

федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего
образования

Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова
Министерства здравоохранения Российской Федерации

(Сеченовский Университет)

Институт клинической медицины им. Н.В. Склифосовского

Кафедра медицинской генетики

Методические материалы по дисциплине:

«Медицинская генетика»

основная профессиональная образовательная программа высшего образования -
программа специалитета

КОД Наименование ОП: 31.05.02 Педиатрия



ВВЕДЕНИЕ В МЕДИЦИНСКУЮ ГЕНЕТИКУ

Что изучает генетика?

**Законы и механизмы
наследственности и изменчивости**

НАСЛЕДСТВЕННОСТЬ

Свойство одного поколения передавать другому признаки строения, физиологические свойства и специфический характер индивидуального развития.

Свойства наследственности реализуются в процессе индивидуального развития.

ИЗМЕНЧИВОСТЬ

Свойство, заключающееся в изменении наследственных задатков - генов и в изменении их проявления под влиянием внешней среды.

Отличия потомков от родителей возникают также вследствие возникновения различных комбинаций генов в процессе мейоза и при объединении отцовских и материнских хромосом в одной зиготе.



Christopher, 30
& Ulrich, 29

Ульрик Коллет (Ulric Collette)
“Генетические портреты”



Mother / Daughter:
Julie, 61 &
Isabelle, 32



Father / Son:
Laval, 56 &
Vincent, 29



Cousin / Cousin:
Justine, 29, &
Ulrich, 29



Sister / Brother:
Karine, 20
& Dany, 25



Генетика ответственна не только за наш внешний вид, но и за все биохимические процессы, происходящие в нашем организме

МЕДИЦИНСКАЯ ГЕНЕТИКА

Наука, изучающая роль наследственности в патологии человека, закономерности передачи от поколения к поколению наследственных болезней.

Разрабатывает методы диагностики, лечения и профилактики наследственной патологии, включая болезни с наследственной предрасположенностью.

ОСНОВНЫЕ ЭТАПЫ В ИСТОРИИ РАЗВИТИЯ ГЕНЕТИКИ

■ Вплоть до 20-го века гипотезы о механизмах наследственности имели умозрительный характер

Первые идеи - **Гиппократ** (V в. до н.э.): половые задатки формируются при участии всех частей организма, т.о. признаки родителей непосредственно передаются потомкам – **теория прямого наследования признаков**.

Аристотель (IV в. до н.э.): половые задатки, участвующие в оплодотворении, производятся не напрямую из органов, а из питательных веществ, необходимых для этих органов – **теория непрямого наследования**.

ОСНОВНЫЕ СОБЫТИЯ НА ПУТИ К СОВРЕМЕННОЙ МОЛЕКУЛЯРНОЙ ГЕНЕТИКЕ И ГЕНОМИКЕ

- 1663 г. – Р. Хук (Robert Hook) – великий механик, исследуя срезы коры пробкового дуба, увидел ячеистую структуру – так были открыты клетки.
- 1798 г. – Т. Мальтус (T.R. Malthus) – публикует «Очерк о законах популяции», в котором закладывает основы представлений о борьбе за существование и выживание наиболее приспособленных.
- 1809г. – Ж.Б. Ламарк (J.B. de Monet Lamarck) – выдвигает принципиальные идеи об эволюции.
- 1831 г. – Р. Браун (R. Brown) – обнаруживает ядра в клетках, а Ч. Дарвин (C. Darwin) начинает знаменитое путешествие на корабле «Бигль».
- 1839 г. – М. Шлейден и Т. Шванн (M. Schleiden, T. Schwann) – развивают клеточную теорию: все животные и растения построены из клеток. Рост и репродукция происходят за счёт клеточного деления.
- 1859 г. – Ч. Дарвин (C. Darwin) – публикует великий труд «Происхождение видов».

Грегор Мендель

Настоятель католического монастыря в г. Брно (Чехия). Провел серию экспериментов на горохе. Свою знаменитую работу «Опыты над растительными гибридами» он опубликовал в 1866 г. в журнале «Труды Брюннского общества испытателей природы»

Законы Менделя:

1. Закон единообразия гибридов;
2. Закон расщепления - Менделевское расщепление;
3. Закон независимого наследования признаков.



ПЕРВЫЙ ЗАКОН МЕНДЕЛЯ

Generation

Parental (P)
(pure-breeding)

Yellow peas
(male)

Green peas
(female)

First filial
generation (F_1)

All yellow

Self-fertilization

Second filial
generation (F_2)



6022 yellow : 2001 green
3 : 1

Явление преобладания у гибридов признака одного из родителей – **доминирование**.
Может быть неполное доминирование, но все гибриды однообразны.

ВТОРОЙ ЗАКОН МЕНДЕЛЯ

Generation

Parental (P)
(pure-breeding)

Yellow peas
(male)

Green peas
(female)

First filial
generation (F_1)

All yellow

Self-fertilization

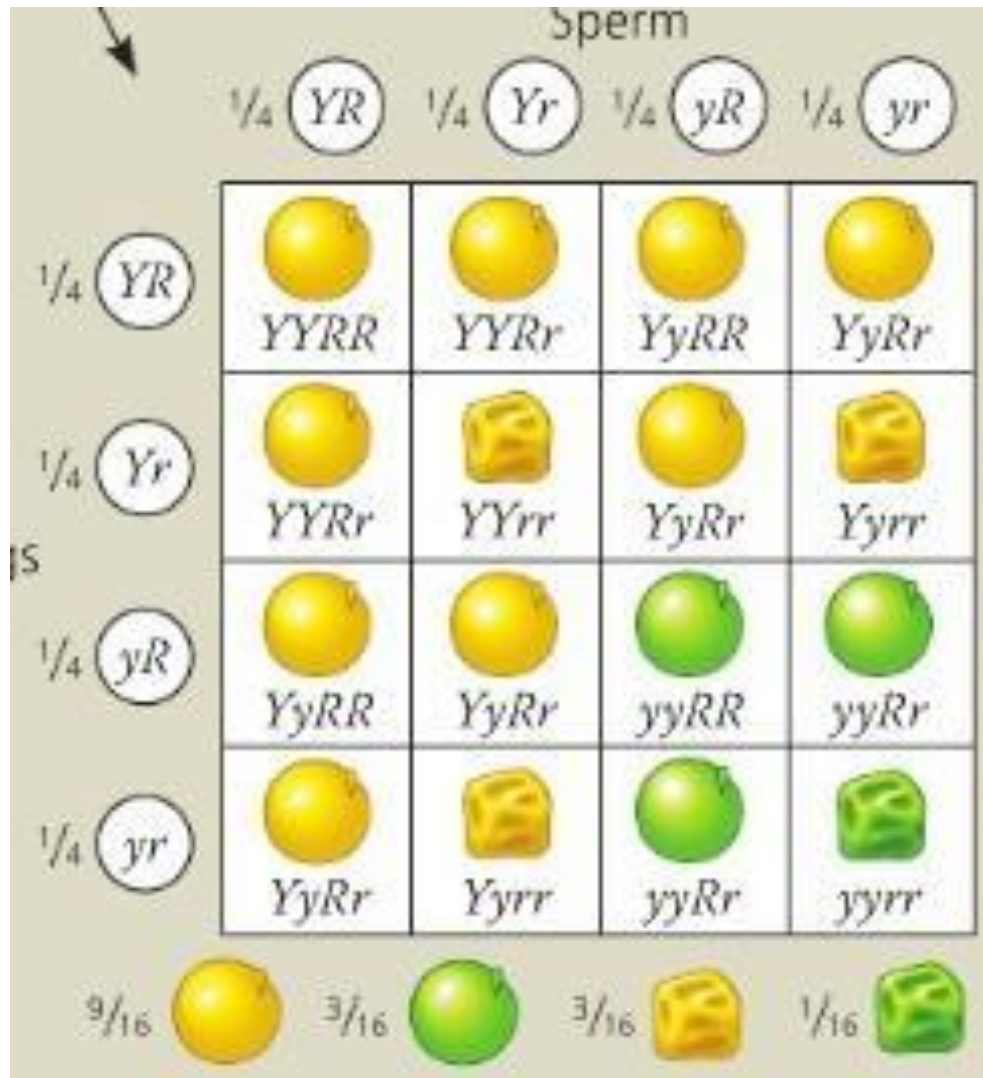
Second filial
generation (F_2)



6022 yellow : 2001 green
3 : 1

■ Явление, при котором скрещивание гетерозиготных особей приводит к образованию потомства, часть которого несет доминантный признак, а часть - рецессивный, называется **расщеплением**.

ТРЕТИЙ ЗАКОН МЕНДЕЛЯ



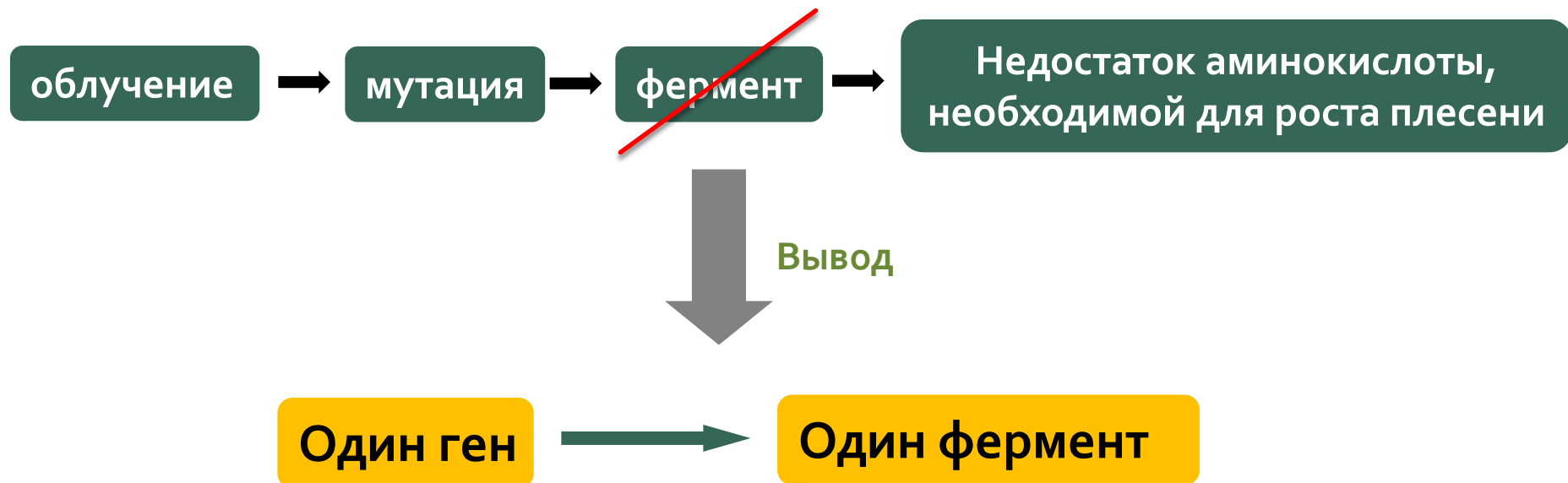
При скрещивании двух гомозиготных особей, отличающихся друг от друга по двум и более парам альтернативных признаков, гены и соответствующие им признаки наследуются независимо друг от друга и комбинируются во всех возможных сочетаниях.

По каждой паре признаков соотношение фенотипов 3:1

1941г. - Дж. Бидл и Э. Татум

«ГЕНЕТИЧЕСКИЙ КОНТРОЛЬ БИОХИМИЧЕСКИХ РЕАКЦИЙ»

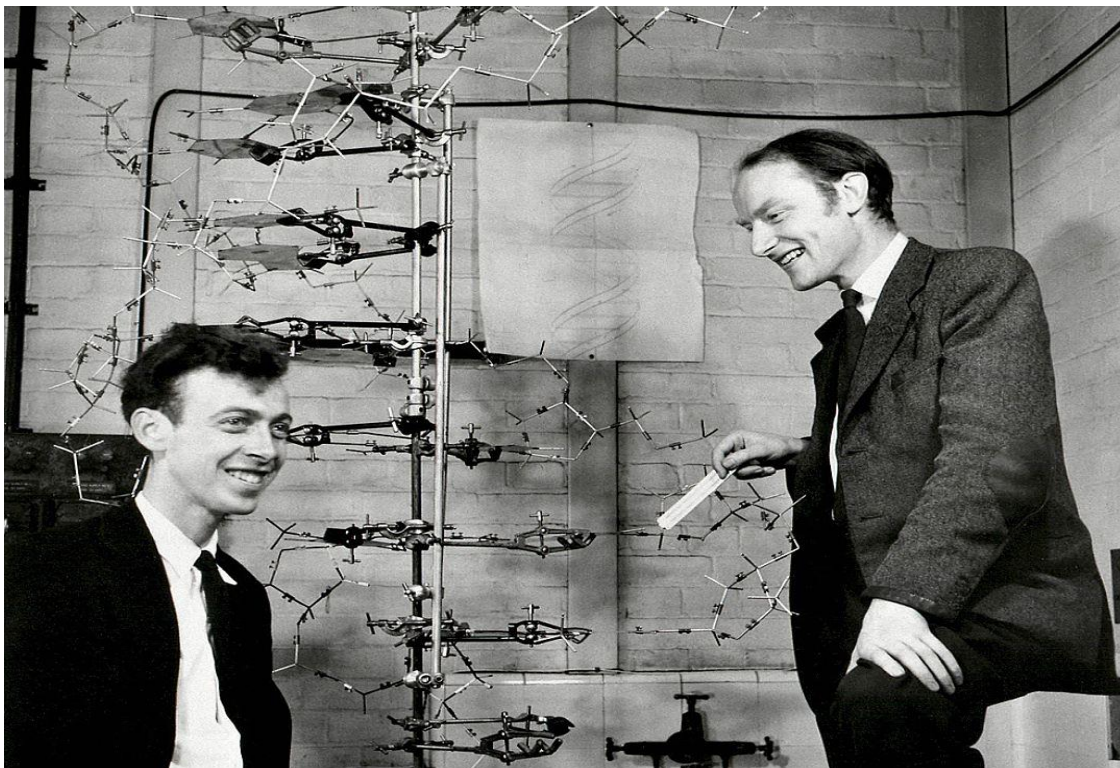
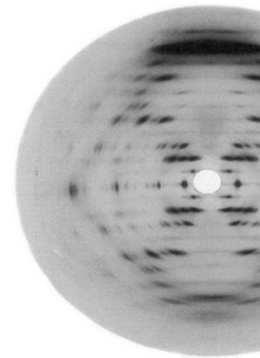
Исследование эффекта мутаций у красной хлебной плесени (*Neurospora crassa*) под воздействием рентгеновского облучения.



Нобелевская премия по физиологии и медицине – 1958г.

1962 г. – Нобелевская премия

- Джеймс Уотсон (James Watson)
- Френсис Крик (Francis Crick)
- Морис Уилкинс (Maurice Wilkins)



РАЗВИТИЕ МЕДИЦИНСКОЙ ГЕНЕТИКИ

- Попытки реализации новых знаний для лечения генетических заболеваний:
- 1953г. – Г. Биккель и соавт. предложили исключить из пищи больного фенилкетонурией фенилаланин, заменив его на гидролизат казеина. Состояние ребёнка резко улучшилось. Так началась успешная эра патогенетического лечения наследственных болезней обмена.
- 1949г. – Лайнус Полинг показал, что у больных серповидно-клеточной анемией гемоглобины имеют отличную от нормы подвижность в электрическом поле.
- Показано носительство патологического гена здоровыми родственниками больного.

Один ген



Один белок



Один ген

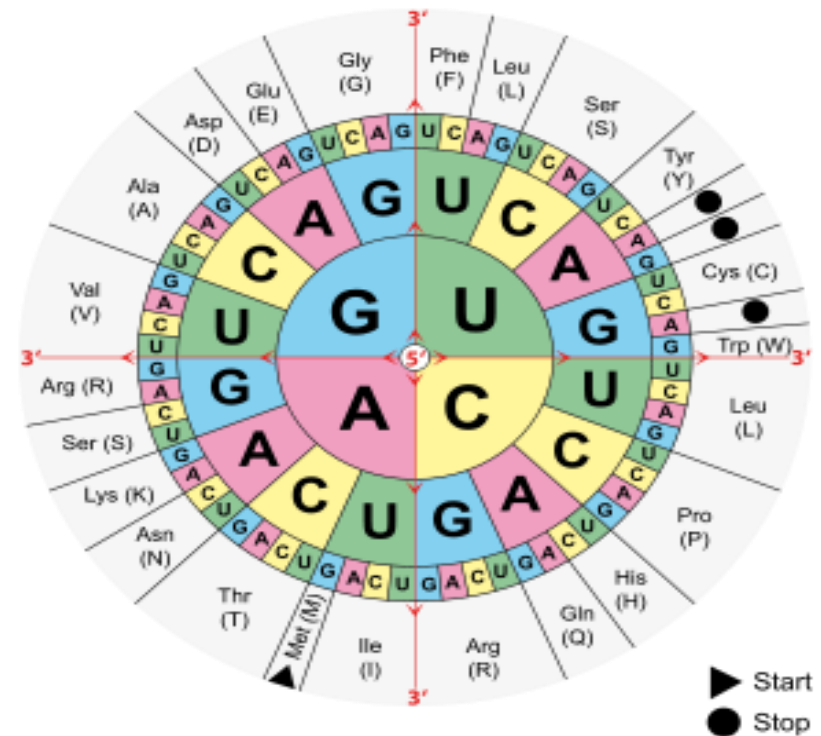


Один транскрипт



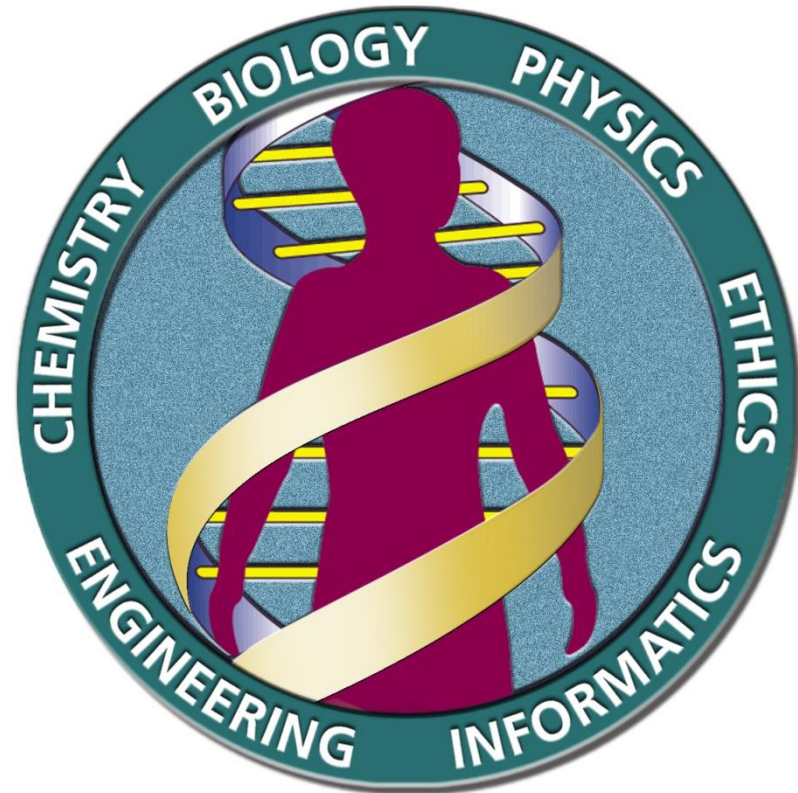
20-Й ВЕК: ВТОРАЯ ПОЛОВИНА

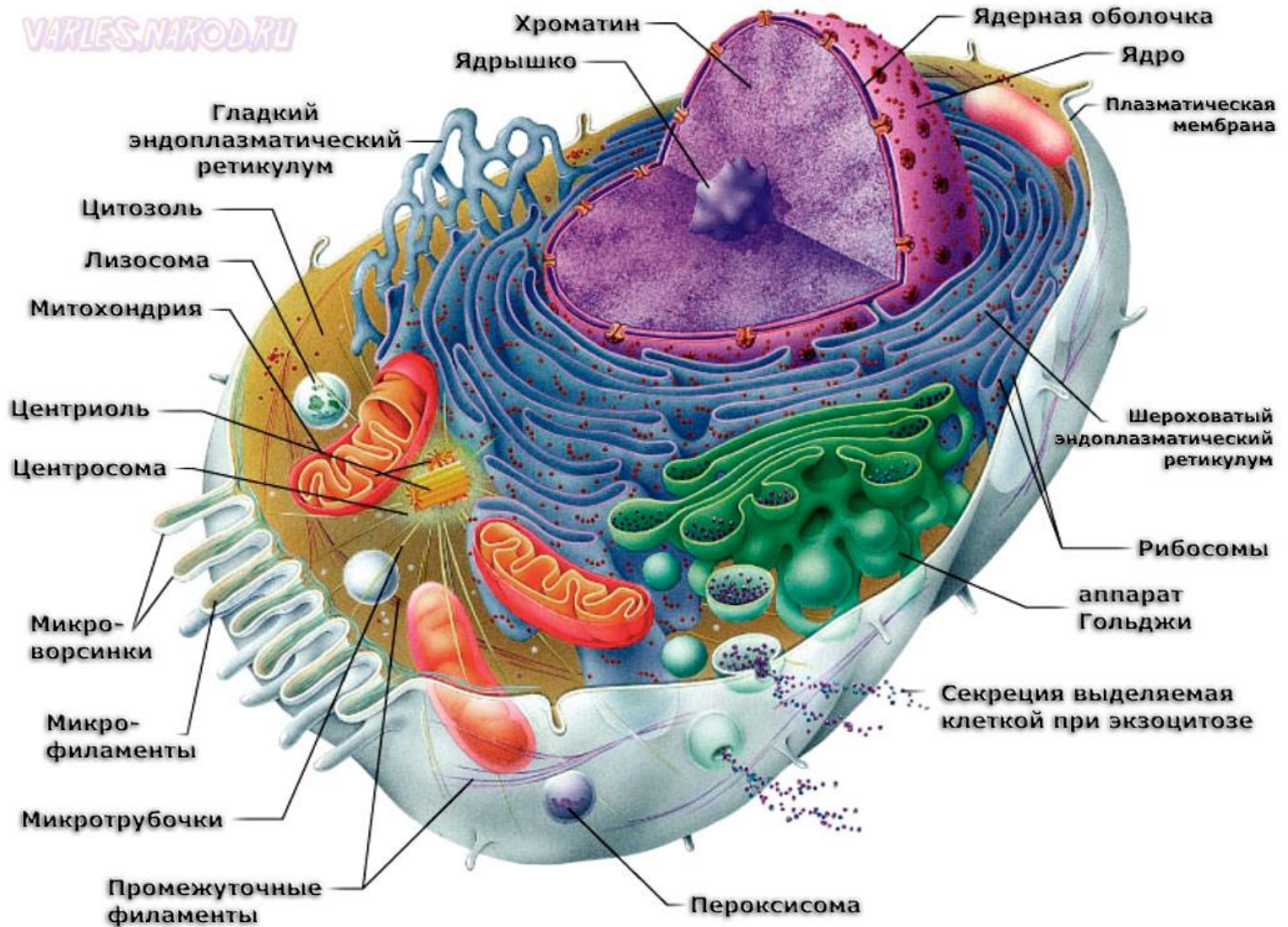
1960-е: Биохимики Маршалл Уоррен Ниренберг (Marshall W. Nirenberg) и Дж. Генрих Маттеи (J. Heinrich Matthaei) поставили первые эксперименты, которые привели к разгадке генетического кода.



ПРОЕКТ «ГЕНОМ ЧЕЛОВЕКА»

- Проект «Геном человека» (The Human Genome Project) – это международный исследовательский проект, начатый в 1990 г.
- Его целью было определить полную последовательность нуклеотидов в человеческом геноме.
- один из самых дорогостоящих научных проектов в истории цивилизации
(около 3-х миллиардов долларов)
- В июне 2000 года был опубликован предварительный проект полной последовательности ДНК человека.





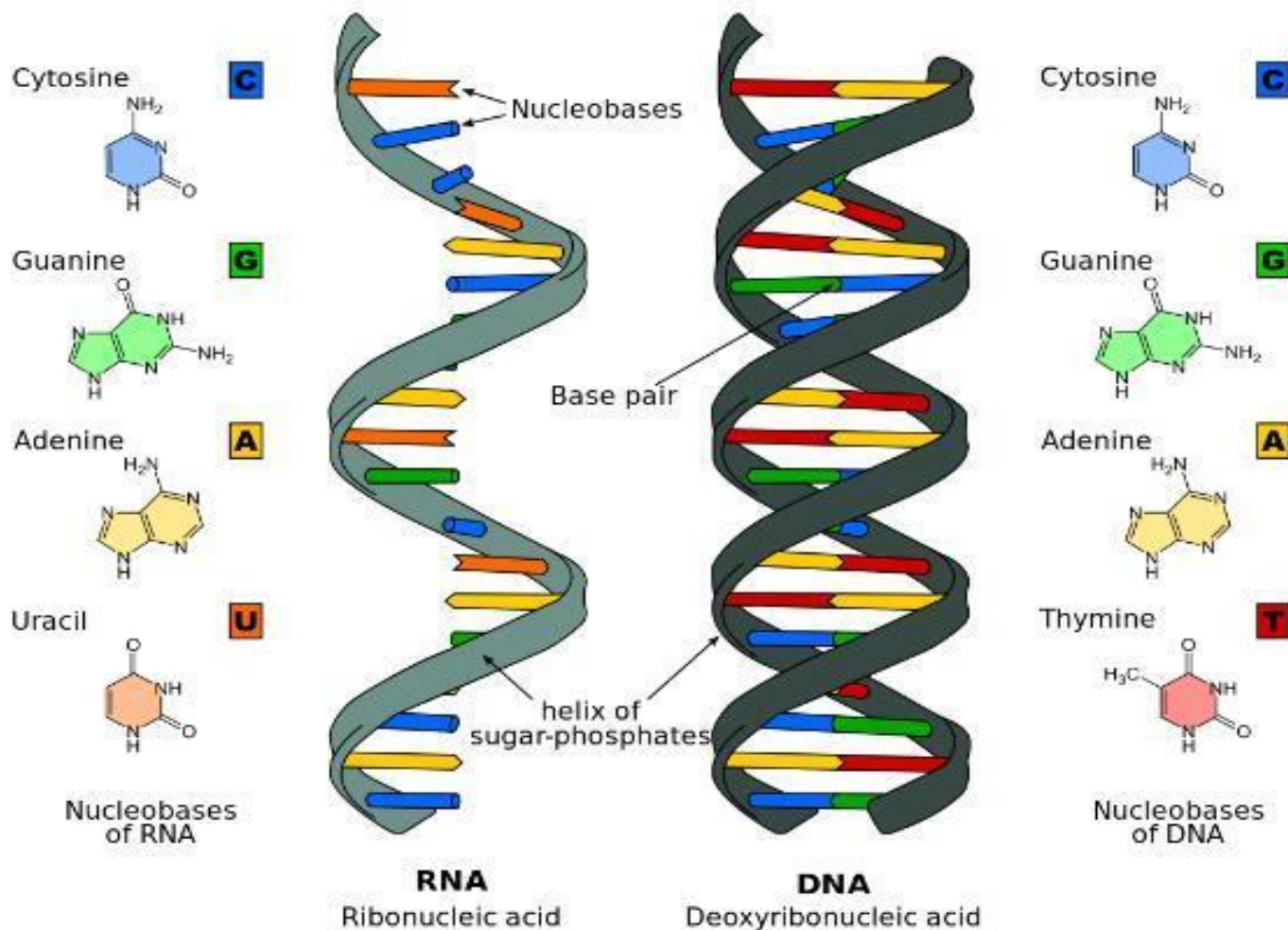
Любая генетическая болезнь связана с возникновением нарушений на уровне клетки

РНК

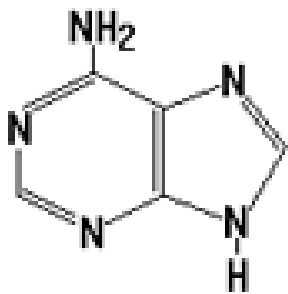
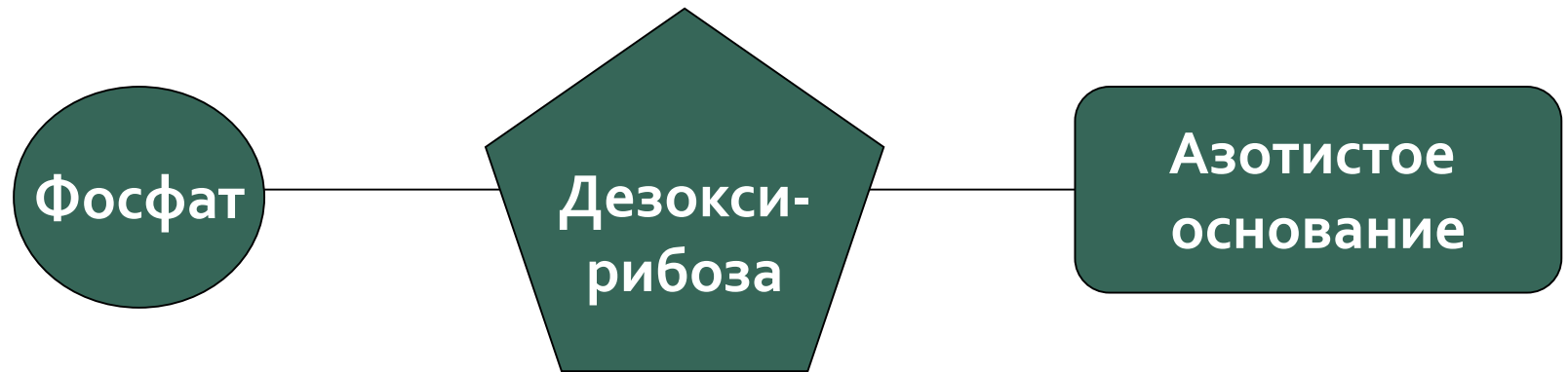
(рибонуклеиновая
кислота)

ДНК

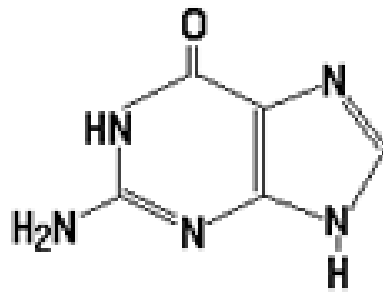
(дезоксирибонуклеиновая
кислота)



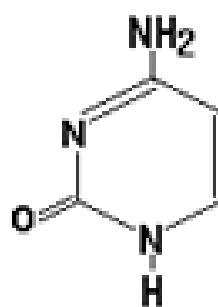
ДНК СОСТОИТ ИЗ НУКЛЕОТИДОВ



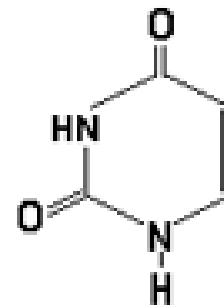
аденин (А)



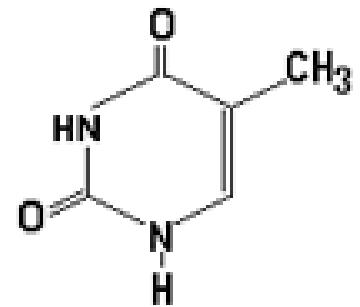
гуанин (Г)



цитозин (Ц)



урацил (У)



тимин (Т)

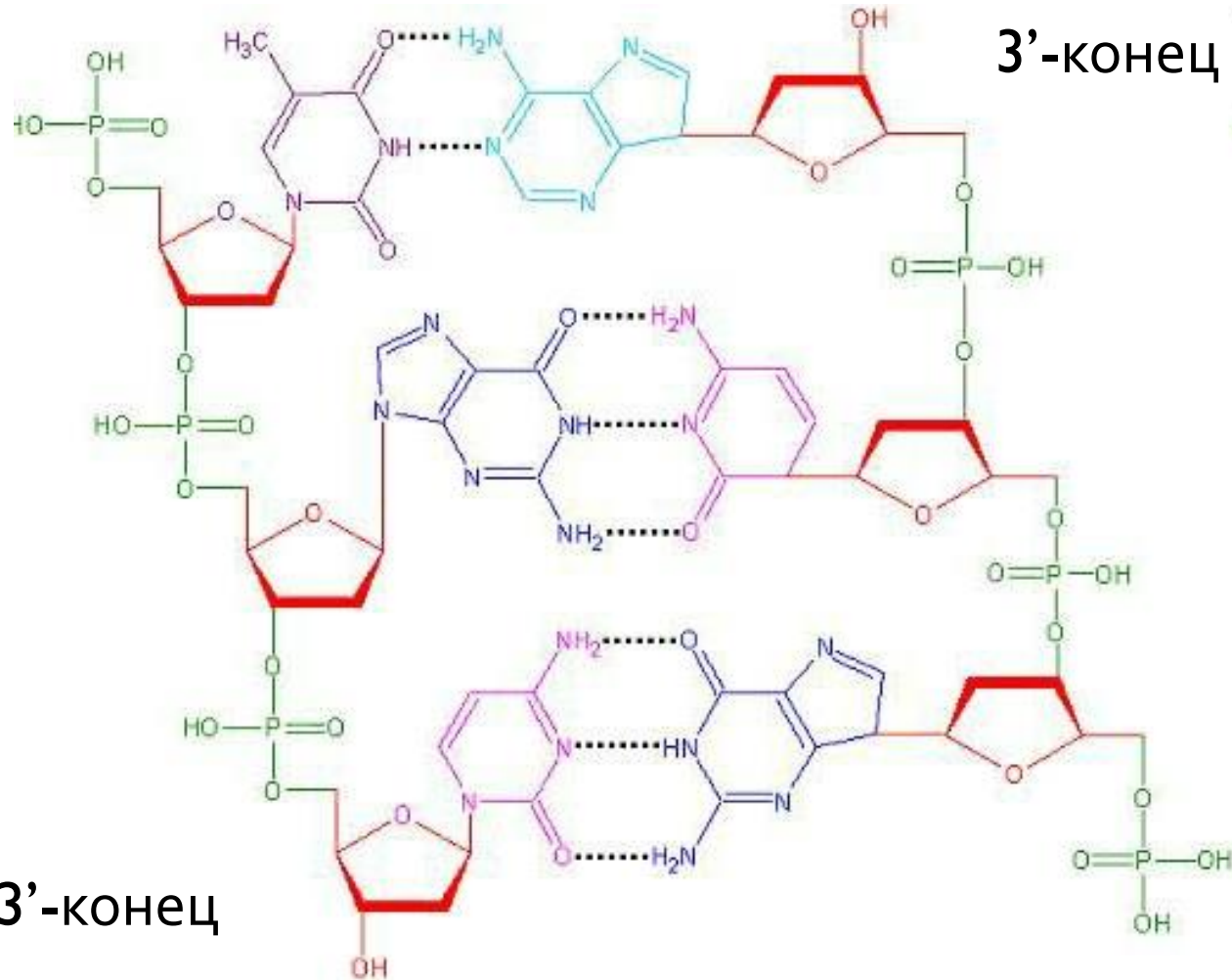
Пуриновые основания

Пиримидиновые основания

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ОТДЕЛЬНЫХ КОМПОНЕНТОВ МОЛЕКУЛЫ ДНК

5'-конец

3'-конец



3'-конец

5'-конец

ПРИНЦИПЫ ПОСТРОЕНИЯ ДНК

- Комплементарность – взаимодействие

Аденина (А) с Тимином (Т)

Гуанина (Г) с Цитозином (Ц)

- Полярность цепей

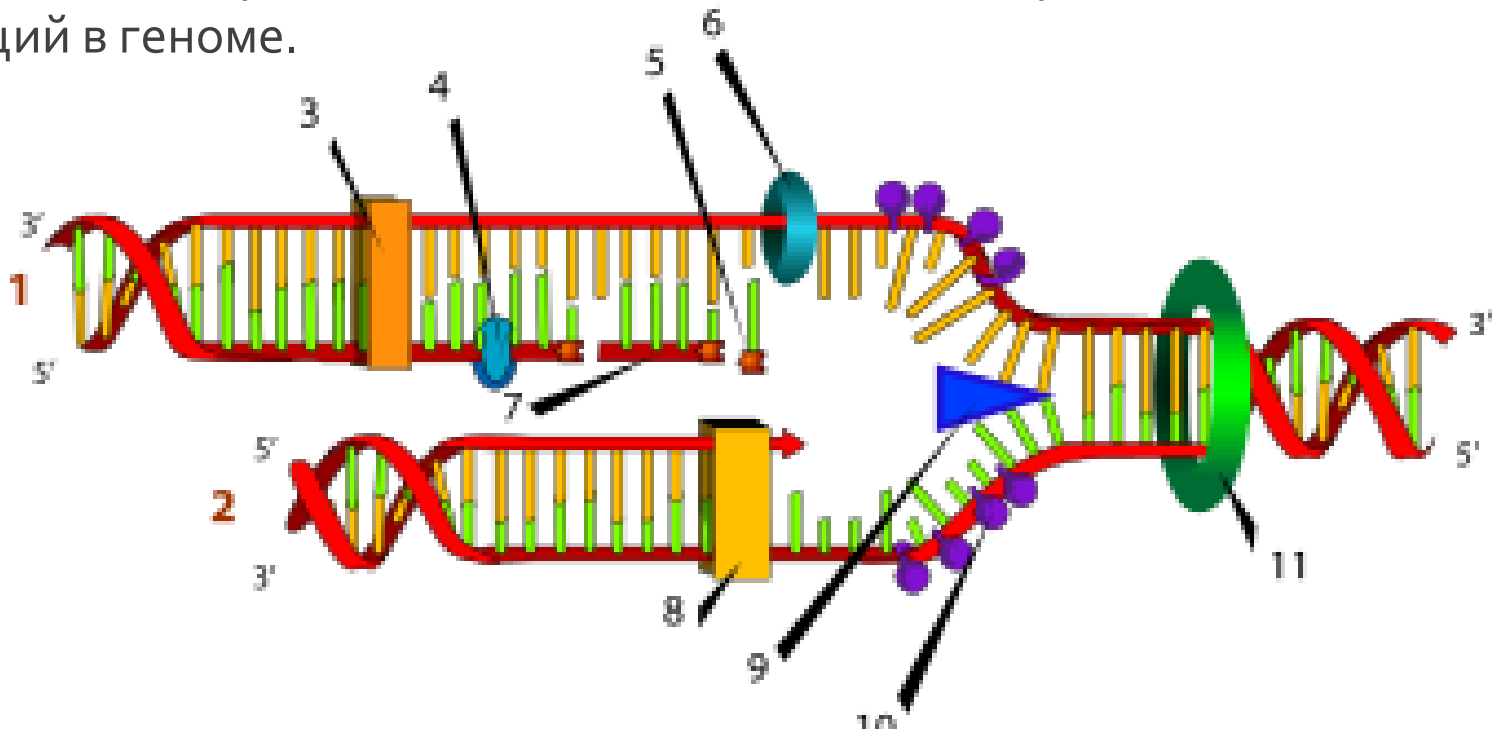
- Антипараллельность

(5')-----АТТГАЦАГГЦААТТЦАГТ-----(3')

(3')-----ТААЦТГТЦЦГТТААГТЦА-----(5')

РЕПЛИКАЦИЯ ДНК И МУТАЦИОННЫЙ ПРОЦЕСС

- Соблюдение принципа комплементарности очень важно для правильной репликации (удвоения) ДНК в процессе клеточного деления;
- Если в процессе репликации произошла ошибка, которая не была исправлена системой репарации, может возникнуть мутация. Многие генетические заболевания возникают именно по этой причине, т.е. в результате мутаций *de novo*;
- Мутационный процесс постоянен. У каждого новорожденного – до 10 новых мутаций в геноме.



ДНК СОСТОИТ ИЗ КОДИРУЮЩИХ И НЕКОДИРУЮЩИХ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ

- Различные последовательности нуклеотидов ДНК (например, АССААГТГС) определяют синтез различных протеинов и РНК.
- Такие последовательности называют **генами**.
- По последним данным, у человека в геноме содержится около 22 000 генов.

КОДИРУЮЩИХ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ В
ГЕНОМЕ – ОКОЛО 1-1,5%



ГЕН – ЕДИНИЦА НАСЛЕДСТВЕННОСТИ

- Последовательность нуклеотидов в ДНК, которая обуславливает определенную функцию в организме или обеспечивает транскрипцию другого гена (синтез молекулы белка или РНК)
- Генетическая информация зашифрована посредством уникального для всех живых организмов **генетического кода** – набора нуклеотидных триплетов (кодонов), кодирующих определенные аминокислоты



ГЕНЕТИЧЕСКИЙ КОД

- **Линейность** генетического кода - считывание кодонов происходит последовательно.
- **Неперекрываемость** генетического кода - каждый кодон определяет включение одной аминокислоты.
- **Вырожденность** генетического кода - каждая аминокислота может кодироваться несколькими комбинациями триплетов

nonpolar polar basic acidic (stop codon)

The table shows the 64 codons and the amino acid for each. The **direction** of the mRNA is 5' to 3'.

		2nd base			
		U	C	A	G
1st base	U	UUU (Phe/F) Phenylalanine	UCU (Ser/S) Serine	UAU (Tyr/Y) Tyrosine	UGU (Cys/C) Cysteine
		UUC (Phe/F) Phenylalanine	UCC (Ser/S) Serine	UAC (Tyr/Y) Tyrosine	UGC (Cys/C) Cysteine
		UUA (Leu/L) Leucine	UCA (Ser/S) Serine	UAA Ochre (Stop)	UGA Opal (Stop)
		UUG (Leu/L) Leucine	UCG (Ser/S) Serine	UAG Amber (Stop)	UGG (Trp/W) Tryptophan
	C	CUU (Leu/L) Leucine	CCU (Pro/P) Proline	CAU (His/H) Histidine	CGU (Arg/R) Arginine
		CUC (Leu/L) Leucine	CCC (Pro/P) Proline	CAC (His/H) Histidine	CGC (Arg/R) Arginine
		CUA (Leu/L) Leucine	CCA (Pro/P) Proline	CAA (Gln/Q) Glutamine	CGA (Arg/R) Arginine
		CUG (Leu/L) Leucine	CCG (Pro/P) Proline	CAG (Gln/Q) Glutamine	CGG (Arg/R) Arginine
	A	AUU (Ile/I) Isoleucine	ACU (Thr/T) Threonine	AAU (Asn/N) Asparagine	AGU (Ser/S) Serine
		AUC (Ile/I) Isoleucine	ACC (Thr/T) Threonine	AAC (Asn/N) Asparagine	AGC (Ser/S) Serine
		AUA (Ile/I) Isoleucine	ACA (Thr/T) Threonine	AAA (Lys/K) Lysine	AGA (Arg/R) Arginine
		AUG ^[A] (Met/M) Methionine	ACG (Thr/T) Threonine	AAG (Lys/K) Lysine	AGG (Arg/R) Arginine
	G	GUU (Val/V) Valine	GCU (Ala/A) Alanine	GAU (Asp/D) Aspartic acid	GGU (Gly/G) Glycine
		GUC (Val/V) Valine	GCC (Ala/A) Alanine	GAC (Asp/D) Aspartic acid	GGC (Gly/G) Glycine
		GUA (Val/V) Valine	GCA (Ala/A) Alanine	GAA (Glu/E) Glutamic acid	GGA (Gly/G) Glycine
		GUG (Val/V) Valine	GCG (Ala/A) Alanine	GAG (Glu/E) Glutamic acid	GGG (Gly/G) Glycine

^[A] кодон AUG кодирует метионин, а также служит в качестве сайта инициации (первый кодон AUG в мРНК, с которого начинается процесс трансляции в белок).

ПРОЦЕСС РЕАЛИЗАЦИИ НАСЛЕДСТВЕННОЙ ИНФОРМАЦИИ

ДНК

5' - ATG CTC AGC GTTTAG - 3'
3' - TAC GAG TCG CAAATC - 5'



РНК

5' - **AUG** CUC AGC GUU**UAG** - 3'

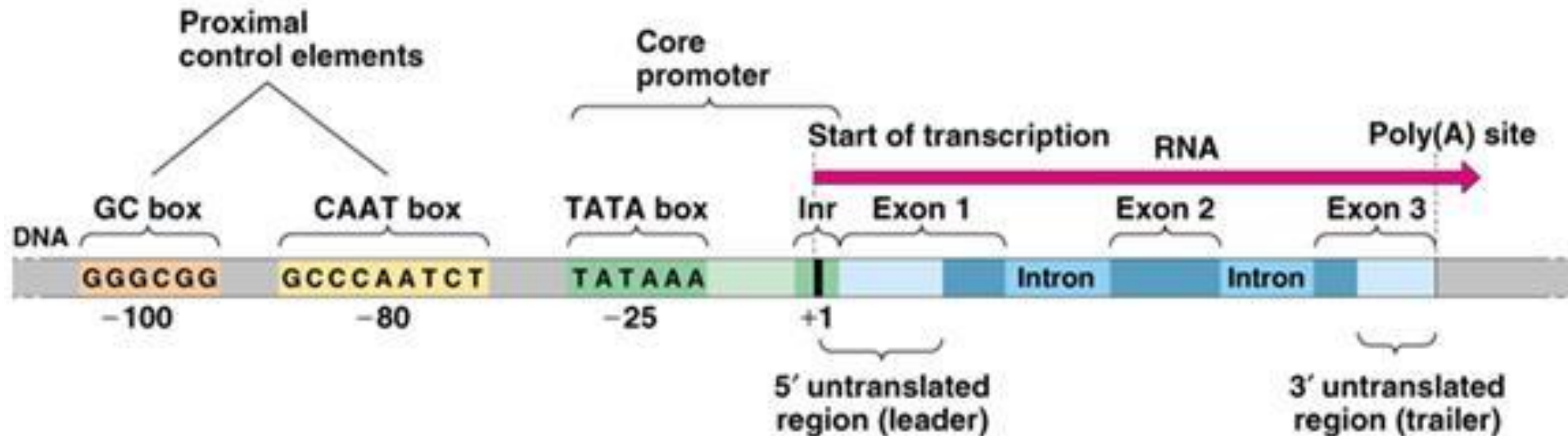


БЕЛОК

инициация - Leu - Ser - Val - - **стоп**

Инициация трансляции – **AUG**; Стоп-кодоны – **UAA, UAG, UGA**

СТРОЕНИЕ ГЕНА ЭУКАРИОТ



Экзон – кодирующий участок гена;

Инtron – некодирующий участок гена

Промотор – участок связывания РНК-полимеразы (для синтеза РНК на ДНК)

Терминатор – короткий участок ДНК с сигналом об окончании транскрипции (считывания информации)

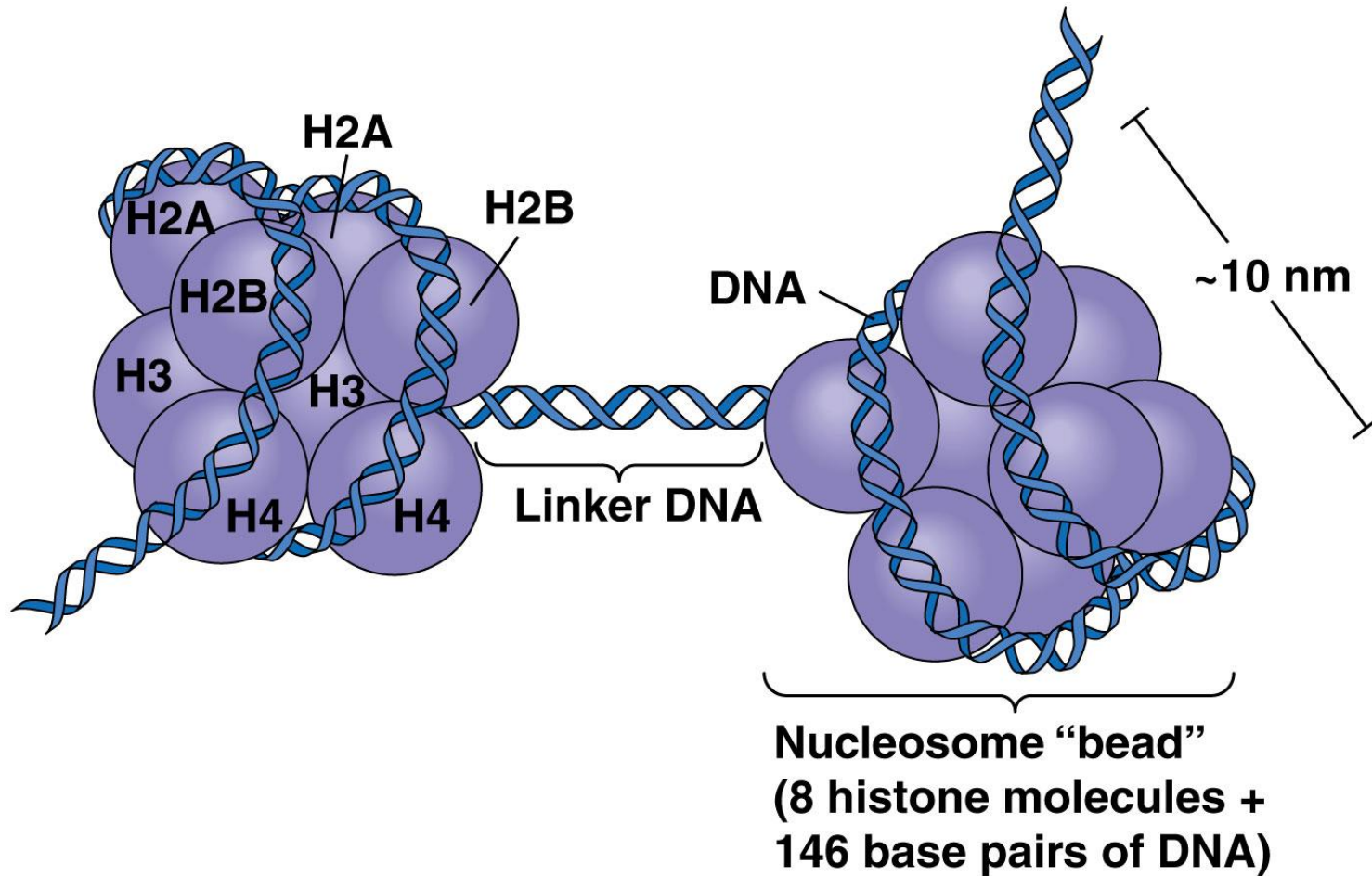
Спейсер – некодирующие последовательности ДНК между генами (структурная и регуляторная роль)

ФУНКЦИИ ГЕНОВ

- ✓ Ферменты (31,2%);
- ✓ Модуляторы белковых функций (13,6%);
- ✓ Рецепторы;
- ✓ Транскрипционные факторы;
- ✓ Белки внутриклеточного матрикса;
- ✓ Белки внеклеточного матрикса;
- ✓ Трансмембранные переносчики;
- ✓ Структуры ионных каналов;
- ✓ Молекулы клеточных сигналов;
- ✓ Гормоны;
- ✓ Экстраклеточные переносчики;
- ✓ Иммуноглобулины;
- ✓ Разные виды РНК (рРНК, тРНК, siРНК и др.)

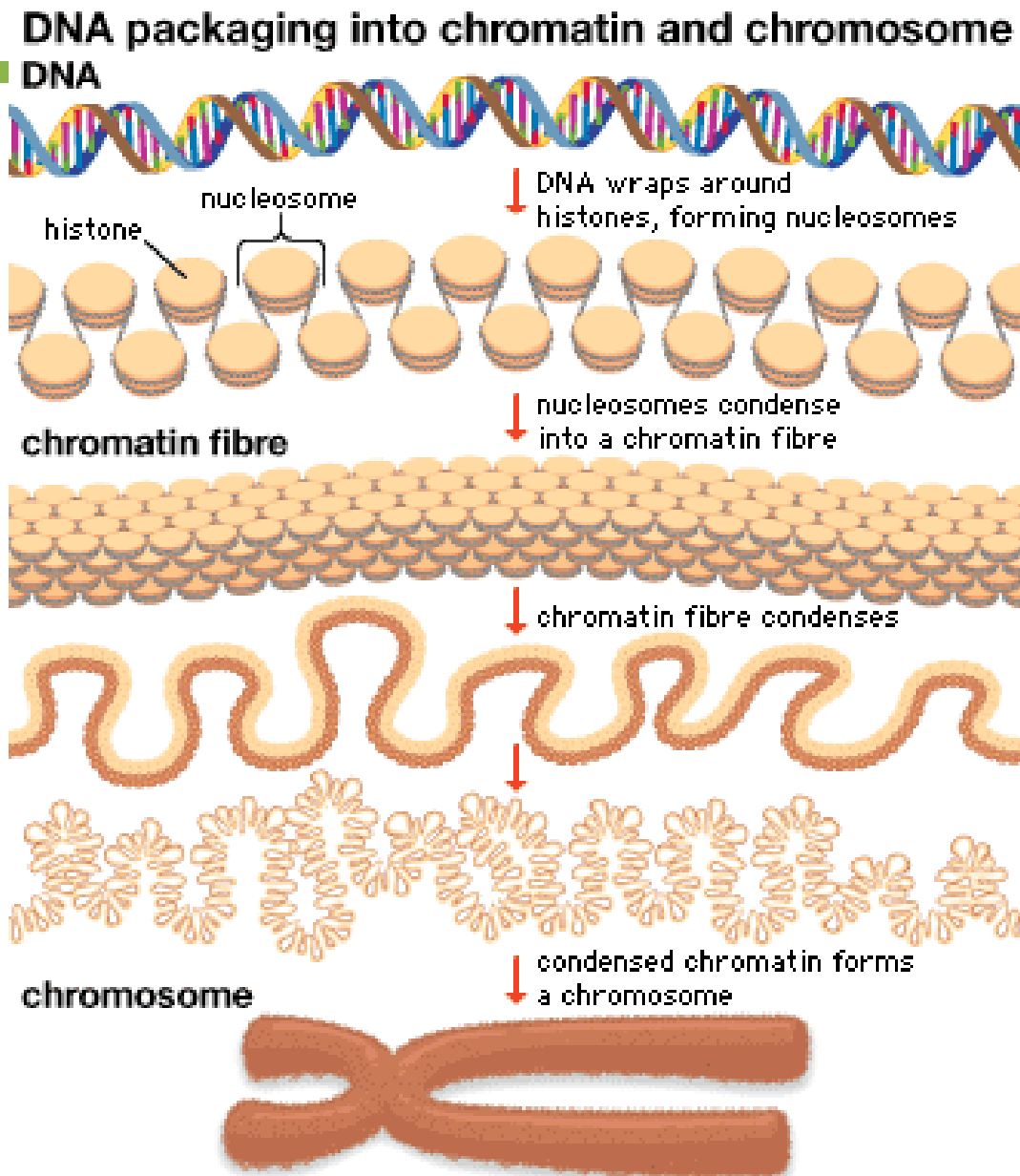
Каждая оставшаяся категория <10%

ПРОСТРАНСТВЕННАЯ УКЛАДКА ДНК

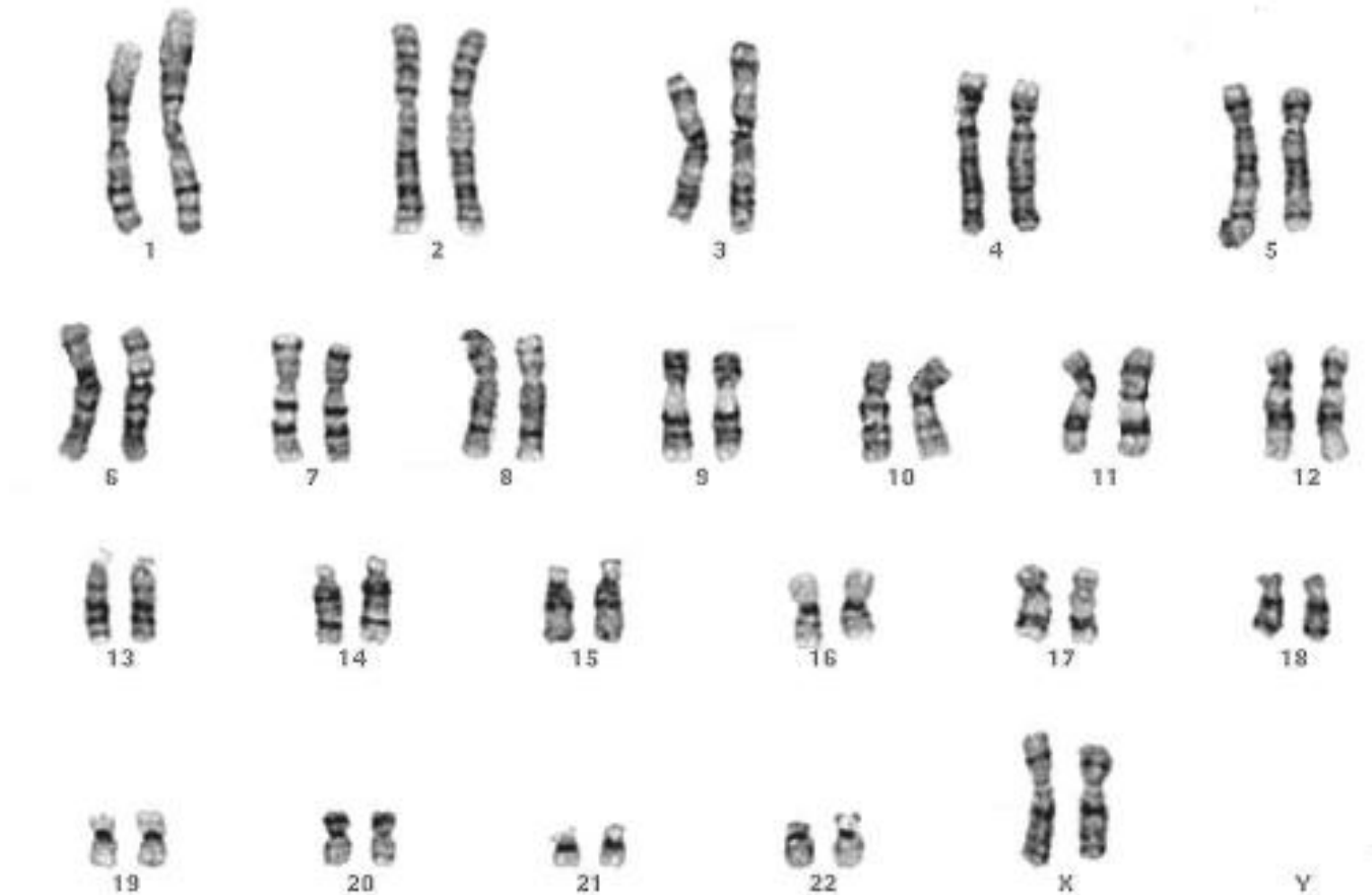


ХРОМОСОМЫ

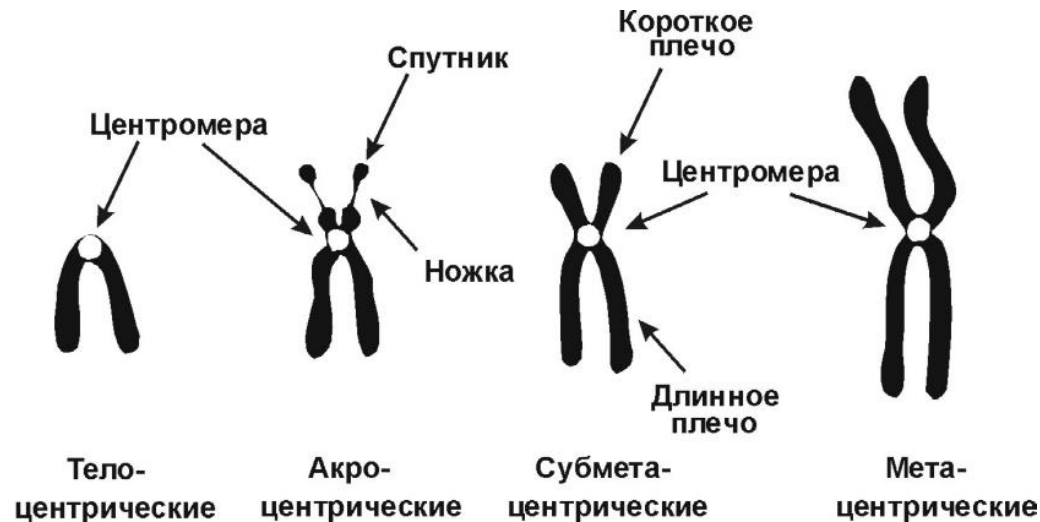
- Хроматиновая нить многократно складывается по длине хромосомы
- Наибольшей компактизации хромосомы достигают в процессе митоза
- (стадия метафазы)



Хромосомный набор человека - кариотип



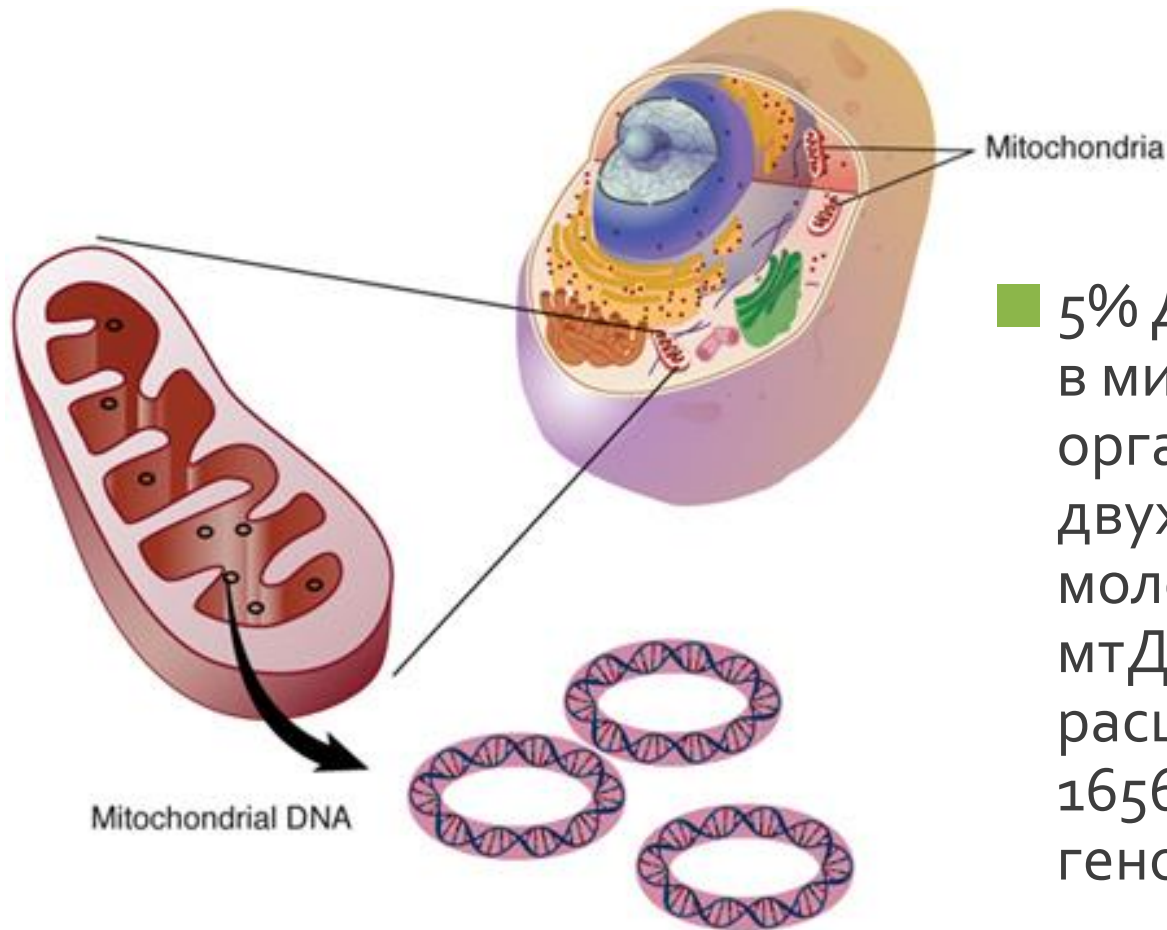
КЛАССИФИКАЦИЯ ХРОМОСОМ ЧЕЛОВЕКА



В зависимости от расположения центромеры различают следующие типы хромосом:

- **акроцентрические** – центромера смещена к одному концу хромосомы и одно плечо очень короткое;
- **субметацентрические** – центромера смещена от середины хромосомы, и плечи имеют разную длину;
- **метацентрические** – центромера расположена посередине, и плечи примерно одинаковой длины.

МИТОХОНДРИАЛЬНАЯ НАСЛЕДСТВЕННОСТЬ



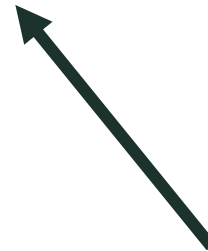
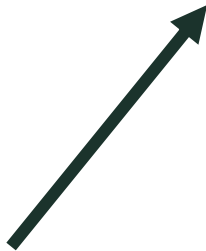
- 5% ДНК клетки содержится в митохондриях. мтДНК организована в виде двухцепочечной кольцевой молекулы. Структура мтДНК полностью расшифрована. Состоит из 16569 п.о. и содержит 37 генов.

ЗАБОЛЕВАНИЯ

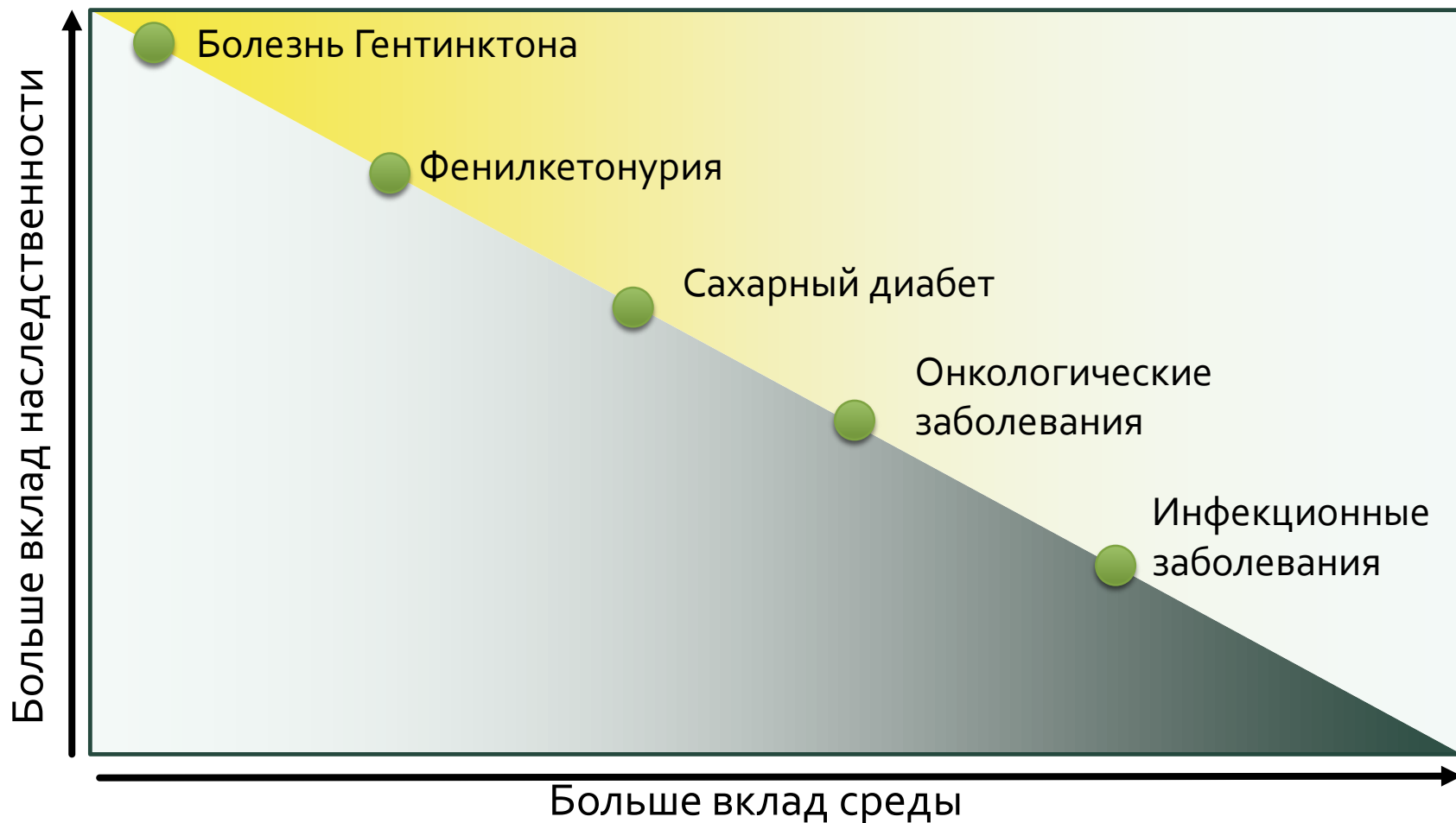
- Хромосомные
- Моногенные
- Полигенные
- Многофакторные

Наследственность

Окружающая среда

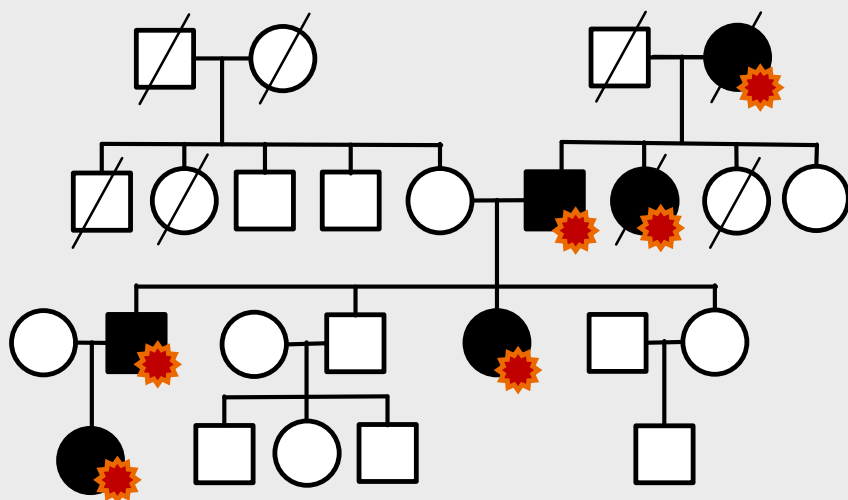


ДЕЛЕНИЕ НА «НАСЛЕДСТВЕННЫЕ» И «НЕНАСЛЕДСТВЕННЫЕ» БОЛЕЗНИ – УСЛОВНО!



НАСЛЕДОВАНИЕ ПРИ МОНОГЕННОМ И МУЛЬТИФАКТОРИАЛЬНОМ ЗАБОЛЕВАНИИ

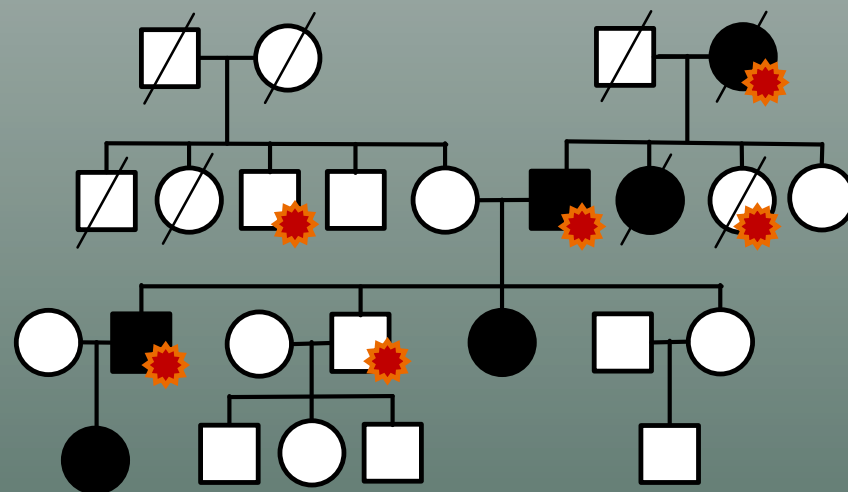
Типичное моногенное заболевание с аутосомно-доминантным типом наследования, например **синдром Марфана**



Причина моногенных болезней - мутации

Мутации приводят к значительному нарушению структуры и функции белка; встречаются редко (<1%)

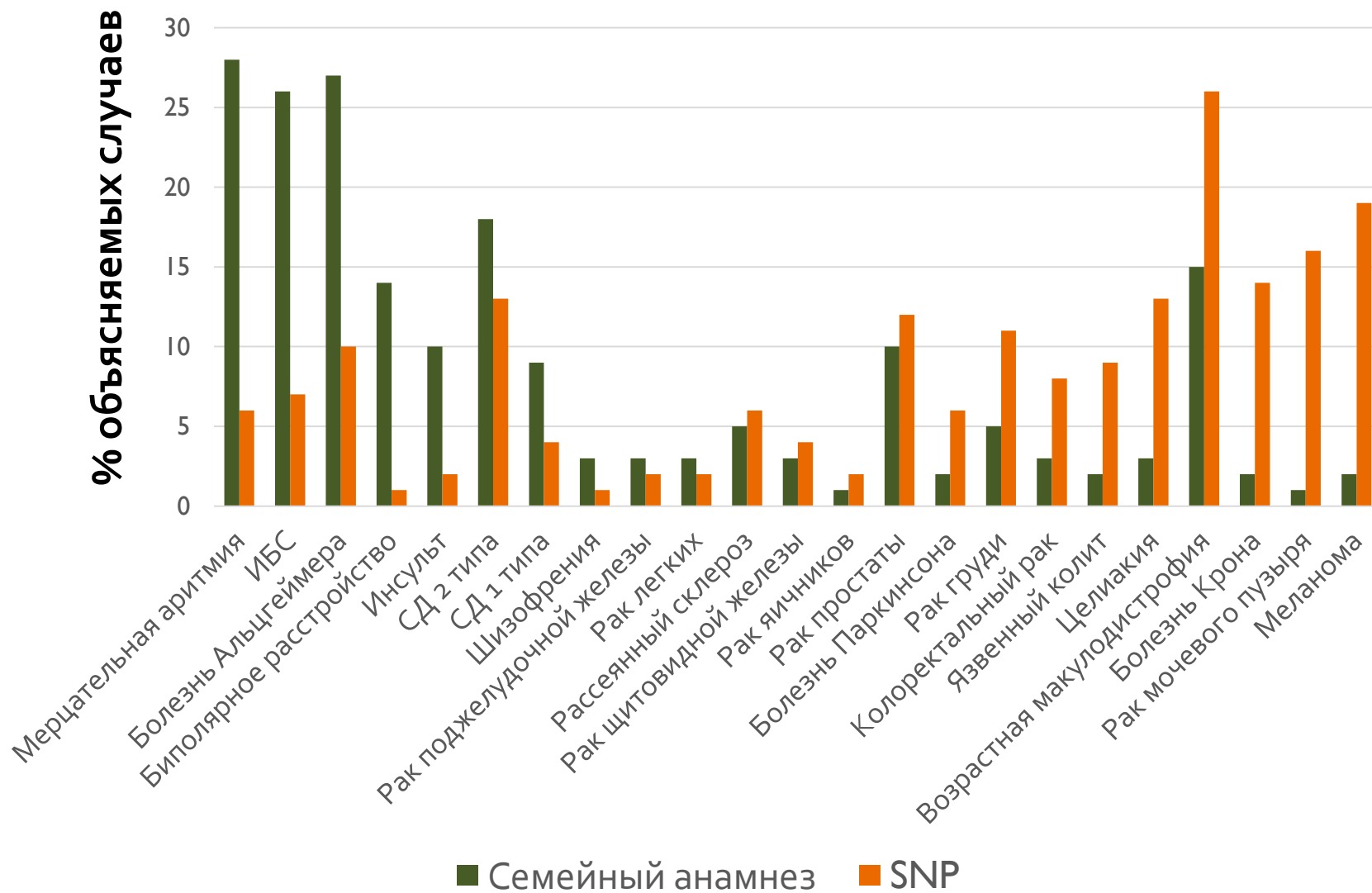
Типичное мультифакториальное заболевание, например, **сахарный диабет**



При МЗФ наследственную предрасположенность обуславливают полиморфизмы (однонуклеотидный полиморфизм (*Single nucleotide polymorphism, SNP*) и др.)

При полиморфизмах синтез белка не нарушен, но может мягко меняться его функциональная активность; встречаются часто (>1%)

Вклад семейной истории и известных полиморфизмов в развитие МФЗ



ДОЛЯ НАСЛЕДСТВЕННЫХ БОЛЕЗНЕЙ В СТРУКТУРЕ ДЕТСКОЙ СМЕРТНОСТИ

Основные причины смерти в возрасте до 1 года	Доля среди умерших, %	Основные причины смерти в возрасте от 1 года до 4 лет	Доля среди умерших, %
Перинатальные факторы	28	Несчастные случаи	31
Врождённые и наследственные болезни	25	Врождённые и наследственные болезни	23
Синдром внезапной смерти ребёнка	22	Опухоли	16
Инфекции	9	Инфекции	11
Другие	16	Другие	19

ВКЛАД НАСЛЕДСТВЕННОЙ ПАТОЛОГИИ В ХРОНИЧЕСКИЕ ИНВАЛИДИЗИРУЮЩИЕ ВРОЖДЕННЫЕ СОСТОЯНИЯ В РАЗВИТЫХ СТРАНАХ

Патология	Частота на 1000 рождений	Генетический компонент
Умственная отсталость: тяжелая умеренная и слабая	3,5 2,5	>30%
Детский церебральный паралич	2,5	Очень малый
Слепота	0,6	50%
Глухота (тяжелая)	~1,0	>50%
Врождённые пороки развития	50	~50%

Почти у 75% детей, страдающих наследственной патологией, отмечается низкий уровень способностей к обучению в школе или к работе.

ВКЛАД ВРОЖДЁННЫХ И НАСЛЕДСТВЕННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ В ПАТОЛОГИЮ ЧЕЛОВЕКА

Патология		Вклад
Бесплодие	мужское	10-15%
	женское	10-50%
Репродуктивные потери	патологические зачатия	20-30%
	спонтанные аборты в I триместре	50-60%
	мертворождения	8-10%
	неонатальная смертность	20-30%
Патология периода новорождённости	аномальный кариотип	0.5-1%
	моногенные болезни и синдромы	1%
	врождённые пороки и аномалии развития	5-20%
Патология детского возраста	хромосомные болезни и синдромы	0.5%
	моногенные болезни и синдромы	1-3%
	мультифакториальные болезни	3-3.5%
Патология взрослых	все неинфекционные болезни	90%

Семиотика наследственных болезней

Семиотика

- греч. semeioticon; син.: симптоматология
- учение о признаках (симптомах) болезней и патологических состояний, распознаваемых клиническими, лабораторными и инструментальными методами.

**Какие особенности течения
наследственной патологии вы знаете?**

Основные признаки наследственной патологии

1. Большая часть наследственных заболеваний манифестирует в детском возрасте

- около 25% всех моногенных заболеваний и все хромосомные заболевания начинают формироваться пренатально; Такие заболевания проявляют себя уже при рождении и называются врождёнными.

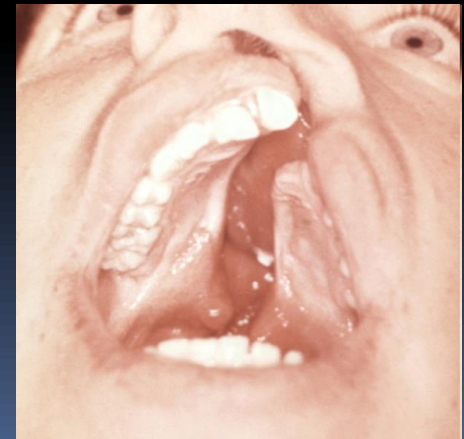
Примеры врождённых заболеваний и аномалий развития

Расщелина губы/нёба

Синдром Дауна (47,XY,+21)



Полидактилия



Все ли врождённые заболевания
наследственные?

- Морфологический дефект органа или части тела может быть следствием влияния определённых чрезвычайных факторов на изначально нормально протекающий процесс развития.

Пример – Алкогольный синдром плода (алкогольная эмбриопатия)

- Алкоголь является одним из самых распространённых тератогенов у человека. Женщины, хронически употребляющие алкоголь во время беременности, находятся в группе риска по рождению детей с алкогольной эмбриопатией (FAS - синдром).
- Проявляется пренатальной и постнатальной задержкой роста, микроцефалией, особым лицом (длинный фильтр, вздёрнутый нос, тонкая верхняя губа и др.).
- Кроме того, у таких детей часто наблюдаются разнообразные пороки развития, в частности, врождённый порок сердца, дефекты нервной трубки, пороки почек. Большая часть таких детей страдает умственной отсталостью.



Jorde et al: Medical Genetics, 4th Edition.
Copyright © 2010 by Mosby, an imprint of Elsevier, Inc. All rights reserved.

**Все ли наследственные
заболевания проявляют себя уже
при рождении?**

Хорея Гентингтона

Huntington disease (HD)

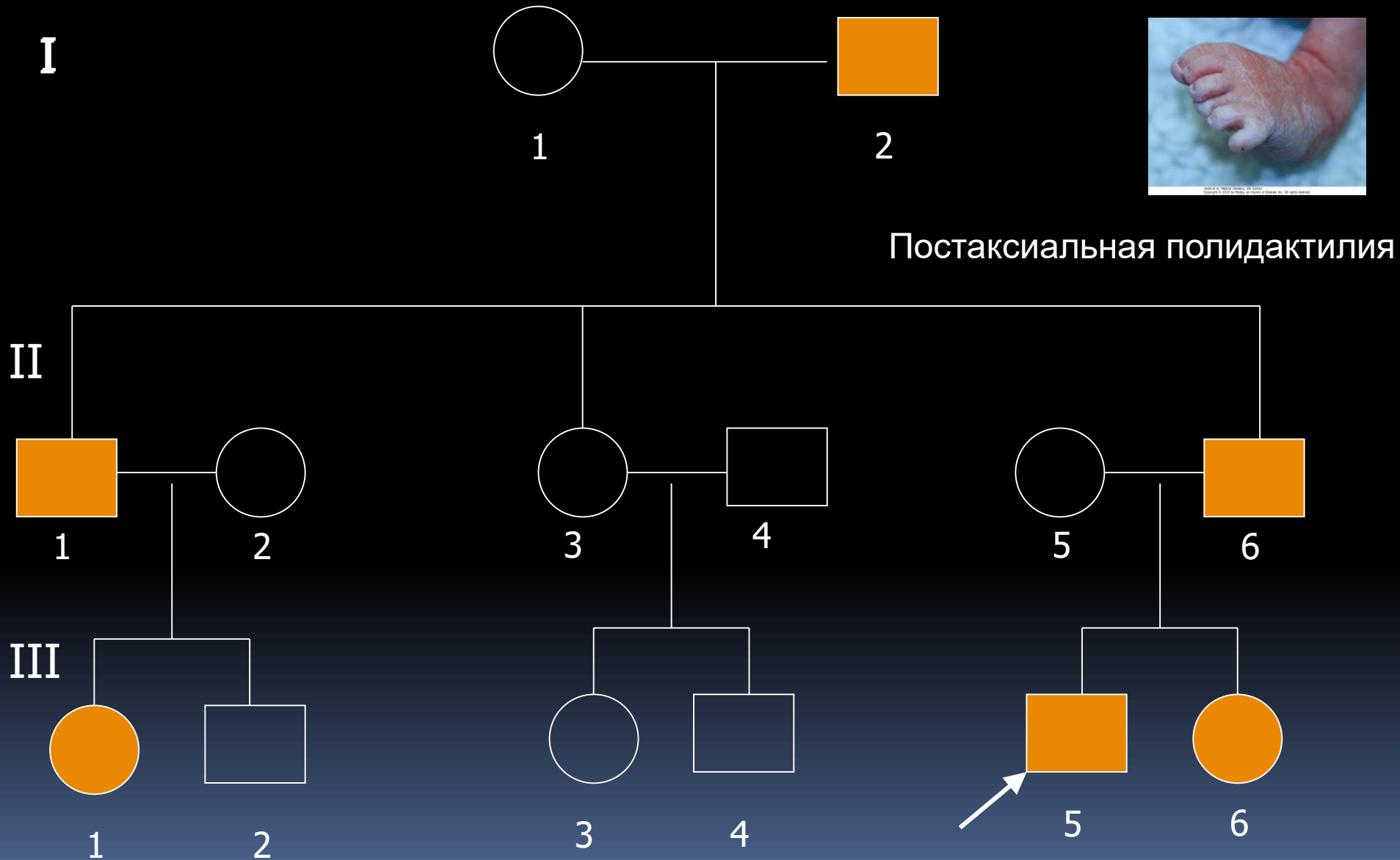
- Прогрессирующее нейродегенеративное генетическое заболевание, при котором страдает координация движений и развивается деменция.
- Среди Европейцев ХГ встречается с частотой 1:20,000 человек. Заболевание менее распространено среди Японцев и Африканцев.
- Манифестирует в возрасте от 30 до 50 лет, также описаны случаи проявления заболевания в возрасте 1 года и 80 лет.
- При ХГ происходит гибель нейронов головного мозга, в наибольшей степени страдает corpus striatum. У некоторых пациентов общий вес головного мозга уменьшается на 25%.
- Клиническое течение хроническое и прогрессирующее. Продолжительность жизни после постановки диагноза составляет в среднем 15-20 лет.



Основные признаки наследственной патологии

2. **Отягощение семейного анамнеза (т.е. накопление случаев заболевания в родословной).**
 - Причина данного явления – передача мутантного гена из одного поколения в другое.

Родословная, иллюстрирующая накопление в родословной случаев аутосомно-доминантного заболевания



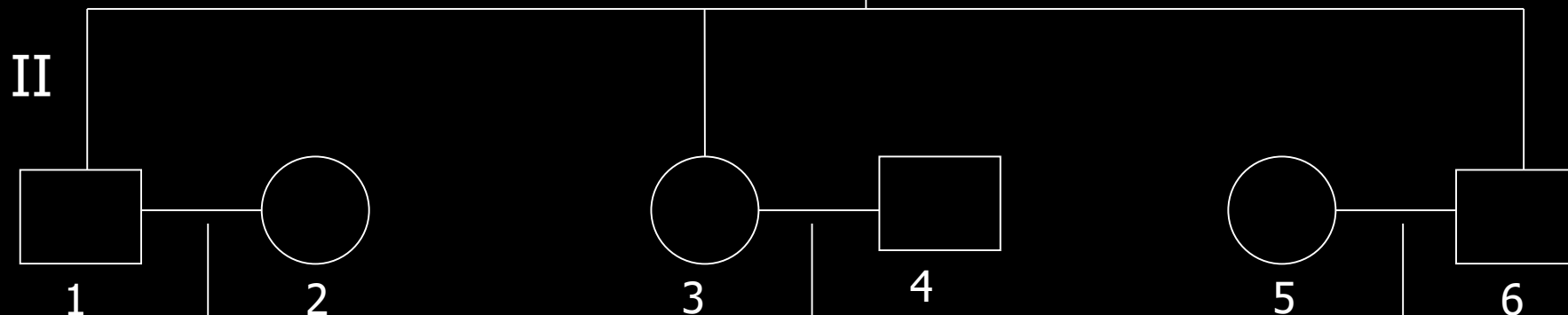
Иногда в родословной присутствует всего один пораженный индивид.
Можем ли мы считать такую болезнь наследственной?

I

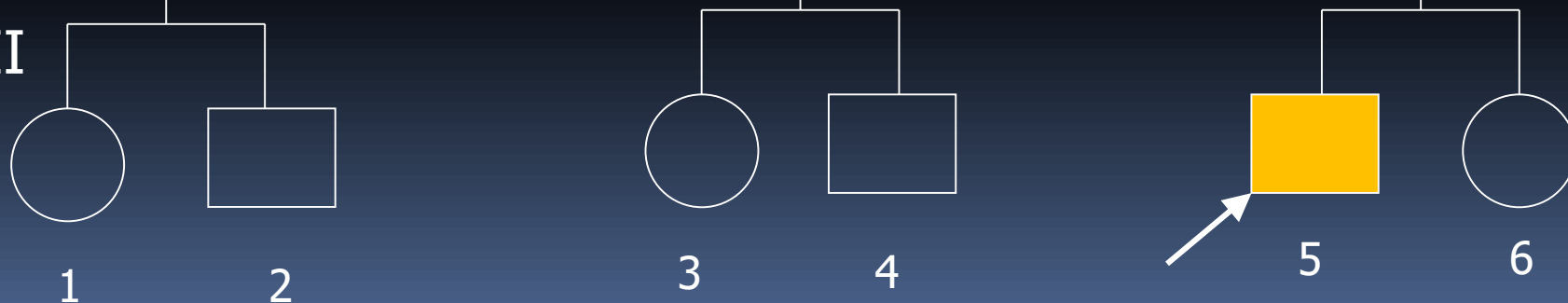


Каковы причины подобной ситуации?

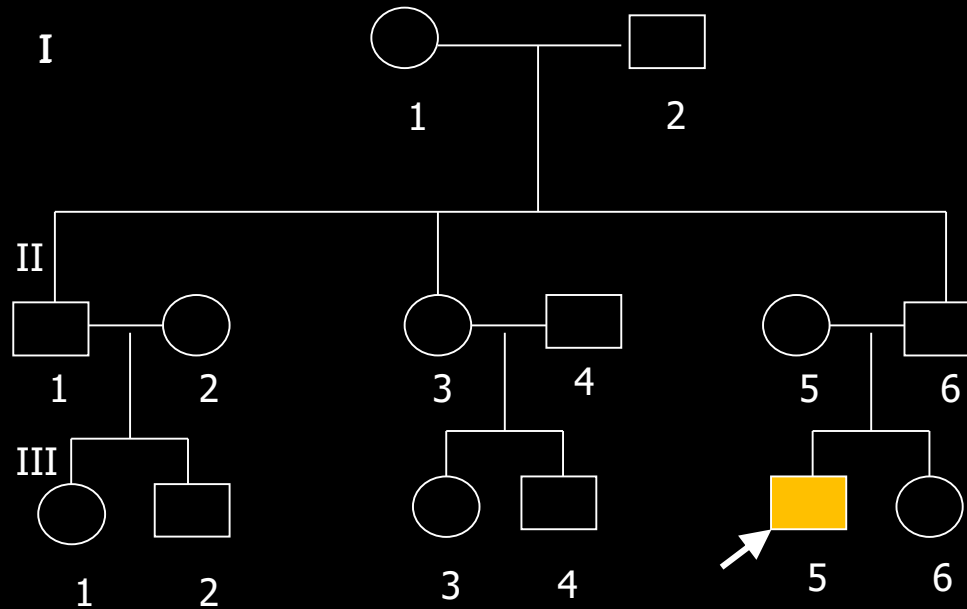
II



III



Один поражённый член семьи



Причины:

- Родители пробанда могут быть здоровыми носителями мутантного гена (например, в случае аутосомно-рецессивного заболевания);
- Болезнь может быть вызвана новой мутацией (de novo) в одной из половых клеток родителей пробанда;
- Ложное отцовство.

Основные признаки наследственной патологии

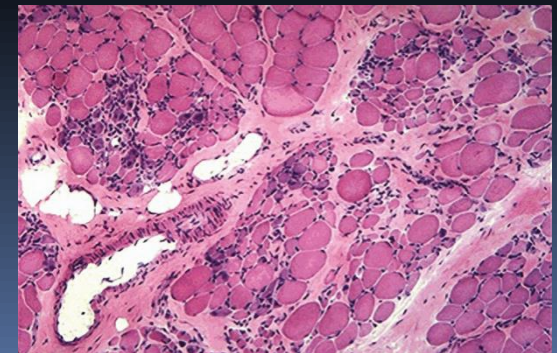
3. **Тяжелое хроническое прогрессирующее течение заболевания.**

- Причина хронического течения заболевания – постоянное действие мутантного гена.

Прогрессирующая миодистрофия Дюшенна-Беккера (ПМД)

- Проявляется прогрессирующей мышечной слабостью и дистрофией мышц. Миодистрофия Дюшенна названа в честь французского невролога, предоставившего первое развёрнутое описание этого заболевания в 1868г.
- Частота заболевания составляет 1:3500 лиц мужского

Возраст, годы	Течение заболевания
1	Клинические проявления отсутствуют.
5-6	Нарушение походки, трудности при поднимании по лестнице и беге.
11-12	Пациент не в состоянии ходить, прикован к инвалидному креслу.
16-18	Пациент не в состоянии самостоятельно совершать какие-либо движения. Поражение сердечной и дыхательной мускулатуры.



Основные признаки наследственной патологии

4. Полиорганный и полисистемный характер поражения.

- Причина – плейотропное действие генов.

Плейотропное действие гена –
влияние одного гена на формирование
нескольких признаков (фибриллин при
с.Марфана);

Плейотропное действие гена фибриллина (*FBN1*)

- Пример плейотропного действия гена – синдром Марфана. Впервые описан в 1896 французским педиатром Антони Марфаном. Это аутосомно-доминантное заболевание поражает глаза, скелет и сердечнососудистую систему. Большая часть признаков при синдроме Марфана обусловлена аномально растяжимой соединительной тканью. Большинство случаев заболевания вызвано мутациями в гене фибриллина, являющегося компонентом соединительной ткани и экспрессирующегося в органах и тканях, поражённых при синдроме Марфана.

Фибриллин

Поражение глаз

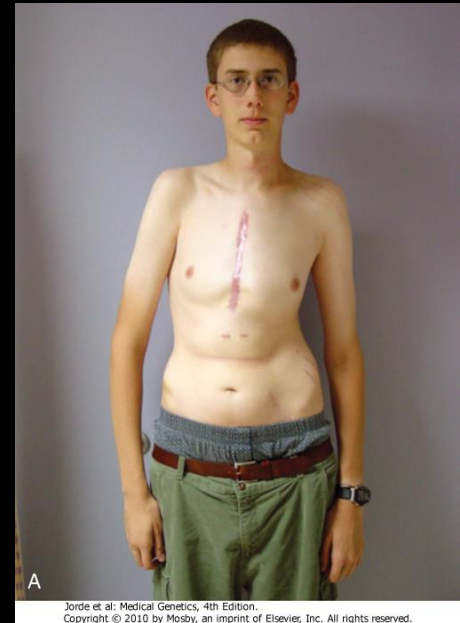
(миопия, подвывих хрусталиков)

Дефекты скелета

(долихостеномелия, килевидная или воронкообразная грудная клетка, сколиоз, арахнодактилия, гипермобильность суставов)

Поражение сердечнососудистой системы

(пролапс митрального клапана, дилатация восходящей части аорты)

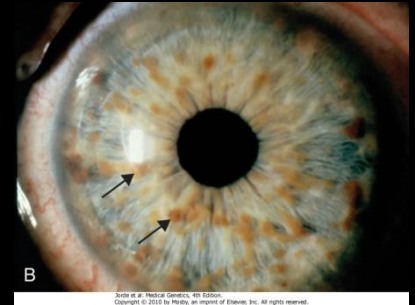


Другой термин, который должен быть обсуждён — **вариабельная экспрессивность**

- **Вариабельная экспрессивность** отражает различную степень выраженности фенотипа заболевания. Вариабельная экспрессивность является причиной клинического полиморфизма. Тяжесть проявления многих генетических заболеваний может сильно варьировать.
- К факторам, влияющим на экспрессию, относят: средовые воздействия (диета, занятия спортом, токсическая нагрузка, вредные привычки, такие как курение и пр.). Например, клинические проявления фенилкетонурии нивелируются при соблюдении диеты без фенилаланина. Другой фактор — взаимодействие генов между собой, т.е. влияние на ген заболевания генов (локусов) —модификаторов. И, наконец, вариабельная экспрессивность может быть связана с различным типом мутаций одного и того же локуса (аллельная гетерогенность).

Вариабельная экспрессивность у пациентов с нейрофиброматозом 1-го типа (НФ1)

- Хорошо изученным аутосомно-доминантным заболеванием, имеющим вариабельную экспрессивность, является нейрофиброматоз 1-го типа (болезнь Фон Реклингхаузена – в честь немецкого врача, описавшего заболевание в 1882).
- НФ1 обладает очень вариабельной экспрессивностью при практически 100% пенетрантности.
- У некоторых больных заболевание проявляется только наличием пятен цвета «кофе с молоком», узелков Лиша и нескольких нейрофибром. Такие люди могут не знать, что они больны НФ1. У других заболевание проявляется намного сильнее с наличием сотен и тысяч нейрофибром, плексиформных нейрофибром, глиомы зрительного нерва, сопровождается интеллектуальными нарушениями, гипертензией, сколиозом и злокачественными опухолями.
- Родитель с мягкими проявлениями заболевания может передать заболевание ребёнку, клиническая картина у которого может быть максимально выражена.



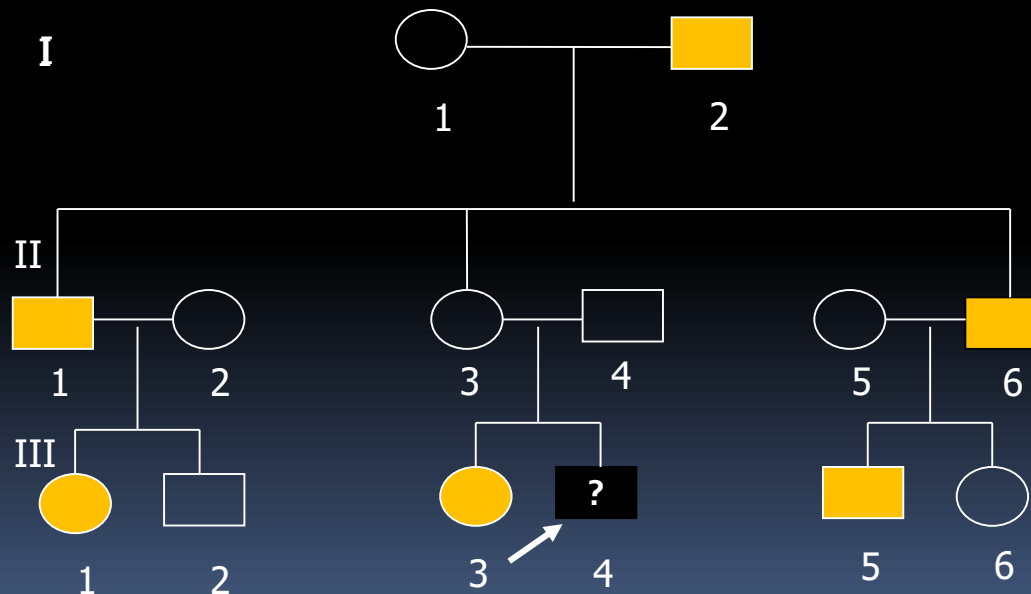
Узелки Лиша
(гамартома радужки)



Множественные
нейрофибромы на коже

Пенетрантность

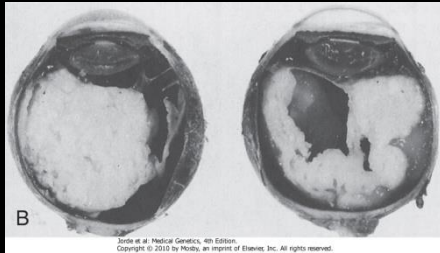
- Частота соответствия генотипа фенотипу или доля гетерозиготных носителей доминантного гена для аутосомно-доминантного заболевания или доля гомозиготных носителей для аутосомно-рецессивного заболевания, имеющих клинические проявления.



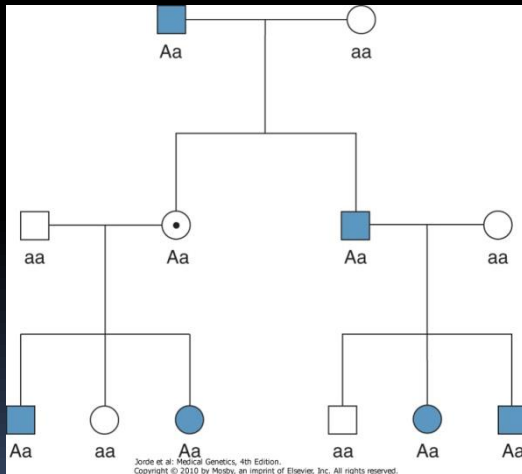
Неполная пенетрантность при ретинобластоме



Лейкокория правого глаза



Билатеральная ретинобластома



Родословная, иллюстрирующая наследование ретинобластомы, заболевания с неполной пенетрантностью.

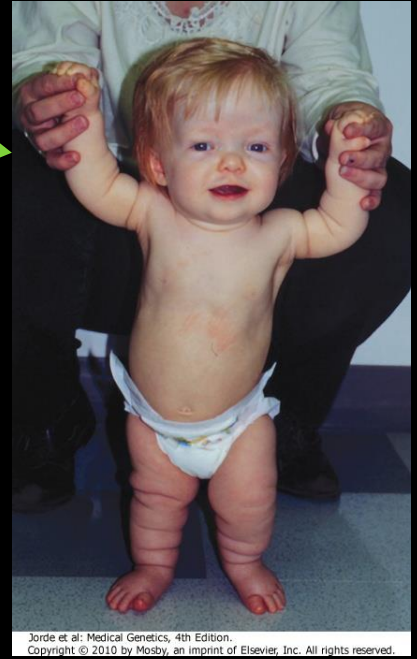
- Ретинобластома — наиболее частая опухоль глаза, проявляющаяся в детском возрасте. Частота 1:20,000 детей. Опухоль обычно развивается в возрасте от 3 месяцев до 4 лет — время, когда происходит активная пролиферация клеток сетчатки. Практически всегда заболевание клинически проявляется к возрасту 5 лет.
- Исследование семей показало, что около 10% облигатных носителей мутации в гене ретинобластомы (имеют больного родителя и больных детей, поэтому точно являются носителями) не имели клинических признаков заболевания. Поэтому считается, что пенетрантность данного заболевания составляет 90%.

Основные признаки наследственной патологии

5. Специфические “маркёрные” симптомы.

Специфические симптомы определённых наследственных заболеваний

Ахондроплазия. У девочки укороченные по отношению к туловищу конечности, выступающий лоб, западающая переносица, выраженная складчатость кожи на ногах и руках.



Нейрофиброматоз 1-го типа.
Множественные нейрофибромы.



Глазо-кожный альбинизм.
Африканская женщина с нарушением пигментации кожи.

Несовершенный остеогенез.
Множественные переломы костей.



Основные признаки наследственной патологии

6. Резистентность к стандартным методам терапии.

Какие типы лечения вы знаете?

- **Этиологическое** (генная терапия – на конец 2008 около 1500 протоколов генной терапии в отношении более чем 100 различных генов одобрено для экспериментальной работы и исследования) – наиболее эффективное;
- **Патогенетическое** (диета, фермент-заместительная терапия, флеботомии и пр.);
- **Симптоматическое** (наиболее часто используемое).

Причина резистентности к стандартным видам терапии заключается в том, что на сегодняшний день невозможно изменить мутантный ген во всех клетках организма, в том числе учитывая тот факт, что мутантный ген действует постоянно в течение всей жизни пациента.

Основные признаки наследственной патологии

1. Чаще манифестация в детском возрасте;
2. Отягощенный семейный анамнез;
3. Тяжёлое хроническое прогрессирующее течение;
4. Вовлеченность в патологический процесс многих органов и систем;
5. Специфические «маркёрные» симптомы;
6. Резистентность к терапии.

Для правильной постановки диагноза
очень важно прежде всего тщательно и
правильно оценить фенотип пациента.

Фенотип

- Характеристики индивида, формирующиеся под действием генетической информации и факторов экзогенной природы.

Оценка фенотипа включает:

- **Антропометрия** – оценка физического развития (рост, вес, окружность головы, груди, оценка телосложения и пр.);
- Оценка наличия **врождённых пороков развития**;
- Оценка **морфогенетических вариантов развития** (малых аномалий)
- и др.

Центильная таблица

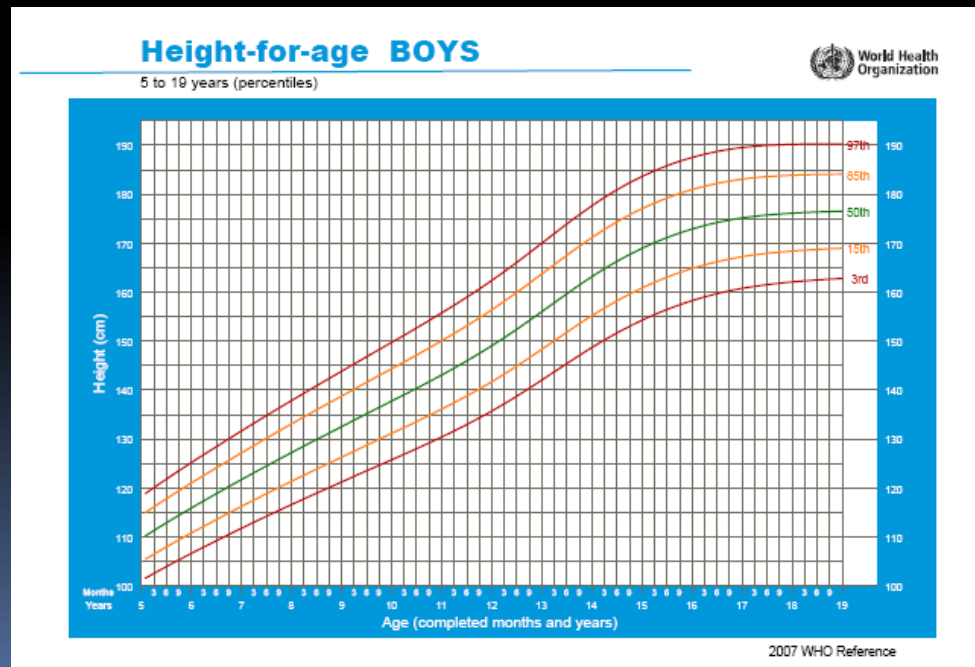
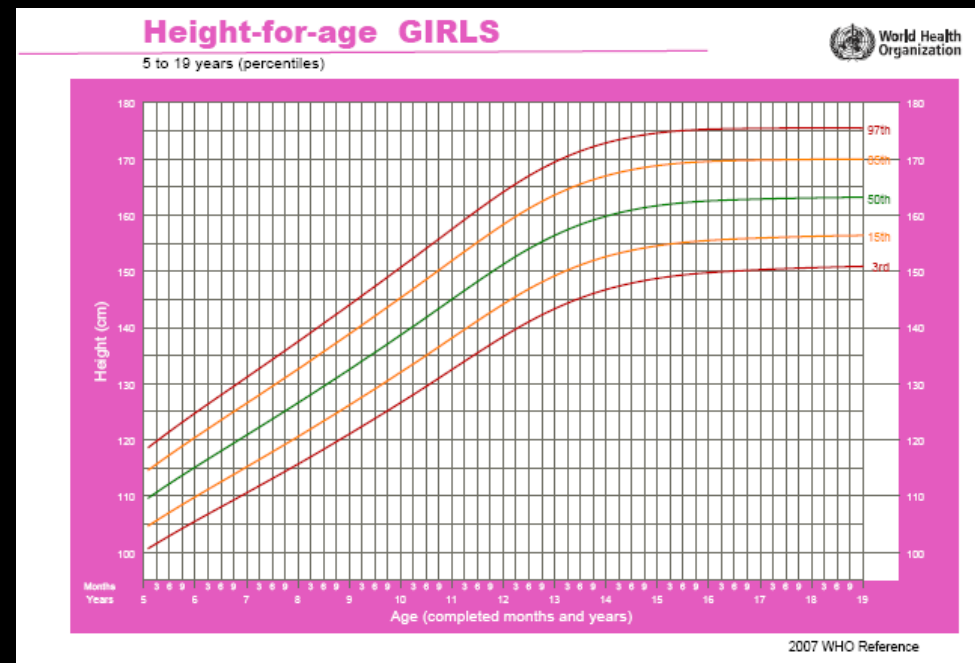
- Нормальные величины: от 25 до 75 центиля (соответствуют 50% детей);
- 10-90 центили (популяционный вариант нормы);
- Ниже 3 и выше 97 центилей (патологическое отклонение).

Оценка

Средний (25-75 центиль);
Сниженный (10-25 центиль);
Очень низкий (до 3 центилей);
Выше среднего (75-90 центилей);
Очень высокий (выше 97 центилей).



<http://www.who.int>



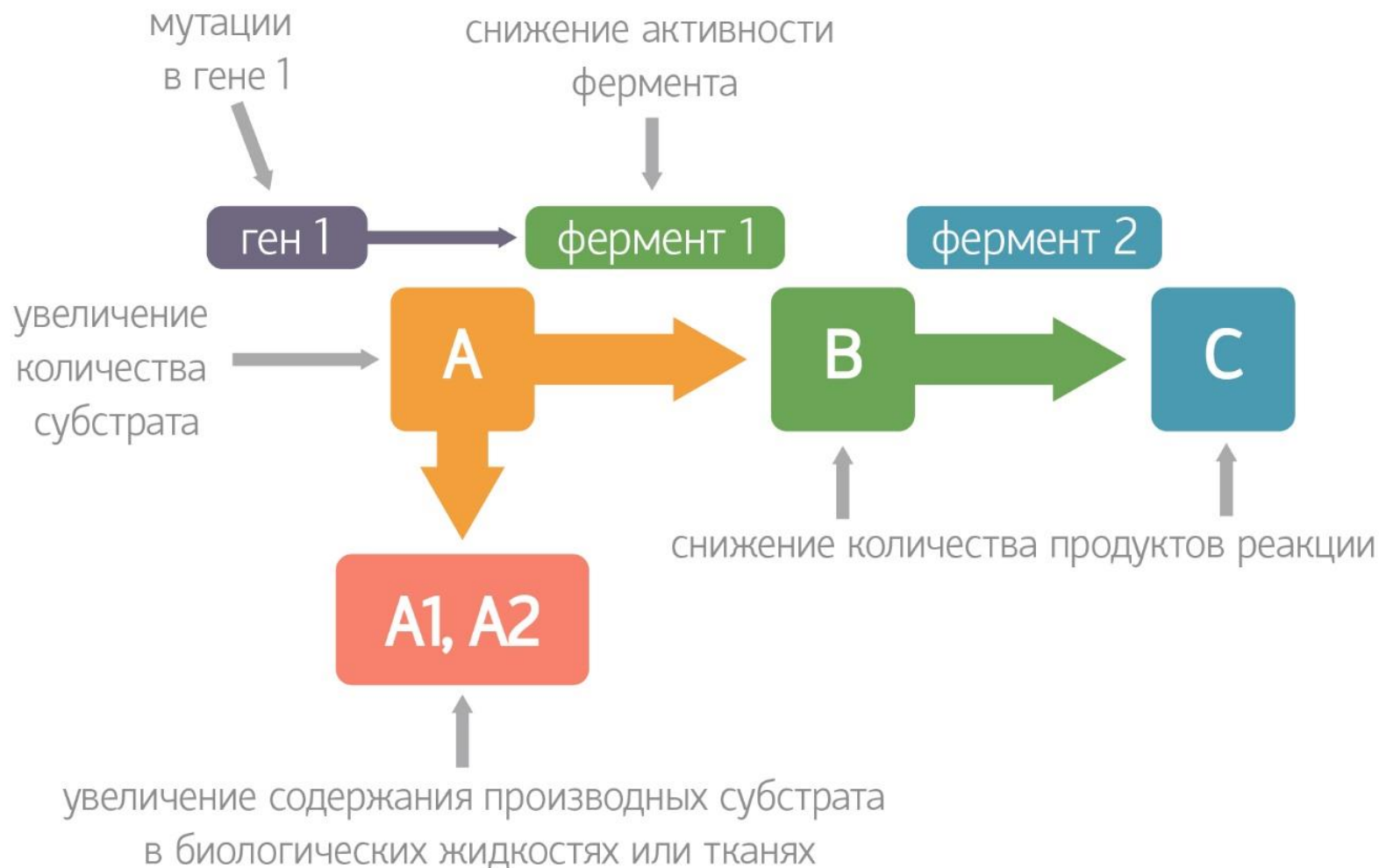
Современные методы медицинской генетики



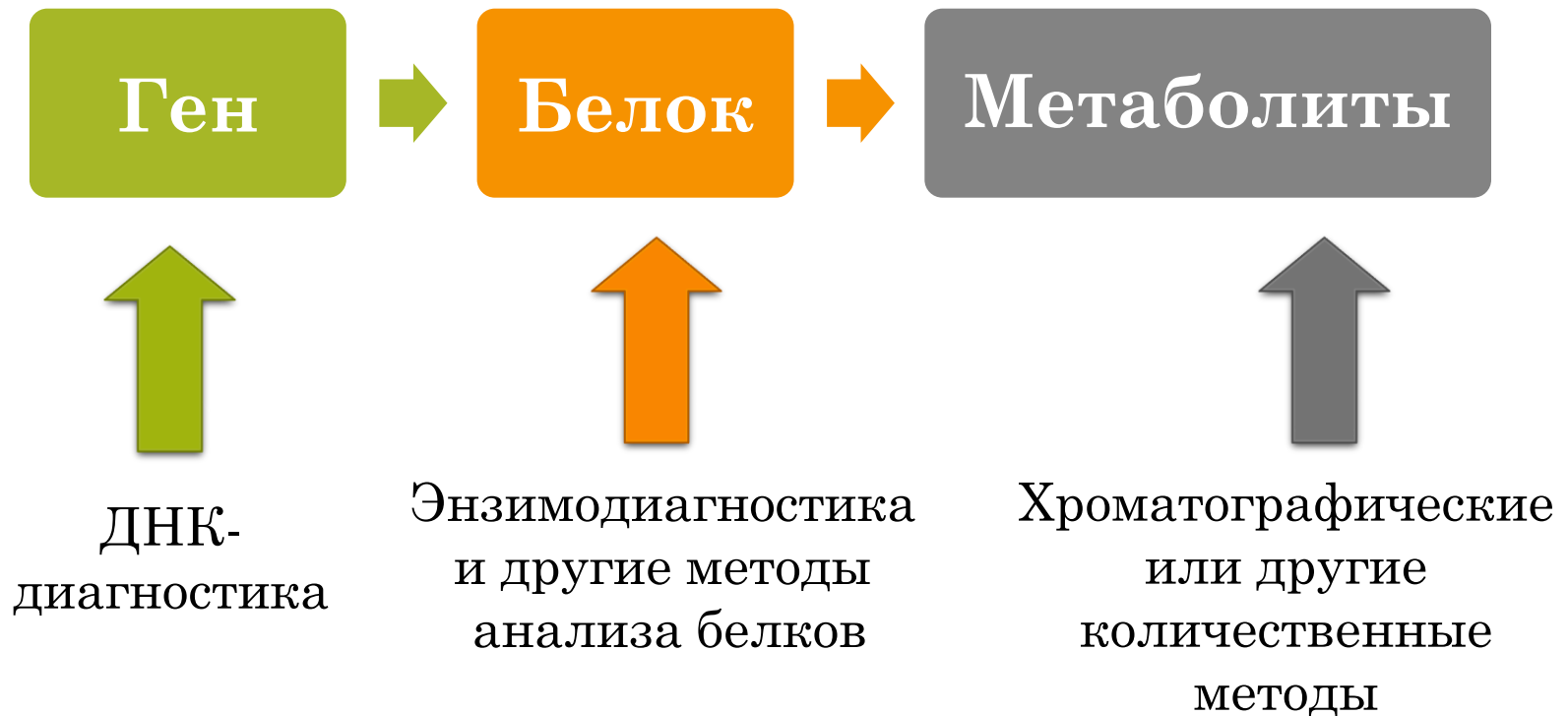
Генетический груз



Моногенные заболевания



Диагностика НБО



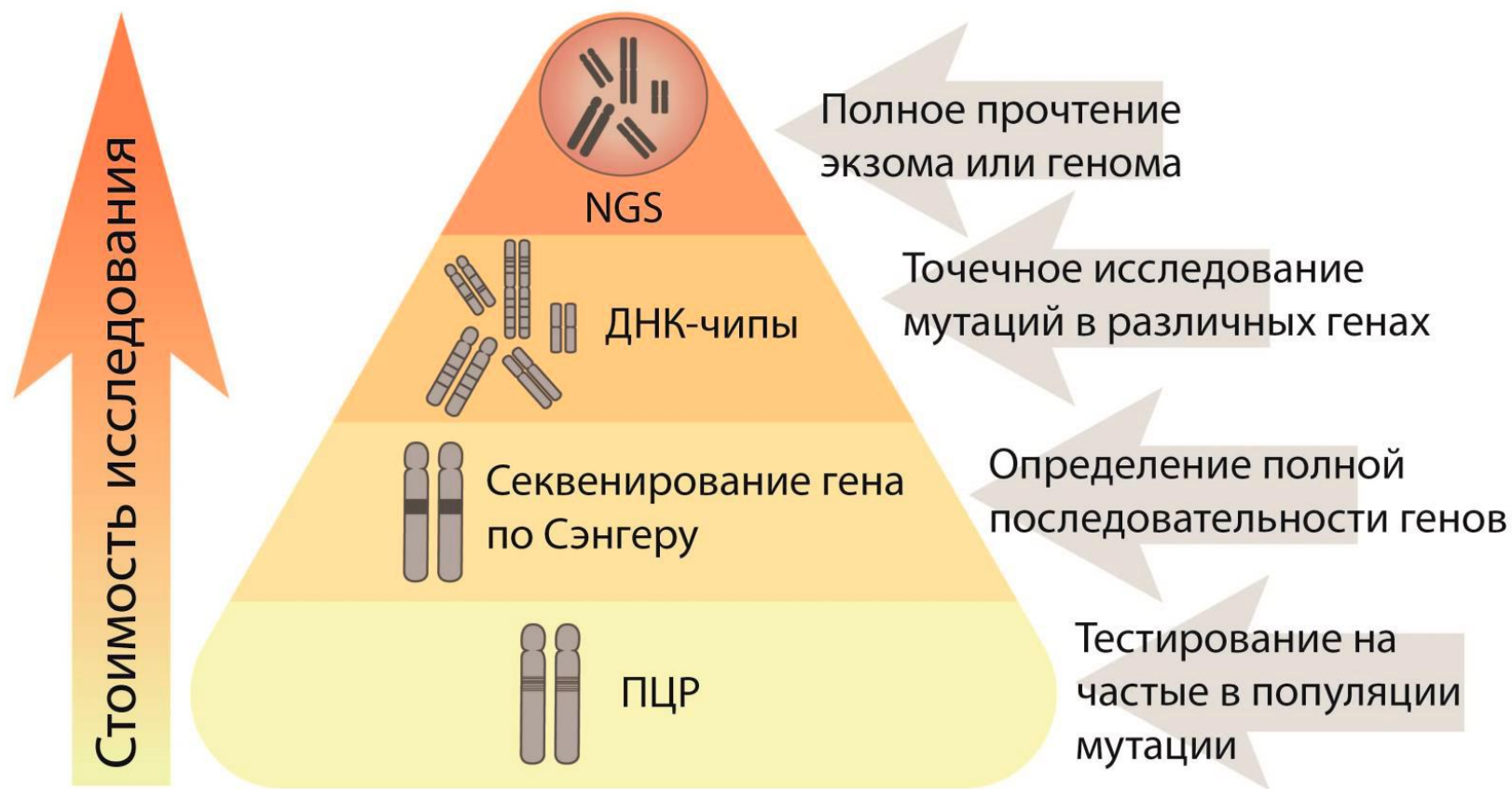
Молекулярно-генетические методы

— обширная группа методов, направленных на выявление изменений последовательности ДНК.

- ❖ Источник ДНК — практически любые клетки организма
- ❖ Зачастую требуют развитых технологий и дорогостоящего оборудования
- ❖ Подразделяются на прямые и непрямые (косвенные)

	Прямые	Косвенные
Цель	Непосредственно выявляют мутации (есть мажорные мутации)	Выявляют полиморфизмы, сцепленные с потенциальным местом мутации (искомая мутация неизвестна)
Требования	Требуют точного знания локализации мутации	Требуют обследования также родственников больного
Примеры методов	ПЦР, секвенирование	ПДРФ-анализ, исследование гипервариабельных сателлитных повторов, анализ копий tandemных повторов
Примеры выявляемых заболеваний	Фенилкетонурия, муковисцидоз, хорей Гентингтона	Миодистрофия Дюшенна-Беккера
Точность	Высокая	До 5% ошибок

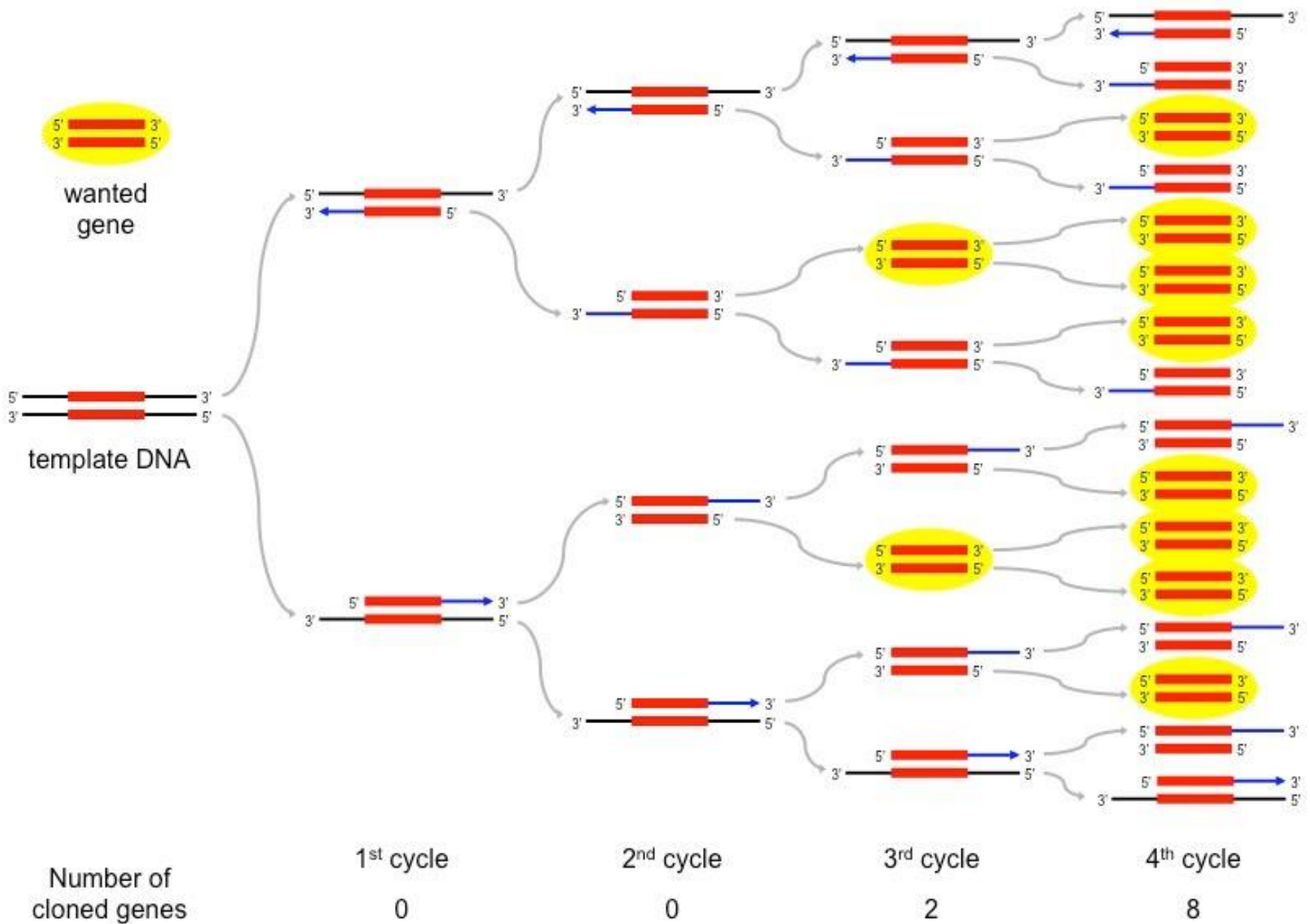
Прямые молекулярно-генетические методы



ПЦР

- метод получения множества копий определенных фрагментов ДНК путем многократного повторения цикла:

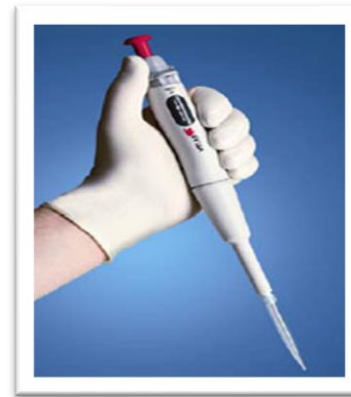
- 1) денатурация ДНК (плавление, расхождение цепей ДНК) - 95°C - 1 или 2 минуты;
- 2) отжиг праймеров (затравки связываются с ДНК-матрицей, температура данной стадии определяется нуклеотидным составом праймера) - 60°C (к примеру) - 1 минута;
- 3) элонгация ДНК (полимераза синтезирует цепь ДНК) - 72°C - 1 минута (время зависит от длины синтезируемого фрагмента).



Для ПЦР нужны:



Система для гель-электрофореза



Микропипетки



Вортекс



Амплификатор (термоциклер)



Микроцентрифуга

А еще:

Расходники

Реактивы

ПЦР-бокс

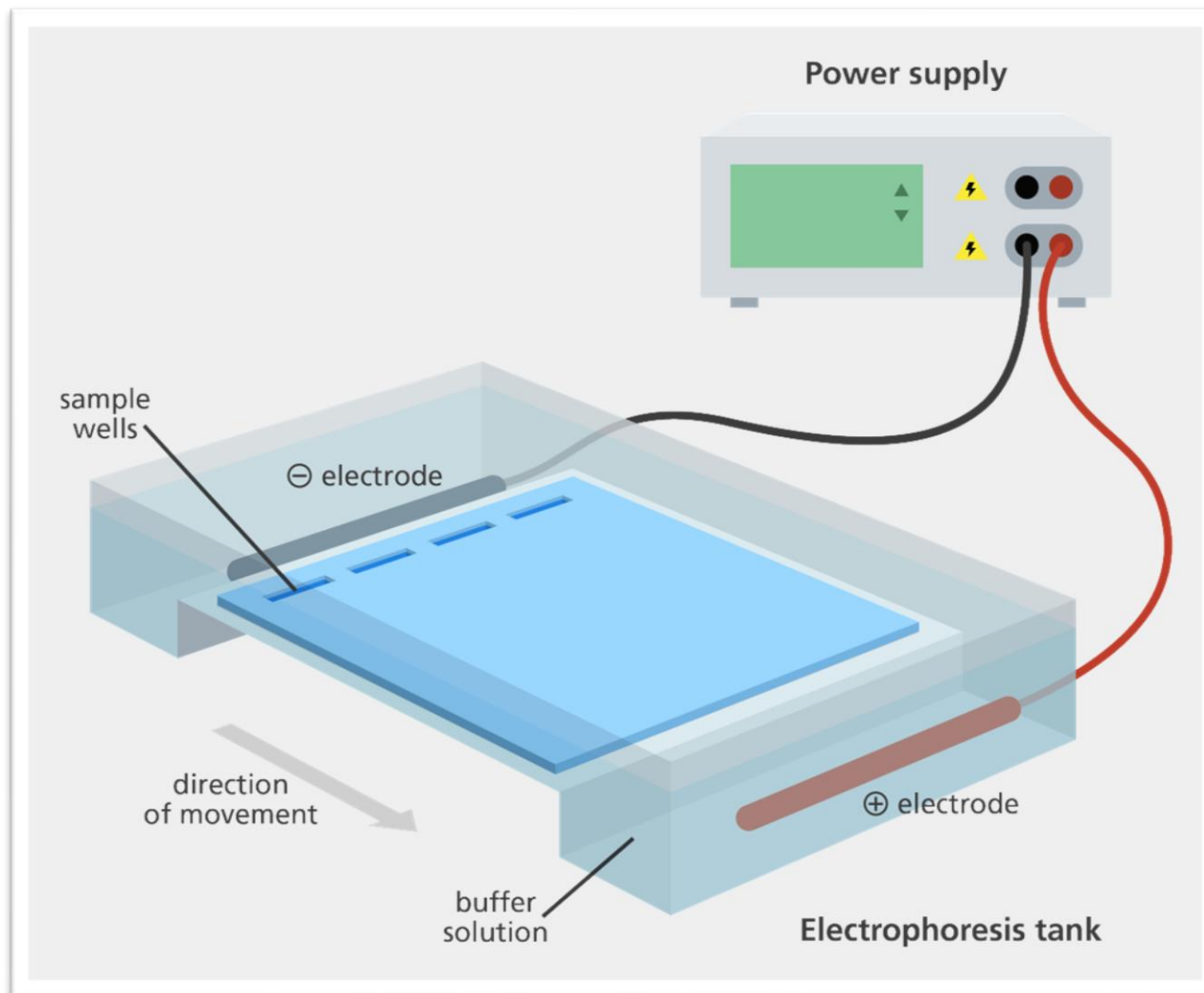
и системы

гель-документации

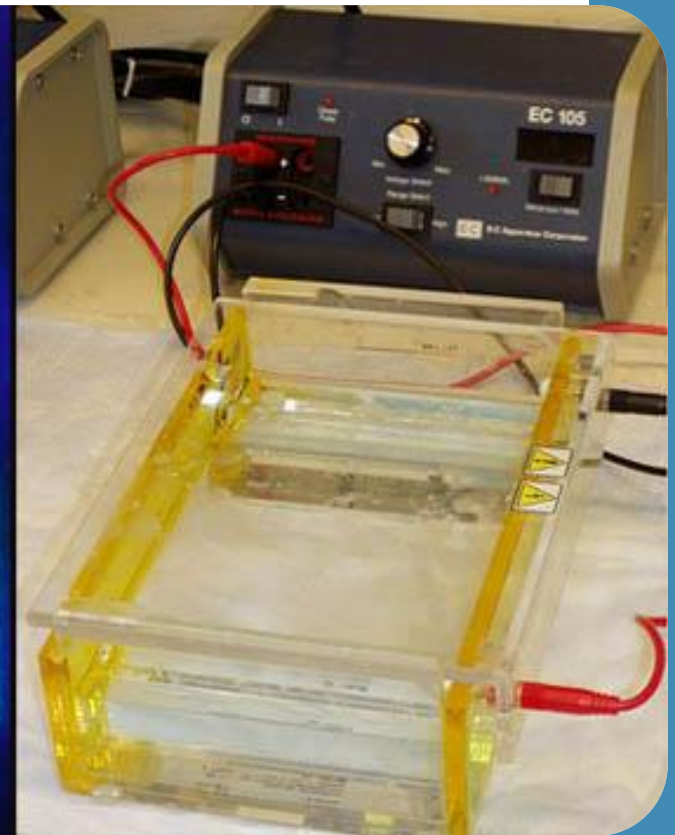
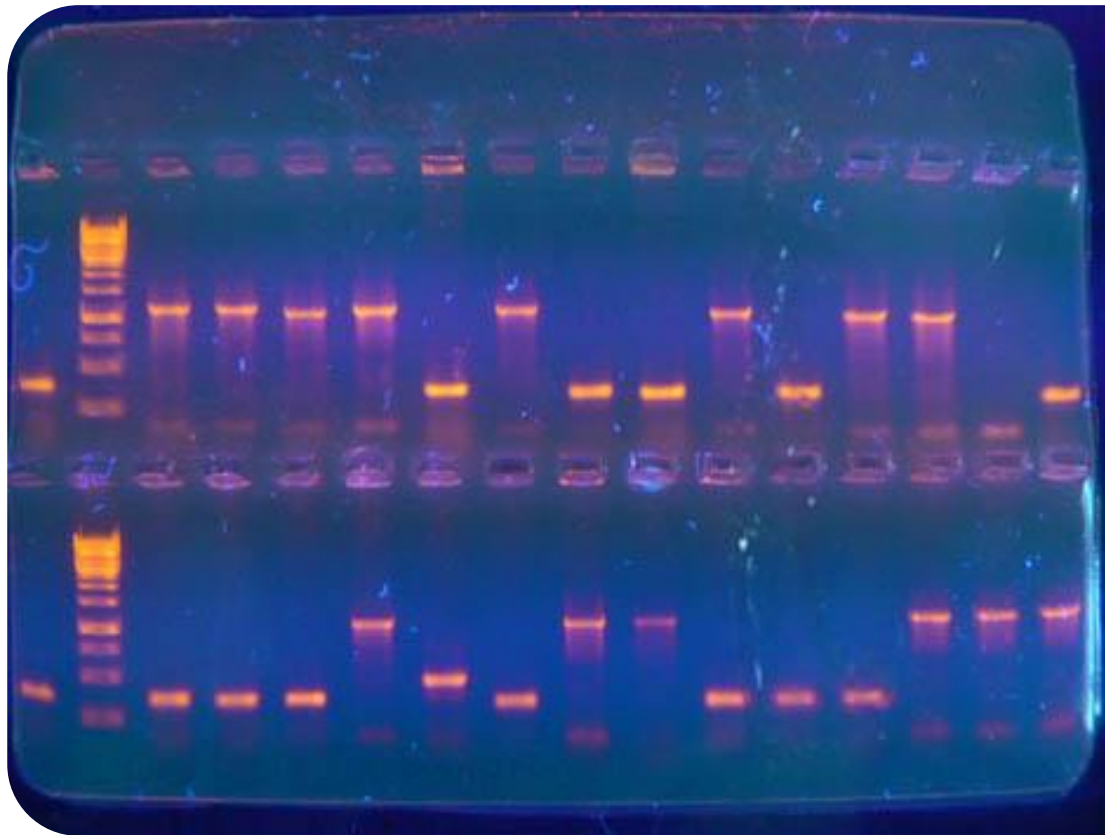
Гель-электрофорез



Гель-электрофорез



Гель-электрофорез



ДНК-микрочипы

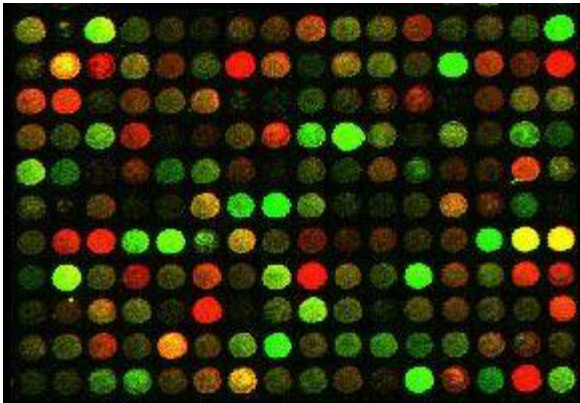
- Основаны на гибридизации ДНК с зондом — комплиментарной ДНК последовательностью, закрепленной на твердой поверхности (чипе).

Достоинства:

- Быстрый и экономичный
- Может использоваться для оценки экспрессии гена
- Одновременно можно протестировать множество мутаций

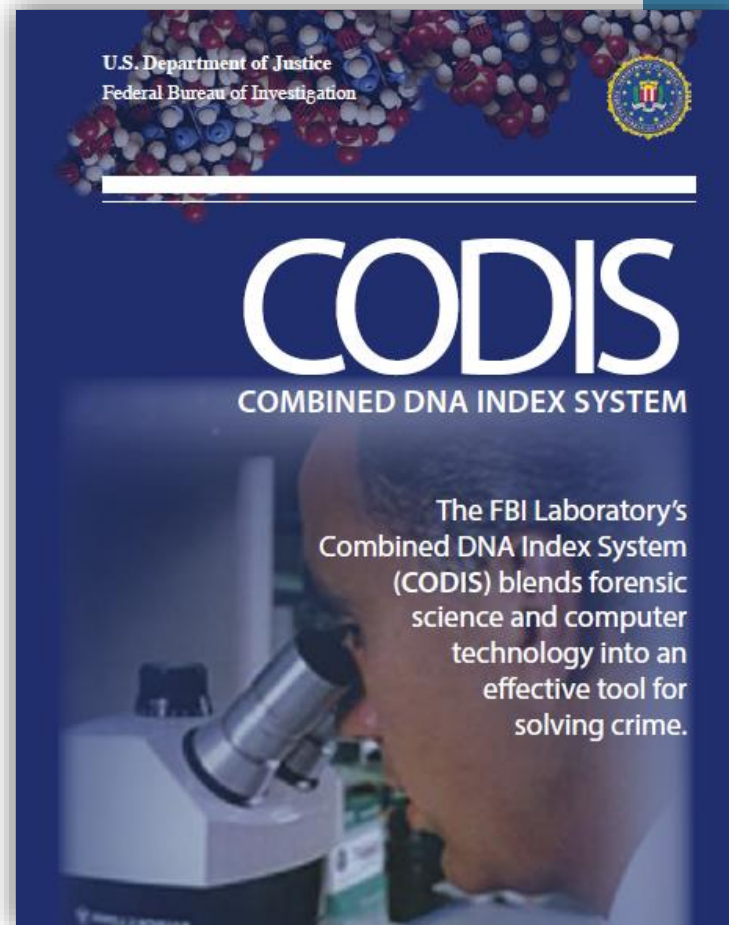
Недостатки:

- Анализируются только известные точки



АНАЛИЗ КОРОТКИХ ТАНДЕМНЫХ ПОВТОРОВ (STR)

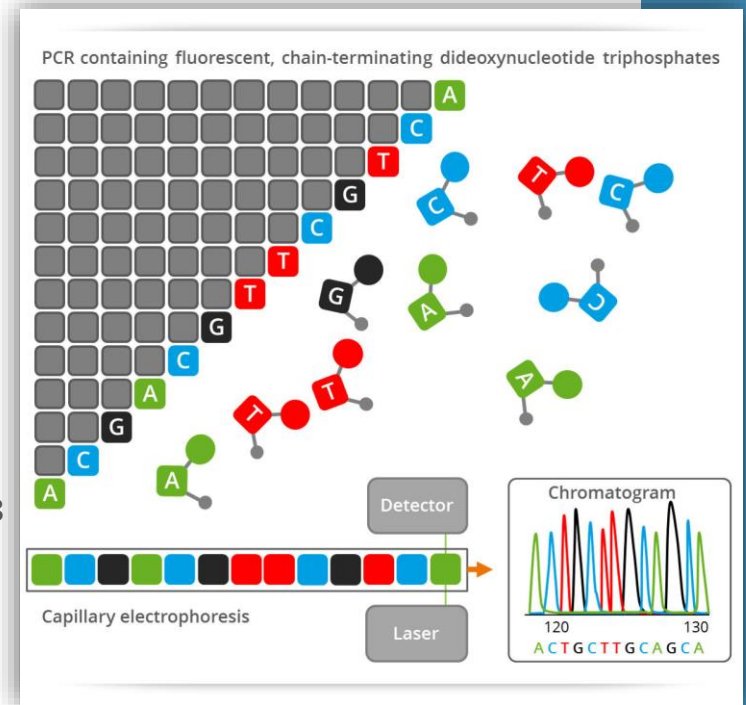
- ❖ Короткий tandemный повтор — это повтор двух или более пар нуклеотидов в последовательности ДНК. Его длина обычно составляет от 2 до 10 пар оснований (например, (CATG)_n) и обычно находится в некодирующей интронной области
- ❖ Используется для идентификации личности
- ❖ В США было выделено 13 локусов STR в качестве основы для построения генетического профиля человека.



Short tandem repeats	8 repeats
Participant 1	CTAGAGATAGATAGATAGATAGATAGATAGATAGATACTAGACTAGACTAG
Participant 2	CTAGAGATAGATAGATAGATAGATAGATAGATAGATAGATACTAGACTAGA
Participant 3	CTAGAGATAGATAGATAGATAGATAGATAGATAGATAGATACTAGACTAGA
Participant 4	CTAGAGATAGATAGATAGATAGATAGATAGATAGATAGATACTAGACTAGAC
	9 repeats
	10 repeats

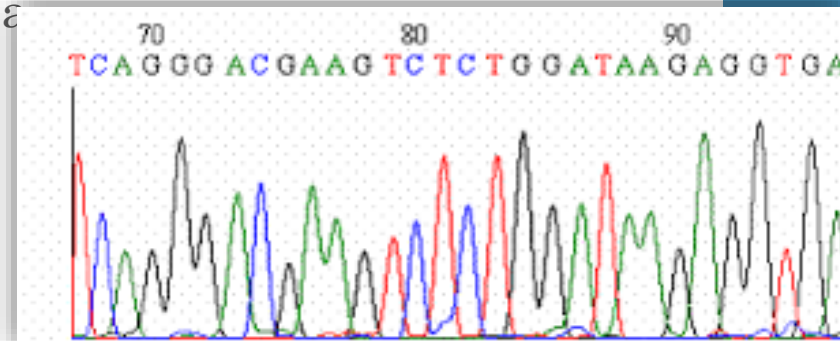
Секвенирование

- Это определение нуклеотидной последовательности цепи в молекуле нуклеиновой кислоты
- При **секвенировании по Сэнгеру** за 1 раз прочитывается последовательность длиной 500—1000 нуклеотидов
- ✓ «Золотой стандарт» диагностики



Ограничения секвенирования по Сэнгеру:

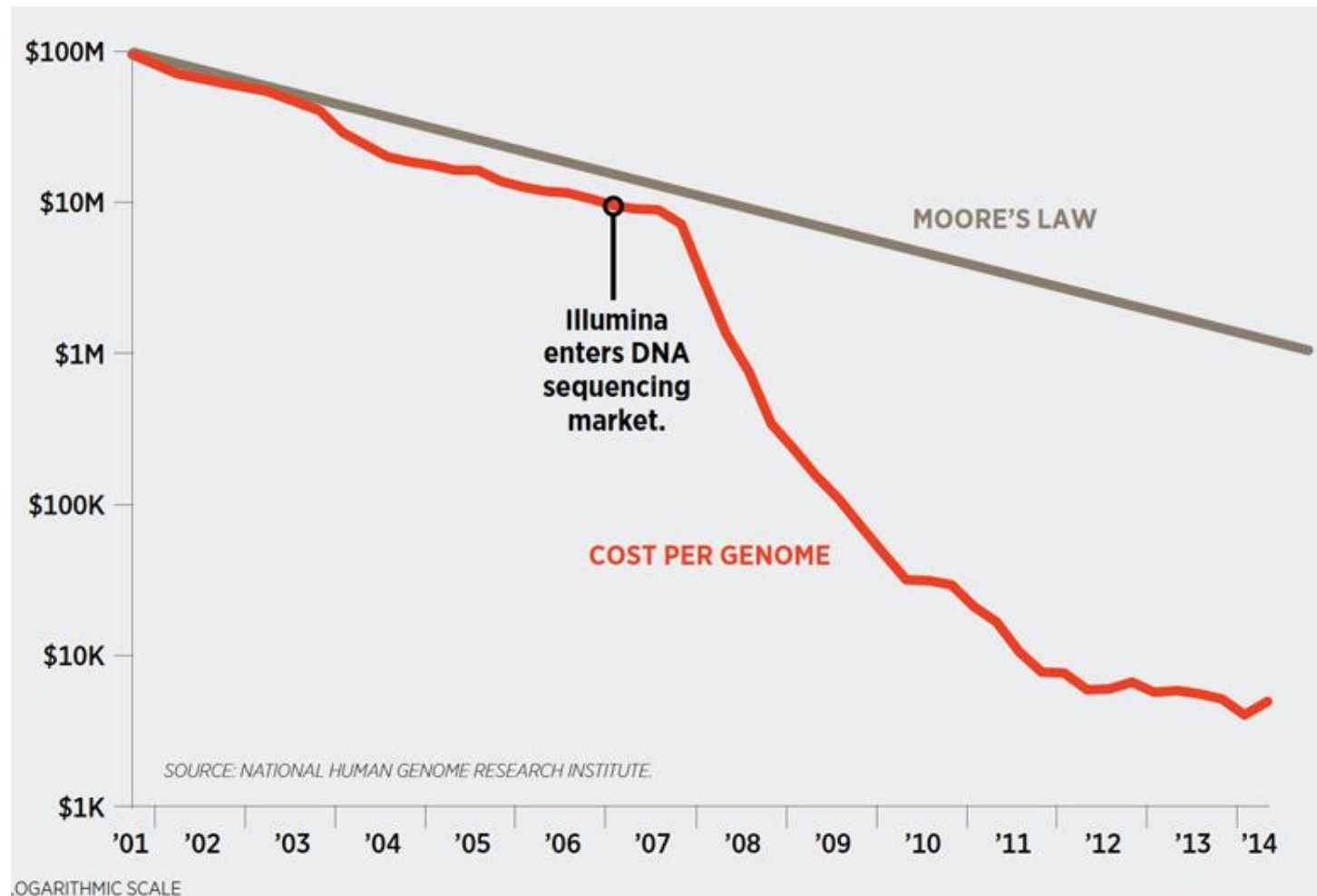
- ❖ Небольшая пропускная способность,
- ❖ Сложность в масштабируемости
- ❖ Низкая скорость проведения анализа
- ❖ Высокая стоимость



Расшифровка генома человека

- Первый геном (проект «Геном человека») потребовал **11 лет** (с 1990 г) и **2.7 триллионов** долларов США
- Частной компании «Celera Genomics» понадобилось **3 года** (с 1997 г) и **100 миллионов** долларов США
- Сейчас секвенирование всего генома стоит около **2-2,5 тысяч долларов**, а экзема – **около 800 долларов**, срок выполнения с расшифровкой – **около 2-3 месяцев**.

Секвенирование следующего поколения



- В 2007 году за 1 прогон получали порядка 1 Гб информации.
- В 2011 году - уже около 1 Тб.

Таким образом, за 4 года производительность **NGS** выросла в 1000 раз!

Секвенирование следующего поколения

- NGS аналогична секвенированию по Сэнгеру в масштабах небольшого фрагмента ДНК.
- Особенностью NGS является то, что реакция протекает одномоментно на миллионах таких фрагментов. Это позволяет быстро секвенировать большую протяженность ДНК, охватывая целые геномы.



Область применения NGS

- ❖ Полногеномное секвенирование
- ❖ Полноэкзомное секвенирование
- ❖ Таргетное секвенирование
- ❖ Неинвазивное пренатальное тестирование
- ❖ Онкогенетика
- ❖ Транскриптомика

Полногеномное секвенирование

- ❖ Это определение **всей последовательности** генома человека
- ❖ Т.е. прочитываются экзоны, интроны, регуляторные последовательности и участки с неизвестной на данный момент функцией.
- ❖ Итог – огромный массив данных, полностью интерпретировать которые на текущей стадии развития науки **невозможно**

Полноэкзомное секвенирование

- ❖ Это определение последовательности **всех кодирующих участков** генома человека
- ❖ Дешевле полногеномного секвенирования в несколько раз
- ❖ Экзом составляет 1% от генома
- ❖ Тем не менее, результат прочтения экзона — это также крайне большой объем данных

Биоинформатический анализ

- Данные, полученные в результате полногеномного или полноэкзомного секвенирования, требуют обработки с помощью **биоинформатического анализа!**

[illegible]

Биохимические методы

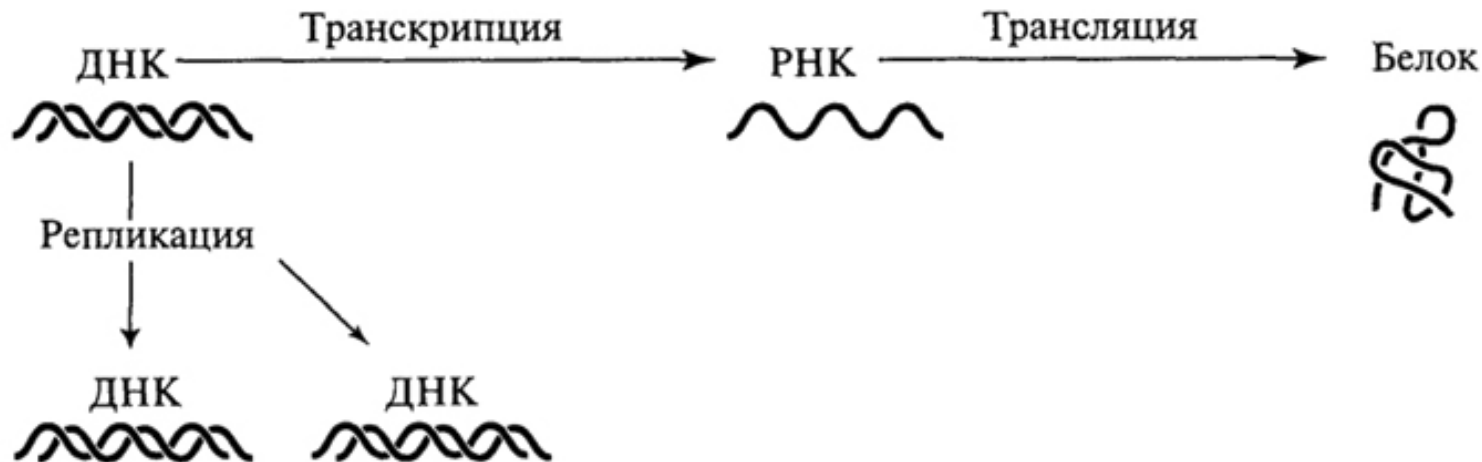
Впервые эти методы стали применять для диагностики генных болезней еще в начале XX в. В последние 30 лет их широко используют в поиске новых форм мутантных аллелей. С их помощью описано более 1000 врожденных болезней обмена веществ.

Характеристики:

- ❖ Позволяют выявить изменения фенотипа вследствие дефекта гена
- ❖ Объектом исследования могут быть моча, пот, плазма и форменные элементы крови а также культуры клеток.
- ❖ Могут быть скринирующими и диагностическими

Почему биохимические методы все еще актуальны, если можно напрямую исследовать ДНК?

- Дешевые и быстрые
- Малоинвазивные
- Отсутствие выявленных мутаций ДНК при использовании молекулярно-генетических методов далеко не всегда равнозначно нормальному биохимическому фенотипу



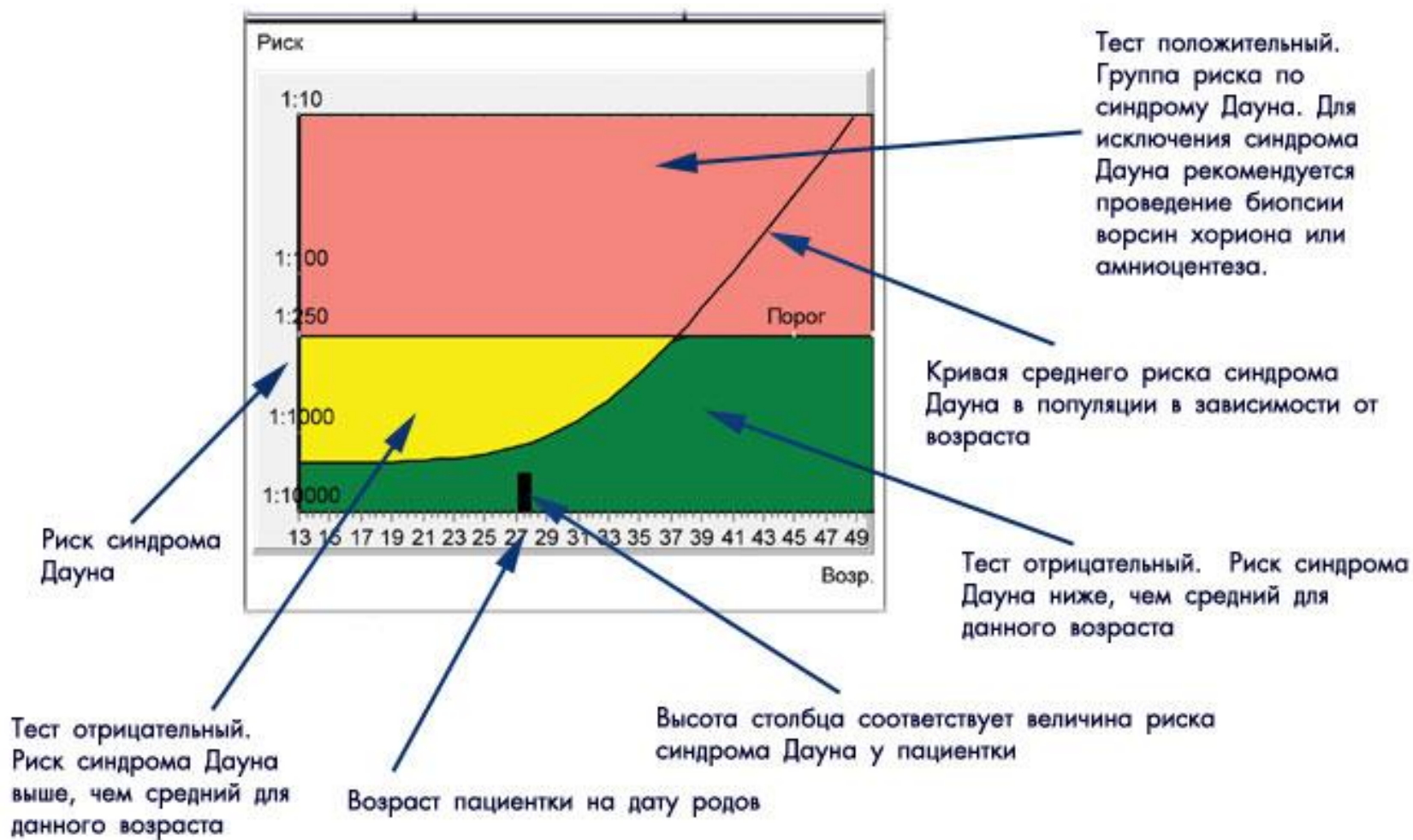
Показания к применению биохимических методов исследования

- судороги
- кома
- рвота
- гипотония
- желтуха
- специфический запах мочи и пота
- нарушения кислотно-основного состояния
- остановка роста

Биохимический скрининг беременных

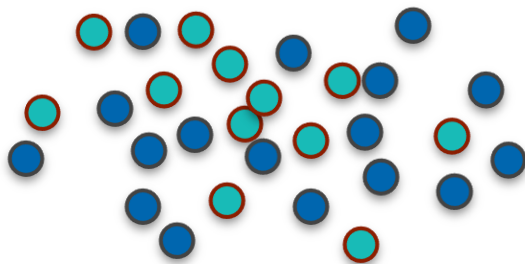
- Биохимический скрининг — это исследование крови беременной женщины для определения специфических маркеров, для определения вероятности наличия у плода тяжелых генетических нарушений.
- Биохимический скрининг первого триместра проводится в 11-13 недель беременности. При этом определяются 2 показателя: ХГЧ и РАРР-а (белок ассоциированный с беременностью). Определяются не только абсолютные значения показателей, но и МоМ.

Норма – всегда от 0,5 до 2 МоМ!



Пренатальный скрининг 1 триместра

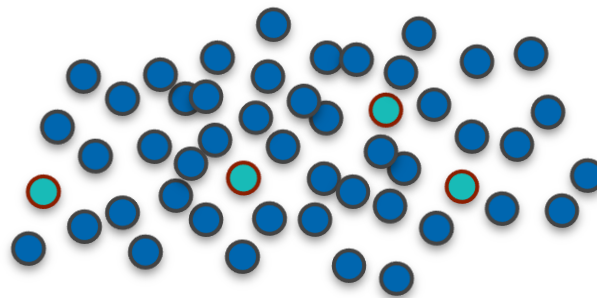
ВЫСОКИЙ РИСК – более 1:100



Только у 10 – 30
женщин из 100
подтвердится диагноз

- - НЕТ патологии
- - ЕСТЬ патология

НИЗКИЙ РИСК – менее 1:100



15 – 18% случаев синдрома
Дауна оказываются в группе
«низкого риска»

Неонатальный скрининг новорожденных

- Это массовое обследование всех новорождённых с целью раннего выявления наследственных болезней для проведения их своевременного лечения.



Неонатальный скрининг

С 2006 г. в России проводится неонатальный биохимический скрининг пяти наследственных заболеваний:

- адреногенитального синдром
- галактоземия
- врожденного гипотиреоз,
- муковисцидоз
- фенилкетонурии

+ Аудиологический скрининг новорожденных

С 2017 в Москве неонатальный скрининг расширен до 11 нозологий

Расширенный неонатальный скрининг

Тандемная масс-спектрометрия



- ❖ позволяет выявить и провести количественную оценку множества соединений одновременно в микроколичествах биоматериала
- ❖ 1 тест = много диагностируемых заболеваний
- ❖ Время анализа – 2 мин
- ❖ Прибор автоматически обрабатывает данные и выдает результат (отсутствие человеческого фактора)

Цитогенетические методы

- Цитогенетика - это область науки, изучающая структуру и функции хромосом
- Цитогенетические методы предназначены для изучения структуры хромосомного набора или отдельных хромосом.
- Объектом цитогенетических наблюдений могут быть делящиеся соматические, мейотические и интерфазные клетки

Показания к применению

- Подозрение на хромосомную болезнь по клинической симптоматике
- Наличие у ребёнка множественных врождённых пороков развития
- Многократные (более двух) спонтанные аборты, мертворождения или рождения детей с врождёнными пороками развития.
- Нарушение репродуктивной функции неясного генеза у женщин и мужчин (первичная аменорея, бесплодный брак и др.).
- Задержка умственного и физического развития у ребёнка.
- Пренатальная диагностика
- Подозрение на синдромы, характеризующиеся хромосомной нестабильностью
- Лейкозы (для дифференциальной диагностики, оценки эффективности лечения и прогноза течения).
- Оценка мутагенных воздействий (радиационных, химических).

Хромосомные болезни

Аномалии числа хромосом при сохранении их структуры

Числовые аномалии половых хромосом (болезни Шерешевского-Тернера, Клайнфельтера).

Числовые аномалии аутосом (синдромы Дауна, Патау, Эдвардса).

Увеличение кратности полного гаплоидного набора хромосом – полиплоидии.

Структурные перестройки хромосом

Делеции (моносомия 1p36, синдром кошачьего крика) и микроделеции (синдромы Вильямса, Прадера-Вилли, Ди Джорджи и др.)

Дупликации (синдром 9p+) и микродупликации

Транслокации:
1) Реципрокные (сбалансированные)
2) Робертсоновские

Кольцевые хромосомы и изохромосомы

Цитогенетические методы

Анализ кариотипа плода
(по клеткам ворсин
хориона или
амниотической
жидкости)

Анализ кариотипа (по
лейкоцитам
периферической крови)

Анализ кариотипа
плодного материала
после прерывания
беременности

Метод флюоресцентной
гибридизации in situ
(FISH)

Методы на стыке цитогенетического и молекулярного подхода

Сравнительная
геномная
гибридизация (CGH
— comparative
genome
hybridization)

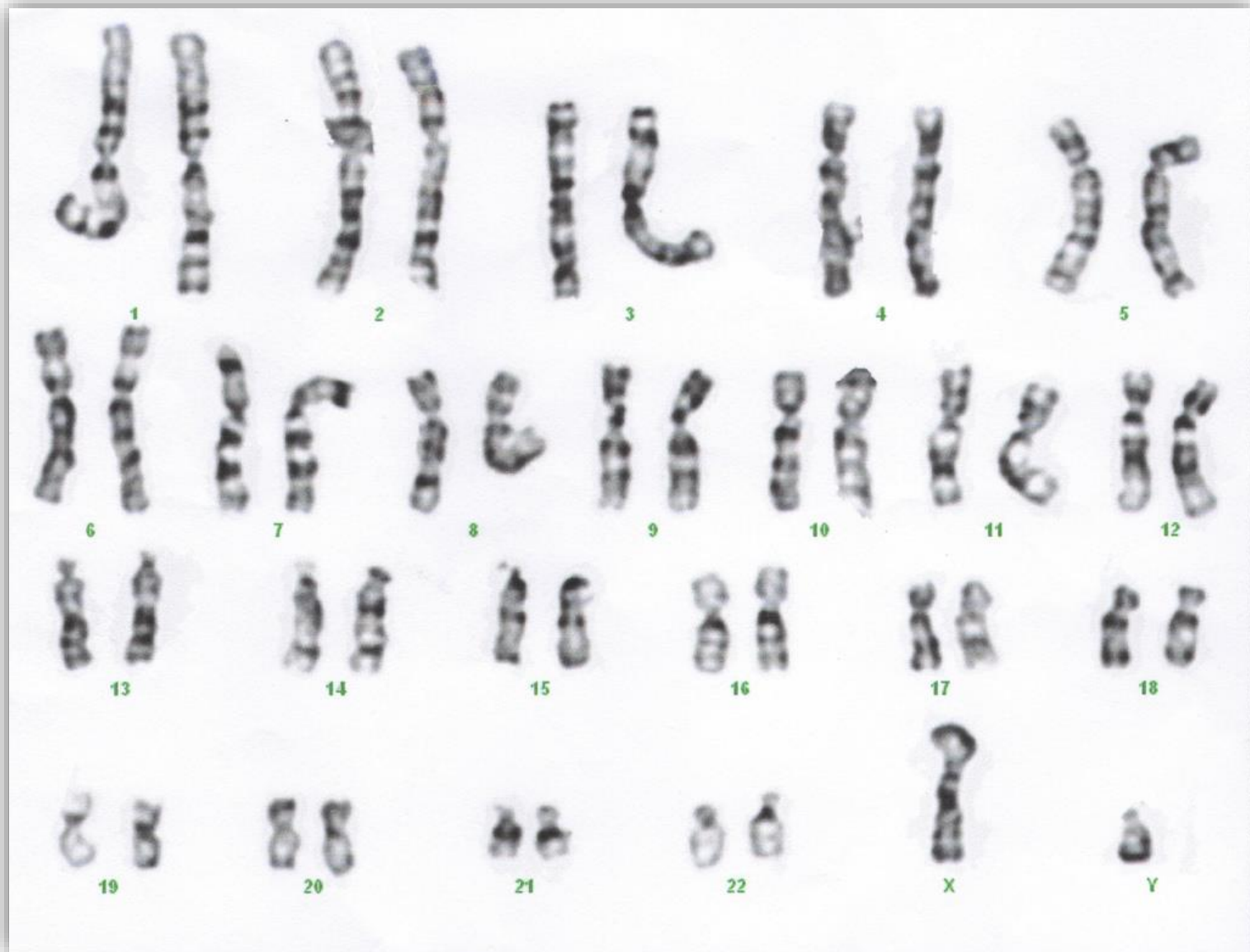
Хромосомный
микроматричный
анализ (CMA -
chromosomal
microarray)

Количественная
лигазная
реакция
(MLPA)

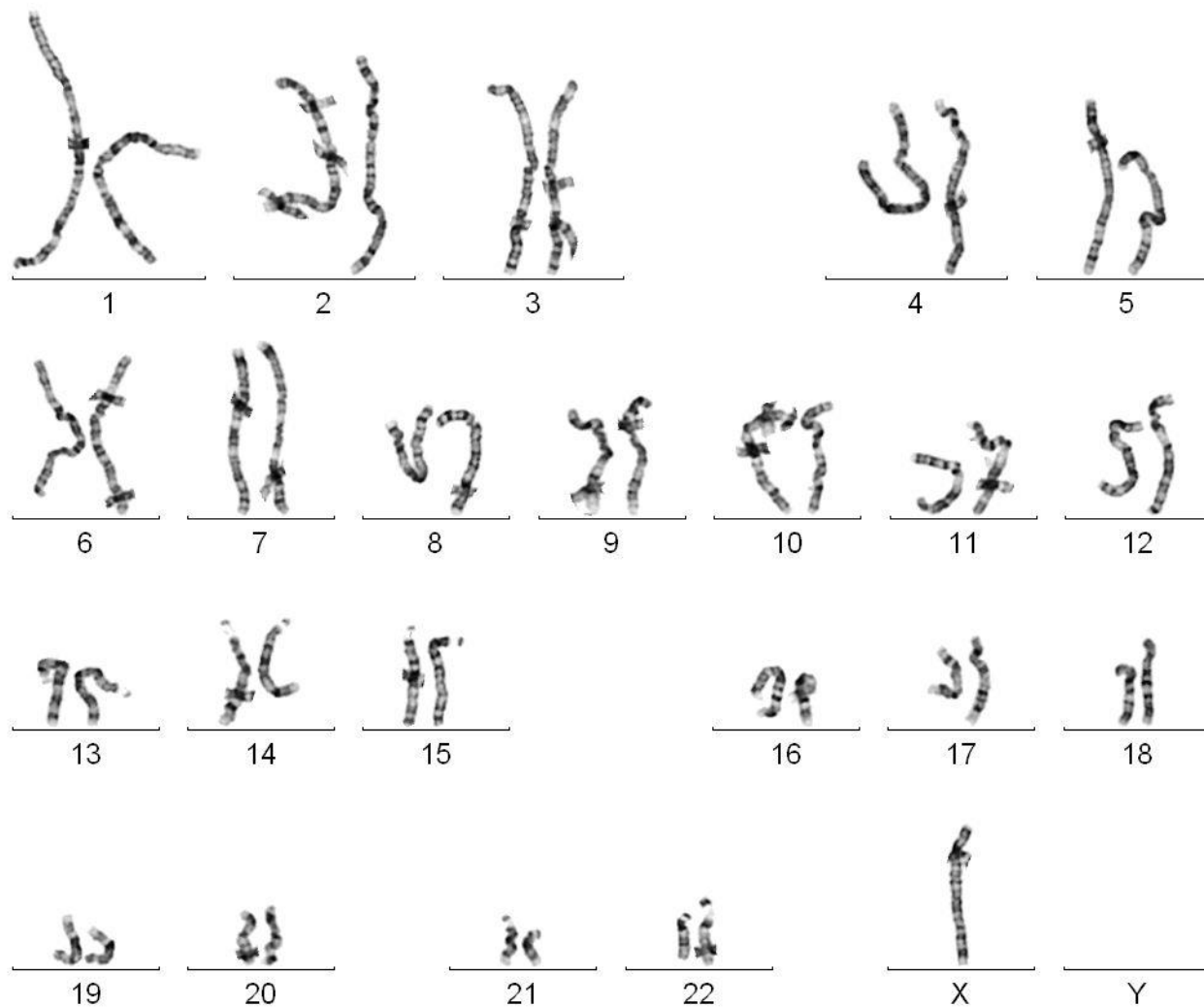
Анализ кариотипа



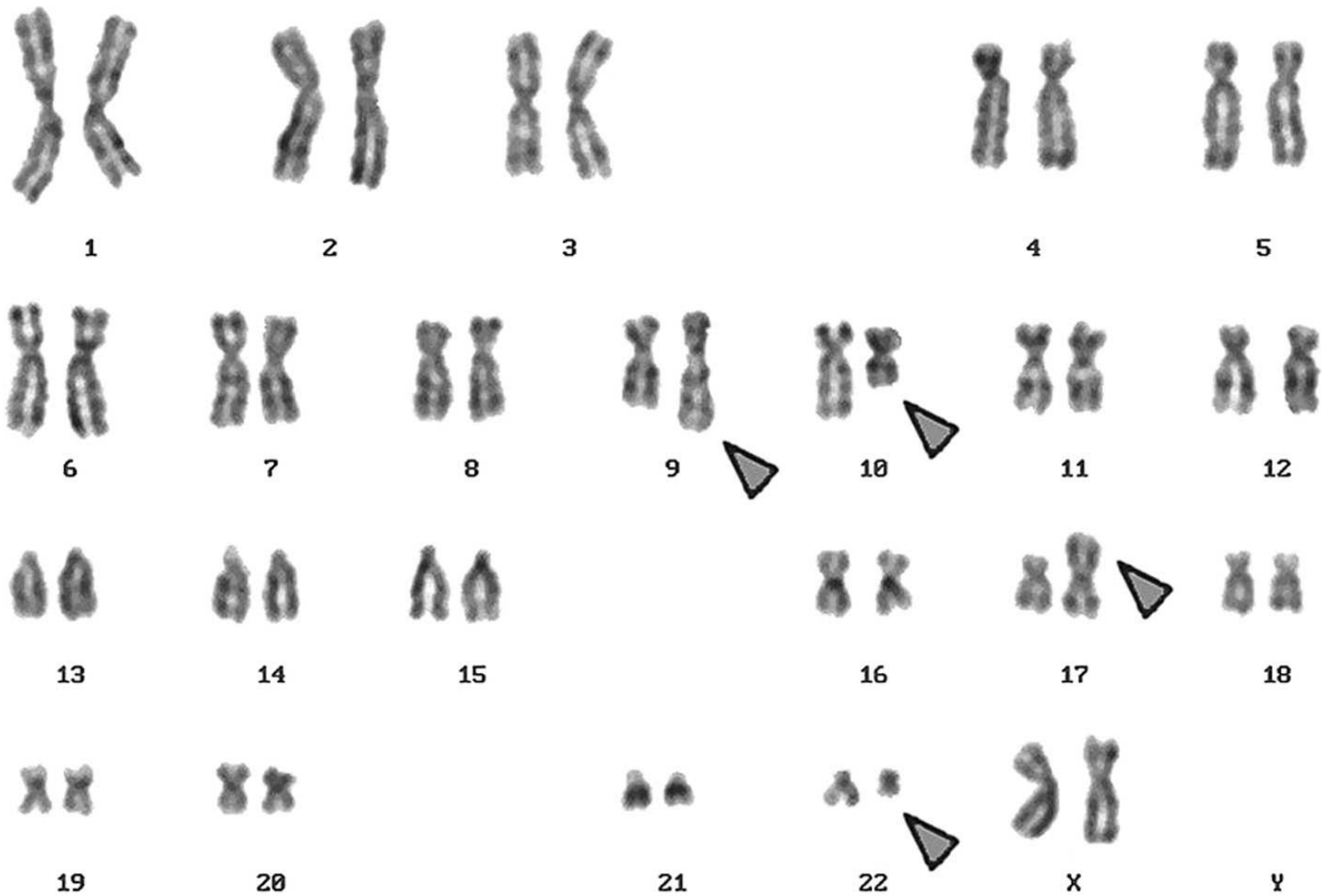
Анализ кариотипа



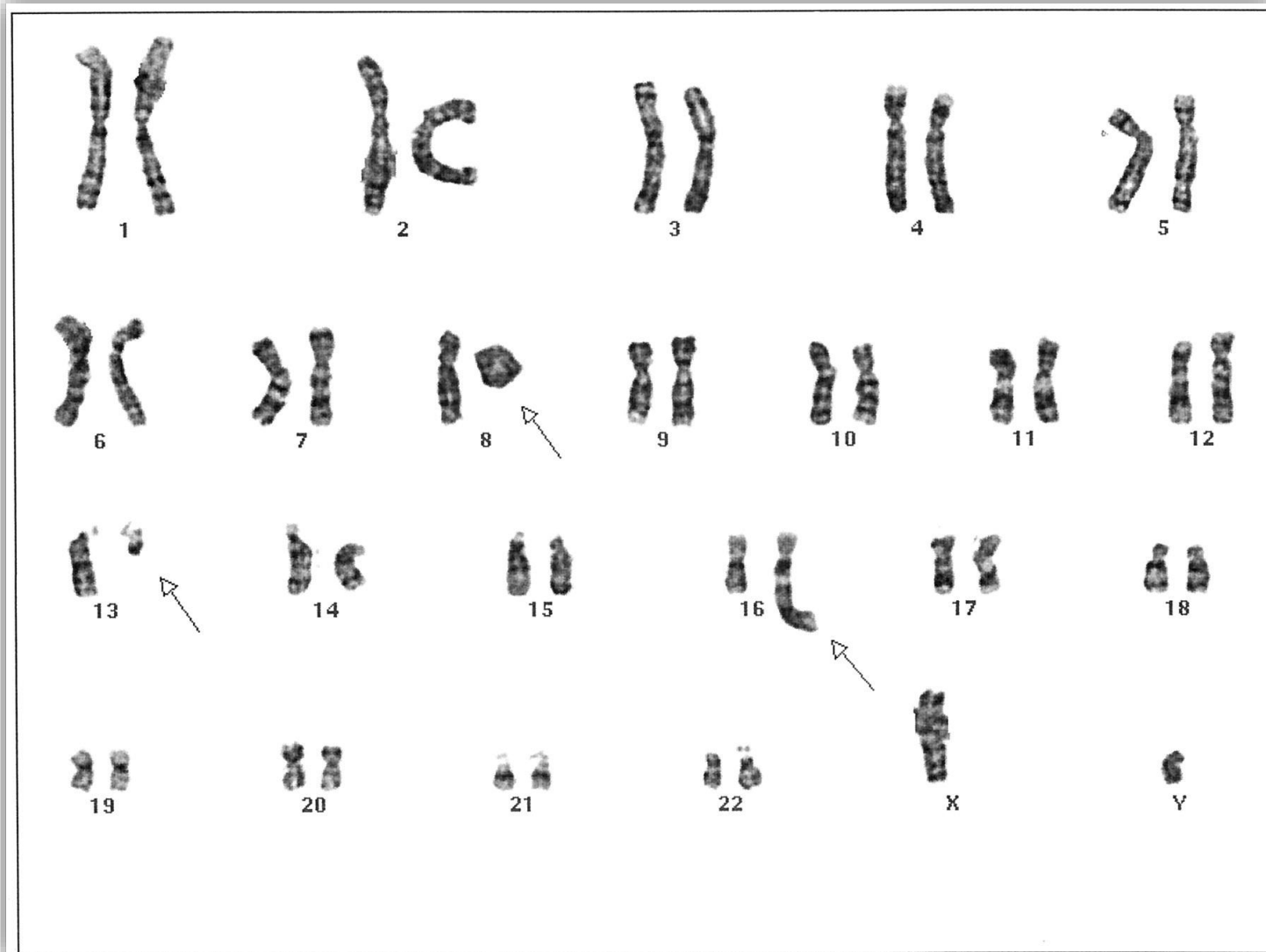
Анализ кариотипа



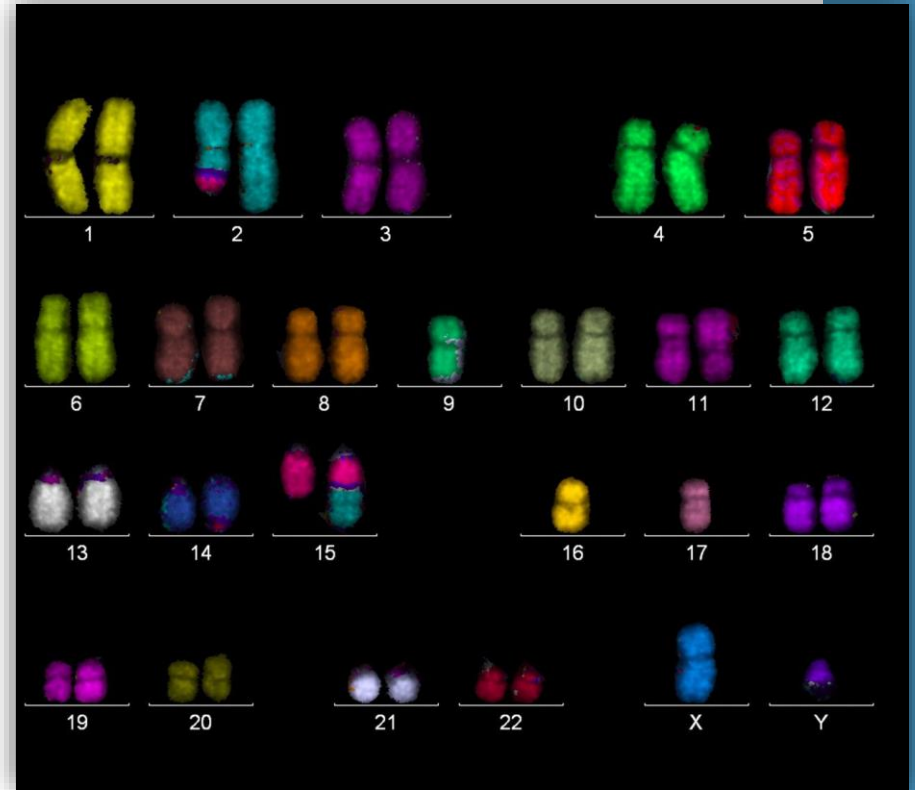
Анализ кариотипа



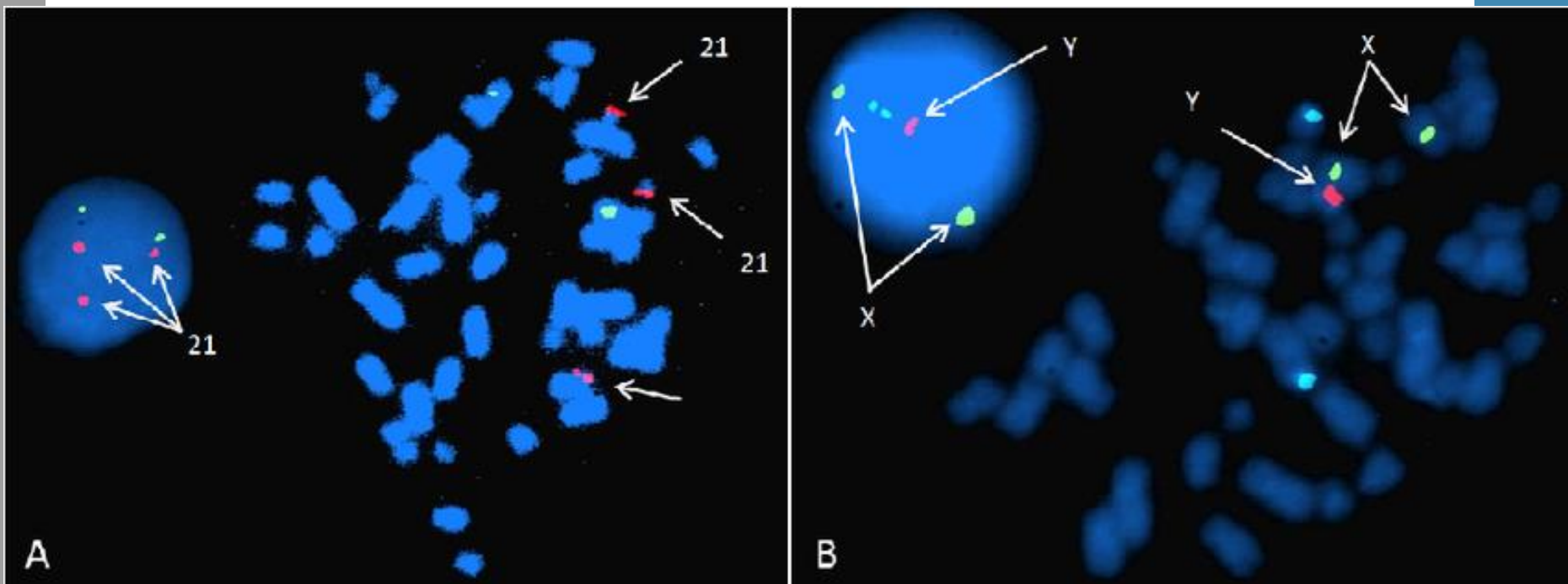
Анализ кариотипа



Метод флюоресцентной гибридизации in situ (FISH)



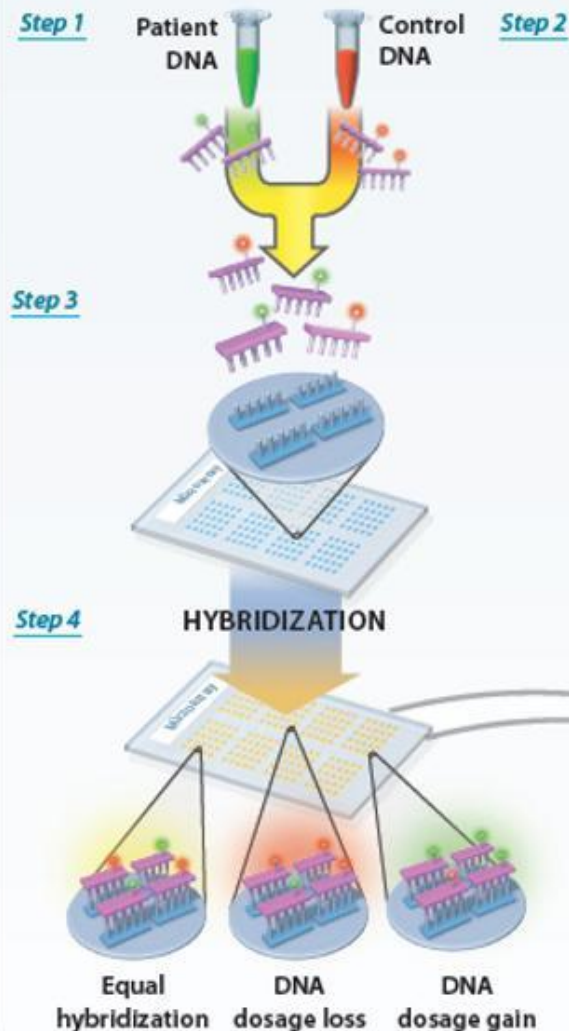
Метод флюоресцентной гибридизации in situ (FISH)



Метод сравнительной геномной гибридизации (CGH)

Array CGH: The Complete Process

- Steps 1-3** Patient and control DNA are labeled with fluorescent dyes and applied to the microarray.
- Step 4** Patient and control DNA compete to attach, or hybridize, to the microarray.
- Step 5** The microarray scanner measures the fluorescent signals.
- Step 6** Computer software analyzes the data and generates a plot.



Step 5



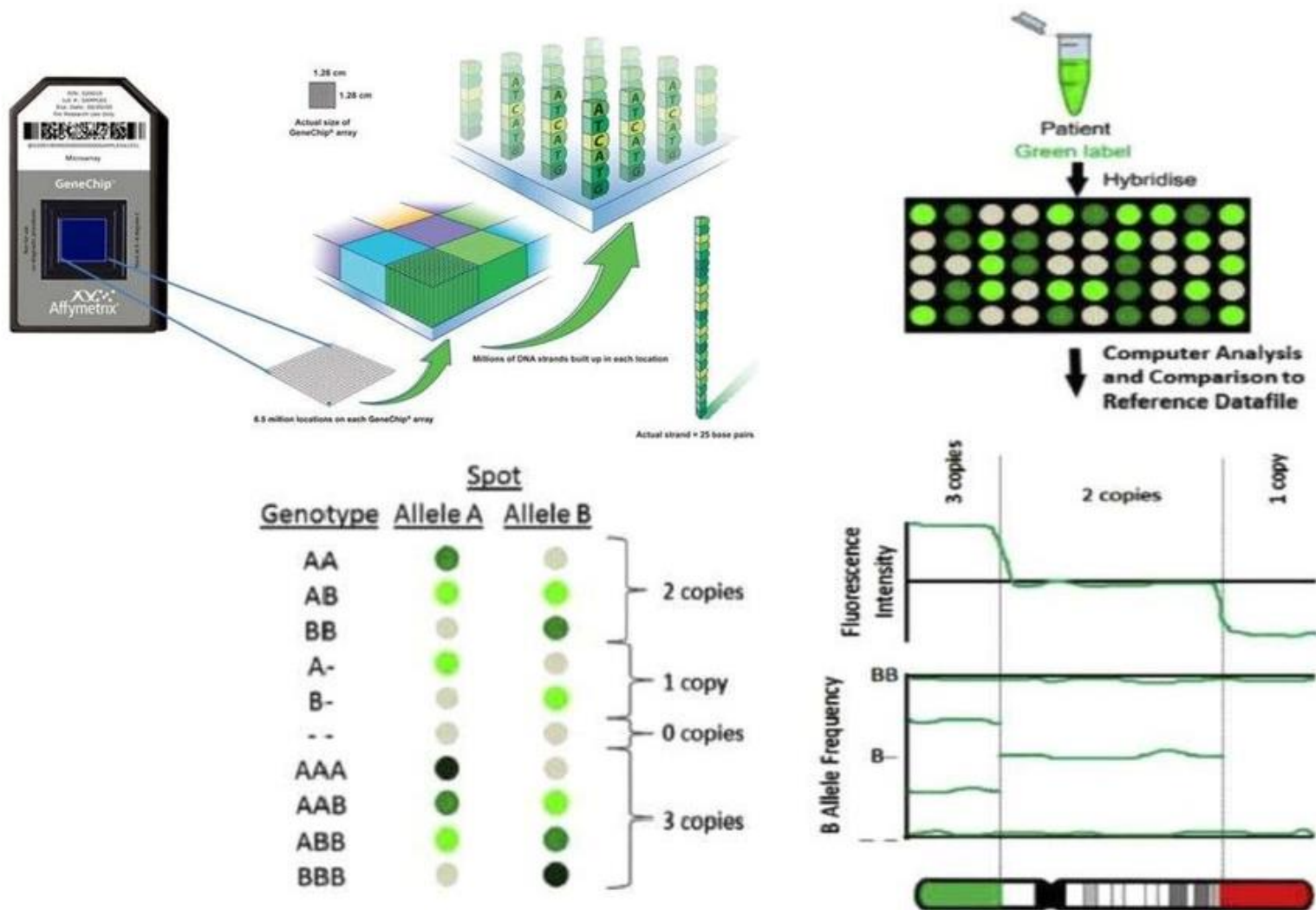
COMPUTER
SOFTWARE

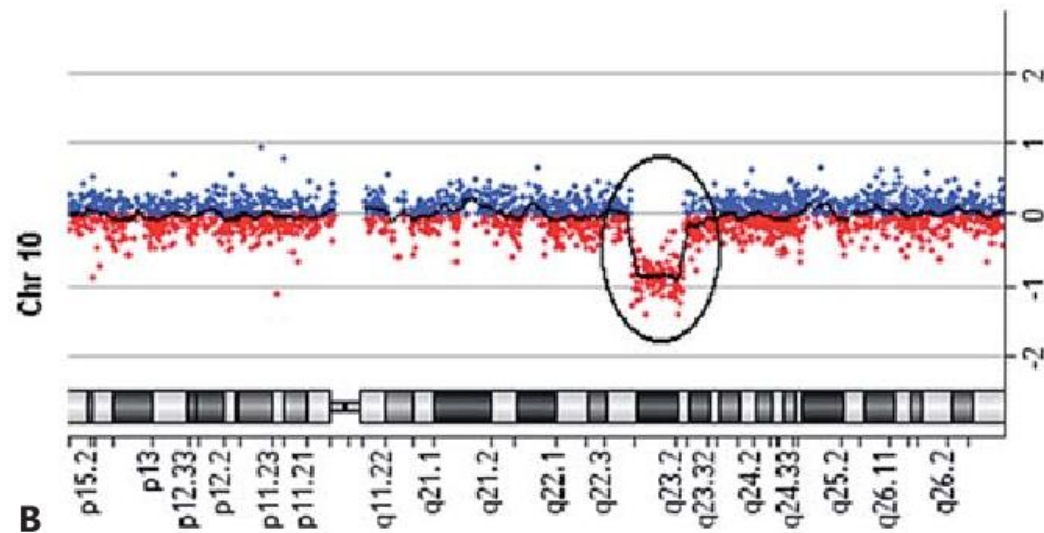
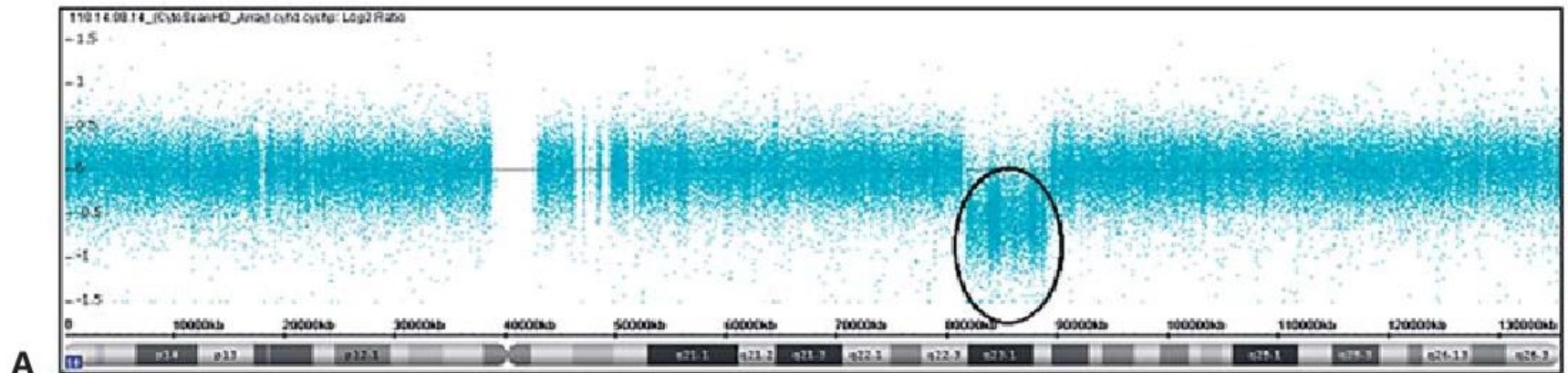
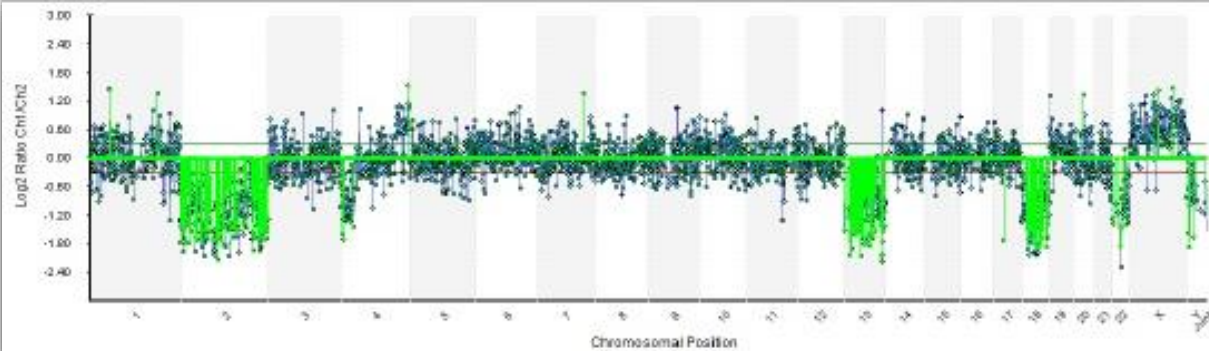
Step 6



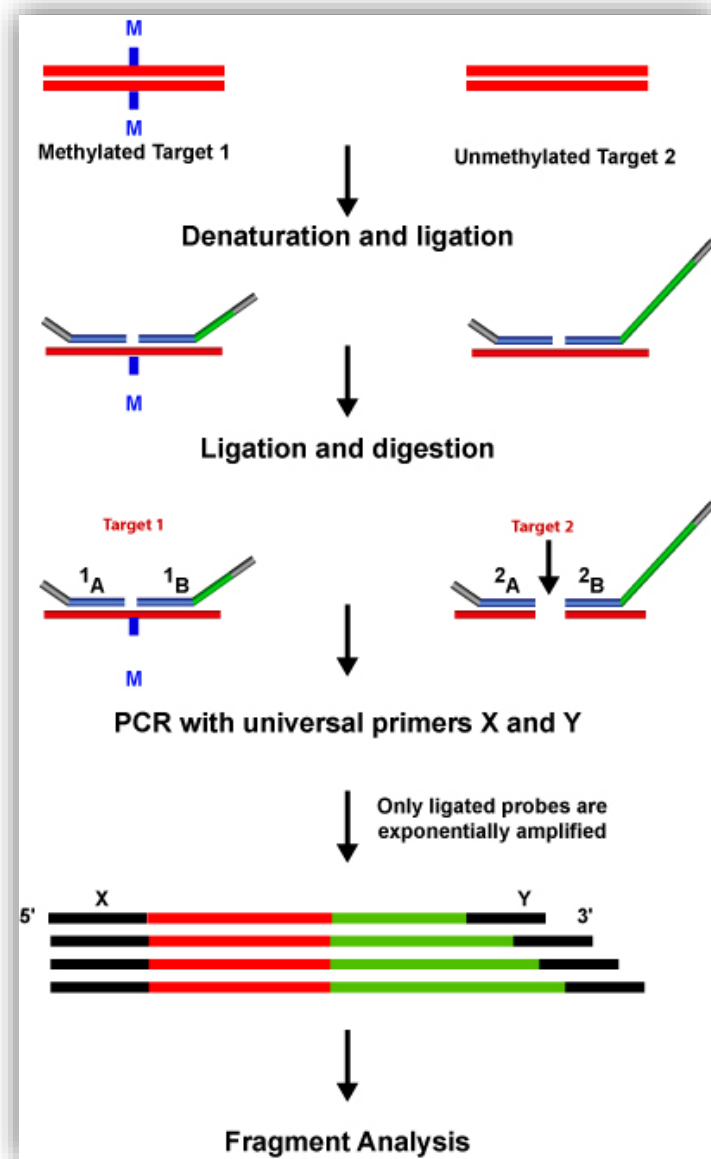
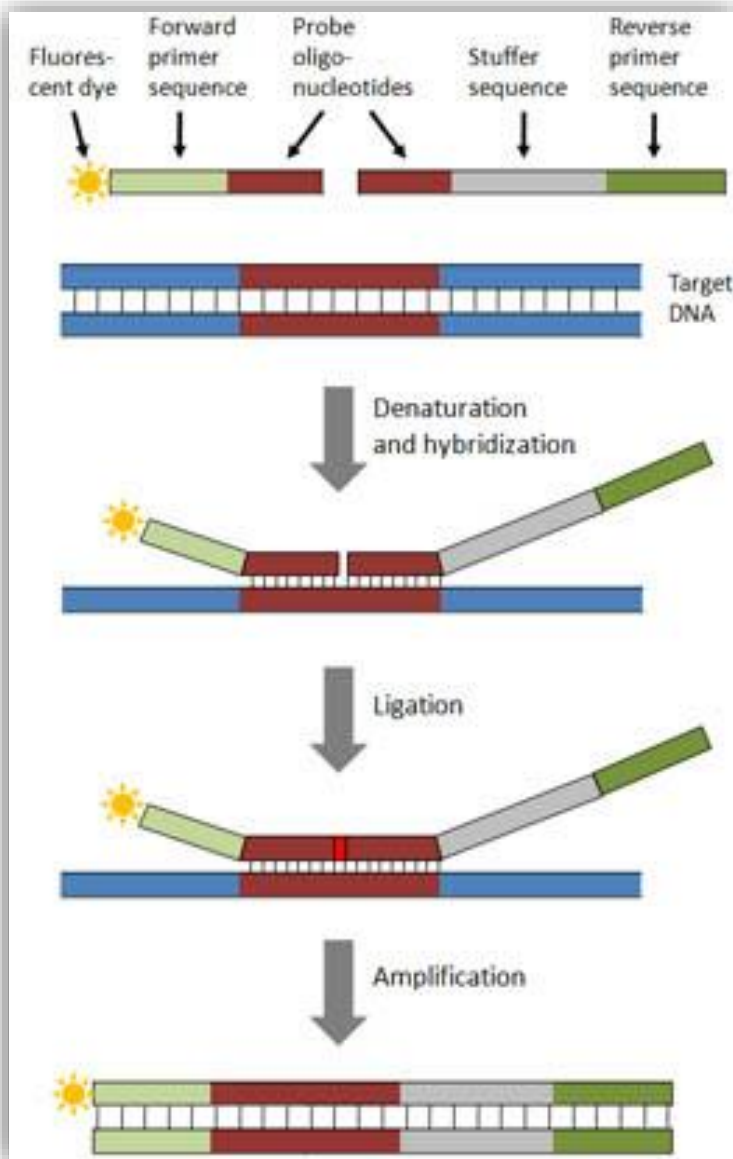
DATA PLOT
(Chromosome 7)

Хромосомный микроматричный анализ (microarray)





Количественная лигазная реакция (MLPA)



Что означают такие результаты?

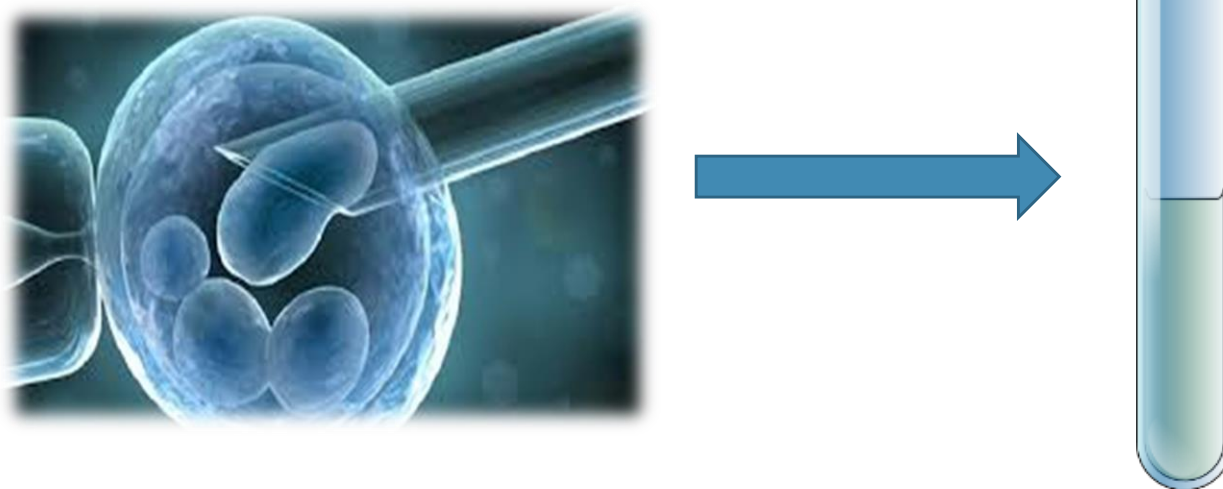
- 1) 47,XX +21
- 2) 47, XX +21/46, XX (45%/55%)
- 3) 47,XX +21 [15]/46,XX [6]
- 4) 45,X0
- 5) 47,XXY
- 6) 48,XXYY
- 7) 47,XXX
- 8) 47,XYY
- 9) 69, XXY

Что означают такие результаты?

- 10) 46, XX; inv 16(q13; q21) [20]
- 11) 46, XY; -5 (q13) [4]/ 46, XX [16]
- 12) 46, XX; t(9;22)(q13;q22) [20]
- 13) arr[hg19](1-22,X)x2
- 14) arr[hg19](1-22)x2,(XY)x1
- 15) 46,XY,9ph
- 16) 46 XY del(18)(q12)

Преимплантационное генетическое тестирование –

комплекс мероприятий, позволяющих исследовать генетический статус эмбриона, полученного при экстракорпоральном оплодотворении (ЭКО), до его попадания в полость матки и наступления беременности.

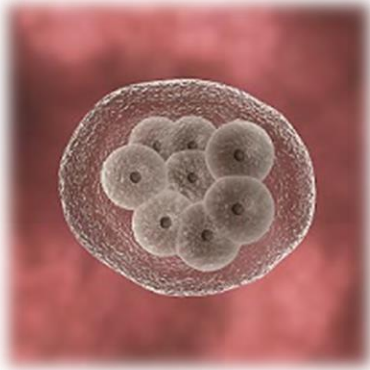


Варианты материала для биопсии



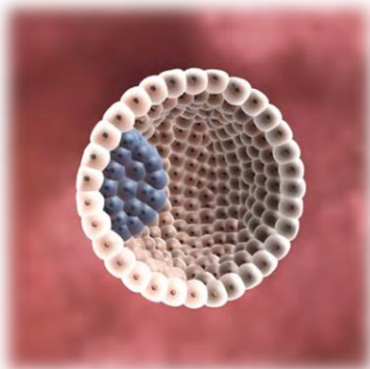
Полярные тельца

- Отсутствует риск мозаицизма
- Технология биопсии не нарушает целостности эмбриона
- Максимальное время для анализа, что удобно в случае необходимости свежего трансфера
- Невозможно оценить анеуплоидии отцовского происхождения и митотические



Бластомеры

- Максимальный риск мозаицизма
- Отработанная методика биопсии, которой владеет большинство эмбриологов

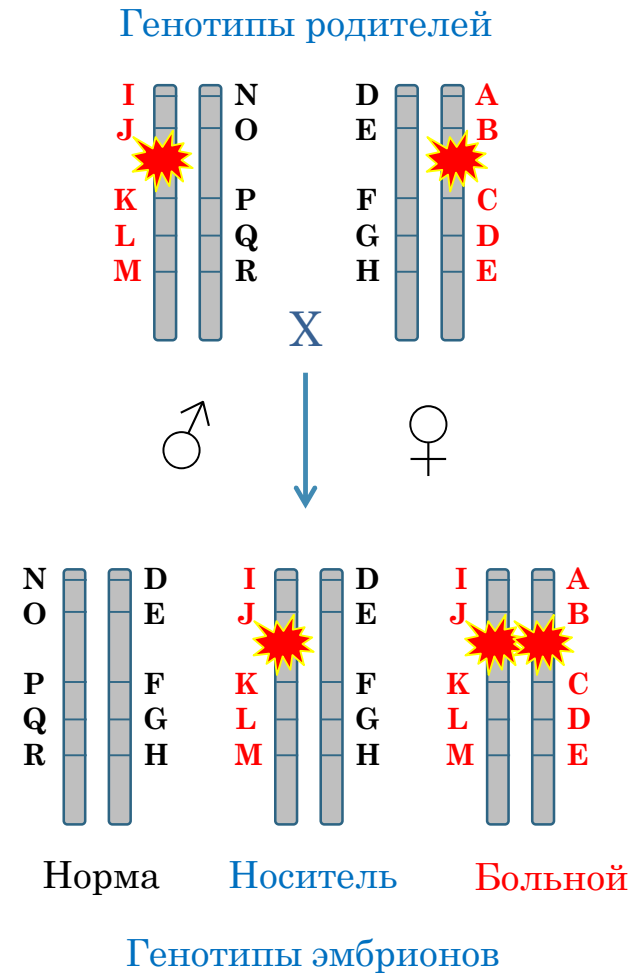


Трофэктодерма

- Больше клеток для анализа, выше достоверность тестирования
- Самый поздний тип биопсии – следовательно, число анализируемых образцов меньше за счет того, что часть эмбрионов не развивается
- **Необходима криоконсервация эмбрионов до получения результатов**

Типы ПГТ

- ПГТ хромосомных аномалий (или ПГС – скрининг)
 - Методом FISH на несколько хромосом
 - Методами CGH или NGS – на все хромосомы
 - ПГТ моногенных заболеваний
- Сочетание прямой и косвенной диагностики



Заключение

Современные методы медицинской генетики позволяют:

- ✓ Диагностировать патологию у больного и своевременно назначить лечение
- ✓ Определить риск рождения ребенка с наследственной патологией в семье
- ✓ Предотвратить рождение больного ребенка