**История развития и основные достижения современной генетики.**

**Цитологические основы наследственности**

***1. Генетика – наука о наследственности и изменчивости. Предмет, цели и задачи медицинской генетики. Методы генетики***.

**Генетика** – наука о закономерностях наследственности и изменчивости организмов.

**Наследственность** – это способность организмов повторять в ряду поколений сходные признаки и обеспечивать специфический характер индивидуального развития.

**Изменчивость** – это способность организмов приобретать различия в признаках друг от друга и от своих родителей.

**Медицинская генетика** – раздел генетики, связанный с антропогенетикой (генетикой человека). Генетика человека наряду с морфологией, физиологией и биохимией является теоретическим фундаментом современной медицины. Генетика человека в своём развитии постоянно опиралась на общебиологические концепции (эволюционное учение, онтогенез) и достижения теоретической и клинической медицины.

**Медицинская (клиническая) генетика – наука о роли наследственности и изменчивости в возникновении патологии человека.**

*Предмет* медицинской генетики - закономерности передачи от поколения к поколению наследственных болезней, разработка методов диагностики, лечения и профилактики всех форм наследственной патологии.

*Цель* изучения медицинской генетики – овладение основами генетики будущими медицинскими работниками для большего использования генетических подходов при оказании медицинской помощи или профилактике заболеваний.

*Задачи* медицинской генетики:

1. создание медико-генетических консультаций, оказывающих помощь тем супружеским парам, у которых возникают сомнения по поводу здоровья будущего ребёнка;
2. разработка мер по уменьшению вероятности воздействия на человека мутагенных факторов и контроль их присутствия в окружающей среде;
3. расшифровка всех генов человека (100 тысяч) и составление генетических карт хромосом (хорошо изучены и прокартированы 21-я и Y-хромосома).

*Методы* изучения генетики человека:

* + Генеалогический метод – основан на изучении родословных.
  + Близнецовый метод – основан на вариантах сравнения близнецовых пар для выявления роли наследственности и среды при формирование признаков у человека.
  + Цитогенетический метод – основан на изучении хромосомного набора эмбриона с помощью микроскопа и обнаружения дефектов кариотипа или отдельных хромосом. С этим методом связана методика *амниоцентеза* – возможность обнаружить аномальное число хромосом у плода на 16-й неделе беременности. Для этого берут пробу околоплодной жидкости, содержащей отшелушивающиеся клетки плода, которые исследуются под микроскопом. Диагностика наследственных болезней или других нарушений в период внутриутробного развития называется ***пренатальная диагностика***.
  + Биохимический метод – основан на обнаружении отклонений в биохимических реакциях, происходящих в организме, и связанных с изменениями генотипа.

Знания генетики необходимы медицинскому работнику любой специальности для понимания сущности жизни, механизмов индивидуального развития и его нарушений, природы любого заболевания, для рационального подхода к диагностике, лечению и профилактике болезней. Поэтому *медицинскую генетику можно рассматривать как науку и отрасль здравоохранения.*

***2. История генетики человека.***

В своём развитии генетика прошла *три этапа*. На каждом из них формировались определённые представления человека о передаваемых по наследству различиях между людьми, о структуре наследственного материала и о закономерностях наследования признаков.

*В античные времена и в средние века* врачи и философы сообщали о своих эмпирических наблюдениях и выдвигали теоретические объяснения наиболее важных формальных признаков наследования. Например, высказывание Гиппократа: «…семя производит всё тело, здоровое семя производят здоровые части тела, больное – больные. …У лысого рождается лысый, у голубоглазого – голубоглазый, а у косого – косой, ничто не помешает рождению длинноголовых у длинноголовых…».

В средние века в науке господствовала схоластика – безрезультативное, бесплодное умствование. Это было время, когда истинные факты и ошибочные представления были перемешаны, критериев истины не было.

*Следующий этап XVII-XIX в.в.*– это *этап бурного развития цитологии, накопления фактов и выявления основных закономерностей наследования признаков*. Английский врач Адамс, живший в 1756 – 1818 гг., издал «Трактат о предполагаемых наследственных свойствах болезней».

Определяющий вклад в понимание механизмов наследования, вывод о дискретности материала наследственности и о генетической чистоте гамет сделал Грегор Иоган Мендель – чешский исследователь в 1866 г. Он является основателем научной генетики.

*Третий этап – ХХ век. Законы генетики были переоткрыты в 1900 г.* независимо друг от друга тремя учёными: Гуго де Фризом (Голландия), Карлом Корренсом (Германия), Эрихом Чермаком (Австрия). Этот год и считается годом рождения генетики как науки.

*В последующие 100 лет* к наиболее значимым открытиям в генетике можно отнести:

* + обоснование хромосомной теории наследственности Томаса Моргана (1910 –1920 гг.);
  + доказательства информационной роли ДНК и расшифровка её стереохимической структуры, сделанная Дж. Уотсоном, Фр. Криком и М. Уилкинсом (1930 – 1953 гг.);
  + расшифровка генетического кода и генетических механизмов синтеза белка (60-е годы);
  + создание технологий рекомбинантных ДНК (генная инженерия, 70-е годы);
  + расшифровка геномов организмов, в том числе и генома человека (1980-2000 гг.).

Постепенно эта наука заняла ключевые позиции и лидирующее положение в фундаментальной биологии.

***3. Цитологические основы наследственности.***

1) *Клетка – основная единица биологической активности*.

Клетка является основой строения любого живого организма, а при размножении – связующим звеном двух поколений. Главные части клетки: клеточная оболочка, или мембрана клетки, цитоплазма с органоидами, ядро, ограниченное от цитоплазмы ядерной оболочкой (у эукариотов, прокариоты ядер не имеют). В этом принципиальное сходство клеток организма. А отличаются они в зависимости от деятельности и места расположения в организме. Генетическая информация, которую передаёт одно поколение клеток или организмов другому, заключена преимущественно в ядре клеток. Ядро в клетке различимо только в интерфазе – периоде между её делениями.

2) *Структура и функции клеточного ядра.*

Ядерная оболочка состоит из наружной и внутренней мембран. Наружная переходит в ЭПС и несёт рибосомы. Оболочка пронизана ядерными порами, через которые идут обменные процессы между ядром и цитоплазмой.

Ядерный сок – кариолимфа, представляет собой однородную массу, заполняющую пространство между структурами ядра (хроматином и ядрышками). Она содержит белки, нуклеотиды, АТФ и различные виды РНК. Кариолимфа осуществляет взаимосвязь ядерных структур и обмен с цитоплазмой клетки.

Хроматин – вещество хромосом. Состоит из деспирализованной ДНК, соединённой с белками-гистонами в отношении 1:1,3. ДНК вместе с гистонами составляет нуклеосомы – тонкие нити, глыбки, гранулы, по виду напоминающие бусы. В делящейся клетке нити ДНК спирализуются (конденсация хроматина), образуя хорошо видимые, интенсивно окрашивающиеся структуры – хромосомы. Хромосомы ядра составляют его хромосомный набор – кариотип.

Ядрышко – одно или несколько, округлой структуры, состоят из РНК и белка, содержат липиды, ферменты. Функции ядрышек синтез р-РНК и сборка субъединиц рибосом, которые затем выходят в цитоплазму через поры в ядерной оболочке, где и завершается их сборка. Ядрышки – непостоянные образования, они исчезают в начале деления клетки и восстанавливаются после его окончания. Образование ядрышек связано с участками вторичных перетяжек спутничных хромосом (ядрышковыми организаторами). В области вторичных перетяжек локализованы гены, кодирующие синтез рибосомальной РНК (р-РНК), а в самих ядрышках происходит формирование субъединиц рибосом.

3) *Характеристика строения и классификация хромосом*.

В период между делениями клетки хромосомы не видны. Они становятся видимыми, когда клетка приступает к делению и тогда хромосомы видны как две соединенные между собой нити – хроматиды.

Метафазная хромосома состоит из двух продольных нитей – хроматид, которые состоят из молекулы ДНК и белков-гистонов. Хроматиды соединены друг с другом в области первичной перетяжки - центромеры. Центромера делит тело хромосомы на два плеча. Плечи – это свободные концы хроматид. В зависимости от расположения центромеры различают следующие типы хромосом:

а) акроцентрические – центромера смещена от середины хромосомы к одному концу в основание плеча, получается одно плечо очень короткое, другое - намного длиннее;

б) субметацентрические – центромера также смещена от середины, но расположена так, что плечи имеют разную длину;

в) метацентрические – центромера расположена посередине, и плечи примерно одинаковой длины.

Некоторые хромосомы могут иметь вторичные перетяжки, отделяющие от тела хромосомы участок, называемый спутником, это хромосомы со спутниками.

Совокупность хромосом соматической клетки, характеризующая организм данного вида, называется **кариотипом.**

Хромосомы подразделяются на аутосомы - одинаковые у обоих полов пары гомологичных хромосом и гетерохромосомы, или половые хромосомы – пара разных хромосом в хромосомном наборе у мужских и женских особей.

Кариотип человека 46 хромосом: 22 пары аутосом и пара половых хромосом, ХХ у женщин и ХУ у мужчин.

В соматических клетках организмов содержится диплоидный (двойной) набор хромосом – обозначается 2n. В гаметах – гаплоидный (одинарный) набор хромосом, обозначается 1n. Диплоидный набор состоит из пар гомологичных хромосом. *Гомологичные хромосомы это хромосомы одинаковые по строению, форме, величине и содержащие одни и те же гены.* Негомологичные хромосомы имеют разный генный набор и разное строение.

В период между делениями клетки хромосомы не видны. Они становятся видимыми, когда клетка приступает к делению и тогда хромосомы видны как две соединенные между собой нити – хроматиды.

В основе Парижской классификации хромосом человека (1971 г.) лежат методы специальной дифференциальной окраски, при которой в каждой хромосоме выявляется характерный только для неё порядок чередования поперечных светлых и тёмных сегментов. Хромосомы, имеющие одинаковый порядок генов, имеют и одинаковое чередование полос. У них одинаковое строение (длина, расположение центромеры и т. д.).

Короткое плечо хромосом обозначают латинской буквой **p**, а длинное – **q**. Каждое плечо хромосомы разделяют на районы, нумеруемые по порядку от центромеры к теломере. В некоторых коротких плечах выделяют один такой район, а в других (длинных) – до четырёх.

Основная функция хромосом – хранение, воспроизведение и передача генетической информации при размножении клеток и организмов.

***4. Временная организация клетки. Клеточный и митотический циклы.***

**Клеточный цикл** – это период жизнедеятельности клетки от момента её появления до гибели или образования дочерних клеток. Типы деления эукариотических клеток: амитоз, митоз, мейоз.

**Митотический цикл** – это период жизнедеятельности клетки от момента её образования и до разделения на дочерние. Митотический цикл включает интерфазу и митоз.

**Интерфаза** – это период функционирования и подготовки клетки к делению, она подразделяется на три периода:

а) Пресинтетический (постмитотический) G1 – продолжительность от нескольких часов до нескольких месяцев и даже лет. Клетка выполняет свои функции, увеличивается в размерах, в ней идёт синтез белков и нуклеотидов, накапливается энергия и вещества. Такая клетка содержит диплоидный набор хромосом, каждая хромосома имеет одну хроматиду – 2n2c.

б) Синтетический период S – продолжительность 6 – 8 часов. В клетке происходит репликация молекул ДНК и её содержание в клетке удваивается, т. е. каждая хроматида достраивает себе подобную, генетическая информация к концу периода 2n4c.

в) Постсинтетический период G2 – продолжительность меньше, чем у предыдущих периодов. Клетка готовится к делению, накапливается энергия, синтезируются белки веретена деления, постепенно затухают все синтетические процессы, необходимые для репродукции органоидов, меняется вязкость цитоплазмы, идёт интенсивный синтез АТФ и накопление энергии, происходит репликация центриолей и начало образования веретена деления. Генетическая информация 2n4c. Клетка вступает в митоз.

2) *Митоз* – это основной способ деления соматических клеток. Непрерывный процесс митоза подразделяют на 4 стадии: *профазу, метафазу, анафазу и телофазу*. В делящихся клетках *в профазе* все хромосомы сильно спирализуются, укорачиваются и приобретают компактные размеры и форму. Спирализация хромосом достигает максимума *в метафазе* и хромосомы удобнее всего изучать (метафазная пластинка). *В анафазе* центромеры каждой из хромосом разделяются и сестринские хроматиды с этого момента становятся самостоятельными дочерними хромосомами. *В телофазе* формируются ядра дочерних клеток: хромосомы деспирализуются, строятся ядерные оболочки, в ядре появляются ядрышки. После кариокинеза происходит цитокинез, митоз заканчивается образованием двух дочерних клеток, каждая из которых имеет двойной набор хромосом, каждая хромосома однохроматидная.

**Значение митоза** в точном распределении генетической информации между дочерними клетками, в поддержании постоянства числа хромосом, в увеличении числа клеток, обеспечивающих рост организма и регенерацию тканей и органов.

Эукариотические клетки могут делиться и прямым делением – амитозом. Это прямое деление клеток и ядер, находящихся в условиях физиологической и репаративной регенерации, или опухолевых клеток. При этом не происходит образования видимых хромосом и веретена деления, возникает перетяжка ядра, затем цитоплазмы, и разделение их на две части. В последнее время установлено, что при амитозе происходит также равномерное распределение генетического материала между дочерними клетками, хотя механизм его не вполне ясен.

**Патология митоза** – эндомитоз, политения (эндорепродукция), образование новых клеток нарушается, а хромосомы продолжают удваиваться. В результате этого в клетках возникают необычайно крупные ядра. При эндомитозе происходит удвоение хромосом без деления ядра, что приводит к образованию полиплоидных клеток. При политении наблюдается многократное удвоение хроматид, но они не расходятся, и в результате образуются политенные (многонитчатые, гигантские) хромосомы, например, в слюнных железах мухи дрозофилы.

3) *Мейоз* – это деление половых клеток на стадии созревания, в результате которого образуются половые клетки, гаметы. Мейотическое деление протекает в *два этапа –* ***мейоз I*** *и* ***мейоз II***. Каждое мейотическое деление подразделяют на 4 фазы: профазу, метафазу, анафазу и телофазу.

Наиболее сложной является *профаза мейоза I*. На этой стадии происходит конъюгация гомологичных хромосом и кроссинговер. Хромосомы образуют биваленты, состоящие из 4-х хроматид (4-х наборов ДНК). *В анафазе* гомологичные хромосомы, состоящие из двух хроматид, отходят к противоположным полюсам клетки. Расхождение хромосом носит случайный характер. Содержание генетической информации у каждого полюса становится 1n2c. *В телофазе* происходит образование двух дочерних гаплоидных клеток, но хромосомы не деспирализуются. После окончания мейоза I наступает короткий промежуток – интеркинез, в течение которого не происходят репликация ДНК и удвоение хроматид.

Мейоз II протекает по типу обычного митоза. *В анафазе* этого мейоза к полюсам отходят хроматиды и содержание генетического материала становится 1n1c у каждого полюса клетки. *В телофазе* мейоза II после цитокинеза образуются клетки с гаплоидным набором хромосом, содержащих по одной хроматиде.

Таким образом, в результате двух последовательных делений мейоза из одной диплоидной клетки образуется 4 гаплоидные.

**Значение мейоза** в редукции числа хромосом в половых клетках для последующего восстановления набора хромосом в зиготе, в конъюгации гомологичных хромосом и рекомбинации генетического материала.

**Патология мейоза** – нерасхождение хромосом после конъюгации и, как следствие, избыток генетического материала или его недостаток в одной из дочерних клеток – хромосомные и геномные мутации. Также возможны мутации генные как при митозе, так и при мейозе.

***5. Гетерохроматин и эухроматин.***

Упоминаемый ранее порядок чередования поперечных тёмных и светлых сегментов, образующийся при дифференциальной окраске хромосом, связан с различной степенью конденсации хроматина, зависящей от его функционального состояния. **Гетерохроматиновые** участки функционально менее активны, чем эухроматиновые. Они содержат прочитанную (транскрибированную ) ДНК, становятся более плотными и хорошо окрашиваются как в состоянии «покоя» так и при делении клетки. **Эухроматиновые** участки деконденсированы, т. е. более рыхлые, в них локализована большая часть генов, это активный участок хромосомы, окрашивается неинтенсивно. В хромосомах участки эу- и гетерохроматина чередуются и позволяют сделать анализ **кариотипа**, чтобы выявить нарушения, которые могут приводить к аномалиям развития, наследственным болезням или гибели плодов и эмбрионов на ранних стадиях развития.

**Анализ кариотипа** предполагает составление **кариограммы** или **идиограммы** – это систематизированный кариотип, в котором хромосомы располагаются по мере убывания их величины. Кариограмма – микрофотография хромосом, расположенных согласно строению и величине гомологичными парами.

*Техника подсчёта числа хромосом*.

Взятую для анализа кровь разделяют: эритроциты осаждают 10%-ным раствором желатина или центрифугированием; лейкоциты помещают в специальную среду, содержащую 50 ингридиентов. Среди которых есть специфический белок фитогемагглютинин – вытяжка из семян бобовых. Благодаря ему лейкоциты начинают интенсивно делиться и хромосомы можно изучать на стадии метафазной пластинки. Культуру помещают в термостат в специальных флаконах на 3 дня при 370 С. Потом в пробу добавляют алколоид колхицин, разрушающий нити веретена деления, деление приостанавливается, хромосомы не способны расходиться к полюсам клетки. Добавляют гипотонический раствор, проводят фиксацию и окрашивание. Затем хромосомы фотографируют, микрофотографию увеличивают в размерах, хромосомы вырезают, подбирают гомологичные пары по размерам, расположению центромеры, гетеро- и эухроматиновым участкам.

***6. Половой хроматин***.

Различия полов обусловлены Х и У хромосомами (половыми). Половые отличия в строении ядер соматических клеток обнаружили в 1949 г. Бертрам и Барр, изучая нейроны кошки. Эти отличия присущи клеткам всех млекопитающих в период интерфазы. Интерфазные ядра содержат на переферии чечевицеподобные глыбки хроматина размерами от 1,8 до 1,2 мкм, примыкающие к ядерной оболочке и отличающиеся от ядрышек. Их назвали по имени исследователя «тельца Барра». Тельца Барра отсутствуют у самцов. Лейкоциты женщин содержат своеобразный придаток ядра, гомолог телец Барра, «барабанные палочки». Это - **половой хроматин**. Его наличие в клетках женщин связано с Х-хромосомами, которых у женщин две. Одна из них генетически менее активная, синтез ДНК в ней идёт позднее, она гетерохроматичная, окрашивается иначе, чем её гомолог. У мужчин половые хромосомы разные – Х и У, и они обе одинаково активны в интерфазе.

**Хроматин половой** – это отличия в интерфазном ядре соматических клеток особей женского пола у млекопитающих. По периферии ядер располагается глыбка хроматина – «тельце Барра», а в ядрах лимфоцитов находится придаток «барабанная палочка». У человека «тельца Барра» легче обнаружить в соскобе эпителия слизистой оболочки ротовой полости (буккального эпителия). Для выявления Х-хроматина окрашивание мазков проводят ацеторсеином и препараты просматривают в обычном световом микроскопе. Этот метод позволяет определить количество Х-хромосом в кариотипе. «Телец Барра» и «барабанных палочек» всегда на единицу меньше, чем число Х-хромосом.

Техника исследования полового хроматина - см. стр. 50 пособие по генетике Карузиной.

Исследования полового хроматина имеют диагностическое значение и используются при *экспресс-анализе в скрининге. При обследовании больших групп людей на* выявление каких-либо состояний (болезней или носительства) с целью активной профилактики тяжелых форм болезней, т. е.*предположительного выявления не диагностированной ранее болезни с помощью простых методов, дающих быстрый ответ -* ***массовый скрининг***.

***7. Современные методы хромосомного анализа***.

Изучением строения и функций хромосом занимается наука цитогенетика. Суть цитогенетических методов при всём разнообразии отдельных этапов заключается в микроскопическом анализе хромосом, позволяющем выявить числовые и структурные изменения хромосомного набора. Методы цитогенетического исследования можно условно подразделить на прямые и непрямые. *Прямые методы – это получение препаратов делящихся клеток без культивирования. Непрямые – это получение препаратов хромосом из клеток, культивированных в искусственных питательных средах.*

Важный момент для анализа хромосом является их окрашивание:

1. **сплошное** или равномерное **рутинное** окрашивание (красители азур-эозин или краситель Гимза), позволяет провести подсчёт хромосом и их групповую принадлежность, проанализировать повреждения хромосом (хромосомные аберрции), но не позволяет провести индивидуальную идентификацию хромосом;
2. метод **дифференциального окрашивания** хромосом (красители Гимза, флуоресцирующий краситель акрихин или акрихин-пирит), позволяет идентифицировать все хромосомы благодаря линейному рисунку – продольной окрашиваемости для каждой хромосомы в соответствии с типом окраски;
3. **молекулярно-цитогенетический** метод гибридизации (флуоресцентная гибридизация), основана на обработке препаратов хромосом специфическим ДНК-зондом, который присоединяется к исследуемой хромосоме и, после обработки специальными соединениями и флуоресцентными красителями, препарат исследуют с помощью флуоресцентного микроскопа; это самый высокий разрешающий уровень анализа хромосом, позволяющий определить локализацию гена и расшифровать сложные перестройки хромосом.

Методы цитогенетической диагностики часто используют в комплексе с другими, что позволяет более точно диагностировать сложные проявления наследственной патологии. Особое значение эти методы имеют при оказании помощи больным педиатрического, акушерско-гинекологического и эндокринологического профилей.

Все вопросы назначения того или иного цитогенетического исследования осуществляются при медико-генетическом консультировании. Проблемы, решаемые лабораторными цитогенетическими методами, следующие:

-подозрение на хромосомную болезнь по клинической симптоматике;

-наличие у ребёнка множественных врождённых пороков развития (МВПР);

-многократные спонтанные аборты, мёртворождения или рождение детей с пороками развития;

-нарушение репродуктивной функции неясного генеза у мужчин и женщин (первичная аминоррея, бесплодный брак идр.);

-существенная задержка умственного и физического развития ребёнка;

-пренатальная диагностика (риск по возрасту, при рождении предыдущего ребёнка с хромосомной болезнью);

-оценка мутагенных воздействий (радиационных, химических).

Участие цитогенетиков в анализе трудных случаев приводит к более точной диагностике и своевременному лечению и предупреждению рождения больного ребёнка.

**Вопросы для фронтального опроса.**

1. Генетика – наука о наследственности и изменчивости.

-Предмет, цели и задачи медицинской генетики. Методы генетики?

-Значение генетики для медицины? (Овладение основами медгенетики широкими врачебными кругами с целью большего использования генетических подходов при диагностике болезней, их лечении и профилактике.)

-Медицинская генетика как раздел антропогенетики, одна из отраслей здравоохранения, её достижения?

2. История генетики человека.

-Донаучные представления о передаваемых по наследству различиях между людьми?

-Современные достижения генетики?

3. Цитологические основы наследственности.

-Главные части клеток. Клетки соматические и генеративные, половые клетки – гаметы. Хромосомный набор соматических и половых клеток?

-Основные типы деления эукариотических клеток (митоз, мейоз, амитоз)?

-Материальные носители наследственности?

-Что такое митотический цикл?

-Кариотип, кариограмма?

-Хромосомы в метафазу, метафазная пластинка? Хроматин. Понятие о гетерохроматине и эухроматине.

-Половой хроматин. Диагностическое значение исследования полового хроматина. -Различия полов, половые отличия в строении ядер соматических клеток млекопитающих, тельца Барра?

-Современные методы хромосомного анализа? Методы дифференциальной окраски хромосом. В чём их суть?

-Пренатальная диагностика, массовый скрининг?