем?

- «по медицинским показаниям»
- «ради интереса»
- ?



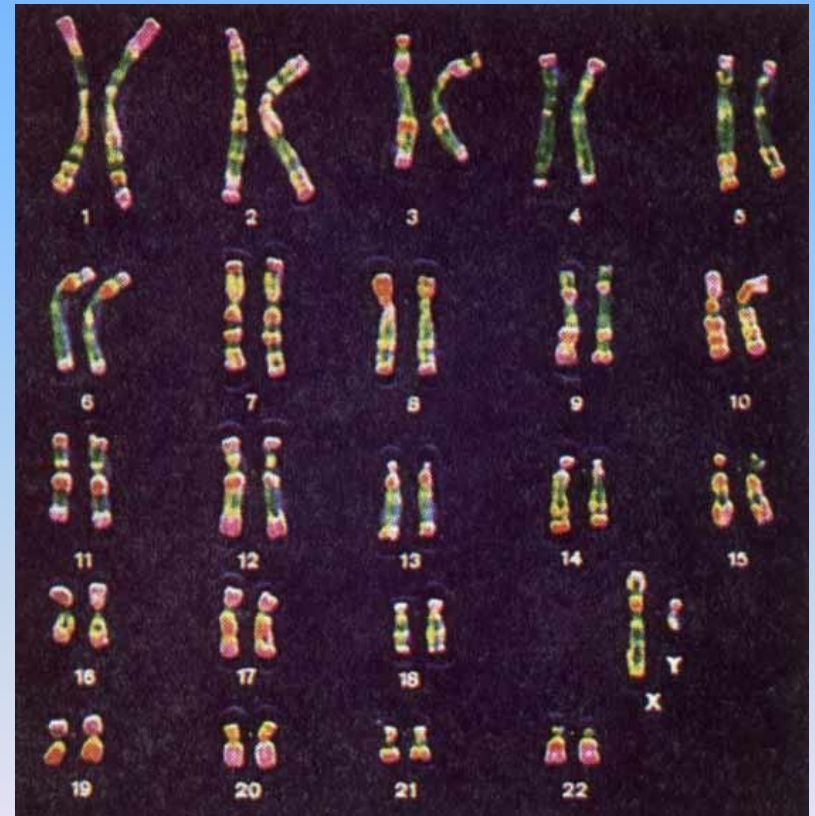
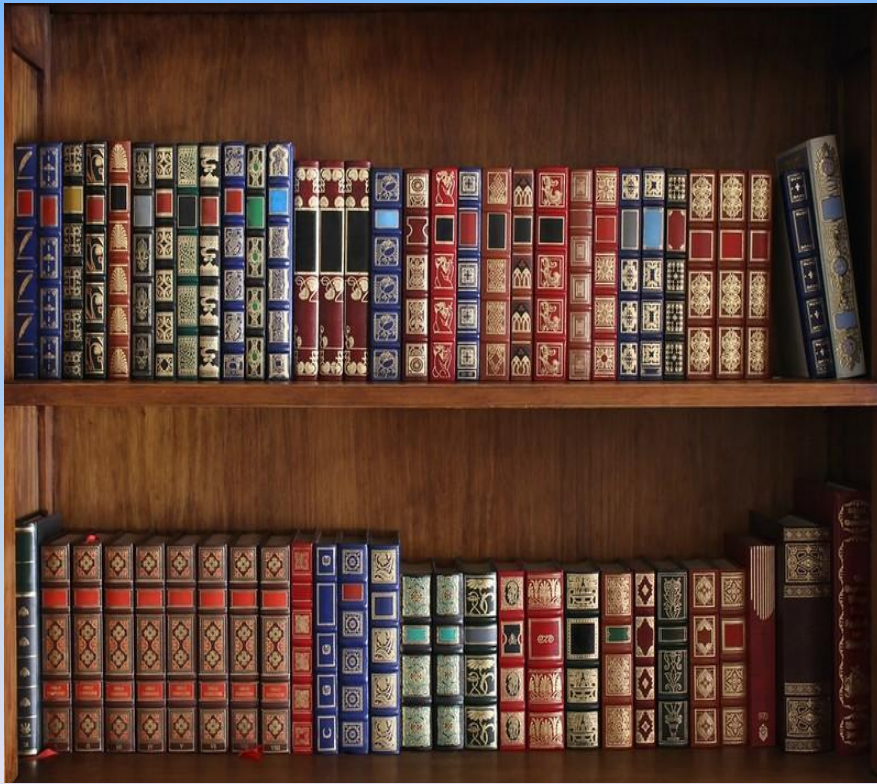
ГЕНОМ

- Комбинация слов «ген» и «хромосома»
- Это полный набор инструкций для каждой клетки каждого живого организма

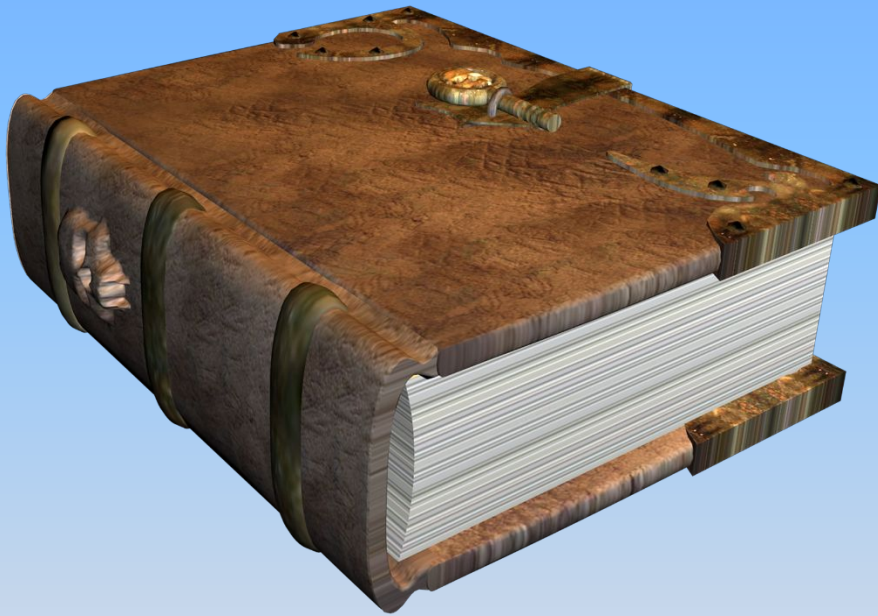
46 Хромосом

- ~ 22 000 генов
- 3 000 000 000 пар оснований (п.о.)
- Миллионы SNP
- Тысячи патогенных мутаций

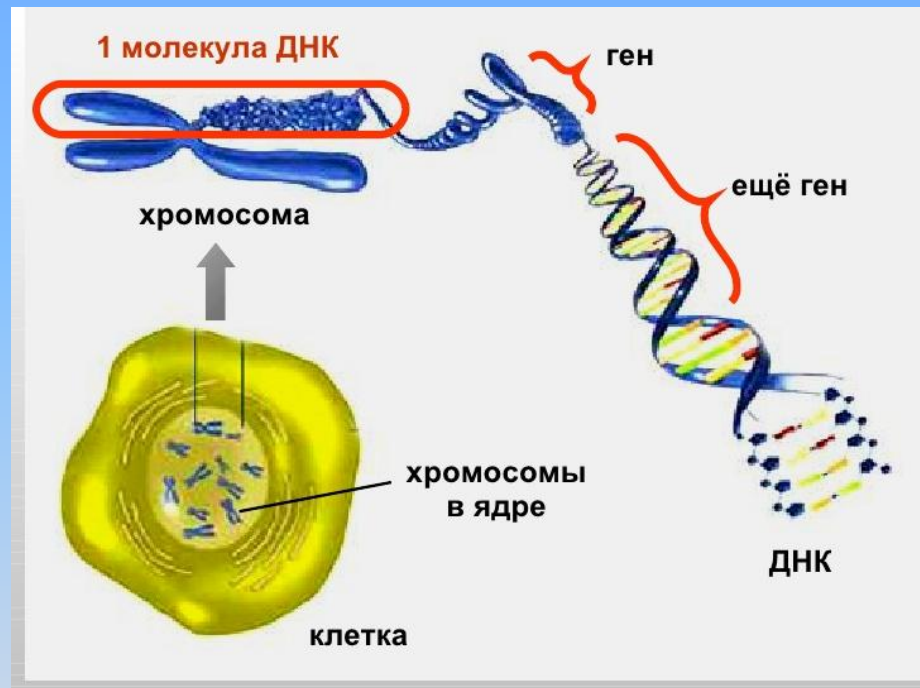
Человеческий геном - ЭНЦИКЛОПЕДИЯ

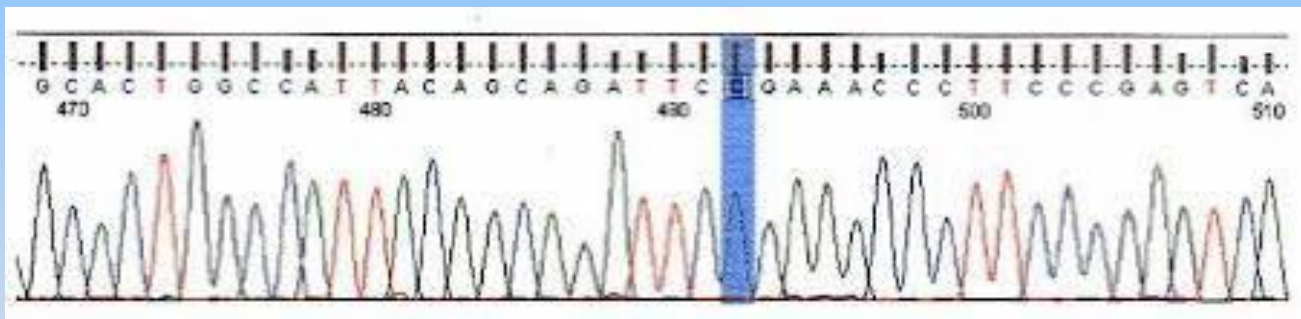


Хромосома – содержание книги, её объём



Ген – одна глава из книги



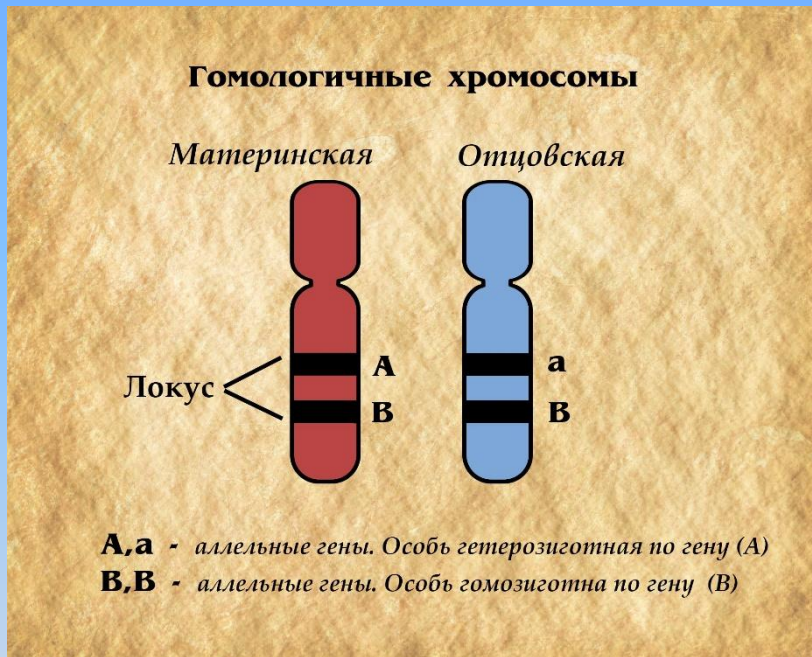


ДНК - буквы, из которых построены слова и предложения

Мутация – типографическая ошибка

Вариации – различия произношений

Человеческий геном диплоиден

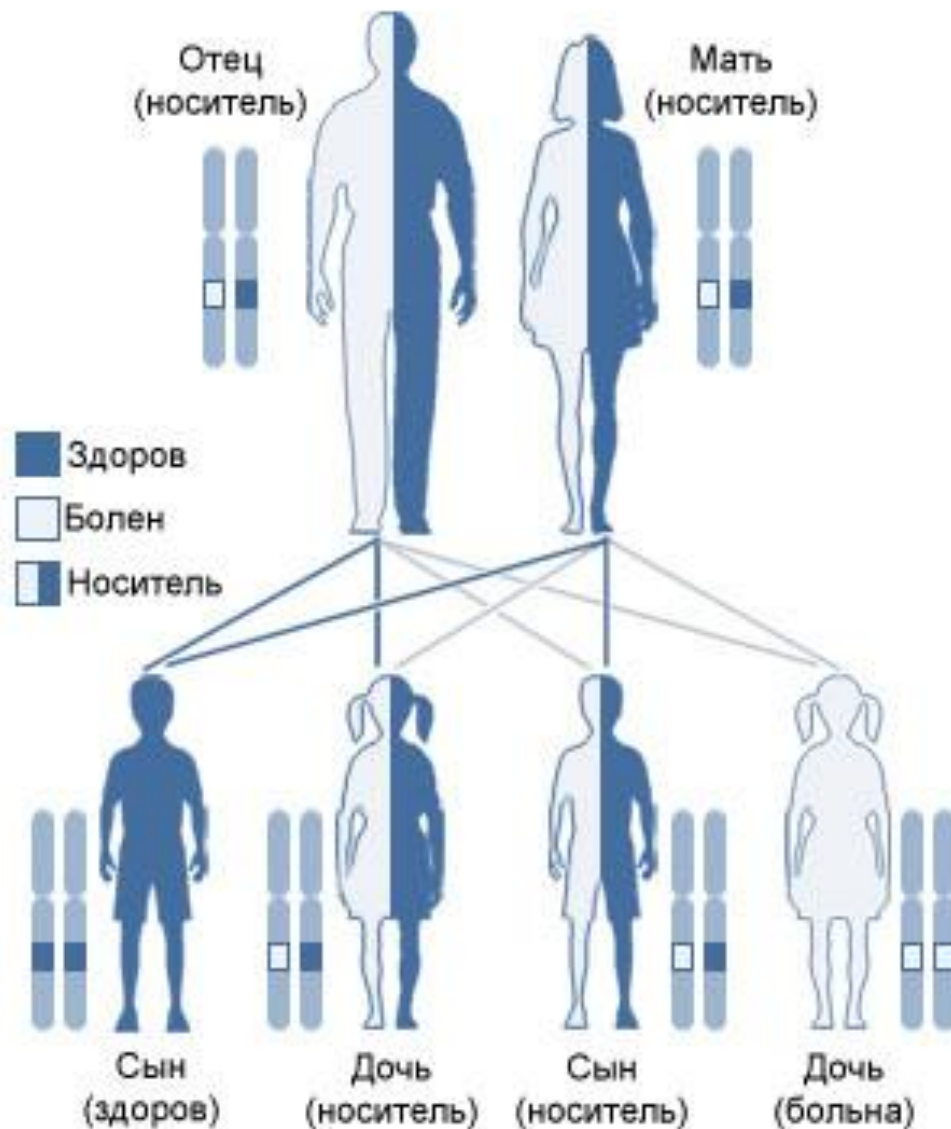


- **Аллели (Аллельные гены)** - различные формы одного и того же гена, расположенные в одинаковых участках (локусах) гомологических хромосом.

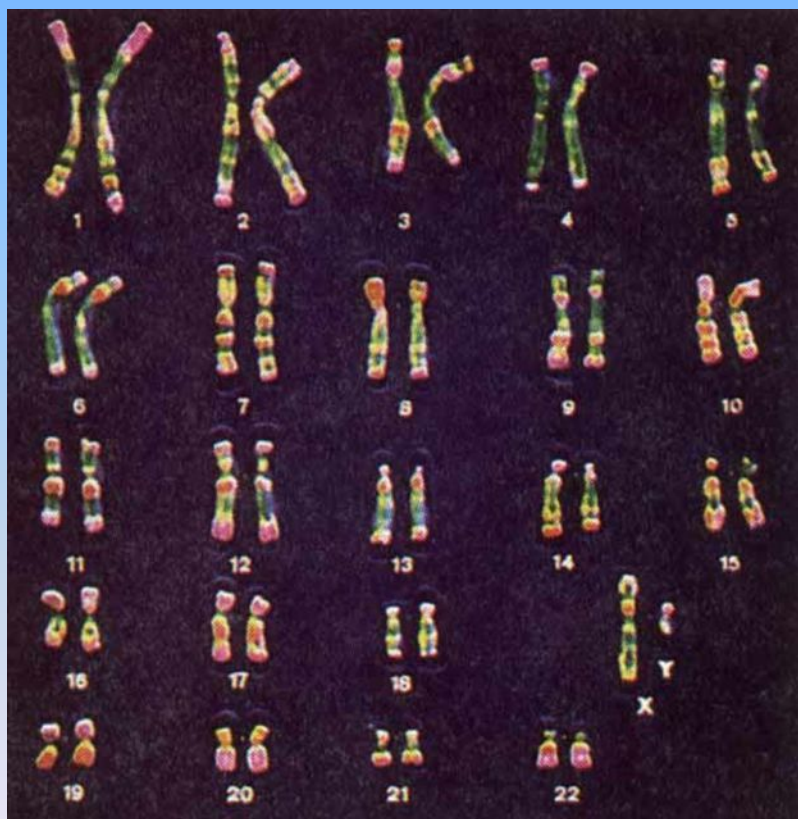
- *От греч. Аллелон – взаимно*

- Аллели определяют варианты развития одного и того же признака. В нормальной диплоидной клетке могут присутствовать не более двух аллелей одного локуса одновременно.
- В одной гамете два аллеля находиться не могут.

Аутосомно-рецессивное наследование



Кариотипирование – цитогенетический тест



Рутинный анализ в последние
40 лет

Требует клеточную культуру

Требует времени

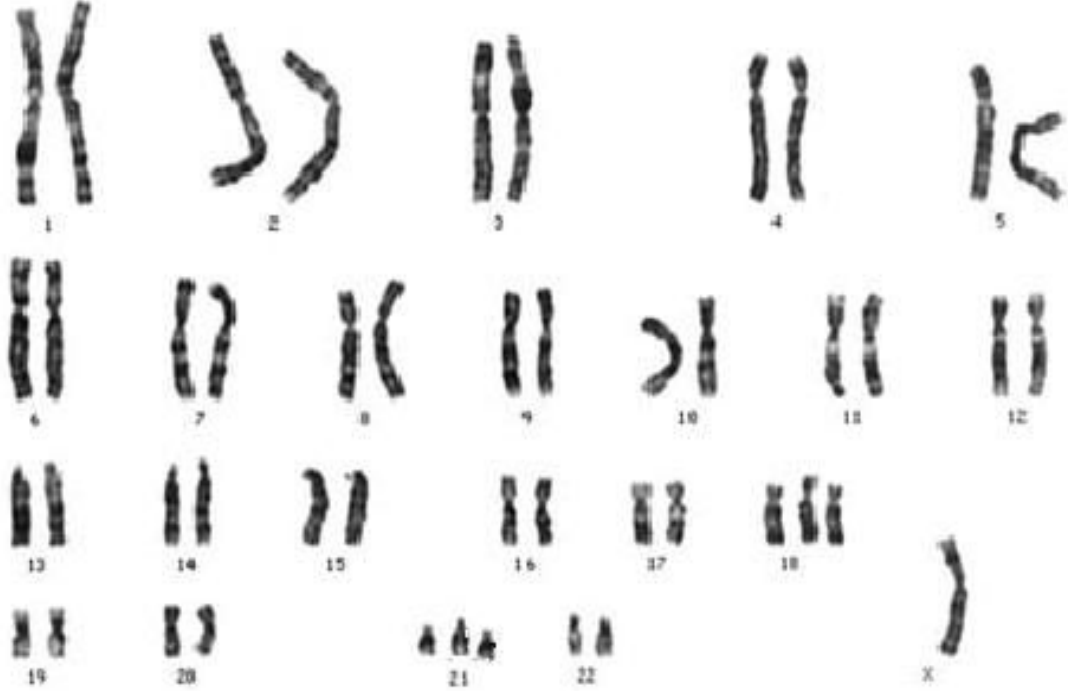
Предел обнаружения 5-10 Mb

Частота аномальных кариотипов в популяции

- **50% of the first trimester abortuses**
(of these 96% are numerical abnormalities)
- **1/160 of life birth:**
 - 60% numerical**
 - 30% balanced structural**
 - 10% unbalanced structural**

Хромосомные аномалии и их частота среди новорожденных

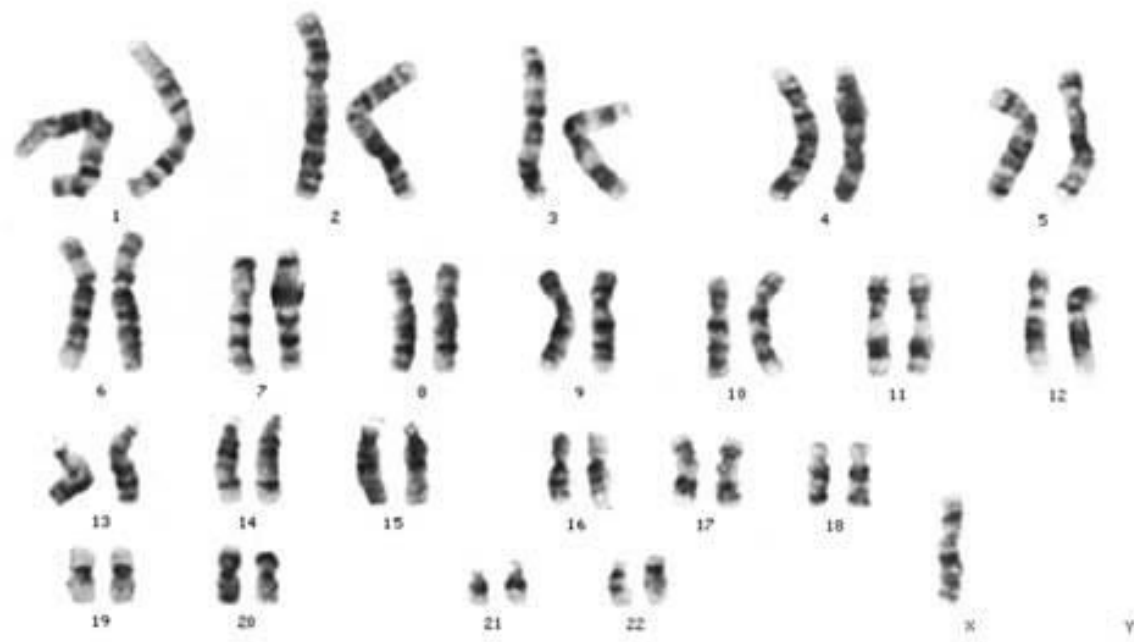
- Down syndrome - trisomy 21 1/800
- Edwards syndrome - trisomy 18 1/8 140
- Patau syndrome - trisomy 13 1/19 000
- Klinefelter syndrome - 47,XXY 1/1080
- Turner syndrome - monosomy X (45,X) 1/9600
- Others- 47,XXX, 47,XYY
1/960-1/1080



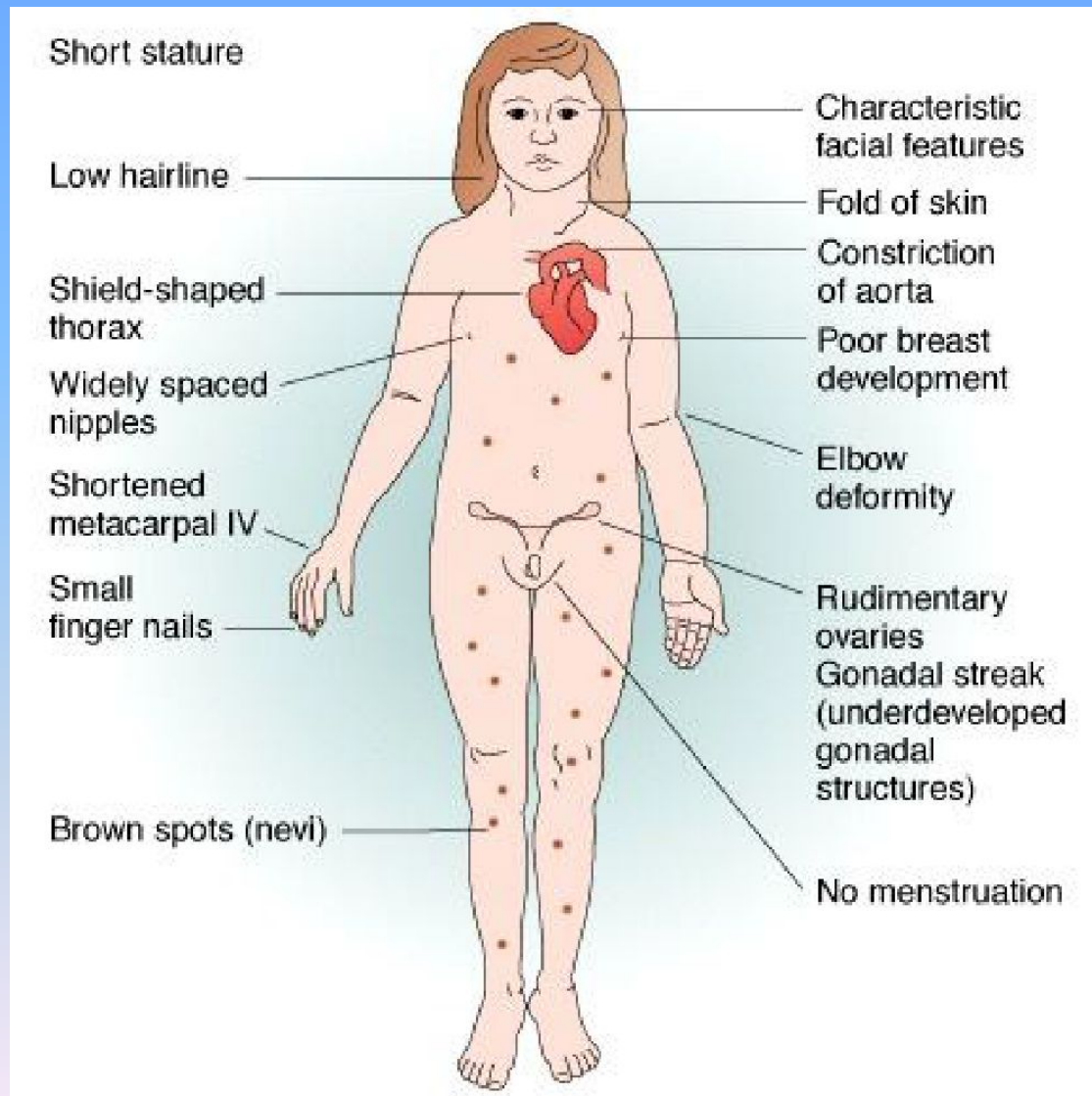
Трисомия 21
Down Syndrome

Трисомия 18
Синдром Эдвардса

Моносомия X – 45 X
Синдром
Шерешевского
Тёрнера

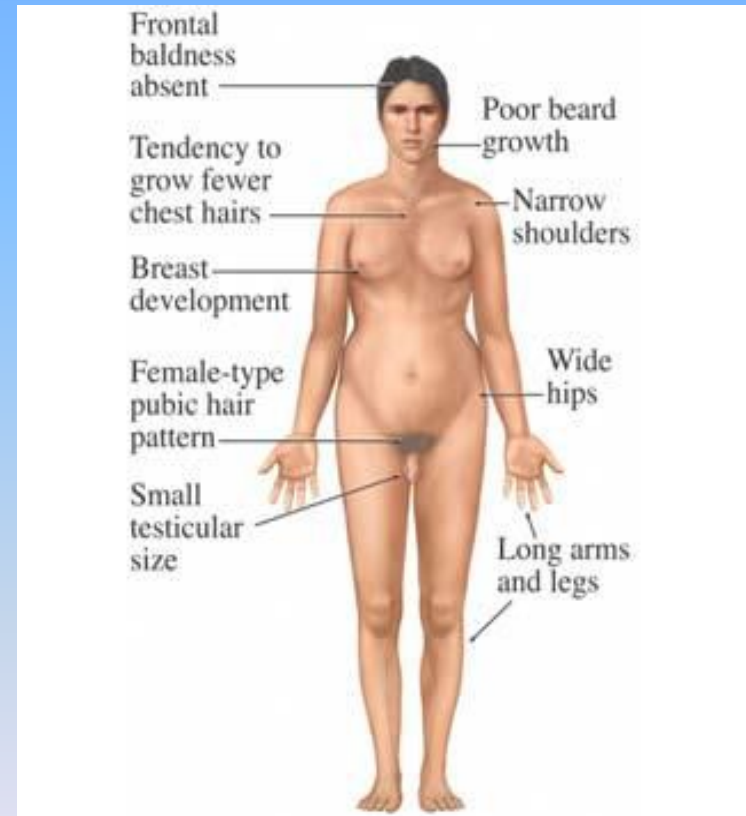
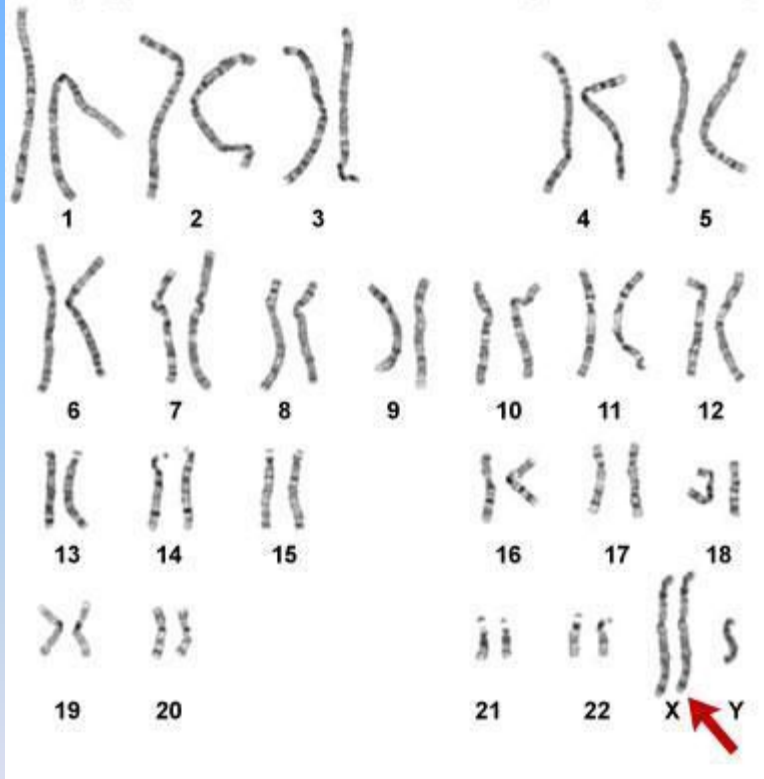


Monosomy X - Turner syndrome- 45,X



Klinefelter syndrome = 47,XXY

Karyotype from a male with Klinefelter syndrome (47,XXY)



Другие хромосомные аномалии

- 47,XYУ:

Поведенческие проблемы
высокий рост

- 47,XXX, трисомия X:

IQ ниже на 10-15 пунктов
высокий рост
поведенческие
проблемы



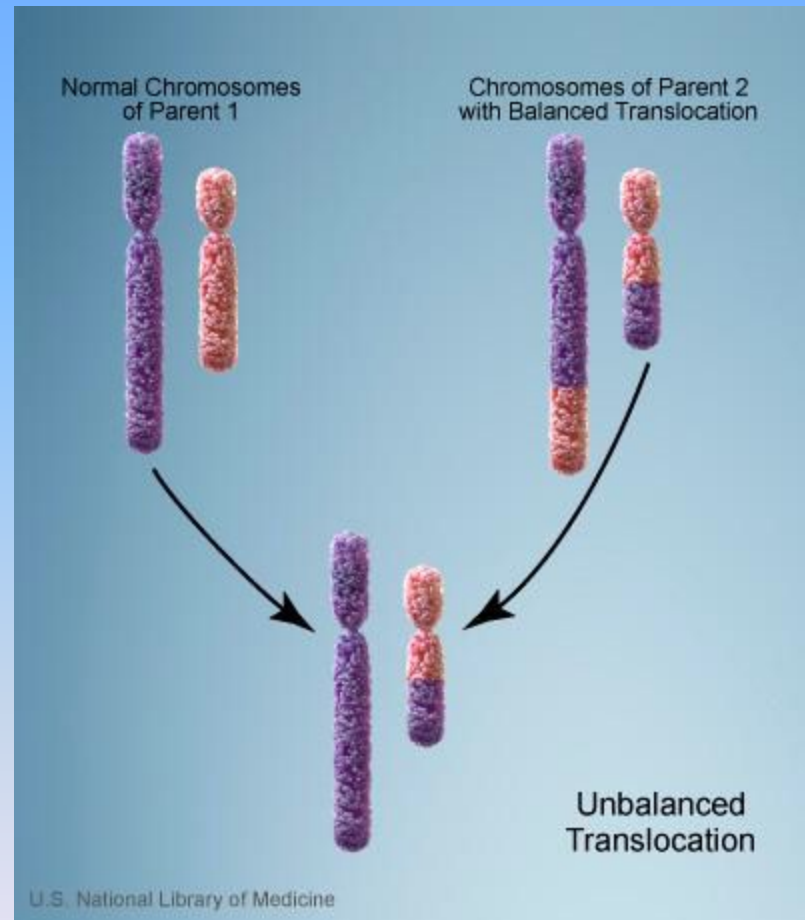
Полиплоидии

- *Triploidy* –
3 sets of 23 chromosomes
- *Tetraploidy* –
4 sets of 23 chromosomes



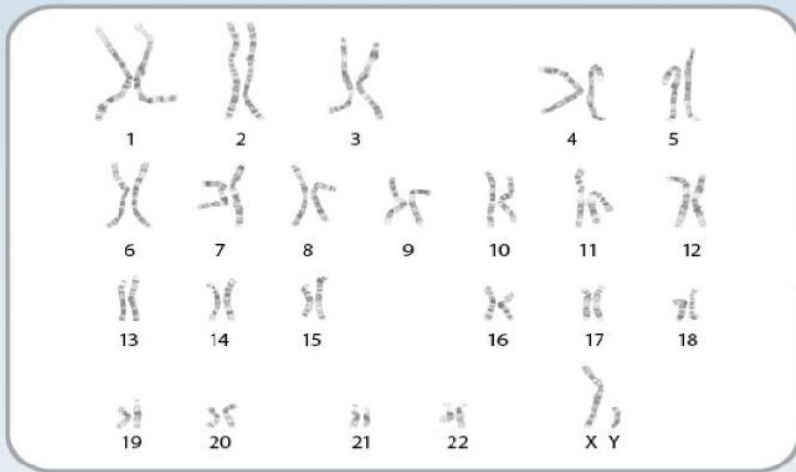
Транслокации

- Перестроение частей (обмен) негомологичных хромосом

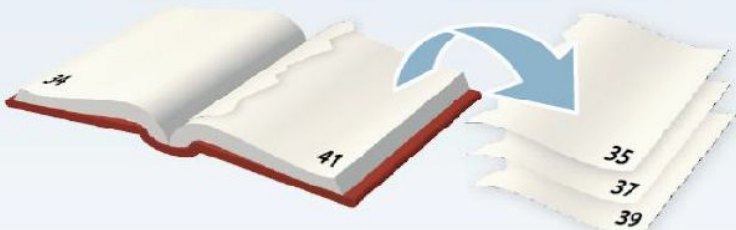
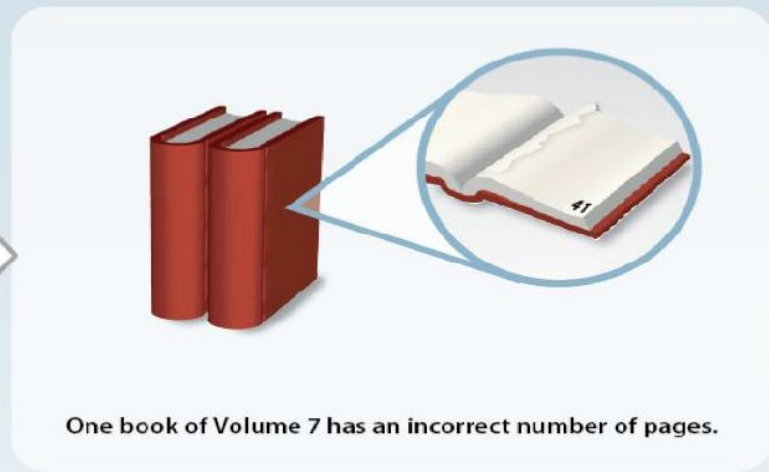


Делеции и дупликации

NORMAL KARYOGRAM



ABNORMAL ENCYCLOPEDIA VOLUME (INSIDE)

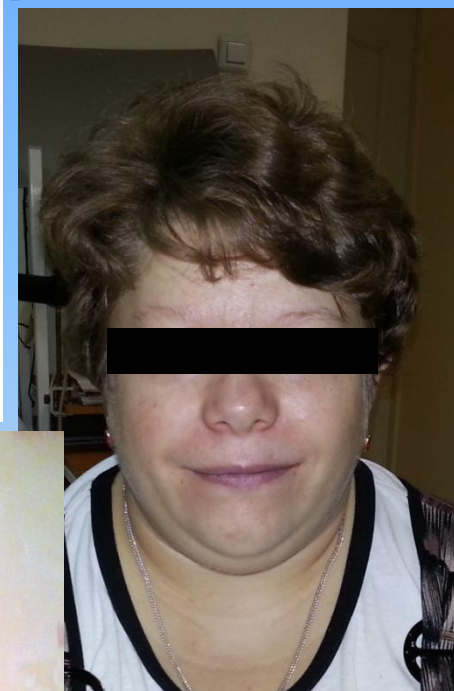
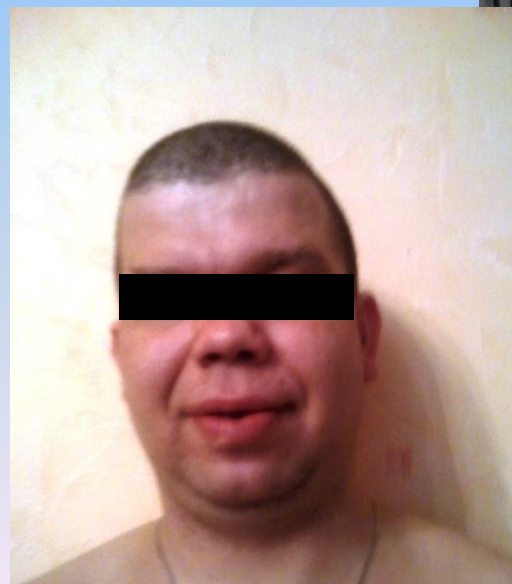


OR



Семейный случай del22q11.2

(наследование по матери)



Семейный случай del22q11.2

(наследование по отцу)

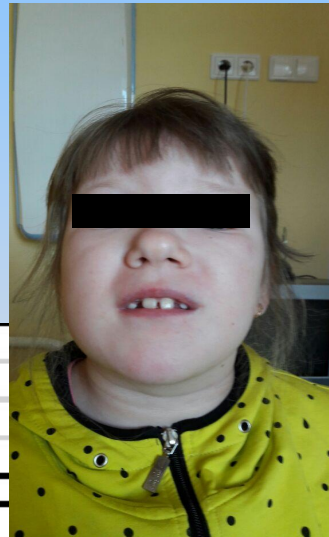


Del22q11.2

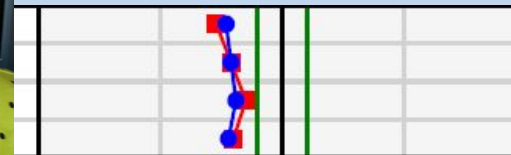


DelXp22.31

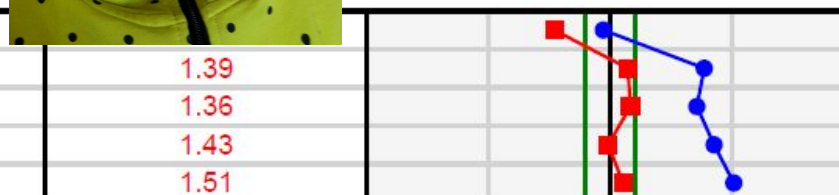
del22q11.2(pat)
delXp22.31(mat)



DGS1; 16 22q11	0.73
DGS2; 17 22q11	0.79
DGS3; 18 22q11	0.85
DGS4; 19 22q11	0.80

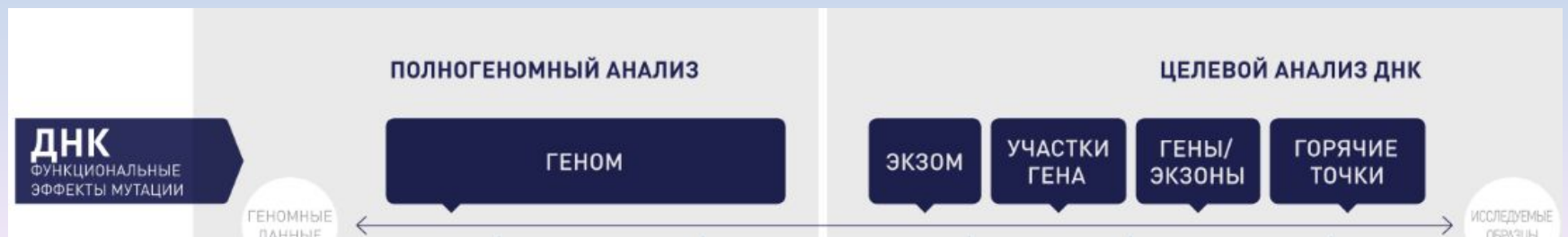


XC1; 79 Xp22	0.77
XC2; 80 Xp22	1.07
XC3; 81 Xp21	1.08
XC4; 84 Xq13	0.99
XC5; 85 Xq27	1.05



Что мы исследуем, когда исследуем ДНК?

- «Горячие точки» - мажорные мутации в генах
- Отдельные экзоны
- Отдельные гены
- Группу генов
- Клинический экзом
- Экзом
- Геном

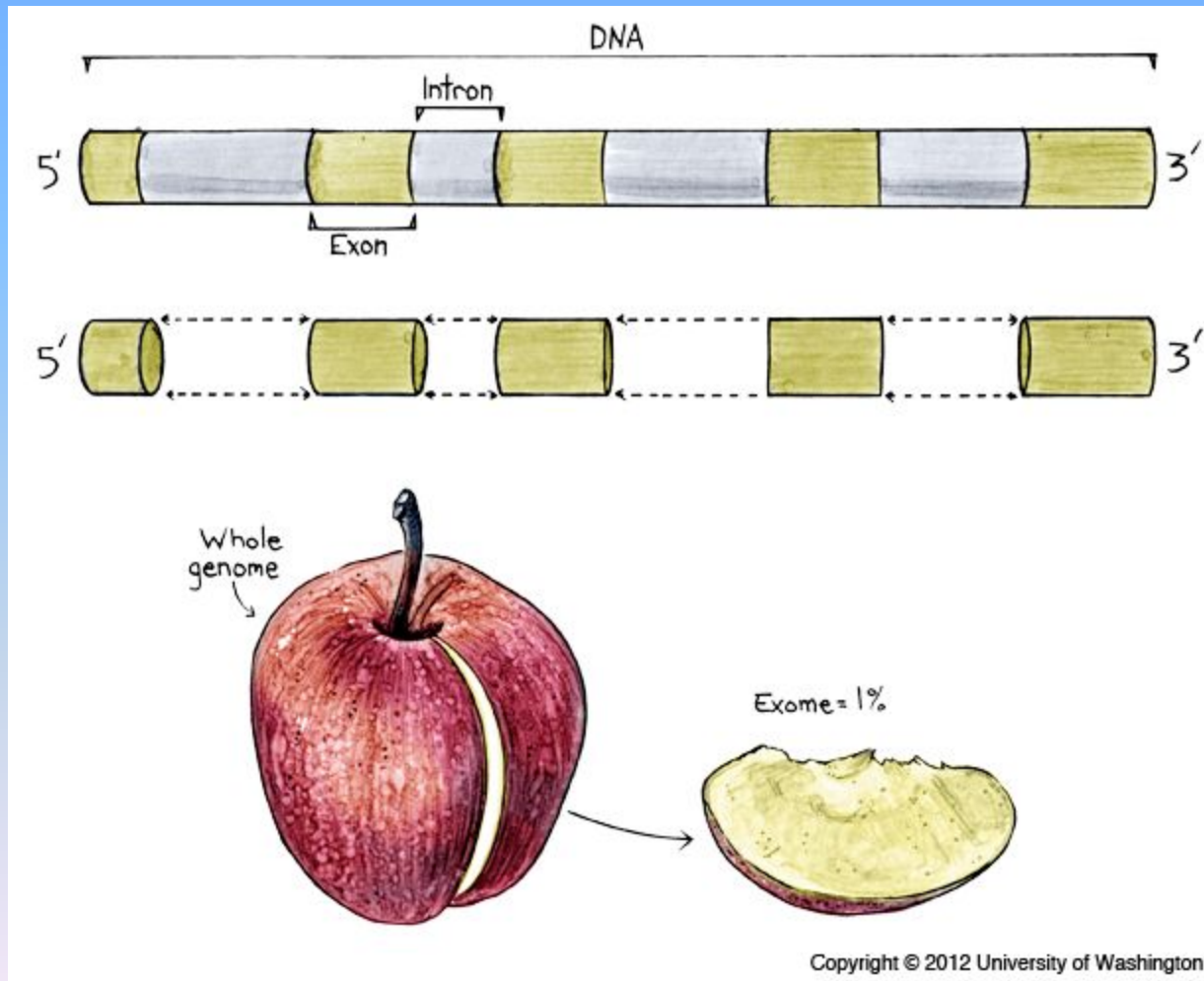


Современные подходы к ДНК-диагностике

- Классическое последовательное секвенирование по Сенгеру (таргетное секвенирование)
- Хромосомный микроматричный анализ (СМА)
- Сравнительная геномная гибридизация (СГН)
- Секвенирование нового поколения (NGS)
ограниченной панели генов (5-40 генов),
расширенной панели генов (30-100-200 генов)
- Полногеномное/полноэкзомное секвенирование

*Алгоритм выбора исследования – прерогатива
врача!*

Экзом занимает около 1,5% генома



Исследования экзоста

- Экзом – совокупность всех участков (экзонов) генов, кодирующих белки
- 22 000 генов 30 млн.пар оснований
- Секвенирование экзоста способно идентифицировать генетическую причину болезни примерно у 30% пациентов

Клинический экзом

- Совокупность кодирующих участков (экзонов) генов, патогенные варианты в которых приводят к развитию наследственных (моногенных) заболеваний
- 2017 – **6 327** генов
- 2018 – **7 320** генов

Трудности интерпретации результата полноэкзомного секвенирования

Списки панелей генов не всегда составляются врачами, часто плохо коррелируют с клинической гипотезой

Ограничение покрытия генов, неполный анализ

Большое количество генетических вариантов, которые не могут быть корректно интерпретированы

«Во многих знаниях многие печали: и тот, кто умножает познания,

тот умножает скорбь»

Экклезиаст 1:18

Что можно получить в результате ДНК-диагностики?

- Мутации, являющиеся причиной заболевания («сигнал»)
- Варианты с неизвестным клиническим значением, VUCS («шум»)
- Полиморфные варианты генов, не связанные с заболеванием («редкие варианты нормы»)

Определение технологии

Технология массового параллельного секвенирования (MPS, massive parallel sequencing) — техника определения нуклеотидной последовательности ДНК и РНК для получения формального описания их первичной структуры. Технология MPS позволяет одновременно «прочитать» большое количество участков генома, что является её главным отличием от более ранних методов секвенирования. В ходе MPS могут генерироваться от сотен миллионов до миллиардов нуклеотидных последовательностей за один рабочий цикл. Отличительной особенностью использования данных методов является необходимость многократного прочтения анализируемой нуклеотидной последовательности. Все варианты последовательности ДНК, выявленные методом MPS и указанные в заключении лаборатории о проведенном анализе, должны быть подтверждены референсным методом (секвенирование по Сенгеру).

Терминология

Предлагается заменить широко используемые термины «мутация» и «полиморфизм» на термин «вариант нуклеотидной последовательности» со следующими характеристиками:

- патогенный (pathogenic);
- вероятно патогенный (likely pathogenic);
- неопределенного значения (uncertain significance);
- вероятно доброкачественный (likely benign);
- доброкачественный (benign).

Особенности интерпретации данных при многофакторных заболеваниях

В основе –
популяционный
подход (GWAS)
полногеномный поиск
ассоциаций

«установленный аллель
риска»

«вероятный аллель риска»

«неопределенный

Особенности интерпретация вариантов нуклеотидной последовательности у здоровых или людей без симптомов

Для отнесения варианта к патогенным необходима сильная доказательная база. Вероятность обнаружения вариантов, признанных патогенными, обычно очень низкая.

Предсказанная пенетрантность патогенного варианта, обнаруженного в отсутствии фенотипа или семейного анамнеза, может быть намного ниже, чем у пациента с симптомами.

Распространённые многофакторные заболевания

Данное руководство не применимо для оценки клинической значимости вариантов, ассоциированных с многофакторными заболеваниями.

Определение генов, ответственных за распространённые многофакторные заболевания основывается на популяционном подходе (GWAS), а не на семейных исследованиях. Насчитывается более 1200 вариантов с повышенным риском развития таких заболеваний и наследственных черт; большинство этих вариантов находятся за пределами генных регионов. Польза тестирования вариантов, ассоциированных с многофакторными заболеваниями, для клинической практики не очевидна.

Настоящее руководство не предлагает форму отчёта по вариантам для многофакторных признаков; включать в отчёт эти варианты можно в качестве дополнительных сведений. Термины «патогенный» и «вероятно патогенный» не приемлемы в данном контексте, даже если ассоциация статистически достоверна. Упомянуть эти варианты стоит как «аллели риска», доказательство риска может быть выражено в терминах «установленный аллель риска», «вероятный аллель риска» или «неопределённый аллель риска».

Современные философские проблемы в области генетических исследований

- **Методологического характера**
 - * соотношение возможностей диагностики и лечения
 - * вероятностный характер исследований
- **Этической направленности**
 - * проблема доступа к информации
 - * выход на пренатальную диагностику

Зачем диагностировать, если лечения нет?

- **«Геном человека» 1990 – 2002 гг**
«Человечество получило только каталог содержимого клетки, но не инструкцию, как им воспользоваться - библиотека пока закрыта»
Разработка методов коррекции генетической патологии не успевает за информационными открытиями
- **Смертельный диагноз. Что лучше: знание или неведение?**
- **Специфика орфанных заболеваний в России**

Вероятностный характер генетических исследований

- ДНК – только часть нашей «истории болезни»
- Спасет ли нас генная терапия?

Воздействие на геном - нарушение
генетического разнообразия - негативные
последствия в будущем

«Мы все страдаем склонностью преувеличивать то, что мы можем сделать через пять лет, и недооценивать то, что мы можем натворить через двадцать пять лет».

Марио Капекки,

выдающийся ученый, профессор биологии и генетики человека
университета штата Юта

Генномодифицированные близнецы: ящик Пандоры открыт?



Проф.Шэньчжанского университета (Китай) Хэ Цзянькуй

объявил о рождении генномодифицированных девочек,

обладающих врожденным иммунитетом к ВИЧ-

Проблема конфиденциальности информации

- **Противоречие между интересами ребенка и других членов семьи**
- **«Ребенок-мутант»: доступ к информации**
- **«Голос крови»: особенности менталитета, вероисповедания, жизнеустройства разных групп общества**

Проблема конфиденциальности информации

- **Новая технология: полноэкзомное секвенирование ДНК**
- **Болезни с отсроченным началом заболевания**
- **Неизлечимое заболевание: нужно ли тестировать родственников?**

Неонатальное скринирование и пренатальная диагностика

- **Продолжение беременности: ЗА и ПРОТИВ**
- **Поколение next: «не хотим больного ребенка»**
- **Особенности медико-генетического консультирования в России**
- **Ребенок – Семья – Общество**

Объем информации в результате NGS: достижение или проблема?

- **Огромное количество генетических данных делают плохого доктора ещё хуже, а хорошего – лучше**
- **«Тёмная сторона» правды о собственных генах**

Сама мысль о «плохих» генах меняет физиологию организма



Исследования в Стэнфордском университете
(Калифорния, США)
Гены CREB1 (116) FTO (107)

**«Людам не обязательно
прекращать тестирование.**

**Но они, вместе с медицинскими
работниками и генетическими
консультантами – должны
помнить, что знание о риске
может в какой-то степени
повлиять на результаты»**



Благодарю за внимание!