

© Коллектив авторов, 2018
УДК 577.1

Кайшева А.Л.¹, Гришин Д.В.¹, Каменский П.А.², Федорончук Т.В.¹,
Мальсагова К.А.¹, Чойнзонов Е.Л.³, Лисица А.В.¹

Современные направления развития постгеномных медицинских технологий

¹ Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт биомедицинской химии им. В.Н. Ореховича», 119121, г. Москва, Россия, Погодинская ул., д. 10/7

² Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова», 119991, г. Москва, Россия, Ленинские горы, д. 1

³ Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, 634009, г. Томск, Россия, пер. Кооперативный, д. 5

Цель работы — анализ ключевых постгеномных технологий, ожидаемых в рамках реализации приоритета научно-технологического развития, определённого пунктом 20 «Переход к персонализированной медицине, высокотехнологичному здравоохранению и технологиям сохранения здоровья, в том числе за счет рационального применения лекарственных препаратов (прежде всего антибактериальных)» СНТР Российской Федерации». **Результаты.** Обозначены наиболее перспективные направления дальнейших исследований. Мировой уровень развития постгеномных технологий (ПГТ) позволяет перейти от этапов исследований и разработок к внедрению в медицинскую практику. На сегодняшний день к основным направлениям успешного практического применения ПГТ в России и за рубежом относят биофармацевтику, включая разработку методов генного редактирования для лечения онкологических и орфанных заболеваний, развитие методов молекулярного профилирования для персонализированной медицины и питания, увеличения активного возраста человека. **Заключение.** Быстрое развитие высокопроизводительных постгеномных технологий и вычислительных систем позволило беспрепятственно исследовать биологические системы. Индивидуальные и интегративные постгеномные профили полезны для мониторинга состояния здоровья человека, оказания превентивных мероприятий и выбора эффективной лекарственной терапии.

Ключевые слова: постгеномные технологии, биотехнология, биофармацевтика, персонализированная медицина.

Для цитирования: Кайшева А.Л., Гришин Д.В., Каменский П.А., Федорончук Т.В., Мальсагова К.А., Чойнзонов Е.Л., Лисица А.В. Современные направления развития постгеномных медицинских технологий. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*. 2018; 62(3): 95—105.

DOI: 10.25557/0031-2991.2018.03.95-105

Для корреспонденции: Кайшева Анна Леонидовна, канд. биол. наук, ст. науч. сотр. лаб. нанобиотехнологии, e-mail: kaysheva1@gmail.com

Финансирование. Исследование выполнено в рамках Соглашения от 23.10.2017 г. № 14.601.21.0015 с Министерством образования и науки РФ (уникальный идентификатор проекта RFMEF160117X0015). Идентификатор государственного соглашения 0000000007417PE10002.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 27.02.2018

Kaysheva A.L.¹, Grishin D.V.¹, Kamenski P.A.², Fedoronchuk T.V.¹, Choynzonov E.L.⁴, Lisitsa A.V.¹

Current directions in development of postgenomic medical technologies

¹ Institute of Biomedical Chemistry, Pogodinskaya Str. 10/7, Moscow 119121

² M.V. Lomonosov Moscow State University, Moscow, Leninskie Gory 1, Moscow 119991

³ Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, of the Russian Academy of Sciences, Tomsk, Kooperativnyi Pereulok 5, Tomsk 634009

The aim of this study was to analyze key expected postgenomic technologies as a part of priority in scientific and technological development defined in item 20 of the Strategy for Scientific and Technological Development of the Russian Federation, «Transition to personalized medicine, high-tech health care and health saving technologies through the rational use of medicines (primarily antibacterial)». **Results.** The most promising areas of further research were identified. The international level of postgenomic technologies (PGT) allows to move from research and development to implementation in medical practice. Presently, industrial biotechnology, biopharmaceuticals, including development of gene editing methods for treatment of oncological and orphan diseases and molecular profiling methods for individualized medicine, nutrition, and prolonging the

active life are considered the main directions for successful practical use of PGT in Russia and other countries. **Conclusion.** Rapid development of high-performance postgenomic technologies and computer systems has expedited studying biological systems. Individual and integrative postgenomic profiles are useful for monitoring the state of human health, taking preventive measures, and selecting effective drug therapy.

Keywords: postgenomic technologies, biotechnology, biopharmaceuticals, personalized medicine.

For citation: Kaysheva A.L., Kamenski P.A., Grishin D.V., Fedoronchuk T.V., Choynzonov E.L., Lisitsa A.V. Modern directions of development of postgenomic medical technologies. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya terapiya. (Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian Journal)*. 2018; 62 (3): 95—105. (in Russian).

DOI: 10.25557/0031-2991.2018.03.95-105

For correspondence: Anna L. Kaysheva, Doctor of Biological Sciences, Senior Researcher, Institute of Biomedical Chemistry; 119121, Moscow, Pogodinskaya, 10/, Russian Federation, e-mail: kaysheva1@gmail.com

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Acknowledgement. The research was carried out within the framework of the Agreement of 23.10.2017 № 14.601.21.0015 with the Ministry of Education and Science of the Russian Federation (unique identifier of the project RFMEF160117X0015). The identifier of the state agreement 000000007417PE10002.

Information about authors:

Kaysheva A.L. <http://orcid.org/0000-0003-4472-2016>

Grishin D.V. <https://orcid.org/0000-0002-0756-1869>

Kamenski P.A. <http://orcid.org/0000-0002-0621-4611>

Choynzonov E.L. <http://orcid.org/0000-0002-3651-0665>

Received 27.02.2018

Введение

Результатами выполнения крупнейшего международного проекта «Геном человека» стало развитие методологических подходов к исследованию человеческого генома и аннотация генов, кодирующих белки. По сути, проект «Геном человека» открыл новые горизонты наукам о жизни, ознаменовав начало «постгеномной эры» создания новых методов превентивной и персонализированной медицины, здоровьесбережения. Между отдельным геном и соответствующим признаком выстроились, так называемые постгеномные профили. «Сверху вниз», то есть от гена к признаку их можно расположить следующим образом:

- геном — совокупность генов организма;
- эпигеном — совокупность модификаций генома и механизмы регуляции наследственной информации в ответ на действие внешних факторов [1];
- транскриптом — полный набор всех транскриптов, синтезируемых одной клеткой или группой клеток;
- протеом — совокупность белков организма, производимых клеткой, тканью или организмом в определённый период времени при данных условиях;
- метаболом — полный набор низкомолекулярных метаболитов как в биологическом образце, так и в единичном организме.

Быстрое развитие высокопроизводительных постгеномных технологий (ПГТ) и вычислительных систем облегчило исследование биологических систем.

Именно индивидуальные и интегративные постгеномные профили, такие, как эпигеном, транскриптом, протеом, метаболом, интерактом и проч., будут полезны для мониторинга состояния здоровья человека, оказания превентивных мероприятий и выбора эффективной лекарственной терапии. В конечном итоге, постгеномное профилирование человека позволит трансформировать медицину из традиционной симптоматической в превентивную и профилактическую [2].

В последние 5 лет наблюдается непрерывный рост интереса научного сообщества к ПГТ. Так, по данным наиболее авторитетных наукометрических баз данных PubMed (www.pubmed.com) и Web of Science (<https://webofknowledge.com>) число опубликованных научных исследований выросло за последние 5 лет более чем на 30%. Суммарное число исследований за последние 5 лет по ПГТ превышает 155 000 (по версии PubMed) и 55 000 (по версии Web of Science). На основании выполненного нами семантического анализа опубликованных в реферируемых изданиях медико-биологических исследований, посвященных развитию ПГТ, мы выделили следующие технологии профилирования. Наиболее перспективными направлениями являются геномные исследования, включая спортивную геномику, насчитывающие за последние 5 лет более 85 000 исследований по данным PubMed и почти 22 000 исследований по данным Web of Science; а также протеомика и метиломика, для которых опубликовано соответственно

26 000 и 33 000 исследований по данным PubMed, 21 600 и 41 700 исследований по данным Web of Science. Достаточно высокая публикативная активность среди научных групп наблюдается для транскриптомного, липидомного и гликомного профилирования, для которых за последние 5 лет по данным PubMed и Web of Science выполнено несколько тысяч исследований. Напротив, к нутригеномике и секретомике высокого интереса исследователи пока не проявляют.

Ожидается, что персонализированная медицина станет парадигмой будущего медицинского обслуживания, в первую очередь благодаря активно развивающимся технологиям высокопроизводительного секвенирования и масс-детектирования сверхвысокого разрешения в последнее десятилетие [3]. Традиционная симптоматическая диагностика и лечение заболеваний обладают существенными недостатками. Главным из них следует признать выявление заболевания лишь на терминальной стадии, когда игнорируются или не могут быть определены факторы риска, бессимптомные доклинические патофенотипы или не берутся во внимание основные механизмы развития симптомов. Современные описания болезней могут интерферировать с симптомами целого спектра заболеваний. Кроме того, редукционистский подход к выявлению лекарственных мишеней в традиционной медицине может чрезмерно упростить сложный характер большинства заболеваний [3]. Именно новейшие технологические возможности крупномасштабного, высокопроизводительного и точного генетического, транскриптомного, протеомного и метаболомного профилирования и анализа генерируемых метаданных, как ожидается, снимут эти ограничения, а также позволят перейти к интерпретации индивидуализированных различий в диагностике и лечении заболеваний [2].

По всей видимости, будущее персонализированное медицинское обслуживание будет опираться на персональные молекулярные профили, включая эпигеномный, транскриптомный, протеомный, метаболомный и проч. Такая системная информация будет характеризовать физиологическое состояние в реальном времени — Personal Omics Profile (iPOP) [4]. Далее мы подробнее остановимся на ключевых постгеномных технологиях и областях их применения.

Метилоника

Каждое живое существо обладает консервативным геномом, который является неизменным в течение всей жизни (за исключением соматических мутаций). Напротив, эпигеном подвергается изменениям в зависимости от вида, возраста, пола, факторов окружающей среды, состояния здоровья и многого другого. К эпигенетическим модификациям можно отнести: метилирование, ацетилирование, фосфорили-

рование, биотинилирование, убиквитилирование и действие малых некодирующих РНК. Однако именно метилирование генетического материала является главным эпигенетическим фактором, поскольку может носить постоянный характер и играть важную роль в онто- и филогенезе, являясь одним из факторов видообразования [5].

Метилирование ДНК в клетке контролирует практически все генетические процессы, включая транскрипцию, репликацию, рекомбинацию, транспозицию генов, репарацию, инактивацию X-хромосомы (половая дифференцировка) и проч. [6]

На сегодня метилирование ДНК, а в некоторых случаях и РНК, известно в качестве ключевого механизма регуляции онтогенеза и клеточной дифференцировки, а также подавления экспрессии чужеродных последовательностей и мобильных генетических элементов эукариот. В клетках млекопитающих функционируют, по меньшей мере, две системы метилирования, за которые отвечают ферменты — метилтрансферазы, или метилазы [7]:

- метилирование *de novo* — медленный процесс последовательного внесения элементов изменчивости в метиломный профиль в онтогенезе;
- поддерживающее метилирование — процесс поддержки уже сформированного и наследуемого профиля.

Метилированию подвергается чаще всего цитозин, реже аденин, в составе генов и в их регуляторных элементах. При этом зачастую метилирование промоторов оказывает большое влияние на сайленсинг генов и тканеспецифичность их экспрессии. Упрощенная схема регуляции экспрессии генов посредством метилирования CpG-островков промотора представлена на рисунке.

Вызовы и перспективы метиломных исследований

Как уже упоминалось выше, современные ПГТ, включая метиломное профилирование, являются источником большого объема данных («*big data*»), характеризующих уникальное физиологическое состояние человека. В настоящее время аннотировано метилирование лишь для 80 генов, которые связывают с процессами старения и развитием патологических состояний организма. Метилирование большей части генов, промоторов и сигнальных областей до сих пор не изучено.

Другая интересная область приложения метиломных исследований — изучение механизмов эпигенетической клеточной памяти, обеспечивающих поддержание должной регуляции клеточной дифференциации и активности генов в ряду клеточных поколений. До сих пор неизвестны механизмы компенсаторной

защиты статуса метилирования генома, которая наиболее развита у высших эукариот.

Направления метиломных исследований

Результаты аннотации сайтов метилирования ДНК представляют собой перспективный молекулярный инструмент для исследований в области общей биологии, сельского хозяйства, генетической дактилоскопии, геронтологии, спортивной медицины, диетологии и др.

Метиломика в общей биологии и сельском хозяйстве

Можно привести множество примеров, касающихся успехов и перспектив использования метиломных исследований в общей биологии и аграрном секторе, однако остановимся лишь на некоторых из них. Так, *эмбриология* чаще всего требует изучения динамики метилирования в процессе клеточной дифференцировки и закладки зародышевых листков. Для этой области достигнуты, пожалуй, наибольшие успехи, поскольку объектом исследований здесь преимущественно является общая доля метилирования в той или иной ткани на определенном этапе гистогенеза [8]. Эта задача технически существенно легче, чем прицельное изучение метилирования отдельных сайтов.

В *растениеводстве* всё чаще практикуется изучение регуляции экспрессии генов ферментов и транскрипционных факторов культурных растений, а также

ассоциации уровня метилирования и экспрессии генов с продуктивностью и акклиматизацией [9].

Метилирование ДНК становится всё более привлекательным маркером, обладающим большим аналитическим потенциалом и в области *филогенетики (эволюционной биологии, археологии и проч.)*, поскольку уникальные особенности метиломных профилей выявлены даже в древней ДНК мамонта, неандертальца и денисовского человека возрастом более 10 тыс. лет [5—7].

Метиломика в криминалистике (генетическая дактилоскопия)

Возможности метиломного филогенетического анализа могут быть использованы в криминалистике. Исторически первым методом молекулярно-генетической дактилоскопии является ДНК-профилирование по мини- и микросателлитным последовательностям, ставшее незаменимым инструментом для специалистов криминалистических служб. Однако, вероятность полного совпадения ДНК родных (не однояйцовых) братьев и сестер достаточно высока и составляет 1:100000, что затрудняет работу криминалистов и судебных экспертов. Поэтому в последние годы развиваются методы идентификации ДНК близнецов [5, 8]. Наиболее точный из них предполагает полное секвенирование геномов обоих близнецов для идентификации мутаций, которые могли появиться

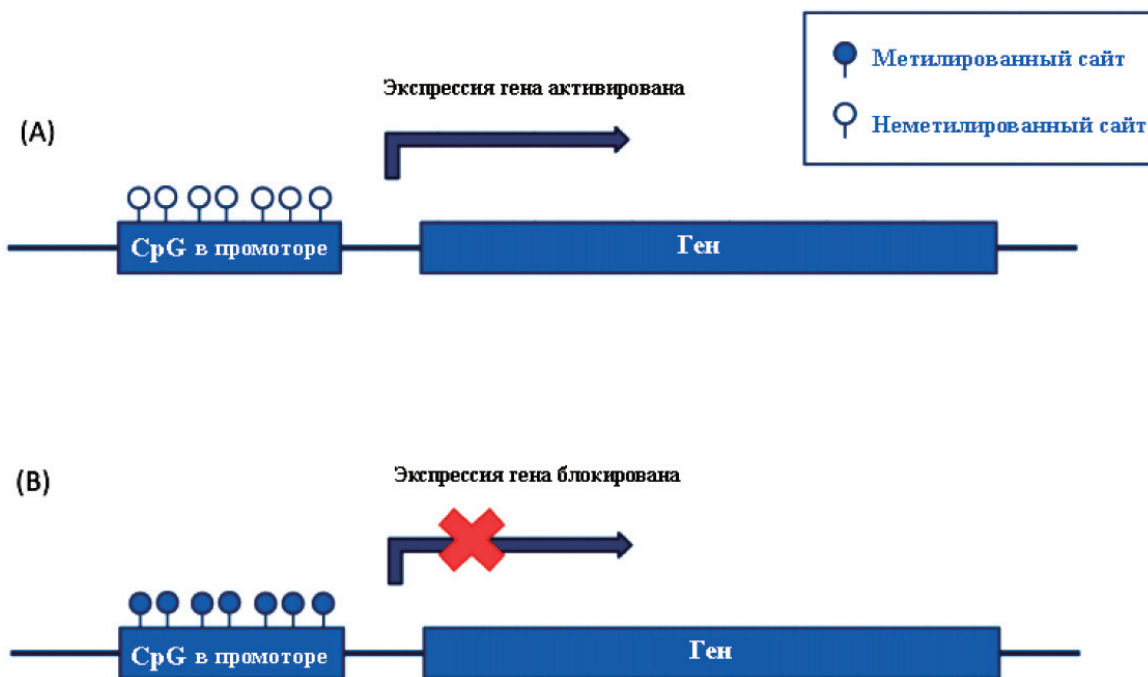


Схема метилирования CpG-островков промоторной области, в результате которого подавляется экспрессия гена (адаптировано из Nikolova Y.S., Hariri A.R. Trends Cogn Sci. 2015; 19(7): 366-373).

в геноме одного из них. Однако этот подход требует больших финансовых и временных затрат [10].

Напротив, недорогое и высокопроизводительное направленное метилозное профилирование кодирующих и некодирующих регионов ДНК представляет собой методологический прорыв для выявления различий между близнецами и близкими родственниками. Поскольку на процессы метилирования в раннем возрасте оказывают влияние внутренние процессы и факторы окружающей среды (питание, радиационный фон и проч.), то изучение профиля метилирования маркерных локусов ДНК является, пожалуй, единственным методом, потенциально способным отличить биообразцы даже однояйцовых близнецов и предсказать условия, в которых происходило становление их организма.

Исследования последних лет показывают также возможность определения пола посредством изучения метилирования фрагментов генов *DXZ4* и *HOXA4* [11, 12]. Научной группой под руководством Cheng Xu определены локусы различных областей ДНК, по профилю метилирования которых с высокой точностью можно определить даже возраст человека [13].

Метиломика в биомедицине

В настоящее время возрос интерес к изучению роли эпигенетических изменений в развитии патологических состояний. Было установлено, что в сложном процессе образования опухолей, нарушение функций генов может происходить не только в результате генетических событий (точечные мутации, делеции и проч.), но и в результате эпигенетических изменений, в том числе локального гиперметилирования ДНК. Аберрантному гиперметилированию в опухолевых клетках часто подвергаются CpG-островки, ассоциированные с 5'-регуляторными районами многих генов [14, 15].

Метиломика в геронтологии

Механизмы и маркеры старения чрезвычайно сложны и многообразны. В процесс старения вовлечены экзо- и эндогенные факторы, включая особенности питания, оксидативный стресс, летальные гены, ферменты, протоонкогены и ряд эпигенетических факторов, в том числе метилирование генов и их промоторов, деацетилирование гистонов и проч. Современная биология уделяет проблеме старения много внимания, появляются новые научные факты, позволяющие лучше понять механизмы этого процесса. В связи с этим стоит упомянуть о концепции возрастной инверсии жизненной стратегии клеток высших эукариот с учётом динамики метилирования промоторов некоторых системных генов [16, 17]. Данная концепция объясняет механизм процесса старения клеток

высших эукариот с точки зрения комплекса защитно-приспособительных реакций, направленных на противодействие скоротечным формам старения, свойственным эволюционно ранним формам хордовых. Анализ литературных данных свидетельствует о том, что определёнными признаками подобного защитного комплекса обладают участники двух важнейших внутриклеточных систем [18—24]:

- системы активаторов циклин-зависимых протеинкиназ (АЦЗК);
- системы ферментов-участников метаболизма азотистых оснований (ФМАО).

При этом одним из важнейших молекулярных инструментов, ответственных за возрастные изменения экспрессии целого ряда генов, является метилирование их промоторов [25, 26]. Поэтому резонно предположить, что метилирование 5'-регуляторных участков непосредственно вовлечено в возрастную регуляцию экспрессии генов АЦЗК и ФМАО. Изменение статуса метилирования промоторов данных генов в процессе старения организма также может быть уникальным маркером молекулярно-генетической инверсии.

По этой причине комплексное изучение возрастной динамики метилирования промоторов генов АЦЗК и системы ФМАО, а также изучение корреляции данного процесса с возрастной динамикой экспрессии соответствующих функциональных белков и изменением концентрации некоторых конечных продуктов метаболизма азотистых оснований предоставит уникальную научную информацию и расширит представления о логике, персонализированности и неоднородности процессов старения.

Метиломика и спортивная медицина

Развитие ПГТ открывает новые возможности использования специфичных биомаркеров в практике спортивного отбора и имеет большое практическое значение, заключающееся в улучшении спортивных результатов, уменьшении финансовых издержек на подготовку спортсменов и предупреждении риска развития патологических состояний. Многие патологические и физиологические процессы, включая выносливость и предрасположенность к скоростно-силовым нагрузкам, обнаруживают определённый наследуемый компонент, однако он не всегда проявляет четкий менделевский характер наследования. В настоящее время считается, что эпигенетические механизмы, такие, как метилирование, позволяют дать альтернативное объяснение особенностям развития многих (пато)физиологических состояний.

В практике спорта обычно используются методики определения биохимических показателей, ассоциированных с такими характеристиками, как сила и вы-

носимость: АТФ, креатинфосфат, глюкоза, свободные жирные кислоты, АТФаза, креатинфосфокиназа, цитохромоксидаза, лактатдегидрогеназа, молочная кислота, пировиноградная кислота, кетоновые тела, мочевина, креатинин, креатин, мочевая кислота, рН крови, гемоглобин, парциальное давление CO_2 , резервная щелочность, стероидные гормоны, инсулин, соматотропин, витамины, бикарбонаты и соли фосфорной кислоты, общий белок и его фракции в плазме крови и т.д. [27, 28].

Реализация международного проекта «Геном человека» вкрупне с дальнейшими успехами функциональной геномики позволили выявить специфические гены, тесно связанные с развитием и проявлением наследственных болезней, а также определить некоторые гены, ответственные за реализацию нормальных физиологических и метаболических функций человека [29—36]. Наиболее вероятными кандидатами на роль генетических маркеров в спорте являются гены, определяющие функции сердечно-сосудистой системы, энергетического обмена, нервно-мышечной системы; гены, обуславливающие антропометрические показатели и стресс-устойчивость.

Изучение полиморфизма генов не может выступать в качестве уникального маркера физических возможностей, биологического возраста и проч. Например, последовательность гена NO -синтазы будет одинакова и у новорожденного, и у пожилого человека. Однако профиль метилирования промотора данного гена будет отличаться между возрастными периодами, поэтому данный параметр уже может выступать в качестве уникального «отпечатка» физиологического состояния человека.

При отборе спортсменов важной информацией является не только предрасположенность к скоростно-силовым нагрузкам, но и данные о потенциальном физиологическом «ресурсе» спортсмена, т.е. о том отрезке его жизни, на протяжении которого он будет работать в максимальной степени эффективно и с минимальным травмирующим эффектом по отношению к собственному организму. На процессы метилирования влияют факторы окружающей среды (питание, курение, радиационный фон и т.п.), но преимущественно в предпубертатный период [31, 32]. При этом происходит программирование организма на долгие годы вперед.

Таким образом, очевидно, что процессы метилирования наиболее пластичны в раннем возрасте. Именно в этот период можно модулировать обратимые эпигенетические состояния, закладывая эпигенетические основы спортивного фенотипа (за счёт создания благоприятных условий питания, проживания, тренировок и т.п.). Между тем «норма реакции генов» всё равно будет доминировать, т.к. уровень экс-

прессии, активности и селективности поддерживающих ДНК-метилтрансфераз, *de novo* ДНК-метилтрансфераз а также вспомогательных факторов у разных индивидумов различен, а стало быть, различна и динамика метилирования промоторов и генов, что, в конечном счёте, проявляется в виде различий в экспрессии, физиологических состояниях и предрасположенностях.

Таким образом, уровень метилирования регуляторных элементов с разной скоростью возрастает у разных индивидов в течение жизни, определяя, в свою очередь, возрастное изменение экспрессии генов, что говорит о наличии индивидуальной онтогенетической динамики метилирования. Международной исследовательской группой под руководством Wahl S. на примере прогнозирования развития диабета 2-го типа уже было показано, что по характеру изменения метилирования можно предсказать риск развития этого патологического состояния — причем с большей достоверностью, чем по традиционным маркерам (тип ожирения, содержание глюкозы в крови) [33]. Подобные научные факты, несомненно, обуславливают актуальность создания отдельного направления для поиска и систематизации групп генов, адекватно ассоциированных с физическими кондициями, а также для изучения динамики метилирования этих генов и их промоторных регионов в качестве биомаркеров, способных достоверно отразить ресурсный потенциал и тенденцию формирования желаемого спортивного фенотипа. Ожидается, что подобные профили метилирования будут сродни «штрих-коду», специфичному для каждого индивида в соответствующий онтогенетический период.

Метиломика в диетологии

Изучение метилирования генов и их регуляторных областей и взаимосвязи этого процесса с особенностями питания, экспрессией генов ферментов и рецепторов, ассоциированных с метаболизмом и утилизацией различных нутриентов в организме человека и животных, может иметь перспективы при планировании индивидуальных рационов для предупреждения развития целого ряда патологических процессов. Например, высокий уровень метилирования последовательностей, относящихся к гену лактазы, ассоциирован с низкой экспрессией данного фермента и, соответственно, с плохой усвояемостью дисахарида лактозы из молочных продуктов, следствием чего может стать развитие синдрома мальабсорбции (СМА) [37].

Очевидно, что на сегодняшний день заложены основы новой науки нутрициоэпигеномики, задачами которой является изучение роли пищевых предпочтений на экспрессию генов и формирование патофизиологических состояний. В рамках соответствующих ис-

следований Waterland с коллегами продемонстрировали тот факт, что избыток доноров метильных групп (производные фолиевой кислоты, витамин В₁₂, бетаин, холин, фталаты и др.) в материнском рационе может влиять на патофизиологические характеристики потомства [38]. Например, у лабораторных мышей с преобладанием подобного рациона наблюдалось изменение степени метилирования промотора гена *Ago1*, ответственного за процесс нормального распределения пигментов в организме, что проявлялось аномалиями в окраске шерсти [39]. Некоторые исследователи даже связывают появление определённых вариантов аутизма и ряда других нарушений развития ЦНС с избытком доноров метильных групп в рационе их матерей в период беременности [40].

Таким образом, за последние годы научным сообществом проведена масштабная работа по исследованию метилирования кодирующих и не кодирующих областей геномной ДНК. Однако большая часть генома остается до сих пор неизученной, что открывает перспективы для медико-биологических исследований.

Медицинская геномика

Технологический прорыв в молекулярном профилировании проливает свет на механизмы развития патологического процесса в организме, обеспечивает переход к молекулярной диагностике и персонализированному лечению. Новейшие высокопроизводительные и точные технологии секвенирования генома значительно облегчили развитие геномики и транскриптомики. В свою очередь технологии нанопотокового разделения и масс-детекции сверхвысокого разрешения предоставили новые возможности для развития протеомики и метаболомики, которые стали мощными инструментами для изучения заболеваний. Анализ молекулярных основ патологических процессов интересует все большее число практикующих врачей [41, 42].

На сегодня проводятся активные исследования ассоциации генома в поисках генетических вариантов, ассоциированных с проявлением специфического фенотипа — проект GWAS (<http://gwas.nih.gov/>) [3]. Национальный исследовательский институт генома человека (NHGRI, США) представил 1355 публикаций и разработал каталог, аннотирующий ассоциации между 7226 однонуклеотидными полиморфизмами (SNP) и 710 различимыми фенотипами [43]. Изученные фенотипы значительно варьируют: от рака (например, предстательной железы и молочной железы) и системных заболеваний (например, диабет типов 1 и 2, болезнь Крона) до общих признаков (например, индекс роста и массы тела). Полученные результаты расширяют понимание ассоциаций генетических локусов с развитием заболеваний, и в будущем

позволят прогнозировать риск развития заболевания и эффективность лекарственной терапии. С другой стороны, исследования проекта GWAS имеют ограничения применения, поскольку анализируют небольшую часть генома без учета взаимодействия генов, эпистаза и факторов окружающей среды [44].

Секвенирование полноразмерного генома (WGS) и экзома (WES) стали доступными для медико-биологических исследований и быстро замещают ДНК-микрочиповые технологии. Онкогенетика опирается на технологии WGS. На сегодня секвенировано большое количество онкологических геномов в рамках международных программ и консорциумов, включая Международный консорциум генома рака (<http://www.icgc.org/>) и Атлас генома рака (<http://cancergenome.nih.gov/>) [45—47]. Различные исследования показали, что каждая опухоль характеризуется индивидуальным набором мутаций. Важно отметить, что секвенирование генома рака часто выявляет потенциальные мишени, которые могут предполагать эффективность лечения рака у отдельных пациентов.

Полногеномное и экзомное секвенирование облегчит выявление возможных причинно-следственных генов, ассоциированных с наследованием генетических заболеваний. Так, геномное секвенирование братьев-близнецов с ДЮФА-(3,4-дигидроксибензилаланин)-чувствительной дистонией помогло идентифицировать одну пару уникальных гетерозиготных мутаций в гене *SPR*, которая и стала основной причиной развития заболевания у братьев [48].

Фармакогеномика — еще одно важное применение полногеномного секвенирования. Известно, что один и тот же препарат по-разному влияет на людей из-за их индивидуального геномного фона и привычек [3]. Генетическая информация может использоваться для коррекции назначений лекарственных препаратов и снижения их побочных эффектов. Например, генетические особенности человека, как известно, влияют на реакцию пациентов на антипсихотические препараты [3]. Основываясь на фармакогеномных исследованиях, Управление по контролю за продуктами и лекарствами США (FDA) требует проведения предварительных генетических тестов для четырех антипсихотических препаратов до назначения их пациентам, а также для противораковых препаратов цетуксимаб, трастузумаб, дазатиниб, препарата против ВИЧ маравирик и пр. [3].

Постгеномные технологии и здоровьесбережение

Значимость практических результатов молекулярного профилирования организма для медицины и здравоохранения сложно переоценить. Поиск перспективных лекарственных кандидатов, развитие мето-

дов молекулярной диагностики, выявление молекулярных и клеточных механизмов патогенеза, геномная паспортизация человека — это неполный перечень медико-биологического применения данных, генерируемых ПГТ. Инструментами молекулярного профилирования, помимо описанных ранее, являются:

- иммуноанализ (антителом), направленный на выявление аллергенов скрытой пищевой непереносимости. Результатом иммуноанализа являются рекомендации по коррекции рациона питания и исключения пищевых факторов, угнетающих иммунную систему человека.

- полногеномный анализ активности генов, например, связанных с обеспечением энергетических потребностей организма в соответствии с физическими нагрузками.

- электролитный анализ, обеспечивающий комплексное исследование водно-солевого, энергетического и минерального обмена у человека. Электролитный анализ позволяет прогнозировать индивидуальные адаптационные возможности организма.

Метаболомное и протеомное профилирование характеризует состояние организма в целом; позволяет фиксировать критические изменения, связанные с совокупностью факторов, в том числе изменение пищевого рациона, режимов физической нагрузки и психоэмоционального состояния человека.

В 2016 г. консорциум HealthNet-Сибирь¹ в рамках дорожной карты HealthNet разработал проект *SmartClinic* для реализации Национальной технологической инициативы (НТИ), утвержденной Правительством России в 2016 г. Результатом проекта является прецизионная модель здравоохранения, основанная на использовании данных об организме человека для оптимизации клинической деятельности как бизнес-процесса. Преимуществом проекта *SmartClinic* является то, что отладка предполагается на уникальном объекте, сочетающем интересы госкорпораций «Росатом» и «Роскосмос» — ЗАТО «Железнодорожск». Проект НТИ предусматривает коммерциализацию на рынках велнес- и фитнес-индустрии, а также трансформацию решений для нужд спорта высоких достижений.

Проект *SmartClinic* отвечает на вызов СНТР-2035, предлагая программно-процессный инструментарий для здоровьесбережения². Инструмент персонального «лайф-коучинга» подстраивается к индивидуальным особенностям образа жизни, стрессо-

вым нагрузкам, к климатическим и экологическим особенностям региона, а прежде всего — к личным резервам адаптации организма. Основы здоровьесбережения заложены в ГНЦ «Институт медико-биологических проблем РАН» при исследовании вопросов адаптации человека к условиям космоса. В настоящее время полученные результаты находятся на этапе готовности к реализации в экономике³. Дальнейшее продвижение требует преломления решенных научных задач в плоскости цифровых данных об организме человека. В связи с этим проект *SmartClinic* разработан для преодоления ключевых барьеров НТИ «HealthNet»⁴ в секторе превентивной медицины за счет внедрения ПГТ технологий в действующие стандарты оказания медицинской помощи и накопления больших данных для картирования (технологий Big-Data)». Ожидается экономический эффект для сферы здравоохранения и ряда социально-экономических отраслей Российской Федерации:

- повышение производительности труда; снижение нагрузки на систему первичной медицинской помощи;

- снижение экономических потерь предприятий от временной нетрудоспособности сотрудников с острыми хроническими неинфекционными заболеваниями;

- снижение расходов Фондов Социального Страхования и снижения количества лиц, нуждающихся в социальном уходе по старости;

- сокращение продолжительности и стоимости лечения в связи с эффективным индивидуальным подбором лечения;

- повышение инвестиционной привлекательности отечественной науки.

В таблице обобщены данные о применении ПГТ в медицине.

Заключение

Выполнен анализ ключевых технологий, ожидаемых в рамках реализации приоритета в области постгеномных технологий. Обозначены наиболее перспективные направления дальнейших исследований. Мировой уровень развития ПГТ позволяет перейти от этапов исследований и разработок к внедрению в медицинскую практику. Практическое применение постгеномных технологий в медицине очень широко и находится в диапазоне от поиска потенциальных маркеров заболеваний до решения задач геронтологии и

¹ Ассоциация HealthNet-Сибирь объединяет лидеров индустрии и общества, взаимодействующих с НТИ в рамках HealthNet с учетом преимуществ и перспективы развития региона.

² Приоритет реализации СНТР, п. 20(в): персонализированная медицина, высокотехнологичное здравоохранение и здоровьесбережение.

³ Наиболее известными аналогами являются проект VISTERA (visteraproject.fr) и 100k Wellness (systemsbiology.org/research/100k-wellness-project/), в России — проект welltory.ru.

⁴ План мероприятий («дорожная карта») «HealthNet» Национальной технологической инициативы.

Таблица

Практическое применение постгеномных технологий в медицине

Область действия	Принцип	Технология
Потенциальные маркеры заболевания	Сравнительный панорамный анализ биообразца на "норму/патологию", разработка количественных, методов целевой детекции биомолекул в биологической матрице	Молекулярное профилирование
Молекулярная диагностика	Создание наборов реагентов для анализа статичных и динамических биомаркеров; Иммунодиагностика (антитела/аптамеры); Молекулярная патология, в том числе исследование изменения молекулярно-генетической компоненты внутриклеточных сигнальных путей для разработки технологий персонализированной медицины	Молекулярное профилирование
Быстрая диагностика "у постели больного"	Развитие портативных АПК для экспресс-диагностики заболеваний. АПК — нанопроводные, нанопоровые, электробиосенсоры	Геномные, эпигеномные, транскриптомные, метиломные
Молекулярное профилирование и выявление молекулярных механизмов патогенеза	Отказ от концепции поиска "уникального" маркера или группы маркеров заболевания. Биоинформатическая фиксация молекулярного отпечатка индивида в определенном (пато)физиологическом состоянии индивида	Все ПГТ
Геномная паспортизация человека	База данных и знаний генотипов и гаплотипов населения России; База данных и знаний клинико-ассоциированных одиночных и множественных нуклеотидных полиморфизмов, генов и генных сетей, влияющих на эффективность фармакотерапии	Геномные, эпигеномные
Геронтология	Молекулярные метки участвуют в регуляции активности генов и промоторов в процессе онтогенеза в ответ на воздействие внешних факторов.	Метиломные, эпигеномные

спортивной геномики. Несмотря на три десятилетия непрерывных инвестиций всех стран мира в исследование биомаркеров, до сих не обнаружены надежные и специфичные биомаркеры подавляющего большинства заболеваний, что затрудняет переход к персонализированной и превентивной медицине. Качественный скачок в развитии методов секвенирования, многомерной хроматографии и масс спектрометрии сверхвысокого разрешения, произошедший за последние годы, повысил интерес исследователей к поиску кандидатных маркеров различных патологий, а также позволил развить направление молекулярного профилирования. Именно отказ от концепции поиска «уникального» маркера или группы маркеров заболевания в пользу изучения *патологии как процесса* дает надежды на выявление молекулярного отпечатка, специфичного конкретному (пато)физиологическому состоянию человека, а также открывает новые горизонты для медицины «Трех П» (превенция, предикция и персонализация) [49—52].

Не менее привлекательно и продуктивно применение современных постгеномных технологий в решении вопросов геронтологии, а именно для улучшения качества жизни пожилых людей. Несмотря на то, что старение является неизбежным биологическим явлением, ученые не оставляют попыток понять его механизмы и замедлить или даже обратить вспять этот процесс [53].

References

1. Berestyayana A.N. Methylation as the most important mechanism of epigenetic regulation in eukaryotes. *Uspekhi sovremennoy biologii*. 2014; 134: 363-76. (in Russian)
2. Chen R., Snyder M. Promise of Personalized Omics to Precision Medicine. *Wiley Interdiscip Rev Syst Biol Med*. 2013; 5: 73-82.
3. Snyder M., Du J., Gerstein M. Personal genome sequencing: current approaches and challenges. *Genes & development*. 2010; 24: 423-31.
4. Chen R., Mias G.I., Li-Pook-Than J., Jiang L., Lam H.Y., et al. Personal omics profiling reveals dynamic

molecular and medical phenotypes. *Cell*. 2012; 148: 1293-307.

5. Lee H.Y., Lee S.D., Shin K.J. Forensic DNA methylation profiling from evidence material for investigative leads. *BMB Rep*. 2016; 49: 359-69.

6. Gokhman D., Lavi E., Prufer K., Fraga M.F., Riancho J.A., et al. Reconstructing the DNA methylation maps of the Neandertal and the Denisovan. *Science*. 2014; 344: 523-27.

7. Briggs A.W., Stenzel U., Meyer M., Krause J., Kircher M. et al. Removal of deaminated cytosines and detection of in vivo methylation in ancient DNA. *Nucleic Acids Res*. 2010; 38: e87.

8. Fulka H., Mrazek M., Tepla O., Fulka J.Jr. DNA methylation pattern in human zygotes and developing embryos. *Reproduction*. 2004; 128 (6): 703-8.

9. Karan R., DeLeon T., Biradar H., Subudhi P.K. Salt Stress Induced Variation in DNA Methylation Pattern and Its Influence on Gene Expression in Contrasting Rice Genotypes. *PLoS One*. 2012; 7 (6): e40203.

10. Stewart L., Evans N., Bexon K.J., van der Meer D.J., Williams G. Differentiating between monozygotic twins through DNA methylation-specific high-resolution melt curve analysis. *Anal Biochem*. 2010; 476: 36-9.

11. Pohlers M., Calabrese J.M., Magnuson T. *Small RNA expression from the human macrosatellite DXZ4*. G3 (Bethesda). 2010; 4: 1981-9.

12. Lee H.Y., Park M.J., Choi A., An J.H., Yang W.I. et al. Potential forensic application of DNA methylation. *Int J Legal Med*. 2012; 126: 55-62.

13. Xu C., Qu H., Wang G. et al. A novel strategy for forensic age prediction by DNA methylation and support vector regression model. *Sci Rep*. 2015; 5: 17788.

14. Chan A., Broaddus R.R., Houlihan P.S., Issa J-P.J., Hamilton S.R. et al. CpG Island Methylation in Aberrant Crypt Foci of the Colorectum. *Am J Pathol*. 2002; 160 (5): 1823-30.

15. Baylin S.B., Herman J.G., Graff J.R., Vertino P.M., Issa J.P. Alterations in DNA methylation: a fundamental aspect of neoplasia. *Adv. Cancer Res*. 1998; 72: 141-96.

16. Grishin D.V. Relationship between the Duration of G1 Period of the Eukaryotic Cell Cycle and Age-Associated Changes in the Expression of Cyclin D1 and Nuclear Receptors, *Bulleten of Experimental Biology and Medicine*. 2012; 154: 80-3.

17. Grishin D.V. Molecular-genetic inversion of the cell cycle: the concept of R/K-aging of higher eukaryotes. *Uspekhi sovremennoy biologii*. 2013; 133: 323-32. (in Russian)

18. Witkowski J.M., Bryl E. Paradoxical age-related cell cycle, quickening of human CD4 (+) lymphocytes: a role for cyclin D1 and calpain. *Exp Gerontol*. 2004; 39: 577-85.

19. Quadri R.A., Arbogast A., Phelouzat M.A., Boutet S., Plastre O., Proust J.J. Age-Associated Decline in cdk1 Activity Delays Cell Cycle Progression of Human T Lymphocytes. *J Immunol*. 1999; 161: 5203-9.

20. Chkhotua A.B., Gabusi E., Altimari A., D'Errico A., Yakubovich M. et al. Increased expression of p16 (INK4a) and p27 (Kip1) cyclin-dependent kinase inhibitor genes in aging human kidney and chronic allograft nephropathy. *Am J Kidney Dis*. 2003; 41: 1303-13.

21. Suska M., Brucka-Jastrzebska E., Kawczuga D. Na⁺, K⁽⁺⁾-ATPase activity and ATP concentration in the Wielkopolski breed in relation to age. *Pol J Vet Sci*. 2011; 14: 635-42.

22. Sabbah M., Courilleau D., Mester J., Redeuilh G. Estrogen induction of the cyclin D1 promoter: involvement

of a cAMP response-like element. *PNAS*. 1999; 96: 11217-22.

23. Kamiya K., Sakakibara K., Ryer E.J., Hom R.P., Le-of E.B. et al. Phosphorylation of the cyclic AMP response element binding protein mediates transforming growth factor beta-induced downregulation of cyclin A in a vascular smooth muscle cells. *Mol Cell Biol*. 2007; 27: 3489-98.

24. Karigane D., Kobayashi H., Morikawa T., Ootomo Y. et al. P38 α Activates Purine Metabolism to Initiate Hematopoietic Stem / Progenitor Cell Cycling in Response to Stress. *Stem Cell*. 2016; 19: 192-204.

25. Siegfried Z., Simon I. DNA methylation and gene expression. *Wiley Interdiscip Rev Syst Biol Med*. 2010; 2: 362-71.

26. Moarii M., Boeva V., Vert J.-P., Reyat F. Changes in the correlation between promoter methylation and gene expression in cancer. *BMC Genomics*. 2015; 16: 873.

27. Vinnichuk Yu.D., Gunina L.M. Predictors and markers of the functional condition of athletes during training in the middle reaches. *Health for All*. 2014; 2: 3-10. (in Russian)

28. Mikhailov S.S. *Sports Biochemistry. Textbook for high schools and colleges of physical culture*. 2nd ed. In: Moscow: Soviet Sport. 2004. (in Russian)

29. Rogozkin V.A. Decoding of the human genome and sport. *Theory and Practice of Physical Culture*. 2001; 6: 60-3. (in Russian)

30. Rogozkin V.A. *Sport Genetics: Status and Prospects. VII International Scientific Congress «Modern Olympic Sport and Sport for All»*. 2003; 3: 265-9. (in Russian)

31. Nazarov I., Woods D., Montgomery H., Schneider O., Kazakov V. et al. The angiotensin converting enzyme 1/D polymorphism in Russian athletes. *Eur J Hum Genet*. 2001; 9: 797-801.

32. Lim U.U., Song M.A. Dietary and lifestyle factors of DNA methylation. *Methods Mol Biol*. 2012; 863: 359-76.

33. Acevedo N., Reinius L.E., Vitezic M. et al. Age-associated DNA methylation changes in immune genes, histone modifiers and chromatin remodeling factors within 5 years after birth in human blood leukocytes. *Clin Epigenetics*. 2015; 26: 34.

34. Wahl S., Drong A., Lehne B. et al. Epigenome-wide association study of the body mass index, and the adverse outcome of adiposity. *Nature*. 2017; 541: 81-6.

35. Lalani R., Bhasin S., Byhover F. et al. Myostatin and insulin-like growth factor-I and -II expression in the muscle of rats exposed to the microgravity environment of the NeuroLab space shuttle flight. *J Endocrinol*. 2000; 167: 417-28.

36. Izumikawa M., Hayashi K. et al. Effects of Amelogenin on Proliferation, Differentiation, and Mineralization of Rat Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells In Vitro. *Scientific World Journal*. 2012; 2012: 8.

37. Grishin D.V., Nikitin A.V. Perspectives of prevention and treatment of malabsorption syndrome. *Antibiotiki i khimioterapiya*. 2009; 3: 49-51. (in Russian)

38. Waterland R.A., Dolinoy D.C., Lin J.R., Smith C.A., Shi X. et al. Maternal methyl supplements increase offspring DNA methylation at Axin Fused. *Genesis*. 2006; 44 (9): 401-6.

39. Anderson O.S., Sant K.E., Dolinoy D.C. Nutrition and epigenetics: An interplay of dietary methyl donors, one-carbon metabolism, and DNA methylation. *J Nutr Biochem*. 2012; 23(8): 853-9.

40. O'Neill R.J., Vrana P.B., Rosenfeld C.S. Maternal methyl supplemented diets and effects on offspring health. *Front Genet*. 2014; 26: 289.

41. Bansal A.K., Shetty D.C., Bindal R., Pathak A. Amelogenin: A novel protein with diverse applications in genetic and molecular profiling. *J Oral Maxillofac Pathol.* 2012; 16: 395-9.
42. Moch H., Blank P.R., Dietel M., Elmberger G., Kerr K.M. et al. Personalized cancer medicine and the future of pathology. *Virchows Archiv: an international journal of pathology.* 2012; 460: 3-8.
43. Berman D.M., Bosenberg M.W., Orwant R.L., Thurborg B.L., Draetta G.F., Fletcher C.D., Loda M. Investigative pathology: leading the post-genomic revolution, Laboratory investigation; a journal of technical methods and pathology. 2012; 92: 4-8.
44. Khan F.A., Pandupuspitasari N.S., Chun-Jie H., Ao Z., Jamal M. et al. CRISPR/Cas9 therapeutics: a cure for cancer and other genetic diseases. *Oncotarget.* 2016; 7: 52541-52.
45. Hindorff L.A., MacArthur J., Wise A., Junkins H.A., Hall P.N. et al. *A Catalog of Published Genome-Wide Association Studies.* 2012.
46. Antman E., Weiss S., Loscalzo J. Systems pharmacology, pharmacogenetics, and clinical trial design in network medicine. *Wiley interdisciplinary reviews Systems biology and medicine.* 2012; 4: 367-83.
47. Puente X.S., Pinyol M., Quesada V., Conde L., Ordonez G.R. et al. Whole-genome sequencing identifies recurrent mutations in chronic lymphocytic leukaemia. *Nature.* 2011; 475: 101-5.
48. Bainbridge M.N., Wiszniewski W., Murdock D.R., Friedman J., Gonzaga-Jauregui C. et al. Whole-genome sequencing for optimized patient management. *Science translational medicine.* 2011; 3: 87re83.
49. Kaysheva A.L., Kopylov A.T., Ponomarenko E.A., Kiseleva O.I., Teryaeva A.A. et al. Relative Abundance of Proteins in Blood Plasma Samples from Patients with Chronic Cerebral Ischemia. *J. Mol. Neurosci.* 2018.
50. Kaysheva A.L., Kopylov A.T., Pleshakova T.O., Iourov I.Y., Vorsanova S.G. et al. Proteomic analysis of serum. *Biotechnologia Aplicada.* 2017; 34(2): 2211-4.
51. Kaysheva A.L., Kopylov A.T., Yurov I.Y., Archakov A.I., Ivanov Y.D. Proteomic analysis of serum protein profiles in children with autism. *Voprosy Prakticheskoy Pediatrii.* 2016; 11 (5): 12-7. (in Russian)
52. Khramova T.V., Kaysheva A.L., Ivanov Y.D., Pleshakova T.O., Iourov I.Y. et al. Serologic Markers of Autism Spectrum Disorder. *J Mol Neurosci.* 2017; 62(3-4): 420-9.
53. Lisitsa A.V., Ponomarenko E.A., Lkhov P.G., Archakov A.I. Postgenomic Medicine: Alternative to Biomarkers. *Vestn Ross Akad Med Nauk.* 2016; 71(3): 255-60. (in Russian)

Сведения об авторах:

Кайшева Анна Леонидовна, канд. биол. наук, ст. науч. сотр. лаб. нанобиотехнологии ИБМХ, e-mail: kaysheva1@gmail.com

Гришин Дмитрий Викторович, канд. биол. наук, ст. науч. сотр. лаб. медицинской биотехнологии, e-mail: gdv-23@yandex.ru

Каменский Петр Андреевич, доктор биол. наук, вед. науч. сотр. каф. молекулярной биологии МГУ им. М.В. Ломоносова, e-mail: piotr.kamenski@gmail.com;

Федорончук Тамара Васильевна, канд. биол. наук, вед. науч. сотр. ИБМХ, e-mail: tamara_fedoronch@mail.ru

Мальсагова Кристина Ахмедовна, мл. науч. сотр. лаб. нанобиотехнологии ИБМХ, e-mail: f17-1086@yandex.ru

Чойнзонов Евгений Лхамцыренович, доктор мед. наук, акад. РАН, директор НИИ онкологии, e-mail: choynzopov@tnimc.ru

Лисица Андрей Валерьевич, доктор биол. наук, акад. РАН, директор ИБМХ, e-mail: inst.biomed.chem@gmail.com