

**МЕТОДЫ
ИЗУЧЕНИЯ
НАСЛЕДСТВЕННОС
ТИ ЧЕЛОВЕКА.
КЛАССИФИКАЦИЯ
МУТАЦИЙ.**

Наследственные болезни – это заболевания, возникновение и развитие которых связано с изменениями (мутациями) генетического материала клетки. От наследственных заболеваний следует отличать врожденные заболевания, которые обусловлены внутриутробными повреждениями, вызванными, например, инфекцией или воздействием других факторов на плод во время беременности.

Таким образом, генетическое тестирование дает ответ на два главных вопроса:

- 1. Врожденная или наследственная природа выявляемых пороков развития?
- 2. На каком уровне произошла поломка/нарушение?

На данный момент, мы остановимся только на цитогенетической диагностике, или диагностике на уровне хромосом.

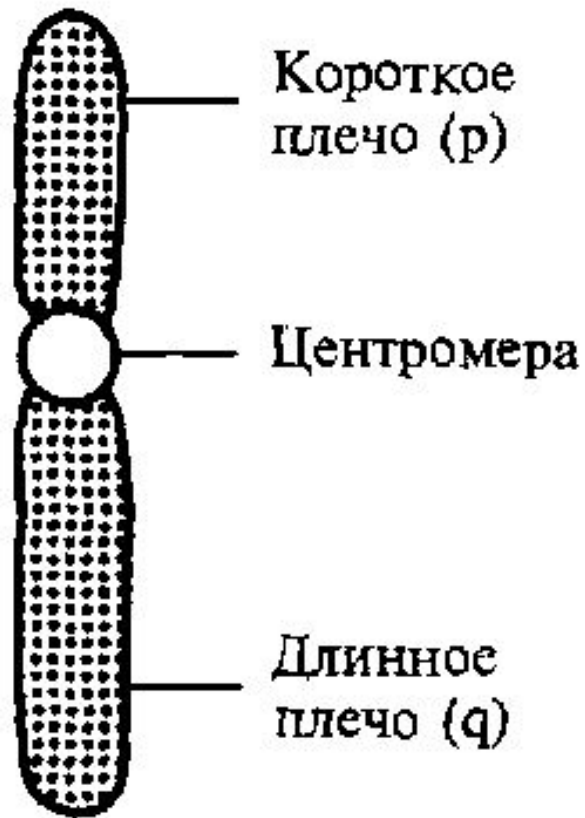
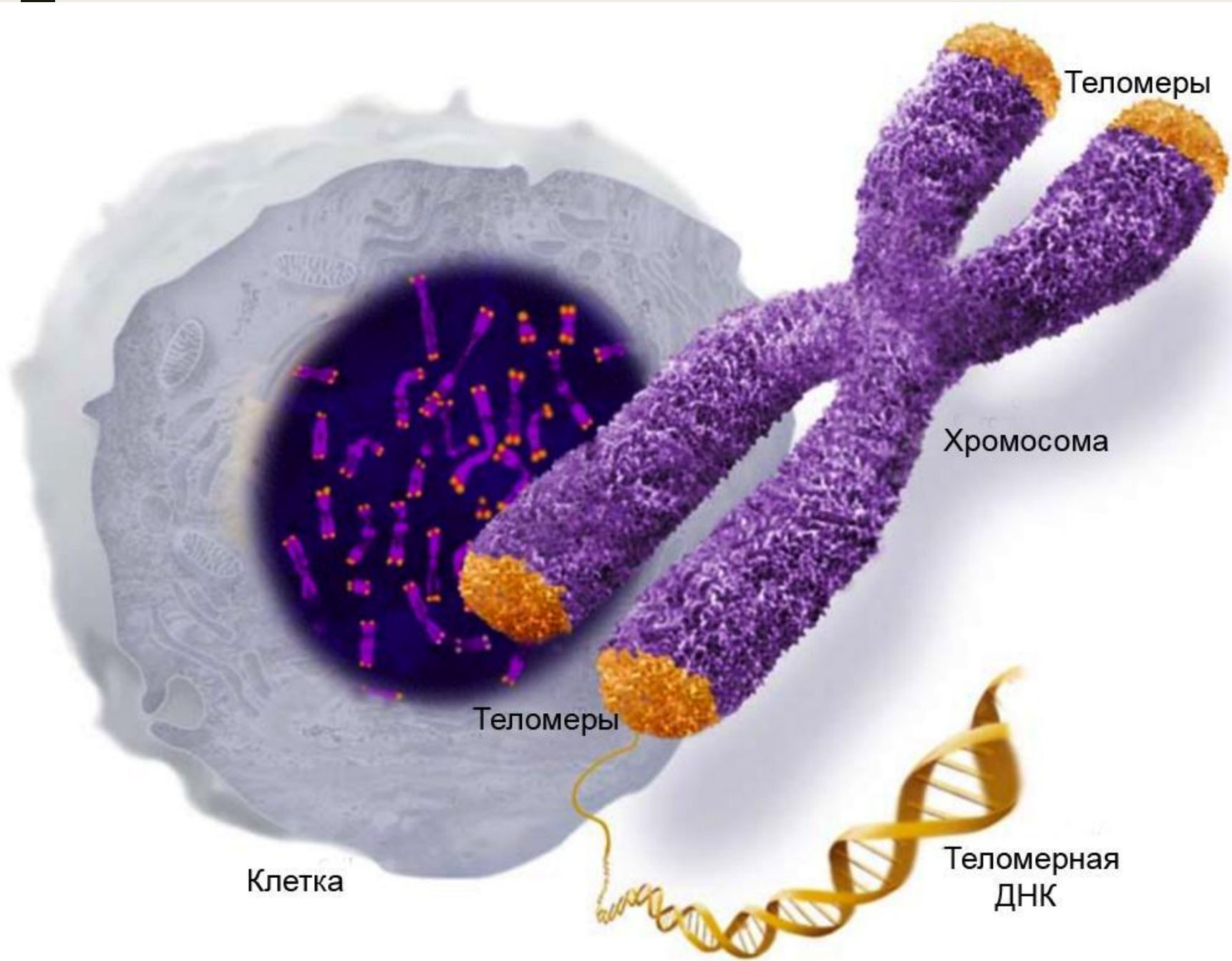


Рис. III.1. Схематическое изображение хромосомы



Рис. III.2. Зависимость формы хромосом от положения центромеры

Хромосомы – это структуры в ядре клетки, состоящие из ДНК и белка, которые сохраняют, реализуют и передают наследственную информацию следующему поколению.



Теломеры —
концевые
участки хромосо
м. Теломерные
участки
хромосом
характеризуются
отсутствием
способности к
соединению с
другими
хромосомами
или их
фрагментами и
выполняют
защитную
функцию.

Диагностика хромосомных аномалий

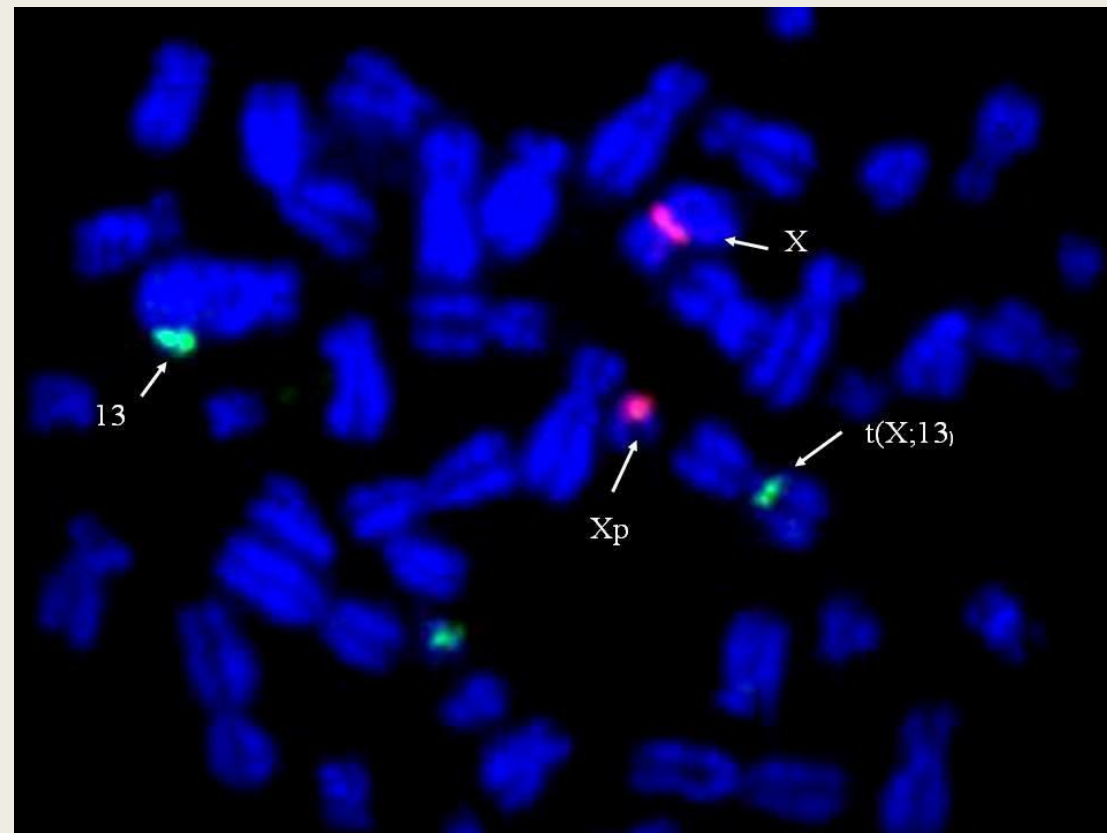
- Диагностика хромосомных аномалий проводится с использованием цитогенетических методов, которые включают в себя культивирование с целью получения метафазных клеток с последующим применением дифференциального окрашивания хромосом по длине и исследованием кариотипа с помощью светового микроскопа.

Наиболее распространенным методом дифференциального окрашивания хромосом является G-окрашивание.

Существуют также и методы, которые окрашивают определённые участки хромосом (например, C-окрашивание,

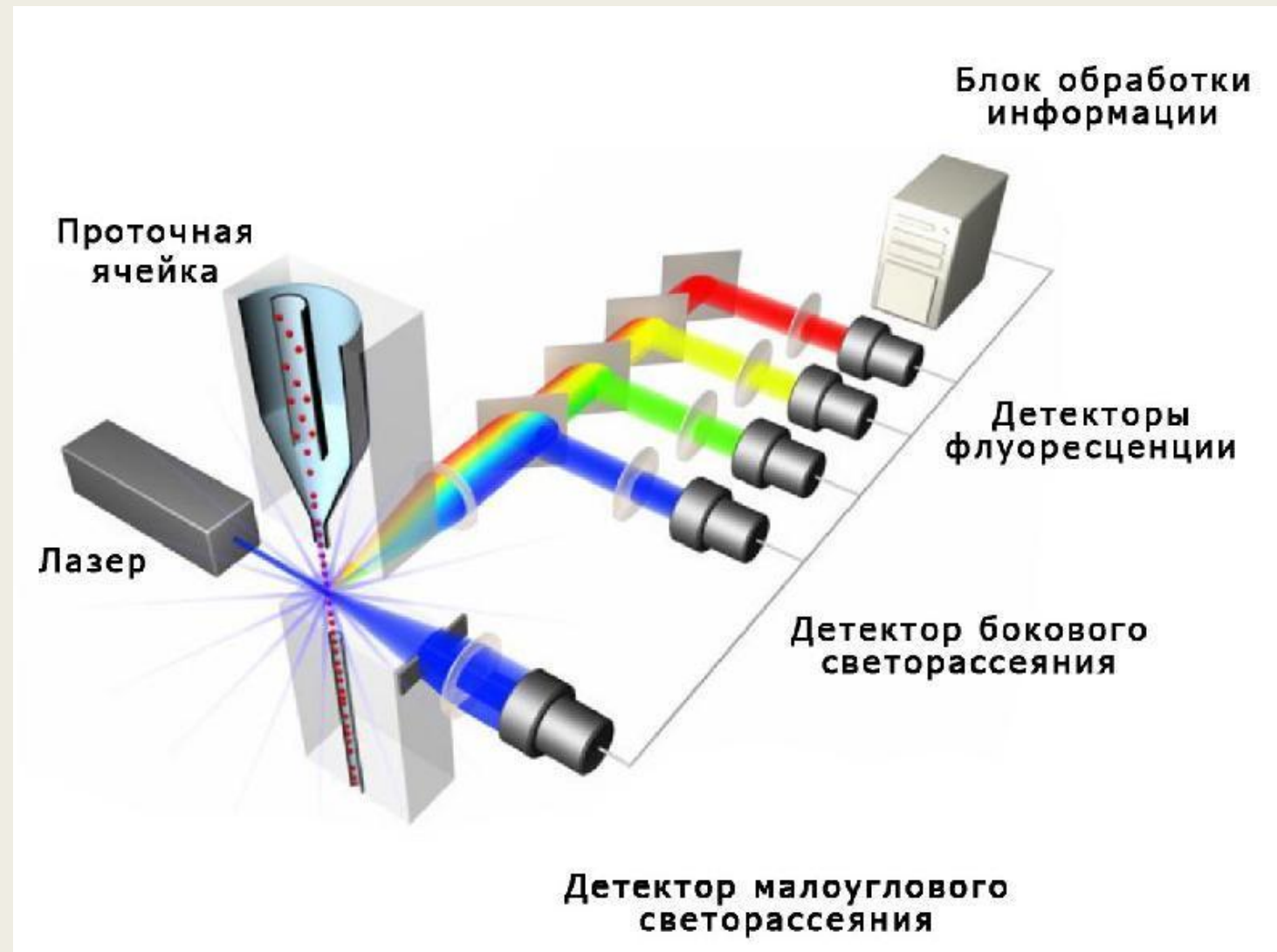
1. Флуоресцентная гибридизация in situ (FISH)

- Это один из самых современных методов диагностики хромосомных аномалий. Он основан на использовании ДНК-проб, меченных флуоресцентной меткой.
- ДНК-пробы представляют собой специально синтезированные фрагменты ДНК, последовательность которых комплементарна последовательности ДНК исследуемых aberrантных хромосом.
- Таким образом, ДНК-пробы различаются по составу: для определения разных хромосомных аномалий используются разные, специфические ДНК-пробы. ДНК-пробы также различаются по размеру: одни могут быть направлены к целой хромосоме, другие – к конкретному локусу.

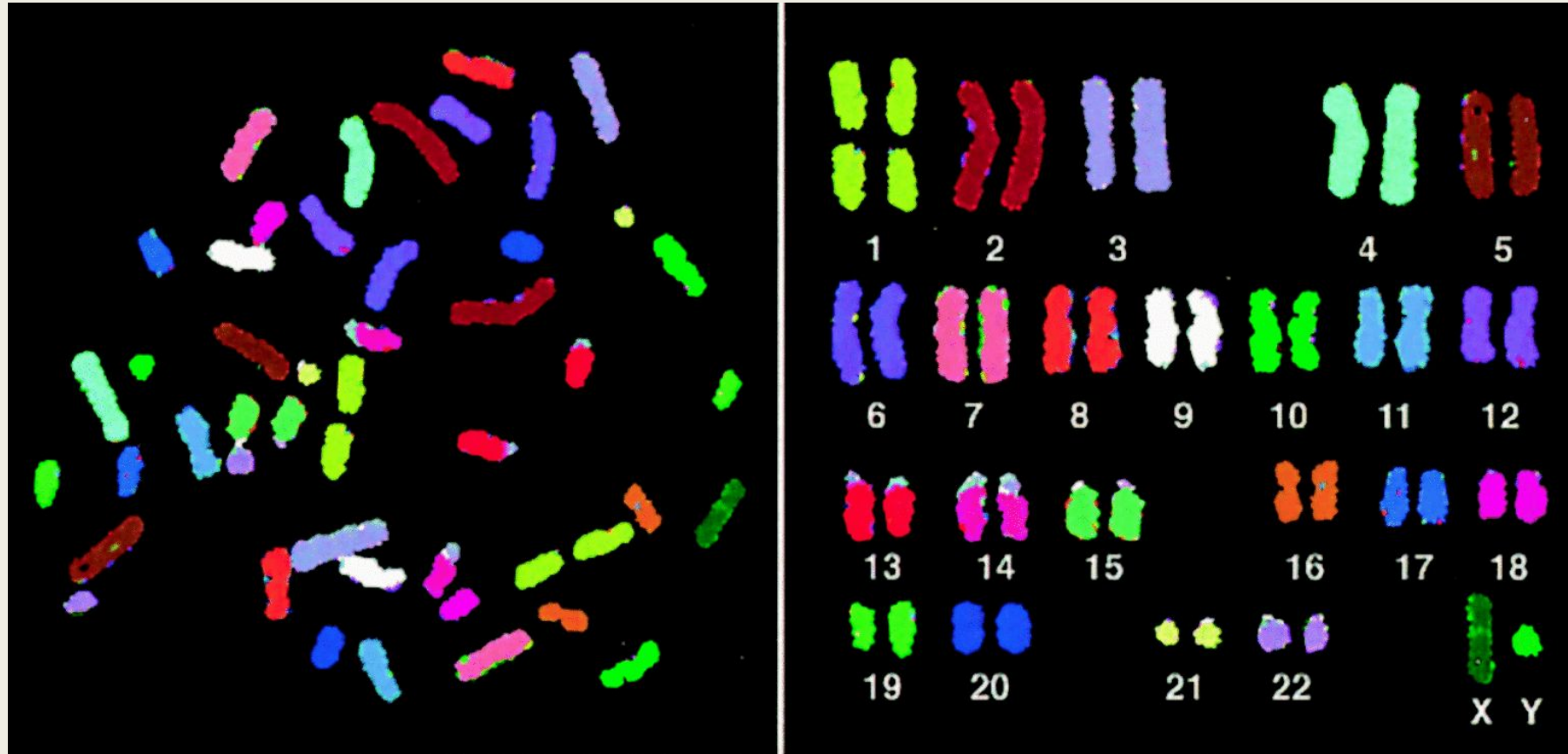


2. Проточная цитометрия

Метод проточной цитометрии используется для сортировки хромосом человека и изучения отдельных популяций клеток в препарате, состоящем из клеток разных типов. Он предполагает использование флуоресцентного красителя для специфической маркировки интересующей популяции клеток.



3. Кариотипирование



(A)

(B)

© 2012 Wiley-VCH, Weinheim
Alberts - Lehrbuch der Molekularen Zellbiologie
ISBN: 978-3-527-32824-6 Fig. 05-010

- Изолирование отдельных хромосом с помощью проточной цитометрии, а также знание последовательности генома человека позволили разработать 24-цветные пробы для обозначения каждой хромосомы человека отдельным цветом.

Для клинической цитогенетики имеют значение:

- а) **постнатальное кариотипирование** – определение кариотипа пациента в лимфоцитах периферической крови;
- б) **пренатальное кариотипирование** – исследование хромосом плода, которое проводится по клеткам околоплодных оболочек (хорион/плацента), околоплодным водам и в более поздние сроки – по пуповинной крови плода.

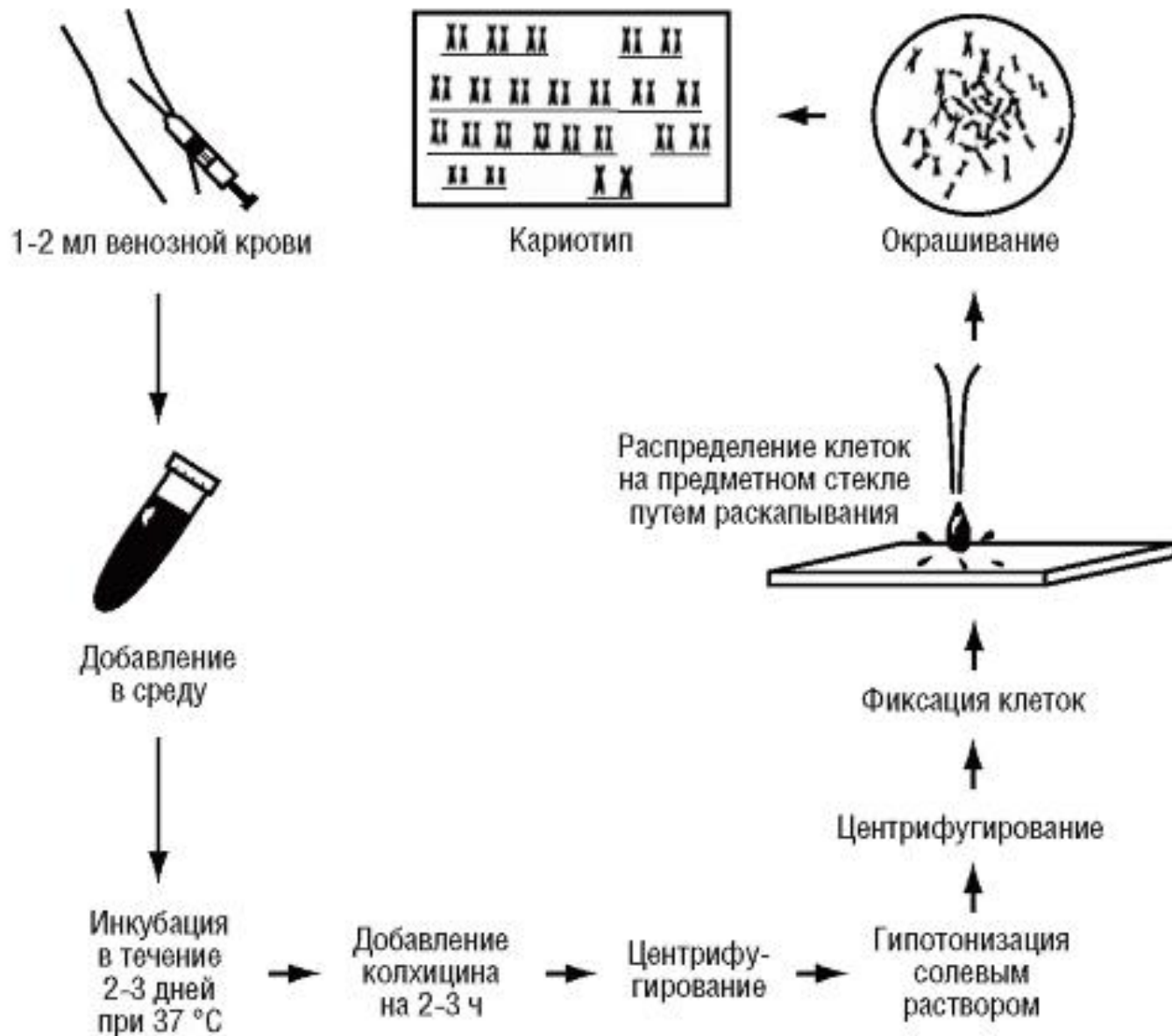
Внешний вид хромосом существенно меняется в течение клеточного цикла: в течение интерфазы хромосомы локализованы в ядре, как правило, деспирализованы и труднодоступны для наблюдения, поэтому для определения кариотипа используются клетки в одной из стадий их деления — метафазе митоза. Исследование кариотипа проводят методом световой микроскопии с целью выявления патологии хромосом. Чаще всего это исследование проводят у детей для выявления заболеваний, обусловленных нарушениями в хромосомах и у супругов при бесплодии, или привычном невынашивании беременности.

В основном хромосомные синдромы характеризуются наличием у пациента:

- а) различных нервно-психических расстройств;
- б) множественных врожденных пороков развития (МВПР) систем и органов, нарушения полового развития;
- в) различных стигм дисэмбриогенеза (незначительные анатомические отклонения);
- г) отставания в росте и развитии (пренатальное или постнатальное).

Хромосомные синдромы – это очень тяжелые заболевания, которые, как правило, не поддаются терапевтической коррекции. А пациенты с такими заболеваниями являются инвалидами. Поэтому очень важно, чтобы диагностика этих болезней проводилась своевременно, а генетическое тестирование выполнять в соответствии с мировыми стандартами.

Процедура определения кариотипа



Для определения человеческого кариотипа используют, как правило, лимфоциты периферической крови, переход которых от стадии покоя G₀ к пролиферации (делению) провоцируют добавлением митогена фитогемагглютинаина.

После фиксации препараты метафазных хромосом окрашивают и фотографируют; из микрофотографий формируют так называемый *систематизированный кариотип*.

Классификация мутаций

Первый тип классификаций

- По мутировавшим клеткам мутации могут быть **соматические** (например, разный цвет глаз у одного человека) и **генеративные** (или гаметические).

Второй тип классификаций

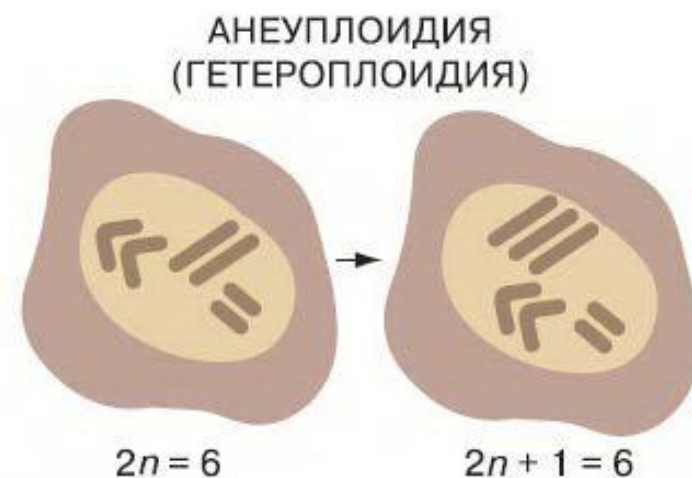
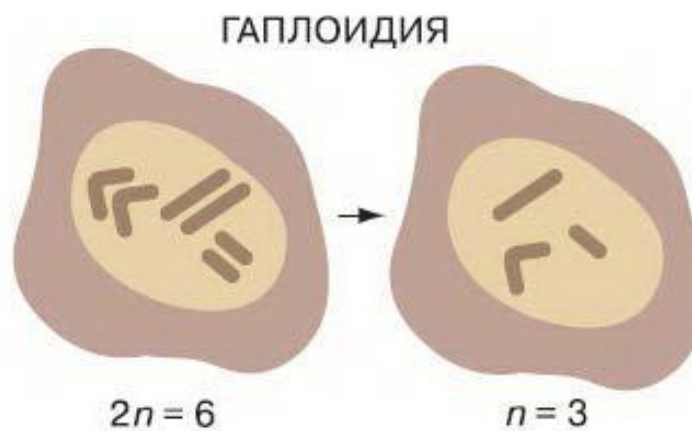
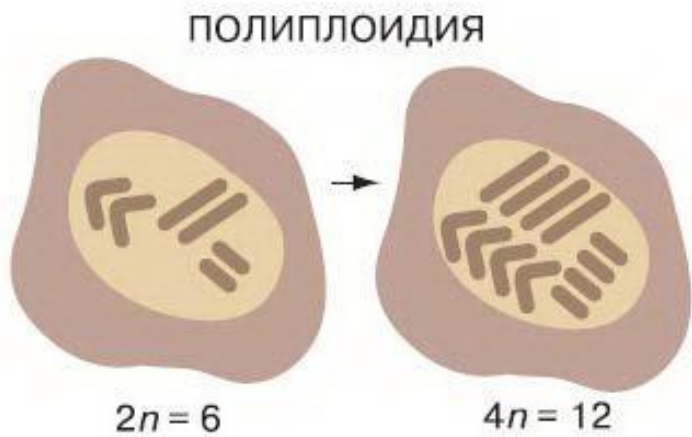
- По исходу (значению) для организма выделяют мутации **положительные, нейтральные и отрицательные.**

Третий тип классификаций

- По изменению фенотипа мутации бывают **морфологические** (например, уменьшенные глазные яблоки, шесть пальцев на руке) и **биохимические** (например, альбинизм, гемофилия).

Четвертый тип классификаций

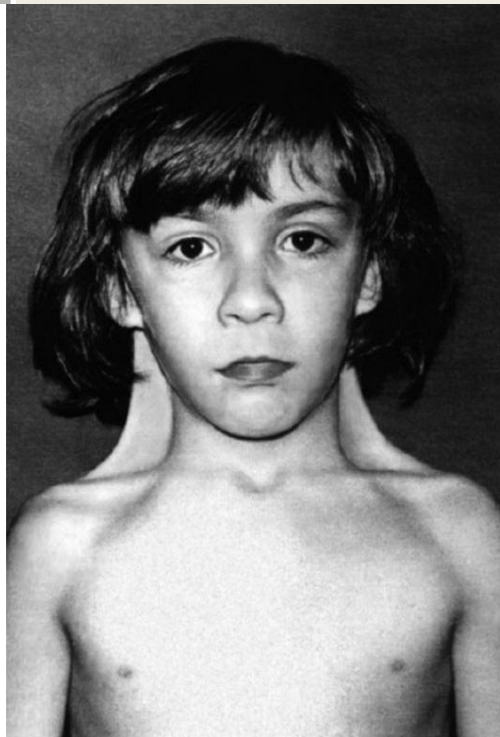
- По изменению генотипа выделяют мутации **геномные, хромосомные и генные.**



1. Геномные мутации – это изменение числа хромосом под действием факторов среды.

- *Гаплоидия* – набор хромосом $1n$. В природе она встречается у трутней (самцов) пчел. Жизнеспособность таких организмов снижена, так как у них проявляются все рецессивные гены.
- *Полиплоидия* – увеличение гаплоидного набора хромосом ($3n, 4n, 5n$). Полиплоидия используется в растениеводстве. Она приводит к повышению урожайности. Для человека гаплоидия и полиплоидия это летальные мутации.
- *Анеуплоидия* – это изменение числа хромосом в отдельных парах ($2n \pm 1, 2n \pm 2$ и так далее).

2.Хромосомные мутации



- *Межхромосомные перестройки называются транслокации*
- *Инверсия (отрыв участка и его поворот на 180°)*
- *Нехватка Делеция (выпадение среднего участка)*
- *Дефишенси (отрыв концевого участка) A B E C D E*
- *Дупликация (удвоение участка)*
- *Транслокация (перенос участка на негомологичную хромосому)*

3. Генные мутации

Изменения структурных генов.

- 1. Сдвиг рамки считывания происходит в случае выпадения или вставки одной, или нескольких пар нуклеотидов в молекулу ДНК.
- 2. Транзиция – мутация, при которой происходит замена пуринового основания на пуриновое или пиримидинового на пиримидиновое (А↔Г или Ц↔Т). Такая замена приводит к изменению кодонов.
- 3. Трансверсия – замена пуринового основания на пиримидиновое или пиримидинового на пуриновое (А↔Ц; Г↔Т) – приводит к изменению кодонов.



Рис. 113. Доминантные мутации у человека:

а — ихтиозис; б — синдактилия;
в — брахидактилия; г — заячья губа.
(По Уоллесу и Добжанскому.)

Роль мутаций в эволюции



При существенном изменении условий существования те мутации, которые раньше были вредными, могут оказаться полезными. Таким образом, мутации являются материалом для естественного отбора. Так, мутанты-меланисты (темноокрашенные особи) в популяциях березовой пяденицы в Англии впервые были обнаружены учеными среди типичных светлых особей в середине XIX века. Темная окраска возникает в результате мутации

Все хромосомные болезни принято делить на две группы: **аномалии числа хромосом** и **нарушения структуры хромосом**.

1. Аномалии числа хромосом

- *Болезни, обусловленные нарушением числа хромосом в клетках человека*



Синдром

Дауна — трисомия по 21-й хромосоме (или наличие дополнительных копий генетического материала этой хромосомы по другим причинам — за счёт транслокации или дупликации).



Синдром Патау — трисомия по 13-й хромосоме, характеризуется множественными пороками развития, идиотией, часто — полидактилия, нарушения строения половых органов, глухота; большинство больных не доживают до одного года;



Синдром Эдвардса — трисомия по 18-й хромосоме, нижняя челюсть и ротовое отверстие маленькие, глазные щели узкие и короткие, ушные раковины деформированы; 60 % детей умирают в возрасте до 3 месяцев, до года доживают лишь 10 %, основной причиной служит остановка дыхания и нарушение работы сердца.

Основными диагностическими признаками синдрома являются: долихоцефалия, гипертелоризм, низко посаженные аномальной формы уши, микрогнатия, микростомия, скошенный подбородок.

Болезни, связанные с нарушением числа половых хромосом



Синдром Клайнфельтера — полисомия по X-хромосомам у мальчиков (47, XXY), признаки: евнухоидный тип сложения, гинекомастия, слабый рост волос на лице, в подмышечных впадинах и на лобке, половой инфантилизм, бесплодие; умственное развитие отстает, однако иногда интеллект нормальный.

Нарушение структуры хромосом



Робертсоновские транслокации

- центрическое соединения между собой длинных плеч акроцентрических хромосом.

Так возникает транслокационный синдром болезни Дауна (транслокация лишней хромосомы 21 на одну из хромосом группы D или G).