

БИОМАРКЕРЫ В КЛИНИЧЕСКОЙ ПРАКТИКЕ



Сложившаяся в медицине ситуация все больше обуславливает потребность в новых способах диагностики и лечения различных видов заболеваний, надежных, безопасных, доступных и высокоэффективных неинвазивных экспресс-технологиях мониторинга, дистанционных методах предоставления качественных медицинских услуг. Одна из важнейших тенденций современности – широкое внедрение в клиническую практику биомаркеров. О том, чем они отличаются от клинической лабораторной диагностики, какие задачи выполняют, рассказывает Сергей ГУБКИН – директор Института физиологии НАН Беларуси, доктор медицинских наук, профессор.

БИОМАРКЕРЫ И ИХ ЦЕННОСТЬ

Маркеры – это любой биологический субстрат, чаще всего белок, который с определенной частотой встречается при тех или иных нарушениях и указывает на норму, патологию и результат лекарственной коррекции заболевания. В научной терминологии под ними понимают измеряемые биохимические, генетические, нейрофизиологические, эндокринологические, анатомические, когнитивные, реологические показатели, свидетельствующие

о высокой степени вероятности наличия той или иной патологии. Среди них маркеры, связанные с терапевтическим эффектом и механизмом действия препарата, так называемые предикторы клинического исхода, то есть маркеры, позволяющие предсказать благоприятный или неблагоприятный исход заболевания и эффективность его лечения, указывающие на наличие болезни и коррелирующие с ее клиническими проявлениями.

Сегодня медики ориентируются на третье поколение маркеров – молекулярно-генетические, их

предшественниками были белковые и классические генетические маркеры. В чем между ними разница? Белковый маркер соответствует гену, аллели которого отличаются разностью молекулярной массы на уровне белка. У классического генетического маркера аллели отличаются на уровне фенотипа. Что касается молекулярного маркера, то он соответствует гену или некодирующему участку генома, и его аллели отличаются на уровне ДНК. Их полиморфизм может выявляться с помощью гибридизации с известными нуклеотидными последовательностями, секвенирования, сравнения длины фрагментов, полученных путем полимеразной цепной реакции и в результате обработки ДНК эндонуклеазами рестрикции. Когда мы говорим о маркерной диагностике, то надо понимать, что хотя это высокочувствительные методики, но они всегда специфичные. Классическая медицина подразумевает ориентировку на клинические проявления болезни, а уже потом на лабораторную диагностику.

– Какие задачи возлагаются на маркеры?

– Биомолекулы, или ДНК-маркеры, используются в качестве индикаторов состояния организма человека. Их применяют для оценки нормальных физиологических процессов, к примеру роста, массы тела, давления, спортивной формы, протекания беременности, старения и пр. Они особенно эффективны при выявлении заболеваний, подборе лечения и оценке его результативности, прогнозировании лечения и, конечно, разработке новых лекарственных препаратов. Эти и другие технологии учеными объединены таким собирательным

термином, как омикс-технологии, с помощью которых анализируется совокупность процессов, происходящих в клетке или живом организме. В качестве примера можно назвать секвенирование нового поколения и количественный анализ экспрессии генов. Развитие омикс-направлений и огромный объем накопленного материала позволяют постоянно выявлять ранее неизвестные молекулярные биомаркеры различных заболеваний и внедрять их в практическую деятельность учреждений здравоохранения.

Биомаркеры подразделяют на клинические, имиджевые и биохимические. Их различают по характеру заболевания: сердечно-сосудистые и неврологические, метаболические, онкомаркеры, генетические (или выявляющие патологии внутриутробного развития), биомаркеры болезни Альцгеймера. Вместе с тем ДНК-маркеры нашли и другое применение – для предсказания и мониторинга клинического ответа на терапевтическое вмешательство, повышая тем самым эффективность и безопасность терапии.

– Способны ли биомаркеры в перспективе заменить клинические показатели?

– Биомаркеры помогают определить безопасность и эффективность клинических испытаний, дают информацию для выработки режима дозирования и минимизации индивидуальных различий в ответе. Оценка выгоды или риска является основной задачей разрабатываемого плана всех терапевтических вмешательств. Однако наиболее реальный путь оценки заболевания – клинические показатели.

Биомаркеры, представляющие собой чувствительные и специфические индикаторы заболеваний, не скоро станут замещающими предикторами конечного результата для получения клинического ответа на терапию, особенно в долговременных случаях ее применения.

Конечно, измерение биомаркеров помогает объяснить эмпирические результаты клинических испытаний, связывая эффект вмешательства на молекулярном и клеточном уровнях с клиническим ответом. Но, на мой взгляд, ими не следует заменять клинические показатели, отражающие реальное состояние пациента, его самочувствие и функционирование организма. Точно так же важно разделять понятия «фактор риска», указывающий на причину развития заболевания, и «маркер риска», статистически связанный с заболеванием, но не обязательно имеющий причинную связь с ним.

Сегодня появились новые компоненты в создании протоколов доклинической диагностики, которые в сочетании с достижениями новых наук – геномики, биоинформатики, технологий протеомики – стали мощным инструментом ранней диагностики заболеваний. В результате сочетания молекулярно-генетического и других подходов преобразовываются как методы раннего выявления заболеваний, лечения, так и поиск и разработка новых методик диагностики, лекарств, вакцин и пр.

Мы должны понимать очень важный момент: человек, который приходит на прием к врачу, не должен быть сразу же погружен в огромную гамму маркерных исследований. Ведь основная задача врача – не только успокоить

пациента, но и не пытаться, как на клавиатуре, нажимать одну, вторую, третью цифры, чтобы он сдал анализ крови на тот или иной маркер, а назначать узкоспецифические маркеры в той области, в которой идет поиск заболевания. Маркеры нужно назначать только в плане диагностического поиска.

– Какие продуктивные предложения диагностики *in vitro* доступны сегодня обществу?

– Благодаря новым технологиям и методам тестирования созданы и востребованы на рынке иммуноцитохимические тесты, средства самостоятельного мониторинга уровня глюкозы в крови, молекулярная диагностика, гематологические и микробиологические исследования, диагностика мягких тканей и пр. Наиболее развиты системы микробиологического анализа и экспресс-диагностика. Широкое распространение получили иммунологические тесты для определения сердечно-сосудистых, гормональных, аллергических заболеваний, бактериальные тесты и тестирование на индивидуальную переносимость тех или иных антибиотиков, исследования на гепатит. У всех сегодня на слуху допинговые скандалы, а ведь это достижения современной медицины и биологии, позволившие осуществлять антидопинговый контроль на совершенно иной качественной основе.

Хотелось бы отметить, что рынок диагностики *in vitro* стабильно растет, и обусловлено это как появлением новых лечебных методик, требующих быстрого лабораторного отклика, увеличением осведомленности общества о различных заболеваниях, так и поддержкой правительствами различных

программ по сокращению заболеваний. Конечно, большинство тестов проводится в медицинских и клинических учреждениях, но все больше появляется так называемых точек ухода, или РОС, предназначенных для первичной медицинской помощи в домашних условиях, применения в срочных клинических ситуациях, обоснования возможности перевода пациента из отделений реанимации и интенсивной терапии в лечебное отделение. Растет спрос на быстрые лабораторные тесты в амбулаторной практике, к примеру в центрах здоровья, химиотерапии, для обеспечения доступной медицинской помощи населению в регионах, где не очень хорошо развита медицинская инфраструктура, готовности к чрезвычайным ситуациям.

– Оказывает ли персонализация медицины влияние на *in vitro*-технологии?

– Популяризация персонализированной медицины подталкивает диверсификацию методов диагностики и лечения, к тому же увеличивается число исследуемых показателей и патологий. Лечащие врачи все больше начинают отходить от стандартных схем лечения тех или иных заболеваний и предлагать пациентам индивидуальные планы диагностики, профилактики и лечения. Особенно явно данная тенденция проявляется в случаях диагностирования у пациента сложных комплексных заболеваний, таких как рак.

– Раковые заболевания – наиболее частые причины смертности. Каковы успехи их ранней диагностики?

– Если говорить о маркерах опухолевой природы, то это

неоднородная группа белков и субстанций, которая обозначается общим названием СА – cancer antigen. Рак можно рассматривать как нарушение клеточной дифференцировки, когда искажается программа воспроизведения клеток, вследствие чего образуются их патологические фенотипы. Степень отклонения от нормальной экспрессии генов легче всего выявить, анализируя первичные генетические продукты – белки. В этом плане представляют интерес изоферменты как удобные для анализа продукты активности генов и специфические маркеры дифференцировки. Термин «биомаркер», используемый для скрининга рака, в широком смысле может включать как показатели, тестируемые в сыворотке и моче, так и сложные, включающие иммунный ответ, изменения гормонов, а также анализ экспрессии генов на микрочипах, масс-спектрометрическое профилирование белков и количественный анализ уровня антител против специфичных антигенов рака.

Разработка систем ранней диагностики онкологии является одной из самых важных точек роста всего сегмента диагностики. Задолго до появления первых симптомов заболевания могут быть использованы методы, основанные на применении биомаркеров. Несмотря на то что современные технологии позволяют определять в сыворотке крови специфические биомаркеры, свидетельствующие о наличии болезни, уровень их чувствительности и точности пока недостаточен для выявления чрезвычайно низких концентраций веществ, характерных для начальной стадии заболевания. Не учитывается также факт, что концентрации «тревожного сигнала» могут

варьироваться у разных пациентов. Все это зачастую приводит к потере драгоценного времени, и момент, когда больные начинают получать лечение соответственно индивидуальному течению недуга, откладывается. В результате врачам ничего не остается, как наблюдать за прогрессированием заболевания.

Для стадии ранней диагностики онкологических заболеваний доминируют геномный и эпигеномный анализы. В зависимости от используемых биомолекул выделяют молекулярные биомаркеры, использующие гены, РНК, пептиды, белки и метаболиты, микроРНК, липиды и т.д. В последние годы появились новые классы биомаркеров: микроРНК, ДНК и различные метаболиты. МикроРНК – относительно недавно открытый класс биомолекул, они выполняют многообразные регуляторные функции в клетках. В 2000-х гг. стала очевидна их роль в развитии рака, а позднее было доказано участие в других сердечно-сосудистых, инфекционных и аутоиммунных заболеваниях. Важным свойством микроРНК является их циркуляция в различных биологических жидкостях, например в крови. Все это позволяет относить их к эффективным индикаторам многих социально значимых заболеваний.

– Что микроРНК дают нам сегодня?

– По разным оценкам, мишенями матричных микроРНК являются от 30 до 60% белоккодирующих генов человека. Науке сегодня известно более 2 тыс. микроРНК, и эта цифра продолжает расти. Данные биомолекулы следует рассматривать пока в контексте научных исследований. Мы

ищем какой-то определенный паттерн, который однозначно является маркером того или иного заболевания.

Еще один тип биомаркеров – метаболиты. Поскольку при самых начальных стадиях как онкологических, так и сердечно-сосудистых заболеваний количество различных метаболитов меняется, то исследование их профиля позволяет на самых ранних стадиях выявлять диабет, атеросклероз, ишемическую болезнь сердца. В последние годы достигнут прогресс в изучении метаболома плазмы крови и мочи для определения процессов старения в организме. Наиболее перспективным инструментом молекулярно-генетической диагностики и мониторинга онкологических заболеваний представляется анализ маркеров метилирования ДНК. Уже описаны наборы эпигенетических ДНК-маркеров, позволяющие с высокой степенью специфичности дифференцировать различные типы опухолей. Кроме того, эти маркеры выявляются на первых стадиях развития заболевания, что дает возможность использовать их для ранней онкодиагностики. Благодаря многочисленным исследованиям в области медицинской эпигеномики разработан ряд способов эпигенетической ДНК-диагностики для некоторых онкологических заболеваний, однако они пока не получили широкого распространения. Сегодня известно более 200 опухолевых маркеров, и их количество увеличивается. С химической точки зрения их можно разделить на гликопротеины, полипептиды, углеводные детерминанты гликопротеинов, гликолипиды, белки, полиамины, иммуноглобулины и др. По биологической природе

они делятся на онкофетальные антигены, гормоны, энзимы, рецепторы и соединения, роль которых до конца не выяснена.

– Какие маркеры применяются для диагностики сердечно-сосудистых заболеваний?

– Кардиомаркеры – вещества, которые поступают в кровь при сердечно-сосудистых заболеваниях или сильном стрессе. В клинической практике они используются как дополнение к ЭКГ и хорошо зарекомендовали себя на раннем этапе выявления недуга. Широкое распространение получили такие индикаторы острой и хронической сердечной недостаточности, как креатинкиназа-МВ, миоглобин, гомоцистеин, С-реактивный белок, тропонин Т и тропонин I. Выявлены и новые – мозговой натрийуретический пептид, а также белок, связывающий жирные кислоты-3. Такие тесты на биомаркеры, дополняющие картину заболевания, назначаются кардиологом пациенту в случае симптомов коронарной блокады сердца: боль в груди, которая длится более нескольких минут и усиливается, боль и дискомфорт в плечах, руках, шее, челюсти, боль в груди, которая не снимается после приема нитроглицерина. Разумеется, любой из этих симптомов требует комплексного обследования, и тест на биомаркеры важен настолько же, насколько, скажем, расшифровка детального анализа крови или ЭКГ. Известно около тысячи различных индикаторов заболеваний. В кардиоклиниках исследователи концентрируются на наборе из 20 биомаркеров, взаимодействующих между собой и связанных с сердечной недостаточностью. В каждом конкретном случае биомаркер помогает

врачу контролировать состояние пациента, например облегчать идентификацию людей с ишемической патологией. Биомаркеры, к примеру такой специфичный показатель, как уровни тропонинов I или T, могут помочь дифференцировать пациентов с инфарктом миокарда и легочной эмболией или поражением аорты. К кардиоспецифическим маркерам относится и миоглобин, выделяющийся в острой фазе. Все названные маркеры, а также креатинфосфокиназа и особенно ее МБ-фракция, появляются в крови через 6–12 часов. Есть поздние маркеры гибели кардиомиоцитов. Если они погибли, значит, в крови останется определенное количество их ферментов, и тут имеет значение дигидрогеназа, отдельные ее изоферменты. К тому же современная диагностика инфаркта миокарда должна обязательно включать определение специфических маркеров повреждения миокарда, а именно кардиотропонинов, СК-МВ и миоглобина.

– В последнее время на рынке появилось достаточно много доступных вещей, которые из чисто медицинских перешли в состояние бытовых – портативные приборы, контролирующие уровень сахара, давления, электрокардиографы.

Каковы перспективы систем персонального мониторинга?

– Большое влияние на развитие этого рынка оказывают процессы совершенствования методов и средств ранней диагностики и самодиагностики. Заметна тенденция, когда в процесс превентивной медицины все больше вовлекается сам пациент, у которого есть потребность и возможность

проведения несложных манипуляций самостоятельно и регулярно, тем самым врач получает информацию задолго до приема в медицинском учреждении. Соответственно, он концентрирует свою деятельность на интерпретации параметров исследований и определении терапевтических методик и коррекции здоровья пациента. В тренде многофункциональные устройства (определенные, например, температуру, частоту сердечных сокращений, ЭКГ и другие переменные), которые могут быть использованы для широкого спектра приложений. Постоянно совершенствуются устройства контроля тяжелых форм сахарного диабета, в комплексе с портативными приборами они обеспечивают функцию ввода лекарств. Развивается рынок носимых пульсоксиметров, сервисов дыхательной и двигательной активности. Новинкой на рынке стали портативные кардиографы, позволяющие снимать кардиограмму, где бы человек ни находился. В них заложена элементарная синдромальная диагностика, то есть показатели интерпретирует машина. Вместе с тем есть функция, позволяющая отправить полученные данные в виде файла врачу с тем, чтобы он мог видеть полную картину для оценки состояния пациента. На сегодняшний день лучше доктора никто их правильно не интерпретирует. Польза от системы персонального мониторинга в том, что приборы отражают текущее состояние здоровья в режиме реального времени, оповещают при отклонении показателей о состояниях, опасных для здоровья пациента, и поступают на обработку специалистам, которые его консультируют. Особенno важен

удаленный постоянный, в том числе во время сна, мониторинг жизненно важных физических параметров для наиболее уязвимых групп населения – страдающих хроническими заболеваниями, пожилых людей, беременных женщин. Вместе с тем повышение эффективности применения медицинских портативных устройств требует соответствующего интеллектуального анализа полученных данных. Рост количества электронных медицинских записей свидетельствует о востребованности технологий облачных вычислений, анализа больших объемов мониторинговых данных, информационной безопасности и передачи данных в удаленные места.

Сегодня известно 30 тыс. болезней, а матричных РНК – 37 тыс., то есть количество маркеров превышает количество болезней. Это значит, что ученым предстоит много работы. Новые формы инструментальной диагностики будут совершенствоваться и развиваться, наша задача – выявить собственную нишу для оперативной диагностики и прогнозирования состояния здоровья, создать новые социально-медицинские сервисы, доступные широкому кругу населения, что позволит улучшить качество жизни людей, в том числе входящих в группу риска. 

Жанна КОМАРОВА