

# ЛЕКЦИЯ 1

**Тема: МЕДИЦИНСКАЯ ГЕНЕТИКА КАК  
НАУКА. ПРЕДМЕТ И ЗАДАЧИ.  
ОСНОВНЫЕ МЕТОДЫ  
ГЕНЕТИЧЕСКОГО АНАЛИЗА У  
ЧЕЛОВЕКА.**

# Предмет и объект исследования медицинской генетики.

Предмет медицинской генетики - все  
формы проявления наследственных  
патологий человека.

Объект исследования медицинской  
генетики - человек.

# Задачи медицинской генетики.

1. Изучение этиологии наследственных заболеваний.
2. Изучение патогенеза наследственных заболеваний (от гена к фену).
3. Изучение особенностей клинического проявления наследственного заболевания: симптоматика, синдромология, характер течения заболевания, сопутствующая патология.

# Задачи медицинской генетики.

4. Разработка способов лечебной коррекции наследственной патологии.
5. Разработка мероприятий по профилактике проявления наследственных заболеваний у человека.

# Введение

Из 1000 возможных зигот только 300 достигают логического завершения. Остальные 700 подвергаются элиминации на различных стадиях.

Из 300 беременностей 45 завершаются спонтанными абортами, 9 – мертворождением и 246 – живорождением.

# Введение

В структуре детской смертности до  
5 лет

- моногенные болезни составляют 10%,
- болезни мультифакториальной природы - 40%,
- хромосомные болезни - 3-6%,
- средовые воздействия - 44%.

# Введение

В Курской области на 10000 новорожденных приходится 600-800 детей с наследственными болезнями. Из них: у 280 детей - генные болезни, 140 детей - хромосомная патология, 200 детей - болезни с наследственной предрасположенностью, у 440 детей - врожденные пороки развития.

По взаимодействию наследственности и средовых влияний выделяют следующие группы болезней:

1. Наследственные болезни, возникновение которых обусловлено патологическим действием генов, причем, заболевания проявляются независимо от условий среды. Среда может влиять лишь на клиническую выраженность.



По взаимодействию наследственности и средовых влияний выделяют следующие группы болезней:

2. Наследственные факторы являются ведущими в патогенезе заболевания, но для их проявления необходимо действие среды.


3. Этиологическим фактором является среда (например, травмы, отравления, инфекции и т.д.).

Исходя из вышеизложенного  
Н.П. Бочковым предложена  
классификация всей патологии  
человека:

1. Генные болезни. Реализуются через нарушение метаболизма.
2. Хромосомные синдромы (хромосомные мутации и геномные aberrации).
3. Болезни с наследственной предрасположенностью или мультифакториальные (моногенные и полигенные).
4. Экзогении.

# Клинико-генеалогический

## метод

 метод родословных с прослеживанием болезней или признаков среди родственников при помощи приемов клинического наблюдения.

Объект исследования — семья и ее родословная.

Сущность метода:

1. сбор генетического анамнеза;
2. построение родословной;
3. написание легенды;
4. анализ, генетическое заключение.

# Клинико-генеалогический

## МЕТОД

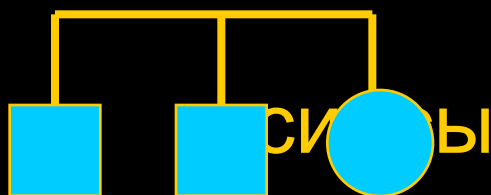
■ - лицо мужского пола

● - лицо женского пола

◆ - пол неизвестен

■ - ○ - брак

■ = ○ - брак кровно-родственный



# Клинико-генеалогический метод

 умерший

 - самопроизвольный выкидыш

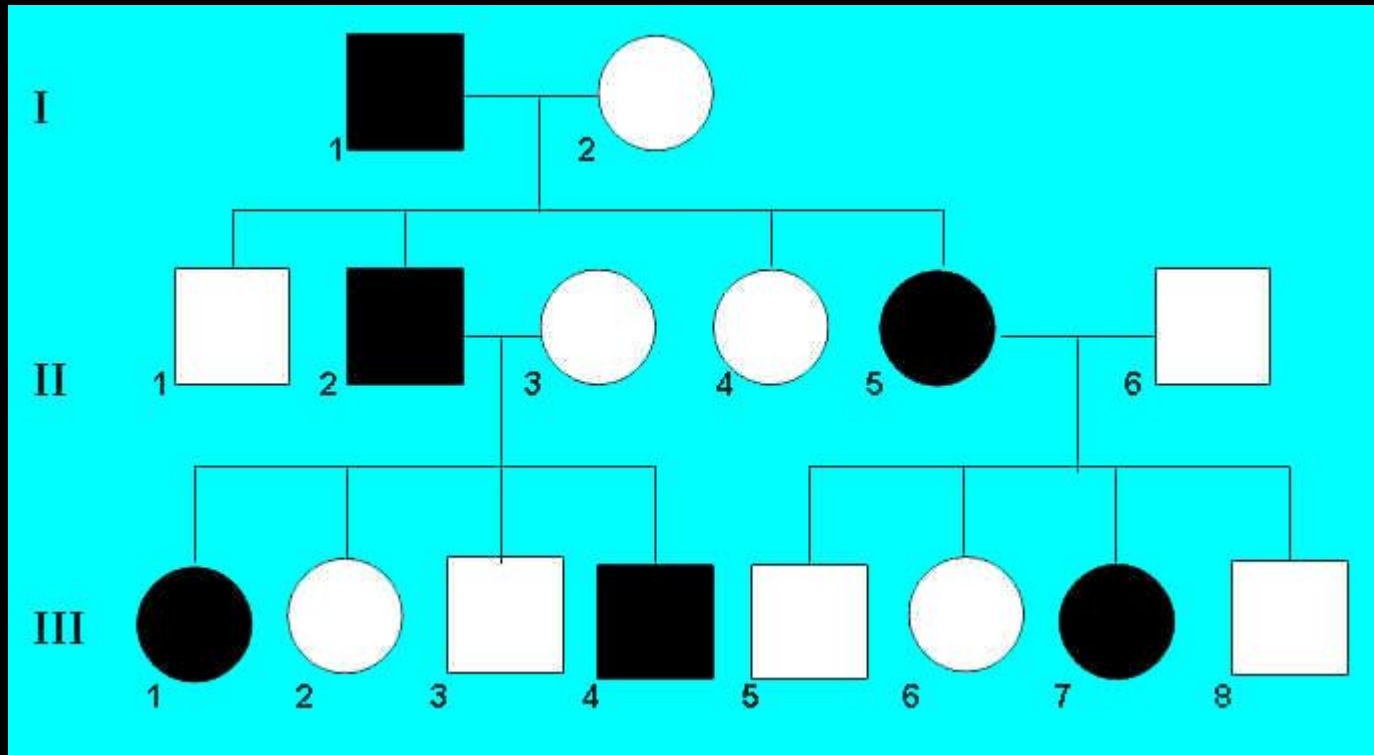
 - медицинский аборт

 - бездетный брак

 пробанд

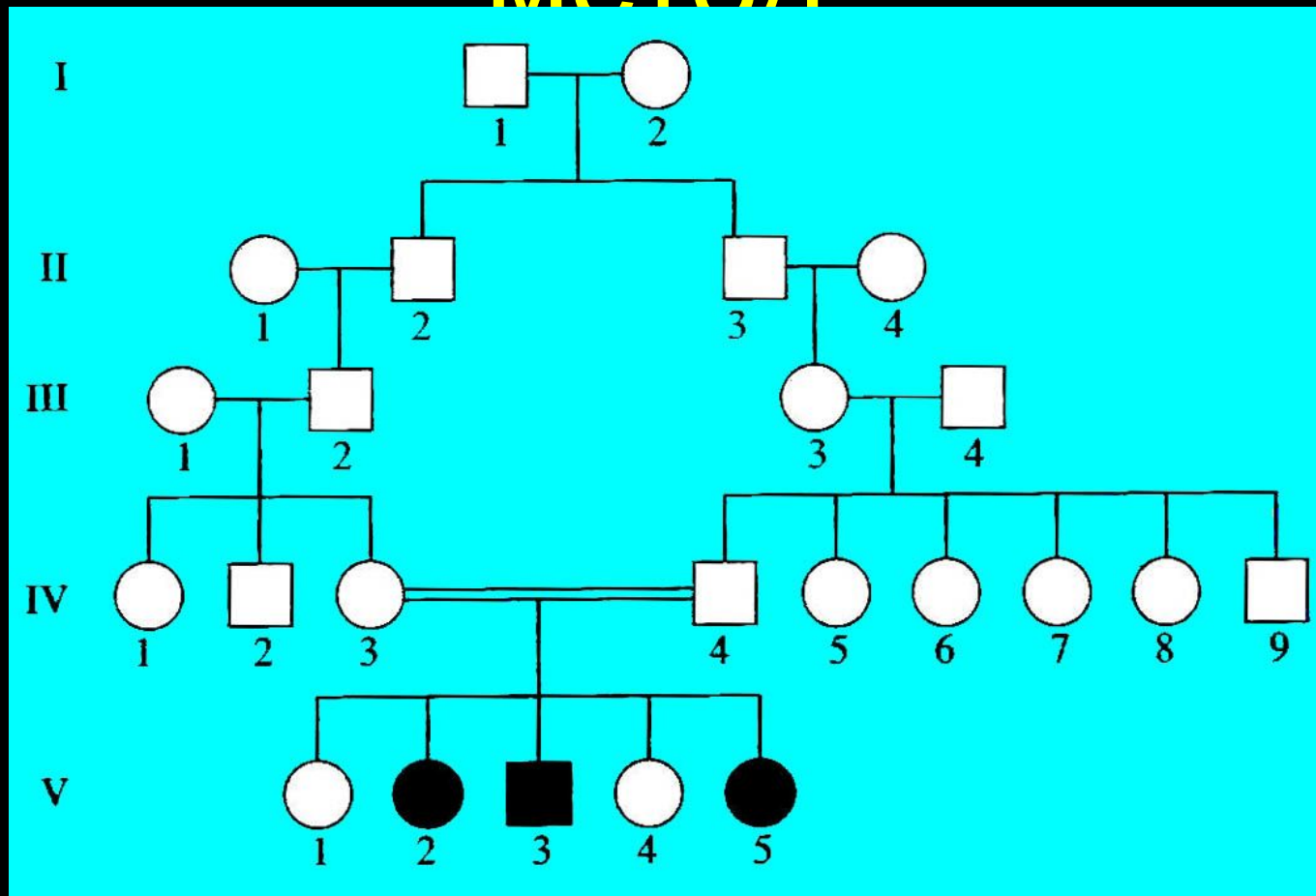
 - лично обследованный

# Клинико-генеалогический метод



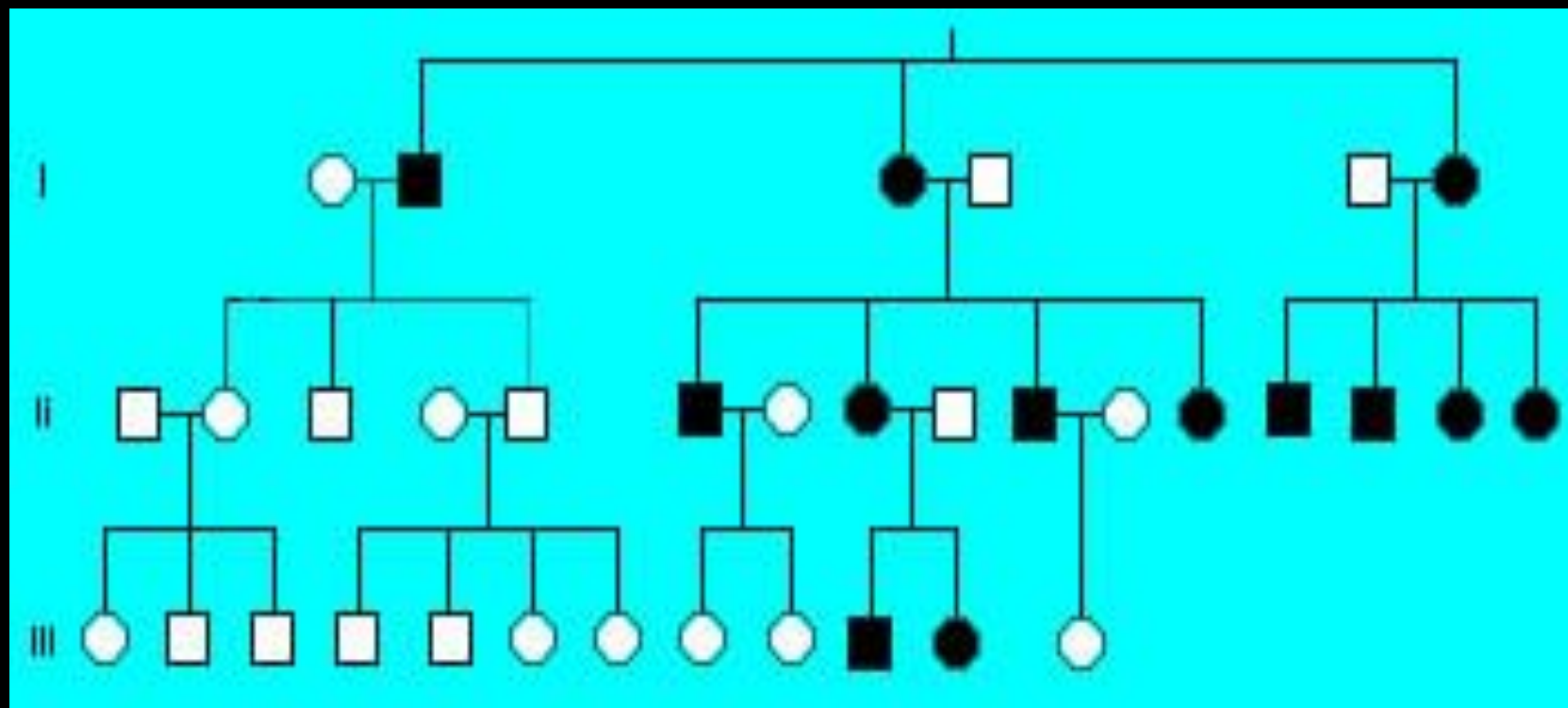
Аутомно-доминантнй тип  
наследования

# Клинико-генеалогический метод



Аутосомно-рецессивный тип наследования

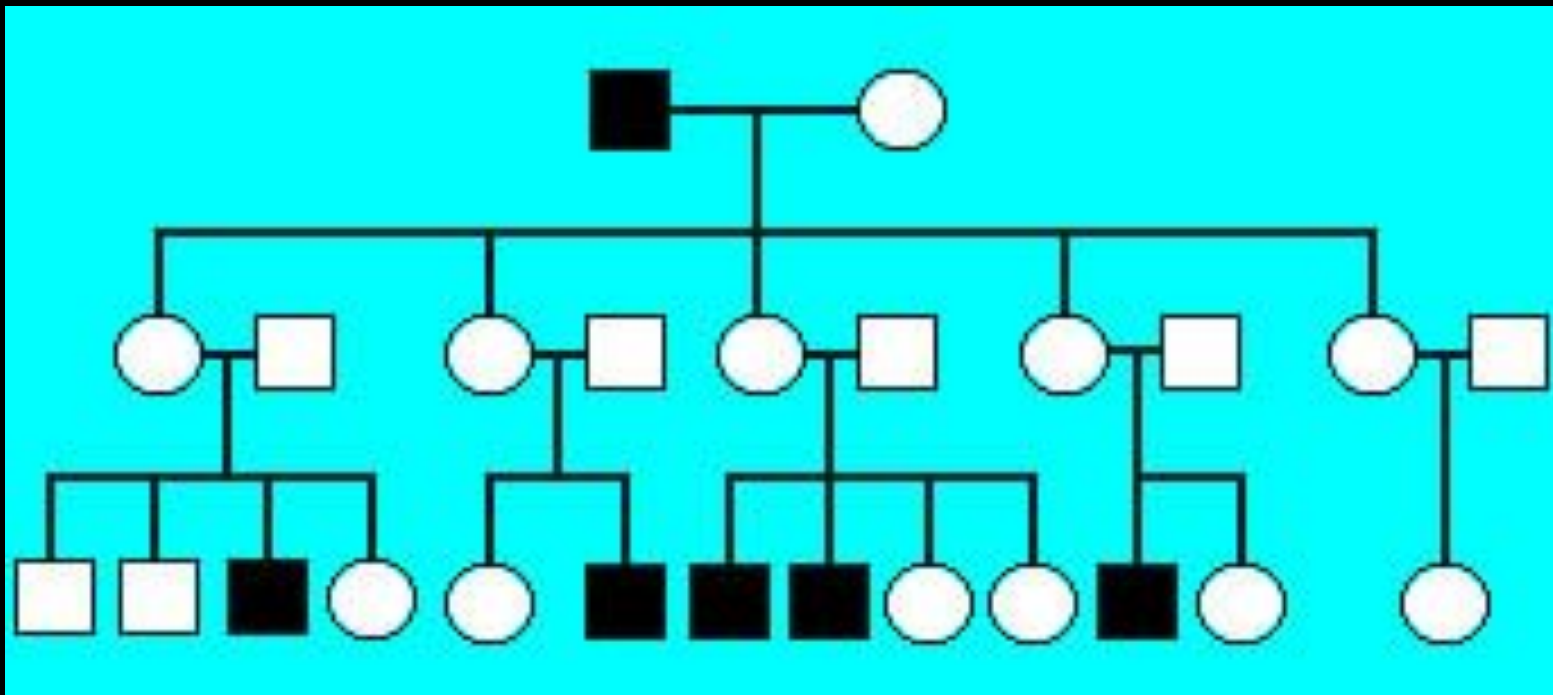
# Клинико-генеалогический метод



Х-сцепленный доминантный тип  
наследования

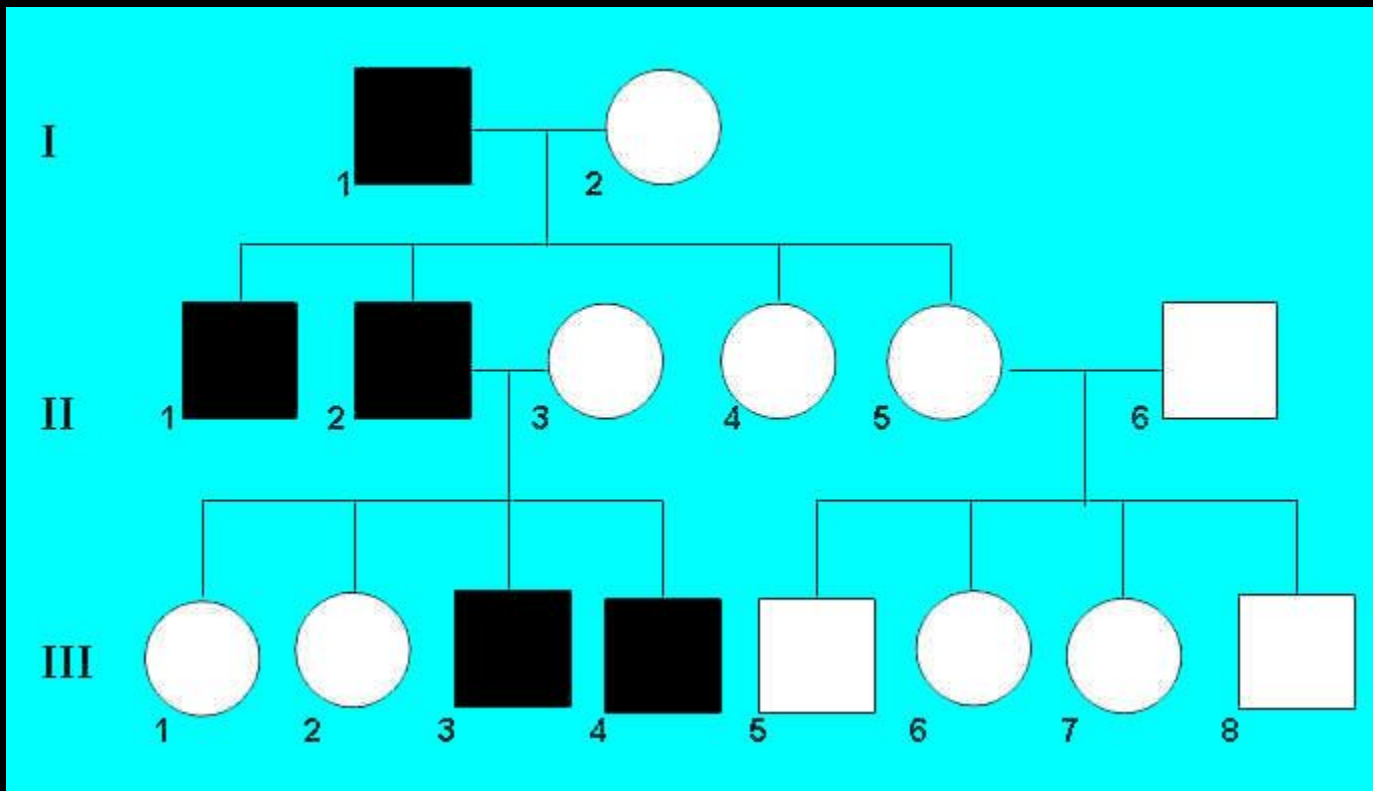


# Клинико-генеалогический метод



X-сцепленный рецессивный тип  
наследования

# Клинико-генеалогический метод



Y-сцепленный тип наследования

# Клинико-генеалогический

## метод

### Показания:

1. Для установления наследственного характера заболевания или признака (нозологические формы, количество пораженных родственников, их степень родства по отношению к пробанду).
2. Для определения типа наследования.
3. При анализе сцепления генов и картировании хромосом.

# Клинико-генеалогический

## метод

### Показания:

4. При изучении интенсивности мутационного процесса.
5. При расшифровке механизмов взаимодействия генов.
6. При медико-генетическом консультировании.

# Клинико-генеалогический метод

## Анализ: Метод братьев и сестер (сибсов)

N семьи	S (число всех детей)	R (число больных детей)	$R \times (S-1)$	$R \times (R-1)$
1				
2				
3				
сумма				

# КЛИНИКО-ГЕНЕАЛОГИЧЕСКИЙ

## МЕТОД

### Анализ: Метод пробандов

N семьи	S (число всех детей)	R (число больных детей)	A (число пробандов)	$A \times (S-1)$	$A \times (R-1)$
1					
2					
3					
сумма					

# Клинико-генеалогический метод

## Математический анализ

$$p = \frac{\sum R \times (R-1)}{\sum R \times (S-1)}; \quad \delta = \sqrt{\frac{p \times (1-p)}{\sum S}}; \quad t = \frac{p^1 - p}{\delta};$$

$$p = \frac{\sum A \times (R-1)}{\sum A \times (S-1)}$$

где  $S$  – число всех детей,  $R$  – число больных детей,  $A$  - число пробандов,

$p$  - сегрегационная частота,  $\delta$  - дисперсия,  $t$  - критерий Стьюдента,  
 $p^1$  - ожидаемая сегрегационная частота (для  
аутосомно-доминантного типа наследования - 0,5; для  
аутосомно-рецессивного - 0,25)

# Близнецовый метод

основывается на существовании двух типов близнецов - моно и дизиготных.

**Монозиготные близнецы** - есть результат расхождения бластомеров на самых ранних этапах антенатального развития, их генотипы имеют 100% сходство.

**Дизиготные близнецы** - результат формирования двух зигот и следовательно наследственность у них мало чем отличается от родных братьев и сестер (общих генов 50%).

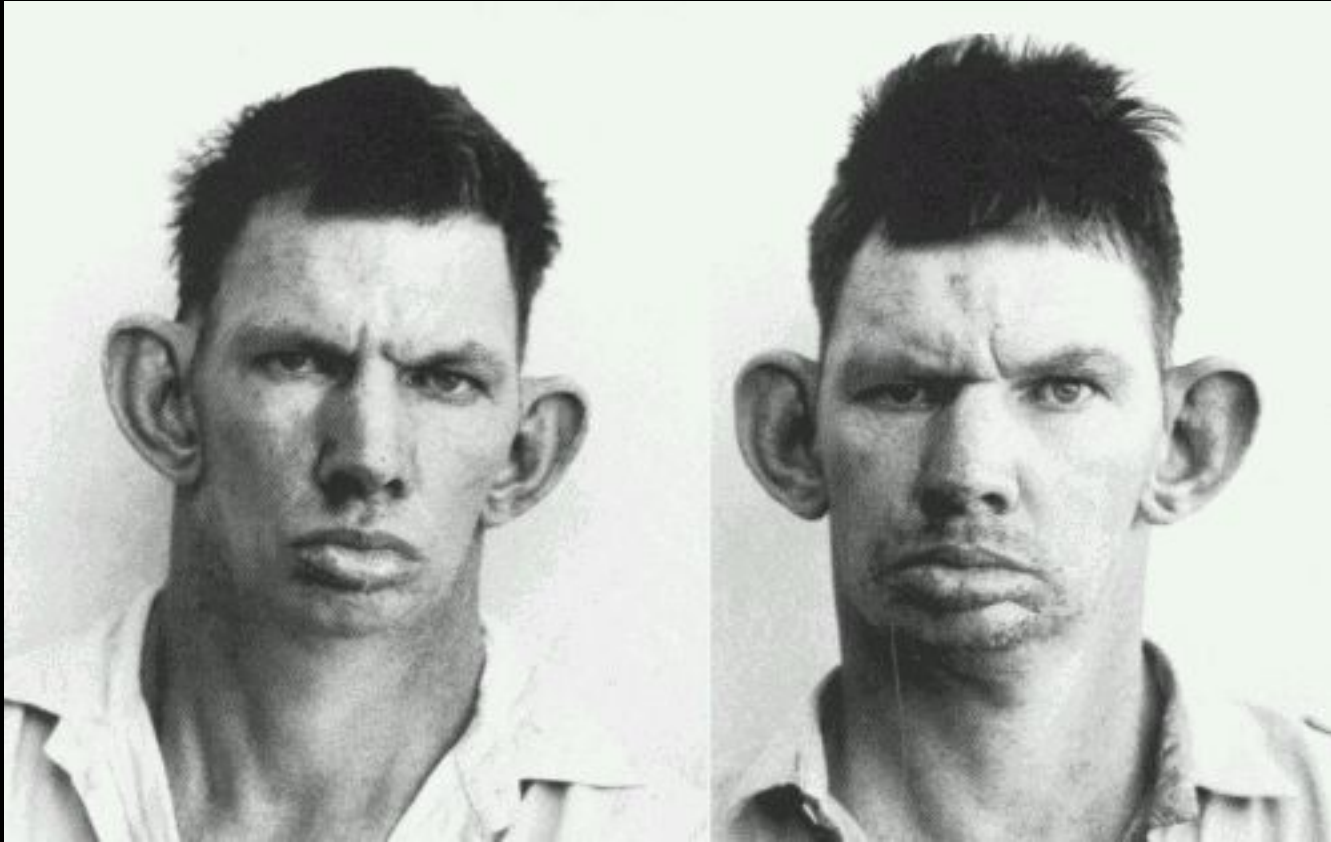


# Близнецовый метод



Монозиготные близнецы

# Близнецовый метод



Дизиготные близнецы

# Близнецовый метод



Тройня

# Близнецовый метод

**Сущность метода:** любой признак - результат взаимодействия генотипа и среды, в которой происходит реализация генетической программы.  $E + G = 1$ , где  $E$  - вклад среды,  $G$  - вклад наследственности. Сравниваем реализацию генетической программы с учетом действия средовых факторов среди моно и дизиготных близнецов.

В организме человека по характеру фенотипического проявления все признаки могут быть подразделены на качественные и количественные.

# Близнецовый метод

Коэффициент наследуемости вычисляется по формулам для признаков:

количественных

качественных

$$H = \frac{(r_{\text{мз}} - r_{\text{дз}})}{(1 - r_{\text{дз}})}$$

$$H = \frac{(C_{\text{мз}} - C_{\text{дз}})}{(100 - C_{\text{дз}})}$$

- где  $r$  - коэффициент близнецовой корреляции у монозиготных и дизиготных пар.

- где  $C$  - показатель конкордантности (сходства признаков близнецов) отражает удельный вес в процентах близнецовых пар, конкордантных по данному признаку.

# Близнецовый метод

Конкордантность у близнецов по ряду нозологических форм (В.П. Ефроимсон):

Нозологическая форма	$C_{M3}$ (в %)	$C_{D3}$ (в %)
шизофрения	67	12
маниакально депрессивный синдром	73	15
недифференцированная олигофрения	94.5	42
эпилепсия	61	12
заячья губа	39	5
врожденный вывих бедра	41	3
стеноз привратника	66	3
первичный туберкулез	66	23
корь	97	95
коклюш	97	92
скарлатина	55	47
ветряная оспа	92	89

# Популяционно-статистический метод

(обоснован Харди и Вайнбергом) позволяет оценивать частоты генотипов (в т.ч. патологических) и получать генетическую структуру популяции.

Объект исследования - популяция.

Основной закон -  $p+q=1$ ,

$$(p+q)^{\text{♀}} \times (p+q)^{\text{♂}} = 1$$

$$p^2+2pq+q^2=1 \text{ или } AA+2Aa+aa=1$$

, где  $p$  - частота доминантного аллеля ( $A$ ),

$q$  - частота рецессивного аллеля ( $a$ ),

$2pq$  - частота гетерозиготных состояний ( $Aa$ )

# Популяционно-статистический метод

Условия идеальной популяции:

1. Численность не менее 500 особей.
2. Популяция не должна испытывать влияния мутагенных факторов.
3. Популяция должна существовать относительно изолированно от остальных особей данного вида.
4. Гомо- и гетерозиготы должны быть одинаково плодовиты и жизнеспособны.



# Популяционно-статистический метод

Пример: из 84000 детей, родившихся в течение 10 лет в родильных домах одного города, у 210 обнаружен патологический рецессивный признак, который проявляется только в гомозиготном состоянии.

Таким образом, частота проявления признака составляет

$q^2 = 210/84000 = 0.0025$ ,  $q = \sqrt{0.0025} = 0.05$ ,  
а доминантный аллель  $p = 1 - 0.05 = 0.95$

Следовательно, частоты генотипов:

гомозиготы  $PP - p^2 = 0.95^2 = 0.9025$  (90.25%)

гетерозиготы  $Pq - 2pq = 2 * 0.95 * 0.05 = 0.095$   
или 9,5%

гомозиготы  $qq - q^2 = 0.05^2 = 0.0025$  или 0.25%

# Популяционно-статистический метод

Пример: в районе с населением 50000 человек при полной регистрации заболеваемости муковисцидозом обнаружено 24 больных.

Муковисцидоз – аутосомно-рецессивное заболевание, следовательно, его частота в популяции составляет  $q^2 = 24/50000 = 0.00048$ , а частота гена  $q = \sqrt{0.00048} = \sim 0.02$ , частота доминантного аллеля  $p = 1 - 0.02 = 0.98$ .

Исходя из вышеизложенного частота гетерозигот по гену муковисцидоза в популяции  $2pq = 2 * 0.98 * 0.02 = 0.0392$  (3.92%),  
- гомозигот  $q^2 = 0.02^2 = 0.0004$  или 0.04%

# Цитогенетический метод

- метод исследования хромосомного набора человека.

Объект исследования – хромосомы.

Кариотип – число, размер, форма и структура хромосом.

Существуют прямой и непрямой методы исследования.

# Цитогенетический метод

## Прямой цитогенетический метод

- анализ кариотипа в быстро делящихся клетках, чаще — в клетках хориона, костного мозга, опухолевых клетках.

Сущность: делают пункцию исследуемой ткани, к небольшому количеству полученного материала (от 5 мг ткани) добавляют гипотонический раствор для осмотического разрыва клеточной мембраны, вводят колхицин (для остановки митоза на стадии метафазы). Затем фиксируют смесью метанола с уксусной кислотой, готовят препараты, красят основным красителем.

# Цитогенетический метод

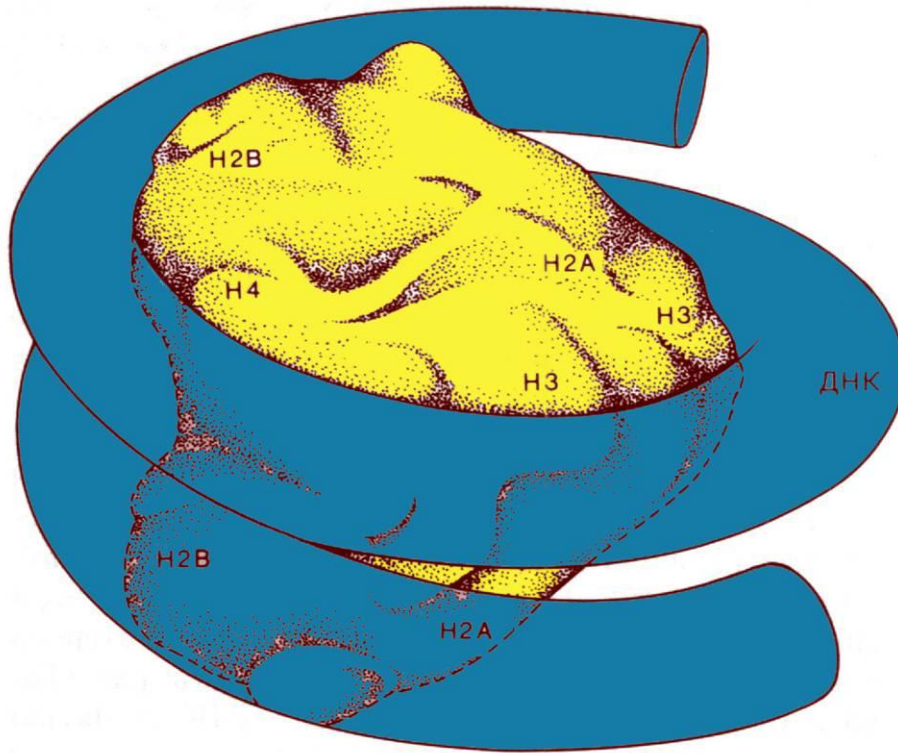
## Непрямой цитогенетический метод

- проводят забор крови в количестве 5 мл., культивируют лимфоциты человека (при необходимости - амниоциты, клетки хориона) в смеси среды Игла (199) с сывороткой крупного рогатого скота и фитогемагглютинином (стимулятор клеточного деления) при температуре  $37^{\circ}\text{C}$  на 48 - 72 часа. Добавляют колхицин, гипотонический раствор, фиксируют, красят.

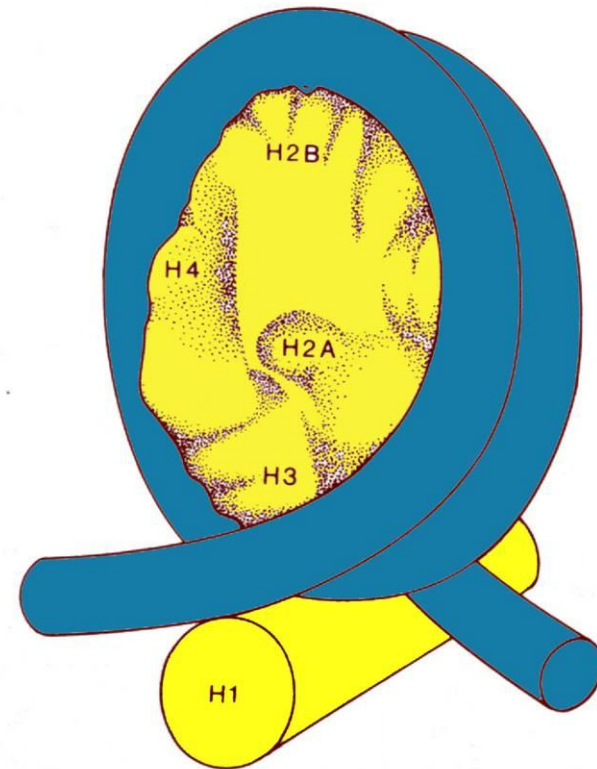
# Цитогенетический метод

Дифференциальный способ С- и G-окрашивания хромосом позволил выделить гетеро- и эухроматиновые участки. Начали составляться карты хромосом по их неоднородности. При дифференциальной окраске применяют трипсин (в результате чего эухроматиновые участки обесцвечиваются, а гетерохроматиновые остаются темными). На стадии метафазы анализируется более 200 сегментов (бендов), на стадии прометафазы - 850-1200 сегментов (сегмент - несколько миллионов пар оснований).

# Цитогенетический метод

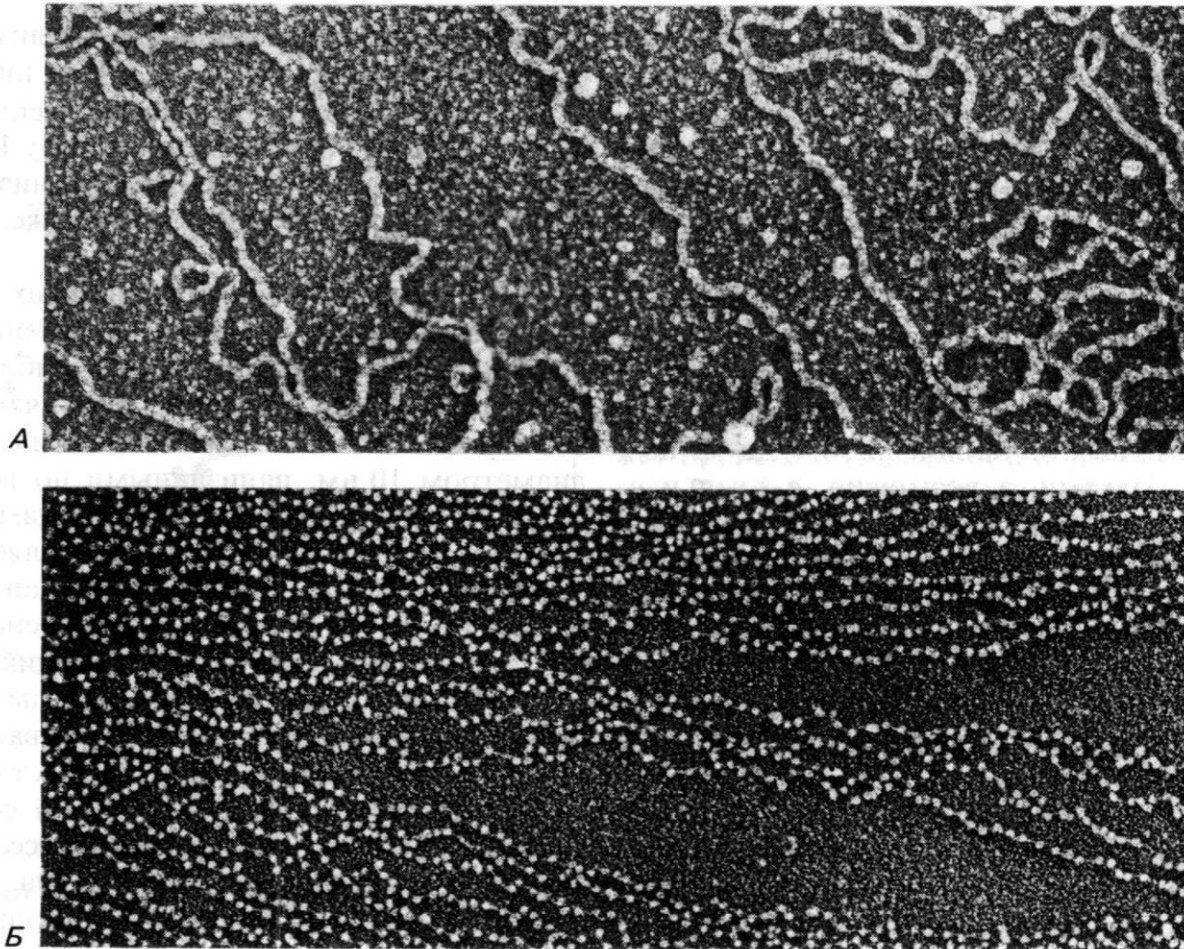


Модель нуклеосомного кора, построенная по данным кристаллографического анализа низкого и высокого разрешения. Сегмент ДНК (145 пар оснований), изображенный в виде трубки, обвивает гистоновый октамер, делая вокруг него  $1\frac{3}{4}$  оборота. [R. D. Kornberg, A. Klug, Sci. Amer., **244** (2) (1981), p. 52.]



Гистон H1 «сшивает» ДНК в местах, где она начинает и прекращает наматываться на нуклеосомный кор. [A. Klug, Les Prix Nobel (Stockholm, Sweden, Nobel Foundation, 1982), p. 93.]

# Цитогенетический метод

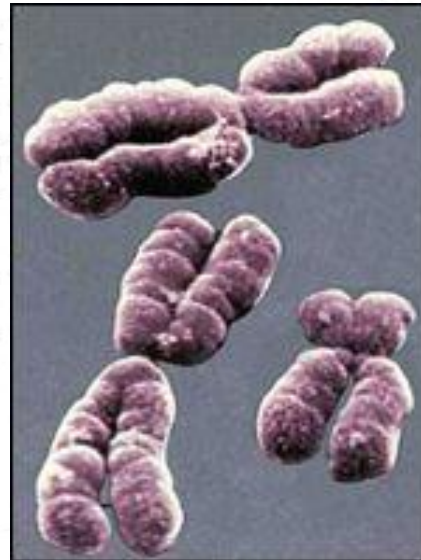
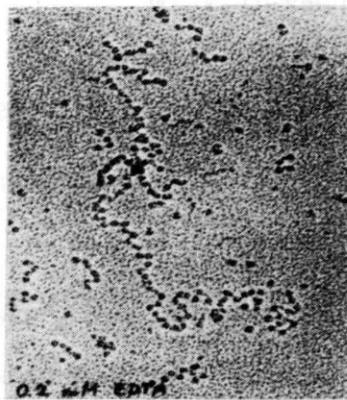
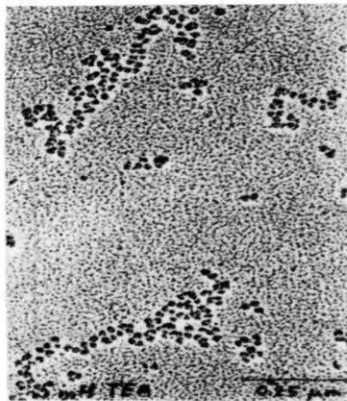
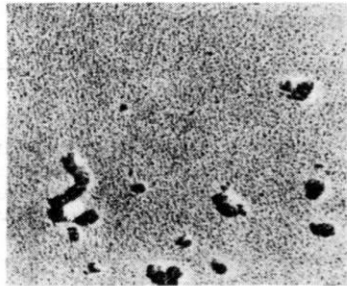


**РИС. 1.15.**

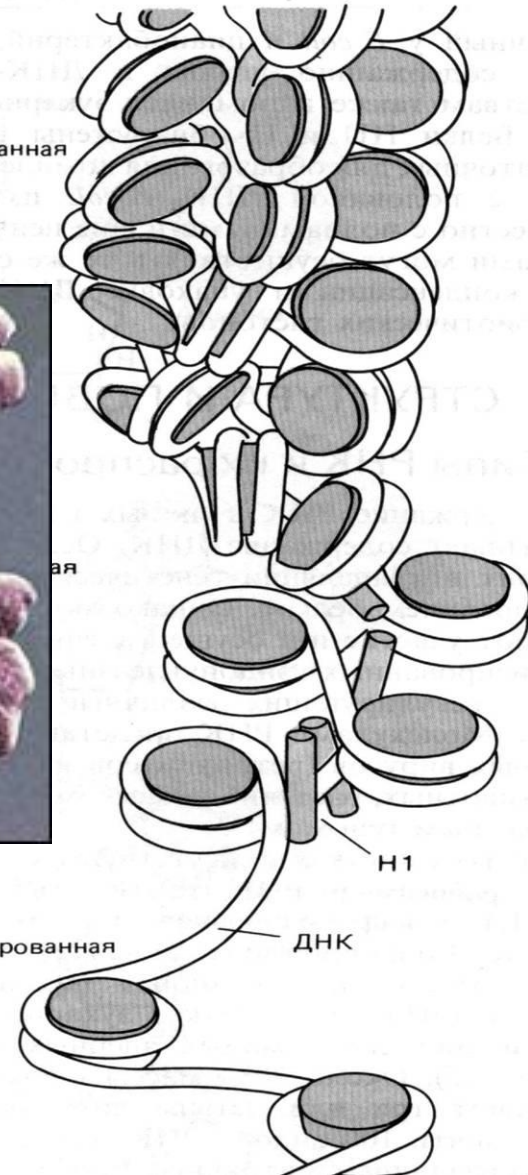
Электронные микрофотографии хроматина. А. Волокно хроматина диаметром 10 нм из почечных клеток CV1 обезьяны. (С любезного разрешения J. Griffith.) Б. Хроматин из эритроцитов цыпленка, имеющий вид нити с нанизанными на нее бусинками. (С любезного разрешения Н. Zentgraf.)



# Цитогенетический метод



Полностью  
конденсированная  
структура

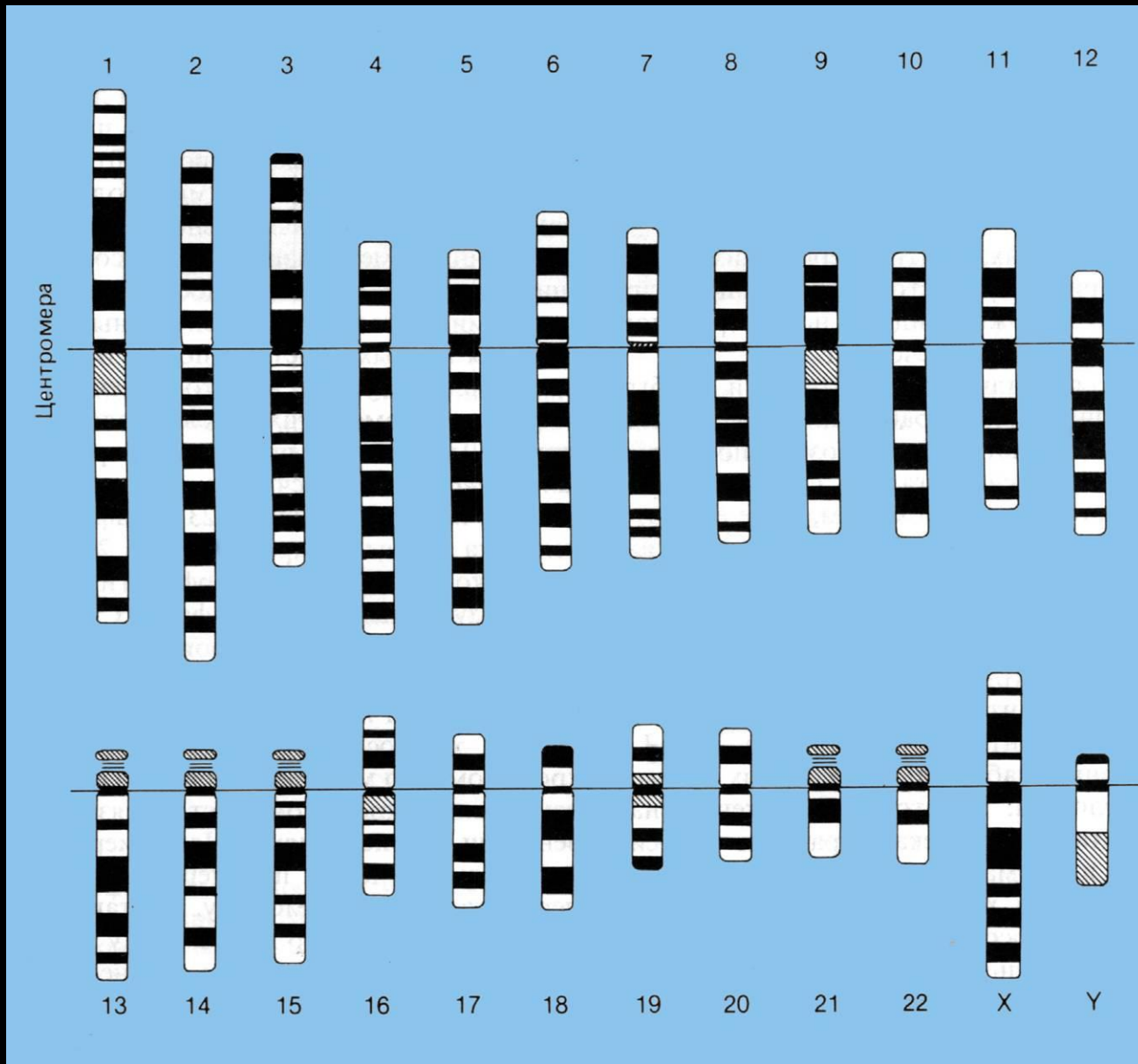


Неконденсированная  
структура

ДНК

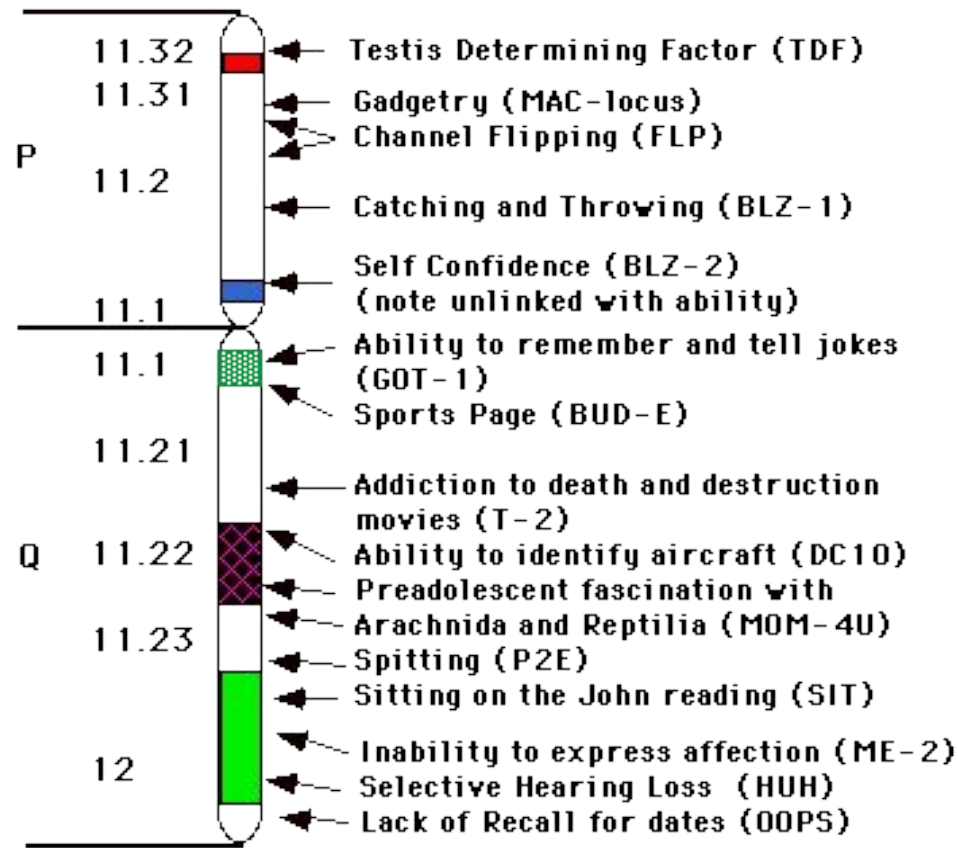
H1

# Цитогенетический метод

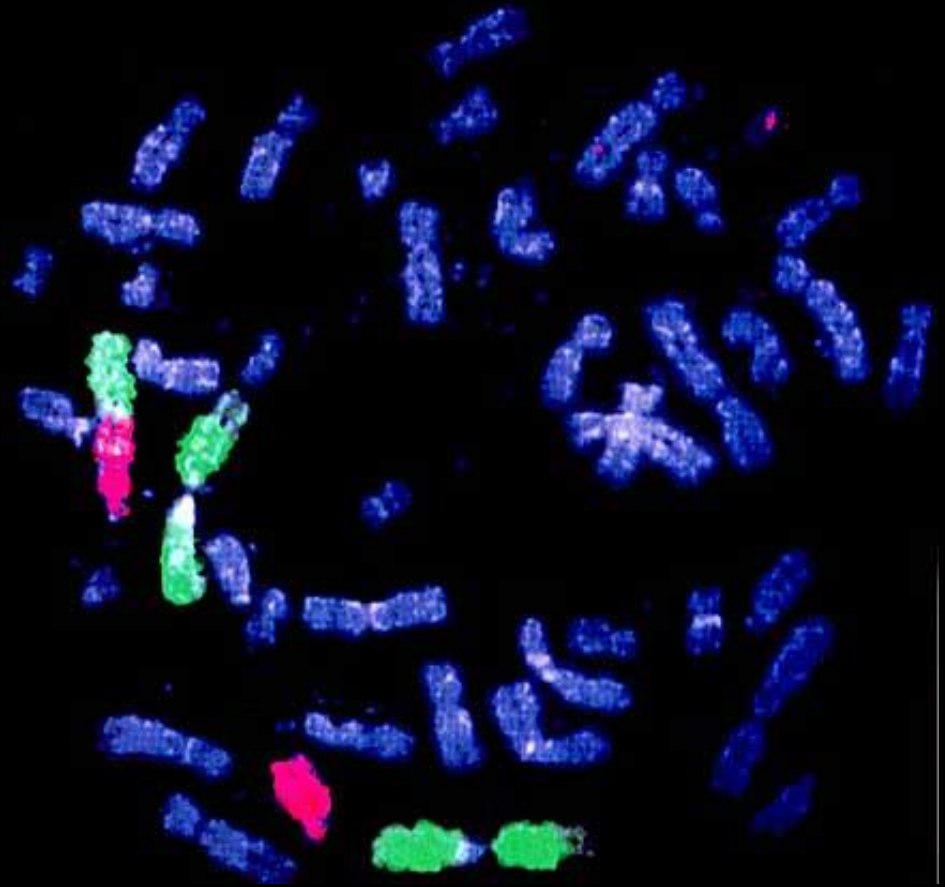
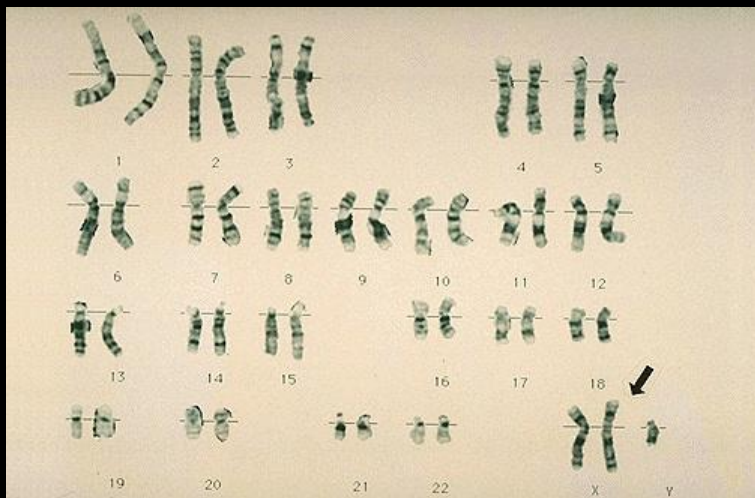
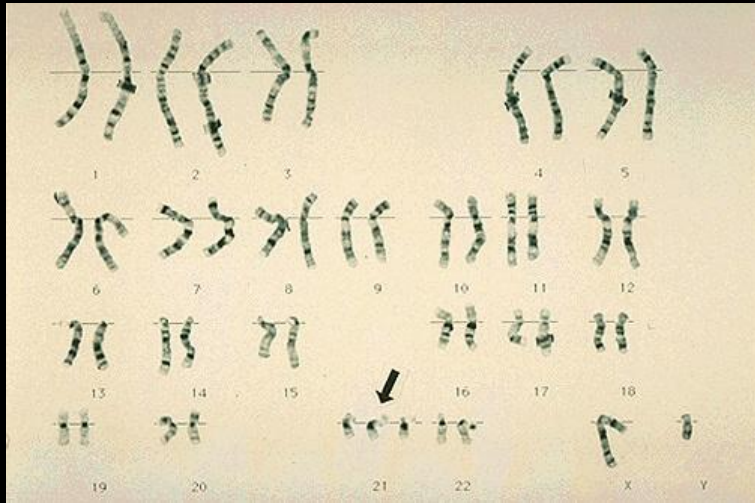


# Цитогенетический метод

## Y Chromosome map



# Цитогенетический метод



# Цитогенетический метод

## Показания для обследования:

1. Подозрение на хромосомную болезнь по клинической симптоматике (для подтверждения диагноза).
2. Наличие у ребенка множественных врожденных пороков развития.
3. Многократные (более двух) спонтанные аборты, мертворождения или рождения детей с врожденными пороками развития.
4. Нарушение репродуктивной функции неясного генеза у женщин и мужчин (первичная аменорея, первичное бесплодие).

# Цитогенетический метод

## Показания для обследования:

5. Существенная задержка умственного и физического развития у ребенка.
6. Наличие 5 и более дизморфий развития (дисплазий).
7. Подозрение на синдромы, характеризующиеся хромосомной нестабильностью.
8. Лейкозы (для дифференциальной диагностики, оценки эффективности лечения и прогноза течения).
9. Оценка мутагенных воздействий (радиационных, химических).

# Биохимический метод

Объект исследования – биологические жидкости, культуры клеток организма.

Выделяют три основных метода: качественный, полуколичественный, количественный.

Качественный метод используется для экспресс диагностики, для обнаружения того или иного метаболита.

# Биохимический метод

**Количественным методом** определяют концентрацию аминокислот, транспортных и структурных белков, липидов, углеводов, неорганических веществ в организме человека; оценивают активность ферментов. Этот метод позволяет оценивать количественное содержание биохимических продуктов.

Для своевременной диагностики гетерозиготного носительства и скрытых форм наследственных болезней обмена используются нагрузочные тесты.



# Биохимический метод

Количественный метод обеспечивается:

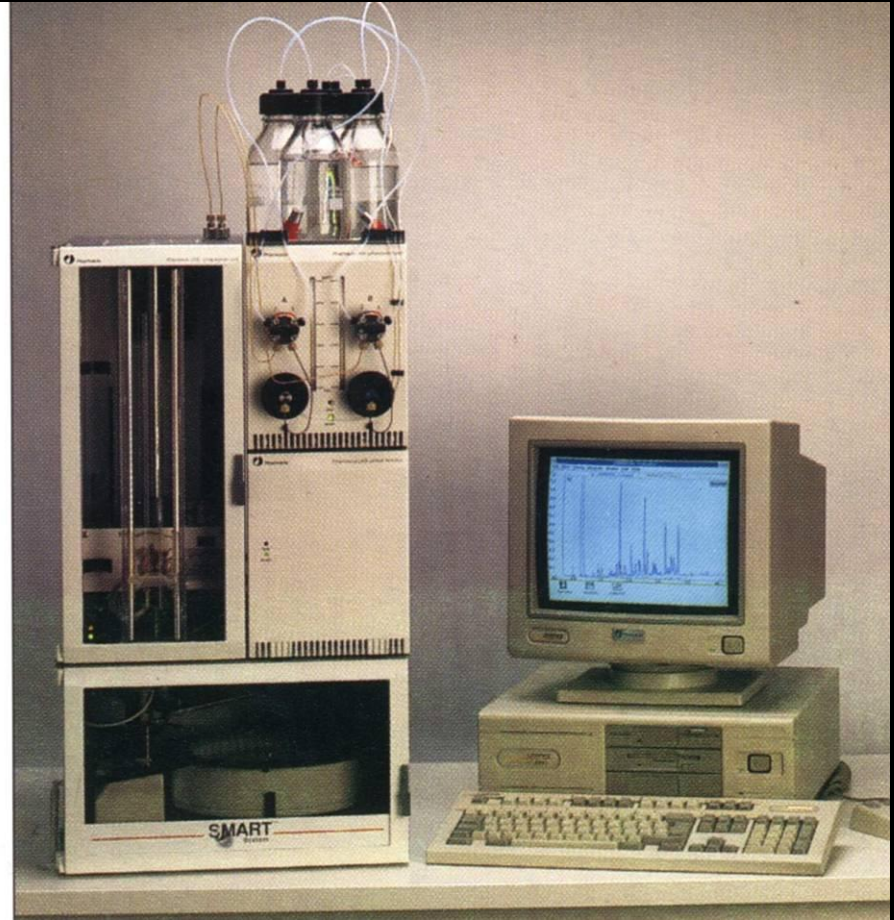
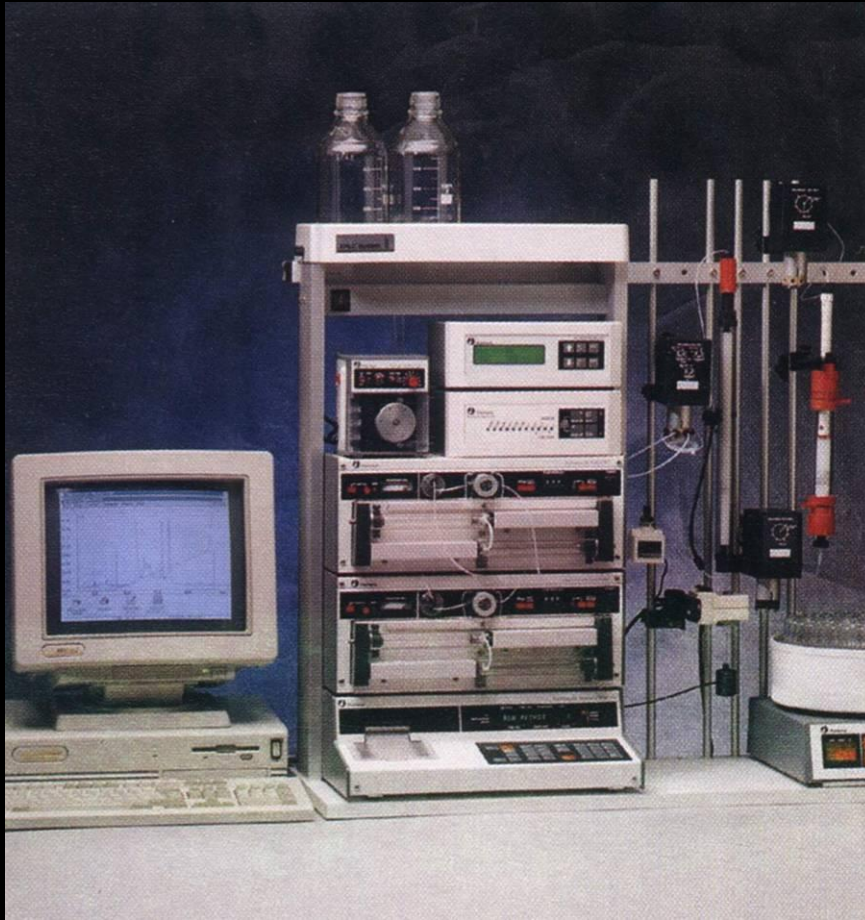
1. высокоразрешающей жидкостной хроматографией,
2. газовой-жидкостной хроматографией,
3. масс спектрометрией,
4. различными видами электрофореза,
5. радиоиммунным методом,
6. иммуноферментным анализом,
7. иммунофлюоресцентным анализом.

# Биохимический метод

Стратегия проведения биохимических исследований:

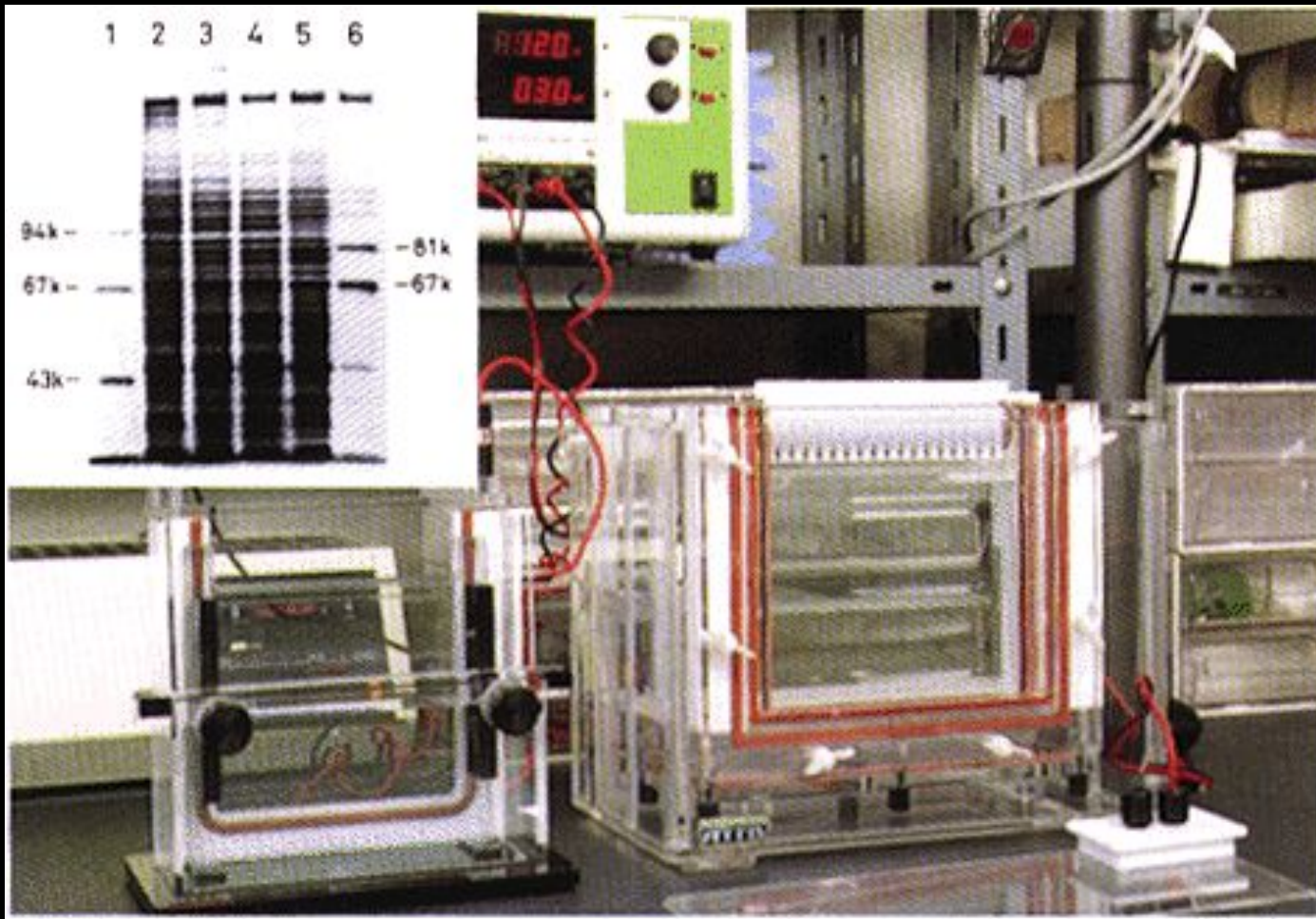
1. Выявление метаболического блока в организме человека через количественную характеристику метаболитов и исследование кинетики метаболитов в организме.
2. Исследование измененных белков путем количественной оценки содержания белков, их функциональной активности.

# Биохимический метод



Автоматические анализаторы  
белков и аминокислот

# Биохимический метод



Аппаратура для электрофореза

## МЕТОД

-это группа методов, предназначенная для выявления вариаций в структуре ДНК вплоть до расшифровки первичной последовательности оснований и локализации гена.

Объект исследования - ДНК

# МЕТОД

Метод дает возможность диагностировать заболевания еще до их развития (например миопатия Дюшена развивается в юношеском, хорей Гентингтона - в зрелом возрасте). Позволяет обеспечивать ДНК диагностику мультифакториальных болезней (например, сосудистых дистоний). Позволяет установить мутации, их локализацию, изменения, возникающие в ДНК и анализировать его первичный биохимический продукт.

# Группы молекулярно-генетических методов:

1. **Секвенирование** - определение нуклеотидной последовательности.

а. химическое (метод Максама-Гильберта) - химическое расщепление ДНК по одному основанию;

б. дидезоксисеквенирование (метод Сенджера) - искусственно синтезируют нужные цепи ДНК - меченные олигонуклеотидные праймеры, гибриди-зируют с однонитевой исследуемой ДНК с последующим электрофорезом в геле.

# Группы молекулярно-генетических методов:

## 2. Блот-гибридизация по Саузерну

1 этап - рестрикция ДНК на фрагменты. Используются специальные ферменты - рестриктазы, разрывающие 2-цепочечную ДНК в пределах строго определенных для каждого фермента последовательностей (4-6 пар оснований).

2 этап - разделение фрагментов ДНК на поверхности агарозного или полиакриламидного геля, денатурация ДНК.



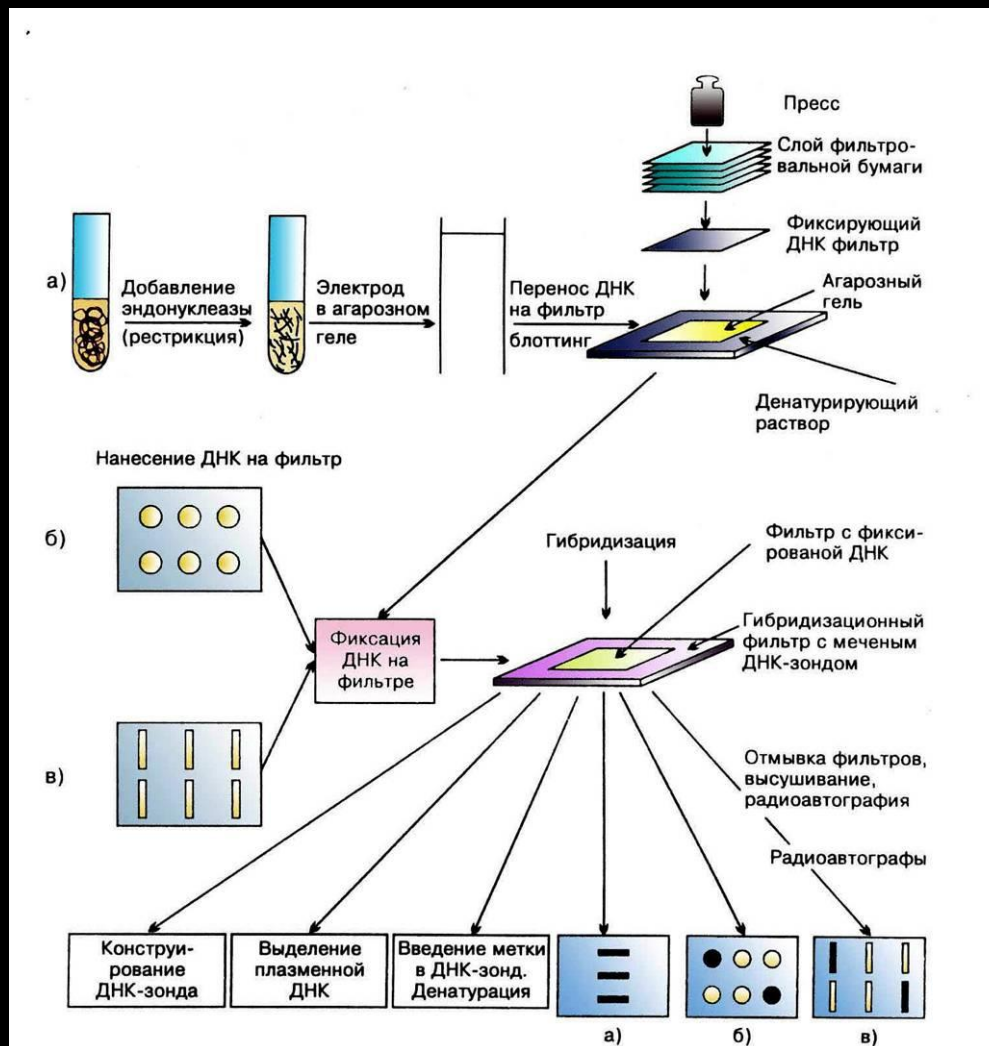
# Группы молекулярно-генетических методов:

## 2. Блот-гибридизация по Саузерну

3 этап - блоттинг или перенос ДНК на нитроцеллюлозный или нейлоновый фильтр в буферном растворе.

4 этап - гибридизация со специальными нуклеотидными последовательностями, меченными радиоизотопной, иммунологической или флуоресцентной меткой. Инкубация, отмывка, визуализация, анализ.

# Группы молекулярно-генетических методов:



## Блот-гибридизация по Саузерну

# Группы молекулярно-генетических методов:

## 3. Полимеразная цепная реакция

Сущность: использование термофильной ДНК-полимеразы, выделенной из бактерий, живущих в горячих источниках, и поэтому устойчивой к действию высоких температур.

Этапы ПЦР:

а. Двунитевая ДНК переводится в однонитевую кратковременным нагревом до температуры 95 - 98 градусов.

б. Гибридизация ДНК с праймерами (температура 30 - 50 градусов).

# Группы молекулярно-генетических методов:

## 3. Полимеразная цепная реакция

в. Синтез последовательностей, комплиментарных матричной ДНК (температура 60 - 70 градусов).

г. Денатурация образовавшихся структур (температура 80 - 90 градусов).

д. Многократное повторение рассмотренного цикла.

# Группы молекулярно-генетических методов:

## 3. Полимеразная цепная реакция

### Стадии ПЦР:

1. Амплификация или умножение определенного участка ДНК. В амплификационную смесь входят два олигонуклеотидных праймера-затравки (для начала и конца считывания), олигонуклеотиды, полимераза, буфер (25-30 циклов, один цикл длится до нескольких минут).

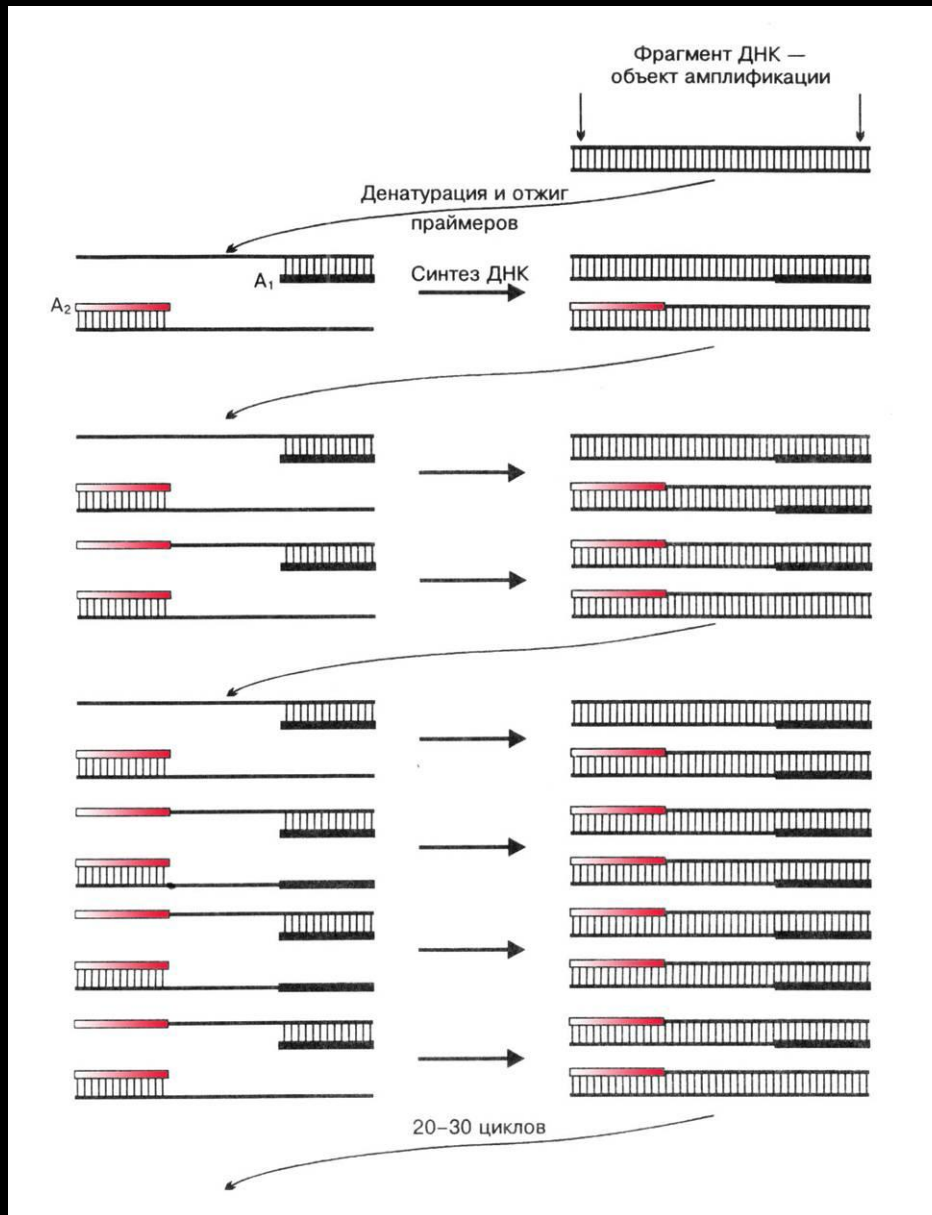
# Группы молекулярно-генетических методов:

## 3. Полимеразная цепная реакция

### Стадии ПЦР:

2. Рестрикция ДНК на фрагменты.
3. Разделение фрагментов ДНК.
4. Визуализация и идентификация фрагментов ДНК.

# Полимеразная цепная реакция



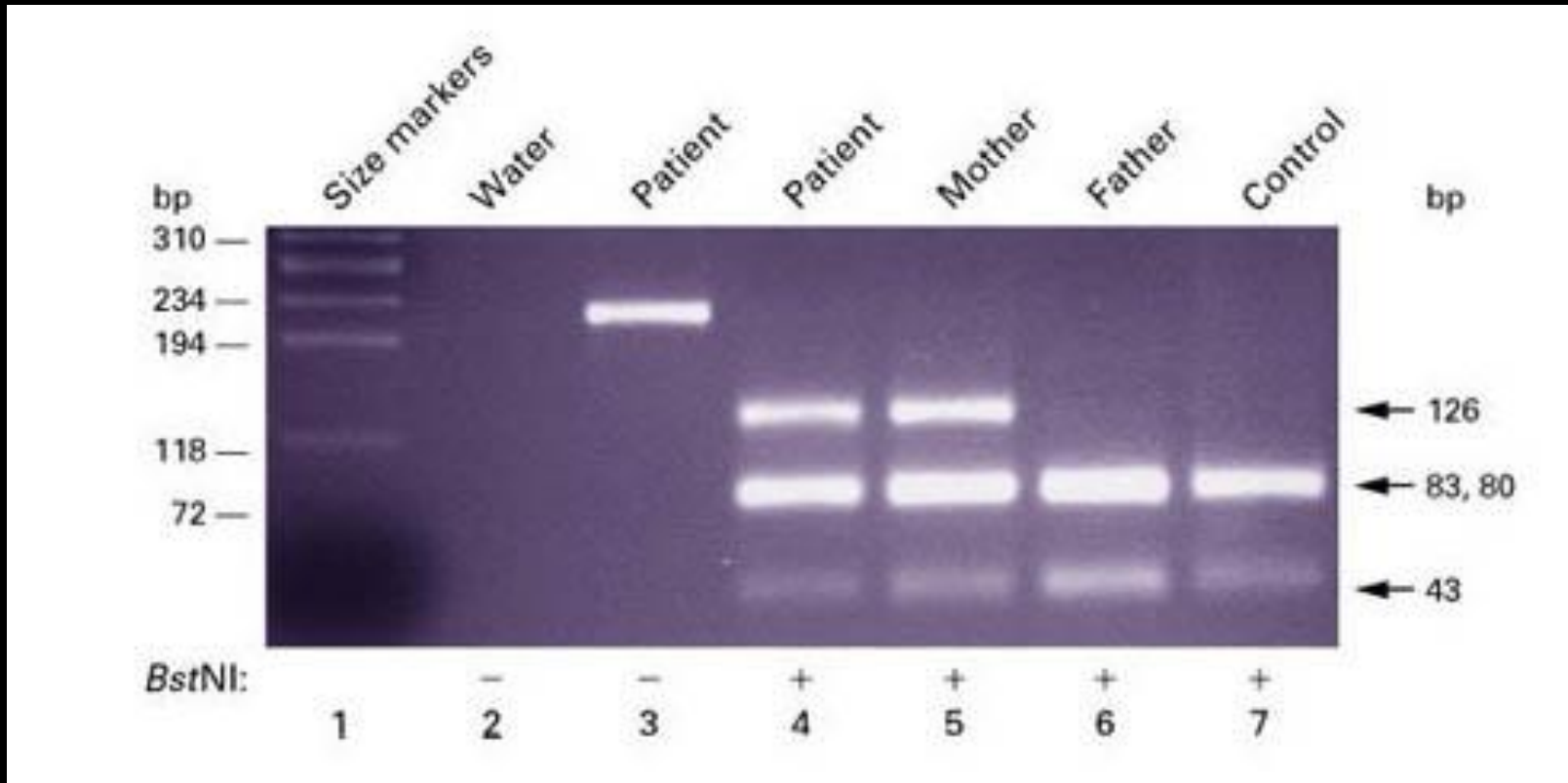
# Полимеразная цепная реакция



ДНК-РНК амплификатор



# Полимеразная цепная реакция



Визуализация и идентификация фрагментов ДНК