

Предмет медицинской генетики.

Методы
медико-генетического исследования.

Организация медико-генетической
службы в Республике Беларусь

Чистый Антон Геннадьевич,
к.м.н., доцент 2-я кафедра детских болезней

МЕДИЦИЦИНСКАЯ ГЕНЕТИКА

- Медицинская генетика является наукой изучающей закономерности и причины возникновения наследственных болезней, характер их наследования в семьях, распространение в популяциях, специфические процессы на клеточном и молекулярном уровнях

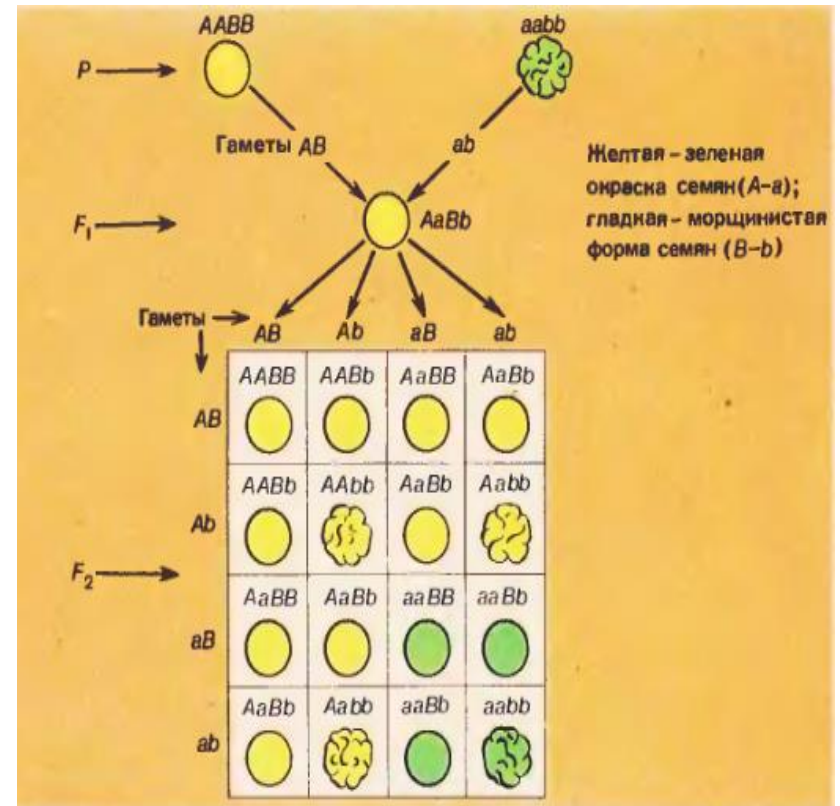
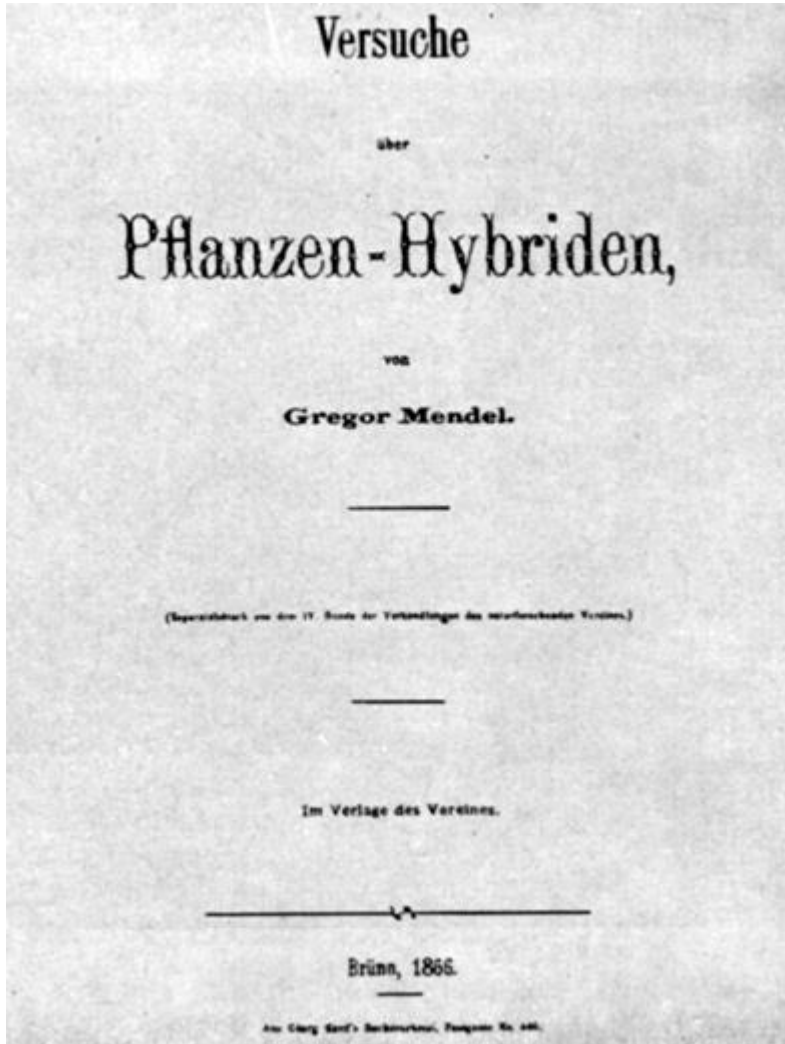


Задачи медицинской генетики

- Изучение причин возникновения наследственных болезней.
 - Изучение характера наследования их в семьях.
 - Изучение распространения наследственных заболеваний в популяциях.
 - Изучение патогенеза, клиники, лечения, профилактики наследственных болезней.
 - Изучение наследственной предрасположенности и резистентности.
 - Изучение условий возникновения и путей профилактики наследственной изменчивости (геномные, хромосомные, генные мутации).
 - Разработка новых методов генной инженерии.
 - Разработка методов пренатальной диагностики.
 - Разработка и совершенствование форм медико-генетического консультирования
-



Основные этапы развития генетики и медицинской генетики



Основные этапы развития генетики и медицинской генетики

- Английский врач Адамс (1756-1818) в своём труде «Трактат о предполагаемых наследственных свойствах болезней» сделал ряд замечательных выводов, Вот некоторые из них:
 - 1. Существуют семейные и наследуемые факторы.
 - 2. При семейных заболеваниях родители чаще состоят в родстве.
 - 3. Наследственные заболевания могут проявляться в разном возрасте.
 - 4. Существует предрасположенность к заболеваниям, которая приводит к заболеванию при воздействии внешних факторов.
 - 5. способность у многих больных с наследственными заболеваниями снижена.
-



Основные этапы развития генетики и медицинской генетики

- В 1956 году шведские генетики Д. Тио и А. Леван, а также британцы С. Форд и Д. Хамертон установили конкретное число хромосом (46), присущее человеку
- 1959 год Ж. Лежен открыл трисомию по 21-й хромосоме при синдроме Дауна
- 1960 год К. Патау открыл трисомию по 13 хромосоме (синдром Патау)
- 1960 год Ж. Эдвардс с сотр. - трисомию по 18 хромосоме (синдром Эдвардса)
- 1966 г. стало возможным выявление клеток с хромосомными aberrациями в амниотической жидкости, что положило начало пренатальной диагностике синдрома Дауна и других хромосомных заболеваний при помощи амниоцентеза
- 1980 г. стало возможным картирование генов



Роль наследственности в развитии патологии у детей



Понятие о наследственной и врожденной патологии.

- Врожденными называют любые заболевания, проявляющиеся сразу после рождения ребенка. Они могут быть наследственными и ненаследственными.
- К числу наследственных болезней относятся лишь те, в основе которых лежат структурные изменения в генетическом материале. Одни из них клинически проявляются уже в первые дни после рождения, другие — в юношеском, зрелом, а иногда и в пожилом возрасте.



Понятие о наследственной и врожденной патологии.

- Ненаследственные болезни обусловлены действием неблагоприятных факторов среды на развивающийся плод в период беременности и не затрагивают его генетический аппарат.
- Фенокопия представляет собой клинический синдром, возникающий под влиянием факторов внешней среды в период эмбрионального развития, сходный по своим проявлениям с наследственным заболеванием, но имеющий негенетическую природу возникновения («волчья пасть», «заячья губа», могут быть и наследственно обусловленными (синдром Патау), и ненаследственными, возникающими в результате нарушения эмбрионального развития)



- Ни у одного биологического вида, в том числе и у человека, нет резкой границы между наследственной изменчивостью, ведущей к нормальным вариациям признаков, и наследственной изменчивостью, определяющей патологические вариации (наследственные болезни).
- Большинство мутаций увеличивает полиморфизм человеческих популяций (группы крови, цвет волос, рост, разрез глаз и т.д.), но в ряде случаев мутации затрагивают жизненно важные функции, а это уже приводит к болезни.
- Патологические мутации различны по способности сохраняться и распространяться в популяциях. Одни из них, позволяющие их носителю сохранять плодовитость и не вызывающие серьезных неблагоприятных сдвигов в фенотипе, могут передаваться из поколения в поколение длительное время.
- Вероятность возникновения и фиксации в популяциях какой-либо мутации с положительным эффектом в эволюционно «отлаженном» человеческом организме существует и в настоящее время, но она крайне мала. Практически всегда новые мутации обладают отрицательным эффектом.



-
- К эффектам мутационного груза относится **летальность**. Она проявляется на уровне гибели гамет, зигот, эмбрионов, плодов, детей. Наиболее интенсивно летальные эффекты выражены в человеческих популяциях на уровне зигот. Примерно 60% зигот погибает до имплантации, т.е. до клинически регистрируемой беременности
 - Средние показатели по странам Европы (2010-2017):
Исходы всех клинически зарегистрированных беременностей распределяются следующим образом: спонтанные аборты – 9-15%, мертворождения – 0,8-1,2% и живорождения - 84%. Из 1000 новорожденных не менее 5 умирают в возрасте до года по причине наследственной патологии, не совместимой с жизнью. Таков объем летального груза мутационной изменчивости в популяциях человека с медицинской точки зрения.
-



МЕТОДЫ МЕДИКО-ГЕНЕТИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ



Методы медицинской генетики

специальные методы:

- цитогенетический,
- биохимический,
- молекулярно-генетический
- клинико-генеалогический метод,
- иммунологический
- близнецовый

дополнительные (лабораторные, инструментальные) методы исследования:

- ультразвуковое исследование внутренних органов,
 - рентгенография,
 - магнитно-резонансная томография,
 - электромиография,
 - ЭхоКГ и др.
-



Генеалогический метод

- Основу генеалогического метода составляет анализ родословных таблиц, для формирования которых Г. Юст (1931 год) предложил, используемые и в настоящее время, условные обозначения



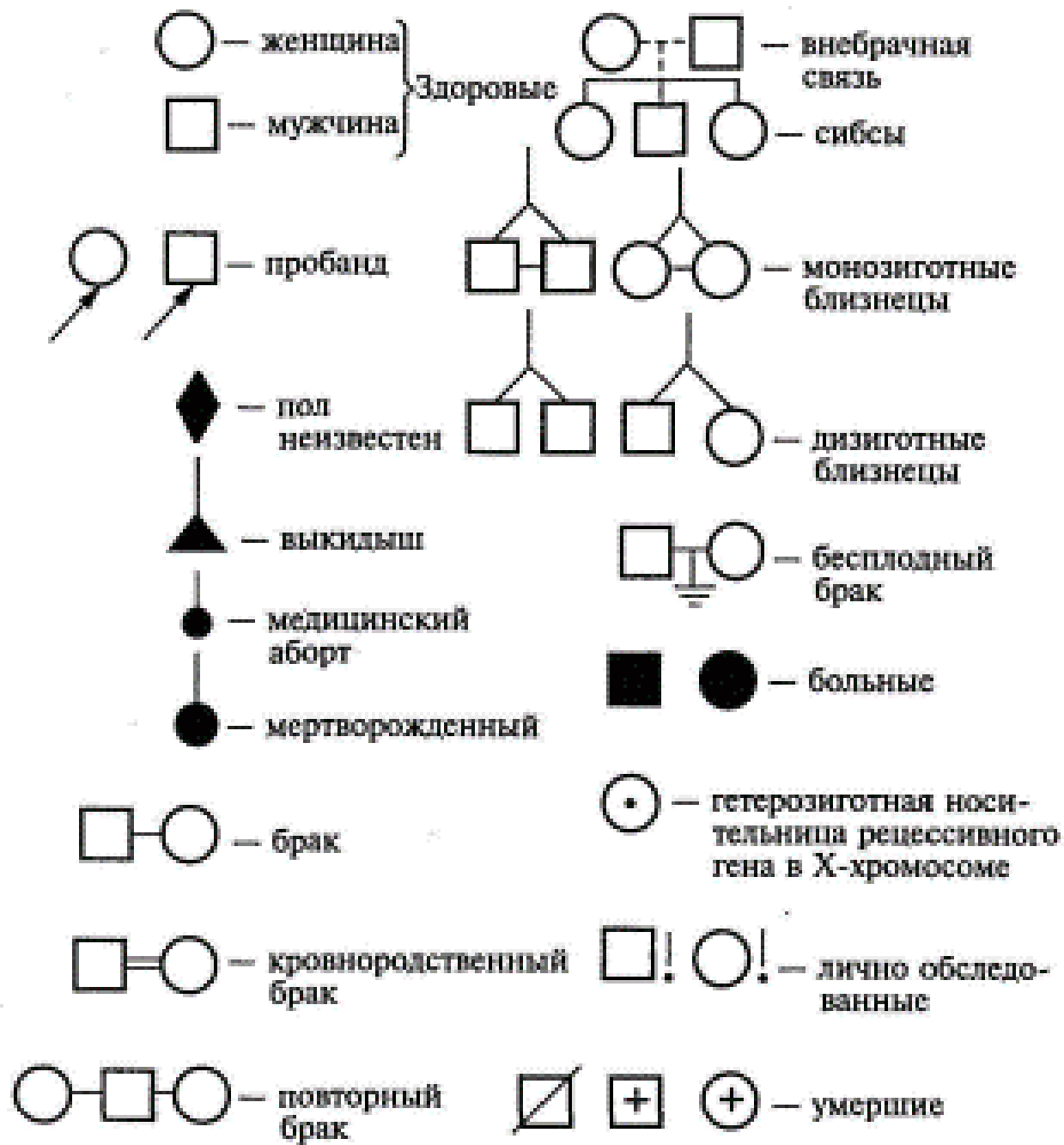


Рис. 3.3. Символы, используемые при составлении родословной

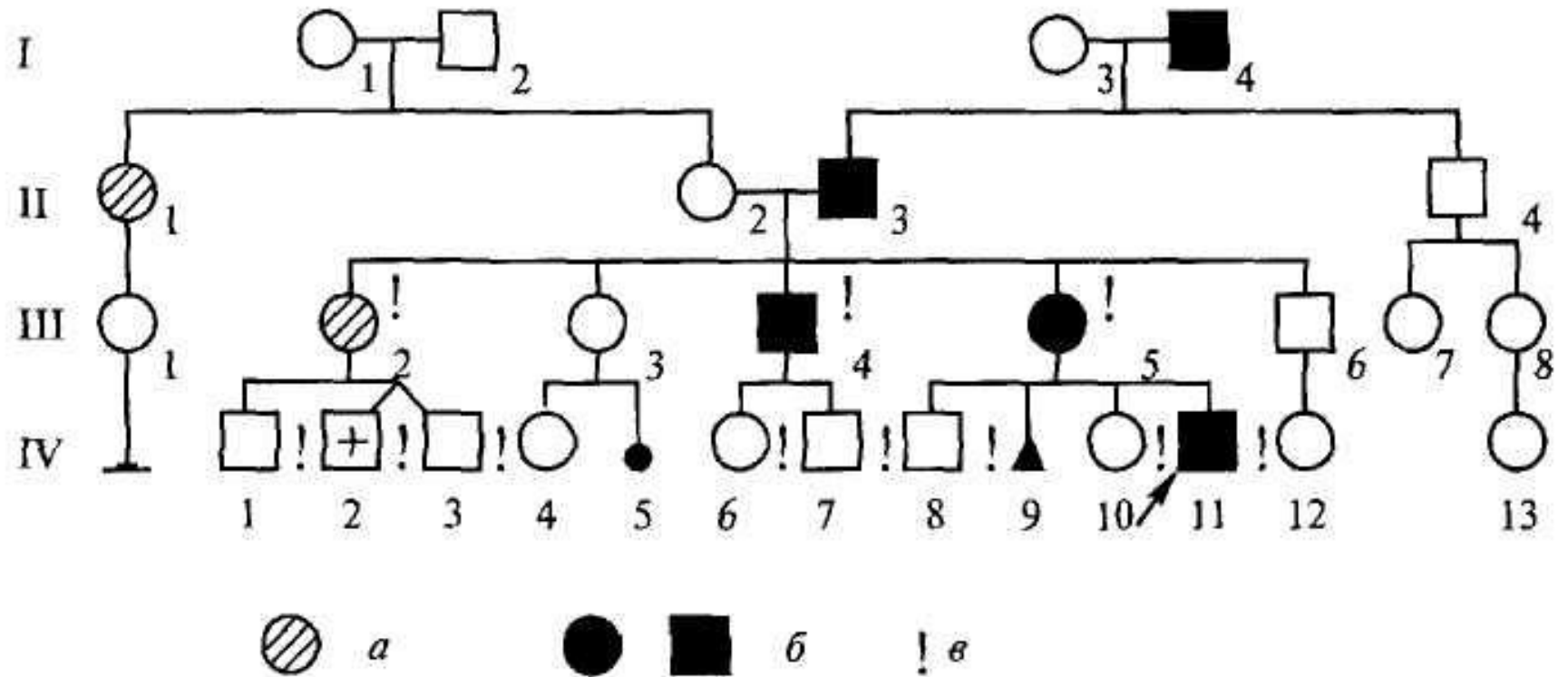
Генеалогический метод предназначен для

- установления наследственного характера признака;
 - определения типа наследования признака или заболевания;
 - оценки пенетрантности гена;
 - анализа сцепления генов и картирования хромосом;
 - изучения интенсивности мутационного процесса;
 - расшифровки механизмов взаимодействия генов
-



Генеалогический метод

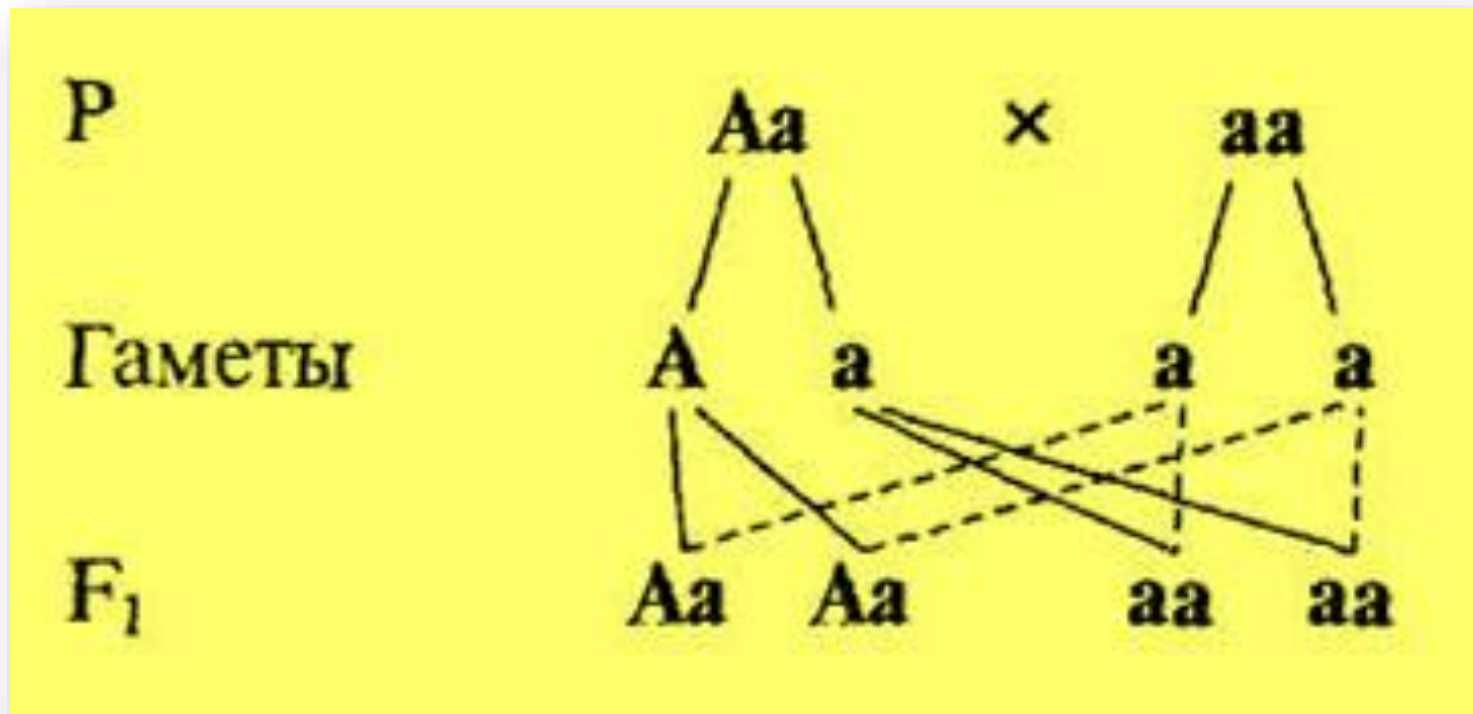
ПРИМЕР



Пример составления «клинической» родословной:

a — больные сахарным диабетом, *b* — больные нейрофиброматозом; *v* — лично обследованные

Аутосомно-доминантные



Аутосомно-доминантные

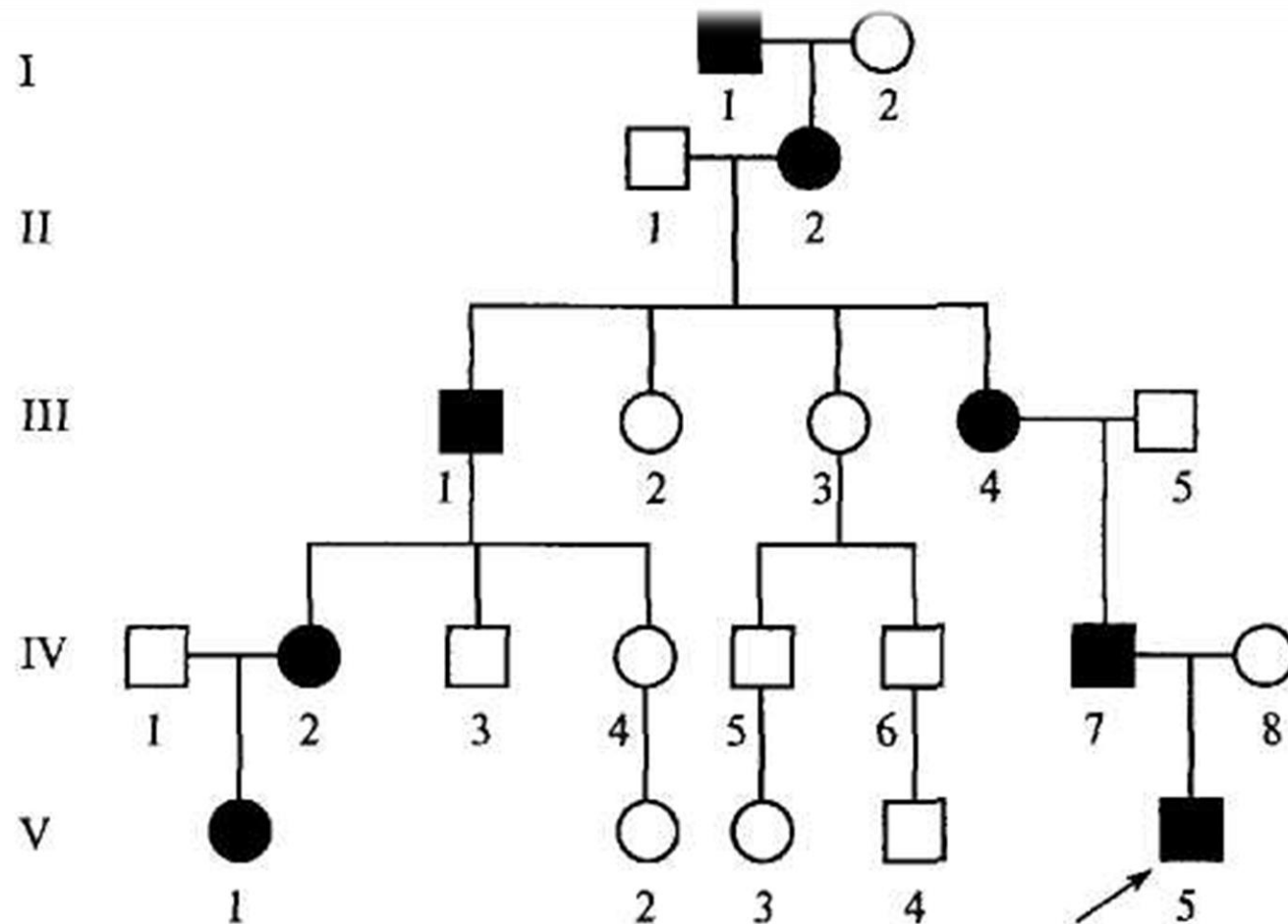
При данном типе наследования признак проявляется в гетерозиготном состоянии, в гомозиготном является летальным.

Доминантное наследования характеризуются тем, что:

- заболевание передается из поколения в поколение без пропусков (кроме случаев новых мутаций);
- риск рождения больного ребенка, при наличии заболевания у одного из родителей, составляет 50%;
- у больного индивида болен один из родителей (исключая случаи новых мутаций);
- оба пола поражаются с одинаковой частотой.



Аутомно-доминантные



Частота некоторых аутосомно-доминантных заболеваний и % новых случаев

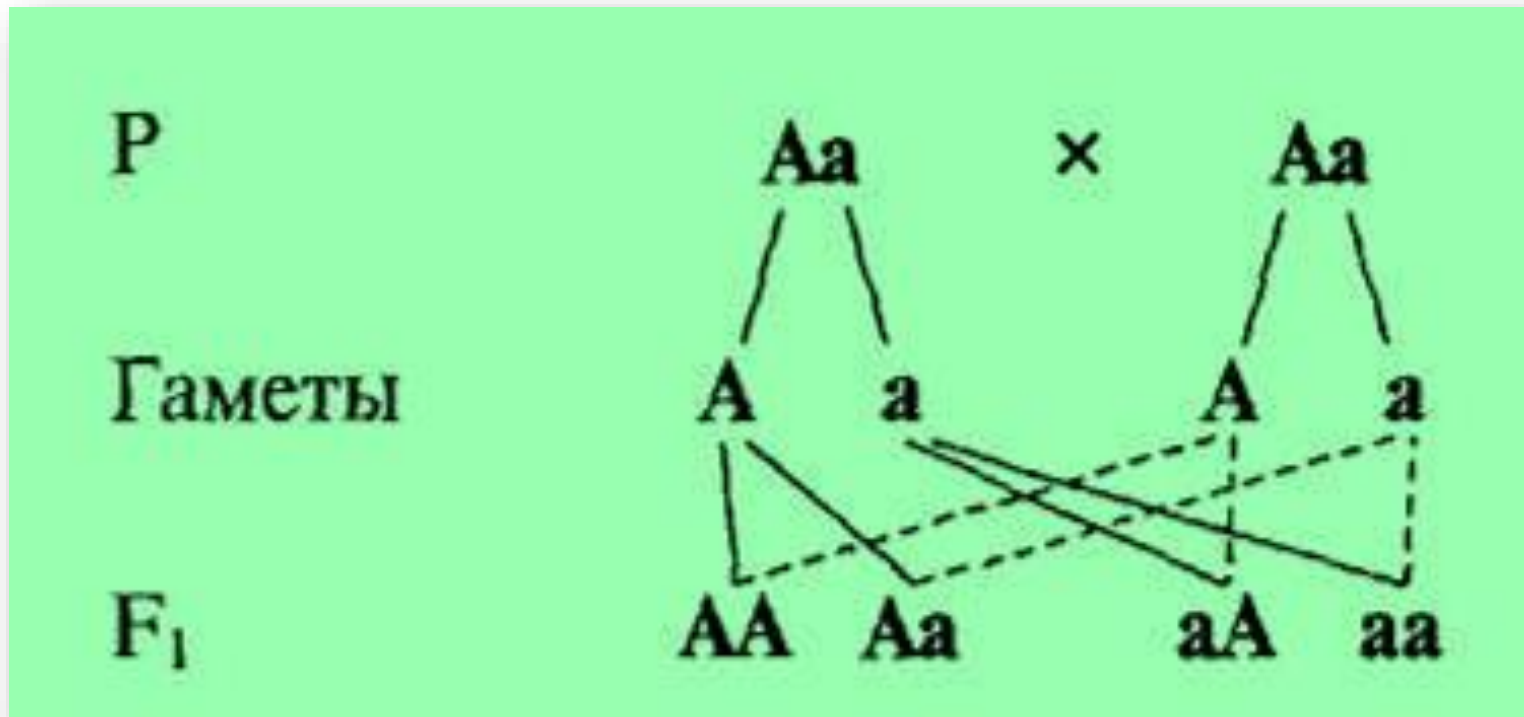
Заболевание	Частота в популяции	Процент случаев в результате мутации de novo
Ахондроплазия	1/100 000	80
Гентингтона болезнь	1/14 000	4
Марфана синдром	1/10 000	30
Миотоническая дистрофия	1/10 000	25
Нейрофиброматоз 1-го типа	1/4000	40
Несовершенный остеогенез	1/5000	?
Оссифицирующий миозит	1/1 500 000	99
Элерса — Данло синдром (все формы)	1/5000	?

Примеры заболеваний с аутосомно-доминантным типом наследования

1. Синдром марфана
2. Боковой амиотрофический склероз
3. Болезнь хантингтона
4. Нейрофиброматоз



Аутосомно-рецессивные



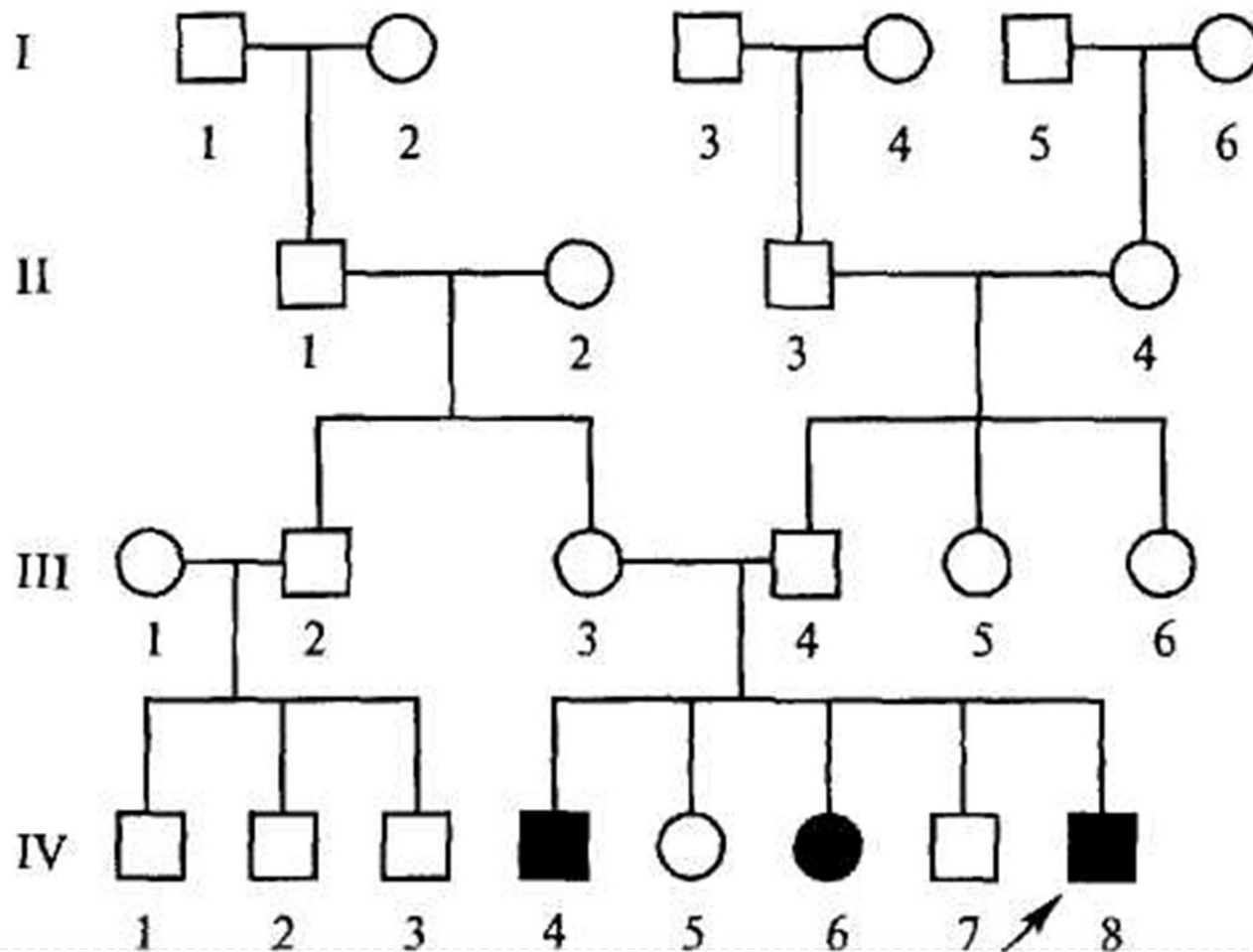
Аутосомно-рецессивные

При аутосомно-рецессивном наследовании признак проявляется только в гомозиготном состоянии

Особенности наследования заключаются в следующем:

- родители пробанда здоровы, но аналогичное заболевание может обнаруживаться у родных, двоюродных, троюродных сибсов пробанда - заболевание прослеживается по горизонтали;
- у больного родителя рождаются здоровые дети;
- риск рождения больного ребенка равен 25%;
- в случае кровно-родственных браков наблюдается увеличение числа заболеваний в родословной.

Аутосомно-рецессивные



Частота некоторых рецессивных заболеваний и частота гетерозиготного носительства

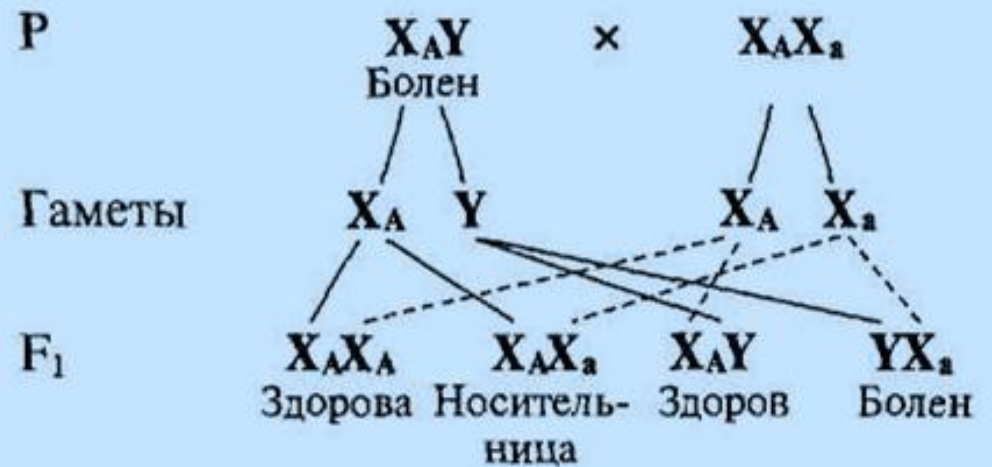
Заболевание	Частота среди новорожденных	Частоты гетерозигот
Муковисцидоз	$1/1600 - 1/3000$	$1/20 - 1/28$
Адреногенитальный синдром	$1/5000$	$1/33$
Фенилкетонурия	$1/10\ 000$	$1/50$
Галактоземия	$1/28\ 000$	$1/77$
Альбинизм глазоконный тираминазонегативный	$1/40\ 000$	$1/100$
Алкаптонурия	$1/100\ 000$	$1/160$
Гомоцистинурия	$1/150\ 000$	$1/195$

Примеры заболеваний с аутосомно-рецессивным типом наследования

1. муковисцидоз
2. фенилкетонурия
3. Болезнь вильсона-коновалова
4. Болезнь глинового сиропа
5. Болезнь гирке
6. Болезнь краббе



X-сцепленный рецессивный



X-сцепленный рецессивный

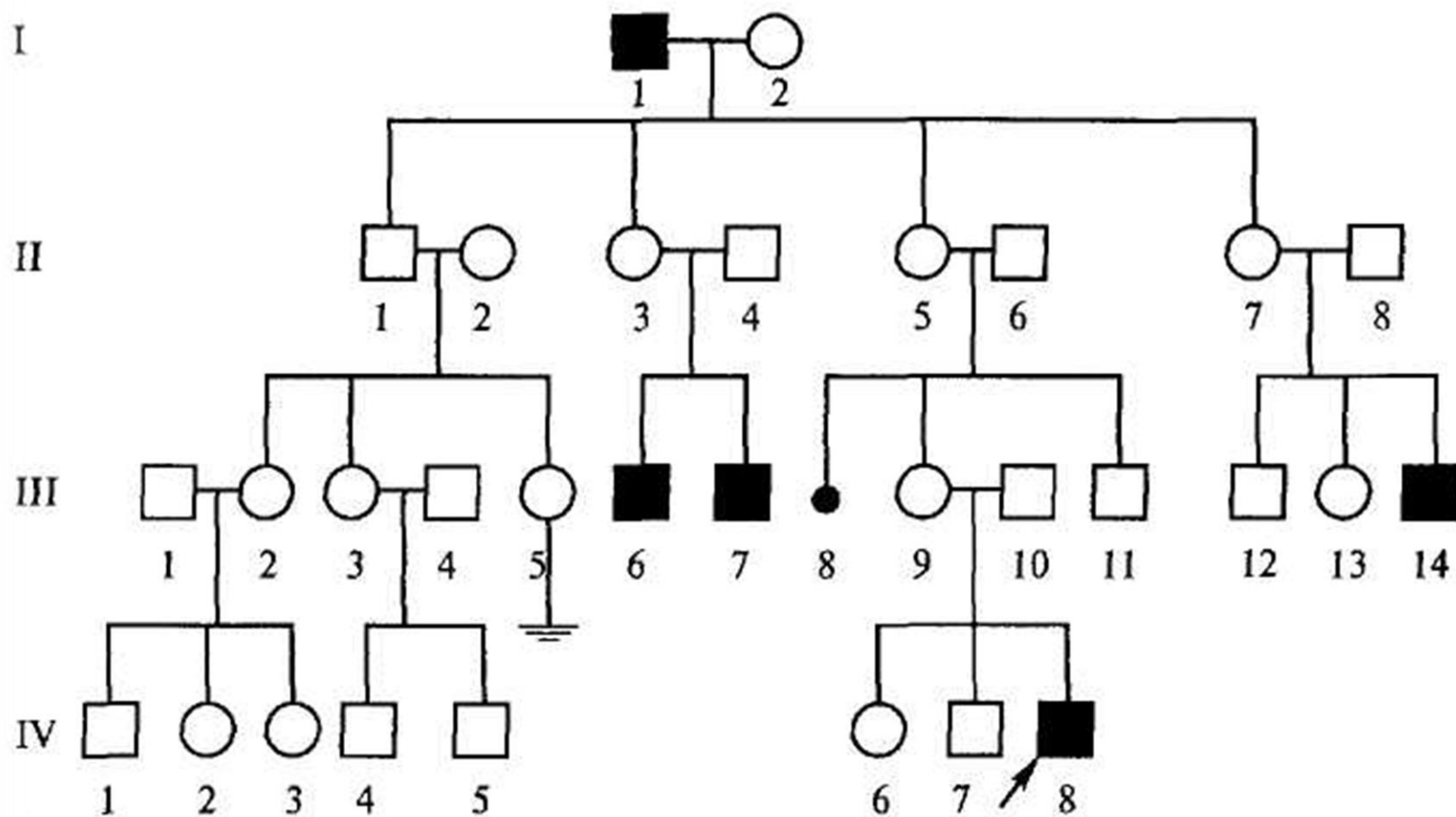
При X - сцепленной передаче признак наследуется только от матери и проявляется у особей мужского пола.

Особенностями наследования, сцепленного с полом, являются:

- заболевание наблюдается у мужчин-родственников пробанда по материнской линии;
- сыновья никогда не наследуют заболевание отца;
- у больного отца все его дочери здоровы и являются гетерозиготными носителями мутантного гена;
- если женщина является гетерозиготным носителем мутантного гена, то половина ее сыновей больны, а все дочери здоровы, но половина из них являются гетерозиготными носителями мутантного гена



X-сцепленный рецессивный

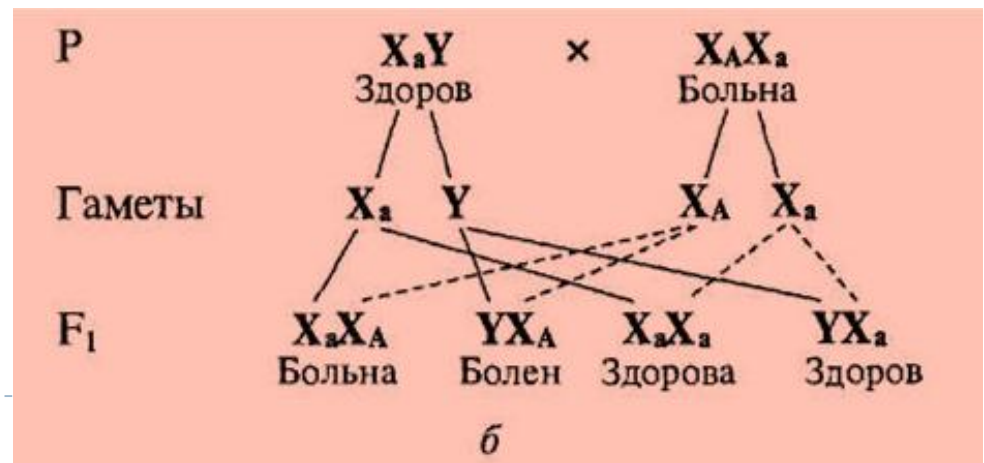
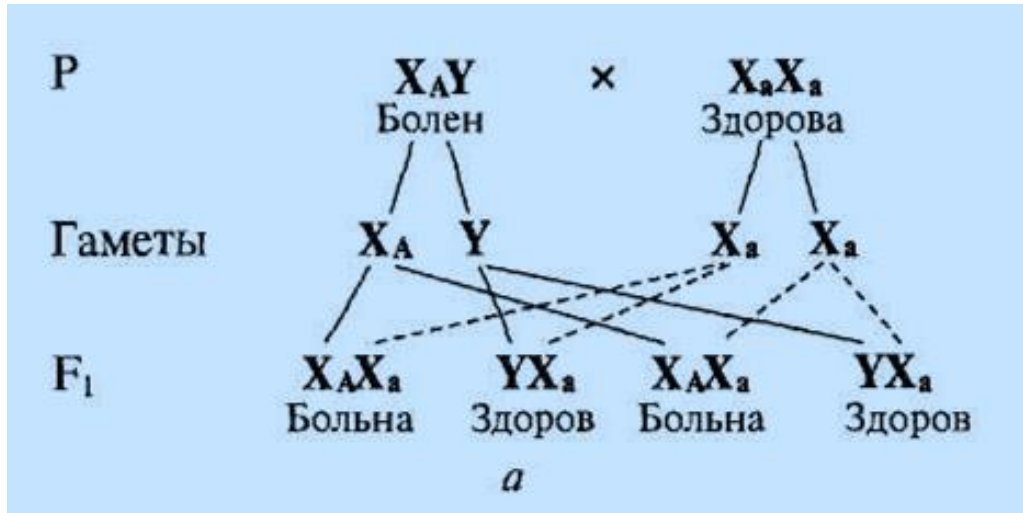


Примеры заболеваний X-сцепленным рецессивным типом наследования

1. Гемофилия А и В
2. Дальтонизм
3. миопатию Дюшена
4. синдром Вискотта-Олдрича
5. X-сцепленную адренолейкодистрофию
6. X-сцепленный тяжелый комбинированный иммунодефицит



X-сцепленный доминантный



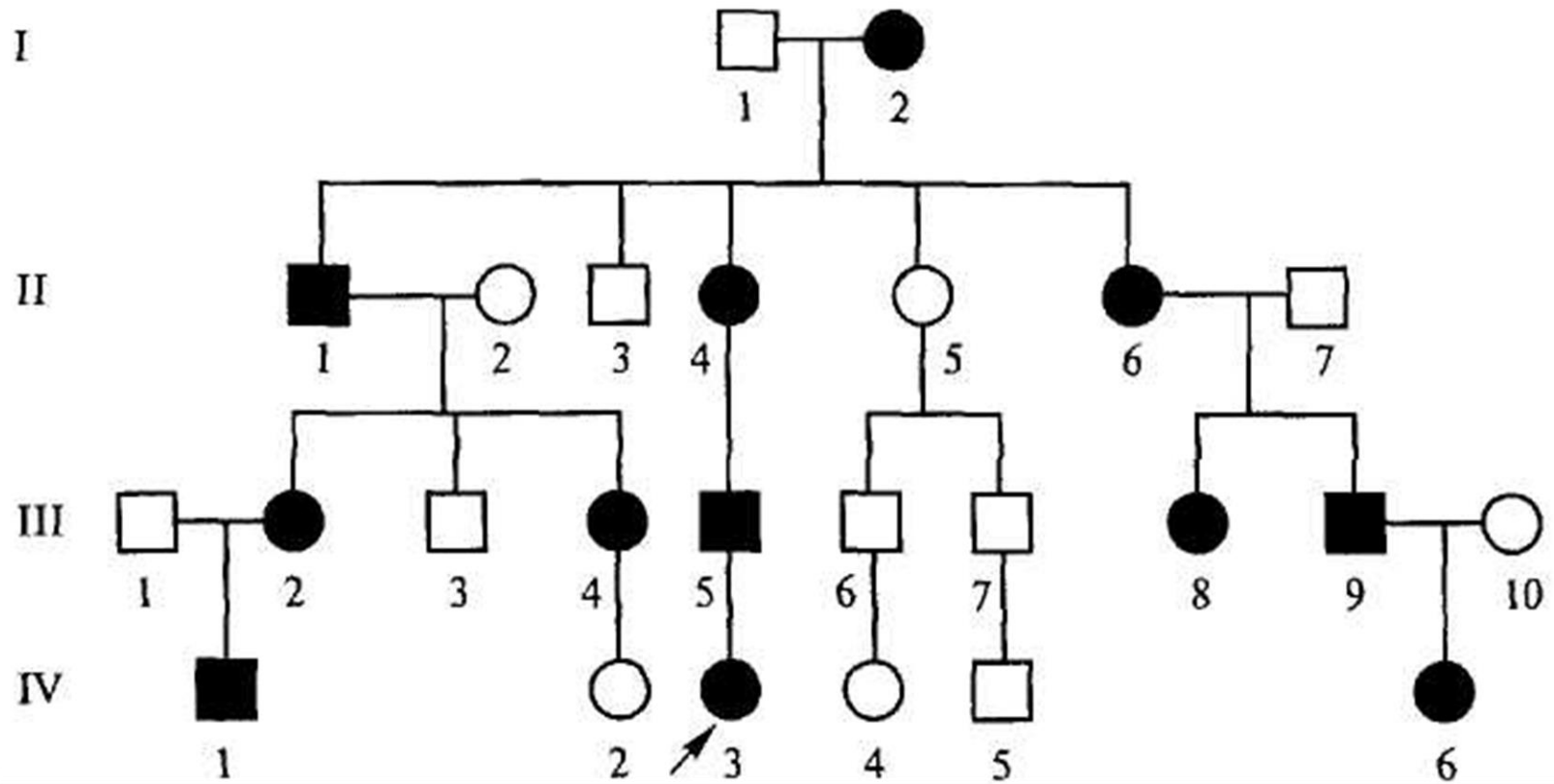
X-сцепленный доминантный

Признак передается и от отца, и от матери, болеют особи того и другого пола. Особенности данного типа наследования являются:

- 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;
 - больных женщин в 2 раза больше, чем больных мужчин.
-



X-сцепленный доминантный



X-сцепленный доминантный

- фосфатдиабет
- синдром Ретта
- синдром Коффина-Лоури
- Синдром Гольца

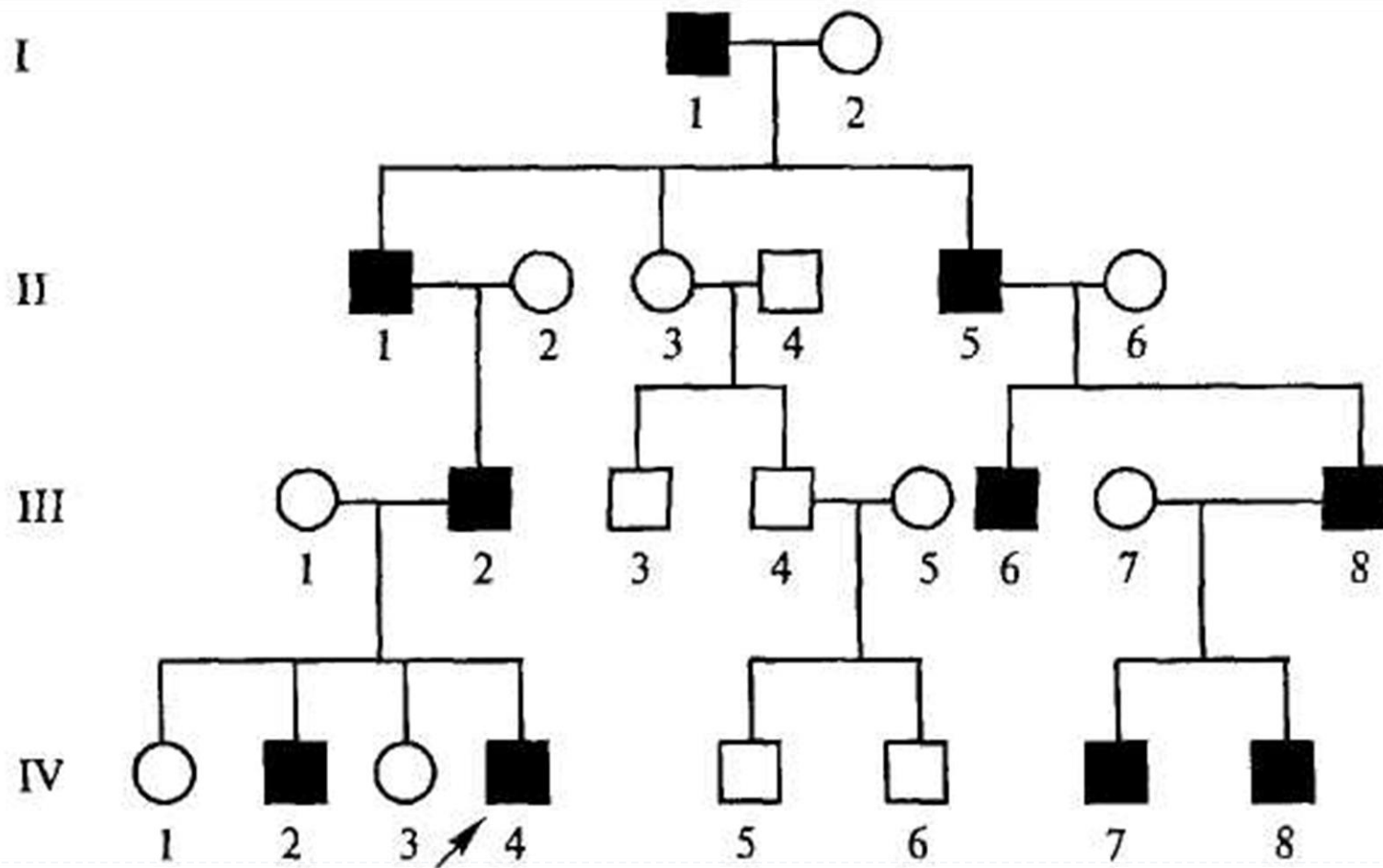


Y-сцепленный тип

Y-сцепленные заболевания, как правило, возникают вследствие мутаций *de novo*. Мальчики, которые получили от своего отца мутацию, нарушающую развитие и функционирование мужских гонад, оказываются стерильными и не могут передать ее своему потомству, поэтому родословные оказываются неинформативными. Однако описаны семьи, в которых Y-микроделеция наследовалась.



Y-сцепленный тип



Митохондриальные болезни

Митохондриальные болезни - большая группа наследственных заболеваний, обусловленных нарушением структуры и биохимических процессов в митохондриях. С точки зрения патогенеза можно выделить три основные группы митохондриальных болезней, которые обусловлены нарушением:

- 1) окисления жирных кислот, включая карнитиновый цикл;
- 2) метаболизма пирувата и цикла трикарбоновых кислот;
- 3) процессов окислительного фосфорилирования

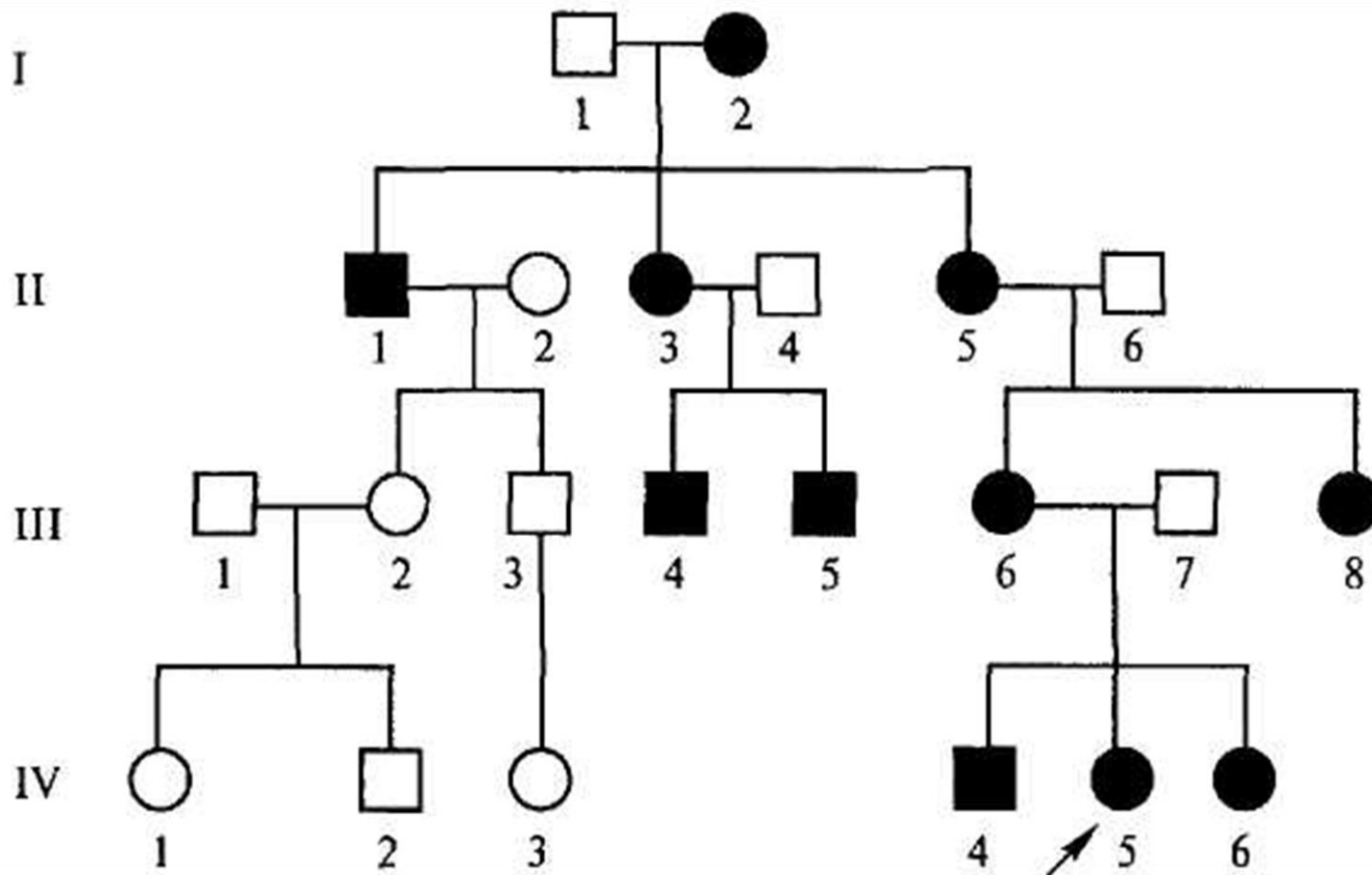


Митохондриальные заболевания

- митохондриальный сахарный диабет, сопровождающийся глухотой
- наследственная оптическая нейропатия Лебера
- синдром Вольфа-Паркинсона-Уайта
- рассеянный склероз и подобные ему заболевания
- синдром Лея или подострая некротизирующая энцефаломиопатия
- нейропатия, атаксия, retinitis pigmentos и птоз
- нейропатии, атаксии, туннельное зрение и потеря зрения, птоз, деменция;
- митохондриальная нейрогастроинтестинальная энцефалопатия



Митохондриальная наследственность



Цитогенетический метод

Цитогенетическое исследование может проводиться в двух вариантах:

- **исследование полового хроматина**
- **исследование кариотипа клетки.**

В клетках женских организмов одна X - хромосома в интерфазе инактивирована, находится в спирализованном состоянии и при окраске клеток ядерными красителями определяется у ядерной оболочки в виде глыбки (половой хроматин, тельце Барра).

Обычно телец Барра на единицу меньше, чем половых X-хромосом в кариотипе, что позволяет использовать эту методику в клинико-лабораторной диагностике.



Цитогенетический метод

Исследование полового хроматина проводится при:

- любом нарушении дифференциации пола у детей и взрослых;
- подозрении на синдром Шерешевского-Тернера;
- первичной аменорее, недоразвитии вторичных половых признаков, задержанном или преждевременном половом развитии, сочетающихся с умственной отсталостью или своеобразным психическим дефектом, а так же у матерей имеющих детей с аномалией половых хромосом;
- у мужчин страдающих бесплодием, недоразвитием вторичных половых признаков, женоподобным телосложением (с умственной отсталостью или без нее);
- необходимости внутриутробного определения пола в семьеотягощенной заболеваниями, сцепленными с X - хромосомой.



Исследование кариотипа клетки (кариотипирование)

- Процесс осуществляется при более сложных методах получения материала, его подготовки, окраски хромосом и их изучения.
- Чаще всего хромосомы исследуют в лейкоцитах периферической крови, хотя возможно их исследование в клетках спинного мозга, опухолей, эмбриональной ткани, пунктате лимфатических узлов, селезенки, хориона, мейотических клетках половых желез.
- **Возможны прямое и не прямое исследования хромосом.**
- При прямом методе свежий материал (клетки костного мозга, опухолей, эмбриональных тканей, клетки хориона, пунктата лимфатических узлов, селезенки и т.д.) подвергается соответствующей обработке и изучению сразу же после его получения.
- При методе непрямого исследования материал (лимфоциты, клетки амниотической жидкости, фибробласты) предварительно культивируется на питательных средах, а потом подвергается необходимой подготовке, конечным этапом которой является окрашивание препарата и микроскопирование.



Исследование кариотипа клетки (кариотипирование)

- у всех лиц с выявленной патологией полового хроматина;
- у детей с множественными пороками развития;
- при олигофрении в сочетании с чертами внутриутробного дисгенеза или врожденными пороками развития, или врожденным физическим недоразвитием, гипогенитализмом;
- у женщин, страдающих повторными спонтанными абортами, имеющих в анамнезе мертворожденных детей или детей с пороками развития (обследованию подлежат и их мужья);
- у родителей умерших детей с множественными врожденными пороками развития или установленным хромосомным синдромом;
- у сибсов пробанда и других родственников детородного возраста в случае выявления структурной перестройки у пробанда и сбалансированного носительства транслокации или инверсии у матери или отца;
- для определения кариотипа плода у женщин с высоким риском рождения плода с хромосомной патологией.



БИОХИМИЧЕСКИЙ МЕТОД

- Обобщенно биохимические методы могут быть подразделены на качественные (выявление фенилкетонурии, заболевания при котором фенилаланин не превращается в тирозин, а превращается в фенилпировиноградную кислоту, которая, в свою очередь - в фенилмолочную, фенилуксосную кислоты и фенилацетилглутамин), которые указывают на наличие или отсутствие определенного вещества в организме, и количественные, определяющие количество исследуемого вещества в организме (количественное определение метаболитов, путей их превращений, степени накопления).
- На основе биохимических методов создаются просеивающие (скрининг) программы



Биохимические методы:

- хроматография (жидкостная, газовая)
- масс-спектрометрия
- магнитная резонансная спектроскопия
- электрофорез



ИММУНОЛОГИЧЕСКИЙ МЕТОД

- Основаны на изучении антигенного состава клеток и жидкостей организма – крови, слюны, желудочного сока и пр.
- Иммунологические методы позволяют выявлять антигенную несовместимость матери и плода, устанавливать отцовство, определять предрасположенность к болезням. С помощью иммунологических методов возможно проведение анализа гамма-глобулинов, определение количества Т- и В-лимфоцитов, комплимента, HLA-антигенов в крови и т.д



Молекулярно-генетические методы

В основе всех методов молекулярно-генетической диагностики наследственных болезней лежит технология рекомбинантных ДНК или генная инженерия



Молекулярно-генетические методы

- 1. Метод секвенирования — определение нуклеотидной последовательности ДНК. Таким методом полностью определена последовательность нуклеотидов генов глобина, некоторых гормонов (инсулина, гормона роста, пролактина и др.).
- 2. Метод полимеразной цепной реакции (используется для увеличения числа фрагментов ДНК).
- 3. Метод получения праймеров, соответствующих известным генам.
- 4. Метод гибридизации нуклеиновых кислот.
- 5. Метод клонирования ДНК.
- 6. Метод получения рекомбинантных молекул ДНК.
- 7. Метод получения белков с помощью рекомбинантных молекул ДНК



Молекулярно-генетические методы

Методы молекулярной генетики позволяют:

- идентифицировать мутации в гене. (диагностика серповидно-клеточной анемии в эмбриональном периоде).
- диагностировать моногенное наследственное заболевание путем определения нуклеотидной последовательности генов (гемофилия, гемоглобинопатия) и выявления мутантных генов (фенилкетонурия, муковисцидоз);
- осуществлять генетический анализ полиморфизма ДНК родителей и детей;
- определять индивидуальную изменчивость ДНК человека по переменным точкам ДНК, молекулярный анализ которых позволяет проводить идентификацию личности человека);
- выделять и синтезировать гены (выделение, синтез и клонирование генов является одним из этапов генной инженерии).



Близнецовый метод

- Близнецовый метод основан на изучении фенотипа и генотипа близнецов для определения степени влияния среды на развитие различных признаков.
- В 1876г Ф.Гальтон предложил использовать этот метод для разграничения влияния наследственности и среды на развитие различных признаков у человека.
- Наиболее интересными для изучения являются однояйцевые близнецы, т.к. они имеют одинаковый генетический материал, всегда одного пола. Сходство у таких близнецов почти абсолютное. Мелкие различия могут объясняться влиянием условий развития.



Близнецовый метод

- Близнецовый метод позволяет определить степень проявления признака у пары, влияние наследственности и среды на развитие признаков.
- Все различия, которые проявляются у однояйцевых близнецов, имеющих одинаковый генотип, связаны с влиянием внешних условий. Большой интерес представляют случаи, когда такая пара была по каким-то причинам разлучена в детстве и близнецы росли и воспитывались в разных условиях.
- Таким образом, близнецовый метод позволяет выявить роль генотипа и факторов среды в формировании признака



Методы изучения близнецов

1. Сравнение однояйцевых близнецов между собой (внутрипарное сравнение)
2. Экспериментальное сравнение однояйцевых близнецов (контрольно-близнецовых метод)
3. Сравнение однояйцевых с двуяйцевыми
4. Сравнение близнецов с другими братьями и сестрами
5. Сравнение однояйцевых близнецов, выросших отдельно, с выросшими вместе



Популяционный метод

- Популяционный метод изучает распространенность наследственной патологии в зависимости от демографической, этнической и других особенностей популяции, а также различий факторов внешней среды.
- Популяционно-статистические методы используются для определения:
 - частоты генов и генотипов в популяциях;
 - степени гетерозиготности и клинико-генетического полиморфизма;
 - изменение частоты генов под влиянием отбора;
 - степень влияния факторов популяционной динамики на частоту генов и клинических фенотипов;
 - степень экспрессии генов под влиянием средовых факторов;
 - степень межпопуляционного генетического разнообразия различных популяций;
 - тип наследственной передачи заболевания в исследуемых популяциях



Популяционный метод

- В 1908 году английским математиком Г.Х. Харди (G.M. Hardy) и немецким врачом В. Вайнбергом (W. Weinberg) был установлен закон, отражающий соотношение генотипов в ряду поколений.
- Согласно этому закону в ряду поколений сохраняется равновесие генных частот и частот генотипов, если никакие особые факторы не нарушают это равновесие.
- При изменении любого из условий равновесия соотношение численности обоих генов нарушается.
- **К этим условиям относятся кровнородственные браки, уровень миграционных процессов, ограничение скрещивания, мутации, степень изолированности популяции, отбор и др.**
- При рассмотрении закона Харди-Вайнберга чаще всего речь идет о большой панмиксной популяции.



Организация медико-генетической службы в Республике Беларусь

- В Республике Беларусь выделяю 4 уровня оказания медико-генетической помощи:
- Практические врачи разных специальностей, которые осуществляют первичное выделение группы лиц имеющих признаки наследственной патологии или нуждающихся в медико-генетическом консультировании/
- Медико-генетические кабинеты, организованные при областных медучреждениях или в крупных городах



Организация медико-генетической службы в Республике Беларусь

- Медико-генетическими консультациями, организованные при республиканских лечебно-диагностических медучреждениях
- Белорусский научно-исследовательский институт наследственных и врожденных заболеваний человека.
- Подразумевается, что каждый последующий уровень позволяет решать возрастающие по сложности диагностические, лечебные, организационные, научные вопросы



Показания для направления на консультацию в медико-генетические кабинеты (консультации)

- Наследственный дефект подозревается, и для уточнения диагноза требуются генетические методы исследования.
 - • Диагноз наследственной болезни поставлен, но пробанд или его родственники хотят знать прогноз для будущего или уже имеющегося потомства.
 - В семье предполагается рождение больного ребенка по тем или иным причинам (кровнородственный брак, прием лекарств во время беременности, вирусные заболевания беременной и т.д.).
 - Наличие аналогичных заболеваний или симптомов у нескольких членов семьи.
-



Показания для направления на консультацию в медико-генетические кабинеты (консультации)

- Отставание ребенка в физическом или умственном развитии.
 - Наличие диспластических черт развития в сочетании с другими патологическими признаками: низкий рост, судорожный синдром, и т.д.
 - Врожденные пороки развития.
 - Первичное бесплодие у супругов.
 - Первичная аменорея, особенно в сочетании с недоразвитием вторичных половых признаков.
 - Привычное невынашивание беременности.
 - Непереносимость, особенно с рождения, пищевых продуктов и лекарственных препаратов.
 - Кровное родство родителей больного ребенка.
-

