

ДИАГНОСТИКА НАСЛЕДСТВЕННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ



ДИАГНОСТИКА НАСЛЕДСТВЕННЫХ БОЛЕЗНЕЙ ОСНОВЫВАЕТСЯ НА ДАННЫХ ОСМОТРА И ОБСЛЕДОВАНИЯ, ГЕНЕАЛОГИЧЕСКОГО АНАЛИЗА, ПАРАКЛИНИЧЕСКИХ И ЛАБОРАТОРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ МЕТОДОВ.

Ход постановки должен быть двухэтапным:

- 1. Общее клиническое обследование в соответствии с характером клинической картины (анамнез, осмотр, врачебные методы, лабораторные анализы, инструментальные исследования).
- 2. При подозрении на конкретную наследственную болезнь необходимо провести специализированное дифференциально-диагностическое обследование вместе с врачом генетиком с использованием диагностических атласов, компьютерных диагностических программ, лабораторно-генетических методов.



Для постановки диагноза необходимо придерживаться следующей схемы обследования:

- 1. Существенным признаком, указывающим на наследственную патологию, является нарушение **течения беременности и пренатального развития плода** (мало и многоводие, малая подвижность плода, симптомы прерывания беременности, пренатальная гипоплазия – синдром внутриутробной задержки плода).
- Наиболее очевидные признаки наследственной патологии - **врожденные пороки развития**. ВПР может быть изолированным (в одном органе), системным (в пределах одной системы) и множественным (в органах двух и более систем).
- Важным элементом обследования больного с генетической точки зрения - является **антропометрия** (рост, масса, телосложение, длина конечностей и их частей, окружность груди и черепа, соотношение сагиттального и латерального размеров черепа). Затем сравнивают с контрольными данными
- При осмотре пациентов наряду с выявлением врожденных пороков развития и проведением антропометрии необходимо обращать внимание на микроаномалии развития, или врожденные морфогенетические варианты. Они являются неспецифическими признаками **эмбрионального дисморфогенеза**.

ПРИЗНАКИ ПРЕ- И ПОСТНАТАЛЬНОГО ДИСМОРФОГЕНЕЗА

- **кожа:** ангиомы, телеангиэктазии, пигментные пятна, веснушки темные, депигментация, липомы, фибромы, венозная сеть, келоидные рубцы, ихтиоз, нарушение потоотделения
- **ногти:** широкие, короткие, вогнутые, дистрофия, дистрофия, гипоплазия, аплазия.
- **волосы:** сухие, редкие, шерстистые, алопеция (тотальная, гнездная), седая прядь над лбом, мыс вдовы, низкий рост на лбу и или на шеи.
- **подкожная жировая клетчатка:** избыточное отложение, уменьшенное количество, липомы
- **мышцы:** гипертрофия, гипотрофия, аплазия
- **череп:** микроцефалия, макроцефалия, гидроцефалия. долихоцефалия, костные выступы, выступающий лоб, плоский затылок



- **ушные раковины:** микротия, макротия, деформированные. низкопосаженные, отклоненные назад, сглаженные ушки.
- **область глаз:** страбизм (косоглазие), монголоидный разрез, антимонголоидный разрез, колобома радужки, миопия, птоз, короткая глазная щель, гетерохромия радужки, голубые склеры, эпикант – дополнительная складочка у внутреннего угла глаза, прикрывающая слезный бугорок.
- **Лицо:** плоское, круглое, треугольное, вытянутое, с грубыми чертами.
- **Нос:** седловидная переносица, широкая плоская переносица, короткий нос, открытые вперед ноздри, плоские крылья носа, клювовидный нос.



- **Губы и рот:** длинный короткий, плоский, глубокий, толстые или тонкие губы, множественные уздечки губ, короткая уздечка языка.
- **Челюсти:** микрогения и макрогения.
- **Зубы:** гипоплазия эмали, неправильная форма, неправильное расположение, врожденный избыток зубов, врожденное отсутствие одного или несколько зубов.
- небо: плоское, высокое, арковидное, готическое, расщепление язычка
- шея: короткая длинная, кривошея, низкая линия роста волос, крыловидные складки.
- **Грудная клетка и позвоночник:** воронкообразная, килевидная, дополнительные соски, сколиоз, кифоз, лордоз, пирамидальная ямка.
- **Конечности и суставы:** укороченные или удлиненное, Х и О образные переразгибание суставов, полидактилия, клинодактилия, широкий первый палец. гипоплазия первого пальца, укорочение отдельных пальцев. поперечная ладонная складка. одна складка на пятом пальце, плоскостопие. косолапость, полая стопа, конская стопа.
- **мочеполовая система:** крипторхизм, гипоспадия (мочеиспускательный канал находится не на головке и внизу, даже может быть на мошонке или в промежности) шалевидная мошонка, увеличенный клитор.



Лабораторная диагностика наследственных болезней может быть направлена на идентификацию одной из трех ступеней:

- **Первая ступень** - **этиология болезни**, то есть характеристика генотипа, а точнее выявление конкретной мутации у обследуемого человека. Это могут быть генные, хромосомные или геномные мутации. Генные мутации выявляются молекулярно-биологическими методами, хромосомные и геномные - цитогенетическими.
- **Вторая ступень** - **выявление первичного продукта патологического гена**. Для его регистрации применяют точные биохимические, иммунологические или иммуноферментные методы.
- **Третья ступень** - **регистрация специфических метаболитов измененного обмена**, которые возникают в процессе реализации мутантного первичного продукта или его отсутствие. Эта ступень выполняется на уровне клеток или жидкостей (кровь, секрет, моча) с использованием биохимических, иммунологических и цитокинетических методов.

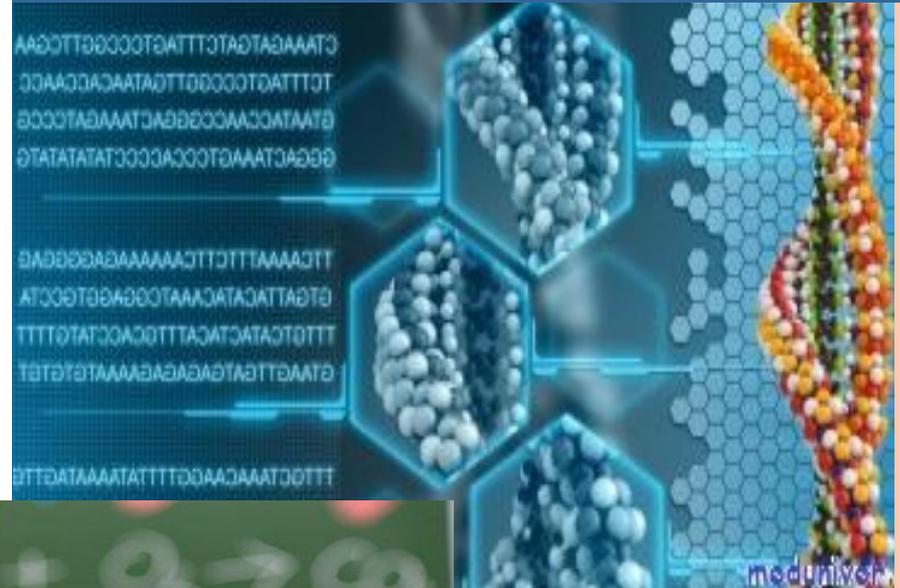
Методы для диагностики наследственных заболеваний.

Цитогенетический метод



Цитогенетический метод основан на микроскопическом изучении хромосом в клетках человека.

Молекулярно-генетический метод

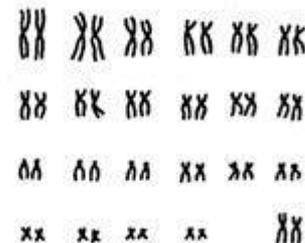
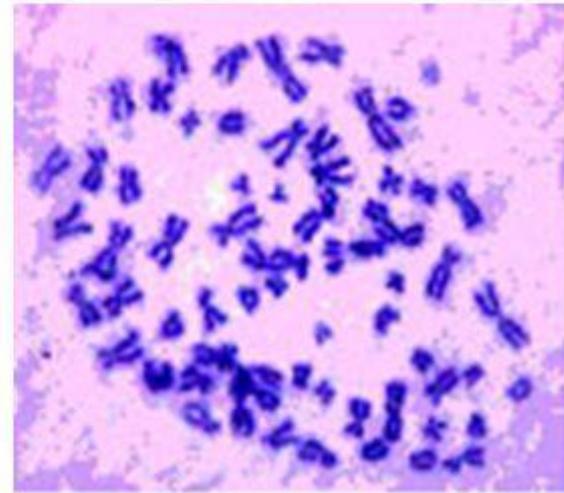


Биохимический метод

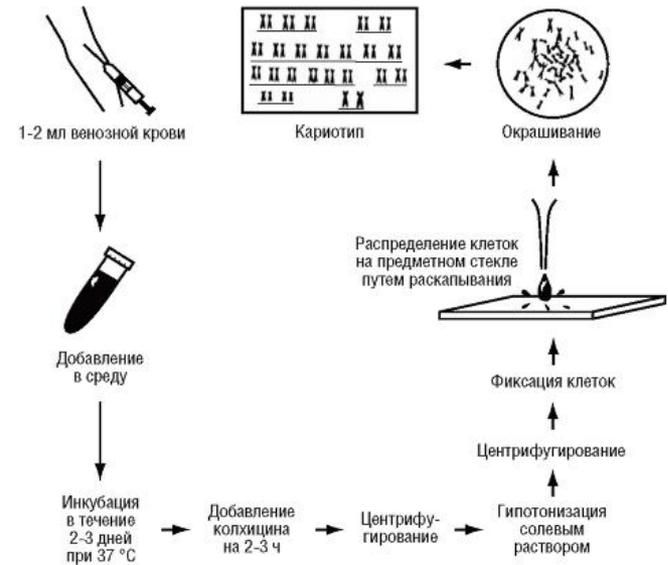


ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЙ МЕТОД

- Цитогенетический метод используют для изучения хромосом, а также при диагностике наследственных заболеваний, связанных с геномными и хромосомными мутациями. Кроме того, этот метод применяют при исследовании мутагенного действия различных химических веществ, пестицидов, инсектицидов, лекарственных препаратов и др.

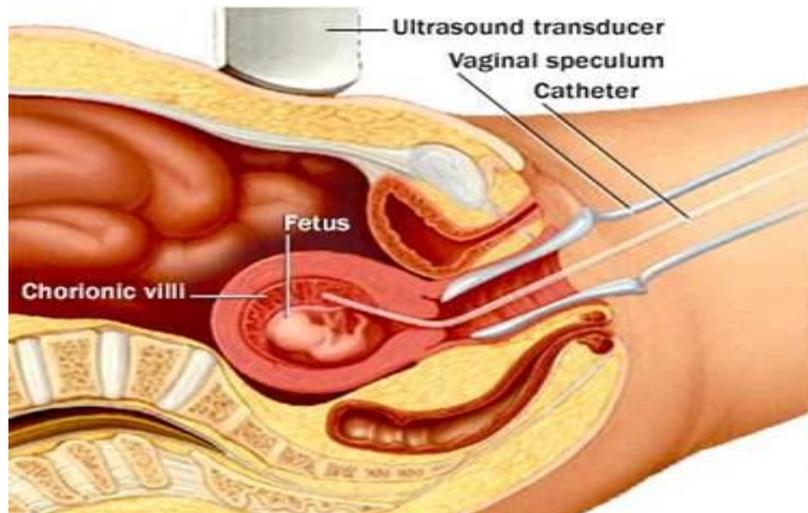


Прямые методы цитогенетики (метод без культивирования) позволяют проводить хромосомный анализ клеток опухолей, в основном используют для изучения костного мозга после пункции. Материал помещают в питательную среду, добавляют колхицин (для остановки деления клеток) инкубируют 2-3 часа при 37 °С, а затем готовят препараты хромосом.

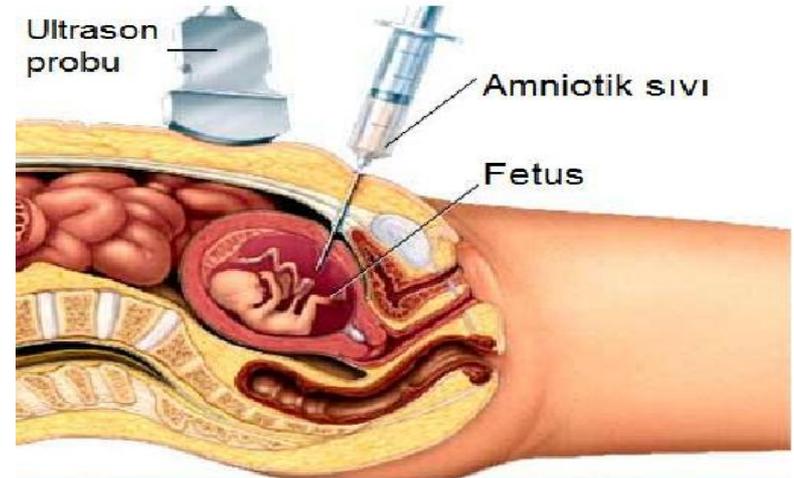


Непрямые методы цитогенетики – связаны с культивированием клеток. Проводят анализ хромосом лимфоцитов периферической крови человека, взятой при пункции локтевой вены, в количестве 1,0 мл. Кровь помещают в питательную среду с ФГА (фитогемагглютинина), стимулирующего митотическое деление лимфоцитов. Далее культура помещается в термостат и культивируется 48-72 часа. За 2 часа вводится колхицин и затем происходит приготовление препаратов хромосом. Существуют несколько видов окраски препаратов хромосом: азур-эозин, краситель Гимза (G-окраска) и флюоресцирующий краситель акрихин или акрихин-пирит (Q-окраска).

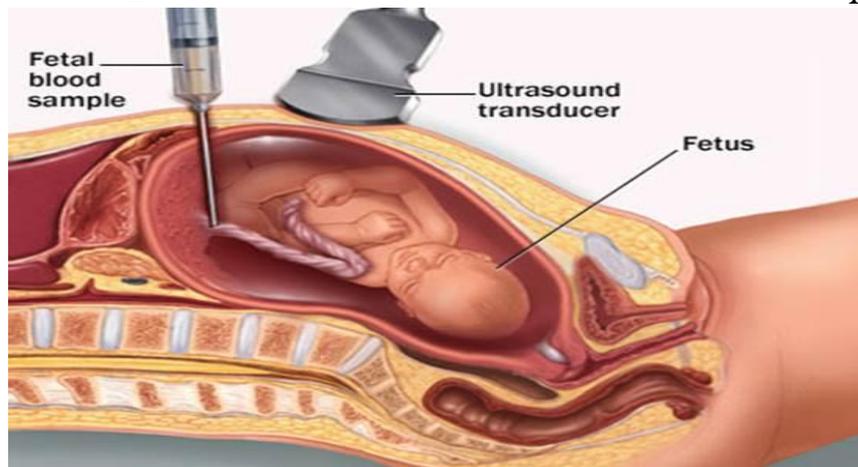
Препараты хромосом можно получать также из клеток ворсин хориона, плаценты, пуповинной крови, амниотической жидкости, эмбриональных органов для **пренатальной диагностики наследственных заболеваний** .



Взятие биоптата хориона



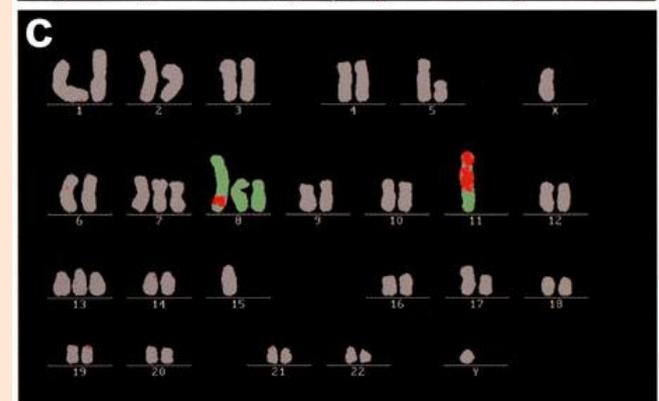
Амниоцентез



Взятие пуповинной крови



FISH-метод или in situ - молекулярный метод флюоресцентной гибридизации, который недавно появился в арсенале цитогенетики. Основан на обработке препаратов хромосом специфическим ДНК-зондом, который присоединяется к исследуемой хромосоме, и после обработке специальными флюоресцентными красителями препарат исследуют под флюоресцентным микроскопом. С помощью данного метода можно определить не только локализацию гена но и расшифровать сложные перестройки хромосом. В онкоцитогенетике используют метод **сравнительной геномной гибридизации**, основанный на гибридизации ДНК пациента с контрольными препаратами хромосом. Данный метод можно выявить участки ДНК с делециями и дупликациями., составить карты генов, вовлеченных в опухолевый процесс.



Запись кариотипа человека



t – транслокация, q – длинное плечо хромосомы,

p – короткое плечо хромосомы



**Подозрение на хромосомную
болезнь по клинической
симптоматике**

**Спонтанные аборт,
мертворождения**

**Наличие у ребенка
врожденных
пороков развития**

**Пренатальная
диагностика**

**Показания к цито-
генетическим методам**

**Существенная
задержка умствен-
ного и физического
развития у ребенка**

Лейкозы

**Подозрения на синдромы,
характеризующиеся
хромосомной нестабильностью**

**Оценка мутагенных
воздействий (радиационных,
химических)**

**Нарушение репродуктивной
функции у женщин и мужчин**



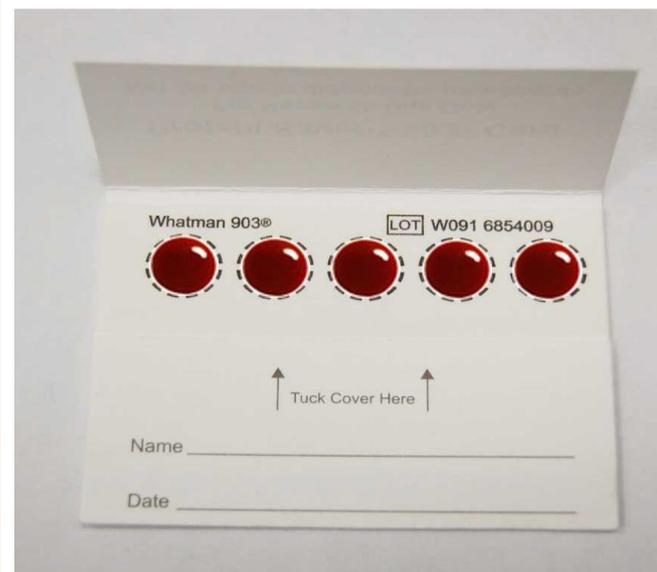
БИОХИМИЧЕСКИЙ МЕТОД

- Биохимический метод используется для обнаружения наследственных дефектов метаболизма. Конечная цель – выявление первичных продуктов действия мутантных генов.
- При биохимической диагностике используют как классические методы - электрофорез, хроматография, спектроскопия, так и современные высокоточные – масс-спектрометрия, магнитно-резонансная спектрометрия, бомбардировка быстрыми нейтронами.
- «Объектами» биохимической диагностики являются биологические жидкости: моча, пот, плазма и сыворотка крови, эритроциты, лейкоциты, культура фибробластов, лимфоцитов.

Массовые просеивающие программы биохимической диагностики

Массовые скрининг новорожденных детишек проводят на 5 наследственных заболеваний: фенулкетонурию, врожденный гипотериоз, врожденную гипоплазию надпочечников, муковисцедоз, галактоземию (приказ МЗ №185 от 22 марта 2006г).

Массовый скрининг взрослого населения организованы для выявления тех болезней, которые распространены в определенных популяциях. Например, среди евреев-ашкенази отмечается высокая частота тяжелого заболевания Тея-Сакса, на Кипре и в Италии с высокой частотой встречается тяжелое заболевание крови – талассемия.



Селективные диагностические программы

Предусматривают проверку биохимических аномалий обмена (моча, кровь) у пациентов, у которых подозреваются генные наследственные заболевания.

Показания для применения биохимических методов у новорожденных являются такие симптомы, как *судороги, кома, рвота, гипотония, желтуха, специфический запах мочи и пота, ацидоз, остановка роста.*

Пример селективного скрининга:

Первый этап - включает качественный и количественный анализ мочи и крови (14 тестов) на белок, на кетокислоты, на цистин, гомоцистин, креатинин и др.

Второй этап – основан на методах хроматографии мочи и крови. Эта программа позволяет выявить 140 наследственных заболеваний обмена веществ у детей из следующих основных классов: аминокислотопатии, лизосомные болезни, болезни углеводного обмена, болезни обмена металлов, болезни пуринового и пиримидинового обмена веществ, наследственные болезни желудочно-кишечного тракта, митохондриальные болезни.

Молекулярно-генетические методы.

Методы ДНК диагностики позволяют осуществлять точную и, что очень важно, доклиническую диагностику многих заболеваний, проводить раннюю пренатальную (дородовую) диагностику наследственных заболеваний. Это подчас является решающим для решения вопроса о судьбе конкретной беременности.



В основе анализа ДНК лежат две характеристики:

1. Последовательность составляющих ДНК нуклеотидов имеет индивидуальные особенности у каждого отдельного человека, кроме однояйцовых близнецов или клонированных организмов
2. У каждого человека во всех соматических клетках структура ДНК совершенно одинакова.

Материалом для ДНК-диагностики являются любые клетки организма, содержащие ядро: лейкоциты периферической крови, биоптаты мышц, клетки эпителия полости рта, биоптаты хориона, плаценты, клетки амниотической жидкости, лимфоциты пуповинной крови (на 10-21 недели беременности при пренатальной диагностике).



Косвенная ДНК-диагностика

Непрямая «косвенная» ДНК-диагностика используется при заболеваниях, ген которых достаточно точно *картирован*, то есть локализован в конкретном узком участке определенной хромосомы.

Сущность метода заключается в анализе наследования у больных и здоровых членов семьи полиморфных генетических маркеров, сцепленных с геном болезни. В качестве таких маркеров выступают участки ДНК, существующие в виде аллельных вариантов и различающиеся у разных лиц по структуре. Благодаря этому возможно дифференцировать материнское и отцовское происхождение конкретного варианта маркера при анализе ДНК пациента.

Маркер располагается в близости от патологического гена, поэтому маркер и ген болезни после кроссинговера остаются в составе одного хромосомного сегмента и передаются потомству как единое целое. Благодаря анализу удастся проследить в ряду поколений наследование каждой их родительских X-хромосом.

Показания:

1. для диагностики гемофилии, гемоглобинопатий, митохондриальных болезней, муковисцедоза, фенилкетонурии, миопатии Дюшенна;
2. для определения происхождения популяции людей;
3. в практике судебной медицины;
4. для определения отцовства или степени родства;
5. для генетического анализа клеток костного мозга при трансплантации,
6. для расшифровки генома.



Благодарю за внимание!

