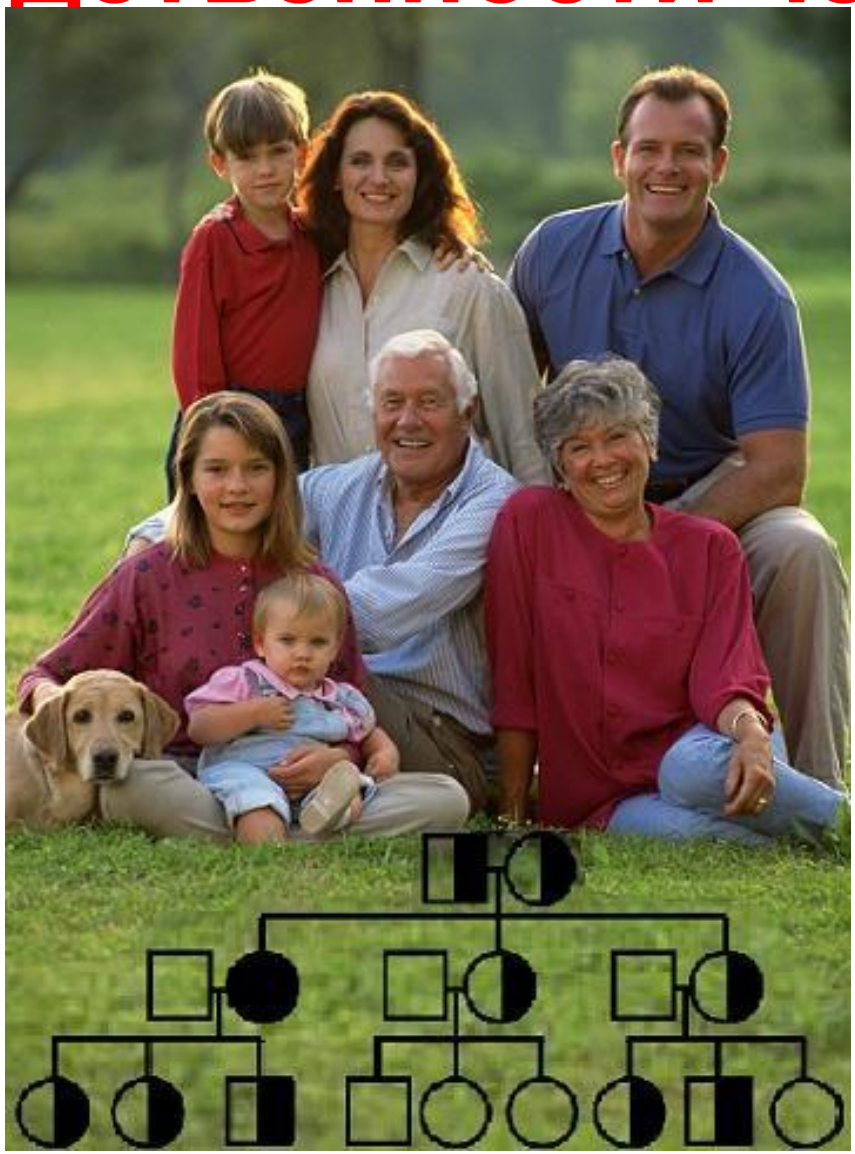
Тема: Методы изучения наследственности человека



ГЕНЕТИКА ЧЕЛОВЕКА - АНТРОПОГЕНЕТИКА

Изучает:

- закономерности наследования и изменчивости признаков у людей(в том числе патологических)
- факторы, влияющие на распределение генов в человеческих популяциях,
- связи между генами и определенными видами патологии человека (проблема генетических маркеров).
- вклад генетических и негенетических факторов в процессы индивидуального развития и жизнедеятельности человека (включая интеллект, социабильность, трудовая деятельность),
- пути совершенствования генодиагностики, генотерапии и генопрофилактики.

Особенности генетики человека:

- невозможность экспериментального скрещивания
- медленная смена поколений
- малое количество потомков в каждой семье
- сложный кариотип и большое число групп сцепления

- ***Задачей*** *медицинской генетики* ***является*** *выявление и профилактика наследственных болезней.*

Медико-генетическое консультирование

- **МГК**- это вид специализированной помощи населению, направленной на предупреждение появления в семье детей с наследственной патологией.
- Первая в мире МГК была организована в Петрограде С.Н. Давиденковым в 1929г
- Он сформулировал понятие о гетерогенности наследственных болезней
- Поставил вопрос о создании каталога генов человека

Сергей Николаевич Давиденков

Медико-генетическое ьтирование

Цель: профилактика наследственной патологии, снижение генетического груза в человеческой популяции

Этапы работы:

1. Уточнение диагноза
2. Прогноз потомства
3. Принятие правильного решения в отношении деторождения

Методы генетики человека

Диагностические

Предварительн

- Фенотипический анализ
- Дерматоглифика
- Клинико-генеалогический

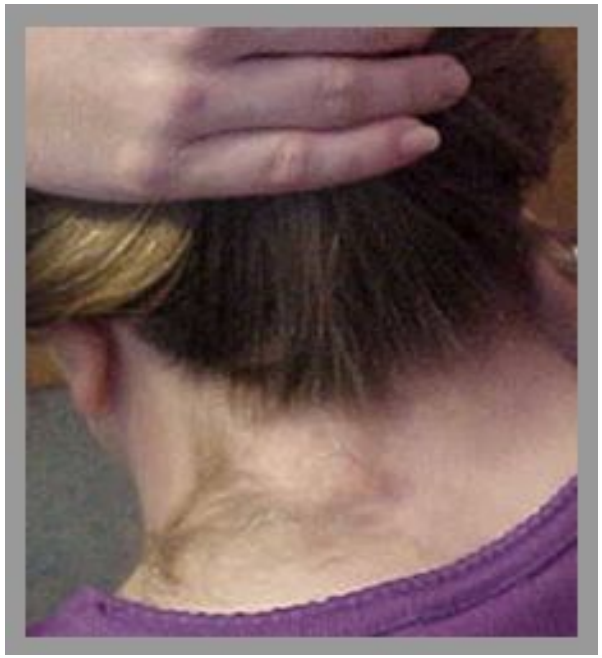
Точны

1) <u>Биохимические</u>
2) <u>Цитогенетические</u> (Хромосомный анализ):
   - определение полового хроматина
   - Кариотипирование
   - FISH
3) <u>Молекулярно-генетические</u> (ДНК-диагностика)
4) Пренатальная

Научны

1) Клинико-генеалогический
2) Гибридизация соматических клеток
2) Близнецовый
3) Популяционно-статистический
4) Метод моделирования
5) Молекулярно-генетические

Метод фенотипического анализа



Низкий рост волос на шее

- Выявление у пациента малых аномалий развития (МАР) - изменение строения органа без нарушения функции

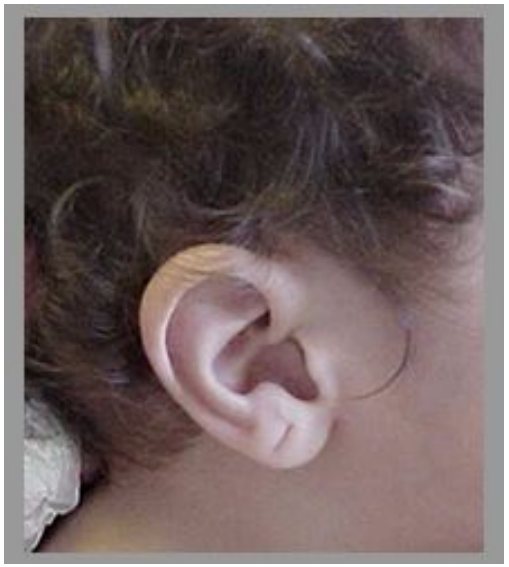
Анализируется:

- Форма и расположение ушной раковины
- Форма и расположение глаз
- Расположение зубов
- Длина шеи
- Строение пальцев и т.д.

Если пациент имеет 7-8 МАР и более, то можно заподозрить наследственную патологию

Малые аномалии развития (МАР)

Телекант- увеличенное расстояние между глазами



Низко посаженные уши

Микрогнатия (недоразвитие нижней челюсти)

Малые аномалии развития при синдроме 15q+

Низко посаженные уши

Эпикант,

глубоко посаженные глаза

плоская спинка носа

Вспомогательные (предварительные) методы)

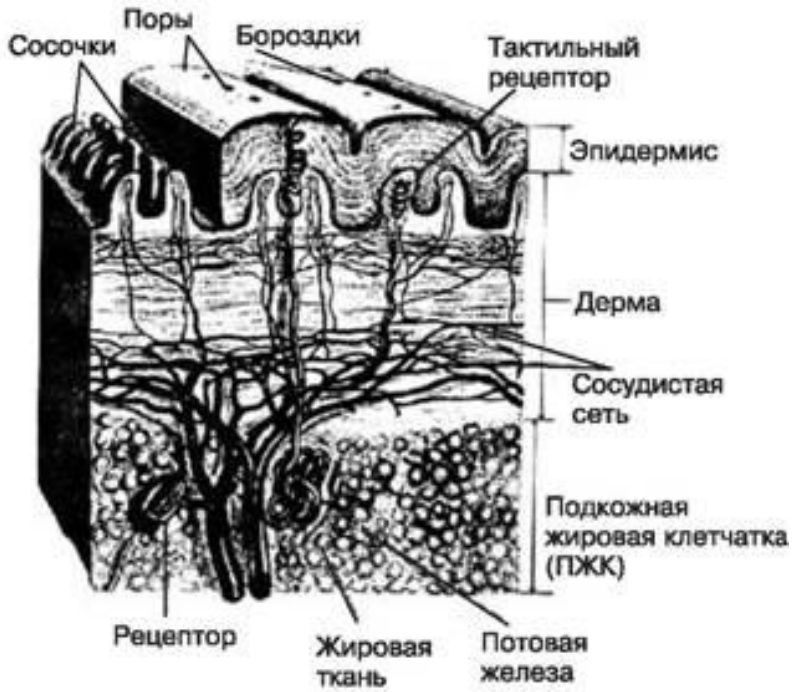
2. Дерматоглифика

- Изучение кожного узора на пальцах, ладонях и стопах
- Изменение узоров может свидетельствовать о хромосомных аномалиях

Выделяют три раздела дерматоглифики:

1. ***Дактилоскопия изучение узоров на подушечках пальцев***
2. ***Пальмоскопия –изучение узоров на ладонях***
3. ***Плантоскопия - изучение узоров на стопах***

Строение кожи



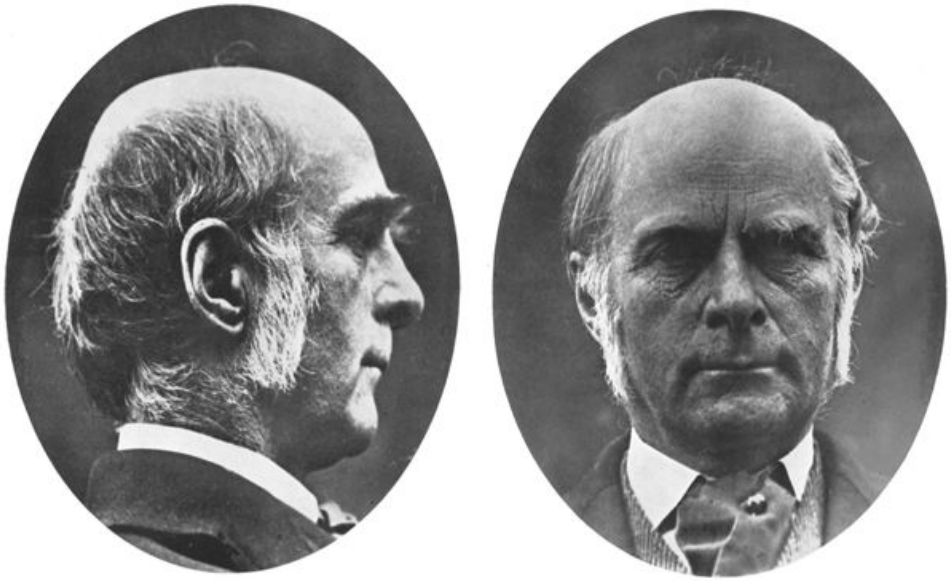
Кожа состоит из двух слоев: ***эпидермиса и дермы***

- Дерма образует сосочки, которые вдаются в слой эпидермиса. Эпидермис с точностью копирует рельеф сосочкового слоя дермы, образуя линии в виде валикообразных выступов, разделенных бороздками (папиллярные линии). Папиллярные узоры генетически обусловлены, формируются в эмбриогенезе и не изменяются в течение жизни
- Обусловлены ветвлением нервных волокон

Дактилоскопия

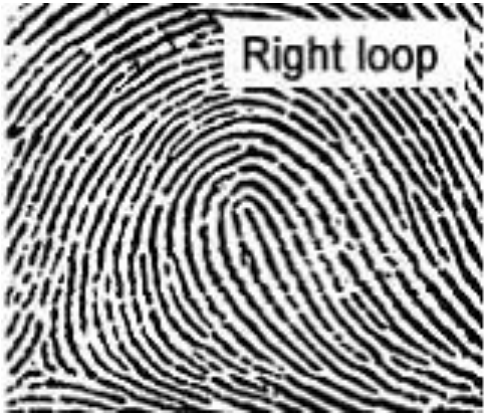
- Пальцевые узоры индивидуальны у каждого человека и используются для идентификации личности

Дактилоскопия



- Метод предложен ***Френсисом Гальтоном*** в 1892г (Британский антрополог и двоюродный брат Ч.Дарвина)

Типы узоров

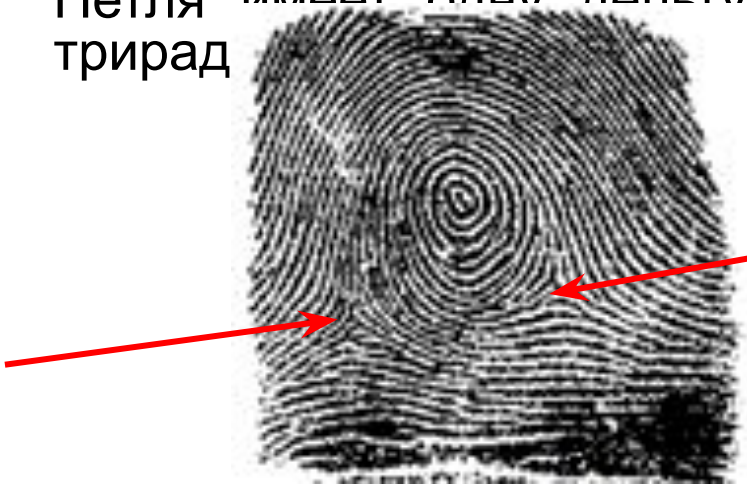
Петля (L)	Завиток (W)	Дуга (A)
60-65%	30-35%	5%
		

Дактилоскопия

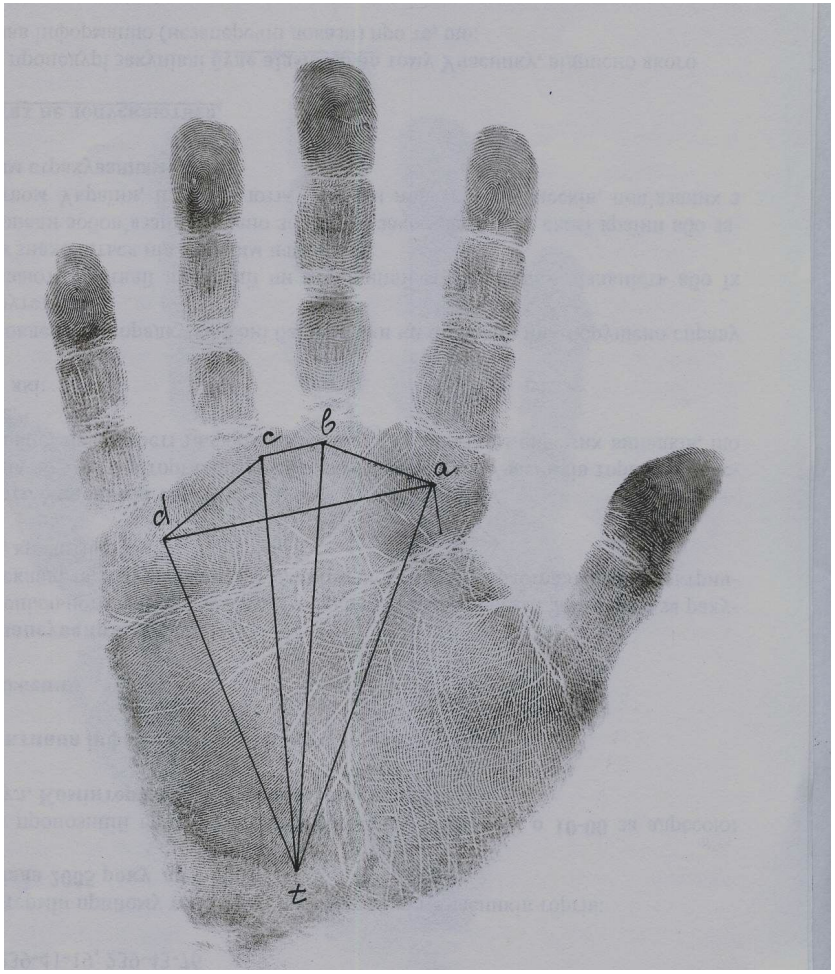
Кроме типа узора определяется ***гребневый счет*** – количество линий от центра узора до трирадиуса (дельты)

Трирадиус –место, где сходятся три разнонаправленных тока линий

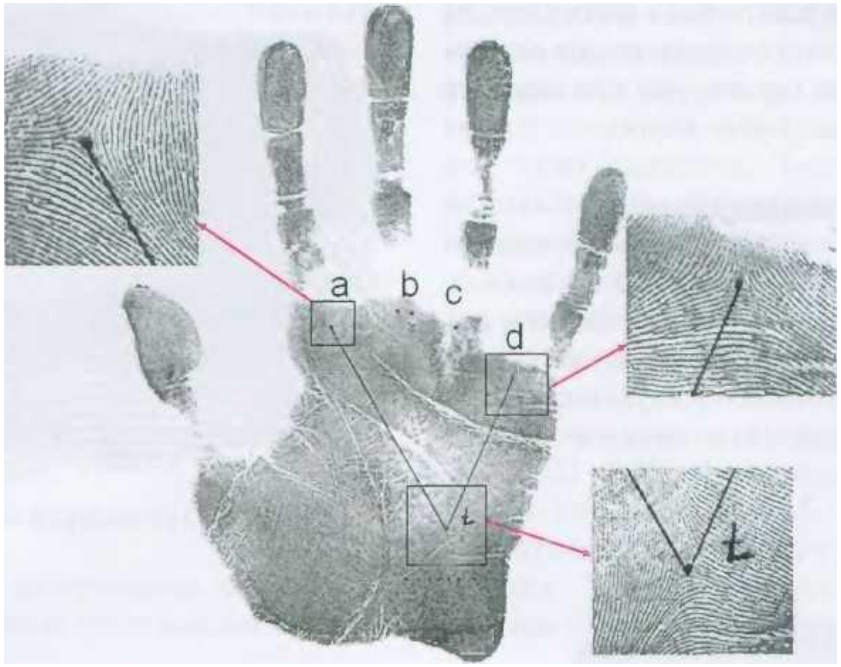
Петля имеет одну дельту, завиток – две, дуга –не имеет трирад



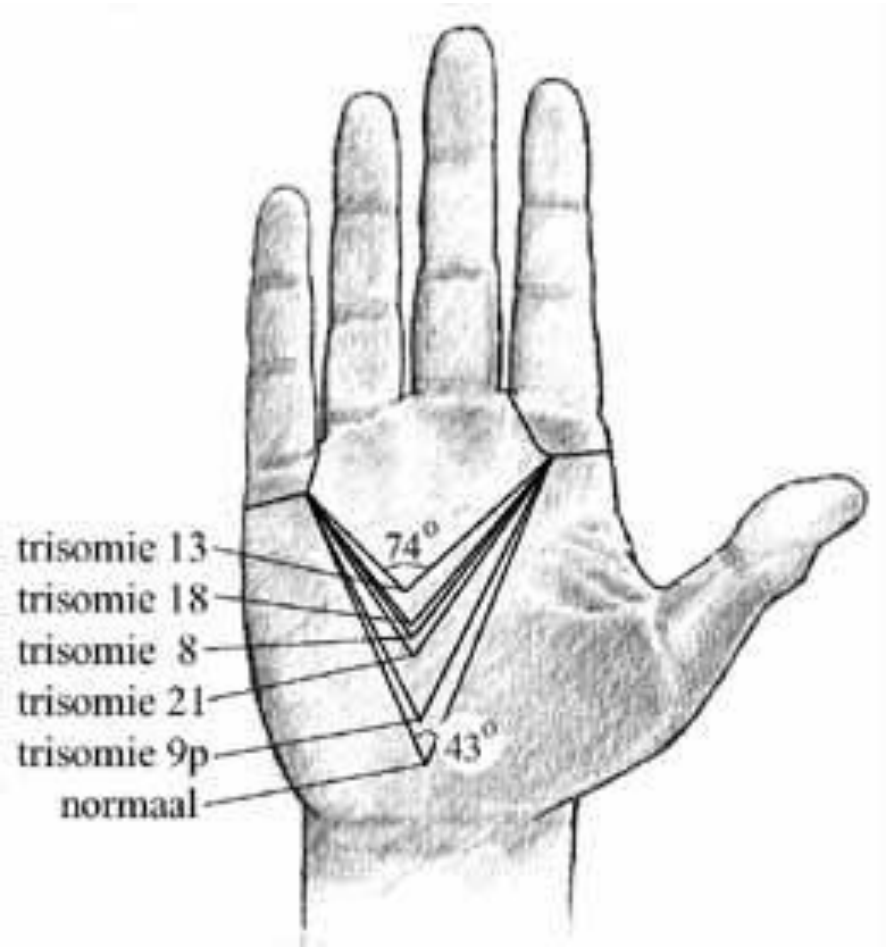
Пальмоскопия



- *Осевой (ладонный) трирадиус*
- **AtD-угол**.
- Норма - 35° - 45° (52°).



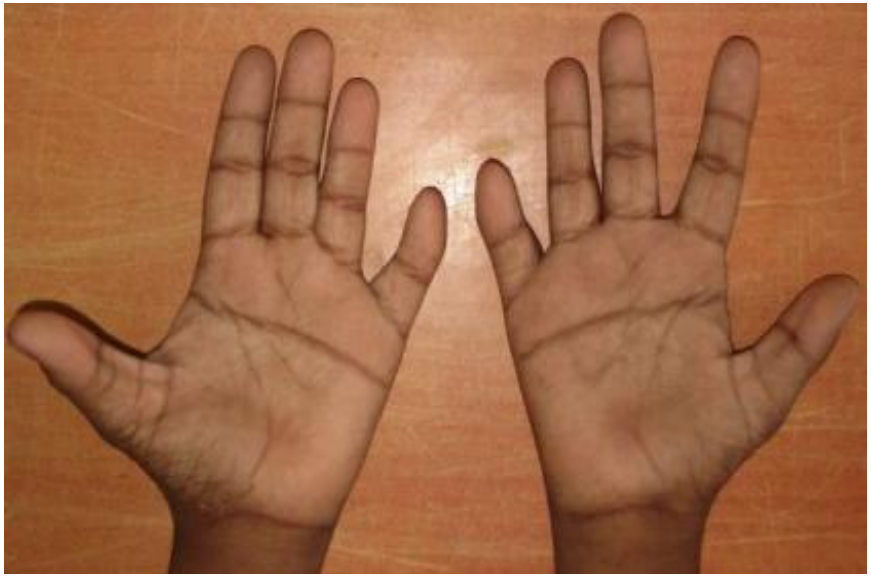
Пальмоскопия



- 57° – 81° – синдром Дауна
- 74 - 108° – синром Патау
- 66° – синдром Шерешевского-Тернера
- 42° – синдром Кляйнфельтера

Пальмоскопия

- Определяют сгибательные складки В норме их три
- При синдроме Дауна две (поперечная ладонная складка)



Обезьянья линия (поперечная линия)

норма

Точные методы

Генные болезни

1) Биохимические методы
2) Молекулярно-генетический (ДНК-диагностика или секвенирование)

Хромосомные болезни

<u>Цитогенетические методы</u>:

- Экспресс метод определения полового хроматина
- Кариотипирование
- FISH (флюоресцентная гибридизация in situ)

Молекулярно-генетические

- CGH (сравнительная геномная гибридизация)

Методы диагностики генных болезней 1.Биохимические методы

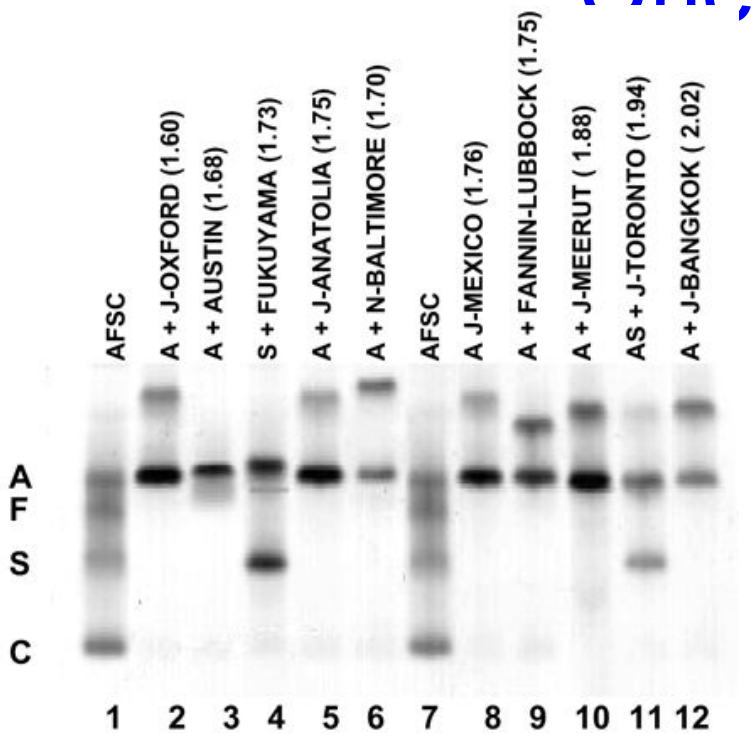
- ***Используются для диагностики генных мутаций***
- ***Анализируются клеточные экстракты Проводятся на уровне ДНК, РНК и белков***

Качественные реакции

- Используются для диагностики многих ферментопатий (ФКУ, алкаптонурия, цистинурия, галактоземия)
- В крови и моче выявляются специфические продукты обмена. Например, при фенилкетонурии в моче обнаруживается фенилПВК с помощью хлорида железа (III). Появляется зеленое окрашивание.

Количественные биохимические методы

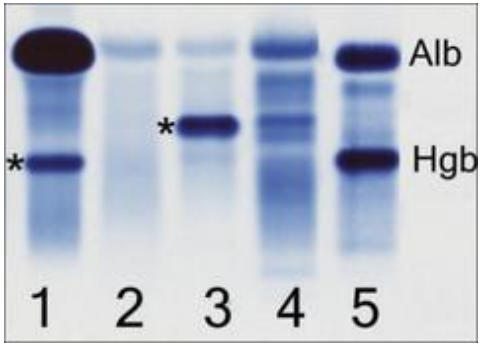
Электрофорез

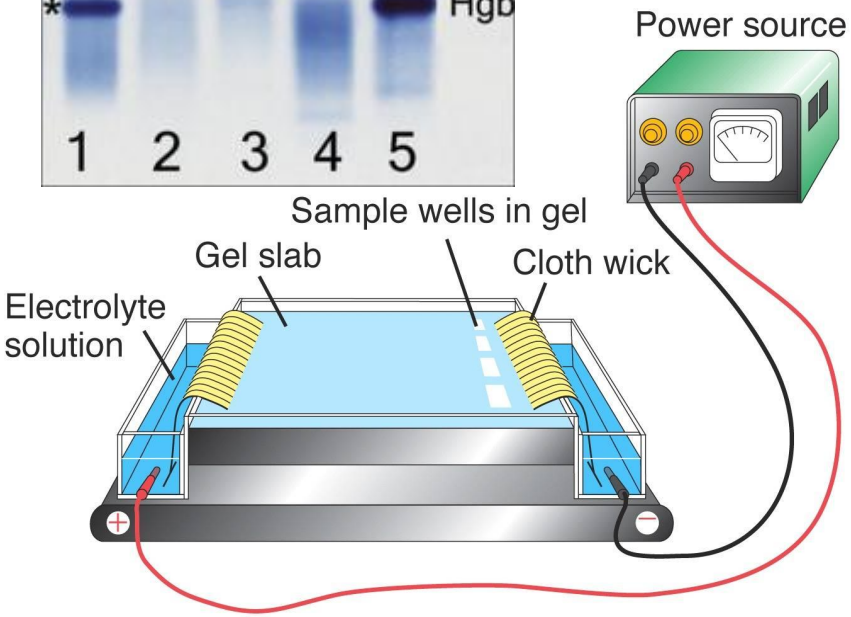


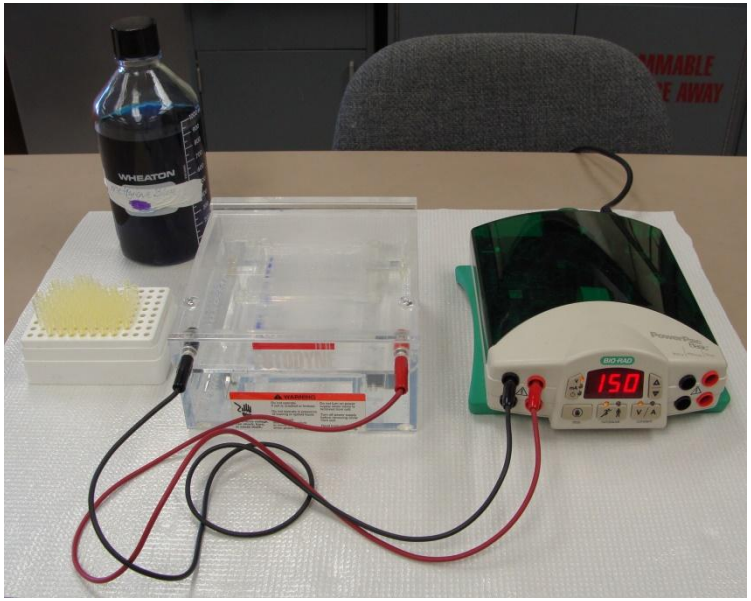
Электрофореграмма гемоглобинов

- Используется для разделения смесей (клеточных экстрактов) на компоненты
- Основан на различной скорости движения частиц в электрическом поле.
- Скорость зависит от массы молекулы, ее заряда и др. характеристик
- С помощью электрофореза выявлено около 100 видов гемоглобина

Электрофорез







- Клеточные экстракты наносятся на специальную гелеобразную среду
- Включают электрическое поле и выдерживают определенное время. Частицы различных белков двигаются с различной скоростью и после отключения тока останавливаются в различных местах
- Электрофореграмму «проявляют» с помощью специальной окраски или ферментативных реакций.

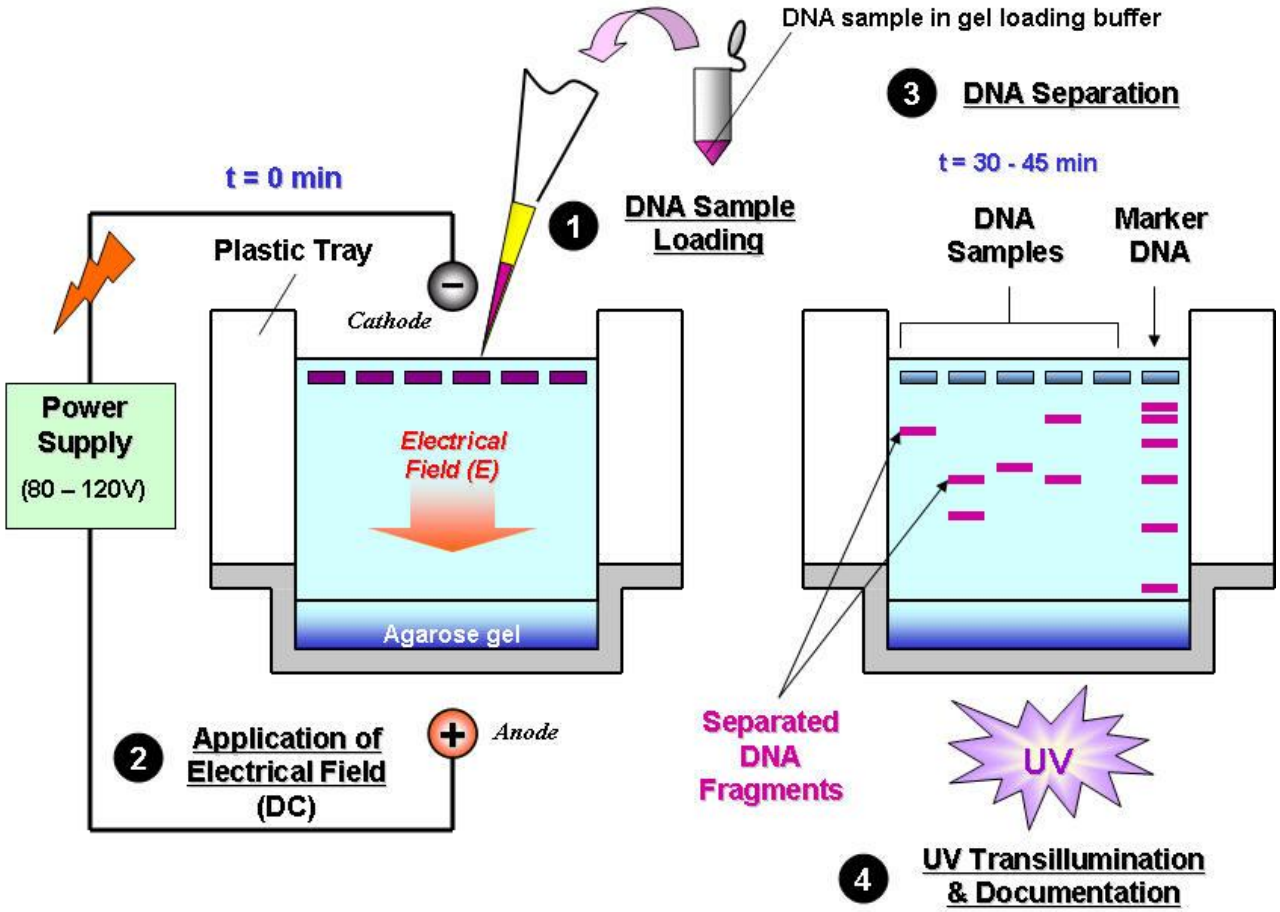
Молекулярно-генетические методы

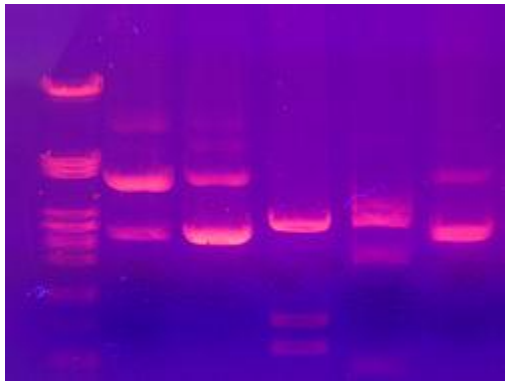
Полиморфизм длин рестрикционных фрагментов (ПДРФ)

Restriction fragment length polymorphism (RFLP)

- Это способ исследования ДНК путем ее разрезания с помощью эндонуклеаз и дальнейшего анализа размеров образующихся фрагментов с помощью электрофореза

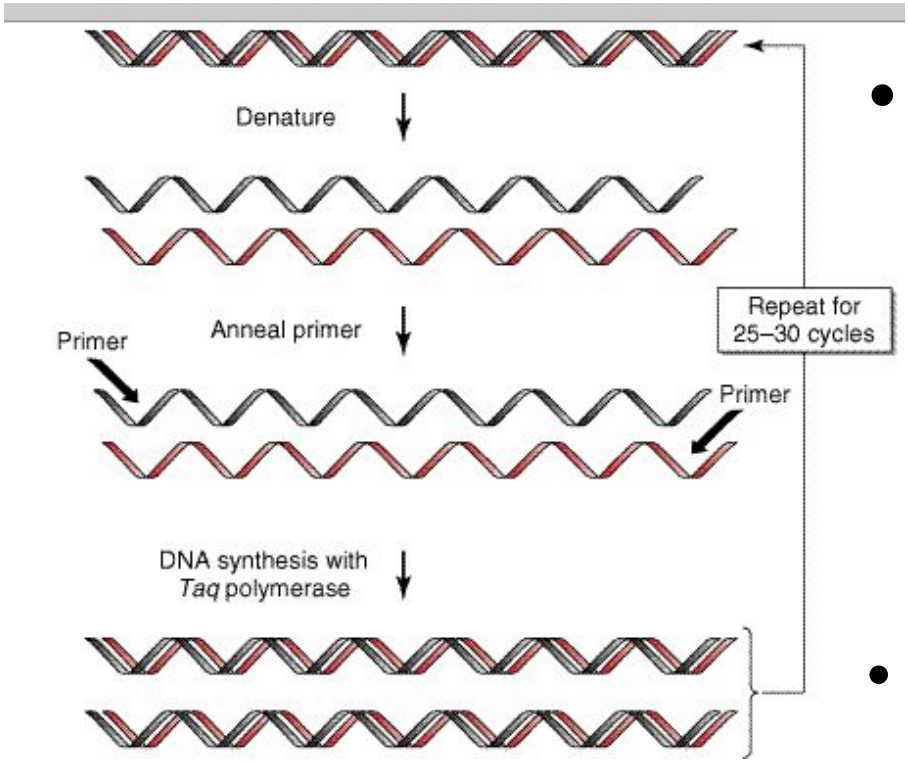
Электрофорез





Электрофорез также используется в ДНК диагностике. Сначала ДНК экстрагируется из клеток, затем обрабатывается рестриктазами. При этом ДНК разрезается на фрагменты в специфических сайтах. Далее проводится ПЦР, затем фрагменты разделяются с помощью электрофореза.

ПЦР
(полимеразная цепная реакция)



- ***Искусственная репликация ДНК, позволяющая увеличивать ее массу до количества, необходимого для анализа.***
- ПЦР позволяет найти и идентифицировать в исследуемом материале ДНК любого организма

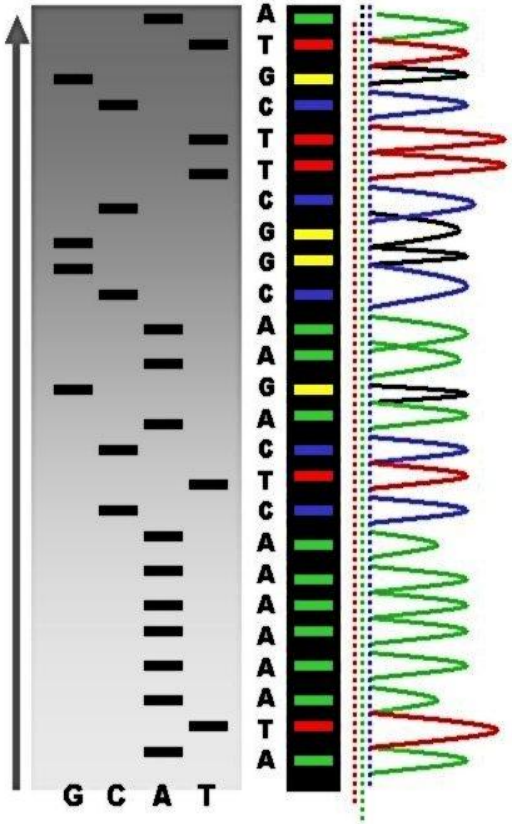
ПЦР

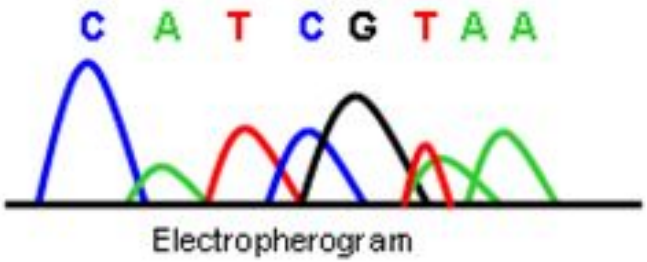
Кэрри Мюллис

- Сам принцип метода цепной полимеразной реакции (ПЦР) был разработан в 1983г. Кэри Мюллисом.
- Кэрри Мюллис в 1993 г. уже был удостоен в области химии Нобелевской премии.

Секвенирование

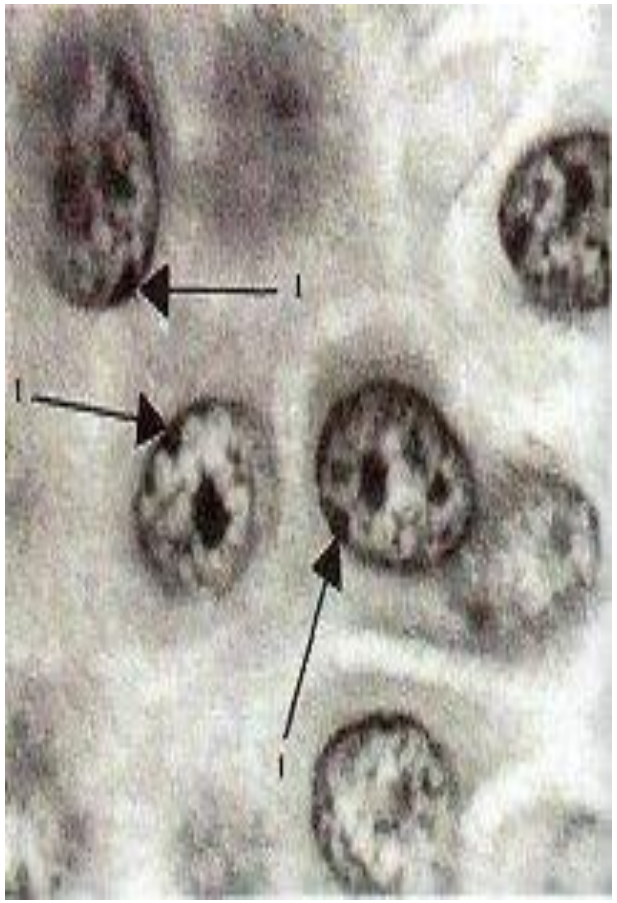
- ***Далее нуклеотидная последовательность ДНК определяется с помощью секвенирования***
- ***Полученная последовательность сравнивается с нормальным геном***
- Метод разработан Ф. Сенгером в 1977г



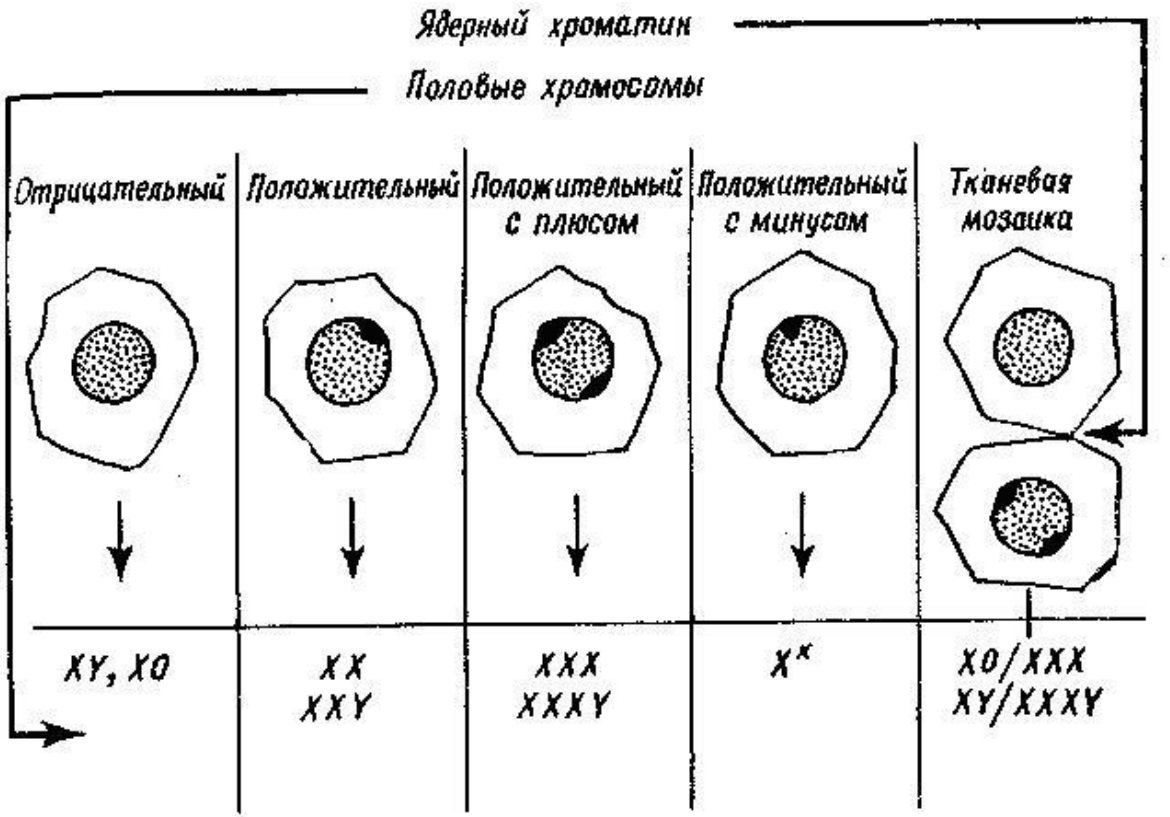


Wavelength	Nucleotide
Red	T
Green	A
Blue	C
Black	G

Половой хроматин

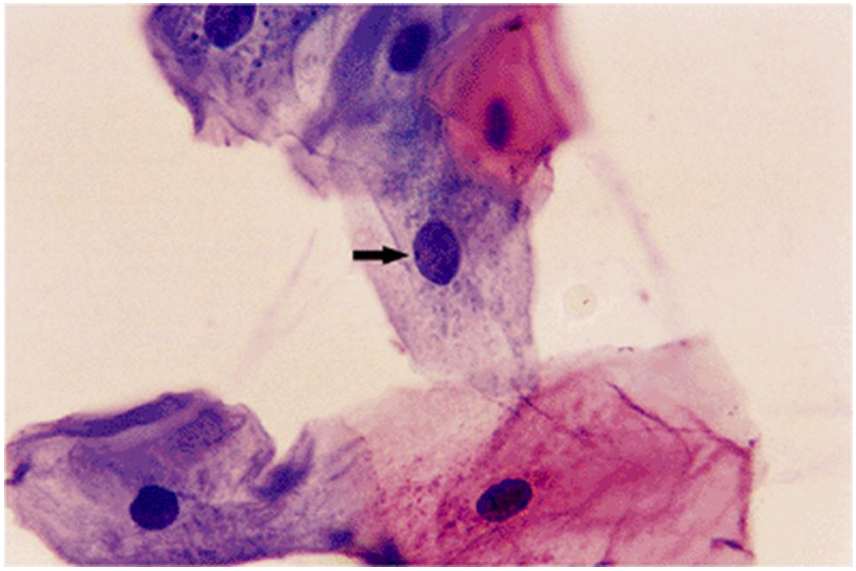


- ***– это небольшое дисковидное тельце (тельце Барра), интенсивно окрашивающееся гематоксилином и другими основными красителями.***
- ***обнаруживаются в интерфазных ядрах млекопитающих и человека непосредственно под ядерной мембраной.***
- образовано в норме одной из двух половых хромосом гомогаметпого пола. Эта хромосома спирализована и вследствие этого неактивна.
- При наличии большего числа Х-хромосом такой инактивации подвергаются все, кроме одной Х-хромосомы, поэтому кол-во телец Барра на единицу меньше числа Х-хромосом и служит диагностическим признаком



Определение полового хроматина нашло применение в судебной медицине, когда требуется по пятнам крови установить половую принадлежность, при анализе. когда надо установить, мужчине или женщине принадлежит найденная часть трупа, даже спустя довольно большой срок после смерти. ***При трансплантации тканей тельце полового хроматина может служить своеобразной меткой (если донор и реципиент разных полов). Анализ дает возможность проследить приживление или рассасывание трансплантата.***

Определение полового хроматина



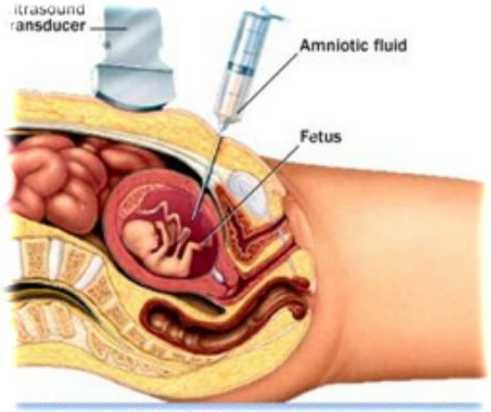
- Стеклянной палочкой делается соскоб с внутренней поверхности щеки
- Готовится мазок на предметном стекле
- Препарат окрашивается

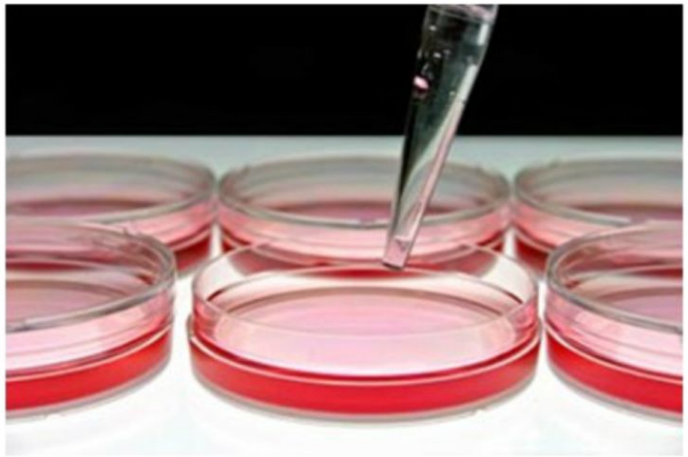
Кариотипирование

Изучается кариотип на стадии метафазы митоза.

1. Материал : делящиеся клетки в культуре

- *Лимфоциты периферической крови (1-2мл венозной крови*
- *Костный мозг*
- *Эмбриональные ткани*
- *Хорион*
- *Клетки амниотической жидкости*





Кариотипирование

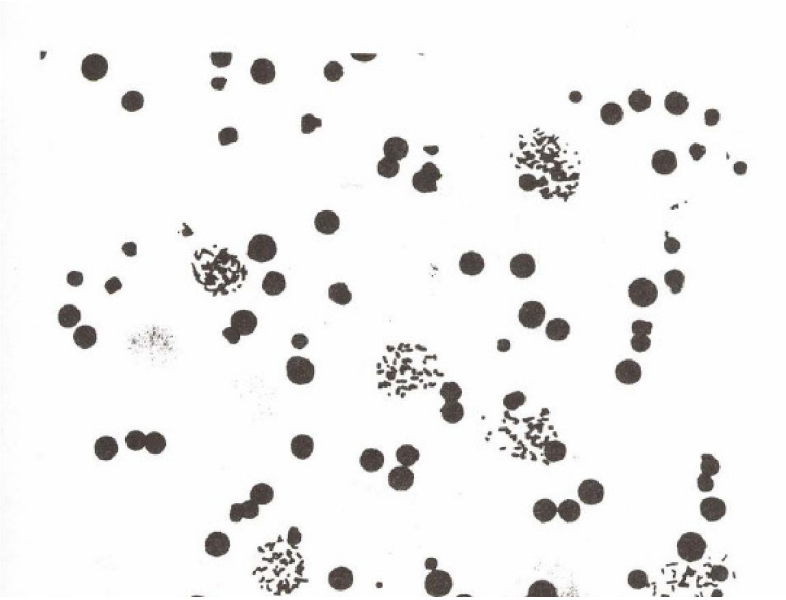
2. Посев на питательную среду с митогеном ***(фитогемагглютинин)***
3. Культивируют 2-3 суток
4. Останавливают деление, добавляя ***колхицин за 2-3 часа до окончания культивирования (повышается митотический индекс)***
5. Обработка гипотоническим раствором KCl (разрушается ядерная оболочка, хромосомы отделяются друг от друга
6. Фиксация смесью этанола и уксусной кислоты
7. центрифугирование

Кариотипирование

8. Готовят микропрепарат, окрашивают его
9. Находят клетки на стадии метафазы (метафазная пластинка)
10. Фотографируют
11. Составляют кариограмму и анализируют ее

МЕТАФАЗНЫЕ ПЛАСТИНКИ ХРОМОСОМ ЧЕЛОВЕКА

Сплошное (рутинное) окрашивание



Увеличение 10х10

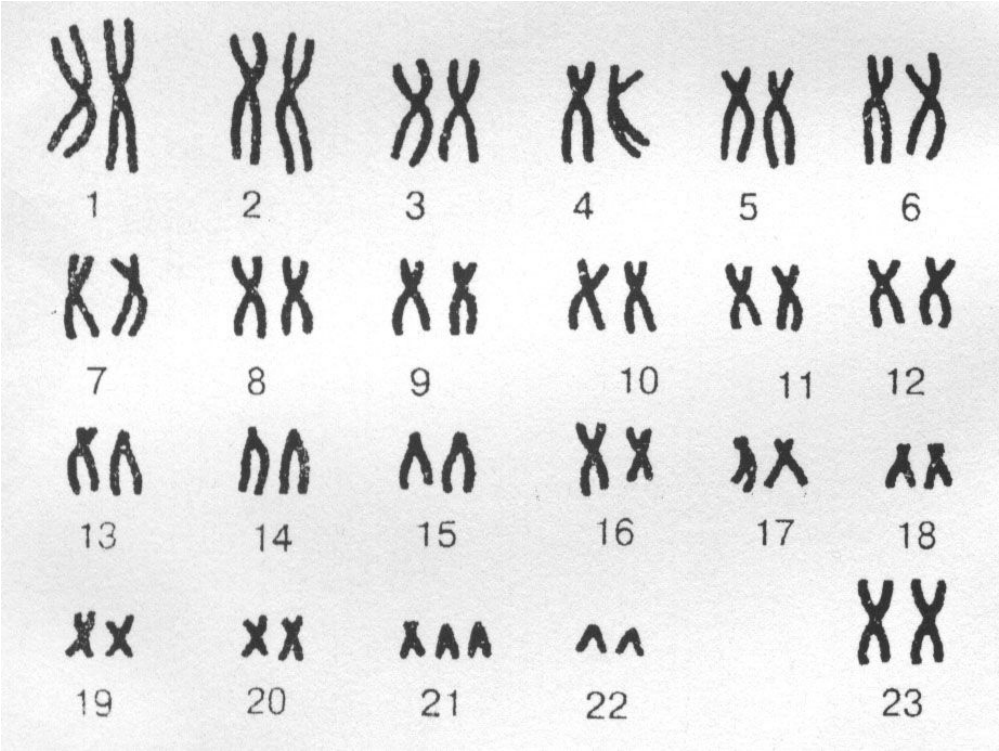
Увеличение 10х100

Возможна только групповая идентификация хромосом
Используется для ориентировочного определения числовых аномалий

НОМЕНКЛАТУРА ХРОМОСОМ ЧЕЛОВЕКА

- **<u>Денверская конференция (1960 г.)</u> – предложена система описания хромосом**

<u>Лондонская конференция (1963 г.)</u> – официально введено разделение хромосом на 7 морфологических групп (A,B,C,D,E,F,G),учитывая размеры и положение центромеры



Группа	Хромосомы	Описание
A	1–3	Большие, метацентрические, равноплечие
B	4,5	Большие, субметацентрические, плечи сильно отличются по размеру
C	6–12,X	Среднего размера; субметацентрические
D	13–15	Среднего размера; акроцентрические, со спутниками
E	16–18	Маленькие; 16 хромосома - метацентрческая, хромосомы 17 и 18 - субметацентрические
F	19,20	Маленькие; метацентрические
G	21,22, Y	Маленькие; акроцентрические, со спутниками Маленькая; акроцентрическая, без спутников

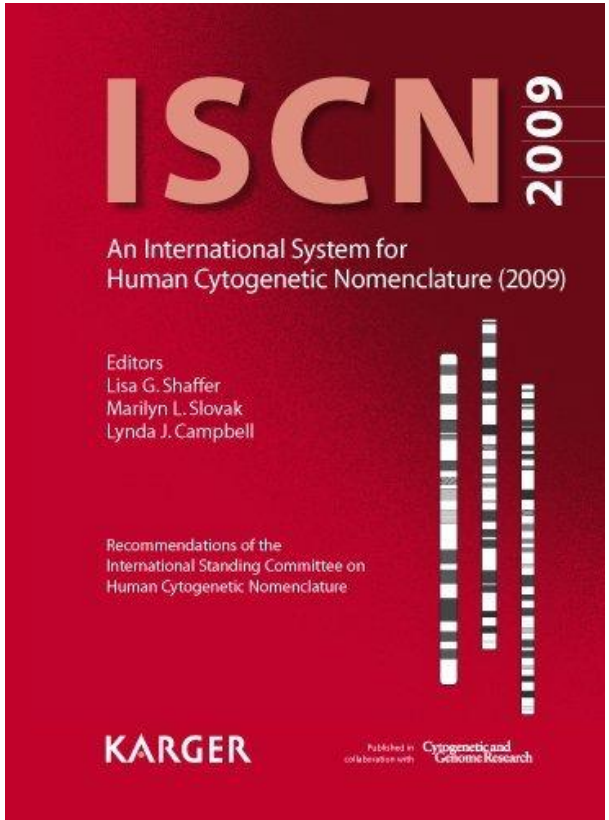
Аутосомы нумеруются от больших к меньшим, кроме хромосомы 21, которая меньше чем хромосома 22.

Дифференциальное окрашивание хромосом

GTG-окраска

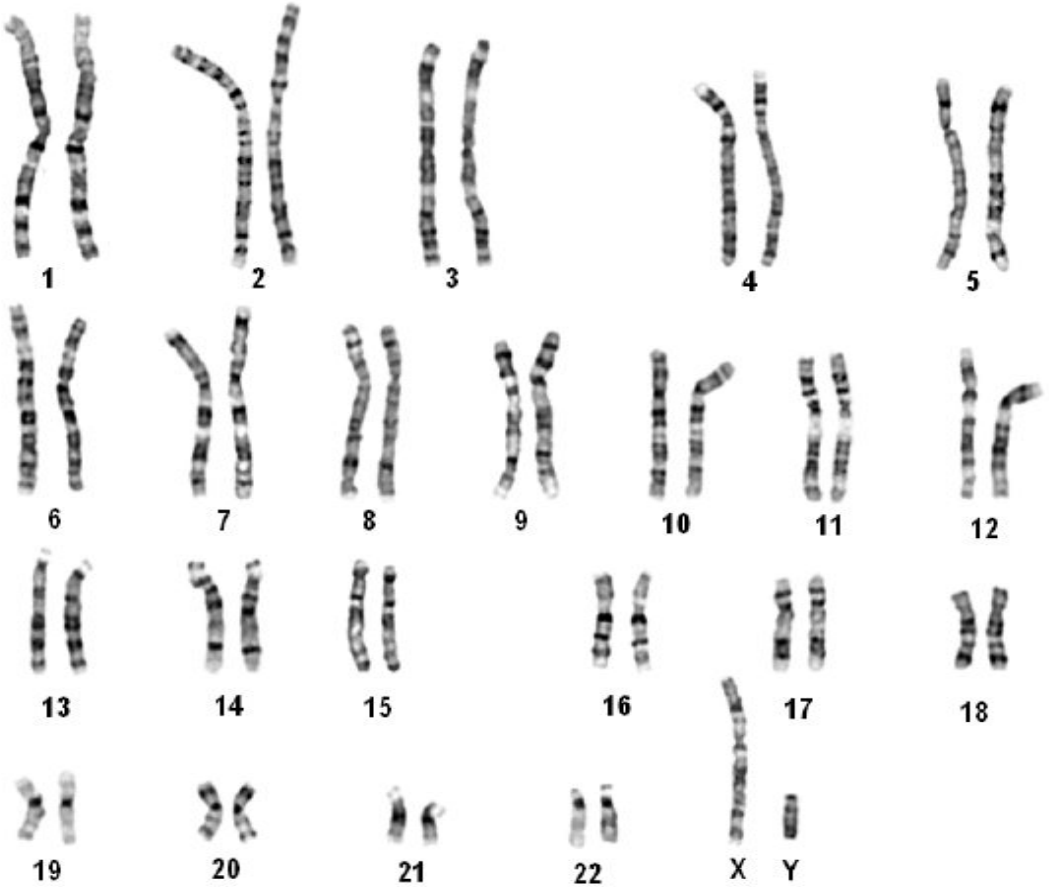
- ***методы выявляющие поперечную исчерченность хромосом (чередование светлых и темных полос), специфичную для каждой хромосомы***
- **1968 г. – Т. Касперсон (T. Caspersson) применил для исследования метафазных хромосом метод дифференциальной Q-окраски**
- **1971 г. – М. Дретс (M.Drets) и М. Шау (M.Shaw) использовали GTG-метод дифференциальной окраски хромосом**

- **<u>V Международный конгресс по генетике человека (Мехико, 1972 г.)</u> – появление первой официальной номенклатуры хромосом человека - «An <u>I</u>nternational <u>S</u>ystem for Human <u>C</u>ytogenetic <u>N</u>omenclature» (ISCN, 1978)**



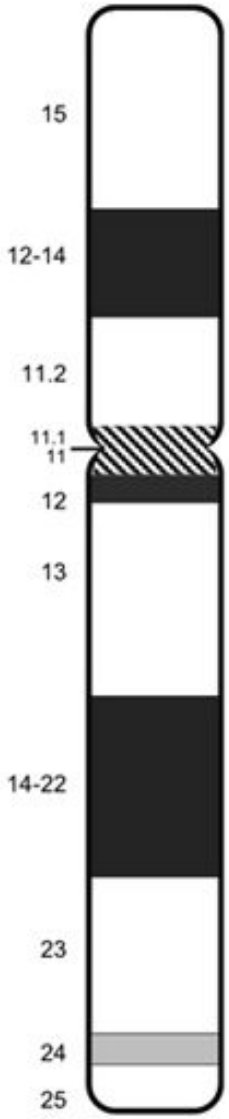
ХРОМОСОМНЫЕ БЭНДЫ (BANDS)

Бэнд ***- участок хромосомы, отличающийся от соседних по интенсивности окраски, при использовании соответствующего метода дифференциального окрашивания.***



Молекулярной основой дифференциального окрашивания хромосом является нуклеотидный и белковый состав и функциональная организация соответствующих бэндам участков генома.

Цитологические карты хромосом

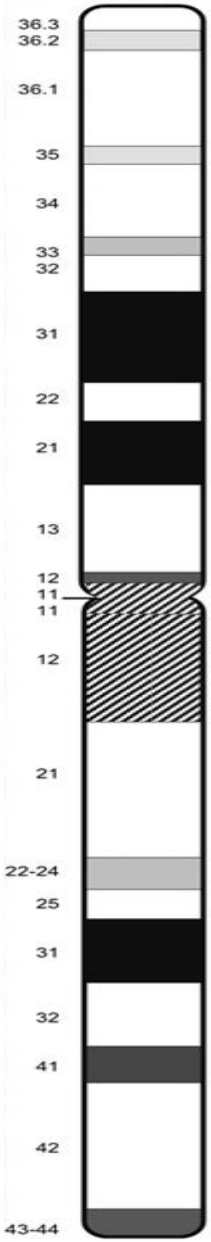


- *p* - короткое плечо хромосомы
- *q* - длинное плечо
- Центромера обозначается символом *«cen»,* однако для обозначения части центромеры, прилежащей к р-плечу используется символ *p10*, а части центромеры, прилежащий к q-плечу - символ *q10.*

- Район хромосомного плеча, ближайший к центромере, обозначается цифрой 1, следующий район – цифрой 2 и т. д.

- *h* - Центромерный гетерохроматин
- *s* - спутник
- *stk* - спутничные нити

Номенклатура хромосомных районов



- **первая цифра** - **номер хромосомы, в которой локализован данный бэнд;**
- **второй символ (p или q) - плечо хромосомы;**
- **третий символ – номер района, в состав которого входит бэнд;**
- **четвертый символ – номер бэнда в составе района.**

1p31 - ***первый бэнд, локализованный в третьем районе короткого плеча хромосомы 1.***

Чем ниже уровень спирализации хромосом, тем больше бендов выявляется!

Чтобы увеличить разрешающую способность метода, деление останавливают на стадии прометафазы (в культуру вносят ***метатрексат*** за несколько часов до фиксации)

300 бэндов

550 бэндов

700-бэндов

Виды дифференциального окрашивания хромосом

QF	Q- флуоресцентное окрашивание
QFQ	Q-флуоресцентное окрашивание с акрихином
QFH	Q-флуоресцентное окрашивание с Hoechst 33258
GT	G-окрашивание с красителем Гимза (Giemsa)
GTG	G-окрашивание с трипсином и красителем Гимза
GTW	G-окрашивание с трипсином и красителем Райта (Wright)
GAG	G-окрашивание с солями уксусной кислоты и красителем Гимза
CB	C-окрашивание с гидроксидом бария
CBG	C-окрашивание с гидроксидом бария и красителем Гимза
RF	R- флуоресцентное окрашивание
RFA	R-флуоресцентное окрашивание с акридином оранжевым
RH	R-окрашивание при нагревании
RHG	R-окрашивание при нагревании с красителем Гимза

GTG –окраска

-окрашивание с трипсином и красителем Гимза

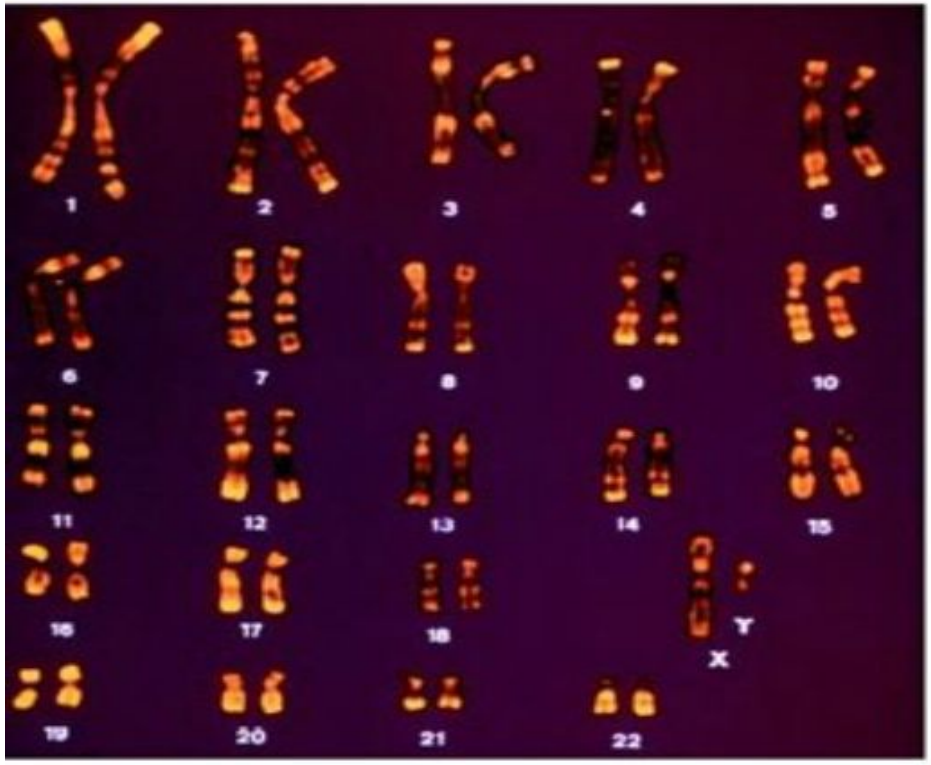
G-banding

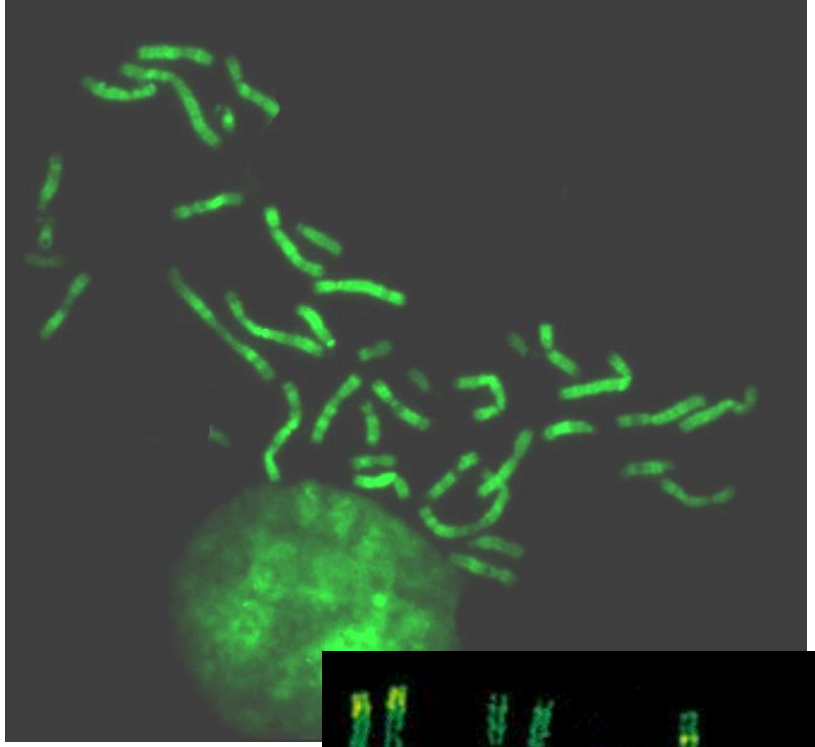
темные полосы – геторохроматиновые, поздно реплицирующиеся, богатые А-Т, светлые полосы – эухроматиновые, рано реплицирующиеся , богатые Г-Ц

R-banding

-обратный G-banding

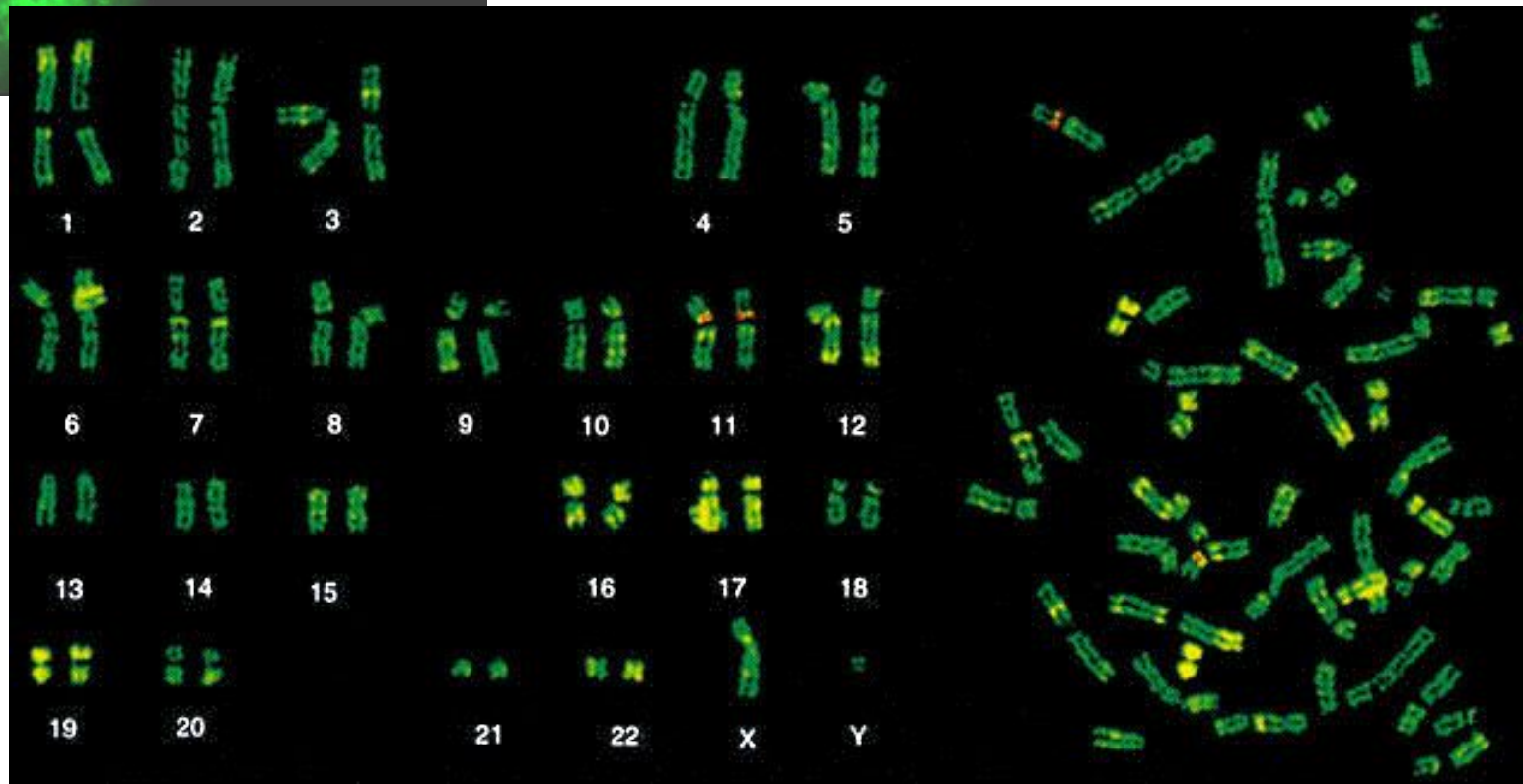
Темные участки – эухроматиновые, светлые участки - гетерохроматиновые



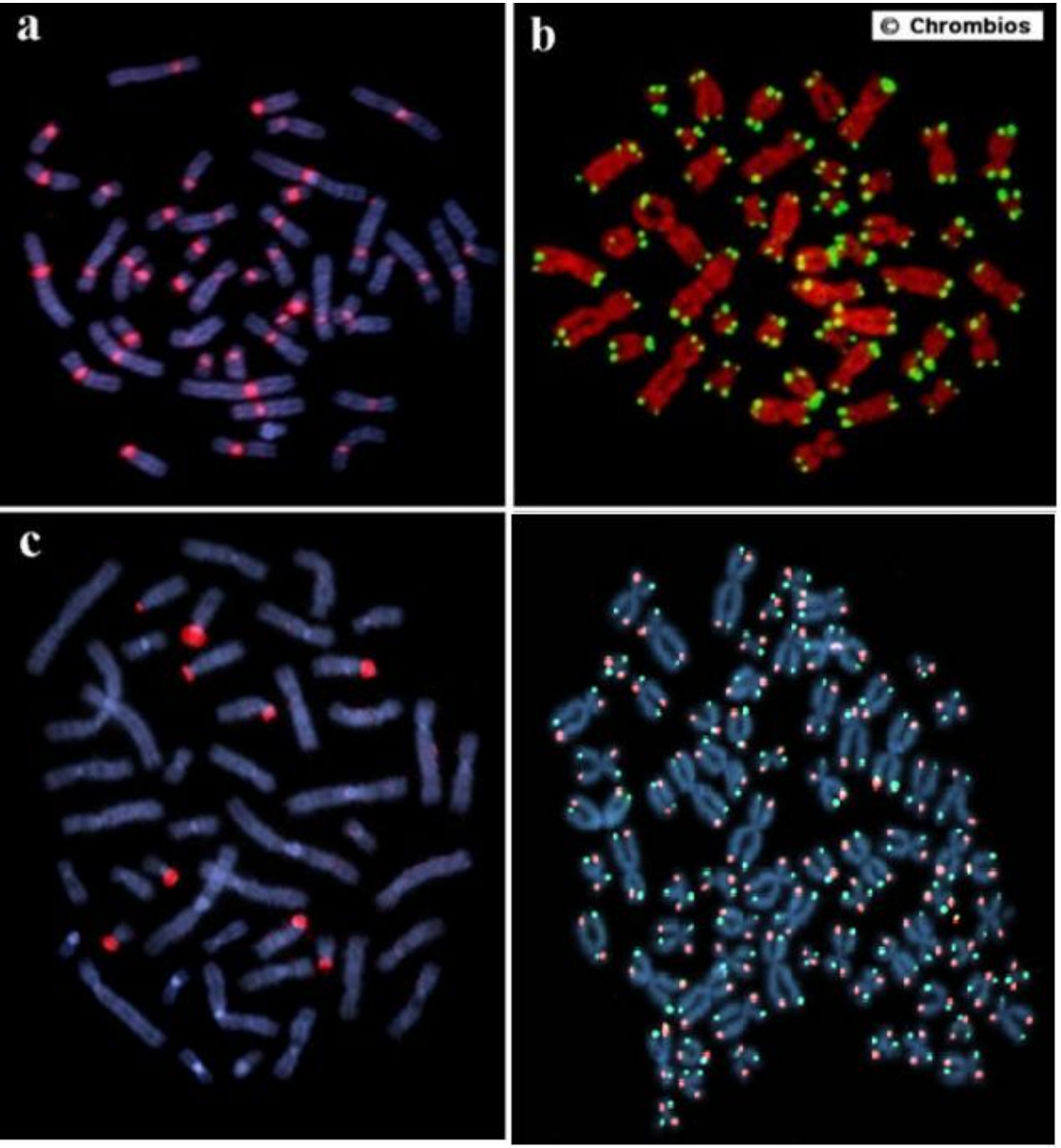


Q –окраска (QFQ)

-флуоресцентное окрашивание с акрихином. Аналогично G-бэндингу



Методы, селективно окрашивающие определенные участки хромосом



a) **C-banding – выявляет конститутивный гетерохроматин (центромеры)**

b) **T-banding – выявляет теломеры**

c) **Ag- NOR – Banding (Silver staining) – выявление ядрышковых организаторов с помощью нитрата серебра**

Fluorescent in situ hybridization - FISH

fluorescent in situ hybridization: (FISH) A technique used to identify the presence of specific chromosomes or chromosomal regions through hybridization (attachment) of fluorescently-labeled DNA probes to denatured chromosomal DNA.

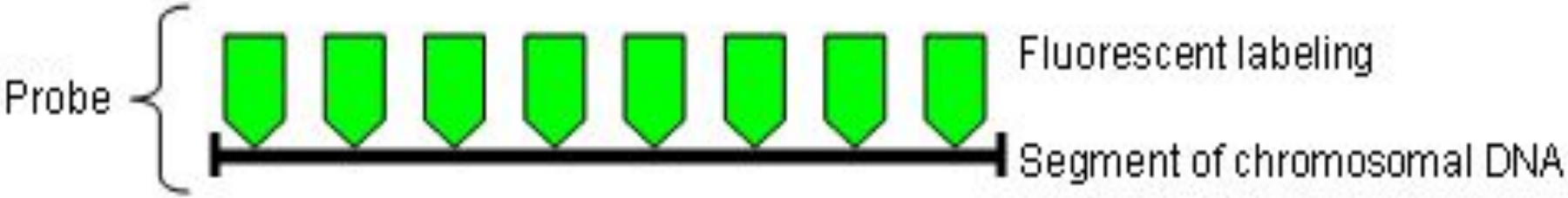
FISH detects small changes in the chromosome structure (submicroscopic)

1. **Deletions**
2. **Duplications**
3. **Translocations**

Is applicable to interphase cells

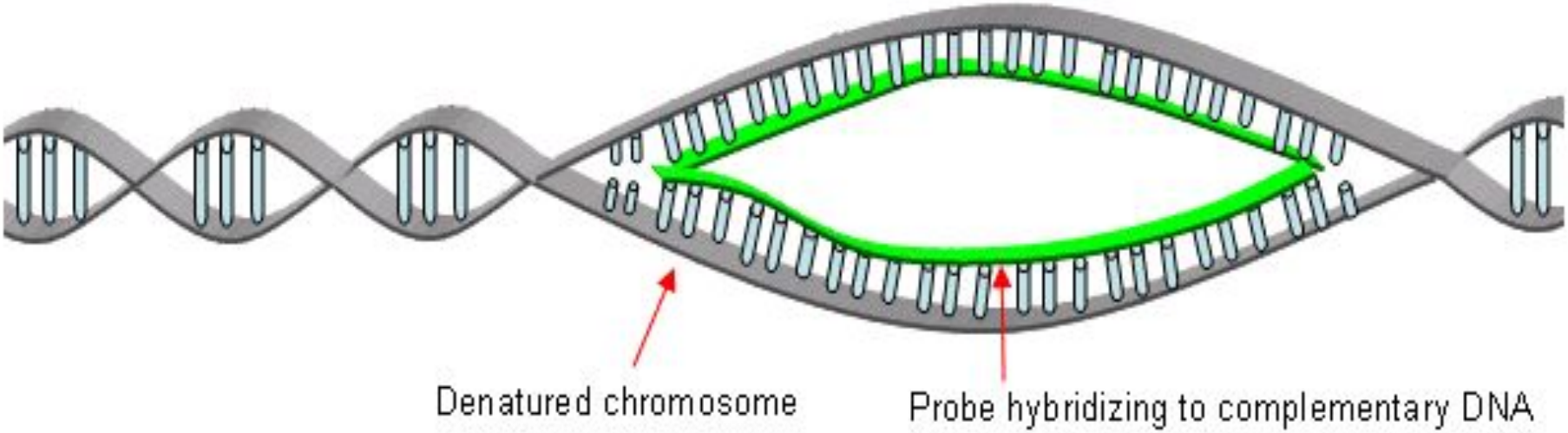
Basic Methodology

Step 1. Preparation of probe.

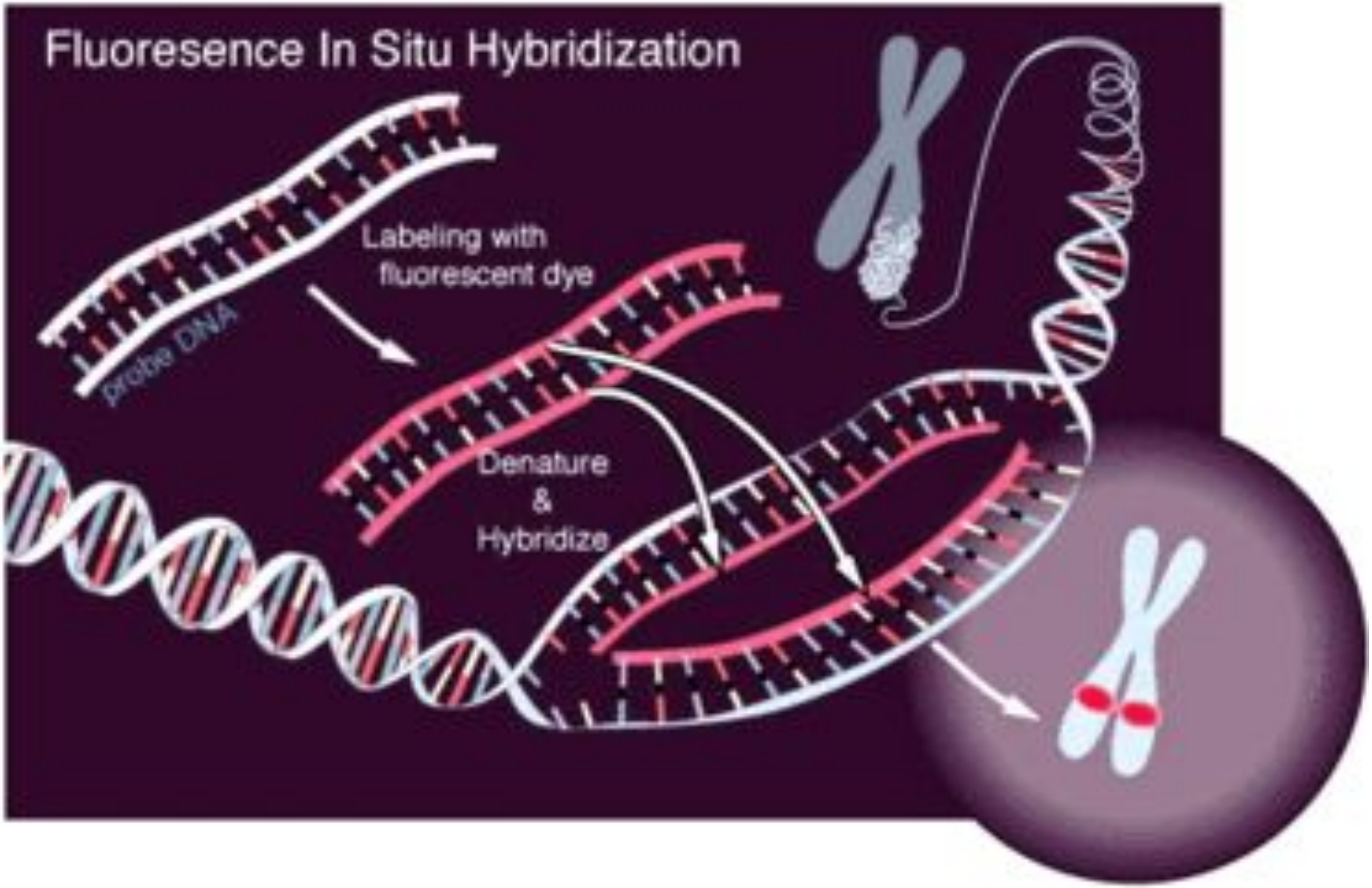


- A probe is a fluorescently-labeled segment of DNA complementary to a chromosomal region of interest.

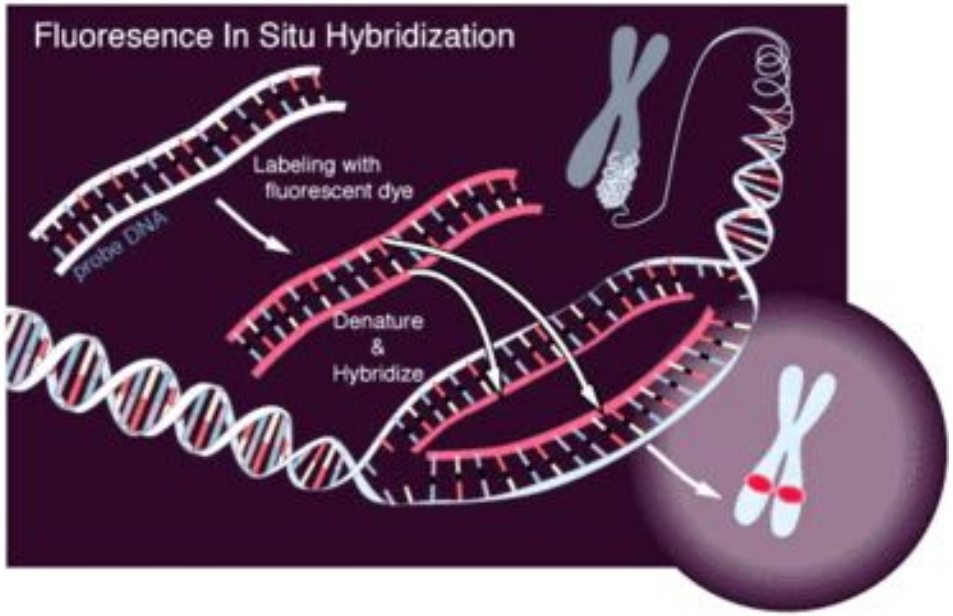
Step 2. Hybridization.



- Denatured chromosomes fixed on a microscope slide are exposed to the fluorescently-labeled probe. Hybridization (attachment) occurs between the probe and complementary (i.e., matching) chromosomal DNA.


Fluoresence In Situ Hybridization
Labeling with
fluorescent dye
probe DNA
Denature
&
Hybridize

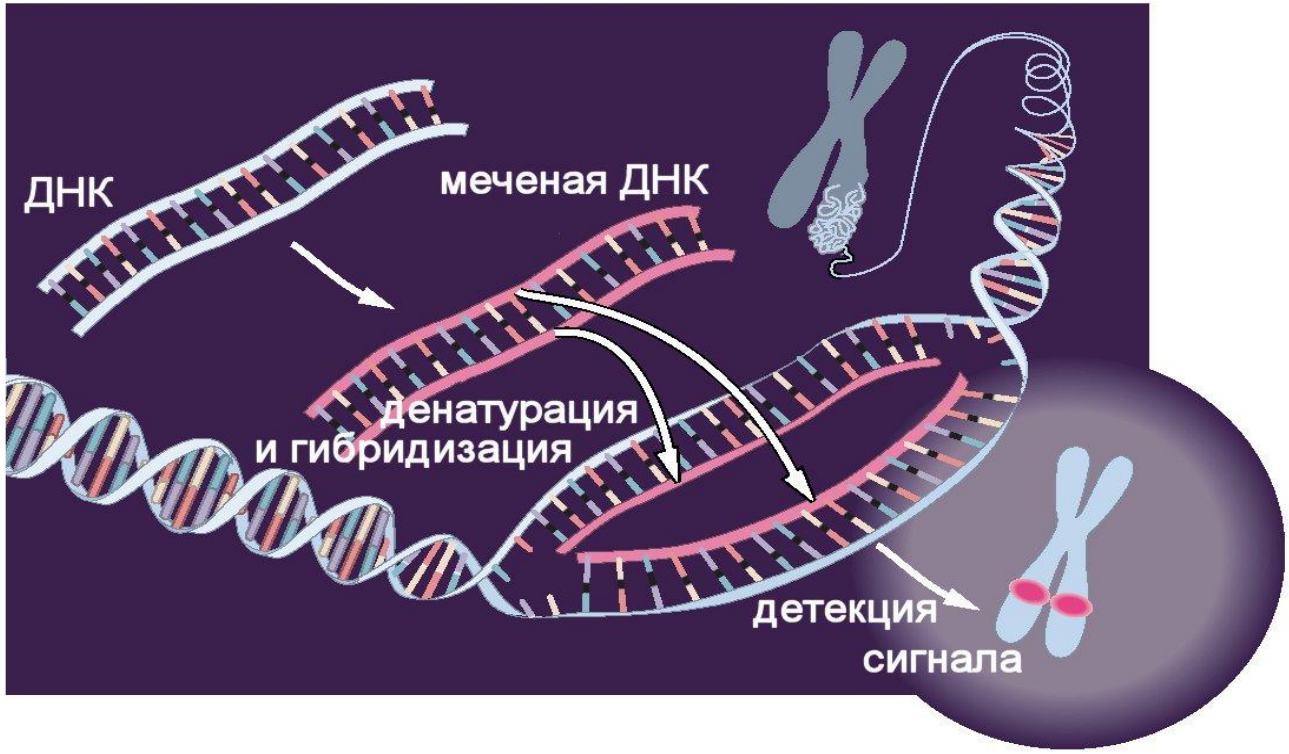
Флуоресцентная гибридизация *in situ*



Fluorescent In Situ Hybridisation

FISH - цитогенетический метод, который применяют для детекции и определения положения специфической последовательности ДНК на метафазных хромосомах или в интерфазных ядрах *in situ*

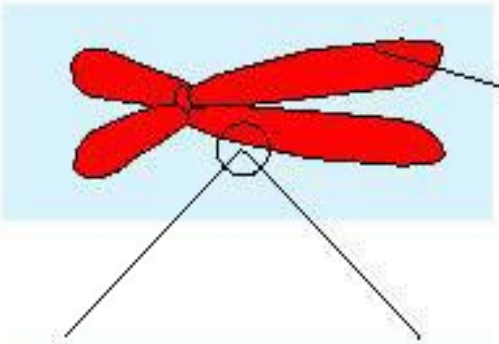
FISH
(флюоресцентная гибридизация *in situ*)
Принцип метода



используют ДНК-зонды, которые связываются с **комплементарным и** мишенями в образце (хромосоме, ядре или участке микрочипа).

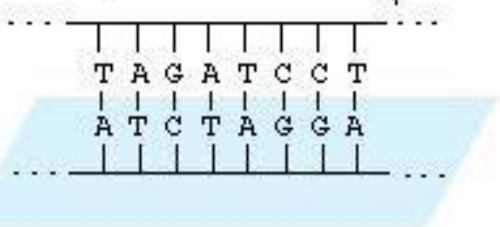
В состав **ДНК-зондов** входят фрагменты ДНК, меченные флюорохромами

Гибридизация *in situ*

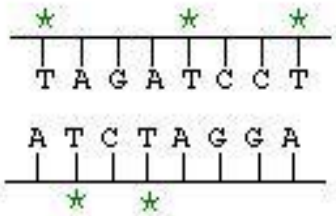


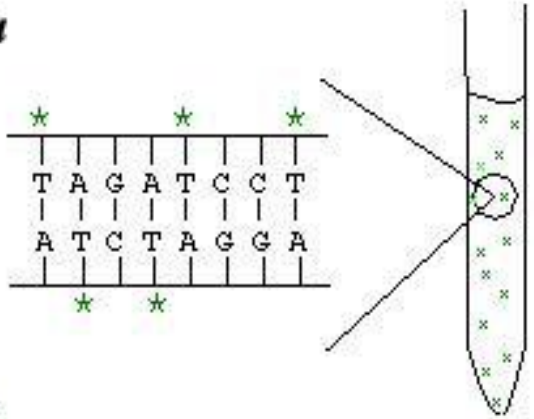
Хромосомы на стекле

Двуцепочечная ДНК мишени

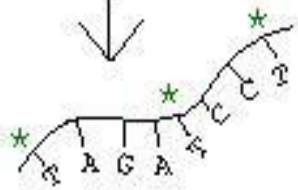


денатурация

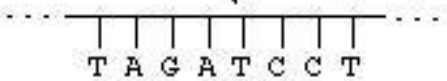




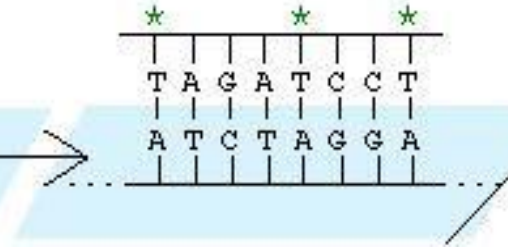
ДНК-зонд

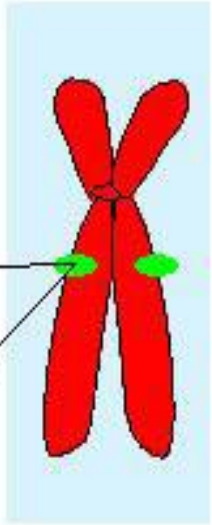


денатурация ДНК до одноцпочечной



Гибридизация ДНК-зонда с денатурированной ДНК мишени

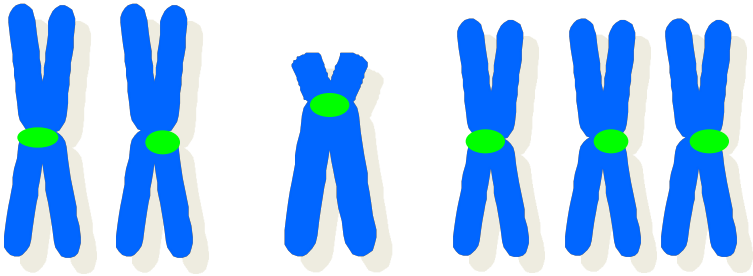




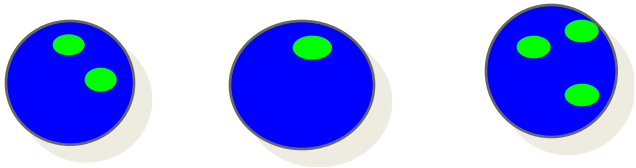
ДНК-зонды:

1. Специфические для маркирования определенного района (уникальные гены, центромерные или субтеломерные последовательности), плеча или всей хромосомы.
2. Маркерные для всех теломерных , центромерных или ядрашкоорганизующих районов.
3. Геномные, специфичные для генома индивида определенного вида

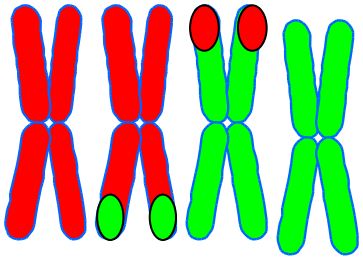
Виды зондов для FISH



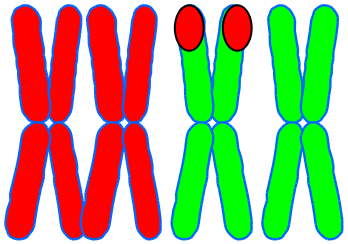
норма моносомия трисомия



FISH с *CEP* ДНК-зондами (Центромероспецифичные зонды)

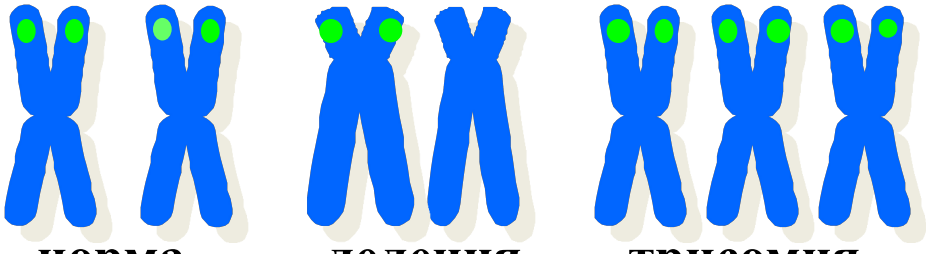


Сбалансированная транслокация

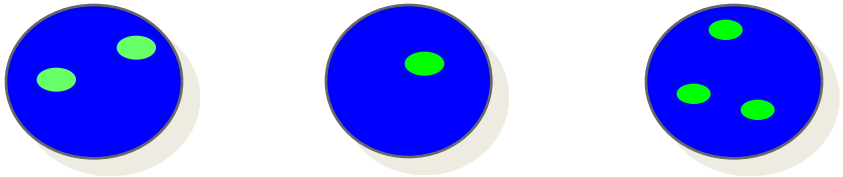


Несбалансированная транслокация

FISH с *WCP* ДНК-зондами (полнохромосомные зонды)



норма делеция трисомия



FISH с *LSI* ДНК-зондами (локусспецифифеские зонды)

Применение FISH в цитогенетическом анализе

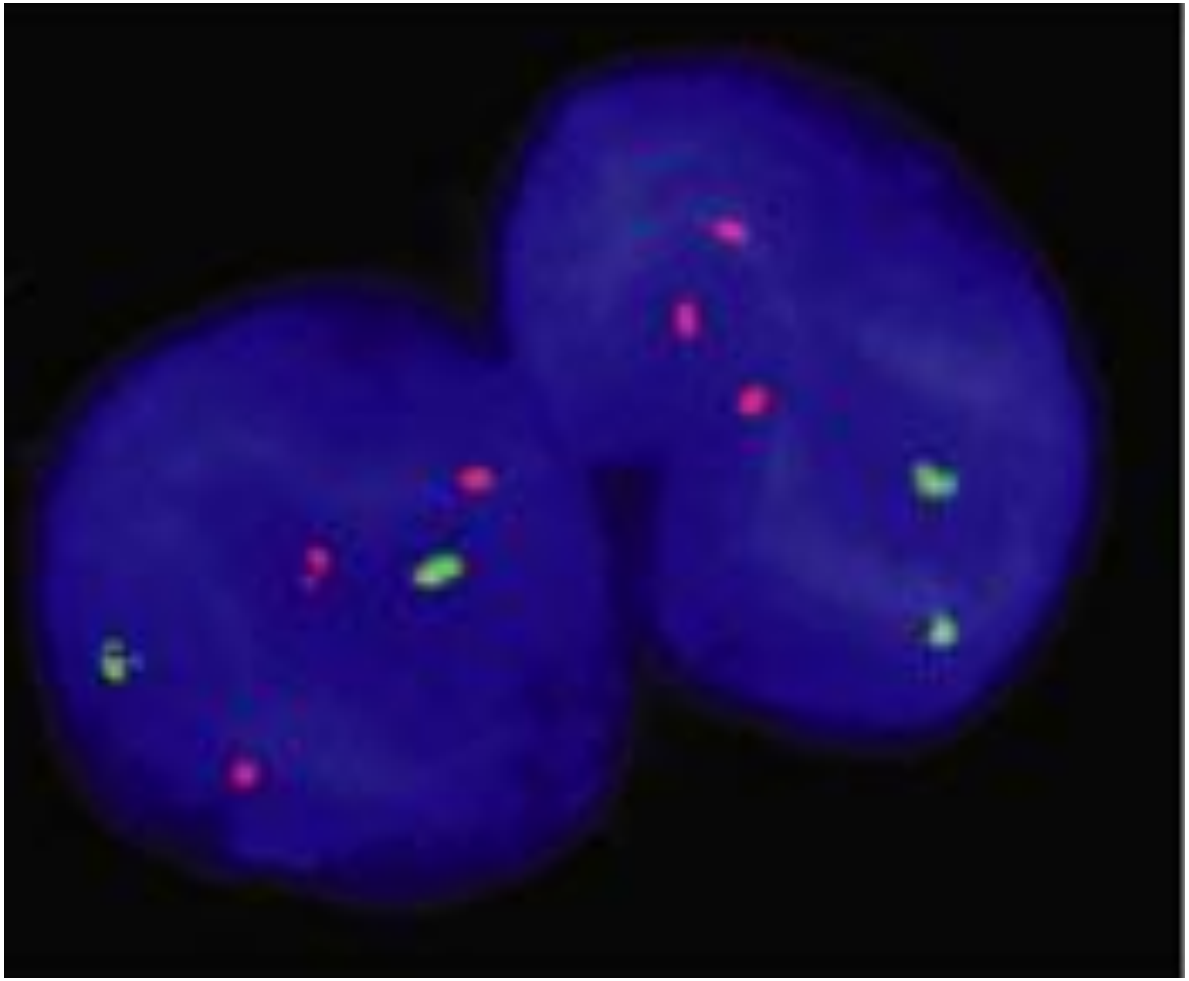
1. **Для выявления анеуплоидий , мозаицизма и сверчисленных хромосом используют зонды, специфичные к центромерам *CEP (Chromosome Enuveration Probes)***
2. **Для выявления микроделеций, амплификаций, исследования сложных хромосомных перестроек и дополнительных маркерных хромосом используют локус специфические зонды *LSI (Locus Specific Identification)***

FISH-метод

- Пренатальная или предимплантационная диагностика наиболее частых анеуплоидий (интерфазная FISH)
- Диагностика скрытого и/или низко-уровневого мозаицизма по гоносомам (интерфазная FISH)
- Диагностика известных микроделеционных синдромов
- Уточнение цитогенетического диагноза
- Идентификация

  сверхчисленных маркерных хромосом
- Диагностика сложных комплексных хромосомных аберраций

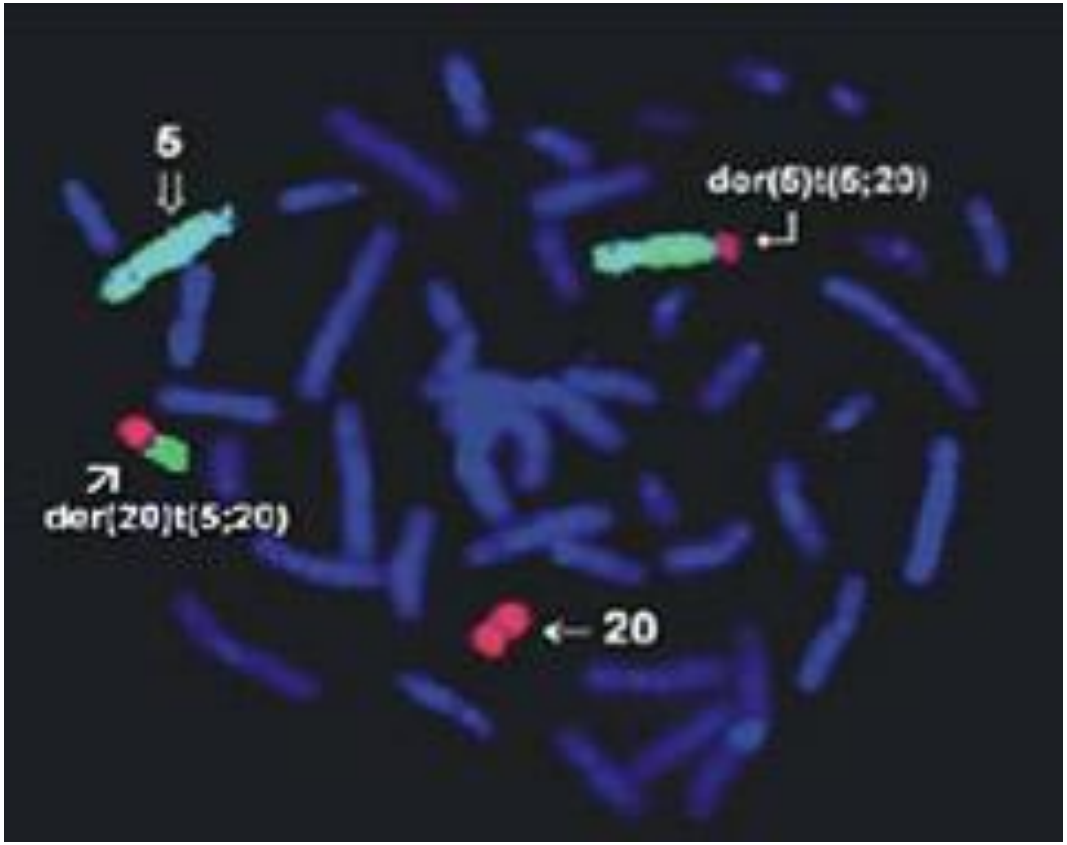
Диагностика трисомии 21 методом FISH (интерфазная)



Можно использовать неделящиеся клетки, например, из амниотической жидкости

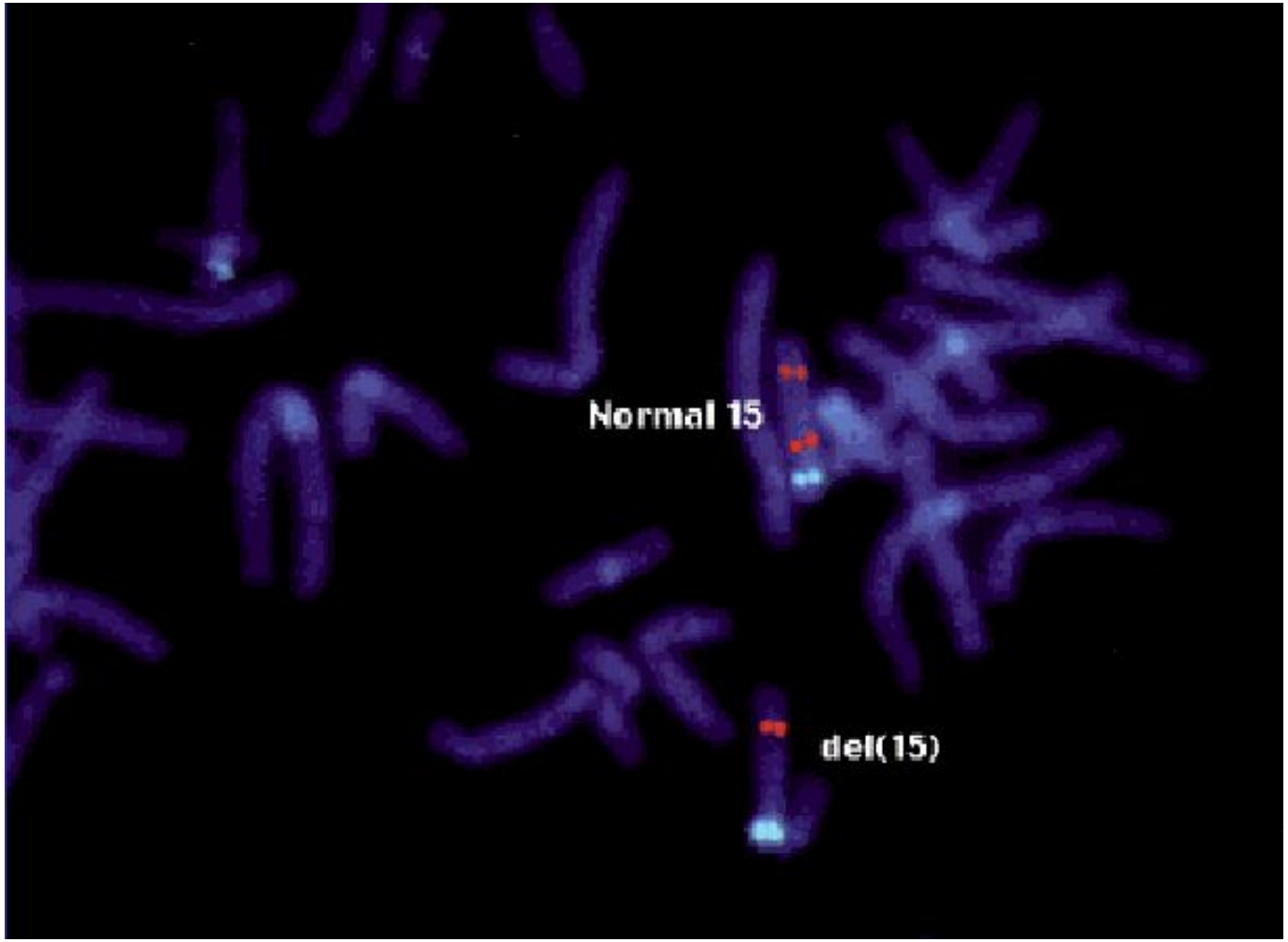
Занимает 2-3 часа

Детекция хромосомной перестройки методом **FISH**



Зеленый сигнал - материал хромосомы 5, красный сигнал - материал хромосомы 20. Общее окрашивание хромосом красителем DAPI (синий сигнал).

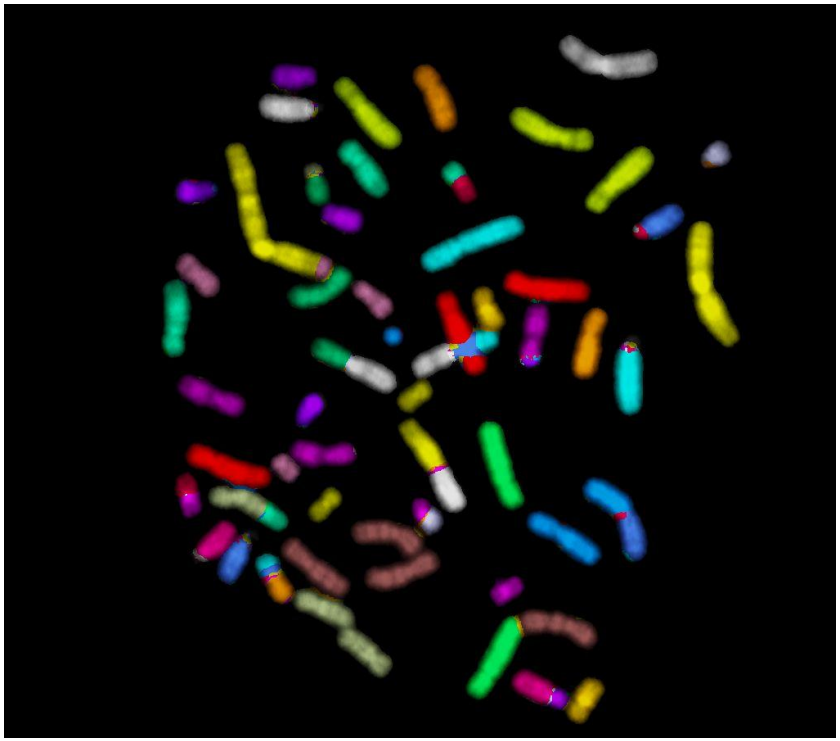
Определение микроделеции при синдромах Прадера-Вилли и Ангельмана с помощью локус-специфических зондов (*LSI*)

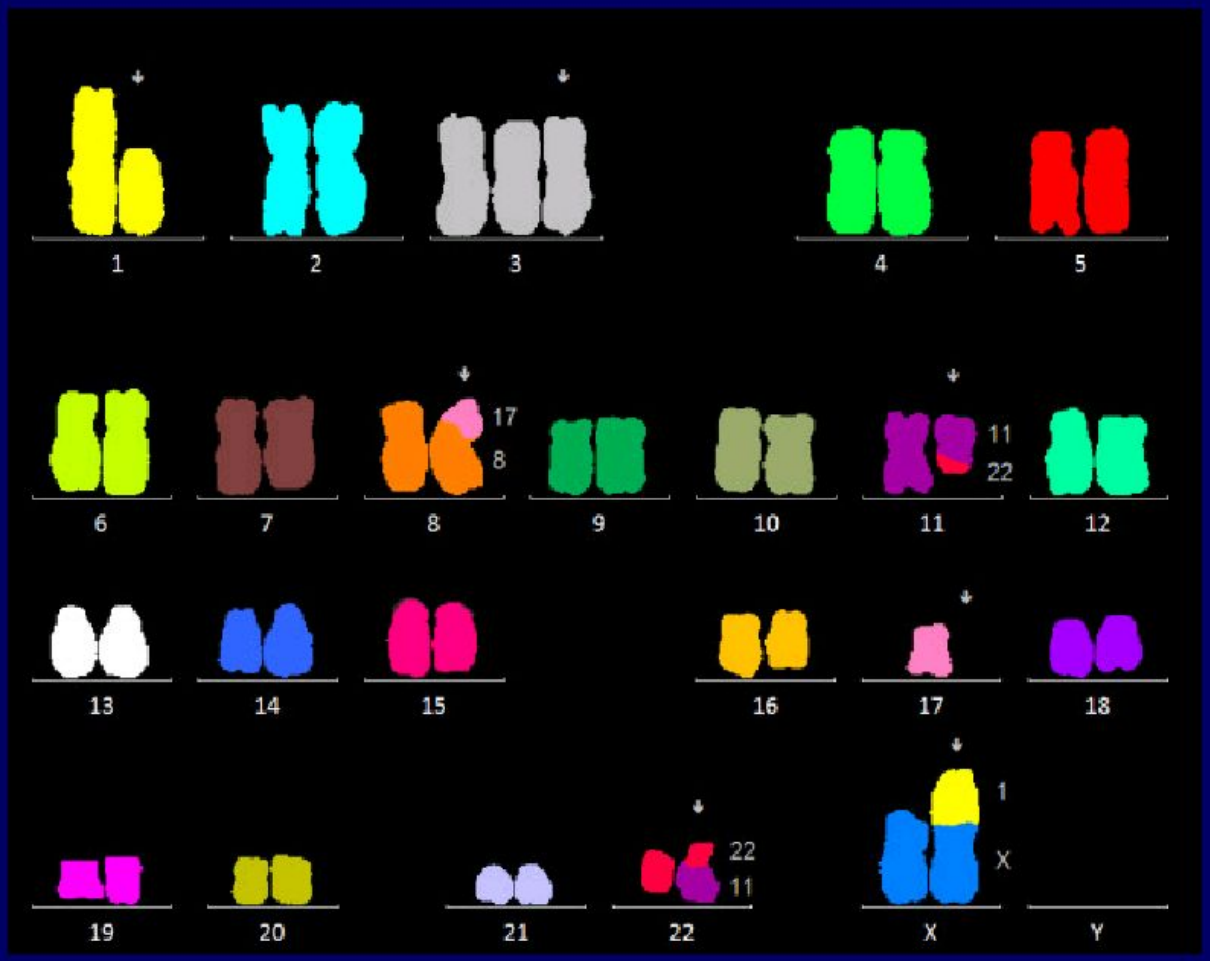


del(15)(q11.2-q13)

Многоцветный FISH на 24 хромосомы (M-FISH)

- **Для скрининга перестроек в кариотипе применяют набор полнохромосомных комбинированных зондов для всех хромосом 24-х цветный FISH (M-FISH, SKY).**





Многоцветовая FISH : в клетке лимфомы обнаружены делеция хромосомы 1, трисомия 3, несбалансированная транслокация (8;17), сбалансированная транслокация (11;22), утрата хромосомы 17 и несбалансированная транслокация (X;1). *(C.K. Rocha et al., 20011)*

Сравнительная геномная гибридизация

Comparative Genomic Hybridization CGH

- Метод сравнительной геномной гибридизации (**Comparative Genomic Hybridization или CGH**) - молекулярная цитогенетическая технология, объединившая стандартную цитогенетическую методику кариотипирования и FISH-анализ. Преимуществом метода CGH является возможность проведения полного анализа структурных хромосомных аномалий всего генома в пределах одного эксперимента.

CGH

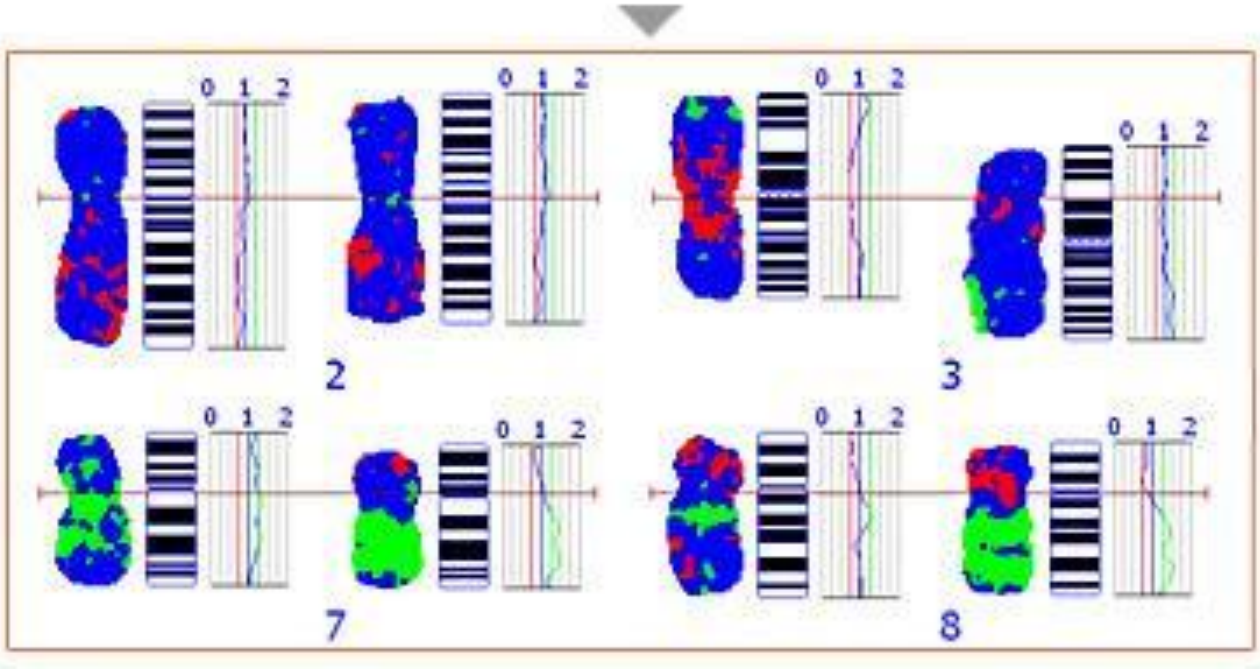
- CGH основана на сравнении тестируемой и контрольной ДНК, меченных разными флуорохромами, которые смешиваются в соотношении 1:1 и гибридизуются на метафазных хромосомах кариотипически здорового человека.

  Затем снимается серия изображений одного и того же поля зрения с использованием разных фильтров (например, DAPI, FITC, TRITC).

  После проведения выделения хромосом программа автоматически рассчитывает значение флуоресцентного отношения для каждой точки хромосомы и, исходя из полученных данных, строит цветокодированное изображение – ФО изображение.

- На ФО изображении **синим** цветом отмечены участки хромосом, не имеющие отклонений от нормы, **красным** цветом – участки хромосом, соответствующие делециям, **зеленым** цветом – участки хромосом, соответствующие амплификациям.

  Хромосомный дисбаланс в исследуемом образце оценивают по разнице в интенсивности флуоресценции двух разных флуорохромов спомощью вычисления флуоресцентного отношения (ФО).



Преимущества CGH

- не зависит от источника исследуемого материала, и может быть успешно проведен с малым количеством тестируемой ДНК, включая архивный материал.
- позволяет получить детальную информацию о потерях или увеличении числа копий генетического материала по всему геному в одном эксперименте.
- не зависит от процесса культивирования клеток и связанных с ним артефактов.

Сравнительная геномная гибридизация на микрочипах – array Comparative Genomic Hybridization (array –CGH или a-CGH)

1-2: ДНК пациента (опытная) и ДНК здорового индивидуума (контрольная) метятся различными флуорохромами (Cy3 и Cy5) и наносятся на микрочип

3: Конкурентная гибридизация опытной и контрольной ДНК с ДНК-зондами на микрочипе

4: Измерение флуоресцентного сигнала (соотношение интенсивности флуресценции Cy3/Cy5) с использованием сканнера для микрочипов

5: Анализ полученных данных с использованием компьютерной программы и получение графического изображения

array-CGH

- Возможность одновременной детекции ануплоидий, делеций, дупликаций и/или амплификации любого локуса, представленного на микрочипе
  1 анализ array CGH эквивалентен 1000 FISH-анализам!
- Мощный инструмент детекции субмикроскопических хромосомных аномалий у пациентов с идиопатической умственной отсталостью и множественными врожденными пороками развития
- Обеспечивает более детальный, автоматизированный и менее субъективный анализ аномального количества копий ДНК по сравнению со стандартным цитогенетическим исследованием
- Может быть использован при исследовании архивного материала и тканей с неделящимися клетками

Пренатальная диагностика

Неинвазивные методы
(без оперативного вмешательства)

1) Скрининг- определение сывороточных маркеров (*5 неделя и через 3 недели*)

1. альфа-фетопротеина (АФП),
2. хорионического гонадотропина (ХГ)
3. неконъюгированного эстриола (НЭ).

2) УЗИ

I. 10-13 нед.
II. 20-22 нед.

Инвазивные методы

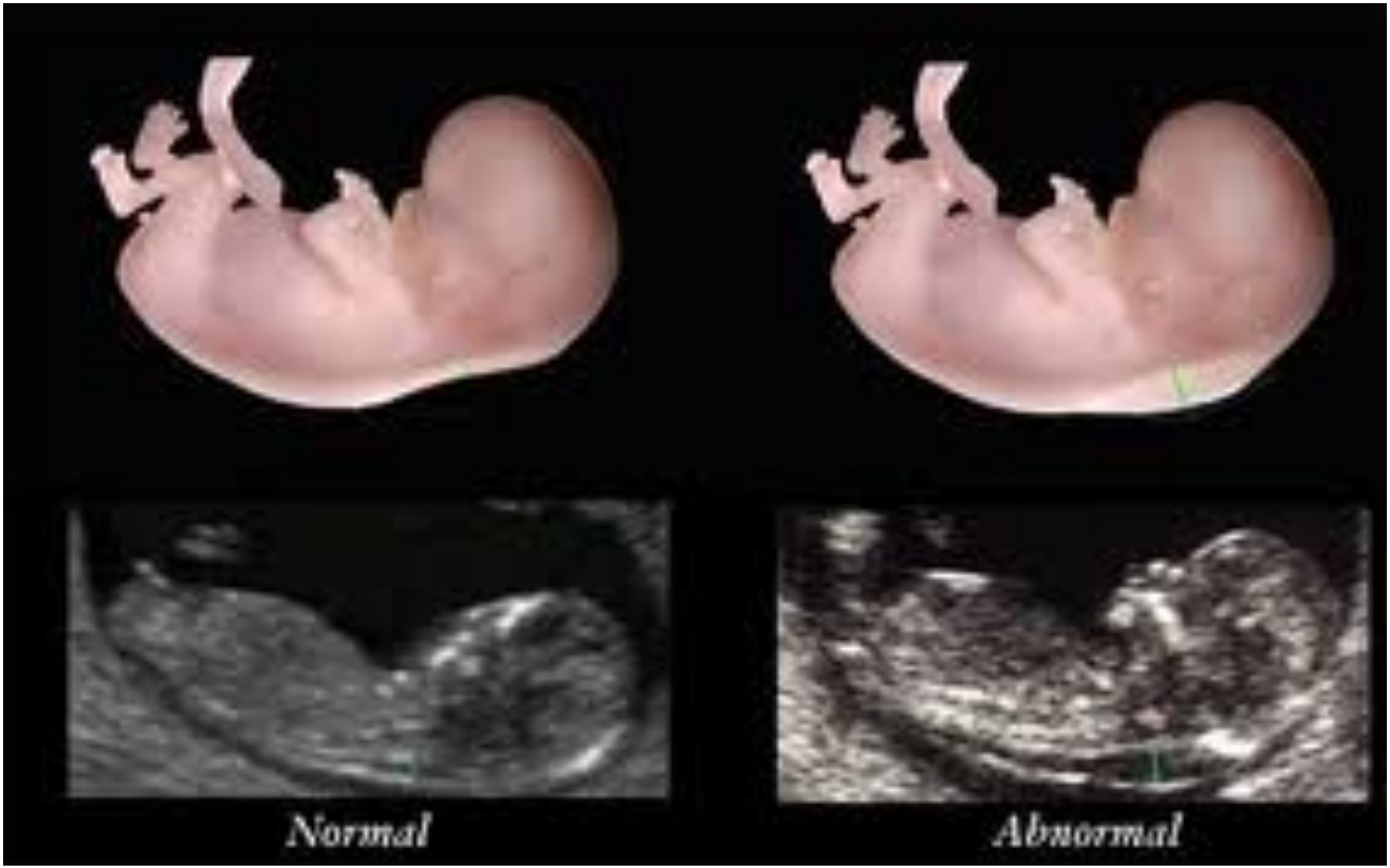
- Хорионоцентез (10-12 нед.)
- Амниоцентез (15-17 нед.)
- Кордоцентез (20 нед.)

Биохимические маркеры во втором триместре:

Маркер	Анеуплоидии			
	21+	18+	13+	ХО
АФП	↓	N	↑	↓
ХГ	↑	↓↓	N	↑↑
НЭ	↓	↓	N	↓

УЗИ

- Наибольшее значение в профилактике наследственных болезней имеет метод ***ультразвукового сканирования плода(УЗИ)*** . Метод позволяет выявить как врождённые пороки ,так и функциональное состояние плода и его провизорных органов (плаценты , пуповины, оболочек).
- ***Сроки проведения УЗИ: 10 -13, 20 -22 и 30 -32 –я неделя беременности.***
- ***УЗИ*** также можно использовать для выявления задержки роста эмбриона или плода начиная с ***6 -8-й недели беременности***.



- The NT **(fluid beneath the skin behind baby's neck)** is a small collection of fluid that lies just under the skin at the back of the baby's neck. This is usually well visualized with ultrasound and is measured to the nearest 100th of a centimeter.

Показания к проведению УЗИ плода

1.Выявление отклонений (маркёров патологии)или пороков развития плода в ходе просеивающего УЗИ.

2.Несоответствие размеров плода сроку беременности.

3.Рождение предыдущего ребёнка с врождёнными пороками развития.

4.Наличие у женщины болезней повышающих риск рождения ребёнка с врождёнными пороками развития.

5.Воздействие тератогенного фактора(радиация,химические факторы) в первые 10 недель беременности.

6.Наличие врождённых пороков развития у кого-либо из супругов

<u>Диапозон распознаваемых этим методом пороков велик</u>

Инвазивные методы

Хорион- и плацентобиопсия

- применяются для получения небольшого количества ворсинок хориона или кусочков плаценты в период ***с 7-й по 16-ю неделю*** беременности. Процедура осуществляется трансабдоминально

или трансцервикально под контролем УЗИ.

Амниоцентез

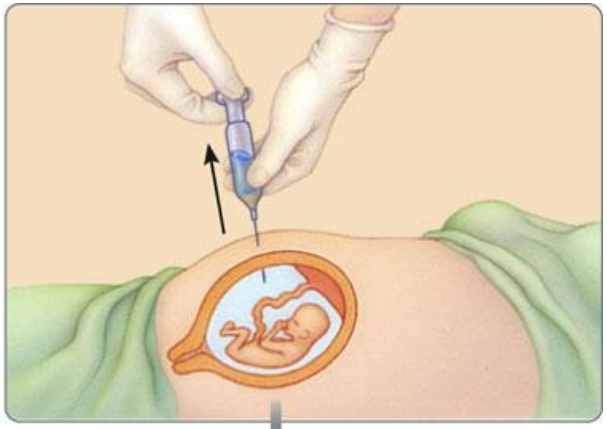
Амниоцентез - забор околоплодной жидкости ***Ранний амниоцентез проводят на 12-15-й неделе беременности.***

Амниоцентез делают через переднюю брюшную стенку матери под контролем УЗИ. Из амниотической полости извлекают 3-30 мл. жидкости.

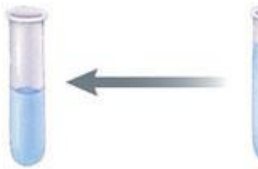
Amniocentesis

performed at 15-17 weeks gestation
Diagnose > 100 disorders, cells analyzed for ***chromosomal*** and ***gene*** disorders

Removal of about 20 ml of amniotic fluid containing suspended cells that were sloughed off from the fetus



Biochemical analysis of the amniotic fluid after the fetal cells are separated out



Centrifugation

Analysis of fetal cells to determine sex

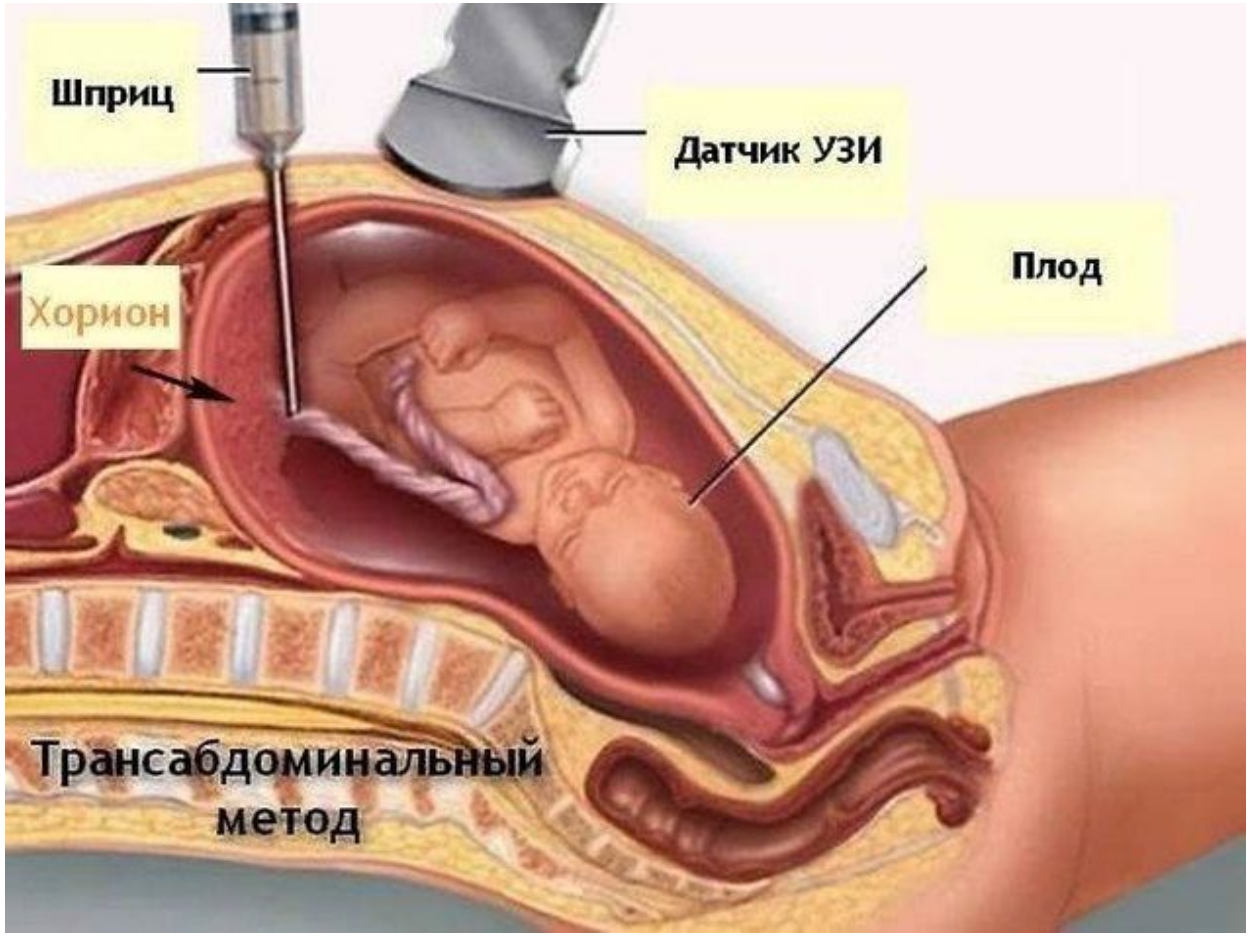
Fetal cells are removed from the solution

Cells are grown in an incubator

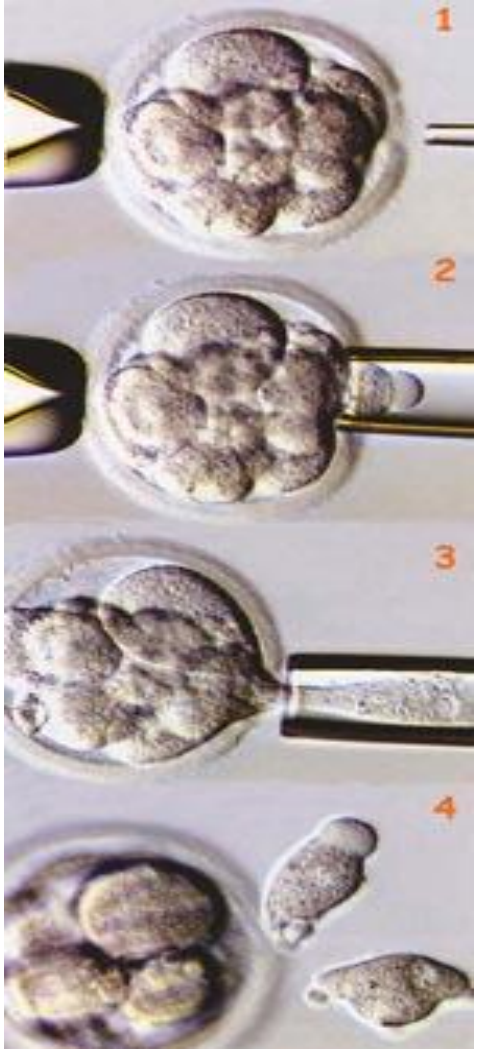
Karyotype analysis

кордоцентез

- Это взятие крови из пуповины.
- ***проводят с 20-й недели беременности.***



Предимплантационная диагностика

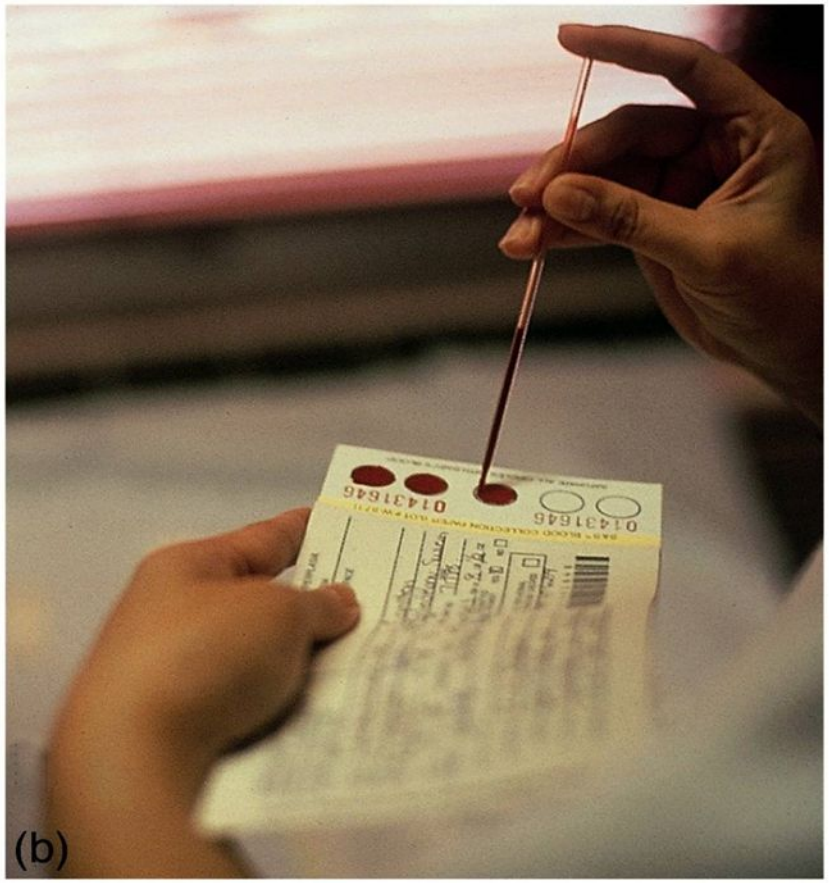


- При экстракорпоральном оплодотворении берутся бластомеры на стадии морулы и изучаются до имплантации зародыша

Неонатальный скрининг – «просеивание» всех младенцев на наличие биохимических дефектов

У новорожденных на 3-5 день берется кровь из пятки, наносится на специальный бланк и отправляется в МГК

Неонатальный скрининг



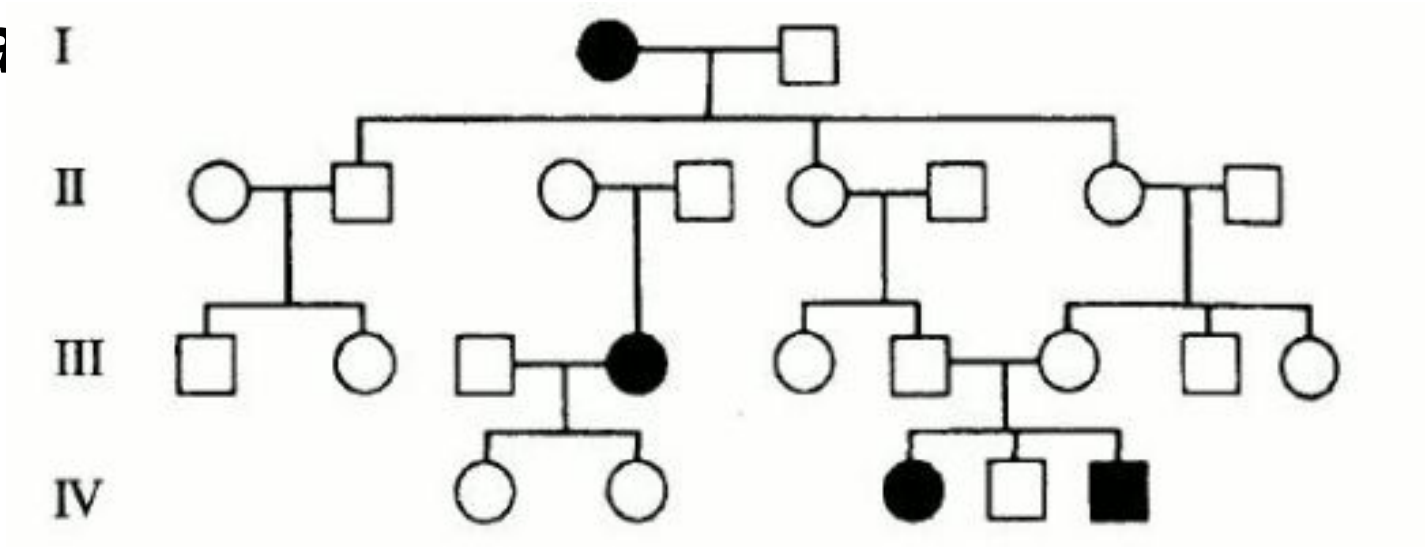
В России проводится на 5 заболеваний:

1. Фенилкетонурия
2. Галактоземия
3. Муковисцидоз
4. Врожденный гипотиреоз
5. Адреногенитальный синдром

Генеалогический метод

- ***основан на прослеживании какого-либо нормального или патологического признака в ряду поколений***

с ука



Метод позволяет:

1. ***Установить характер признака: наследственный или нет***
2. ***Определеть тип наследования***
3. ***Определить пенетрантность гена***
4. ***Выявить группы сцепления генов***
5. ***Изучить интенсивность мутационного процесса;***
6. ***Расшифровать механизмы взаимодействия генов;***
7. ***Вассчитать прогноз потомства***

при медико-генетическом консультировании

ЭТАПЫ РАБОТЫ

1.Сбор сведений о семье

2.Графическое составление родословной

3.Генеалогический анализ

4.Заключение

Составление родословной

Используемые символы

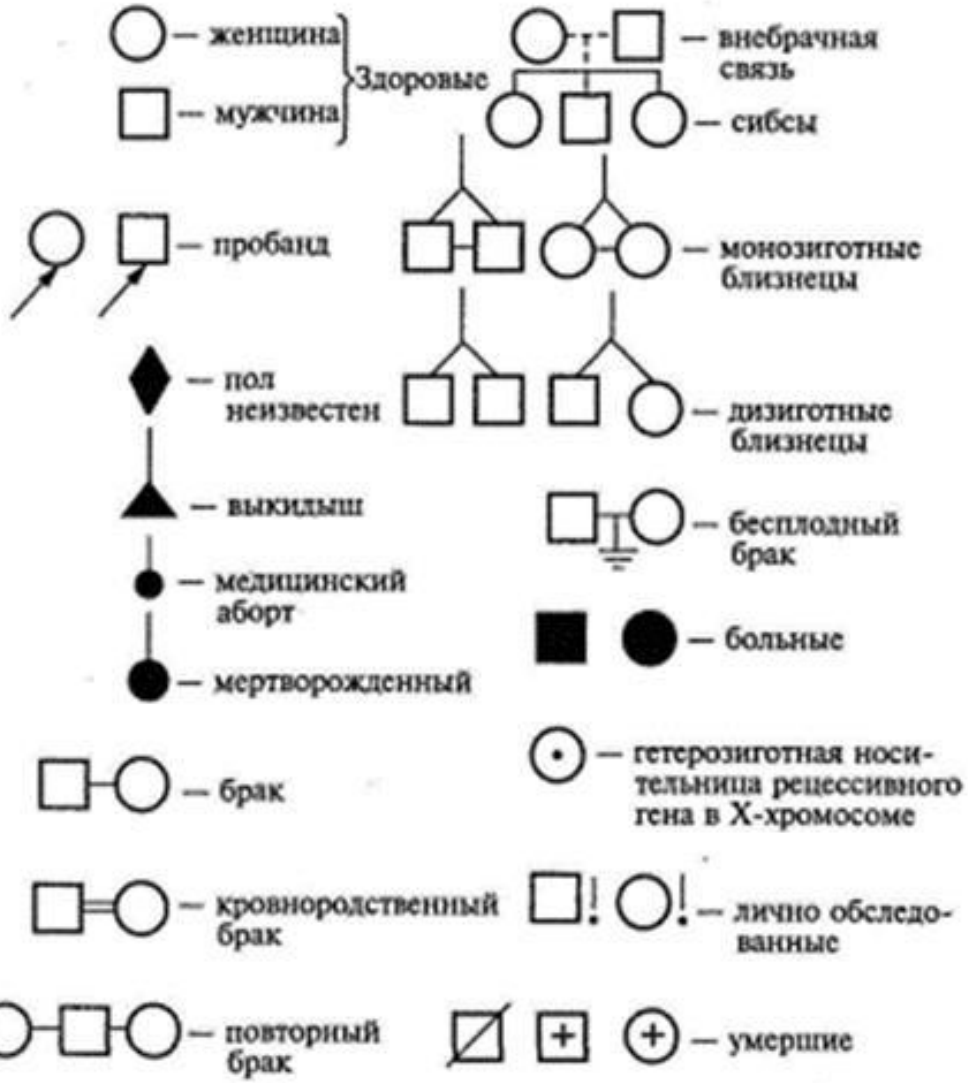


Рис. 3.3. Символы, используемые при составлении родословной

Лицо, родословную которого необходимо составить называется пробандом

Братья и сестры *пробанда называются сибсами*.

Типы наследования

Аутосомное:

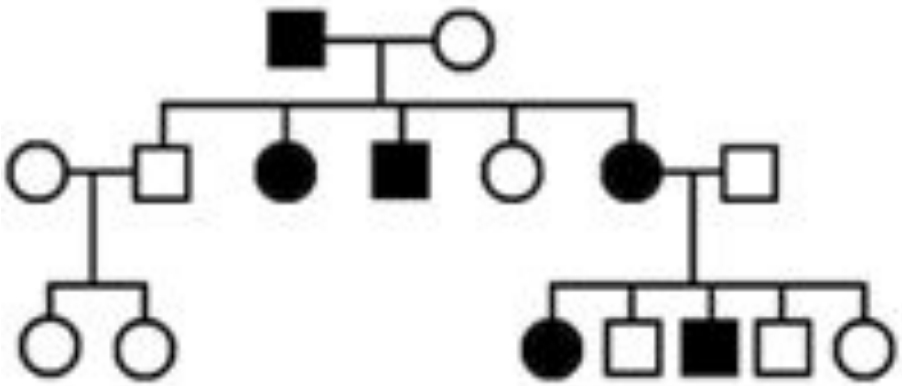
1. *доминантное*
2. *рецессивное*

Сцепленное с полом:

рецессивное сцепленное с Х
доминантное сцепленное с Х
сцепленное с У
(голандромческое)

Митохондриальное

Аутосомно-доминантное



1.Признак встречается в каждом поколении

2.У больного ребенка один из родителей тоже болен

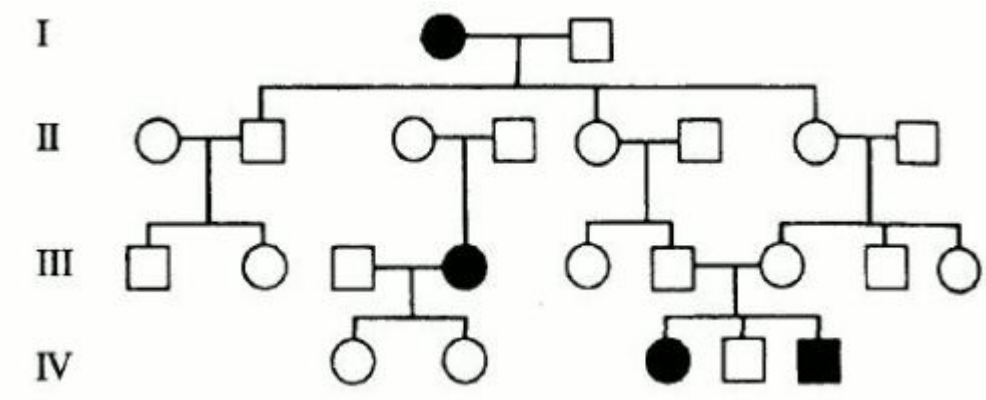
3.Соотношение девочек и мальчиков одинаковое

4.Вероятность рождения больного ребёнка 50%

Примеры:

1. **плидактилия и др.**
2. **миопия**
3. **ахондроплазия**
4. **гипертония**

Аутосомно-рецессивное



1. *относительно **небольшое число больных** в родословной*
2. *наличие **больных «по горизонтали»** (болеют сибсы – родные, двоюродные)*
3. ***родители** больного ребенка чаще **фенотипически здоровы***
4. ***Оба пола поражаются одинаково***
5. ***Чаще встречаются при кровно-родственных браках***
6. ***вероятность рождения** больного ребенка **составляет 25%***

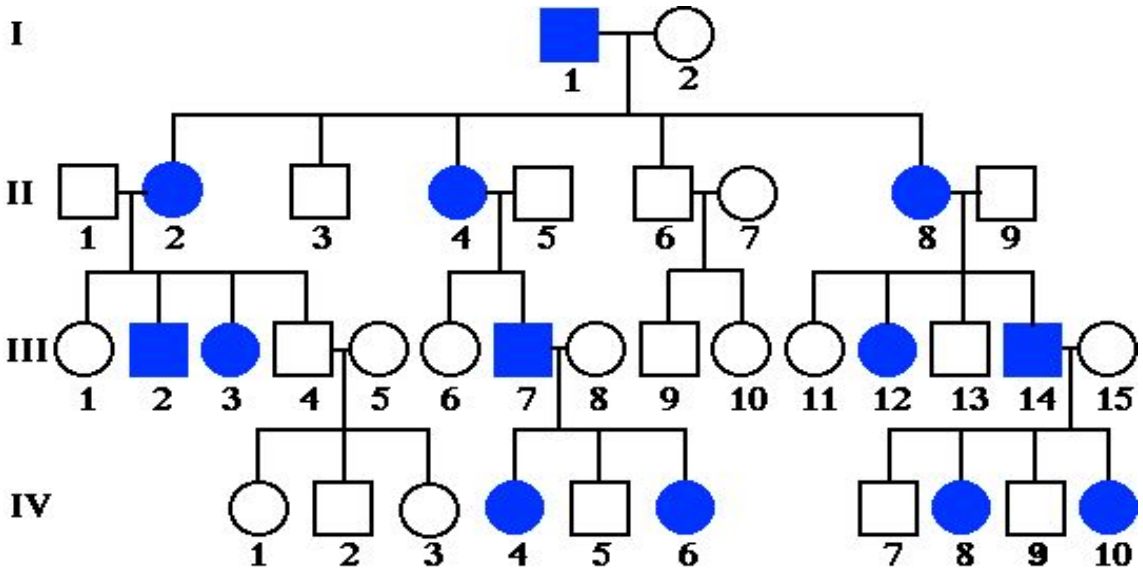
Примеры:

- **фенилкетонурия**
- **галактоземия**
- **альбинизм**

Сцепленное с Х доминантное

Примеры:

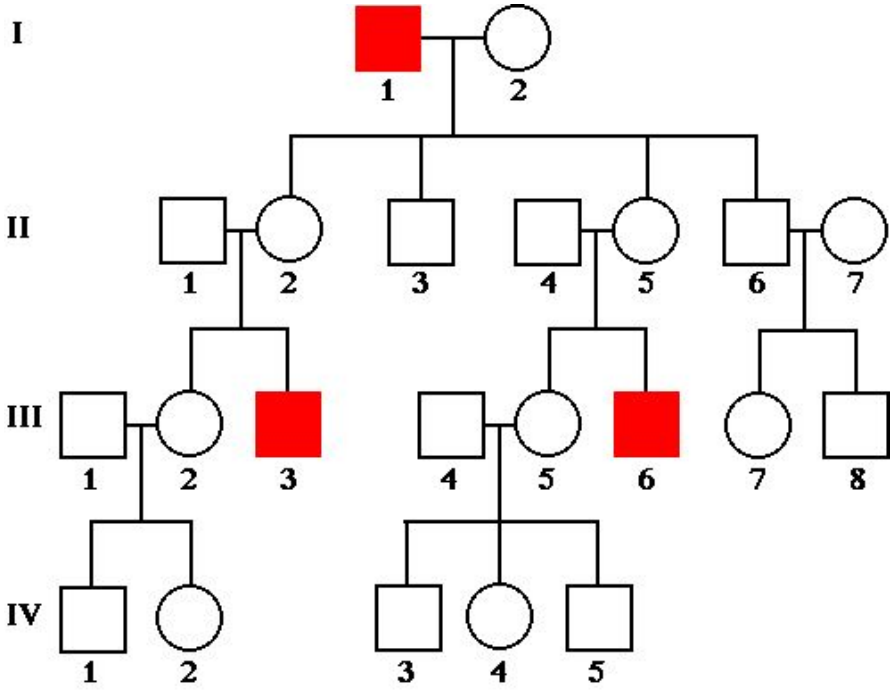
- **витаминоустойчивый рахит**
- **гипоплазия эмали зубов**



Имитирует аутосомно-доминантный тип.

Но! У больного мужчины все сыновья здоровы, а все дочери больны

Сцепленное с Х рецессивное

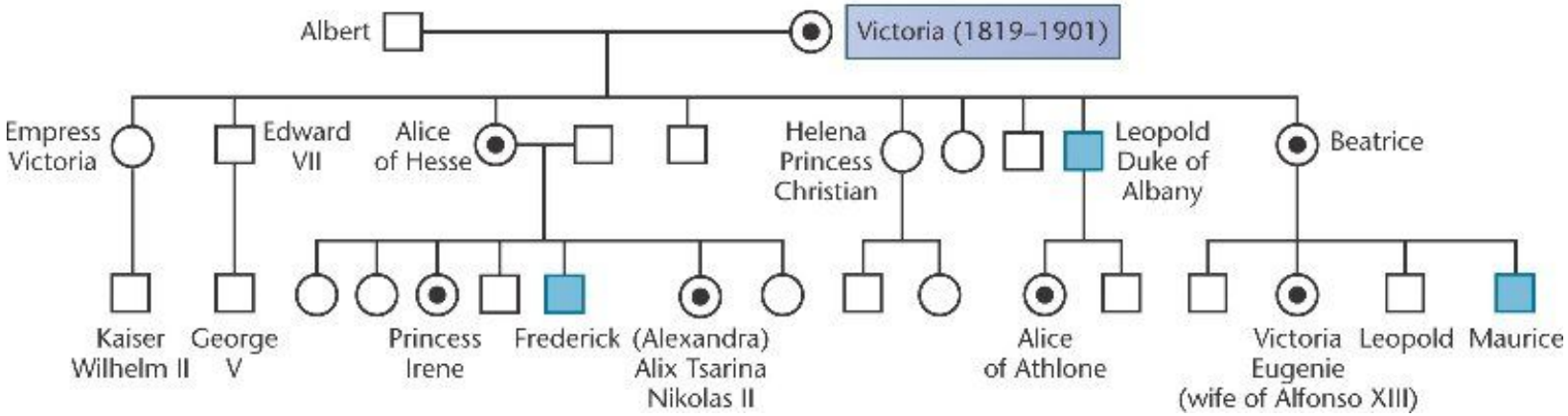


- **Признак чаще проявляется у мужского пола**
- **Никогда не передается от отца к сыну**

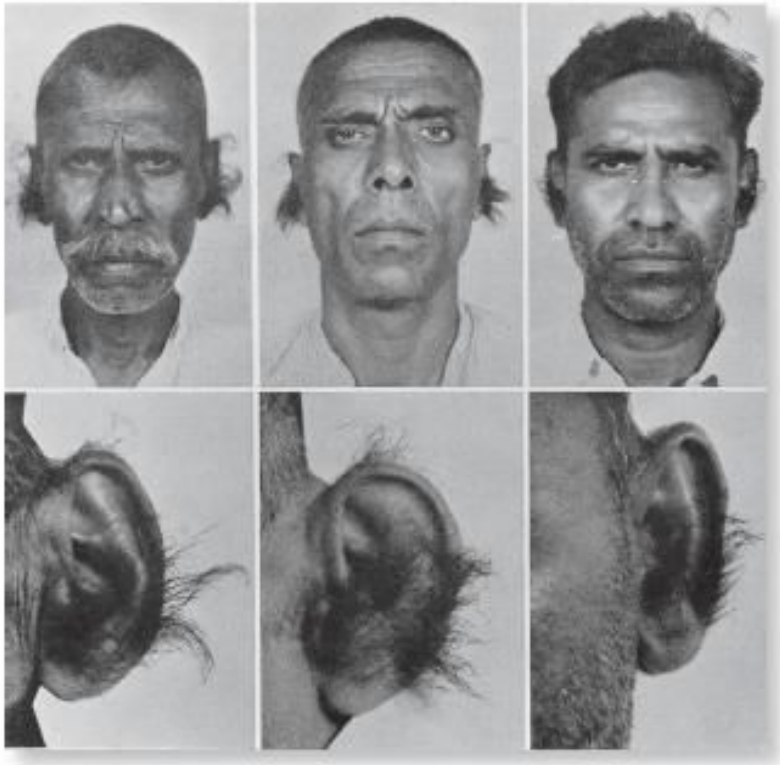
примеры:

гемофилия
дальтонизм
мышечная дистрофия Дюшена

НАСЛЕДОВАНИЕ ГЕМОФИЛИИ



Сцепленное с У голандрическое



- **Признак встречается только у мужского пола**
- **Передается от отца к сыну**

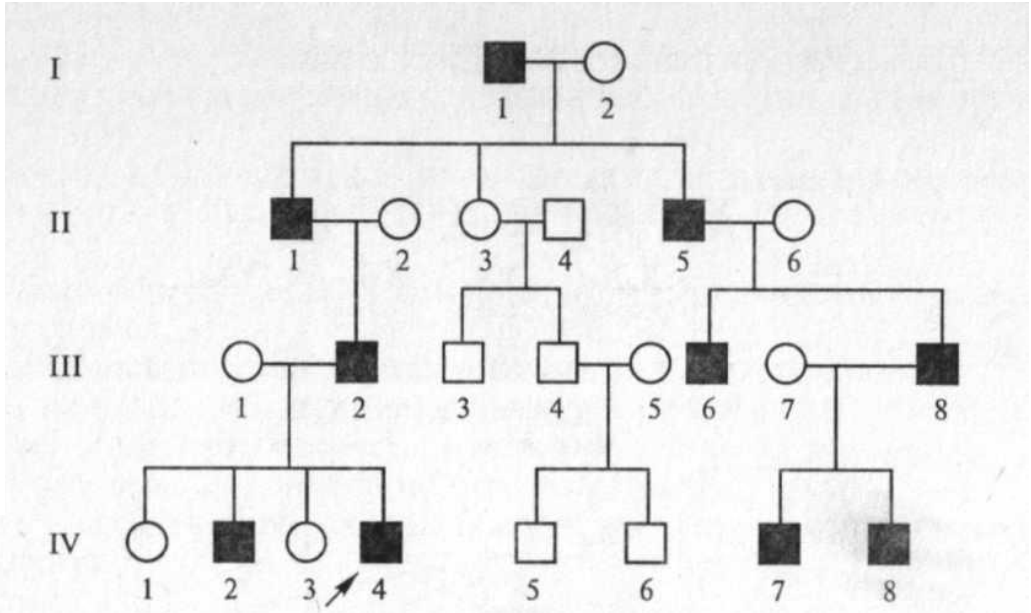
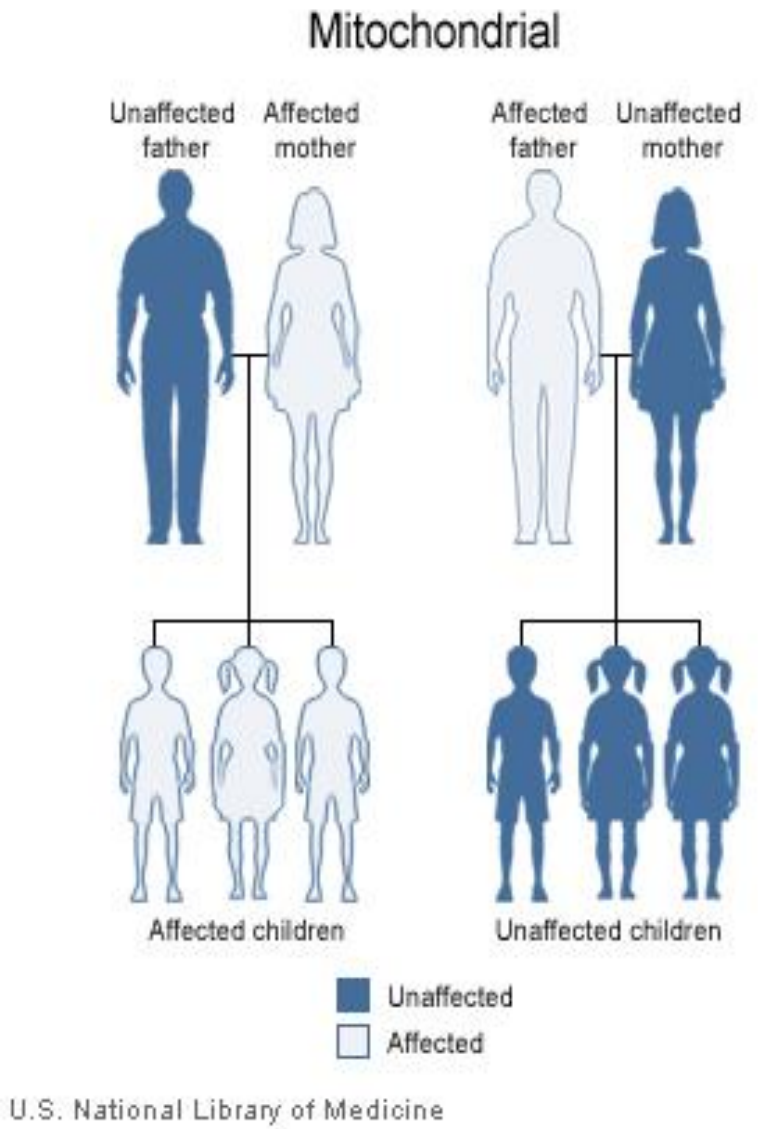


Рис. IX.16. Родословная с Y-сцепленным (голандрическим) типом наследования признака (оволосение средней фаланги пальцев)

Митохондриальное наследование



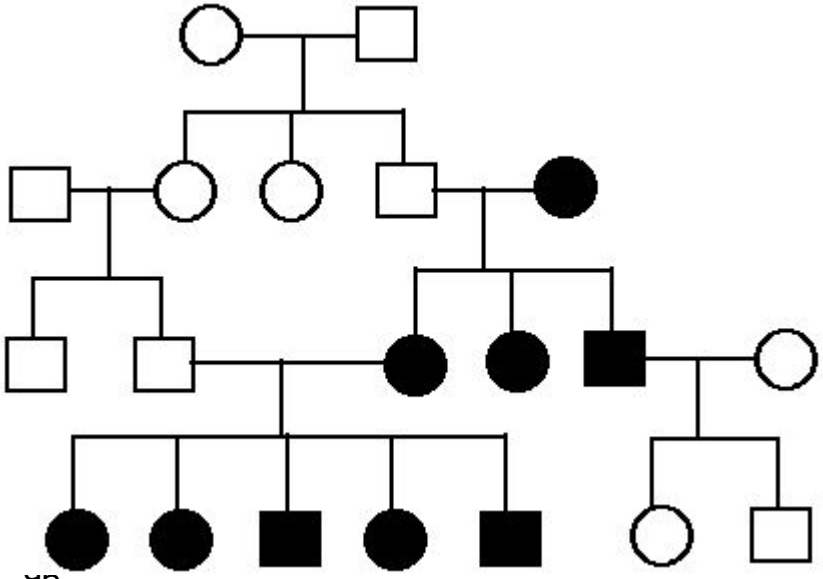
Обусловлено генами, локализованными в митохондриальном геноме

Известно около 30 заболеваний

(синдром Пирсона, Синдром MELAS)

Передаются по материнской линии, т.к. сперматозоиды не содержат цитоплазмы.

Женщина передает заболевание всем своим детям



Близнецовый метод

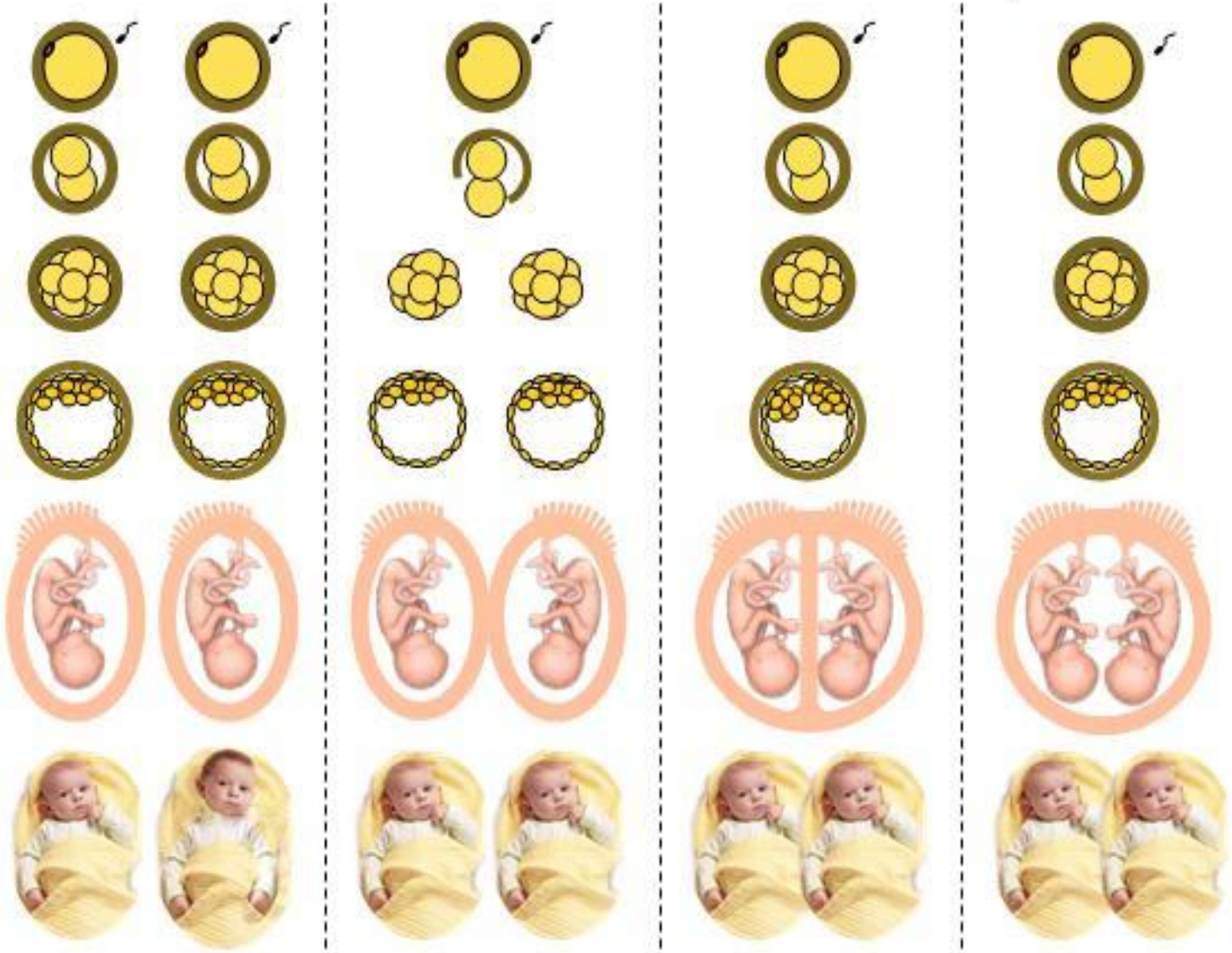
один из наиболее ранних методов изучения генетики человека.
был предложен в 1876 году *Ф. Гальтоном.*

Близнецы

Монозиготные – развиваются из одной зиготы, имеют 100% одинаковый генотип (одинаковую группу крови, пол, рисунки кожи и т. д.), 100% приживаемость трансплантанта.

Дизиготные- развиваются из разных зигот и похожи как родные братья и сёстры, 2/3 общего количества двоен

ФОРМИРОВАНИЕ БЛИЗНЕЦОВ



Дизиготные Монозиготные

Фенотип = Генотип + среда

- ***<u>Близнецовый метод используется</u>***

для оценки степени влияния наследственности и среды на развитие признака.

Этапы близнецового метода:

1. **подбор пар близнецов одного пола с интересующим признаком**
2. **определение зиготности близнецов**
3. **определение % сходства (К) в группах моно- и дизиготных близнецов.**
4. **Расчет коэффициента наследственности**

$$H = \frac{К_{МБ} - К_{ДБ}}{100\% - К_{ДБ}}$$

Конкордантность

- **Конкордантность** — наличие признака у обоих близнецов (выражается в % от общего количества изучаемых пар) ***Дискордантность*** - отсутствие признака у одного из близнецов .

Таблица конкордантности

Заболевания	Показатели конкордантности у близнецов	
	Монозиготные близнецы	Дизиготные близнецы
Сахарный диабет	65	18
Эпилепсия	67	3
Расщелина неба	33	5
Ревматизм	47	17
Корь	98	94
Туберкулёз	67	23

Таблица дискордантности

Признаки, контролируемые небольшим числом генов	**Вероятность появления различий,%**	
	Монозиготные близнецы	Дизиготные близнецы
Цвет глаз	0,5	72
Форма ушей	2,0	80
Цвет волос	3,0	77
Цвет кожи	0,0	55
Форма волос	0,0	21
Форма губ	0,0	35

- При **Н = 1** признак полностью определяется наследственным компонентом
- При **Н = 0** признак определяется влиянием среды
- При **Н = близкий к 0,5** признак определяется примерно одинаковым влиянием наследственности и среды на формирование признака

Е – коэффициент среды,

Е=100-Н

Рассчет коэффициента наследственности для сахарного диабета

$$H = \frac{65\% - 18\%}{100\% - 18\%}$$

H =0,57

E – коэффициент среды,

E=100-H

Спасибо за внимание!