

GENOME INVESTIGATIONS AND HUMAN DISEASES

V. P. PUZYREV

This article is devoted to the description of the inherited disease "load" in the populations of humans, as well as to the description of human gene mapping and sequence strategies, and medical applications of genome investigations (DNA diagnostics, gene therapy, and forensic medicine). The information presented can be useful for students interested in background of the genetics of normal and disease development.

Представлены данные о "грузе" наследственных болезней в популяциях человека, стратегии картирования и секвенирования генома человека, использовании достижений геномных исследований в медицине (ДНК-диагностика, генотерапия, судебная медицина). Эти сведения полезны при изучении разделов школьных программ по биологии и естествознанию, касающихся роли наследственности в формировании нормальных признаков человека и развитии болезней.

© Пузырев В.П., 1996

ГЕНОМНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ И БОЛЕЗНИ ЧЕЛОВЕКА

В. П. ПУЗЫРЕВ

Сибирский государственный медицинский университет,
г. Томск

*"Весь этот человек – игра природы и судьбы:
обе эти причудницы хотели доказать на нем,
как они изобретательны в своих капризах".*

В.О. Ключевский [1]

ВВЕДЕНИЕ

Классификация болезней с генетической точки зрения становится все более объективной по мере успехов молекулярной генетики и цитогенетики в обнаружении дефектных генов, вызывающих болезнь. Это касается как собственно наследственных (менделирующих, или моногенных), так и мультифакториальных (многофакторных) болезней (МФЗ), в возникновении и развитии которых существенны как генетические факторы, так и факторы внешней среды. Однако до сих пор доля болезней, для которых известны конкретные "патологические" гены, остается весьма небольшой. В последнем издании каталога генов человека В. Маккьюсика (1992 г.) из 5710 описанных наследственных признаков лишь для 322 известна локализация генов на хромосомах и первичные продукты этих генов (всего в 5,6% случаев), а для 2,5 тыс. генов – только локализация. Теоретически же возможное число наследственных болезней человека еще больше и составляет не менее 50 – 100 тыс. И хотя теоретически возможный предел никогда не будет достигнут, так как нарушения структуры многих белков несовместимы с жизнью и приводят к ранней внутриутробной гибели плода, уже известно более 3000 наследственных болезней и хромосомных синдромов.

Следовательно, наши знания о молекулярно-генетических основах болезней человека касаются пока относительно небольшого их числа. В то же время в клинической генетике известны примеры, показывающие исключительное значение этих знаний для диагностики, раннего выявления, эффективного лечения и профилактики конкретных наследственных болезней (фенилкетонурия, муковисцидоз, гипотиреоз, гиперхолестеринемия). Современное развитие молекулярной генетики, "методическая революция" 70-х годов предоставили возможность выделения индивидуальных генов, химического анализа нуклеотидных последовательностей ДНК, функционального исследования экспрессии генов и молекулярных механизмов ее регуляции. Все это создало предпосылки

для формирования новых направлений в прикладных аспектах молекулярно-генетических исследований — анатомии и патологической анатомии генома человека, имеющих непосредственное отношение к проблемам медицины [2]. Наиболее последовательно эти задачи осуществляются в проекте “Геном человека”. Проект действует во многих странах, доказал свою жизнеспособность и эффективность, рассматривается как путь в биологию XXI века [3].

Попытаемся, излагая цели геномных исследований и технологию их осуществления, показать некоторые приложения этих исследований в медицине.

ГРУЗ НАСЛЕДСТВЕННОЙ ПАТОЛОГИИ В СОВРЕМЕННЫХ ПОПУЛЯЦИЯХ ЧЕЛОВЕКА

Понятие “генетического груза” популяций человека введено лауреатом Нобелевской премии Г. Меллером, а затем вместе с Н. Мортоном и Дж. Кроу (см. [4]) им был предложен термин “летальный эквивалент” (от лат. *letalis* — смертельный). Ученые обосновали подход к оценке относительного вклада в общий объем наследственной отягощенности процессов мутаций (мутационный груз) и расщепления (сегрегационный груз) генов, а также предложили методический прием определения объема генетического груза у человека. В настоящее время многие генетики разделяют мнение о том, что эта концепция имеет некоторые ограничения по оценке реального генетического груза [4]. Необходимо признать, что до сих пор нет методологии точного измерения объема генетического груза. Однако даже если современная наука не может его измерить, груз тем не менее существует как реальность. В настоящее время накапливается информация о грузе наследственной патологии среди населения, основанная на результатах генетико-эпидемиологических исследований и анализе медицинских данных лечебно-диагностических учреждений. Приведем литературные данные, обобщающие эту информацию [6, 7].

Среди лиц до 21 года у 10,6% выявляются врожденные дефекты. Часто такие дети и подростки рано умирают, другие нуждаются в специальной медицинской помощи и требуют больших затрат на их содержание и социальную реабилитацию. Свыше 5 млн. детей в мире рождаются с тяжелыми врожденными дефектами развития. Однако следует иметь в виду, что некоторые наследственные аномалии развития впервые проявляются в среднем, зрелом и даже пожилом возрасте.

В основе моногенных (менделирующих) болезней лежат мутации отдельных генов (доминантные и рецессивные). Изменение структуры и числа хромосом приводит к хромосомным болезням. Однако во многих случаях врожденные дефекты человека обязаны проявлением одновременно комплекса мутаций генов. Это так называемые мультифакториальные заболевания (МФЗ) или полигенные бо-

лезни. Многие врожденные пороки развития (ВПР) обусловлены мультифакториальным (полигенным) наследованием. К МФЗ относятся и такие широко распространенные заболевания, как сахарный диабет, гипертоническая болезнь, коронарная болезнь, бронхиальная астма, шизофрения и другие. Они являются результатом сложного взаимодействия генетических факторов и факторов среды, причем те и другие многочисленны. Схематически представление о соотносительной роли генетических факторов и факторов среды, участвующих в возникновении и развитии МФЗ, показано на рисунке 1.

В схеме Г. Харриса описана следующая ситуация. Область, ограниченная внешней окружностью, — это популяция в целом, площадь внутреннего круга — те индивидуумы данной популяции, которые наследственно предрасположены к МФЗ определенного рода. Область, заключенная между двумя радиусами большей окружности, соответствует той части популяции, которая подвергается воздействию факторов среды, провоцирующих конкретное заболевание (в данном случае это меньшая группа); все остальное — та часть популяции (в этом случае большая), которая не подвергается воздействию этих факторов. Заболевание в действительности развивается у небольшой части популяции, то есть у тех индивидуумов, у которых генетическое предрасположение сочетается с воздействием неблагоприятных условий среды. На схеме Ф. Фогеля и А. Мотульски (рис. 1) подчеркнута потенциальная роль одного или нескольких “главных” генов

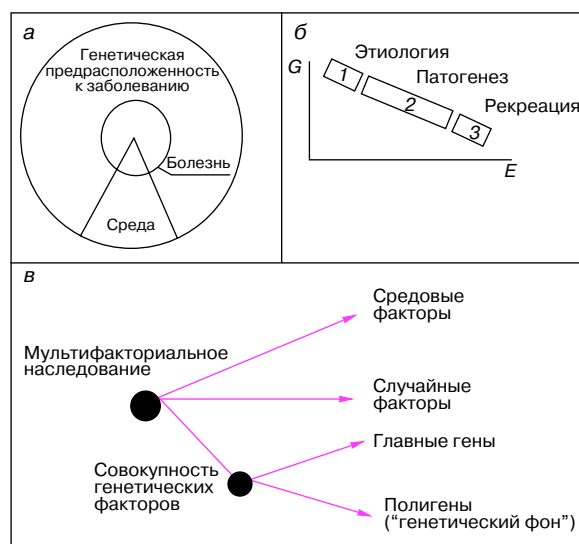


Рис. 1. Общие представления о соотносительной роли средовых и генетических факторов в развитии мультифакториальных заболеваний (МФЗ). а — Схема Г. Харриса, по [9]; б: 1 — собственно наследственная патология; 2 — мультифакториальные болезни; 3 — “ненаследственные” болезни; в — схема Ф. Фогеля и А. Мотульски, по [4].

для многих предположительно полигенных признаков и МФЗ. Предполагается, что достаточно малое число главных генов может определять основной вклад в генетическую этиологию МФЗ. Совокупность всех других генов, против которых действуют главные гены, образует “генетический фон”. Хорошо известно, что генетический фон может модифицировать экспрессию главных генов. Так, “игра природы и судьбы”, взаимодействие и взаимообусловленность генетической конституции и окружающего мира становятся предметом пристального внимания исследователей. Понять “правила игры” – вот задача генетики и экологии (экогенетики).

Наше обыденное сознание активно реагирует на переживаемые сегодня процессы экономического кризиса, экологического неблагополучия, негативные демографические процессы и т.п., побуждая обсуждать проблемы сохранения и тенденции развития генофондов человеческих популяций. Ю.П. Алтухов [7], обобщая литературные данные за 30 лет, заключает, что в европейском населении 15% человеческих эмбрионов погибает на ранних стадиях развития (спонтанные аборт), 3% составляют мертворожденные, 2% – неонатальная смертность, 3% – смертность от наступления репродуктивного возраста, 20% лиц не вступают в брак, 10% браков бесплодны, то есть не менее 50% первичного генофонда не воспроизводятся в следующем поколении. Генетическая компонента для всех этих явлений различна, но в среднем составляет 20 – 30%.

Э. Мэрфи и Г. Чейз, обсуждая вопросы генетического консультирования (одной из основных форм профилактики наследственных болезней, наряду с дородовой диагностикой и биохимическим скринингом новорожденных), подчеркивают, что каким бы квалифицированным оно не было, не в состоянии устранить груз, а только перераспределяет его. Можно дать совет не жениться или не иметь детей, подобрать партнера, который бы обеспечил здоровое потомство, но и в этих случаях, справедливо констатируют авторы, общество по-прежнему сохраняет генетический груз.

ОСНОВНЫЕ ЦЕЛИ ИССЛЕДОВАНИЯ ГЕНОМА ЧЕЛОВЕКА

Напомним, что наследственная информация живых существ передается химическими сигналами, и ее носителем у многоклеточных организмов (следовательно, и у человека) является дезоксирибонуклеиновая кислота (ДНК). Молекула ДНК образована двумя нитями, скрученными в двойную спираль. Каждая нить представляет собой полимерную цепь, образованную четырьмя нуклеотидами – сложными соединениями, образованными остатками фосфорной кислоты, сахара (дезоксирибозы) и одним из оснований (А – аденин, G – гуанин, T – тимин, C – цитозин). Распределение нуклеотидов в составе ДНК удерживается вместе слабыми водо-

родными связями между парами азотистых оснований противоположных цепей А–Т, G–Ц.

Нуклеотидная последовательность ДНК содержит программу синтеза белков организма, полимерная цепочка которых образована набором 20 различных аминокислот (АК). В ДНК каждой АК соответствует один или несколько кодонов. Кодон – это тройка нуклеотидов определенного состава и последовательности. Участок ДНК, кодирующий тот или иной белок, служит матрицей для синтеза белка. Такой участок ДНК и есть ген, единица наследственности. В действительности процесс синтеза белка и структура гена сложнее. Современная молекулярная биология значительно углубила представления о стадиях экспрессии гена, ведущих к образованию функционального активного белка (см. статью В.А. Гвоздева “Механизмы регуляции активности генов в процессе транскрипции” в “Соросовском Образовательном Журнале”, № 1, 1996 г.).

Эта кратко изложенная информация уже достаточно, чтобы перейти к освещению целей геномных исследований. Начальная цель – создать серию описательных диаграмм (карт) для каждой из хромосом (Хr) человека с высоким уровнем разрешения. Картирование – это определение положения в Хr генов и любых других фрагментов ДНК, упорядочение в соответствии с их положением на Хr относительно друг друга. Следующий шаг после завершения картирования – определить последовательность оснований во всех упорядоченных (картированных) фрагментах ДНК. Секвенирование (от лат. sequi – следовать) – расшифровка нуклеотидной последовательности ДНК – конечная цель исследования генома.

Картирование и секвенирование – наиболее важные и трудоемкие части всех геномных исследований, осуществляемых в разных странах. Результаты исследований именно в этой области приведут к подлинной “молекулярной анатомии”. Однако это всего лишь, как заметил академик А.А. Баев [11], “мертвые символы нуклеотидных последовательностей”, и “нужно раскрыть их функцию”. И такая задача в отечественной программе “Геном человека” сформулирована – структурно-функциональный анализ генома человека. Этот раздел программы, вероятно, особенно важен для клинической медицины, ставящей перед собой задачи не только диагностики наследственных болезней, но и лечения – генотерапии.

Общее представление о физическом объеме работы, которую предстоит осуществить, иллюстрирует рисунок 2. Если секвенированную ДНК, образованную 3 млрд. нуклеотидных пар и имеющую совокупную длину молекул в 1,5 м, составить в книги, то это было бы эквивалентно 200 томам по 1000 страниц каждый. Если бы содержание генома можно было опубликовать в виде книг, то человеку потребовалось бы не менее трети жизни на то, чтобы

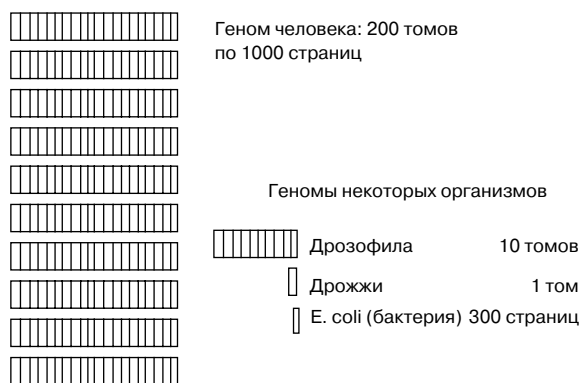


Рис. 2. Сравнительные размеры геномов человека и некоторых организмов (по [20]).

прочитать 3 млрд. нуклеотидов. Средние сроки осуществления программы “Геном человека”, которая реализуется в США, европейских странах и в России – 15 лет. Автоматизация методов и оптимизация технологии секвенирования, мощная компьютеризация и совершенствование специальных методов информатики становятся главными условиями эффективности геномных проектов.

СТРАТЕГИЯ КАРТИРОВАНИЯ И СЕКВЕНИРОВАНИЯ

Картирование в узком смысле – определение положения гена или мутации в хромосоме. Позднее этот термин получил более широкое толкование, и он относится не только к гену, но к любому маркеру, под которым подразумевают ген, мутацию, участок ДНК с неопределенной функцией, точку расщепления ДНК рестриктирующими эндонуклеазами, то есть любой наследуемый признак, доступный идентификации тем или иным способом. С установлением локализации любого из перечисленных маркеров, он затем используется для определения относительного положения другого маркера.

В реализации задачи определения положения маркера (гена) в хромосоме используются разнообразные методы (генетические, цитогенетические, молекулярно-биологические). Именно они лежат в основе выделения двух методов (подходов) картирования: генетического и физического.

Генетическое картирование – определение положения фрагментов ДНК в хромосоме с использованием генетических методов, то есть анализ сцепления и рекомбинации генов на основе родословных. Карты, полученные при использовании данного метода, часто называют картами генетического сцепления.

Маркеры, используемые в картировании, должны быть полиморфными, то есть должны существовать альтернативные формы признака, которые можно было бы легко отличить и описать у членов

семьи. В последовательности ДНК варьирует (то есть полиморфен) в среднем один из 300 – 500 нуклеотидов. Вариации ДНК в экзонах (кодирующих последовательностях) могут приводить к видимым изменениям – различию в цвете волос и глаз, группе крови, особенностях строения тела, деятельности физиологических систем, черт характера, подверженности болезням и т.п. Большинство вариаций появляются в интронах (некодирующих вставочных последовательностях) и имеют минимальный эффект (или не имеют его вообще) на внешние признаки и функции организма. В то же время эти изменения легко определяются на уровне ДНК и могут использоваться как маркеры. Примеры этого типа маркеров включают: 1) ПДРФ (полиморфизм длин рестрикционных фрагментов) – изменение последовательности ДНК в точках (местах, сайтах), которое “узнается” рестрикционными ферментами (эндонуклеазами) и 2) различия в числе tandemных повторов – копий коротких повторяющихся последовательностей, что приводит к различиям по длине ДНК, которую можно легко измерить.

Карты генетического сцепления строят, наблюдая за тем, как часто два маркера наследуются вместе. Два маркера, расположенные на одной хромосоме вблизи друг друга, имеют тенденцию передаваться от родителей ребенку совместно. Во время нормальных процессов формирования сперматозоидов и яйцеклеток цепочка ДНК случайным образом разрывается и воссоединяется в тех или иных местах хромосомы или ее копии (то есть гомологичной хромосомы). Этот процесс, называемый мейотической рекомбинацией, может приводить к разделению двух маркеров, первоначально расположенных на одной хромосоме. Чем ближе расположены маркеры друг к другу, тем “теснее” они сцеплены, тем менее вероятно, что процесс рекомбинации разделит их.

На рисунке 3 вертикальные линии показывают пары 4-й хромосомы у каждого из членов семьи. Отец имеет два признака, и их можно обнаружить у любого ребенка, которому они передались: короткая известная последовательность ДНК, используемая как генетический маркер (М) и хорея Гентингтона (ХГ). То, что ребенок унаследовал только один из этих признаков (М), свидетельствует, что генетический материал отца рекомбинировал в процессе сперматогенеза. Частота этого события может помочь определить расстояние между двумя последовательностями ДНК на генетической карте.

На генетической карте расстояние между маркерами измеряют в сантиморганах (сМ), названных так в честь американского генетика Томаса Моргана. Когда частота рекомбинации между двумя маркерами равна 1%, говорят, что они находятся на расстоянии 1 сМ. Генетическое расстояние в 1 сМ примерно равно физической протяженности в 1 млн. пар оснований – 1 мегабазе (Мб). Уровень разрешения,

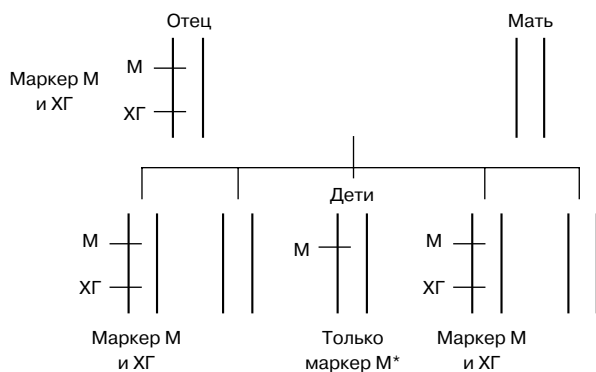


Рис. 3. Построение карты генетического сцепления (по [20]). Звездочкой отмечен рекомбинант. Частота рекомбинаций зависит от расстояния между маркером М и геном ХГ.

достигнутый на современной карте для большинства регионов ДНК, составляет примерно 10 Мб.

Медицинский аспект ценности генетической карты состоит в том, что наследственная болезнь может быть локализована на карте путем прослеживания наследования маркера, который несут больные (и который отсутствует у здоровых), даже в том случае, если молекулярные основы болезни или ответственный за нее ген неизвестны. Сегодня уже установлено точное хромосомное расположение генов многих болезней человека.

Физическое картирование – определение положения фрагментов ДНК в хромосоме с помощью методов молекулярной и клеточной биологии. Различные типы физических карт различаются по уровню разрешения. К низкоразрешающим относятся хромосомные карты и карты кДНК¹, к высокоразрешающим – макрорестрикционная карта и карта контиг².

Хромосомные карты показывают расположение генов или отдельных участков ДНК на соответствующих хромосомах, а расстояние между генами или фрагментами ДНК указывают в парах оснований. Эти маркеры могут быть физически связаны с определенным сегментом хромосомы при гибридизации *in situ* – методе, который позволяет пометить ДНК специальной “видимой” (флуоресцентной или радиоактивной) меткой. Локализация меченого зонда устанавливается после того, как он свяжется с комплементарной цепочкой ДНК на интактной хромосоме. Точность хромосомных карт существенно увеличена благодаря усовершенствованию метода флуоресцентной гибридизации *in situ* (FISH) и ис-

¹ кДНК – ДНК, комплементарная мРНК, полученная путем обратной транскрипции; используется как молекулярный зонд высокой избирательности.

² Контиги – группы клонов, охватывающие перекрывающиеся участки генома.

пользованием для анализа хромосомы в интерфазной стадии клеточного деления.

Карты кДНК показывают расположение экспрессируемых участков ДНК (экзонов) по отношению к регионам хромосом (бэндам). Экспрессируемые участки ДНК – те, с которых транскрибируется мРНК. Используя в качестве матрицы молекулы мРНК, в лабораторных условиях синтезируют их копии, называемые сокращенно кДНК. Затем каждый вид кДНК можно картировать в геноме. Поскольку кДНК представляют экспрессируемые участки генома, они позволяют выявить те части генома, которые особенно значимы с медицинской точки зрения.

Для воссоздания оригинального порядка фрагментов ДНК в геноме используют различные подходы. В некоторых из них используют способность цепочек ДНК и/или РНК гибридизоваться – формировать двухцепочные участки, в которых цепочки связаны водородными связями между комплементарными основаниями. Для того, чтобы определить, имеют ли фрагменты ДНК общую последовательность и тем самым перекрываются, используют метод фингерпринтинга (“отпечатков пальцев”).

На рисунке 4 схематически представлена стратегия картирования с высоким уровнем разрешения. Стратегия картирования “снизу вверх” заключается в разделении хромосомы на небольшие участки, которые затем клонируют и упорядочивают. Упорядоченные фрагменты образуют протяженные блоки ДНК (контиги). Получаемая в результате библиотека клонов может включать от 10 тысяч до 1 млн. пар оснований. Преимущество этого подхода в доступности этих стабильных клонов³ для исследований.

Сегодняшние технологические достижения позволяют клонировать большие участки ДНК с использованием искусственно созданных хромосомных векторов, которые несут фрагменты ДНК человека размером до 1 Мб. Эти векторы содержатся в клетках дрожжей как искусственной хромосоме (YAC)⁴.

Последняя стадия физического картирования генома человека – определение всех пар оснований на каждой хромосоме, то есть полной нуклеотидной последовательности ДНК. Эта задача решается современной технологией секвенирования, включающей два основных этапа. Во-первых, субклонирование фрагментов ДНК из космид⁵ или библиотеки

³ Клон – клеточная популяция, полученная от одной клетки; в молекулярной генетике – идентичные фрагменты ДНК.

⁴ YAC (Yeast Artificial Chromosomes – искусственные хромосомы дрожжей) – вектор, применяемый для клонирования очень больших (до 400 Кб) фрагментов ДНК.

⁵ Космида – искусственно созданный вектор на основе генома фага лямбда, который позволяет в космидах клонировать большие (до 45 Кб) по сравнению с плазмидами фрагменты ДНК.

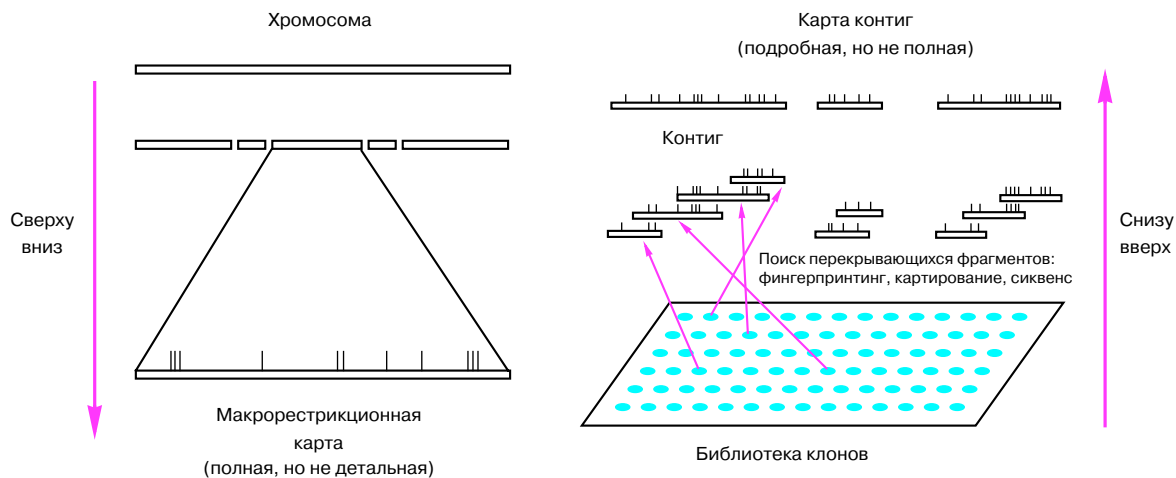


Рис. 4. Стратегия физического картирования по [20].

бактериофагов в специальные векторы для секвенирования, которые несут более мелкие фрагменты ДНК по сравнению с исходными. Во-вторых, дальнейшее преобразование субклонированных фрагментов в серию фрагментов, различающихся по длине только на 1 нуклеотид. Результаты секвенирования объединяются затем в длинные цепочки нуклеотидных последовательностей на хромосоме.

МЕДИЦИНСКИЕ ПРИЛОЖЕНИЯ ГЕНОМНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Типы геномных карт представлены на рисунке 5, отражающем основные изложенные выше подходы в картировании от самого низкого уровня их разрешения до самого высокого — полного знания нуклеотидной последовательности. Предстоит кропотливая работа. Но как этап пройденного пути в картировании генома человека, представим в качестве примера геномную карту одной из хромосом человека — 1-й хромосомы (рис. 6). Последний вариант карт всех хромосом человека представлен В. Маккьюстиком. В методическом плане (то есть по способу осуществления картирования) они являются формой физической карты, хотя локализация отдельных генов в хромосомах осуществлялась и генетическими методами, то есть на основе генетического сцепления. Карты являются иллюстрацией идентифицированных генов, ответственных за наследственные заболевания, “патологических” генов человека, “вызывающих” заболевания. Для 1-й хромосомы они перечислены справа от ее диаграммы. В. Маккьюстик, по аналогии с известным историческим фактом о влиянии анатомии Везалия на физиологию Гарвея и патологию Морганьи, в 1980 году предложил и обосновал понятие “анатомии генома человека” как основы патологической и функциональной анатомии генома человека.

Информация о локализации гена позволяет в настоящее время, используя ДНК-технологии, осуществлять ДНК-диагностику наследственных болезней. Основной алгоритм ДНК-диагностики состоит в следующем [13]. ДНК, выделенную из ткани любого органа, клеток крови или клеток, культивируемых вне организма, подвергают расщеплению рестрикционной эндонуклеазой. Среди множества образовавшихся фрагментов ДНК (от нескольких тысяч до десятков миллионов) необходимо найти один или несколько, несущих определенную нуклеотидную последовательность, и охарактеризовать эти фрагменты. Для этого разделенные электрофорезом в геле фрагменты “перепечатаются” на фильтр (специальным образом обработанную бумагу, нитроцеллюлозу или нейлон), фиксируют на нем, и зафиксированные фрагменты ДНК подвергают гибридизации с так называемым “зондом” — олигонуклеотидом, меченым радиоизотопом. Этот зонд, являющийся ключевым элементом диагностической

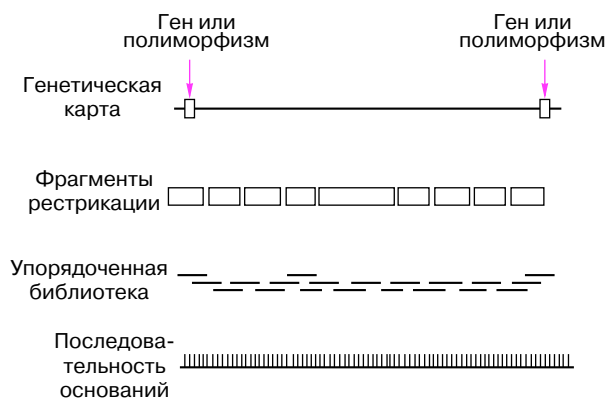


Рис. 5. Типы карт генома (по [20]).

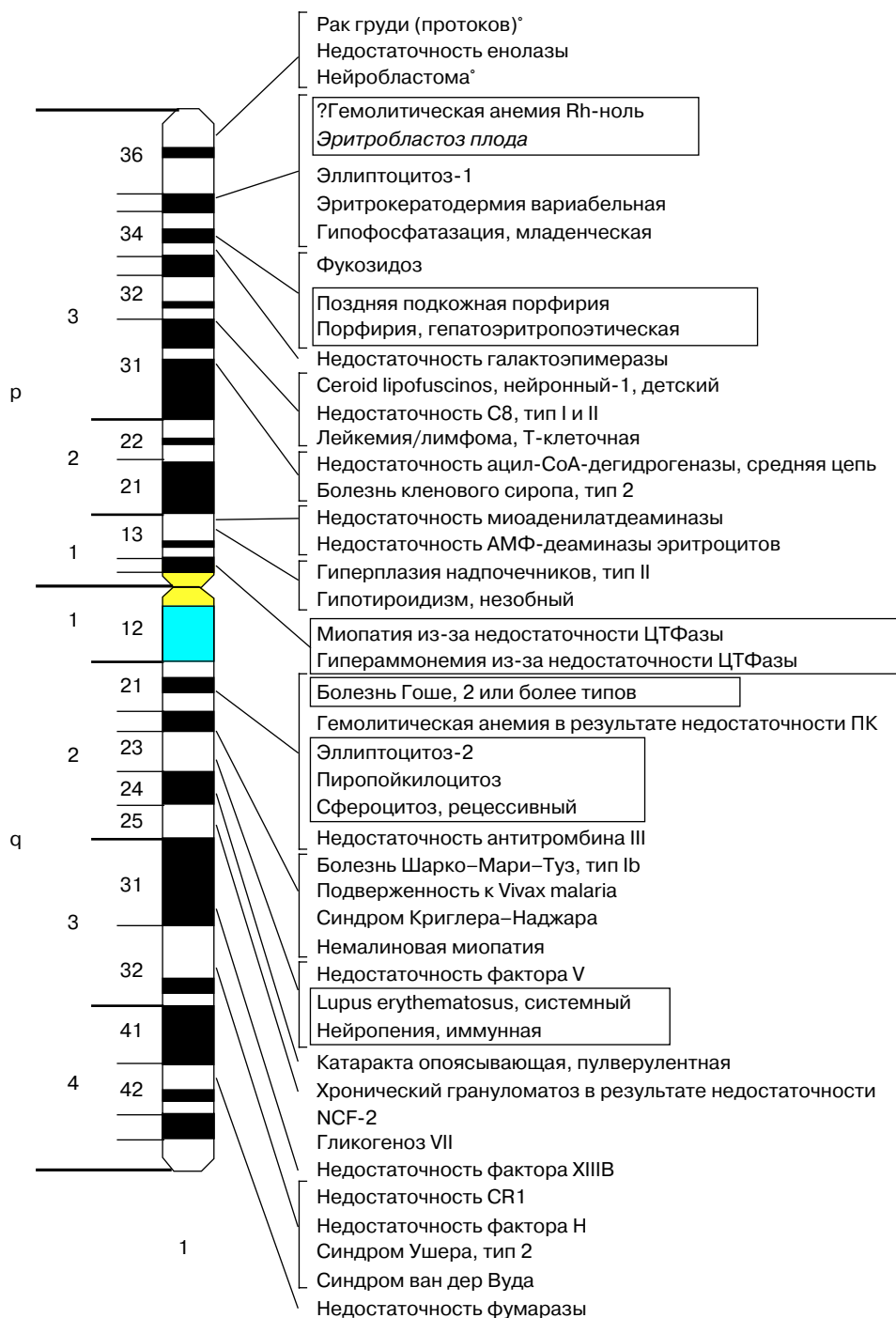


Рис. 6. Патологическая анатомия генома человека: гены болезней, картированные на первой хромосоме (по [2]). Рамкой выделены аллельные состояния; * – новообразования, связанные со специфической хромосомной перестройкой, онкогеном или потерей гетерозиготности опухолевых клеток; курсивом отмечена несовместимость матери и плода.

схемы, представляет собой ранее клонированную с помощью методов генетической инженерии нуклеотидную последовательность гена, подлежащего исследованию, или нуклеотидную последователь-

ность, синтезированную искусственным путем. Благодаря тому, что нуклеотидная последовательность зонда специфически связывается с комплементарными последовательностями фрагмента,

зафиксированного на фильтре, указанный фрагмент выявляется путем экспозиции с рентгеновской пленкой.

Таков принцип определения специфических нуклеотидных последовательностей в ДНК с помощью так называемой “блот-гибридизации”, положенной в основу ДНК-диагностики наследственных болезней и выявления “кандидатных генов” для МФЗ. В последние годы появились новые методические подходы к ДНК-диагностике болезней человека, и в настоящее время уже возможна молекулярная диагностика не менее 300 наследственных болезней. Список некоторых из них, особенно важных с точки зрения здравоохранения, представлен в таблице 1.

Благодаря геномным исследованиям, а также совершенствованию инструментальной диагностической медицинской техники появилась возможность обнаружения “патологического” гена в пресимптоматическом периоде, то есть когда про-

Таблица 1. Наследственные болезни человека, для которых возможна ДНК-диагностика

Заболевание	Локализация гена
Муковисцидоз	7q31,3 – q32
Мышечная дистрофия Дюшенна/Беккера	xp21,2
Фенилкетонурия	12q24,1
Гемофилия А	xq28
Гемофилия В	xq27,1 – q27,2
α-Талассемия	16pter – p13,3
β-Талассемия	11p15,5
Серповидноклеточная анемия	11p15,5
Недостаточность 21-гидроксилазы (врожденная гиперплазия коры надпочечников)	6p21,3
Недостаточность α1-антитрипсина	14q32,1
Ретинобластома	13q14,1 – q14,2
Нейрофиброматоз Реклингаузена	17d11,2
Хорея Гентингтона	4p16,3
Атаксия Фридрейха	9q13 – q21,1
Миотоническая дистрофия	19q13,2 – q13,3
Спинальные амиотрофии (II, III)	5q12,2 – q13,3
Синдром Мартина–Белла	xq27,3
Семейная гиперхолестеринемия	19p13,2 – p13,1
Гепатолентикулярная дегенерация (болезнь Вильсона–Коновалова)	13q14 – q21
Поликистоз почек	16p13,31 – p13,12

явления болезни еще не наблюдается (“болезненный” ген проявит себя в более позднем возрасте) или пренатальном (дородовом) периоде (ДНК плода выделяют из ткани хорионической оболочки плода, амниотической жидкости, крови плода, полученных на разных стадиях беременности). Более того, возможна преимплантационная диагностика, когда ряд яйцеклеток матери оплодотворяются *in vitro* (в пробирке), затем несколько зародышей развиваются до стадии 8 клеток, и 1 – 2 клетки зародыша анализируют на наличие поврежденного гена. Зародыш, не содержащий поврежденного гена, имплантируется в клетку. Об этом и конкретных примерах молекулярно-генетической диагностики болезней человека доступно написано в отечественных публикациях [13, 14].

Геномные исследования и идентификация генов, повреждение которых приводит к заболеваниям, позволяет глубже понять биохимические процессы, определяющие интимные механизмы формирования клинических проявлений болезни. Эти новые знания служат основой для разработки адекватных методов лечения заболеваний, в том числе генотерапии – этиологической (причинной) коррекции наследственных болезней. Уже сейчас получено разрешение на клинические испытания генотерапевтических подходов для лечения семейной гиперхолестеринемии с помощью гена рецептора липопротеинов низкой плотности; разных форм β-талассемии с использованием рекомбинантных ДНК, несущих гены тимидинкиназы, дигидрофолатредуктазы и β-глобина; дефицита аденозиндезаминазы с введением активного гена аденозиндезаминазы в Т-лимфоцитах больных пациентов [15].

Результаты геномных исследований все шире используются в судебной медицине. Появление технологии геномной диагностики (DNA fingerprinting) позволило решать важные проблемы определения генетического разнообразия, индивидуальности и родства людей (и других организмов) на уровне анализа варибельности структуры ДНК [16]. А.А. Баев [17] приводит любопытный пример использования возможностей молекулярно-генетического анализа в Аргентине. Там в период диктатуры существовала практика похищения детей репрессированных. После восстановления демократии организация “Grandmother” осуществляет поиск пропавших детей, а для установления родства используются генетические методы. Из 200 детей найдено пока 50.

Примером использования возможностей геномной дактилоскопии является исследование по идентификации останков царской фамилии Романовых (см. статью Н.К. Янковского в “Соросовском Образовательном Журнале”, № 2, 1996 г.). В криминологическом центре Алдермастона (Великобритания) исследовали ДНК, полученную из костного вещества. Родство императрицы и трех княжен доказано

идентичностью их митохондриальной ДНК. Эта увлекательная история “генетического” расследования более подробно описана в [18].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Впечатляющие успехи геномных исследований, осуществляемых международной и рядом национальных программ “Геном человека”, становятся достоянием не только сообщества ученых-биологов, но и всего общества, обсуждающего проблемы блага и зла при использовании огромного объема получаемой генетической информации. Так сформировалась “этическая компонента” программы “Геном человека”, которая включает следующее: каждый член общества и общество в целом должны ясно представлять значение картирования и секвенирования генома человека; постоянно контролировать социальные, этические и правовые аспекты геномных исследований; поощрять общественные дискуссии по данным вопросам, отработывая тактику в выборе приемов, гарантирующих, что генетическая информация будет использована только во благо отдельному лицу, членам его семьи, обществу. Рабочая группа проекта “Геном человека” США перечисляет некоторые, наиболее важные сегодня, области особого внимания в “этической компоненте” геномных исследований [19]: использование генетической информации в отношении страхования и трудоустройства (предупреждение дискриминации носителей тех или иных “особых” генов); в вопросах уголовного правосудия, усыновления, годности к военной службе; получения желаемого образования (специальности); достижения конфиденциальности генетической информации; совершенствование программ здравоохранения по дородовой и пресимптоматической диагностике наследственных болезней, скрининга на выявление носителей “больных” генов при отсутствии методов лечения болезней, вызываемых этими генами; генетическое образование медицинского персонала, пациентов и населения в целом; история развития генетики — евгеническое движение, генетика поведения.

В каждом обществе морально-этические проблемы геномных исследований имеют свои особенности. Об этих проблемах для нашего общества в недавнем прошлом (нынешняя программа “Геном человека” создавалась еще в СССР) интересно рассказал академик А.А. Баев [17]. Но следует констатировать, что это “гуманитарное” направление геномных исследований находится в самом начале пути.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Ключевский В.О.* Неопубликованные произведения. М.: Наука, 1983. С. 292.
2. *McKusick A.* Mendelian Inheritance in Man. Baltimore and London: Jons Hopkins University, 1992.
3. *Баев А.А.* В сб.: Информ. бюлл. “Геном человека”. М.: ВИНТИ, 1990.
4. *Фогель Ф., Мотульски А.* Генетика человека. В 3 т. М.: Мир, 1990.
5. *Бочков Н.П., Захаров А.Ф., Иванов В.И.* Медицинская генетика. М.: Медицина, 1984.
6. *Дубинин Н.П.* Некоторые проблемы современной генетики. М.: Наука, 1994.
7. *Алтухов Ю.П.* Генетические процессы в популяциях. М.: Наука, 1989.
8. *Passarge E.* Tashenatlas der Genetik. Stuttgart, New-York: Thieme, 1994.
9. *Харрис Г.* Основы биохимической генетики человека. М.: Мир, 1973.
10. *Мэрфи Э.А., Чейз Г.А.* Основы медико-генетического консультирования. М.: Медицина, 1979.
11. *Баев А.А.* // Природа. 1995. № 4. С. 64.
12. *Эрикссон Д.* // В мире науки. 1992. № 6. С. 72.
13. *Бочков Н.П., Калинин В.Н.* В кн: Итоги науки и техники, серия “Геном человека”. М.: ВИНТИ, 1990. С. 124.
14. *Евграфов О.В.* В кн.: Двадцатый век, биология. М., 1994. С.66.
15. *Шишкин С.С., Калинин В.Н.* Медицинские аспекты биохимической и молекулярной генетики. М., 1992.
16. *Рысков А.П.* В сб.: Информ.бюлл. “Геном человека”. М.: ВИНТИ, 1990. С. 3.
17. *Баев А.А.* // Человек. 1991. № 3. С. 51.
18. *Gill P., Ivanov P., Kimpton C. et al.* // Nature Genetics. 1994. № 6. P. 130.
19. Understanding Our Genetic Inheritance. The U.S. Human Genome Project: The First Five Years F 4 1991 – 1995. NIH Publication, № 90 – 1590, 1990.
20. Primer on Molecular Genetics. U.S. Department of Energy, Washington, 1992.

* * *

Валерий Павлович Пузырев, доктор медицинских наук, профессор Сибирского государственного медицинского университета, член-корреспондент РАМН. Круг научных интересов — генетика популяций человека и клиническая генетика. Занимается исследованием наследственных факторов подверженности мультифакториальным заболеваниям, соавтор первой отечественной монографии “Наследственность и атеросклероз”, автор четырех монографий.