

<https://doi.org/10.23946/2500-0764-2020-6-3-100-109>

# МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ В ПРАКТИКЕ СОВРЕМЕННЫХ МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ. ЧАСТЬ III: ГЕНОДИАГНОСТИКА ЧЕЛОВЕКА ПРИ РЕШЕНИИ МЕДИЦИНСКИХ ЗАДАЧ

ВОЛКОВ А.Н.<sup>1\*</sup>, НАЧЕВА Л.В.

ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения  
Российской Федерации, г. Кемерово, Россия

## Резюме

Диапазон применения молекулярно-генетических методов при диагностике и терапии заболеваний человека чрезвычайно широк. Это определяется тем объемом наследственной информации, которая содержится в человеческом геноме. Исследование ДНК человека позволяет не только установить наследственные факторы предрасположенности к заболеваниям, но и выявлять генетические отклонения в процессе индивидуального развития и проводить мониторинг этих изменений в случае предполагаемого патологического исхода. Генодиагностика позволяет также изучить индивидуальные генетические особенности пациента для прогнозирования реакций на тот или иной вид лечения для достижения максимального терапевтического эффекта.

Основным способом изучения генома человека в медицинской практике является ПЦР-диагностика. Простота, низкая себестоимость, высокая чувствительность и надежность метода наряду с уникальными данными, получаемыми при анализе, позволили ПЦР-диагности-

ке стать рутинным диагностическим методом в различных медицинских направлениях. В лекции рассматриваются некоторые технологические нюансы ПЦР-диагностики при изучении генетического полиморфизма человека. Описываются реальные лабораторные методы и примеры выявления генных и хромосомных мутаций с патологическим эффектом. Обсуждаются перспективы использования количественного анализа нуклеиновых кислот человека в медицинской практике. Особое внимание уделяется вопросам фармакогенетики как перспективного медицинского направления для внедрения персонализированного подхода к терапии.

Лекция ориентирована на студентов медико-биологических специальностей, а также на молодых специалистов, планирующих использовать в своей практической деятельности молекулярно-генетические методы исследований. Для лучшего понимания обсуждаемых вопросов рекомендуется ознакомление с предыдущими лекциями данного цикла.

**Ключевые слова:** молекулярно-генетические методы, ДНК, мутации, ПЦР.

## Для цитирования:

Волков А.Н., Начева Л.В. Молекулярно-генетические методы в практике современных медико-биологических исследований. ЧАСТЬ III: генодиагностика человека при решении медицинских задач. *Фундаментальная и клиническая медицина*. 2021;6(3): 100-109. <https://doi.org/10.23946/2500-0764-2021-6-3-100-109>

## \*Корреспонденцию адресовать:

Волков Алексей Николаевич, 650056, Россия, г. Кемерово, ул. Ворошилова, д. 22а, E-mail: [volkov\\_alex@rambler.ru](mailto:volkov_alex@rambler.ru)  
© Волков А.Н. и др.

## LECTURES

# MOLECULAR GENETIC METHODS IN BIOMEDICAL RESEARCH. PART III: HUMAN GENE DIAGNOSTICS IN CLINICAL PRACTICE

ALEXEY N. VOLKOV \*\*, LYUBOV V. NACHEVA

*Kemerovo State Medical University, Kemerovo, Russian Federation***Abstract**

Application of molecular genetic methods in the diagnosis and treatment of human diseases is extremely wide due to a huge amount of hereditary information contained in the human genome. Gene diagnostics allows establishing predisposition to diseases, identification of genetic abnormalities and prediction of pathological outcomes. In addition, gene diagnostics also enables prediction of the individual response to treatment in order to achieve the maximum therapeutic effect. Among all molecular genetic methods, polymerase chain reaction (PCR) diagnostics is a leading approach. Technical simplicity, low cost, high sensitivity and reliability of the method have made PCR diagnos-

tics a routine modality for the risk assessment, diagnostics, and monitoring of the treatment efficiency. Here, we consider the application of PCR diagnostics for the abovementioned tasks and talk about the real-life examples of detecting mutations and chromosomal aberrations which may cause a disease. Further, we discuss the prospects of using a semi-quantitative PCR in medical practice and focus on pharmacogenetics as a key component of a personalised therapy. The lecture is aimed primarily at biomedical students and physicians and represents a continuation of the previous lectures published in *Fundamental and Clinical Medicine*.

**Keywords:** molecular genetic methods, DNA, mutations, PCR

◀ English

**For citation:**

Alexey N. Volkov, Lyubov V. Nacheva. Molecular genetic methods in biomedical research. Part III: human gene diagnostics in clinical practice. *Fundamental and Clinical Medicine*. 2021;6(3): 100-109. <https://doi.org/10.23946/2500-0764-2021-6-3-100-109>

**\*\*Corresponding author:**

Dr. Alexey N. Volkov, 22a, Voroshilova Street, Kemerovo, 650056, Russian Federation, E-mail: [volkov\\_alex@rambler.ru](mailto:volkov_alex@rambler.ru)  
© Dr. Alexey N. Volkov et al.

Генетика человека является важнейшим направлением общей генетики, тесно связанным с медицинской наукой. По мере накопления данных об условиях сохранения и нарушения здоровья человека все более отчетливым становится понимание роли наследственных факторов в реализации различных патологий. При этом вклад генетической компоненты в возникновении конкретных патологических состояний варьирует в широких пределах – от детерминированности и высокой степени предрасположенности до едва уловимого влияния на фоне выраженного экзогенного воздействия [1–3].

С генетической точки зрения болезни человека могут рассматриваться как проявление дезадаптивного комплекса генетических факторов, неблагоприятного в конкретных экологических и социально-бытовых условиях. При

этом поиск информативных генетических маркеров тех или иных заболеваний является перспективным направлением медицинской генетики, обещающим появление алгоритмов диагностики наследственной предрасположенности и эффективной профилактики различных заболеваний человека [2]. По этой причине необходимо всестороннее изучение генетического материала человека при различных патологических состояниях.

Генетические исследования человека возможны на различных уровнях в зависимости от предполагаемого типа наследственных изменений. Мутации геномного и хромосомного типов являются основным объектом поиска при цитогенетическом анализе. Такие исследования оказались полезными при установлении причин грубых нарушений развития на разных

этапах онтогенеза человека, от внутриутробного до постнатального [4, 5]. Кроме того, общий уровень выявляемых геномных и хромосомных аномалий коррелирует с интенсивностью мутагенной нагрузкой на организм и может служить как индикатором такого воздействия, так и прогностическим фактором при оценке вероятности отдаленных последствий для здоровья [6].

Для выявления и анализа генных мутаций (а также ряда хромосомных, неидентифицируемых микроскопически) вместо цитогенетических исследований используют молекулярно-генетические подходы, позволяющие анализировать структуру ДНК. ПЦР-диагностика занимает лидирующее положение в данном направлении. Простота, низкая себестоимость, высокая чувствительность и надежность метода наряду с уникальными данными, получаемыми при анализе, позволили ПЦР-диагностике занять достойное место среди медицинских лабораторных исследований [7–20].

#### Методы выявления генных мутаций у человека на основе использования ПЦР

В зависимости от рассматриваемого аспекта, структурного или функционального, могут использоваться различные классификации генных мутаций. С точки зрения структуры исходной и измененной ДНК мутации можно разделить на количественные и качественные. В первом случае происходит удлинение или укорочение участка ДНК за счет вставки или потери определенной нуклеотидной последовательности. Во втором случае длина фрагмента ДНК не изменяется, но происходит изменение сочетания нуклеотидов в данном участке. Разным типам генных мутаций соответствуют различные методы их выявления [1, 7].

Для выявления количественных изменений в ДНК достаточно провести ПЦР-амплификацию изучаемого участка с последующим разделением полученных ампликонов в ходе электрофореза (**рисунок 1**).

Как обсуждалось в предыдущей лекции, при этом происходит разделение ампликонов в за-

висимости от их длины. Чем длиннее олигонуклеотидные фрагменты, тем меньшую подвижность в гелевой среде они имеют. Поэтому данный вид ПЦР-исследования, позволяющий изучить полиморфизм длины амплифицированных фрагментов (ПДАФ), известен как ПДАФ-ПЦР (англ. вариант – AFLP-PCR).

К настоящему времени выявлены различные клинически значимые мутации, связанные с изменением длин отдельных участков различных генов, ПЦР-диагностика которых полезна для выявления риска здоровью. Так, ген ангиотензинпревращающего фермента *ACE* у некоторых людей может иметь в своей структуре вставку (инсерцию, *Ins*) так называемого *Alu*-элемента, который снижает активность гена и производство соответствующего фермента. Напротив, у лиц с потерей (делецией, *Del*) *Alu*-элемента наблюдается избыточная генная экспрессия, что ведет к повышению артериального давления и, как следствие, может увеличивать риск гипертонии, тромбозов, ряда офтальмологических патологий и осложнений течения беременности [8, 9].

Однонуклеотидные замены являются самым распространенным типом генных мутаций. В ряде случаев они приводят к наследственным заболеваниям, а иногда лишь повышают риск мультифакториальных патологий. Но большинство из них, по-видимому, являются проявлением нормальной генетической вариабельности человека как биологического вида и не имеют выраженного дезадаптивного эффекта. В случае если частота мутантного аллеля достаточно высока, говорят об однонуклеотидном полиморфизме данного участка ДНК (англ. вариант – single nucleotide polymorphism, SNP) [7].

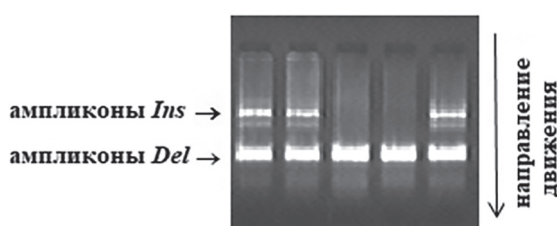
Для идентификации SNP не подходит простая ПЦР-амплификация с последующей электрофоретической детекцией, так как нуклеотидная замена не изменяет длины гена, и ампликоны как исходного, так и мутантного аллеля одинаковы по длине. Из возможных технических решений задачи наиболее популярным стала аллель-специфическая ПЦР, совмещающая в себе распознавание измененного участка ДНК и его амплификацию. Как объяснялось ранее, эффективность ПЦР зависит, прежде всего, от соответствия праймеров концам изучаемого участка ДНК. Если исходный праймер, помещенный в реакционную смесь, полностью комплементарен ДНК-матрице, на

**Рисунок 1.**

Выявление полиморфизма длины амплифицированных фрагментов при изучении гена *ACE*

**Figure 1.**

Detection of amplified fragment length polymorphism in the study of the *ACE* gene



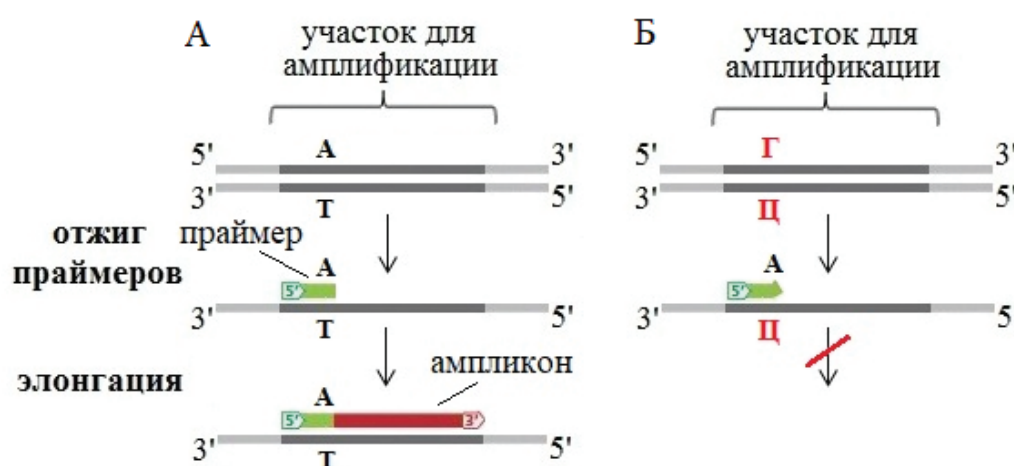


Рисунок 2.

Аллель-специфическая ПЦР участка ДНК до (А) и после (Б) однонуклеотидной замены

**Примечание.** Амплификация верхней цепи ДНК не показана

Figure 2.

Allele-specific polymerase chain reaction of a DNA fragment before (A) and after (B) single nucleotide polymorphism

**Note.** Amplification of the upper DNA strand is not shown

этапе отжига он образует с ней совершенный дуплекс (рисунок 2). В дальнейшем произойдет элонгация с участием ДНК-полимеразы, а образующиеся ампликоны можно будет выявить на стадии детекции.

С другой стороны, в случае однонуклеотидной замены в гене праймер формирует с ДНК несовершенный дуплекс. Единичное несоответствие матрице на 3'-конце праймера (именно здесь должен быть установлен нуклеотид, «узнающий» SNP) является достаточным условием для предотвращения элонгации ДНК-полимеразой. В такой ситуации ампликоны не образуются, и детекция продуктов реакции демонстрирует отрицательный результат ПЦР. Однако важно не принять несостоявшуюся по техническим причинам амплификацию за наличие мутации в образце. Для этого обычно проводят вторую, подтверждающую ПЦР-реакцию с использованием праймеров, комплементарных не исходному участку ДНК, а его мутантной последовательности. В этом случае положительный результат амплификации ожидается не в исходной, а в альтернативной ПЦР-смеси [10].

Простота и изящество аллель-специфической ПЦР сделали ее популярным методом молекулярно-генетической диагностики клинически значимых мутаций в геноме человека. Например, для диагностики распространенного заболевания печени – синдрома Жильбера проводят генотипирование гена *UGT1A1* (рисунок 3) [11].

Этот ген производит фермент УДФ-глюкуронилтрансферазу, ответственный за утилизацию продукта распада гемоглобина – билирубина. Нормальный аллель \*1 производит достаточное количество фермента. Гетерозиготы,

ампликоны →  
димеры →  
праймеров →

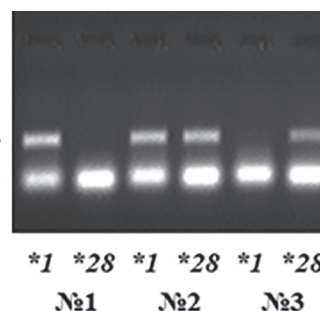


Рисунок 3.

Электрофореграмма продуктов ПЦР гена *UGT1A1* при диагностике синдрома Жильбера [11]

**Примечание.** Генотипы образцов: №1 – \*1/\*1; №2 – \*1/\*28; №3 – \*28/\*28

Figure 3.

Electrophoregram of polymerase chain reaction products of the *UGT1A1* gene in the diagnosis of Gilbert's syndrome [11]

**Note.** Sample genotypes: №1 – \*1/\*1; №2 – \*1/\*28; №3 – \*28/\*28

содержащие как нормальный, так и мутантный варианты *UGT1A1* (чаще всего – аллель \*28) в разных хромосомах, в основном также здоровы. Наконец, лица, гомозиготные по аллелю \*28, характеризуются замедленным выведением билирубина и сопутствующим комплексом дисфункции печени, который проявляется при интенсивных физических и психических нагрузках, химиотерапии, изменении привычной диеты или нерегулярном питании [2].

В рамках данной лекции невозможно перечислить все виды ПЦР-тестов, применяющихся в настоящее время для идентификации клинически значимых генных мутаций у человека. Приблизительное представление о востребованности данного вида анализов дает простое перечисление направлений исследований с использованием ПЦР-диагностики: установление и подтверждение диагноза наследственного заболевания, выявление генетических причин распространенных мультифакториальных заболеваний, выявление онкогенных мутаций (как герминальных, так и соматических в образцах пораженных тканей), установление ге-

Рисунок 4.

Генотипирование AZF-субрегионов и локусов внутреннего контроля с последующей электрофоретической детекцией продуктов ПЦР

Примечание. K+ – положительный контрольный образец; №1 – микроделеция в субрегионе AZFc; №2 – отсутствие микроделений в AZF-регионе

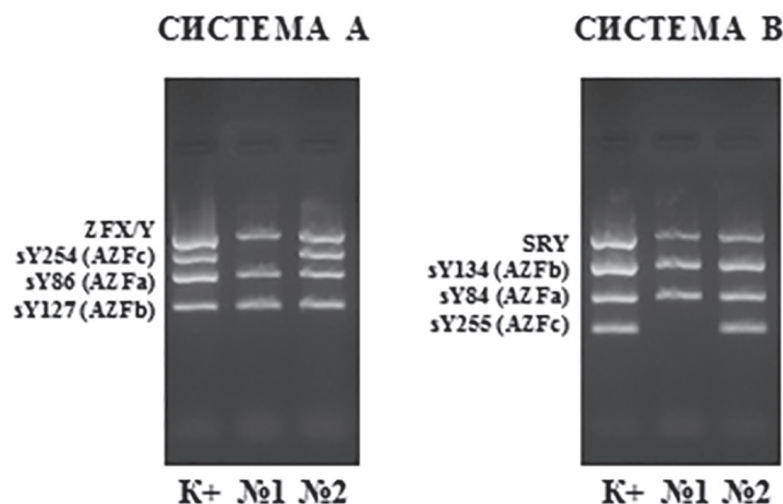


Figure 4.

Genotyping of AZF-subregions and loci of internal control with subsequent electrophoretic detection of polymerase chain reaction products

Note. K+ – positive control; №1 – microdeletion in the AZFc subregion; №2 – absence of microdeletions in AZF-region

нетических причин нарушения репродукции и др. [1, 3, 9, 11, 12]

#### Анализ хромосомных мутаций с помощью ПЦР

В отличие от генных мутаций мутации хромосомного типа охватывают значительные по протяженности участки генома и часто могут быть идентифицированы цитогенетическими методами. Для повышения разрешения цитогенетического анализа в настоящее время могут быть использованы методы, комбинирующие микроскопический анализ и молекулярно-генетические технологии, такие как метод флуоресцентной гибридизации *in situ* (англ. вариант – fluorescent *in situ* hybridization, FISH). Однако в ряде случаев размер измененного мутацией участка хромосомы столь невелик, что не может быть выявлен визуально даже с использованием флуоресцентных зондов в ходе FISH-исследования. В этом случае требуется применение молекулярно-генетических методов исследования на основе ПЦР.

Так, ПЦР-диагностика повсеместно стала рутинным способом выявления микроделений в Y-хромосоме при установлении генетических причин мужского бесплодия [13]. Известно, что микроделеции могут затрагивать различные регионы хромосомы, но с бесплодием четко ассоциированы потери участков в так называемом AZF-регионе (от англ. – azoospermia factor, AZF). Микроделеции в AZFa-, AZFb- и AZFc-субрегионах приводят к полному отсутствию сперматозоидов в эякуляте или критическому снижению их количества.

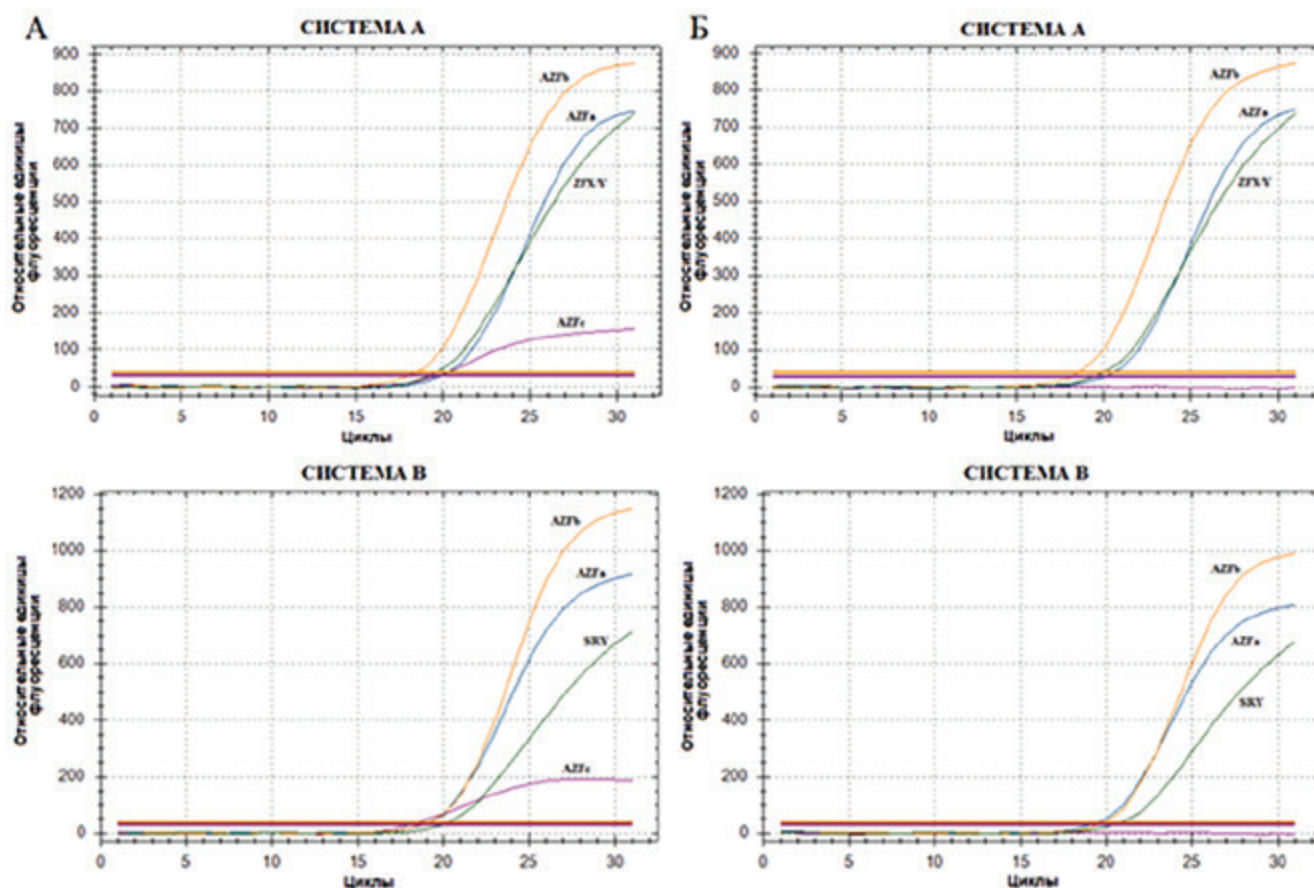
Современные форматы мультипраймерной ПЦР позволяют проанализировать состояние всех трех субрегионов в ходе одной ПЦР-реак-

ции. Электрофоретическая детекция нормального образца позволяет одновременно выявить продукты амплификации AZFa-, AZFb- и AZFc-субрегионов. Кроме того, можно провести амплификацию дополнительных константных участков Y-хромосомы в качестве элементов внутреннего контроля, например локусов ZFX/Y и SRY (рисунок 4). Микроделеции одного или нескольких субрегионов будут выявляться на электрофореграмме отсутствием одного или нескольких типов ампликонов.

Еще более удобным вариантом выявления микроделений является ПЦР-анализ с детекцией динамики амплификации «в реальном времени», принцип которого обсуждался в предыдущей лекции. В данном случае используются флуоресцентные зонды, комплементарные изучаемым участкам Y-хромосомы. После каждого цикла амплификации часть зондов подвергается гидролизу с высвобождением в реакционную смесь специфического флуорофора. Содержание флуорофора периодически регистрируется оптической системой амплификатора и выводится на экран в виде графика кинетики накопления флуоресценции. В нормальном образце регистрируется накопление флуоресценции (а значит – ампликонов) всех ожидаемых типов (рисунок 5А). При микроделециях отмечается отсутствие накопления флуоресценции по одному или нескольким каналам детекции (рисунок 5Б)

Выявление хромосомных делеций методом ПЦР также нашло применение при диагностике более 20 типов микроделеционных синдромов: Миллера-Дикера, Вольфа-Хиршхорна, Диджорджи и др. [1]. Кроме того, ПЦР может быть использована для идентификации деле-





ций, инверсий и транслокаций, ассоциированных с различными онкологическими заболеваниями. Одним из наиболее востребованных в онкологии тестов является выявление методом ПЦР (наряду с FISH-анализом) филадельфийской хромосомы. Эта хромосома является результатом обмена участками (транслокации) между хромосомами 9 и 22. Измененная хромосома 22 несет химерный ген *BCR-ABL1*, запускающий процесс неконтролируемого деления лейкоцитов при хроническом миелоидном лейкозе. Для ПЦР-диагностики данной транслокации реакционная смесь должна содержать один праймер, комплементарный участку хромосомы 9, а другой – участку хромосомы 22. Только при сближении этих участков в составе филадельфийской хромосомы возможна ПЦР и образование ампликонов, соответствующих части химерного гена *BCR-ABL1* [14].

#### Количественный анализ нуклеиновых кислот человека для решения диагностических задач

Как было отмечено в предыдущей лекции, ПЦР с детекцией процесса амплификации «в реальном времени» дает уникальную возможность анализа не только наличия искомой ДНК/РНК-мишени, но и ее количественного содер-

жания. Если параллельно с изучаемыми образцами проводить амплификацию стандартной НК с известной концентрацией, можно оценить исходную концентрацию мишени. Этот подход нашел широкое применение в количественной диагностике возбудителей инфекционных заболеваний человека. Но тот же принцип может использоваться и для установления концентрации НК человека.

Большинство клеток человека содержит диплоидный хромосомный набор, в котором каждый участок генома в обычной ситуации представлен двумя копиями в двух гомологичных хромосомах. В таком случае общая концентрация данных нуклеотидных последовательностей в изучаемом образце пропорциональна количеству клеток, из которых будет проводиться выделение ДНК. Следовательно, оценивая концентрацию таких последовательностей-мишеней с помощью количественной ПЦР, можно приблизительно рассчитать количество или долю клеток данного типа в исходном образце [14, 15].

Хорошим примером продуктивного использования данного подхода является анализ доли раковых клеток, циркулирующих в крови пациента, который проходит лучевую или химиоте-

**Рисунок 5.**

Генотипирование AZF-субрегионов и локусов внутреннего контроля в режиме ПЦР в «реальном времени» при отсутствии микроделетций (А) и микроделетции AZFc-субрегиона (Б)

**Figure 5.**

Genotyping of AZF-subregions and loci of internal control with real-time polymerase chain reaction in the absence of microdeletions (A) and with microdeletion of AZFc-subregion (B)

рапию, для оценки эффективности лечения. При этом важно выявлять специфический генетический маркер, ассоциированный с данным типом патогенных клеток. Как упоминалось выше, причиной хронического миелоидного лейкоза может быть образование в клетках крови химерного гена *BCR-ABL1*. ПЦР-диагностика, благодаря простоте, высокой скорости исполнения и низкой себестоимости исследования позволяет проводить неоднократный анализ наличия и относительного содержания клеток с данной генетической последовательностью в крови. Анализ можно проводить с желаемой частотой до полного исчезновения ДНК-мишени, когда результат ПЦР-теста станет отрицательным. При низкой эффективности терапии врач может изменить тактику лечения и вновь оценить правильность выбора с помощью количественного ПЦР-анализа *BCR-ABL1* [14, 15].

Полезным дополнением к данному виду исследований может быть анализ транскрипционной активности (экспрессии) отдельных генов. Поскольку продуктами экспрессии генов являются РНК и белки, анализ генной активности может быть основан на измерении концентрации соответствующих макромолекул в биологических образцах [16]. Традиционно для диагностических целей используется исследование специфических белков-маркеров данного патологического состояния. Например, при выявлении рака предстательной железы информативным сывороточным маркером является простатический специфический антиген (ПСА). В дополнение к выявлению ПСА в настоящее время предлагаются методы ПЦР-диагностики уровня РНК, производимой соответствующим геном. Для выполнения такого исследования необходимо сначала провести выделение РНК из клеток предстательной железы или осадка мочи. Затем осуществляют ПЦР с обратной транскрипцией, при которой на исходной РНК сначала синтезируется кДНК, которая затем и становится матрицей для ПЦР [17].

#### **Молекулярно-генетические исследования в фармакологии**

Как следует из сказанного, генодиагностика мутаций в медицинской практике может быть использована для установления наследственных причин заболеваемости человека. Однако следующая за установлением диагноза фармакотерапия также должна осуществляться с учетом генетической конституции пациента. Это стало очевидно с момента открытия механиз-

мов генетического контроля метаболизма ксенобиотиков в организме человека. Практически любой фармацевтический препарат может рассматриваться как вещество, чужеродное организму (ксенобиотик). Для детоксикации таких потенциально опасных ксенобиотиков и их скорейшей экскреции в окружающую среду организм осуществляет серию химических превращений, главным образом в печени.

В ходе первой фазы метаболизма вещество-субстрат становится более гидрофильным за счет введения в его структуру дополнительных поляризующих атомов, прежде всего кислорода. Это также приводит к повышению реакционной способности вещества для дальнейшей модификации. На второй стадии ксенобиотик может присоединять дополнительную функциональную группу, еще более повышающую растворимость химического комплекса в биологических жидкостях. В зависимости от структуры ксенобиотик проходит одну или две фазы превращений и выводится из организма с мочой или калом [18].

Ферменты-участники системы метаболизма ксенобиотиков в настоящее время хорошо изучены. Идентифицированы также гены, кодирующие эти ферменты. Детальный анализ нуклеотидной последовательности данных генов позволил выявить значительное количество мутаций, изменяющих структуру кодируемого белка или его экспрессию (**таблица 1**). Так или иначе многие мутации снижают или повышают скорость метаболизма и выведения ксенобиотика из организма. В первом случае наблюдается накопление лекарства в организме вплоть до токсической дозы. Наоборот, быстрая дезактивация и выведение вещества из организма снижают его терапевтический эффект.

Становится очевидным, что эффективность и безопасность лекарства будет зависеть от генотипа конкретного пациента. Так, лечение и профилактика тромбоза и эмболии кровеносных сосудов с использованием варфарина должны осуществляться с учетом индивидуальных генетических особенностей цитохрома CYP2C9. Носители нуклеотидных замен *C430T* и *A1075C* в гене имеют повышенный риск внутренних кровотечений даже при стандартной схеме приема препарата, так как данные мутации замедляют метаболизм и экскрецию варфарина из организма [19].

При химиотерапии колоректального рака часто используется иринотекан, который в пече-

Ген / Gene	Мутация / Mutation	Лекарства-субстраты / Drugs-substrates	Клинический эффект мутации на фоне приема препарата / Clinical effect of mutation upon the drug administration
I фаза метаболизма ксенобиотиков / I phase of xenobiotic metabolism			
CYP2C9	C430T A1075C	Варфарин / Warfarin	внутреннее кровотечение / Internal bleeding
CYP2C19	G681A	Клопидогрел / Clopidogrel	снижение антиагрегантной активности лекарства / Reduced antiplatelet activity of the drug
CYP2D6	2549delA G1846A	Метопролол / Metoprolol	брадикардия / Bradycardia
		Пропафенон / Propafenone	бронхоспазм, нейротоксичность / Bronchospasm, neurotoxicity
		Фенитоин / Phenytoin	атаксия, нистагм, дизартрия, седация / Ataxia, nystagmus, dysarthria, sedation
		Трамал / Tramal	снижение анальгетического эффекта / Reduced analgesic effect
		Тамоксифен / Tamoxifen	снижение эффективности противоопухолевой терапии / Reduced efficacy of anticancer therapy
II фаза метаболизма ксенобиотиков / II phase of xenobiotic metabolism			
NAT2	C481T G590A G857A	Изониазид / Isoniazid	Гепатотоксичность / Hepatotoxicity
UGT1A1	A(TA) <sub>7</sub> TAA A(TA) <sub>8</sub> TAA	Иринотекан / Irinotecan	Нейтропения, тяжелая диарея / Neutropenia, severe diarrhea
		Белинолат / Belinostat	Тошнота, рвота, анемия, пирексия / Nausea, vomiting, anemia, pyrexia

Таблица 1.

Некоторые гены и мутации, влияющие на восприятие человеком лекарственных препаратов [23–25]

Table 1.

Some genes and mutations affecting the drug metabolism [23–25]

ни подвергается глюкуронированию УДФ-глюкуронилтрансферазой A1 для последующего выведения из организма. Известны многочисленные мутации в гене *UGT1A1*, изменяющие активность данного фермента. Так, увеличение числа TA-повторов в промоторной области до 7 и 8 (при нормальном количестве 6) снижает экспрессию гена и производство белкового продукта. У пациентов, гомозиготных по мутациям A(TA)<sub>7</sub>TAA и A(TA)<sub>8</sub>TAA, на фоне приема иринотекана чаще чем у прочих наблюдаются нейтропения и тяжелая диарея, что сводит на нет терапевтический эффект препарата [20].

Понимание роли генетических особенностей в эффективности и безопасности фармакотерапии привело к разработке ряда нормативных документов и рекомендаций, предписывающих дозировать варфарин и иринотекан индивидуально, в соответствии с предварительно проведенным генотипированием пациентов. Аналогичные алгоритмы могут быть приняты в отношении если не всех, то, по крайней мере, большинства лекарственных препаратов. Очевидно, основной тенденцией дальнейшего развития фармакотерапии станет персонализиро-

ванный подбор подходящего лекарства и схемы его приема после установления генотипа пациента.

## Заключение

В завершение обсуждения темы следует отметить, что современный уровень научных знаний требует принимать во внимание генетическую конституцию человека как на стадии установления медицинского диагноза, так и последующей терапии. При этом ПЦР-исследования и смежные методы, ранее применявшиеся в фундаментальных биологических исследованиях, становятся рутинными медицинскими тестами для выявления генетических маркеров заболеваний с различной степенью наследственной детерминированности. С другой стороны, генетический полиморфизм человека определяет разнообразие индивидуальных реакций на экзогенные воздействия, в том числе – фармакотерапию.

Получаемые с помощью молекулярно-генетических исследований данные о пациенте должны привести не только к повышению эффективности диагностики и терапии, но и



сформировать новую концепцию профилактики заболеваний. Выявление генетической предрасположенности к той или иной патологии позволяет определить основные медицинские ри-

ски для каждого индивида еще на доназологической стадии и сформулировать рекомендации по поддержанию здоровья, трудоспособности и, как следствие, высокого качества жизни.

## Литература:

- Jackson M, Marks L, May GHW, Wilson JB. The genetic basis of disease. *Essays Biochem.* 2018;62(5):643-723. <https://doi.org/10.1042/EBC20170053>
- Волков А.Н., Цуркан Е.В. Мутация гена UGT1A1 как маркер высокого риска возникновения синдрома Жильбера: научно-прикладные аспекты. *Анализ риска здоровью.* 2019;2:123-129. <https://doi.org/10.21668/health.risk/2019.2.14>
- Iranzo J, Martincorena I, Koonin EV. Cancer-mutation network and the number and specificity of driver mutations. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2018;115(26):E6010-E6019. <https://doi.org/10.1073/pnas.1803155115>
- Kloosterman WP, Hochstenbach R. Deciphering the pathogenic consequences of chromosomal aberrations in human genetic disease. *Mol Cytogenet.* 2014;7:100. <https://doi.org/10.1186/s13039-014-0100-9>
- Волков А.Н., Рытенкова О.И., Бабарыкина Т.А., Лысенко Д.И. Цитогенетическая диагностика хромосомных аномалий при неразвивающейся беременности. *Клиническая лабораторная диагностика.* 2017;62(9):553-556. <https://doi.org/10.18821/0869-2084-2017-62-9-553-556>
- Mahadevan B, Snyder RD, Waters MD, Benz RD, Kemper RA, Tice RR, Richard AM. Genetic toxicology in the 21st century: reflections and future directions. *Environ Mol Mutagen.* 2011;52(5):339-354. <https://doi.org/10.1002/em.20653>
- Matsuda K. PCR-based detection methods for single-nucleotide polymorphism or mutation: real-time PCR and its substantial contribution toward technological refinement. *Adv Clin Chem.* 2017;80:45-72. <https://doi.org/10.1016/bs.acc.2016.11.002>
- Liu M, Yi J, Tang W. Association between angiotensin converting enzyme gene polymorphism and essential hypertension: A systematic review and meta-analysis. *J Renin Angiotensin Aldosterone Syst.* 2021;22(1):1470320321995074. <https://doi.org/10.1177/1470320321995074>
- Gintoni I, Adamopoulou M, Yapijakis K. The angiotensin-converting enzyme Insertion/Deletion polymorphism as a common risk factor for major pregnancy complications. *In vivo.* 2021;35(1):95-103. <https://doi.org/10.21873/in vivo.12236>
- Tyagi AK, Khoshbeen MB, Huezo-Diaz Curtis P, Uppugunduri CRS, Ansari M. Development and validation of an allele-specific PCR assay for genotyping a promoter and exonic single nucleotide polymorphisms of MGMT gene. *J Biol Methods.* 2018;5(2):e92. <https://doi.org/10.14440/jbm.2018.224>
- Волков А.Н., Хабиева С.М., Смирнова Е.Ю., Ларионов А.Ю. Генодиагностика мутаций UGT1A1 в практике современной медицины. *Клиническая лабораторная диагностика.* 2018;63(3):186-192. <https://doi.org/10.18821/0869-2084-2018-63-3-186-192>
- Tong Y, Shen S, Jiang H, Chen Z. Application of digital PCR in detecting human diseases associated gene mutation. *Cell Physiol Biochem.* 2017;43:1718-1730. <https://doi.org/10.1159/000484035>
- Krausz C, Hoefsloot L, Simoni M, Tüttelmann F. EAA/EMQN best practice guidelines for molecular diagnosis of Y-chromosomal microdeletions: state-of-the-art 2013. *Andrology.* 2014;2(1):5-19. <https://doi.org/10.1111/j.2047-2927.2013.00173.x>
- Luu MH, Press RD. BCR-ABL PCR testing in chronic myelogenous leukemia: molecular diagnosis for targeted cancer therapy and monitoring. *Expert Rev Mol Diagn.* 2013;13(7):749-762. <https://doi.org/10.1586/14737159.2013.835573>
- Туркина А.Г., Зарицкий А.Ю., Шуваев В.А., Чельшева Е.Ю., Ломаева Е.Г., Морозова Е.В., Голеньков А.К., Поспелова Т.И., Шушов О.А., Фоминых М.С., Гусарова Г.А., Кузьмина Л.А., Абдуллаев А.О., Мартынкевич И.С. Клинические рекомендации по диагностике и лечению хронического миелолейкоза. *Клиническая онкогематология.* 2017;10(3):294-316. <https://doi.org/10.21320/2500-2139-2017-10-3-294-316>
- Singh KP, Miaskowski C, Dhruva AA, Flowers E, Kober KM. Mechanisms and measurement of changes in gene expression. *Biol Res Nurs.* 2018;20(4):369-382. <https://doi.org/10.1177/1099800418772161>
- Павлов К.А., Шкопоров А.Н., Хохлова Е.В., Корчагина А.А., Сидоренков А.В., Григорьев М.Э., Пушкарь Д.Ю., Чехонин В.П. Разработка диагностической тест-системы для ранней неинвазивной диагностики рака простаты, основанной на количественной детекции мРНК гена PCA3 в осадке мочи методом ОТ-ПЦР в режиме реального времени. *Вестник РАМН.* 2013;5:45-51. <https://doi.org/10.15690/vramn.v68i5.662>
- Ahmed S, Zhou Z, Zhou J, Chen S. Pharmacogenomics of drug metabolizing enzymes and transporters: relevance to precision medicine. *Genomics Proteomics Bioinformatics.* 2016;14(5):298-313. <https://doi.org/10.1016/j.gpb.2016.03.008>
- Johnson JA, Caudle KE, Gong L, Whirl-Carrillo M. Clinical pharmacogenetics implementation consortium (CPIC) Guideline for pharmacogenetics-guided warfarin dosing: 2017 Update. *Clin Pharmacol Ther.* 2017;102(3):397-404. <https://doi.org/10.1002/cpt.668>
- Etienne-Grimaldi MC, Boyer JC, Thomas F, Quaranta S, Picard N, Lorient MA, Narjoz C, Poncet D, Gagnieu MC, Ged C, Broly F, Le Morvan V, Bouquie R, Gaub MP, Philibert L, Ghiringhelli F, Le Guellec C; Collective work by Groupe de Pharmacologie Clinique Oncologique (GPCO-Unicancer); French Réseau National de Pharmacogénétique Hospitalière (RNPgX). UGT1A1 genotype and irinotecan therapy: general review and implementation in routine practice. *Fundam Clin Pharmacol.* 2015;29(3):219-237. <https://doi.org/10.1111/fcp.12117>

## References:

- Jackson M, Marks L, May GHW, Wilson JB. The genetic basis of disease. *Essays Biochem.* 2018;62(5):643-723. <https://doi.org/10.1042/EBC20170053>
- Volkov AN, Tsurkan EV. UGT1A1 gene mutation as a marker indicating there is a high risk of Gilbert's syndrome: theoretical and applied aspects. *Health Risk Analysis.* 2019;2:123-129. (In Russ). <https://doi.org/10.21668/health.risk/2019.2.14>
- Iranzo J, Martincorena I, Koonin EV. Cancer-mutation network and the number and specificity of driver mutations. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2018;115(26):E6010-E6019. <https://doi.org/10.1073/pnas.1803155115>
- Kloosterman WP, Hochstenbach R. Deciphering the pathogenic consequences of chromosomal aberrations in human genetic disease. *Mol Cytogenet.* 2014;7:100. <https://doi.org/10.1186/s13039-014-0100-9>
- Volkov AN, Rytenkova OI, Babarykina TA, Lysenko DI. The cytogenetic diagnostic of chromosome anomalies under non-developing pregnancy. *Russian Clinical Laboratory Diagnostics.* 2017;62(9):553-556. (In Russ). <https://doi.org/10.18821/0869-2084-2017-62-9-553-556>
- Mahadevan B, Snyder RD, Waters MD, Benz RD, Kemper RA, Tice RR, Richard AM. Genetic toxicology in the 21st century: reflections and future directions. *Environ Mol Mutagen.* 2011;52(5):339-354. <https://doi.org/10.1002/em.20653>
- Matsuda K. PCR-based detection methods for single-nucleotide polymorphism or mutation: real-time PCR and its substantial contribution toward technological refinement. *Adv Clin Chem.* 2017;80:45-72. <https://doi.org/10.1016/bs.acc.2016.11.002>
- Liu M, Yi J, Tang W. Association between angiotensin converting enzyme gene polymorphism and essential hypertension: A

- systematic review and meta-analysis. *J Renin Angiotensin Aldosterone Syst.* 2021;22(1):1470320321995074. <https://doi.org/10.1177/1470320321995074>
9. Gintoni I, Adamopoulou M, Yapijakis K. The angiotensin-converting enzyme Insertion/Deletion polymorphism as a common risk factor for major pregnancy complications. *In vivo.* 2021;35(1):95-103. <https://doi.org/10.21873/in vivo.12236>
  10. Tyagi AK, Khoshbeen MB, Huezo-Diaz Curtis P, Uppugunduri CRS, Ansari M. Development and validation of an allele-specific PCR assay for genotyping a promoter and exonic single nucleotide polymorphisms of MGMT gene. *J Biol Methods.* 2018;5(2):e92. <https://doi.org/10.14440/jbm.2018.224>
  11. Volkov AN, Khabieva SM, Smirnova EYu, Larionov AV. The genetic diagnostics of mutations UGT1A1 in practice of modern medicine. *Russian Clinical Laboratory Diagnostics.* 2018;63(3):186-192. (In Russ). <https://doi.org/10.18821/0869-2084-2018-63-3-186-192>
  12. Tong Y, Shen S, Jiang H, Chen Z. Application of digital PCR in detecting human diseases associated gene mutation. *Cell Physiol Biochem.* 2017;43:1718-1730. <https://doi.org/10.1159/000484035>
  13. Krausz C, Hoefsloot L, Simoni M, Tüttelmann F. EAA/EMQN best practice guidelines for molecular diagnosis of Y-chromosomal microdeletions: state-of-the-art 2013. *Andrology.* 2014;2(1):5-19. <https://doi.org/10.1111/j.2047-2927.2013.00173.x>
  14. Luu MH, Press RD. BCR-ABL PCR testing in chronic myelogenous leukemia: molecular diagnosis for targeted cancer therapy and monitoring. *Expert Rev Mol Diagn.* 2013;13(7):749-762. <https://doi.org/10.1586/14737159.2013.835573>
  15. Turkina AG, Zaritskii AYU, Shuvaev VA, Chelysheva EYu, Lomaia EG, Morozova EV, Golenkov AK, Pospelova TI, Shukhov OA, Fominykh MS, Gusarova GA, Kuz'mina LA, Abdullaev AO, Martynkevich IS. Group of authors under the supervision of academician v
  - Savchenko. *Clinical oncohematology.* 2017;10(3):294-316. (In Russ). <https://doi.org/10.21320/2500-2139-2017-10-3-294-316>
  16. Singh KP, Miaskowski C, Dhruva AA, Flowers E, Kober KM. Mechanisms and measurement of changes in gene expression. *Biol Res Nurs.* 2018;20(4):369-382. <https://doi.org/10.1177/1099800418772161>
  17. Pavlov KA, Shkoporov AN, Khokhlova EV, Korchagina AA, Sidorenkov AV, Grigoriev ME, Pushkar DU, Chekhonin VP. Development of a diagnostic test system for early non-invasive detection of prostate cancer based on PCA3 mRNA levels in urine sediment using quantitative reverse transcription polymerase chain reaction (qRT-PCR). *Annals of the Russian academy of medical sciences.* 2013;68(5):45-51. (In Russ). <https://doi.org/10.15690/vramn.v68i5.662>
  18. Ahmed S, Zhou Z, Zhou J, Chen S. Pharmacogenomics of drug metabolizing enzymes and transporters: relevance to precision medicine. *Genomics Proteomics Bioinformatics.* 2016;14(5):298-313. <https://doi.org/10.1016/j.gpb.2016.03.008>
  19. Johnson JA, Caudle KE, Gong L, Whirl-Carrillo M. Clinical pharmacogenetics implementation consortium (CPIC) Guideline for pharmacogenetics-guided warfarin dosing: 2017 Update. *Clin Pharmacol Ther.* 2017;102(3):397-404. <https://doi.org/10.1002/cpt.668>
  20. Etienne-Grimaldi MC, Boyer JC, Thomas F, Quaranta S, Picard N, Lorient MA, Narjoz C, Poncet D, Gagnieu MC, Ged C, Broly F, Le Morvan V, Bouquie R, Gaub MP, Philibert L, Ghiringhelli F, Le Guellec C; Collective work by Groupe de Pharmacologie Clinique Oncologique (GPCO-Unicancer); French Réseau National de Pharmacogénétique Hospitalière (RNPGx). UGT1A1 genotype and irinotecan therapy: general review and implementation in routine practice. *Fundam Clin Pharmacol.* 2015;29(3):219-237. <https://doi.org/10.1111/fcp.12117>

## Сведения об авторах

**Волков Алексей Николаевич**, кандидат биологических наук, доцент кафедры биологии с основами генетики и паразитологии ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (650025, Россия, г. Кемерово, ул. Ворошилова, д. 22а).

**Вклад в статью:** написание статьи.

**ORCID:** 0000-0003-1169-715X

**Начева Любовь Васильевна**, доктор биологических наук, профессор, заведующая кафедрой биологии с основами генетики и паразитологии ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (650025, Россия, г. Кемерово, ул. Ворошилова, д. 22а).

**Вклад в статью:** написание статьи.

**ORCID:** 0000-0002-3148-8788

Статья поступила: 03.08.2021 г.

Принята в печать: 31.08.2021 г.

Контент доступен под лицензией CC BY 4.0.

## Authors

**Dr. Alexey N. Volkov**, PhD, Associate Professor, Department of Biology, Genetics and Parasitology, Kemerovo State Medical University (22a, Voroshilova Street, 650056, Russian Federation).

**Contribution:** wrote the manuscript.

**ORCID:** 0000-0003-1169-715X

**Prof. Lyubov V. Nacheva**, MD, DSc, Professor, Head of the Department of Biology, Genetics, and Parasitology, Kemerovo State Medical University (22a, Voroshilova Street, 650056, Russian Federation).

**Contribution:** wrote the manuscript.

**ORCID:** 0000-0002-3148-8788

Received: 03.08.2021

Accepted: 31.08.2021

Creative Commons Attribution CC BY 4.0.