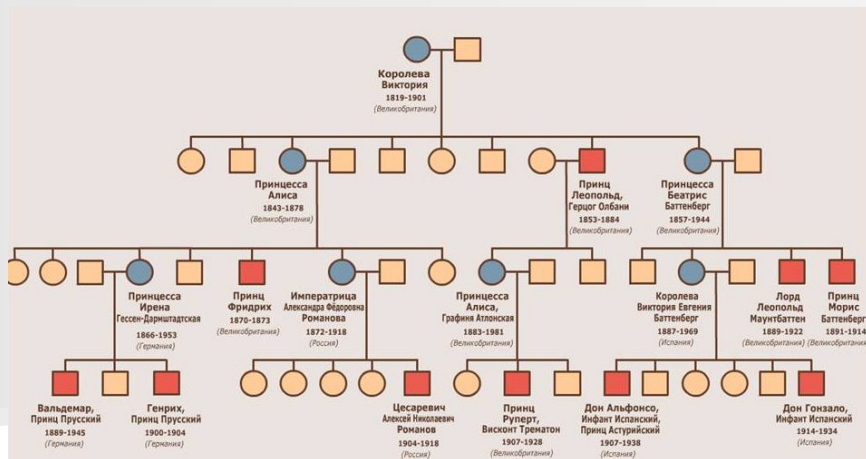


## Лекция №45

# Методы изучения наследственности и изменчивости у человека.



Преподаватель: Видерникова Е.А.

# **ГЕНЕТИКА**

- наука о наследственности и изменчивости.



## **ГЕНЕТИКА ЧЕЛОВЕКА (Антропогенетика)**

- наука, изучающая явления наследственности и изменчивости в популяциях людей, особенности наследования признаков в норме и их изменения под действием условий окружающей среды.

## **МЕДИЦИНСКАЯ ГЕНЕТИКА**



раздел генетики человека

**– система знаний о роли генетических факторов в патологии человека**

**и система методов диагностики, лечения и профилактики наследственной патологии.**

# **МЕДИЦИНСКАЯ ГЕНЕТИКА**

**Целью** медицинской генетики является разработка методов диагностики, лечения и профилактики наследственной патологии человека.

**Задачами** генетики человека с основами медицинской генетики являются:

1. Определение локализации всех генов человека и создание их банка;
2. Ранняя диагностика наследственной патологии путем совершенствования методов пренатальной и экспресс-диагностики;
3. Широкое внедрение медико-генетического консультирования;
4. Разработка методов генной терапии наследственных заболеваний на основе генной инженерии.
5. Выявление генетически опасных факторов внешней среды и разработка методов их нейтрализации.

# «Удобные» генетические объекты



# Человек как объект генетического анализа

## Биологические трудности:

1. Сложный кариотип (большое число хромосом и групп сцепления, разные взаимодействия генов, разная пенетрантность генов и пр.);
2. Медленная смена поколений (позднее половое созревание и продолжительная беременность);
3. Немногочисленное потомство (моноплодная беременность, ограниченный фертильный возраст);
4. Высокая степень гетерозиготности и фенотипический полиморфизм (проявление многих признаков зависит от условий окружающей среды);

# Человек как объект генетического анализа

## Социально-этические трудности:

1. Невозможность проведения прямых экспериментов над человеком;
2. Невозможность экспериментальных браков, в том числе применения гибридологического метода;
3. Невозможность создания одинаковых и строго контролируемых условий для развития потомков от разных браков (образ жизни, питание и пр.);
4. Немногочисленное потомство (планирование семьи);
5. Медленная смена поколений (тенденция к появлению детей после 25-30 лет)
6. Отсутствие точной регистрации наследственных признаков;

# Человек как объект генетического анализа

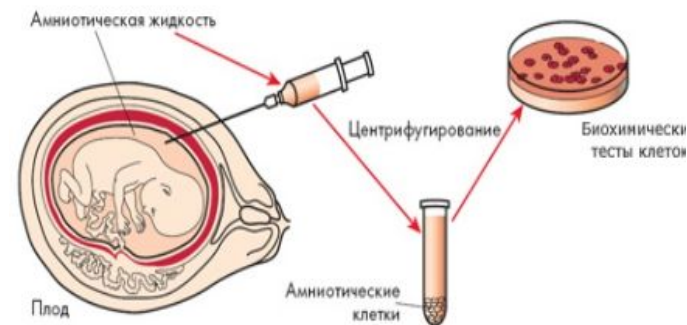
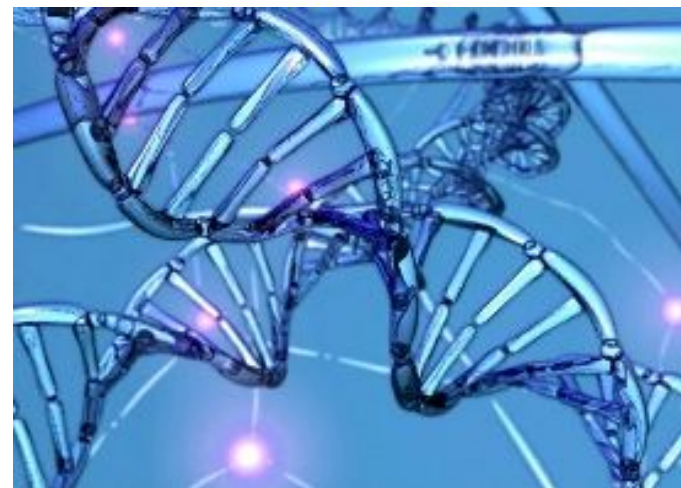
## Преимущества:

1. Разнообразие семей по изучаемым признакам;
2. Способность абстрактно мыслить, воспринимать и передавать информацию;
3. Хорошая изученность человека как биологического объекта (морфологическая, анатомо-физиологическая, биохимическая, иммунологическая, клиническая и пр.);
4. Огромный арсенал методов изучения генетики человека (за исключением гибридологического метода);

# Методы генетики человека

## Основные:

1. Генеалогический метод;
2. Близнецовый метод;
3. Цитогенетический метод;
4. Метод пренатальной диагностики;
5. Методы молекулярной генетики;
6. Моделирование наследственных болезней;
7. Метод гибридизации соматических клеток;
8. Популяционно-статистический метод;





# Методы генетики человека

## Дополнительные:

1. Биохимический (онтогенетический) метод;
2. Метод дерматоглифики;
3. Иммунологический метод;
4. Микробиологический метод и пр;

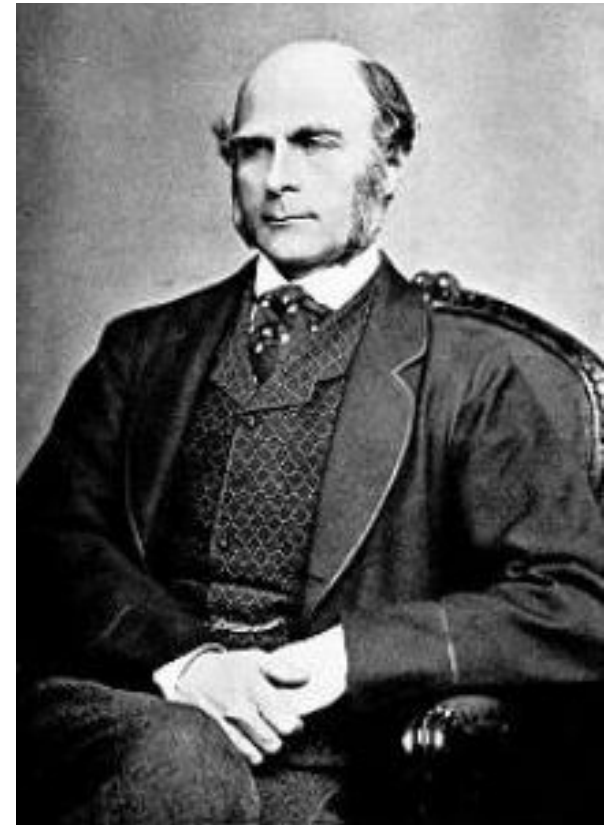


# Генеалогический метод

**Предложен в 1865 г. Ф. Гальтоном** - основан на построении родословных и прослеживании в ряду поколений передачи наследственного признака.

## Метод позволяет выявить:

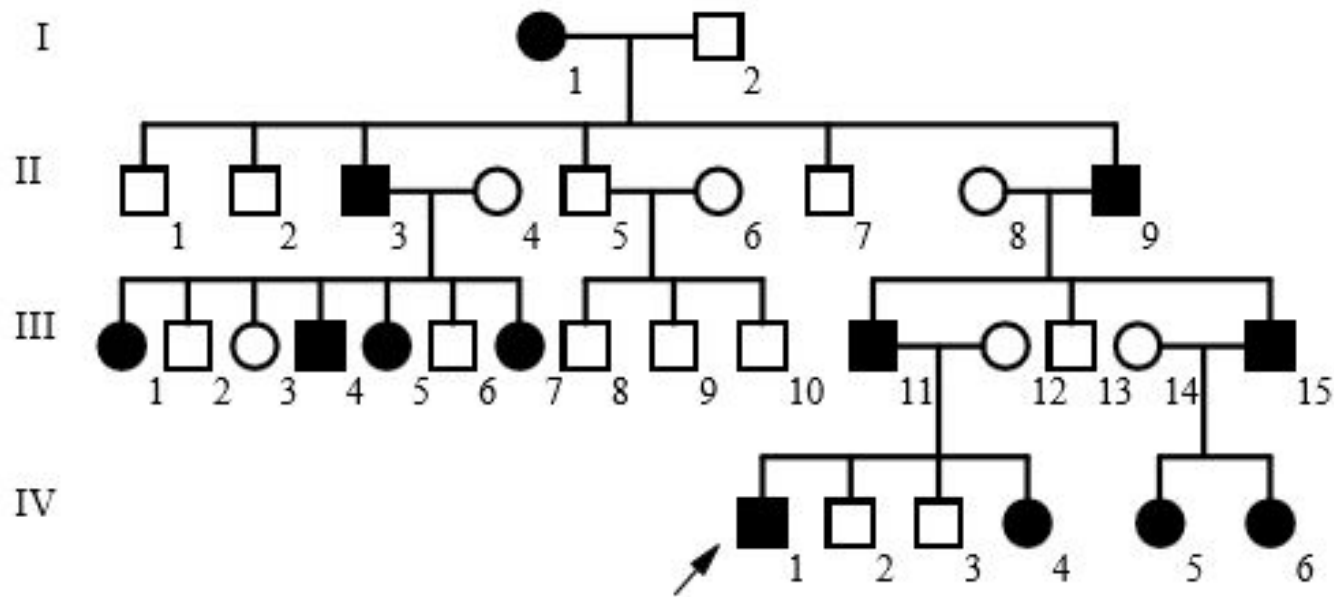
- является ли данный признак наследственным (по проявлению его у родственников);
- тип наследования заболевания (доминантный, рецессивный, аутосомный или сцепленный с полом),
- гомо- и гетерозиготность различных членов семьи;
- пенетрантность гена (частота его проявления);
- вероятность рождения ребенка с наследственной патологией (генетический риск).



Френсис Гальтон  
(1822 – 1911)

## ЭТАПЫ ГЕНЕАЛОГИЧЕСКОГО АНАЛИЗА:

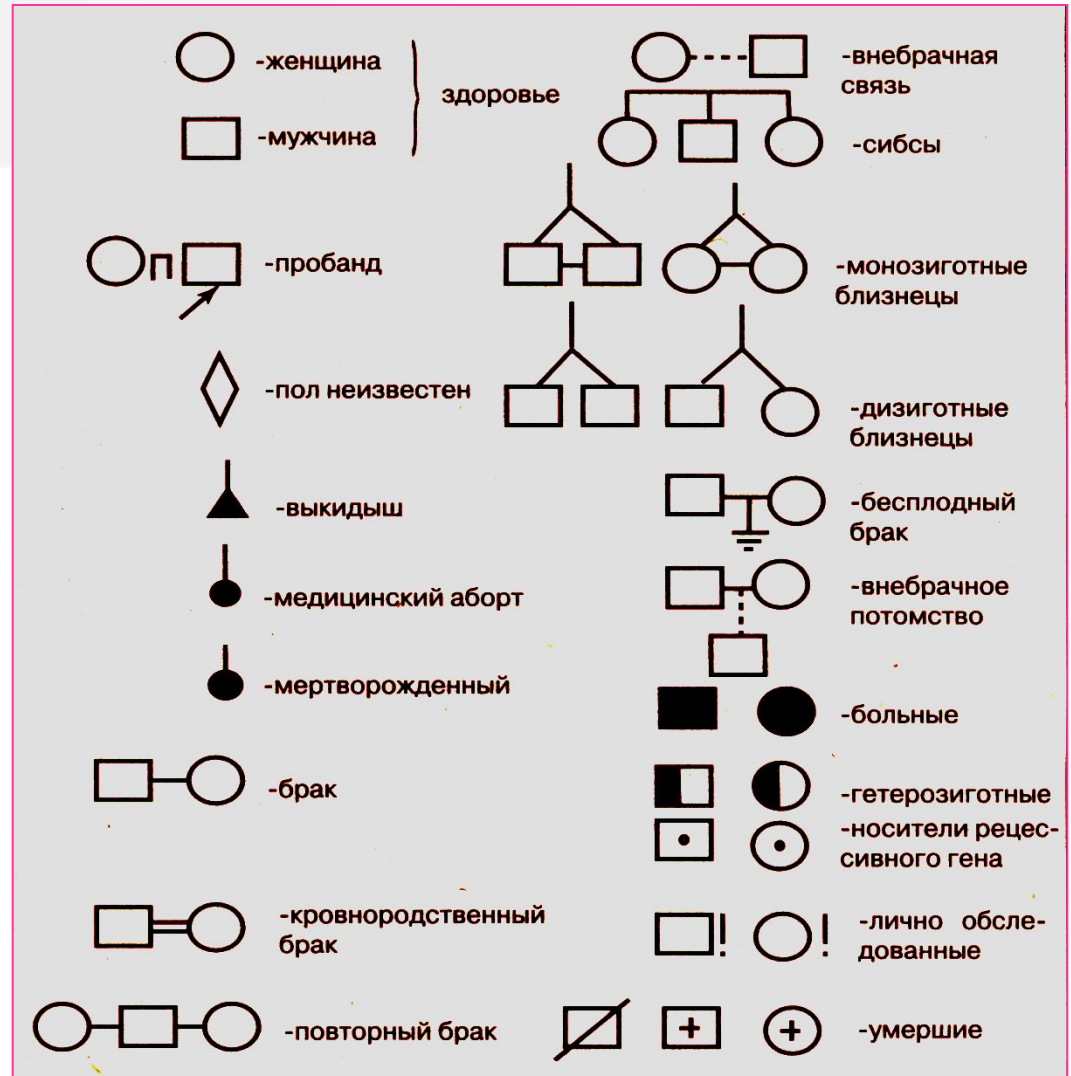
1. Сбор данных о всех родственниках обследуемого – пробанда - должны быть собраны данные не менее чем о трех поколениях родственников;
2. Построение родословной;
3. Анализ родословной и выводы.



# Составление родословных схем

## Правила составления родословной

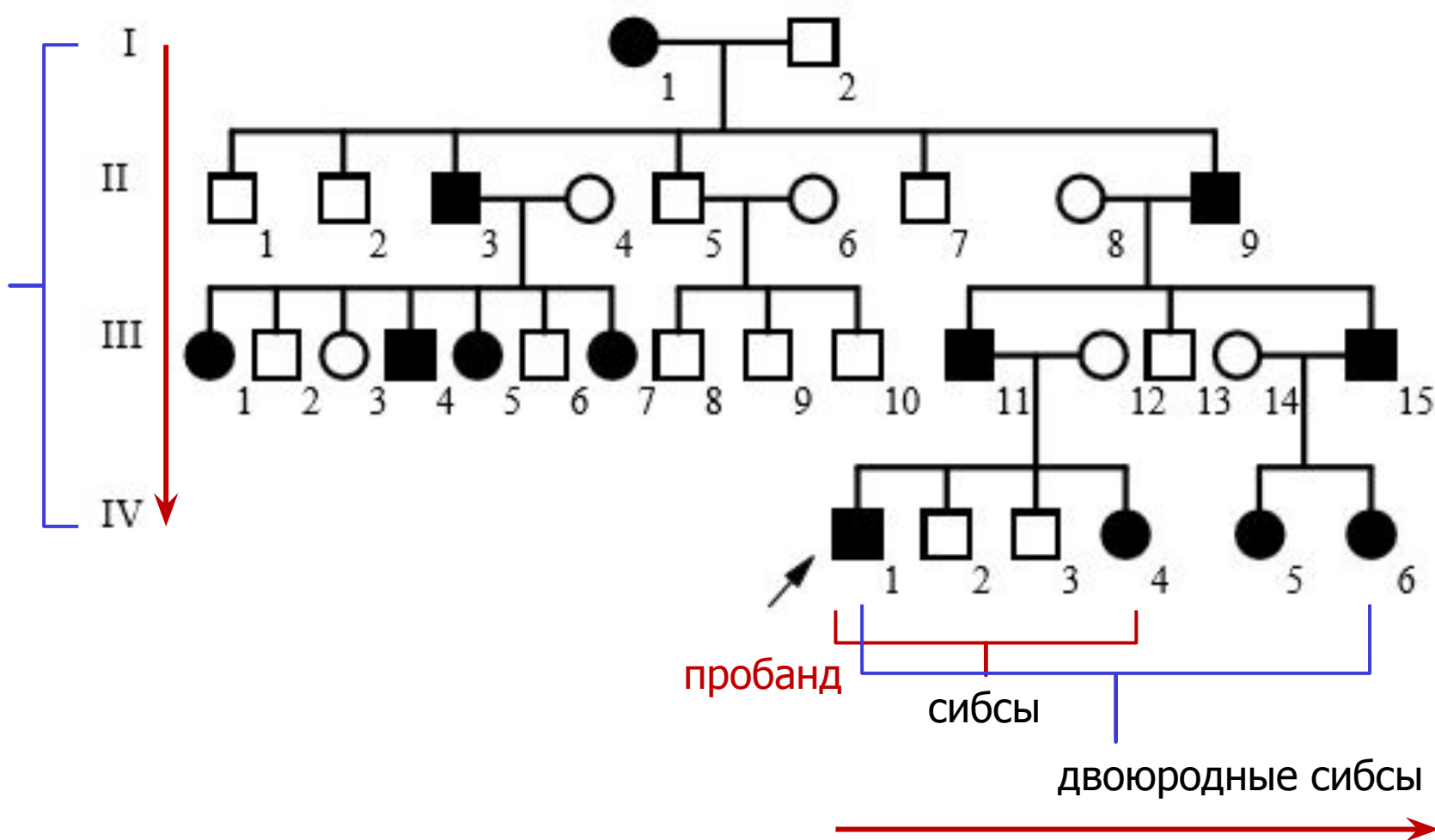
1. Начинается с пробанда.
2. Сибсы (родные) – дети одной родительской пары. Располагаются в порядке рождения слева направо.
3. Члены родословной располагаются строго по поколениям в один ряд – на одной горизонтали.
4. Поколения обозначаются римскими цифрами слева от родословной сверху вниз.
5. Арабскими цифрами нумеруется потомство одного поколения (один ряд) слева направо.



**Символы, используемые при составлении родословной**

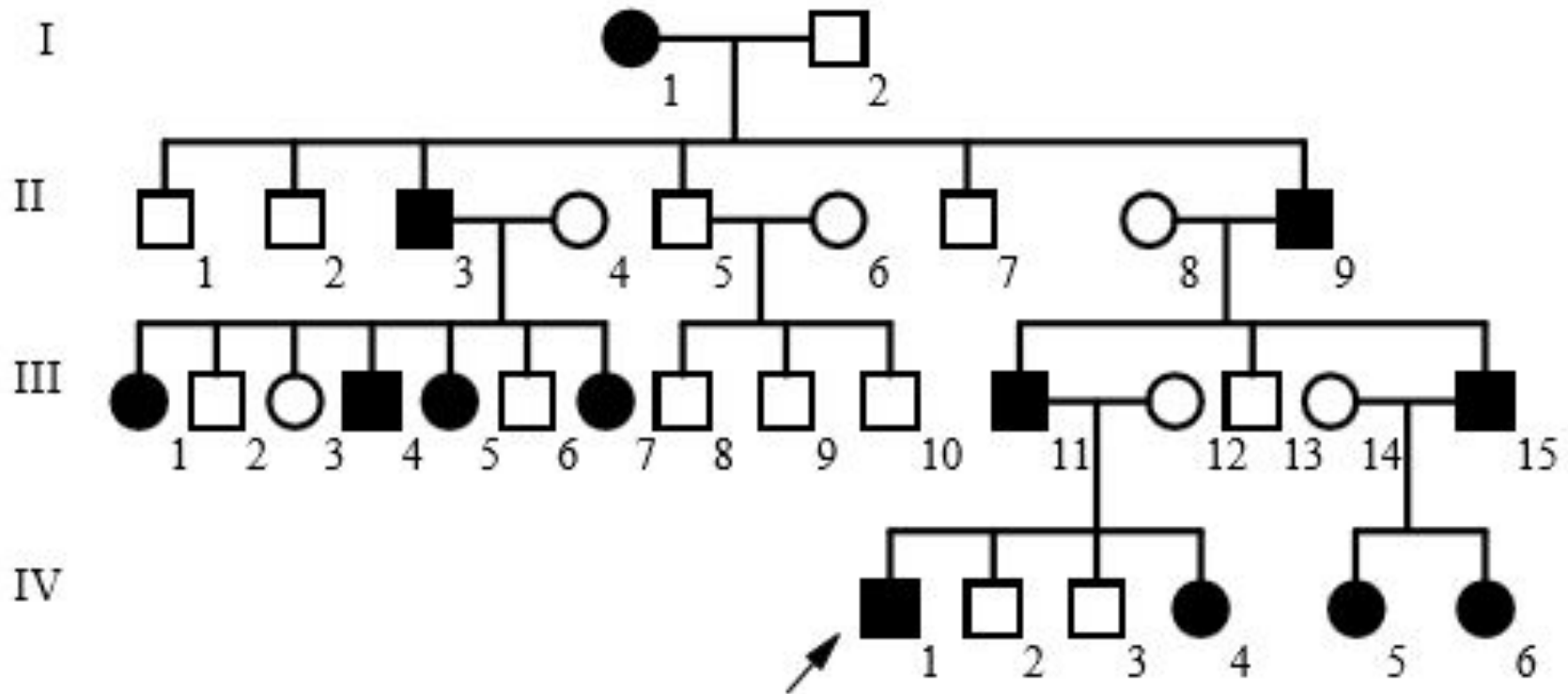
# Составление родословных схем

по  
ко  
ле  
ни  
я



# Типы наследования признаков у человека

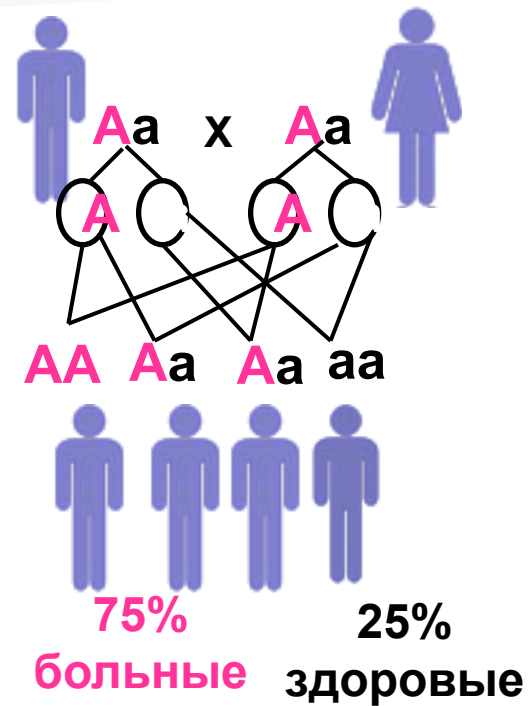
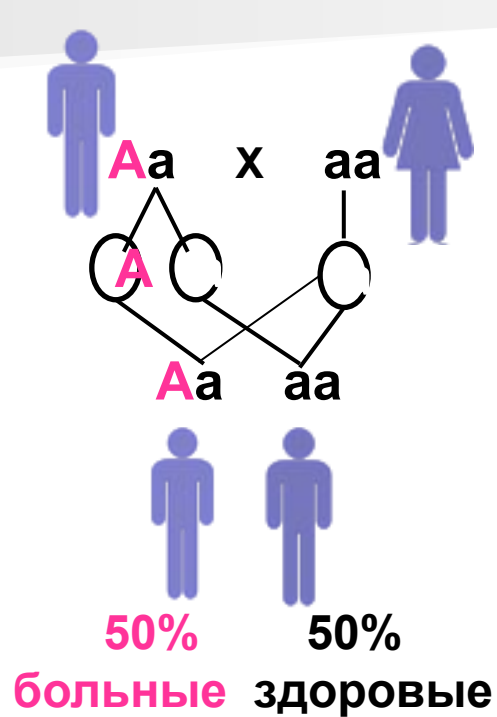
## 1. Аутосомно-доминантный тип наследования



1. Больные встречаются в каждом поколении (вертикальный характер наследования).
2. Болеют в равной степени и мужчины, и женщины.
3. Больной ребенок рождается у больных родителей с вероятностью 100%, если они гомозиготны; 75%, если они гетерозиготны.
4. Вероятность рождения больного ребенка у здоровых родителей 0%.

# Типы наследования признаков у человека

## 1. Аутосомно-доминантный тип наследования





# Типы наследования признаков у человека

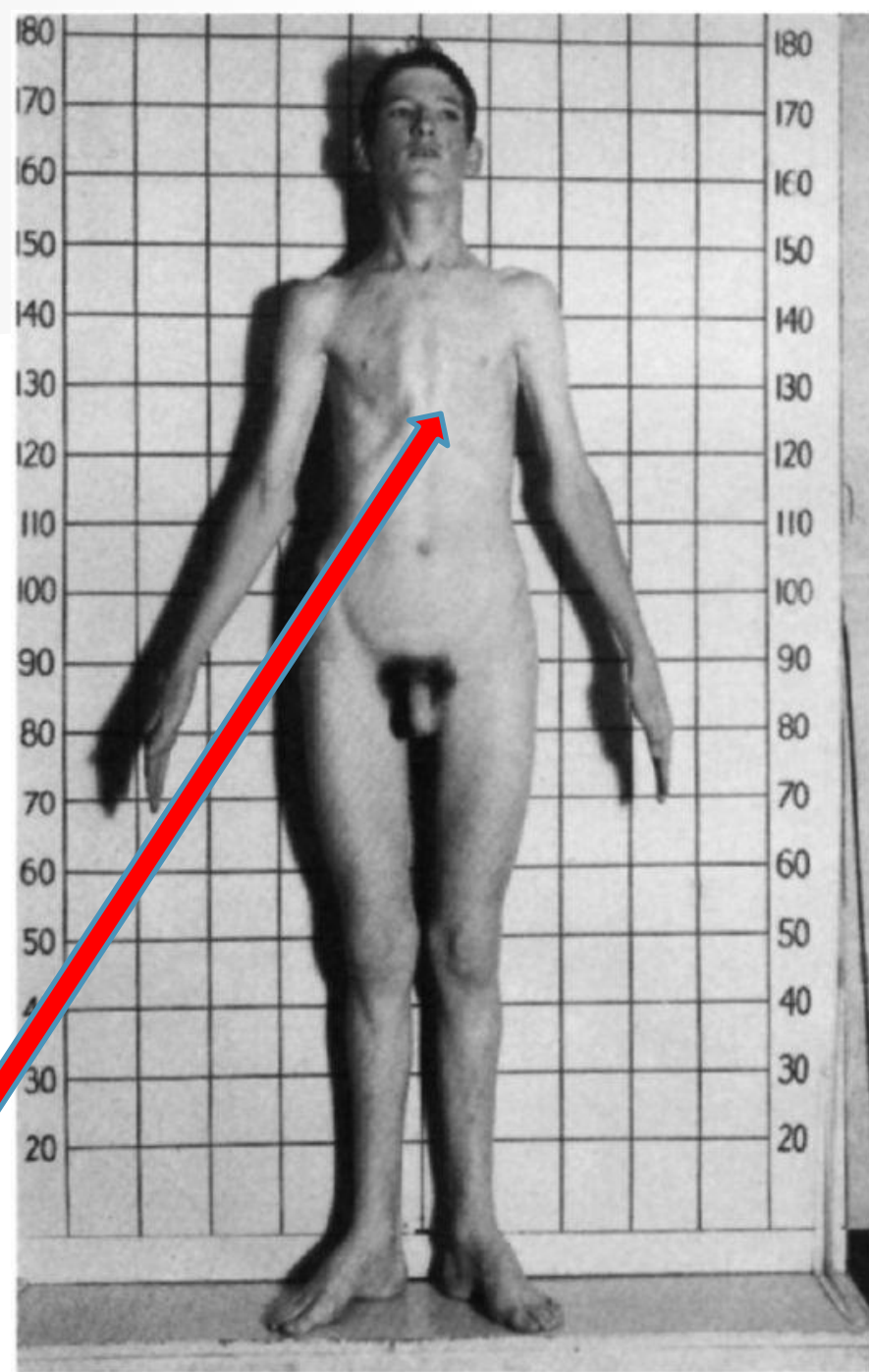
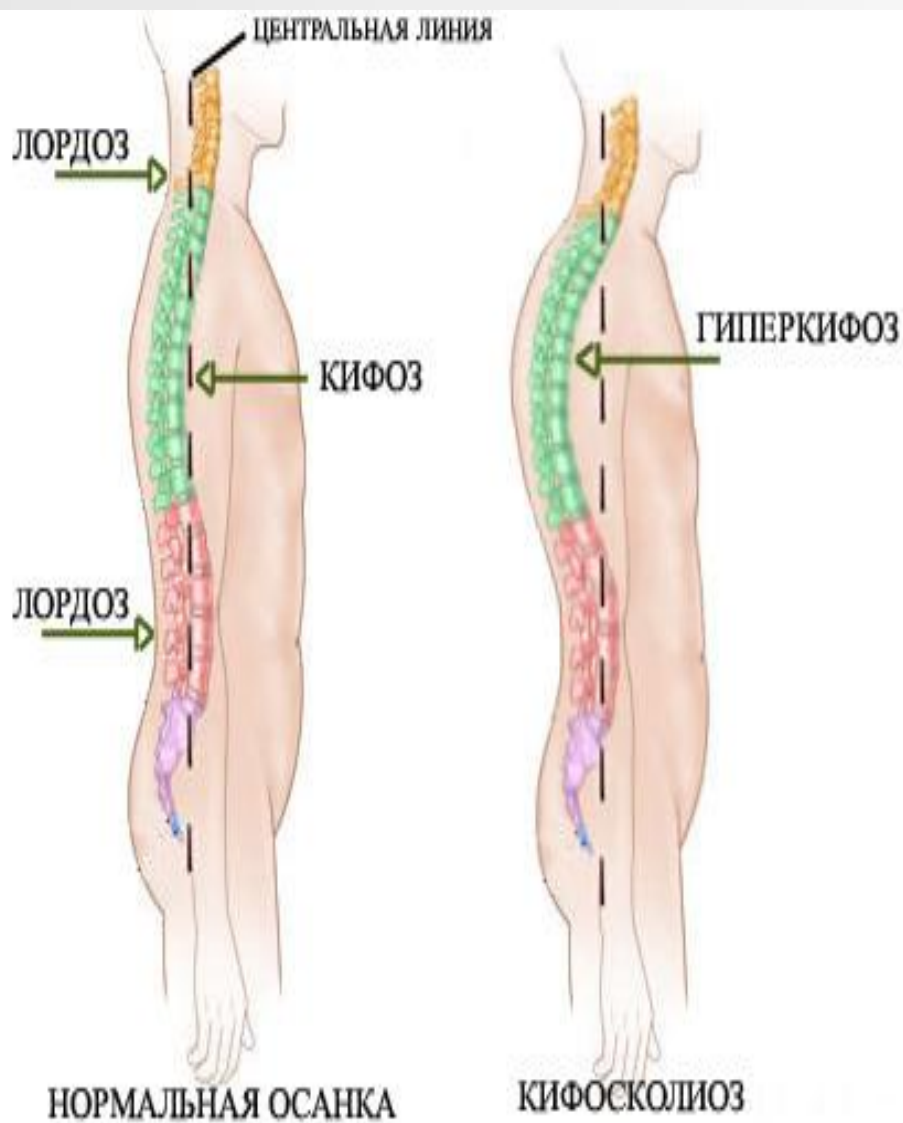
## 1. Аутосомно-доминантный тип наследования

Примеры:

- синдактилия;
- полидактилия;
- гемоглобиноз М;
- хорея Хантингтона;
- полипоз толстой кишки;
- семейная гиперхолестеринемия;
- нейрофиброматоз;
- синдром Марфана (Marfan-syndrom)
- Синдром Элерса-Данлоса



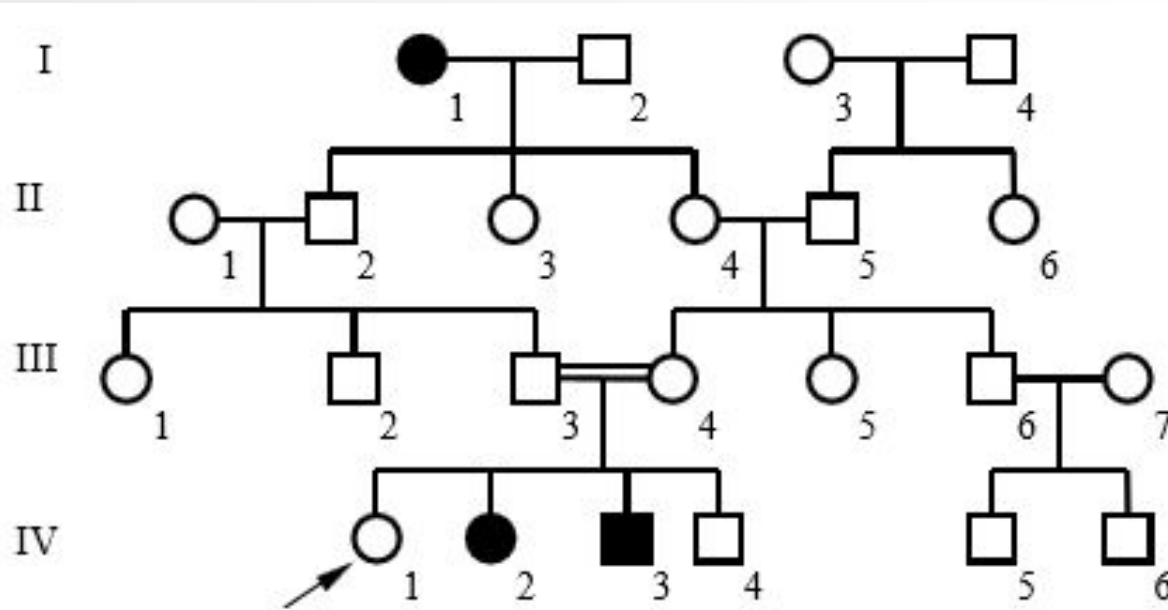




**Деформированная грудная клетка (килевидная или «куриная» грудь) при синдроме Марфана**

# Типы наследования признаков у человека

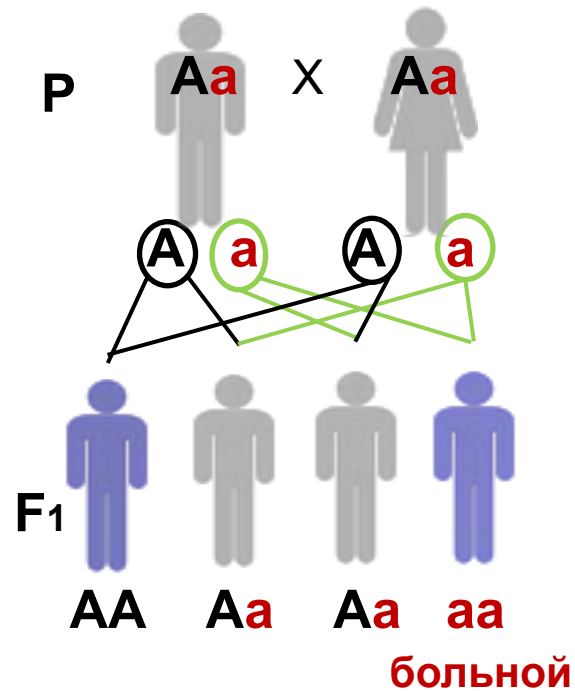
## 2. Аутосомно-рецессивный тип наследования



1. Больные встречаются не в каждом поколении.
2. Родители больного, как правило, здоровы.
3. Болеют в равной степени и мужчины, и женщины.
4. В родословной патология выявляется **по горизонтали**, часто у сибсов.
5. Заболевание отсутствует у единокровных (дети одного отца от разных матерей) и единоутробных (дети одной матери от разных отцов) братьев и сестёр.
6. Вероятность рождения больного ребенка у здоровых родителей 25%, если они гетерозиготны, 0%, если они оба или один из них гомозиготен по доминантному гену.
7. Часто проявляется при близкородственных браках.

# Типы наследования признаков у человека

## 2. Аутосомно-рецессивный тип наследования



# Типы наследования признаков у человека

## 2. Аутосомно-рецессивный тип наследования

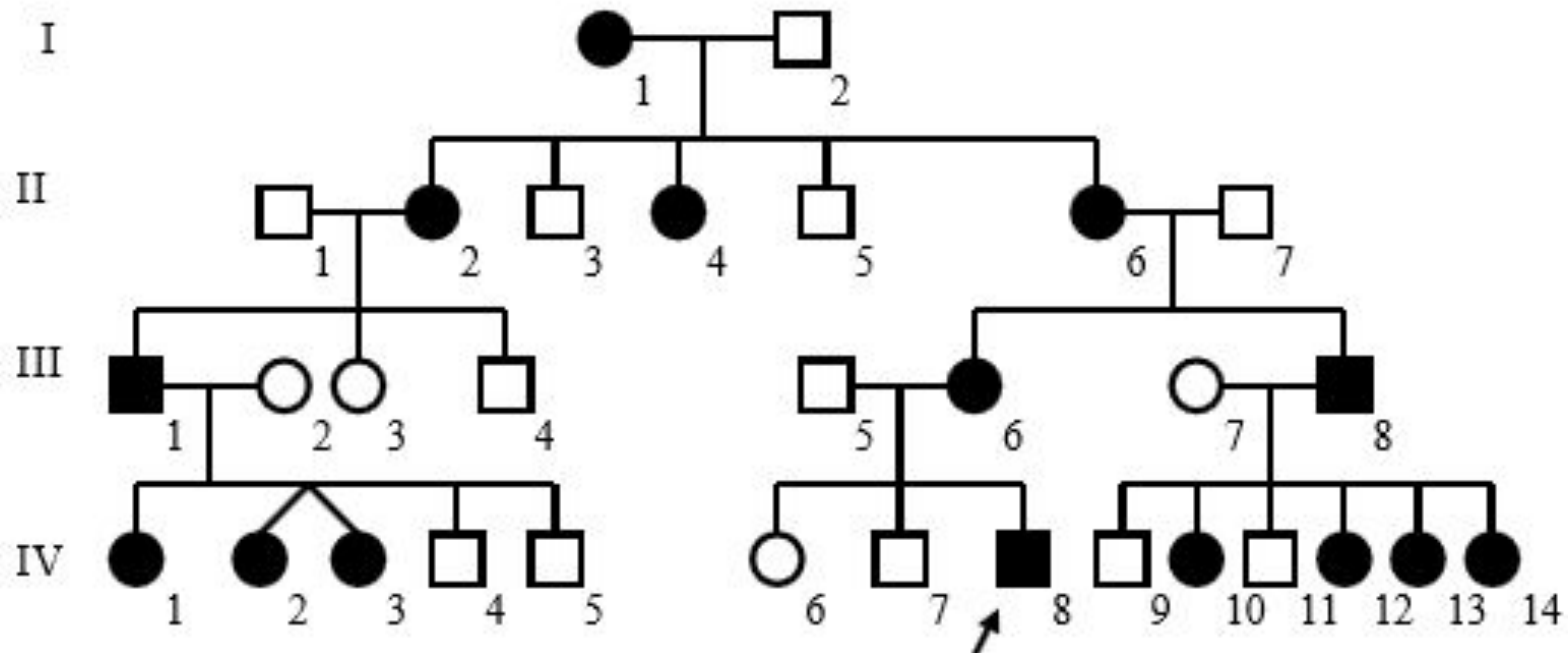
Примеры:

- фенилкетонурия;
- галактоземия;
- муковисцидоз;
- кожно-глазной альбинизм;
- адреногенитальный синдром;
- гликогенозы;
- гиперлиппротеинемии



# Типы наследования признаков у человека

## 3. Сцепленный с X-хромосомой доминантный тип наследования



1. Больные встречаются в каждом поколении. Симптомы болезни обычно выявляются уже в детском возрасте
2. Болеют в большей степени женщины, у мужчин более тяжелое течение заболевания.
3. Если отец болен, то все его дочери больны.
4. Больной ребенок рождается у больных родителей с вероятностью 100%, если мать гомозиготна, 75%, если мать гетерозиготна.
5. Вероятность рождения больного ребенка у здоровых родителей 0%.

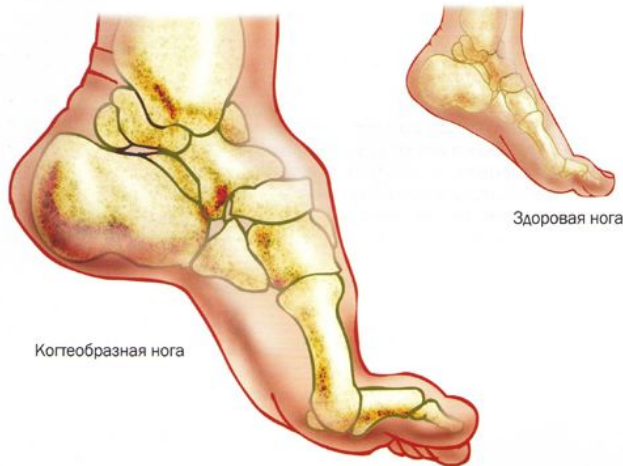


# Типы наследования признаков у человека

## 3. Сцепленный с X-хромосомой доминантный тип наследования

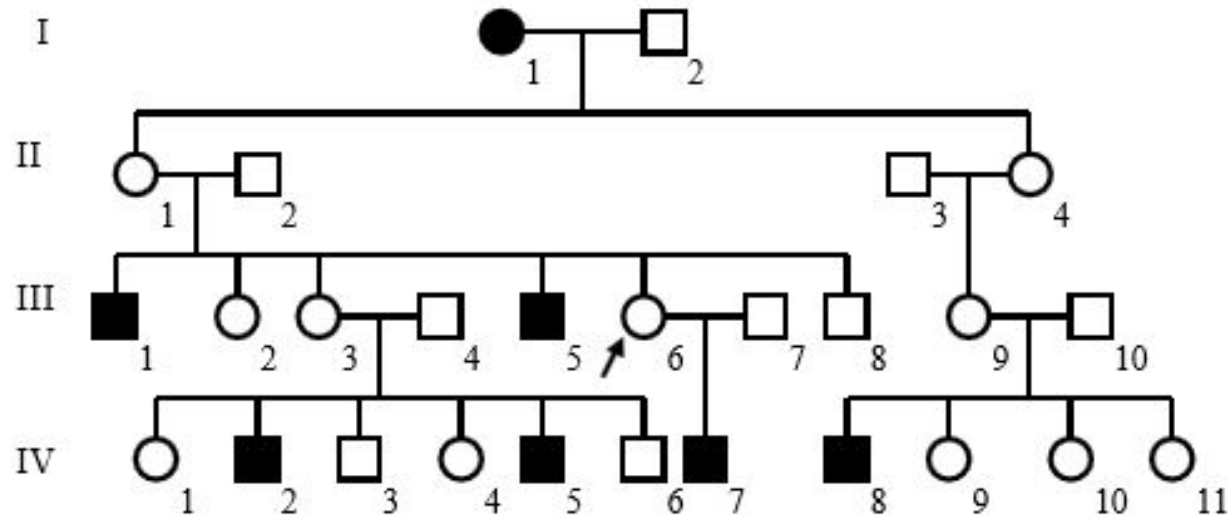
Примеры:

- витамин D-резистентный рахит;
- **болезнь Шарко-Мари-Тута** - сенсомоторные невропатии типов I и II. Заболевание характеризуется слабостью и атрофией дистальной группы мышц нижних конечностей; часто сочетается с другими нейродегенеративными заболеваниями)



# Типы наследования признаков у человека

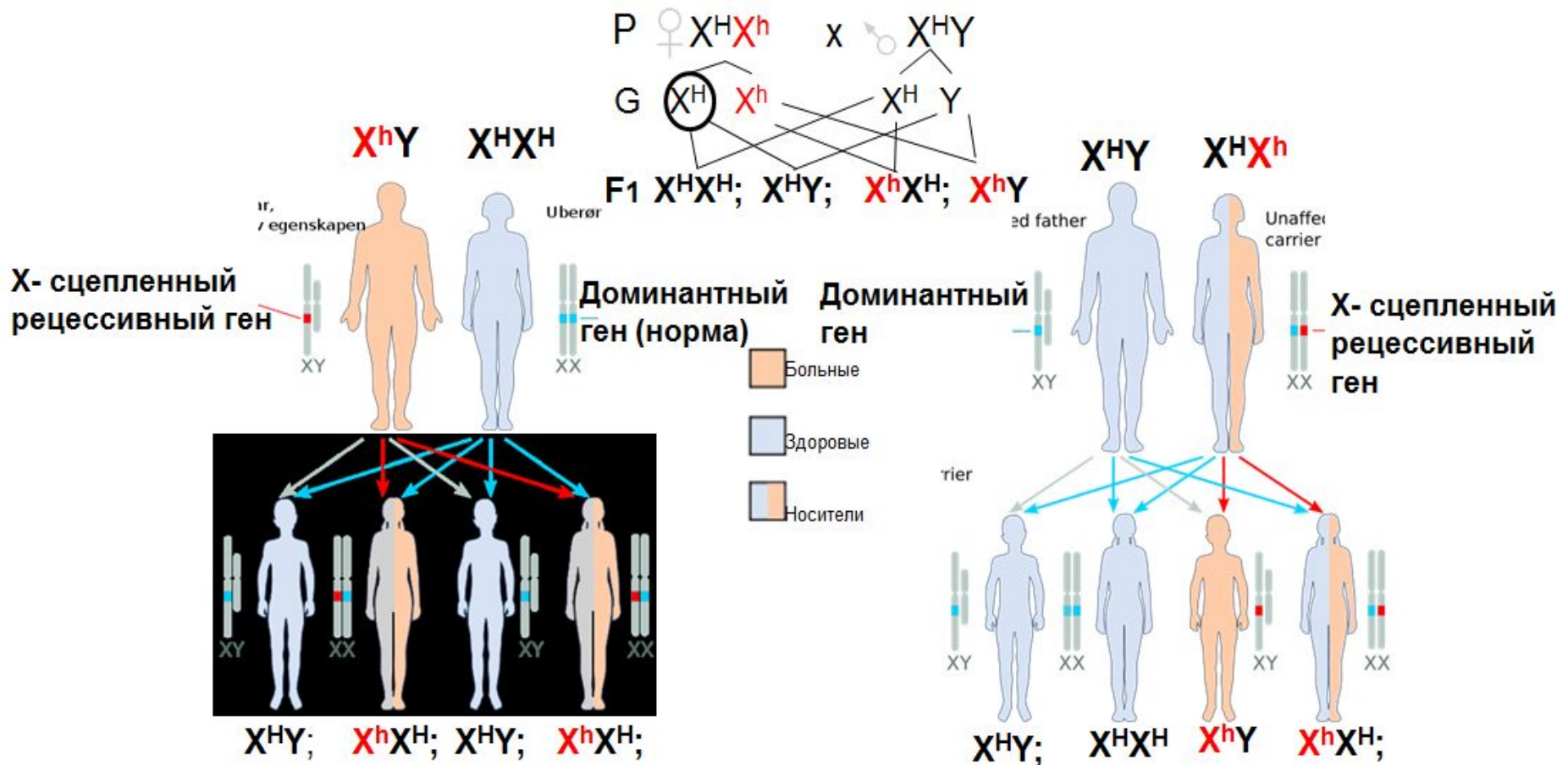
## 4. Сцепленный с X-хромосомой рецессивный тип наследования



1. Больные встречаются не в каждом поколении, рождаются в браке фенотипически здоровых родителей.
2. Болеют, в основном, мужчины.
3. Сын никогда не наследует заболевание от отца.
4. Матери больных – облигатные носительницы патологического гена.
5. Вероятность рождения больного мальчика у здоровых родителей 25%, больной девочки - 0%.

# Типы наследования признаков у человека

## 4. Сцепленный с X-хромосомой рецессивный тип наследования





# Типы наследования признаков у человека

## 4. Сцепленный с X-хромосомой рецессивный тип наследования

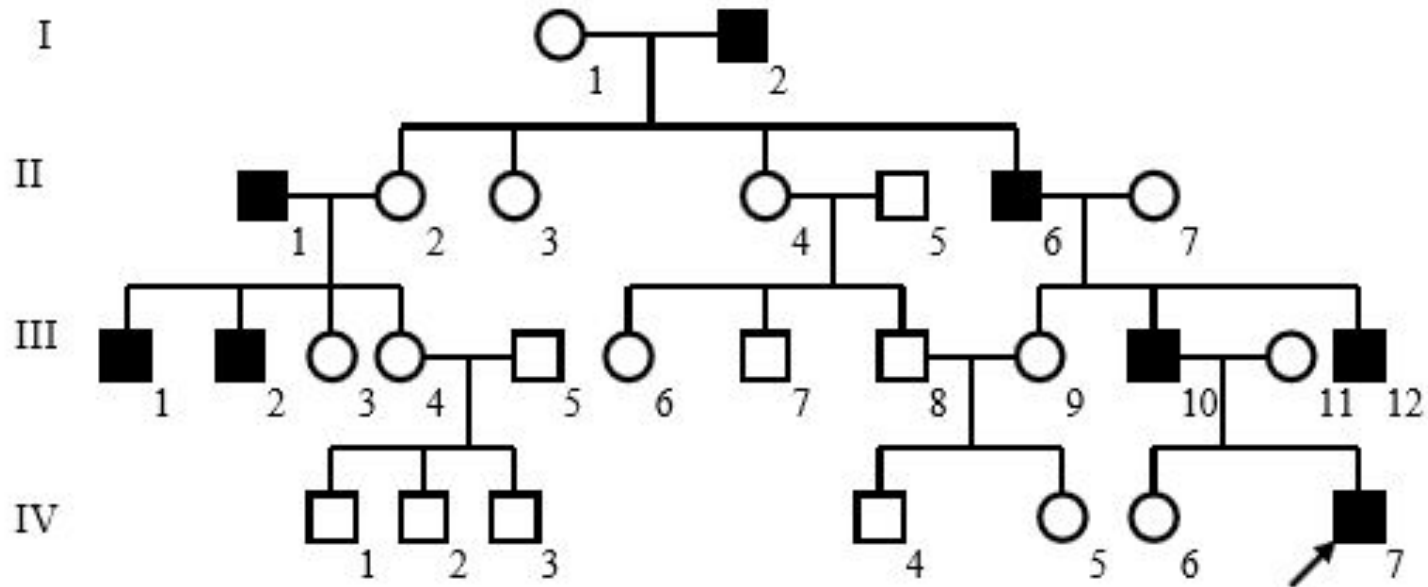
Примеры:

- гемофилия А;
- дальтонизм;
- мышечная дистрофия Дюшенна-Беккера.



# Типы наследования признаков у человека

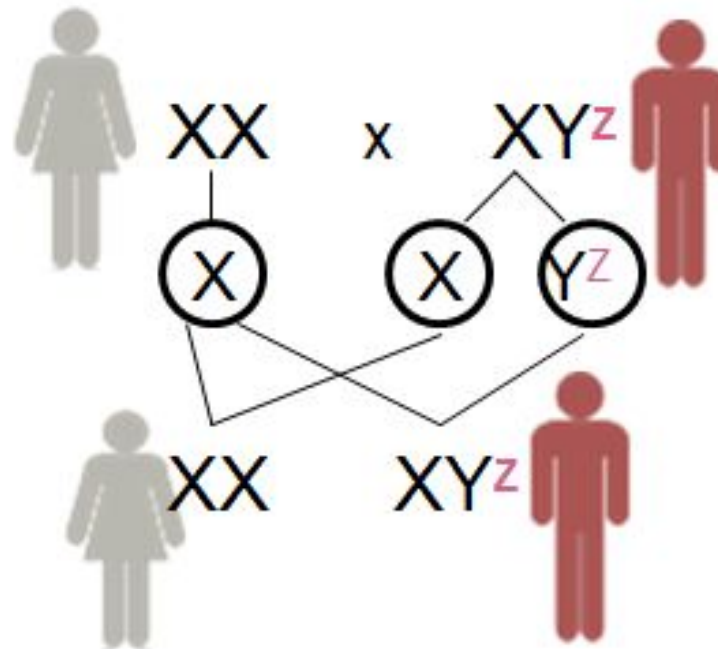
## 5. Сцепленный с Y-хромосомой (голандрический) тип наследования



1. Больные встречаются в каждом поколении – вертикальный характер наследования признака.
2. Болеют только мужчины.
3. Передача признака осуществляется от отца всем сыновьям.
4. Вероятность рождения больного мальчика у больного отца равна 100%.

# Типы наследования признаков у человека

## 5. Сцепленный с Y-хромосомой (голандрический) тип наследования

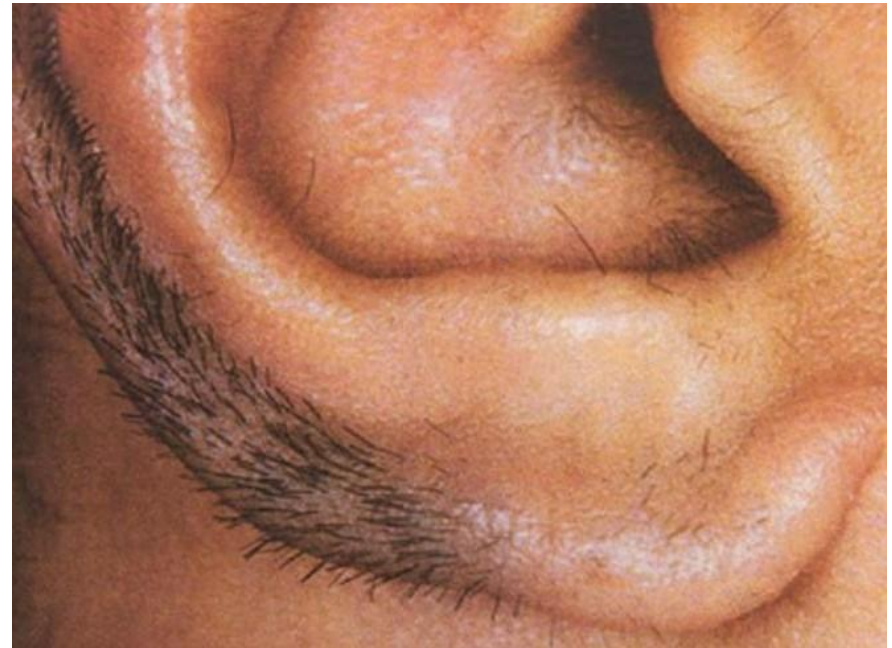


# Типы наследования признаков у человека

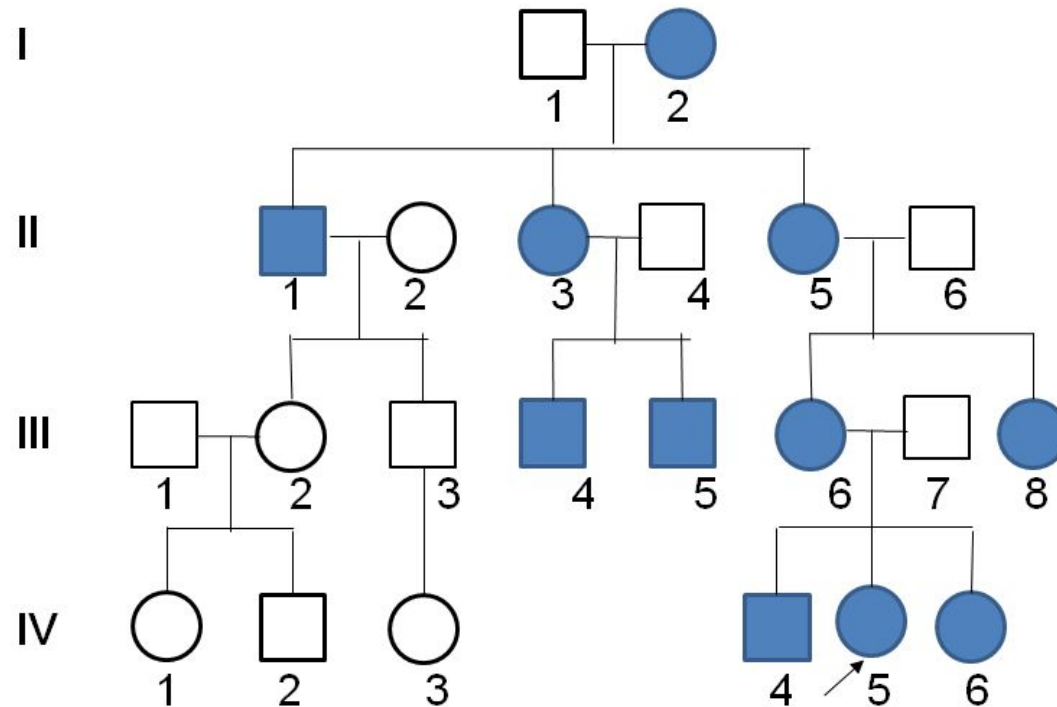
## 5. Сцепленный с Y-хромосомой (голандрический) тип наследования

Примеры:

- гипертрихоз ушных раковин;
- избыточный рост волос на средних фалангах пальцев кистей.



# Признаки цитоплазматической (митохондриальной) наследственности



- **Признак передается потомкам только от матери;**
- Мать, несущая признак, передает его всему потомству;
- Признак одинаково часто встречается у представителей обоих полов.



# Анализ родословной

- Первая задача при анализе родословной – установление наследственного характера признака.
- Если в родословной встречается один и тот же признак (болезнь) несколько раз, то можно думать о его наследственной природе.
- После обнаружения наследственного характера признака необходимо установить тип наследования. Для этого используются принципы генетического анализа и различные статистические методы обработки данных многих родословных.

# План анализа родословной

1. Наследуется ли заболевание (смотрим по родословной).
2. Доказываем сцепление с полом:
  - 2.1. **Голандрическое наследование** (у-сцепленное). Заболевание передается от отца к сыну. Болеют только мальчики.
  - 2.2. **X-сцепленное:**
    - 2.2.1. *X-сцепленное доминантное*. От больных женщин рождаются больные сыновья и дочери. От больных мужчин только дочери. Наследование в каждом поколении.
    - 2.2.2. *X-сцепленное рецессивное*. Главным образом болеют мужчины (гемизиготы). Наблюдается проскальзывание поколений. Вероятность заболевания возрастает в близкородственных браках.
3. Аутосомное наследование:
  - 3.1. **Аутосомно-доминантное**. От больных рождаются больные, а от здоровых – здоровые (со 100% пенетрантностью). Без проскальзывания поколений. С неполной пенетрантностью: наряду с рождением больных от больных встречается рождение больных от здоровых и наоборот.
  - 3.2. **Аутосомно-рецессивное**. Наследование не в каждом поколении. От здоровых родителей рождаются больные дети.
4. Митохондриальное наследование. Наследуются заболевания обмена веществ через яйцеклетку. От больных женщин рождаются больные сыновья и дочери. Мальчики дальше заболевания не передают.

# Близнецовый метод

- это изучение генетических закономерностей на близнецах. Данный метод позволяет определить роль генотипа в проявлении признаков. Предложен в 1876 году Ф. Гальтоном.
- Близнецами называют одновременно родившихся детей. У человека рождение близнецов - довольно распространённое явление. Так, одна двойня приходится на 80 - 85 одноплодных родов, одна тройня - на 6 - 8 тыс., четверни и пятерни встречаются очень редко.
- Частота рождений близнецов в странах с умеренным климатом выше, чем в жарких.
- Одинайцевые близнецы составляют 15% от всех многоплодных родов.
- Женщина, однажды родившая близнецов, может иметь тенденцию к повторным многоплодным родам.





# Близнецовый метод

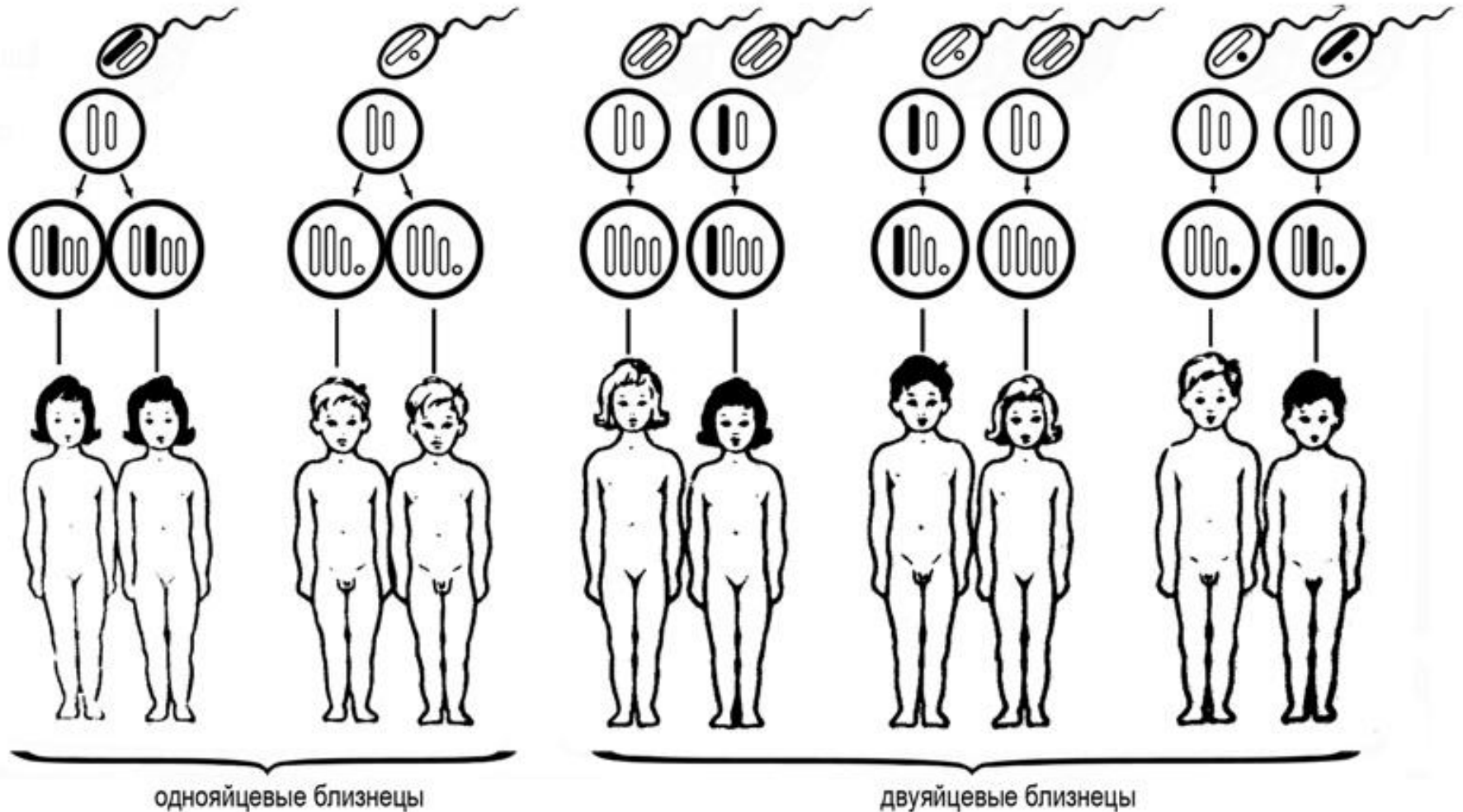


# Близнецовый метод



# Близнецовый метод

Схема возникновения идентичных (однойяцевых) и неидентичных (двухяцевых) близнецов





# Близнецовый метод



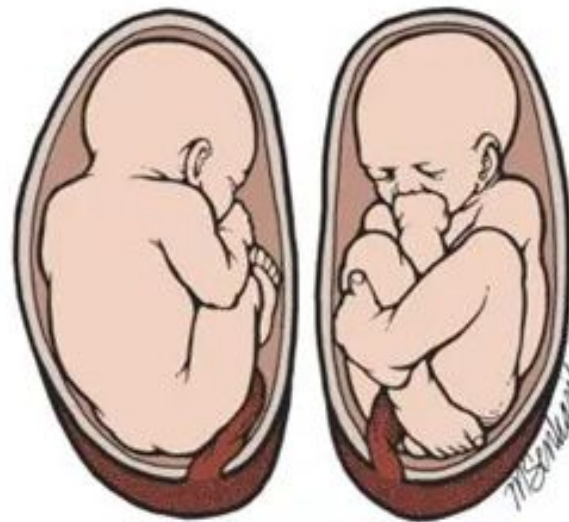
Mono chorionic  
Mono amniotic



Mono chorionic  
Diamniotic



Dichorionic Diamniotic  
(fused placentae)



Dichorionic Diamniotic  
(separate placentae)

# Близнецовый метод



- В 1934 г. в американском городе Калландер штата Онтарио 25-летняя Эльзир Дионне родила пятерню.
- Такое отмечалось к тому времени лишь два раза в мире, но в обоих случаях не все дети выжили. Здесь выжили все.



Дети Эльзир были на 5 лет изъяты из семьи и помещены в специальное здание Красного креста. Здесь девочек выхаживали специальные сестры.



Сестры Дионн - единственные в мире генетически идентичные пятерняшки, дожившие до солидных возрастов (две еще не умерли)

Во времена Великой депрессии чудо - девочки были достопримечательностью провинции Онтарио, администрация которой взяла заботу о них на себя.

Для них даже построили отдельный дом, окруженный забором, вокруг которого постоянно толпились посетители.

Одна из сестер Дионн умерла во время приступа эпилепсии в 20-летнем возрасте, другая - от инсульта в 30-летнем.





# Нетипичные виды близнецов



Самые знаменитые сиамские близнецы –  
Чанг и Энг Банкеры.

Особую группу среди монозиготных близнецов составляют **сиамские близнецы**, которые не полностью разделились в эмбриональном периоде развития и имеют общие части тела или внутренние органы.

Обычно оплодотворенная яйцеклетка делится на шестой день после зачатия. Сиамские близнецы образуются, если яйцеклетка делится очень поздно, через 14-15 дней после оплодотворения.

К этому времени клетки зародыша специализируются так, что полное разделение близнецов в утробе матери становится невозможным.

Вероятность рождения сиамских близнецов составляет примерно один случай на 200 000 родов.

Около половины сиамских близнецов рождаются мёртвыми.

# Сиамские близнецы



- Энг и Чанг родились в 1811 г. Они прожили 63 года, были женаты на сестрах.
- Чанг имел 12 детей, а Энг – 10 детей.
- В 1874 г. умер от воспаления Чанг, а Энг, который был здоров, пережил его только на 2 часа. Он умер от заражения трупной кровью, ведь у братьев был общий кровоток.



# Сиамские близнецы



Маша и Даша Кривошляповы (1950 – 2003)

# Близнецовый метод

В отличие от монозиготных, дизиготные близнецы характеризуются **дискордантностью** - несходством по многим признакам.

Эти фенотипические признаки и используются в качестве **критериев диагностики зиготности близнецов**.

Признаки	Конкордантность, %	
	Монозиготные близнецы	Дизиготные близнецы
<b>Нормальные признаки</b>		
Группа крови (AB0)	100	46
Цвет глаз	99,5	28
Цвет волос	97	23
<b>Патологические признаки</b>		
Косолапость	32	3
«Заячья губа»	33	5
Бронхиальная астма	19	4,8
Корь	98	94
Туберкулез	37	15
Эпилепсия	67	3
Шизофрения	70	13

# Близнецовый метод

- позволяет определить относительную роль наследственности и среды в развитии признака, а также даёт возможность оценивать действия на организм некоторых внешних факторов (*лечебных препаратов, воспитания, обучения и т.д.*).

Проводится обследование моно- и дизиготных близнецов и определение коэффициента **конкордантности** (сходства) и **дискордантности** (различий) признаков.

## Формула Хольцингера:

$$H = \frac{\% \text{ сходства МЗБ} - \% \text{ сходства ДЗБ}}{100 - \% \text{ сходства ДЗБ}}$$

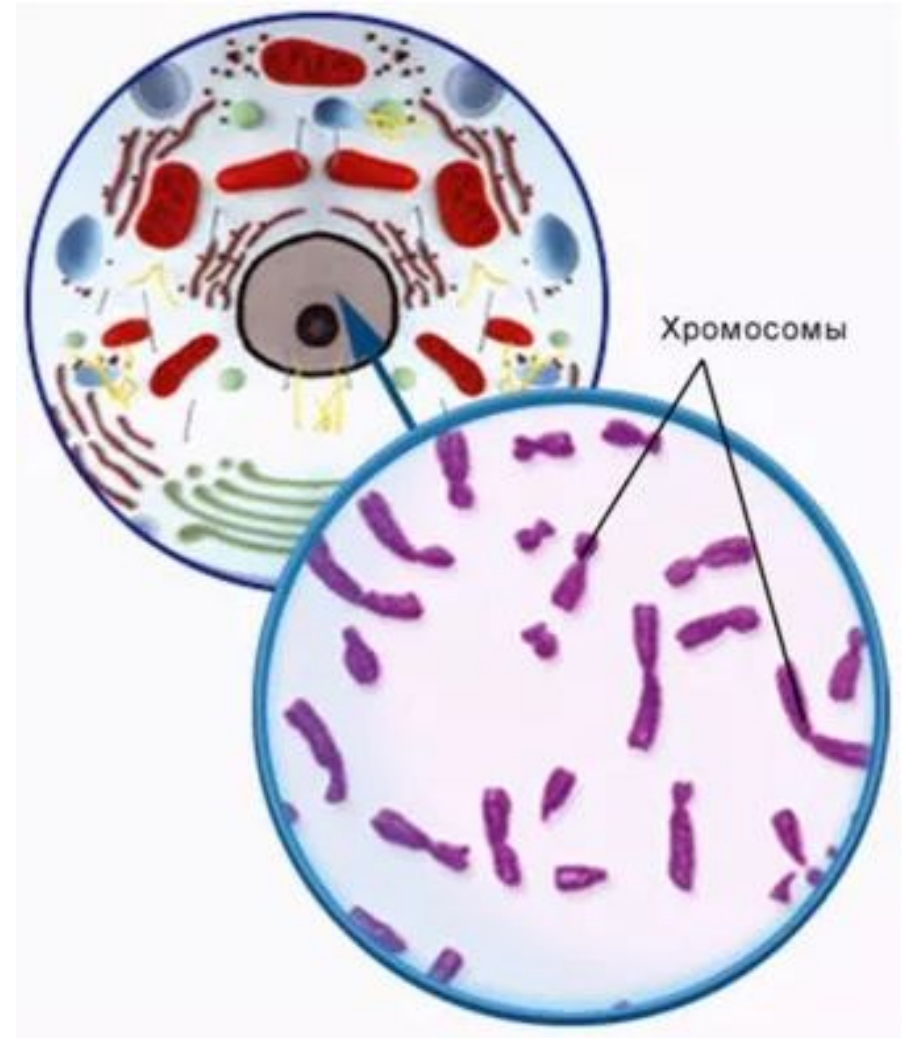
- $H=1$  – 0,7 - признак определяется полностью наследственным компонентом;
- $H=0$  – 0,4 - определяющую роль играет фактор среды;
- Среднее значение  $H = 0,4 - 0,7$  свидетельствует о том, что признак развивается под действием факторов внешней среды на фоне генетической предрасположенности.

# Цитогенетический метод

- используют для изучения нормального кариотипа человека, а также при диагностике наследственных заболеваний, связанных с геномными и хромосомными мутациями.

Его использование даёт следующие возможности:

1. Изучать морфологию хромосом и кариотипы, процессы мутагенеза на уровне хромосом и кариотипа.
2. Определять генетический пол.
3. Диагностировать различные хромосомные болезни, связанные с изменением числа и структуры хромосом.
4. В медико-генетическом консультировании – для цели пренатальной диагностики хромосомных болезней, что позволяет путём своевременного прерывания беременности предупредить появление потомства с грубыми нарушениями развития.



# Цитогенетический метод

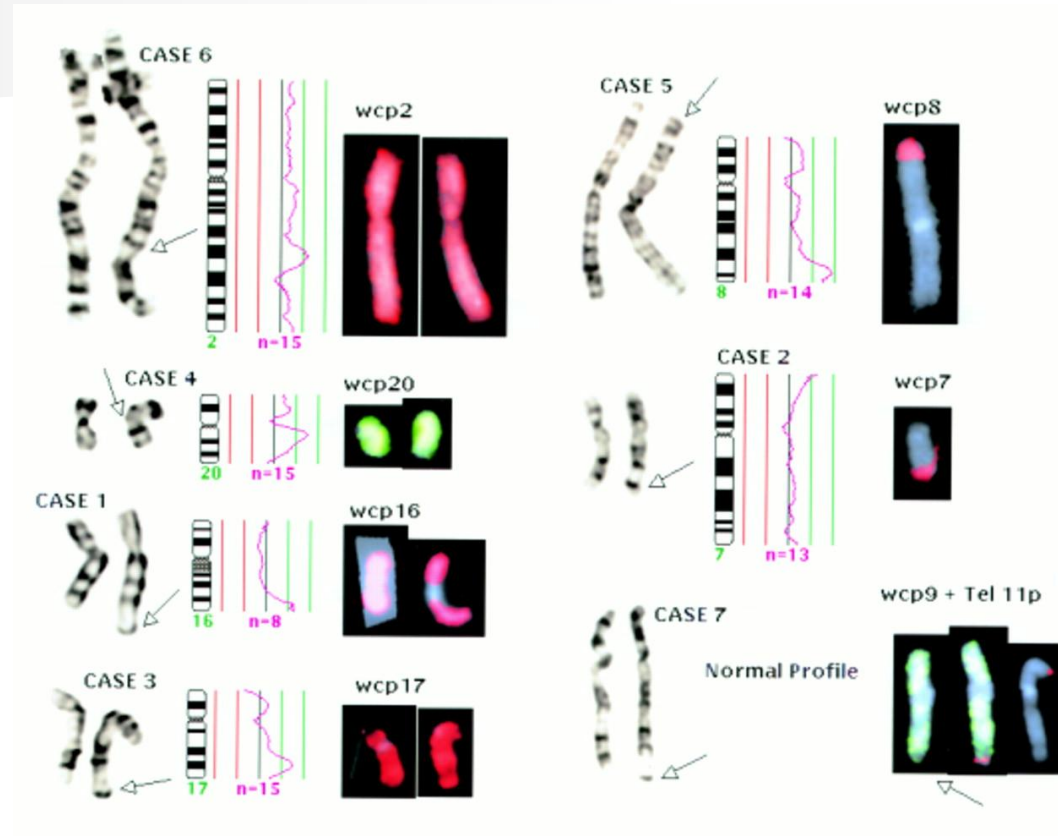
## Суть метода:

- заключается в микроскопическом изучении кариотипа (особенность строения и число хромосом), путем записи кариограммы.

Обычно хромосомы в клетках наблюдают во время митоза на стадии метафазной пластинки.

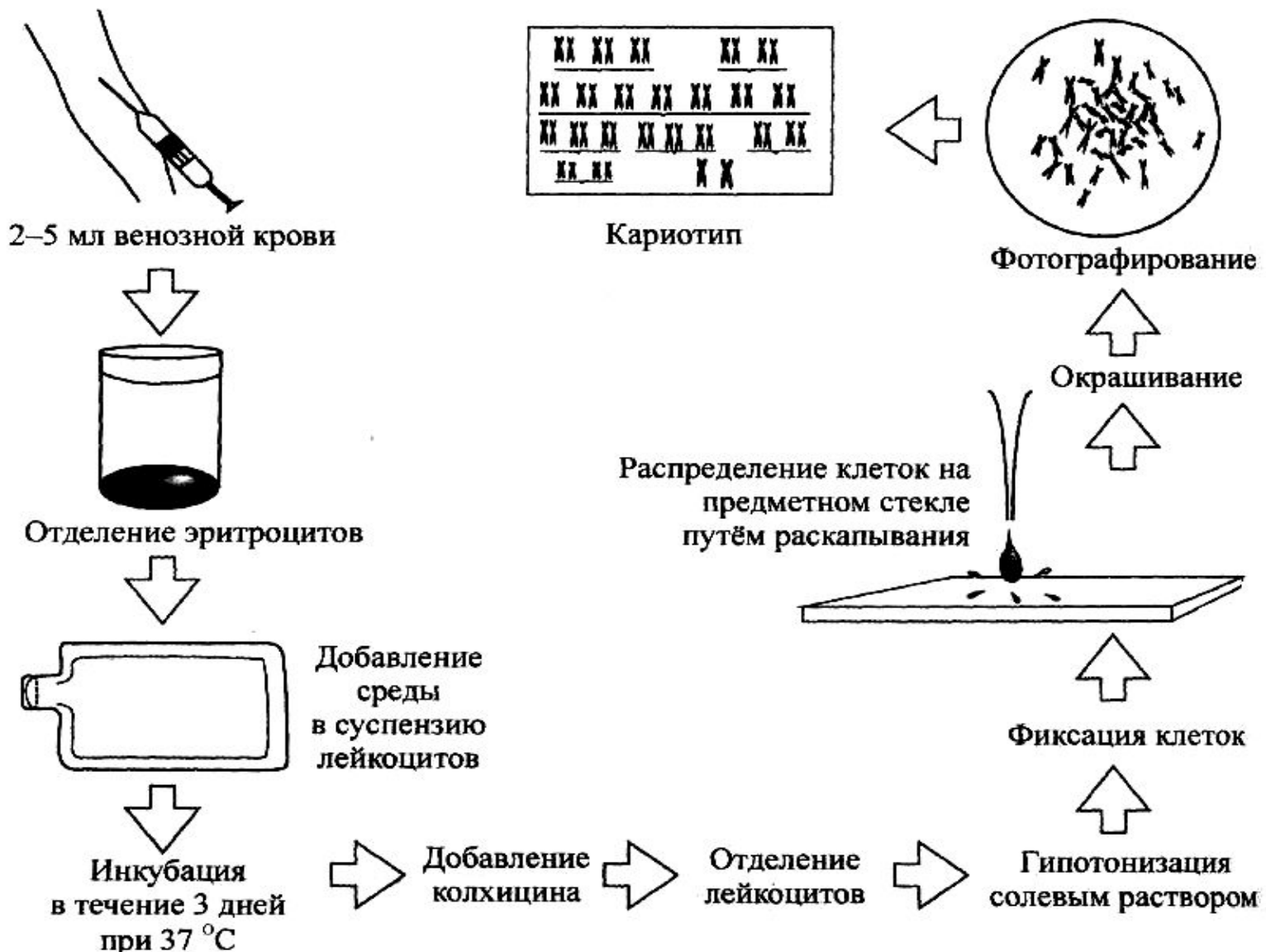
## Объектом исследования служат:

- клетки костного мозга,
- лимфоциты периферической крови,
- различные клетки эмбрионов.





# Цитогенетический метод



Методика приготовления цитогенетических препаратов путём культивирования лейкоцитов



# Цитогенетический метод



# Цитогенетический метод

## Экспресс-диагностика полового хроматина

- Ядра всех соматических клеток человека имеют 23 пары хромосом.

В норме у женщин кариотип – 46,XX, у мужчин – 46, XY.

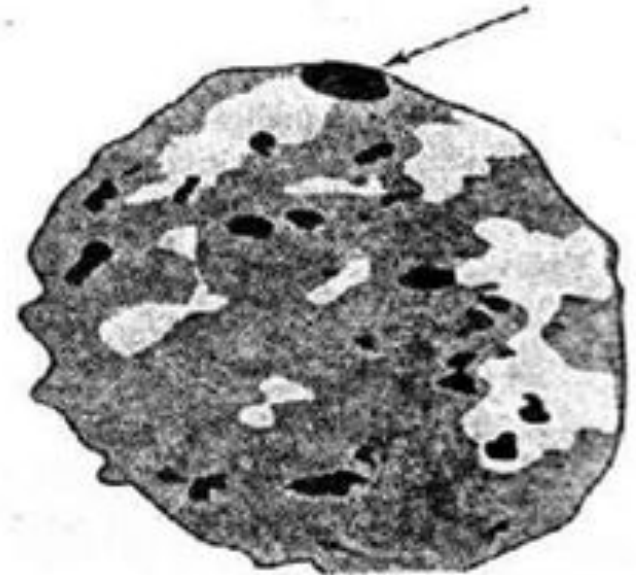
Из них 22 пары – аутосомы «работают» только попарно.

- Половые же хромосомы работают в единственном числе.

- Из двух X-хромосом женщины **одна полностью инактивируется** и находится в ядре в конденсированном состоянии, **в виде глыбок** (М. Барр и Л. Бертрам в 1949г).

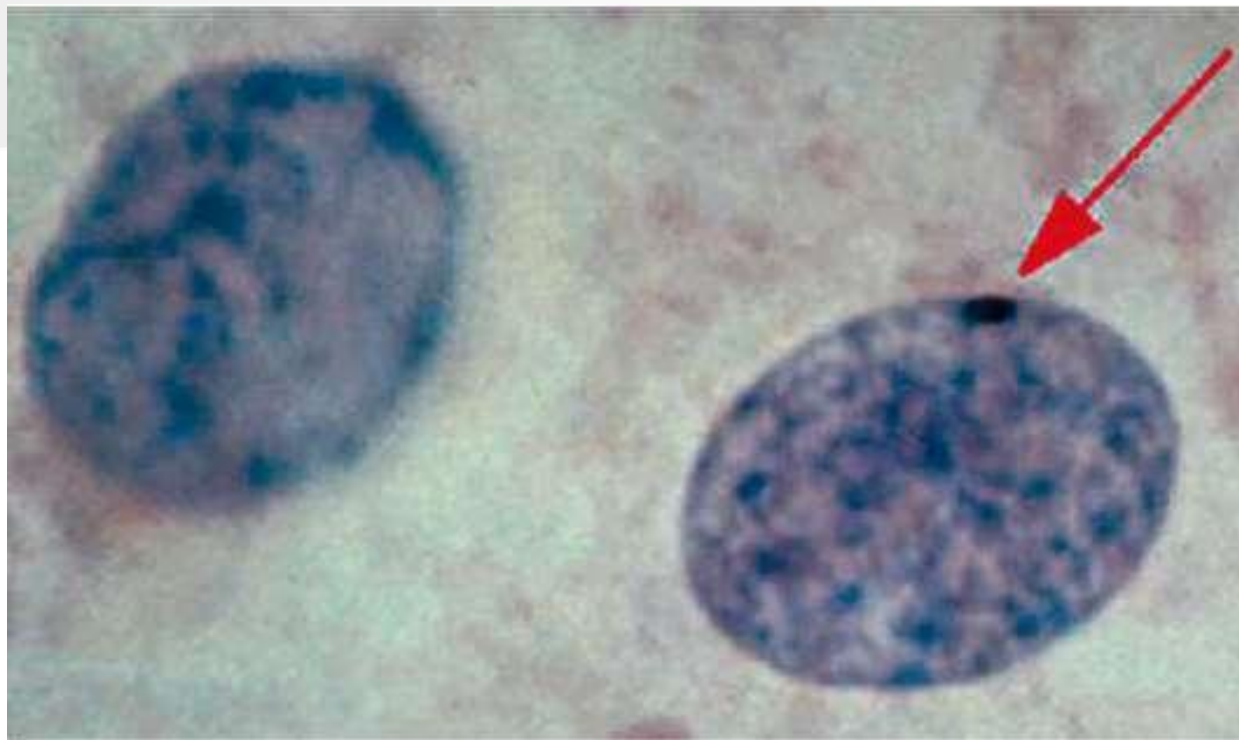
- Эти глыбки получили название **«половой хроматин»**, «X- хроматин» или **«тельца Барра»** – небольшое образование по краям ядра.

тельца Барра



# Цитогенетический метод Экспресс-диагностика полового хроматина

- В норме у женщин 10-30% клеточных ядер имеют тельце Барра,
- у мужчин в норме отсутствуют.



- Чаще всего для исследования берется соскоб эпителия с внутренней поверхности щеки (буккальный соскоб).
- Изменение количества полового хроматина свидетельствует об изменении количества половых хромосом.

# Цитогенетический метод

## Показания к исследованию полового хроматина

- наличие клинических признаков синдрома Шерешевского-Тернера и синдрома Клайнфельтера;
- наличие признаков гермафродитизма;
- низкий рост у девочек, женщин (X-хроматин);
- аменорея первичная и вторичная;
- высокий рост у мужчин (Y- и X-хроматин).

у женщин – норма: 46(XX)

у мужчин – синдром Клайнфельтера: 47(XXY)

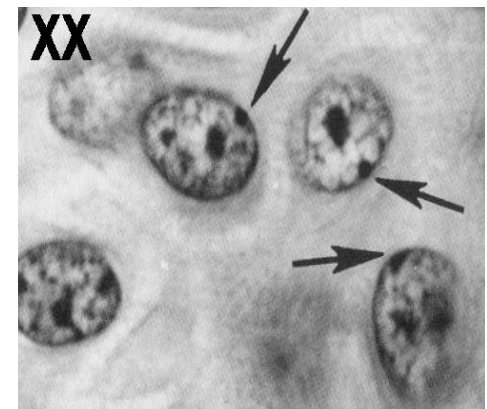


**X-хроматин отсутствует**


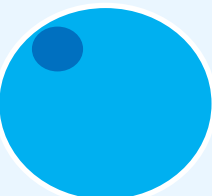
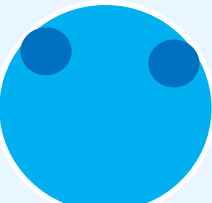
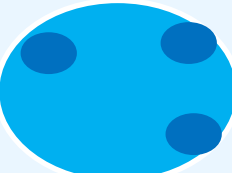
у мужчин – норма: 46(XY)

у женщин – синдром Шерешевского-Тернера: 45(XO)

**Глыбки X-хроматина**



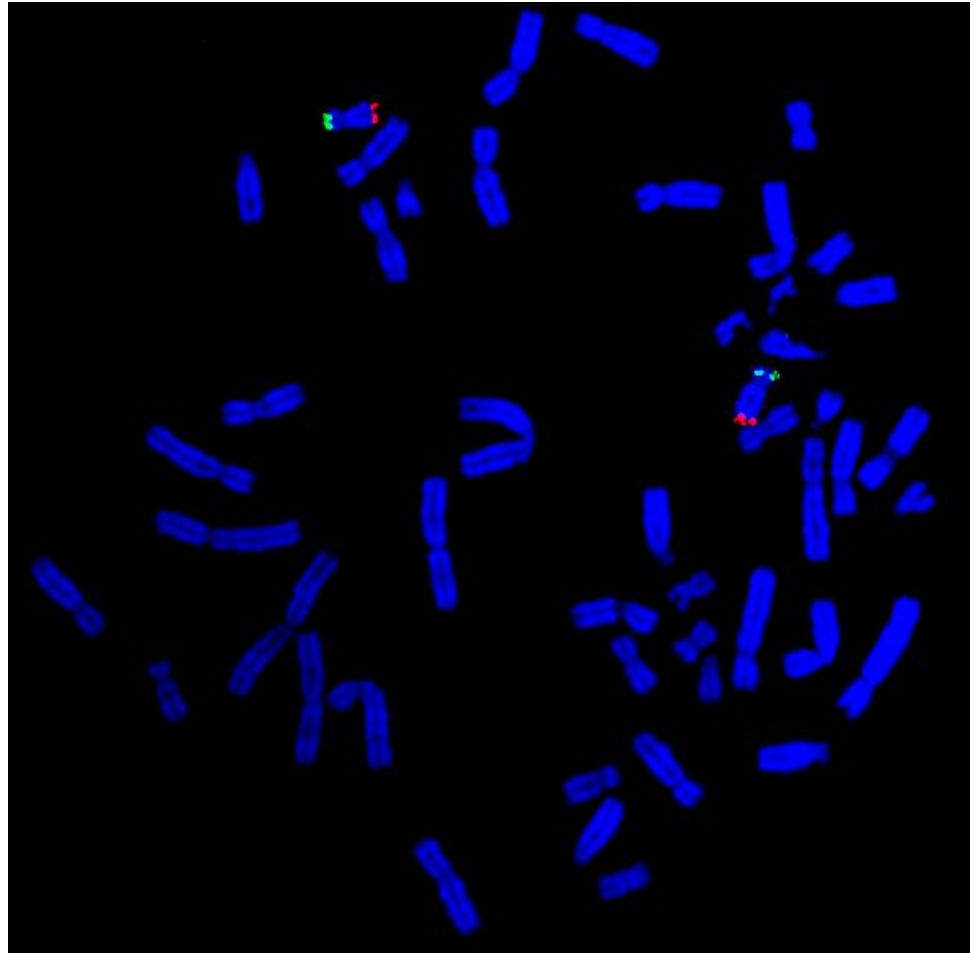
# Глыбки X-хроматина (тельца Барра) в ядрах соматических клеток человека

	Нормальный мужчина (XY) или женщина с синдромом Шерешевского-Тернера (XO)
	Нормальная женщина (XX) или мужчина с синдромом Кляйнфельтера (XXY)
	Женщина с трисомией X (XXX) или мужчина с синдромом Кляйнфельтера (XXXY)
	Женщина с полисомией X (XXXX) или мужчина с синдромом Кляйнфельтера (XXXXY)

# FISH – флюоресцентная гибридизация in situ

цитогенетический метод, который применяют для определения положения специфической последовательности ДНК на метафазных хромосомах или в интерфазных ядрах in situ.

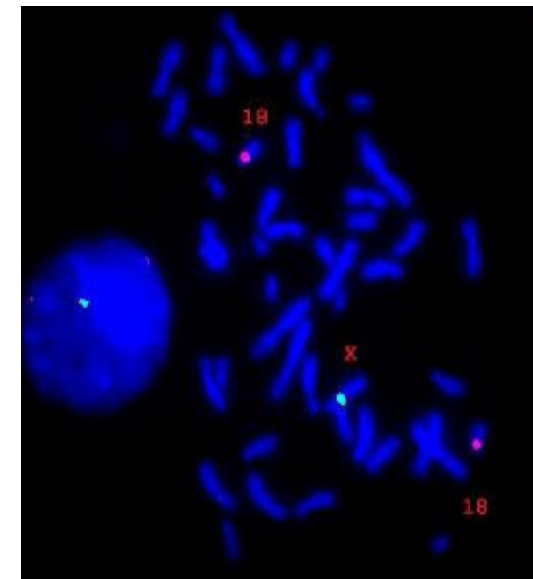
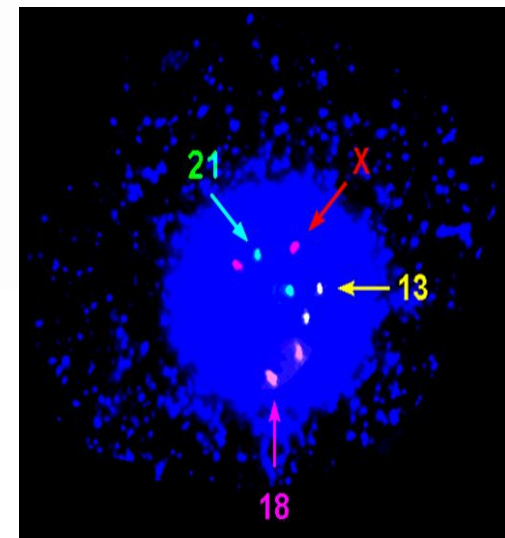
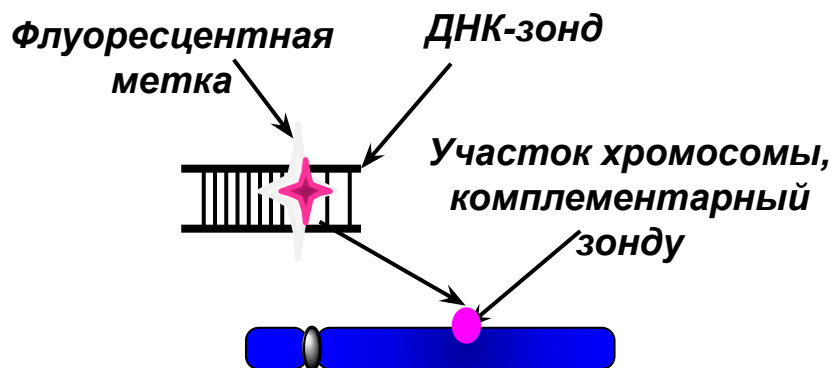
- Денатурация хромосомной ДНК и гибридизация с флуоресцентным зондом.
- Для определения участков хромосом, с которыми связались флуоресцентные зонды, используют флуоресцентные микроскопы.





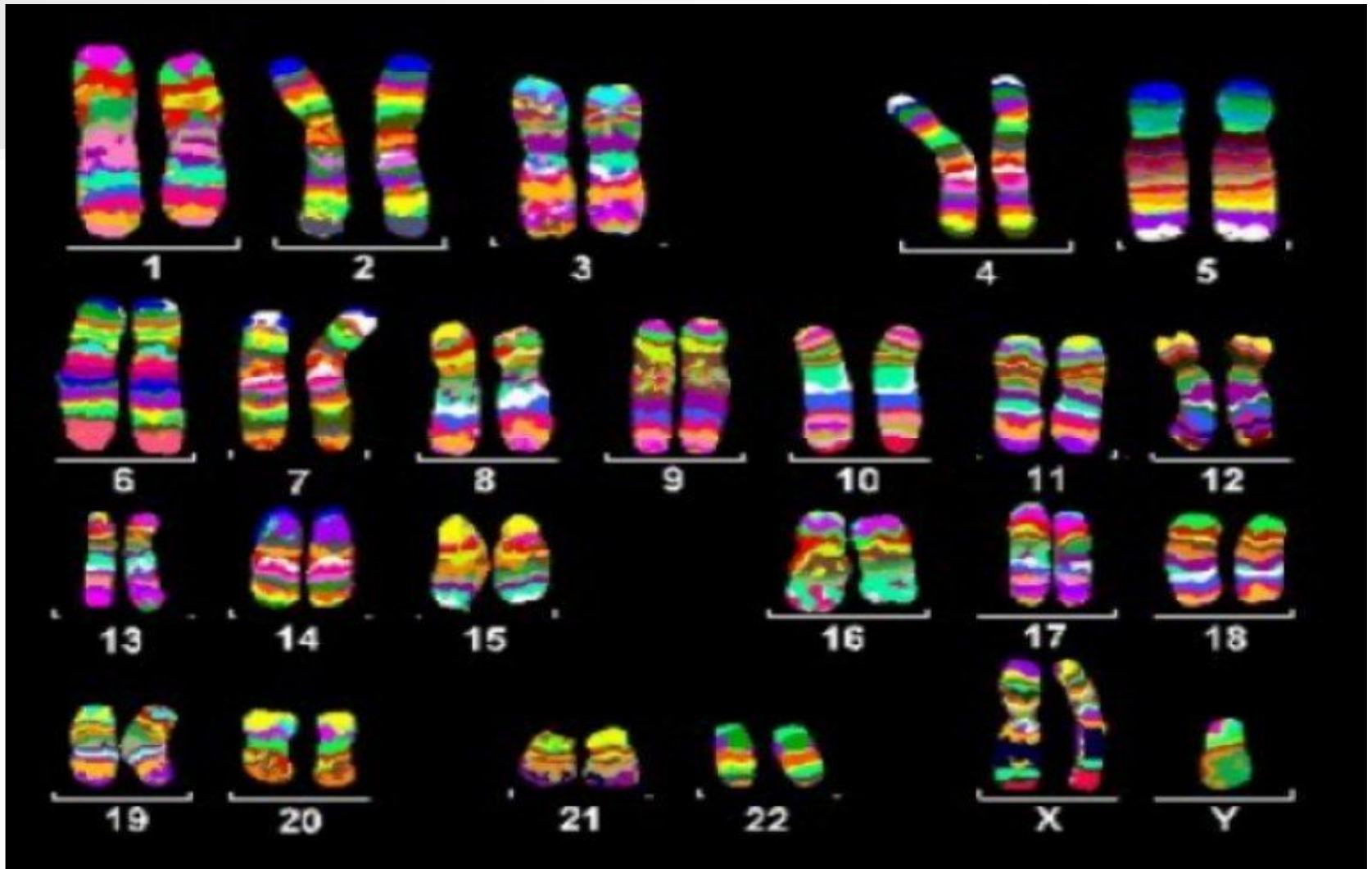
# FISH – флюоресцентная гибридизация in situ

- готовят ДНК-зонды – определенные по нуклеотидному составу фрагменты ДНК, помеченные флюоресцирующим красителем,
- ДНК-зонд, находит в исследуемой хромосоме комплементарный участок ДНК и присоединяется к нему;
- место присоединения ДНК-зонда определяется по специфическому свечению при микрокопировании гистологических препаратов,
- объектом микрокопирования могут быть метафазные хромосомы и хроматин ядер неделящихся клеток (интерфазные хромосомы);
- С помощью метода FISH можно определять локализацию генов в хромосомах и все хромосомные aberrации.



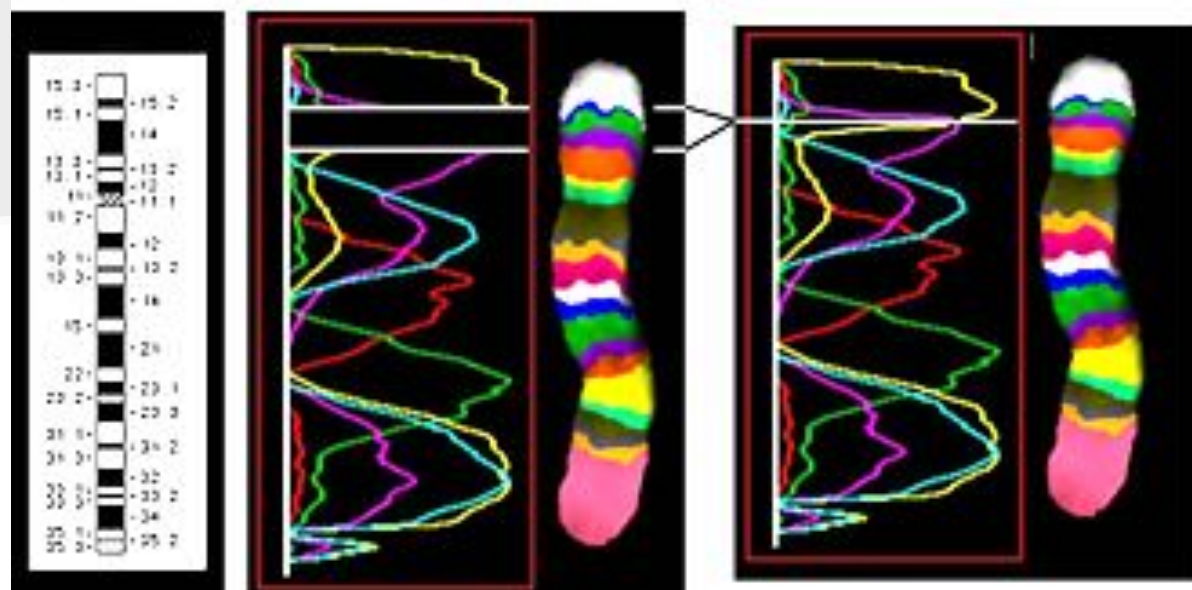
FISH исследования  
интерфазных и метафазных  
хромосом с помощью ДНК-  
зондов

# FISH – флюоресцентная гибридизация in situ

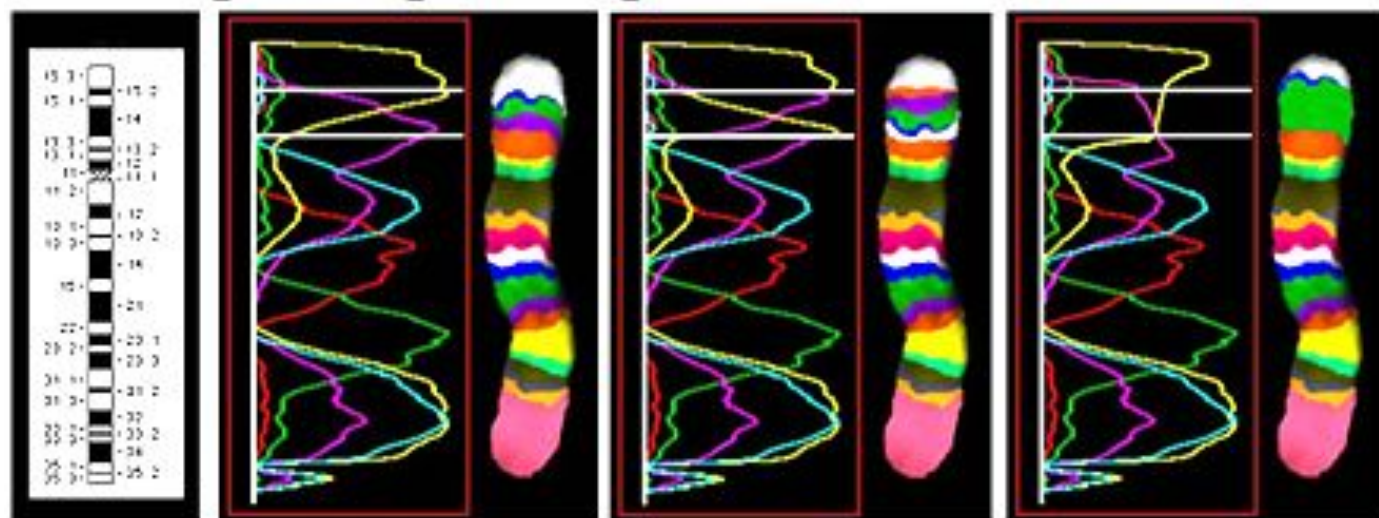


Для скрининга перестроек в кариотипе применяют набор полнохромосомных комбинированных зондов для всех хромосом 24-х цветный FISH (M-FISH, SKY).

# Делеция 5p15.1-p14



# Инверсия 5p15.1-p14



# Молекулярно-генетические методы

- большая и разнообразная группа методов, предназначенная для выявления повреждений в структуре участка ДНК (гена, участка хромосомы) вплоть до расшифровки последовательности нуклеотидов.

Это наиболее точный метод диагностики моногенных наследственных заболеваний.

- В основе методов лежат генно-инженерные манипуляции с ДНК и РНК.
- Исходный этап молекулярно-генетических методов – получение образцов ДНК.
- Источником геномной ДНК – любые ядродержащие клетки (лейкоциты, хорион, амниотические клетки).

# МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ

- ПЦР
- ПДРФ-анализ
- Секвенирование
- Блот-гибридизация по Саузерну
- Гибридизационные биочипы
- Полногеномный анализ

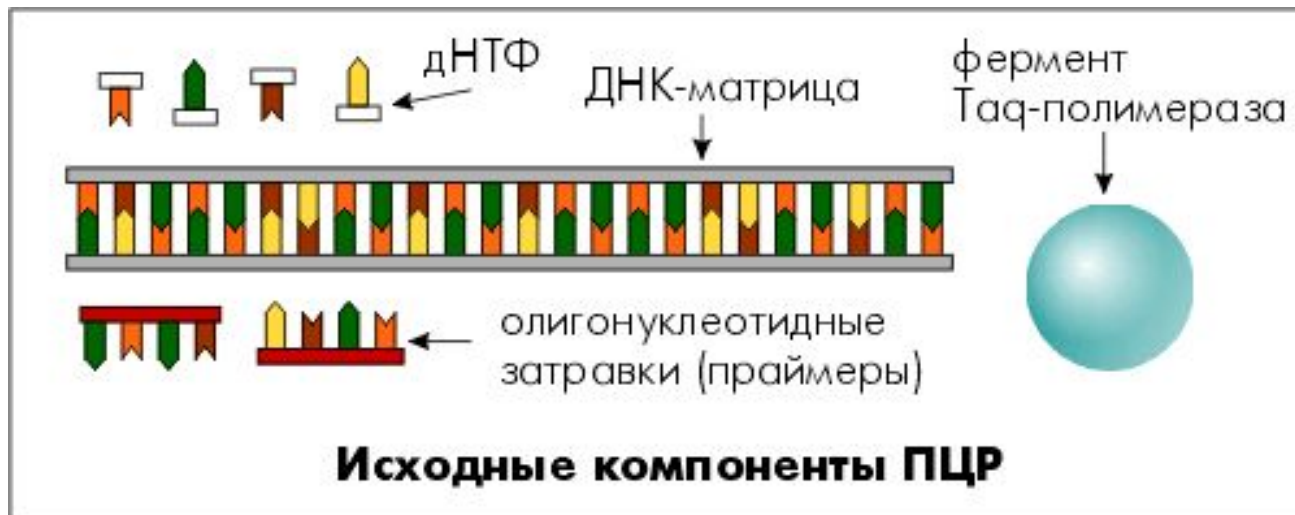


# Молекулярно-генетические методы

Метод ПЦР был разработан в 1983 г. Кэрри Мюллисом.

В России получил развитие с 1989 г.

**Полимеразная цепная реакция синтеза ДНК** – это метод амплификации ДНК *in vitro*, с помощью которого в течение нескольких часов можно выделить и размножить определенный участок ДНК (размером от 80 до 3000 пар нуклеотидов (пн)) в миллиарды раз.

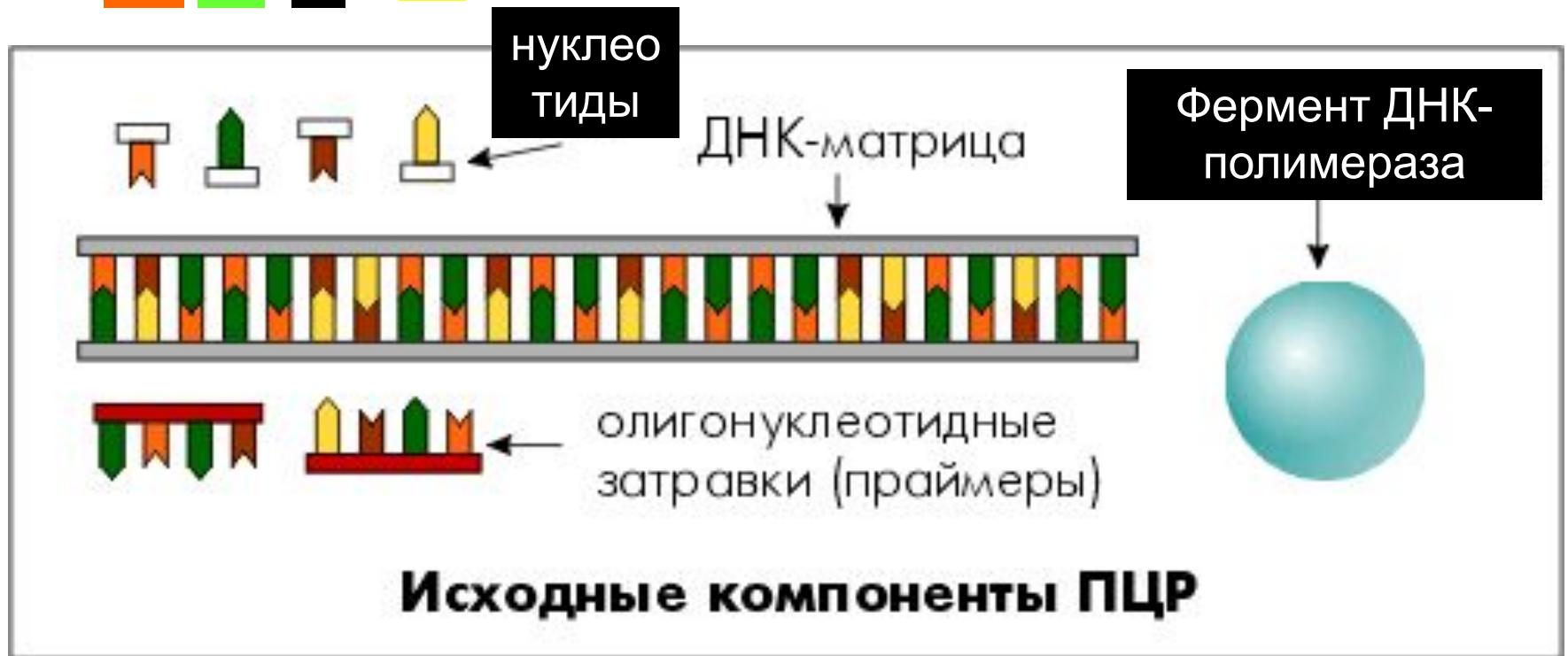




# Молекулярно-генетические методы

В основе метода ПЦР лежит репликация ДНК – комплементарное достраивание ДНК по матрице с помощью фермента ДНК-полимеразы.

А Т Г Ц



Праймеры строго комплементарны правой и левой границам специфического фрагмента ДНК и синтез цепи протекает только между ними.

# Молекулярно-генетические методы



**Первый в мире патент на микробиочипы для определения структуры ДНК принадлежит нашей стране!**

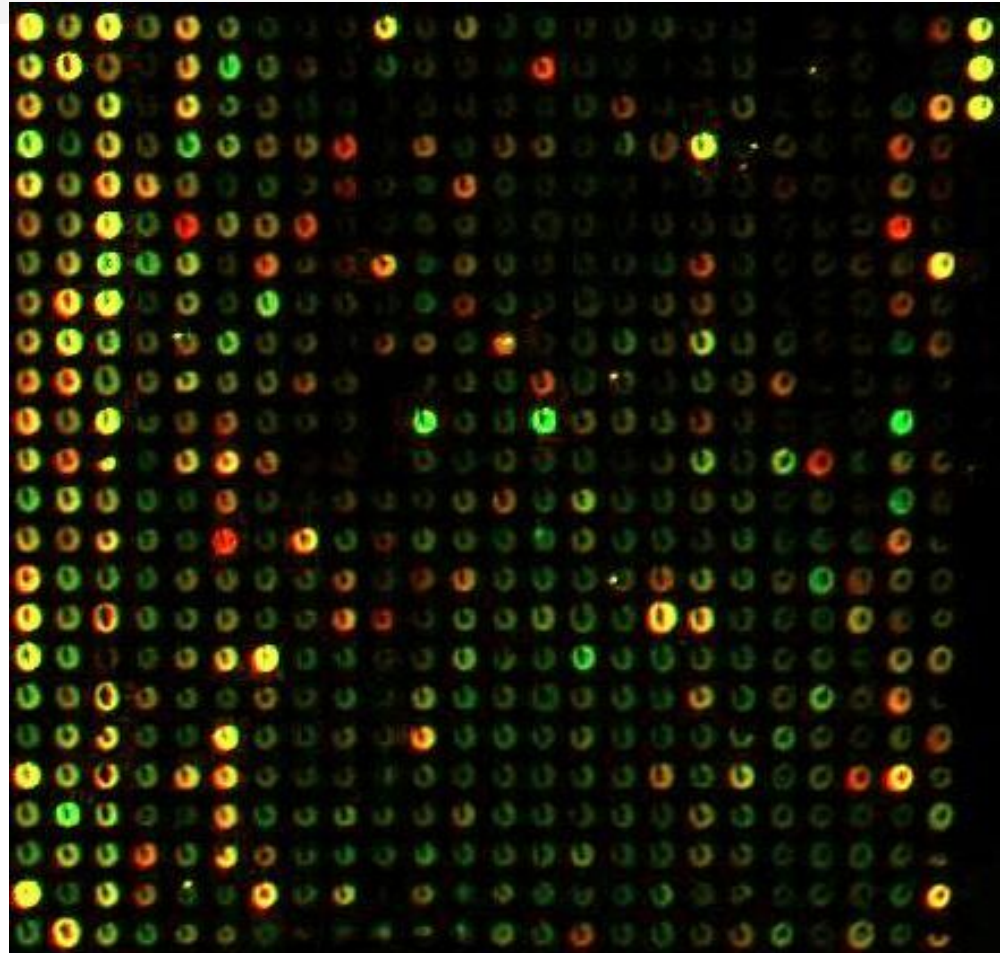
Биочип - это набор микроплощадок, каждая из которых содержит фрагмент ДНК из своего экзона генома человека

А. Мирзабеков - соавтор статьи за которую дана Нобелевская премия (В. Гилберт, секвенирование ДНК)

# ДНК-чипы (DNA microarrays)

ДНК-чип представляет собой пластину площадью около  $1 \text{ см}^2$ , на которой в строго определенном порядке размещены ячейки, каждая из которых содержит одноцепочечные полинуклеотиды определенной последовательности оснований.

Количество таких полинуклеотидных ячеек, а, следовательно, и количество различных нуклеотидных последовательностей, может превышать 1 млн. на  $1 \text{ см}^2$ , их длина варьирует от 9-10 до 1000 нуклеотидов.

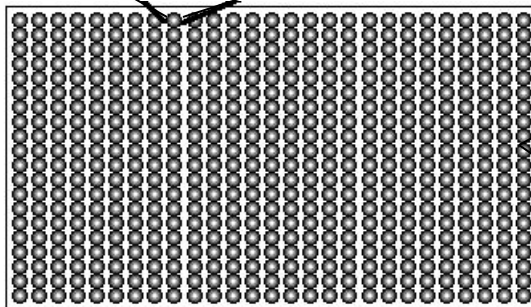
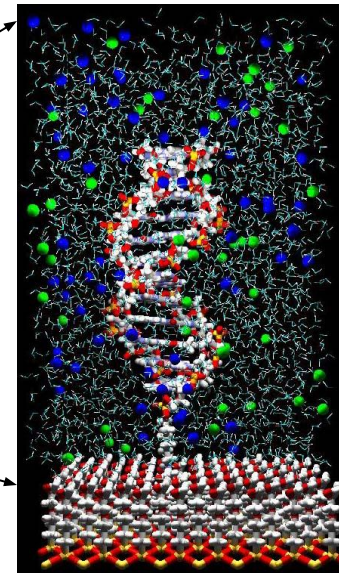
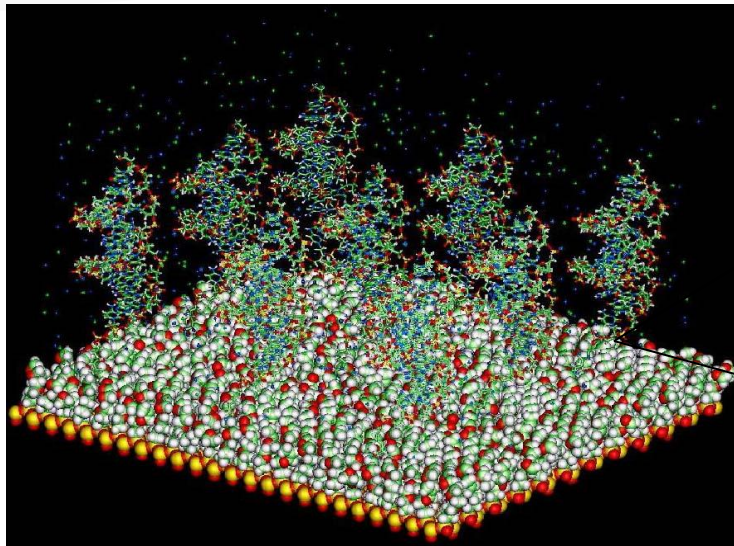


Цвет и его интенсивность несут информацию о специфическом гене исследуемого образца



# ДНК – матрицы

Смесь молекул мРНК из исследуемого образца флуоресцентно метят и гибридизуют с чипом. "Свечение" площадки означает, что данный ген в исследуемом образце транскрибирован



TCCTTTCCGG	AACGGTTGGC	GTCTGCCAC	GCCGGTGTGG	GGCATGACAT
GCCGCCCCAG	GAACAACCCC	GACACGGCTT	TAAGCCTCTC	AAATCGCTGT
AGACATCATC	TTTACGTGCT	TGGCTTGCCC	TGCCACCATT	AGGGCTGTTC
CCGCGACGAC	TCGCCATTCA	ACCTCAGTCC	TTCCGGTTGA	GCGAGTGGGT
CGCGCGCAAG	GTGCGAATGG	GTCGCGCGCA	AAAGTGTTCG	CTGGCTGTAT
TATATGCTGC	CTATAGCGAG	ACTAACGACC	CACACTTTCA	CACAAGGATT
TCCCGCTAAT	GGGTACCTCG	CGTCAGGACC	TTGACGCAAG	CGCGCCTTCG
GTTGGCCCCA	AGCTTGCTAG	GACTACTTAT	CTTGAGCTCA	TTTAACATCC
CGGCGCCTCT	CCGGGAGCGG	TCGTGCGGAA	GAAGTCAAAC	CCGGAACGGC
GTTGACAAAG	CGTGGAGACA	TCGATACCTC	TGTGTCAGCG	GCCACAAATC

# Биохимические методы

- Биохимические методы направлены на выявление биохимического фенотипа организма. Эти методы позволяют диагностировать наследственные болезни, обусловленные генными мутациями. С помощью биохимических методов описано более **1000 врождённых болезней обмена веществ**.
- Биохимические показатели (первичный белковый продукт гена, накопление патологических метаболитов внутри клетки) отражают сущность болезни более адекватно, чем клинические симптомы.

Методы используются для:

- диагностики моногенных наследственных заболеваний с нарушением обмена веществ (энзимопатии);
- диагностики гетерозиготных состояний у взрослых.





# Биохимические методы

Объектами биохимической диагностики являются: кровь, моча, пунктаты костного мозга, амниотическая жидкость, сперма, пот, кал и др., с целью определения в биологических жидкостях активности ферментов или содержания некоторых продуктов метаболизма.



## Биохимическая диагностика:

### первичная

Цель – исключение здоровых индивидов из дальнейшего обследования.



Используется массовый скрининг

### уточняющая

Цель – уточнение диагноза заболевания.



Используется селективный скрининг



# Биохимические методы: массовая диагностика

Массовые просеивающие программы применяют для диагностики у новорожденных таких заболеваний как

- фенилкетонурия,
- врожденный гипотериоз,
- муковисцедоз,
- галактоземия.



Например, для диагностики фенилкетонурии кровь новорожденных берут на 3-5 день после рождения. Капли крови помещают на хроматографическую или фильтровальную бумагу и пересылают в лабораторию для определения фенилаланина.

Для определения врожденного гипотиреоза в крови ребенка на 3 день жизни определяют уровень тироксина.

# Биохимические методы: массовая диагностика

## СКРИНИНГ НОВОРОЖДЕННЫХ

Обязательный скрининг по утвержденной национальной программе.

Включает диагностику 5 заболеваний

(Фенилкетонурия, Муковисцидоз, Галактоземия, Адреногенитальный синдром и Врожденный гипотиреоз)

Скрининг «Пяточка» - дополнение к обязательному скринингу.

Включает диагностику 37 заболеваний!

(Лейциноз, гомоцистинурия, цитрулинемия, тирозинемия и др.)

Обязательный скрининг на 5 заболеваний проводится у каждого новорожденного с помощью взятия крови на специальный тест-бланк, который направляется в медико-генетическую консультацию для проведения исследования. В случае обнаружения в крови маркера заболевания родители с новорожденным ребенком приглашаются в медико-генетическую консультацию.

Проводится по желанию родителей в Независимой лаборатории ИНВИТРО. Необходимо до родов получить в любом офисе ИНВИТРО набор для проведения анализа.

Взятие крови может осуществить специально подготовленный сотрудник в роддоме, либо Служба выезда на дом ИНВИТРО.

Важно помнить, что от начала вскармливания до момента взятия крови на «Пяточку» должно пройти не менее 4-х суток.

# Биохимические методы: селективная диагностика

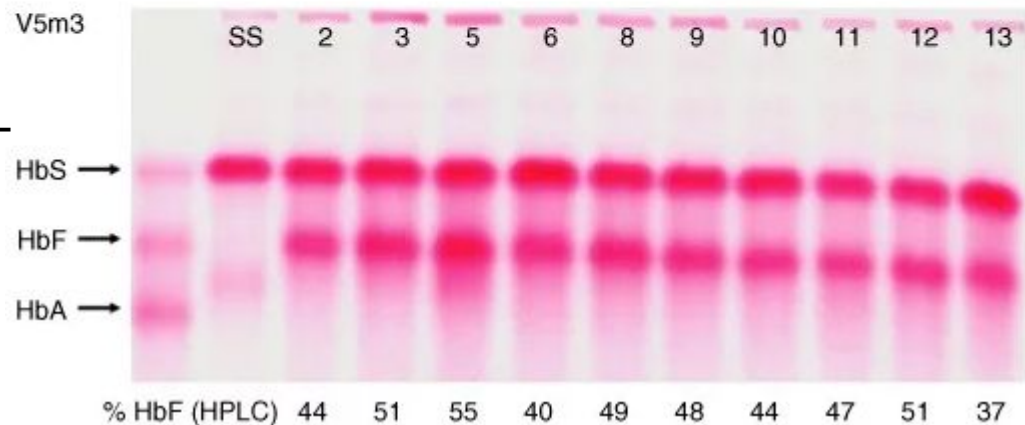
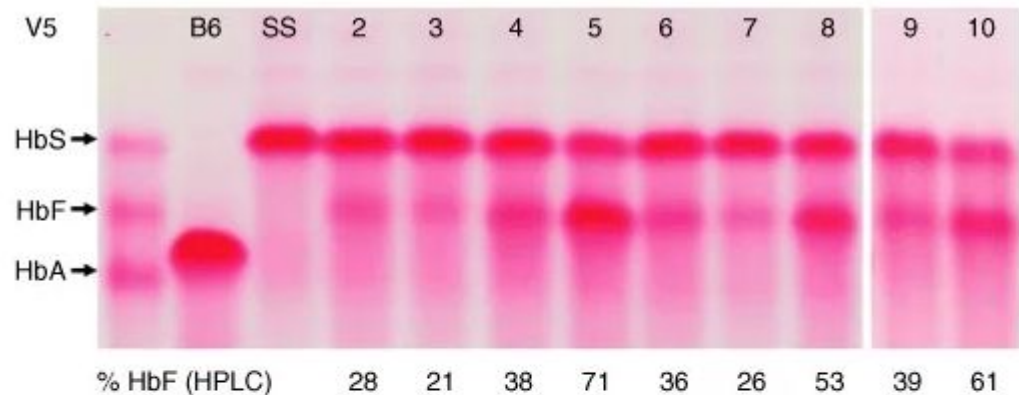
Селективные диагностические программы предусматривают проверку биохимических аномалий обмена у пациентов с подозрением на генные наследственные болезни.

В селективных программах обычно используются более точные методы.

Например, с помощью тонкослойной хроматографии мочи и крови можно диагностировать наследственные нарушения обмена аминокислот и мукополисахаридов.

С помощью электрофореза гемоглобинов диагностируется вся группа гемоглобинопатий.

Жидкостная хроматография, масс-спектрометрия и др. позволяют идентифицировать любые метаболиты, специфические для конкретной наследственной болезни.





# Химические методы

**Химические методы** основаны на качественных цветных химических реакциях.

Они используются для предварительной диагностики наследственных болезней обмена веществ.

Как скрининг-тест *диагностики фенилкетонурии* используется метод смачивания мочой ребенка полосок бумаги, пропитанной 10%-м раствором  $\text{FeCl}_3$  или 2,4 динитрофенилгидразина.

При наличии фенилпировиноградной кислоты в моче, появляется зеленоватое окрашивание фильтровальной бумаги.





# ПОПУЛЯЦИОННО-СТАТИСТИЧЕСКИЙ МЕТОД

Предметом популяционно-статистического метода является изучение частоты генов и генотипов в популяции.

Основы метода были разработаны Харди и Вайнбергом.

Объектом исследования являются человеческие популяции.

В генетике человека популяцией считают группу людей, занимающих одну территорию и свободно вступающих в брак.

Малые популяции:

- 1 – **изоляты** - численность не более 1500 человек;
- 2 – **демы** – численность от 1500 до 4500 человек.

Характерными особенностями популяций людей являются:

- а) тенденция к их численному росту;
- б) снижение давления естественного отбора.

# ПОПУЛЯЦИОННО-СТАТИСТИЧЕСКИЙ МЕТОД

## Задачи метода:

- 1 – определение частот генов в популяции;
- 2 – определение генетической структуры популяции и её динамики;
- 3 – изучение мутационного процесса;
- 4 – изучение роли наследственности и среды в формировании фенотипического полиморфизма по нормальным признакам:
- 5 – изучение роли наследственности и среды в возникновении болезней, особенно с наследственным предрасположением;
- 6 – изучение роли генетических факторов в антропогенезе.

# ПОПУЛЯЦИОННО-СТАТИСТИЧЕСКИЙ МЕТОД

## Закон Харди – Вайнберга.

**pA** – частота доминантного аллеля гена в популяции;

**qa** – частота рецессивного аллеля гена в популяции;

**pA + qa = 1** – генофонд популяции.

Интегрирующим фактором генофонда, формирующим генетическую структуру популяции, является **панмиксия**:

$$(pA + qa) \times (pA + qa) = p^2AA + 2pqAa + q^2aa$$

Согласно закону Харди- Вайнберга в идеальной популяции частоты генов и генотипов при смене поколений постоянны.

# ДЕРМАТОГЛИФИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ

**Дерматоглифический анализ** это изучение папиллярных узоров пальцев, ладоней и стоп.

На этих участках кожи имеются крупные дермальные сосочки, а покрывающий их эпидермис образует гребни и борозды.

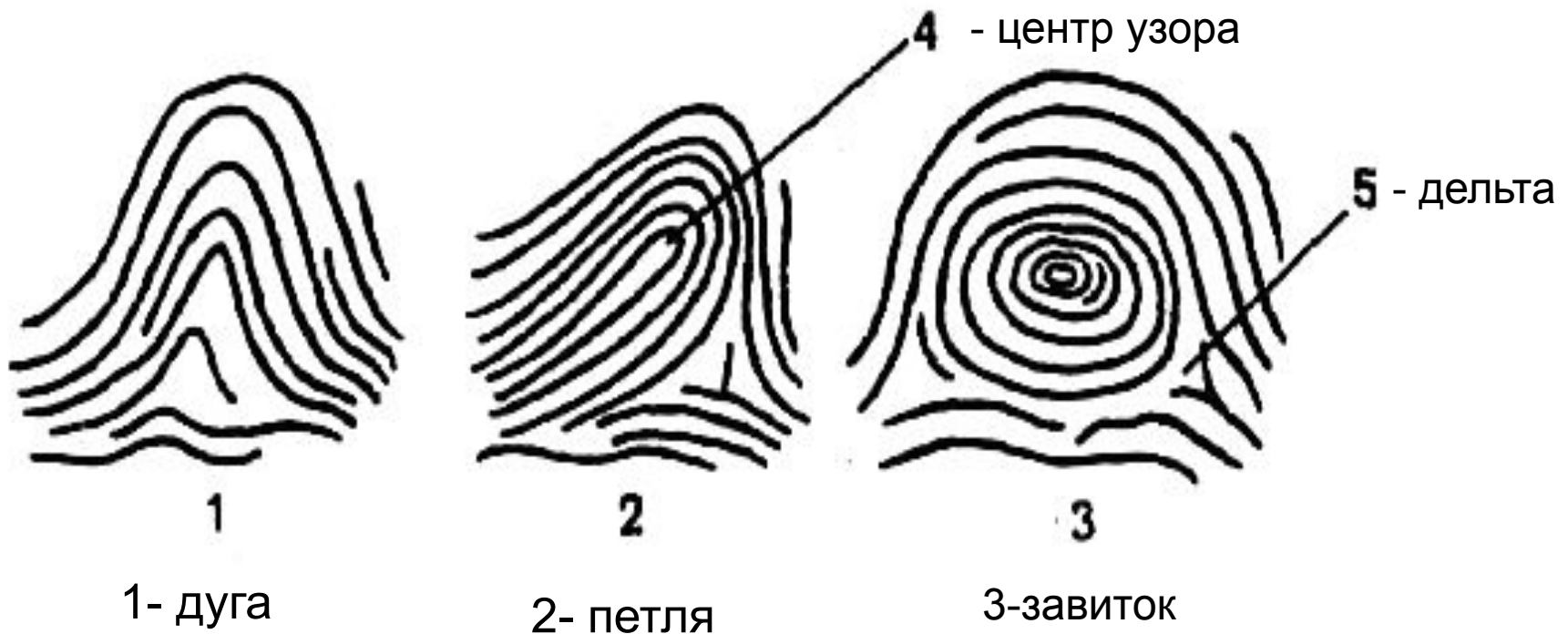
Дерматоглифические узоры обладают высокой степенью индивидуальности и остаются неизменными в течение всей жизни, поэтому их используют для определения зиготности близнецов, для идентификации личности в криминалистике (дактилоскопия) и другие.



# ДЕРМАТОГЛИФИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ

На пальцевых подушечках имеются узоры трёх типов:  
**дуги, петли, завитки.**

Для большинства узоров характерна **дельта** (трирадиус) – место схождения трех разнонаправленных папиллярных линий.,





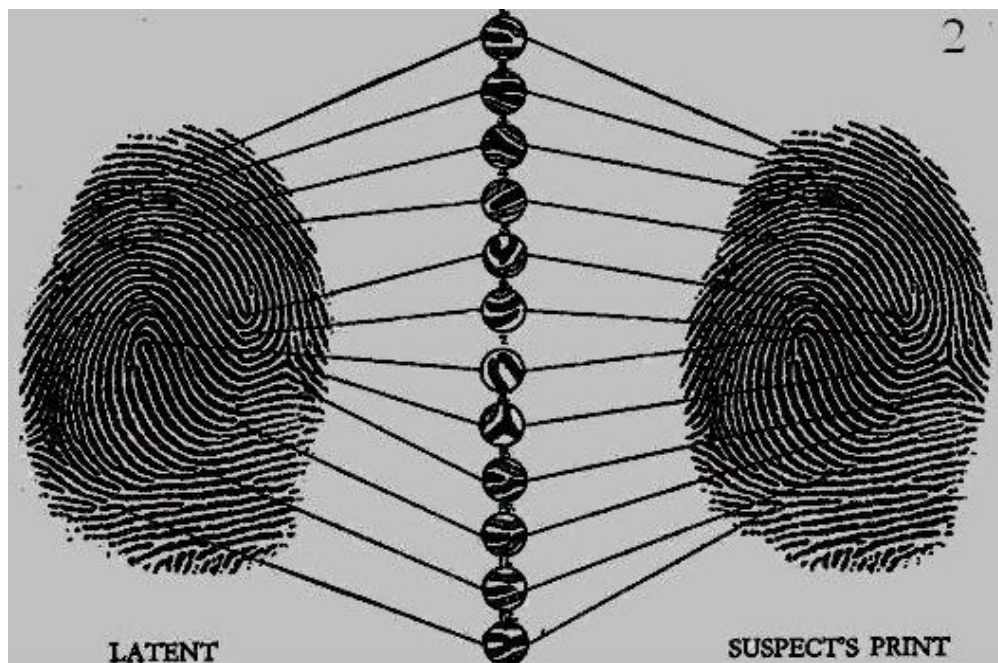
# ДЕРМАТОГЛИФИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ



Простая дуга



Петли



# ДЕРМАТОГЛИФИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ

На ладони различают три главные флексорные (сгибательные) борозды: борозда большого пальца, косая и поперечная.

Иногда косая борозда сливается с поперечной в одну четырёхпальцевую борозду (**ЧПБ**).

Частота её встречаемости в норме не превышает 5%.

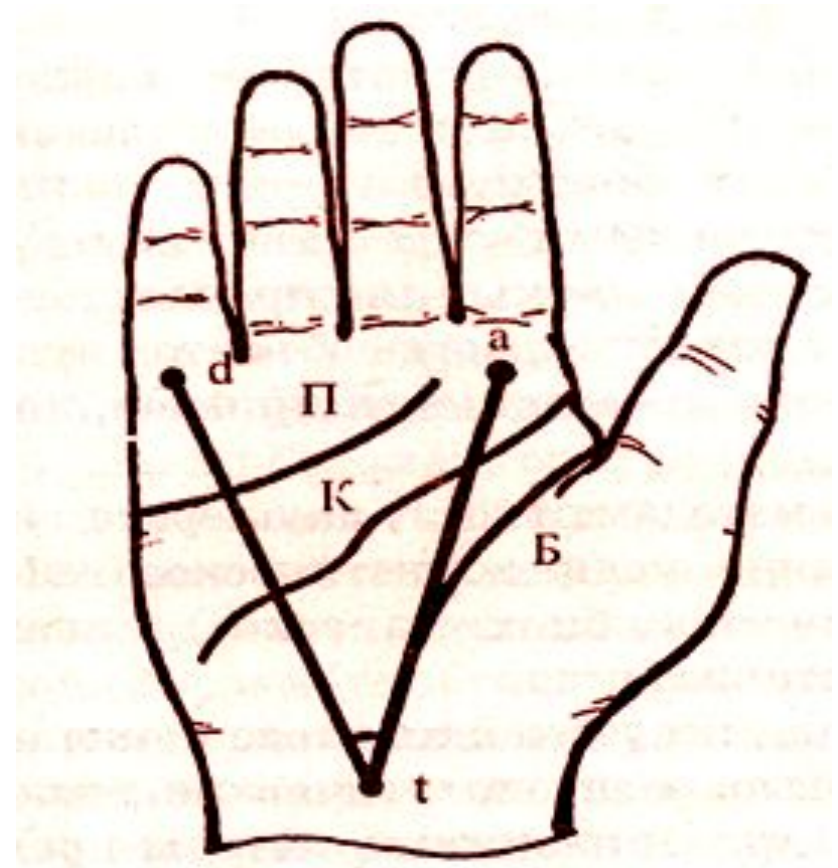
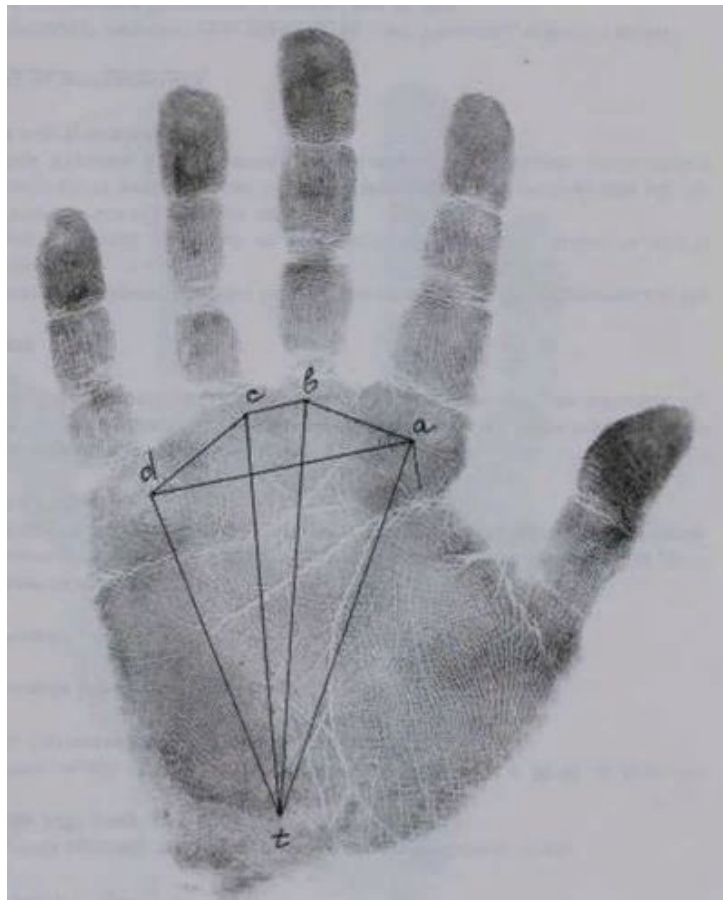


Схема флексорных борозд




# Методы пренатальной диагностики

В настоящее время применяют **непрямые и прямые методы пренатальной диагностики.**

- При **непрямых** методах исследуют беременную (акушерско-гинекологические методы).
- При **прямых** методах исследуют плод.
- К прямым неинвазивным методам (без хирургического вмешательства) относится **ультрасонография.**
- К прямым инвазивным (с нарушением целостности ткани) – **хорионбиопсия, амницентез и фетоскопия.**

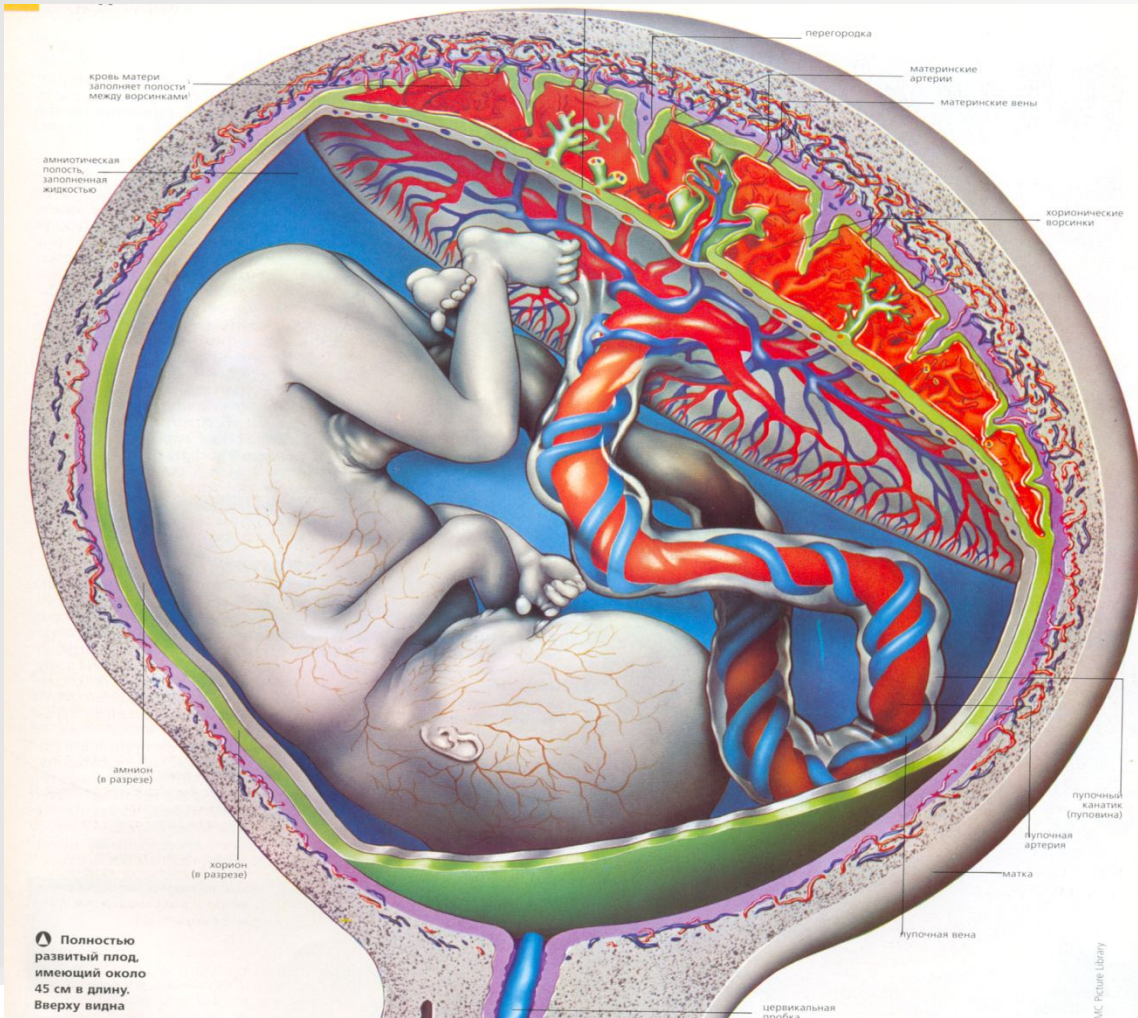
## Непрямые методы пренатальной диагностики

Исследование маркерных эмбриональных белков в сыворотке **крови матери:**

-  альфа-фетопротеин;
-  хориальный гонадотропин;
-  свободный эстрадиол.



# Методы пренатальной диагностики: прямые



1. Биопсия плаценты, хориона.
2. **Амниоцентез** – анализ кариотипа плода и биохимический анализ амниотической жидкости ( $\alpha$ -фетопротеин).
3. Кордоцентез - кровь из пуповины.

# Ультрасонография (эхография)

- **Это** использование ультразвука для получения изображения плода и его оболочек.
- На 12-20 неделе беременности уже возможна диагностика близнецовой беременности, локализации плаценты, анэнцефалии, дефектов костной системы, закрытие нервной трубки, атрезии желудочно-кишечного тракта.



# Хорионбиопсия

- **Это** - взятие эпителия ворсинок хориона для исследования – проводится трансцервикально (*через канал шейки матки*) под контролем ультразвукографии между 8 и 10 неделями беременности.
- Полученную ткань используют для цитогенетических и биохимических исследований и анализа ДНК.
- С помощью этого метода можно выявлять все виды мутаций (генные, хромосомные и геномные).

# Амниоцентез

- **Это** - получение амниотической жидкости и клеток плода для последующего анализа.
- Пункцию проводят в начале второго триместра беременности (15-17 недель) через брюшину в амбулаторных условиях под контролем ультразвукового обследования.
- Жидкость используют для биохимических исследований (*выявляют генные мутации*), а клетки – для анализа ДНК (*выявляют генные мутации*), цитогенетического анализа и выявления X и Y-хроматина (*диагностируют геномные и хромосомные мутации*).
- Осложнения при этом методе исследования не превышают 1%.

# Фетоскопия

- **Это** – осмотр плода фиброоптическим эндоскопом, введенным в амниотическую полость через брюшную стенку матки.
- Метод позволяет смотреть плод, пуповину, плаценту и произвести биопсию.
- Фетоскопия сопровождается высоким риском прерывания беременности и технически сложна и поэтому имеет ограниченное применение.