

МЕТОДЫ СОВРЕМЕННОЙ ГЕНЕТИКИ. ЛЕКЦИЯ

Ткачук Е.А.^{1,2}, Семинский И.Ж.¹

¹ ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России, Иркутск, Россия

² ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», Иркутск, Россия

РЕЗЮМЕ

Современная генетика использует целый ряд методов, которые являются её инструментами в познании сущности наследственной патологии человека. Методы генетики, как правило, используются совместно. Понимание возможностей методов изучения генетики человека является залогом успешной диагностики наследственных заболеваний.

В лекции представлены методы изучения современной генетики. Показано, что клиническая генетика оперирует целым рядом методов, которые позволяют успешно решать поставленные перед ней задачи. К методам современной генетики относятся: генеалогический, клинический, цитогенетический, молекулярно-цитогенетический, молекулярно-генетический, популяционный, близнецовый, дерматоглифический, биоинформационный, биохимический, параклинический, биоинженерный методы и метод моделирования. Все методы имеют прикладное значение и помогают поставить диагноз, а также предсказать развитие заболевания.

Методы генетики используют в диагностических схемах при постановке диагноза наследственного заболевания. В клинической практике, как правило, вначале применяют методы, имеющие наименьшую стоимость, а затем прибегают к более точным, современным, но и дорогостоящим методикам. Это позволяет установить диагноз даже самого редкого наследственного заболевания.

Ключевые слова: генетика, методы генетики, молекулярно-генетическая диагностика, генотерапия

Для цитирования: Ткачук Е.А., Семинский И.Ж. Методы современной генетики. Лекция. *Байкальский медицинский журнал*. 2023; 2(1): 60-71. doi: 10.57256/2949-0715-2023-2-1-60-71

METHODS OF MODERN GENETICS. LECTURE

Tkachuk E.A.^{1,2}, Seminsky I.Z.¹

¹ Irkutsk State Medical University, Irkutsk, Russia

² Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, Irkutsk, Russia

ABSTRACT

Modern genetics uses a number of methods that are its tools in understanding the essence of human hereditary pathology. Genetic methods are usually used together. Understanding the possibilities of methods for studying human genetics is the key to successful diagnosis of hereditary diseases.

The lecture presents methods for studying modern genetics. It is shown that clinical genetics operates with a number of methods that allow successfully solving the tasks assigned to it. The methods of modern genetics include: genealogical, clinical, cytogenetic, molecular cytogenetic, molecular genetic, population, twin, dermatoglyphic, bioinformatic, biochemical, paraclinical, bioengineering methods and modeling method. All methods are of practical importance and help to make a diagnosis and predict the development of the disease.

Methods in genetics are used in diagnostic schemes when making a diagnosis of a hereditary disease. In clinical practice, as a rule, methods with the lowest cost are used first, and then more accurate, modern, but also expensive methods are resorted to. This allows to establish the diagnosis of even the rarest hereditary disease.

Key words: *genetics, genetic methods, molecular genetic diagnostics, gene therapy*

For citation: Tkachuk E.A., Seminsky I.Z. Methods of modern genetics. *Baikal Medical Journal*. 2023; 2(1): 60-71. doi: 10.57256/2949-0715-2023-2-1-60-71

АКТУАЛЬНОСТЬ

Современная генетика имеет в своём арсенале целый ряд методов, которые позволяют ей развиваться, совершать новые открытия и расширять возможности для диагностики наследственной патологии. Многие методы в генетике используются совместно, некоторые принадлежат исключительно генетике, некоторые имеют широкий спектр применения. Понимание возможностей методов генетики является залогом успешной диагностики наследственных заболеваний.

ГЕНЕАЛОГИЧЕСКИЙ МЕТОД

Генеалогический метод широко используется не только в генетике, но и в других медицинских специальностях. Его целью является выявление наследственного характера заболевания. Этот метод является одним из старейших методов генетики, однако, несмотря на его рутинность и некоторую субъективность, он до сих пор является одним из основных при диагностике наследственных заболеваний [1]. Часто этот метод называют клинико-генеалогическим, подчёркивая его тесную связь с клиническими проявлениями заболевания [2].

Генеалогический метод — это метод составления родословной пациента для определения типа

наследования, пенетрантности, интенсивности мутационного процесса, определения группы сцепления генов, принадлежности гена к определённой хромосоме, наличия взаимодействия генов и вероятности рождения у пробанда ребёнка с изучаемым или альтернативным ему признаком [3]. С помощью генеалогического метода можно диагностировать заболевания с менделирующими признаками, наследуемыми по аутосомно-доминантному и аутосомно-рецессивному типам, сцепленные с полом (X-доминантные, X-рецессивные, Y-сцепленные или голандрические) [4], а также заболевания с митохондриальным типом наследования. Заболевания с неменделирующим типом наследования, такие как эпигенетические, мультифакториальные болезни (с полигенным типом наследования), заболевания митохондрий с ядерным типом наследования, выявить с помощью генеалогического метода можно, но определить тип наследования, как правило, нельзя [4, 5].

Митохондриальное (цитоплазматическое) наследование относится к неменделирующим признакам и связано с передачей митохондриальной ДНК только от матери. Этот тип наследования можно выявить при генеалогическом анализе. При митохондриальном наследовании больная мать передаёт заболевание митохондрий всем своим детям, а у больного отца рождаются только

ТАБЛИЦА 1

ПРИЗНАКИ МЕНДЕЛЕВСКИХ ТИПОВ НАСЛЕДОВАНИЯ [4]

Тип наследования	Особенности заболевания у лиц разного пола	Особенности передачи в родословной
Аутосомно-доминантный (рис. 1)	Мужчины и женщины болеют в равной пропорции	«Вертикальный» тип передачи: больные во многих поколениях родословной (практически в каждом поколении). Передача от лица любого пола лицу любого пола.
Аутосомно-рецессивный (рис. 2)	Мужчины и женщины болеют в равной пропорции	«Горизонтальный» тип передачи: больные в одном поколении. Имеются «пропуски» поколений (т. е. поколения, не имеющие больных потомков). Имеют место кровнородственные браки.
X-сцепленный доминантный (рис. 3)	Болеют мужчины и женщины с преобладанием женщин. Женщины поражены в меньшей степени, чем мужчины. В случае летальных для мальчиков болезней поражены только девочки; наблюдаются спонтанные аборт в семье.	Поражённые мужчины могут передавать заболевание своим дочерям, но не сыновьям. Передача от мужчины к мужчине исключает X-сцепленный тип наследования
X-сцепленный рецессивный (рис. 4)	Как правило, больны мужчины	«Диагональный» тип передачи: мужчины не могут передавать заболевание своим сыновьям. Возможна передача только внуку от деда через его дочь, которая является непоражённой облигатной носительницей
Сцепленный с Y-хромосомой (рис. 5)	Болеют только мужчины	Поражённые мужчины могут передавать заболевание только своим сыновьям

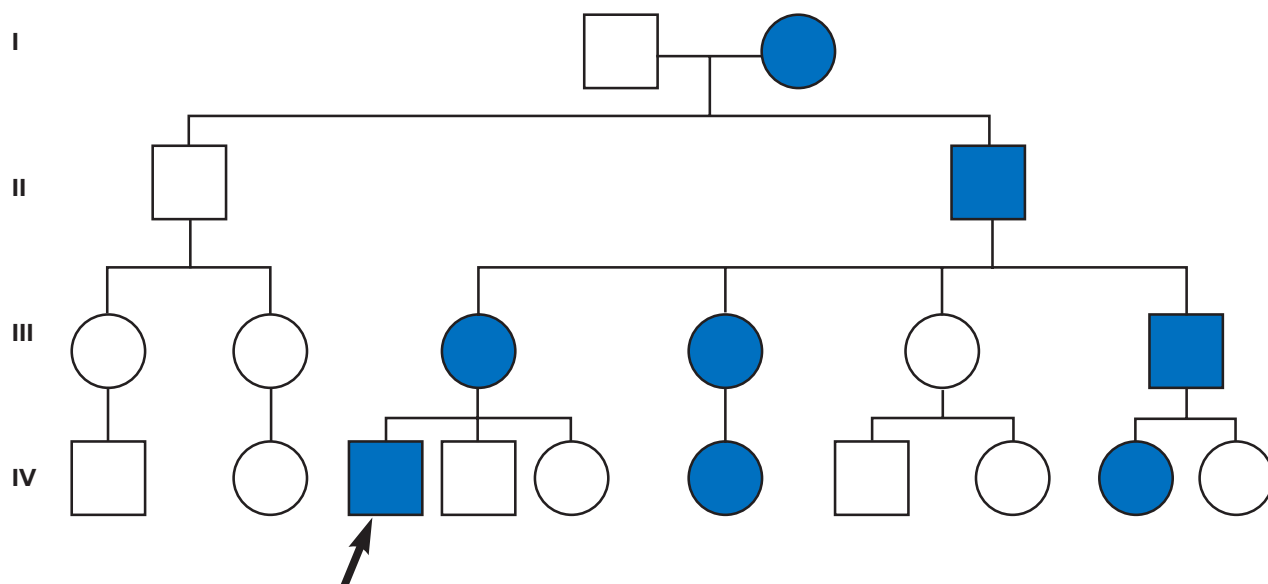


РИС. 1. Аутосомно-доминантный тип наследования

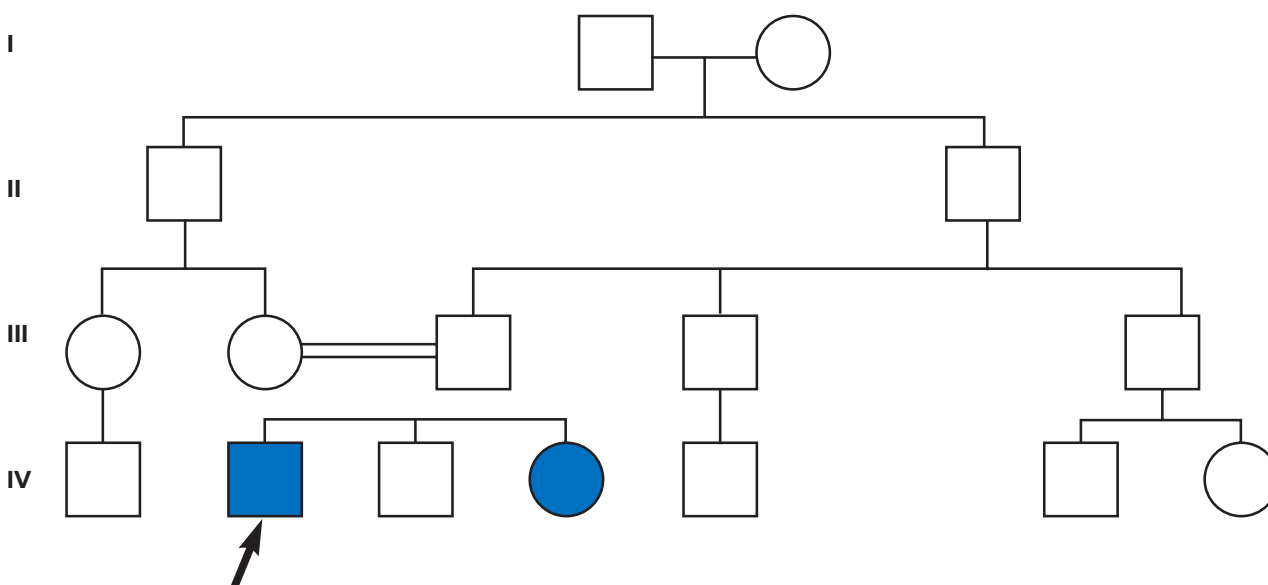


РИС. 2. Аутосомно-рецессивный тип наследования

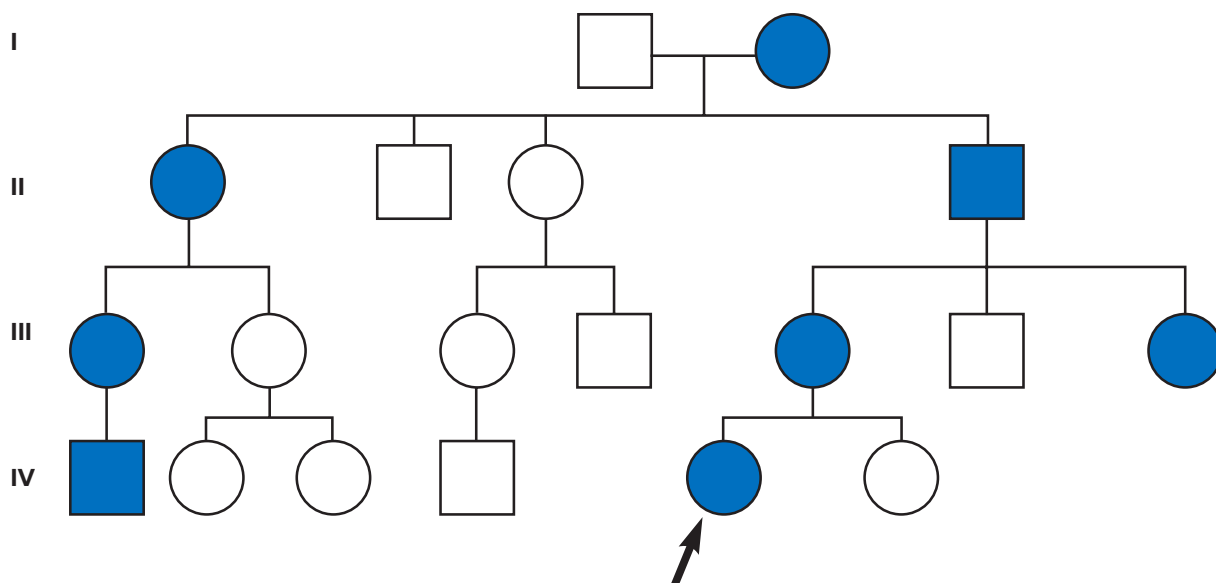


РИС. 3. Х-сцепленный доминантный тип наследования

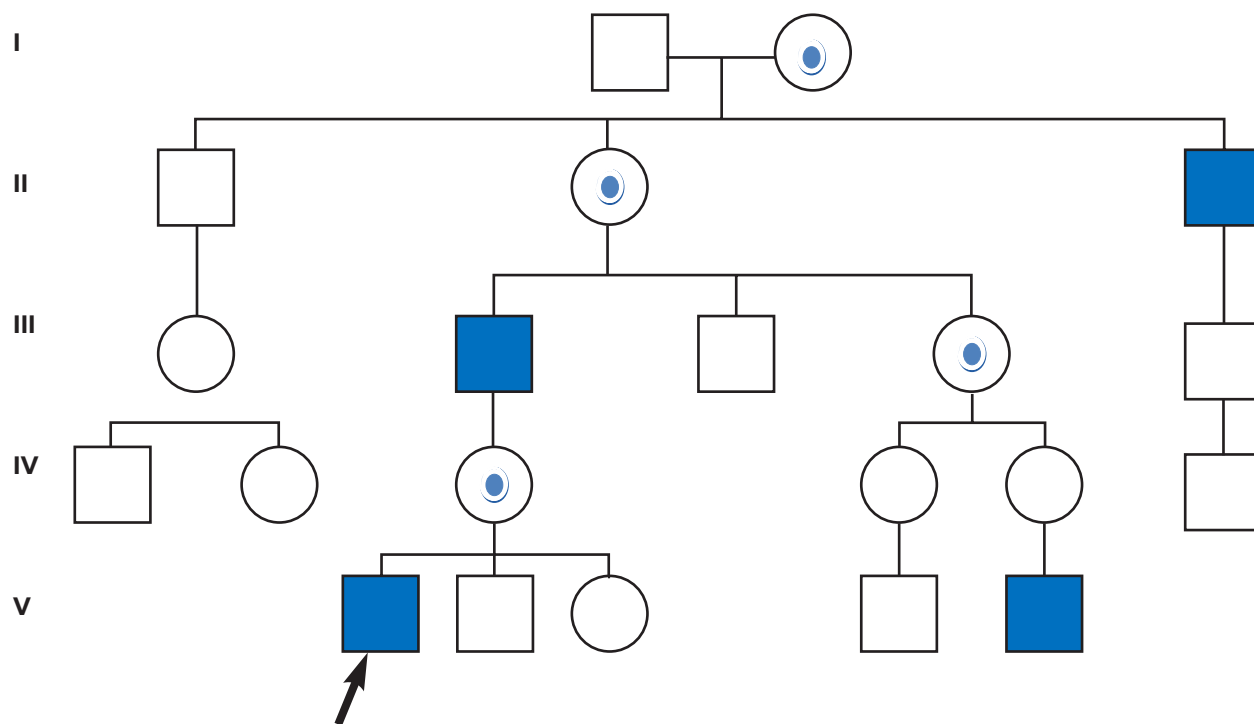


РИС. 4. X-сцепленный рецессивный тип наследования

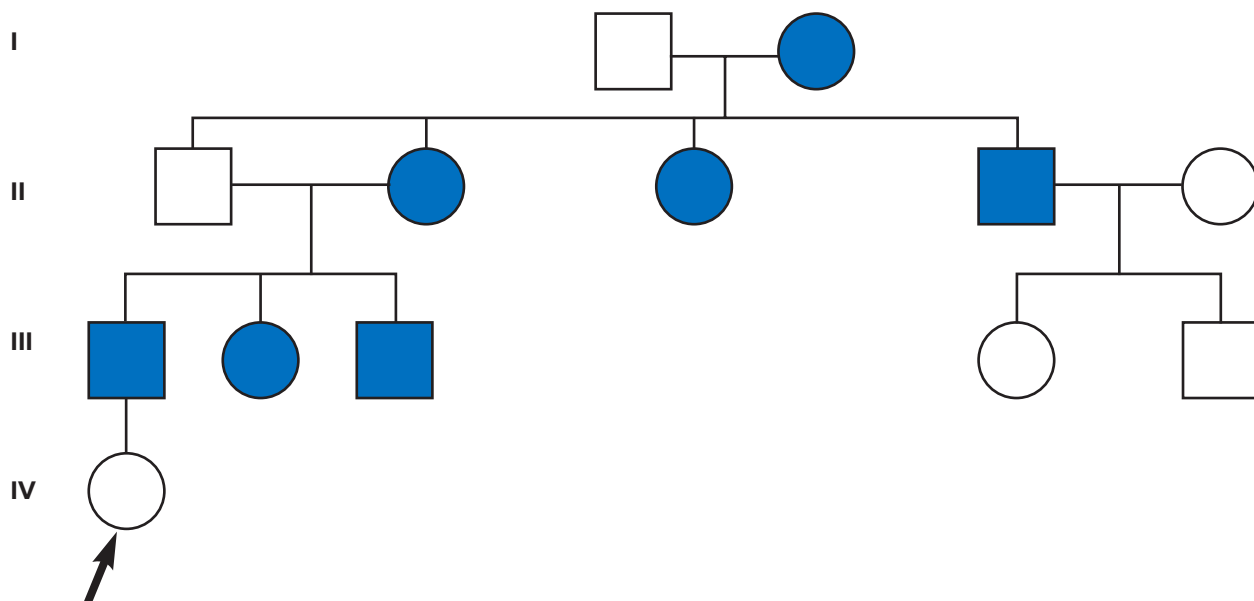


РИС. 5. Сцепленный с Y-хромосомой тип наследования

здоровые дети [4]. Клинически митохондриальные болезни характеризуются разной интенсивностью проявлений и сроками манифестации заболевания, что связано с неполной пенетрантностью, переменной экспрессивностью и плейотропией признаков митохондриальных болезней, и объясняется гомо- и гетероплазмией митохондриальной ДНК (рис. 6) [4].

При составлении генеалогического дерева соблюдают следующие правила:

1. Каждое поколение должно находиться на одной горизонтали или радиусе.

2. Поколения нумеруются римскими цифрами, а члены поколения по старшинству – арабскими.

3. Составление родословной начинают от пробанда, которого обозначают стрелкой.

4. Одновременно можно анализировать только 2 заболевания или признака.

Ценность генеалогического метода не уменьшается с годами, несмотря на появление новых современных и точных методов диагностики. Он позволяет существенно сузить круг заболеваний для дифференциальной диагностики наследственной патологии [4, 5].

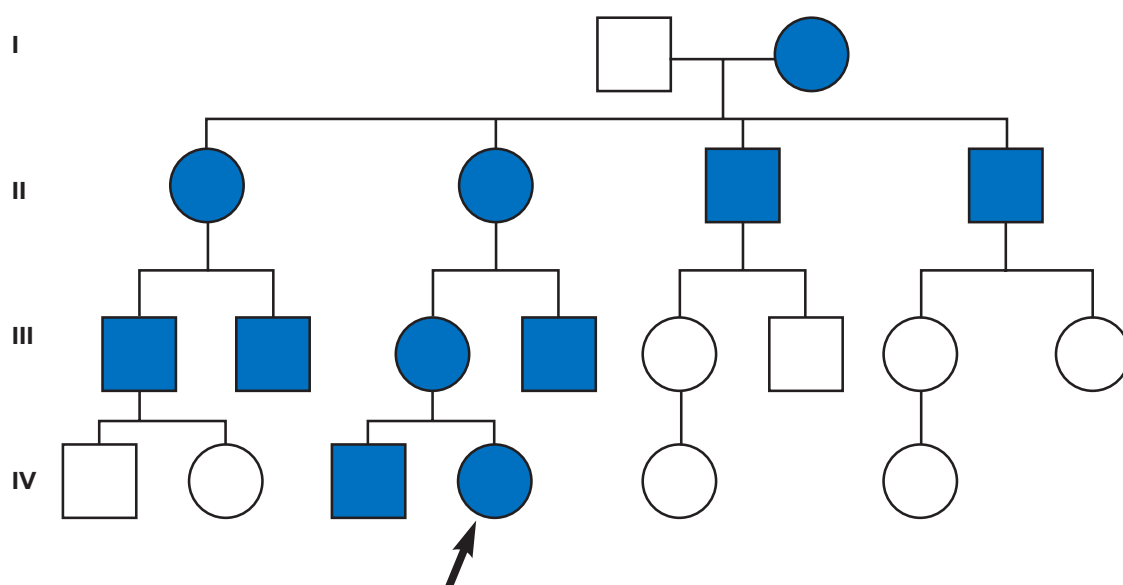


РИС. 6. Митохондриальный тип наследования

КЛИНИЧЕСКИЙ МЕТОД

Клинический метод основан на тщательном осмотре пациента, включает синдромологический подход и выявление малых и больших аномалий развития [1–3, 6].

Синдромальный подход в генетике понимается в двух разных смыслах. Первый связан с известным каждому врачу понятием «синдром» как совокупность симптомов, объединённых общим патологическим процессом. Второй является, как правило, авторским описанием клинического проявления наследственного заболевания и указывает на нарушение в структуре генома. Оба подхода не противоречат друг другу, а, скорее, дополняют и используются совместно [1–3, 6].

Первый подход позволяет установить характер патогенетических изменений в организме и помогает в диагностике (например, синдром аутистических проявлений, синдром гепатомегалии, синдром нарушения роста). Второй подход даёт определение заболеванию и является диагнозом (синдром ломкой X-хромосомы, синдром Слая, синдром Нунан) [1–3, 6].

В данном контексте все наследственные заболевания имеют характерные синдромологические проявления, которые помогают заподозрить наследственный характер патологии, а также служат дифференциально-диагностическими критериями в структуре наследственных заболеваний [1, 2].

Наследственная патология имеет характерные клинические проявления: семейный характер заболевания; хроническое, прогрессирующее, рецидивирующее течение; специфические симптомы наследственных болезней; множественные патологические изменения органов и систем; плеiotропное действие гена (множественное действие гена); врождённый характер заболевания (понятия «врож-

дённое заболевание» и «наследственное заболевание» не однозначны); «резистентность» к наиболее распространённым методам терапии. Эти признаки позволяют заподозрить наследственный характер заболевания и далее использовать синдромологическую диагностику. В клинической генетике часто выделяют такие синдромы, как синдром костных дизморфий, нарушение роста, интеллектуальные нарушения, нарушения слуха и зрения, эндокринопатии, кардиомиопатии и др. [1, 2].

Аномалии развития, как большие, так и малые, практически всегда (в 90–95 % случаев) указывают на наследственный характер патологии и позволяют поставить диагноз. Идентификация больших аномалий развития фактически и определяет диагноз. Малые аномалии развития (МАР) или, в старой терминологии, «стигмы дизэмбриогенеза» указывают, что при внутриутробном развитии имело место негативное влияние внешних или внутренних (генетических) факторов. В норме таких МАР может быть не более 5–7, но в большем количестве они указывают на значимое нарушение развития организма и служат специфическими диагностическими признаками наследственной патологии [1–3].

ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЙ МЕТОД

Этот метод является основой такого раздела генетики, как цитогенетика, и изучает цитологические принципы наследственности и изменчивости, структуру и функции хромосом, позволяет выявить геномные и хромосомные мутации. Термин «цитогенетика» введён в 1903 г. В. Саттоном [4].

Цитогенетический метод появился в генетике с развитием световой и электронной микроскопии и позволил оценить состояние хромосомного аппарата

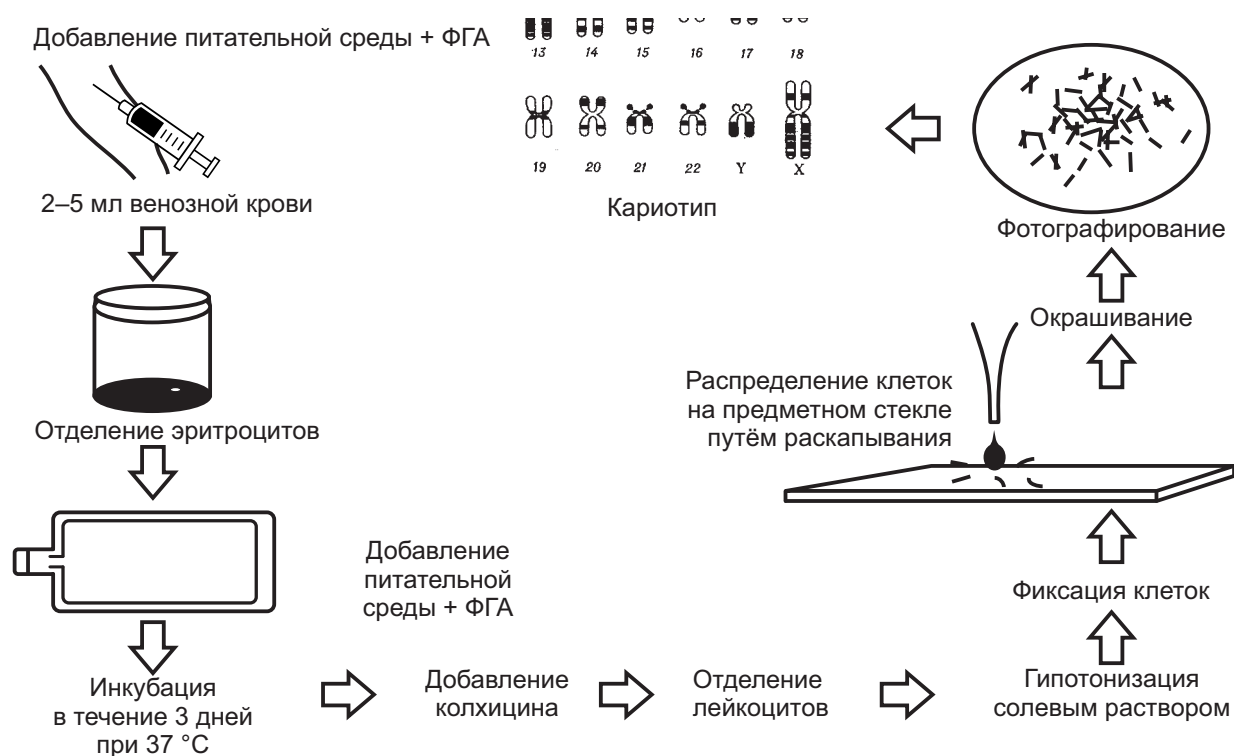


РИС. 7. Схема получения кариогаммы [2]

рата клетки. Хроматин в клетке находится в ядре в рыхлом состоянии, и для того, чтобы увидеть хромосомы, нужно заставить клетку делиться, тогда хромосомы в клетке перейдут в спирализованное состояние и их можно будет увидеть в микроскоп. Поэтому для оценки хромосом используют клетки, имеющие ядро и способные делиться вне организма. Как правило, это лейкоциты или буккальный эпителий. Клетки помещают в термостат на 3 суток при температуре тела (37 °C) и сначала добавляют фитогемагглютинин (ФГА) (он заставляет клетки делиться), а затем колхицин (он останавливает деление на стадии метафазы). Клетки, вступившие в стадию метафазы, окрашивают с помощью G-метода и фотографируют с помощью светового микроскопа. Далее полученный набор хромосом, который является кариотипом, распределяют по внешнему виду на пары хромосом, используя так называемую Денверскую классификацию. Полученное таким образом изображение хромосом называется кариогамма (рис. 7), а применяемый цитогенетический метод называется кариотипированием [4].

Полученные с помощью этого метода хромосомы можно окрашивать не только с помощью G-метода, но и с помощью C-метода (Comparative Genome Hybridization). В этом случае становятся видны районы хромосом, имеющие разную степень спирализованности, и тогда хромосомы можно идентифицировать по этим районам, используя Парижскую систему классификации хромосом [4].

С помощью метода кариотипирования в основном диагностируют хромосомные болезни.

Ещё один метод, который тоже относится к цитогенетическим методам, — это определение тельца Барра. Дело в том, что, как сказано выше, генетический материал в ядре деспирализован (т. е. располагается рыхло). Но если ядро содержит две X-хромосомы, то одна X-хромосома будет находиться в рабочем, т. е. в деспирализованном состоянии, а вторая в качестве запасной будет спирализована. Эта спирализованная X-хромосома видна при специальном окрашивании в виде тельца Барра (рис. 8) [7].

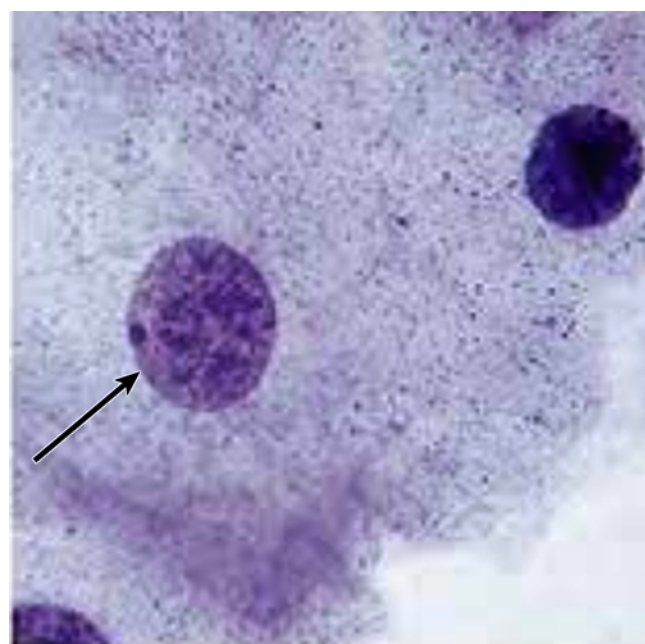


РИС. 8. Тельце Барра [7]

По количеству телец Барра можно определить пол или обнаружить аномалии пола. Количество X-хромосом в клетке будет определяться по формуле: количество телец Барра + 1. Этот метод используется в качестве экспресс-диагностики определения полового хроматина [7].

МОЛЕКУЛЯРНО-ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ

Включает два основных метода, основанных на процессе гибридизации нуклеиновых кислот: флюоресцентной гибридизации *in situ* (FISH, fluorescence *in situ* hybridization) и сравнительной геномной гибридизации (CGH, comparative genomic hybridization) [5].

Гибридизация *in situ* основана на взаимодействии заранее помеченной флюорохромами однонитчатой ДНК (ДНК-зонд) и исследуемого образца ДНК. В начале в образце материала от пациента необходимо получить однонитчатые последовательности ДНК путём денатурации. Далее воссоединяют полученные образцы однонитчатых ДНК с последовательностями нуклеиновых кислот ДНК-зонда. Этот процесс и называется гибридизацией и проходит в препарате метафазных хромосом и в интерфазном ядре. В результате образуются двунитчатые молекулы ДНК. Те молекулы ДНК, нуклеотидная последовательность которых смогла по принципу комплементарности присоединить ДНК-зонд, оказываются мечеными, их видно с помощью флюоресцентного микроскопа и можно проанализировать последовательности их нуклеотидов. Ограничение (разрешающая способность) метода определяется минимальным размером последовательности хромосомной ДНК (количеством нуклеотидов), которую возможно зафиксировать любым методом детекции. С помощью этого метода можно «прочитать» нуклеотидный состав конкретной хромосомы или её отдельного участка, определить количество отдельных хромосом в клетке и их перестройки [5].

Сравнительная геномная гибридизация (aCGH) основана на сравнении двух образцов генетического материала — исследуемого и контрольного. Контрольный образец имеет заведомо известные характеристики: принадлежит мужчине/женщине, является нормальным. Оба образца метятся зондами, наносятся на микрочип, несущий последовательности однонитчатых нуклеотидов (охватывают длину всех хромосом). Проводится реакция гибридизации. По соответствию интенсивности сигналов судят о численности нуклеотидов в участке хромосомы, определяя нехватку или удвоение хромосомы. Метод применяют в пренатальной и постнатальной диагностике врождённых пороков развития, онкологической патологии, диагностике микроделеционных

и микродупликационных изменений одномоментно во всём геноме [5].

Спектроскопический анализ хромосом (SKY, spectral karyotyping) проводят с использованием набора специфических зондов с разными красителями. Каждая пара хромосом обладает уникальными спектральными характеристиками. Используемые флюоресцентные красители, имеющие сродство к конкретным участкам хромосом, позволяют определить искомую пару хромосом. Анализ кариотипа значительно облегчается, потому что гомологичные хромосомы имеют один и тот же цвет, а aberrации становятся легко различимыми. Благодаря такому подходу удаётся точно описать множественные структурные перестройки хромосом, происходящие в опухолевых клетках [5].

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ МЕТОД

Молекулярно-генетические методы сегодня являются как более современными и сложными, так и более дорогостоящими. Отличие этих методов от молекулярно-цитогенетических состоит в том, что эти методы не зависят от спирализации хромосом на момент исследования. Одно из названий этих методов — ДНК-диагностика. К ним относятся: полимеразная цепная реакция (ПЦР), секвенирование, блот-гибридизация по Саузерну, гибридизационные биочипы, полногеномный анализ. Методы ДНК-диагностики позволяют выявить мутации непосредственно в гене [4, 5].

В основе ПЦР лежит многократное увеличение малых концентраций фрагментов ДНК с помощью амплификатора. Используется специфический праймер (искусственно созданная последовательность нуклеотидов, комплементарная определённому участку исходной ДНК), позволяющий идентифицировать искомую последовательность нуклеотидов. Преимущество метода заключается в возможности анализа малого количества биологического материала [4, 5].

Секвенирование — метод, позволяющий исследовать последовательность нуклеотидов в ДНК, причём как белок-кодирующие участки (секвенирование экзона), так и всю последовательность, включая некодирующие «молчащие» области генома (полногеномное секвенирование генома) [5].

Существуют два основных метода секвенирования ДНК — химический и ферментативный. Химический метод (по Максому — Гилберту) заключается в расщеплении меченых участков ДНК с помощью химических веществ (химическая деградация). Метод разработан Алланом Максмом и Уолтером Гилбертом в 1976 г. Концентрация и длительность воздействия реагента подбираются таким образом, что происходит модификация нуклеотидов только одного типа (например, только цитозинового). Далее происходит разделение

по меченым участкам с помощью электрофореза в агарозном геле [5].

Ферментативный метод заключается в синтезе участка изучаемой цепи ДНК с помощью остановки процесса на заданном основании путём присоединения дидезоксинуклеотида. Реакция происходит в несколько этапов: гибридизация участка ДНК с праймером, ферментативный синтез ДНК, денатурация с образованием однониточных нуклеотидных последовательностей разной длины (содержащие праймер), электрофорез в полиакриламидном геле. Метод был разработан Фредериком Сэнгером в 1977 г. [5].

Сегодня развиваются методы секвенирования ДНК нового поколения (NGS, next generation sequencing), основанные на секвенировании ДНК-чипов во время интерактивных циклических ферментативных реакций, позволяющие одновременно читать несколько участков ДНК [5].

ПОПУЛЯЦИОННЫЙ МЕТОД

Этот метод, который изучает распространённость наследственных заболеваний или признаков в популяциях. Развитие популяций характеризуется условиями, в которых они существуют. По характеру изолированности популяции могут разделяться на панмиктические (население крупного города), деми (относительно небольшая группа людей, живущих на ограниченной территории и составляющих браки между собой), изоляты (небольшие, генетически изолированные популяции внутри которых совершаются браки). Типы популяций отличаются друг от друга численностью, частотой внутригрупповых браков, долей иммигрантов, приростом населения; в них также может проследиваться эффект основателя. Популяция характеризуется следующими показателями: генофонд (совокупность генотипов всех членов популяции); частота генов; частота генотипов; частота фенотипов; система браков; факторы, изменяющие частоты генов [2].

Для изучения частот встречаемости определённых генов и генотипов, в том числе наследственной патологии, используется закон Харди – Вайнберга. Закон Харди – Вайнберга постулирует, что при свободном скрещивании, отсутствии миграций особей относительная частота индивидуумов с каждым из аллелей генов будет оставаться в популяции постоянной из поколения в поколение. Закон Харди – Вайнберга в 1908 г. независимо друг от друга открыли Харди и Вайнберг, высчитав математическую модель сохранения генетического равновесия в популяции. Было сформулировано, что «частота генотипов по определённому гену в популяции остаётся постоянной в ряду поколений и соответствует уравнению

$$p^2 + 2pq + q^2 = 1» [2],$$

где: p^2 – частота как доля от единицы гомозигот по одному аллелю (например, доминантному – AA);

q^2 – частота гомозигот по другому аллелю (aa);

$2pq$ – частота гетерозигот (Aa);

p – частота в популяции первого аллеля (A);

q – частота второго аллеля (a).

При этом $p + q = 1$, или $A + a = 1$.

Благодаря этому закону мы достаточно точно можем определить частоту встречаемости определённой патологии в исследуемой популяции. Это помогает значительно сузить дифференциально-диагностические ряды наследственной патологии в зависимости от принадлежности пациента к определённой популяции (например, в популяции, выделенной по национальному признаку). При этом всегда надо помнить о том, что изменение равновесия генотипов и аллелей в популяциях происходит постоянно, под влиянием мутационного процесса, популяционных волн, изоляций, естественного отбора, дрейфа генов, эмиграции и иммиграции, а также инбридинга. Этот процесс является частью эволюции [2].

БЛИЗНЕЦОВЫЙ МЕТОД

Близнецовый метод – один из самых старых методов в генетике, был предложен Фрэнсисом Гальтоном. Выделение среди близнецов однойцевых (монозиготных) и двухйцевых (дизиготных) дали возможность оценить степень влияния наследственности и среды на развитие какого-либо признака, а также изучить явления конкордантности (сходства по изучаемому признаку, выраженного в процентах) и дискордантности (отсутствия признака у одного из близнецов) [2].

Было показано, что наследуемость признака можно оценить по формуле:

$$H = \frac{(\% \text{ сходства ОБ} - \% \text{ сходства ДБ})}{(100 - \% \text{ сходства ДБ})},$$

где: H – коэффициент наследственности;

ОБ – однояйцевые близнецы;

ДБ – двухйцевые близнецы.

Таким образом, если $H = 1$, то признак полностью определяется наследственным компонентом; если $H = 0$, то признак определяется только влиянием среды; при H , близком к 0,5, признак определяется примерно одинаковым влиянием наследственности и среды [2].

Благодаря этому методу появилась возможность разделить всю наследственную патологию на группы заболеваний: наследственные болезни (наследуемость 1–0,7 %: фенилкетонурия, гомоцистинурия); мультифакториальные (наследуемость 0,4–0,6 %: артериальная гипертензия, шизофрения); зависящие от среды (наследуемость 0–0,3 %: инфекционные, профессиональные заболевания).

Благодаря этому методу были изучены пенетрантность аллелей генов и экспрессивность [2].

ДЕРМАТОГЛИФИЧЕСКИЙ МЕТОД

Дерматоглифика начала развиваться в XVII–XVIII веках вместе с работами Марчело Мальпиги, описавшим микроскопическое строение кожи, и Яна Эвангелиста Пуркине, опубликовавшего свою работу, посвящённую отпечаткам пальцев. Как метод генетики дерматоглифика была предложена в 1961 г. Дж. Каммингсом и Ч. Мидло. А в 1982 г. Фрэнсис Гальтон предложил классификацию узорных типов, позволившую использовать этот метод для идентификации личности в криминалистике, судебной медицине, при определении зиготности близнецов и в антропологии [2, 3].

Метод основан на изучении кожного рисунка на пальцах, ладонях и стопах. В отличие от других частей тела, эти поверхности имеют эпидермальные выступы (гребни), образующие сложные узоры, которые не повторяются ни у одного человека. Метод предполагает анализ рисунка и поиск соответствий наследственным заболеваниям. В настоящий момент диагностические критерии разработаны для таких заболеваний, как синдромы Шерешевского – Тернера, Клайнфельтера, Дауна, Рубинштейна – Тейби, де Ланге и др. [2].

Одним из вариантов этого метода является дактилоскопия, широко используемая в криминалистике [2].

БИОИНФОРМАЦИОННЫЙ МЕТОД

Данный метод позволяет создать алгоритмы расшифровки и анализа полученных последовательностей нуклеотидных оснований, полученных с помощью других методов, в том числе секвенирования. При секвенировании генома получают последовательность нуклеотидов в исследуемом отрезке ДНК. Для того чтобы понять, каким генам он соответствует, нужно сравнить последовательность в исследуемом образце с уже известными последовательностями в геноме. Для этого разрабатывается программное обеспечение, позволяющее провести это сравнение автоматически [1].

БИОХИМИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ

Большинство форм наследственной патологии изменяет метаболизм организма. Поэтому практически все известные в широкой практике биохимические методы используются и в генетике. Однако некоторые наследственные на-

рушения связаны с появлением специфических изменений в метаболизме. Биохимическими маркерами наследственной патологии могут служить ферменты (активность которых изменяется по сравнению с контролем), первичные и вторичные метаболиты. В генетике принято оценивать биохимический фенотип на уровне метаболитов. Для этих целей применяют различные виды хроматографии, часто в сочетании с масс-спектрометрическим анализом. Это позволяет оценить множество соединений в одном образце. К этим методам относятся: высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ), газовая хроматография (ГХ), tandemная масс-спектрометрия (МС/МС). Используя биохимический подход, можно диагностировать наследственные нарушения обмена по изменению концентрации метаболита [1].

ПАРАКЛИНИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ

Данная группа методов основана на диагностике различных клинических проявлений, поэтому включает биохимические, иммунологические, гематологические, эндокринологические, электрофизиологические, рентгенологические и другие методы. К параклиническим методам также относится ряд проб, предложенных для ориентировочной диагностики, например, проба Феллинга для диагностики фенилкетонурии на основе реакции мочи с хлоридом железа [1].

БИОИНЖЕНЕРНЫЕ МЕТОДЫ

Данные методы применяются в качестве разработки новых способов лечения, т. е. получения генотерапевтических препаратов. Генная инженерия сегодня решает задачи получения генов искусственным путём, выделения их из клеток, синтеза рекомбинантных молекул ДНК, клонирования генов или генетических структур и многие другие [1]. Генотерапия может быть использована для лечения как моногенных, так и мультифакториальных (в том числе онкологических) заболеваний человека. По своей сути, именно генотерапия является этиологическим методом лечения наследственной патологии. Все остальные методы лечения, как правило, являются либо симптоматическими, либо патогенетическими методами терапии. Генотерапия подразумевает доставку нужного гена в клетки-мишени. Основной практической проблемой генотерапии является проблема переноса генов. Сегодня это решается различными методами, в том числе прямой инъекцией в ткань «голого» гена, кальций-фосфатной трансфекцией, переносом с помощью липосом, электропорацией, переносом генов с помощью

ретровирусов или вирусных векторов, прицельной доставкой генов в определённый тип клеток с использованием рецепторов этих клеток и некоторыми другими способами. Методы различаются по эффективности доставки генетических конструкций в клетки-реципиенты, и этим определяется эффективность методов генотерапии. Сегодня генотерапевтическими методами возможно лечить муковисцидоз, наследственные иммунодефициты, наследственные болезни обмена и др. [1].

МЕТОДЫ МОДЕЛИРОВАНИЯ

Эти методы используются в доклинических испытаниях лекарственных средств на лабораторных животных либо культурах клеток, имеющих заданный генетический признак. Такие признаки получают геноинженерным путём, и это позволяет создать клиническую модель реакции генов на воздействие лекарственного препарата [1–3]. В 1987 г. М. Хупер и М. Куэн и соавт. предложили метод избирательной инактивации генов в организме животных, что позволило разработать один из способов создания моделей наследственных заболеваний. Примером может служить болезнь Леша – Нихана. При этом заболевании нарушается работа гена, отвечающего за гипоксантин-гуанозин-фосфорибозилтрансферазу (ГГФРТ). Инактивируя гены мышей по гену ГГФРТ, получали клиническую картину болезни Леша – Нихана. Это позволило разработать патогенетическую терапию для этого заболевания.

Конструирование генетических моделей на животных позволяет понять работу генов и их мутантных вариантов, составить более полное представление о интерактоме, метаболоме и их взаимодействии.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Методологическая основа генетики расширяется с каждым годом. Появление новых ультрасовременных методов не вытесняет использование рутинных и старых методов (например, таких как генеалогический метод). Часто методы используются одновременно либо применяются последовательно в диагностических схемах. Как правило, вначале применяют методы, позволяющие отсеять целые группы и классы заболеваний и имеющие наименьшую стоимость в клинической практике, а затем прибегают к более точным, современным, но и более дорогостоящим методикам. Такой подход позволяет установить диагноз даже самого редкого наследственного заболевания.

В рамках организации работы медико-генетической службы на первом этапе выявления наследственной патологии используются скрининговые методы диагностики, а затем более сложные, высокоточные и дорогостоящие (цитогенетические, молекулярно-генетические и др.).

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Гинтер Е.К., Пузырев В.П., Куцев С.И. (ред.). *Медицинская генетика: национальное руководство*. М.: ГОЭТАР-Медиа; 2022. [Ginter EK, Puzyrev VP, Kutsev SI (eds). *Medical genetics: National guidelines*. Moscow: GOETAR-Media; 2022. (In Russ.)]. doi: 10/33029/9704-6307-9-GEN-2022-1-896
2. Бочков Н.П., Пузырев В.П., Смирнихина С.А. (ред.). *Клиническая генетика: учебник*. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2022. [Bochkov NP, Puzyrev VP, Smirnikhina SA. *Clinical genetics: Textbook*. Moscow: GEOTAR-Media; 2022. (In Russ.)].
3. Мутовин Г.Р. *Клиническая генетика. Геномика и протеомика наследственной патологии: учебное пособие*. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2010. [Mutovin GR. *Clinical genetics. Genomics and proteomics of hereditary pathology: Textbook*. Moscow: GEOTAR-Media; 2010. (In Russ.)].
4. Юров И.Ю., Ворсанова С.Г., Воинова В.Ю., Чурносоев М.И., Юров Ю.Б. *Цитогенетические, молекулярные и клинические основы генетически обусловленных болезней: учебное пособие*. М.: Издательский дом Академии Естествознания; 2019. [Yurov IYu, Vorsanova SG, Voinova VYu, Churnosov MI, Yurov YuB. *Cytogenetic, molecular and clinical bases of genetically determined diseases: Textbook*. Moscow: Publishing House of the Academy of Natural Sciences. 2019. (In Russ.)]. doi: 10.17513/np.351
5. Юров И.Ю., Воинова В.Ю., Ворсанова С.Г., Юров Ю.Б. *Молекулярные и клинические основы наследственных болезней: учебное пособие*. М.: Издательский дом Академии Естествознания; 2018. [Yurov IYu, Voinova VYu, Vorsanova SG, Yurov YuB. *Molecular and clinical bases of hereditary diseases: Textbook*. Moscow: Publishing House of the Academy of Natural Sciences; 2018. (In Russ.)].
6. Ткачук Е.А. Использование синдромального подхода к диагностике аутизма у детей. *Медицинский совет*. 2022; (12): 200-204. [Tkachuk EA. Using the syndrome approach to the diagnosis of autism in children. *Medical Council*. 2022; (12): 200-204. (In Russ.)]. doi: 10.21518/2079-701X-2022-16-12-200-204
7. Barr ML, Bertram EG. A morphological distinction between neurones of the male and female, and the behaviour of the nucleolar satellite during accelerated nucleoprotein synthesis. *Nature*. 1949; 163(4148): 676. doi: 10.1038/163676a0
8. Семинский И.Ж. Основы фармакогенетики. *Сибирский медицинский журнал*. 2002; 6(35): 97-100. [Seminsky IZ. Fundamentals of pharmacogenetics. *Siberian Medical Journal*. 2002; 6(35): 97-100. (In Russ.)].

Конфликт интересов

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Источник финансирования

Авторы декларируют отсутствие внешнего финансирования для проведения исследования и публикации статьи.

Информация об авторах

Ткачук Елена Анатольевна – д.м.н., доцент, профессор кафедры патологической физиологии и клинической лабораторной диагностики, ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России. ORCID: 0000-0001-7525-2657

Семинский Игорь Жанович – д.м.н., профессор, проректор по научной работе, заведующий кафедрой патологической физиологии и клинической лабораторной диагностики ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России. ORCID: 0000-0002-7530-0716

Для переписки

Ткачук Елена Анатольевна, zdorowie38@gmail.com

Получена 01.02.2023
Принята 05.03.2023
Опубликована 27.03.2023

Conflict of interest

The authors declare no apparent or potential conflict of interest related to the publication of this article.

Funding source

The authors declare no external funding for the study and publication of the article.

Information about the authors

Elena A. Tkachuk – Dr. Sci. (Med.), Docent, Professor at the Department of Pathological Physiology and Clinical Laboratory Diagnostics, Irkutsk State Medical University. ORCID: 0000-0001-7525-2657

Igor Z. Seminsky – Dr. Sci. (Med.), Professor, Vice-Rector for Research, Head of the Department of Pathological Physiology and Clinical Laboratory Diagnostics, Irkutsk State Medical University. ORCID: 0000-0002-7530-0716

Corresponding author

Tkachuk Elena Anatolyevna, zdorowie38@gmail.com

Received 01.02.2023
Accepted 05.03.2023
Published 27.03.2023