

ISSN 2782-3806
ISSN 2782-3814 (Online)
УДК 616-039.42

РЕДКИЕ И НЕИЗВЕСТНЫЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ — СОВРЕМЕННЫЙ ТРЕНД МЕДИЦИНЫ

Васичкина Е. С., Костарева А. А.

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр имени В. А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Научный центр мирового уровня «Центр персонализированной медицины», Санкт-Петербург, Россия

Контактная информация:

Васичкина Елена Сергеевна,
ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова»
Минздрава России,
ул. Аккуратова, д. 2, Санкт-Петербург,
Россия, 197341.
E-mail: Vasichkina_ES@almazovcentre.ru

Статья поступила в редакцию 01.03.2022
и принята к печати 18.03.2022.

РЕЗЮМЕ

Редкие и неизвестные заболевания многочисленны и гетерогенны по своей природе, характеризуются низкой распространенностью и относительно высокими показателями смертности и инвалидизации. В настоящее время научному сообществу известно 6000–8000 редких болезней, при этом ежегодно описывается еще 250–280 новых нозологий. Актуальными проблемами здравоохранения во всем мире являются как трудность диагностики, так и отсутствие эффективного лечения для многих таких патологий.

Растущий глобальный интерес к данной проблеме и поиск ее решения привел к инициации проектов по редким, неизвестным и малоизученным заболеваниям во многих странах.

Ключевые слова: геномное секвенирование, модельные животные, редкие и неизвестные заболевания, экзомное секвенирование.

Для цитирования: Васичкина Е.С., Костарева А.А. Редкие и неизвестные заболевания — современный тренд медицины. Российский журнал персонализированной медицины. 2022;2(2):72-83. DOI: 10.18705/2782-3806-2022-2-2-72-83

RARE AND UNKNOWN DISEASES ARE A MODERN TREND IN MEDICINE

Vasichkina E. S., Kostareva A. A.

Almazov National Medical Research Centre, World-Class Research Centre for Personalized Medicine, Saint Petersburg, Russia

Corresponding author:

Vasichkina Elena S.,
Almazov National Medical Research Centre,
Akkuratova str., 2, Saint Petersburg,
Russia, 197341.
E-mail: Vasichkina_ES@almazovcentre.ru

Received 1 March 2022; accepted
18 March 2022.

ABSTRACT

Rare and unknown diseases are numerous and heterogeneous, characterized by low prevalence and relatively high mortality and disability rates. There are currently 6000–8000 rare diseases known to the scientific community, with an additional 250–280 new diseases being described each year. Both the difficulty of diagnosis and the lack of effective treatment for many of these diseases are pressing health problems throughout the world. The growing global interest in the problem of rare and unknown diseases and the search for its solution has led to the initiation of projects on rare, unknown and little-studied diseases in many countries.

Key words: exome sequencing, genomic sequencing, model animals, rare and unknown diseases.

For citation: Vasichkina ES, Kostareva AA. Rare and unknown diseases are a modern trend in medicine. Russian Journal for Personalized Medicine. 2022;2(2):72-83. (In Russ.) DOI: 10.18705/2782-3806-2022-2-2-72-83

Список сокращений: ГС — геномное секвенирование, РЗ — редкие заболевания, РНЗ — редкие и неизвестные заболевания, ЦСМО — центр скрининга модельных организмов, ЭС — экзомное секвенирование.

Одним из вызовов современной медицины является диагностика и лечение пациентов с редкими и неизвестными/недиагностированными заболеваниями (РНЗ).

Хотя универсального определения редкого заболевания (РЗ) не существует, тем не менее, они представляют собой весьма неоднородную группу клинических форм, характеризующихся низкой распространенностью и относительно высокими показателями смертности и инвалидизации [1, 2].

Редкие, малоизученные и неизвестные заболевания многочисленны и гетерогенны по своей природе [1, 2]. По данным разных авторов, около 80 % из них генетически детерминированы, хотя, согласно недавнему обзору ORPHADATA 2018 года, было продемонстрировано, что по меньшей мере 39 % пациентов имеют идентифицированную генетическую этиологию, которая может быть отождествлена с редкими генетическими заболеваниями [3]. Довольно часто эти заболевания носят семейный характер. Безусловно, медико-генетические и лабораторно-генетические методы исследования и, в частности, новые технологии секвенирования ДНК и РНК расширили границы понимания многих редких и малоизученных заболеваний, а также помогли в установлении ранее не известных и не описанных нозологических форм [4]. Нередко они ассоциированы с тяжелой клинической картиной. Так, было подсчитано, что почти 50 % зарегистрированных РЗ диагностируются у детей, из них 30 % умирают в возрасте до 5 лет и 12 % пациентов — в возрасте от 5 до 15 лет [5].

По данным литературы, наличие РЗ у пациента приводит к снижению продолжительности жизни в 57–67 % случаев [6, 7]. Ранняя и точная диагностика заболевания является обязательным условием для обоснованного лечения и ведения. Однако на сегодня реальность такова, что пациенты с редким или неизвестным заболеванием и их семьи часто проводят в среднем более пяти лет в диагностической «одиссее», при этом в результате многие состояния так и остаются недиагностированными [8, 9].

В 2015 году Black N. изобразил путь — «одиссею» пациентов с редкими заболеваниями от дебюта до установления диагноза в виде схемы, которая представлена на рисунке 1 [8].

Понятие (или термин) «неизвестное/недиагностированное» заболевание возникло не так давно,

и его введение было определено необходимостью маршрутизации пациентов с целью сокращения времени до установления правильного диагноза [8]. Пациент с «недиагностированным» заболеванием должен быть сразу направлен в специализированный центр, который занимается комплексным исследованием проблемы РНЗ, минуя этапы обследования в первичном звене здравоохранения. Время до постановки диагноза является важным фактором, влияющим на прогноз детей с редкими генетическими заболеваниями, особенно для новорожденных в критическом состоянии, находящихся в отделениях интенсивной терапии [10].

Основные проблемы РНЗ связаны, во-первых, с их низкой распространенностью, что приводит к недостатку знаний и опыта со стороны специалистов. Вторым фактором, затрудняющим диагностику, является то, что в большинстве случаев у пациентов с РЗ наблюдаются неспецифические клинические проявления, которые не позволяют поставить диагноз. Это приводит к тому, что в течение долгого времени пациент подвергается большому числу дорогостоящих обследований, лабораторных тестов, зачастую инвазивных, консультируется большим количеством специалистов, увеличивая шанс получить очередной ошибочный диагноз и ложась тяжелым бременем на здравоохранение. Важно помнить, что большинство этих заболеваний являются хроническими, прогрессирующими с развитием серьезных осложнений, что может не позволить пациенту выздороветь даже после установления диагноза, и часто приводят к инвалидизации, если в процессе длительного диагностического поиска было упущено много времени [11–14]. Помимо прямого эффекта на здоровье пациента, данная ситуация нередко приводит к тяжелому психологическому и социально-экономическому кризису семьи [8, 9, 15].

РАСПРОСТРАНЕННОСТЬ

Точных данных о том, сколько сегодня пациентов с редкими и неизвестными заболеваниями во всем мире, нет, что обусловлено различными критериями определения РЗ в разных странах. Так, США еще в 1983 году определили пороговое значение для редкого заболевания как менее 200 000 людей в стране, это в среднем 86 человек на 100 000 [16]. В Японии любая болезнь, поражающая менее 50 000 человек в стране, считается редкой, что соответствует менее чем 1 на 2500 человек [17]. В странах Европейского союза болезнь считается редкой, если ею страдает не более 5 человек из 10 000 [18, 19]. Согласно закону о РЗ от 2016 года,

в Корее заболевание считается редким, если поражает менее 20 000 пациентов или его распространенность неизвестна из-за редкости [20]. В России, согласно Федеральному закону № 323-ФЗ «Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации» (2011 г.), распространенность 1 пациент на 10 000 человек населения является достаточным показателем для РЗ [21]. Кроме того, некоторым РЗ присуща определенная эндемичность и специфичность для конкретной популяции, несмотря на их редкую встречаемость [4].

В настоящее время научному сообществу известно 6000–8000 РЗ [15], при этом ежегодно описывается еще 250–280 новых заболеваний [1]. Согласно европейскому регистру Orphanet, на сегодня зарегистрирована информация о 6172 уникальных РЗ, 71,9 % из которых являются генетическими и 69,9 % из них имеют дебют исключительно в детском возрасте [15, 18]. На основании анализа регистра были получены фактические данные о распространенности РЗ в популяции, которая составляет 3,5–5,9 %, что соответствует 263–446 млн человек по всему миру. Принимая во внимание, что в данном анализе не учитывались редкие виды рака и инфекционных заболеваний, число людей, страдающих от РЗ, скорее всего, значительно выше [18].

По данным Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM) (URL: <https://www.omim.org/>), по состоянию на август 2020 года зарегистрировано 9173 наследственных заболевания, из которых 3308 относятся к заболеваниям, классифицируемым как фенотипы с неизвестной молекулярной основой [17].

По результатам двух исследований, проведенных Японским агентством медицинских исследований и разработок, число случаев редких и еще не диагностированных заболеваний было более 37 000 [17]. В Китае зарегистрировано около 15,6 млн человек с РЗ, что является довольно большой группой [22]. Все вышеперечисленное в очередной раз свидетельствует об актуальности и масштабности проблемы пациентов с РНЗ [23, 24].

ИСТОРИЯ РАЗВИТИЯ И МИРОВОЙ ОПЫТ

Растущий глобальный интерес к проблеме редких и неизвестных заболеваний и поиск ее решения привел к инициации проектов по РНЗ во многих странах. Пионером в развитии данного направления стали США. В 2008 году была запущена новаторская программа по ведению и разрешению недиагностированных случаев РЗ усилиями Национального института исследования генома челове-

ка, Национального института здоровья человека и еще нескольких других центров США. Главная цель данной программы — определение диагноза у пациентов, которым долгие годы, несмотря на проводимые обследования, не получалось его установить. Кроме того, важнейшими задачами этой структуры было получение представления о новых механизмах и путях развития заболеваний; внесение вклада в создание стандартов диагностики и лечения редких и неизвестных заболеваний; своевременное и максимально полное предоставление полученных результатов исследований широкой общественности [25, 26]. Успех программы послужил поводом для создания в 2014 году «Сети изучения недиагностированных заболеваний» Национального института здоровья с целью распространения этой модели на другие медицинские центры в США. Данная сеть состоит из координационного центра, 7 клинических центров (включая Программу по недиагностированным заболеваниям Национального института здоровья), двух центров секвенирования, центра метаболизма, центра моделирования и биобанка [25, 27]. Так, по результатам практически 4-летнего ретроспективного анализа (с июля 2015 г. по сентябрь 2019 г.) в программу было включено 964 пациента с РНЗ. Фенотипическая и генотипическая диагностика полностью завершена у 791 участника, оставшиеся 173 продолжают обследование. Из 791 обследованного пациента 231 участнику (29 %) поставлено 240 диагнозов и обнаружено 17 новых ассоциаций болезней и генов. Методом экзомного секвенирования (ЭС) был идентифицирован диагноз в 116 случаях, в 74 — методом геномного секвенирования (ГС). При этом, в 190 (79 %) случаях из 240 диагнозы были установлены в результате повторного ЭС или ГС. С помощью моделирования было открыто 8 из 17 новых генов, ассоциированных с заболеваниями. Развитая инфраструктура Сети, скоординированный и трансляционный подход имели решающее значение для постановки многих диагнозов и открытию новых генов [28].

Еще одним примером успешного развития данного направления является испанская программа по недиагностированным РЗ, которая была реализована Институтом исследований редких заболеваний Института здоровья имени Карлоса III и правительственной организацией. Пилотный проект данного направления был запущен в 2013 году [29]. Программа предлагает междисциплинарный подход к пациентам, пребывающим длительное время в безуспешной диагностической «одиссее». В команду включены врачи разных медицинских специальностей: генетики, биологи, биохимики,

биоинформатики и дисморфологи. Кроме того, программа сотрудничает с испанским биобанком РЗ, испанским реестром пациентов с РЗ и Испанским обществом по мутациям. Реализация программы основана на трех основных принципах: 1) исчерпывающее и индивидуальное изучение каждого случая; 2) использование методов секвенирования нового поколения; 3) создание систем обмена данными на международном уровне [29].

С момента официального старта программы (октябрь 2015 г.) по май 2018 года было зарегистрировано 147 случаев РЗ, из них 109 (74,1 %) у детей. При этом глубокое фенотипирование в сочетании с ЭС позволило поставить диагноз 20 пациентам. Лишь в 55 % случаев диагноз был поставлен в течение одного года. В оставшихся случаях период с начала заполнения медицинской документации до постановки диагноза в среднем занял около 13,7 месяца. Следует отметить, что эта междисциплинарная программа направлена на содействие в диагностике и открытии новых РЗ с помощью трансляционного подхода [29].

Созданная в Японии программа по РНЗ установила единую общую схему диагностики и исследований редких заболеваний, которая охватывает всю территорию Японии, а также все специальности. Для реализации программы созданы координационный центр, клинический центр, подгруппа клинических специальностей, аналитический центр, центр обработки данных и ресурсный центр. Благодаря данной программе было выявлено множество родословных с РНЗ (5359 к марту 2020 г.), установлены их диагнозы, идентифицированы новые причинные гены и нозологические единицы [24].

Так, в марте 2020 года Программа по РНЗ включала в себя 487 учреждений, в том числе 37 клинических центров, 15 поликлинических центров и 435 больниц. Пять клинических центров выполняют также функции аналитических, и один из них отвечает за обработку данных. В марте 2020 года была организована 21 подгруппа клинических специальностей, включающая 469 клинических специалистов для поддержки диагностических комитетов клинических центров. Ресурсный центр состоит из хранилища для образцов геномной ДНК (3753) и колоний лимфобластных клеток (2512). Создание Программы способствовало широкому обмену данными и международному сотрудничеству и играет важную роль в национальной сети медицинской поддержки при редких и трудноизлечимых заболеваниях вместе с научными обществами и национальными центрами [24].

В рамках годичного пилотного проекта в январе 2017 года Корейским национальным институтом

здравоохранения была запущена Корейская программа по недиагностированным заболеваниям. В экспертный консорциум данной программы было включено более 20 специалистов, охватывающих практически все разделы педиатрии и смежные специальности в шести институтах. Всего на исследование было направлено 99 пациентов, и в 38,9 % случаев был достигнут диагностический успех [20].

Огромный прогресс, продемонстрированный китайскими исследователями за последние годы в области РНЗ, стал возможен благодаря поддержке правительства КНР. Так, принятие закона о профилактике и лечении РЗ и создание Китайской организации РЗ, открытие нескольких центров по изучению РЗ привели к повышению осведомленности как граждан, так и исследователей в данной области [22].

В 2014 году была создана Международная сеть по недиагностированным заболеваниям для повышения уровня окончательной диагностики лиц с РНЗ. На данный момент в нее входит 26 стран (Австралия, Австрия, Болгария, Канада, Венгрия, Индия, Италия, Япония, Южная Корея, Испания, Швеция, США, Израиль, Норвегия, Китай и др.) [25]. Целями Международной сети являются повышение уровня диагностики и лечения пациентов с РНЗ за счет создания единых протоколов; развитие исследований по поиску причин РНЗ путем сбора и обмена стандартизированными, высококачественными клиническими и лабораторными данными, включая генотипирование, фенотипирование и сведения о воздействии окружающей среды; создание интегрированных и совместных исследовательских сообществ в нескольких клинических центрах, а также среди лабораторных и клинических исследователей, подготовленных к изучению патофизиологии этих новых и РЗ, и, конечно, обмен опытом для совершенствования и разработки оптимальных алгоритмов ведения пациентов [25]. Международная сеть тесно сотрудничает с Международным консорциумом по исследованию РЗ, основанным в 2011 году (IRDiRC, <http://www.irdirc.org/>) [30, 31]. Одной из основных и амбициозных целей Международного консорциума на 2017–2027 гг. является постановка окончательного диагноза РНЗ в течение одного года с момента выявления [32, 33].

ДИАГНОСТИКА

Диагностика — это краеугольный камень РНЗ. Так, диагностическая оценка включает проведение полного глубокого фенотипирования на первом этапе. Далее пациенты проходят комплексный генетический анализ [34]. После идентификации генов-кандидатов причинно-следственная связь

доказывается с помощью исследования клеток ин-витро и выполнения функционального анализа с использованием моделирования [35, 36].

Глубокое фенотипирование пациентов с недиагностированными редкими генетическими заболеваниями и членов их семей, если это необходимо, имеет решающее значение для последующих диагностических подходов. Основываясь на подробной клинической оценке, специалисты должны изучить все возможные известные заболевания, которые могут объяснить клиническую картину пациента. Важно, чтобы были учтены атипичные проявления, фенотипическая вариабельность, возможность сосуществования нескольких редких генетических заболеваний и недавно обнаруженные ассоциации генов и болезней [34].

После того как фенотип пациента проанализирован, следует пересмотр стратегии лабораторного и генетического тестирования, которая ранее не позволила поставить диагноз. Необходимо тщательно изучить все результаты проведенных исследований для понимания, использовался ли полно-

ценный и комплексный подход в отношении всех возможных генов и механизмов заболевания [37].

Безусловно, ключевым этапом прорыва в диагностике РНЗ стало секвенирование ДНК нового (следующего) поколения (полное ЭС/ГС, секвенирование длинного считывания, РНК-секвенирование) и другие омиксные технологии (протеомика, гликомика, липидомика, эпигеномика) [10, 25, 34]. Так, ЭС нацелено на часть генома, кодирующего белок, и позволяет поставить диагноз в 29–57 % случаев [34]. Необходимо иметь в виду, что отрицательный результат ЭС является важной отправной точкой для пациента, у которого диагноз остается неизвестным [38]. Ряд авторов в качестве инструмента первой линии для диагностики редких генетических заболеваний рекомендуют использовать ГС, так как оно может обнаружить большинство вариаций в одном тесте. В таблице 1 представлено сравнение различных методов генетического тестирования [10, 39].

По данным Бика с соавторами, ГС исследует примерно 90 % человеческого генома и, соответ-

Таблица 1. Сравнение регистрируемых типов вариантов, обнаруженных с помощью различных методов генетического тестирования. Адаптировано из Murdock DR, Rosenfeld JA, Lee B (2022) [39]

Генетический тест	ОВ	Вариация числа копий	Мозаичные варианты	Экспансия повторов	Сбалансированный и комплексный структурный вариант	Митохондриальная ДНК	Проверенные гены	ВНЗ
По Сенгеру	да	нет	ограничен	нет	нет	если включена	один-несколько	+
ХМА	нет	да	да (только вариация числа копий)	нет	нет	нет	не менее 20 000	++
Панель ССП	да	да	да	нет	нет	если включена	несколько-сотни	++
Полное ЭС	да	ограничен	ограничен (зависит от покрытия)	нет	нет	если включена	20 000 (только кодирующие области)	+++
Полное ГС	да	да	ограничен (зависит от покрытия)	да	да	да	20 000 (кодирующие и некодирующие области)	++++

Примечания: ХМА — хромосомный матричный анализ, ССП — секвенирование следующего поколения, ЭС — экзомное секвенирование, ГС — геномное секвенирование, ОВ — однонуклеотидный вариант, ВНЗ — вариант неопределенного значения

ственно, может предоставить более полный анализ, в том числе молекулярный, нежели ЭС. Помимо редких менделевских заболеваний, ГС в некоторых случаях позволяет идентифицировать мозаицизм, фармакогенные варианты, однородительскую дисомию, шкалу полигенного риска, родословную и др., что не может быть определено при ЭС [10]. Однако трудность биоинформатической интерпретации данных ГС, малая изученность функциональной значимости большинства интергенных участков и невозможность однозначной трактовки полученных данных не позволяет сегодня применять его в качестве рутинного лабораторного метода первой линии исследований.

Было показано, что повторный анализ данных полного секвенирования в сотрудничестве с лечащим врачом повышает диагностическую ценность исследования на 10 %, в первую очередь, в связи с пониманием медиком клинических признаков заболевания и их коллегиальным обсуждением [38]. Кроме того, использование ГС у детей, особенно новорожденных в критическом состоянии, сокращает время диагностического поиска. Тесты, основанные на секвенировании следующего поколения, также позволяют оценить митохондриальный геном с последующим ЭС ядерных генов. При этом следует отметить, что ни один из современных генетических методов исследования не может обнаружить все хромосомные аномалии и для комплексного полноценного диагностического поиска требуется одновременное сочетание применения нескольких методов [10].

РНК-секвенирование — еще один инструмент в арсенале методов генетической диагностики [10, 38]. Для секвенирования РНК требуется преобразование РНК в комплементарную ДНК, за которым следует секвенирование следующего поколения и анализ для определения уровней транскриптов матричной РНК, ее сплайсинга и некодирующих последовательностей РНК. Варианты, кодирующие геномные белки, также могут быть идентифицированы с использованием данных РНК-секвенирования. В ряде исследований было продемонстрировано его успешное применение для диагностики редких заболеваний, например, в рецессивных случаях, когда одна мутация была обнаружена, а вторая — нет [34]. Для проведения РНК-секвенирования используется материал органов и тканей, максимально вовлеченных в патологический процесс. При этом основной задачей исследования является не поиск генетических поломок и причинных мутаций, а возникшие в результате этого отклонения в генной экспрессии и возможные точки приложения таргетных препаратов. По мере совершенствования секвенирования РНК, алгоритмов анализа и контрольных когорт станет ясным оптимальное позиционирование этой технологии на пути диагностической помощи в случае РНЗ [34].

В целом использование РНК-секвенирования совместно с ЭС и ГС привело к улучшению диагностики РЗ на 7,5–36 %. Использование данного метода помогает в идентификации вариантов неопределенной значимости и способствует диагностике



Рис. 1. Схематическое изображение «одиссеи» пациента с редким или недиагностированным заболеванием. Адаптировано из Black N, et al. Diagnostic Odyssey for Rare Diseases: Exploration of Potential Indicators. Policy Innovation Research Unit. 2015

новых случаев [39]. Планируется, что секвенирование РНК будет частью многоэтапного подхода для идентификации причинных вариантов ДНК вблизи выявленных аномальных транскриптов [34].

В диагностике РЗ также используются несколько методов оценки метилирования ДНК в масштабах всего генома. Эти методы начинаются с бисульфитной конверсии ДНК, при которой неметилированные основания цитозина дезаминируются до урацила. Обработанную последовательность ДНК затем оценивают либо с помощью микропанелей, либо с помощью секвенирования и сравнивают с большим количеством контрольных образцов, соответствующих возрасту и тканям. Наибольший диагностический потенциал данные методы могут продемонстрировать среди пациентов с клиническим подозрением на нарушение импринтинга или мутацию зародышевой линии в эпигенетическом регуляторе, для которого существует определенная эпи-сигнатура. Эти эпи-сигнатуры относятся к новому диагностическому инструменту и были определены для некоторых аномалий и синдромов (пороки сердца, аномалии половых органов, альфа-талассемии умственной отсталости, синдром Сотоса и др.). Для пациентов с РНЗ с неизвестной вероятностью варианта в известном гене метилирования наличие или отсутствие специфической

сигнатуры метилирования может служить функциональным доказательством для классификации данного варианта как патогенного или доброкачественного [34].

Таким образом, клиническое использование секвенирования нового (следующего) поколения в качестве диагностического теста может привести к раннему и обоснованному, а иногда и к спасительному лечению и предотвращает и сокращает неблагоприятные последствия РНЗ [10]. Тем не менее, будущие исследования должны ответить на вопрос, при каких заболеваниях и синдромах ГС имеет наибольшую диагностическую значимость, что также может повлиять на терапию этих состояний [10, 35].

Еще одной группой диагностических методов при изучении РЗ являются масс-спектрометрия и хроматография, которые могут применяться для определения протеомного, липидного и метаболомного спектра биологических жидкостей и тканей. Сущность этих методов заключается в изучении химических процессов и гомеостаза веществ в организме, включая низкомолекулярные субстраты, промежуточные продукты и продукты метаболизма. И если секвенирование РНК и метилирование могут выявить последствия действия геномных вариантов, то метаболомика дает представления

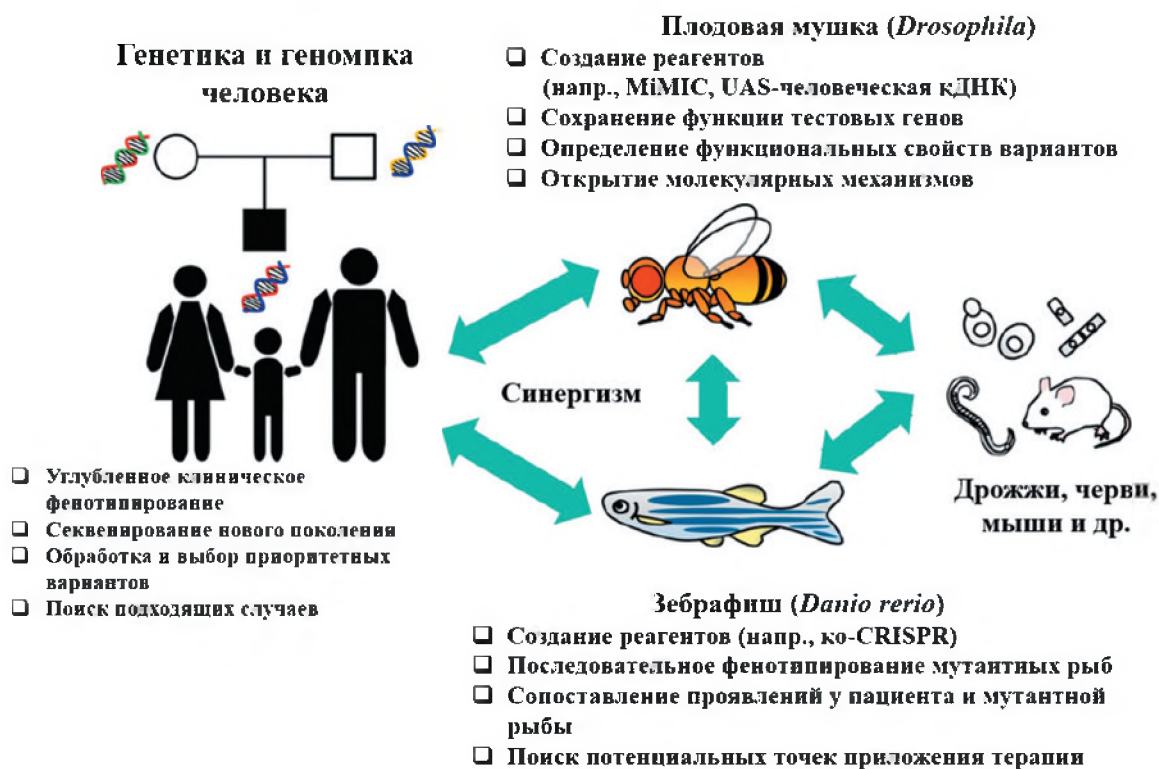


Рис. 2. Схема сотрудничества клиницистов, генетиков и исследователей модельных объектов. Адаптировано из Wangler M, Yamamoto S, et al. (2017) [40]

о результатах их действия на уровне конкретных соединений, например, в случае быстрого и чувствительного скрининга новорожденных [34].

Следует отметить, что внедрение секвенирования следующего поколения выявило ошеломляющее количество вариантов одного и того же гена у разных людей. Каждый человеческий геном содержит в среднем более 3 млн однонуклеотидных вариантов по сравнению с эталонной последовательностью. Из примерно 20 000 человеческих генов только около 4000 в настоящее время связаны с моногенными заболеваниями и/или РЗ в Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM) и Orphanet [39, 40]. Безусловно, открытие и идентификация атипичных проявлений РНЗ расширяет представление о фенотипическом спектре заболеваний. Знания об ассоциации генов РЗ меняются практически ежедневно, и ежегодно сообщается примерно о 300 новых открытиях. Однако проблема интерпретации полученных геномных вариантов неопределенной значимости остается весьма существенна [40]. В случае идентификации варианта неопределенной значимости необходимо начать с поиска новых доказательств патогенности, например, в литературе или базах данных, таких как ClinVar [37], или доброкачественности вариации, например, в таких базах данных, как gnomAD [41]. Действительно, идентификация нескольких пациентов с аналогичным заболеванием, у которых есть предполагаемые патогенные варианты в одном и том же гене, можно рассматривать как вариант решения, однако, этот процесс может оказаться слишком медленным, дорогостоящим и часто безуспешным. В связи с этим еще в 2015 году в США было предложено использовать Центр скрининга модельных организмов (ЦСМО) в первую фазу исследования, в дальнейшем расширив его функции на втором этапе с 2018 года. С помощью моделирования оценивается гипотеза о том, что определенные гены и варианты, идентифицированные у пациентов, могут вызывать клинические фенотипы [40].

Первоначально ЦСМО состоял из центра биоинформатики, а в качестве организмов для моделирования использовались плодовая мушка и рыбки Данио (*D. rerio*). В компетенции центра биоинформатики входит анализ представленных генов и вариантов, в том числе с использованием общедоступных баз данных по моногенным заболеваниям, таких как ExAC и gnomAD, и баз данных менделевских болезней, таких как центры менделевской геномики для поиска совпадающих случаев и вариантов. ЦСМО разработал надежную интегрированную платформу под названием

MARRVEL (Агрегированные ресурсы модельных организмов для исследования редких вариантов), которая поддерживает интеграцию более 20 запросов в онлайн-базах данных в один поиск. Так, в первую фазу функционирования ЦСМО было изучено 59 генов на плодовых мушках и 16 на рыбках *D. rerio*, два гена изучались на обеих моделях. В результате функционального анализа с помощью моделирования были получены подробные данные о биологических механизмах для 19 генов [40].

ЦСМО — это уникальный ресурс, который с помощью мультидисциплинарного подхода в биоинформатике, генетике человека и моделировании, используя достижения современных технологий геномной инженерии в моделировании, позволяет провести функциональный анализ *in vivo*, оценить фенотипическую картину, тем самым ускорив диагностику РЗ, и поставить точку в диагностической «одиссее». Исследования, проводимые в ЦСМО, предоставляют колоссальные возможности для открытия новых генов, изучения и лучшего понимания основных закономерностей заболевания. Это в свою очередь позволит разработать новые методы лечения [40]. На рисунке 2 схематично изображено сотрудничество между клиницистами, генетиками и исследователями модельных животных в рамках работы такого центра.

Успех геномной медицины и внедрение секвенирования следующего поколения изменили способ обнаружения новых генов, вызывающих заболевания, к тому же сократили время до постановки диагноза [10]. Кроме того, получение диагноза на молекулярном уровне имеет большое значение для семей пациентов, страдающих РЗ, и оказывает благоприятное психологическое воздействие. Теперь такие семьи могут контактировать с другими лицами с аналогичным диагнозом в группах поддержки по РНЗ, также наличие основного диагноза позволяет использовать консультационные услуги, которые помогают в ведении таких пациентов [42].

Тем не менее, несмотря на достигнутые успехи в диагностической «одиссее», к сожалению, существует ряд проблем на всех этапах поиска. В первую очередь, это определенные технологические барьеры: ограничение в проведении анализа секвенирования следующего поколения, ограничения в биоинформатических алгоритмах, используемых для сопоставления полученных данных с референсным (эталонным) геномом, и т. д. [34]. Кроме того, современное секвенирование следующего поколения и связанные с ним информационные анализы в большей части не способны обнаруживать генетические варианты, связанные с неменделев-

ским наследованием, такие как тканеспецифический соматический мозаицизм, эпигенетические изменения, олигогенное наследование или взаимодействия генов с окружающей средой. Эпигенетические изменения, включая дефекты метилирования, однополую дисомию и измененные паттерны экспрессии родительского происхождения в импринтированном локусе, требуют специальных технологических подходов для обнаружения. Помимо этого, в настоящее время не существует методов, позволяющих надежно идентифицировать олигогенное или сложное наследование, когда совокупный эффект различных распространенных и редких вариантов в сочетании с факторами окружающей среды в контексте сложного заболевания вызывает клиническую картину конкретного пациента [34].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Исследование редких, малоизученных и неизвестных заболеваний стало одной из основных современных мировых тенденций клинической медицины и биомедицины. При этом актуальными проблемами здравоохранения во всем мире являются как трудность диагностики, так и отсутствие эффективного лечения для многих таких патологий. К сожалению, иногда путь к установлению диагноза является очень длинным, что приводит к развитию необратимых изменений и, возможно, даже преждевременной смерти пациента. Нетипичная клиническая картина, недостаточная осведомленность части врачей о таких заболеваниях, трудности с адекватным лабораторным тестированием приводят к поздней диагностике и неправильному лечению.

Несмотря на беспрецедентный результат ведущих мировых практик по изучению редких и неизвестных заболеваний в США, Англии, Канаде и др., к сожалению, в большинстве стран проблема диагностики и, соответственно, лечения пациентов с РНЗ достигла колоссального масштаба. Эта группа патологий часто включает в себя серьезные мультисистемные заболевания, которые требуют непропорционально большого количества ресурсов здравоохранения. Даже по сравнению с распространенными хроническими детскими заболеваниями, такими как астма и диабет, редкие генетические состояния сопряжены с более высокими прямыми затратами со стороны здравоохранения (в 3,5–8,3 раза больше на одного пациента) и увеличенным использованием ресурсов [43].

Из-за сложности диагностики РНЗ трудно точно оценить расходы, связанные с ними. Но имеющиеся

исследования показывают, что эти затраты могут быть значительными. Согласно данным Счетной палаты США, на лечение РНЗ в 2019 году в стране потрачено 966 млрд долларов, включая прямые медицинские расходы (например, лекарства, визиты к врачу) и другие немедицинские и косвенные расходы (например, потерю дохода) [44].

Конечно, диагностика РНЗ на ранней, в идеале доклинической, стадии является оптимальной, и обязательным методом верификация диагноза должны стать молекулярно-генетические методы исследования. Расширение панели неонатального скрининга и внедрение современных методов генетической диагностики в клиническую практику на законодательном уровне поможет своевременному установлению диагноза.

Следует помнить, что каждое РНЗ представляет собой возможность открыть новую область биологических знаний, и, по мере увеличения числа выявленных новых генов и патогенных вариантов, будет сокращаться и время достижения диагностического результата [27]. Для этих целей были разработаны различные веб-платформы, такие как PhenoDB (2012 г.), GeneMatcher (2013 г.), VariantMatcher (2019 г.), которые позволяют пользователям, не знакомым с биоинформатикой, собирать, хранить, анализировать и обмениваться фенотипическими и геномными данными [45].

Необходимо продолжить дальнейшее развитие глобальных сетей, международное сотрудничество, создание сообществ как для пациентов, так и для врачей, разработку новых технологий. Безусловно, нужна поддержка государства в виде создания соответствующих программ на базах национальных центров; развития национальных проектов, внедрения новых платформенных решений с использованием достижений цифровой революции в здравоохранении, современных информационно-коммуникационных технологий, в том числе телемедицины, искусственного интеллекта.

Предстоит большая работа в оптимизации поиска новых диагностических решений в отношении редких, малоизученных и неизвестных заболеваний. Открытие новых генов будет продолжаться еще много лет. По недавним оценкам, исследователям предстоит определить еще 6000–13 000 моногенных заболеваний [46]. Будущее обещает большие достижения с внедрением новых методов лечения и подходов к ведению таких пациентов.

Конфликт интересов / Conflict of interest

Авторы заявили об отсутствии потенциального конфликта интересов. / The authors declare no conflict of interest.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Valdez R, Ouyang L, Bolen J. Public health and rare diseases: oxymoron no more. *Prev Chronic Dis*. 2016;13:E05.
2. European Organisation for Rare Diseases (EURODIS). Rare diseases: understanding this public health priority. *Eurordis*, November 2005; 1–14.
3. Ferreira CR. The burden of rare diseases. *Am J Med Genet*. 2019;179A:885–892.
4. Vaisitti T, Peritore D, Magistrone P, et al. The frequency of rare and monogenic diseases in pediatric organ transplant recipients in Italy. *Orphanet J Rare Dis*. 2021;16:374.
5. Angural A, Spolia A, Mahajan A, et al. Review: Understanding Rare Genetic Diseases in Low Resource Regions Like Jammu and Kashmir — India. *Front Genet*. 2020;11:415.
6. Costa T, Scriver CR, Childs B, et al. The effect of Mendelian disease on human health: a measurement. *Am. J. Med. Genet*. 1985;21:231.
7. Valle DL, Antonarakis S, Ballabio A, et al. The Online Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease. McGraw Hill; 2019. Accessed February 18, 2022.
8. Black N, Martineau F, Manacorda T. Diagnostic Odyssey for Rare Diseases: Exploration of Potential Indicators. Policy Innovation Research Unit. 2015;1–65.
9. Glob. Comm. End Diagn. Odyssey Child. Rare Dis. 2019. Global Commission year one report. Rep., Glob. Comm. End Diagn. Odyssey Child. Rare Dis. <https://globalrareiseasecommission.com/Report>
10. Bick D, Jones M, Taylor SL, et al. Case for genome sequencing in infants and children with rare, undiagnosed or genetic diseases. *J Med Genet*. 2019 Dec; 56(12):783–791.
11. Huyard C. How did uncommon disorders become 'rare diseases'? History of a boundary object. *Soc Health Illn*. 2009;31:463–77.
12. Van Weely S, Leufkens HGM. Priority Medicines for Europe and the World: a Public Health Approach to Innovation. WHO Background Paper 6.19. Rare Diseases. 2004. https://www.who.int/medicines/areas/priority_medicines/BP6_19Rare.pdf.
13. Directive 2011/24/EU of the European Parliament and of the Council of 9 March 2011 on the application of patients' rights in cross-border healthcare OJ L 88. 2011;45–65.
14. Undiagnosed rare diseases Content type: Review *Orphanet Journal of Rare Diseases*. 2021;16:446.
15. Procedural document on Epidemiology of rare disease in Orphanet, Orphanet, February 2019, Version 01.
16. Rare Diseases Act of 2002. United States Congress. 2002. <https://history.nih.gov/research/downloads/pl107-280.pdf>. Accessed Jan 2020.
17. Makoto S, Kiyohito N. Development of orphan drugs in Japan: effects of a support system for development of orphan drugs in Japan. *Drug Inf J*. 2000;34:829–37.
18. Wakap S, Lambert DM, et al. Estimating cumulative point prevalence of rare diseases: analysis of the Orphanet database *European Journal of Human Genetics*. 2020;28:165–173.
19. Aymé and Rodwell. The European Union Committee of Experts on Rare Diseases: three productive years at the service of the rare disease community. *Orphanet Journal of Rare Diseases*. 2014;9:30.
20. Kim SY, Lim BC, Lee JS, et al. The Korean undiagnosed diseases program: lessons from a one-year pilot project. *Orphanet J Rare Dis*. 2019;14:68.
21. Зинченко Р.А., Васильева Т.П., Коновалов О.Е. и др. Распространенность и вопросы диагностики редких (орфанных) заболеваний среди детского населения Российской Федерации. *Педиатрия им. Г. Н. Сперанского*. 2020;99(4):229–237.
22. Yang L, Su C, Lee AM, et al. Focusing on rare diseases in China: are we there yet? *Orphanet J Rare Dis*. 2015 Nov;10:142.
23. Adachi T, Imanishi N, Ogawa Y, et al. Survey on patients with undiagnosed diseases in Japan: potential patient numbers benefiting from Japan's initiative on rare and undiagnosed diseases (IRUD). *Orphanet J Rare Dis*. 2018;13(1):208.
24. Takahashi Y, Mizusawa H. Initiative on Rare and Undiagnosed Disease in Japan. *JMA J*. 2021 Apr;4(2):112–118.
25. Taruscio D, Baynam G, Cederroth H, et al. The Undiagnosed Diseases Network International: Five years and more! *Mol Genet Metab*. 2020;129(4):243–254.
26. Macnamara EF, D'Souza P. Undiagnosed Diseases Network, Tifft CJ. The undiagnosed diseases program: Approach to diagnosis. *Transl Sci Rare Dis*. 2019 Apr;4(3–4):179–188.
27. Gainotti S, Mascalzoni D, Bros-Facer V, et al. Meeting Patients' Right to the Correct Diagnosis: Ongoing International Initiatives on Undiagnosed Rare Diseases and Ethical and Social Issues. *Int J Environ Res Public Health*. 2018 Sep;15(10):2072.
28. Schoch K, Esteves C, Bican A, et al. Clinical sites of the Undiagnosed Diseases Network: unique contributions to genomic medicine and science. *Genet Med*. 2021 Feb;23(2):259–271.
29. López-Martín E, Martínez-Delgado B, Bermejo-Sánchez E, et al. SpainUDP: The Spanish Undiagnosed Rare Diseases Program. *Int J Environ Res Public Health*. 2018 Aug;15(8):1746.
30. Austin CP, Cuttillo CM, Lau LL, et al. Future of rare diseases research 2017–2027: an IRDiRC perspective. *Clinical and Transplantation Science*. 2018;11:21–27.

31. Boycott KM, Hartley T, Biesecker LG, et al. A diagnosis for all rare genetic diseases: the horizon and the next frontiers. *Cell*. 2019;177(1):32–37.
32. Taruscio D, et al. Undiagnosed Diseases Network International (UDNI): White paper for global actions to meet patient needs, *Mol. Genet. Metab*. 2015;116(4).
33. Hartley T, Lemire G, Kernohan KD, et al. New Diagnostic Approaches for Undiagnosed Rare Genetic Diseases. *Annu Rev Genomics Hum Genet*. 2020 Aug; 21:351–372.
34. Burdick KJ, Cogan JD, Rives LC, et al. Undiagnosed Diseases Network. Limitations of exome sequencing in detecting rare and undiagnosed diseases. *Am J Med Genet A*. 2020 Jun; 182(6):1400–1406.
35. Splinter K, Adams DR, et al. Effect of Genetic Diagnosis on Patients with Previously Undiagnosed Disease. *N Engl J Med*. 2018; 379:2131–2139.
36. Harrison SM, Riggs ER, Maglott DR, et al. Using ClinVar as a resource to support variant interpretation. *Curr. Protoc. Hum. Genet*. 2016;89(8):1–23.
37. Salmon LB, Orenstein N, Markus-Bustani K, et al. Improved diagnostics by exome sequencing following raw data reevaluation by clinical geneticists involved in the medical care of the individuals tested. *Genet. Med*. 2018;21:1443–51.
38. Murdock DR, Rosenfeld JA, Lee B. What Has the Undiagnosed Diseases Network Taught Us About the Clinical Applications of Genomic Testing? *Annu Rev Med*. 2022 Jan; 73:575–585.
39. Baldrige D, Wangler MF, Bowman AN, et al. Model organisms contribute to diagnosis and discovery in the undiagnosed diseases network: current state and a future vision. *Orphanet J Rare Dis*. 2021;16:206.
40. Karczewski KJ, Francioli LC, Tiao G, et al. Variation across 141,456 human exomes and genomes reveals the spectrum of loss-of-function intolerance across human protein-coding genes. *BioRxiv*. 2019.
41. Studwell CM, Kelley EG. Family genetic result communication in rare and undiagnosed disease communities: Understanding the practice. *J Genet Couns*. 2021;30(2):439–447.
42. Marshall DA, Benchimol EI, MacKenzie A, et al. Direct health-care costs for children diagnosed with genetic diseases are significantly higher than for children with other chronic diseases. *Genet. Med*. 2018. 21:1049–5713.
43. Rare Diseases: Although Limited, Available Evidence Suggests Medical and Other Costs Can Be Substantial. GAO-22-104235. 2021.
44. Wohler E, Martin R, Griffith S, et al. PhenoDB, GeneMatcher and VariantMatcher, tools for analysis and sharing of sequence data. *Orphanet J Rare Dis*. 2021;16:365.
45. Bamshad MJ, Nickerson DA, Chong JX. Mendelian gene discovery: fast and furious with no end in sight. *Am. J. Hum. Genet*. 2019;105:448–55.
46. Groft SC, Posada de la Paz M. Preparing for the Future of Rare Diseases. *Adv Exp Med Biol*. 2017; 1031:641–648.

Информация об авторах:

Костарева Анна Александровна, д.м.н., директор Института молекулярной биологии и генетики, доцент кафедры внутренних болезней Института медицинского образования ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России;

Васичкина Елена Сергеевна, д.м.н., руководитель НИЦ неизвестных, редких и генетически обусловленных заболеваний НЦМУ «Центр персонализированной медицины», профессор кафедры детских болезней лечебного факультета Института медицинского образования ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России.

Author information:

Kostareva Anna A., MD, Director of the Institute of Molecular Biology and Genetics, Associate Professor of the Department of Internal Diseases of the Institute of Medical Education of the Almazov National Medical Research Centre;

Vasichkina Elena S., MD, Head of the Scientific Research Center for Unknown, Rare and Genetically Caused Diseases of the World-Class Research Centre for Personalized Medicine, Professor of the Department of Pediatric Diseases of the Medical Faculty of the Institute of Medical Education of the Almazov National Medical Research Centre.