

МЕДИЦИНСКАЯ ГЕНЕТИКА

План лекции:

1. Введение в медицинскую генетику.
2. Важнейшие достижения.
3. Задачи медицинской генетики.
4. Классификация и семиотика наследственных заболеваний.
5. Методы медицинской генетики.

ГЕНЕТИКА, наука, изучающая наследственность и изменчивость – свойства, присущие всем живым организмам. Бесконечное разнообразие видов растений, животных и микроорганизмов поддерживается тем, что каждый вид сохраняет в ряду поколений характерные для него черты: на холодном Севере и в жарких странах корова всегда рождает теленка, курица выводит цыплят, а пшеница воспроизводит пшеницу. При этом живые существа индивидуальны: все люди разные, все кошки чем-то отличаются друг от друга, и даже колоски пшеницы, если присмотреться к ним повнимательнее, имеют свои особенности. Два эти важнейшие свойства живых существ – быть похожими на своих родителей и отличаться от них – и составляют суть понятий «наследственность» и «изменчивость».

Хронология важнейших достижений в области генетики

1865 Грегор Мендель делает доклад Опыты над растительными гибридами (опубликован в 1866 г.)

1903 Высказано предположение о том, что хромосомы являются носителями наследственности.

1905 Уильям Бэтсон в письме к Адаму Сэдживику вводит термин генетика.

1910 Томас Хант Морган доказывает, что гены расположены в хромосомах.

1913 Альфред Стёртевант составляет первую генетическую карту хромосомы.

1918 Рональд Фишер публикует работу On the correlation between relatives on the supposition of Mendelian inheritance, которая знаменует начало работ по созданию Синтетической теории эволюции.

1927 Для обозначения изменений в генах введен термин мутация.

1928 Фредерик Гриффит обнаруживает молекулу наследственности, которая передается от бактерии к бактерии (см. Эксперимент Гриффита)

1931 Кроссинговер как причина рекомбинации (см. Барбара Мак-Клинток и Цитогенетика)

1941 Эдвард Тейтум и Джордж Бидл показывают, что в генах закодирована информация о структуре белков.

1944 Освальд Эвери, Колин Маклеод и Маклин Маккарти изолируют ДНК (тогда его называли трансформирующим началом (transforming principle)).

1950 Эрвин Чаргафф показывает, что, хотя доля нуклеотидов в ДНК не постоянна, наблюдаются определенные закономерности (например, что количество аденина, А, равно количеству тимина, Т) (Правило Чаргаффа). Барбара Мак-Клинток обнаруживает транспозоны у кукурузы.

1952 Эксперимент Херши-Чейза доказывает, что генетическая информация бактериофагов (и всех других организмов) содержится в ДНК.

1953 Структура ДНК (двойная спираль) расшифрована Джеймсом Уотсоном и Фрэнсисом Криком с помощью Розалин Франклин

1956 Jo Hin Tjio и Алберт Леван впервые верно устанавливают Хромосомное число человека: 46 хромосом в диплоидном наборе.

1958 Эксперимент Мезельсона-Шталя показывает, что удвоение ДНК носит полуконсервативный характер.

1961 Выяснено, что генетический код состоит из триплетов.

1964 Говард Темин на примере РНК-содержащих вирусов показал, что центральная догма Уотсона не всегда верна.

1970 При изучении бактерии Haemophilus influenzae обнаружены ферменты рестриктазы, которые позволяют вырезать и встраивать участки молекул ДНК.

1977 ДНК секвенирована впервые независимо Фредом Зангером, Уолтером Гилбертом и Алланом Максемом. Лаборатория Зангера полностью секвенирует геном бактериофага Ф-Х174.

1983 Кэри Бэнкс Мёллис открывает Полимеразную цепную реакцию, открывающую возможности простой и быстрой амплификации ДНК.

1989 Впервые секвенирован ген человека (Фрэнсис Коллинс и Лап-Че Цуи). Ген кодирует белок CFTR. Дефекты в последовательности гена приводят к развитию опухолей.

1995 Впервые полностью секвенирован геном организма невирусной природы — бактерии Haemophilus influenzae.

1996 Впервые полностью секвенирован геном эукариотного организма — пекарских дрожжей Saccharomyces cerevisiae.

1998 Впервые полностью секвенирован геном многоклеточного эукариотного организма — нематоды C. elegans.

2001 Обнародованы первые наброски полной последовательности генома человека одновременно Проектом «Геном человека» (Human Genome Project) и Celera Genomics.

2003 (14 апреля) Проект «Геном человека» успешно завершен: 99% генома секвенировано с точностью 99.99%.

МЕДИЦИНСКАЯ ГЕНЕТИКА - раздел общей генетики, изучающий наследственные заболевания человека. Она играет важную интегрирующую роль в клинической медицине, противостоит разделению интересов педиатров, терапевтов, акушеров, ставя превыше всего интересы семьи и здоровье популяции в целом. Наследственными называют заболевания, обусловленные изменениями генетической информации, возникшими на различных этапах филогенеза вследствие мутаций при воздействии различных эндо- и экзогенных причин. В детском возрасте, начиная с периода новорожденности, проявляется более 2000 наследственных заболеваний, многие из которых возможно диагностировать еще в пренатальном периоде и на ранних этапах эмбриогенеза. Кроме того, более 50% хронических заболеваний детей и взрослых имеют генетическую детерминацию. Этим объясняется важная роль знаний вопросов общей и клинической генетики в практике акушеров, педиатров и врачей различной специальности.

ЗАДАЧИ МЕДИЦИНСКОЙ ГЕНЕТИКИ

1. Изучение наследственных болезней, закономерностей их наследования, особенностей патогенеза, лечения и профилактики;
2. Изучение наследственного предрасположения и резистентности к наследственным болезням;
3. Изучение патологической наследственности;
4. Исследование теоретических медико-биологических проблем (биосинтез видоспецифических белков, синтез иммунных антител, генетические механизмы канцерогенеза);
5. Изучение вопросов генной инженерии, разрабатывающей методы лечения наследственных болезней путем переноса генов нормального метаболизма в ДНК больного.

НАСЛЕДСТВЕННАЯ ПАТОЛОГИЯ

Наследственная патология имеет следующие формы:

I. Хромосомные болезни (ХБ) или синдромы. Описано более 100 нозологических единиц, при этом известно около 1000 типов хромосомных нарушений, выявляемых у человека;

II. Моногенные болезни (МБ). Их общее число превышает 4500 нозологических единиц;

III. Мультифакториальные болезни (многофакторные, полигенные, болезни с наследственной предрасположенностью) - болезни, обусловленные аддитивным (суммарным) действием генетических и средовых факторов.

IV. Большие и малые врожденные аномалии развития. Большие традиционно называют врожденными пороками развития (ВПР), малые - стигмами дизэмбриогенеза, дисморфогенеза.

I. КЛАССИФИКАЦИЯ хромосомных заболеваний основана на нескольких принципах:

A) Этиологический, т.е. характеристика хромосомной или геномной мутации:

I. Хромосомные болезни, связанные с аномалиями числа хромосом при сохранении их структуры.

1) Болезни: обусловленные числовыми аномалиями половых (X и Y) хромосом (болезни Шерешевского-Тернера, Клайнфельтера).

2) Болезни, обусловленные числовыми аномалиями аутосом (синдромы Дауна, Патау, Эдвардса).

3) Болезни, обусловленные увеличением кратности полного гаплоидного набора хромосом-полиплодии.

II. Хромосомные болезни, обусловленные структурными перестройками хромосом. Виды хромосомных аберраций:

1) Транслокации - перенос участка хромосомы .

2) Инверсии - разворот участка хромосомы на 180°.

3) Делеции - отрыв участка хромосомы.

4) Дупликации - удвоение участка или целой хромосомы.

В) Определение типа клеток, в которых возникла мутация (в гаметах или зиготе):

- Гаметические мутации ведут к полным формам хромосомных болезней. У таких индивидов все клетки несут унаследованную с гаметой хромосомную аномалию.

- Соматические мутации - если аномалия возникает в зиготе или на ранних стадиях дробления, при этом развивается организм с клетками разной хромосомной конституции (два типа и более). Это явление называется мозаицизм, а формы хромосомных болезней - мозаичными. Для того, чтобы мозаичная форма по клинической картине совпадала с полной, необходимо иметь не менее 10% клеток с аномальным набором.

С) Время возникновения мутации (в поколении):

- Спорадические случаи - мутация возникла заново в гаметах здоровых родителей или на стадии зиготы.

- Наследуемые (семейные) формы - когда родители уже имели подобную аномалию.

II. КЛАССИФИКАЦИЯ моногенных болезней основана на нескольких принципах:

1. По ведущей системной патологии - по органному и системному типу.

2. По этиологии. В этом случае выделяют 2 класса заболеваний:

- болезни с установленным первичным молекулярным (биохимическим) дефектом. Число таких болезней продолжает неуклонно расти: если по каталогу Маккьюсика в 1990 г. этот класс составил около 100 болезней, то на конец 1993 г. их было уже 328, а к 2001 г. насчитывалось около 500 (10-11% всех МБ);

- болезни с неустановленным первичным молекулярным (биохимическим) дефектом. На эти заболевания приходится около 90% всех МБ.

Первичный молекулярный дефект подразумевает определение дефектного гена и установления вида его конкретных изменений, появление и передача которых по наследству определяет развитие болезни, т.е. речь идет об изменениях в генетическом локусе.

Первичный биохимический дефект подразумевает уровень простой биохимической реакции (функции), в осуществлении которой участвует белковый продукт нормального гена и которая первично нарушается из-за соответствующего дефекта в структуре белка.

3. По типу наследования патологического признака (см. в разделе «Методы мед. генетики»):

- аутосомно-доминантные (Д),

- аутосомно-рецессивные (Р),

- сцепленные с половой хромосомой, доминантные и рецессивные

- митохондриальные.

4. По преимущественному поражению того или иного вида обмена. Благодаря этому принципу многие МБ называются наследственными болезнями обмена веществ (НБО). Среди них выделено более 700 форм, в том числе 200 с установленным биохимическим дефектом. Среди НБО выделяют:

4.1. болезни аминокислотного обмена (ФКУ, тирозиноз, алкаптонурия, лейциноз и др.);

4.2. болезни углеводного обмена (галактоземия, гликогенозы, мукополисахаридозы);

4.3. болезни липидного обмена (эссенциальные семейные липидозы, ганглиозидозы, сфинголипидозы, цереброзидозы, лейкодистрофии, гиперлипидемии и др.);

4.4. болезни биосинтеза кортикостероидов (адрено-генитальный синдром, гипoadьдостеронизм и др.);

4.5. болезни пуринового и пиримидинового обмена (оротовая ацидурия, подагра и др.);

4.6. болезни порфиринового и билирубинового обмена (синдромы Жильбера, Криглера-Найяра, порфирии и др.);

4.7. болезни эритрона (анемия Фанкони, гемолитические анемии, дефицит глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы и др.);

4.8. болезни металлов (болезни Вильсона-Коновалова, Менкеса, семейный периодический паралич и др.);

4.9. болезни транспорта систем почек (болезнь де Тони-Дебре-Фанкони, витамин D-резистентный рахит, тубулопатии и др.);

4.10. болезни лимфоцитов и лейкоцитов (недостаточность аденозиндезаминазы, септический гранулематоз и др.).

Кроме того, в рамках НБО отдельно выделяют болезни накопления (тезауризмозы). Эта группа заболеваний, вызываемых недостатком лизосомальных ферментов и проявляющихся прогрессирующим отложением веществ определенного типа (обычно предшественники реакций) в клетках различных тканей - гликогенозы, цереброзидозы и др.

III. КЛАССИФИКАЦИЮ мультифакториальных болезней с определенной долей условности можно разделить на:

- 1) врожденные пороки развития,
- 2) распространенные психические и нервные болезни,
- 3) распространенные болезни «среднего» возраста.

IV. КЛАССИФИКАЦИЯ (наиболее распространенная) изолированных и системных врожденных пороков развития основана на анатомо-физиологическом принципе деления тела человека на системы органов. Именно по этому принципу построена классификация ВОЗ, рекомендованная для учета болезней и причин смерти, принятая XXIX Всемирной ассамблеей здравоохранения в 1975 г. Множественные ВПР целесообразно подразделять по этиологическому принципу. Таким образом, предлагается следующая классификация ВПР:

А. Врожденные пороки развития органов и систем:

1. Пороки ЦНС и органов чувств
2. Пороки лица и шеи
3. Пороки сердечно-сосудистой системы
4. Пороки дыхательной системы
5. Пороки органов пищеварения
6. Пороки костно-мышечной системы
7. Пороки мочевой системы
8. Пороки половых органов
9. Пороки эндокринных желез
10. Пороки кожи и ее придатков
11. Пороки последа
12. Прочие пороки

Б. Множественные врожденные пороки:

1. Хромосомные синдромы
2. Генные синдромы
3. Синдромы, обусловленные экзогенными факторами (многофакторные)
4. Синдромы неустановленной этиологии
5. Множественные пороки неуточненные

Основные принципы взаимосвязи между воздействием на плод каких-либо факторов и формированием порока:

- Специфичность тератогена. Тератогенный фактор (ТФ) вызывает возникновение специфических ВПР или пороков определенного типа.

- Время воздействия ТФ. Существуют терминационные периоды для различных органов и систем, и только воздействие в этот критический период приведет к формированию ВПР соответствующего органа, системы или ряда систем, если терминационные периоды совпадают.

- Доза тератогена. Для многих ТФ существует порог концентрации, ниже которого статистическая вероятность тератогенного эффекта ничтожно мала.

- Генетическая конституция матери и плода во многом определяет устойчивость к воздействию ТФ (например, только у 11% матерей, принимавших во время беременности дифенилгидантоин, развился гидантоиновый синдром плода).

Выделяют тератогенные факторы биологической (инфекционной), физической и химической природы.

КЛИНИЧЕСКАЯ КЛАССИФИКАЦИЯ

Клиническая классификация наследственных заболеваний построена по принципу ведущей системной патологии.

МУТАЦИИ.

Причиной формирования наследственных нарушений служат мутации - нарушения структуры, количества наследственного материала и/или его функционирования на различных уровнях организации (ген, хромосома, геном). Процесс формирования мутаций (мутагенез) происходит под действием мутагенов (физических, химических, биологических).

Мутации, вызванные факторами физической, химической или биологической природы, заведомо превышающие по интенсивности воздействия допустимые пределы, - это **индуцированные** мутации. Мутации, которые могут проявиться спонтанно, без видимых внешних причин, но под влиянием внутренних условий в клетке и организме в целом - **спонтанные** мутации. Вновь возникшие мутации называются мутациями **de novo**. Мутации от нормального гена к патологическому называются **прямыми**, от патологического к нормальному - **обратными**. Мутации в соматических клетках называются **соматическими**. Они приводят к формированию патологических клеточных клонов, и, в случае одновременного присутствия в организме нормальных и патологических клеточных клонов говорят о клеточном мозаицизме. Некоторые соматические мутации лежат в основе злокачественных образований, в половых клетках они называются **герминативными**. Они возникают в процессе гаметогенеза, встречаются реже соматических, передаются из поколения в поколение и лежат в основе наследственных болезней.

Современная классификация мутаций включает:

1. **генные или точковые** мутации - изменение в одном гене (в любой его точке), приводящее к появлению новых аллелей. Такое изменение может затрагивать одну пару оснований - нуклеотидная замена, но может быть делецией (утрата), инсерцией (вставка), дупликацией (удвоение), инверсией (поворот на 180°) внутри одного генного локуса.

Точковые мутации - причина моногенных заболеваний, наследуются как простые менделевские признаки. Встречаются с различной частотой. Часто формируются как результат ошибки в ходе репликации ДНК, при этом на 99% исправляются с помощью репарационных систем;

2. **хромосомные** мутации. Они нарушают структуру хромосомы (группу сцепления генов) и приводят к формированию новых групп сцепления. Это структурные перестройки хромосом в результате делеции, дупликации, транслокации (перемещение), инверсии или инсерции в объеме участка хромосом. Частота хромосомных мутации составляет 1:1700 клеточных делений;

3. **геномные** мутации - ведут к появлению новых геномов или их частей путем добавления или утраты целых хромосом. Другое их название - аномалии числа хромосом в результате нарушения количества генетического материала. Геномные мутации являются наиболее частыми из всех классов мутаций.

СЕМИОТИКА НАСЛЕДСТВЕННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Семиотика - учение о знаках. Семиотика наследственных болезней - учение о симптомах болезней, правильном обозначении их круга, морфологических и функциональных изменениях

органов и частей тела, динамике клинических проявлений, т.е. это необходимое условие для успешной диагностики заболевания.

Огромное разнообразие наследственных заболеваний, синдромов, пороков развития характеризуется различными сочетаниями отдельных признаков (симптомов), общее число которых, по некоторым оценкам, превышает три тысячи. По четкости регистрации они подразделяются на три группы:

1. альтернативные: либо есть, либо нет (примеры - преаурикулярные папилломы, шейные фистулы, четырехпальцевая складка ладони и т.д.);

2. измерительные: признаки, определяемые абсолютным или относительным количественным значением (удлинение, укорочение, увеличение, уменьшение и др., примеры - арахнодактилия, брахидактилия, макро- и микроцефалия и т. д.);

3. описательные: признаки, характеризующиеся изменениями кожи, волос, мягких тканей и др., к которым трудноприменимы количественные оценки. В отличие от признаков первой группы они требуют в своем обозначении сравнительных характеристик (примеры - пятна на коже цвета «кофе с молоком», паклеобразные волосы, клювовидный нос, воронкообразная грудная клетка и т. д.).

Патологический фенотип определенного наследственного синдрома складывается из более или менее устойчивого сочетания отдельных симптомов (минимальные диагностические признаки), создающих в совокупности специфическое «фенотипическое ядро» заболевания, являющееся основой для установления диагноза.

Синдром - совокупность внешних и внутренних, морфологических и функциональных аномалий и врожденных пороков, вызванных единым морфологическим фактором.

Обычно тот или иной синдром имеет от 1-2 до 5 (редко более) соответствующих признаков. Задача врача состоит в том, что бы увидеть данные аномалии и правильно их интерпретировать. Сложность заключается в том, что нередко отсутствует параллелизм между значимостью (в смысле тяжести) симптома для пациента и его диагностической ценности (информативности) - в смысле возможности установления диагноза. Так, например, в случае синдрома Аарскога (лице-пальце-генитальный синдром) основным поводом для обращения является задержка роста, нередко сочетающаяся с крипторхизмом, - достаточно широко распространенные состояния, а диагностически значимым (высокоинформативным) симптомом данного синдрома является необычная форма мошонки, окружающая в виде валика основание полового члена ребенка (шалевидная мошонка) - вполне безобидный признак. При синдроме Ваарденбурга основной жалобой является снижение слуха (вариант врожденной нейро-сенсорной тугоухости за счет гипоплазии кортиева органа), а основой установления диагноза являются обнаруживаемые на волосистой части головы и лице малые аномалии: седая прядь волос, аномально короткие глазные щели за счет латерального смещения внутренних углов глаз (телекант), медиально расширяющиеся брови с тенденцией к сращению на переносьи (синофриз), гетерохромия радужных оболочек, широкий корень носа. И подобных примеров можно привести множество. Наряду с высокоинформативными симптомами в структуре наследственных синдромов обычно присутствуют и фоновые признаки: симптомы, часто встречающиеся при многих наследственных синдромах (а также и в общей популяции), создающие в своей совокупности фон диспластичного развития ребенка (стигмы дизэмбриогенеза - это небольшие отклонения, которые не сказываются существенно на функции органа и не уродуют внешность больного): эпикант, деформация ушных раковин, высокое небо, измененная дерматоглифика, клинодактилия, различные варианты синдактилий и т.д. Диагностическая значимость отдельно взятого признака этой группы относительно невелика, однако недооценивать их также не следует, особенно, когда к ребенку есть более серьезный повод для «претензий» в виде задержки физического, интеллектуального и полового развития и т. д. Обнаружение двух и более (в отечественной педиатрии - 7-10) малых аномалий (стигм) у больного служит показанием для проведения тщательного клинического обследования. Клинико-морфологическое обследование (паспортная диагностика) пациента предполагает определенную последовательность, примерная схема которого представлена ниже (т.н. карта фенотипа).

ЭТАПЫ ПОСТАНОВКИ ДИАГНОЗА

Ход постановки диагноза наследственного заболевания поэтапный:

Первый этап - общее клиническое обследование больного, включающее анализ наследственного анамнеза, синдромологический анализ признаков болезни, выявление микроаномалий;

Второй этап - необходим при подозрении на конкретную наследственную болезнь (по итогам первого). С этой целью привлекаются основные методы исследования медицинской генетики.

МЕТОДЫ МЕДИЦИНСКОЙ ГЕНЕТИКИ (ОБЩЕЕ)

В клинической генетике для диагностики различных форм наследственной патологии применяются: клиничко-генеалогический метод, специальные и дополнительные (лабораторные, инструментальные) методы исследования.

Среди специальных методов диагностики выделяют цитогенетический, биохимический, молекулярно-генетический и иммунологический методы. Среди дополнительных методов значатся ультразвуковое исследование внутренних органов, рентгенография, магнитно-резонансная томография, электромиография, ЭКГ и др. Показания для применения этих методов различаются в зависимости от поставленных целей и задач, одни методы применяются чаще, другие реже.

ГЕНЕАЛОГИЧЕСКИЙ МЕТОД

Генеалогия - это учение о родословных. Суть генеалогического метода сводится к выявлению родословных связей и прослеживанию признака или болезни среди близких и дальних прямых и непрямых родственников. Технически он складывается из двух этапов:

- 1) составление родословной схемы;
- 2) собственно генеалогический анализ.

П р о б а н д - лицо, с которого начинают составление родословной. Обычно родословная составляется по одному или нескольким признакам заболевания. Может быть полной или ограниченной. Фигуры в родословной располагаются по поколениям. Каждое поколение занимает отдельную строку, обозначается слева римской цифрой. Арабскими цифрами нумеруются члены одного поколения (весь ряд) слева направо в порядке рождения. Все индивидуумы должны располагаться строго по поколениям в один ряд. Поскольку большинство наследственных заболеваний проявляется в детском возрасте в основном производится расспрос родителей пробанда (чаще всего матери). После получения паспортных данных врач должен выяснить:

- 1) анамнез настоящего заболевания, его начало, течение, характер жалоб;
- 2) тщательный анамнез жизни ребенка, включая здоровье и возраст родителей, течение беременности и акушерский анамнез матери:
 - случаи аборт, мертворождений, ранней детской смерти,
 - точные сведения о кровном родстве супругов,
 - возможность внебрачного зачатия.

Большую роль играет вскармливание на первом году жизни, темпы физического и психомоторного развития ребенка.

- 3) сведения о сибсах пробанда (порядковый номер рождения, возраст, состояние здоровья);
- 4) данные о родственниках пробанда I и II степеней родства.

После составления родословной (обычно достаточно трех-пяти поколений) переходят к генеалогическому анализу.

Генеалогический метод относится к наиболее универсальным методам медицинской генетики. Он широко применяется при решении теоретических и прикладных проблем:

- 1) для установления наследственного характера признака;
- 2) при определении типа наследования и пенетрантности гена;
- 3) при анализе сцепления генов и картировании хромосом;
- 4) при изучении интенсивности мутационного процесса;
- 5) при расшифровке механизмов взаимодействия генов;
- 6) при медико-генетическом консультировании.

Типы моногенного наследования, выявляемые с помощью генеалогического метода:

1. Аутосомное наследование: ген, отвечающий за исследуемый признак локализуется на аутосоме:

а) аутосомно-доминантный тип наследования:

- заболевание наблюдается в каждом поколении, т.е. прослеживается в родословной по вертикали (кроме случаев новой мутации). Мутантный ген, связанный с аутосомой, проявляет свое действие как в гомозиготном, так и гетерозиготном состоянии.

- риск рождения больного ребенка, при одном больном родителе, составляет 50%.

- здоровые индивиды имеют здоровых потомков.

- у больного индивида болен один из родителей, кроме случаев новой мутации.

- оба пола поражаются с одинаковой частотой

Заболевания: синдром Марфана, синдром Реклингхаузена, ахондроплазия и др.

б) аутосомно-рецессивный тип наследования:

- при браке двух гетерозиготных носителей одного и того же мутантного рецессивного гена в среднем 50% детей фенотипически могут быть здоровы, но являются носителями мутантного рецессивного гена;

- 25% детей получают мутантный рецессивный ген от обоих родителей и будут поражены наследственным рецессивным заболеванием (гомозиготы);

- 25% будут здоровы фенотипически и генотипически;

- оба пола поражаются одинаково;

- в родословной при таком наследовании заболевание может прослеживаться по горизонтали, повторяться через одно или несколько поколений;

- у больного родителя рождаются здоровые дети;

- в случае кровно-родственных браков между родителями пробанда наблюдается увеличения числа больных в родословной.

Заболевания: АГС, галактоземия, муковисцидоз, ФКУ, талассемия etc.

2. Наследование, сцепленное с полом (гоносомное) - когда мутантный ген расположен в одной из половых хромосом - X- или Y-хромосоме:

а) X-сцепленный доминантный тип:

- у больного пробанда обязательно болен один из родителей;

- у больного отца все дочери больны, а сыновья здоровы;

- у больной матери равно вероятно рождение больной дочери и больного сына;

- у здоровых родителей все дети будут здоровы;

- больных женщин в 2 раза больше, чем больных мужчин. Заболевания: фосфатдиабет, синдром Ретта, Коффина-Лоури, Гольца и др.

б) X-сцепленный рецессивный тип:

- заболевание наблюдается у мужчин-родственников пробанда по материнской линии;

- сыновья никогда не наследуют заболевание отца; все его дочери здоровы и являются гетерозиготными носителями патологического гена;

- если женщина является гетерозиготным носителем патологического гена, то половина ее сыновей больны, а все дочери здоровы, причем половина дочерей

- гетерозиготные носители патологического гена. Заболевания: несахарный диабет, дефицит глюкозо-6-фосфат-дегидрогеназы, мышечная дистрофия Дюшена, гемофилия А, В, ихтиоз, синдром Аарскога и др.

в) Y-сцепленный тип:

- в Y-хромосоме находятся гены: детерминирующий развитие семенников, отвечающий за сперматогенез (фактор азооспермии), контролирующей интенсивность роста тела, конечностей и зубов, определяющий оволосение ушной раковины.

- признак передается всем мальчикам.

- признак проявляется только у лиц мужского пола.

- патологические мутации, затрагивающие формирование семенников или сперматогенез, наследоваться не могут, такие индивиды стерильны.

г) Митохондриальный тип:

Митохондрии передаются с цитоплазмой яйцеклеток (в каждой яйцеклетке - 25 000 митохондрий, содержащих кольцевую хромосому). Генные мутации в митохондриальной ДНК

обнаружены при атрофии зрительного нерва Лебера, митохондриальных миопатиях, доброкачественной опухоли (онкоцитоме), при прогрессирующих офтальмоплегиях.

- болезнь передается только от матери, больные отцы не передают болезни детям.
- болеют и девочки, и мальчики.

ПОПУЛЯЦИОННО - СТАТИСТИЧЕСКИЙ МЕТОД

Метод находит широкое применение в клинической генетике, т.к. внутрисемейный анализ заболеваемости не отделим от изучения наследственной патологии как в странах с большим населением, так и в относительно изолированных популяционных группах.

Сущность метода заключается в изучении (с помощью методов вариационной статистики) частот генов и генотипов в различных популяционных группах, что дает необходимую информацию о частоте гетерозиготности и степени полиморфизма у человека. В частности, в гетерозиготном состоянии в популяциях находится значительное количество рецессивных аллелей, что обуславливает развитие различных наследственных заболеваний, частота которых зависит от концентрации рецессивного гена в популяции и значительно повышается при заключении близкородственных браков. Мутации могут передаваться потомству во многих поколениях, что приводит к генетической гетерогенности, лежащей в основе полиморфизма популяций.

Согласно закону Харди-Вайнберга (1908) - в популяции сохраняется постоянное соотношение частоты генотипов из поколения в поколение, если никакие факторы не нарушают это равновесие.

Формула Харди-Вайнберга (соотношение генотипов AA, Aa, aa): $(P+g)^2 = P^2 + 2Pg + g^2$

P - частота, с которой встречается доминантный ген "А";

g- частота, с которой встречается рецессивный аллель "а".

Сумма P+g всегда равна

1. Статистический анализ распространенности отдельных генов и контролируемых ими признаков в популяционных группах позволяет определить адаптивную ценность конкретных генотипов. Среди людей невозможно найти генетически одинаковых лиц (за исключением монозиготных близнецов, для которых предполагается 100% общих генов), хотя общность генов хорошо прослеживается у близких и дальних родственников.

МЕТОД ДЕРМАТОГЛИФИКИ

Дерматоглифика – изучение отпечатков кожного рисунка ладоней и стоп. Своеобразные изменения отпечатков пальцев и узора ладони отмечены при ряде наследственно-дегенеративных заболеваний нервной системы. Папиллярные рисунки имеют индивидуальный характер и находятся под генетическим контролем. Для клинических целей используют:

1. Характер узора концевых фаланг.

В норме частота петлевых узоров 62%, круговых - 32%, дуговых - 6%. При болезни Дауна увеличивается число петлевых узоров, особенно ульнарные петли – 80%. При трисомии преимущественно проявляются дуговые узоры, что редко встречается в норме.

2. Число борозд.

В норме, при подсчете борозд у мужчин их выявляется 145, у женщин – 127. При болезни Клайнфельтера их число уменьшается до 118.

3. Величина угла adt.

Угол adt в норме менее 57°, при болезни Дауна он увеличивается до 81°, при трисомии – 108°, болезни Клайнфельтера – 42°.

В настоящее время метод применяется в основном в судебной медицине.

БИОХИМИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ

Эти методы помогают обнаружить целый ряд заболеваний с нарушениями обмена веществ (энзимопатии). Исследованию подлежат кровь, моча, ликвор, пунктаты костного мозга, амниотическая жидкость, сперма, пот, волосы, ногти, кал и др.

На первом этапе обследования (экспресс-диагностика) применяются методы массового биохимического скрининга: пробы Феллинга (на фенилкетонурию), Альтгаузена (гликогенозы), Бенедикта (галактоземия, фруктоземия), проба на гипераминоацидурию, микробиологический тест Гатри (ФКУ и др. аминокислотопатии). Разработаны простые качественные биохимические тесты

для экспресс-диагностики гипотиреоза, муковисцидоза, для выявления нарушений обмена билирубина, болезни Тея-Сакса, гепатолентикулярной дегенерации, АГС. Эти пробы достаточно просты и используют легко доступный биологический материал (кровь, моча).

На втором этапе (уточняющая диагностика) применяют молекулярно-цитогенетические, молекулярно-биологические методы, более сложные методы аналитической биохимии:

- исследование метаболического пути (количественное определение метаболитов, их кинетики и накопления);
- прямое измерение концентрации (иммунохимические методы), активности (энзимо-диагностика), физико-химических и кинетических параметров мутантных белков;
- исследование мутантных белков с помощью нагрузочных проб мечеными субстратами и гибридизации соматических клеток;
- исследование структуры мутантного гена методами рестриционного анализа.

Большие перспективы открываются с применением жидкостной и газовой хроматографии, позволяющей определить аминокислотный состав исследуемого субстрата в течение нескольких минут.

Показания для биохимического исследования:

- 1) умственная отсталость, психические нарушения;
- 2) нарушение физического развития - аномальный рост и строение волос или ногтей; неправильный рост с искривлением костей туловища и конечностей, чрезмерное отложение жира, гипотрофия или кахексия, тугоподвижность или разболтанность суставов;
- 3) плохое зрение или полная слепота, тугоухость или глухота;
- 4) судороги, мышечная гипотония, гипер- и гипопигментация, фото-чувствительность, желтуха;
- 5) непереносимость отдельных пищевых продуктов и лекарственных препаратов, нарушение пищеварения, частая рвота, диарея, жидкий стул, гепато- и спленомегалия;
- 6) почечно-каменная болезнь, холестаза;
- 7) гемолитические анемии и др. состояния.

ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЙ МЕТОД.

Метод позволяет идентифицировать кариотип (особенность строения и число хромосом), путем записи кариограммы. Цитогенетическое исследование проводится у пробанда, его родителей, родственников или плода при подозрении на хромосомный синдром либо другое хромосомное нарушение.

Для определения кариотипа используют как прямые, так и непрямые методы исследования. В первом случае материал, взятый из костного мозга, лимфатических узлов, эмбриональных тканей, хориона, клеток амниотической жидкости или других тканей, изучают сразу же после получения. Однако прямой метод информативен только тогда, когда в материале имеется достаточное количество метафаз митоза, так как только в этой фазе хромосомы приобретают присущие им особенности строения и возможна их точная идентификация. В настоящее время широко применяются непрямые методы исследования.

Метод приготовления метафазных пластин. Взятую культуру (лимфоциты периферической крови и др.) помещают в питательную среду для культивирования. В норме в периферической крови не наблюдается митоза лимфоцитов, поэтому используют препараты (фитогемагглютинин), стимулирующие иммунологическую трансформацию лимфоцитов и их деление. Вторым этапом является остановка митотического деления клетки на стадии метафазы. Достигается это путем добавления в культуру тканей за 2-3 часа до окончания культивирования препаратов колхицин или колцимед. На третьем этапе, используя гипотонический раствор хлорида кальция или цитрат натрия, добиваются гипотонизации клеток, в результате чего клетка набухает, ядерная оболочка разрывается, межхромосомные связи рвутся, и хромосомы свободно плавают в цитоплазме. Далее полученная культура фиксируется смесью метанола и уксусной кислоты, центрифугируется и меняется фиксатор. Суспензия с фиксатором наносится на чистое предметное стекло, где метафазная пластинка расправляется и в ее пределах располагаются отдельно лежащие хромосомы. По мере высыхания фиксатора, клетка прочно прикрепляется к стеклу. Таким образом, независимо от культуры клеток, из которых были получены метафазные

пластинки общий принцип получения препаратов следующий: накопление метафаз, гипотонизация, фиксация, раскапывание на предметное стекло.

Окраска препарата. Окраска препаратов является следующей стадией после получения метафазных пластин и делится на простые, дифференцированные и флюоресцентные. Каждая из видов окрашивания применяется для выявления только определенных изменений кариотипа. При простой окраске (метод окраски по Гимзе), возможно лишь групповая идентификация хромосом, поэтому данный метод используется для ориентировочного определения числовых аномалий кариотипа. Простая окраска широко применяется для изучения хромосомного мутагенеза при проверке факторов окружающей среды на мутантность. Краситель Гимзы окрашивает все хромосомы равномерно по всей длине, контурируя при этом центромеру, спутники и вторичные перетяжки. Дифференциальное окрашивание обусловлено способностью к избирательному окрашиванию по длине и обеспечивается сравнительно простыми температурно-солевыми воздействиями на фиксированные хромосомы. При этом выявляется структурная дифференцировка хромосом по длине, выражающееся в виде чередования эу- и гетерохроматических районов (темные и светлые), которые специфичны для каждой хромосомы, соответствующего плеча и района. Наиболее часто используется G-окраска. При этом хромосомы предварительно обрабатываются протеазой или соевым раствором. Для изучения мутационного процесса у человека широко используется метод дифференциальной окраски сестринских хроматид, основанный на способности включаться в последовательность репликации хромосомы аналога тимидина-5-бромдезоксинуридина. Участки хромосомы, включившие этот аналог, окрашиваются плохо, поэтому используя этот метод можно идентифицировать любую хромосому или хромосомную перестройку.

Исследование полового хроматина. Метод определения полового хроматина быстрее и проще, чем исследование набора хромосом (кариотипа), поэтому он применяется в качестве одного из скрининг-тестов при массовых обследованиях населения. В норме в клетках женского организма при определенных способах окраски вблизи ядерной мембраны образуется интенсивно окрашиваемое тельце – половой хроматин, или тельце Барра, которое образуется одной, неактивной X-хромосомой. Другая X-хромосома в клетках женского организма является активной. У мужчин имеется лишь одна X-хромосома, и она всегда активна, поэтому в ядрах клеток мужского организма половой хроматин не определяется. Для исследования полового хроматина X обычно берут соскоб со слизистой полости рта. Наиболее распространен экспресс-метод окраски по Сандерсу с использованием 2% раствора уксуснокислого ацетоорсеина с последующей иммерсионной микроскопией. Кроме того, в зрелых нейтрофилах крови выявляется еще и так называемая барабанная палочка, причем телец хроматина и барабанных палочек на единицу меньше числа X-хромосом. В нейтрофилах у мужчин выявляются также околядерные образования в виде «ниточек» и «волосков». Исчезновение у женщин неактивной X-хромосомы ведет к отсутствию полового хроматина. Появление у мужчины дополнительной X-хромосомы приводит к формированию тельца полового хроматина.

Показания для цитогенетического обследования больного:

1) множественные пороки развития (с вовлечением трех и более систем); наиболее постоянные нарушения - пороки развития головного мозга, опорно-двигательной системы, сердца и мочеполовой системы;

2) умственная отсталость в сочетании с нарушениями физического развития, дисплазиями, гипогенитализмом;

3) стойкое первичное бесплодие у мужчин и у женщин при исключении гинекологической и урологической патологии;

4) привычное невынашивание беременности, особенно на ранних стадиях;

5) нарушение полового развития (гипогонадизм, половые инверсии);

6) небольшая масса ребенка, рожденного при доношенной беременности.

Применение цитогенетического метода в клинической генетике обусловило развитие нового направления - клинической цитогенетики, которая позволяет:

- установить происхождение структурно перестроенных хромосом и их точную классификацию;

- выделить синдромы, обусловленные дисбалансом по участкам индивидуальных хромосом;

- накапливать сведения об изменениях хромосом в опухолевых клетках, у больных с наследственными заболеваниями крови и т.д.

МЕТОД ВЫЯВЛЕНИЯ ГЕТЕРОЗИГОТНОГО НОСИТЕЛЬСТВА

Для человека, чье гетерозиготное состояние по тому или иному заболеванию установлено, чрезмерно важно не встретиться в браке с носителем подобного рецессивного гена, т.к. риск рождения у них больного ребенка составляет 25% как при первой, так и последующих беременностях. Предположения о гетерозиготности женщины:

- 1) если у женщины поражен отец наследственной болезнью;
- 2) если женщина родила двух или нескольких пораженных сыновей;
- 3) если у женщины поражен брат (или братья), и, кроме того, она имеет пораженного сына или внука (от дочери);
- 4) если женщина имеет двух дочерей, причем у каждой из них родился пораженный сын (или сыновья).

Пути исследования:

1. Клиническое изучение микросимптомов заболевания с выявлением аномалий развития.
2. Использование нагрузочных тестов (прием фенилаланина выявляет повышение его содержания в крови - предположение о гетерозиготности по фенилкетонурии).
3. Микроскопическое исследование клеток крови и тканей.
4. Биологическое определение активности того или иного фермента, пострадавшего в результате мутации гена.

МОЛЕКУЛЯРНО-ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ И МОЛЕКУЛЯРНО-БИОЛОГИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ

Это большая и разнообразная группа методов исследования молекулярной структуры ДНК, основные дифференциально-диагностические тесты, необходимость разработки которых обусловлена генетической природой наследственных заболеваний, их выраженным клиническим полиморфизмом, а также существованием генокопий и фенокопий.

Особое место в этой группе занимают методы ДНК-диагностики (зондовой). Они позволяют диагностировать заболевание на уровне первичного молекулярного дефекта - патологического гена. Ее точность в установлении причины наследственного дефекта абсолютна.

Среди основных методов ДНК-диагностики выделяются:

- дозовый блот-гибризационный анализ;
- анализ полиморфизма длин рестрикционных фрагментов (ПДРФ);
- полимеразная цепная реакция (ПЦР);
- анализ полиморфизма микросателлитных последовательностей.

Благодаря этим методам у врачей появились уникальные возможности эффективного применения в различных областях медицины самых совершенных технологий. В настоящее время в ДНК-диагностике выделяют 4 подхода. Они применяются в зависимости от того:

1. известен или не известен ген данного заболевания,
2. клонирован или нет этот ген или ДНК-копия его тРНК или кодирующей ДНК,
3. известна или нет природа мутации, вызывающей заболевание,
4. насколько широко распространена данная мутация в различных случаях данного заболевания в данной популяции, данном географическом регионе.

Виды ДНК-диагностики:

- подтверждающая,
- пресимптоматическая,
- носительства,
- пренатальная.

Принципиально различают **прямую** и **косвенную** диагностику моногенных наследственных болезней.

Прямые методы возможны лишь при условии, что ген заболевания клонирован, известна его экзон-интронная организация или нуклеотидная последовательность полноразмерной комплементарной ДНК. При прямой диагностике предметом анализа являются мутации гена.

Главным преимуществом прямых методов диагностики является почти 100% эффективность. Прямые методы основаны на технологии ПЦР. Однако в большинстве случаев наследственных заболеваний ген не клонирован или заболевание является генетически гетерогенным, т.е. обусловлено повреждением в разных генах, либо молекулярная организация гена не позволяет использовать прямые гены.

Эти трудности могут быть преодолены с помощью косвенных методов ДНК-диагностики, основанных на использовании сцепленных с геном полиморфных маркеров. В этом случае определяется гаплотип хромосомы, несущей мутантный ген в семьях высокого риска, т.е. у родителей больного и его ближайших родственников. Такой подход возможен практически для всех моногенных заболеваний с известной локализацией гена. Основной недостаток косвенных методов диагностики - обязательное предварительное изучение генотипа (гаплотипа) хотя бы одного пораженного родственника. В случае отсутствия пораженных родственников, «доступных» для обследования, проведение диагностики (за редким исключением) становится невозможным.

СКРИНИРУЮЩИЕ ПРОГРАММЫ

Основной целью скринирующих (просеивающих) программ является выявление того или иного заболевания в доклинической стадии. Прежде всего это касается наследственных болезней обмена. Они включаются в программы массового просеивания, отбираются по ряду критериев (К.Д.Краснопольская, 1986):

1. Заболевания, приводящие к выраженному снижению жизне- и трудоспособности без своевременного выявления и лечения.

2. Заболевания, достаточно распространенные в популяции (частота не менее 1:50 000 - 200 000 новорожденных).

3. Заболевания, которые поддаются лечению с достижением принципиального эффекта для пациента, для которых разработаны эффективные методы профилактики.

4. Заболевания, для которых разработан адекватный просеивающий тест.

Сегодня в числе скринируемых заболеваний: муковисцидоз (частота - 1:1,5-2 000), врожденный гипотиреоз (1:4,7-5 000), недостаточность альфа-1-антитрипсина (1:5 000), фенилкетонурия (1:10 000), гистидинемия (1:23 000), галактоземия (1:35-50 000), лейциноз (1:90-120 000), аргинин-янтарная ацидурия (1:300 000), тирозинемия (1:900 000), недостаточность аденозиндезаминазы (1:1 500 000), болезнь Тея-Сакса (частота в популяции евреев-ашкенази - 1:3 700) и т.д.

Следует подчеркнуть, что процедура скрининга не обеспечивает окончательного диагноза, а выявляет предположительных «больных», которым на втором этапе требуется специализированное углубленное обследование с использованием биохимических, молекулярно-генетических и клинических методов диагностики.

ЛИТЕРАТУРА:

1. «Атопический дерматит у детей: диагностика, лечение и профилактика». Научно-практическая программа. М.: ЗАО «Информатик», 2000. - 76 с.

2. Балахонов А.В. Ошибки развития. - Л.: Изд-во Ленингр. ун-та, 1990. - 280 с.

3. Баранов А.А. и соавт. «Болезни детей раннего возраста» (руководство для врачей), Москва-Иваново, 1996 г.

4. Бочков Н.П. Клиническая генетика: учебник. - 2-е изд., перераб. и доп. - М: ГЭОТАР-МЕД, 2001. - 448 с.: ил. - (XXI век).

5. Вельтищев Ю.Е., и соавт. Прогресс генетики и его значение для педиатрии// Рос. вестн. перинат. и педиатр., №5. - 2001 г. - с. 6-13.

6. «Генетика и медицина». Под редакцией академика Н.П.Бочкова, 1979 г.

7. Демикова Н.С. и соавт. Компьютерная справочно-информационная система по методам исследований при наследственных нарушениях обмена веществ// Рос. вестн. перинат. и педиатр., №6. - 2001 г. - с. 47-49.

8. Капранов Н.И., Каширская Н.Ю. Актуальные проблемы муковисцидоза// Педиатрия, №1 - 1998. - с. 61-66.

9. Клиническая диагностика врожденных пороков развития. Методическое пособие для студентов медицинских ВУЗов и врачей. - М.: ГОУ ВУНМЦ МЗ РФ, 2001. - 32 с.
10. Козлова С.И. с соавт. «Наследственные синдромы и медико-генетическое консультирование». М, 1996 г.
11. Куприянов В.В., Стовичек Г.В. Лицо человека: анатомия, мимика. - М.: Медицина, 1988. - 272 с.: ил.
12. Лазюк Г.И., Лурье И.В., Черствой Е.Д. «Наследственные синдромы множественных врожденных пороков развития», М, 1983 г.
13. Лильин Е.Т. и соавт. «Медицинская генетика для врачей». М, 1990 г.
14. Мазурин А.В., Воронцов И.М. Пропедевтика детских болезней. - СПб: ИКФ «Фолиант», 2000. - с. 671-730.
15. МКБ-10/ Международная статистическая классификация болезней и проблем, связанных со здоровьем. Десятый пересмотр. Том 3 - Алфавитный указатель// ВОЗ, Женева - М.: «Медицина», 1998. - 924 с.
16. Мутовин Г.Р. Основы клинической генетики. Учебное пособие для мед. и биол. спец. вузов - Изд. 2-е, перераб. и доп. / М.: «Высшая школа», 2001, 234 с., ил.
17. Мухина Ю.Г. Особенности целиакии у детей./ Лечащий врач, 1999. - №6. - с. 8-10.
18. Наследственные болезни и медико-генетическое консультирование: республиканский сборник научных трудов / под ред. член.-корр. АМН СССР проф. Шабалина В.Н., проф. Серовой Л.Д. - М.: МОНИКИ, 1991, 108 с.
19. Национальная программа «Бронхиальная астма у детей. Стратегия лечения и профилактика»/ Москва, 1997. - с. 23-24.
20. Пайков В.Л., Хацкель С.Б., Эрман Л.В. Гастроэнтерология детского возраста в схемах и таблицах: Справочное руководство. - СПб: «Специальная литература», 1998. - с. 274-300.
21. Педиатрия: пер. с англ. доп.// Гл.ред. Володин Н.Н., научн. ред. Булатов В.П., Рокицкий М.Р., Улумбеков Э.Г. / М.: ГЭОТАР, 1996. - с.205-244.
22. Перспективы медицинской генетики / Под ред. Бочкова И.П. Совместное издание СССР - НРБ - ВНР - ГДР - ПНР - ЧССР - М.: Медицина, 1982, 400 с.
23. Ревнова О.М., Лайл Х.Б. Клинические аспекты целиакии у детей/ Педиатрия, 2000. - №5. - с. 107-110.
24. Рыбакова К.Д. Мутагенное и тератогенное действие факторов внешней среды на организм человека Автореферат дисс. ... канд. мед. наук / Москва, 1981, 32 с.
25. Тератология человека. Руководство для врачей.//Кириллова И.А., Кравцова Г.И., Кручинский Г.В. и др.: Под ред. Лазюка Г.И. - 2-е изд., перераб. и доп. - М.: Медицина, 1991. - 480 с.: ил.
26. Трошин В.М., Радаева Т.М.«Медицинская генетика», Н-Новгород, 1992 г.
27. Физиологическая генетика / под ред. Лобашева М.Е., Инге-Вечтомови С.Г. / Л., «Медицина», 1976, 472 с.
28. Ходос Г. «Малые аномалии развития и их клиническое значение», Иркутск , 1984 г.