

СОДЕРЖАНИЕ

ПРЕДИСЛОВИЕ	13
ВВЕДЕНИЕ	15
 ГЛАВА 1	
ОСНОВЫ ПРОЭМБРИОНАЛЬНОГО И ЭМБРИОНАЛЬНОГО РАЗВИТИЯ ЧЕЛОВЕКА	19
Введение	19
1.1. Проэмбриональный период	23
1.1.1. Гаметогенез	23
1.1.1.1. Сперматогенез	24
1.1.1.2. Оогенез	27
1.1.2. Оплодотворение	30
1.2. Презэмбриональный период	32
1.2.1. Доимплантационный период (дробление, компактизация, бластуляция)	33
1.2.2. Имплантация и раннее постимплантационное развитие	36
1.3. Эмбриональный период	41
1.4. Плодный период	53
Заключение	54
 ГЛАВА 2	
НОРМАЛЬНЫЙ КАРИОТИП ЧЕЛОВЕКА	55
Введение	55
2.1. Краткая характеристика цитогенетических методов	58
2.2. Особенности кариотипа человека	60
2.3. Полиморфизм хромосом человека	64
2.4. Краткая характеристика молекулярной гетерогенности сегментов хромосом человека	67
Заключение	71
 ГЛАВА 3	
МЕХАНИЗМЫ ВОЗНИКНОВЕНИЯ ГЕНОМНЫХ И ХРОМОСОМНЫХ МУТАЦИЙ НА РАЗНЫХ СТАДИЯХ ОНТОГЕНЕЗА	72
Введение	72
3.1. Классификация хромосомных аномалий	72
3.1.1. Геномные мутации	72
3.1.2. Хромосомные мутации	74
3.1.2.1. Межхромосомные перестройки	74
3.1.2.2. Внутрихромосомные перестройки	75
3.2. Механизмы возникновения геномных мутаций	76

3.2.1. Триплоидия ($3n = 69$)	76
3.2.2. Тетраплоидия ($4n = 92$)	76
3.2.3. Анеуплоидия	77
3.2.3.1. Основные механизмы возникновения анеуплоидии	78
3.2.3.1.1. Собственно нерасхождение хромосом	78
3.2.3.1.2. Предделение	78
3.2.3.1.3. Запаздывание хромосом	78
3.2.3.1.4. Первичное и вторичное нерасхождение хромосом	80
3.2.3.2. Роль рекомбинации в нерасхождении хромосом	81
3.2.3.3. Генетический контроль мейоза	82
3.2.4. Мозаицизм хромосом	83
3.2.5. Однородительская дисомия	84
3.3. Механизмы возникновения хромосомных мутаций	85
Заключение	95

ГЛАВА 4	
СОВРЕМЕННЫЕ ПОДХОДЫ К АНАЛИЗУ ГЕНОМНЫХ И ХРОМОСОМНЫХ МУТАЦИЙ В ГАМЕТОГЕНЕЗЕ И ЭМБРИОГЕНЕЗЕ ЧЕЛОВЕКА	97
Введение	97
4.1. Общие представления о цитогенетике гаметогенеза	98
4.2. Методы исследования сперматогенеза	100
4.2.1. Цитологические методы	101
4.2.1.1. Спермограмма	101
4.2.1.2. Количественный кариологический анализ незрелых половых клеток	102
4.2.2. Цитогенетические методы	106
4.2.2.1. Анализ хромосом сперматоцитов	106
4.2.2.2. Анализ синаптонемных комплексов	108
4.2.2.3. Анализ хромосомного набора сперматозоидов	110
4.2.2.3.1. Метод гетерологичного оплодотворения	111
4.2.2.3.2. Метод FISH	111
4.2.3. Молекулярно-генетические методы исследования мужского бесплодия	113
4.3. Методы исследования оогенеза	117
4.3.1. Анализ хромосом в первом делении мейоза	117
4.3.1.1. Профаза I	117
4.3.1.2. Метафаза I	121
4.3.1.3. Первое полярное тельце	122
4.3.2. Анализ хромосом во втором делении мейоза	123
4.3.2.1. Метафаза II	124
4.3.2.2. Второе полярное тельце	124
4.3.3. Перспективные методы анализа мейотических хромосом	127
4.4. Методы исследования хромосом в раннем эмбриогенезе	128
4.5. Методы исследования хромосом в постимплантационном периоде	129
4.5.1. Клетки хориона (плаценты)	131

4.5.1.1. Культивирование клеток хориона	132
4.5.1.2. «Прямые» препараты	132
4.5.1.3. Митотическая активность клеток цитотрофобласта	134
4.5.2. Клетки амниотической жидкости	139
4.5.3. Лимфоциты пуповинной крови плода	143
4.6. Принципы изучения генеза хромосомных аномалий в постимплантационном и постнатальном периодах онтогенеза	144
4.6.1. Происхождение гетероплоидии	146
4.6.2. Происхождение хромосомных мутаций	148
Заключение	149

ГЛАВА 5	
ЧАСТОТА И СПЕКТР ГЕНОМНЫХ И ХРОМОСОМНЫХ МУТАЦИЙ В ГАМЕТОГЕНЕЗЕ И НА РАЗНЫХ СТАДИЯХ ВНУТРИУТРОБНОГО РАЗВИТИЯ ЧЕЛОВЕКА	150
Введение	150
5.1. Хромосомные аномалии в гаметогенезе	150
5.1.1. Сперматогенез	151
5.1.2. Оогенез	153
5.1.2.1. Метафаза I	154
5.1.2.2. Метафаза II	154
5.1.2.3. Завершение мейоза	157
5.2. Хромосомные аномалии в эмбриогенезе	158
5.2.1. Доимплантационные стадии развития	158
5.2.1.1. Полиплоидия	159
5.2.1.2. Анеуплоидия	161
5.2.1.3. Мозаичная гетероплоидия	162
5.2.2. Постимплантационные стадии развития	163
5.3. Спектр спонтанных хромосомных аномалий на разных стадиях развития	168
5.3.1. Трисомия аутосом	169
5.3.2. Двойные трисомии	173
5.3.3. Моносомия	174
5.3.4. Полиплоидия	174
Заключение	174

ГЛАВА 6	
ФАКТОРЫ, ВЛИЯЮЩИЕ НА ЧАСТОТУ ГЕНОМНЫХ И ХРОМОСОМНЫХ МУТАЦИЙ	176
Введение	176
6.1. Возраст	178
6.2. Гетерозиготное носительство структурных перестроек хромосом	181
6.2.1. Реципрокные транслокации	182
6.2.2. Робертсоновские транслокации	186
6.2.3. Инверсии	192
6.3. Численные хромосомные аномалии кариотипа у родителей	197

6.3.1. Мозаичные варианты трисомии 21	197
6.3.2. Аномалии числа половых хромосом	198
6.3.2.1. Синдром Клайнфельтера (47,XXY).....	199
6.3.2.2. Синдром дисомии по Y-хромосоме (47,XXY).....	199
6.3.2.3. Синдром Трипло-Х (47,XXX).....	200
6.3.2.4. Синдром Шерешевского–Тернера (45,X и другие аномалии кариотипа)	200
6.3.3. Сверхчисленные маркерные хромосомы (47,XX,+mar или 47,XY,+mar).....	203
6.4. Другие наследственные факторы анеуплоидии.....	206
6.5. Физические и биологические факторы.....	212
Заключение	215

ГЛАВА 7 ХРОМОСОМНЫЙ МОЗАИЦИЗМ	217
Введение	217
7.1. Механизмы возникновения хромосомного мозаицизма	219
7.1.1. Хромосомный мозаицизм на доимплантационных стадиях.....	220
7.1.2. Хромосомный мозаицизм после имплантации	224
7.1.3. Хромосомный мозаицизм в постнатальном периоде	228
7.2. Мейотический и митотический мозаицизм	232
7.3. Однородительская дисомия	234
7.4. Проблемы пренатальной диагностики мозаицизма.....	236
7.5. Влияние плацентарного мозаицизма на течение и исход беременности.....	239
7.6. Теоретические аспекты хромосомного мозаицизма	244
Заклучение	245

ГЛАВА 8 ФЕНОТИПИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ЭМБРИОНОВ И ПЛОДОВ ЧЕЛОВЕКА С ХРОМОСОМНЫМИ АНОМАЛИЯМИ	247
Введение	247
8.1. Множественные врожденные пороки развития	248
8.2. Хромосомные аномалии как ранние эмбриональные летали.....	254
8.3. Фенотипические проявления хромосомных аномалий в I триместре беременности	257
8.4. Фенотипические проявления хромосомных аномалий во II триместре беременности	268
8.4.1. Трисомия 21	273
8.4.2. Трисомия 18	276
8.4.3. Трисомия 13	279
8.4.4. Моносомия X	280
8.4.5. Кариотипы 47,XXY и 47,XXX	280
8.4.6. Триплоидия.....	281
8.5. Стратегия исследований корреляций кариотип — фенотип в эмбриогенезе человека	281
Заклучение	287

ГЛАВА 9 ПРЕНАТАЛЬНАЯ ДИАГНОСТИКА ХРОМОСОМНЫХ БОЛЕЗНЕЙ	288
Введение	288
9.1. Предмет и задачи пренатальной диагностики.....	289
9.2. Методы оценки состояния плода	290
9.3. Медико-генетическое консультирование	295
9.4. Скринирующие методы исследования состояния плода	298
9.4.1. Ультразвуковой скрининг.....	299
9.4.2. Биохимический скрининг	303
9.4.2.1. Биохимический скрининг во II триместре беременности	304
9.4.2.2. Биохимический скрининг в I триместре беременности	307
9.4.3. Цитогенетический скрининг	308
9.4.3.1. Скрининг по возрасту	311
9.4.3.2. Наличие ребенка (плода) с хромосомной болезнью в анамнезе.....	317
9.4.3.3. Наличие ребенка (плода) с МВГР в анамнезе	321
9.4.3.4. Аномалии кариотипа у родителей	323
9.4.4. Молекулярный скрининг.....	325
9.4.5. Иммунологический скрининг.....	325
9.5. Показания для направления на инвазивную пренатальную диагностику	326
9.6. Инвазивные методы получения плодного материала	329
9.7. Принципы и методы диагностики хромосомных болезней	330
9.7.1. Особенности цитогенетического анализа клеток различного плодного происхождения	332
9.7.1.1. Клетки амниотической жидкости	332
9.7.1.2. Клетки ворсин хориона (плаценты).....	333
9.7.1.3. Лимфоциты пуповинной крови плода.....	334
9.7.2. Основные принципы цитогенетического анализа в пренатальной диагностике.....	334
9.7.2.1. Состав и квалификация персонала.....	335
9.7.2.2. Оборудование	335
9.7.2.3. Реактивы	335
9.7.2.4. Показатели качества цитогенетических исследований.....	335
9.7.3. Диагностические проблемы кариотипирования плода	339
9.7.3.1. Структурные перестройки хромосом, возникшие <i>de novo</i>	339
9.7.3.2. Маркерные хромосомы	343
9.7.3.3. Мозаицизм хромосом	345
9.7.3.4. Однородительская дисомия	349
9.7.4. Алгоритм пренатальной диагностики хромосомных болезней	349
9.8. Принципы и методы диагностики моногенных болезней.....	353
9.9. Прерывание беременности и верификация диагноза.....	354
9.10. Эффективность пренатальной диагностики.....	358
9.11. Пренатальная диагностика в III триместре беременности	360
9.12. Современные направления в пренатальной диагностике	362
9.12.1. Доимплантационная диагностика	362

9.12.2. Неинвазивные методы пренатальной диагностики.....	366
9.12.2.1. Клетки плода в трансцервикальных образцах	366
9.12.2.2. Клетки и ДНК плода в крови матери	367
9.12.3. Комбинированный пренатальный скрининг	
хромосомных болезней в I триместре	368
9.12.4. Молекулярная диагностика хромосомных болезней.....	370
9.12.5. Генная и клеточная терапия плода.....	371
Заключение	373

ГЛАВА 10

ОСОБЕННОСТИ СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ ОРГАНИЗАЦИИ ХРОМОСОМ В ЭМБРИОГЕНЕЗЕ ЧЕЛОВЕКА.....

Введение	375
10.1. Особенности структурной организации	
ядрышкообразующих районов хромосом человека.....	376
10.1.1. Полиморфизм ядрышкообразующих районов (ЯОР)	
хромосом	377
10.1.2. Механизмы регуляции функциональной	
активности рибосомных генов	379
10.1.3. Характеристика функционального состояния ЯОР	
в эмбриогенезе человека.....	382
10.1.3.1. Полиморфизм ЯОР у эмбрионов 6,5–14 недель развития.....	383
10.1.3.2. Полиморфизм ЯОР у плодов 20–24 недель развития.....	387
10.1.4. Особенности наследования функциональной	
активности ЯОР	390
10.1.5. Функциональный полиморфизм ЯОР у плодов человека	
с анеуплоидным кариотипом.....	394
10.2. Метилирование ДНК как универсальный механизм	
регуляции активности генов	399
10.2.1. Метилирование ДНК и геномный импринтинг	406
10.2.2. Инактивация X-хромосомы	409
10.2.3. Болезни, обусловленные нарушениями метилирования	410
10.2.4. Роль метилирования в онкогенезе	411
10.2.5. Статус метилирования хромосом в эмбриогенезе человека.....	413
10.3. Анализ статуса метилирования хромосом с помощью	
метода ник-трансляции <i>in situ</i>	414
10.3.1. Общая характеристика функционального статуса	
хромосом у эмбрионов человека.....	417
10.3.2. Характеристика прицентромерных районов и коротких плеч	
acrocentрических хромосом	424
10.3.3. Особенности функционального состояния районов	
прицентромерного гетерохроматина хромосом 1, 9 и 16.....	425
10.3.4. Особенности метилирования хромосом при анеуплоидии	427
10.4. Анализ особенностей метилирования метафазных	
хромосом человека с помощью моноклональных антител	429
10.4.1. Принцип метода и новый вариант дифференциальной	
окраски — М-сегментация.....	429

10.4.2. Некоторые особенности паттерна метилирования	
хромосом в эмбриогенезе человека.....	436
10.4.2.1. Характеристика М-сегментации хромосом из лимфоцитов	
пуповинной крови у плодов 20–24 недель развития	436
10.4.2.2. Общая характеристика М-сегментации хромосом	
у эмбрионов 5–8 недель развития	439
10.4.2.3. Особенности М-рисунка хромосом у эмбрионов	
доимплантационных стадий развития	440
10.5. Морфометрические характеристики гетерохроматиновых	
районов хромосом 1, 9, 16	444
10.6. Особенности репликации хромосом в эмбриогенезе человека	449
Заключение	456

ГЛАВА 11

ГОРИЗОНТЫ ЦИТОГЕНЕТИКИ ЭМБРИОНАЛЬНОГО РАЗВИТИЯ ЧЕЛОВЕКА.....

Введение	460
11.1. Особенности структурно-функциональной организации	
хромосом на начальных стадиях развития	462
11.2. Структурная и функциональная роль гетерохроматина.....	465
11.3. Метилирование ДНК в эмбриогенезе	469
11.4. Цитологические факторы регуляции активности генов	
в эмбриогенезе	472
11.5. Феногенетика хромосомной патологии.....	475
11.6. Некоторые перспективы диагностики, профилактики	
и лечения хромосомных болезней.....	483
11.6.1. Диагностика.....	483
11.6.2. Профилактика	484
11.6.3. Лечение.....	486
11.7. Новые направления цитогенетики эмбрионального	
развития человека.....	487
Заключение	488

ПРИЛОЖЕНИЕ

1. МЕТОДЫ ПРИГОТОВЛЕНИЯ ПРЕПАРАТОВ ХРОМОСОМ.....	490
1.1. Приготовление препаратов хромосом из лимфоцитов	
периферической крови	490
1.2. Приготовление препаратов хромосом из лимфоцитов	
пуповинной крови плода.....	492
1.3. Тест для оценки контаминации пуповинной крови плода	
кровью матери.....	492
1.4. Приготовление препаратов хромосом из ворсин хориона	
или плаценты	492
1.5. Приготовление препаратов хромосом из различных	
эмбриональных органов.....	495

2. МЕТОДЫ АНАЛИЗА НЕОКРАШЕННЫХ И РАВНОМЕРНО ОКРАШЕННЫХ ХРОМОСОМ.....	497
2.1. Фазово-контрастная микроскопия	497
2.2. Рутинная окраска хромосом	497
3. МЕТОДЫ ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНОЙ ОКРАСКИ ХРОМОСОМ.....	498
3.1. Методы G-окраски хромосом	498
3.2. Методы R-окраски хромосом (RHG, RFA)	500
3.3. Методы Q-окраски хромосом (QFQ, QFN)	501
3.4. Методы избирательной окраски гетерохроматиновых районов хромосом	504
4. СПЕЦИАЛЬНЫЕ МЕТОДЫ ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКОГО АНАЛИЗА	506
4.1. Репликационные варианты G- и R-дифференциального окрашивания хромосом	507
4.2. Методы выявления ломкой X-хромосомы	511
5. ФЛУОРЕСЦЕНТНАЯ ГИБРИДИЗАЦИЯ <i>IN SITU</i> (FISH)	510
5.1. ДНК-зонды	512
5.2. Приготовление препаратов хромосом и интерфазных ядер.....	517
5.3. Предгибридизационная обработка препаратов	520
5.4. Гибридизация <i>in situ</i>	523
6. МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИ Я ХРОМОСОМНЫХ РАЙОНОВ	533
6.1. Ag-окраска активных ядрышкообразующих районов хромосом	533
6.2. Выявление районов, обогащенных метилцитозином	535
7. ПРОПИСИ БУФЕРНЫХ РАСТВОРОВ ДЛЯ ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ	538
7.1. Стандартный фосфатный буфер Соренсена (pH 6,8).....	538
7.2. Буферный раствор GKN, pH 7,8 (10-кратный).....	538
7.3. Буферный раствор SKN, pH 7,8	538
7.4. Буферные растворы SSC	539
7.5. Раствор версена.....	539
7.6. Na-фосфатный буфер (0,01 M)	539
7.7. Насыщенный солевой буферный раствор Дюльбекко, pH 7,2.....	540
7.8. Цитратно-фосфатный буфер Мак-Ильвейна.....	540
Таблица 1. Характеристика методов дифференциального окрашивания хромосом, часто используемых в цитогенетике человека	541
Таблица 2. Сокращения при описании хромосом и хромосомных аномалий	543
Рис.1. Идиограммы G-сегментации хромосом человека для уровней разрешения – 300, 400, 550, 700 и 850 сегментов на гаплоидный геном ...	546
ЛИТЕРАТУРА	565
ПРЕДМЕТНЫЙ УКАЗАТЕЛЬ.....	611