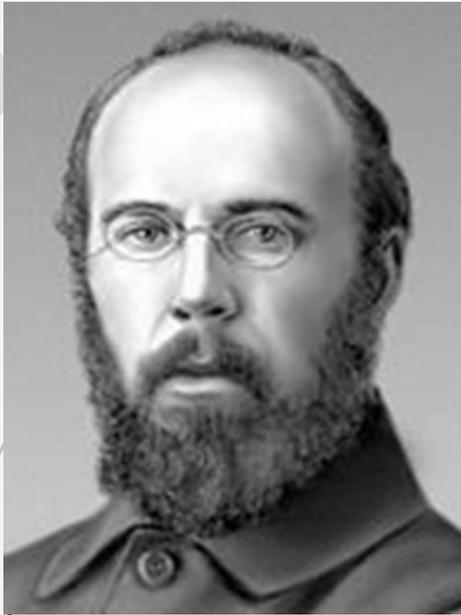


ФГБОУ ВО ОрГМУ Минздрава России  
Кафедра Биологии

# Методы изучения генетики человека

Профессор кафедры биологии, д.б.н.  
Соловых Галина Николаевна

## Генетический анализ



А.С. Серебровский  
(1892–1948)

Генетический анализ – комплекс методов исследования генотипа и фенотипа.

Особенностью генетического анализа является то, что изучение генов осуществляется через контролируемые ими признаки. В связи с этим предметом генетического анализа является фенотип организма и его отдельные признаки.

Основным методом генетики является генетический анализ, основателем которого является известный отечественный ученый А.С. Серебровский, автор книги «Генетический анализ» (издана только в 1970 г.), которая не потеряла актуальности и сегодня.

# Особенности человека

## Преимущества

- Разнообразие семей
- Способность воспринимать и передавать информацию
- Хорошая изученность человека
- Большое количество методов изучения генетики человека

## Объективные трудности

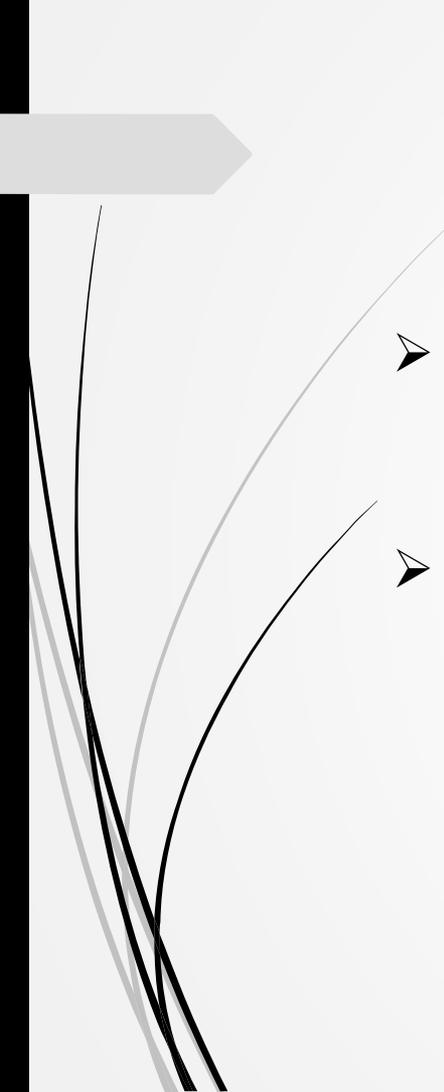
- Биологические
- Социально - этические

# Биологические трудности

- Немногочисленное потомство (моноплоидная беременность, ограниченный фертильный возраст)
- Медленная смена поколений (позднее половое созревание, продолжительная беременность)
- Сложность кариотипа (большое число хромосом, разные взаимодействия генов, разная пенетрантность генов)
- Высокая степень гетерозиготности, фенотипический полиморфизм

# Социально-этические трудности

- Невозможность экспериментальных браков
- Невозможность создания одинаковых условий (образ жизни, питание и т.д.)
- Немногочисленное потомство (планирование семьи)
- Медленная смена поколений (дети - после 30 лет)
- Отсутствие точной регистрации наследственных признаков

- 
- Однако сегодня в результате научных исследований и практики накоплены знания, позволившие решить ряд важнейших задач генетики человека
  - Основной задачей медицинской генетики является выявление и профилактика наследственных болезней.

# Генетика человека - антропогенетика

- *раздел фундаментальной генетики и медицины*, который:
  - *изучает закономерности наследования и изменчивости признаков* у людей (в том числе патологических)
  - *изучает факторы, влияющие на распределение аллельных (мутантных) генов* в человеческих популяциях
  - *изучает связи* между генами и определенными видами патологии человека (проблема генетических маркеров)
  - *изучает вклад* генетических и негенетических факторов в процессы индивидуального развития и жизнедеятельности человека, включая чисто человеческие аспекты (интеллект, социабельность, трудовая деятельность), в показатели здоровья населения, пути совершенствования генодиагностики, генотерапии и генопрофилактики.



**С.Н. Давиденков  
(1880-1961)**

**С.Н. Давиденков (1880-1961)** один из основоположников медицинской генетики выдающийся советский невролог, начинавший свою плодотворную работу в двадцатых годах на Украине.

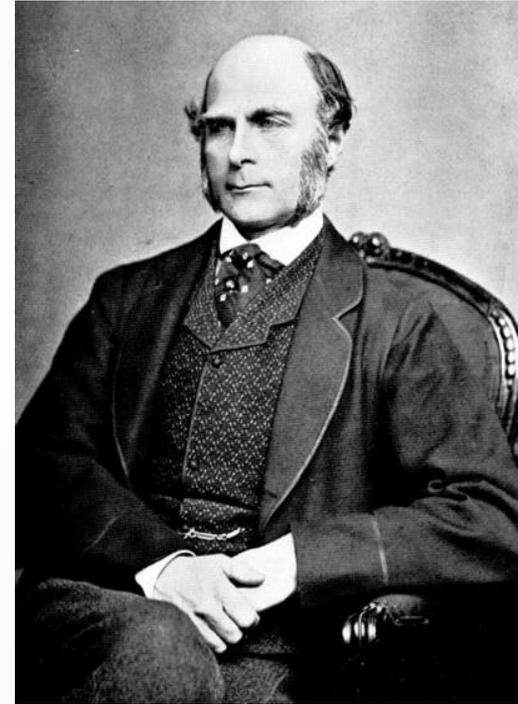
Он впервые применил идеи генетики в клинике, дал анализ ряда наследственных заболеваний, часть из которых была описана им впервые. Важной заслугой С.Н. Давиденкова является разработка методов медико-генетического консультирования и его первое практическое применение в нашей стране.

## **Основные методы изучения генетики человека**

- **Генеалогический**
- **Цитогенетический**
- **Биохимический**
- **Близнецовый**
- **Популяционно-статистический**
- **Дерматоглифический**
- **Генетики соматических клеток**
- **ДНК диагностики**

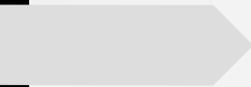
# Сэр Фрэнсис Гальтон (кузен Ч.Дарвина) (Francis Galton; 16 февраля 1822 — 17 января 1911)

- Занимался вопросами наследственности, биометрией, дерматоглификой, статистикой и тестированием;
- первым начал изучение близнецов;
- Создал евгенику.

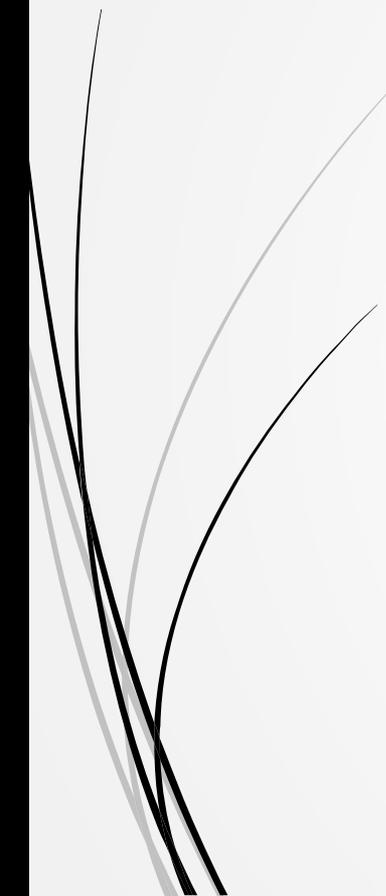


# Генеалогический метод позволяет установить

- является ли данный признак наследственным (по проявлению его у родственников);
- тип и характер наследования (доминантный или рецессивный, аутосомный или сцепленный с полом);
- зиготность лиц родословной (гомо- или гетерозиготы);
- пенетрантность гена (частота его проявления);
- вероятность рождения ребенка с наследственной патологией (генетический риск).



# ЭТАПЫ СОСТАВЛЕНИЯ РОДОСЛОВНЫХ

- 
- 1.Сбор сведений
  - 2.Графическое составление родословной
  - 3.Генеалогический анализ
  - 4.Заключение



**Пробандом** называется лицо, родословную которого необходимо составить.

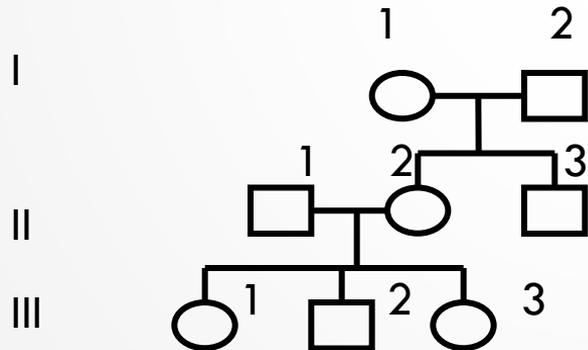
Им может быть больной или здоровый человек – носитель какого-либо признака или лицо, обратившееся за ответом к врачу-генетику на консультацию.

**Братья и сестры** пробанда называются **сибсами**.

Обычно родословная составляется по одному или нескольким признакам.

# Принципы метода

- родословную начинают строить с пробанда - лица, с которого начинается исследование семьи;
- каждое поколение нумеруется римскими цифрами слева;
- особи одного поколения располагаются на горизонтальной линии и нумеруются арабскими цифрами;



# Символы, используемые при составлении родословных

## Люди

Здоровый мужчина		Больной мужчина		Гетерозиготные люди по аутосомным аллелям		Самопроизвольное прерывание беременности	
Здоровая женщина		Больная женщина		Мужчина — носитель муковисцидоза		Женщина — носитель транслокации 14:21	
Здоровое лицо неизвестного пола		Больной неизвестного пола		Мертворождённые дети		Терминация беременности (плод мужского пола)	
Пробанд мужчины		Консультируемая женщина		Два здоровых сына		Три больные дочери	
Умершие люди		Женщина — носитель рецессивного заболевания, сцепленного с X-хромосомой		Большое количество человек (количество неизвестно)		Беременность (период)	

## Отношения

Брак или длительный союз		Внебрачные или случайные связи		Здоровые родители со здоровыми сыном и дочерью		Бездетный брак	
Развод		Дочь, рождённая в результате случайной связи		Бесплодный брак (причина)		Близнецы (неизвестно одно- или разнояйцевые)	
Близкородственные браки		Биологические родители неизвестны		Монозиготные (однойяйцевые) близнецы		Разнояйцевые (дизиготные) близнецы	
Приёмные дети		Отказ от родительских прав		Донорство яйцеклетки		Донорство суррогатной яйцеклеткой	
Донорство спермы		Суррогатная мать					

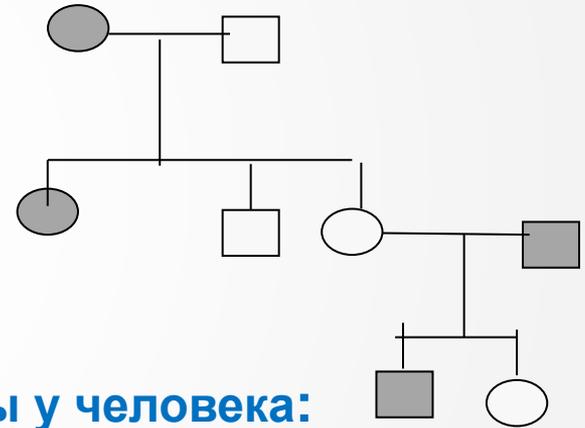
# Различают 6 основных типов наследования:

- \* Аутосомно-доминантный тип (AD) наследования
- \* Аутосомно-рецессивный тип (AR) наследования
- \* Голандрический тип (Y) наследования
- \* X-сцепленный доминантный (XD)
- \* X-сцепленный рецессивный (XR)
- \* Митохондриальное (цитоплазматическое) наследование

# Аутосомно-доминантный тип (AD) наследования

характеризуется следующими признаками:

- 1) болят в равной степени мужчины и женщины;
- 2) больные есть в каждом поколении – наследование «по вертикали».
- 3) вероятность наследования 100% (если хотя бы один родитель гомозиготен), 75% (если оба родителя гетерозиготны) и 50% (если один родитель гетерозиготен).



## Примеры у человека:

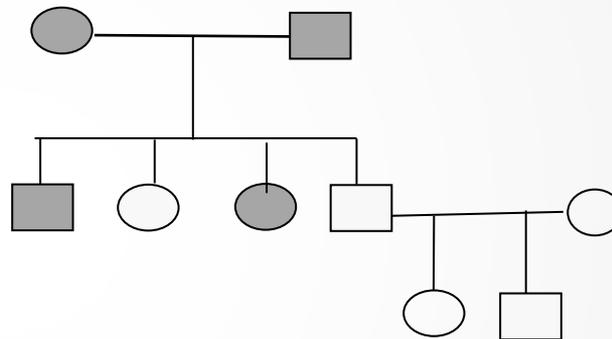
Синдром Марфана

Ахондроплазия

Гиперхолестеринемия

# Аутосомно-рецессивный (AR) тип наследования

1. Характерен пропуск поколений
2. Равно мужчины и женщины
3. «По горизонтали»
4. Вероятность у детей 25%, если у родителей признак не проявился



## Примеры у человека:

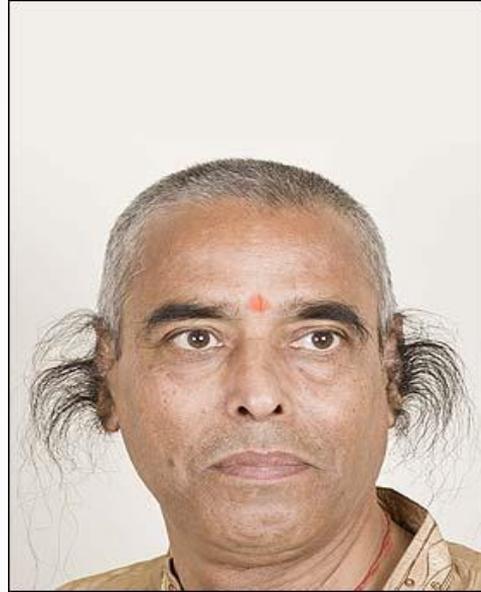
Фенилкетонурия

Муковисцидоз

Адрено-генитальный синдром

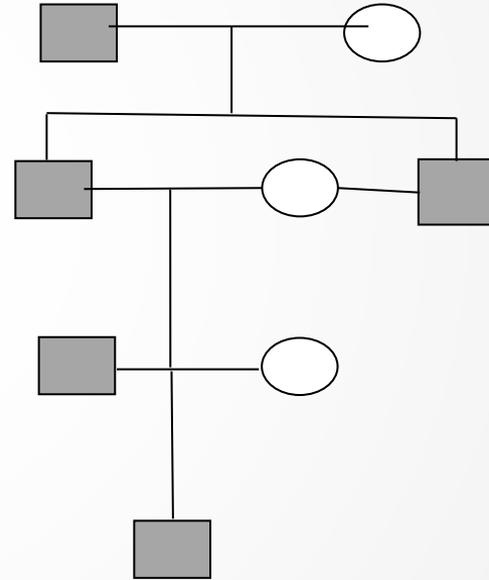
# Голандрический тип (Y) наследования

Передается по мужской линии без пропуска поколений



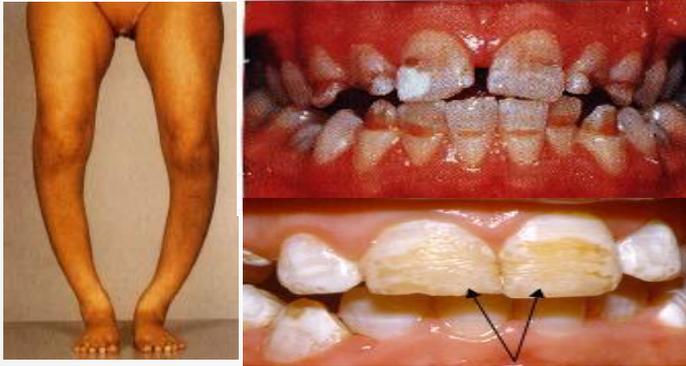
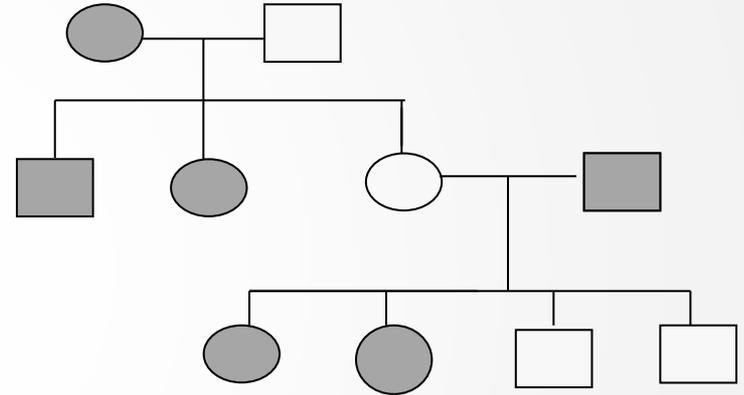
**Пример у человека:**

Гипертрихоз ушной раковины



# X-сцепленный доминантный (XD)

- Без пропуска поколений – по вертикали
- Женщины поражены в 2 раза чаще
- От отца передается всем дочерям; от матери 50% сыновей и дочерей.



## Примеры у человека:

Рахит, резистентный к витамину Д

Коричневая эмаль зубов

# X-сцепленный рецессивный (XR)

- Передается от деда через мать-носительницу к внуку
- У мужчин проявляется значительно чаще, чем у женщин

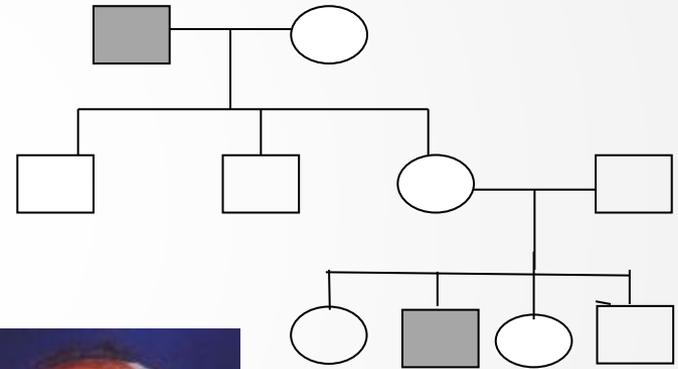
## Примеры у человека:

Гемофилия

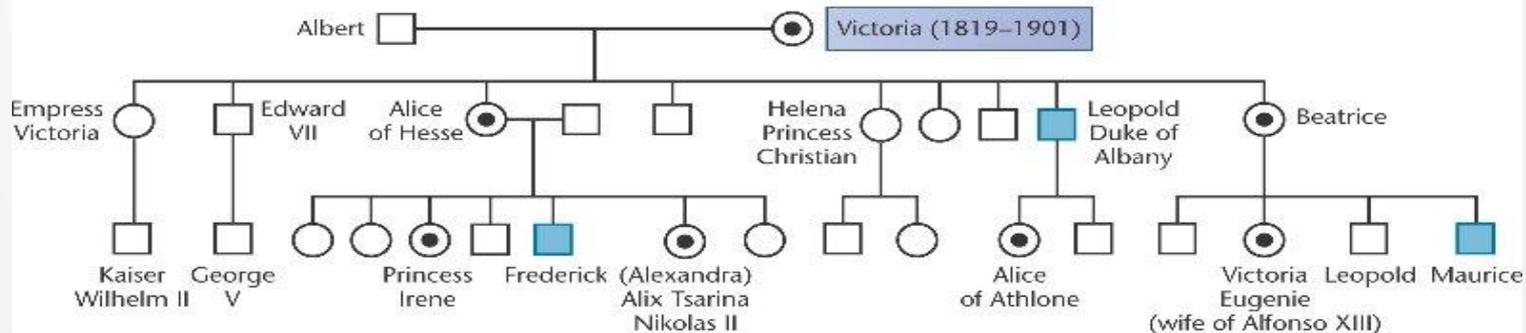
Дальтонизм

Мышечная дистрофия

Эктодермальная дисплазия



# Наследование сцепленное Х-хромосомой

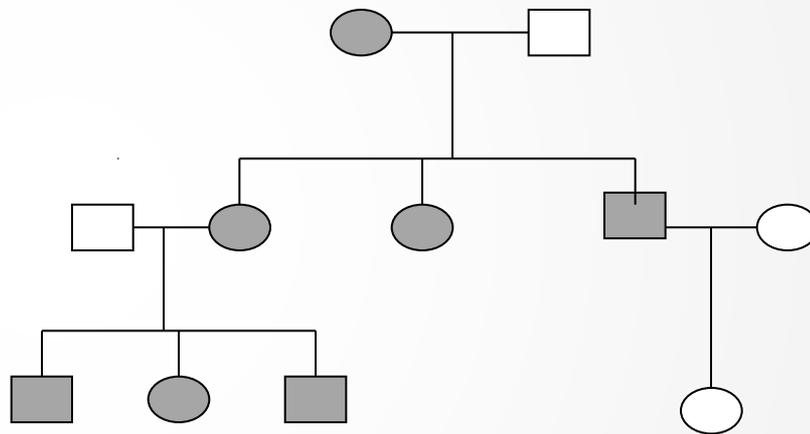


# Митохондриальное (цитоплазматическое) наследование

- Передается по материнской линии

**Пример:**

митохондриальная  
миопатия



У растений также гены **хлоропластов.**

## Близнецовый метод –



один из наиболее ранних методов изучения генетики человека был предложен в 1876 году **Ф. Гальтоном.**



**Среди близнецов выделяют две группы:**

двойни встречаются  $1/84$  новорожденных,  $1/3$  из них – монозиготные (однойцовые – близнецы), остальные – дизиготные (двуйцовые – двойняшки).

однойцовые (монозиготные)



и двуйцовые (дизиготные).



# Монозиготные близнецы (МЗ)

- Развиваются из одной яйцеклетки, оплодотворенной одним сперматозоидом
- Всегда одного пола
- Одинаковая группа крови



## Дизиготные близнецы (ДЗ)

- Развиваются из двух или более одновременно овулировавших и оплодотворенных разными сперматозоидами яйцеклеток.
- Они имеют различные генотипы и могут быть как одного, так и разного пола



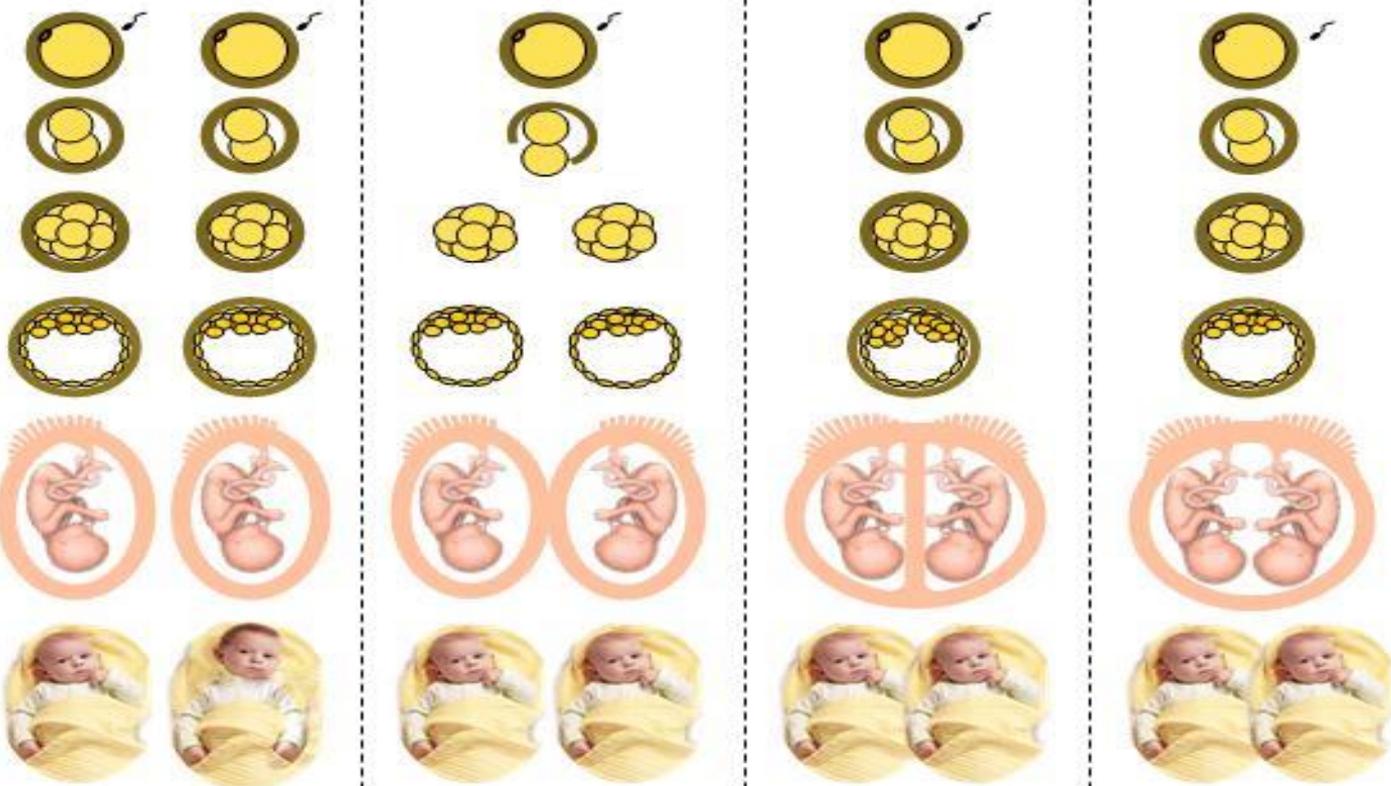
## Сиамские близнецы

это однайцевые 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.



# ФОРМИРОВАНИЕ БЛИЗНЕЦОВ



Дизиготных

Монозиготных

# Разновидности близнецового метода

- **Классический близнецовый метод** — оценивается уровень внутрипарного сходства близнецов.
- **Метод контрольного близнеца** — сравнивается влияние воздействия различных факторов среды на одного и того же человека.
- **Лонгитюдное близнецовое исследование** — направлен на изучение развития интеллекта.
- **Метод близнецовых семей** — изучается влияние материнского эффекта, а также наследственные причины ряда заболеваний.
- **Исследование одиночных близнецов** — сопоставляются особенности развития одиночнорожденных детей и близнеца, чей партнер умер при рождении (пленительное развитие).
- **Сопоставление близнецов с неблизнецами.**
- **Метод разлученных близнецов** — сравнивается внутрипарное сходство близнецов, разлученных в раннем возрасте и никогда не встречавшихся после.
- **Метод частично разлученных близнецов** — сравнивается внутрипарное сходство МЗ и ДЗ близнецов, живущих врозь какое-то время.

## Близнецовый метод используется в генетике человека для того, чтобы оценить:

- наследуемость признака;
- пенетрантность и экспрессивность гена;
- степень влияния наследственности и среды на развитие какого-нибудь нормального или патологического признака;
- эффективность использования лекарств;
- эффективность методов обучения и воспитания;
- коэффициент IQ.

***Благодаря близнецовому методу, была выяснена наследственная предрасположенность человека к ряду заболеваний: шизофрении, эпилепсии, сахарному диабету и другим.***

# Этапы близнецового метода:

- для наблюдения подбирают пары близнецов одного пола;
- определяют зиготность близнецов.
- **МЗ** – развиваются из одной зиготы, имеют 100% одинаковый генотип (одинаковую группу крови, пол, рисунки кожи и т. д.), 100% приживаемость трансплантата.
- **ДЗ** – развиваются из разных зигот и похожи как родные братья и сёстры.
- определяют % сходства в группах моно- и дизиготных близнецов(конкордантность).
- много патологических признаков человека являются мультифакториальными.

**Конкордантность** - процент сходства группы близнецов по изучаемому признаку

**Дискордантность** – процент различия по изучаемому признаку





**Конкордантность** — наличие определённого признака у обоих близнецов, или среди группы людей. Конкордантностью также называется вероятность того, что оба близнеца будут иметь определённый признак, при условии, что его имеет один из них.

# Таблица конкордантности

Заболевания	Показатели конкордантности у близнецов	
	Монозиготные близнецы	Дизиготные близнецы
Сахарный диабет	65	18
Эпилепсия	67	3
Расщелина неба	33	5
Ревматизм	47	17
Корь	98	94
Туберкулёз	67	23

# Дискордантность

Дискордантность - несходство близнецов в отношении анализируемого признака, т.е. при условии, что его имеет только один из них



# Таблица дискордантности

Признаки, контролируемые небольшим числом генов	Вероятность появления различий,%	
	Монозиготные близнецы	Дизиготные близнецы
Цвет глаз	0,5	72
Форма ушей	2,0	80
Цвет волос	3,0	77
Цвет кожи	0,0	55
Форма волос	0,0	21
Форма губ	0,0	35

**Близнецовый метод** изучает соотносительную роль генотипа и среды путем сравнения близнецов

$$H = \frac{K_{\text{МБ}} - K_{\text{ДБ}}}{100\% - K_{\text{ДБ}}}$$

**H** – показатель наследуемости признака

**K<sub>МБ</sub>** – показатель конкордантности в %% у монозиготных близнецов

**K<sub>ДБ</sub>** – показатель конкордантности в %% у дизиготных близнецов

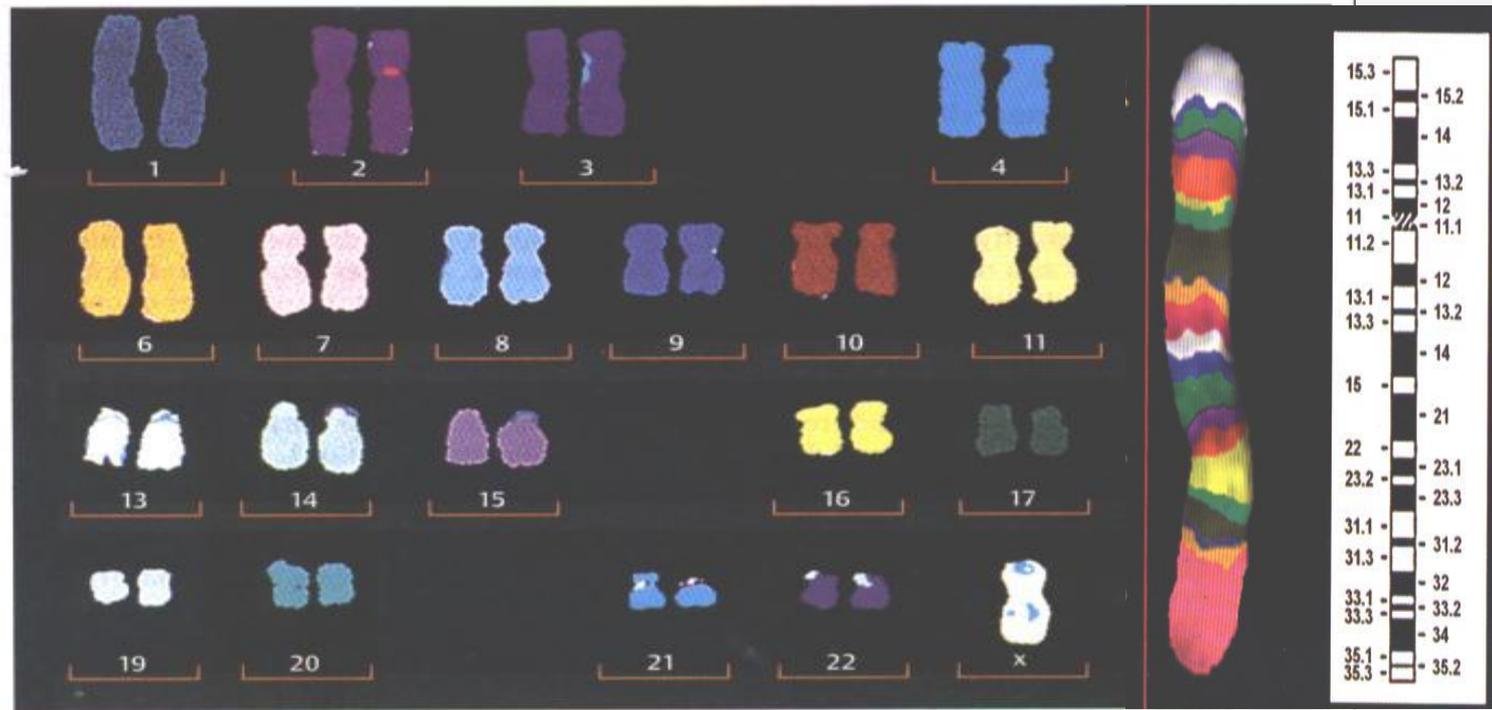
**E** – коэффициент среды,

$$E = 100 - H$$

## Определяется:

- **Наследуемость:** Н 1-0,7 признаки наследственные,
  - Н 0,4-0,6 мультифакториальные,
  - Н 0-0,3 зависят от среды.
- **Пенетрантность аллеля:**
  - Оценка эффективности действия препаратов, обучения.
- **Болезни с наследственной предрасположенностью:**
  - Для проявления необходимо кроме наследственных факторов, воздействие специфических факторов среды (Алкоголизм, шизофрения, артериальная гипертензия)
- **моногенные – болезни** с варьирующей экспрессивностью – галактоземия, мигрень.
- **полигенные - мультифакториальные болезни делят на:**
  - врожденные пороки развития (гидроцефалия); психические и нервные болезни (шизофрения, эпилепсия); соматические болезни среднего возраста (псориаз, бронхиальная астма).

# Цитогенетические методы изучают хромосомы



# Цитогенетика

- Это область генетики, изучающая цитологические основы наследственности и изменчивости, структуру и функции хромосом с использованием цитологических методов для выявления **геномных и хромосомных мутаций**

## Возможности метода:

- Изучение кариотипа (особенность строения и число хромосом)
- Определение генетического пола организма
- Оценка мутагенеза



Термин цитогенетика  
введен в 1903 г.  
В.Саттоном.



Copyright © 2006 Nature Publishing Group  
Nature Reviews | Genetics

Альберт Леван  
(1905-1998 гг.)

- **Цитогенетический метод исследования генетики человека**, его развитие и становление связаны с такими учеными, как Альберт Леван и Джо Хин Тио. Они в 1956 году первыми установили точное количество хромосом у людей. Их оказалось не 48, как думали ранее, а 46.
- Именно это и положило начало исследованию мейотических и митотических хромосом человека.



Джо Хин Тио  
(1919-2001 гг.)

# Цитогенетические методы



Д. Лежен  
1926-1994

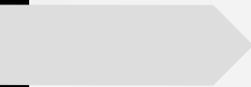
- В 1959 г. французские ученые Д. Лежен, Р.Тюрпен и М. Готье, используя цитогенетические методы, установили хромосомную природу болезни Дауна.
- В последующие годы были описаны многие другие хромосомные синдромы, часто встречающиеся у человека.



Р.Тюрпен  
1895-1988

# Цитогенетические методы





**КАРИОТИП** – характеристика вида, в которой учтены число, величина и морфологические особенности хромосом

**КАРИОТИП – ЭТО “ЛИЦО” ВИДА**



# Этапы цитогенетического метода:

- культивирование клеток человека на питательных средах;
- стимуляция митозов фитогемагглютинином (ФГА);
- добавление колхицина (разрушает нити веретена деления) для остановки митоза на стадии метафазы;
- обработка клеток гипотоническим раствором, вследствие чего хромосомы рассыпаются и лежат свободно;
- окрашивание хромосом, используют различные методы (Q-окраска, G-окраска, дифференциальная окраска сестринских хроматид);
- изучение под микроскопом и фотографирование.
- Специальные методы:
  - Гибридизация *in situ*: варианты FISH, ДНК-зонды,
  - Метод CGH (Comparative Genome Hybridization)
  - Молекулярная диагностика хромосомных болезней

# Методы приготовления хромосомных препаратов

## Прямой метод

(костный мозг, лимфатические узлы, любые ткани эмбриона на ранних стадиях развития и хорион/плацента до 20-й недели беременности)

## Непрямой метод

(любая ткань, обычно это лимфоциты крови)

# 1. Культивирование лимфоцитов

- Эта процедура необходима для стимулирования их деления. Это связано с тем, что возможности цитогенетического метода напрямую зависят от количества клеток, которые находятся на стадии метафазы, в тот момент когда хромосомы собраны наиболее компактно. Длительность культивирования, как правило, 72 часа. Увеличению числа метафазных клеток способствует введение в завершении процесса колхицина. Он приостанавливает на стадии метафазы деление, разрушает его веретено и повышает конденсацию хромосом. Затем клетки перемещаются в гипотонический раствор. Он провоцирует разрыв ядерной оболочки и свободное движение хромосом в цитоплазме



## 2. Окрашивание

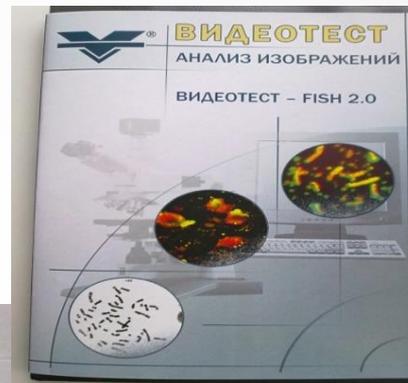
- На этой стадии процесса клетки фиксируются с помощью уксусной к-ты и этанола в пропорции 1:3. Далее суспензию помещают на предметные стекла и сушат. В соответствии с целями анализа применяются разные приемы дифференциального окрашивания. Длительность процедуры – несколько минут. Окрашивание приводит к возникновению рисунка с поперечной исчерченностью, специфичного для каждой из хромосом

### 3. Микроскопический анализ

- Самым трудоемким процессом считается световое микроскопирование. Для его выполнения необходима высокая квалификация специалиста. Чтобы выявить хромосомные аномалии, следует проанализировать не меньше 30-ти пластинок. Весьма результативными считаются компьютерные методы исследования.



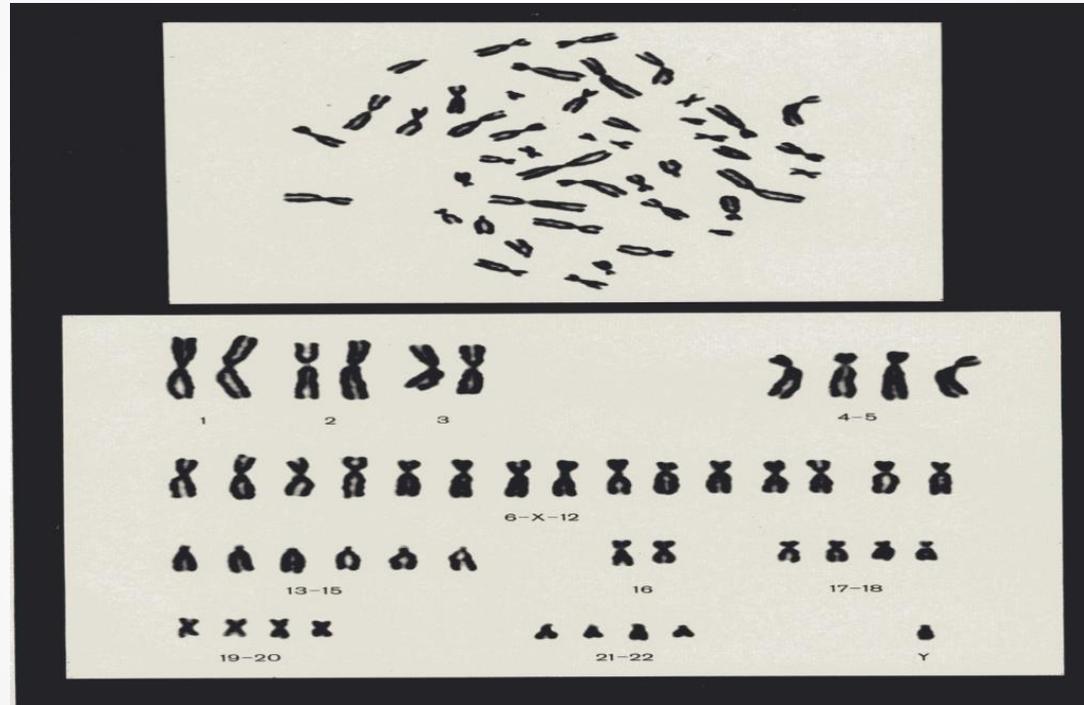
# Материально-техническое оснащение для кариотипирования



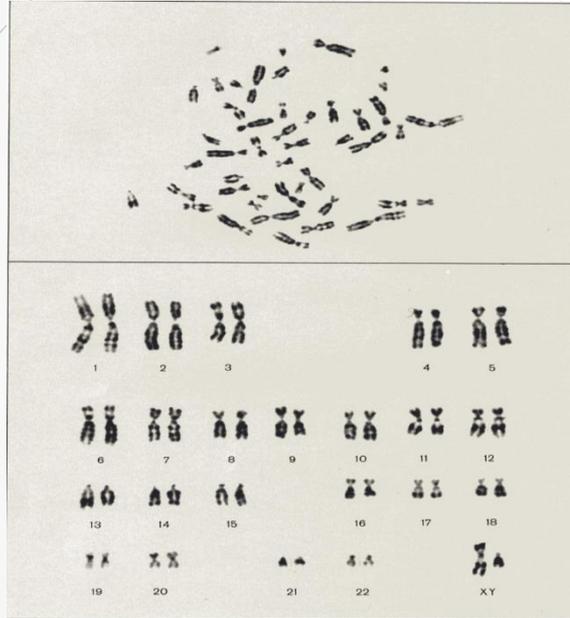
## Цитогенетический метод изучения кариотипа

- В 1960 г. в г. Денвере (США) была разработана первая Международная классификация хромосом человека. В ее основу легли размеры хромосом и положение первичной перетяжки — центромеры. Все хромосомы по форме разделены на **метацентрические, субметацентрические и акроцентрические** и подразделены на **7 групп**, обозначенных латинскими буквами **A, B, C, D, E, F и G**. Каждая пара хромосом была наделена порядковым номером от 1 до 22, выделены отдельно и поименованы латинскими буквами — **X и Y** половые хромосомы. При выполнении метода кариотипирования используют различные красители, что позволяет выявить различные дефекты хромосом.

# Нормальный кариотип человека (однородная окраска- рутинная)

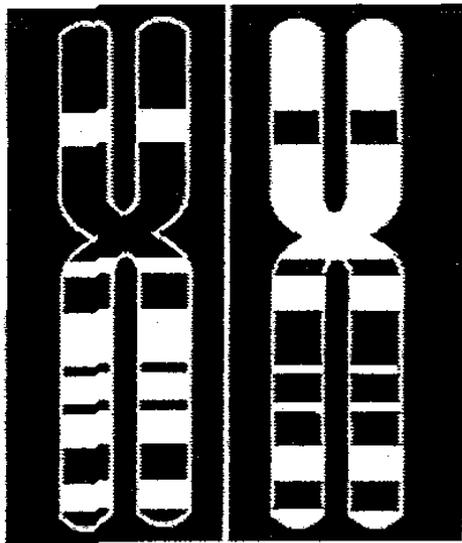


# Нормальный кариотип человека (G-окраска)





**G**



**Q**

**R**



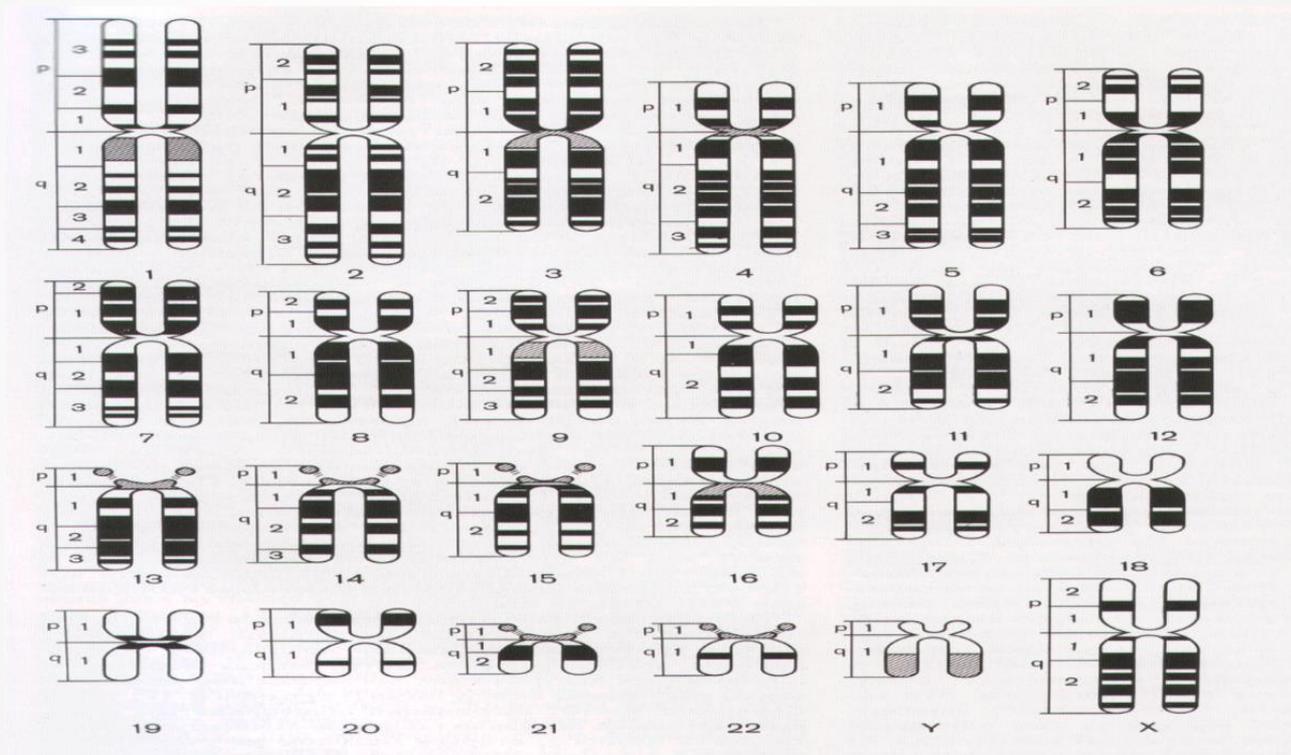
**T**



**C**

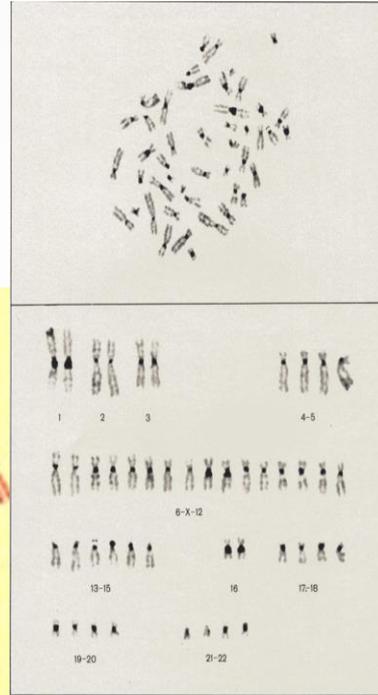
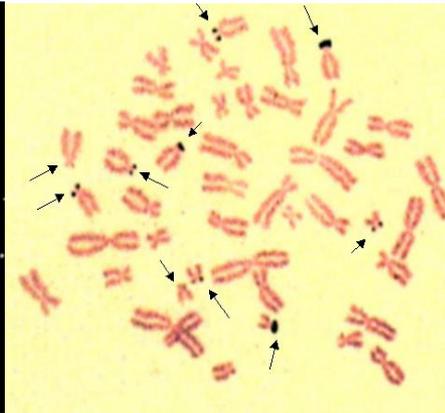
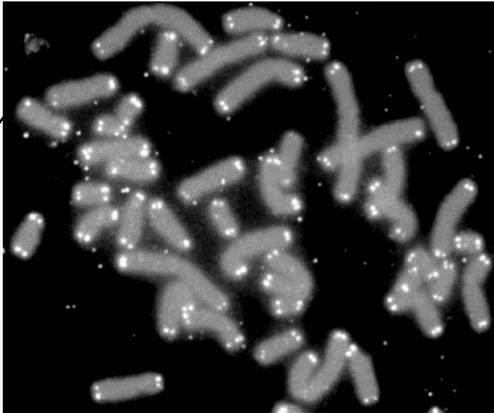
**Чередование бэндов в хромосоме X, полученное разными методами дифференциальной окраски.**

# Идиограмма- схематичное изображение дифференциальной исчерченности хромосом



# Селективное окрашивание

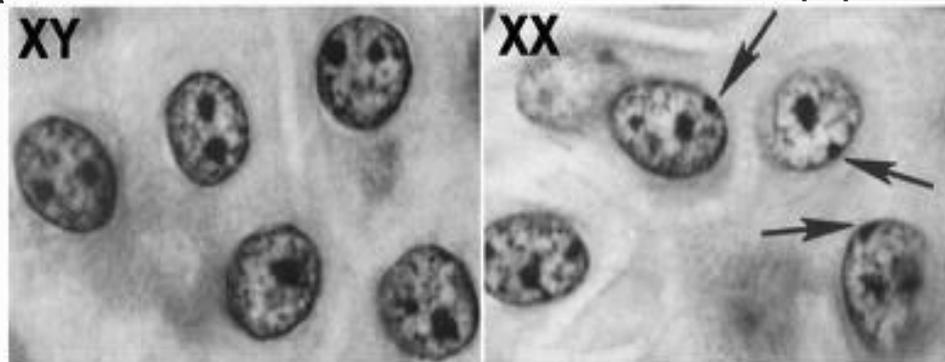
конститутивный гетерохроматин,  
активные ядрышко-образующие  
районы, центромерные и  
теломерные.



# Показания к проведению метода:

- подозрения на хромосомную болезнь;
- множественные врожденные пороки развития;
- несколько неблагоприятных исходов беременности (спонтанные аборты, мертворождения);
- стойкое первичное бесплодие у мужчин и у женщин при исключении гинекологической и урологической патологии;
- Лейкозы (дифференциальная диагностика, оценка эффективности лечения и прогноз)
- пренатальная диагностика посредством хорионбиопсии амниоцентеза и кордоцентеза;
- оценка мутагенных воздействий.

## Экспресс-диагностика определения полового X-хроматина (позволяет выявить в клетках интерфазного ядра)



Половой хроматин образуется за счет одной иноктивированной X-хромосомы (**тельце Барра**).

Равная вероятность конденсации любой из двух X-хромосом.

**X-хроматин (тельце Барра)** – это спирализованная, генетически неактивная X-хромосома.

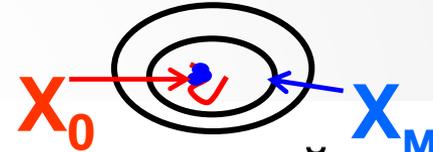
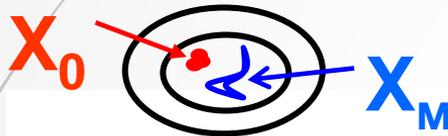
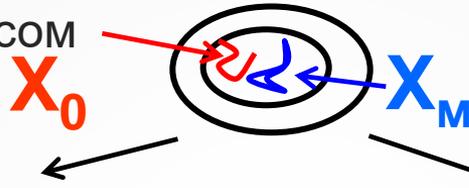
Количество телец Барра в ядрах соматических клеток здоровой женщины в кариотипе – **1**,

при синдроме Шерешевского –Тернера - **0**

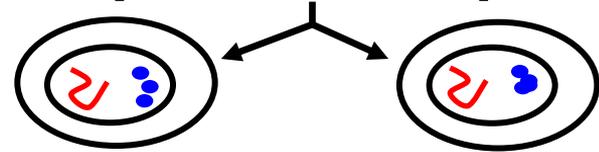
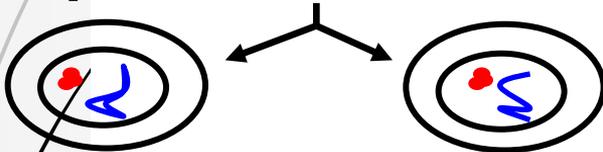
У мужчин в норме - **0**.при синдроме Кляйнфельтера - **1**

# Схема инактивации X-хромосомы

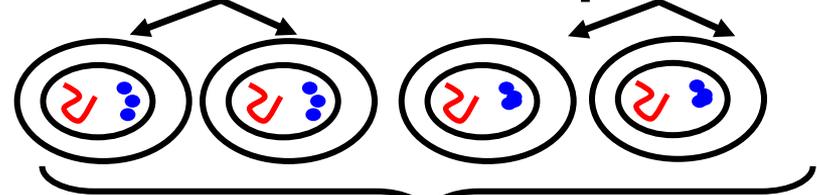
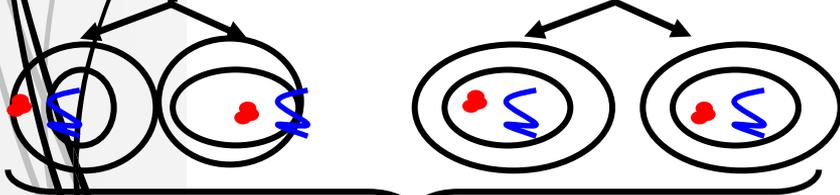
Равновероятная конденсация любой из двух клеток раннего эмбриона X-хромосом



Прямое наследование инактивированной хр-мы



Прямое наследование инактивированной хр-мы

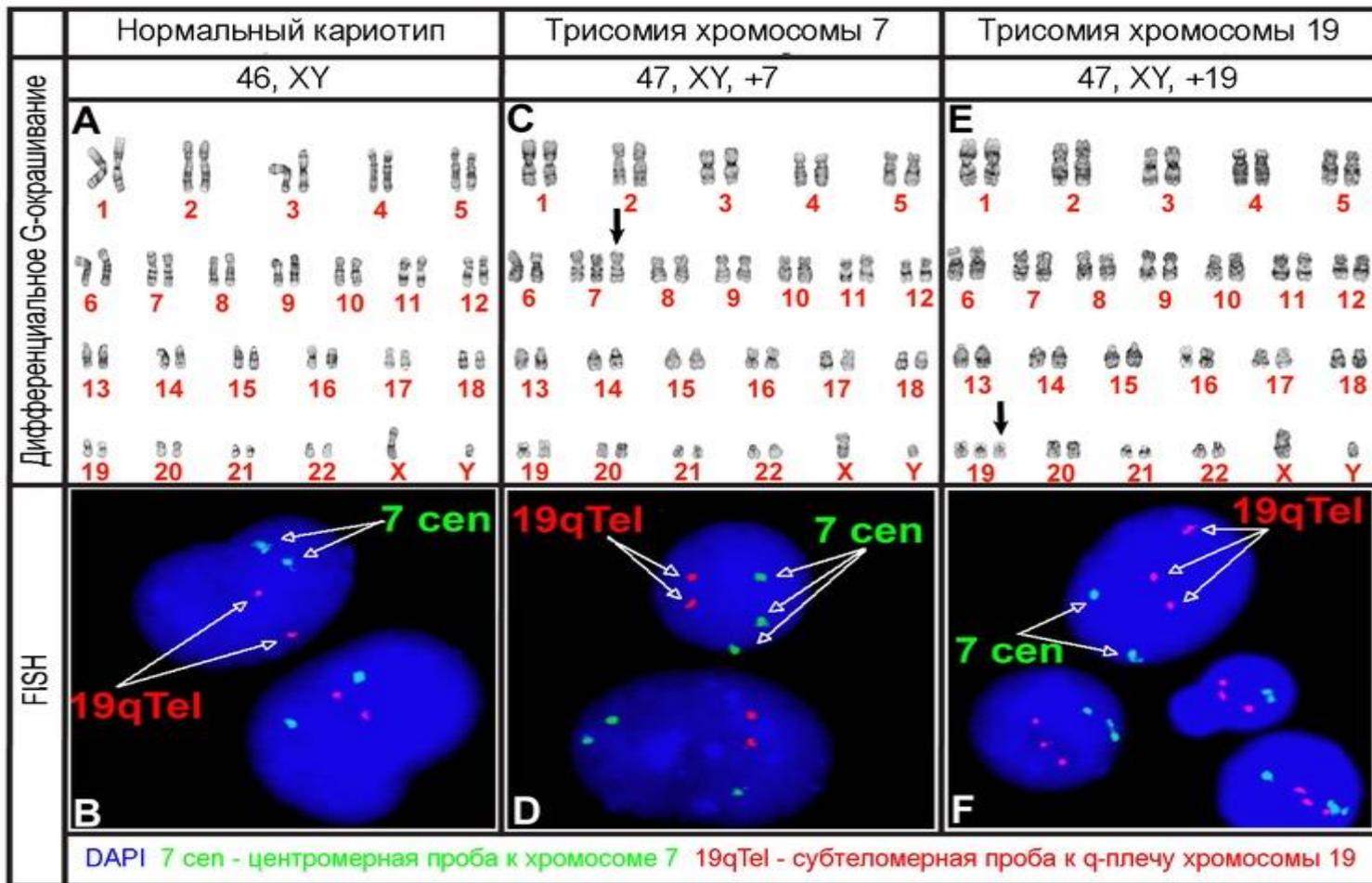


В этом клоне активны

В этом клоне активны

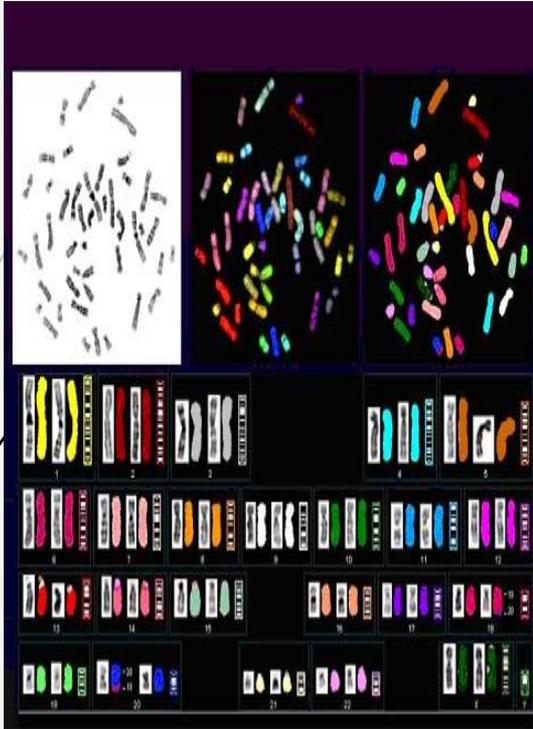
только  $X_M$

только  $X_0$



# Молекулярно-цитогенетические методы

## Метод флюоресцентной гибридации



### (Fluorescence in situ hybridization)

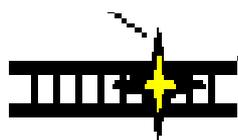
- Объектом исследования в данном случае являются особенности нуклеотидного состава конкретной хромосомы или ее отдельного участка.
- Метод основан на гибридизации известной по нуклеотидному составу ДНК-пробы с участком тестируемой хромосомы и с последующим выявлением результата гибридизации по метке – флуоресцентному сигналу в ожидаемом месте.
- **Когда следует использовать FISH?**
- При определении количества отдельных хромосом в клетке, когда кариотипирование невозможно из-за малого количества материала
- При определении несбалансированных структурных перестроек

# Картирование FISH-методом

Флуоресцентная метка

метка

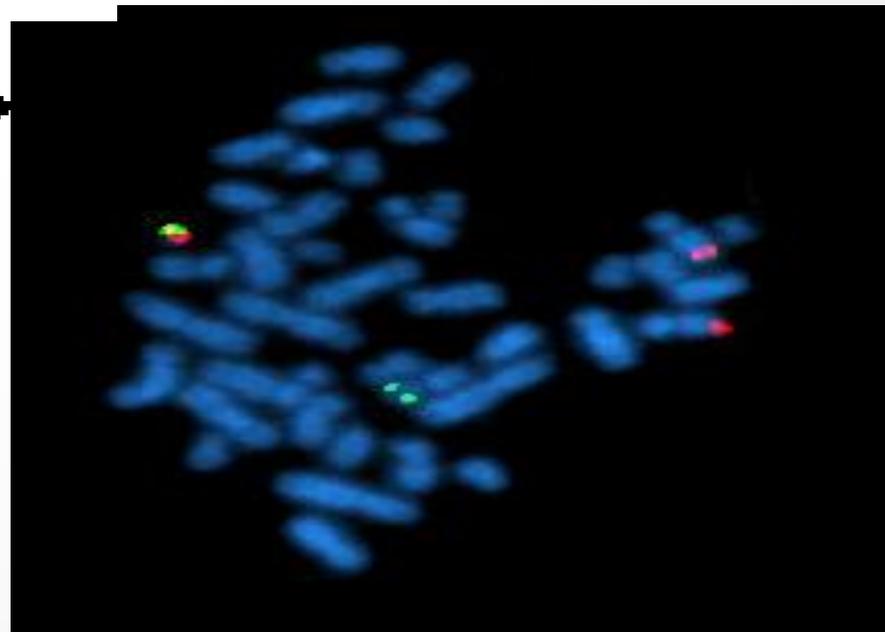
ДНК-зонд



Участок хромосомы,  
комплементарный  
зонду



Метафазные хромосомы с меткой



## Недостатки

### FISH-метода

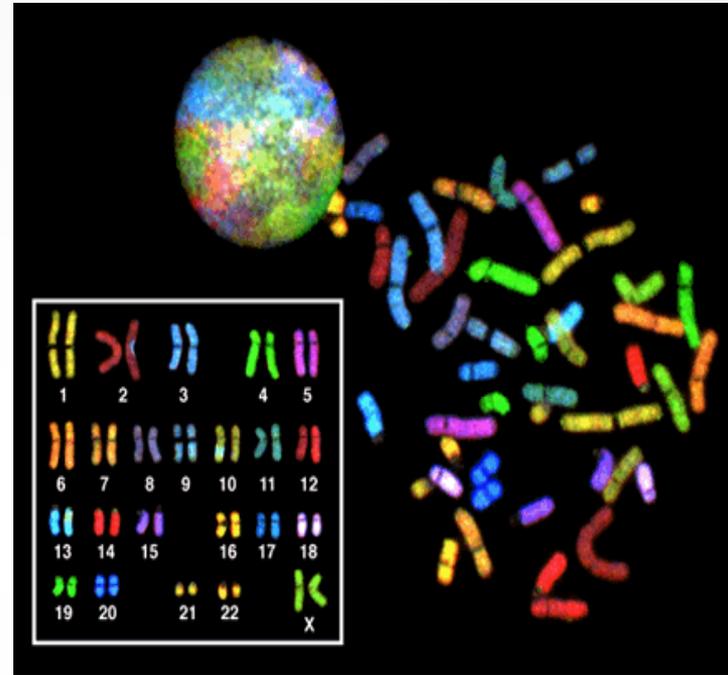
- Дорогостоящий
- Флуоресцентные красители быстро "выцветают"
- Для анализа результатов необходим высококачественный флуоресцентный микроскоп

## Преимущества

### FISH-метода

- Достоверный
- высокая разрешающая способность
- Возможность исследования генетического материала в интерфазных ядрах
- получение объективных результатов по принципу "да/нет" - это количественный метод
- относительно простая интерпретация результатов

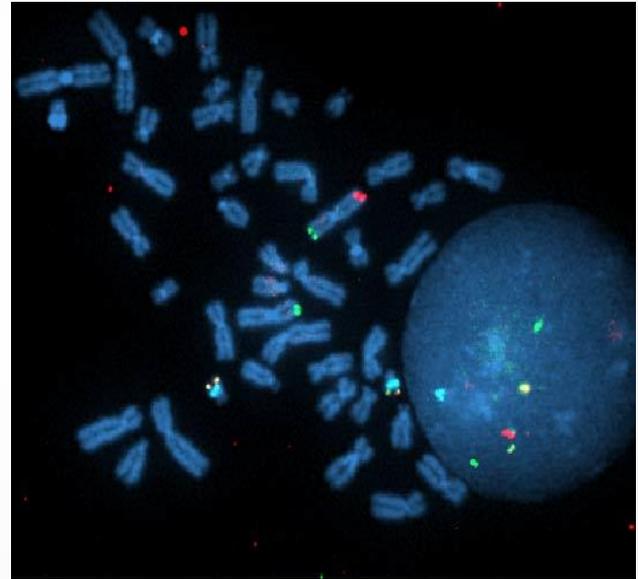
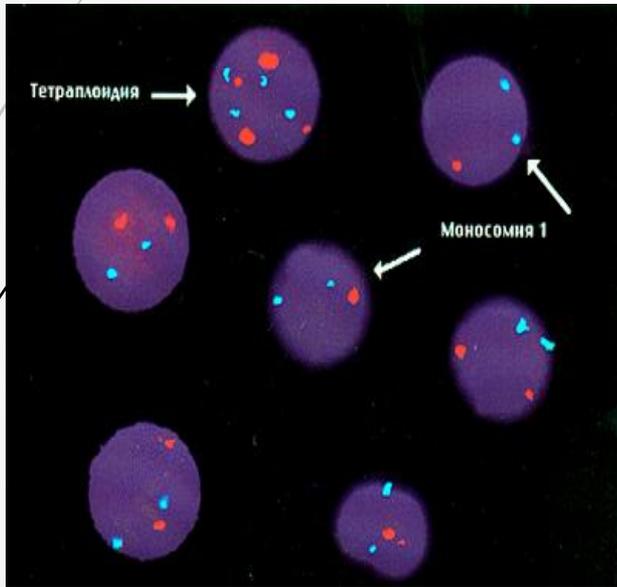
- Индивидуального окрашивания каждой хромосомы.
- (выявляют межхромосомные перестройки)
- Применение - онкоцитогенетика



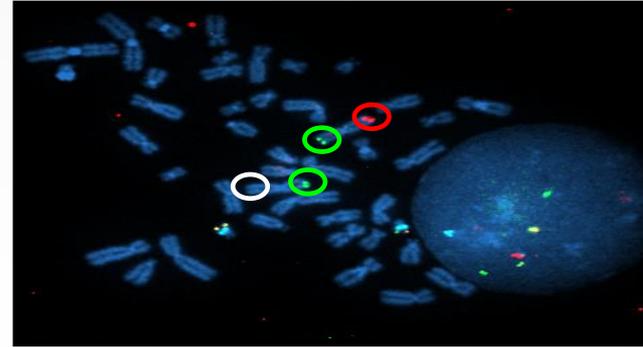
## Мультицветная FISH и спектральное кариотипирование

# Молекулярно-цитогенетические специальные методы:

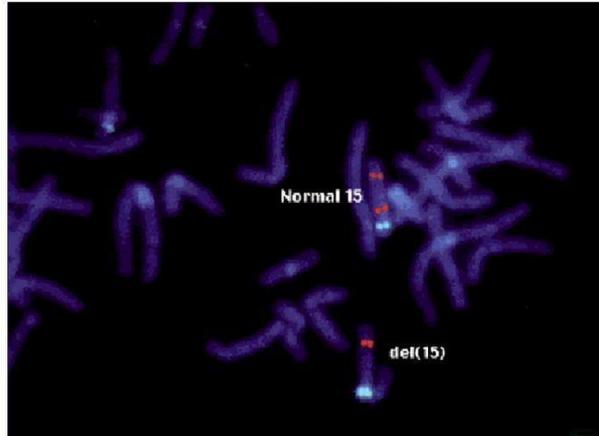
ДНК-зонды, Метод CGH (Comparative Genome Hybridization)  
Метод флуоресцентной гибридизации in situ (FISH)



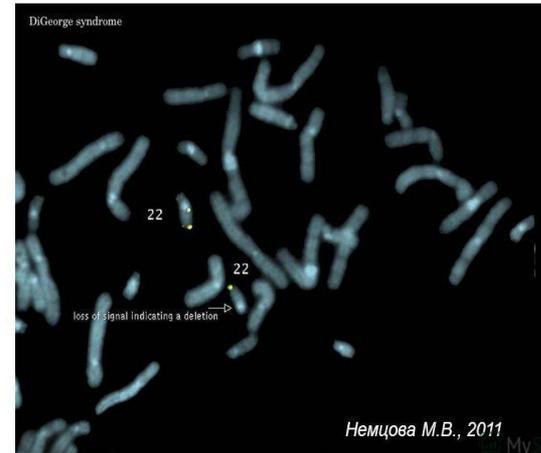
# Кольцевые делеции Делеция 3q



FISH: определение микроделеции  
при синдромах Прадера-Вилли и  
Ангельмана

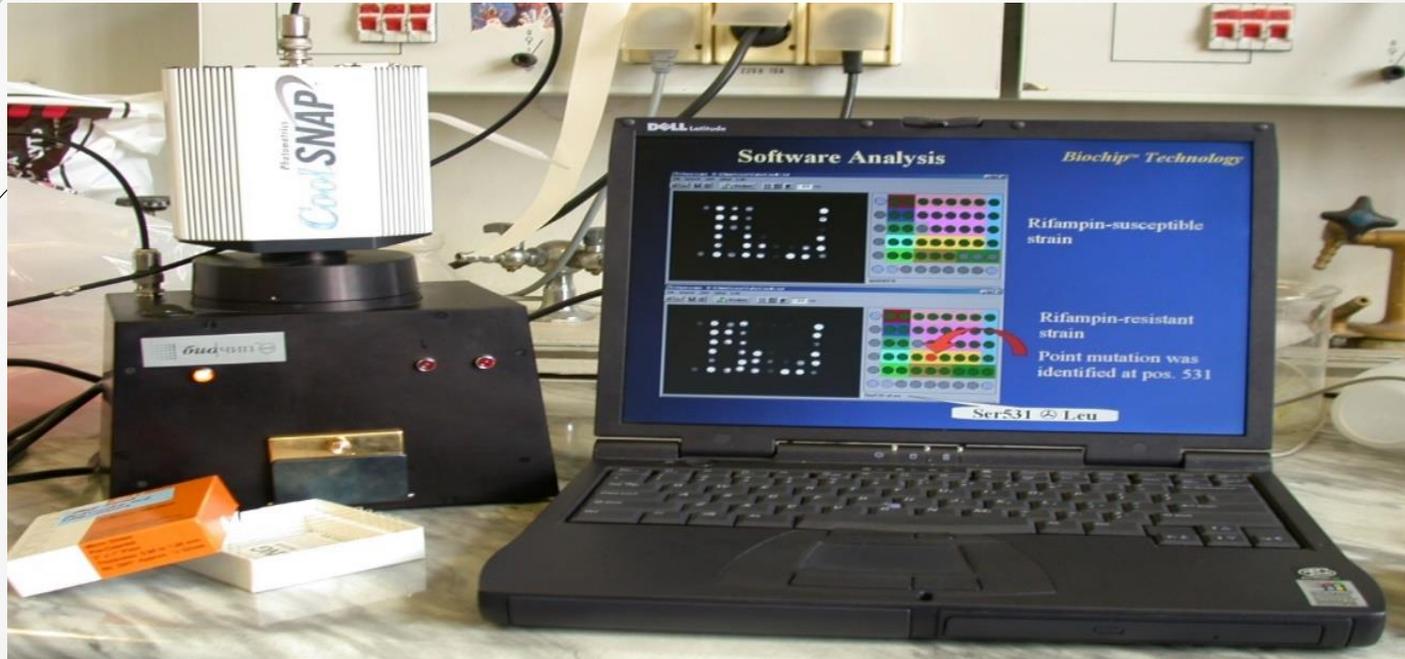


FISH: определение микроделеции  
при синдроме ДиДжорджи



# Технология микробиочипов

Институт молекулярной биологии  
им.В.А.Энгельгардта РАН, Москва



# Сравнительная геномная гибридизация (aCGH)

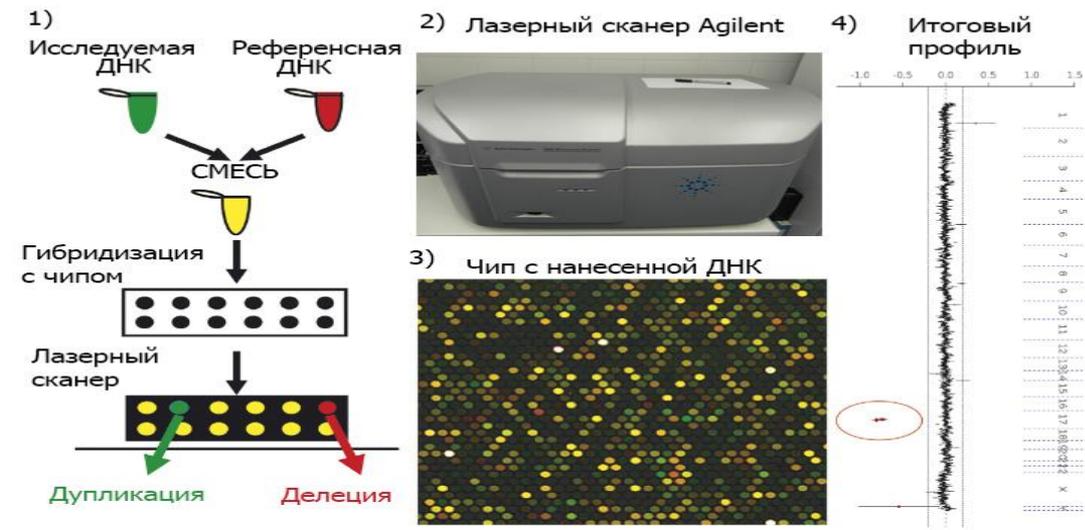
## Принцип метода

- Метод aCGH основан **на сравнении двух образцов генетического материала**: исследуемого и контрольного (контрольный образец (мужчины и женщины) заведомо известен и здоров).
- Эти образцы метятся зондами, они наносятся на микрочип с последовательностями олигонуклеотидов и охватывают длину всех хромосом. Покрытие составляет 60 тысяч точек на 1 хромосому.
- Соответствие интенсивности сигналов дает информацию о численности участка. Зеленый цвет «говорит» о потере участка, красный – об увеличении численности участков.

Сканируются результаты компьютерной программой, и выдается результат в виде своеобразной диаграммы. Сам график выглядит в виде прямой линии, размеченной по парам хромосом, напротив пары хромосомы с дефектами – появляются разрыв прямой и пометка о нехватке или удвоении хромосомы в виде черты соответствующего цвета: вверху удвоенная зеленая, внизу недостающая красная.

## Array Comparative Genomic Hybridization (a-CGH)

Сравнительная геномная гибридизация на носителе (матрице)



# Клиническое применение aCGH

- Предимплантационная диагностика
- Преднатальная диагностика
- Диагностика при невынашивании беременности

## Постнатальная диагностика при:

- ВПР
- недифференцированной умственной отсталости
- моногенной патологии (мышечная дистрофия дистрофия Дюшена)
- онкологической патологии
- верификации результатов цитогенетических исследований

***CGH – единственный на сегодня метод, позволяющий произвести точную количественную оценку микроделеционных и микродупликационных изменений одномоментно во всем геноме.***

# Бланк заключения

Федеральное государственное бюджетное учреждение  
"Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова"  
Министерства здравоохранения Российской Федерации

Лаборатория молекулярно-генетических методов.

## Преимплантационный генетический скрининг методом сравнительной геномной гибридизации.

Пациент: Иванова Елена Владимировна, 23.08.1976 г.р.

Врач: Петров А.А.

Эмбриолог: Сидорова М.А.

Маркировка предоставленного материала: a1, a4, a6, a7, a8, a9, a10, a11

Дата предоставления материала: 15 августа 2013 г.

ID слайда: 252192417777

Полученные результаты:

N	Чип	Эмбрион	Результат	Примечание
1	252192417777_1_1	a1	N,XY	
2	252192417777_1_2	a4	+21,XX	
3	252192417777_1_3	a6	Гетероплоидный	
4	252192417777_1_4	a7	+3,+5,-21,XX	
5	252192417777_2_1	a8	НД	
6	252192417777_2_2	a9	N,XX	del1, amp3
7	252192417777_2_3	a10	-19,XY	
8	252192417777_2_4	a11	N,XY	

**Заключение:** Для переноса рекомендованы эмбрионы номер 1 и 11.

Врач:

Екимов А.Н.  
17 августа 2013 года.

Полученные результаты:

N	Чип	Эмбрион	Результат	Примечание
1	252192417777_1_1	a1	N,XY	
2	252192417777_1_2	a4	+21,XX	
3	252192417777_1_3	a6	Гетероплоидный	
4	252192417777_1_4	a7	+3,+5,-21,XX	
5	252192417777_2_1	a8	НД	
6	252192417777_2_2	a9	N,XX	del1, amp3
7	252192417777_2_3	a10	-19,XY	
8	252192417777_2_4	a11	N,XY	

Заключение: Для переноса рекомендованы эмбрионы номер 1 и 11.

## Преимущества сравнительной геномной гибридизации:

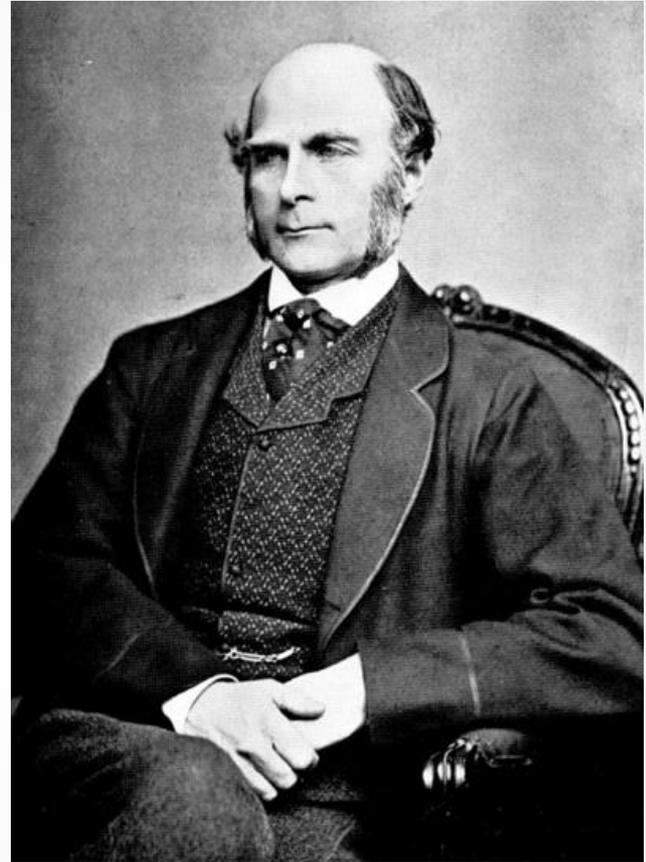
- **Сведен к минимуму человеческий фактор**, весь анализ aCGH (сканирование, обработка результатов) проводится компьютерной программой. Врач-генетик только интерпретирует результаты.
- Успех программы **ЭКО** с CGH на микрочипах достигает 70%. Анализ позволяет выбрать один лучший эмбрион перед подсадкой и получить одноплодную беременность, минуя многоплодие при ЭКО.
- **Возможность поэтапного проведения** – можно обследовать эмбрионы в несколько этапов. Сначала оплачивается биопсия всех полученных эмбрионов, но на анализ можно отправить партию состоящую, например, из 3-4 эмбрионов. Покрывается стоимость анализа для выбранных эмбрионов. Биопсийный материал для остальных подвергается заморозке и хранению. Если в результате обследования получены единицы без генетических аномалий – делают подсадку. Если из партии все эмбрионы с патологией, нужно сделать анализ CGH для следующей партии.

## Как и любой метод, CGH имеет свои недостатки

- **Стоимость.** Это дорогостоящий метод, как правило, в прайсах репродуктивных клиник указывают цену исследования 1 эмбриона, но возможна поэтапная оплата и постановка анализа.
- **Занимает продолжительное время** по сравнению с методом FISH.
- **Имеет ограничения** по выявлению сбалансированных транслокаций.

**Дерматоглифический  
метод тоже предложен  
Гальтоном**

Метод помогает в  
диагностике  
наследственных синдромов



# Дерматоглифический метод



(derma – кожа, gliphe – рисовать) изучает рельеф кожи на пальцах, ладонях и подошвенных поверхностях и основные сгибательные линии ладоней и подошв

- В отличие от других частей тела здесь имеются эпидермальные выступы – гребни, которые образуют сложные узоры. Еще в древнем Китае и Индии обратили внимание на то, что рисунки кожных узоров на пальцах и ладонях строго индивидуальны, и пользовались отпечатками пальцев вместо подписи.
- ***На Земле нет двух людей с одинаковыми рисунками на пальцах, кроме МБ у которых % конкордантности составляет 98%.***

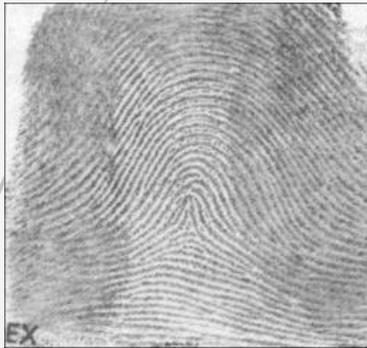


Дерматоглифика как метод генетического анализа был предложен в **1961 году Камингс и Мидло**, а в 1967 году после внесения дополнений и изменений был унифицирован на Лондонском международном симпозиуме по дерматоглифике.

**В 1982 году Ф. Гальтон** предложил классификацию узорных типов, позволившую использовать этот метод для идентификации личности в криминалистике, судебной медицине, при определении зиготности близнецов, в антропологии.

# Три основных вида пальцевых узоров

дуга



петля



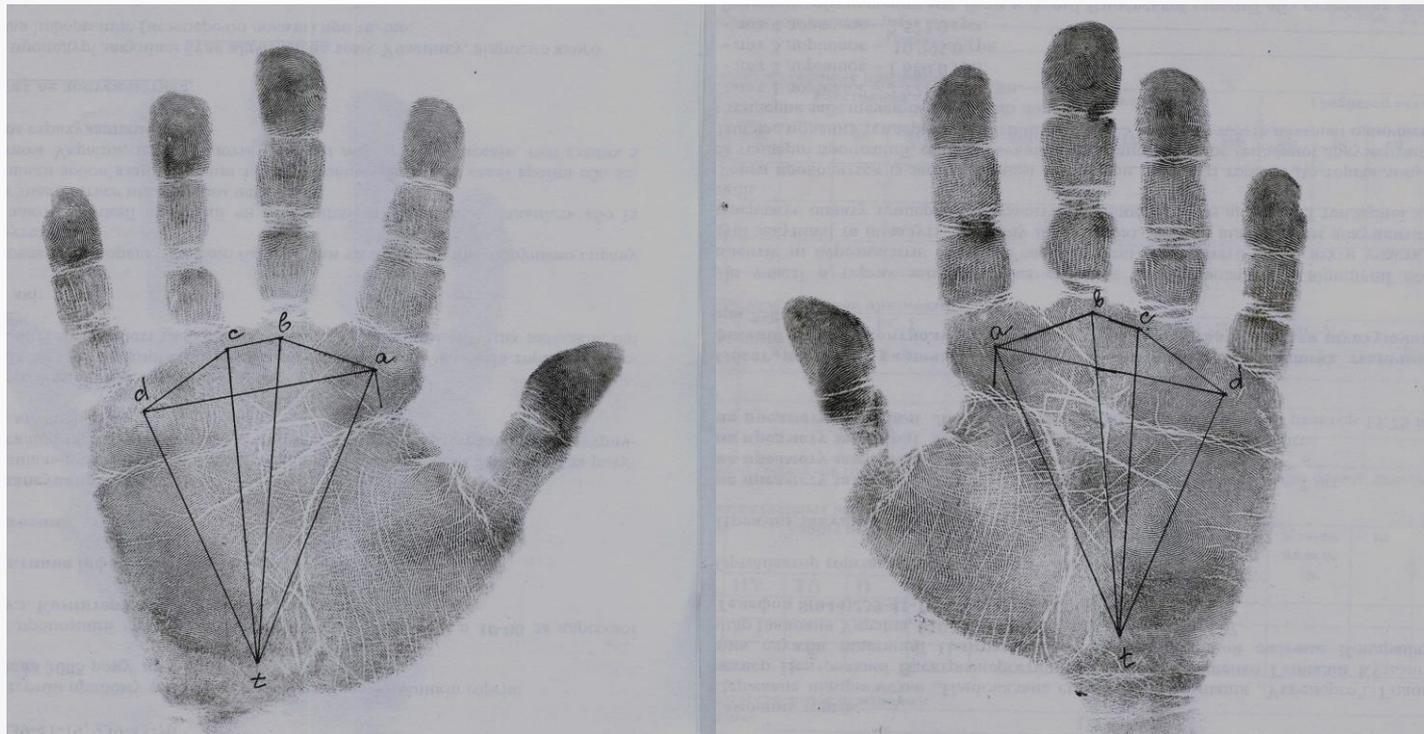
завиток



**Американский генетик Райф (Rife DC) констатировал, что нет другого количественного переменного признака у человека с такой высокой наследуемостью и отсутствием изменений при воздействии постнатальных факторов... менее подчиненного колебанию в частотах, вследствие генетического дрейфа... т.е. обладающего уникальными свойствами**



# Дерматоглифические оттиски рук



## Ключевые свойства дерматоглифики:

- обеспечение простого измерения качественных и количественных биологических признаков, отражающих размер и форму волярных подушечек плода;
- сформировавшиеся признаки дерматоглифики не изменяются при дальнейшем росте и развитии плода, ребенка и взрослого человека;
- дерматоглифика включает в себя наиболее наследуемые характеристики и одновременно отражает эффекты пола, расы, генных мутаций, хромосомных дефектов и тератогенных воздействий;

## Ключевые свойства дерматоглифики:

- волярные складки тесно взаимосвязаны в развитии с подлежащими суставами.
- дерматоглифика может отражать нарушения пренатального развития при отсутствии других клинических симптомов этого нарушения;
- дерматоглифика обеспечивает измерение соматической симметрии или гемидистрофии ранних стадий развития эмбриона и плода;
- волярные складки тесно взаимосвязаны в развитии с подлежащими суставами.

# Ключевые свойства дерматоглифики:

- При некоторых наследственных болезнях и нарушениях в хромосомной системе человека изменяется наследование в структуре кожного рельефа пальцев, ладоней и стоп, отражаясь на фенотипе дерматоглифического комплекса человека.
- В ряде случаев обнаруженные изменения можно использовать в качестве дополнительных диагностических или прогностических критериев, а также при медико-генетическом консультировании.

# Формирование гребешковой кожи

- Процесс происходит в **3-5, 3-6 месяцев** внутриутробного развития человека.
- Становление папиллярного рельефа кожи в филогенезе и формирование его в онтогенезе человека осуществляется в общем русле развития гребешковой кожи как целостного тактильного органа.

- 
- **Подготовительный этап** характеризуется становлением компетенции к гребнеобразованию, подготовкой фона, накоплением соответствующих индукторов и репрессоров, которые необходимы для «запуска» генов, детерминирующих гребнеобразование и формирование папиллярных рисунков.

**Этот этап длится с конца 8-й до начала 10-й недели эмбриогенеза.**

- 
- **Этап гребнеобразования и формирования типов папиллярных узоров – на 10-11-й неделе эмбрионального развития «срабатывают» гены гребешковой кожи, которые «запускают» серию последовательных морфогенетических процессов формирования специфических деталей гребешковой кожи, в том числе и поверхностного рельефа.**

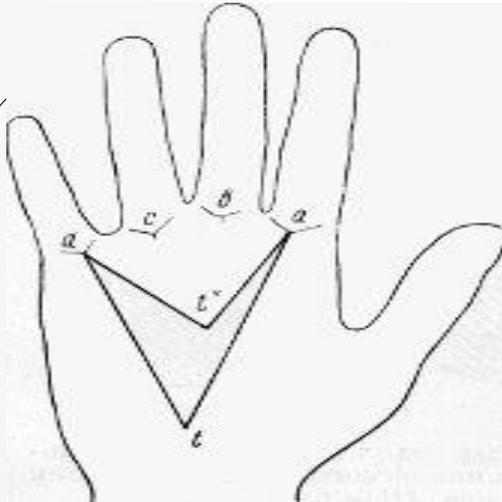
**Этап длится от 22-24-й недели внутриутробного развития плода, рельеф кожи достигает дефинитивной зрелости.**

- Таким образом, к рождению ребенка его гребешковая кожа готова к тактильным восприятиям.
- **Закладка папиллярных гребешков и формирование узоров различных конфигураций детерминировано различными генными системами: *гребнеобразование* – генами гребешковой кожи *fs (friction skin)*, а формирование узоров - генами систем *A, L, W*. Действие генов *friction skin* обособленно, так как большая часть ладони и стопы человека занята папиллярными линиями, не образующими определенного рисунка.**
- Тип и ориентация узора с возрастом не меняется. Не меняется и такой количественный показатель как гребневой счет (локальный и тотальный).

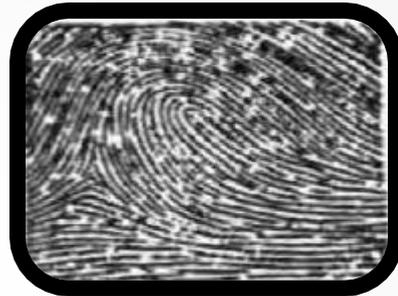
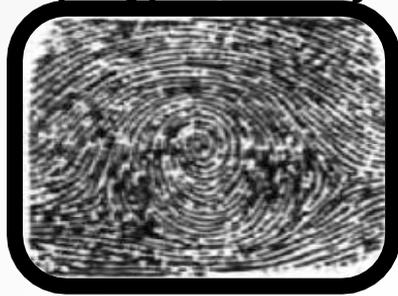
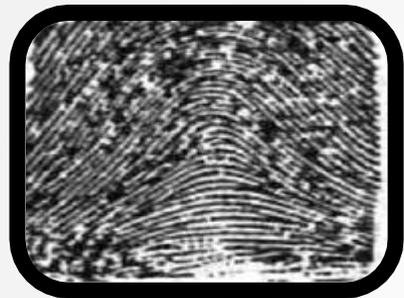
# Диагностические критерии разработаны для таких заболеваний, как:

- синдромы Шерешевского-Тернера, Клайнфельтера, Дауна, синдром Рубинштейна-Тейби и де Ланге, которые сопровождаются врожденными пороками головного мозга (летальные формы патологии плода неуточненной этиологии, синдромальные формы задержки внутриутробного развития, соматическая асимметрия, хромосомный мозаицизм, синдромы "протяженного гена" (contiguous gene syndromes),
- врожденные дефекты конечностей, синдромальные формы врожденных дефектов неуточненной этиологии, задержки психомоторного развития или олигофрении,
- акродисплазии, эктодермальные дисплазии, дисплазии соединительной ткани, аномалии пола, дисплазии дермальных гребней;
- при влиянии тератогенных воздействий;
- влиянии ряда неинфекционных болезней: ГБ, ЗПР у мальчиков и девочек, гиперандрогении у девушек, ГСПП у мальчиков, ревматических заболеваний (ЮРА, ЮХА, РеА), язвенной болезни.

Ладонный рельеф человека сложный, различают 14 полей и 11 подушечек, которые размещены на полях; 5 подушечек расположены на концевых фалангах, 4 - напротив межпальцевых промежутков (межпальцевые подушечки); выделяют 2 ладонные подушечки – *тенар (Th1)* и *гипотенар (Hy)*.



На дистальных фалангах пальцев рук выделяются рисунки 3 основных конфигураций – дуги (A), петли (L) и завитки (W).



По ориентации узора на поверхности пальцевой подушечки различат рисунки

– **ульнарные (U)**,  
– **радиальные (R)**  
и **симметричные (S)**.

Многообразные узоры регистрируются на ладони (петли, завитки, сочетанные узоры, спирали).



**высокая**



**ЗАВИТОК**

**средняя**



**ПЕТЛЯ**

**низкая**



**ДУГА**

**Степень сложности узоров**

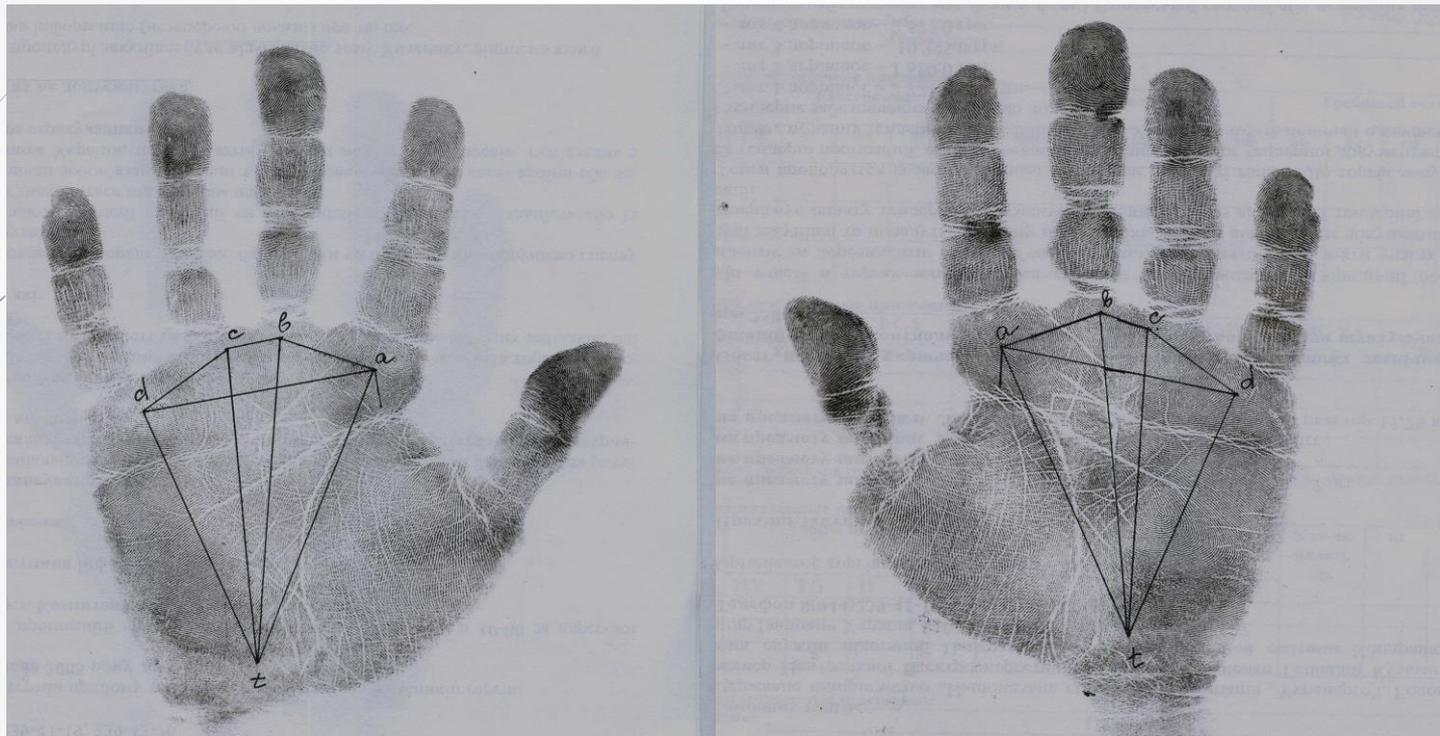
## Принцип метода

Заключается в получении оттиска пальцев, ладоней и подошв у исследуемых лиц методом типографской краски, так он дает четкие отпечатки, которые сохраняются десятки лет.

Для получения отпечатков необходимы: стекло или зеркало, резиновый валик, типографская краска, стеклянная палочка, бумага. На пальцевых и ладонных подушечках кожные гребешки идут тремя потоками, точки встречи 3-х потоков образуют **трирадиусы или дельты**. На каждой из 4-х межпальцевых подушечках есть трирадиусы, которые обозначаются малыми буквами латинского алфавита (**a, b, c, d**), начиная от указательного пальца и заканчивая мизинцем, от этих трирадиусов идут главные ладонные линии (**A, B, C, D**), которые заканчиваются в различных полях.

Кроме пальцевых и межпальцевых трирадиусов на ладонях есть и осевые трирадиусы (t).

# Дерматоглифические оттиски рук



## ➤ **Завитки (W) –**

- обычный узор, чаще локализуется на 1-ом и 4-ом пальце. Очень редко у пациента встречаются и завитки и дуги (конкурирующие узоры), что является диагностическим признаком синдромов трисомии 8 мозаицизма и трисомии 13. Частота завитков снижена при синдроме XXУ.
- **Повышенная частота завитков** или завитков увеличенного размера обнаруживается *при следующих заболеваниях*: 18q-, 9p-, 5p-, артрогрипоз, камптодактилия Tel-Hashomer, синдром Ларсена, синдром Фримена-Шелдона, микростомия, синдром Холт-Орама, трихо-рино-фалангеальный синдром 1 типа, оро-фацио-дигитальный синдром, синдром краснухи (эмбриопатия), возможно цитомегаловирусная эмбриопатия, синдром Смита-Лемли-Опитца.
- **Преобладание завитковых узоров** отмечается при акантолитическом дискератическом дерматозе, семейном гингивальном фиброматозе, при варианте синдрома cutis laxa (синдром эластоза-лепречаунизма), синдроме Вильямса и синдроме "маски Кабуки".
- **Ряд авторов считают преобладание завитков как биологический маркер неоплазий: рака молочной железы, семейных неоплазий, нейрофиброматоза и лейкоза у детей.**

## Завитки (W)



## Ульнарные петли ( $L^U$ )

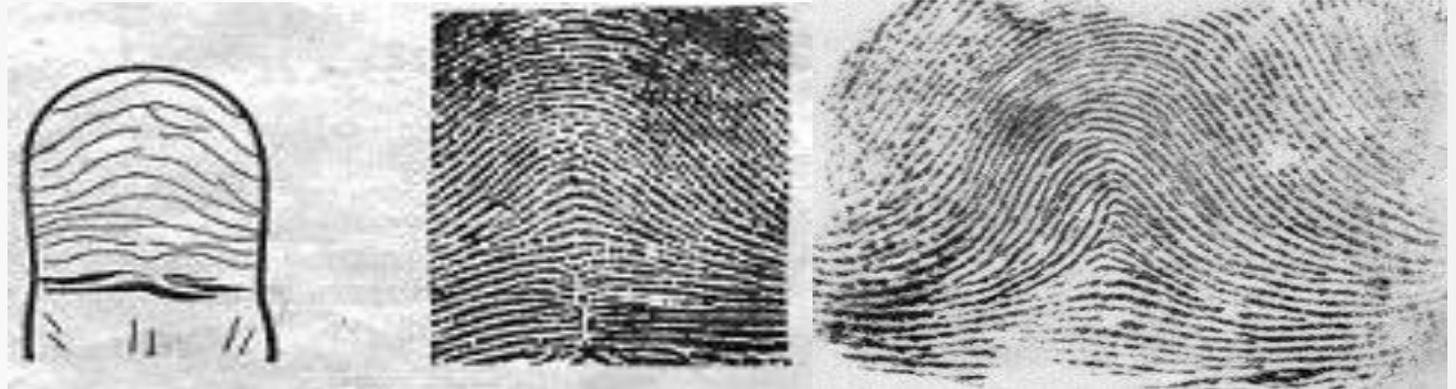


- Ульнарные петли – ( $L^U$ ) - обычный узор, редко диагностичен.
- Однако при синдроме Дауна (фенотип 10 петель) и синдроме Клайнфельтера частота ульнарных петель отчетливо повышена.

## Радиальные петли ( $L^R$ )

- относительно необычны. Имеют четко выраженную тенденцию к локализации на указательном пальце для всех популяций и редкую частоту встречаемости на 3-ем и 4-ом пальцах, исключительно редки на мизинцах.
- Наличие единственной радиальной петли на мизинце свидетельствует о наличии редкой врожденной патологии.
- Локализация  $L^R$  на 3-5 пальцах может свидетельствовать в пользу следующих диагнозов: синдромы Дауна, де Ланге, Зр-, триплоидии, хрупкой X, метафизарной дисплазии, TAR синдрома.
- При брахидактилии и трехфаланговом первом пальце кисти отчетливо повышена частота радиальных петель.

## Дуги (А)



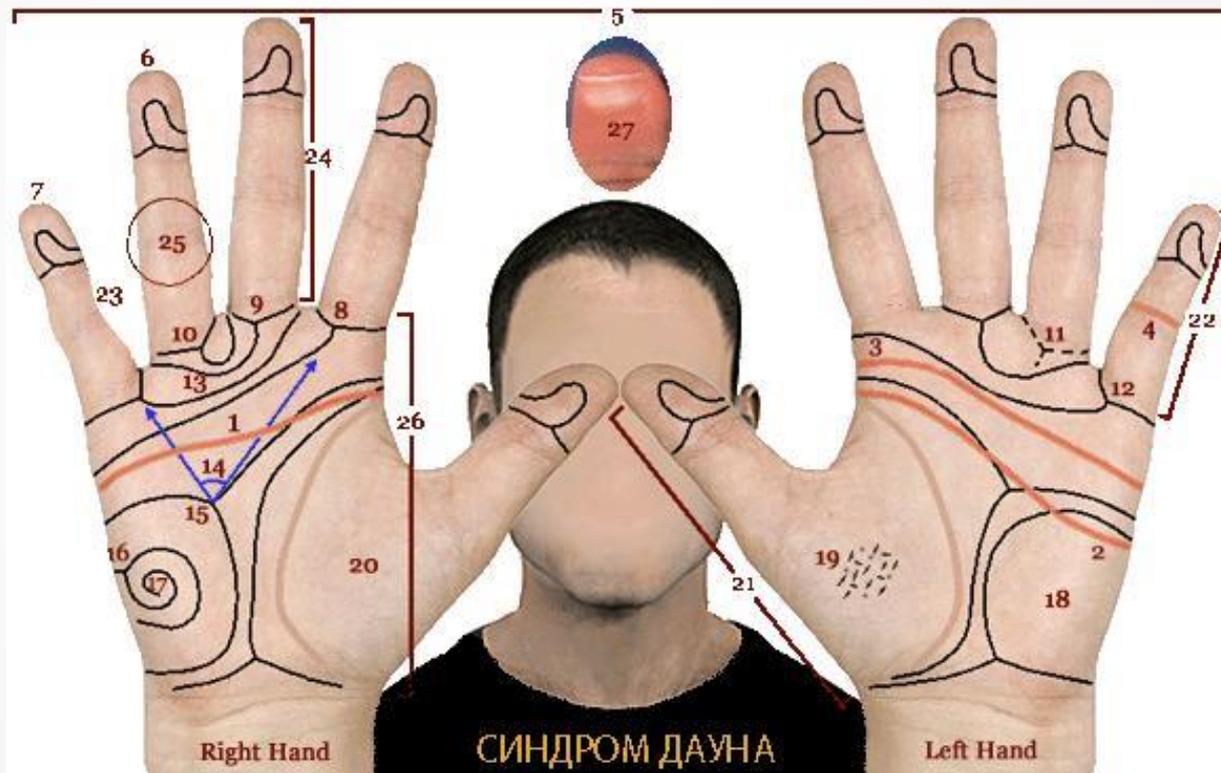
# Дуги (A)

- *Дуги (A)* редко встречаются у белых мужчин, чаще - у женщин и африканцев.
- В некоторых семьях *дуги* регистрируются часто и могут отражать эффект аутосомно-доминантного гена.
- Наиболее часто *дуга* отмечается на указательном пальце и частота ее встречаемости уменьшается в ульнарном направлении с самым низким процентом на мизинце.

# Дуги (А)

- Безотносительно причины *дуги* указывают на гипоплазию терминальных фаланг пальцев кисти. Наличие 5 и более дуг требует тщательного обследования пациента с целью исключения хромосомной патологии или тератогенного воздействия во время беременности (гидантоиновый синдром).
- *Дуговые узоры* часто встречаются при различных формах брахидактилии и акродисплазии.
- Преобладание *дуг* диагностический признак триплоидии, трисомии 18, трисомии 8 мозаицизма, тетрасомии 9, полисомии X, синдрома ХХУ и ХУУ, псевдогипопаратиреоидизма, синдромов Рубинштейна-Тейби.

# Особенности дерматоглифики при синдроме Дауна





Варианты сгибательных складок

# Особенности дерматоглифики при некоторых синдромах

- Синдром Эдвардса – дуги на всех пальцах
- Синдром Дауна – одна сгибательная складка
- Синдром Тернера – все завитки на пальцах
- Синдром Рубинштейна-Тэйби – сложный узор на тенаре



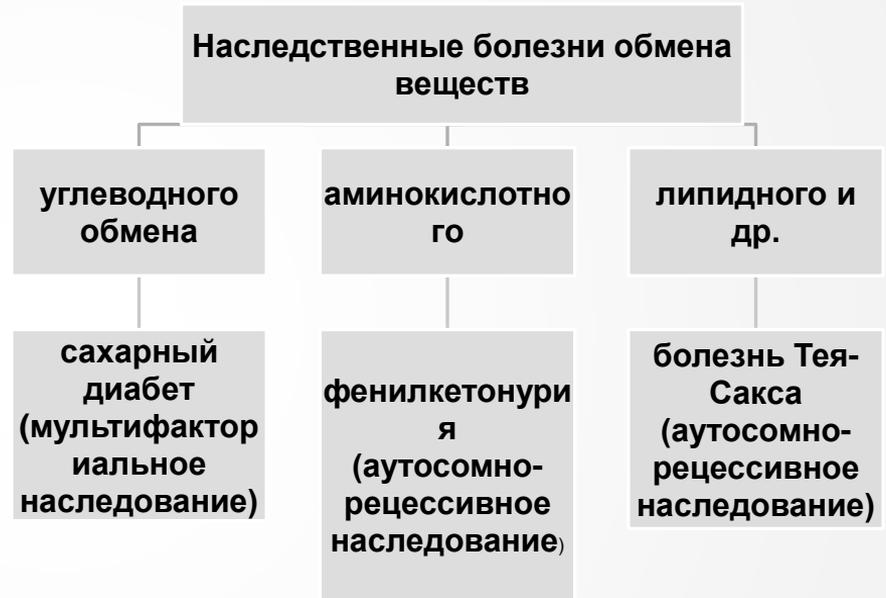
# Биохимический метод

- Используется для изучения **ферментопатий** – мутаций, нарушающих работу ферментов.
- В крови и моче больных выявляются определенные химические соединения.

# Биохимический метод

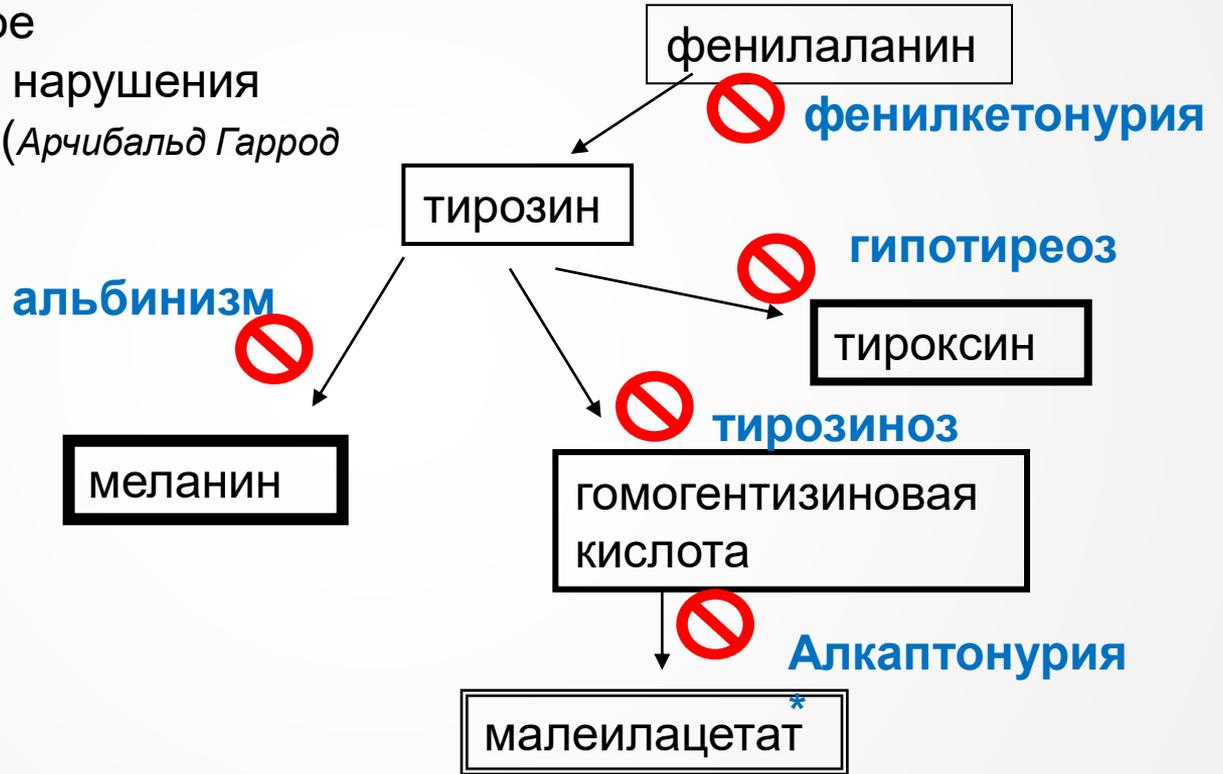
## Суть метода:

- \* изучение характера биохимических реакций в организме;
- \* позволяет обнаружить нарушения в обмене веществ, вызванные мутациями генов.



# Примеры ферментопатий

Первое описанное наследственное нарушение обмена веществ (Арчибальд Гаррод в начале XX века)



и так далее

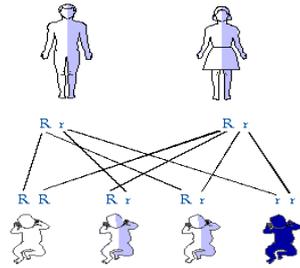
**Рассмотрим подробнее обмен  
фенилаланина и развитие  
фенилкетонурии (АР)  
ОМIM 261600 и 261630**

# Пищевые белки



Фенилкетоновые тела

При **фенилкетонурии (ФКУ)** нарушено превращение фенилаланина в тирозин (классическая форма)

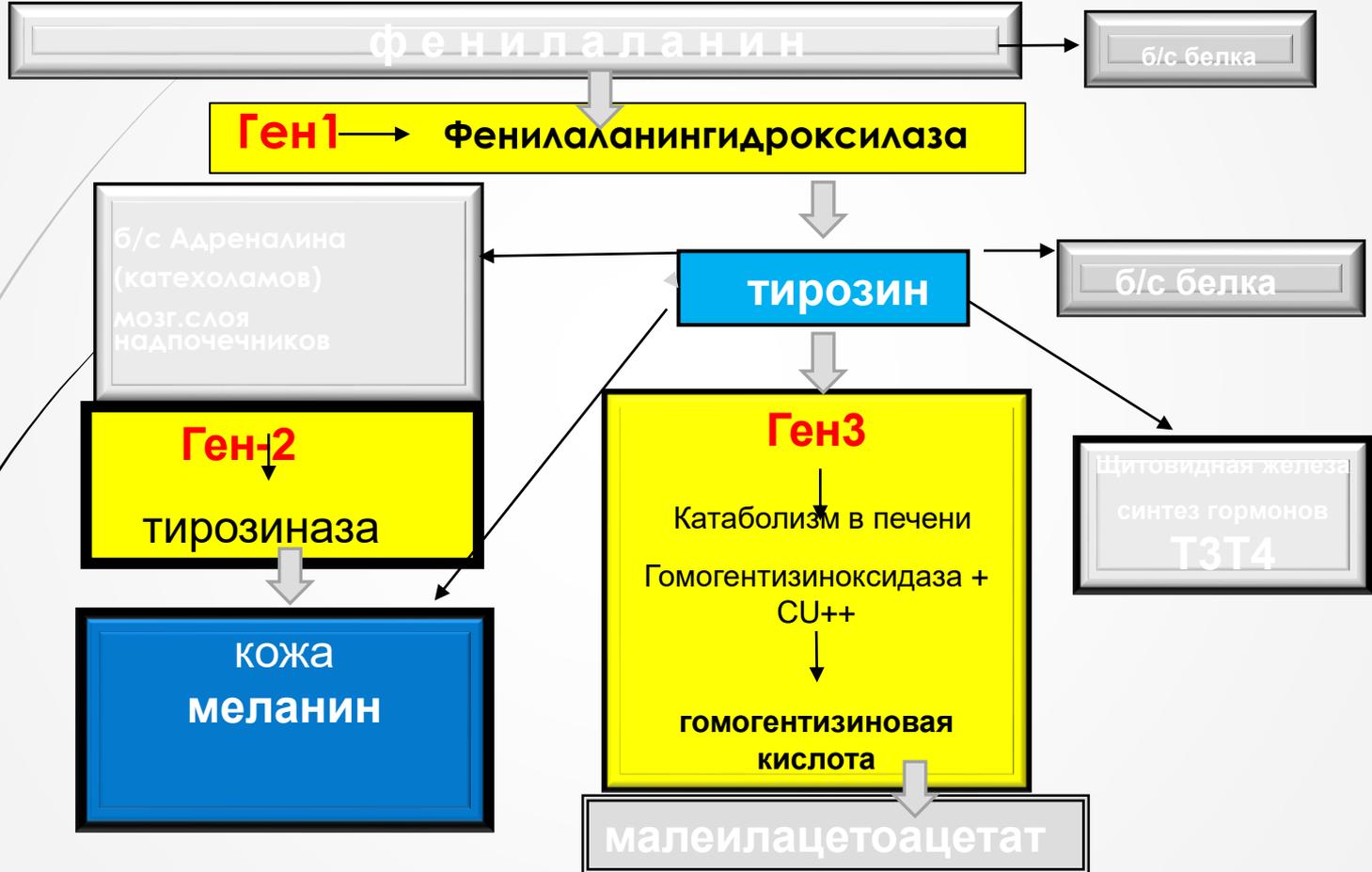


Аутосомно-рецессивное наследование ФКУ

Фенилаланин гидроксилаза

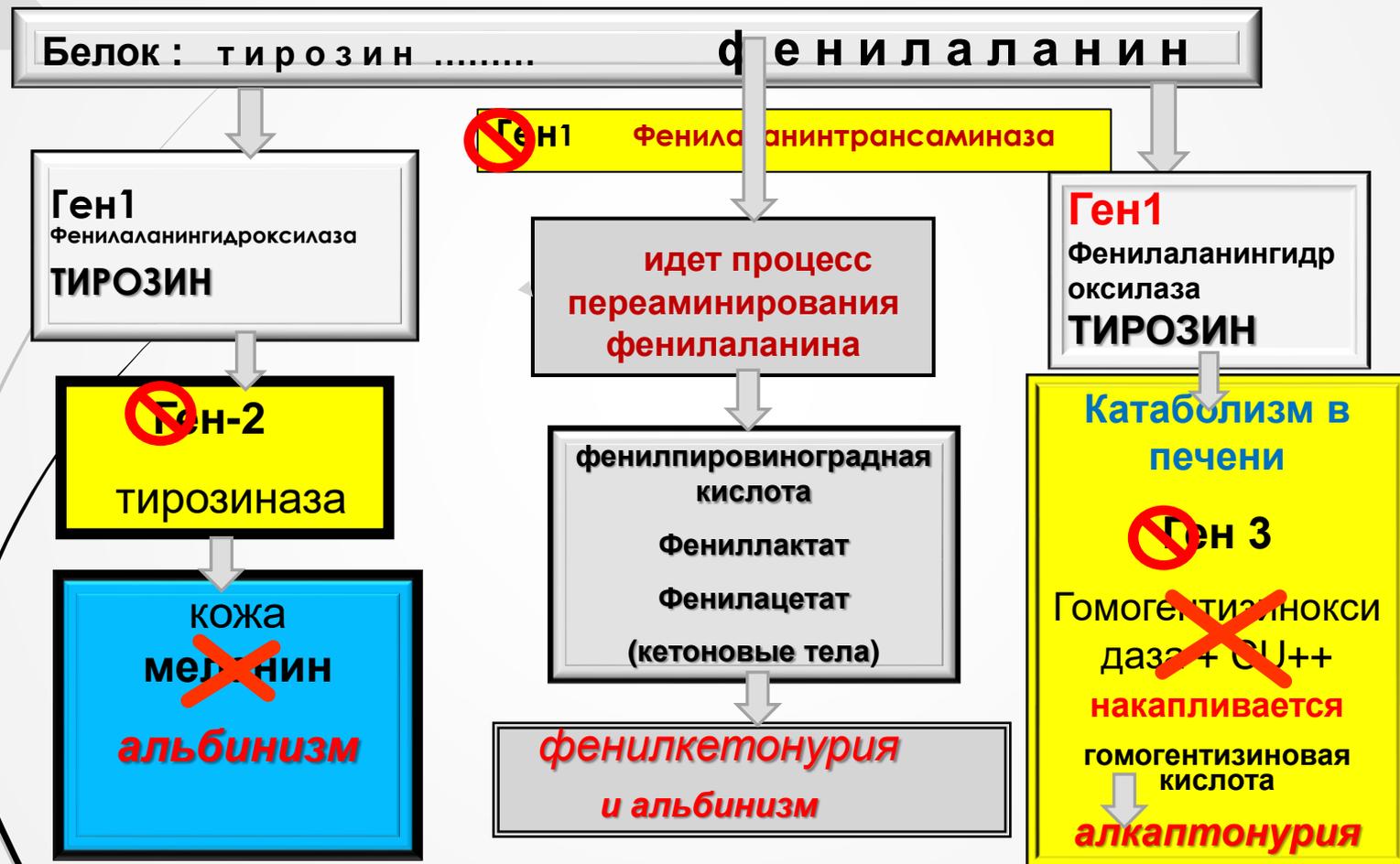


Первое описанное наследственное нарушения обмена веществ  
(Арчибальд Гаррод в начале XX века)  
Примеры ферментопатий



Первое описание наследственного нарушения обмена веществ  
(Арчибальд Гаррод в начале XX века)

Примеры ферментопатий





Дети с рождения должны соблюдать специальную диету с ограничением по фенилаланину



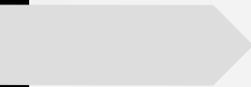
Неонатальный скрининг – «просеивание»  
всех младенцев на наличие  
биохимических дефектов



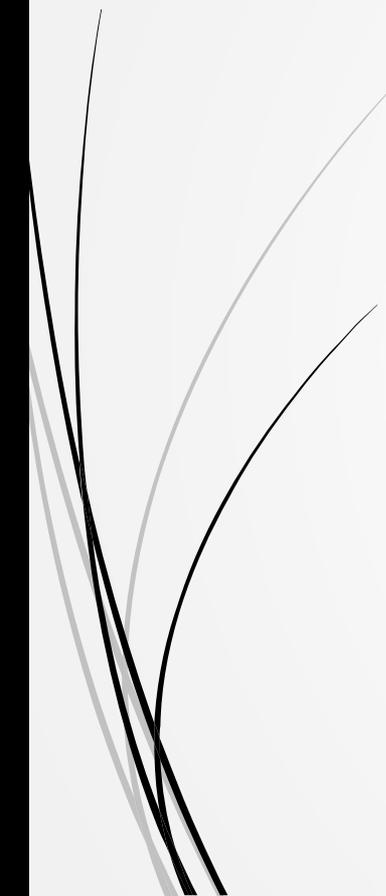


**В настоящее время детей тестируют на выявление фенилкетонурии, муковисцидоза, врожденного гипотиреоза, адреногенитального синдрома и галактоземии**

→ При выборе заболеваний для неонатального скрининга, в соответствии с рекомендациями ВОЗ, учитывались такие факторы, как тяжесть проявления заболеваний, частота распространения данных заболеваний, а также простота и достоверность применяемых методов диагностики, наличие доступных и эффективных средств лечения.



# Молекулярно-генетические методы

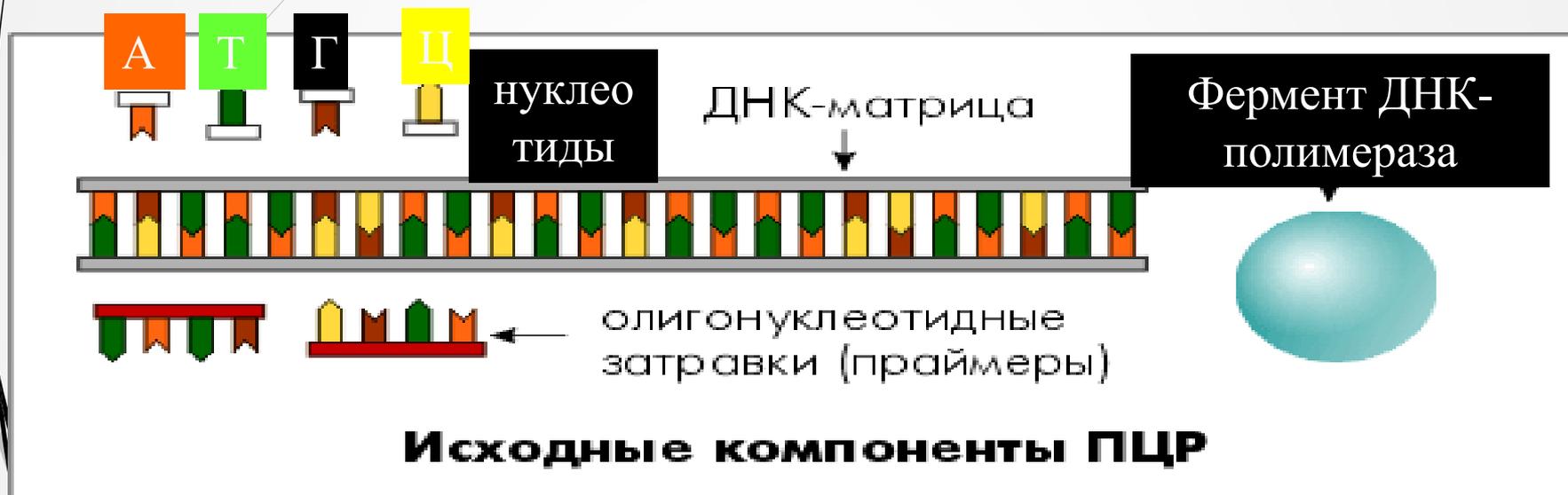
- ПЦР
  - ПДРФ-анализ
  - Секвенирование
  - Блот-гибридизация по Саузерну
  - Гибридизационные биочипы
  - Полногеномный анализ
- 

**Метод ПЦР был разработан в 1983 г. Кэрри Мюллісом.**

**В России получил развитие с 1989 г.**

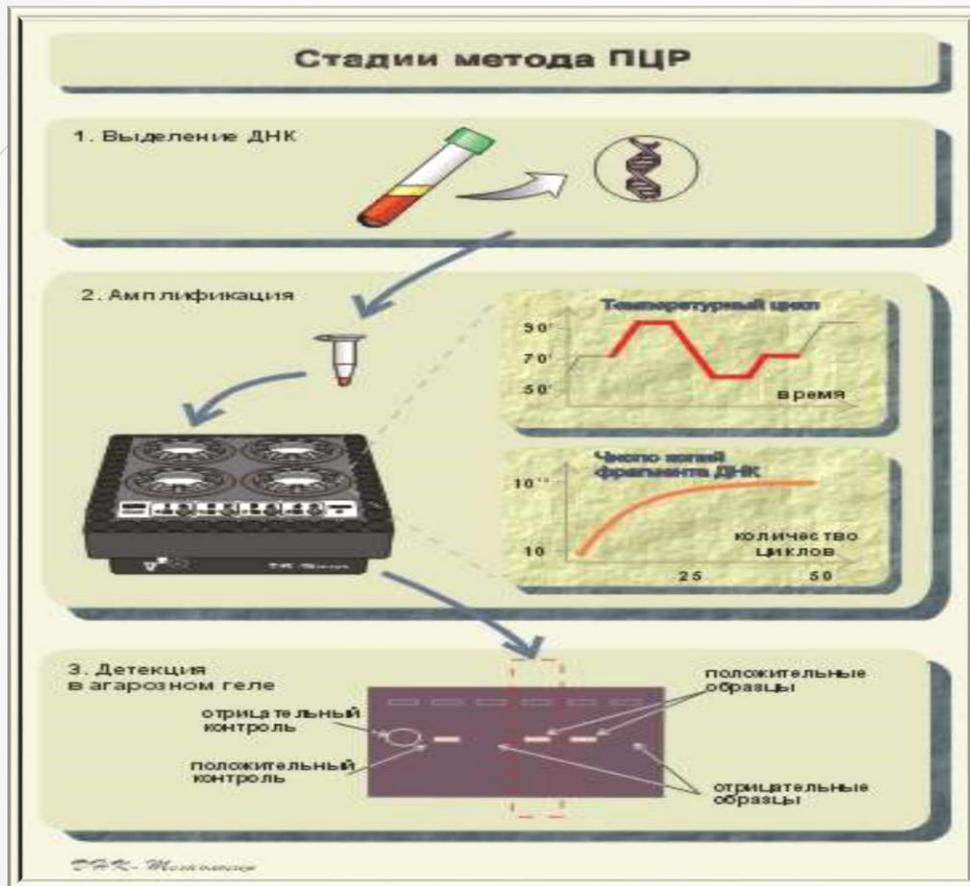
**Полимеразная цепная реакция синтеза ДНК** – это метод амплификации ДНК *in vitro*, с помощью которого в течение нескольких часов можно выделить и размножить определенный участок ДНК (размером от 80 до 3000 пар нуклеотидов (пн)) в миллиарды раз.

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



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

# Основные этапы ПЦР:



# ДНК диагностика выявляет генные мутации

- подтверждающая, при подозрении на болезнь
- пресимптоматическая, до проявления болезни
- носительства, для выявления гетерозиготных носителей
- пренатальная - дородовая.
- Принципиально различают прямую и косвенную ДНК диагностику моногенных наследственных болезней.

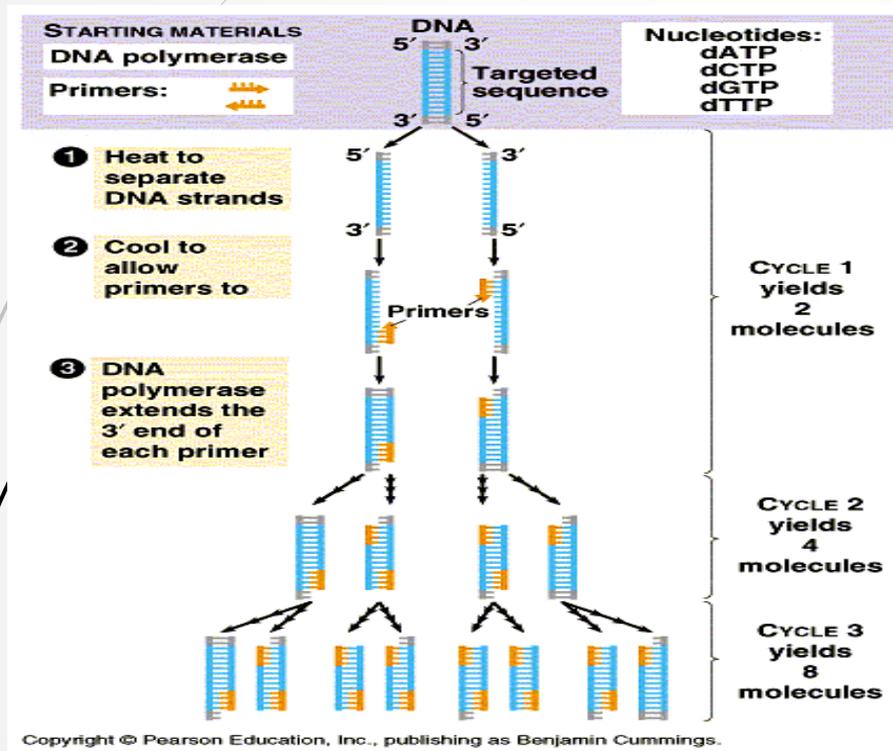
**Прямая**, когда ген и его мутации хорошо известны

**Косвенная** – по тесно сцепленному маркеру – рядом лежащему участку ДНК

## Некоторые термины, используемые при анализе ДНК

- **Клонирование** – выделение гена и его размножение в составе хромосомы бактерии, фага или плазмиды
- **Секвенирование** – определение последовательности участка ДНК
- **Полимеразная цепная реакция, ПЦР** – метод получения большого числа копий участка ДНК
- **Генная дактилоскопия** – выявление мелких вариаций в строении ДНК

# Схема полимеразной цепной реакции и прибор для ее проведения

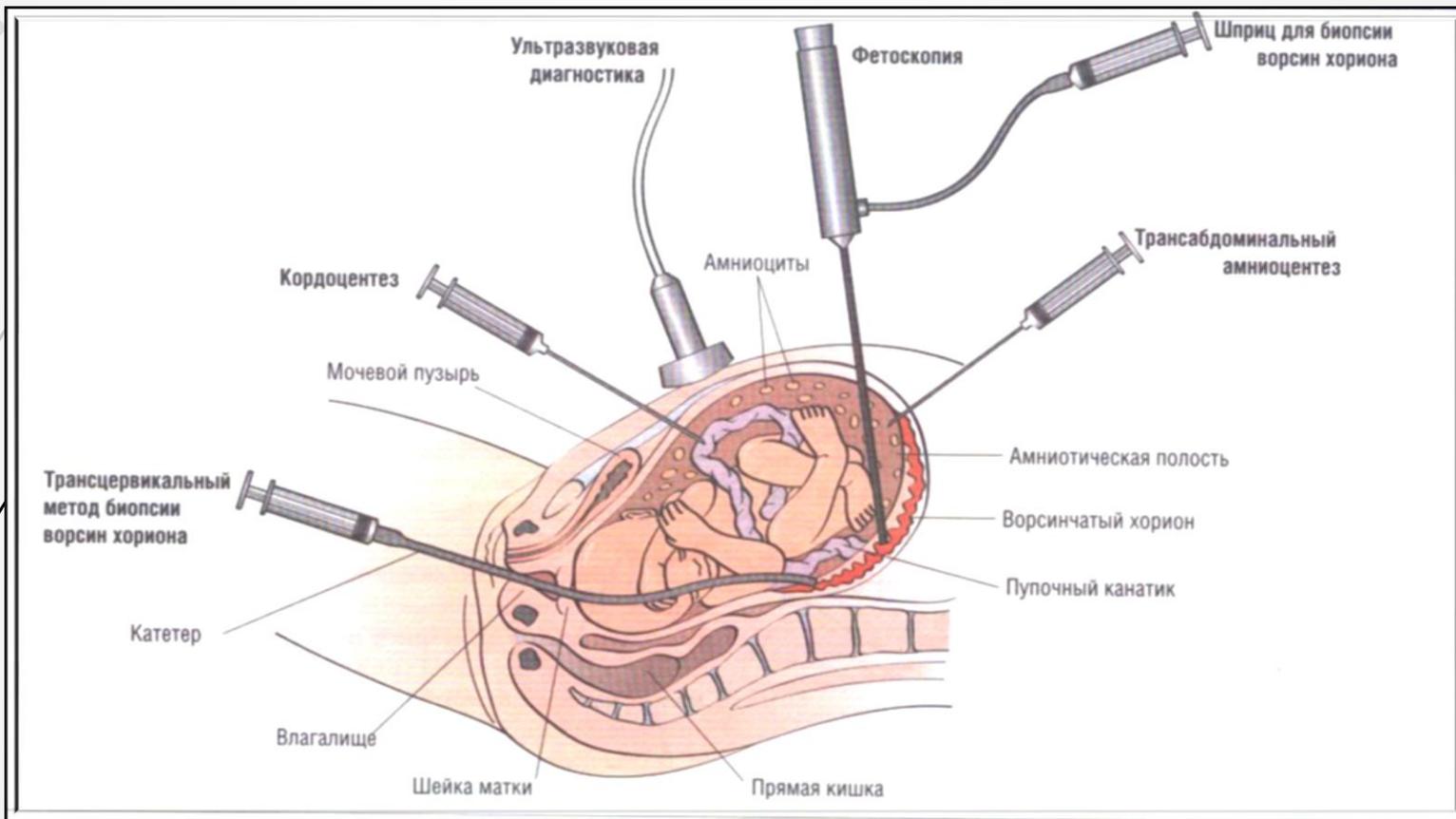


# Пренатальная (дородовая) диагностика

Неинвазивная –УЗИ,  
кровь матери

Инвазивная -

- **Использует** для исследования ткани плода или зародышевых оболочек
- **Использует** цитогенетические, биохимические, ДНК методы
- **Различают:**
  - предимплантационную диагностику;
  - биопсию хориона (взятие ворсин хориона);
  - кордоцентез (взятие пуповинной крови);
  - амниоцентез (взятие околоплодной жидкости);
  - плацентацентез (ткани плаценты);
  - биопсию тканей плода (например, кожи)



# Биопсия хориона на 8 – 10 неделе беременности



# Ультразвуковое исследование





## Предимплантационная диагностика

При экстракорпоральном оплодотворении берутся бластомеры на стадии морулы и изучаются до имплантации зародыша

# Медико-генетическое консультирование

## Показания для МГК:

- Рождение в семье ребенка с врожденными уродствами и множественными пороками развития
- Умственная отсталость у ребенка
- Повторные спонтанные аборты, выкидыши, мертворождения у женщины
- Выявленная патология у ребенка при проведении массовых скринирующих программ
- Близкородственные браки
- Сведения о неблагоприятном воздействии мутагенов или тератогенов на ранних сроках беременности



# ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ ПРОФИЛАКТИКИ НАСЛЕДСТВЕННОЙ ПАТОЛОГИИ

## Общие положения

С профилактической точки зрения всю наследственную патологию целесообразно подразделить на **3 категории**:

- **вновь возникающие мутации** (в первую очередь это анеуплоидии и тяжелые формы доминантных мутаций);
- **унаследованные от предыдущих поколений** (как генные, так и хромосомные);
- **болезни с наследственной предрасположенностью.**

Различают 3 вида профилактики наследственной патологии.



**Под первичной профилактикой** понимают действия, которые должны предупредить зачатие больного ребенка: планирование деторождения и улучшение среды обитания человека.

**Планирование деторождения включает 3 основные позиции:**

- ***оптимальный репродуктивный возраст***, который для женщин составляет 21-35 лет (более ранние или поздние беременности увеличивают вероятность рождения ребенка с врожденной патологией и хромосомными болезнями);
- ***отказ от деторождения в случаях высокого риска наследственной и врожденной патологии*** (при отсутствии надежных методов дородовой диагностики, лечения, адаптации и реабилитации больных);



- ***отказ от деторождения в браках с кровными родственниками*** и между двумя гетерозиготными носителями патологического гена.

**Улучшение среды обитания человека** должно быть направлено главным образом на предупреждение вновь возникающих мутаций путем жесткого контроля содержания мутагенов и тератогенов в окружающей среде. Это особенно важно для профилактики всей группы соматических генетических болезней (врожденные пороки развития, злокачественные новообразования, иммунодефицитные состояния и т.п.).



## **Вторичная профилактика**

предполагает **прерывание беременности** при высокой вероятности заболевания плода или пренатально-диагностированной болезни. Прервать беременность можно только в установленные сроки и с согласия женщины. Основанием для элиминации эмбриона или плода является наследственная болезнь.

Прерывание беременности - не самое лучшее решение, но пока это единственный метод для вторичной профилактики большинства тяжелых и смертельных генетических дефектов.

## Третичная профилактика

Под третичной профилактикой наследственной патологии понимают **коррекцию проявления патологических генотипов**. Это можно назвать и **нормокопированием**, поскольку при патологическом генотипе стремятся получить нормальный фенотип.

Третичная профилактика проводится как при наследственных болезнях, так и (особенно часто) при болезнях с наследственной предрасположенностью. С ее помощью можно добиться полной нормализации функций или снижения выраженности патологического процесса. Для некоторых форм наследственной патологии она может совпадать с лечебными мероприятиями в общемедицинском смысле.

**Предотвратить развитие наследственного заболевания (нормокопирование) можно внутриутробно или после рождения.**

Для некоторых наследственных заболеваний возможно внутриутробное лечение (например, при резус-несовместимости, некоторых ацидуриях, галактоземии).

Развитие заболевания в настоящее время можно предотвратить путем коррекции (лечения) после рождения больного. Типичными примерами болезней, для которых эффективна третичная профилактика, могут быть галактоземия, фенилкетонурия, гипотиреоз (см. ниже) и др. Например, целиакия проявляется с началом прикорма ребенка. В основе болезни лежит непереносимость глютена. Исключение этого белка из пищи полностью гарантирует избавление от тяжелой патологии ЖКТ.