1. Понятие цитогенетики человека. Объект исследования, задачи и функции

Микроскопические методы изучения хромосом человека применяются с конца XIX века. Соединение цитологического наблюдения хромосом с генетическим анализом сегрегации и сцепления генов привело к рождению цито-генетики. Термин «цитогенетика» введён В. Саттоном в 1903 г. Первоначально цитогенетика концентрировалась на проблемах корреляции генетических и цитологических (хромосомных) признаков. В последующем цитогенетика методически отделилась от генетики.

Цитогенетика - раздел генетики, изучающий закономерности наследственности во взаимосвязи со строением и функциями органоидов, в особенности хромосом; область генетики, изучающая цитологические основы наследственности и изменчивости.

Основной предмет исследований цитогенетики - хромосомы , их организация, функционирование и наследование.

Методы цитогенетики включают в себя анализ G-бэндинга, флуоресцентную in situ гибридизацию, сравнительную геномную гибридизацию и другие.

Задачей цитогенетического анализа является определение патологического кариотипа.

Цитогенетика использует методы генетики и цитологии и тесно связана с разделами этих наук - молекулярной генетикой, цитохимией, кариологией и другими. При классическом цитогенетическом анализе проводят одновременно цитологическое (микроскопическое) исследование хромосом и генетический анализ наследования признаков. Цитогенетику подразделяют на общую, в которую включают также популяционную и радиационную цитогенетику, и частную - цитогенетику растений, цитогенетику животных и цитогенетику человека (в том числе медицинскую цитогенетику).

Цитогенетика возникла в начале 20 века. Ее теоретический фундамент составили основные положения хромосомной теории наследственности. Современные положения этой теории, развитые Т. Морганом и его школой определили главные проблемы и направления цитогенетики, которые, в углубленном виде, разрабатываются и в современной науке

. Краткая история развития медицинской генетики

В истории медицинской генетики можно выделить несколько основных этапов:

) открытие законов Г. Менделя и изучение наследственности на уровне целостного организма;

) изучение генетики на хромосомном уровне и открытие сцепленного наследования Т. Морганом и его учениками;

) начало развитию современной генетики популяции дали теоретические и экспериментальные работы С.С. Четверикова;

) развитие молекулярной генетики началось с построения пространственной структуры молекул ДНК Д. Уотсоном и Ф. Криком.

В настоящее время наследственность изучается на всех уровнях: молекулярном, клеточном, организменном и популяционном.

Евгеника В первых двух десятилетиях XX века возникла эйфория от менделевской интерпретации многих болезней, в результате которой была существенно преувеличена роль наследственности в формировании поведения человека и в наследственной отягощённости населения. Концепция обречённости и вырождения семей с наследственной патологией стала ведущей для объяснения отягощённости общества потомством таких больных. На этом фоне стала набирать силу евгеника - ранее сформулированное Ф. Гальтоном направление (или даже наука) об улучшении породы (или природы) человека.

Под негативной евгеникой понимали ту её часть, которая ставила своей целью освобождение человечества от лиц с наследственной патологией путём насильственной стерилизации.

-е годы xx века. Три обстоятельства способствовали интенсивному развитию медицинской генетики во второй половине XX века:

Во-первых, благодаря снижению уровня инфекционных и алиментарных заболеваний после второй мировой войны больше внимания и финансов уделялось болезням эндогенной природы, в том числе наследственным.

Во-вторых, прогресс лабораторной и инструментальной медицины, широкий обмен информацией обеспечили более точную нозологизацию синдромов и болезней.

В-третьих, прогресс общей генетики и биологии принципиально изменил методологию генетического изучения человека (генетика соматических клеток). Главным итогом медицинской генетики к концу XX века стало создание генетических технологий для медицины, которые позволяют ускоренно решать трудные вопросы в медицине и здравоохранении.

. Принципы и методы получения клеточных культур, приготовление цитогенетических препаратов

Наиболее распространённым методом в цитогенетике человека является световая микроскопия. Электронная и конфокальная лазерная микроскопия применяется в современной цитогенетике только с исследовательскими целями.

Объектом цитогенетических наблюдений могут быть делящиеся соматические, мейотические и интерфазные клетки. Большинство цитогенетических исследований выполняется на соматических клетках.

Получение препаратов митотических хромосом (лимфоциты наиболее чаще)

· наличие делящихся клеток в цитологическом препарате. Наиболее удобным объектом для медицинских генетиков оказалась культура лимфоцитов периферической крови.

· использование колцемида (или колхицина), разрушающего веретено деления и останавливающего клеточное деление на стадии метафазы. Хромосомы в присутствии колцемида укорачиваются за счёт продолжающейся конденсации и, следовательно, в препарате они легче отделяются одна от другой.

· гипотонизация клеток (гипотонический шок)^ гипотонический раствор хлорида кальция или цитрата натрия; => клетки набухают, ядерная оболочка разрывается, межхромосомные связи рвутся и хромосомы свободно плавают в цитоплазме. Клеточную суспензию фиксируют смесью метанола и уксусной кислоты (3:1), затем суспензию центрифугируют и меняют фиксатор.

Окраска препаратов

Все методы окраски препаратов можно разделить на 3 группы: простые, дифференциальные, флюоресцентные.

Наиболее распространён метод окраски по Гимзе, или простая окраска, рутинная окраска. Краситель Гимзы окрашивает все хромосомы равномерно по всей длине . При этом контурируются центромера, спутники (иногда со спутничными нитями) и вторичные перетяжки. При простой окраске возможна только групповая идентификация хромосом, поэтому данный метод используется для ориентировочного определения числовых аномалий кариотипа.

Флюоресцентное алкилирующее вещество акрихин-иприт. Этот вариант был назван Q-методом. Данный метод требует быстрой обработки препарата, что не всегда удобно. Для просмотра препарата надо пользоваться люминесцентным микроскопом.

Наиболее широко используется G-окраска (Гимза). При этом хромосомы предварительно обрабатывают (либо инкубация в солевом растворе, либо обработка протеазой). Предварительная обработка частично нарушает структуру хромосом, которая в некоторых участках восстанавливается при окраске, что и придаёт хромосоме индивидуальную исчерченность, или полосатость. Механизм образования сегментов пока недостаточно ясен. Предполагается, что окрашенные сегменты - гетерохроматиновые, поздно реплицирующиеся участки хромосом с повторяющимися последовательностями ДНК, а неокрашенные - эухроматиновые участки, в которых расположены кодирующие последовательности.

. Типы хромосомной ДНК

вида ДНК:

· аутосомная-ДНК. Аутосомная ДНК - это часть хромосомной ДНК, которая не включает две половых (гоносомные) хромосомы - X и Y.

· Х-хромасомная ДНК

· Y-хромасомная ДНК

· митохондриальная и хлоропластная ДНК

Отличительная особенность клеток эукариот состоит в том, что часть генетической информации у них заключена в молекулах, находящихся вне хромосом, локализованных в ядре. Существуют два типа таких цитоплазматических ДНК: одни находятся в митохондриях эукариот, другие - в хлоропластах зеленых растений и водорослей. Как и все цитоплазматические элементы, они наследуются по материнской линии, а не по законам Менделя. Большинство белков, из которых построены функциональные и структурные компоненты митохондрий и хлоропластов, кодируются хромосомной ДНК, синтезируются на рибосомах в цитоплазме и транспортируются в соответствующие органеллы. Однако несколько белков кодируются неядерной ДНК и синтезируются на особых рибосомах органелл. Таким образом, органеллы - это результат объединенных усилий двух геномов и двух трансляционных аппаратов.

. Равномерная и дифференциальная окраски хромосом в целях проведения различных видов цитогенетических анализов

Очень важным моментом для анализа хромосом является их окрашивание. Сплошное или равномерное окрашивание хромосом получило название рутинной окраски. Для рутинной окраски используют простые красители: азур-эозин или краситель Гимза. Использование такого метода окрашивания позволяет провести подсчет хромосом и их групповую принадлежность, проанализировать повреждения хромосом, называемые хромосомными аберрациями. Однако этот метод имеет ограничения при кариотипировании, поскольку не дает возможности индивидуальной идентификации хромосом. Методы окраски хромосом, дающие достаточно полное представление о кариотипе, появились в 70-х годах XX в. - это методы дифференциального окрашивания хромосом. Большое практическое значение этих методов состоит в том, что дифференциальная окраска позволяет идентифицировать все хромосомы человека благодаря специфическому линейному рисунку - продольной окрашиваемости для каждой хромосомы в соответствии с типом окраски. На практике наибольшее применение получили методы дифференциальной окраски красителем Гимза (G-окраска) и флуоресцирующим красителем акрихином или акрихинпиритом. Для каждого из видов окраски разработаны многочисленные модификации технического выполнения этапов, в этих случаях применяется трехбуквенная система обозначения вида окраски. Например, G-метод с применением трипсина (GTG); Q-метод с использованием акрихина и его производных (QFQ) и т. д. Методы дифференциального окрашивания пригодны для анализа хромосом, полученных из культур клеток любых тканей.

. Понятие о кариотипе. Аутосомы и половые хромосомы. Морфология хромосом человека, строение хромосом

Кариоти́п - совокупность признаков (число, размеры, форма и т. д.) полного набора хромосом, присущая клеткам данного биологического вида (видовой кариотип), данного организма (индивидуальный кариотип) или линии (клона) клеток. Включает женские и мужские хромосомы(46=22 аутосомы и 2 половые хромосомы).

Аутосомы - парные хромосомы, одинаковые для мужских и женских организмов. В клетках тела человека 44 аутосомы (22 пары).

Строение хромасомы

Метафазная хромосома состоит из двух продольных субъединиц - хроматид, связанных между собой в области первичной перетяжки - центромеры. Обе хроматиды несут совершенно идентичный набор генов. Центромера делит хромосому на два плеча: короткое - р и длинное - q. Если оба плеча хромосомы равны по длине, то такая хромосома называется метацентрической, если неравны -субметацентрической, если же одно из плеч очень короткое, то такая хромосома называется акроцентрической. Некоторые хромосомы имеют вторичные перетяжки. Некоторые вторичные перетяжки связаны с образованием ядрышек, в этом случае их называют ядрышковыми организаторами. В ядрышковых организаторах расположены гены, ответственные за синтез РНК. Концевые участки хромосом, богатые структурным гетерохроматином, называются теломерами. Теломеры препятствуют слипанию концов хромосом после редупликации и тем самым способствуют сохранению их целостности. У некоторых хромосом (акроцентрических) в области теломер имеются удаленные структуры (спутники); это спутничные хромосомы (У человека спутники имеются у пяти пар хромосом). Хромосомы дифференцированы по длине. При специальных методах окраски (дифференциальная окраска) видно, что хромосомы состоят из чередующихся участков - дисков: С, Т, R, G, N, Q.

· Исследование тонкой структуры хромосом показало, что они состоят из ДНК, белка и небольшого количества РНК. Молекула ДНК несет отрицательные заряды, распределенные по всей длине, а присоединенные к ней белки - гистоны заряжены положительно. Этот комплекс ДНК с белком называют хроматином. Хроматин может иметь разную степень конденсации. Конденсированный хроматин называют гетерохроматином(менее активен),деконденсированный хроматин - эухроматином. Максимально конденсирован хроматин во время митотического деления клеток, тогда его можно обнаружить в виде плотных хромосом.

Плотную упаковку, специфическую укладку хромосомной ДНК обеспечивают белки гистоны. Гистоны располагаются по длине молекулы ДНК в виде блоков. В один блок входит 8 молекул гистонов, образуя нуклеосому. Размер нуклеосомы около 10 нм. Нуклеосомы имеют вид нанизанных на нитку бусинок. Нуклеосомы и соединяющие их участки ДНК плотно упакованы в виде спирали, на каждый виток такой спирали приходится шесть нуклеосом. Так формируется структура хромосомы.

. Принципы классификации хромосом в кариотипе человека. Понятие об идеограмме хромосомы. Правила записи кариотипа человека

Основы существующей унифицированной классификации хромосом были заложены в 1960 году в Денвере. В основу классификации положены различия в длине хромосом и расположении центромеры. На основании различий в длине выделены 23 пары хромосом, при этом парам, имеющим наибольшую длину, дан наименьший номер (самыми длинными являются хромосомы 1- и 2-й пары). Выделяют группы метацентрических, субметацентрических и акроцентрических хромосом. Отнесение хромосом к тому или иному типу производится на основе расчета центромерного индекса(ЦИ) - отношения длины короткого плеча(р) к длине всей хромосомы (метацентрических ЦИ~0,5; субметацентрических ~ 0,25 - 0,35; акроцентрических <= 0,2). На основании комбинации этих двух основных признаков хромосомы сгруппированы в 7 групп, обозначаемых буквами английского алфавита (от А до G).

Группа А - 1, 2, 3 (метацентрики); Группа В - 4 и 5 (субметацентрические); Группа С - с 6 по 12 и половую Х-хромосому (метацентрические и субметацентрические); Группа D 13-15 (акроцентрические); Группа Е - с 16 по 18 (метацентрики и субметацентрики); Группа F - 19 и 20 (метацентрических); Группа G - 21 и 22 и Y-хромосомы (акроцентрическим).

Метафазные хромосомы одного генома, расположенные в определенном порядке, образуют идиограмму - схематическое отражение кариотипа.

Правила записи кариотипа человека

Для систематизации цитогенетических описаний была разработана Международная цитогенетическая номенклатура, основанная на дифференциальном окрашивании хромосом и позволяющая подробно описывать отдельные хромосомы и их участки. Запись имеет следующий формат: [номер хромосомы] [плечо] [номер участка].[номер полосы]

Длинное плечо хромосомы обозначают буквой q, короткое - буквой p; хромосомные аберрации обозначаются дополнительными символами.

Пример: 2-я полоса 15-го участка короткого плеча 5-й хромосомы записывается как 5p15.2.

Для кариотипа используется запись в системе ISCN 1995, имеющая следующий формат:

[количество хромосом], [половые хромосомы], [особенности]

Для обозначения половых хромосом у различных видов используются различные символы (буквы), зависящие от специфики определения пола таксона (различные системы половых хромосом). Так, у большинства млекопитающих женский кариотип гомогаметен, а мужской гетерогаметен, соответственно, запись половых хромосом самки XX, самца - XY.

Пример: индивидуальный кариотип мужчины с транслокацией 21-х участков короткого (p) и длинного плеч (q) 1-й и 3-й хромосом и делецией 22-го участка длинного плеча (q) 9-й хромосомы:

, XY, t(1;3)(p21;q21), del(9)(q22)

. Понятие о сбалансированных перестройках хромосом в кариотипе, классификация, механизмы их образования

Сбалансированные - в геноме присутствуют все локусы, однако их расположение в хромосоме отличается от исходного нормального. Сбалансированные перестройки клинически не оставляют существенных фенотипических отклонений.

К сбалансированным хромосомным мутациям относятся:

· Робертсоновские трнслокации

· Реципрокные трансляции

· Инверсия

· Инсерция

Транслокация - обмен участками между негомологичными хромосомами (в мейозе).тип хромосомных мутаций, при которых происходит перенос участка хромосомы на негомологичную хромосому. Робертсоновские транслокации, или центрические слияния, при которых происходит слияние акроцентрических хромосом с полной или частичной утратой материала коротких плеч.

Реципрокные транслокации являются сбалансированной хромосомной перестройкой, при их формировании не происходит потери генетического материала. Они являются одной из самых распространенных хромосомных аномалий в человеческой популяции, частота носительства варьирует от 1/1300 до 1/700. Носители реципрокных транслокаций, как правило, фенотипически нормальны, при этом имеют повышенную вероятность бесплодия, сниженной фертильности, спонтанных выкидышей и рождения детей с врождёнными наследственными заболеваниями, так как половина гамет у них генетически несбалансирована из-за неравновесного расхождения перестроенных хромосом в мейозе.

Основной вид реципрокной транслокаци - Робетсоновские трансляции(РТ). РТ происходит в результате слияния длинных плеч акроцентрических хромосом (13,14,15.21,22 - у человека). Для формирования РТ необходимо два разрыва двух хромосом (в неопределенной близости от центромеры). Длинные плечи сливаются, а короткие утрачиваются. Учитывается факт, что короткие плечи представлены гетерохроматином поэтому РТ является сбалансированной. РТ очень опасны, т.к. носители имеют несбалансированные гаметы.

Инверсия - встраивание фрагмента хромосомы на прежнее место после поворота на 180°. В результате нарушается порядок расположения генов.

Инсерция(вставка) - когда один сегмент хромосомы переносится на другую. Бывает: прямой; инвертирующей (повернута на 180о). Для того чтобы произошла инсерция необходимо как минимум 3 разрыва.

. Понятие о несбалансированных перестройках хромосом в кариотипе, классификация, механизмы их образования

Несбалансированные перестройки характеризуются утратой или удвоением участка хромосомы. Несбалансированные аберрации хромосом приводят к развитию патологического фенотипа.

К несбалансированным относятся:

· Делеция

· Кольцовые хромосомы

· Изохромосомы

· Дупликация

· Результат носительства оберантных хромосом у родителей

· Маркерные хромосомы

· Однородительская дисомия

Делеция - утрата одного из участков хромосомы (внутреннего или терминального), что может стать причиной нарушения эмбриогенеза и формирования множественных аномалий развития. Она может быть терминальной или интерстициальной.

Изохромосомы. Это оберантная хромосома с 2мя одинаковыми плечами. Изохромосомы возникают из-за: 1)возникают в тех случаях, когда центромера делится не продольно, а поперечно. В результате одно из плеч теряется, а второе удваивается; 2)происходит изохроматидный разрыв, в результате которого возникает 2 центрических фрагмента, образовавшиеся плечи также удваиваются.

Дупликация - мутация, нарушающая структуру хромосом, представляет собой удвоение участка хромосомы, содержащего гены.

Кольцевая хромосом -возникают, если наблюдаются разрывы в обоих плечах какой-либо хромосомы. Ацентрические фрагменты теряются, а центрическая часть хромосомы замыкается в кольцо. Кольцевая хромосома является несбалансированной.

. Цитогенетическая характеристика распространенных заболеваний, связанных с числовыми аномалиями половых хромосом

Числовые аномалии половых хромосом чаще всего имеют вид трисомий и моносомий.

. Болезнь Шерешевского-Тернера. (Q96.9)

Моносомия короткого плеча Х - хромосомы, синдром ХО.

Кариотип 45 Х0. Болеют только женщины. Частота - 1:10 000 новорожд. девочек.

Имеются три группы отклонений:

) гипогонадизм (половой инфантилизм) выявляется в пубертатном периоде, аменорея в 96%, бесплодие - более 96-99%.

) врожденные соматические пороки развития:

аномалии мочевой системы (подковообразная почка, удвоение почек и мочевыводящих путей) - 43-60%

умственная отсталость - 18-50%

аномалии сердечно-сосудистой системы (ВПР - коарктация) - 43%

нарушение слуха - 40-53%

нарушение зрения - 22%

) низкий рост, при этом: короткое туловище - 97%, короткая шея - 71%, крыловидная складка на шее (птеригиум) - 53%, низкий рост волос на затылке - 73%.

. Болезнь Клайнфельтера (Q98.0)

Кариотип 47ХХУ.Болеют только мужчины. Частота - 1:10 000 новорожд. мальчиков.

Клинические признаки заболевания проявляются в основном с наступлением пре- и пубертатного периода:

высокий рост

непропорционально длинные конечности (долихомелия)

гипоплазия яичек (99%) и полового члена (41%)

половой инфантилизм (70%), нарушение сперматогенеза (100%), бесплодие

склонность к ожирению (по женскому типу), гинекомастия (55%)

снижение интеллекта, умственная отсталость (10%)

. Синдром полисомии по Х-хромосоме у женщины - «сверхженщина»

Кариотип 47 ХХХ. Болеют только женщины. Частота - 1: 1 000.

Симптомы:

умственная отсталость различной степени в 75%

шизофрения с неблагоприятным типом течения.

. Синдром полисомии по У-хромосоме у мужчин

Кариотип 47 ХУУ. Болеют только мужчины. Частота 1: 1 000.

Клинически выявляется:

некоторое снижение интеллекта, проявляется агрессивностью в поведении

высокий рост (больше 180 см)

. Интернациональная номенклатура хромосом человека: правила записи кариотипа при нарушениях кариотипа

Для систематизации цитогенетических описаний была разработана Международная цитогенетическая номенклатура (International System for Cytogenetic Nomenclature, ISCN), основанная на дифференциальном окрашивании хромосом и позволяющая подробно описывать отдельные хромосомы и их участки. Запись имеет следующий формат:

[номер хромосомы] [плечо] [номер участка].[номер полосы]

Длинное плечо хромосомы обозначают буквой q, короткое - буквой p, хромосомные аберрации обозначаются дополнительными символами.

Таким образом, 2-я полоса 15-го участка короткого плеча 5-й хромосомы записывается как 5p15.2.

«+» - обозначает добавление хромосомного материала

«-» - обозначает отсутствие хромосомного материала

Если значок «+» или «-» поставить после символа хромосомы - это увеличение или уменьшение числа хромосомы.

р+ - увеличение короткого плеча 17ой хромосомы.

Для обозначения наименования структурной перестройки:

DEL- делеция

DIS- дицентрическая хромосома

r- кольцевая хромосома

DUP- дупликация

i - Изохромосома

ins - Инсерция

inv- иверсия

MAR- маркерная хромосома

DMIN-Дуплицированная min-хромосома

t - транслокация

Rob- Робертсоновская транслокация

При описании хромосомных аномалий сначало записываются аномалии половых хромосом, а затем аутосом (располагаются в порядке их хромосомных номеров, независимо от вида перестройки). Каждая хромосомная аномалия разделяется запятой. Если используются буквенные обозначения, то хромосома, вовлеченная в аномалию записывается в круглых скобках.

r(14) - кольцевая 14-ая хромосома.

Если в перестройку вовлечены две и более хромосомы, то они отделяются «;»

t(x;6) - транлокация между хромосомами х и 6.

Точки разрыва

, ХХ,t (2;4) (q21;p11) - женщина с реципрокной трансляцией между 2 и 4ой хромосомами, точки разрыва для 2ой хромосомы расположены в 1ом сегменте второго района длинного плеча, для 4ой - 1ый район, 1ый сегмент короткого плеч.

. Понятие о флуоресцентной in situ гибридизации (FISH)

Флюоресце́нтная гибридиза́ция in situ, или метод FISH- цитогенетический метод, который применяют для детекции и определения положения специфической последовательности ДНК на метафазных хромосомах или в интерфазных ядрах in situ. Кроме того, FISH используют для выявления специфических мРНК в образце ткани. В последнем случае метод FISH позволяет установить пространственно-временные особенности экспрессии генов в клетках и тканях.

Метод FISH используют в преимплантационной, пренатальной и постнатальной генетической диагностике, в диагностике онкологических заболеваний, в ретроспективной биологической дозиметрии.

При флюоресцентной гибридизации in situ используют ДНК-зонды (ДНК-пробы), которые связываются с комплементарными мишенями в образце. В состав ДНК-зондов входят нуклеозиды, меченные флюорофорами (прямое мечение) или такими конъюгатами, как биотин или дигоксигенин (непрямое мечение). При прямом мечении связавшийся с мишенью ДНК-зонд можно наблюдать при помощи флюоресцентного микроскопа сразу по завершении гибридизации. В случае непрямого мечения необходима дополнительная процедура окрашивания, в ходе которой биотин выявляют при помощи флуоресцентно-меченного авидина или стептавидина, а дигоксигенин - при помощи флюоресцентно-меченых антител. Хотя непрямой вариант мечения ДНК-проб требует дополнительных реактивов и временных затрат, этот способ позволяет добиться обычно более высокого уровня сигнала за счёт присутствия на молекуле антитела или авидина 3-4 молекул флюорохрома. Кроме того, в случае непрямого мечения возможно каскадное усиление сигнала.

. Этапы FISH анализа

) получение препаратов и их переподготовка

) лечение ДНК-пробы

) гибридизация с ДНК пробой

) детекция ДНК - зондов при микроскопическом анализе

І этап:

Денатурация ДНК → однонитивые последовательности

Обробатываем препарат РНК-азой или пипсином

Денатурация достинается воздействием 70% формалином (разрушает водородные связи ДНК) или нагревание до 75%

ІІ этап:

Денатурация ДНК проб осуществляется путем кратковременного нагревания в течении 5 мин при 100оС.

ІІІ этап:

Гибридизация (воссоединение исследуемой ДНК с ДНК-зондом).

По принципу комплементарности ДНК зонд присоединяется к исследуемой ДНК, т.к. он помечен флуоресцентным красителем.

. Понятие о микродиссекции. Этапы микродиссекции

Микродиссекция - это процесс «вырезания» целой хромосомы или какого-либоспецифического участка. Затем этот участок клонируют и получают ДНК занд. Механизм создания зондов полного окрашивания стало возможно после образования метода микродиссекции.

Процесс микродиссекции. Занды полного окрашивания хромосом окрашивают хромосому по всей длине (поэтому они не пригодны для окраски внутрихромосомных перестроек).

Этот метод был предложен в 1981 для картирования специфических последовательностей политенных хромосом Drosofila melanogaster. Суть метода заключается в том, что из метафазных хромосом под микроскопом вырезают интересующий участок, который затем клонируют, получая специфическую для данного района библиотеку. Является достаточно быстрым и эффективным методом получения библиотек, специфичных для определенных хромосомных участков.

Этапы:

.«вырезания» целой хромосомы или какого-либо специфического участка.

. клонирование данного участка

.получение ДНК зондов. Механизм создания зондов полного окрашивания стало возможно после образования метода микродиссекции.Зонды полного окрашивания хромосом окрашивают хромосому по всей длине (поэтому они не пригодны для окраски внутрихромосомных перестроек).

Использование метода микродиссекции позволило получить маркеры, сыгравшие важную роль в исследовании группы наследственных лейкемий, нейрофиброматоза-2, синдрома Беквита-Видеманна.

Лазерная захватывающая микродиссекция - метод изоляции отдельных клеток с необходимыми характеристиками из биологических образцов ткани, позволяющий избежать возможных повреждений или изменений клетки либо минимизировать их.

Процедура

Прозрачная плёнка накладывается на образец, затем нужные клетки идентифицируются под микроскопом. Под воздействием лазерного луча клетки слипаются с плёнкой и вместе с ней вынимаются из образца для дальнейшего исследования.

Применение

ЛЗМ позволяет избежать повреждений морфологии клетки и её химического состава, что делает этот метод оптимальным при изучении ДНК, РНК, белкового состава клетки. Среди возможных образцов - мазки крови, цитологические препараты, культуры клеток, и даже замороженные и парафинированные образцы.

К недостаткам метода микродиссекции относятся техническая сложность и то, что после получения библиотеки необходимо проводить картирование полученных клонов.

15. Понятие о псевдоцветах. 24-цветный M-FISH на основе WCP

M-fish общее название для всех методов fish, которые используют флуорохром-спецефические зонды и ДНК- специфические пробы и фильтры.

Суть: общий признак: в раздельной цифровой регистрации сигналов всех использованных в анализе флуорохрома. Это достигается путем последовательной смены фиьтров. Т.о. все полученные изображеня сохраняются в памяти. Накладываются друг на друга и образуется результирующая картинка. Единственное ограничение - ограничение числа зондов, меченых флуорохромов с неперекрывающимися спектрами возбуждения.

После наложения картинок в одном и том же месте получается результирующий всевдоцвет.

Для того чтоб покрасить все хромосомы, нужно иметь 5 флуорохромов.

Количество псевдоцветов флуорохромов для кариотипа человека вычесляется по формуле.

n -1 n - количество флуорохрома.

Помимо 5 флуорохромов используют окраску для визуализации клеточных ядер и самих хромосом.

способа fish:

. 24-х цветовая

2. Sky (спектральное кариотипирование)

. Межвидовое цветное сегментирование хромосом (RxFish)

-цветовая Fish - для ее реализации используют зонды полного окрашивания хромосом. Они метятся стандартными красителями. Проведение 24-х fish возможно только нв метофазных пластинках. Затем делают фотографии - это результирующая картинка. 6 зонд - для противоокраски хромосом. 24-aя fish позволяет идентифицировать любые транслокации негомологичных хромосом. Этот способ не результативен при выявлении инверсий, делеций и дупликаций.

Достоинство: можем сделать первичный анализ кариотипа в течении 1-2 суток.

. Sky-fish, многоцветный бендинг на основе FISH (Rx-FISH)

SKY ничем не отличается от 24-x fish. Также используетс полное окрашивание хромосом. Отличие заклочается в регистрации сигнала. SKY - занимается спектральной регистрацией флуорохромов.

-х fish - цифровая регистрация сигнала.

Также при sky используется 5 флуорохромов.

- в зеленой области

(2-3) 2 - в красной области

(4-5) и два в УФ

Пик сигнала приходит на середине ДНК пробы. Метод Sky более информативный, т.к. он одномоментно снимает все характеристики, хорошо выявляет траслокации между негомологичными хромосомами, также определяет дереватные хромосомы, которые возникли в результате множественных хромосомных перестроек + при выявление маркерных хромосом.

. Метод межвидового цветного сегментирования хромосом

В отличии от 24-х fish позволяет выявить внутрихромосомные перестройки ДНК пробы. Метится 3-мя флуорохромами, что обеспечивает появление 7ми всевдоцветов. Однако ДНК зонды специфично окрашивают хромосомы, из-за чего они имеют специфическую исчерченность (за счет того, что ДНК зонды выделяются из 2-х видов гиббонов).

Недостаток: большой размер многих цветных районов (н-р) 15,18, 21, 22, У-хромосомы и Х выглядят как один цыетной бэнд, т.к. они маленикие). Внутрихромосомные перестройки у них невозможно выявить.

Достоинства: позволяет выявить значительную часть внутрихромосомных. Межхромосомных перестроек. Существует вохможность анализа всего генома человека в одном эксперементе. Хорошо разработано програмное обеспечение, коммерческие доступы ДНК пробы.

. Виды ДНК проб. Применение в цитогенетический практике

По своей диагностикой характеристике ДНК пробы подразделяются на:

· Центромерные зонды

· Локус-спецефические ДНК пробы (LSI)

· Субтеломерные зонды ДНК пробы

· Зонды полного окрашивания хромосом

Цетромерные ДНК пробы - состоят из высокоповторяющихся L-сотелитных повторов и используются для идентификации численных хромосомных аномалий, а также для исследования гетероморфизма хромосом при проведение количественного fish-анализа.

Наиболее часто центрометромерные ДНК пробы направлены на выявление численных аномалий хромосом - 1,2,3,6,7,8,10.11,12,15,16,17,18,20,Х,У.

Хромосомы 4 и 9, 5и 19, 13 и 21, 14 и 22 содержат практически одинаковые варианты альфоидной ДНК.

Центромерные ДНК пробы чаще всего используются при натальной диагностике, также при онкологии (выявление численных 3,7,17 - аномалий у хромосом при карциноме мочевого пузыря).

Недостатком является: они не способны отличать интактную хромосому от ее производной ( синдром Шершевского-Тернера), используется при контроле качества спермы донора, а также экспресс-диагностика ранних выкидышей и неразвивающей беременности и ЭКО.

Локус-специфические ДНК пробы - уникальные последовательности ДНК, локализованные в районе хромосомы, потеря которого приводит к развитию синдрома.

Применение данных зондов показано для идентификации структурных перестроек, т.е. для выявления сайтов разрыва при транслокацтт, инверсиях, делециях, инсерциях и микроделециях.

Субтеломерные ДНК пробы - к ним относят теломерные ДНК спецефичные к субтеломерным и теломерным участкам ДНК.

Они позволяют выделить субтеломерные, теломерные делеции и дупликации, а также маркировать индивидуальные хромосомы. Субтеломерные ДНК пробы используются для выявления причин умственной отсталости неясной этиологии.

Зонды полного окрашивания хромосом - переставляет собой набор уникальных последовательностей ДНК, равномерно распределенных вдоль всей длины определенной хромосомы.

Отличительная особенность: используется только на метафазных хромосомах (Не используется на интерфазных хромосомах).

Их применяют для идентификации маркерных хромосом, а также для идентификации сложных структурных перестроек с вовлечением нескольких хромосом.

Недостатки: не дают возможность регистрировать внутрихромосомные перестройки.

. Патогенез некоторых наследственных аномалий связан с импринтингом

Наиболее изученным примером заболеваний, этиологически связанных с импринтингом, являются синдромы Прадера-Вилли и Ангельмана. Оба синдрома обусловлены изменениями дозы и противоположным импринтингом одного и то же района длинного плеча хромосомы. Делеция этого сегмента в материнской хромосоме, как и отцовская дисомия по хромосоме 15 (то есть когда обе хромосомы 15 у пациента от отца) приводят к синдрому Ангельмана (резкие судорожные движения, умственная отсталость, неадекватная смешливость). Напротив, дисомия материнской хромосомы 15 и делеция отцовской копии сегмента приводят к синдрому Прадера-Вилли (умственная отсталость, ожирение, низкий рост и непропорционально малый размер рук и ног). Эти два сопряженных в цитогенетическом смысле заболевания могут быть связаны с реципрокными различиями в импринтинге двух соседних генов, расположенных в районе Причины геномного импринтинга пока не установлены, возможно, он связан с разным типом укладки ДНК в мужских и женских гаметах.

. Генетические основы профилактики хромосомных болезней. Доклиническая диагностика

С профилактической точки зрения всю наследственную патологию целесообразно подразделить на 3 категории: 1) вновь возникающие мутации ( в первую очередь это анеуплодии и тяжёлые формы доминантных мутаций); 2) унаследованные от предыдущих поколений (как генные, так и хромосомные); 3) болезни с наследственной предрасположенностью.

Различают 3 вида профилактики наследственной патологии.

Первичная профилактика

Под первичной профилактикой понимают такие действия, которые должны предупредить зачатие больного ребёнка.

Реализуется это планированием деторождения и улучшением среды обитания человека.

Планирование деторождения включает:

.Оптимальный репродуктивный возраст (21-35 лет).

.Отказ от деторождения в случаях высокого риска наследственной и врождённой патологии.

.Отказ от деторождения в браках с кровными родственниками и между двумя гетерозиготными носителями патологического гена.

Улучшение среды обитания человека должно быть направленно главным образом на предупреждение вновь возникающих мутаций. Осуществляется это путём жёсткого контроля содержания мутагенов и тератогенов в окружающей среде.

Вторичная профилактика

Вторичная профилактика осуществляется путём прерывания беременности в случае высокой вероятности заболевания плода или пренатально диагностированной болезни. Основанием для элиминации эмбриона или плода является наследственная болезнь.

Третичная профилактика.

Под третичной профилактикой наследственной патологии понимают коррекцию проявления патологических генотипов. Это можно назвать и нормокопированием, поскольку при патологическом генотипе стремятся получить нормальный фенотип.

Третичная профилактика применяется как при наследственных болезнях, так и при болезнях с наследственной предрасположенностью. С её помощью можно добиться полной нормализации или снижения выраженности пвтологического процесса.

. Наследственные болезни обмена веществ. Классификация, патогенез

Наследственные нарушения обмена включают в себя большую группу наследственных заболеваний, затрагивающих расстройства метаболизма.

Развитие большинства из них является следствием дефекта единичных генов, кодирующих индивидуальные ферменты, которые обеспечивают превращение одних веществ (субстраты) в другие (продукты).

В настоящее время выделяют следующие основные классы наследственных метаболических расстройств:

Болезни аминокислотного обмена

Почти все они наследуются по аутосомно-рецессивному типу. Причина заболеваний - недостаточность того или иного фермента, ответственного за синтез аминокислот. К ним относится:

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.

Нарушения обмена углеводов

галактоземия - отсутствие фермента галактозо-1-фосфат-уридилтрансферазы и накопление в крови галактозы; гликогеновая болезнь - нарушение синтеза и распада гликогена.

Болезни, связанные с нарушением липидного обмена

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.

Наследственные болезни пуринового и пиримидинового обмена

подагра; Синдром Леша-Найхана.

Болезни нарушения обмена соединительной ткани

синдром Марфана («паучьи пальцы», арахнодактилия) - поражение соединительной ткани вследствие мутации в гене, ответственном за синтез фибриллина; мукополисахаридозы - группа заболеваний соединительной ткани, связанных с нарушеним обмена кислых гликозаминогликанов.

Фибродисплазия - заболевание соединительной ткани,связанное с ее прогрессирующим окостенением в результате мутации в гене ACVR1

Наследственные нарушения циркулирующих белков

гемоглобинопатии - наследственные нарушения синтеза гемоглобина. Выделяют количественные (структурные) и качественные их формы. Первые характеризуются изменением первичной структуры белков гемоглобина, что может приводить к нарушению его стабильности и функции (серповидноклеточная анемия). При качественных формах структура гемоглобина остается нормальной, снижена лишь скорость синтеза глобиновых цепей (талассемия).

Наследственные болезни обмена металлов

болезнь Коновалова-Вильсона и др.

Синдромы нарушения всасывания в пищеварительном тракте

муковисцидоз; непереносимость лактозы и др.

. Принципы формирования групп повышенного генетического риска

Генетический риск - вероятность развития заболевания, обусловленная генетическими факторами.

Если известен тип наследования болезни и на основании анализа родословной установлены генотипы обоих родителей, можно рассчитать риск рождения больного ребенка. Например, если в семье родился ребенок с болезнью Тея-Сакса, риск рождения еще одного больного ребенка составляет 25%.

Для аутосомно-рецессивных, аутосомно-доминантных и рецессивных заболеваний, сцепленных с X-хромосомой, риск рассчитывают в соответствии с законами Менделя, учитывая особенности течения заболевания. Например, наследование миопатии Дюшенна - рецессивное, сцепленное с X-хромосомой. Болеют практически исключительно мужчины. Если у женщины болен брат, а у ее родной сестры болен сын, риск того, что женщина гетерозиготная носительница, составляет 0,5. Однако, если у этой женщины родятся пятеро здоровых сыновей, риск того, что она гетерозиготная носительница, снизится до 0,55 = 0,03125.

Риск полигенных и других болезней, наследование которых не подчиняется законам Менделя, оценивают с помощью таблиц эмпирического риска. Наследование большинства из них, например изолированных пороков (врожденные пороки сердца, расщелина губы, расщелина неба), хорошо изучено.

Большинство случаев нерасхождения хромосом у человека проявляется спорадически, можно предполагать, что оно в определённой степени генетически детерминировано. Об этом свидетельствуют следующие факты.

.Потомство с трисомией у одних и тех же женщин повторно с частотой не менее 1%.

.Родственники пробанда с трисомией 21 или другими анеуплодиями имеют песколько повышенный риск рождения ребёнка с анеуплодией.

.Кровное родство родителей может повышать риск трисомии у потомства.

.Частота зачатий с двойной анеуплодией может быть выше, чем предсказывается исходя из частоты отдельных анеурлодий.

К биологическим факторам повышения риска нерасхождения хромосом

относится возраст матери, хотя механизмы этого явления неясны. Риск рождения ребёнка с хромосомной болезнью, обусловленной анеуплодией, с возрастом постепенно повышается, но особенно резко после 35 лет. После 45 лет каждая 5-я беременность завершается рождением ребёнка с хромосомной болезнью. Наиболее чётко возрастная зависимость проявляется для трисомии 21 (болезнь Дауна).

Доклиническая диагностика патологических мутаций «родилась» из теоретических исследований по изучению экспрессивности генов. Для некоторых болезней уже разработаны не тольуо теоретические основы диагностики, но и методы профилактического лечения. Поскольку отдельные формы наследственных болезней редки, для их выявления должны быть разработаны простые и дешевые методы просеивающей диагностики. Их также называют скрининговыми. Просеивание можно определить как идентификацию нераспознанных болезней с помощью быстро осуществляемых проверок (тестов). Такой подход обеспечивает отбор лиц с вероятным заболеванием из тех, у которых это заболевание клинически отсутствует. Группа лиц с высокой вероятностью заболевания должно быть повторно обследована с применением уточняющих диагностических методов, позволяющих отвергнуть предполагавшийся на первом этапе диагноз, либо подтвердить его.

. Патогенез и классификация наследственных болезней

Насле́дственные заболева́ния - заболевания, возникновение и развитие которых связано с дефектами в программном аппарате клеток, передаваемыми по наследству через гаметы.

В основу генетической классификации наследственных болезней положен этиологический принцип, а именно тип мутаций и характер взаимодействия со средой. Всю наследственную патологию можно разделить на 5 групп: генные болезни, хромосомные болезни, болезни с наследственной предрасположенностью (синонимы: мультифакториальные, многофакторные), генетические болезни соматических клеток и болезни генетической несовместимости матери и плода. Каждая из этих групп в свою очередь подразделяется в соответствии с более детальной генетической характеристикой и типом наследования.

Как известно, в зависимости от уровня организации наследственных структур различают генные, хромосомные и геномные мутации, а в зависимости от типа клеток - гаметические и соматические.

Генные болезни - болезни, вызываемые генными мутациями.

Хромосомные болезни определяются хромосомными и геномными мутациями.

Деление наследственных болезней на эти две группы не формальное. Генные мутации передаются из поколения в поколение в соответствии с законами Менделя, в то время как большинство хромосомных болезней, обусловленных анеуплоидиями, вообще не наследуется, а структурные перестройки (инверсии, транслокации) передаются с дополнительными перекомбинациями, возникающими в мейозе носителя перестройки.

Болезни с наследственной предрасположенностью

Болезни с наследственной предрасположенностью могут быть моногенными и полигенными. Для их реализации недостаточно только соответствующей генетической конституции индивида - нужен ещё фактор или комплекс факторов среды, «запускающих» формирование мутантного фенотипа (или болезни). С помощью средового фактора реализуется наследственная предрасположенность.

Генетические болезни соматических клеток

Генетические болезни соматических клеток выделены в отдельную группу наследственной патологии недавно. Поводом к этому послужило обнаружение при злокачественных новообразованиях специфических хромосомных перестроек в клетках, вызывающих активацию онкогенов (ретинобластома, опухоль Вильмса). Эти изменения в генетическом материале клеток являются этиопатогенетическими для злокачественного роста и поэтому могут быть отнесены к категории генетической патологии.

Весьма вероятно, что аутоиммунные процессы и старение могут быть отнесены к этой же категории генетической патологии.

Болезни, возникающие при несовместимости матери и плода по антигенам

Болезни, возникающие при несовместимости матери и плода по антигенам, развиваются в результате иммунной реакции матери на антигены плода. Кровь плода в небольшом количестве попадает в организм беременной. Если плод унаследовал от отца такой аллель антигена (Аг+), которого нет у матери (Аг-), то организм беременной отвечает иммунной реакцией. Антитела матери, проникая в кровь плода, вызывают у него иммунный конфликт. Наиболее типичное и хорошо изученное заболевание этой группы - гемолитическая болезнь новорождённых, возникающая в результате несовместимости матери и плода по Rh-Ar. Болезнь возникает в тех случаях, когда мать имеет Rh- группу крови, а плод унаследовал Rh+ аллель от отца.

Иммунные конфликты различаются и при несовместимых комбинациях по антигенам группы АВО между беременной и плодом.

. Причины генных патологий

Большинство генных патологий обусловлено мутациями в структурных генах, осуществляющих свою функцию через синтез полипептидов - белков. Любая мутация гена ведет к изменению структуры или количества белка.

Начало любой генной болезни связано с первичным эффектом мутантного аллеля.

Основная схема генных болезней включает ряд звеньев:

мутантный аллель → измененный первичный продукт → цепь биохимических процессов в клетке → органы → организм

В результате мутации гена на молекулярном уровне возможны следующие варианты:

синтез аномального белка;

выработка избыточного количества генного продукта;

отсутствие выработки первичного продукта;

выработка уменьшенного количества нормального первичного продукта.

Не заканчиваясь на молекулярном уровне в первичных звеньях, патогенез генных болезней продолжается на клеточном уровне. При различных болезнях точкой приложения действия мутантного гена могут быть как отдельные структуры клетки - лизосомы, мембраны, митохондрии, пероксисомы, так и органы человека.

Особенностью генных (как и вообще всех наследственных) болезней является их гетерогенность. Это означает, что одно и то же фенотипическое проявление болезни может быть обусловлено мутациями в разных генах или разными мутациями внутри одного гена.

. Принципы классификации генных болезней и синдромов

ХРОМОСОМНЫЕ БОЛЕЗНИ - большая группа клинически различных патологических состояний, этиологическим фактором которых являются хромосомные или геномные мутации. Типы хромосомных болезней. В основу классификации хромосомных болезней положены три условия: 1) тип геномной или хромосомной мутации; 2) индивидуальность измененной или добавочной хромосомы; 3) возникновение мутации в зародышевых клетках (полные формы) или на ранних стадиях эмбрионального развития (мозаичные формы).

Для каждой хромосомной болезни устанавливают: 1) какая генетическая структура определяет патологию (хромосома и ее сегмент); 2) в чем состоит генетическое нарушение (недостаток или избыток хромосомного материала); 3) все ли клетки содержат аномальный хромосомный набор.

Дифференциальную диагностику хромосомных болезней по клинической картине проводят только для определения показания к направлению пациента на цитогенетическое обследование.

Численные нарушения, или геномные мутации, могут затрагивать плоидность хромосомных наборов, например триплоидия (69 хромосом) или отклонения в числе хромосом от диплоидного (анеуплоидия) в сторону уменьшения (моносомия, или 45 хромосом), а также увеличения (трисомия, или 47 хромосом). Геномные мутации являются этиологической основой большинства хромосомных болезней.

Триплоидия (полная и мозаичная форма, когда обнаруживаются клетки с различными хромосомными наборами) - это единственная форма нарушения плоидности, совместимая с живорождением. Случаи тетраплоидии крайне редки, и говорить о синдроме тетраплоидии у человека нельзя.

Полные моносомии у живорожденных наблюдаются только по Х-хромосоме (45 X). Это синдром Шершевского-Тернера. Зародыши с полной моносомией по аутосомам элиминируются на ранних стадиях эмбрионального развития. Мозаичные формы моносомии с существенной долей нормальных клеток описаны только по хромосомам 21 и 22.

Полные трисомии встречаются у живорожденных по нескольким хромосомам: 8, 9, 13 (синдром Патау, или трисомия D), 14, 15, 18 (синдром Эдвардса), 21 (синдром Дауна), 22 и X или Y (трипло-Х, или синдром Клайнфелтера). Полисемии (свыше трех) встречаются только по половым хромосомам в разных комбинациях числа Х- и Y-хромосом. Жизнеспособные индивиды встречаются при 5 половых хромосомах.

Структурные перестройки хромосом (хромосомные мутации), какого бы они вида ни были, приводят в конечном счете к недостатку части материала по данной хромосоме (частичная моносомия) или его избытку (частичная трисомия). Известно большое количество синдромов частичных трисомии и моносомии.

. Клиника и генетика некоторых генных болезней

Синдром Дауна - трисомия 21

% составляют случаи простой полной трисомии 21 как следствие нерасхождения хромосом в мейозе. Вклад материнского нерасхождения в эти гаметични формы болезни - 80%, родительской - 20%; 20% составляют мозаичные формы (47 +21 / 46), 4% имеют транслокационный форму трисомии по типу робертсоновские транслокаций между акроцентрикамы (D/21 и G/21 ). 50% транслокационный форм наследуется от родителей-носителей, 50% - транслокации de novo.

Критерии диагностик: 1) умственная отсталость; 2) мышечная гипотония; 3) уплощение профиля лица; 4) монголоидный разрез глаз; 5) отсутствие рефлекса Моро;

) гиперрухомисть суставов; 7) избыток кожи на шее; 8) диспластический таз; 9) диспластические уши; 10) клинодактилия мизинца; 11) чотирипальцева сгибательная складка ладони.

Наличие 4-5 признаков достоверно указывает на синдром Дауна. Дефицит иммунной системы, лейкозы, врожденные пороки внутренних органов (сердца и желудочно-кишечного тракта, реже - мочеполовой системы) у детей с синдромом Дауна часто приводят к летальному исходу в первые 5-7 лет жизни.

Синдром Патау - трисомия 13

Простая полная трисомия 13 составляет 85%. Остальные случаи обусловлены передачей длинного плеча дополнительной хромосомы в робертсоновские транслокации типа D/13 и G/13. Мозаицизм, изохромосома, неробертсонивська транслокация наблюдаются редко. Характерным осложнением беременности при вынашивании плода с синдромом Патау является многоводие (50%).

Критерии диагностики

Колобома, микрофтальм, умственная отсталость, задержка роста, глухота, дефект межжелудочковой перегородки, микроцефалия, тригоноцефалия, гипертелоризм, деформация ногтей, пороки конечности (полидактилия, "стопа-качалка"), гидронефроз, пупочная грыжа, аномалии развития матки, крипторхизм, пороки ЦНС (голопрозенцефалия). Всегда наблюдаются щель губы и неба, пороки нескольких внутренних органов в разной комбинации, полидактилия (двухсторонняя на руках) и флексорных положение кистей. Продолжительность жизни 3 месяца -1 год.

Трисомия 8

Цитогенетические варианты. В 90% - мозаичная форма. Констатирован мозаицизм по хромосоме из группы С или D. Полные трисомии летальные.

Критерии диагностики трисомии 8

Для болезни наиболее характерны отклонения в строении лица, пороки опорно-двигательного аппарата и мочевой системы.

Прогноз неблагоприятный.

Синдромы, обусловленные нерасхождения половых хромосом

. Скринирующие (просеивающие) программы

Общими характеристиками просеивающего подхода являются: 1) массовый и безотборный характер обследования; 2) профилактическая направленность; 3) двухэтапность (по меньшей мере) диагностики.

Просеивание можно определить как идентификацию нераспознанных болезней с помощью быстро осуществляемых проверок (тестов). Такой подход обеспечивает отбор лиц с вероятным заболеванием из тех, у которых это заболевание клинически отсутствует. Группа лиц с высокой вероятностью заболевания должно быть повторно обследована с применением уточняющих диагностических методов, позволяющих отвергнуть предполагавшийся на первом этапе диагноз, либо подтвердить его.

Основной целью скринирующих (просеивающих) программ является выявление того или иного заболевания в доклинической стадии. Прежде всего это касается наследственных болезней обмена. Они включаются в программы массового просеивания, отбираются по ряду критериев:

. Заболевания, приводящие к выраженному снижению жизни и трудоспособности без своевременного выявления и лечения.

. Заболевания, достаточно распространенные в популяции (частота не менее 1:50 000 - 200 000 новорожденных).

. Заболевания, которые поддаются лечению с достижением принципиального эффекта для пациента, для которых разработаны эффективные методы профилактики.

. заболевания, для которых разработан адекватный просеивающий тест.

Сегодня в числе скринируемых заболеваний: муковисцидоз (частота - 1:1,5-2 000), врожденный гипотиреоз (1:4,7-5 000), недостаточность альфа-1-антитрипсина (1:5 000), фенилкетонурия (1:10 000), гистидинемия (1:23 000), галактоземия (1:35-50 000), лейциноз (1:90-120 000), аргинин-янтарнаая ацидурия (1:300 000), тирозинемия (1:900 000), недостаточность аденозиндезаминазы (1:1 500 000), болезнь Тея-Сакса (частота в популяции евреев-ашкенази - 1:3 700) и т.д.

Следует подчеркнуть, что процедура скрининга не обеспечивает окончательного диагноза, а выявляет предположительных «больных», которым на втором этапе требуется специализированное углубленное обследование с использованием биохимических, молекулярно-генетических и клинических методов диагностики.

. Методы преимплантационной диагностики

Преимплантационная генетическая диагностика (ПГД) - диагностика генетических аномалий у эмбрионов до момента их имплантации в стенку матки. Выполнение ПГД возможно только при использовании методов вспомогательных репродуктивных технологий, основанных на ЭКО, т.к. только при этом возможно получение отдельных клеток эмбрионов для генетической диагностики.

Используемые генетические методы

.Для числовых и структурных хромосомных нарушений применяется метод FISH (флуоресцентная гибридизация in situ).

.При проведении ПГД моногенных заболеваний применяется метод ПЦР.

Метод флуоресцентной in situ гибридизации (FISH) - метод цитогенетического анализа, используемый для выявления и локализации присутствия специфицеских последовательностей ДНК хромосом. Так изучается не только морфология хромосом, но и последовательности ДНК, входящих в их состав. Используются ДНК-зонды, которые представляют собой нуклеотидную последовательность ограниченного размера комплементарную определённому участку ядерной ДНК исследуемого цитогенетического препарата. Зонд несет «метку», то есть содержит нуклеотиды, связанные с флуорофором (молекула, способная к флуоресценции). Таким образом при помощи флуоресцентной микроскопии наблюдается свечение специфицеских последовательностей ДНК хромосом.

Полимеразная цепная реакция - метод основан на многократном избирательном копировании определённого участка ДНК при помощи ферментов в искусственных условиях (in vitro). При этом происходит копирование только того участка, который удовлетворяет заданным условиям, и только в том случае, если он присутствует в исследуемом образце.

. Неинвазивные методы пренатальной диагностики

а) определение уровня альфа-фетопротеина;

б) ультразвуковое исследование;

Определение уровня альфа-фетопротеина сыворотки крови матери проводят на 16-18-й неделе беременности.

Повышение уровня альфа-фетопротеина может свидетельствовать о наличии пороков развития центральной нервной системы плода, дефектов передней брюшной стенки (например омфалоцеле), отслойка плаценты. Диагностически информативным принято считать повышение уровня альфа-фетопротеина в 2,5 раза и более от среднего значения для конкретного срока беременности, особенно при сочетании с повышением содержания другого сывороточного маркера - хорионального гонадотропина.

Сниженный уровень альфа-фетопротеина может наблюдаться при болезни Дауна и других трисомиях.

УЗИ - безопасный метод перинатальной диагностики, который может быть использован при подозрении на наличие структурных аномалий. Считается, что оно не производит риска для матери и плода. При массовом ультразвуковом скрининге беременных обычно определяют размеры и массу тела плода, их количество и жизнеспособность. Также проводят оценку состояния плаценты, пуповины, околоплодных вод. Во время ультразвукового исследования может быть обнаружена большинство структурных аномалий основных органов и систем в срок гестации до 16-18 недель, а при некоторой патологии и прежде. В этих случаях показано тщательное ультразвуковое исследование в комплексе с амниоцентезом и биопсией ворсин хориона.

Основным неинвазивным методом пренатальной диагностики является ультразвуковое исследование (УЗИ), которое необходимо проводить всем беременным. Ультразвуковое сканирование плода проводят не менее двух раз во время беременности каждой женщине. Первый обзор не позднее 15-16 недели, второй - в 25-26 недель. УЗИ используется для выявления задержки роста эмбриона или плода, начиная с 6-8-ой недели беременности. Можно применять как просевной и как уточняющий метод. Это позволяет предупредить рождение детей с серьезными врожденными пороками развития, что составляет примерно 30% всех детей с такой патологией.

30. Инвазивные методы пренатальной диагностики

Амниоцентез - прокол плодного пузыря с целью получения околоплодной жидкости и слущенных клеток амнионе плода. Эта процедура выполняется на 15-18 неделях беременности. Риск возникновения осложнений беременности при амниоцентезе составляет 0,2%. Амниоцентез делают через брюшину под контролем УЗИ, чтобы не повредить плаценту. Также возможен влагалищный амниоцентез, но такой подход применяется редко. С амниотической полости забирают 8-10 мл жидкости. С биохимических показателей жидкости только концентрация альфа-фетопротеина (АФП) является диагностически значимой. Уровень АФП существенно повышается при аномалиях нервной трубки и дефектах передней брюшной стенки. Основным источником диагностического материала при амниоцентезе являются клетки. Их обязательно культивируют (это длится 2-4 недели) и для цитогенетических, и для биохимических исследований. Только молекулярно-генетические варианты диагностики с помощью полимеразной цепной реакции не требуют культивирования клеток. Кордоцентез, т.е. взятия крови из пуповины, стали использовать шире после того, как эту процедуру начали проводить под контролем УЗИ, т.е. без фетоскопии. Процедуру проводят в период с 18 по 22 недели беременности. Образцы крови являются объектом для цитогенетических (культивируются лимфоциты), молекулярно-генетических и биохимических методов диагностики наследственных болезней. Кордоцентез используют для диагностики хромосомных болезней, гематологических наследственных болезней (гемоглобинопатии, коагулопатии, тромбоцитопении), иммунодефицитов, гематологического статуса при резус-сенсибилизации, внутриутробных инфекций. Процедура с первой попытки успешна в 80-97% случаев. Преимущество кордоцентеза по сравнению с амниоцентезом заключается в том, что кровь является более удобным объектом для исследования, чем клетки амниотической жидкости. Лимфоциты культивируются быстрее (2-3 дня) и надежнее, чем амниоциты. Биопсия тканей плода как диагностическая процедура осуществляется во 2-м триместре беременности под контролем УЗИ. Для диагностики тяжелых наследственных болезней кожи (ихтиоз, эпидермолиз) делают биопсию кожи плода.

Фетоскопия - введение зонда и осмотр плода. Метод визуального обследования плода для выявления врожденных пороков развития используется редко - только при особых показаниях. Работает на 18-23-ей неделе беременности. Дело в том, что почти все врожденные пороки развития, которые можно увидеть с помощью оптического зонда, диагностируются с помощью УЗИ. Процедура УЗИ проще и безопаснее. Для фетоскопии требуется введение зонда в амниотическую полость, что может вызвать осложнения беременности. Выкидыши отмечаются в 7-8% случаев фетоскопии.

. Принцип ПЦР, основные варианты, области применения. История открытия метода

Полимера́зная цепна́я реа́кция (ПЦР) - экспериментальный метод молекулярной биологии, позволяющий добиться значительного увеличения малых концентраций определённых фрагментов нуклеиновой кислоты (ДНК) в биологическом материале (пробе).

История. ПЦР была изобретена в 1983 году американским биохимиком Кэри Муллисом. Его целью было создание метода, который бы позволил амплифицировать ДНК в ходе многократных последовательных удвоений исходной молекулы ДНК с помощью фермента ДНК-полимеразы. Первая публикация по методу ПЦР появилась в ноябре. Через 8 лет после этого, за изобретение метода ПЦР, К.Муллис получил Нобелевскую премию.

Разновидности ПЦР

Вложенная ПЦР - применяется для уменьшения числа побочных продуктов реакции. Используют две пары праймеров и проводят две последовательные реакции. Вторая пара праймеров амплифицирует участок ДНК внутри продукта первой реакции.

Инвертированная ПЦР- используется в том случае, если известен лишь небольшой участок внутри нужной последовательности. Этот метод особенно полезен, когда нужно определить соседние последовательности после вставки ДНК в геном. Для осуществления инвертированной ПЦР проводят ряд разрезаний ДНК рестриктазами с последующим соединением фрагментов (лигирование). В результате известные фрагменты оказываются на обоих концах неизвестного участка, после чего можно проводить ПЦР как обычно.

Асимметричная ПЦР - проводится тогда, когда нужно амплифицировать преимущественно одну из цепей исходной ДНК. Используется в некоторых методиках секвенирования и гибридизационного анализа. ПЦР проводится как обычно, за исключением того, что один из праймеров берется в большом избытке. ПЦР проводят при высокой температуре отжига, тем самым удаётся поддержать эффективности реакции на протяжении всех циклов.

Криминалистика. ПЦР используют для сравнения так называемых «генетических отпечатков пальцев». Необходим образец генетического материала с места преступления - кровь, слюна, сперма, волосы и т. п. Его сравнивают с генетическим материалом подозреваемого. Достаточно совсем малого количества ДНК, теоретически - одной копии. ДНК расщепляют на фрагменты, затем амплифицируют с помощью ПЦР. Фрагменты разделяют с помощью электрофореза ДНК. Полученную картину расположения полос ДНК и называют генетическим отпечатком пальцев.

Установление отцовства. Хотя «генетические отпечатки пальцев» уникальны (за исключением случая однояйцевых близнецов), родственные связи все же можно установить, сделав несколько таких отпечатков. Тот же метод можно применить, слегка модифицировав его, для установления эволюционного родства среди организмов.

. Понятие о клинико-генеалогическом методе в медицинской генетике, основные цели и задачи. Принципы составления родословных

Клинико-генеалогический метод демонстрирует генетическую гетерогенность многих заболеваний, например, таких как альбинизм, тугоухость, наследственная моторно-сенсорная нейропатия идругих. В последние годы возросла роль клинико-генеалогического метода при проведении анализа сцепления локуса заболевания с полиморфными маркерами ДНК.

Применение клинико-генеалогического метода может быть полезным и при изучении интенсивности мутационного процесса. Клинико-генеалогический метод позволяет выявить в родословной лиц, являющихся гетерозиготными носителями мутантного гена, и определить прогноз потомства в семье, где имеется или предполагается рождение ребенка с наследственной патологией.

Включает три основных этапа: клиническое обследование, составление родословной и генеалогический анализ.

При составлении родословных принято использовать унифицированные символы. Составление родословной начинается с лица, первым попавшего в поле зрения исследователя. Чаще всего им оказывается больной или носитель признака, сегрегацию которого необходимо проследить при анализе родословной.

Сбор анамнестических данных проводится по определенной схеме.

. Сведения о пробанде - анамнез заболевания, включающий начальные признаки и возраст их манифестации, последующее течение болезни; если это ребенок - сведения о раннем психомоторном и последующем умственном и физическом развитии.

. Данные о сибсах (братьях и сестрах) и родителях пробанда - возраст, здоровы или больны, проведение аналогии с заболеванием пробанда в случае болезни.

. Сведения о родственниках со стороны матери (родители, их дети, внуки).

. Сведения о родственниках со стороны отца (родители, их дети, внуки).

При составлении родословных необходимо учитывать наличие и характер профессиональных вредностей (особенно для родителей, имеющих детей с врожденными пороками развития или хромосомной патологией), факторов, влияющих на возникновение патологии плода и новорожденного (прием лекарственных препаратов, заболевания матери, воздействие химических и радиационных мутагенов), время их действия (до или во время беременности).

Заключительный этап - анализ родословной - требует хорошего знания критериев типов наследования, которые представлены в наших статьях. Кроме того, необходимо учитывать возможность фенокопий наследственных заболеваний.

. Основные типы наследования

Аутосомно-доминантный тип наследования

При аутосомно-доминантном типе наследования мутантный ген реализуется в признак в гетерозиготном состоянии, то есть для развития болезни достаточно унаследовать мутантный аллель от одного из родителей. Для этого типа наследования (как для аутосомного типа в целом) характерна равная вероятность встречаемости данного признака, как у мужчин, так и у женщин. Большинство болезней этого типа при проявлении у гетерозигот не наносят серьезного ущерба здоровью человека, и в большинстве случаев не влияют на репродуктивную функцию. Гомозиготы же, как правило, нежизнеспособны. Болезнь встречается в каждом поколении. Так как у больного родителя мутантный ген локализован в половине гамет, которые могут быть оплодотворены в равной степени с нормальными клетками, вероятность возникновения болезни у детей 50 %. Необходимо также отметить, что некоторые заболевания проявляются не с момента рождения, а лишь в определенном возрасте. Это создает определенные трудности для установления типа наследования. Наиболее часто в клинической практике встречаются следующие болезни с аутосомно-доминантном типом наследования: нейрофиброматоз (болезнь Реклингхаузена), синдром Марфана (пенетрантность около 30 %), миотическая дистрофия, хорея Гентингтона, синдром Элерса-Данло.

Аутосомно-рецессивный вид наследования

При аутосомно-рецессивном типе наследования мутантный ген реализуется в признак в гомозиготном состоянии. Гетерозиготы клинически не отличаются от здоровых лиц. У фенотипически здоровых родителей, но имеющих рецессивный ген патологического признака, вероятность рождения больных детей составит 25 %, еще 25 % будут здоровы и фенотипически и генетически, а оставшаяся половина окажутся гетерозиготными носителями патологического признака, как и их родители. Вероятность заболевания мальчиков и девочек одинаковая. В родословной при аутосомно-рецессивном наследовании заболевание может проявляться через одно или несколько поколений. Браки гетерозигот (здоровых) с гомозиготами (больными) встречаются в основном среди кровнородственных браков. Вероятность рождения больных детей при этом возрастает до 50 %. Браки, когда оба родителя гомозиготны достаточно редки. Все дети в этих семьях будут гомозиготами, а потому больными. Таким образом, частота возникновения болезней, наследуемых по аутосомно-рецессивному типу, зависит от концентрации рецессивного гена в популяции и находится в прямой зависимости от степени распространения мутантного гена. Особенно повышается частота рецессивных наследственных болезней в изолятах и среди населения с высоким процентом кровнородственных браков. Наиболее типичными болезнями с аутосомно-рецессивным типом наследования являются муковисцидоз, фенилкетонурия, галактоземия, адреногенитальный синдром, мукополисахаридозы.

. Клинические проявления хромосомных аномалий

Общим для всех форм хромосомных болезней является множественность поражения. Это черепно-лицевые дизморфии, врожденные пороки развития внутренних и наружних органов, замедленные внутреутробные и постнатальные рост и развитие, отставание психического развития, нарушение функций нервной, эндокринной и иммунной систем. При каждой форме хромосомных болезней наблюдается 30-80 различных отклонений от нормы, как бы перекрывающихся между формами. Ряд хромосомных болезней характеризуется лишь определенными сочетанием отклонений в развитии, а не специфическими пороками, что и используется в клинической и патологоанатомической диагностике.

Фенотипические проявления хромосомных аномалий, т.е. формирование клинической картины, зависит от следующих главных факторов:

) индивидуальности вовлеченной в аномалию хромосомы или ее участка( специфический набор генов);

) типа аномалии (трисомия, моносомия; полная, частичная);

) размера недостающего (при делеции) или избыточного (при частичной трисомии) материала;

) степени мозаичности организма по абберантным клеткам ;

) генотипа организма;

) условий среды (внутреутробная или постнатальная).

Наиболее характерными клиническими проявлениями аутосомных аномалий являются признаки психического и физического недоразвития, дисплазии и более грубые врожденные аномалии развития (пороки). При заболеваниях, обусловленных нарушениями в системе половых хромосом, слабоумие не является обязательным признаком. Для этих нарушений, как правило, более характерны недоразвитие половых желез и аномалии развития вторичных половых признаков.

Известно очень много нарушений, обусловленных аномалией половых хромосом. Чаще всего встречаются:

Синдром Тернера (моносомия по хромосоме X) невысокий рост (130-150 см), бесплодие, лицо «сфинкса» из-за уменьшенного подбородка, деформированные ушные раковины. Другие часто встречающиеся врожденные отклонения - короткая шея, крыловидные складки на шее, недоразвитие скелета, пороки сердца и аномалии почек. Отсутствие или недоразвитие вторичных половых признаков.

Синдром Клайнфельтера (синдром XXY)

Сначала больные мальчики по внешнему виду ничем не отличаются от здоровых. Со временем отмечаются некоторые отклонения: небольшие размеры яичек, бесплодие, непропорционально длинные ноги, слабо выраженная умственная отсталость,увеличение грудной железы.

. Хромосомные синдромы, обусловленные нарушениями в системе аутосом

Болезни, вызванные числовыми аномалиями аутосом

Трисомия - хромосомная аномалия из-за нерасхождения хромосом, протекает тяжелее, чем аномалии половых хромосом. Моносомии по аутосомам не совместимы с жизнью.

. Болезнь Дауна (синдром трисомии 21 пары, монголизм)

Кариотип 47 ХХ или 47 ХУ, 21+. Соотношение полов - МI: ЖI. Частота - 1: 700-800.

Характерная внешность: небольшая круглая голова со скошенным утолщенным затылком: монголоидный разрез глаз, эпикант, короткий седловидный нос, маленькие отстающие деформированные ушные раковины, - отставание в психомоторном развитии на первом году жизни; - слабоумие; - пороки развития сердечно-сосудистой системы.

. Синдром Эдвардса (синдром трисомии 18 пары)

Кариотип 47 ХХ или ХУ, 18+. Соотношение полов - МI: Ж3. Частота - 1: 8 000 н/д.

Признаки - долихоцефалия, низко посаженные деформированные уши, выступающий затылок, высокое небо, микрогнатия, короткие глазные щели, незаращение губы и неба, микростомия; - врожденные пороки сердца - множественные пороки развития внутренних органов (ВПС, диафрагмальные грыжи, подковообразная почка, крипторхизм, паховая, пупочная грыжи),

Погибают в возрасте до 3-5 месяцев, в редких случаях доживают до 5 лет.

. Синдром Патау (синдром трисомии 13 пары) (Q91.7)

Кариотип 47 ХХ или ХУ, 13+. Среди больных преобладают девочки.

Дети рождаются обычно в срок, но с истинной пренатальной гипоплазией. Наблюдается высокая младенческая смертность (до 90% детей). Часть погибает внутриутробно.

Признаки: - микроцефалия; - микрофтальм, анофтальмия; - одно или двустороннее незаращение верхней губы и неба; - полидактилия, выпуклые ногти, поперечная ладонная складка, повышенная гибкость суставов; - множественные пороки развития нервной системы и внутренних,- ушные раковины неправильной формы, низко расположены; - крипторхизм, гипоплазия наружных половых органов, гипоспадия у мальчиков, удвоение матки и влагалища, двурогая матка у девочек; - апноэ; - судорожный синдром.

Болезни, обусловленные увеличением кратности полного гаплоидного набора хромосом - полиплоидии.

У человека обнаружена только три типа геномных мутаций: тетраплоидия, триплоидия и анеуплоидия. При триплоидии кариотип у мужчин - 69 ХХУ, у женщин - 69 ХХХ.

На полиплоидию приходится около 22,6% всех спонтанных абортов. Беременность плодом с триплоидией часто осложнается токсикозом II половины, сопровождается повышением уровня хорионического гонадотропина. 36) Пороки развития. Классификация пороков развития. Первичные и вторичные пороки. Изолированные, системные, множественные пороки развития.

Пороки развития- собирательный термин, обозначающий отклонения от нормального строения организма вследствие нарушения внутриутробного или постнатального (реже) развития.

Различают пороки развития одиночные и множественные (чаще двойные); пороки развития внешних частей тела и внутренних органов. Двойные пороки развития - близнецы, сросшиеся какими-либо, частями тела При двойных: асимметричных пороках развития на поверхности или в какой-либо полости тела ребенка прикреплен другой (недоразвитый) плод - так называемый паразит. Пороки развития наблюдаются в виде, аномалии развития головы (акрания, мозговые: грыжи), лица (заячья губа, волчья пасть, циклопия). Наиболее часты пороки развития опорно-двигательной системы: врожденные вывихи, косолапость, недоразвитие пальцев и др. Во внутренних органах часто встречаются пороки развития сердечно-сосудистой системы и пороки развития центральной нервной системы: врожденная гидроцефалия, микроцефалия, анэнцефалия .

.Гаметопатии - патологические изменения в половых клетках, произошедшие до оплодотворения и приводящие к спонтанному прерыванию беременности, врожденным порокам развития, наследственным заболеваниям. Это наследственно обусловленные врожденные пороки, в основе которых лежат спорадические мутации в половых клетках родителей или унаследованные мутации у более отдаленных предков.

.Бластопатии - это повреждения зиготы в первые 2 недели после оплодотворения (до момента завершения дифференциации зародышевых листков и начала маточно-плацентарного кровообращения), вызывающие гибель зародыша, внематочную беременность, пороки развития с нарушением формирования оси зародыша (симметричные, асимметричные и неполностью разделившиеся близнецы, циклопия, аплазия почек и др.).

.Эмбриопатии - поражения зародыша от момента прикрепления его к стенке матки (15-й день после оплодотворения) до сформирования плаценты (75-й день внутриутробной жизни), проявляющиеся пороками развития отдельных органов и систем, прерыванием беременности. Поскольку в эмбриональный период происходит формирование основных морфологических структур органов, то естественно, что большинство врожденных пороков образуется именно в этот период.

К врожденным порокам относятся следующие нарушения развития.

Агенезия, Гипоплазия, Гипотрофия, Гиперплазия (гипертрофия)

. Спонтанные и индуцированные мутации, физический, химический, биологический лекарственный мутагенез

Спонтанные мутации

Мутации, помимо качественных свойств, характеризует и способ возникновения. Спонтанные (случайные) - мутации, возникающие при нормальных условиях жизни. Спонтанный процесс зависит от внешних и внутренних факторов (биологические, химические, физические ). Спонтанные мутации возникают у человека в соматических и генеративных тканях. Метод определения спонтанных мутаций основан на том, что у детей появляется доминантный признак, хотя у его родителей он отсутствует. Проведенное в Дании исследование показали, что примерно одна из 24000 гамет несет в себе доминантную мутацию. Ученый же Холдейн рассчитал среднюю вероятность появления спонтанных мутаций, которая оказалась равна 5\*10-5 за поколение. Другой ученый Курт Браун предложил прямой метод оценки таких мутаций, а именно: число мутаций разделить на удвоенное количество обследованных индивидов.

Индуцированные мутации

Индуцированный мутагенез - это искусственное получение мутаций с помощью мутагенов различной природы. Впервые способность ионизирующих излучений вызывать мутации была обнаружена Г.А. Надсоном и Г.С. Филлиповым. Затем, проводя обширные исследования, была установлена радиобиологическая зависимость мутаций. В конце сороковых годов открыли существование мощных химических мутагенов, которые вызывали серьезные повреждения ДНК человека для целого ряда вирусов. Одним из примеров воздействия мутагенов на человека может служить эндомитоз - удвоение хромосом с последующим делением центромер, но без расхождения хромосом.

Физическими мутагенами называются любые физические воздействия на живые организмы, которые оказывают либо прямое влияние на ДНК или вирусную РНК, либо опосредованное влияние через системы репликации, репарации, рекомбинации.

Химические мутагены - мощные агенты, вызывающие генные мутации и перестройки хромосом. Однако, сравнительно с действием ионизирующих излучений, количество перестроек хромосом меньше в соотношении с генными мутациями. Также, мутации возникают не только в момент действия на хромосомы мутагеном, но и спустя целый ряд клеточных поколений.

Химические мутагены делятся также на 2 класса:

) с задержанным действием - не действуют на хромосомы в фазе G1; появление митозов с аберрациями задерживается на несколько часов; появление мутаций происходит в S-фазе;

) с незадержанным действием - вызывает перестройки хромосом в течение всех фаз цикла, и фиксация мутаций идет в пределах той же фазы.

37. Анализ фенотипа больных с наследственной патологией. Признаки дисэмбриогенеза и их значение для диагностики наследственных болезней

генетика хромосома наследственный заболевание

Особенности клинических проявлений наследственной патологии:

. Наследственные заболевания часто носят семейный характер. В то же время наличие заболевания только у одного из членов родословной не исключает наследственного характера этой болезни (новая мутация, появление рецессивной гомозиготы).

. Для наследственных заболеваний, проявляющихся в любом возрасте, характерно прогрессирующее хроническое течение.

. При этих заболеваниях наблюдаются редко встречающиеся специфические симптомы или их сочетания: голубые склеры говорят о несовершенном остеогенезе, потемнение мочи на пеленках - об алкаптонурии, мышиный запах - о фенилкетонурии и др.

Наиболее очевидные признаки наследственной патологии - врожденные пороки развития.

Важным этапом при обследовании больного с клинико-генетической точки зрения является антропометрия. Для диагностики наследственных болезней важными оказываются следующие антропометрические данные: рост, масса тела, телосложение, пропорции тела, длина конечностей, длина туловища, окружность груди и черепа и др.

При осмотре пациентов наряду с выявлением врожденных пороков развития и проведением антропометрического обследования необходимо обращать внимание на микроаномалии развития, или врожденные морфогенетические варианты (отклонения в развитии, которые выходят за пределы нормальных вариаций, но не нарушают функции органа). Они являются неспецифическими показателями эмбрионального дисморфогенеза.

Наиболее распространенные признаки дисморфогенеза, учитываемые при дифференциальной диагностике наследственных болезней:

) кожа: ангиомы, телеангиэктазии, пигментные пятна, веснушки темные (свыше 20), депигментация, гипертрихоз, гирсутизм, липомы, фибромы, келоидные рубцы, нарушение потоотделения, ихтиоз, повышенная растяжимость;

) ногти: широкие, короткие, вогнутые; дистрофия, гипоплазия, аплазия;

) волосы: сухие, редкие, шерстистые; алопеция (тотальная, гнездная), седая прядь надо лбом, "мыс вдовы", низкий рост волос на лбу и (или) на шее;

) подкожная жировая клетчатка: избыточное отложение, уменьшенное количество, липомы;

) мышцы: гипертрофия, гипотрофия, аплазия;

) череп: микроцефалия, гидроцефалия, макроцефалия, брахицефалия, долихоцефалия, костные выступы или дефекты, выступающий лоб, плоский затылок;