

# Диагностика наследственных заболеваний



Диагностика наследственной патологии является сложным и трудоемким процессом. Трудности обусловлены большим количеством наследственных болезней (*их около 3,5 тыс.*), разнообразием клинической картины каждой из них, редкой встречаемостью некоторых форм и др. А также тем, что наследственные болезни могут протекать сходно с ненаследственными, сопутствовать им.



Врач общей практики, как правило, не владеет всеми знаниями, необходимыми для диагностики наследственных болезней, поэтому при подозрении на наследственную болезнь необходимо направлять пациента на специальное обследование.

Часто общего клинического обследования достаточно для диагностики наиболее известных наследственных болезней, например:

*Болезни Дауна*

*Ахондроплазия*

*Нейрофиброматоз*

*Хорея Гентингтона*



Однако, для полного исключения ошибки необходимо проведение специальных генетических методов обследования.

Поэтому ход постановки диагноза должен быть двухэтапным:

1. общее клиническое обследование больного в соответствии с современными требованиями, описанными в соответствующих руководствах;
2. при подозрении на конкретную наследственную болезнь необходимо проведение специализированного дифференциально-диагностического обследования.

При общем клиническом обследовании любого больного постановка диагноза должна завершиться одним из трёх заключений:

1. чётко поставлен диагноз ненаследственного заболевания;

2. чётко поставлен диагноз наследственной болезни;

3. имеется подозрение, что основная или сопутствующая болезнь наследственная.

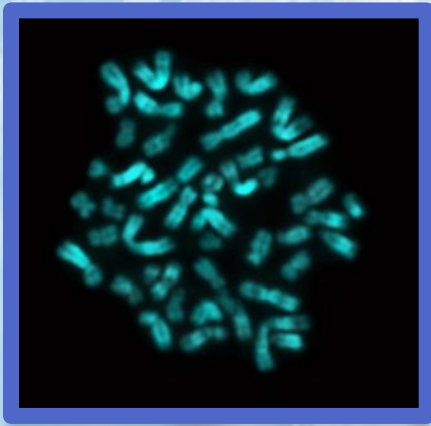
Первые две группы заключений составляют подавляющую часть при обследовании больных. Третья группа, как правило, требует применения специальных, дополнительных методов обследования (параклинических, лабораторно-генетических).



В клинической генетике для диагностики различных форм наследственной патологии применяются: клинико-генеалогический метод, специальные и дополнительные (лабораторные, инструментальные) методы исследования.

*Среди специальных методов диагностики выделяют:*

Цитогенетический  
(кареотипирование)



Биохимический

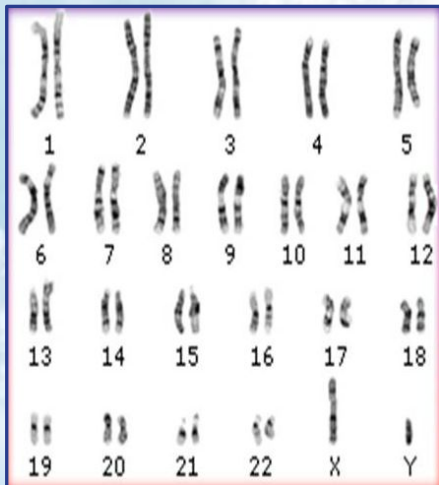


Молекулярно-генетический

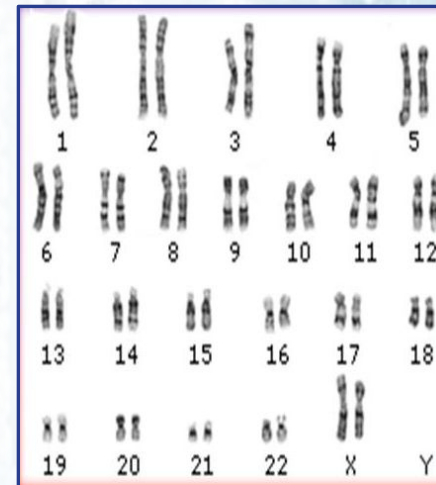


**Кариотипирование, или цитогенетическое исследование позволяет выявить отклонения в структуре и числе хромосом, которые могут стать причиной бесплодия, другой наследственной болезни и рождения больного ребенка.**

**Кариотип человека состоит из 46 хромосом - 22 пары аутосом и две половые хромосомы. У женщины это две X хромосомы (кариотип: 46, XX), а у мужчин одна X хромосома, а другая - Y (кариотип: 46, XY).**



**46,XX (кариотип женщины)**



**46,XY (кариотип мужчины)**

**В каждой хромосоме находятся гены, ответственные за наследственность. Кариотипирование позволяет обнаружить наследственные заболевания, связанные с изменением количества хромосом, их формы, дефектом отдельных генов.**

К таким болезням относятся синдромы Патау и Эдвардса; синдром «кошачьего крика», разнообразные ферментопатии (болезни обмена веществ) и многие другие.

## Синдром Патау

Описан в 1961 г.

### Клинические признаки:



- ▶ микроцефалия
- ▶ расщепление губы и нёба
- ▶ полидактилия
- ▶ узкая глазная щель
- ▶ пороки внутренних органов
- ▶ эпикант
- ▶ гипоплазия наружных половых органов

Популяционная частота

- 1 : 7 500

### Тип наследования:

- ▶ трисомия 13

## Синдром Эдвардса



Популяционная частота

- 1 : 5000

### Клинические признаки:

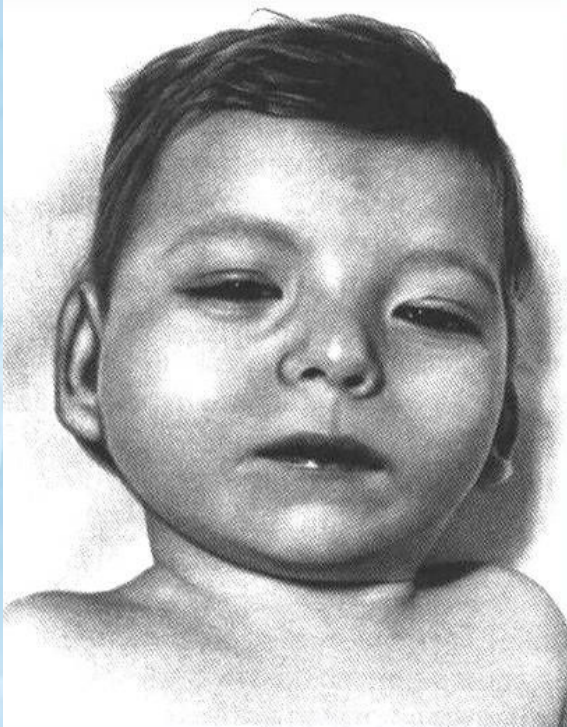
- ▶ задержка пренатального развития
- ▶ полидактилия
- ▶ расщелина губы
- ▶ спинномозговая грыжа
- ▶ сращение или кисты почек
- ▶ множественные пороки развития черепа, сердца, половой и пищеварительной системы

### Тип наследования:

- ▶ трисомия 18



## Синдром кошачьего крика



Популяционная частота

- 1 : 45 000

### Клинические признаки:

- ▶ необычный плач, напоминающий кошачье мяуканье
- ▶ микроцефалия
- ▶ антимонголоидный разрез глаз
- ▶ умственная отсталость
- ▶ лунопообразное лицо
- ▶ эпикант
- ▶ гипертелоризм
- ▶ аномалия внутренних органов

### Тип наследования:

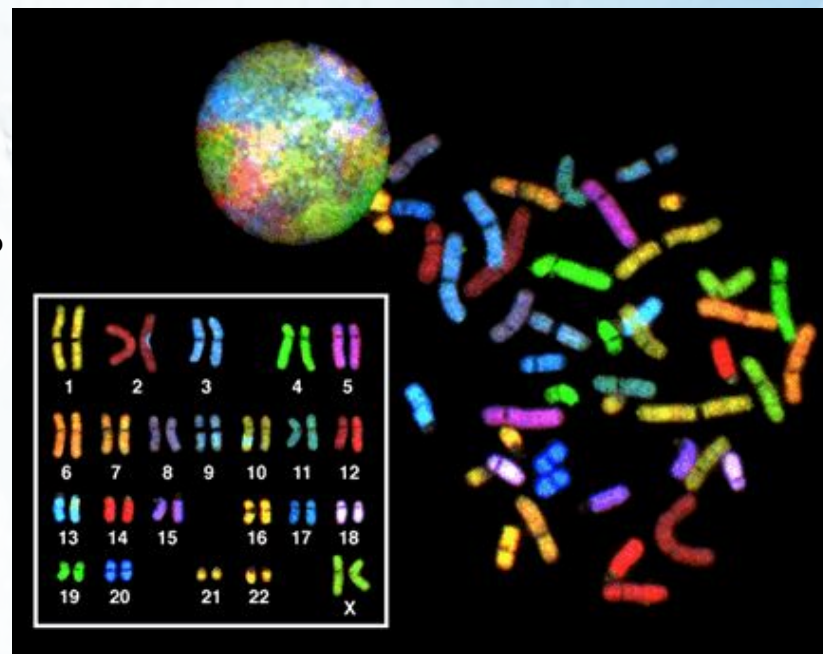
- ▶ моносомия 5 р (выпадение - делеция короткого плеча 5-ой хромосомы)

Существует два основных типа этого исследования:

- ▶ изучение хромосом клеток крови пациентов
- ▶ пренатальное кариотипирование, то есть исследование хромосом плода.

Известно много заболеваний, причина которых - нарушение количества и/или строения хромосом, например:

- ▶ нарушения менструального цикла
- ▶ выкидыши, бесплодие
- ▶ уродства, умственная отсталость
- ▶ нарушения иммунитета и сердечной деятельности



Спектральное кариотипирование

Существуют международные стандарты, рекомендующие исследование хромосом в следующих случаях:

- наличие хромосомной патологии в семье или у родственников
- привычное невынашивание беременности
- возраст беременной женщины более 35 лет (1 случай из 30 родов - с генетической патологией)
- оценка мутагенных воздействий (радиационных, химических и др.)

Пренатальная генетическая диагностика позволяет уверенно определять хромосомную патологию плода уже на ранних сроках беременности, а также определить пол будущего ребенка уже на самых ранних сроках беременности.



## Биохимические методы

Биохимические методы основаны на исследовании биохимических процессов, протекающих в организме, называемых метаболизмом (обмен веществ). Известно много наследственных болезней, связанных с нарушением метаболизма (врожденных нарушений), среди которых – *альбинизм*.



Эти методы помогают обнаружить целый ряд заболеваний с нарушениями обмена веществ (энзимопатии). Исследованию подлежат *кровь, моча, ликвор, пунктаты костного мозга, амниотическая жидкость, сперма, пот, волосы, ногти, кал* и др.

На первом этапе обследования (экспресс-диагностика) применяются методы массового биохимического скрининга: пробы Феллинга (на фенилкетонурию), Альтгаузена (гликогенозы), Бенедикта (галактоземия, фруктоземия), проба на гипераминоацидурию, микробиологический тест Гатри (ФКУ и др. аминокислотопатии).



Разработаны простые качественные биохимические тесты для экспресс-диагностики гипотиреоза, муковисцидоза, для выявления нарушений обмена билирубина, болезни Тея-Сакса, гепатолентикулярной дегенерации, АГС. Эти пробы достаточно просты и используют легко доступный биологический материал (кровь, моча).

Фенилкетонурия



Гликогенозы



Галактоземия



На втором этапе (уточняющая диагностика) применяют молекулярно-цитогенетические, молекулярно-биологические методы, более сложные методы аналитической биохимии:

- исследование метаболического пути (количественное определение метаболитов, их кинетики и накопления);

- прямое измерение концентрации (иммунохимические методы), активности (энзимодиагностика), физико-химических и кинетических параметров мутантных белков;

- исследование мутантных белков с помощью нагрузочных проб мечеными субстратами и гибридизации соматических клеток;

- исследование структуры мутантного гена методами рестрикционного анализа.

## Показания для биохимического исследования:

1) умственная отсталость, психические нарушения;

2) нарушение физического развития - аномальный рост и строение волос или ногтей;

3) неправильный рост с искривлением костей туловища и конечностей, чрезмерное отложение жира, гипотрофия или кахексия, тугоподвижность или разболтанность суставов;

4) плохое зрение или полная слепота, тугоухость или глухота;

5) судороги, мышечная гипотония, гипер- и гипопигментация, фото-чувствительность, желтуха;

6) непереносимость отдельных пищевых продуктов и лекарственных препаратов, нарушение пищеварения, частая рвота, диарея, жидкий стул, гепато- и спленомегалия;

7) почечно-каменная болезнь, холестааз;

8) гемолитические анемии и др. состояния.



## Молекулярно-генетические методы

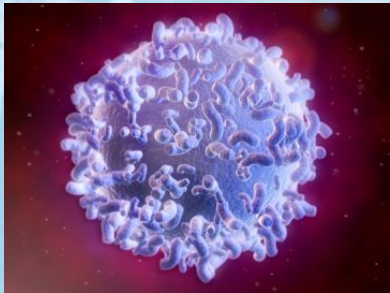
Знание структуры и функции генов, основных видов изменчивости, знакомство с наследственными болезнями позволяет перейти к анализу молекулярно-генетических методов. Методы молекулярной генетики направлены на изучение молекулы ДНК как в норме, так и при ее повреждении, а также на «манипуляции» с молекулами ДНК и РНК. Использование молекулярно-генетических методов требует знания основных этапов получения определенных последовательностей (фрагментов) ДНК



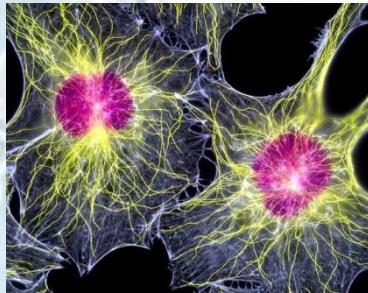
## Этапы получения последовательностей нуклеотидов ДНК:

### Получение образцов ДНК:

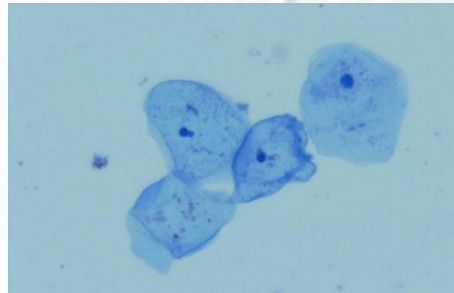
– выделение всей (геномной) ДНК из клеток (*лимфоцитов, фибробластов, амниотических клеток, клеток хориона*);



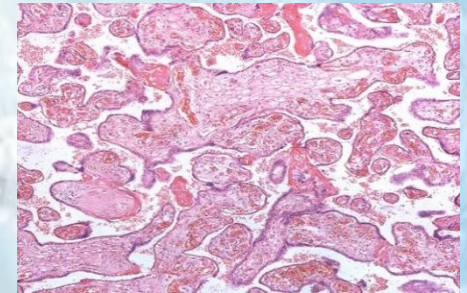
лимфоциты



фибробласты



амниотические  
клетки



клетки хориона

– рестрикция ДНК – получение отдельных фрагментов ДНК (использование рестриктаз, которые разрывают ДНК по строго определенным последовательностям нуклеотидов из 4-6 пар оснований – сайтах рестрикции).

# Аmplификация – накопление (умножение, клонирование) одинаковых фрагментов ДНК:

– использование классических трудоемких методов:

создание рекомбинантных плазмид

введение их в бактериальную клетку

размножение клеток

выделение заданных фрагментов ДНК;

– использование полимеразной цепной реакции:

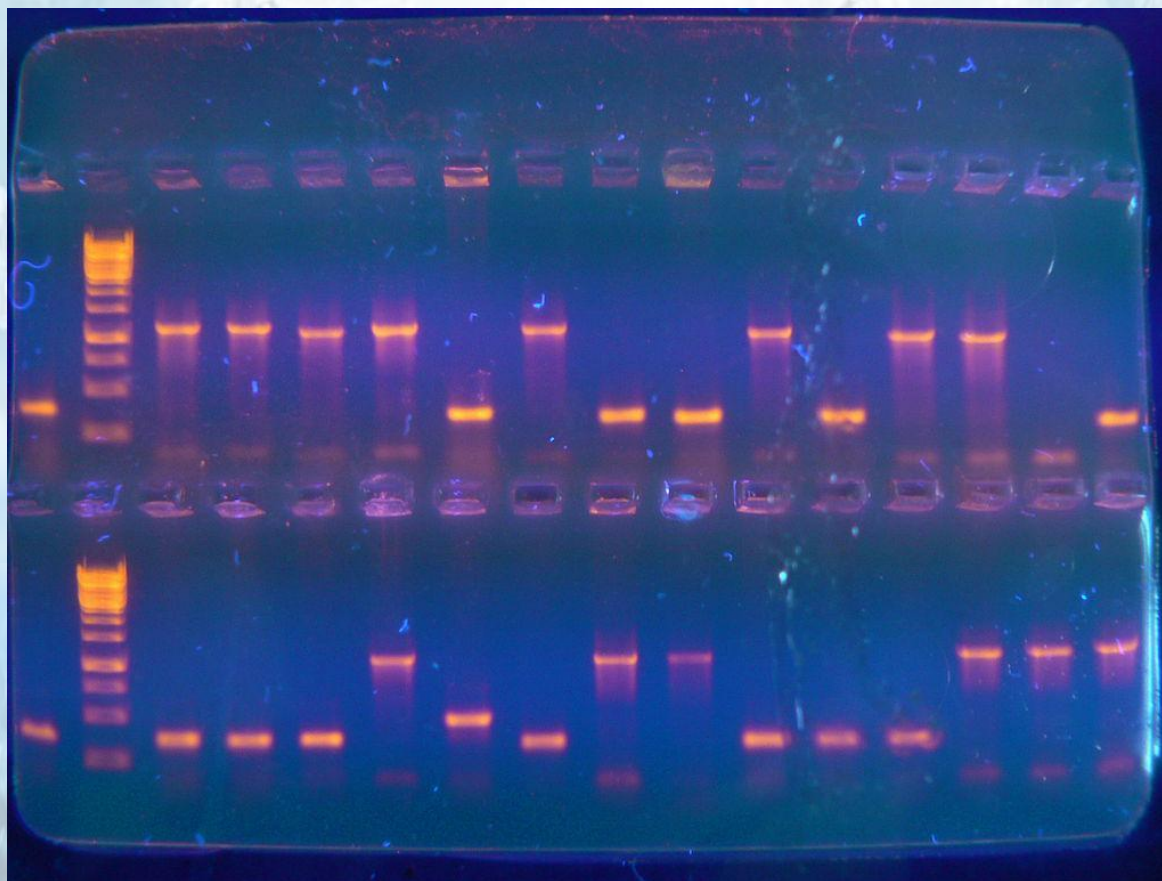
разделение двухцепочечной ДНК на одноцепочечную

присоединение праймеров (затравка) к одноцепочечным молекулам ДНК (по принципу комплементарности)

синтез многочисленных полинуклеотидных цепей на одноцепочечных молекулах в границах присоединения праймеров

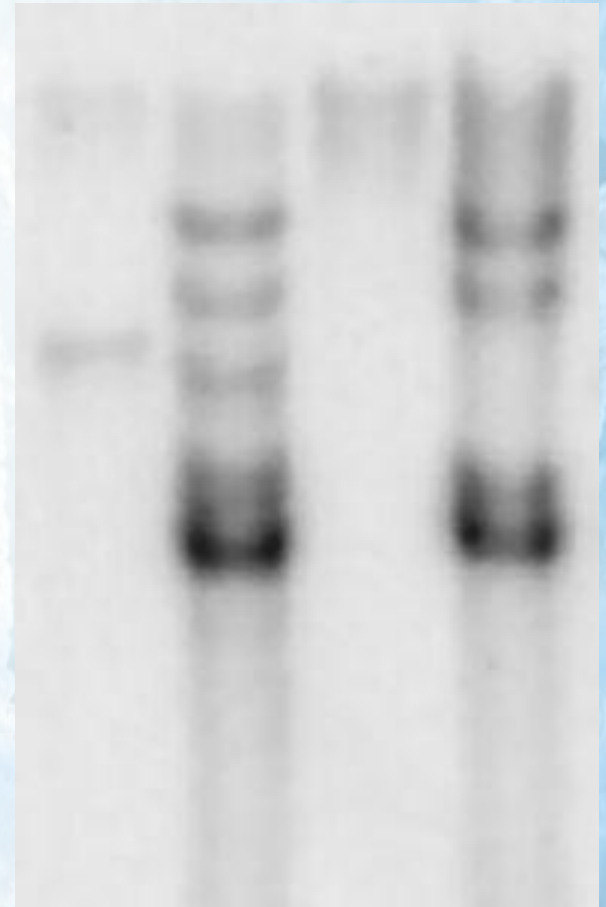
## Электрофорез фрагментов ДНК

– разделение фрагментов по молекулярной массе и электрическому заряду на поверхности агарозного геля. Каждый фрагмент имеет определенные размеры и занимает в геле определенное место в виде дискретной полосы.



## Идентификация конкретных фрагментов ДНК с помощью блот-гибридизации по Саузерну

Фрагменты ДНК переносятся на специальные фильтры, где проводится их гибридизация с радиоактивными синтетическими зондами или клонированными фрагментами ДНК. Зонд выявляет необходимый фрагмент ДНК путем связывания с комплементарными ему нуклеотидными последовательностями фрагмента. Изменение положения и длины фрагмента по сравнению с контролем (зондом), исчезновение или появление нового фрагмента свидетельствует о перестройках последовательности нуклеотидов в исследуемом гене.



Базируясь на технологии получения нуклеотидных последовательностей ДНК, можно выделить следующие методы молекулярной генетики.

1. Метод секвенирования – определение нуклеотидной последовательности ДНК. Таким методом полностью определена последовательность нуклеотидов генов глобина, некоторых гормонов (инсулина, гормона роста, пролактина и др.).

2. Метод полимеразной цепной реакции (используется для увеличения числа фрагментов ДНК).

3. Метод получения праймеров, соответствующих известным генам.

4. Метод гибридизации нуклеиновых кислот.

5. Метод клонирования ДНК.

6. Метод получения рекомбинантных молекул ДНК.

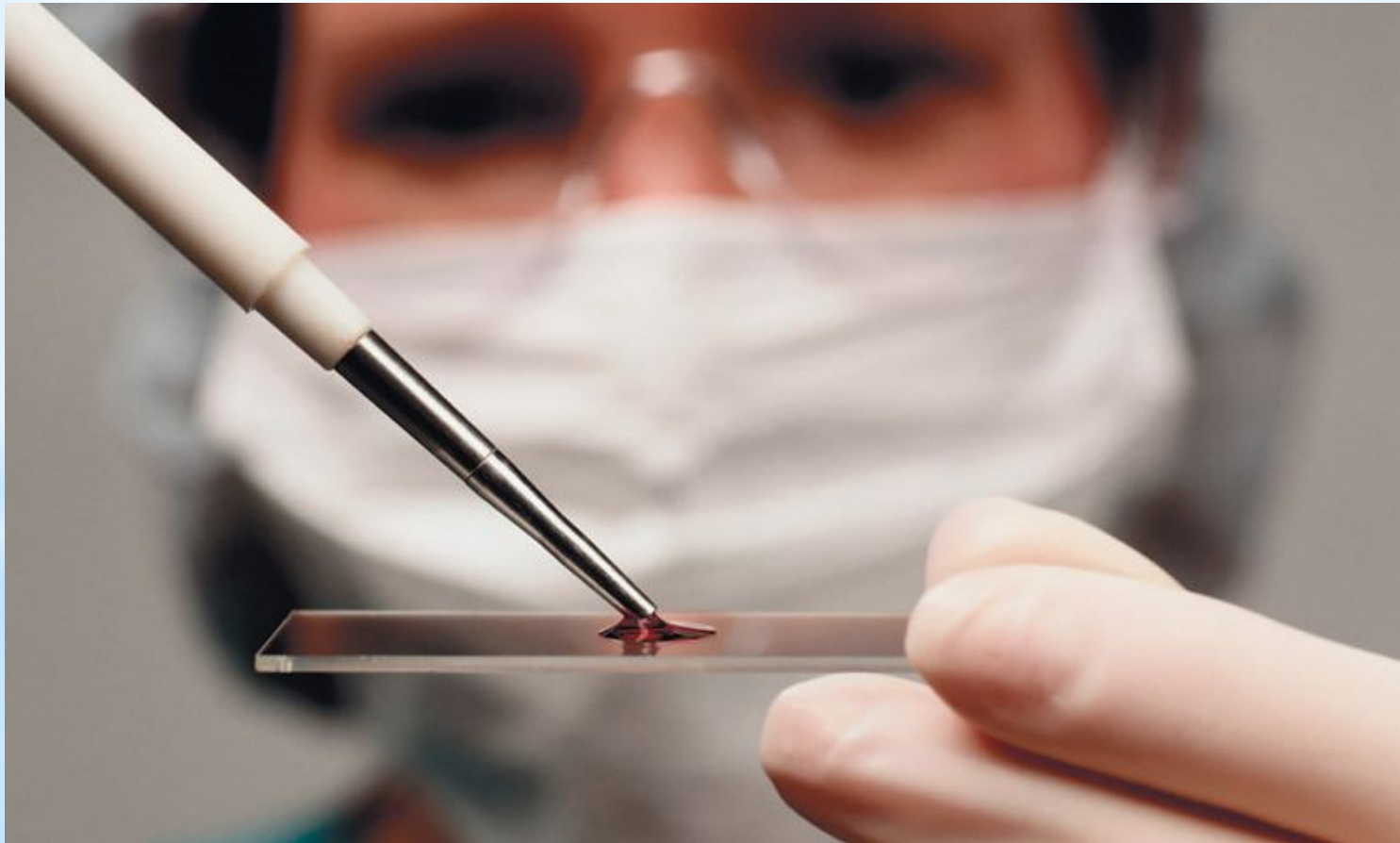
7. Метод получения белков с помощью рекомбинантных молекул ДНК.

8. Создание библиотеки генов – полного набора (коллекции) клонированных фрагментов ДНК, полученных в результате рестрикции тотальной ДНК.

## Методы молекулярной генетики позволяют:

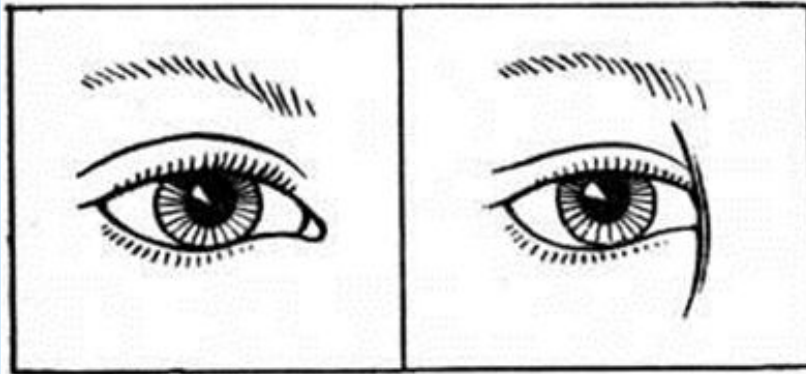
- идентифицировать мутации в гене. Примером выявления мутантного гена является диагностика серповидно-клеточной анемии в эмбриональном периоде. Фрагменты ДНК, полученные при действии рестриктаз у здорового и больного, сравниваются с помощью метода гибридизации по Саузерну, при этом в качестве зонда используется радиоактивно меченая ДНК гена Р-глобина;
- диагностировать моногенное наследственное заболевание путем определения нуклеотидной последовательности генов (гемофилия, гемоглобинопатия) и выявления мутантных генов (фенилкетонурия, муковисцидоз);
- осуществлять генетический анализ полиморфизма ДНК родителей и детей;
- определять индивидуальную изменчивость ДНК человека по переменным точкам ДНК, молекулярный анализ которых позволяет проводить идентификацию личности человека);
- выделять и синтезировать гены (выделение, синтез и клонирование генов является одним из этапов генной инженерии).

Использование описанных методов в генетике и медицине позволяет вовремя определить те или иные нарушения, происходящие в организме на клеточном уровне. Так, анализ крови позволяет определить такие генетические аномалии, как болезнь Тея-Сакса, серповидноклеточная анемия, гемофилия, кистозный фиброз, вызываемые теми или иными генными нарушениями (мутациями).





Другие генетические аномалии обуславливаются не наличием мутационных генов, а нарушением поведения хромосом во время мейоза (синдром Дауна), а именно: нерасхождение 21-й или 22-й пары хромосом при мейозе. Индивидуумов с такой болезнью отличает ряд характерных признаков: умственная отсталость, наличие кожной складки у угла глаз, коренастое телосложение и жизнерадостность.



В настоящее время генетика и медицина располагают методикой, позволяющей обнаруживать аномальное число хромосом у плода на 16-й неделе беременности. Для этого берут пробу околоплодной жидкости путем пункции плодного пузыря, исследуют ее клетки и определяют, нет ли в них хромосомных аномалий.

Недавно ряду исследователей удалось добиться снижения частоты некоторых наследственных заболеваний у лабораторных животных. Это позволяет надеяться, что со временем можно будет обнаруживать и лечить некоторые генетические болезни человека еще на стадии плода.





Спасибо за внимание