

**САРАТОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ
МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ**

Кафедра биологии

Учебное издание

МЕТОДЫ ГЕНЕТИКИ ЧЕЛОВЕКА

Методическое пособие предназначено для самостоятельной внеаудиторной и аудиторной работы студентов 1 курса лечебного, педиатрического, стоматологического факультетов, а также по специальности «Сестринское дело» при изучении раздела программы «Методы генетики человека».

Составители: С.И. Белянина, К.А. Кузьмина, Т.А. Андропова, Л.А. Боброва, Л.Е. Сигарева, И.В. Сергеева

Редактор Л.А. Алехнович
Верстка Ю.В. Зуйкина

Подписано к печати 2.10.2001	Формат 60×90/16
Бумага типографская №2	Усл. печ. л. 2,9
Печать офсетная	Заказ 229
	Тираж 1000

410710, г. Саратов, Большая Казачья, 112, СГМУ
Подразделение оперативной полиграфии Саратовского ЦНТИ,
410600, г. Саратов, ул. Советская, 60

МЕТОДЫ ГЕНЕТИКИ ЧЕЛОВЕКА

**Методическое пособие
для самостоятельной работы
студентов 1 курса**

**Издательство Саратовского государственного
медицинского университета
2001**

Методическое пособие предназначено для самостоятельной работы студентов 1 курса лечебного, педиатрического, стоматологического факультетов медицинских ВУЗов, а также студентов по специальности «Сестринское дело» при изучении раздела программы «Методы генетики человека».

Составители: док. биол. наук проф. С.И. Беянина; док. мед. наук проф. К.А. Кузьмина; канд. биол. наук доц. Т.А. Андропова; канд. биол. наук доц. Л.А. Боброва; канд. биол. наук доц. Л.Е. Сигарева; канд. биол. наук доц. И.В. Сергеева.

Рецензенты: док. мед. наук проф. В.Н. Николенко; канд. биол. наук доц. каф. генетики СГУ Н.А. Шишкинская.

Рекомендованы к печати ЦКМС и Ученым Советом СГМУ.

СОДЕРЖАНИЕ

1. Методы генетики человека	3
2. Генеалогический метод	5
3. Цитогенетический метод	21
4. Биохимические методы	28
5. ДНК-диагностика	31
6. Дерматоглифика	34
7. Близнецовый метод	38
8. Медико-генетическое консультирование. Пренатальная диагностика	41
9. Популяционный метод	57
10. Методы генетики соматических клеток	58
Ответы к заданиям	60
Рекомендуемые задания	62
Литература	62

РЕКОМЕНДУЕМЫЕ ЗАДАНИЯ

I. Для студентов педфака и лечфака

1. При подготовке к первому занятию: 1-10.
2. На первом занятии: 11-17, 19-22.
3. При подготовке ко второму занятию: 23-25, 29, 32, 38, ДНК-диагностика, 37, 41, 46, 47, 49, 53.
4. На втором занятии: 27, 28, 30, 31, 33-36, 38, 39, 43, 44, 48, 50, 53-56.

II. Для студентов стоматфака и по специальности «Сестринское дело»

1. При подготовке к занятию: 1-3, 6, 10, 23, 32, ДНК-диагностика, 37, 41, 46.
2. На занятии стоматфака: 11, 12, 19-21, 30, 31, 35, 39, 44, 48, 55, 56.
3. На занятии «сестринское дело»: 11, 12, 19, 20, 30, 39, 43, 47, 48, 55, 56.

ЛИТЕРАТУРА

1. Биология / Под ред. В.Н. Ярыгина. – М., Высшая школа, 1997. – Т.1.
2. Кузьмина К.А., Белянина С.И., Сигарева Л.Е. Закономерности наследования. Методические рекомендации для самостоятельной работы студентов I курса. – Саратов, 1989.
3. Кузьмина К.А., Белянина С.И. Изменчивость – универсальное свойство живого. Методические рекомендации для самостоятельной работы студентов I курса. – Саратов, 1999.
4. Беляков Ю.А. Стоматологические проявления наследственных синдромов. – М.: Высшая школа, 1993.
5. Козлова С.И. и др. Наследственные синдромы и медико-генетическое консультирование. – М.: Практика, 1996.
6. Лильин Е.Г., Савицкая Т.В. и др. Пособие для изучающих медицинскую и клиническую генетику. – М., 1996.
7. Фогель Ф., Могульски А. Генетика человека. – М., 1990. – Т.1.
8. Шишкин С.С., Калинин В.Н. Молекулярные аспекты биохимической и молекулярной генетики. – М., 1992.

МЕТОДЫ ГЕНЕТИКИ ЧЕЛОВЕКА. МЕДИКО-ГЕНЕТИЧЕСКОЕ КОНСУЛЬТИРОВАНИЕ. ПРЕНАТАЛЬНАЯ ДИАГНОСТИКА

Цель занятия:

Знать сущность основных методов генетики человека и показания для их использования

Уметь составить родословную по предложенной легенде и проанализировать ее

Ознакомиться с основными методами пренатальной диагностики и принципами медико-генетического консультирования

1. МЕТОДЫ ГЕНЕТИКИ ЧЕЛОВЕКА

Задание 1

Повторите основные отличия полигенного и разных типов моногенного наследования. В табл. 1 отметьте (знаком «+») основные признаки различных типов наследования.

Задание 2

Изучите по табл. 2 особенности человека как объекта генетических исследований. Обратите внимание, что основной метод генетики – гибридологический (скрещивание особей с определенными гено- и фенотипами) для человека, как существа социального, не приемлем. В связи с чем разработаны специальные методы генетики человека (табл. 3).

Ответьте на вопросы:

1. В каком случае моногенная болезнь (А-Д тип наследования) встречается не в каждом поколении? Приведите пример такой болезни.
2. В каком случае при браке $aa \times aa$ (болезнь А-Д) может родиться больной ребенок? Приведите пример подобной болезни.

Таблица 1

Основные отличия различных типов наследования
моногенных болезней человека

	Тип наследования				
	А-Р	А-Д	Х-Р	Х-Д	Y
Болеют ♂ и ♀					
Болеют преимущественно ♂					
Больные по вертикали					
Больные по горизонтали					
Часто один из родителей болен					
У здоровых родителей больной ребенок					
У больных отцов дочери здоровые носители					
У больных отцов дочери больны					
У больных отцов сыновья больны					
У больных отцов сыновья здоровы					
У больных матерей сыновья больны					

Таблица 2

Человек – специфический объект генетического анализа

1	Человек – биосоциальный вид
2	Малое количество потомков в семье
3	Длительность смены поколений
4	Высокая степень гено- и фенотипической гетерогенности
5	Отсутствие схем родословных у большинства людей
6	Преимущество человека – хорошая изученность фенотипа

сестры (Aa) и пробанда (aa); вероятность рождения больного ребенка у пробанда: аахаа → → риск F Aa = $\mu (1 \cdot 10^{-5})$. 3) Оценить риск рождения больного ребенка: риск очень низкий, эффективна пренатальная диагностика.

54. 1) Родословная не похожа на родословную при моногенных болезнях. 2) Кариотипы: матери – 45, XX, t (Dq21q), сына – 46, XY, t (Dq21q). 3) Транслокационная форма. 4) Риск рождения больного ребенка – 10% (табл. 25). 5) В клетках хориона или амниотической жидкости – кариотип. 6) Если кариотип нормальный – ребенок будет здоров.
55. 1) 4–100%; 2) 1–0,08%; 3) 3–1%.
56. Если родители и сибсы здоровы, риск равен 1%. Если один из родителей и сестра больны, риск равен 18,5%.
58. Риск для женщины 1 равен $\sqrt{1000}$; для женщины 2 – $\sqrt{1000}$; для мужчины – 40%. У женщин – УЗИ.

ОТВЕТЫ К ЗАДАНИЯМ

12. 1) Фенокопия (здесь алкогольный синдром плода).
2) Родословная необходима, чтобы удостовериться, что болезнь не наследственная.
13. Генотипы: III 3 – Aa; III 4 – aa; IV 1 – aa; IV 3 и IV 4 – Aa.
Схемы браков IV 1: аахаа → риск F = μ ($1 \cdot 10^{-5}$).
IV 4: Аахаа → риск F Aa = 50%.
15. Тип наследования А-Д. Генотипы: здорового близнеца – aa, больного близнеца, матери, бабушки, младшей сестры – Aa.
Брак здорового близнеца: аахаа → риск F = μ ($1 \cdot 10^{-5}$).
16. Облигатные гетерозиготы ($X^A X^a$): III 3 (пробанд), II 1 (мать пробанда). Факультативная гетерозигота – III 5 (младшая сестра пробанда). Гемизиготы: I 2, III 1, III 2, IV 2 (больной сын пробанда). Вероятность рождения больного ребенка: 50% среди сыновей, 25% среди всех возможных детей.
21. А-Р. Облигатные гетерозиготы: II 1, II 4, III 3. Факультативные гетерозиготы: III 1, III 2, III 6, IV 2.
34. Исследовать концентрацию натрия и хлоридов в поте и слюне родителей. Если превышает норму – родители гетерозиготы.
47. Для большинства болезней – амниотическую жидкость и клетки в ней. При ферментопатиях – биохимические методы. При хромосомных болезнях – кариотип; X- и Y-хроматин (хорион, клетки плода); ДНК-диагностика – Гл-6-фД-дефицит; гемофилия, ФКУ. ВПР – УЗИ (пренатальная диагностика).
48. а) Спино-мозговые грыжи; б) полидактилия; в) гемофилия.
50. Вероятность рождения здоровых детей: ~100%; ~100%; ~75%; ~25%; больных: ~2 μ ($1 \cdot 10^{-10}$); ~1 μ ($1 \cdot 10^{-5}$); ~25%; ~50%.
52. 1) Генеалогический метод (определить тип наследования; в данном случае А-Д). 2) Определить: генотипы больной

Таблица 3

Методы генетики человека

1	Генеалогический (в медицине – клинико-генеалогический)
2	Цитогенетический
3	Биохимический
4	ДНК-диагностика
5	Близнецовый
6	Дерматоглифика
7	Популяционно-статистический
8	Методы генетики соматических клеток
9	Моделирование наследственных заболеваний

2. ГЕНЕАЛОГИЧЕСКИЙ МЕТОД

Генеалогический метод (Г.М.) – основной и обязательный метод медико-генетического консультирования. Он позволяет разрешить следующие основные задачи:

- является ли анализируемая болезнь наследственной или нет;
- по какому типу она наследуется;
- определить генотипы членов семьи;
- кто из членов семьи является облигатной или факультативной гетерозиготой;
- вычислить вероятность повторения данной болезни у родственников.

Задание 3

Основные этапы генеалогического анализа.

1. Сбор сведений (опрос и обследование) о наличии (отсутствии) анализируемого признака (болезни) у родственников пробанда и составление легенды о каждом из них. Желательно лично собрать сведения о родственниках не менее 3-4 поколений.

2. Графическое изображение родословной (семейной схемы) с указанием родственных связей и наличия анализируемого признака у членов семьи (символы на рис. 1). Каждое поколение отмечают римскими, членов поколения – арабскими цифрами, sibсы отмечают в порядке их рождения (типичные схемы родословных – рис. 2). В итоге каждый член родословной имеет свой шифр. Например, шифр пробанда на рис. 2 (А-Р) – IV 4 (поколение IV, член поколения 4-й).

3. Анализ родословной (решение основных задач).

Задача 1

Определение, к какой группе болезней (наследственной, мультифакториальной – МФБ или фенокопиям – табл. 7) относится анализируемая болезнь.

а) Если родословная по всем показателям соответствует основным характеристикам родословных А-Д, А-Р или Х-сцепленным заболеваниям, то есть основания полагать, что анализируемая болезнь моногенная (надо учесть пенетрантность, экспрессивность, биохимические маркеры, если нужно применить ДНК-диагностику).

б) Если родословная не похожа ни на одну из родословных моногенных болезней, то анализируемая болезнь или наследственная – хромосомная (для подтверждения необходимо исследовать кариотип), или МФБ (исследовать генетические маркеры, проанализировать средовые факторы и др.), или фенокопия наследственной болезни (необходим анализ средовых факторов).

Задача 2

Определение типа и варианта наследования (если это моногенная болезнь).

а) Для большинства болезней они известны (можно определить по справочнику).

б) Если болезнь имеет несколько типов наследования или тип наследования не установлен (табл. 4), его можно определить по характеру родословной (рис. 2).

Соматические клетки обладают свойствами, делающими их удобным объектом генетических исследований:

- они могут быстро размножаться на искусственных питательных средах;
- из одной клетки путем клонирования можно получить генетически однородное потомство;
- генетически различные клетки могут сливаться и давать начало гибридным клонам;
- можно получить любое количество биомассы клеток для биохимического исследования;
- культивируемые клетки могут быть подвергнуты цитохимическому исследованию.

Соматические клетки человека могут сливаться с соматическими клетками другого человека или с клетками других видов млекопитающих (мыши, крысы, морские свинки, обезьяны и др.). Образующиеся при этом клетки называются гибридными. В гибридных клетках ядра вначале не сливаются (гетерокарион), а затем могут сливаться (синкарион). При этом в ядре оказывается два набора хромосом. Во время повторных митозов гибридной клетки хромосомы одного вида постепенно элиминируются (теряются), а другого – сохраняются. Например, при гибридизации соматических клеток человека и мыши теряются хромосомы человека, а в гибридных клетках человека и крысы элиминируются хромосомы крысы.

Постепенная потеря хромосом человека из гибридных клеток параллельно с изучением ферментов позволяет судить о локализации гена, контролирующего синтез того или иного фермента в определенной хромосоме.

С помощью метода гибридизации соматических клеток определяют локализацию генов в хромосомах человека, а также сцепление генов. Таким образом, например, был картирован ген тимидинкиназы (в 17 хромосоме) – фермент, от которого зависит ощущение человеком вкуса фенилтиомочевины (ФТМ).

Метод культивирования (без гибридизации) соматических клеток используется при диагностике генных и хромосомных болезней.

Для генетических исследований используют культуры соматических клеток человека (лимфоциты, фибробласты кожи, клетки амниотической жидкости, клетки опухолевой ткани и др.).

мероприятий по предупреждению неблагоприятного воздействия на генетический аппарат факторов окружающей среды. Популяционный метод позволяет:

- оценить вероятность рождения лиц с определенным фенотипом в данной группе населения или в близкородственных браках;
- рассчитать частоту носительства в гетерозиготном состоянии рецессивных аллелей.

Основу метода составляет статистическая обработка получаемых данных. При статистической обработке используют закон генетического равновесия Харди-Вайнберга: в популяциях при условии панмиксии и при отсутствии мутационного процесса и естественного отбора устанавливается равновесие частот генотипов, которое сохраняется из поколения в поколение. Формула закона Харди-Вайнберга:

$$p^2(AA) + 2pq(Aa) + q^2(aa) = 1$$

$$p(A) + q(a) = 1$$

Задание 57

Глухонемота связана с врожденной глухотой, которая препятствует нормальному усвоению речи. Наследование аутосомно-рецессивное. Для европейских стран средняя частота заболевания равна $\approx 2:10000$. Определите возможное число гетерозиготных по глухонемоте людей в популяции, насчитывающей 60000 человек.

Задание 58

Фенилкетонурия (ФКУ) – наследственная аутосомно-рецессивная болезнь. Частота ФКУ в большинстве европейских стран в среднем составляет 1 на 10000 новорожденных. Исходя из закона Харди-Вайнберга рассчитайте частоты всех возможных генотипов у новорожденных.

10. МЕТОДЫ ГЕНЕТИКИ СОМАТИЧЕСКИХ КЛЕТОК

Существующие методы генетики соматических клеток позволяют изучать генетические закономерности на клеточном уровне и одновременно на уровне целого организма, так как любая соматическая клетка содержит полный набор генов.

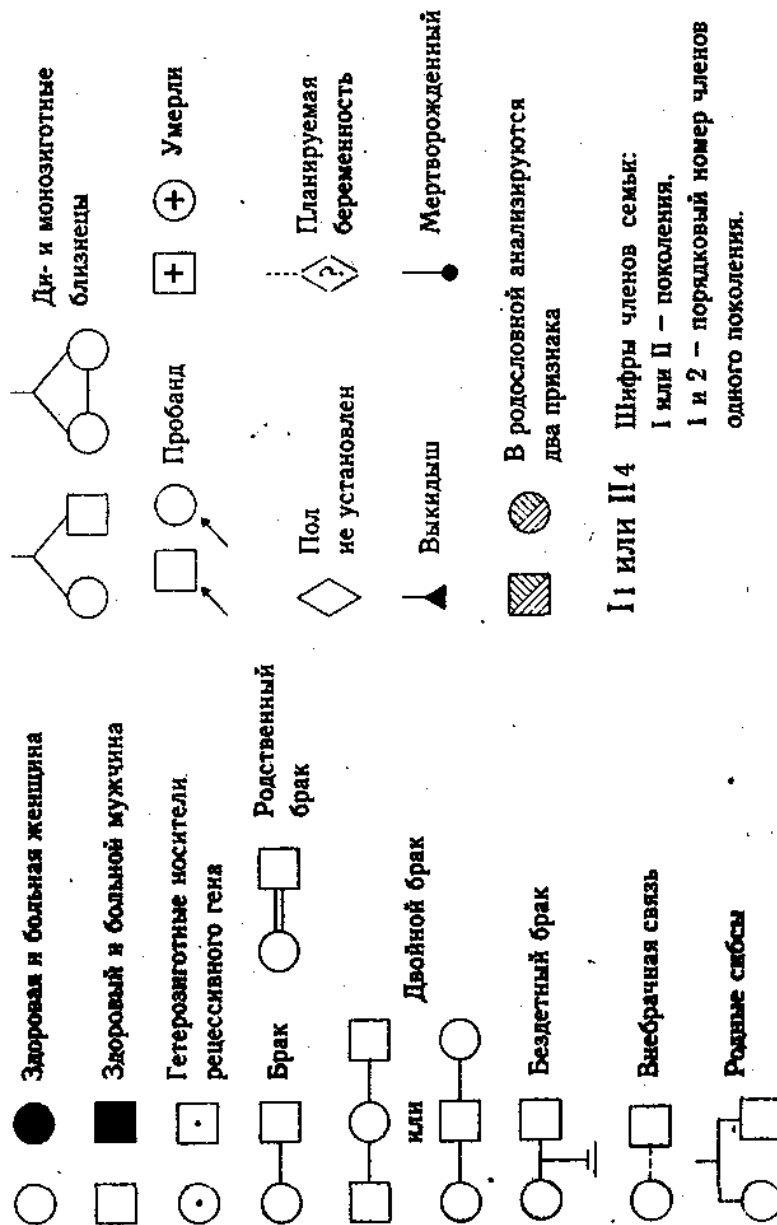


Рис. 1. Условные обозначения, используемые при составлении схем родословных человека

Задача 3

Определение степени риска (вероятности) повторения болезни у родственников.

а) Если болезнь моногенная и генотип родителей известен – расчет с учетом генетических закономерностей (для А-Д болезней учесть пенетрантность – табл. 5).

б) Если болезнь моногенная и генотип родителей(ля) неизвестен: вероятно, один или оба родителя гетерозиготны; у одного/обоих родителей мутация в гаметax.

Методы определения гетерозиготности приведены в табл. 6.

Задание 4

Ознакомьтесь (табл. 4) с примерами моногенных болезней, наследуемых по нескольким или неустановленным типам наследования.

Таблица 4

№	Наследственный синдром (с.)	Тип наследования
1	Гемеролапия (ночная слепота)	А-Р; Х-Р
2	Ларсена с.	А-Р; А-Д
3	Ихтиоз	А-Р; А-Д; Х-Р
4	Катаракты врожденные	А-Р; А-Д; Х-Р
5	Остеогенез несовершенный	А-Р; А-Д
6	Рото-лице-пальцевый с., типы I и II	Х-Д (♂ погибают внутриутробно); А-Р
7	Пигментный ретинит	А-Р; А-Д; Х-Р
8	Корнелии де Ланде с.	не установлен

Задание 5

Ознакомьтесь (табл. 5) с некоторыми А-Д болезнями человека с различной пенетрантностью, варьирующей экспрессивностью.

Дополнительная информация:

- ни у кого из консультирующихся среди родственников трех поколений не было расщелины губы и/или неба;
- у матерей консультирующихся беременность и роды протекали нормально. Женщина 2 на 5-6-ой неделе беременности принимала противосудорожное лекарство (обладает мутагенным эффектом). 5-6 неделя – это терминационный тератогенный период формирования.

Анализ приведенных в таблице данных и других результатов обследования позволили сделать следующие выводы:

1. у женщины 1 расщелина неба имеет мультифакториальную природу (популяционная частота 1:1000);
2. у женщины 2 расщелина неба – результат тератогенного эффекта лекарства; спорадическое происхождение;
3. у мужчины расщелина губы и неба – это один из основных симптомов моногенной наследственной болезни – с. Ван дер Вуда. При этой болезни часто бывают ямки на нижней губе. Наследуется по А-Д типу, пенетрантность 80%. Популяционная частота 1:100 000.

Определите риск рождения детей с расщелиной губы и/или неба в семьях женщин 1, 2 и мужчины. Как предупредить рождение больного ребенка?

9. ПОПУЛЯЦИОННЫЙ МЕТОД

Основан на изучении генетических закономерностей в популяциях человека. Исследования в области популяционной генетики человека можно разделить на две группы:

1. описание популяций и их генетического состава с использованием закона Харди-Вайнберга;
2. анализ причин изменения генофонда популяции – влияют на генетическую структуру популяций такие факторы, как мутационный процесс, естественный отбор, миграции, случайные изменения генных частот.

Знание популяционной генетики необходимо для понимания распространения наследственных болезней, для планирования

Задание 58*

Известно, что часто встречающийся порок расщелина губы и/или неба в 32% является одним из симптомов определенного наследственного синдрома, в 80% носит спорадический характер, в 15% – семейный характер. Из них 18% имеют моногенную природу, 7,5% – хромосомную, 62% – мультифакториальную, 12% – неустановленный тип наследования.

Все, кто оперировался в детстве по поводу расщелины губы и/или неба, нередко обращаются в МГ консультации с вопросом, будет ли у их детей такой же порок (если их брачный партнер здоров).

Проанализируйте результаты обследования трех человек, имевших расщелину губы и/или неба (табл. 27).

Таблица 27

Консультирующиеся			Их родители, расщелины не было	
Пол, возраст, профессия	Расщелина	МАР	Мать	Отец
			МАР	МАР
1. Женщина, 18 лет, служащая	губы	мелкие зубы, прогнатия	мелкие зубы	нет мочки уха, позднее прорезывание зубов
2. Женщина, 20 лет, служащая	неба	мелкие зубы, курносый нос	курносый нос, тонкие губы	зубы мелкие, плоскостопие
3. Мужчина, 20 лет, продавец	губы и неба	редкие зубы, ямки на нижней губе, аномалия прикуса	нет мочки уха, курносый нос	оттопыренные уши, редкие волосы

№	Наследственная болезнь	Пенетрантность (%), экспрессивность
1	Полидактилия	100%
2	Ахондроплазия	В 80% результат спонтанной мутации
3	Ногтей дисгенезия и гиподонтия (Зубоногтевый синдром)	100% (экспрессивность варьирующая)
4	Расщелина губы (неба) и ямки на нижней губе (с. Ван-дер-Вуда)	80% (экспрессивность варьирующая)
5	Эктодермальная дисплазия гидротическая (с. Клоустона)	100%
6	Ретинобластома (опухоль глаза)	80%
7	Отосклероз	40%
8	Синдром Марфана	~100% (экспрессивность варьирующая)
9	Хорея Гентингтона (основной симптом – непроизвольные судороги) – 70 лет – 40 лет	~100% ~50%

Задание 6

Изучите по рис. 2 особенности родословных при А-Р, А-Д (П. 100% и <100%), Х-Р и Х-Д типах наследования моногенных признаков у человека.

Задание 7

Ознакомьтесь (табл. 6) с основными методами определения гетерозиготного носительства.

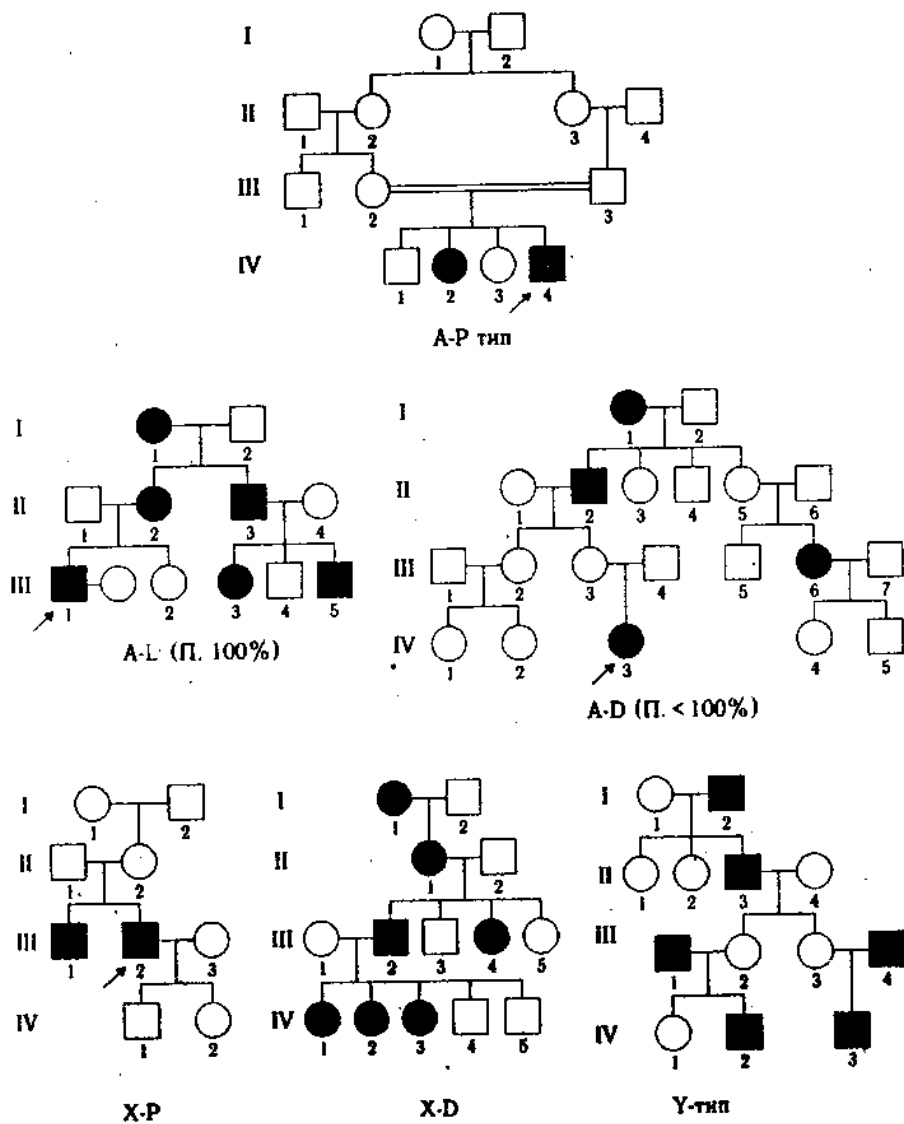


Рис. 2. Схемы родословных при разных типах наследования моногенных признаков

Задание 57

Понятие о малых аномалиях развития (МАР) и их значение в диагностике наследственной патологии

МАР (стигмы, микропризнаки) – врожденные отклонения от нормального анатомического строения, которые не нарушают функции органа. Описано около 150 МАР, практическое значение имеют 60.

Ознакомьтесь с некоторыми нижеприведенными МАР.

Микроцефалия	Диастема
Нарушение формы черепа	Редкие зубы
Малый разрез глаз. Птоз	Мелкие зубы
Монголоидный (антимонголоидный) разрез глаз	Гиподентия
Гипертелоризм	Прогнатия
Оттопыренные уши	Готическое небо
Отсутствие мочки уха	Тонкие (толстые губы)
Куриная грудь	Позднее прорезывание зубов
Множество сосков	Раннее выпадение зубов
Сколиоз	Синдактилия
Редкие волосы	Высокий подъем стопы
Ломкие волосы	Плоскостопие
Алопеция (гнездная плешивость)	Малая (большая) масса тела при рождении
Макрогнатия	Аномалии прикуса

МАР используют при дифференциальной диагностике МФБ и наследственных болезней. Чем больше МАР обнаружено у больного (3-5 и более), тем выше вероятность, что анализируемая болезнь является наследственной (моногенной или хромосомной). Если кроме 3-5 МАР имеется отставание в психомоторном развитии – анализируемая болезнь в 100% является наследственной.

Используя информацию в табл. 25, ответьте, чему равен риск рождения ребенка, больного с. Дауна, ЕСЛИ:

1. Женщине 25 лет, здорова, кариотип нормальный, муж здоров (30 лет), его кариотип 45, XY, t (21q21q).
2. Женщине 30 лет, первый ребенок здоров, муж здоров, кариотипы всех членов семьи нормальные.
3. Женщине 30 лет, первый ребенок болен с. Дауна (кариотип 47, XY, +21), кариотипы женщины и мужа нормальные.

Задание 56*

В табл. 26 приведены усредненные данные повторного риска заболеть МФБ с учетом коэффициента наследуемости, популяционной частоты, количества больных сибсов и родителей.

Используя эмпирические (усредненные) данные из табл. 26, определите риск заболеть шизофренией (популяционная частота 1%, наследуемость 80%) для сына, если: а) родители и сибсы (2 брата) здоровы; б) один из родителей и сестра больны.

Таблица 26

Популяционная частота	Наследуемость, %	Больные родители								
		0			1			2		
		Больные сибсы								
		0	1	2	0	1	2	0	1	2
1	80	1	6,5	14,2	8,3	18,5	27,8	40,9	46,6	51,6
	50	1	3,9	8,4	4,3	9,3	15,1	14,6	20,6	26,3
	20	1	2,0	3,3	2,0	3,3	4,8	3,7	5,3	7,1
0,1	80	0,1	2,5	8,2	2,9	9,8	17,9	31,7	37,4	42,4
	50	0,1	1,0	3,2	1,0	3,4	6,9	6,6	10,9	15,3
	20	0,1	0,3	0,7	0,3	0,7	1,3	0,8	1,4	2,3

Методы	Исследуемые показатели, наследственные болезни, примеры
Генеалогический (если известны генотипы родителей)	Родословная (генотипы членов семьи) при моногенных болезнях. Ахондроплазия, с. Марфана, гемофилия
Биохимический 1. Первичный дефект известен: - фермент - неферментный белок 2. Первичный продукт неизвестен	Фенилаланингидроксилаза (фенилкетонурия - ФКУ) Фактор VIII (гемофилия А) Витилиго (гнездная плешивость)
ДНК-диагностика	Многие генные болезни (табл. 4). Муковисцидоз, гемофилия А и В, ФКУ
Микроскопия - биопсия	Эритроциты в мазках крови (серповидноклеточная анемия)
Иммунологические	Rh-фактор (несовместимость матери и плода по Rh-фактору)
Микробиологические	Тест Гатри (ФКУ)

Задание 8

Классификация болезней человека

Изучите по табл. 7 классификацию болезней человека с учетом относительной роли наследственности (Н) и среды (Ср), что отражает коэффициент наследуемости (%).

Задание 9

В таб. 8 отметьте (знаком «+») методы, используемые при диагностике различных групп болезней человека. Укажите (знаком «⊗»), какой из них является основным для данной группы болезней.

Таблица 7

Наследственные болезни (H > Ср, наследуемость 100%)	
1. Генные (моногенные) болезни (~3,5 тыс.)	<ul style="list-style-type: none"> - 90% имеют фенкопии - многие имеют генокопии - многие являются моногенными формами МФБ
2. Хромосомные болезни (~750)	<ul style="list-style-type: none"> - многие имеют фенкопии
Мультифакториальные болезни (H ≈ Ср, 50% < наследуемость < 100%)	
<ul style="list-style-type: none"> - самые распространенные болезни (> 90%) - многие имеют моногенные формы - многие имеют фенкопии 	
Ненаследственные болезни (H < Ср, наследуемость < 50%)	
<ul style="list-style-type: none"> - травмы, ожоги, инфекционные болезни - фенкопии моногенных, хромосомных и МФБ 	

2.1. ОСОБЕННОСТИ РОДОСЛОВНЫХ ПРИ РАЗНЫХ ТИПАХ НАСЛЕДОВАНИЯ

Задание 10

Нарисуйте родословную (3-4 поколения) своей семьи по признаку цвета глаз (или размера зубов). Убедитесь, что эти признаки наследственные, определите их тип наследования. Какие дети по цвету глаз (или размеру зубов) могут родиться у Вас, если у брачного партнера: а) глаза голубые; б) зубы мелкие.

Задание 11

Ихтиоз – заболевание кожи. Описано несколько клинических форм ихтиоза, наследуемых по А-Р, А-Д и Х-Р типам. Нарисуйте родословные трех семей в соответствии с ниже приведенными легендами. Определите тип наследования ихтиоза в каждой семье. Напишите генотипы больных членов семьи. Кто из членов семьи является облигатной/факультативной гетерозиготой?

Задание 55*

Риск рождения ребенка с с. Дауна

Ознакомьтесь по табл. 25 с эмпирическим риском рождения ребенка с с. Дауна в зависимости от возраста матери и формы трисомии по хромосоме 21.

Таблица 25

Эмпирический риск рождения ребенка с с. Дауна

1. Суммарный популяционный риск в зависимости от возраста матери	Возраст матери (годы)	Риск, %	
	20 – 24	0,06	
	25 – 29	0,08	
	30 – 34	0,2	
	35 – 39	0,54	
2. Простая трисомная форма	Возраст матери	Повторный риск (%) для сибсов	
	до 30 лет	1%	
	более 30 лет	удвоенный риск для данного возраста матери	
3. Транслокационная форма	Риск (%) для сибсов в спорадических случаях (при нормальном кариотипе родителей) соответствует простой трисомии		
4. Риск (%) для потомства носителей при семейных робертсоновских транслокациях	Тип транслокации	Пол носителя	
		Женщина	Мужчина
	21q22q	7	2
	Дq21q	10	2,4
	21q21q	100	100
5. Мозацизм у родителей	Риск равен $\frac{x}{2-x} \cdot 2$, где x – доля аномального клеточного клона		

Задание 64*

МГ консультирование при хромосомной патологии

В МГК обратилась женщина с вопросом, может ли у нее родиться здоровый ребенок. Женщина (25 лет) и ее муж (26 лет) здоровы. У женщины две первые беременности закончились мертворождением. В результате третьей беременности родился мальчик с с. Дауна. У ее старшей сестры двое здоровых детей (мальчик и девочка). У бабушки по линии матери одна беременность закончилась мертворождением, двое детей (сын и дочь) здоровы. У матери женщины был выкидыш. У мужа пробанда два брата, у каждого по два здоровых сына. Родители мужа здоровы.

В табл. 24 слева перечислено, что необходимо сделать, чтобы дать обоснованный ответ женщине. Справа напишите ожидаемые результаты.

Таблица 24

Последовательность действий	Ожидаемые результаты
1. Уточнить диагноз	
– нарисовать родословную	
– исследовать кариотип пробанда и ее больного сына	
– определить, какая форма с. Дауна у мальчика	
2. Определить риск рождения больного в этой семье	
3. Пренатальная диагностика (что исследовать у плода)	

Проанализируйте результаты исследований и дайте обоснованный ответ консультирующейся женщине.

Таблица 8

№	Методы	Наследственные болезни		Болезни с наследственной предрасположенностью		Ненаследственные болезни (фенокопии)
		генные	хромосомные	моногенной	полигенной (МФБ)	
1	Клинико-генеалогический					
2	Цитогенетический					
3	Биохимический					
4	ДНК-диагностика					
5	Близнецовый					
6	Дерматоглифика					
7	Популяционно-статистический					
8	Метод генетики соматических клеток					
9	Определение генетических маркеров					
10	Анализ средовых факторов					

Легенда семьи 1

Здоровый мужчина женился на своей двоюродной здоровой сестре, у них родились три девочки, две старшие – близнецы, у одной из них развился ихтиоз. Родители мужа и жены здоровы. Женщина беременна и хочет знать, какой ребенок у нее родится: здоровый или больной. Объясните, почему одна девочка из близнецов здорова.

Легенда семьи 2

Жена здорова (здоровы и ее родители), у мужа ихтиоз. Родители мужа: отец здоров, у матери ихтиоз. Из троих детей в этой семье дочь и старший сын здоровы, у младшего сына диагностирован ихтиоз. Старший сын (пробанд) женится и его волнует вопрос, будут ли его дети больны ихтиозом (его будущая жена здорова).

Легенда семьи 3

Жена здорова (здоровы ее родители и прародители). У мужа на конечностях обнаружены признаки ихтиоза, его мать и сестра здоровы, у брата и дедушки по линии матери ихтиоз. В этой семье дочь и сын здоровы. Дочь выходит замуж (ее жених здоров) и обеспокоена, какова вероятность, что у ее детей будет ихтиоз.

Задание 12*

Основные симптомы синдрома Дубовица (А-Р тип наследования): отставание в весе, умственная отсталость, микроцефалия, широкая переносица, эпикант, высокое небо или его незаращение, гипоплазия нижней челюсти, нарушение прорезывания зубов, множественный кариес.

Большинство перечисленных симптомов характерны и для алкогольного синдрома плода, причиной которого является употребление женщиной алкоголя во время беременности, особенно в критические периоды (оплодотворение, имплантация, гисто- и органогенез).

Как называется явление, когда болезнь клинически похожа на наследственную, но генотип нормальный? К чему сводится профилактика рождения ребенка с алкогольным синдромом плода? Надо ли рисовать родословную, если у ребенка алкогольный синдром плода? Что характерно для родословной семей, в которых есть больные с Дубовица?

Задание 13*

Причины рождения больных детей с А-Д болезнями:

- унаследованные болезни от родственников;

Задание 52*

В МГ консультацию обратилась здоровая беременная женщина (20 лет) с вопросом, какой ребенок у нее родится, больной или здоровый. Ее муж, их родители и другие родственники здоровы. У старшей сестры ахондроплазия (А-Д тип наследования, в 80% – результат новой мутации). Основным симптомом – диспропорциональная карликовость.

Какие методы генетики необходимо использовать и в какой последовательности (см. этапы МГ консультирования), чтобы дать обоснованный ответ консультирующейся женщине?

Задание 53

Основные отличия хромосомных и генных болезней

В табл. 23 внесите необходимую информацию.

Таблица 23

Основные отличия моногенных и хромосомных болезней

Показатели	Моногенные болезни	Хромосомные болезни
1. Этиология		
2. Количество зарегистрированных синдромов		
3. В какой период онтогенеза проявляются		
4. Генетические методы диагностики		
5. Наследуются или нет		
6. Наследуемость (%)		
7. Методы прогнозирования		

Почему большинство хромосомных болезней не наследуются?

* Задания, на которые имеются ответы.

Задание 50*

Определите вероятность рождения здорового и больного ФКУ (А-Р тип наследования) ребенка при различных типах брака. Заполните табл. 22.

Таблица 22

Генотип		Вероятность рождения ребенка	
Мать	Отец	Здорового	Больного
АА	АА		
АА	аа		
Аа	Аа		
Ааа	аа		

Задание 51

Основные симптомы волосо-зубо-костного синдрома (А-Д тип наследования): гипоплазия эмали зубов, зубы мелкие, курчавые волосы, длинные загнутые ресницы, задержка прорезывания зубов, расслоение ногтей, легко возникают переломы костей и др.

В МГК обратились супруги с вопросом, какой ребенок у них может родиться, если мать здорова, а у мужа и дочери волосо-зубо-костный синдром. Родители матери и все другие родственники здоровы. Сведения о биологических родителях мужа отсутствуют (он усыновлен). Фенотип мужа: волосы курчавые, ногти расслаиваются, зубы мелкие, эмаль зубов тонкая. Фенотип дочери: волосы курчавые, длинные загнутые ресницы, зубы мелкие, широко расставленные, прорезывались с большим опозданием.

Нарисуйте родословную и проанализируйте ее. Можно ли дать супругам однозначный ответ? Если нет, то почему? Чем можно объяснить разную степень выраженности заболевания у отца и дочери? Учитывая фенотип больных с волосо-зубо-костным синдромом, возможна ли пренатальная диагностика при этой болезни?

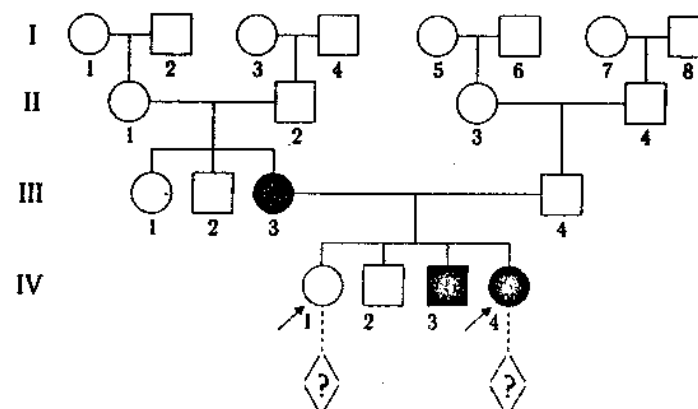


Рис. 3. Родословная семьи, имеющей больных ахондроплазией

- в результате новых (спонтанных) мутаций в гаметх здоровых родителей. Например, причиной ахондроплазии (непропорциональная карликовость) в 80% является вновь возникшая (спонтанная) мутация в гаметх одного из родителей.

На рис. 3 приведена родословная семьи, в которой есть больные ахондроплазией. Объясните, почему больна III 3, несмотря на то, что в предыдущих двух поколениях все родственники были здоровы? Напишите генотипы III 3, III 4, IV 3, IV 4. Какова вероятность рождения больных детей у IV 1 и IV 4, если их брачные партнеры здоровы? Напишите схемы браков IV 1 и IV 4.

Задание 14

На консультацию направлена беременная мужским плодом молодая, здоровая женщина. Ее волнует вопрос: каков риск рождения у нее больного ребенка. Ее первый ребенок (сын 5 лет) болен с. Марфана (ген в 15q21). Диагноз поставлен на основании клинической картины: высокий рост, паучьи пальцы, гиперподвижность суставов, близорукость, голубые склеры, сколиоз. У беременной женщины голубые склеры и незначительная близорукость. Ее родители: отец здоров, здоровы его родители и др. родственники. У матери слабо выраженный сколиоз и близорукость. У отца матери эмфизема легких, близорукость, отслойка сетчатки. Мать

матери (прабабушка больного сына), супруг беременной женщины и его родители здоровы.

Нарисуйте родословную беременной женщины. Определите тип наследования с. Марфана. Напишите генотипы больных членов семьи, беременной женщины и ее мужа. Напишите схему брака пробанда. Вычислите риск рождения больного ребенка. Объясните разную клиническую картину с. Марфана у всех больных данной семьи (табл. 5).

Задание 16*

В семье четверо детей: старшие два сына – близнецы (22 года) и две дочери. У одного из сыновей клинически диагностирован остеогенез несовершенный (локализация гена 17q21) – моногенная болезнь. Основные симптомы: повышенная ломкость костей, голубые склеры, отосклероз (снижение слуха), «янтарные зубы». У младшей дочери (6 лет) «янтарные зубы» и голубые склеры. Старшая дочь, отец и его родственники здоровы. У матери голубые склеры, после 20 лет снизился слух. У ее матери (бабушки детей) голубые склеры, снижен слух, зубы «янтарные» рано выпали. Здоровый сын женат на здоровой женщине (здоровы все ее родственники), которая ждет ребенка.

Различают четыре типа несовершенного остеогенеза (I, II, III, IV). Тип I имеет доброкачественное течение, наследуется по А-Д типу. Тип II вызывает смерть новорожденных. Типы III и IV наследуются по А-Р типу. Пенетрантность различная, экспрессивность варьирующая. Возможна пренатальная диагностика (если имеются переломы и искривления костей)?

Нарисуйте родословную и проанализируйте ее. Определите тип наследования болезни в данной семье, генотипы близнецов, их младшей сестры, матери, бабушки по линии матери. Напишите схему брака здорового сына и его жены. Вычислите риск рождения у них больного ребенка. Объясните, почему близнец больного брата здоров.

Задание 16*

Пробанд – клинически здоровая беременная женщина, имеет одного здорового сына и одного больного гемофилией и дальто-

Продолжение таблицы 21

Х-Д тип наследования

Тип брака	Генотипы и фенотипы родителей		Частота детей с разными генотипами					
	Отец	Мать	Сыновья		Дочери			
			Х ^a У зд.	Х ^a У б.	Х ^a Х ^a б.	Х ^a Х ^a б.	Х ^a Х ^a зд.	
—	Х ^a У — здоров	Х ^a Х ^a — здорова	1	0	0	0	1	
• —	Х ^a У — здоров	Х ^a Х ^a — больна	1/2	1/2	0	1/2	1/2	
—	Х ^a У — здоров	Х ^a Х ^a — больна	0	1	0	1	0	
* —	Х ^a У — болен	Х ^a Х ^a — здорова	1	0	0	1	0	
** —	Х ^a У — болен	Х ^a Х ^a — больна	1/2	1/2	1/2	1/2	0	
** —	Х ^a У — болен	Х ^a Х ^a — больна	0	1	1	0	0	

• — типичный брак; * — редкий брак; ** — невероятный брак, т.к. Х^aХ^a (Х-Р тип) и Х^aХ^a (Х-Д тип) редки в популяции, Х^aУ — при мутации; Х^aУ — при мутации; б. — болен; зд. — здоров; и. — носительница рецессивного гена.

Риск X-сцепленного заболевания у потомства
X-Р тип наследования

Тип брака	Генотипы и фенотипы родителей		Частота детей с разными генотипами			
	Отец	Мать	Сыновья		Дочери	
			X ^A Y зд.	X ^a Y б.	X ^A X ^A зд.	X ^A X ^a зд. н. б.
□ — ○	X ^A Y — здоров	X ^A X ^A — здорова	1	0	1	0
• □ — ○	X ^A Y — здоров	X ^A X ^a — здорова, н.	1/2	1/2	1/2	1/2
• □ — ●	X ^A Y — здоров	X ^a X ^a — больна	0	1	0	1
■ □ — ○	X ^a Y — болен	X ^A X ^A — здорова	1	0	0	1
• □ — ○	X ^a Y — болен	X ^A X ^a — здорова, н.	1/2	1/2	0	1/2
• □ — ●	X ^a Y — болен	X ^a X ^a — больна	0	1	0	1

низмом. Ее младшая сестра и брат здоровы, а два старших брата больны обоими заболеваниями. Мать и отец пробанда здоровы. Бабушка по материнской линии здорова, а дедушка был болен гемофилией и дальтонизмом. Супруг пробанда и его родители здоровы. Какова вероятность рождения больного ребенка?

Нарисуйте родословную, определите тип наследования заболеваний. Кто из членов семьи является облигатной гетерозиготой, кто — факультативной? (Ответ пишите в соответствующих символах — рис. 1). Кто из мужчин является гемизиготой? Напишите схему брака (кроссинговор отсутствует).

Задание 17

Больные эктодермальной ангидротической дисплазией с расщелиной губы и неба (тип Рэппа-Ходжкина, наследуется по А-Д типу) и эктодермальной дисплазией ангидротической (с. Криста-Сименса-Турена, наследуется по X-Р типу) имеют сходный фенотип (гипогидроз, кожа сухая тонкая, гипотрихоз, расщелина губы и неба, гипоплазия зубов и др.), что затрудняет дифференциальную диагностику этих болезней. На рис. 4 приведены схемы родословных

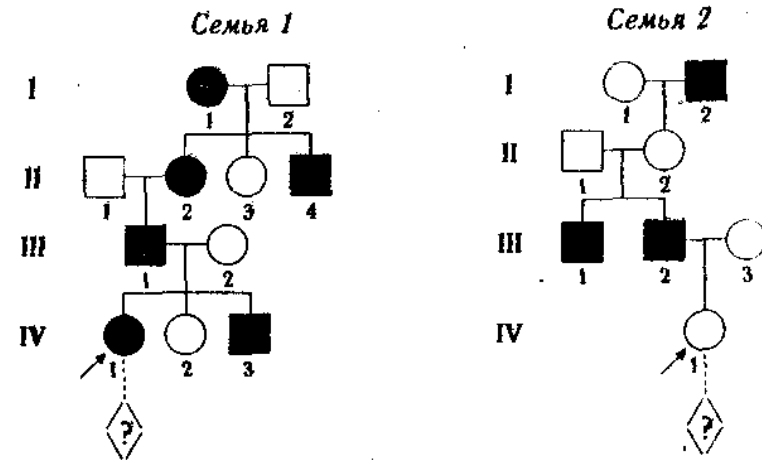


Рис. 4. Родословные двух семей, в которых есть больные одной из форм ангидротической эктодермальной дисплазией

двух семей. По клинической картине у всех больных обеих семей ангидротическая дисплазия. Определите, какой формой ангидротической дисплазии больны члены семьи 1 и 2. Определите, кто из членов семей является облигатной и факультативной гетерозиготой. Какова вероятность рождения больных детей у пробанда каждой семьи, если их брачные партнеры здоровые?

Задание 18

В семье трое детей: младшая дочь и старшие близнецы – дочь и сын. У сына резко выраженные межпальцевые перепонки. У сестер перепонки между пальцами нет. У отца этих детей перепонки слабо выражены. У матери, бабушки и дедушки детей по материнской линии и у бабушки детей по отцовской линии перепонки нет. У дедушки детей по отцовской линии и его двух братьев имеются межпальцевые перепонки.

Нарисуйте родословную этой семьи. Определите тип наследования межпальцевых перепонки. Что характерно для данной родословной? Напишите генотипы членов семьи, имеющих межпальцевые перепонки. Определите вероятность рождения больных детей у близнецов, если их будущие брачные партнеры будут здоровыми. Почему у дочери-близнеца отсутствуют перепонки между пальцами?

Задание 19

Особенности родословных при МФБ

При графическом изображении родословных, в которых анализируется наследование МФБ, символами отмечают не только членов семьи, страдающих анализируемой болезнью, но и тех, у кого имеются известные для данной болезни маркерные (монокенные) признаки.

Ознакомьтесь с родословной (рис. 5), в которой есть больные язвенной болезнью 12-перстной кишки. Обратите внимание на особенность изображения символов болезни и маркеров у одного и того же члена семьи. Для кого (IV 2 или IV 3) риск заболеть язвенной болезнью 12-перстной кишки выше? По эмпирическим данным риск для родственников 1-й степени родства равен ~ 8%.

Продолжение таблицы 20

А-Р тип наследования

Тип брака	Генотипы и фенотипы родителей		Частота детей с разными генотипами и фенотипами		
	Один из родителей	Второй из родителей	AA (гомозигота, здоровый)	Aa (гетерозигота, здоровый, носитель)	aa (рецессивная гомозигота, больной)
	AA – здоров	AA – здоров	1	0	0
	AA – здоров	Aa – здоров-носитель	1/2	1/2	0
	AA – здоров	aa – болен	0	1	0
	Aa – здоров-носитель	Aa – здоров-носитель	1/4	1/2	1/4
	Aa – здоров-носитель	aa – болен	0	1/2	1/2
	aa – болен	aa – болен	0	0	1

Риск аутосомного заболевания у потомства

А-Д тип наследования (пенетрантность 100%)

Тип брака	Генотипы и фенотипы родителей		Частота детей с разными генотипами и фенотипами			
	Один из родителей	Второй из родителей	Гомозигота (aa), здоровы	Гетерозигота (Aa), больны	Гомозигота (AA), больны	Гомозигота (AA), больны
	aa - здоров	aa - здоров	1	0	0	0
	Aa - болен	aa - здоров	1/2	1/2	0	0
	Aa - болен	Aa - болен	1/4	1/2	1/4	0
	AA - болен	aa - здоров	0	1	0	0
	AA - болен	Aa - болен	0	1/2	1/2	0
	AA - болен	AA - болен	0	0	1	1

• - типичный брак; * - редкий (особенно aaхaa при А-Р-типе) или невозможный брак (если AA нежизнеспособны).

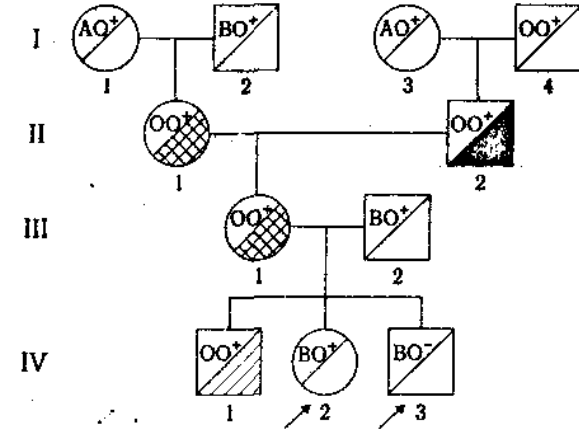


Рис. 5. Родословная семьи

Символы:

- Язвенная болезнь 12-типерстной кишки
- Гастрит
- Язвенный дуоденит
- Rh+
- Rh-

I 1; 2, 3, 4 - умерли в 75-90 лет (язвенной болезни не было).

II 2 - болен с 40 лет язвенной болезнью.

III 1 - больна с 35 лет язвенным дуоденитом.

IV 1 - болен с 18 лет гастритом.

Задание 20

Больные рото-лице-пальцевым синдромом (РЛП с.) тип I и тип II имеют сходные фенотипы (дольчатость языка, множественные узелки языка, расщелины губы и неба, аномалии передних зубов, асимметричное укорочение пальцев и др.). РЛП с. тип I наследуется по А-Р, РЛП с. тип II - по Х-Д типу (пораженные плоды мужского пола погибают внутриутробно).

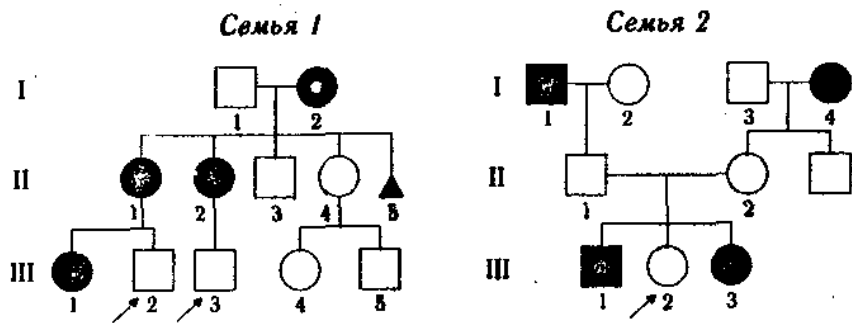


Рис. 6. Родословные двух семей

На рис. 6 приведены родословные двух семей, имеющие больных РЛП с. Определите типы наследования РЛП синдрома в каждой семье.

В семье 1

Напишите генотипы I 1, I 2, II 1, II 3, II 4. Объясните, почему в семье 1 болеют только лица женского пола. Определите вероятность рождения больных детей у III 2, III 3, если их брачные партнеры будут здоровы.

В семье 2

Напишите генотипы I 1, I 2, I 3, I 4 и пробанда (III 2). Кто из членов семьи является облигатной, а кто – факультативной гетерозиготой? Определите вероятность рождения больных детей у III 1 и пробанда, если их брачные партнеры будут здоровы.

Задание 21*

На рис. 7 дана родословная семьи, имеющей больных с наследственной болезнью гиперкератоз ладонно-подошвенный и парадонтоз. Основные симптомы: прогрессирующий гиперкератоз ладоней и подошв (в виде «носков» и «перчаток»), парадонтоз молочных и постоянных зубов. Молочные зубы выпадают в 5-6 лет, постоянные – в 13-14 лет, гингивит и стоматит. Определите тип наследования этой болезни. Напишите генотипы всех больных, а также II 3.

Таблица 19

Наследственные болезни	Материал для пренатальной диагностики	Методы и исследуемые показатели								
		УЗИ	Биохимический	Карниотип	X-хроматин	Y-хроматин	Пол	ДНК-диагностика		
1. Недостаточность гл-6-ф-дегидрогеназы										
2. Акаталазия										
3. Гемофилия А и В										
4. Фенилкетонурия										
5. с. Дауна										
6. с. Шерешевского-Тернера										
7. с. Клайнфельтера										
8. ВПР										
9. Несовместимость крови матери и плода по Rh-антигену										

3. Преимплантационная диагностика (при экстракорпоральном оплодотворении).

В настоящее время с помощью амниоцентеза можно у плода диагностировать все хромосомные болезни, большинство генных болезней обмена веществ, несовместимость матери и плода по группам крови.

В табл. 19 знаком «+» укажите, какой материал необходимо взять у беременной женщины, чтобы исследовать, если у плода подозревается одна из указанных наследственных болезней.

Задание 48*

Приведите примеры наследственных болезней, при которых:

- риск рождения больного ребенка низкий, медицинские последствия значительные, пренатальная диагностика неэффективна (малоэффективна);
- риск высокий, но медицинские последствия незначительные (легко поддаются коррекции);
- риск высокий, медицинские последствия значительные, но эффективна пренатальная диагностика.

Задание 49

Риск (вероятность) рождения детей с моногенной болезнью в зависимости от типа наследования и типа брака

Ознакомьтесь с материалом табл. 20 и 21, составленных на основе законов Менделя.

Обратите внимание, что есть браки:

- типичные (в этих браках могут родиться больные дети);
- редкие (в этих браках вероятность рождения больных детей минимальная);
- маловероятные или невозможные (лица с такими генотипами редко встречаются в популяции, или не вступают в брак, или не планируют рождение детей).

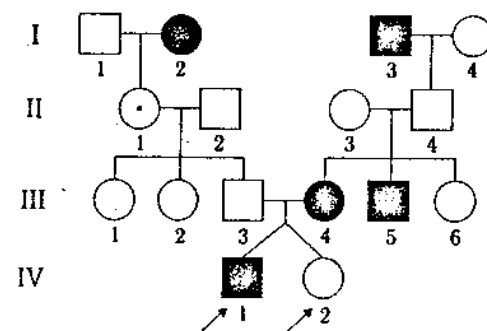


Рис. 7. Родословная семьи с гиперкератозом ладонно-подошвенным

II 4, III 3, III 6, IV 2. Кто из членов семьи является облигатной, кто — факультативной гетерозиготой? Определите вероятность рождения больных детей у IV 1 и IV 2, если их брачные партнеры здоровы.

Задание 22

Глазо-зубо-пальцевый синдром (А-Д тип наследования) и синдром Ленца (Х-Р тип наследования) трудно дифференцировать по клинической картине, так как имеют ряд одинаковых симптомов: микрофтальмия, деформация пальцев, частичная адентия и др. Для дифференциальной диагностики необходимо нарисовать родословную больного и проанализировать ее.

В табл. 9 знаком «+» отметьте отличительные признаки родословных при глазо-зубо-пальцевом синдроме и с. Ленца.

3. ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЙ МЕТОД

Задание 23

Изучите по табл. 10 цитогенетические методы диагностики хромосомных болезней. Какие из них являются экспресс-методами, какие дают наиболее полную информацию о структуре и числе хромосом?

Таблица 9

№	Признаки	Глазо-зубо-пальцевый с. А-Д	с. Ленца Х-Р
1	Болеют лица женского и мужского пола		
2	Болеют преимущественно лица мужского пола		
3	Больные отец и мать передают патологич. ген дочерям и сыновьям		
4	Больная мать передает патологич. ген сыновьям		
5	Здоровая гетерозиготная мать передает патологич. ген сыновьям		
6	Больные распределяются в родословной по вертикали		
7	Больные распределяются в родословной по горизонтали		
8	Риск заболеть при типичном браке равен 50% среди всех возможных детей		
9	Риск заболеть при типичном браке равен 25% среди всех возможных детей		

11-20% – повышенный средней степени;
 больше 20% – высокий.

Примеры наиболее типичных рекомендаций-советов консультирующимся:

1. *Беременность можно планировать или сохранить имеющуюся, если:*
 - риск рождения больного ребенка низкий, медицинские и социальные последствия незначительные (или легко поддаются коррекции), эффективна/неэффективна пренатальная диагностика;
 - риск высокий, социальные и медицинские последствия значительные, но эффективна пренатальная диагностика;
 - риск высокий, но социальные и медицинские последствия незначительные, пренатальная диагностика эффективна/неэффективна.
2. *Беременность не рекомендуется планировать, имеющуюся лучше прервать, если:*
 - риск низкий, но социальные и медицинские последствия значительные, пренатальная диагностика неэффективна или малоэффективна;
 - риск высокий, социальные и медицинские последствия значительные, пренатальная диагностика неэффективна.

Необходимо помнить, что врач только дает обоснованный совет, окончательное решение принимают родители (как правило, женщина).

Задание 47*

Ознакомьтесь с основными методами пренатальной диагностики (П.Д.) наследственных заболеваний и их использованием.

П.Д. – комплекс методов, позволяющих поставить диагноз до рождения ребенка. Основные из них:

1. Неинвазивные: УЗИ.
2. Инвазивные: исследование амниотической жидкости и клеток в ней, исследование клеток хориона, группы крови плода.

Задание 46

Ознакомьтесь с основными этапами МГ консультирования.

1 этап

Уточнение диагноза. При этом используются не только клинические и параклинические методы, но и соответствующие генетические (табл. 3, 8).

2 этап

Прогноз потомства – определение генетического риска рождения больного ребенка.

- При моногенных болезнях расчет риска основывается на генетических закономерностях. Если генотип родителей и тип брака известны, можно воспользоваться таблицами (табл. 20 и 21). При А-Р типе наследования необходимо учесть вероятность гетерозиготности (табл. 6), при А-Д типе наследования – пенетрантность и экспрессивность (табл. 5).
- При хромосомных болезнях и МФБ риск определяют по известным эмпирическим данным (табл. 25, 26). Для МФБ необходимо также учесть степень родства пробанда с большим родственником. Если необходимая информация о какой-либо МФБ отсутствует, то для родственников первой степени родства риск равен квадратному корню из частоты встречаемости этого заболевания в популяции.

3 этап

Объяснение консультирующимся, что означает цифра вычисленного риска, и дача им наиболее рациональной рекомендации: планировать или нет рождение ребенка, сохранить или прервать беременность. При этом врач-генетик учитывает не только степень риска, но и медицинские и социальные последствия рождения больного ребенка, а также эффективность пренатальной диагностики при данной патологии (табл. 19).

Оценка степени риска рождения больного ребенка:

до 5% – низкий риск;

6-10% – повышенный легкой степени;

Таблица 10

Цитогенетические методы

Исследование интерфазных хромосом		Исследование метафазных хромосом	
<p>Определение X-хроматина (т. Барра)</p> <p>(окрашивание нефлюоресцентными или флюоресцентными красителями)</p>	<p>Определение Y-хроматина (F-тельце)</p> <p>(окрашивание флюоресцентными красителями)</p>	<p>Рутинный метод окрашивания</p> <p>Определение количества и групповой принадлежности хромосом, идентификация 1, 2, 3, 9, 16, Y-хромосом</p>	<p>Метод дифференциального окрашивания: Q-, G-, R</p> <p>Идентификация всех хромосом (по особенностям поперечной исчерченности)</p>
Исследуемые клетки			
<p>Чаще не культивируемые</p> <ul style="list-style-type: none"> – Кл. слизистой ротовой полости – Фибробласты кожи – Кл. амниотической жидкости – Кл. эмбриона и хориона 		<p>Чаще культивируемые</p> <ul style="list-style-type: none"> – Лимфоциты крови – Фибробласты кожи – Кл. амниотической жидкости – Кл. эмбриона и хориона – Кл. волосной луковицы – Кл. костного мозга – Репродуктивные кл. – Кл. опухоли 	

Задание 24

Ознакомьтесь с нижеприведенными основными показателями к цитогенетическим исследованиям.

1. Исследование X- и Y-хроматина

- нарушение половой дифференцировки у детей и взрослых;
- подозрение на с. Шерешевского-Тернера или с. Клайнфельтера;

- первичная аменорея, позднее/раннее половое созревание с умственной отсталостью;
- у матерей, имеющих детей с аномалиями половых хромосом;
- у мужчин, страдающих бесплодием, недоразвитием вторичных половых признаков.

2. Исследование кариотипа

- у всех лиц с патологией X- или Y-хроматина;
- у детей с многочисленными пороками развития;
- у женщин при наличии спонтанных аборт, мертворождений, детей с ВПР и хромосомной патологией;
- у плода женщины с высоким риском рождения ребенка с хромосомной патологией (возраст женщины 35 и более лет, наличие сбалансированной транслокации, привычные выкидыши и мертворождения).

Задание 25

Заполните табл. 11. зависимости количества X- и Y-хроматина от кариотипа.

Напишите схемы браков, при которых могут родиться дети с кариотипами 47, ХХУ; 45, ХО; 47, ХХХ.

Таблица 11

Кариотип	Норма, название синдрома	Количество		Способы определения	
		X-хроматина	Y-хроматина	X-хроматина	Y-хроматина
46, ХХ					
46, ХУ					
47, ХХУ					
47, ХУУ					
45, ХО					
47, ХХХ					

8. МЕДИКО-ГЕНЕТИЧЕСКОЕ КОНСУЛЬТИРОВАНИЕ. ПРЕНАТАЛЬНАЯ ДИАГНОСТИКА

Цель медико-генетического консультирования (МГК) – предупредить рождение ребенка с наследственной патологией (в первую очередь – некорректируемых ВПР, приводящих к физической или/и психической неполноценности).

Задачи МГ консультирования:

- прогноз потомства в семьях, где был, есть или предполагается рождение ребенка с наследственной патологией;
- помощь родителям (консультирующимся) в выборе наиболее рационального профилактического мероприятия;
- помощь врачам в постановке диагноза наследственной патологии, если для этого требуются специальные генетические исследования.

Лечащий врач (не генетик) должен заподозрить наследственную патологию у пациента и направить семью в медико-генетическую консультацию в следующих случаях:

- наличие подобной болезни у нескольких членов семьи;
- отставание в умственном и физическом развитии;
- наличие ВПР (особенно МВПР);
- первичная аменорея, особенно в сочетании с недоразвитием вторичных половых признаков;
- первичное невынашивание беременности;
- непереносимость лекарственных препаратов;
- кровное родство родителей;
- воздействие на родителя мутагенов.

Наиболее эффективна консультация, если она проводится до рождения ребенка или до беременности. В медико-генетическую консультацию могут обращаться и без направления врача лица, желающие знать прогноз своего потомства и других родственников.

Таблица 18

Признак (болезнь)	Конкордантность (в %)	
	Монозиготные близнецы	Дизиготные близнецы
Цвет глаз, волос, кожи, форма носа	100	29
Пол	100	50
Группа крови – ABO (H)	100	20
АГ HLA	92	40
Косолапость	32	3
Расщелина верхней губы	33	5
Врожденный вывих бедра	41	3
Бронхиальная астма	47	24
Сахарный диабет	65	18
Ревматизм	67	23
Туберкулез	37	15
Корь	98	94
Коклюш	97	93

Задание 45

В семье 2 сына-близнеца, у них одинаковые группы крови, цвет глаз, волос и др. Один из них заболел воспалением легких. Врач назначил антибиотик – эритромицин. Через 2-3 дня появилась аллергическая сыпь на коже. Вместо эритромицина назначили другой антибиотик. Осложнений не было. Вскоре заболел бронхитом второй сын. Следует ли ему назначить эритромицин? Объясните.

Задание 26

Разрешающая способность рутинного метода окрашивания хромосом при карiotипировании

В цитогенетической лаборатории проведен карiotипический анализ метафазных пластинок (рутинная окраска) пяти человек. Результаты сведены в табл. 12. Заполните последнюю графу таблицы (заключение) и количество X-хромосом. Отметьте номер хромосом, определяемые при данном методе карiotипирования. Почему количество хромосом в группе С превышает норму у всех обследованных?

Таблица 12

Результаты карiotипического анализа

№ обследованных	Количество хромосом в группе							Половые хромосомы		Заключение		
	A	B	C	D	E	F	G	X	Y	Всего хромосом	Карiotип	Пол
1	6	4	15	6	6	4	4		1			
2	6	4	16	6	6	4	4		–			
3	6	4	15	6	6	4	5		1			
4	6	4	16	6	6	4	4		1			
5	6	4	15	6	6	4	4		–			

Задание 27

Значение «портретной диагностики» при хромосомных болезнях

Большинство больных разными хромосомными болезнями имеют ряд сходных отклонений от нормального фенотипа: задержка физического и психомоторного развития, черепно-лицевые дисморфии, аномалии скелета, пороки сердечно-сосудистой, мочеполовой,

нервной и др. систем. И в то же время для конкретного синдрома характерна свое сочетание перечисленных симптомов – свой фенотип (свой «портрет»).

Ознакомьтесь на слайдах с фенотипами («портретами») больных с рядом хромосомных болезней. Обратите внимание на комплекс признаков у больных, позволяющих заподозрить хромосомную аномалию. Какие методы необходимо использовать для окончательного диагноза хромосомных болезней?

Задание 28

Описано несколько форм X-сцепленных олигофрений (умственная отсталость – УО). Наиболее частой причиной УО среди мужчин (0,5-1000) является синдром fragile (ломкой) X-хромосомы (с. Мартина-Белл). Основные диагностические признаки: УО разной степени, большие оттопыренные ушные раковины, макроорхизм (увеличение яичек) и др. Хромосомный маркер – наличие вторичной перетяжки на конце q-плеча X-хромосомы («ломкая X-хромосома»). Причина – мутация гена FRMJ, локализованного в Xq27.3. Наследуется по X-P типу.

В семье молодых родителей (их родители здоровы) первый ребенок – девочка здорова, у второго – мальчика с Мартина-Белл (диагноз поставлен на основании клинической картины). Какой метод необходимо использовать, чтобы подтвердить диагноз? Ожидаемые результаты. Напишите наиболее вероятные генотипы родителей и детей. Какова вероятность, что следующий ребенок будет болен?

Задание 29

Цитогенетические методы нередко используются в диагностике клинических форм рака. Например, генетическим маркером хронического миелолейкоза является филадельфийская хромосома Ph¹. Карิโอтип клеток костного мозга больных хроническим миелолейкозом 46, XX, t(9q⁺; 22q⁻) или 46, XY, t(9q⁺; 22q⁻). Генетическим маркером ретинобластомы (злокачественная опухоль глаза) является микроделеция 13q14.1–q14.2.

Какие цитогенетические методы позволяют определить перечисленные мутации?

Таблица 17

Тип зиготности	Беременность	Генотип		Фенотип													
		одна	две	одинконовый	разный	Пол	ABO	Rh	HLA	цвет глаз	цвет волос	Дерматоглифика	Коэффициент интелекта IQ	Перекрестная трансплантация			

7. БЛИЗНЕЦОВЫЙ МЕТОД

Близнецы – дети, рожденные от одной беременности. Различают моно- (МЗ) и дизиготных (ДЗ) близнецов.

Близнецовый метод (БМ) применяется главным образом при решении вопроса о соотносительной роли наследственности и среды в формировании изучаемого признака (болезни), сравнивая конкордантность (внутрипарное сходство) и дискордантность (внутрипарное различие) МЗ и ДЗ близнецов.

Задание 41

Ознакомьтесь по табл. 17 с признаками, которые чаще других используют для определения зиготности близнецов. Объясните почему. Отметьте в таблице, по каким признакам МЗ близнецы имеют 100% конкордантность, по каким ниже 100%.

Задание 42

Предположим, что в родильном доме у трех женщин родились двойни: у первой – две девочки, у второй – два мальчика, у третьей – мальчик и девочка.

Какие близнецы (МЗ или ДЗ) родились у женщины? Что необходимо исследовать, чтобы ответ был однозначным.

Задание 43

В семье молодых здоровых родителей у женщины первая беременность закончилась рождением двух девочек-близнецов: одна здоровая, у другой – с Дауна. У девочек одинаковые группы крови (ABO, Rh, MNS), HLA, цвет глаз и волос. Кариотип здоровой девочки 46, XX, больной – 47, XX,+21.

Какие это близнецы – МЗ или ДЗ? Как можно объяснить рождение больной и здоровой девочек в этой семье?

Задание 44

Проанализируйте по табл. 18 сведения по конкордантности моно- и дизиготных близнецов по ряду нормальных признаков и заболеваний человека и сделайте заключение, в формировании каких из них наследственность играет большую роль, чем среда и, соответственно, наоборот.

Задание 30

У молодых здоровых родителей у первого ребенка с Дауна (классический вариант). Женщина беременна и ее волнует вопрос, какой ребенок у нее родится, здоровый или больной.

Чтобы правильно ответить на вопрос женщины, проведите кариотипический анализ метафазной пластинки VIII из клеток хориона плода (рис. 8). Окраска рутинная. Определите количество хромосом в каждой группе. Напишите кариотип плода.

Задание 31

У юноши клинически диагностирован с Клайнфельтера. Основные признаки: гипоплазия яичков и полового члена, вторичные половые признаки по женскому типу.

Для подтверждения диагноза проведите кариотипический анализ (метафазная пластинка V, рис. 9, окраска рутинная) лимфоцитов крови юноши. Определите количество хромосом в группах и количество половых хромосом. Напишите кариотип юноши.



Рис. 8.
Метафазная пластинка VIII

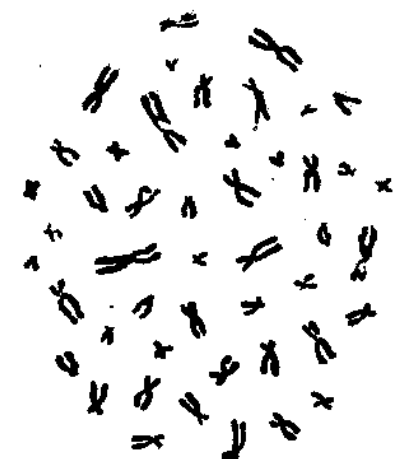


Рис. 9.
Метафазная пластинка V

4. БИОХИМИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ

Биохимические методы (Б.М.) используются в основном при дифференциальной диагностике наследственных нарушений обмена веществ, когда известен дефект первичного биохимического продукта гена. Чаще всего это дефект фермента, а также структурных, транспортных белков, или субстрата ферментов и продукты метаболизма.

Задание 32

Ознакомьтесь с классификацией биохимических методов и основными показаниями для их использования.

Существуют качественные, количественные и полуколичественные биохимические методы. Объектом исследования являются кровь, моча, амниотическая жидкость, меконий и др.

Качественные методы более простые, нетрудоемкие, но менее специфичны, и поэтому используются для массового скрининга. Например, в роддоме всех новорожденных скринируют на ФКУ.

Количественные методы более точные. Используются для селективного скрининга. Показания: дети из группы риска, когда один (А-Р или X-сцепленное наследование) или оба родителя (А-Р тип наследования) облигатные гетерозиготы (например, фруктоземия, гемофилия А и В), а также лица, у которых была положительная реакция на этапе массового скрининга.

Основные показания для биохимических методов:

- недифференцированная умственная отсталость;
- судорожный синдром, мышечная гипо- и гипертония;
- непереносимость отдельных пищевых продуктов;
- снижение слуха и зрения.

Задание 33

Фенилкетонурия (ФКУ) – А-Г болезнь. Основные симптомы: умственная отсталость (УО), ряд неврологических симптомов, гипопигментация кожи, светлые волосы и глаза, ранний карнес. В основе патогенеза ФКУ – нарушение перехода аминокислоты фенилаланина (ФА) в тирозин.

Таблица 16

Дерматоглифика при некоторых заболеваниях человека

Заболевание	Преобладающий тип узора на пальцах	Узоры на		Гребневый счет	Угол atd	ЧПС	Другие особенности
		H	Th				
с. Шерешевского-Тернера (45, XO)	LU или W	↑	↓	↑ (178)	↑ (> 57°)	+	часто
с. Клайнфельтера (47, XXУ)	A	↑		↓ (115)	↓ (< 57°)	+	часто
с. Патау (47,+13)	A LR на IV и V п.	↑		↓ (< 60)	↑ (108°)	+	часто
с. Дауна (47,+21)	LU на II п., LR на IV и V п., мелкобороздчатость		↑	↓ (< 60)	↑ (81°)	Часто на одной или двух ладонях	Отсутствие дистальной складки на V п. кисти, узкая петля на I п. стопы
с. «Кошачье крика» (5p ⁻)	A и W			↓	↑ (80-90°)	Часто (80%)	
Расщелина губы и неба (мультифакториальная)	Мелкобороздчатость			↑	↑ (> 57°)	Сближение дистальной и проксимальной складок ладони	
Пороки сердца	Мелкобороздчатость. Билатерально ↑ W			↑	↑ (> 57°) Добавочные t	Сближение дистальной и проксимальной складок ладони	

Задание 38

Пальмоскопия

Ознакомьтесь (по учебной таблице) с основными дерматоглифическими показателями ладоней:

- ладонные подушечки: Тн-тенар, Н-гипотенар;
- трирадиусы: а, b, с, d – пальцевые трирадиусы, t – главный (осевой) трирадиус ладони;
- угол atd – образован линиями, соединяющими трирадиусы a и t, t и d; в норме он равен ~ 57°; встречаются несколько трирадиусов ($t' = 41-60^\circ$; $t'' > 60$; $t''' = 100-108^\circ$);
- главные флексорные – сгибательные складки (борозды): борозда большого пальца, дистальная (поперечная), проксимальная (косая); иногда дистальная и поперечная борозды сливаются в одну – четырехпальцевую складку (ЧПС).

На дерматоглифе кисти здорового человека найдите сгибательные борозды ладони: большого пальца, косую (К) и поперечную (П), осевой трирадиус.

Задание 39

Ознакомьтесь (табл. 16) с особенностями основных дерматоглифических показателей при некоторых заболеваниях. Обратите особое внимание, что при хромосомных болезнях изменения дерматоглифики более выражены.

Обозначения, применяемые в табл. 16: ↑ – увеличение; ↓ – снижение; ЧПС – четырехпальцевая складка; L^U – петля, открытая к V пальцу; L^R – петля, открытая к I пальцу.

Задание 40

Плантоскопия

Подошвенная топография дерматоглифических показателей сходна с ладонной, но менее информативна. Поэтому используется редко. Характерно наличие узкой петли L^U на подушечке V пальца при с. Дауна.

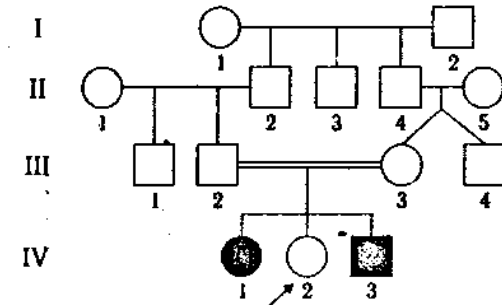


Рис. 10. Родословная семьи, в которой есть больные ФКУ

Описано несколько форм ФКУ, причиной которых являются мутации разных генов и их комбинаций. Например:

- мутация гена ФАГ (локализация 12q24, описано около 200 мутаций) вызывает классическую ФКУ, при этом в крови накапливается ФА, так как снижена активность фермента ФАГ; поддается лечению диетой (исключение из пищи ФА);
- мутация генов ДГПР (4p15) и ДГПС (11q22), при этом активность ФАГ в пределах нормы; такая форма ФКУ не поддается лечению диетой (назначают VH_4 и VH_2).

На рис. 10 приведена родословная семьи, в которой есть больные ФКУ. У III 2 и III 3 интеллект снижен незначительно. У IV 1 и IV 3 выраженная УО. Уровень ФА в крови повышен. Остальные члены семьи здоровы. Определите, какой формой ФКУ больны IV 1 и IV 3. Как это можно сделать? Определите генотипы III 2, III 3 и их детей. Какова вероятность рождения больного ребенка у пробанда? Можно ли лечить больных в этой семье диетой? Как называется явление, когда причиной одной болезни являются мутации разных генов?

Задание 34*

Муковисцидоз – тяжелое А-Р заболевание (популяционная частота 1:2500). Характеризуется множественным поражением экзокринных желез (bronхов, кишечника, поджелудочной железы и др.). Основные признаки: повторные пневмонии, бронхиты,

нарушения пищеварения и др. Причина – мутация гена CFTR (7q31 – q32), кодирующего белок, обеспечивающий транспорт ионов хлора через мембрану клеток, а, следовательно, и воды. Описано 400 вариантов мутаций этого гена. Наиболее частая мутация $\Delta F508$ – микроделеция триплета в 508 позиции гена CFTR, кодирующего аминокислоту фенилаланин. В результате нарушается транспорт воды и секрет желез становится вязким, в слюне и поте увеличена концентрация натрия и хлоридов. У гетерозигот концентрация натрия и хлоридов в поте несколько превышает норму.

У фенотипически здоровых родителей родилась девочка, у которой к концу первого года жизни развились признаки муковисцидоза. Родителей волнует вопрос, следует ли им планировать второго ребенка, будет ли он здоров.

1. Какие методы генетики следует применить, чтобы правильно ответить на вопрос родителей? Ожидаемые результаты этих исследований.
2. Напишите схему брака и вычислите риск повторного рождения больного ребенка у этих родителей.

Задание 35

Акаталазия – наследственно обусловленное отсутствие или резкое снижение активности каталазы во всех органах, слюне и крови больного. Каталаза образуется в пероксисомах клеток. Симптомы акаталазии: упорная альвеолярная пнорея, атрофия альвеолярных перегородок, выпадение зубов, язвенный тонзиллит. Тип наследования – А-Р, локализация гена 11p13.

В семье молодых здоровых родителей (здоровы все их родственники) двое детей: здоровый мальчик (1,5 года) и больная девочка (8 лет). У девочки резко выраженная альвеолярная пнорея. Предположительный диагноз – акаталазия. Родителей волнует вопрос, не заболит ли и мальчик этой болезнью, и будут ли его дети болеть (если он женится на здоровой девушке, все родственники которой здоровы).

1. Какой метод необходимо использовать, чтобы уточнить диагноз болезни девочки?
2. Что взять у нее на анализ; ожидаемые результаты анализа?

Д. применяется в криминалистике (идентификация личности, определение отцовства), в медицине (определение зиготности близнецов, диагностика хромосомных болезней, большинства врожденных пороков развития) в качестве дополнительного экспресс-метода, а также в антропологии. Преимущество Д. перед другими методами – это простота, доступность и быстрота.

Задание 37

Дактилоскопия

Ознакомьтесь с основными типами узоров на подушечках пальцев (учебная таблица).

Дуга (А) – открытый узор, не имеет дельты (трирадиуса – места схождения трех разнонаправленных потоков гребней). Наследуемость 38%.

Петля (L) – замкнутый с одной стороны однодельтовый узор, может быть открыт в сторону мизинца (L^U) или большого пальца (L^R). Наследуемость 95%.

Завиток (W) – замкнутый узор с двумя трирадиусами. Наследуемость 84%.

Возможно сочетание узоров: AL, LW. Сочетание AW очень редкое.

У представителей разных рас частота пальцевых узоров различна. Например, у европеоидов Европы и Азии реже всего встречаются дуги (~6%), петли ~60-70%, завитки ~20-40%. На IV и V пальцах петли у людей, не имеющих врожденной патологии, не встречаются. У правой руки чаще встречаются сложные узоры, у левой – наоборот. У женщин петли и дуги встречаются чаще, чем у мужчин.

Общей характеристикой пальцевых узоров является гребневый счет – число гребней, пересекаемых прямой, соединяющей центр узора с трирадиусом. В норме суммарный гребневый счет на 10 пальцах равен: у мужчин – 140-160, у женщин – 123-134.

На дерматоглифе кисти здорового человека определите типы узоров подушечек пальцев, отметьте на них расположение трирадиусов и определите гребневый счет.

Таблица 14

Примеры наследственных болезней, диагностика которых основана на ПЦР

Заболевание	Локализация гена
1. Фенилкетонурия	12q22 – q21.2
2. Муковисцидоз	7q31 – q32
3. Гемофилия А и В	Xq28; Xq26.3 – q27.1
4. Миодистрофия Дюшенна/Беккера	Xp21.3 – p21.1
5. Ретинобластома	13q14.2
6. Гиперхолестеринемия	19p13.2 – p13.1

Таблица 15

Примеры инфекционных болезней, диагностика которых основана на ПЦР

1	Многие болезни, передающиеся половым путем (в том числе хламидиоз)
2	Вирусные гепатиты
3	Туберкулез

6. ДЕРМАТОГЛИФИКА

Дерматоглифика (Д.) – метод изучения (по отпечаткам) характера кожного рельефа пальцевых подушечек (дактилоскопия), ладоней (пальмоскопия) и подошв (плантоскопия).

Дерматоглифические узоры формируются к 5-6 месяцам эмбрионального развития, индивидуальны, сохраняются в течение всей жизни. Наследуются по полигенному типу.

3. Надо ли проводить аналогичное исследование у сына и родителей?
4. По результатам анализа определите генотипы членов семьи.
5. Напишите схему будущего брака сына и определите вероятность рождения больного ребенка в этом браке.

5. ДНК-ДИАГНОСТИКА

ДНК-диагностика – наиболее достоверный метод диагностики моногенных наследственных болезней. Преимущество ДНК-диагностики по сравнению с другими методами состоит в том, что он позволяет определить первопричину болезни (ген, его локализацию, характер повреждения). При этом выявляются минимальные нарушения в ДНК (единичные нуклеотидные замены и вставки, микроделеции и инверсии), которые не идентифицируются при других методах. ДНК-методы малоинвазивны (достаточно, как правило, не более 1-2 мл крови, в ряде случаев 1-2 клетки или 1 молекула ДНК, или 1 ген). ДНК-методы не требуют повторения, достаточно одного анализа при жизни и даже после смерти.

ДНК-диагностика используется при медико-генетическом консультировании, пренатальной диагностике, в криминалистике (для идентификации личности), определении биологического отцовства, кровного родства, а также при диагностике ряда инфекционных заболеваний (исследуются ДНК возбудителя).

В основе большинства методов ДНК-диагностики лежит амплификация (увеличение копий) фрагментов ДНК или методом клонирования *in vivo*, или с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) *in vitro*.

Сущность амплификации ДНК *in vivo*:

1. Получают исследуемый ген (фрагмент ДНК), «вырезают» его из ДНК специальными ферментами, или синтезируют искусственно методом обратной транскрипции (иРНК → ДНК).
2. Встраивают полученный ген (фрагмент ДНК) в плазмиду (плазмиды обладают автономной репликацией, благодаря чему можно получить множество необходимых копий генов и их продуктов).

По такой же схеме синтезируют ДНК-зонды (нормальные или несущие определенные мутации); их метят (например, радиоактивной меткой) и используют для определения характера повреждения в исследуемых фрагментах ДНК методом гибридизации. Если исследуемый фрагмент ДНК гибридизируется (образует комплементарные пары) с нормальным зондом, то в этом фрагменте ДНК нет мутаций.

Сегодня создан банк диагностических ДНК-зондов (табл. 13), которые используются в диагностике более 20 моногенных болезней.

Продолжительность анализа ДНК с использованием методов клонирования фрагментов ДНК *in vivo* с последующей гибридизацией с ДНК-зондами – от 7 дней до нескольких недель.

Более совершенным и быстрым методом идентификации генома человека является ПЦР-многократное копирование (амплификация) определенного фрагмента ДНК с помощью ДНК-полимеразы. При этом достаточно иметь 1-2 клетки, 1 молекулу ДНК, 1-2 гена или их фрагменты. Один цикл ПЦР складывается из 3-х стадий (рис. 11):

1. денатурация – разделение одной двухцепочечной молекулы ДНК на две одноцепочечные;
2. отжиг – присоединение праймеров (П.) – специфических оли. нуклеотидов (затравки);
3. достраивание цепей ДНК.

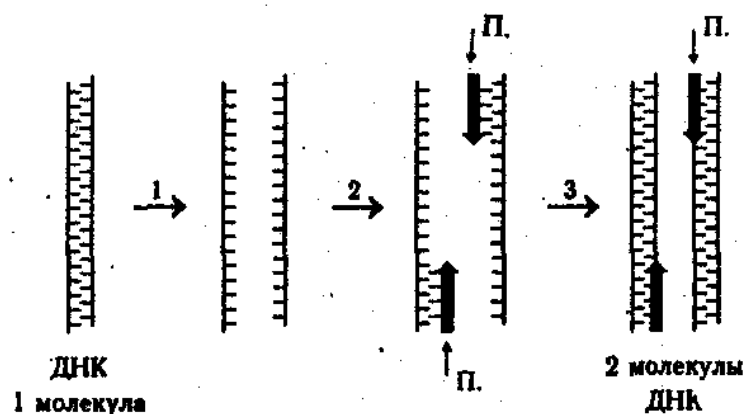


Рис. 11. Схема амплификации ДНК

В итоге образуются две копии ДНК, которые служат матрицей для следующего цикла.

Благодаря ПЦР в течение короткого времени можно амплифицировать интересующий фрагмент ДНК в сотни или миллионы раз, что позволяет наблюдать амплифицированный участок после электрофореза (в геле) даже без применения ДНК-зондов.

Процесс амплификации проводится в специальном программируемом термостате (амплификаторе), в котором автоматически выполняются все необходимые операции.

Для идентификации генома человека с использованием ПЦР достаточно 20 часов, для диагностики инфекционных заболеваний – 20 минут.

Задание 36

Ознакомьтесь с ДНК-зондами, используемыми в диагностике наследственных болезней (табл. 13), примерами наследственных (табл. 14) и инфекционных болезней (табл. 15), диагностика которых основана на ПЦР.

Таблица 13

Примеры ДНК-зондов, используемых в диагностике наследственных болезней

1	Кластер α -глобинового гена
2	Кластер γ -, δ -, β -глобинового гена
3	Гормон роста
4	Фенилаланингидроксилаза
5	Инсулин
6	Глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа
7	Факторы свертывания крови VIII и IX
8	Гены HLA
9	Гены иммуноглобулинов