



# Возможные источники ошибок при проведении ДНК- диагностики генных болезней

Выполнила: Сарман Айша

Группа: БТ14-16Р

Проверила: Жусупова А.И.

- **Генные болезни** — заболевания, которые вызываются генными мутациями.
- **Генные болезни** — это большая группа заболеваний, возникающих в результате повреждения ДНК на уровне гена.
- К генным болезням у человека относятся многочисленные болезни обмена веществ. Они могут быть связаны с нарушением обмена углеводов, липидов, стероидов, пуринов и пиримидинов.

## ВИДЫ ГЕННЫХ БОЛЕЗНЕЙ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ТИПА ИХ НАСЛЕДОВАНИЯ (1)

АУТОСОМНО-  
ДОМИНАНТНЫЕ

АУТОСОМНО-  
РЕЦЕССИВНЫЕ

ДОМИНАНТНЫЕ,  
СЦЕПЛЕННЫЕ  
С X ХРОМОСОМОЙ

РЕЦЕССИВНЫЕ,  
СЦЕПЛЕННЫЕ  
С X ХРОМОСОМОЙ

### П Р И М Е Р Ы

\*ПОЛИДАКТИЛИЯ  
\*СИНДРОМ МАРФАНА  
\*ГИПЕРХОЛЕСТЕРИН-  
ЕМИЯ СЕМЕЙНАЯ  
\*НЕЙРОФИБРОМАТОЗ  
\*М-ГЕМОГЛОБИНОЗ  
\*ХОРЕЯ  
ГЕНТИНГТОНА  
\*ПОЛИПОЗ ТОЛСТОГО  
КИШЕЧНИКА

\*ГАЛАКТОЗЕМИЯ  
\*ФЕНИЛКЕТОНУРИЯ  
\*S- ГЕМОГЛОБИНОЗ  
\*АЛЬБИНИЗМ  
\*ГЛИКОГЕНОЗЫ  
\*МУКОВИЩИДОЗ  
\*АДРЕНОГЕНИТАЛЬНЫЙ  
СИНДРОМ  
\*ГИПЕРЛИПОПРОТЕИНЕМИЯ

\*РАХИТ, УСТОЙЧИВЫЙ  
К ВИТАМИНУ D  
\*РОТО-ЛИЦЕ-ПАЛЬЦЕВОЙ  
СИНДРОМ  
\*ФРОНТОНАЗАЛЬНАЯ  
ДИСПЛАЗИЯ  
\*КАТАРАКТА

\*ГЕМОФИЛИИ А, В  
\*ДАЛЬТОНИЗМ  
\*ГИПОГАМО-  
ГЛОБУЛИНЕМИЯ  
\*МЫШЕЧНАЯ  
ДИСТРОФИЯ ДЮШЕННА

- **Примеры:**

- **фенилкетонурия** - нарушение превращения фенилаланина в тирозин из-за резкого снижения активности фенилаланингидроксилазы;
- **алкаптонурия** - нарушение обмена тирозина вследствие пониженной активности фермента гомогентизиназы и накоплением в тканях организма гомотентизиновой кислоты;
- **глазно-кожный альбинизм** - обусловлен отсутствием синтеза фермента тирозиназы.
- **болезнь Ниманна-Пика** - снижение активности фермента сфингомиелиназы, дегенерация нервных клеток и нарушение деятельности нервной системы;
- **болезнь Гоше** - накопление цереброзидов в клетках нервной и ретикуло-эндотелиальной системы, обусловленное дефицитом фермента глюкоцереброзидазы.
- **синдром Марфана** («паучьи пальцы», арахнодактилия) - поражение соединительной ткани вследствие мутации в гене, ответственном за синтез фибриллина.



Непрямой (косвенный) подход к молекулярной диагностике исторически является более ранним и более универсальным. Он основан на анализе внутри- и внегенных полиморфных сайтов. Эти полиморфные сайты могут располагаться либо внутри самого гена, либо в непосредственной близости от него. **Непременным условием косвенной ДНК-диагностики** является наличие в семье больного ребенка или возможность исследования его ДНК (пятен крови, гистологических препаратов и др.). Установление информативности предусматривает выявление такого полиморфного сайта, который может быть использован в качестве молекулярного маркера для дискриминации как мутантного, так и нормального аллеля. При этом родители будут являться гетерозиготами по данному полиморфизму, а больной - гомозиготой по одному из маркерных аллелей. Именно гетерозиготность по молекулярным полиморфизмам определяет информативность той или иной семьи высокого риска рождения ребенка. В зависимости от распределения маркерных аллелей на гомологичных хромосомах больного и его родителей семья может быть полностью информативной для ДНК-диагностики, частично информативной или неинформативной. Принципиально важно проанализировать в семье высокого риска такое количество полиморфных сайтов одного гена, чтобы точно определить, с каким конкретным аллелем наследуется мутантный ген, и сделать семью полностью информативной для последующей ПД. **Главное преимущество косвенного метода** - возможность ДНК-диагностики без точной идентификации мутаций в самом гене. Его существенными недостатками являются невозможность диагностики при отсутствии больного ребенка (нельзя точно определить, с каким полиморфным аллелем сцеплен мутантный ген), ошибка в диагнозе в связи с возможностью кроссинговера в мейозе и переноса полиморфного сайта на здоровый аллель.

# ДНК диагностика выявляет генные мутации

- подтверждающая, при подозрении на болезнь
- пресимптоматическая, до проявления болезни
- носительства, для выявления гетерозиготных носителей
- пренатальная - дородовая.
- Принципиально различают **прямую** и **косвенную** ДНК диагностику моногенных наследственных болезней.

**Прямая**, когда ген и его мутации хорошо известны

**Косвенная** – по тесно сцепленному маркеру – рядом лежащему участку ДНК

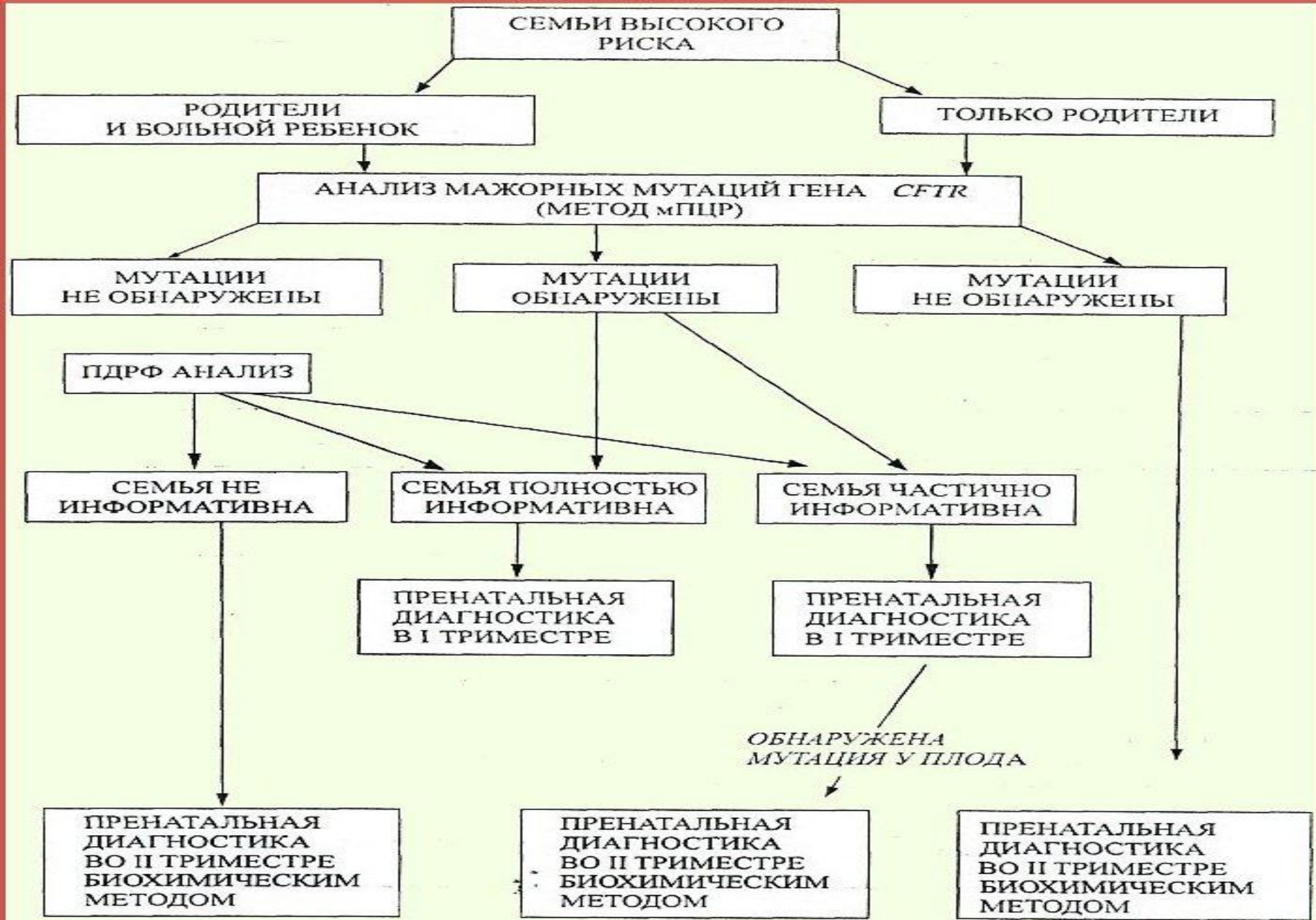


Рис. 13.10. Схема ПД муковисцидоза



Впервые молекулярная (ДНК) диагностика в России была осуществлена в Санкт-Петербурге в 1987 г. у женщины с высоким риском рождения ребенка, страдающего муковисцидозом.



# Основные требования при проведении ДНК-диагностики

- точностью клинического диагноза;
- своевременным обследованием семьи высокого риска и больного молекулярными методами;
- правильностью оценки риска рождения больного ребенка;
- выбором оптимального срока ПД;
- возможностью получения материала плода;
- четкостью рекомендаций после ПД;

# Точность молекулярной диагностики, возможные источники ошибок

При проведении пренатальной  
диагностики молекулярными методами  
важно помнить о **двух основных**  
источниках ошибок:

- контаминации плодного образца  
материнскими клетками;
- возможности кроссинговера при  
использовании непрямого метода.

Учитывая очень **высокую чувствительность метода ПЦР**, важно избежать загрязнения образцов плодных тканей материнскими клетками. Особенно важно не допустить попадания материнской крови. Высокая квалификация врача-оператора и использование качественных реакций на выявление примеси материнской крови позволяют избежать этого осложнения. Риск подобных диагностических ошибок может быть значительно уменьшен при работе в стерильных условиях. Более точным является показатель диагностики около 99,9%. Значительно сложнее оценить результаты молекулярной диагностики косвенным методом. В случае учета внутригенных полиморфизмов точность не прямой диагностики достаточно высока, так как величина внутритенного кроссинговера, как правило, не превышает 0,1 % для большинства известных генов. Исключение могут составлять только **сравнительно крупные гены**, такие как ген дистрофина, гемофилии А, нейрофиброматоза и некоторые другие. Так, в случае дистрофина частота ошибочного диагноза может достигать 2%, что соответствует высокой частоте внутритенного кроссинговера (около 2%) в этом гигантском гене (2,2 млн п.о.). Величина возможной ошибки возрастает, если маркерный аллель определяется не у сибса плода, а у других его родственников.

# Метод ПЦР



1. смыв с органов

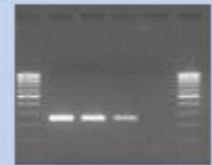


2. выделение ДНК

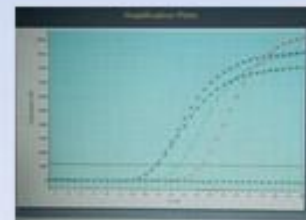


3. ПЦР

Стандартная ПЦР

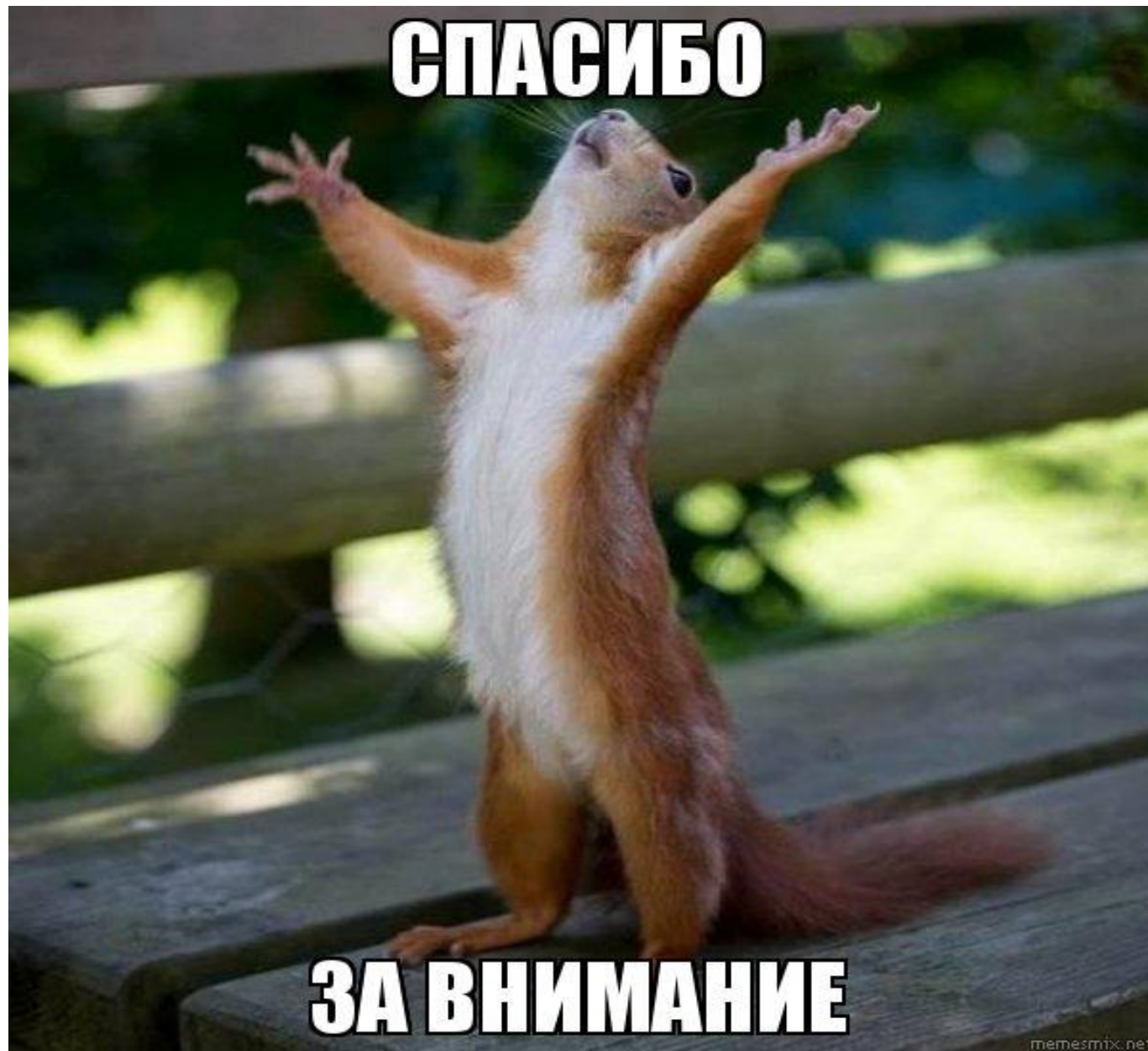


ПЦР в режиме реального времени



К настоящему времени в стране проведено более 1000 ПД моногенных болезней. Более 500 из них выполнены в нашем центре, что позволило предотвратить рождение 154 детей с тяжелыми моногенными болезнями, в том числе с муковисцидозом, фенилкетонурией, гемофилией Аи В, миодистрофией Дюшенна, синдромом ломкой X-хромосомы.

**СПАСИБО**



**ЗА ВНИМАНИЕ**