

5. Опыт проведения пренатальной диагностики хромосомной патологии в I триместре по системе OSCAR. - Пренатальная диагностика. – 2007. - №2. – С. 99.
6. Пренатальная диагностика редких врожденных пороков и синдромов. Синдром Ларсена. – Пренатальная диагностика. – 2007. - №3. – С. 206.
7. Пренатальная диагностика хромосомных аномалий в Свердловской области. Синдром Патау. - Пренатальная диагностика. – 2007. - №2. – С. 107.

## **МЕТОДИЧНА РОЗРОБКА ПРАКТИЧНОГО ЗАНЯТТЯ**

**МОДУЛЬ 1.** Медична генетика.

**ЗМІСТОВНИЙ МОДУЛЬ 1.** Основи медичної генетики. МГК.

**ТЕМА ЗАНЯТТЯ №1:** Методи клінічної генетики (генеалогічний, дерматогліфічний, цитогенетичний, біохімічний). Близнюковий та популяційний методи діагностики. ДНК-діагностика.

**I. НАУКОВО-МЕТОДИЧНЕ ОБГРУНТУВАННЯ ТЕМИ:** У системі підготовки сучасного лікаря генетика людини є дисципліною, яка формує не тільки теоретичну базу для вивчення медико-біологічних дисциплін, але і сприяє розвитку клінічного мислення. Завдяки бурхливому розвитку генетики людини і клінічної генетики зокрема, її досягнення стали доступними лікарям усіх спеціальностей.

З пацієнтами, які мають спадкову патологію, першими контактують, як правило, не лікарі-генетики, а лікарі інших спеціальностей. Від їх вміння запідозрити спадкове захворювання та вибрати вірну тактику ведення хворого багато в чому залежить доля хворого і усієї його сім'ї. Все це свідчить про важливість вивчення лікарями усіх спеціальностей питань клінічної та лабораторної генетики. Сьогоднішня клінічна генетика - це широкий арсенал діагностичних можливостей, включаючи пренатальну діагностику, для більшості спадкових хвороб, це, в близькому майбутньому - впровадження методів генотерапії або етіологічної корекції спадкової патології.

Під час діагностики вродженої та спадкової патології використовуються як традиційні загально-клінічні методи, які базуються на оцінці закономірностей проявів спадкової патології, так і спеціальних "генетичних" методів.

### **II. НАВЧАЛЬНА МЕТА:**

#### **2.1. Студент повинен знати:**

- методи клінічної генетики;
- значення і основи клініко-генеалогічного методу для діагностики спадкової патології,
- область застосування цитогенетичного методу: суть, види та можливості цитогенетичного методу в діагностиці спадкових хвороб;
- показання до застосування цитогенетичного дослідження та додаткових спеціальних методів дослідження;
- роль спадкових та факторів середовища в етіології та патогенезі захворювань людини;
- загальні закономірності етіології та патогенезу спадкових хвороб;
- загальні принципи клінічної діагностики спадкових хвороб, причини походження та діагностичну значимість морфогенетичних варіантів;
- діагностичні можливості генеалогічного аналізу для діагностики спадкової патології;
- причини походження та особливості клінічних проявів хромосомних хвороб і синдромів, загальні принципи їх клінічної діагностики.

#### **2.2. Студент повинен вміти:**

- зібрати анамнестичні дані і генеалогічну інформацію;
- представити родовід в графічному вигляді;
- проаналізувати успадкування захворювання або ознаки хвороби в сім'ї;
- обстежити пробанда і оцінити фенотип та розпізнати загальні прояви спадкової патології;

- проводити профілактичні заходи, спрямовані на попередження спадкових та природжених захворювань;
- виявляти осіб із підвищеним ризиком щодо розвитку хромосомної патології, сформулювати попередній діагноз хромосомної патології і направляти їх на медико-генетичне консультування;
- обстежувати хворого на виявлення хромосомних синдромів, діагностувати хромосомну патологію;
- навести результати клініко-генетичного та лабораторного дослідження у вигляді щоденників та заключення в історії хвороб пацієнта;
- проводити профілактичні заходи, спрямовані на попередження спадкових та хромосомних захворювань.

### **2.3. Студент повинен опанувати практичними навичками:**

- зібрати анамнестичні дані і генеалогічну інформацію;
- скласти родовід;
- представити родовід в графічному вигляді;
- при обстеженні хворого розпізнавати прояви спадкової патології;
- володіти термінологією при описуванні клінічної картини спадкової патології;
- діагностувати уроджені морфогенетичні варіанти;
- уміти розрахувати генетичний ризик в конкретній ситуації.
- обстежити хворого на виявлення хромосомної патології, розпізнати її прояви, правильно використовувати відповідну термінологію;
- "читати" загальні символи і скорочені терміни для позначення хромосомних аномалій;
- зібрати анамнестичні дані та генеалогічну інформацію;
- проаналізувати ознаки хвороби в сім'ї;
- уміти розрахувати генетичний ризик в конкретній ситуації.

### **III. ВИХОВНА МЕТА:**

- сформулювати у студентів основні уявлення про важливість дотримання принципів деонтології та лікарської етики при обстеженні хворої дитини, проведенні лікувально-діагностичних маніпуляцій (з урахуванням характеру захворювання, індивідуальних особливостей пацієнта, ступеня його інтелектуального розвитку, рівня культури, вікових особливостей та ін.).

### **IV. МІЖПРЕДМЕТНА ІНТЕГРАЦІЯ:**

<b>Назва попередніх дисципліни</b>	<b>Отримані навички</b>
8. Анатомія 9. Нормальна фізіологія 10. Гістологія 11. Патофізіологія 12. Загальної гігієни та екології людини 13. Пропедевтика дитячих хвороб	Знати анатомічні особливості плода та дітей раннього віку Фізіологічні особливості дитячого організму. Знати закони Менделя. Спадкові форми патології. Стигми дизембріогенезу. Ефекти хромосомних аномалій в онтогенезі. Класифікація хромосомних хвороб. Екзогенні чинники та їх роль у виникненні мутацій при хромосомній патології. Розпізнавати загальні прояви спадкової патології, діагностувати вроджені морфогенетичні варіанти. Зібрати анамнестичні дані і генеалогічну інформацію, проаналізувати ознаки хвороби в сім'ї. Виявляти особливості клінічних проявів хромосомних хвороб. Формулювати діагноз згідно класифікації. Виявляти стигми дизембріогенезу та симптоми хромосомної

	патології при обстеженні.
--	---------------------------

#### V. ПЛАН ТА ОРГАНІЗАЦІЙНА СТРУКТУРА ПРАКТИЧНОГО ЗАНЯТТЯ:

N п/п	Основні етапи та їх зміст	Розподіл часу та рівні засвоєння	Види контролю	Навчально-методичне забезпечення
1.	Підготовчий етап:	15% L=II-III	Фронтальне опитування, тести II-III рівня, задачі II-III рівня, 3-4 хворих стаціонару зі спадковою та хромосомною патологією.	Обладнання, підручники, посібники, фотоальбом з клінічними синдромальними формами, методичні рекомендації, результати загально-клінічних та параклінічних методів обстеження
1.1	Організаційні питання			
1.2	Формування мотивації			
1.3	- контроль початкового рівня підготовки (стандартизовані методи контролю)			
2.	Основний етап: Формування професійних вмінь та навичок: а)обстежити хворого на виявлення спадкової та хромосомної патології, розпізнати їх прояви; діагностувати вроджені морфогенетичні варіанти; уміти розрахувати генетичний ризик в конкретній ситуації; б)зібрати анамнестичні дані і генеалогічну інформацію, скласти родовід, представити в графічному вигляді і проаналізувати успадкування захворювання або ознаки хвороби в сім'ї; в)правильно використовувати відповідну термінологію при описанні фенотипу хворого; г)читати загальні символи і скорочені терміни для позначення хромосомних аномалій; д)відбирати з контингенту хворих осіб для проведення спеціальних біохімічних, цитогенетичного та молекулярно-генетичних	65% L=III	Текстові ситуаційні задачі, матеріали загально-клінічних та параклінічних методів обстеження, лікарські засоби. Індивідуальний контроль практичних навичок та результатів курації тематичних хворих. Вирішення клінічних текстових завдань. Набір тестових завдань та еталони відповідей.	

	досліджень; е)обговорення результатів курації; є)вирішення ситуаційних клінічних задач.			
3.	Заключний етап:	20% L= II-III		
3.1	Контроль кінцевого рівня підготовки			
3.2	Мотивована загальна оцінка навчальної діяльності студента			
3.3	Інформування студентів про тему наступного заняття			

### **5.2.1. Підготовчий етап:**

На початку заняття викладач знайомить студентів з основними завданнями заняття, планом. Для контролю вихідного рівня знань студентів кожному з них пропонується вирішити типове питання з постановкою діагнозу – можна використати ситуаційні клінічні задачі.

### **5.2.2. Основний етап:**

Опитування та клінічне обстеження хворого проводиться студентом разом з викладачем. Для оцінки правильності обстеження постійно залучаються інші студенти.

## **РЕФЕРАТ.**

### **Діагностика спадкових хвороб двоетапна:**

1. Загальне клінічне обстеження хворого, складання та аналіз родоводу, параклінічне обстеження (УЗД, рентгенологічне, ендокринологічне, імунологічне).

2. При підозрі на конкретну спадкову (в т.ч. синдромально) патологію проводять спеціальні генетичні дослідження (цитогенетичний, біохімічний методи, ДНК-діагностика та інш.).

Загально-клінічні методи, які використовуються під час діагностики вродженої і спадкової патології включають:

- характеристику клінічних проявів патології (семіотика) у конкретного про банди;
- використання загальних принципів клінічної діагностики;
- використання традиційних клініко-лабораторних та інструментальних методів обстеження пацієнта (клінічний аналіз крові, сечі, біохімія крові, ЕКГ, ЄСГ, УЗО та інш.).

До спеціальних генетичних методів відносяться:

- клініко-генеалогічний метод;
- пошук макро- і мікросимптомів захворювання під час клінічного обстеження;
- синдромологічний підхід в діагностиці;
- спеціальне лабораторне обстеження (цитогенетичне, імуногенетичне, біохімічне, молекулярно-генетичне та інш.).

Не дивлячись на великий спектр спадкових хвороб, більшість із них мають деякі специфічні прояви, які необхідно враховувати в комплексі діагностичної програми.

**Клініко-генеалогічний метод.** Метод родовідних включає вивчення успадкування захворювання або якоїсь ознаки за родоводом сім'ї.

Метод використовується:

- при з'ясуванні чи є ознака єдиною в сім'ї або є декілька випадків даної патології (сімейний характер);

- при з'ясуванні, чи є захворювання спадковим або фенкопією. *Фенкопія* – захворювання, подібне за клінічними симптомами зі спадковим, але має іншу етіологію. Якщо захворювання передається в ряді поколінь, варто припустити його спадковий характер;
- при визначенні типу успадкування (домінантний, рецесивний, зчеплений зі статтю, успадкування летальних генів, пенетрантність гена);
- при аналізі зчеплення генів та картуванні хромосом;
- при вивченні інтенсивності мутаційного процесу;
- при визначенні механізмів взаємодії генів;
- при визначенні гомо- і гетерозиготності різноманітних членів сім'ї;
- при визначенні можливості генетично зумовлених подій;
- при визначенні ризику народження хворої дитини;
- при виявленні осіб, які потребують медико-генетичного консультування;
- при визначенні клінічного прогнозу для пробанда та його родичів з урахуванням особливостей захворювання та його генетичної характеристики;
- при оцінці експресивності та пенетрантності гена;
- для МГК.

Виділяють три етапи клініко-генеалогічного методу:

*1 етап - збір генеалогічної інформації.*

Для аналізу повинні бути зібрані відомості не менше, ніж про три покоління (бабуся-дідуся, батько-мати, діти). Особливістю клінічної генетики є те, що об'єктом дослідження є не окремий хворий, а сім'я. Збір відомостей починається з пробанда. *Пробандом* називається людина, яка звернулася до лікаря, частіше - це хворий на спадкове і/або вроджене захворювання. Потім слідує розпитування про сибсів пробанда (діти однієї батьківської пари), найближчих родичів у порядку народження, потім про родичів матері та батька. Слід вказати вік померлих, причини смерті.

У випадку, коли до генетика звертаються сім'ї, які вже мають хвору дитину, таке обстеження називається *ретроспективним*, а пробандом називають хворого. При зборі паспортних даних та анамнезу необхідно звертати увагу на наступне:

1. Прізвище, ім'я та по-батькові батьків. У матері вказують дівоче прізвище. При спорідненому шлюбі підвищений ризик народження дітей із рецесивним захворюванням.
2. Вік пробанда. Спадкові хвороби можуть проявлятися в різному віці. Бажано вказати вік батьків на момент народження пробанда, оскільки з віком матері пов'язана частота хромосомних хвороб, а з віком батька - нові генні домінантні мутації.
3. Яким за рахунком є пробанд у сім'ї.
4. Національність. Частіше спостерігаються: а) хвороба Тея-Сакса у євреїв-ашкеназі; б)  $\alpha$ -таласемія - у греків; в) серпоподібноклітинна анемія - у афроамериканців; д)  $\beta$ -таласемія - у жителів Південно-Східної Азії; е) муковісцидоз - у вихідців із Північної Європи та жителів Півдня України та інші.
5. Місце проживання сім'ї (для виключення ендемічної зони).
6. Місце проживання пращурів по материнській та батьківській лінії (для виключення споріднених шлюбів).
7. Місце роботи батьків та місце проходження служби у збройних силах батька (для виключення впливу мутагенних та тератогенних факторів).
8. Наявність хронічних захворювань у матері (серцево-судинної системи, органів дихання, діабет, епілепсія, ФКУ).
9. Несприятливий акушерський анамнез. Наявність репродуктивних втрат (самовикидні, мертвонародження, завмерлі вагітності, первинне непліддя) в анамнезі можуть свідчити про наявність збалансованої хромосомної мутації у батька чи матері.
10. Кількість вагітностей у матері пробанда, уточнити перебіг кожної з них, в якому терміні та з якої причини перервана вагітність.

11. Обтяжений сімейний анамнез. Наявність у сім'ї дітей із спадковою патологією, вадами розвитку, дітей, що померли в ранньому віці свідчать про успадкування патологічних генів або збалансованих хромосомних перебудов. У випадку смерті дитини слід отримати заключення патологоанатома.

12. Несприятливий перебіг вагітності, яка закінчилася народженням пробанда:

- а) загроза переривання вагітності - при хромосомних та моногенних синдромах у плода;
- б) затримка внутрішньоутробного розвитку – при хромосомних та моногенних синдромах, внутрішньоутробних інфекціях, радіаційному ураженні, багатоплідній вагітності, аплазії підшлункової залози;
- в) маловоддя – при захворюваннях, що супроводжуються зниженням нормальної продукції сечі, при уроджених вадах розвитку;
- г) багатоводдя - при вадах шлунково-кишкового тракту з порушенням функції ковтання;
- д) мала рухомість плоду - при артрогрипозах.

13. Хвороби сибсів, причини їх смерті та вік, в якому вони померли.

14. Уточнити в матері:

- а) якою за рахунком дитиною вона була в сім'ї?
- б) чи є в сестер та братів діти?
- в) кількість дітей у порядку народження, їх стан здоров'я?
- г) якщо хтось із них помер, то в'яснити причину.

***Після збору анамнезу описують фенотип хворого - сукупність зовнішніх та внутрішніх ознак організму.***

*II етап - складання родоводу.*

*Родовід - графічне зображення сімейного дерева.*

*Символи, які застосовуються для побудови родоводу*

- здорова жінка
- здоровий чоловік
- пробанд
- шлюб
- кровноспоріднений шлюб
- повторний шлюб
- стать невідома
- аборт медичний
- викидень
- незареєстрований шлюб
- сибси
- монозиготні близнюки
- дизиготні близнюки
- померли
- безплідний шлюб
- безплідна, безплідний
- хворі

У залежності від мети дослідження, родовід може бути *повним* або *обмеженим*.

***Правила складання родоводу:***

1. Родовід потрібно починати складати з середини листа.
2. Родовід зображають графічно, для чого використовують символи.
3. Сибсів зображують справа наліво в порядку народження.
4. Усі члени одного покоління зображуються на одній лінії.
5. Родовід зручно почати складати з матері пробанда та її сибсів, потім – її родичів. Мати та її родичі розташовуються в родоводі справа. Батька та його родичів – зліва. Пробанда та його сибсів – посередині між сім'ями батька та матері.

6. Покоління позначають римськими цифрами зверху донизу. Звичайно цифри ставлять зліва від родоводу. Арабськими цифрами нумерують нащадків одного покоління (весь ряд) зліва направо послідовно. Чоловіка і жінку родоводу можна позначити тим же номером, але разом зі строчною буквою після цифри, якщо вони не кровно пов'язані з членами родоводу. Якщо один з подружжя не обстежений на наявність ознаки і його родовід не наводиться, бажано не зображати його взагалі. Кожний представник повинен мати свій код;

7. Вказують вік (дату народження) членів сім'ї цифрами біля символу.

8. Особисто обстеженого позначають значком (!).

9. Подружжя родичів пробанда можуть не відображатися в родоводі, якщо вони здорові і "не впливають" на виникнення захворювання.

10. Слід вказати дату складання родоводу.

11. Складання родоводу супроводжується легендою.

12. Покоління можна розміщати концентрично.

*III етап – генеалогічний аналіз.* По-перше слід уточнити, чи успадковується ознака, чи вона є наслідком нової мутації або дією тератогену; по-друге – визначити тип успадкування захворювання в даній сім'ї, по-третє – генотип батьків та ризик народження хворої дитини.

*Встановлення спадкового характеру ознаки:* якщо в родоводі зустрічається одна й та ж ознака декілька разів, то можна думати про спадкову природу.

*Виключення фенкопій:* якщо, патогенний фактор діяв на жінку впродовж усіх вагітностей, то в неї можуть народитися декілька дітей з однаковими уродженими вадами. Одні й ті ж професійні шкідливості або зовнішні фактори можуть викликати подібні захворювання у членів сім'ї.

*Встановлення типу успадкування:* розрахунки співвідношення числа хворих дітей до здорових дадуть невірне заключення про тип успадкування, оскільки при рецесивному захворюванні в поле зору лікаря не потрапляють сім'ї-носії, в яких народилися здорові діти. У такому випадку невиявлені сім'ї становлять, наприклад, при одній дитині і домінантному типі успадкування 1/2, а при рецесивному – 3/4. Таким чином, у розрахунки співвідношення хворих і здорових дітей слід вводити поправки на частку невиявлених дітей.

#### **Близнюковий метод**

Вивчення успадкування різноманітних ознак у близнюків дозволило з'ясувати особливості передачі спадкових захворювань, схильність до них, реалізацію однакового і неоднакового генотипу в різноманітних умовах середовища, причини прояву і ступінь вираження генів.

Наявність у монозиготних близнюків однакових ознак і однакових захворювань зветься *конкордантністю*, розходження в ознаках - *дискордантністю*. Якщо в монозиготних близнюків ступінь конкордантності вищий ніж у дизиготних, це говорить про спадковий характер захворювання. Важливо мати найбільш чіткі маркери конкордантності, якими є портретна подібність, група крові, дерматогліфіка, дані ЕЕГ і ЕКГ. Метод, що дозволяє з 100% достовірністю встановити монозиготність - це трансплантація ділянки шкіри.

Для вивчення ролі спадковості в походженні тієї або іншої ознаки німецький генетик К. Хольцингер запропонував формулу визначення *коефіцієнта успадкування (H)* і *коефіцієнта впливу середовища (E)*:

$$H = \frac{\% \text{ подібності МЗ} - \% \text{ подібності ДЗ}}{100\% - \% \text{ подібності ДЗ}},$$

де:

**МЗ** - монозиготні близнюки,

**ДЗ** - дизиготні близнюки .

Вважають, якщо  $H=0,7$  і вище, то основна роль у виникненні захворювання належить спадковості, при  $H=0$  ознака викликана чинниками середовища. Чим зумовлена дана ознака (спадковістю або чинниками середовища) вирішують наступним чином. Наприклад,

конкордантність по бронхіальній астмі в МЗ=47%, а в ДЗ=24%, тоді  $H = 0,3 = 30\%$ ,  $E = 100\% - 30\% = 70\%$ , отже, ця ознака на 30% зумовлена спадковістю, а на 70% - впливом середовища.

*Парна конкордантність* - частка пар близнюків, у яких обидва партнери мають досліджувану ознаку серед усіх пар близнюків популяції, а не вибірково.

*Пробандна конкордантність* дає можливість визначити одним чи двома генами детермінується дана ознака.

$$Cp = \frac{C + 2C^*}{C + 2C^* + D}$$

де:

**C** - число конкордантних пар близнюків, у яких був зареєстрований лише один пробанд;

**C\*** - число пар близнюків, у яких конкордантними були обидва близнюки;

**D** - число дискордантних пар близнюків.

*Метод контролю за партнером*, коли один із близнюків після впливу якогось чинника має порушення, а другий виступає в якості контролю. Дає можливість вивчити норму реакції даного генотипу і вплив на нього будь-яких чинників.

*Дерматогліфіка* - вивчення рисунку ліній долоні (пальмоскопія), пальців (дактилоскопія) і стопи (плантоскопія). Папілярний візерунок генетично детермінований (полігенна ознака), носить індивідуальний неповторний характер і не змінюється протягом усього життя. Він відрізняється в представників різноманітних рас і національностей. Вдалося зв'язати виникаючі зміни в структурі шкірного рельєфу з появою деяких спадкових захворювань.

Метод дерматогліфіки не потребує великих матеріальних витрат, дає можливість проконсультувати хворого на відстані, підтвердити клінічний діагноз; цим методом можна виявити носійство мутантних генів. Особливого поширення метод дерматогліфіки одержав при діагностиці різноманітних хромосомних синдромів. При цьому гребеневий рахунок може як збільшуватися, так і зменшуватися, можуть з'являтися додаткові складки, змінюватися розташування долонних ліній, розмір кута atd, що у нормі не перевищує  $57^{\circ}$ . Вивчення ліній на стопі застосовується з тією ж метою, але частіше використовується в наукових дослідженнях і рідше — у практичній медицині.

*Цитогенетичні методи.* Ці методи дозволяють за допомогою мікроскопа вивчити хромосоми людини, їх структурні особливості і виявити порушення числа та структури хромосом даного організму (хромосомні та геномні мутації). Їх використовують для:

- а) діагностики хромосомних хвороб;
- б) вивчення мутаційного процесу;
- в) дослідження нормального хромосомного поліморфізму в людських популяціях.

*Методи:*

1. Метод каріотипування.
2. Метод визначення статевого хроматину.
3. Нові методи – диференційоване фарбування хромосом, аналіз профазних та прометафазних хромосом, флуоресцентна гібридизація *in situ*.

*Метод каріотипування*

*Основні показання до каріотипування:*

- 1) при наявності множинних та ізольованих ВВР;
- 2) при уроджених вадах розвитку в дітей, які не відносяться до генного синдрому;
- 3) при звичних викиднях (2 та більше), мертвонародженнях у жінок та інш. репродуктивних втратах;
- 4) при підозрі на передачу сімейної транслокації;
- 5) для підтвердження діагнозу, встановленого методом дослідження статевого хроматину;



- 6) для допологової діагностики у випадку літнього віку матері або підозрі на передачу сімейної транслокації;
- 7) при підозрі на хромосомну хворобу;
- 8) при множинних вадах розвитку або ознаках дизморфій, етіологія яких не визначена клінічно;
- 9) відставання в розумовому розвитку нез'ясованої етіології;
- 10) порушення репродуктивної функції неясного генезу в жінок та чоловіків;
- 11) суттєва затримка розумового та фізичного розвитку в дітей;
- 12) пренатальна діагностика (ризик, пов'язаний з віком дитини, наявністю транслокації у батьків, народженням попередньої дитини з хромосомною патологією);
- 13) лейкози (дифдіагностика, оцінка ефективності лікування та прогнозу);
- 14) оцінка мутагенних дій (радіаційних, хімічних);
- 15) усі спонтанно абортвані та мертвонароджені плоди;
- 16) діти з клінічними ознаками гермафродитизму;
- 17) безплідні подружні пари.

Об'єктом цитогенетичного спостереження можуть бути клітини, які діляться (соматичні, мейотичні, інтерфазні).

Матеріал біопсійний, отриманий шляхом пункції кісткового мозку, гонад, пухлин, ембріональних тканин, лімфатичних вузлів, селезінки та клітини хоріона. При пренатальній діагностиці – клітини амніотичної рідини, хоріона, плаценти або пуповинної крові плоду.

Найчастіше використовують метод культивування лімфоцитів периферичної крові (непрямий метод). Етапи цього дослідження: 1. забір крові (1-2 мл венозної крові, фітогемаглютинін, середовище); 2. додавання колхіцину за 2-3 години до закінчення культивування з метою зупинки поділу клітини на стадії метафази – метод метафазної пластинки). У випадках, коли необхідно провести детальний аналіз окремого району хромосоми, використовують стадію прометафази (хромосома редуплікувалася, але ще не конденсувалася) – прометафазний метод або метод високорозрішальної цитогенетики; 3. етап гіпотонізації («гіпотонічний шок») – додають гіпотонічний розчин хлориду кальцію або цитрату натрію, внаслідок чого клітини набухають, ядерна оболонка і міжхромосомні зв'язки розриваються і хромосоми вільно плавають у цитоплазмі; 4. фіксація клітинної суспензії сумішшю метанолу і оцтової кислоти (1:3), потім центрифугують, суспензію наносять на предметне скельце, фіксують, висушують; 5. фарбування - методом Гімзе, диференційованого та флуоресцентного фарбування. Барвник Гімзе фарбує усі хромосоми рівномірно по всій довжині. При цьому контуруються центромера, вторинні перетяжки.

*Метод диференційованого фарбування* – температурно-сольовий вплив на фіксовані хромосоми (фарбування акріхін-іпритом – Q-метод, фарба Гімза – G-метод). Після подібних впливів з'являється можливість виявити диски (смуги, бенди) на плечах хромосом (можна оцінити близько 200 – 400 ділянок). Кожне плече хромосоми ділиться на райони (нумерація їх здійснюється від центромеру до теломеру), яких у хромосомі звичайно 2 - 3, іноді в смугі виділяють субполосу. Наприклад, запис 1p3.6 означає 6-та смуга (або диск), 3-й район, коротке плече 1-ї хромосоми. Вважають, що забарвлені сегменти – гетерохроматинові, а незабарвлені – еухроматинові, в яких розміщені кодуючі послідовності ДНК.

**Визначення статевого хроматину.** Про стан статевих хромосом можна судити за статевим хроматином клітинних (інтерфазних) ядер, вивчення яких застосовується у клінічній практиці в якості доступного методу тест-діагностики. *X-статевий хроматин (тільце Барра)* - це невеличке утворення різної форми, яке чітко видиме у світловому мікроскопі в ядрі клітини на стадії інтерфази і щільно прилягає до мембрани ядра.

Більшість інтерфазних клітинних ядер жіночого організму містять тільця X-статевого хроматину, а в ядрах чоловічого організму він відсутній. Визначають відсоток вмісту статевого хроматину, тобто кількість тілець на 100 інтерфазних ядер. У нормі від 20 до 40% клітин жіночого організму і від 0 до 5% клітин чоловічого організму містять в ядрах тільця X-статевого хроматину. Вважають, що глибока статевий хроматину утворюється за рахунок гетерохроматизованої (спіралізованої) X-статевий хромосоми. У процесі гетерохроматизації

X-статева хромосома стає неактивною й у інтерфазному ядрі утворює глибоку X-статевого хроматину. Існує формула, що встановлює зв'язок між кількістю глибок X-статевого хроматину і статевих X-хромосом в одній клітині:

$$n = X - 1,$$

де:  $n$  - кількість глибок статевого хроматину,

$X$  - кількість X-статевих хромосом.

При каріотипі 46,X кількість глибок статевого хроматину дорівнює ( $n=X-1=0$ ), тобто в жіночого організму в ядрах клітин відсутня глибока статевого хроматину. Відповідно до гіпотези М. Лайон, у жіночому організмі впродовж перших двох тижнів ембріонального розвитку дві статеві X-хромосоми знаходяться в активному стані й обидві необхідні для нормального диференціювання статі. На 16-му тижні відбувається інактивація однієї статевої X-хромосоми соматичних клітин, і в жіночої особи, як і в чоловічої функціонує тільки одна X-статева хромосома. У такий спосіб досягається *ефект дози генів*, у результаті чого в жіночому організмі XX-статеві хромосоми утворюють таку ж кількість продукту, як і єдина X-статева хромосома. У процесі ембріогенезу інактивація X-статевої хромосоми у тканинах і органах людини відбувається з неоднаковим темпом, у результаті чого у плоду в той самий час у різних клітинах утримується різна кількість ядер із X-статевим хроматином.

Вміст X-статевого хроматину можна визначити в різноманітних тканинах плоду і провізорних органів людини.

Яка з двох X-статевих хромосом інактивується, залежить від випадку. Вважають, що в одній половині клітин жіночого організму інактивована одна X-статева хромосома, а в другій половині - інша. У зв'язку з цим у випадку рецесивного успадкування, зчепленого зі статтю, у жіночому організмі рецесивний мутантний ген X-статевої хромосоми компенсується домінантним нормальним геном іншої X-статевої хромосоми, чого не спостерігається в чоловічому організмі.

Існує декілька методів визначення *X-статевого хроматину*. Самий простий - визначення тілець Барра в зішкрібі клітин слизової оболонки щоки при фарбуванні ацеторсеїном. Злегка притискаючи шпатель, беруть зішкріб зі слизової оболонки щоки, розподіляють мазок на предметному склі і на 1-2 хв. додають барвник ацеторсеїн. Потім покривають препарат покривним скельцем і, злегка притискаючи, видаляють залишок барвника фільтрувальним папером. Препарат вивчають за допомогою світлового мікроскопа з імерсійним об'єктивом. Підраховують 100 інтерфазних ядер і кількість їх із глибоками X-статевого хроматину виражають у відсотках.

Використовуються й інші засоби фарбування X-статевого хроматину: за *Фельгеном*, *метиленим синім* із низькими значеннями рН, *крезил-віолетом* і ін.

Розроблені також методи підрахунку Y-статевого хроматина. У цьому випадку вивчають епітелій слизової оболонки щоки в чоловіків за допомогою люмінесцентної мікроскопії.

*Показання до визначення X- і Y-статевого хроматина:*

- 1) визначення статі за наявності гермафродитизму;
- 2) з метою визначення статі до народження дитини (при амніоцентезі), щоб у випадку виявленої патології або встановленні чоловічої статі при високому ризику хвороби, зчепленої зі статтю, вирішити питання про переривання або зберігання вагітності;
- 3) для діагностики спадкових захворювань, пов'язаних із порушенням числа статевих хромосом. У цьому випадку кількість глибок X-статевого хроматину в клітині може збільшуватися (замість однієї може бути 2-3) або зменшуватися (в жіночого організму може бути відсутній X-статевий хроматин);
- 4) для визначення хромосомної патології дітей із порушенням інтелекту;
- 5) для виявлення спадкової патології при первинній аменореї і ранній вторинній аменореї в жінок, а також безплідді в чоловіків.

***Молекулярно-цитогенетичні методи***

Метод молекулярної **флуоресцентної гібридизації in situ (FISH)** заснований на здатності хромосомної ДНК утворювати стійкі гібридні молекули з відомими за нуклеотидним складом ДНК (РНК та інш.) - пробями безпосередньо на препаратах

фіксованих клітин, хромосом та інтерфазних ядер з подальшим виявленням результату гібридизації по мітці – флуоресцентному сигналу в очікуваному місці. Препарат досліджують за допомогою люмінесцентного мікроскопа. Застосування цього методу дозволило перейти від вивчення морфології хромосом до аналізу послідовностей ДНК, що входять до їх складу.

У якості досліджуваного матеріалу можна використовувати не тільки цитогенетичні препарати, але і стандартно пофарбовані мазки крові, кісткового мозку або відбитки лімфовузлів, а також архівний гістологічний матеріал, який зберігається у вигляді парафінових блоків.

Вперше *in situ* гібридизація була описана у 1969 році, коли у якості мітки був використаний радіоактивний  $^{32}\text{P}$ . В подальшому розробка нерадіоактивних систем маркування ДНК-зондів зробила цей метод безпечним та досить простим у виконанні.

В якості ДНК-проби (ДНК-зонда) можуть бути відносно невеликі фрагменти ДНК, комплементарні тій послідовності ДНК, що аналізується. Розмір зондів може варіювати від 90-100 тис. п.н. до декількох мільйонів п.н., тому в якості мішені можуть бути не тільки окремі хромосомні ділянки, але й уся хромосома.

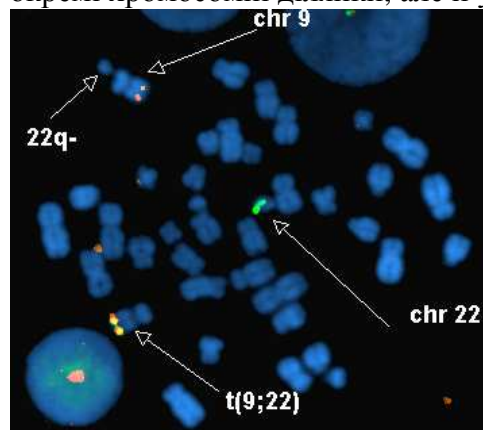


Рисунок 12. Картина гібридизації з локуспецифічним зондом LSI BCR/ABL Dual color, Dual Fusion

Ця нова методика дослідження каріотипу дає можливість об'єктивно оцінити розміри клону клітин, які несуть хромосомну аберацію, оскільки для вивчення стають доступні клітинні популяції в цілому. Метод флуоресцентної *in situ* гібридизації (FISH) був розроблений для виявлення конкретних послідовностей

ДНК безпосередньо на цитологічних препаратах. Він дозволив перейти від вивчення морфології хромосом до аналізу послідовностей ДНК.

FISH є стандартом в діагностиці мікрodelецій, оскільки дані порушення в більшості випадків не можна виявити за допомогою традиційної цитогенетики.

**Мікрodelеційні синдроми** - це генетичні порушення розвитку, пов'язані з невеликими хромосомними делеціями, що зачіпають один або кілька генів.

Метод також дозволяє виявити делеції, інверсії, транслокації, дуплікації, та інші складні перебудови. Дво- і трьох кольорова флуоресцентна гібридизація *in situ* - застосування флуоресцентних барвників (родамін – червоний колір, флуоресцеїн ізотіоціанат – зелений колір) – використовується для обліку симетричних хромосомних аберацій, діагностики анеуплоїдій в інтерфазних ядрах.

### **Порівняльна геномна гібридизація (CGH)**

Якщо живі клітини недоступні або вони не діляться в культурі, тоді хромосомний аналіз провести неможливо, що нерідко трапляється в онкоцитогенетичній практиці. Для таких ситуацій відносно недавно запропонований альтернативний підхід, не заснований на використанні метафазних хромосом пухлинних клітин. Запропонований метод - **порівняльна геномна гібридизація (CGH)**, виявляє профіль змін кількості копій кожного локусу (втрата хромосом, делеції, інсерції, ампліфікації) в зразку пухлинної тканини і дозволяє картувати ці зміни на нормальних метафазних хромосомах, тобто метод заснований на гібридизації *in situ* диференційно мічених зразків тотальної пухлинної ДНК пацієнта і референсної ДНК здорової особи.

Отже, існуючі молекулярно-цитогенетичні підходи і методи в клінічній цитогенетиці вирішують проблему точної ідентифікації будь-яких варіантів хромосомних порушень, дозволяють поставити точний генетичний діагноз з виявленням конкретної причини захворювання, що надзвичайно важливо для ухвалення правильного рішення при

допологовому обстеженні плоду, а також при медико-генетичному консультуванні пробанда та членів його родини. Таким чином, сучасні генетичні технології дозволяють провести комплексне диференційно-діагностичне обстеження, яке передбачає застосування стандартного хромосомного аналізу, молекулярно-цитогенетичного та молекулярно-генетичного методів.

Використовується в онкогенетиці. Райони делеції вміщують гени-супресори, а райони ампліфікації – онкогени.

**ДНК-діагностика.** Об'єкт дослідження (ДНК) залишається практично незмінною протягом життя організму, починаючи зі стадії запліднення яйцеклітини, і це дозволяє проводити дослідження на будь-якій стадії розвитку організму. За допомогою ДНК-діагностики можна вирішити наступні завдання:

- підтвердження клінічного діагнозу або диференційна діагностика в пацієнта;
- пресимптоматична діагностика - коли клінічні ознаки захворювання з пізнім дебютом відсутні, дозволяє здійснити превентивне лікування (хвороба Вільсона-Коновалова).
- пренатальна діагностика за ДНК плідного матеріалу (ворсини хоріона, клітини амніотичної рідини, кров плода), яка дозволяє попередити народження хворих дітей із тяжкими спадковими захворюваннями і дозволяє сім'ї, яка має хвору дитину зі спадковим захворюванням, народити здорову дитину.
- преімплантаційна діагностика за ДНК яйцеклітини, яка дробиться, заплідненої *in vitro*;
- визначення носійства ушкодженого гена для жінок у випадку Х-зчеплених хвороб.

**Матеріал:** у постнатальному періоді – ядромісні клітини крові; для допологової діагностики – клітини ворсин хоріона, амніотична рідина, кров плода.

**Методи:** прямі та непрямі.

**Прямі методи** ґрунтуються на пошуку мутацій, які призводять до хвороби. Вони є точними, можуть бути використані для підтвердження клінічного діагнозу, для прогнозу перебігу захворювання. Ці методи є інформативними в сім'ях без пробанда, оскільки аналіз мутацій можливий у батьків хворої дитини. Недостатком даного підходу є складність пошуку патологічних мутацій, особливо у великих генах.

**Непрямі методи** ґрунтуються на аналізі зчеплених із патологічним геном поліморфних маркерів. Певними умовами для проведення непрямой ДНК-діагностики є впевненість у клінічному діагнозі, відсутність генетичної гетерогенності та доступність необхідних членів сім'ї пробанда.

Етапи:

1. Отримання ДНК-зразків: виділення усієї ДНК (тотальної або геномної). Джерелом ДНК можуть бути лейкоцити периферичної крові (1 мл), хоріон (20-40 мг), культура клітин (5-10 мг), інколи достатньо 1 краплі крові, зішкребу букального епітелію.

2. Накопичення визначених фрагментів за допомогою полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) - метод ампліфікації (розмноження) ДНК, у кількості, яка в мільйон раз перевищує вихідну. У відповідній нуклеотидній послідовності кінців ділянки, яка досліджується, синтезуються два олігонуклідних праймера (затравки), довжиною 20 - 30 пар нуклеотидів. Процес ампліфікації циклічний. Кожний цикл включає 3 стадії: температурна денатурація ДНК (розподіл ДНК на два ланцюги), приєднання праймерів до комплементарних послідовностей одноланцюгових молекул, синтез полінуклеотидних ланцюгів на одноланцюгових молекулах у межах приєднаних праймерів за допомогою полімерази.

3. Рестрикція ДНК на фрагменти. Розрив дволанцюгових ДНК за допомогою рестриктаз у межах визначених для кожного фрагменту послідовностей 4 пар нуклеотидів.

4. Електрофорез фрагментів ДНК. Фрагменти ДНК рухаються в гелі під дією постійного електричного струму від негативного полюсу до позитивного. Швидкість руху фрагментів залежить від його розмірів – чим більша молекулярна маса, тим повільніше він

рухається. Кожний фрагмент ДНК займає визначене положення у вигляді дискретної полоски в конкретному місці. Довжину кожного фрагменту визначають шляхом порівняння пройденої фрагментом відстані з відстанню, яку пройшов стандартний зразок ДНК.

5. Візуалізація і ідентифікація фрагментів ДНК. З метою візуалізації гель обробляють бромідом етідія. При ультрафіолетовому опроміненні поверхня геля світиться в червоній ділянці спектру.

Сучасні методи ДНК-діагностики: сайт-спрямований мутагенез, технологія рекомбінантних ДНК, Southern-блот.

1. *Аналіз поліморфізму довжин рестрикційних фрагментів.* У молекулах ДНК відкрито явище так званого *рестрикційного поліморфізму*, пов'язаного з мутаціями в сайтах впізнавання для певної рестриктази. У результаті фермент неідеальний розрізати ДНК. За наявності специфічних ДНК-зондів із радіонуклідною міткою і рестриктаз можна проаналізувати послідовність нуклеотидів у ДНК.

2. *Аналіз поліморфізму мікросателітних послідовностей.* У 1985 р. Е. Джефріс встановив для генів молекули ДНК одну особливість, унікальну для кожної людини. На основі мінісателіту інтронної послідовності міоглобіну він створив зонд ДНК, що впізнає гіперваріабельну ДНК. ДНК витягають із проби і за допомогою рестриктаз розрізають на відрізки, а потім ідентифікують радіонуклідними маркерами (зондами), що специфічно приєднуються до відрізків ДНК. Ці відрізки потім виділяють і переносять на рентгенівську плівку. Картина для кожного випадку строго специфічна і дає можливість провести "генетичну дактилоскопію", що використовується в судово-медичній практиці, для діагностики спадкових захворювань, що включає перевірку майбутніх батьків, новонароджених дітей, зародків в утробі матері на наявність, наприклад, м'язової дистрофії Дюшена, кістозного фіброзу і т.д.

3. *Рестрикційний аналіз ДНК* дозволяє встановлювати розходження в окремих парах нуклеотидів, що важливо при підтвердженні діагнозу серпоподібноклітинної анемії (заміна АТ на ТА). Встановлено, що заміна відбувається в гені, що кодує  $\beta$ -ланцюг гемоглобіну людини, у сайті, чутливому до рестриктази Ddel. Фрагменти ДНК, отримані при рестрикційному аналізі в здоровій і хворій людини можна порівняти за допомогою методу *гібридизації за Саузерном*, використовуючи як зонд ДНК ген  $\beta$  - гемоглобіну з радіонуклідною міткою. Цим методом можна визначити наявність мутантного гена в геномі ембріона за декілька місяців до народження. Для цього необхідно культивувати клітини, отримані при амніоцентезі.

4. *SSCP (Single Strand Conformation Polymorphism)* – метод аналізу конформаційного поліморфізму одноланцюгової ДНК – реєстрація відмінностей електрофоретичної рухливості одноланцюгових ДНК, однакових за величиною, але різних внаслідок нуклеотидних замін у просторовій організації молекули. Використовується для виявлення точкових мутацій. Фрагмент ДНК розміром від 300 до 800 нуклеотидних пар.

5. *HA (Heteroduplex Analysis)* – в ампліфікаційній суміші поряд з гомодуплексами, реєструються гетеродуплекси між нормальним і мутантним ланцюгом ДНК. Гетеродуплексні молекули за електрофоретичною рухливістю відрізняються від гомодуплексних внаслідок конформаційних особливостей у місцях неспівпадання нуклеотидів. Використовують для виявлення мутацій, що знаходяться у гетерозиготному стані, а також інсерцій і делецій.

6. *DGGE* — денатуруючий градієнтний гель-електрофорез. ДНК-дуплекси піддаються міграції в гелі з градієнтом денатуруючих умов.

7. *CCM (Chemical cleavage of mismatch)* – метод гібридизації міченої ДНК-проби з тією, що досліджується. Мутації виявляють за допомогою хімічного розщеплення неспарених основ при додаванні тетрахлориду амонія. Цим методом тестуються ДНК розміром до 1 тисячі пар нуклеотидів.

Група захворювань, гени яких локалізовані, але поки що не ідентифіковані, є найбільш динамічною. Всього в каталозі спадкових захворювань Мак-Кьюсика більше 10 300 записів. На даний час ДНК-діагностика запроваджена приблизно для 1000 хвороб. Рутинна ДНК-діагностика 385 хвороб проводиться в 280 лабораторіях Західної Європи. Одна

лабораторія діагностує 10-12 хвороб. Однієї лабораторії достатньо для обслуговування 300 сімей на рік.

В Україні діагностика спадкових хвороб проводиться в Інституті молекулярної біології і генетики НАН України, Українському науковому центрі медичної генетики АМН України, Інституті ПАГ АМН України, Київській медичній академії післядипломної освіти лікарів та провізорів ім. П.Л. Шупика.

**Біохімічні методи** – комплекс досліджень, які дозволяють виявити різноманітні порушення обміну речовин. Вони включають:

а) дослідження первинного ензимопатичного дефекту;  
б) розпізнавання хворих серед великих популяцій і виявлення носіїв патологічних генів із використанням скринуючих програм, дають можливість перевіряти усіх новонароджених на наявність деяких генетичних дефектів на доклінічному етапі.

Скринінг може бути *селективним* (серед групи ризику - "просіювання") або *масовим* (обстеження усіх новонароджених з метою раннього виявлення на доклінічній стадії захворювання, яке можна лікувати).

*Етапи скринінгу:*

1. первинний скринінг - виявлення хворих за допомогою простих біохімічних тестів;
2. уточнення діагнозу - ідентифікація хворих із застосуванням точних біохімічних методів дослідження (ТМС, газорідина хроматографія та інш.).

*Показання до селективного скринінгу:*

- 1) затримка психомоторного розвитку дітей (розумова відсталість у старшому віці);
- 2) неврологічні порушення (судоми, зниження тонуусу, спастичні парези);
- 3) диспептичні явища, непереносимість окремих продуктів, порушення вигодовування;
- 4) затримка і порушення фізичного розвитку;
- 5) катаракта, порушення слуху, зору, специфічний колір і запах сечі, шкірні прояви.

Можуть застосовуватися якісні та напівкількісні методи.

Деякі скринінг-тести.

*Проба сечі на білок із сульфосаліциловою кислотою.* На темному фоні розглядають взірець, мутність оцінюють у +.

*Проба Фелінга на алкаптонурию, фенілкетонурию, гістидинемію.* До сечі додають заліза хлорид. Наявність синьо-зеленого або сіро-зеленого забарвлення свідчить про позитивний результат проби (рівень фенілаланіну 0,15 г/л або 16 мг%. Діагностика можлива з 2-го місяця життя дитини. Для діагностики в новонароджених застосовується тест Гатрі.

*Проба на кетоніві тіла.* До сечі додають розчин натрію нітропрусиду і їдкий натр, а потім крижану оцтову кислоту і визначають колір. Реакція позитивна, якщо після додавання оцтової кислоти розчин зберігає вишнево-червоне забарвлення (позитивною вважають пробу і при слабо-рожевому забарвленні). Застосовується для діагностики цукрового діабету, ниркового діабету, глікогенотиреотоксикозу, акромегалії. Оцінюють у +.

*Проба з цетилтриметиламонія бромідом (ЦТАБ) на глікозаміноглікани (мукополісахариди).* Реактив: розчин ЦТАБ у 1М цитратному буфері; рН 5,75. До сечі додають розчин ЦТАБ і спостерігають утворення преципітації впродовж 30 хв. Пластівчастий осад спостерігається у хворих із синдромами Гурлера, Хантера, Марфана, ревматоїдним артритом і ін.

*Тест із толудіновим синім на глікозаміноглікани (мукополісахариди).* Реактив: розчин толудінового синього в оцтовій кислоті, етанол 95%. Толудіновий синій реагує з кислотними глікозаміногліканами як катіоновий барвник, утворюючи стійку пурпурову каблучку на блакитному фоні.

*Йод-азидна проба на цистин.* До сечі, висушеної на фільтрувальному папері, додають йод-азидний реактив і спостерігають за вицвітанням темно-коричневого забарвлення. Якщо

вицвітання відбувається протягом 5 хв., у зразку міститься цистин або гомоцистин у підвищених концентраціях.

*Проба Селіванова (на фруктозу).* Резорцин розчиняють у концентрованій соляній кислоті, підігрівають на водяній бані. За наявності фруктози спостерігається інтенсивне червоне забарвлення.

*Проба на галактозу і лактозу.* До сечі додають концентрований розчин аміаку і NaOH. Нагрівають до кипіння, поява яскраво-жовтого забарвлення свідчить про позитивну пробу.

*Проба на порфірію.* Пробу проводять із сечею або фекаліями, до яких додають аміловий спирт, крижану оцтову кислоту й ефір у рівних кількостях. Поява діамантово-рожевої флуоресценції в УФ-променях доводить наявність порфірину.

*Навантажувальні проби* - використовуються для визначення гетерозиготності при фенілкетозурії (ФКУ), галактоземії, хворобі Тея-Сакса та ін. У нормі вміст фенілаланіну (ФА) в плазмі крові 0,04 г/л (4 мг%). У хворих на ФКУ - 0,4-0,6 г/л (40-60 мг%). Визначення гетерозиготного носійства проводять так: вводять внутрішньовенно фенілаланін і визначають його рівень у плазмі крові через певні проміжки часу. Якщо людина гомозиготна (AA) і не несе гена ФКУ, то через 4 години від початку дослідження рівень ФА в крові приходить до норми. У гетерозигот, що несуть ген а (Aa), рівень ФА буде підвищений і через 4 години після початку дослідження.

**Популяційно-статистичний метод** вивчення спадковості дозволяє виявити: частоту різноманітних генотипів у даній популяції; спадкові захворювання, що зустрічаються в ній і їх частоту; співвідношення гомо- і гетерозигот. Аналіз починається з вибірки осіб із популяції, потім встановлюється частота появи досліджуваних фенотипових ознак і частота зустрічальності генів, що контролюють дані ознаки. В основу популяційно-статистичного методу взято закон Харді-Вайнберга, який дозволяє визначити частоту появи різноманітних генотипів у популяції, що вільно схрещуються, якщо в ній не відбувається природний добір.

**Метод моделювання.** Моделювання спадкової патології можна здійснити на молекулярному, клітинному й організменному рівнях. Спадкову патологію людини вивчають на моделях бактерій, інбредних, мутантних і трансгенних лініях тварин. При цьому для вивчення особливостей перебігу і лікування захворювання в людини використовують інший об'єкт, що має подібність із першим за рядом ознак. Наприклад, у людини зустрічається захворювання галактоземія, а в бактерій групи кишкової палички - неактивність ферменту галактозо-1-фосфат-уридил-трансферази.

На тваринах (миші, пацюки, хом'яки, гвінейські свинки) успішно моделюють спадкові аномалії, пов'язані з генними мутаціями - м'язову дистрофію, пігментну дегенерацію сітківки, гемофілію, цукровий діабет і ін. На інбредних (що мають однаковий генотип) лініях тварин легко встановити роль генотипу і зовнішнього середовища у виникненні цілого ряду захворювань, вивчити генетичну схильність до появи пухлин, тяжкість перебігу променевої хвороби.

*Трансгенні тварини* несуть чужорідні гени, введені методом генетичної інженерії. Вони є моделями того або іншого захворювання, тому що несуть гени, які контролюють виникнення цього захворювання в людини. Наприклад, моделі на мишах для вивчення м'язової дистрофії Дюшена і розсіяного склерозу.

*Математичне моделювання* дає можливість інтерпретувати параметри генних частот, селективної переваги, або, навпаки, несприятливості окремих генотипів, швидкості мутацій і т.д.

**Синдромологічний підхід до діагностики спадкових хвороб.** Добре відомо, що в спадковій патології не існує патогномонічних ознак. Частіше всього одна й та ж ознака зустрічається при різних синдромах. Так, синдроми можна розділити за ознаками:

1. Ріст, тілобудова: а) асиметрія тулуба, обличчя та кінцівок; б) макросомія, випередження фізичного розвитку; в) ріст високий; г) ріст низький;
2. Обличчя: а) губа тонка верхня; б) губи товсті; в) обличчя округле; г) обличчя сплющене і т.д.

Так, поступово від ознаки до ознаки, звужується коло пошуку того чи іншого синдрому.

### **5.3. Контрольні питання:**

1. Клініко-генеалогічний аналіз спадкової патології. Основні задачі, покази для проведення.
2. Методика складання родоводу, порядок збору генеалогічної інформації, особливості збору анамнестичних даних.
3. Цитогенетичні методи дослідження.
4. Метод визначення статевого хроматину. Визначення Y-хромосоми. Експрес - діагностика статі.
5. Біохімічні та молекулярно-генетичні методи дослідження.
6. Скринуючі програми.
7. Сучасні молекулярно-генетичні методи діагностики спадкової патології.
8. Близнюковий метод. Коефіцієнт успадкування.

### **5.4. Заключний етап:**

Оцінюється поточна діяльність кожного студента упродовж заняття, стандартизований кінцевий контроль, проводиться аналіз успішності студентів, оголошується оцінка діяльності кожного студента і виставляється у журнал обліку відвідувань і успішності студентів. Староста групи одночасно заносить оцінки у відомість обліку успішності і відвідувань занять студентами, викладач засвідчує їх своїм підписом.

Викладач коротко інформує студентів про тему наступного заняття методичні прийоми щодо підготовки до нього, рекомендує літературу за темою наступного заняття: основну та додаткову.

## **VI. МАТЕРІАЛИ МЕТОДИЧНОГО ЗАБЕЗПЕЧЕННЯ ЗАНЯТТЯ:**

### **6.1. Матеріали контролю базисної (вихідного рівня) підготовки студентів:**

тестові завдання (додаються).

### **6.2. Матеріали для методичного забезпечення основного етапу заняття:**

історії хвороби, таблиці, набори аналізів, лікарські засоби.

### **6.3. Матеріали для заключного етапу заняття:** набір тестових завдань, клінічних ситуаційних задач II-III рівня засвоєння (додаються).

### **6.4. Матеріали для методичного забезпечення самопідготовки студентів.**

Викладені у відповідних методичних вказівках.

### **Тести для перевірки початкового рівня підготовки:**

1. Які методи дозволяють достовірно визначити зиготність близнюків?

- А) дерматогліфічний, біохімічний
- Б) полісимптомний, змішана культура лімфоцитів
- В) генної дактилоскопії, шкірного трансплантату
- Г) каріотипування, контроль по партнеру

2. Гетерозиготами є:

- а) діти хворого аутосомно-рецесивним захворюванням
- б) доньки хворого Х-зчепленим рецесивним захворюванням
- в) батьки хворого аутосомно-рецесивним захворюванням
- г) всі відповіді правильні
- д) всі відповіді неправильні

3. Клініко-генеалогічний аналіз показаний при наявності в сім'ї:

- а) моногенного захворювання
- б) мультифакторіального захворювання



в) обтяженого акушерського анамнезу

г) вроджених вад серця

**4.** Монозиготні близнюки – це:

а) одностатеві близнюки; б) різностатеві близнюки; в) близнюки, які мають одну і ту саму групу крові системи АВО; г) діти, які розвиваються з однієї ж яйцеклітини, заплідненої одним сперматозоїдом; д) діти, що розвиваються з однієї яйцеклітини, заплідненої двома сперматозоїдами.

**5.** Для аутосомно-рецесивного типу успадкування характерно:

а) двостороння генетична обтяженість

б) враженість осіб різних статей

в) народження вражених дітей у здорових батьків

г) народження хворих дітей в родинних шлюбах

### Тести для контролю кінцевого рівня підготовки:

1. Вкажіть, як називається організм, частина клітин якого містить аномальний набір хромосом: а) трисомік; б) триплоїд; в) мозаїк.
2. Вкажіть, які з перерахованих захворювань пов'язані з порушенням числа хромосом: а) хвороба Дауна; б) синдром Клайнфельтера; в) гемофілія; г) трисомія; д) дальтонізм.
3. Вкажіть, які з перерахованих захворювань пов'язані з порушенням числа аутосом: а) дальтонізм; б) хвороба Дауна; в) синдром Патау; г) синдром Едвардса; д) синдром Клайнфельтера.
4. Які види хромосомних аномалій не зустрічаються у живонароджених: а) трисомії по аутосомах; б) трисомії по статевих хромосомах; в) моносомії по аутосомах; г) моносомія по Х-хромосомі; д) нулісомія по Х-хромосомі.
5. Які мутації відносяться до геномних: а) інверсії, транслокації, дуплікації, делеції; б) поліплоїдії, анеуплоїдії; в) триплоїдії, тетраплоїдії; г) внутрішньохромосомні та міжхромосомні перебудови.

### Задачі:

**Задача 1.** Дочка гемофіліка виходить заміж за сина іншого гемофіліка, наречений і наречена не хворіють на гемофілію. Визначте ймовірність народження хворої дитини.

**Задача 2.** Міоплегія (періодичні паралічі) передаються по спадковості як домінуюча ознака. Визначте ймовірність народження дітей з аномалією в сім'ї, де батько гетерозиготний, а мати не страждає моноплегією.

**Задача 3.** Одна з форм цистинурії (порушення обміну 4 амінокислот) успадковується як АР, але у гетерозигот спостерігається лише підвищений вміст цистину в сечі, у гомозигот - утворення цистинових каменів в нирках. 1) Визначте можливі форми прояву цистинурії у дітей в сім'ї, де один з подружжя страждає на це захворювання, а інший мав лише підвищений вміст цистину в сечі. 2) Визначте можливі форми прояву цистинурії у дітей в сім'ї, де один з подружжя страждав каменями нирок, а інший був нормальним щодо цієї ознаки.

**Задача 4.** Розшифруйте умовні позначення

а) del	г)t-	ж) 47,XY+15p+
б) 46, Xi(Xq)	д)47, XY+G	з) 45,XX-D-G+t(DqGq)
в)46, XXr(18)	е)46, XY3q+	

**Задача 5.** Вкажіть у відповідних графах таблиці кількість автосом, статевих хромосом та повний каріотип даного захворювання.

Назва	Кількість		Каріотип
	автосом	статевих хромосом	
а) Дауна			

б) Шерешевського -Тернера			
в) Клайнфельтера			
г) трисомія			
д) Патау			
е) Едвардса			

**Задача 6.** Вкажіть у відповідних графах таблиці назви синдромів захворювань та стать даної особи у відповідності з наступними каріотипами:

Каріотип	Назва	Стать організму
47,ХУ21+		
46,ХУ		
45,XX15 <sup>21</sup>		
47,XXX		
47,ХХУ		
45,Х		
47,ХУ13+		
47,XX18+		
45,XX21/21		

## **VIII. ЛІТЕРАТУРА:**

### **7.1. Основна:**

1. Балахонов А.В. Ошибки развития. - "ЭЛБИ-СПб", 2001. - 288 с.
2. Бужієвська Т.І. Основи медичної генетики. - К.: Здоров'я, 2001. - 136.
3. Генеалогічний метод дослідження спадковості людини: Методичні рекомендації для практичних занять клінікординаторів, викладачів медучилищ та студентів медінституту з розділу "Медична генетика". - Львів, 1993.
4. Гершензон Г.М. Основы современной генетики. – К.: Наукова думка, 1979. - 508 с.
5. Корочкин Л.И. Введение в генетику развития. — М.: Наука, 1999.
6. Лазюк Г.И., Лурье И.В. Наследственные синдромы множественных врожденных пороков развития. - М., 1983.
7. Мислицький В.Ф., Пішак В.П., Проняєв В.І. Спадкові синдроми. - Чернівці: Прут., 1998.– 312 с.
8. Наследственные болезни и медико-генетическое консультирование: Под ред. Шаболина В.Н.1991.
9. Пішак В.П., Мецишин І.Ф., Пішак О.В., Мислицький В.Ф. Основи медичної генетики. - Чернівці, 2000. - 248 с.
10. Петров Д.Ф. Цитологические основы наследственности. - 1973.
11. Сміян І.С., Банадига Н.В., Багірян І.О. Медична генетика дитячого віку. – Тернопіль: «Укрмедкнига», 2003. – 183 с.

### **7.2. Додаткова:**

1. Актуальные проблемы и перспективы развития диагностических технологий в педиатрии. – РВПиП. – 2006. - №1. – С. 10.
2. Актуальность и возможность ранней диагностики синдрома Прадера-Вилли. – Педиатрия. – 2006. - №3. – С.117.
3. Врач общей практики и его роль в диагностике и профилактике генетических болезней. Метод родословных. – Российский семейный врач. – 2005. - №2. – С. 16.
4. Генетика для практического врача: уч. пособие / Кривошеенко Г.Н. - 1996.
5. ДНК-диагностика наследственных заболеваний у детей в Российской Федерации: состояние и проблемы // Российский вестник перинатологии и педиатрии. - 1999. - №5. - С. 9-13.

6. ДНК-діагностика найбільш поширених в Україні спадкових захворювань моногенної природи // Перинатологія та педіатрія. - 2000. - №1. - С. 3-6.
7. Синдром Дауна: діагностика, опіка, запобігання. Під ред. Євтушок Л.С. – Луцьк: Вісник, 2003. – 153 с.
8. Синдром Дауна. Медико-генетическое и социально-психологический портрет. Под ред. Барашнева Ю.И. – М.: «Триада-Х», 2007. – 280 с.
9. Случай деления длинного плеча хромосомы 18 у ребенка 2 мес. - Педиатрия. – 2006. - №3. –С. 12.

## **МЕТОДИЧНА РОЗРОБКА**

**для ведення практичного заняття із студентами**

## **МЕДИЧНА ГЕНЕТИКА**

**Тема №2 Загальна характеристика хромосомних хвороб. Клініка та діагностика основних форм хромосомних хвороб.**

### ***I Актуальність теми:***

Медична генетика вивчає взаємодію спадкових та середовищних чинників у формуванні як нормальних, так і патологічних ознак, конкретні механізми реалізації спадкової конституції людини. Згідно з положенням сучасної медицини, будь-яка патологія людини в більшій чи меншій мірі пов'язана із спадковістю. Цілком очевидно, що без розуміння ролі генетичних факторів в етіології й патогенезі захворювань не можна проводити ефективне лікування не тільки вродженої та спадкової патології, але й широкого кола захворювань із спадковою схильністю, питома вага яких в структурі захворюваності, смертності та інвалідизації населення постійно збільшується.

Метою вивчення теми є необхідність отримання базових знань, без яких сьогодні неможливо зрозуміти складний механізм формування генетичних аномалій та їх роль у розвитку хромосомної патології.

### ***II. Навчальні цілі заняття.***

1. Знати етіологію й цитогенетику хромосомних хвороб.
2. Знати патогенез хромосомних хвороб.
3. Знати типи порушень в хромосомному наборі: структурні, числові.
4. Тракувати каріограми в нормі та при патології.
5. Знати характеристики хромосомних хвороб та особливості клінічних проявів окремих хромосомних синдромів.
6. Розпізнати загальні прояви хромосомної патології, діагностувати природжені морфогенетичні варіанти, правильно використовувати відповідну термінологію при описі клінічної картини та фенотипу хворого, визначити необхідність додаткового обстеження, включаючи специфічні генетичні методи.
7. Засвоїти зміст, поняття, ефекти хромосомного і геномного імпринтингу. Тракувати поняття «Однобатьківська дисомія» та «Хромосомний поліморфізм».
8. Пояснювати генетичну гетерогенність клінічно подібних форм захворювань.