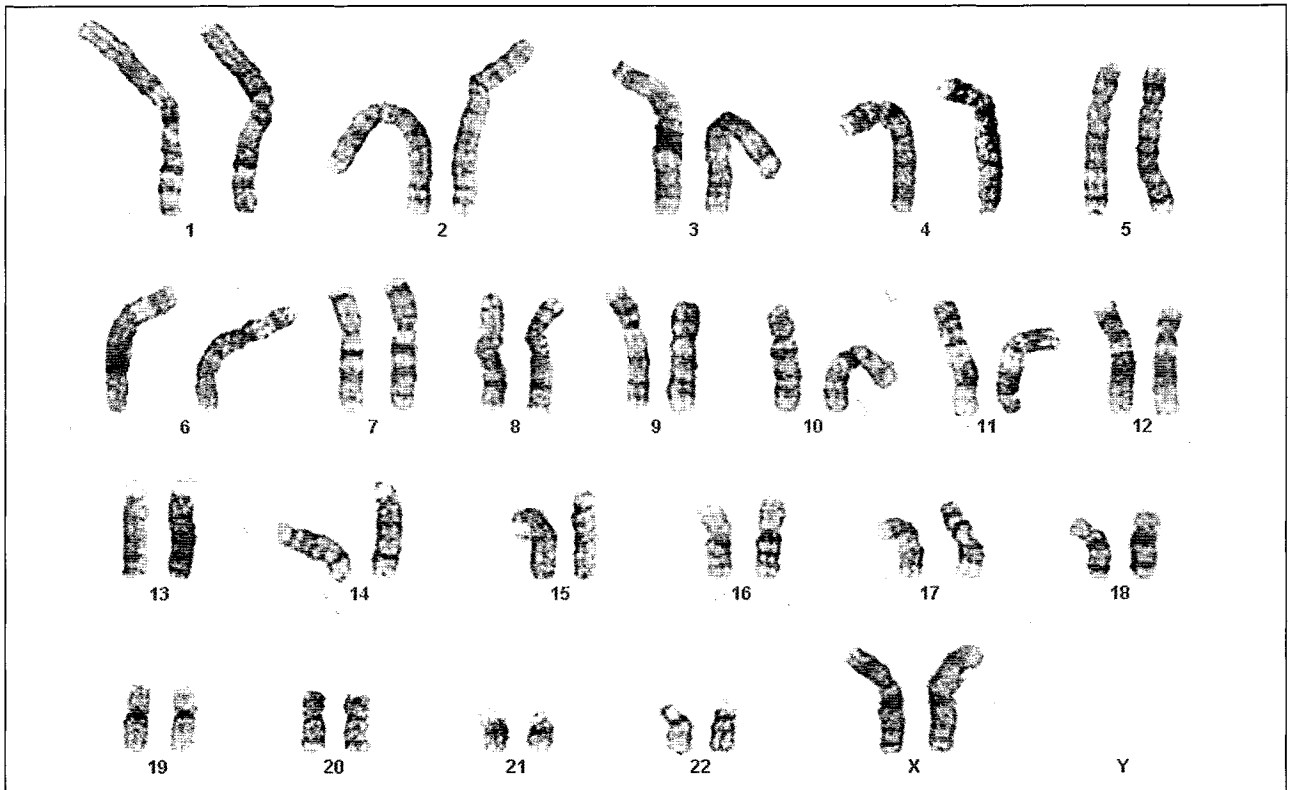


**ПРИЛОЖЕНИЕ
К ГЛАВЕ I**



a



б

Фото 1.1. Кариотип: 46,XX (**a**); кариотип: 46,XY (**б**). Дифференциальное окрашивание GTG-методом; x1000



Фото 1.2. Гаплоидный набор хромосом в сперматозоидах. FISH с использованием ДНК зондов СЕР X, меченного родамином (красный), и СЕР Y, меченного FITC (зеленый); x1000

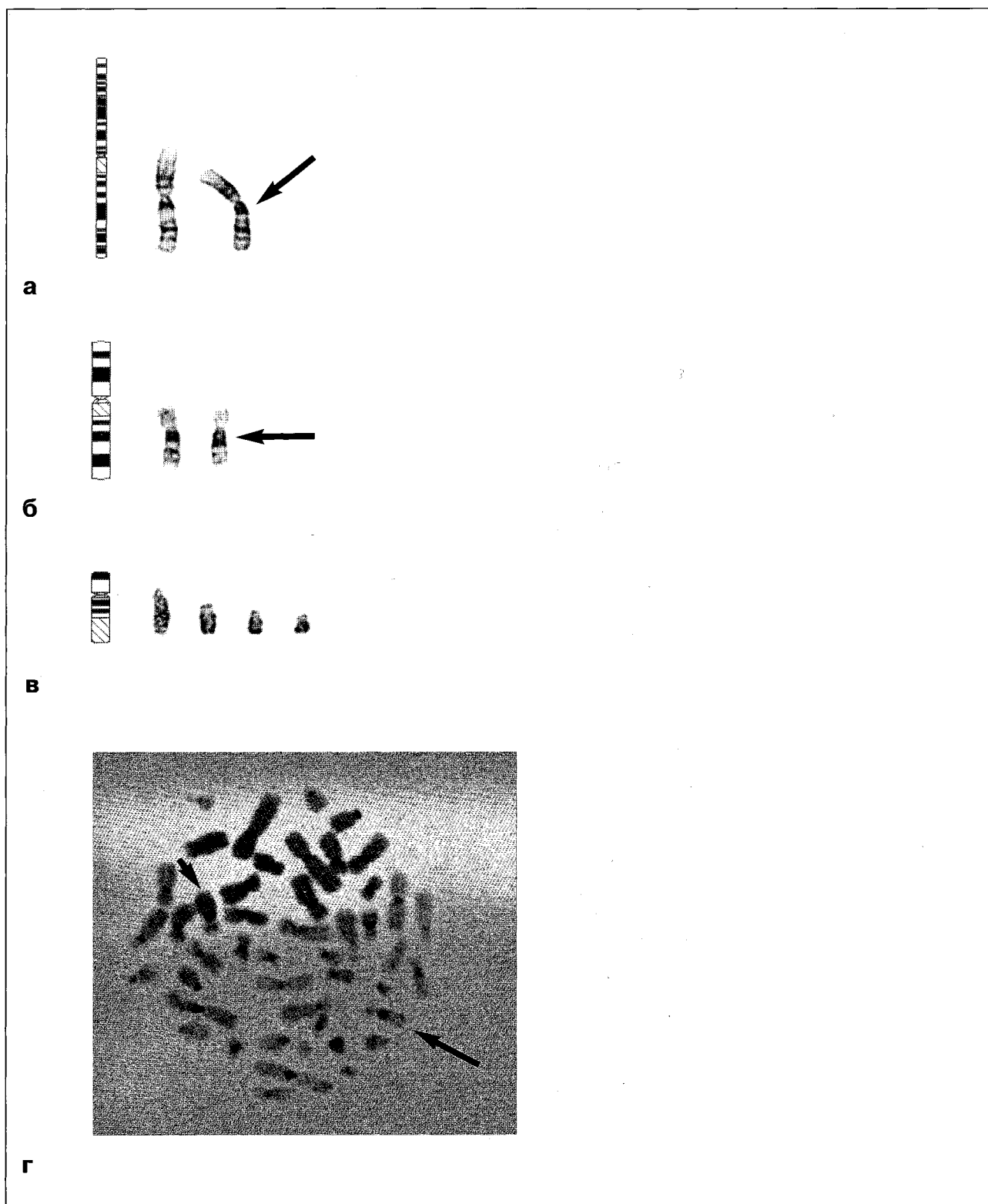


Фото 1.3. Варианты длины гетерохроматинового блока в околоцентромерном районе хромосомы 1 (а), хромосомы 16 (б), хромосомы Y (в). Слева подана идиограмма соответствующей хромосомы, стрелками указаны хромосомы с увеличением длины гетерохроматинового блока. Метафазная пластинка, хромосомы окрашены СВГ-методом; x1000. Короткой стрелкой указан хромосома 9, длинной стрелкой – гомолог хромосомы 9 с увеличенным гетерохроматиновым блоком в околоцентромерном районе (г)

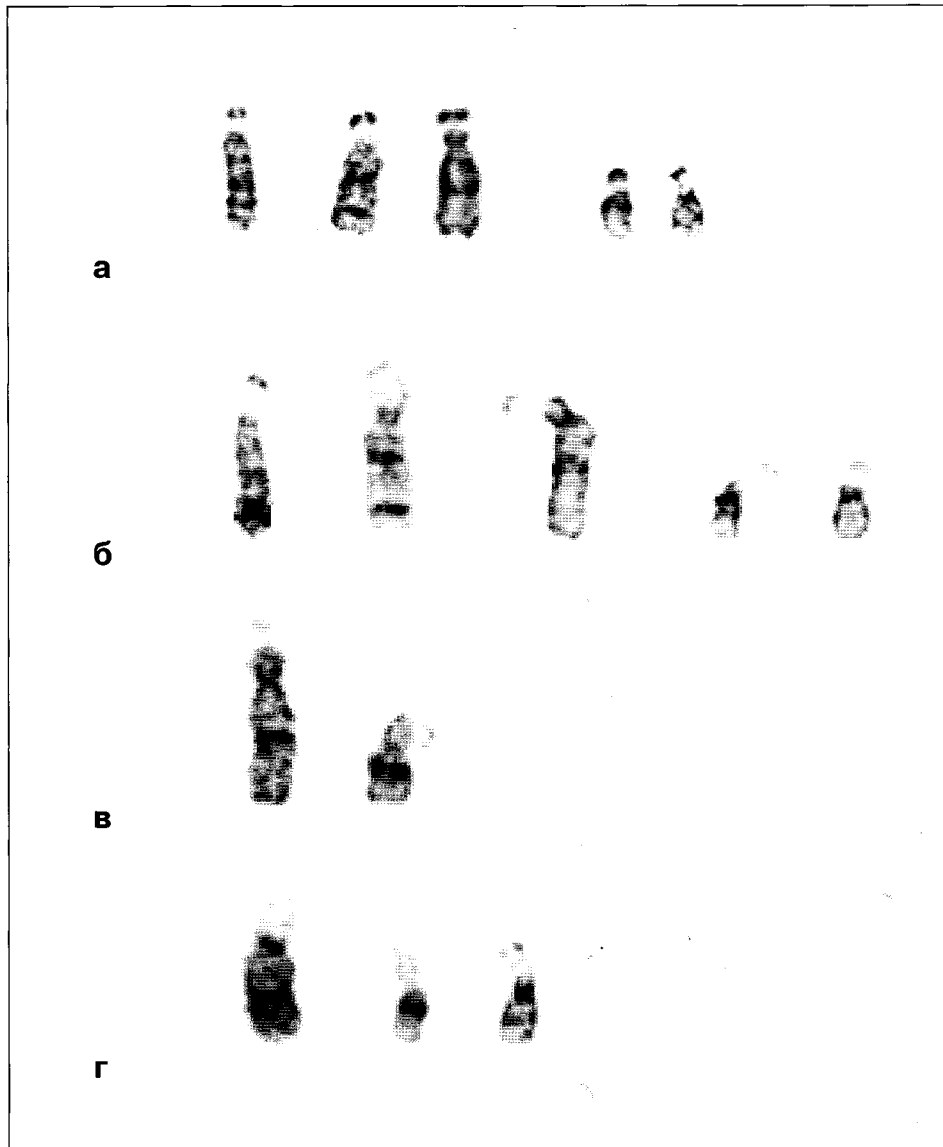


Фото 1.4. Варианты гетерохроматиновых сегментов, спутничных нитей и спутников акроцентрических хромосом: увеличение размера спутников на коротком плече (ps+) акроцентрических хромосом (**а**); увеличение длины спутничных нитей на коротком плече (pstk+) акроцентрических хромосом (**б**); увеличение длины (размера) центромерного гетерохроматина (cenh+) в акроцентрических хромосомах (**в**); наличие двойных спутничных нитей (pstkstк) на коротком плече акроцентрических хромосом (**г**)

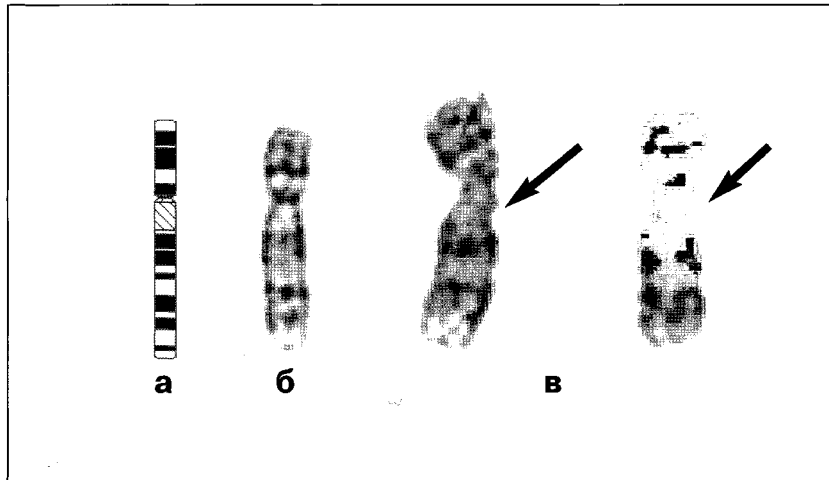


Фото 1.5. Идиограмма хромосомы 9 (**а**), хромосома 9 (**б**), вторичная перетяжка в околоцентромерном районе длинного плеча хромосомы 9 (**в**). Стрелкой указана вторичная перетяжка

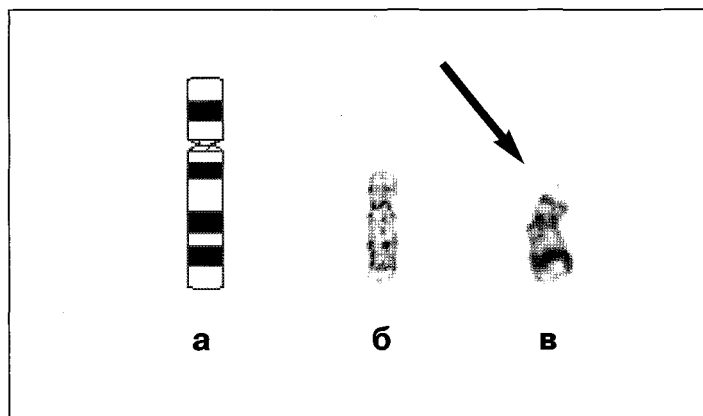


Фото 1.6. Идиограмма хромосомы 17 (**а**), хромосома 17 (**б**), вторичная перетяжка в коротком плече хромосомы 17 (**в**). Стрелкой указана вторичная перетяжка

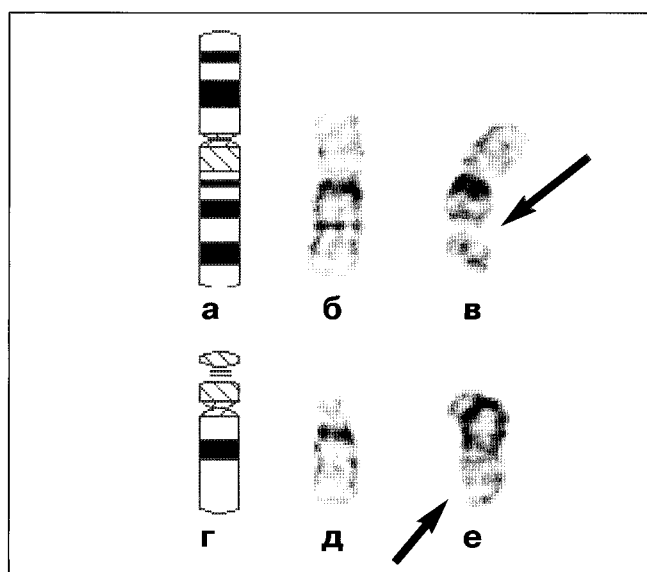


Фото 1.7. Идиограмма хромосомы 16 (а), хромосома 16 (б), наличие ломкого участка в сегменте q22.1 хромосомы 16 (в); идиограмма хромосомы 22 (г), хромосома 22 (д), наличие ломкого участка в сегменте q13 хромосомы 22 (е). Стрелками указан ломкий участок

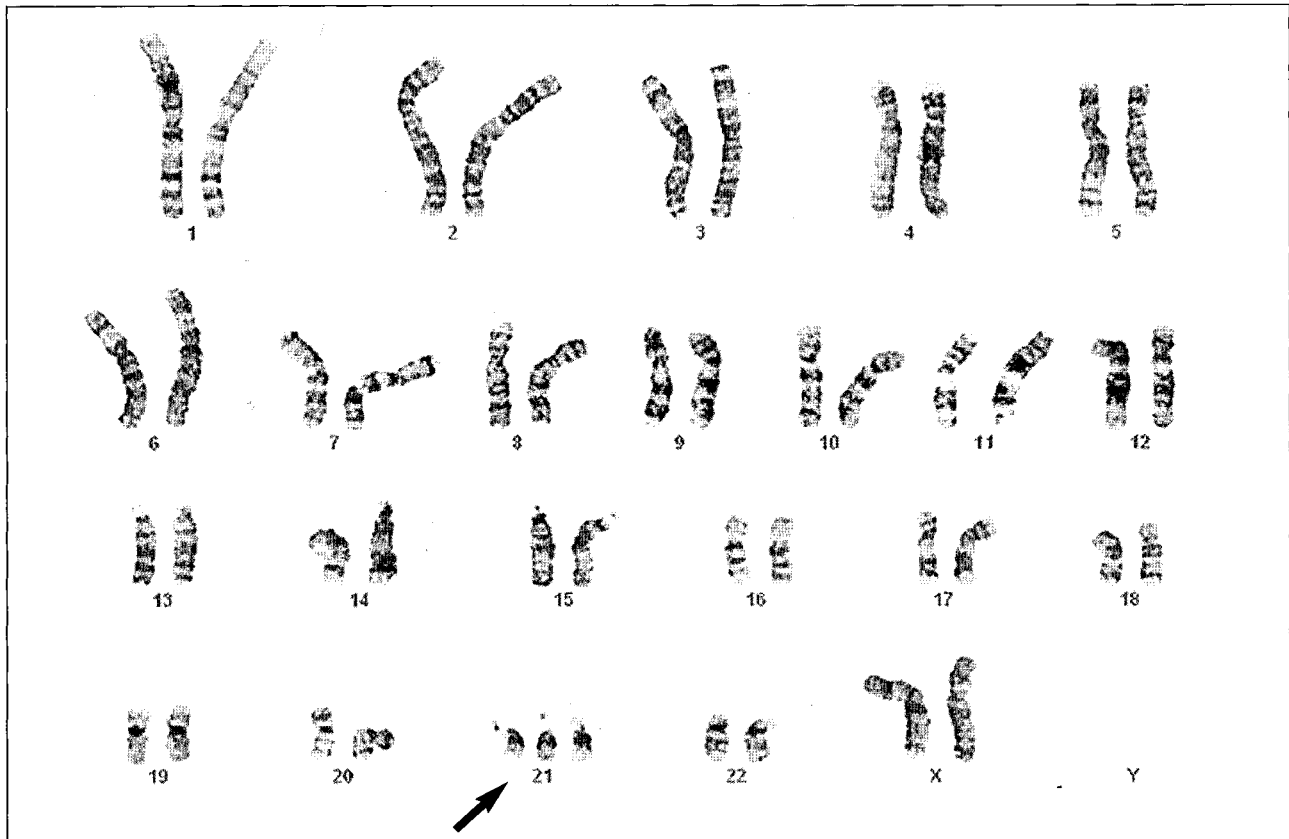
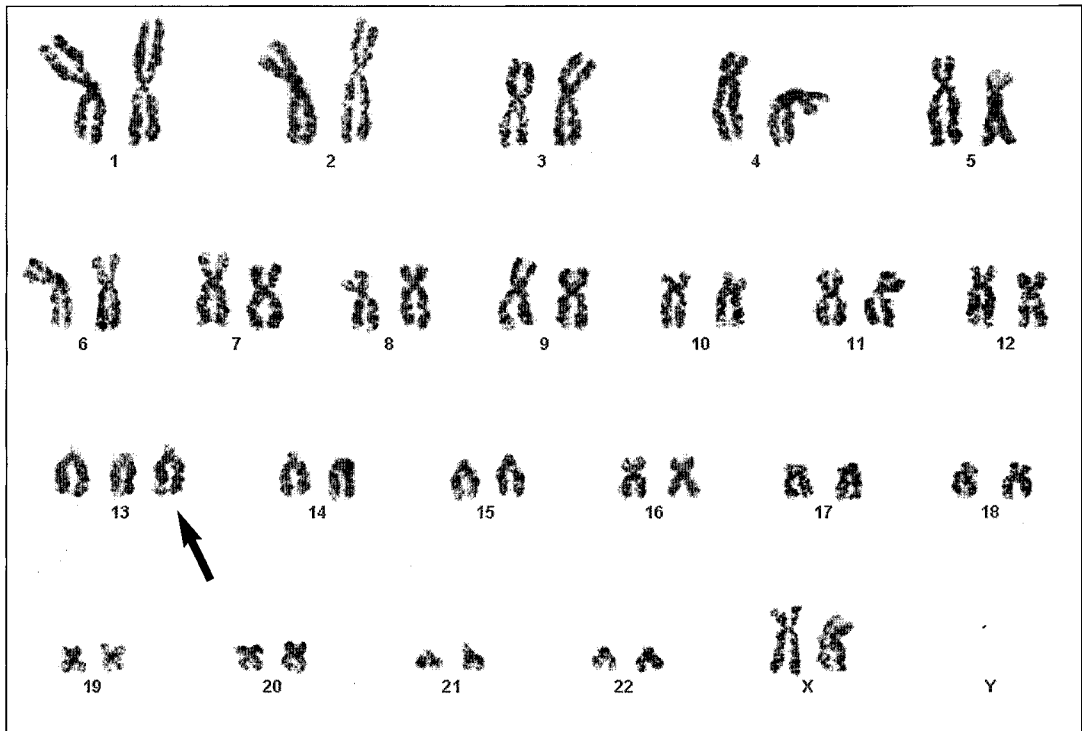
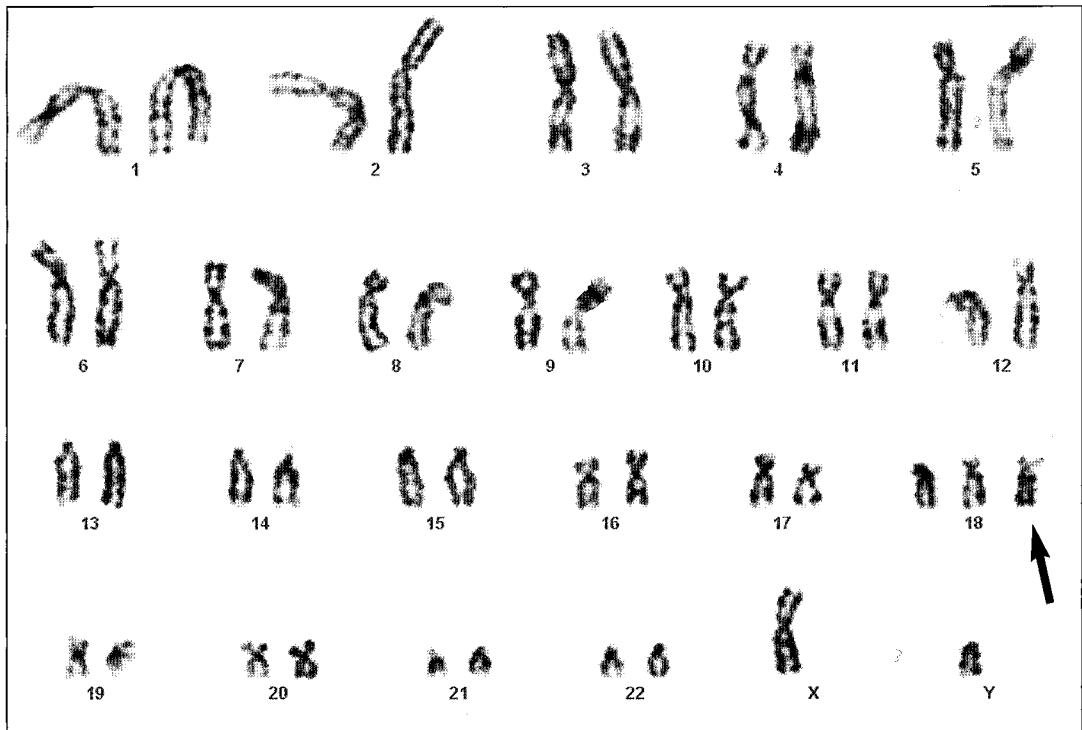


Фото 1.8. Кариотип плода: 47,XX,+21. Дифференциальное окрашивание GTG-методом; x1000. Стрелкой указана дополнительная хромосома 21



а



б

Фото 1.9. Кариотип плода: 47,XX,+13 (а); кариотип плода: 47,XY,+18 (б). Дифференциальное окрашивание GTG-методом; x1000. Стрелками указана дополнительная хромосома

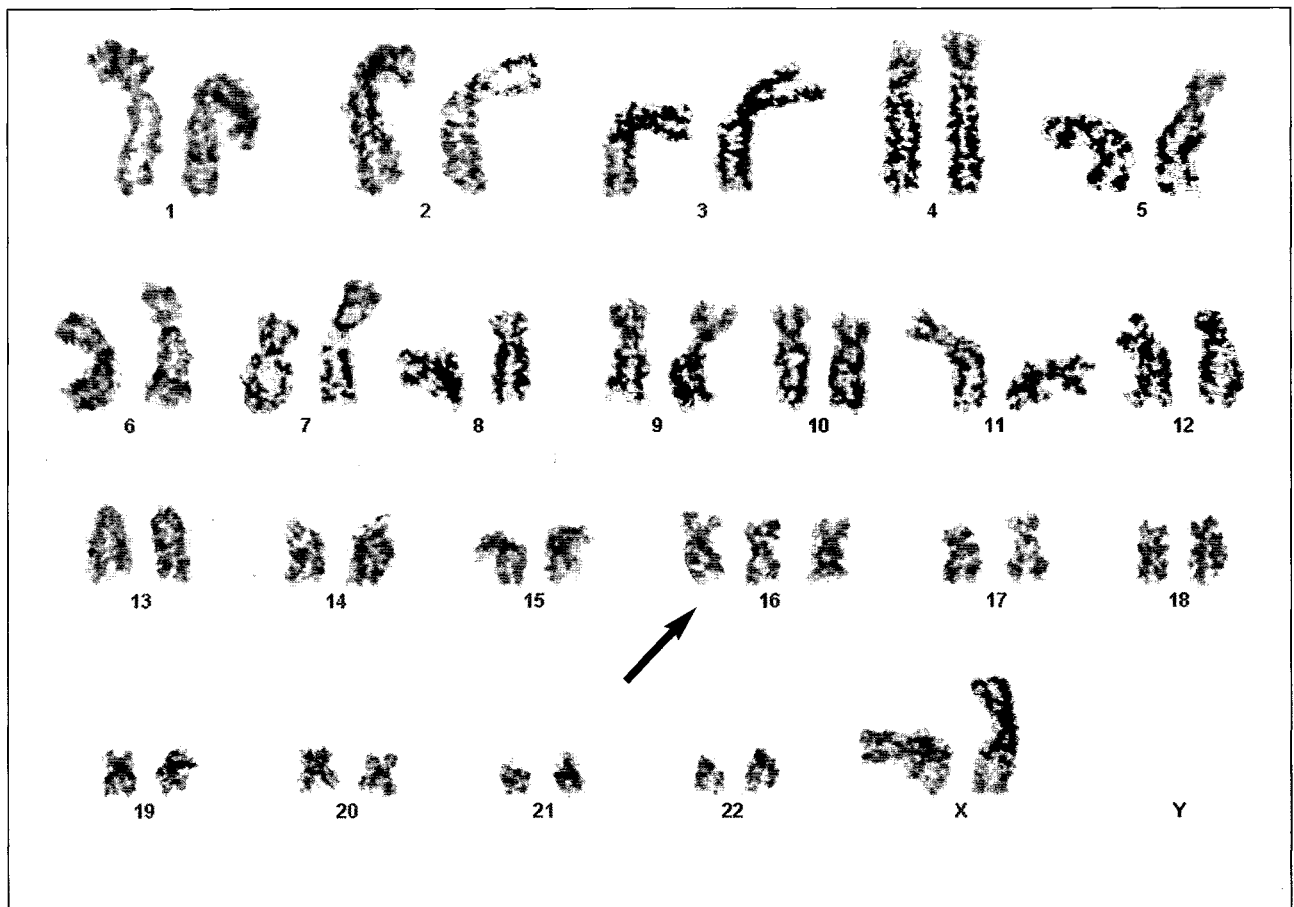
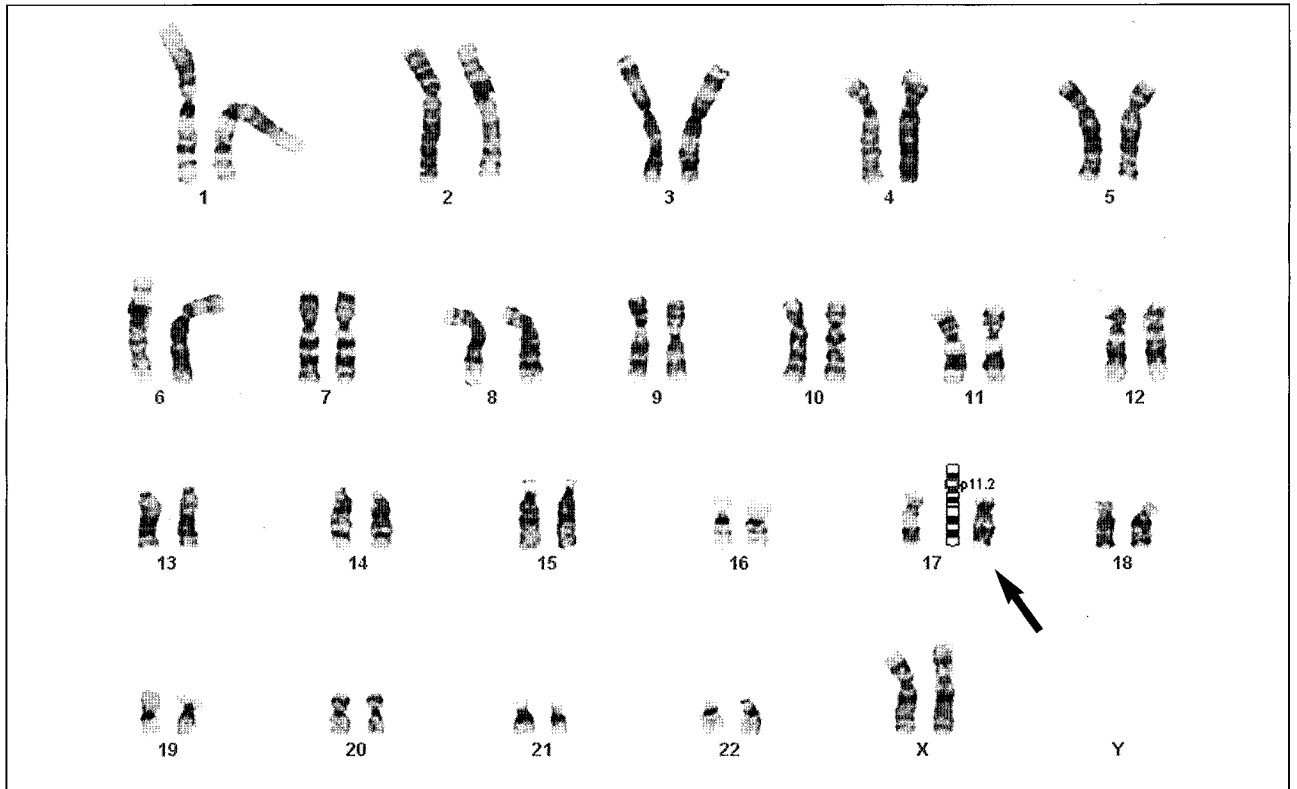
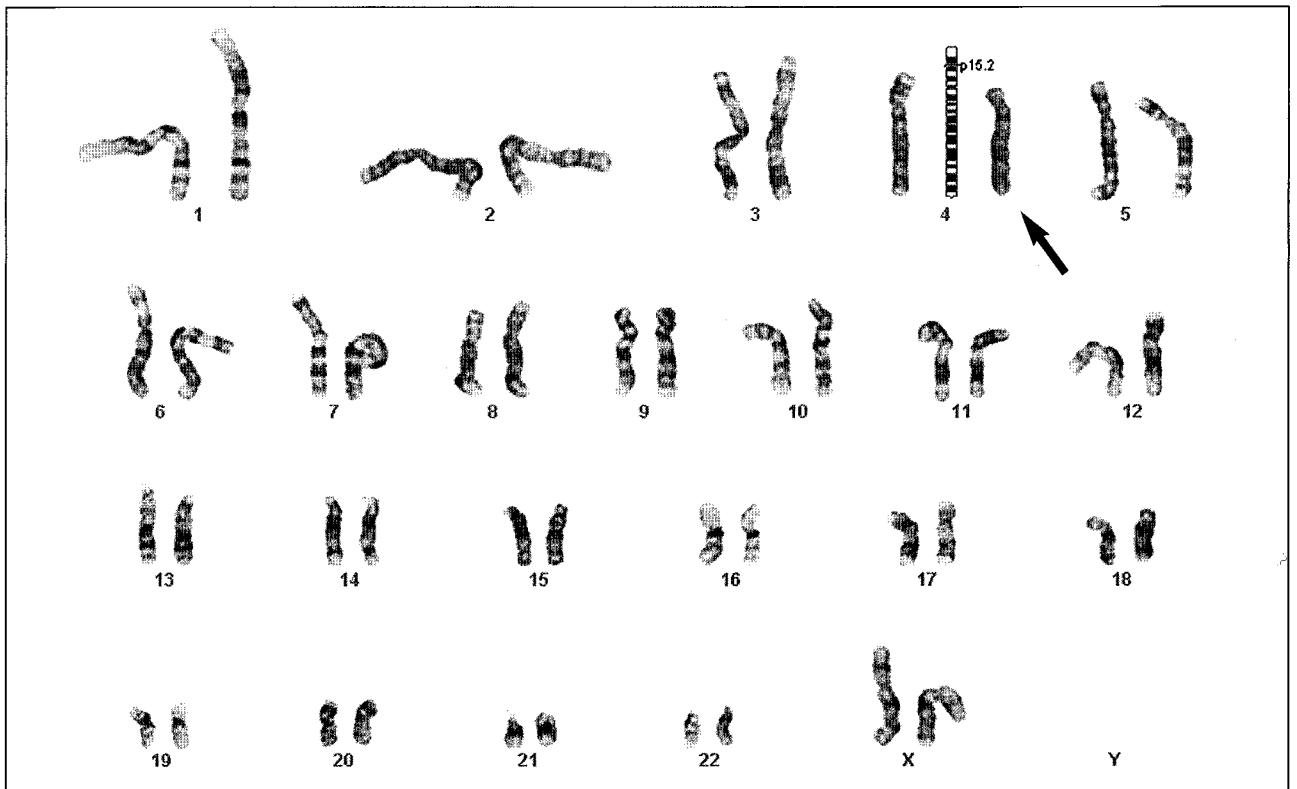


Фото 1.10. Кариотип плода: 47,XX,+16. Дифференциальное окрашивание GTG-методом; x1000. Стрелкой указана дополнительная хромосома 16

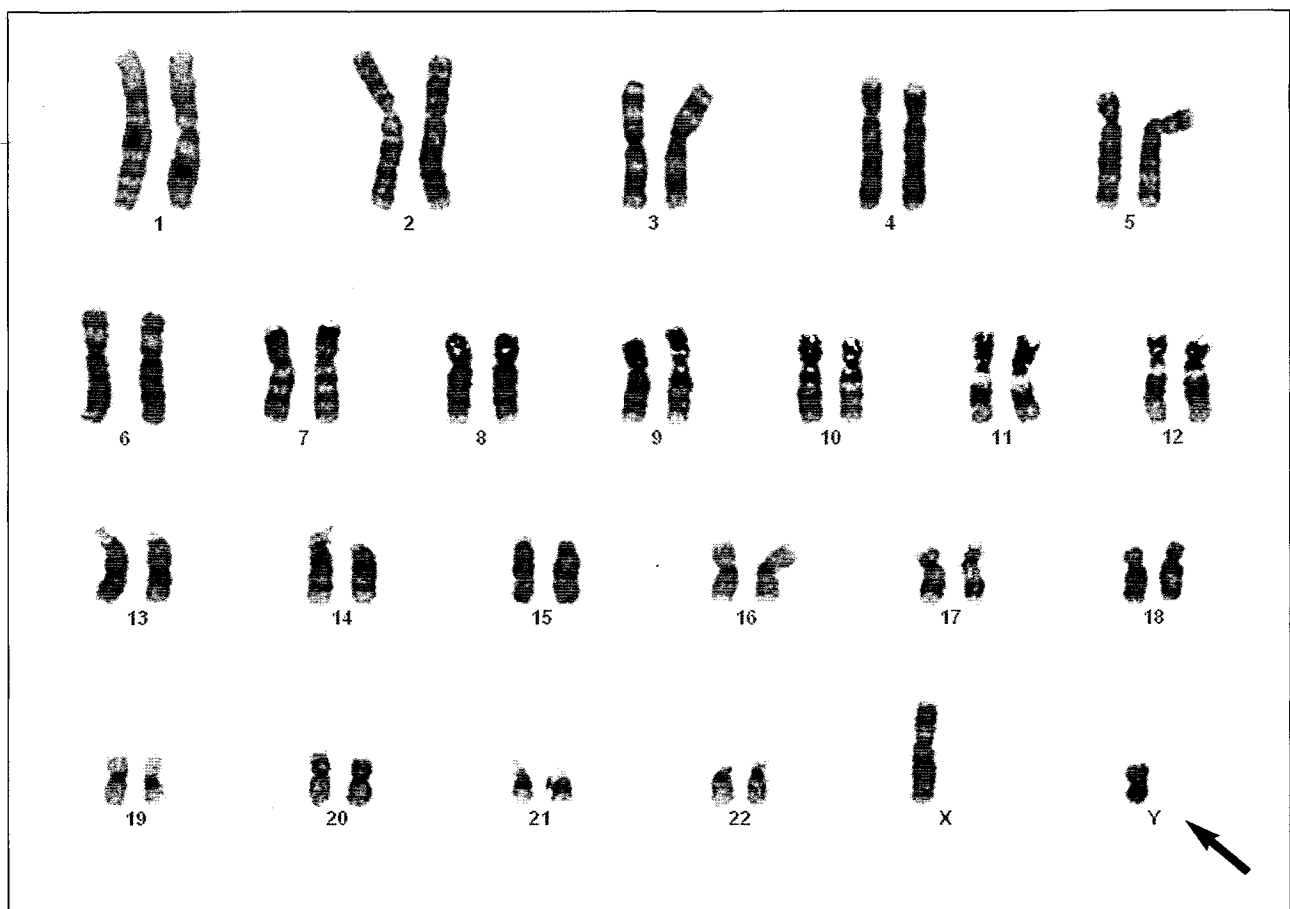
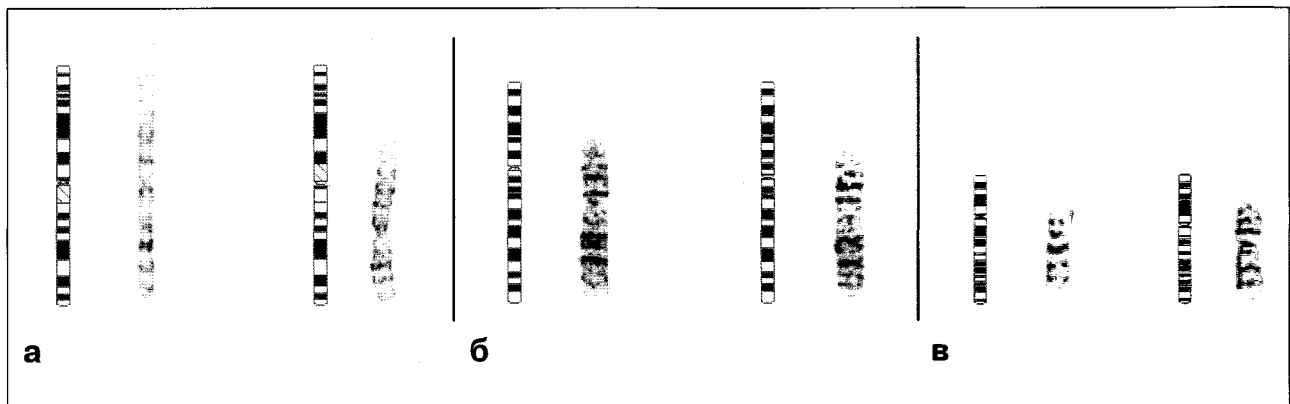


а



б

Фото 1.11. Клетка с хромосомным набором 46,XX,del(17)(p11.2) (**а**); клетка с хромосомным набором 46,XX,del(4)(p14) (**б**). Дифференциальное окрашивание GTG-методом; x1000. Стрелками указана делетированная хромосома



Г

Фото 1.12. Наиболее распространенные варианты перичесентрических инверсий. Идиограмма и фото: $inv(1)(p13q21)$ (а); $inv(2)(p11.2q13)$ (б); $inv(10)(p11.2q21.2)$ (в). Слева представлена идиограмма и фото нормальной хромосомы, справа – с перичесентрической инверсией. Клетка с хромосомным набором $46,XY,inv(Y)(p11q11.2)$ (г). Окрашивание GTG-методом; $\times 1000$. Стрелкой указана хромосома Y с перичесентрической инверсией

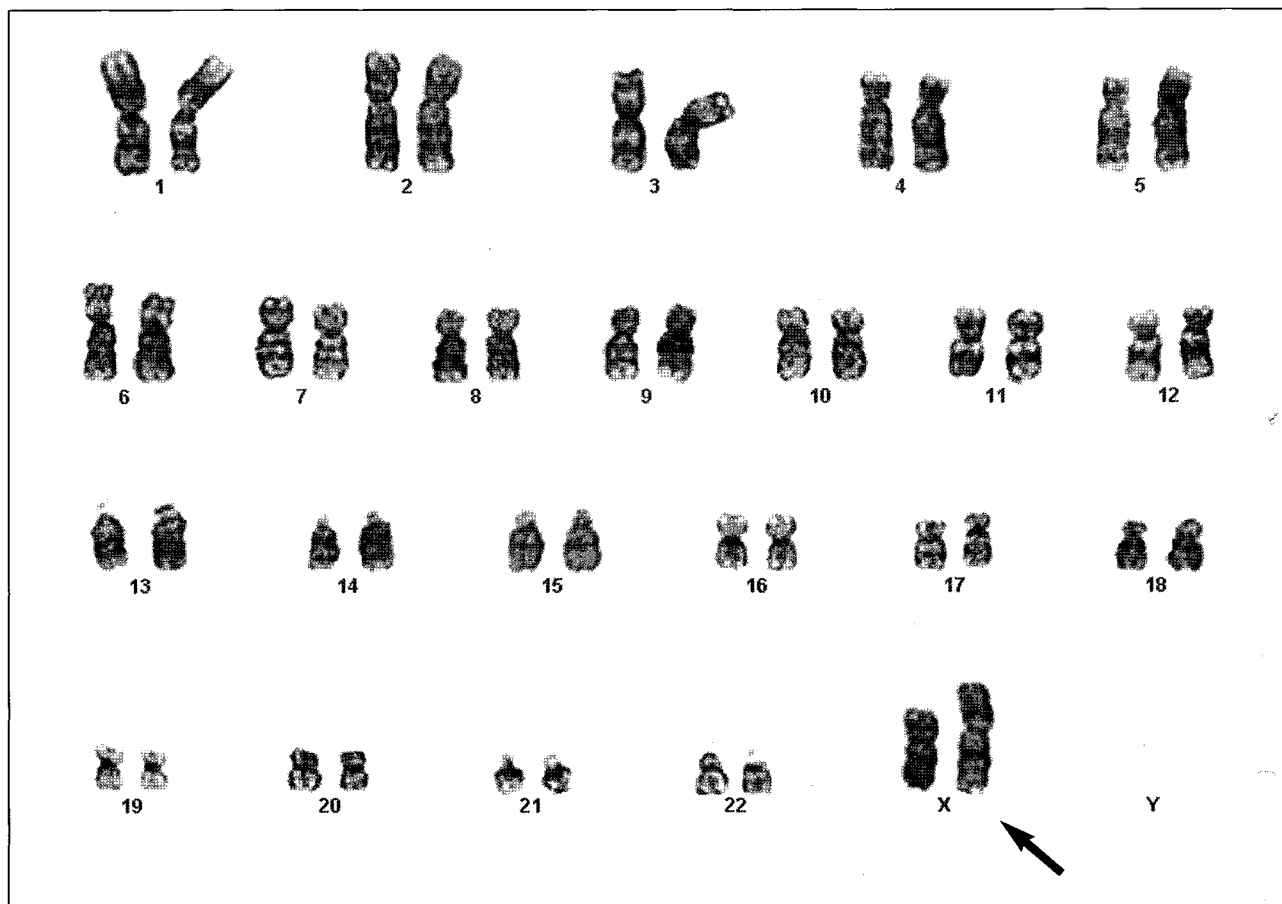


Фото 1.13. Клетка с хромосомным набором 46,X,i(X)(q10). Дифференциальное окрашивание GTG-методом; $\times 1000$. Стрелкой указана изохромосома X

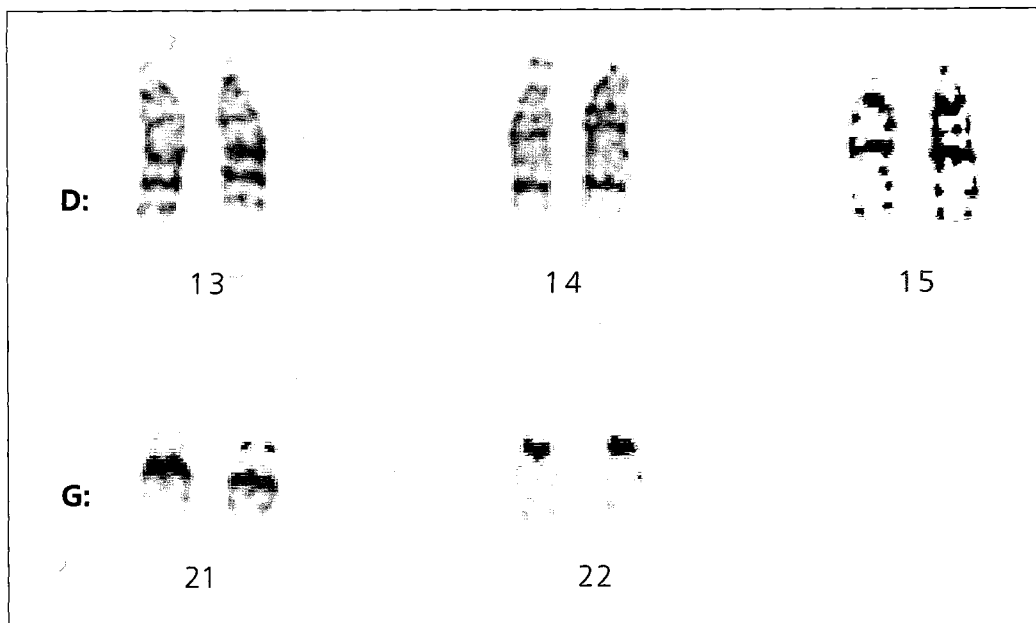
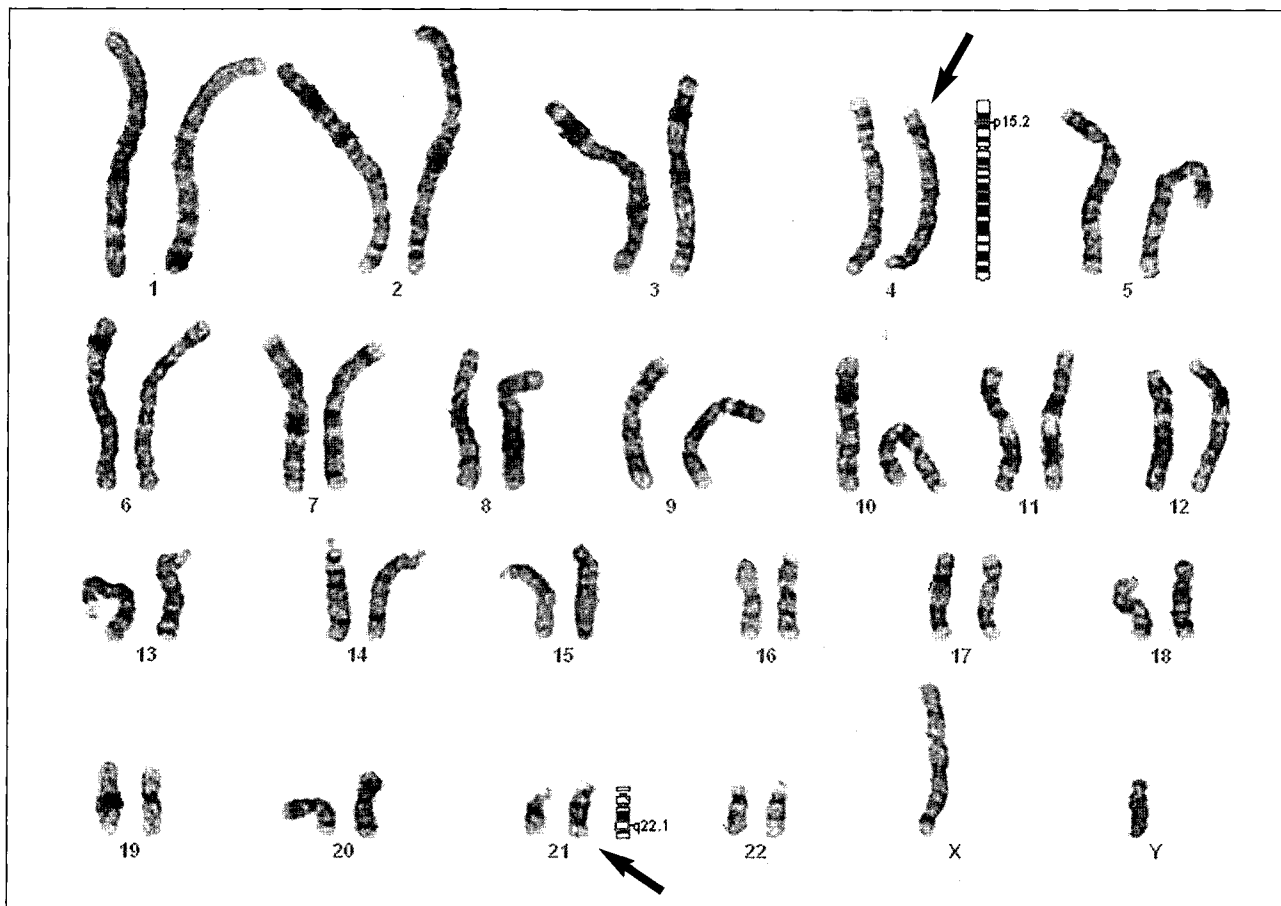
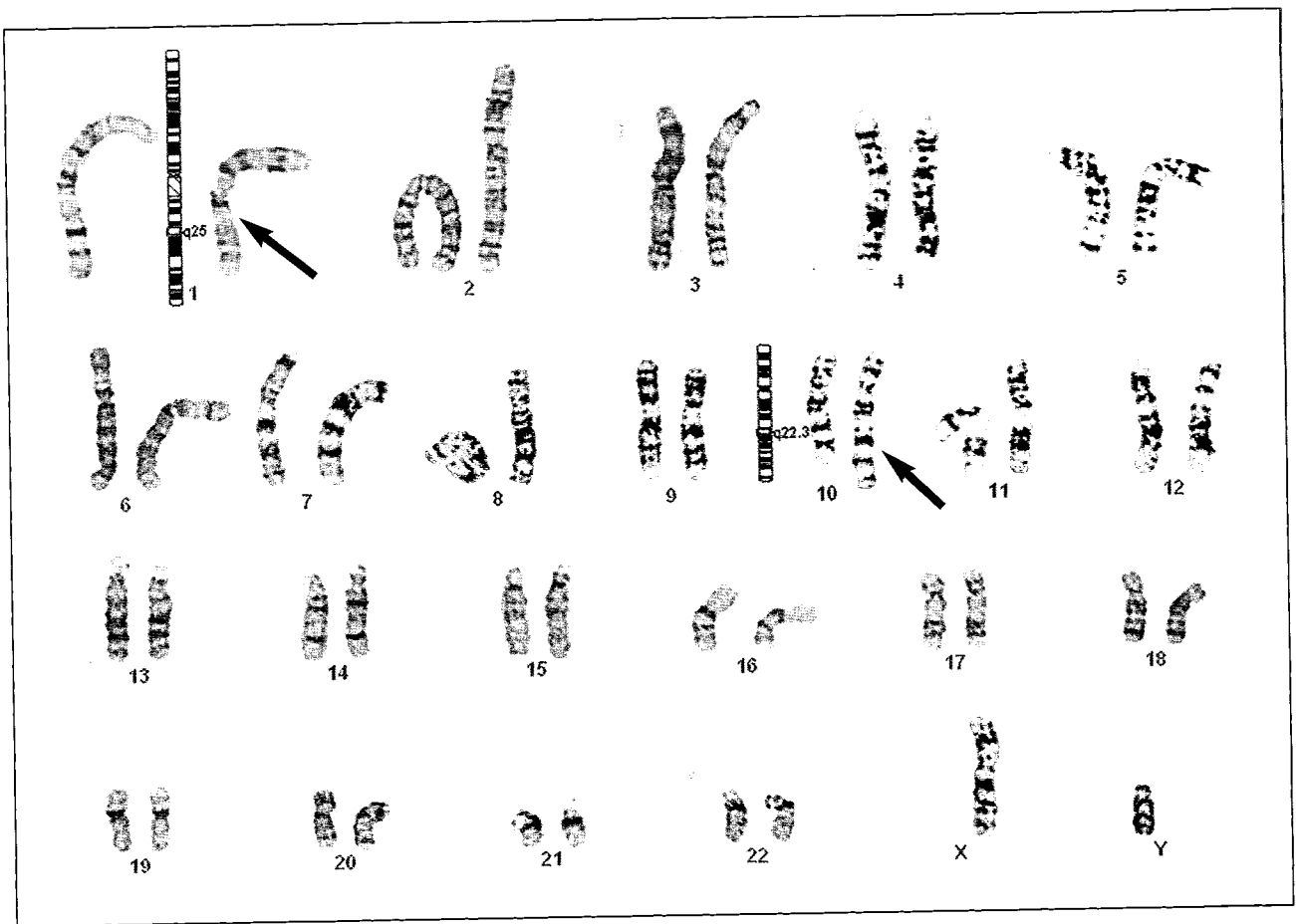


Фото 1.14. Акроцентрические хромосомы группы D (13-15) и группы G (21 и 22)



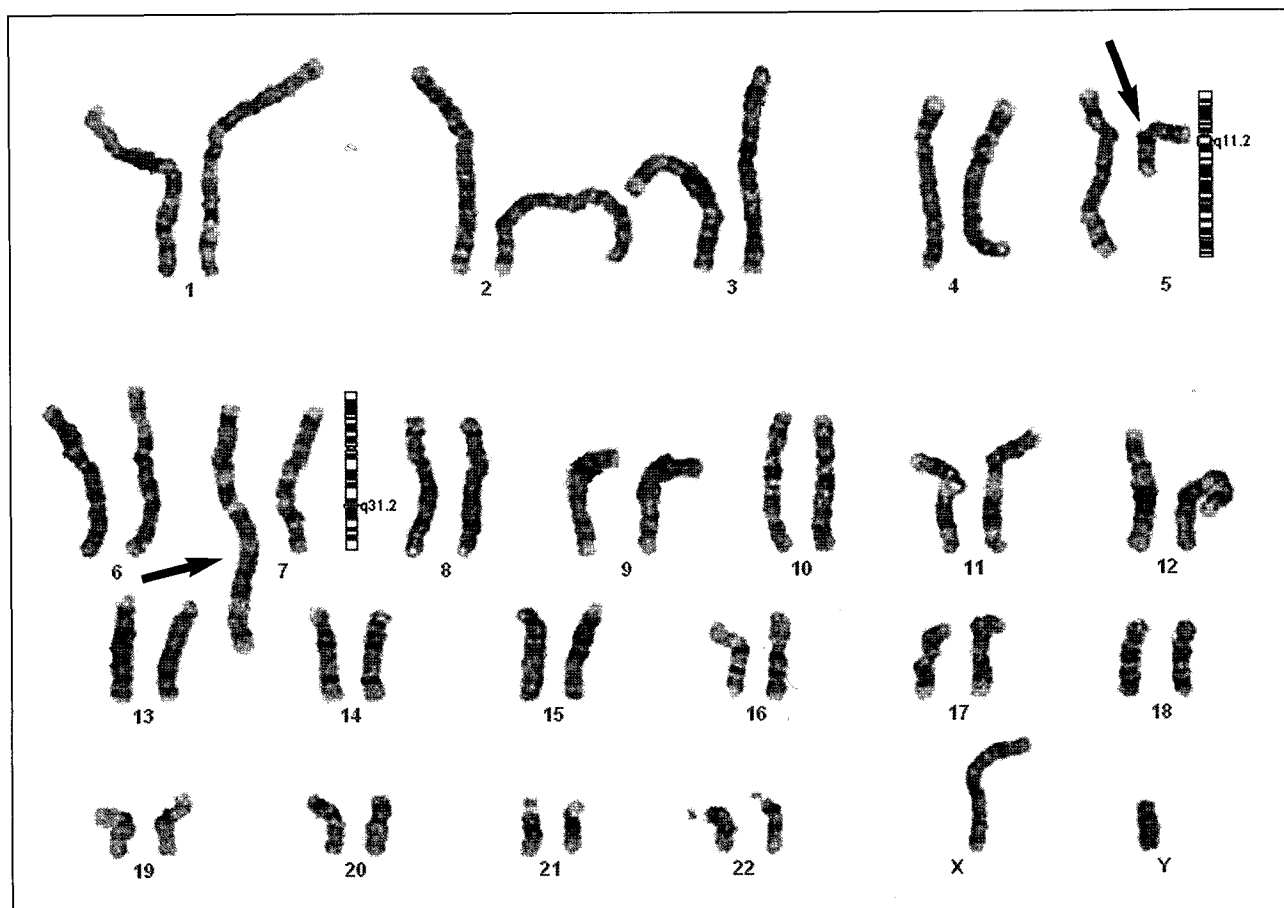
а

Фото 1.15. Варианты реципрокных транслокаций. Клетка с хромосомным набором 46,XY,t(4;21)(p15.2;q22.1) (**а**); 46,XY,t(1;10)(q25;q22.3) (**б**); 46,XY,t(5;7)(q11.2;q31.2) (**в**); 46,XX,t(2;11)(p21;q23) (**г**); 46,XY,t(11;22)(q23;q11) (**д**); 46,XY,t(1;8)(q21;p21) (**е**); 46,XY,t(4;15)(q27;q26.3) (**ж**). Дифференциальное окрашивание GTG-методом; x1000. Стрелками указаны хромосомы, участвующие в транслокации



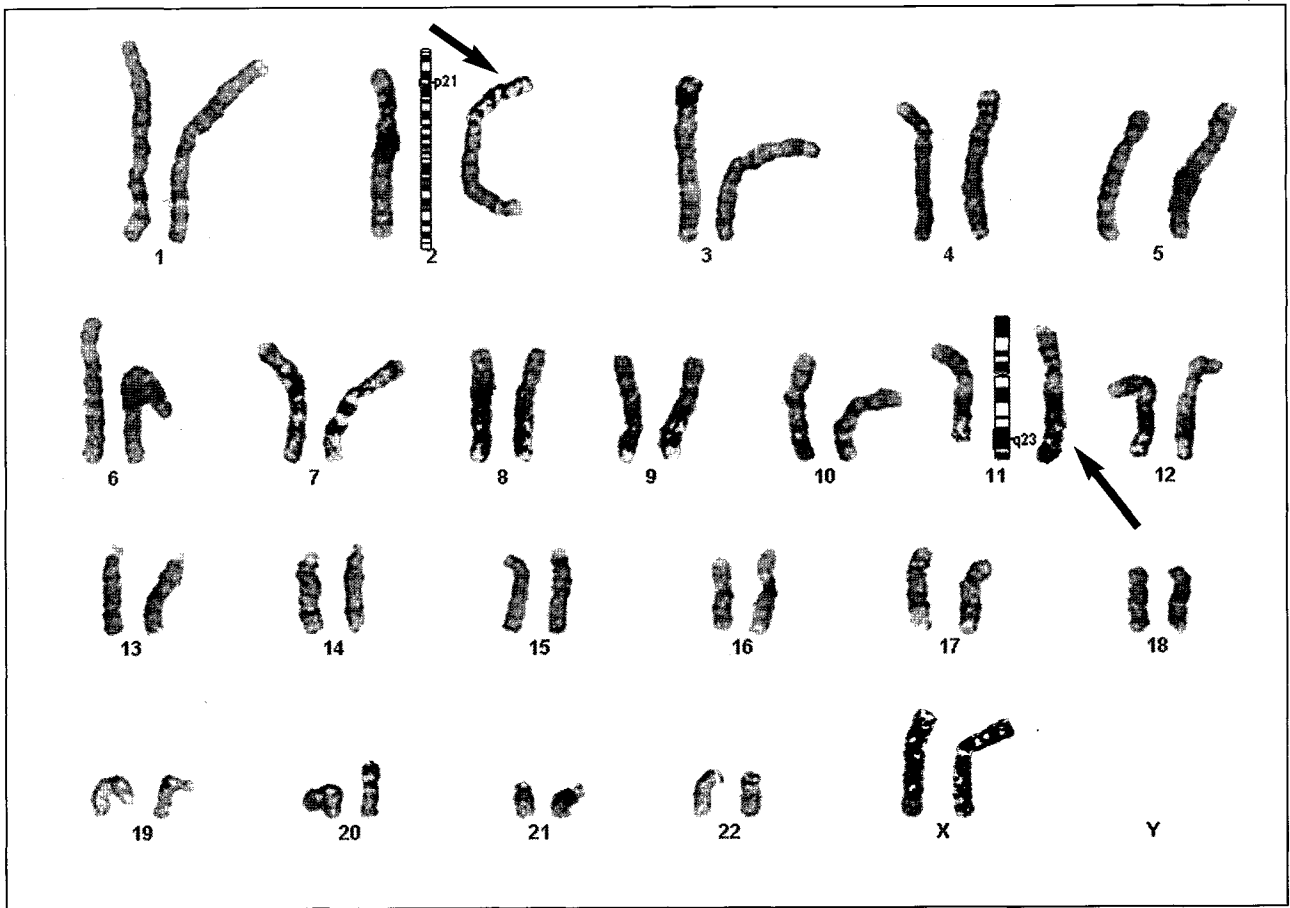
6

Фото 1.15. (продолжение)



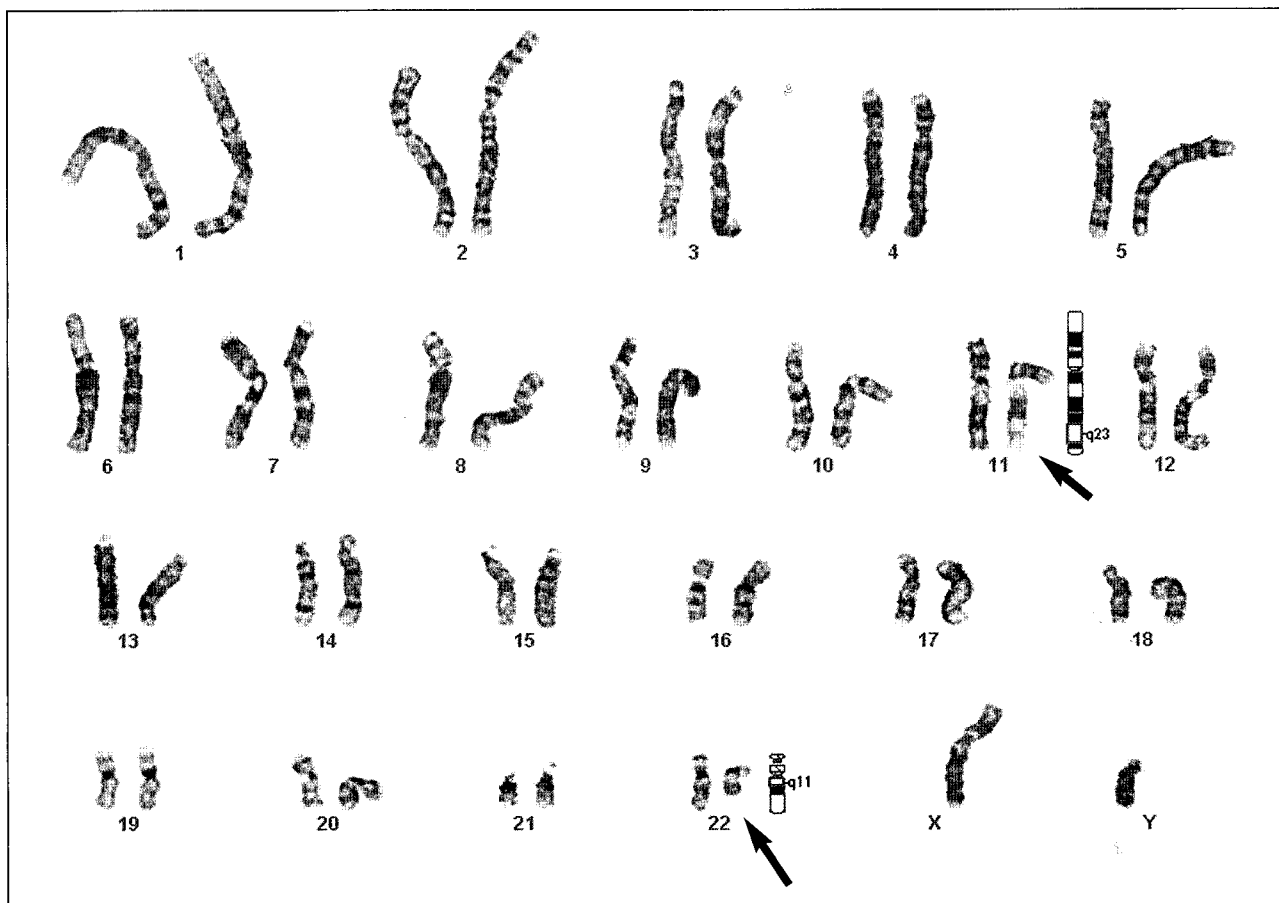
В

Фото 1.15. (продолжение)



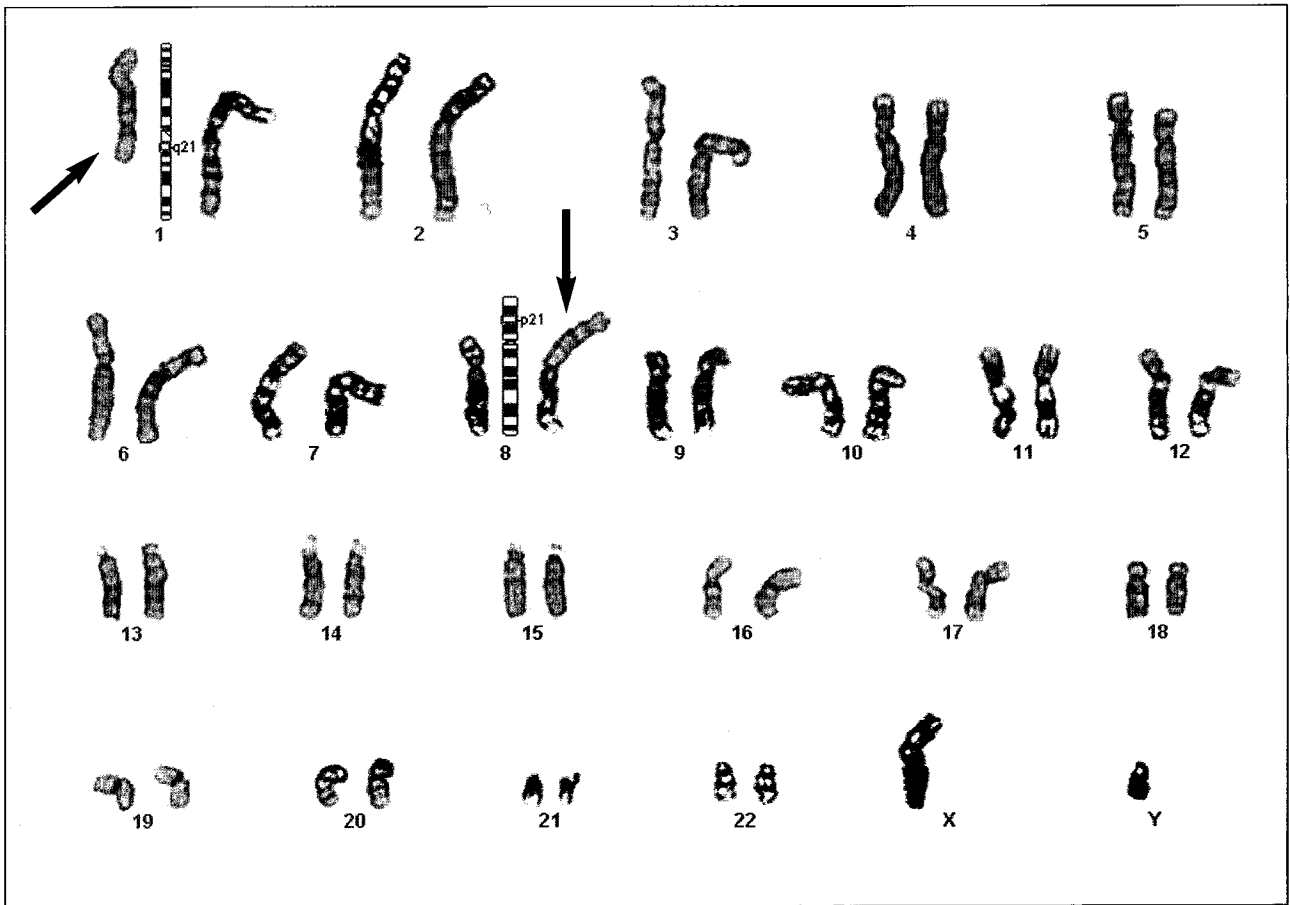
Г

Фото 1.15. (продолжение)



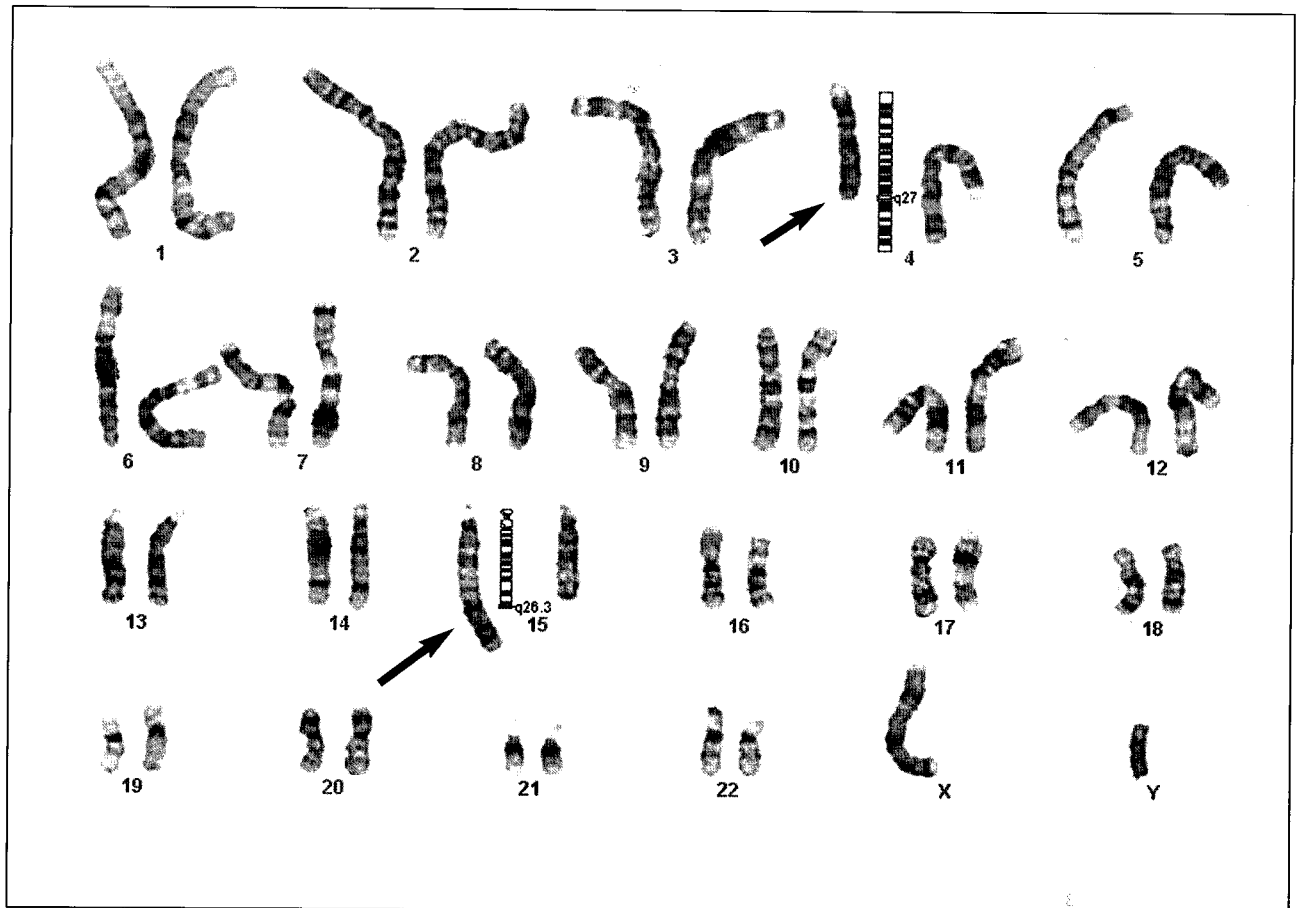
Д

Фото 1.15. (продолжение)



e

Фото 1.15. (продолжение)



Ж

Фото 1.15. (продолжение)

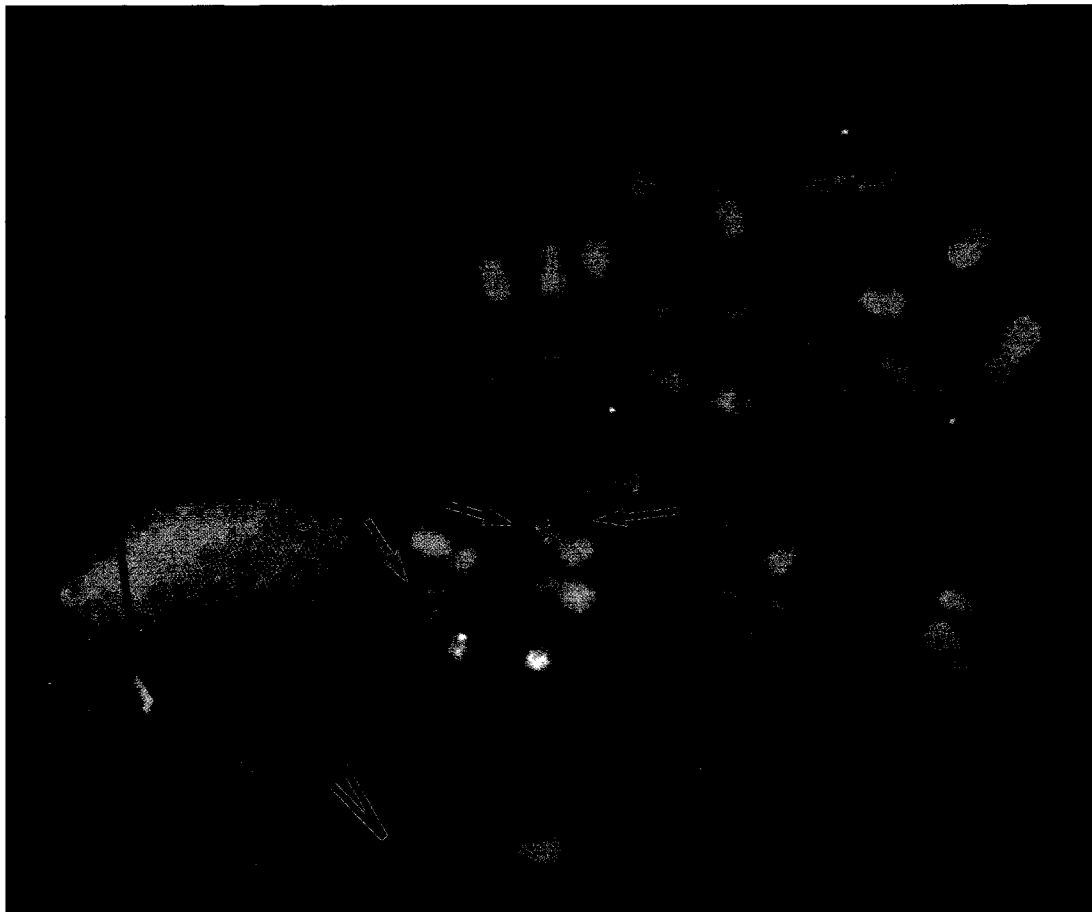
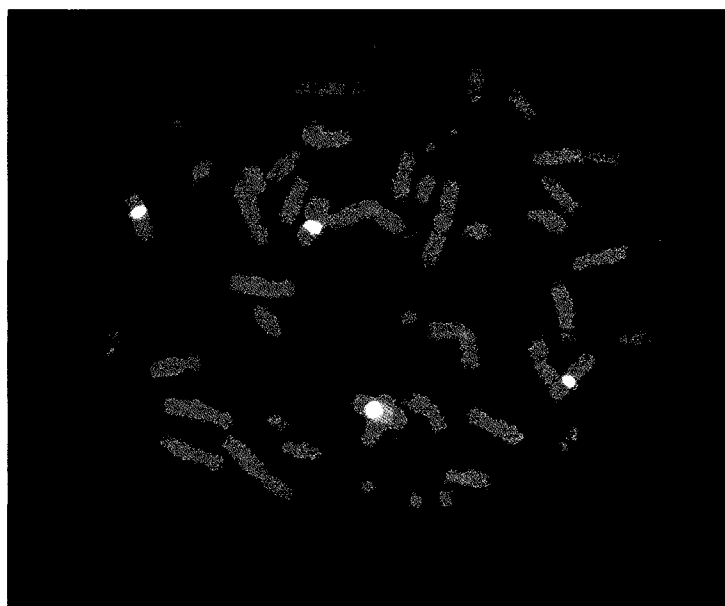


Фото 1.16. FISH с использованием локус-специфического ДНК зонда (DiGeorge/VCFS Region Probe). Участок 22q11.2 маркирован роданином (красный), контрольный участок 22q13 маркирован FITC (зеленый). Отсутствие красного сигнала на одной из хромосом 22 свидетельствует о делеции 22q11.2; $\times 1000$. Стрелками указано наличие сигналов на хромосомах 22



а



б

Фото 1.17. FISH с использованием альфеидного ДНК зонда (CEP X) на интерфазных ядрах (стрелками указано количество хромосом X в ядрах) **(а)**; в метафазе, кариотип: 48,XXXX **(б)**. ДНК зонд мечен родамином; x1000

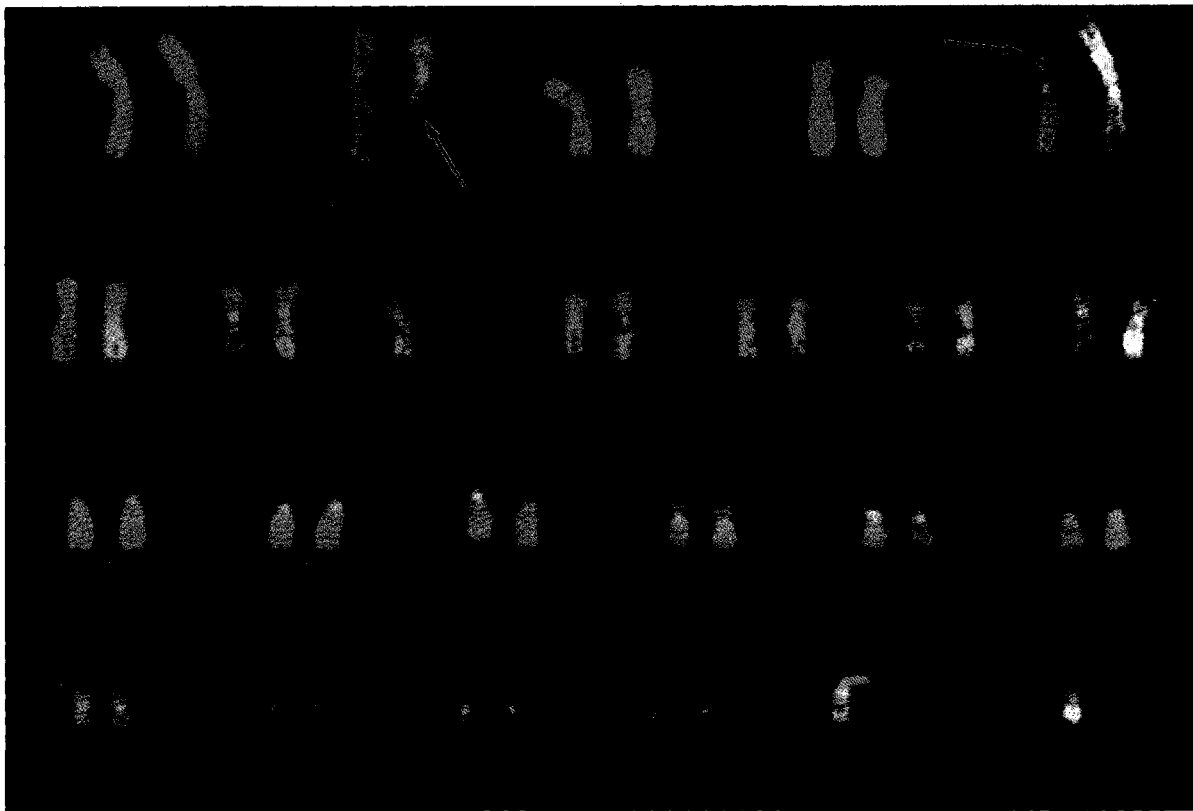


Фото 1.18. FISH с использованием субтеломерных сайт-специфических ДНК зондов на дистальный участок короткого плеча хромосомы 2 (tel 2q) (мечен родамином – красный) и хромосомы 5 (tel 5p) (мечен FITC – зеленый). Клетка с хромосомным набором 46,XY,t(2;5)(q21;p15.3); x1000. Стрелками указано наличие сигналов на хромосомах, участвующих в транслокации

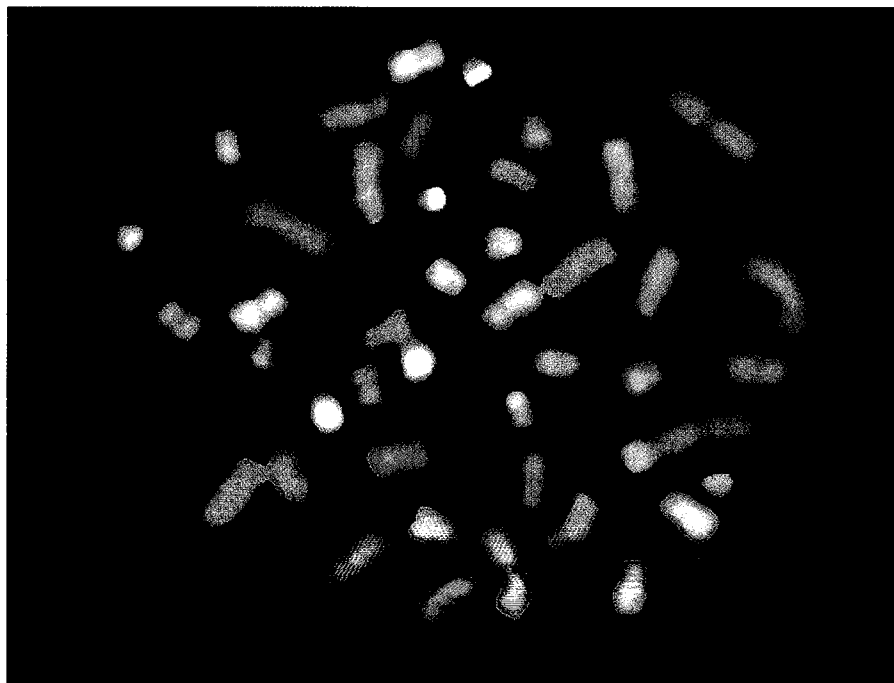


Фото 1.19. Многоцветовая FISH; x1000

Случай 1

В Клинику проблем планирования семьи (Киев, Украина) обратилась супружеская пара в связи с первичным бесплодием (3 года).

Супругу 44 года, результат спермограммы – вариант нормы, кариотип: 46,XY, в первом браке есть дети.

Супруге 37 лет, цитогенетический анализ выявил у супруги метацентрическую, с двумя парами спутников маркерную хромосому в 75 % клеток, которая по размеру составляет 2/3 хромосомы 21, часто участвует в ассоциациях с акроцентрическими хромосомами (фото 1.20). Дифференциальными методами окрашивания с помощью GTG-, QFQ-методов был выявлен гетерохроматин в составе маркерной хромосомы. Для идентификации дополнительной мини-хромосомы был использован набор Spectra Vysion Assay (Vysis, Abbott Inc, USA), который содержит набор WCP ДНК зондов, меченный флюорохромами, что в сочетании с компьютерной программой Applied Imaging Spectra Vysion Imaging System позволяет окрашивать хромосомы в 24 цвета.

После проведения анализа с помощью многоцветовой FISH маркерная хромосома была идентифицирована как хромосома, возникшая в результате инверсии и дупликации короткого плеча хромосомы 15. Кариотип записывается: mos 47,XX,+psu idic(15)(q11~13)[15]/46,XX[20] (фото 1.21).

После проведения лечебной программы ЭКО с ICSI была получена беременность. Цитогенетический анализ ворсин хориона плода показал кариотип 46,XY. Беременность закончилась рождением здорового доношенного мальчика.

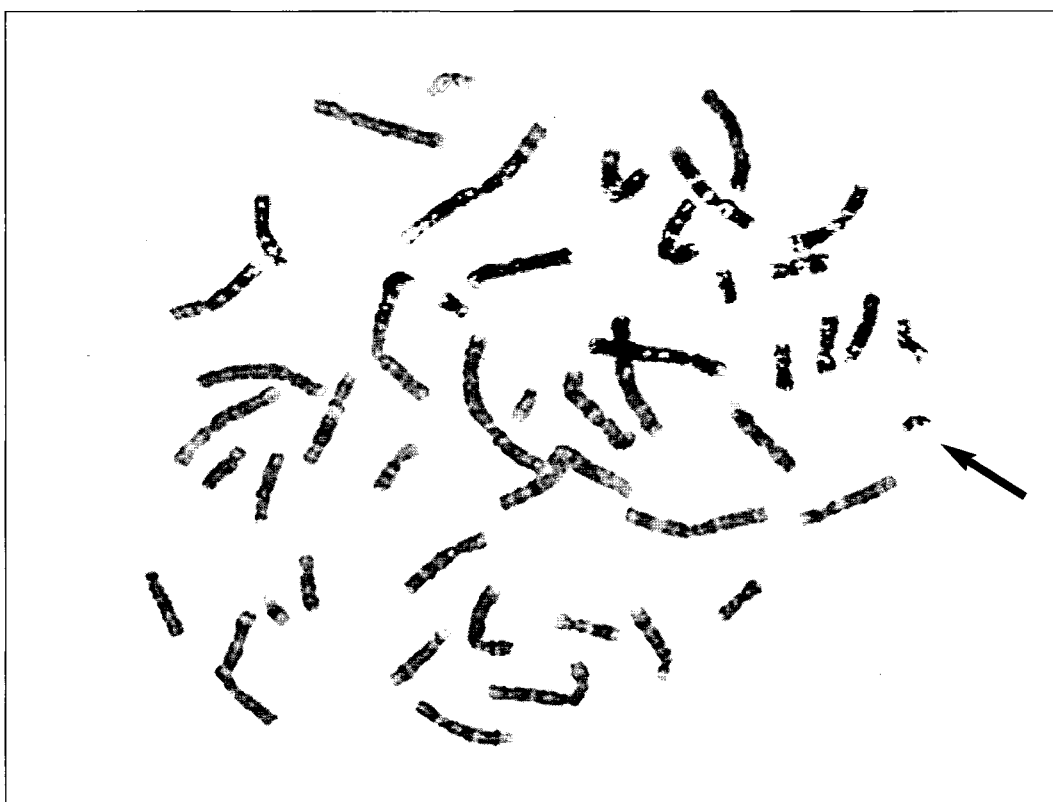


Фото 1.20. Кариотип супруги: 47,XX,+mar; x1000. Стрелкой указана маркерная хромосома (Случай 1)

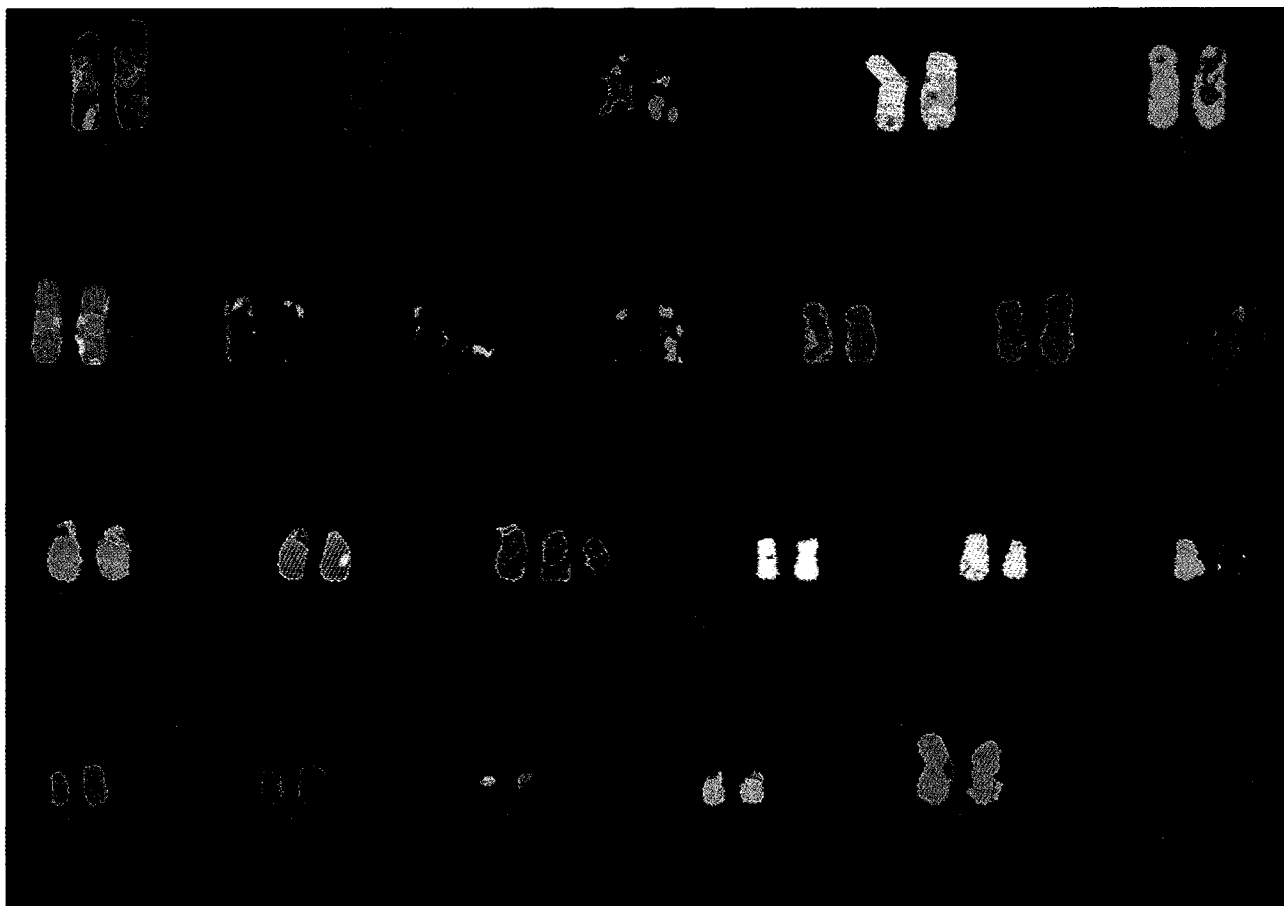


Фото 1.21. Кариотип супруги: 47,XX,+psu idic(15)(q11~q13); x1000. Стрелкой указана маркерная хромосома (**Случай 1**)

**ПРИЛОЖЕНИЕ
К ГЛАВЕ II**

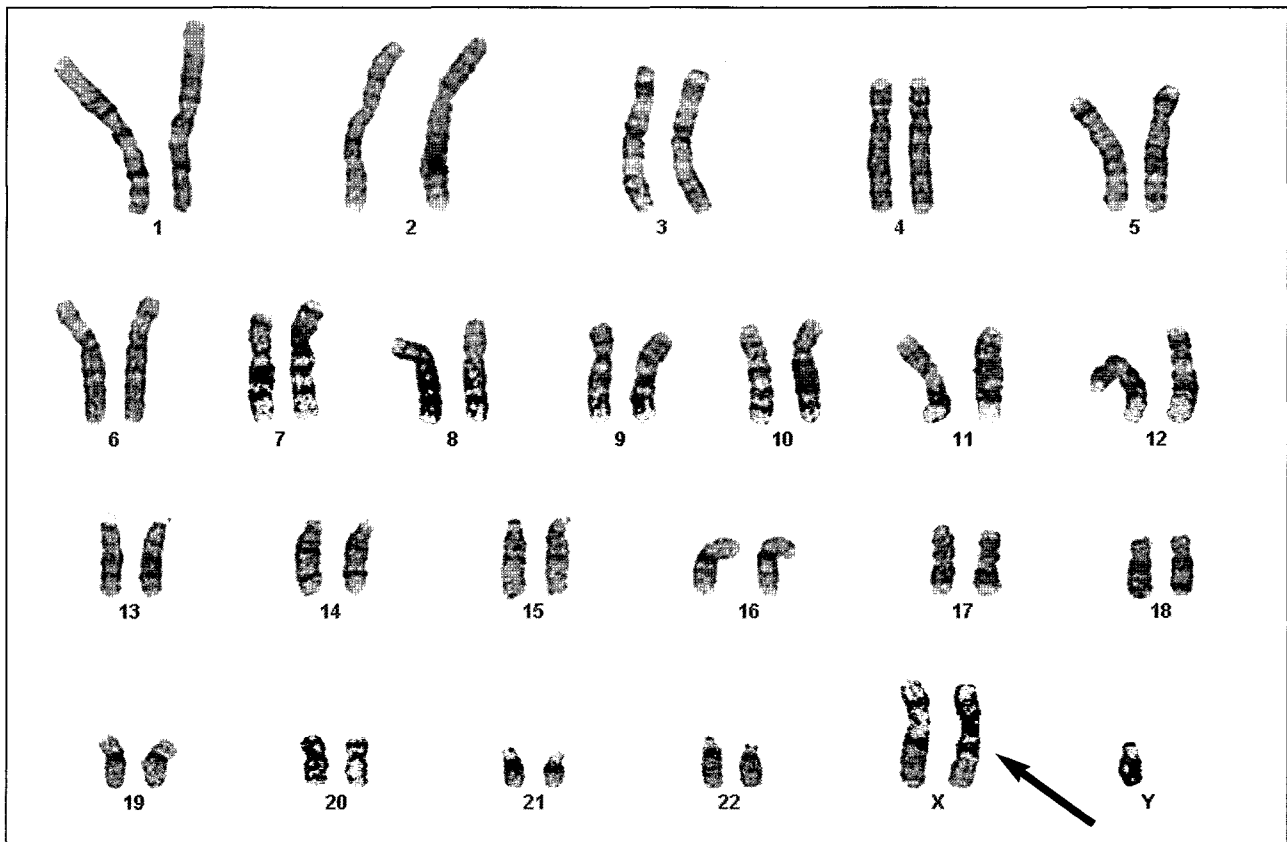


Фото 2.1. Клетка с хромосомным набором 47,XXY. Дифференциальное окрашивание GTG-методом; $\times 1000$. Стрелкой указана дополнительная хромосома X

Случай 2

В Клинику проблем планирования семьи (Киев, Украина) обратилась супружеская пара в связи с вторичным бесплодием (5 лет).

Супруге 28 лет, кариотип: 46,XX.

Супругу 42 года, спермиологический анализ выявил азооспермию, кариотип: 47,XXY[7]/47,XY,i(X)(p10)[1]/46,XY[50] (**фото 2.2**). Молекулярно-цитогенетический анализ подтвердил мозаичный вариант синдрома Клайнфельтера. После проведения TESA и ЭКО с ICSI была получена трехплодная беременность. Цитогенетический анализ ворсин хориона проведен для всех 3-х плодов. Кариотип первого плода нормальный (46,XY), второго – 47,XX,+21[3]/46,XX[8], третьего – 47,XXY[3]/46,XY[10] (**фото 2.3, 2.4**). По согласию семьи развитие второго и третьего плодов было остановлено. Беременность закончилась рождением здорового доношенного мальчика.



Фото 2.2. Клетка с хромосомным набором 47,XXY,i(X)(p10). Дифференциальное окрашивание GTG-методом; x1000. Стрелкой указана изохромосома X (**Случай 2**)

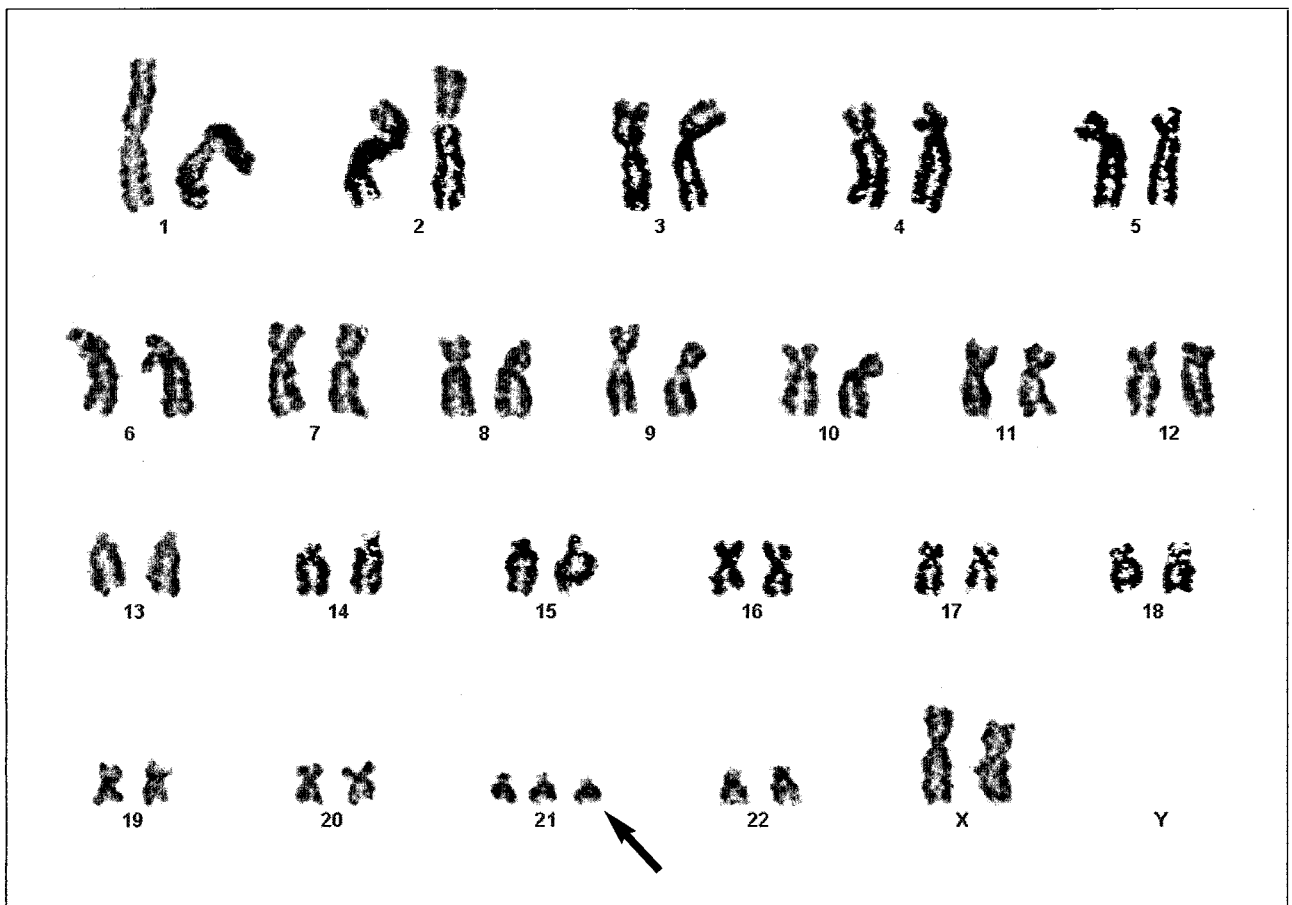


Фото 2.3. Клетка с хромосомным набором 47,XX,+21. Дифференциальное окрашивание GTG-методом; x1000. Стрелкой указана дополнительная хромосома 21 (**Случай 2**)



Фото 2.4. Клетка с хромосомным набором 47,XY. Дифференциальное окрашивание QFQ-методом; x1000. Стрелками указаны хромосомы Y (**Случай 2**)



Фото 2.5. Клетка с хромосомным набором 46,XXY,rob(13;14)(q10;q10).
 Дифференциальное окрашивание GTG-методом; x1000. Короткой стрелкой указана дополнительная хромосома X, длинной стрелкой – дериватная хромосома rob(13;14)(q10;q10)

Случай 3

В Клинику проблем планирования семьи (Киев, Украина) обратилась супружеская пара в связи с первичным бесплодием (4,5 года). Супруге 28 лет, кариотип: 46,XX.

Супругу 28 лет, спермиологический анализ показал олиготератозооспермию (**фото 2.6**), кариотип: 47,XY (**фото 2.7**). После проведения лечебной программы ЭКО с ICSI была получена беременность. Цитогенетический анализ ворсин хориона плода показал нормальный кариотип (46,XX). Беременность закончилась рождением здоровой доношенной девочки.

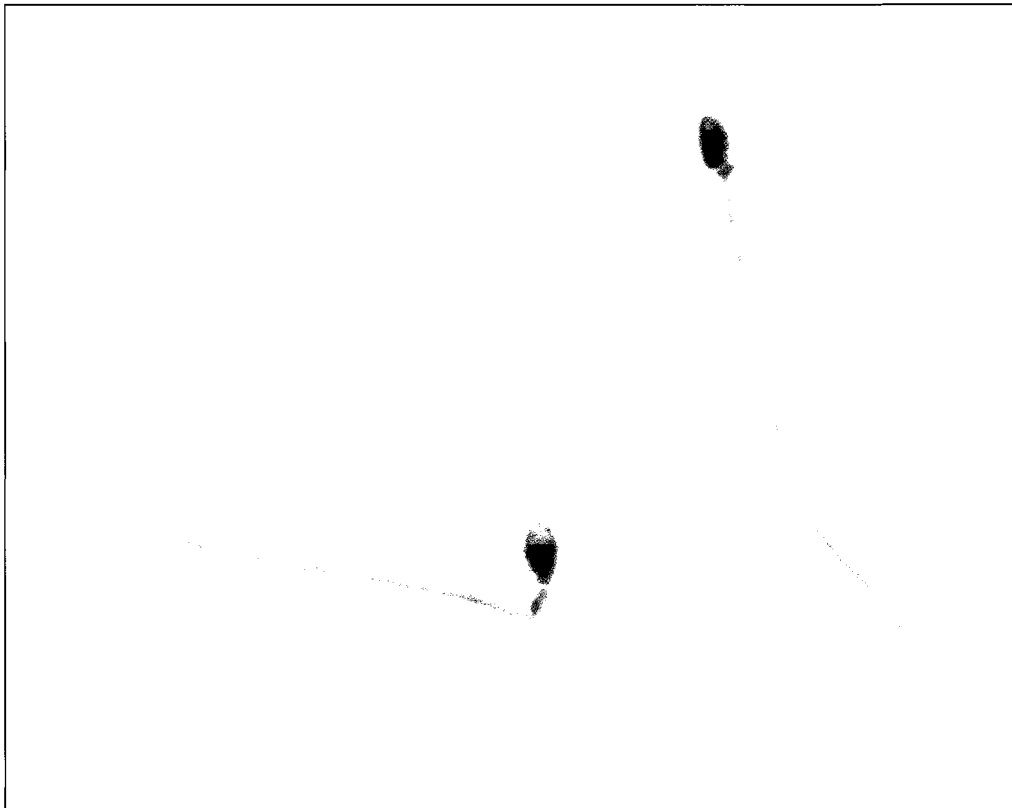


Фото 2.6. Микрофотография пробы эякулята супруга с олиготератозооспермией, окрашивание по Папаниколау; x1000 (**Случай 3**)

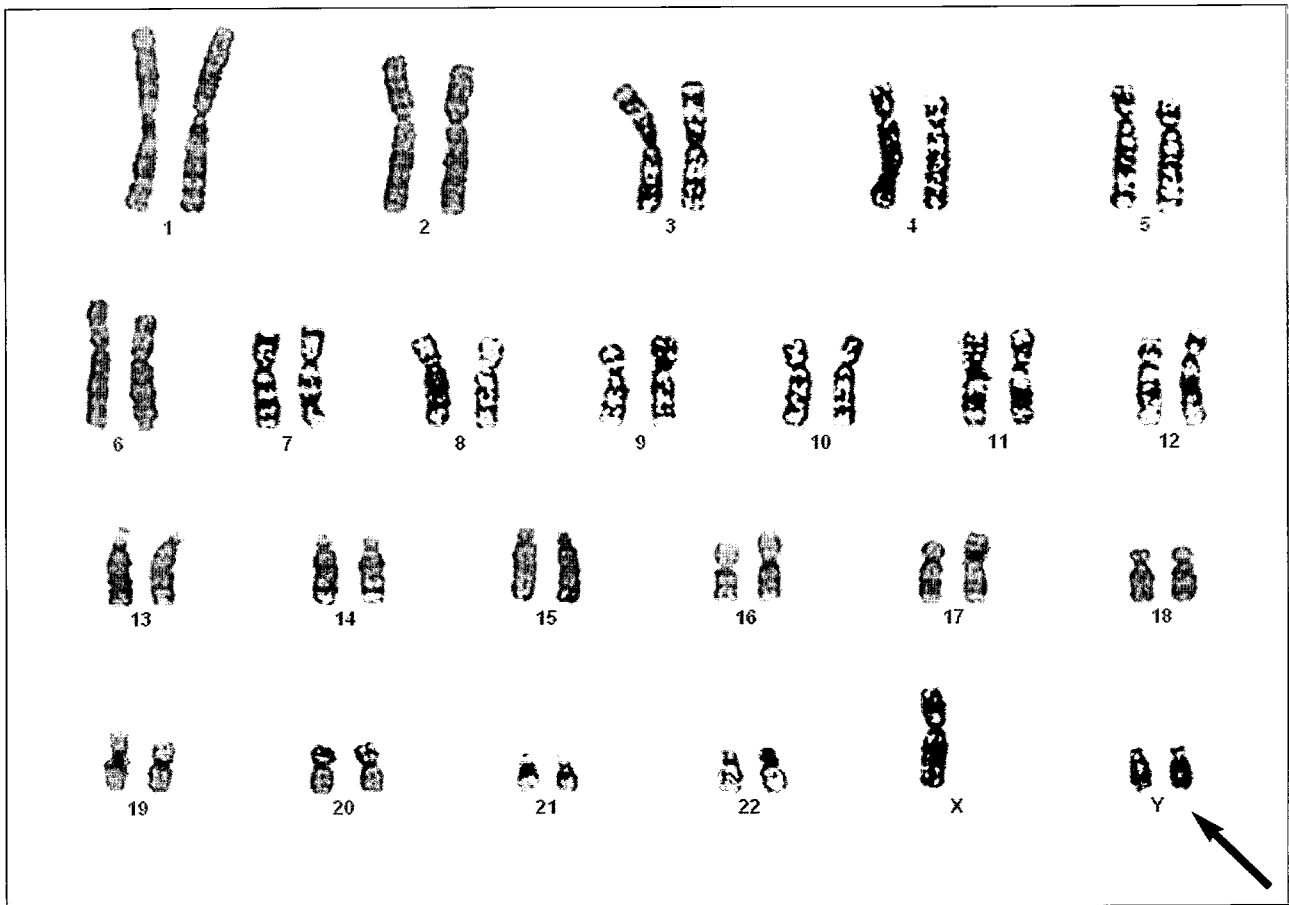


Фото 2.7. Клетка с хромосомным набором 47,XY. Дифференциальное окрашивание GTG-методом; x1000. Стрелкой указана дополнительная хромосома Y (Случай 3)

Случай 4

В Клинику проблем планирования семьи (Киев, Украина) обратилась супружеская пара в связи с первичным бесплодием (3 года). Супруге 25 лет, кариотип в норме (46,XX).

Супругу 25 лет, результат спермограммы – вариант нормы, цитогенетический анализ – наличие трех клонов клеток: с дисомией хромосомы Y, тетрасомией хромосомы Y и с нормальным кариотипом. Кариотип: 49,XYYY,9qh+[1]/47,XY,9qh+[3]/46,XY,9qh+[67] (фото 2.8). Анализ с помощью FISH подтвердил наличие клона клеток с дисомией хромосомы Y (фото 2.9). После проведения лечебной программы ЭКО с ICSI была получена беременность. Цитогенетический анализ ворсин хориона плода показал нормальный кариотип (46,XX). Беременность закончилась рождением здоровой доношенной девочки.

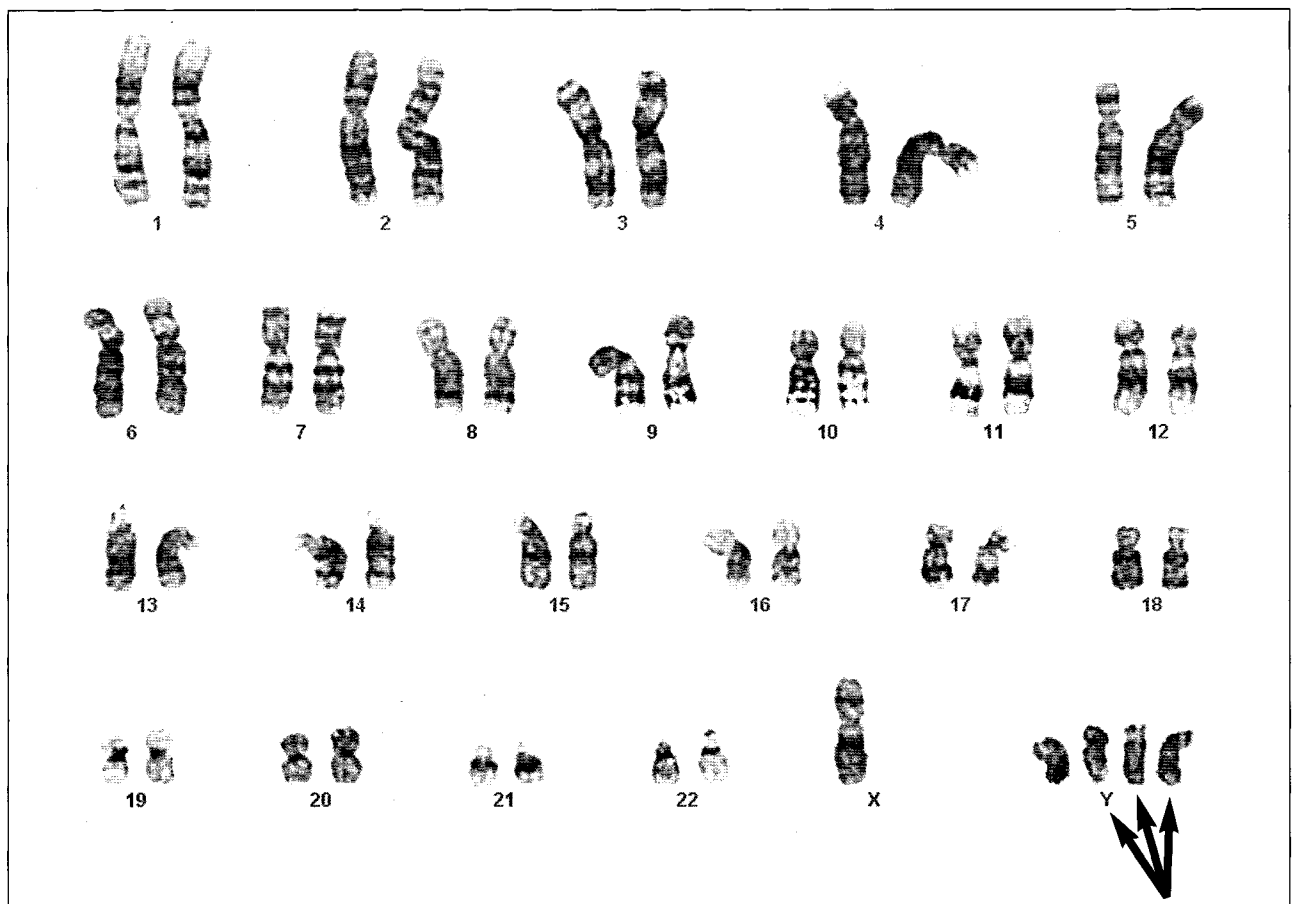


Фото 2.8. Клетка с хромосомным набором 49,XYYY,9qh+. Дифференциальное окрашивание GTG-методом; x1000. Стрелками указаны дополнительные хромосомы Y (Случай 4)

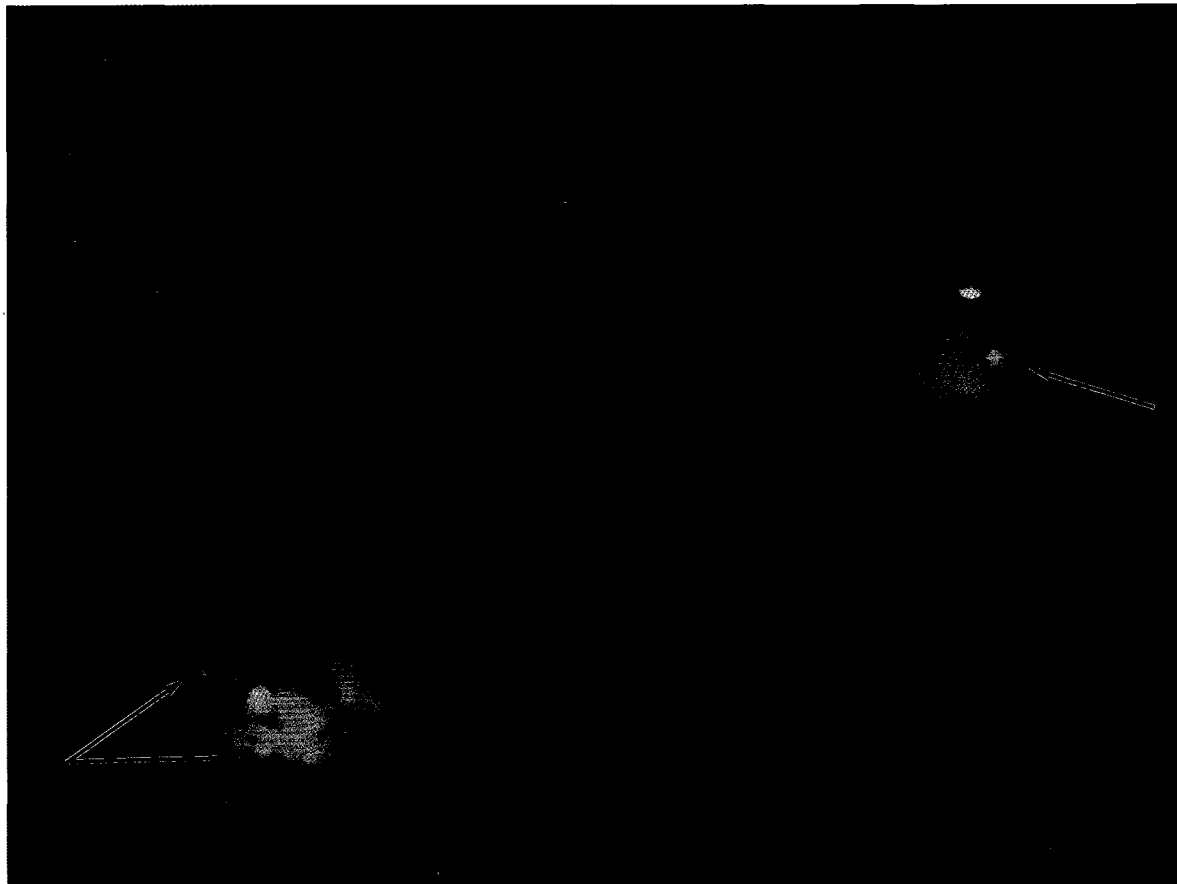


Фото 2.9. FISH с использованием альфоидных ДНК зондов CEP X и CEP Y показала наличие двух сигналов, маркирующих хромосому Y, в 144 из 800 клеток. CEP X маркирован FITC (зеленый), CEP Y маркирован родамином (красный); x1000. Стрелками указано количество хромосом Y в ядре (**Случай 4**)

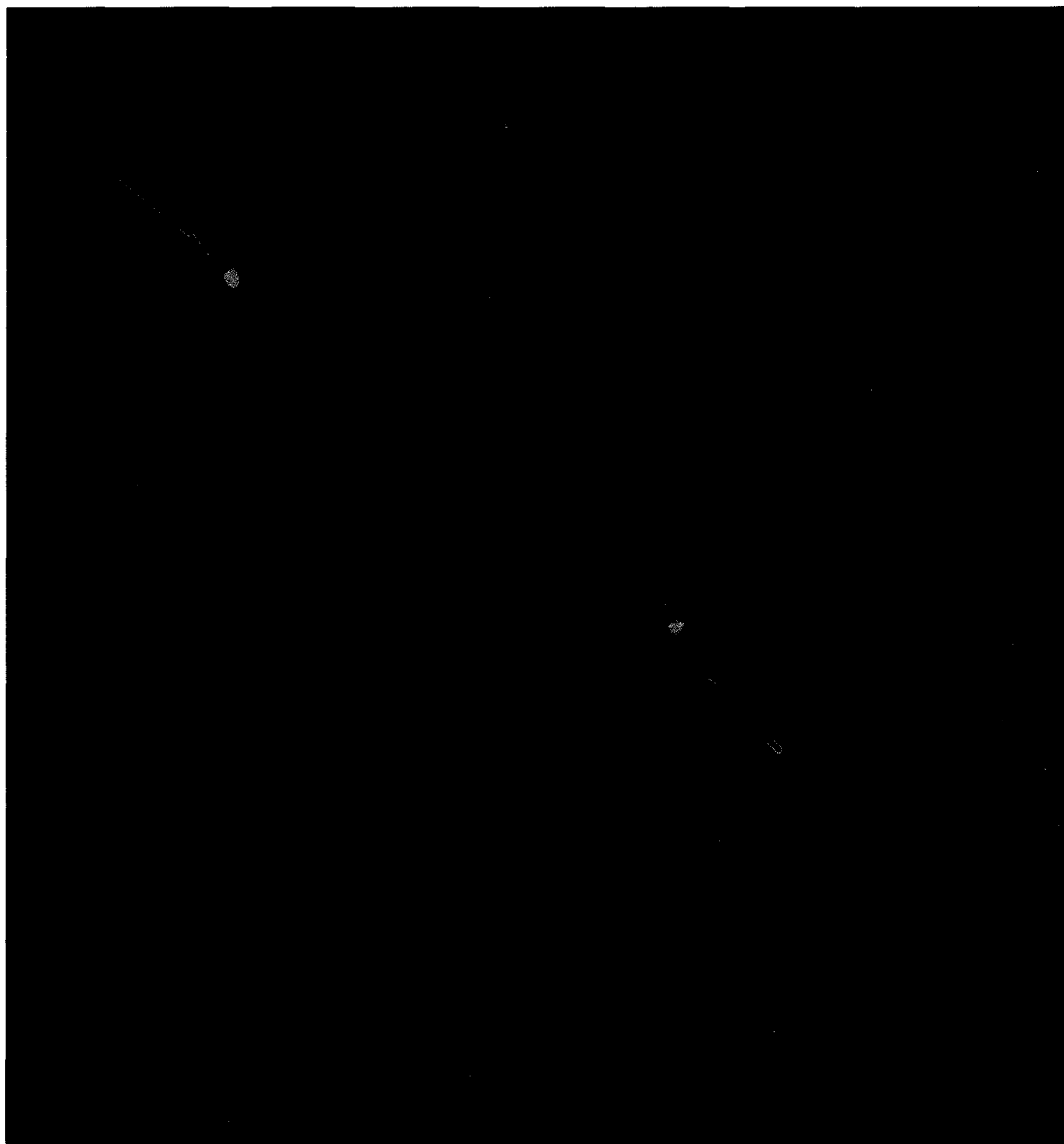


Фото 2.10. Наличие сигнала участка SRY на коротком плече хромосомы X у мужчины с кариотипом 46,XX. FISH с использованием ДНК зондов CEP X и SRY. Центромерный район хромосомы X маркирован FITC (зеленый), дополнительный материал на дериватной хромосоме X выявлен ДНК зондом SRY, меченным родамином (красный); x1000. Стрелками указаны центромерный район хромосомы X и наличие сигнала участка SRY на одной из хромосом X

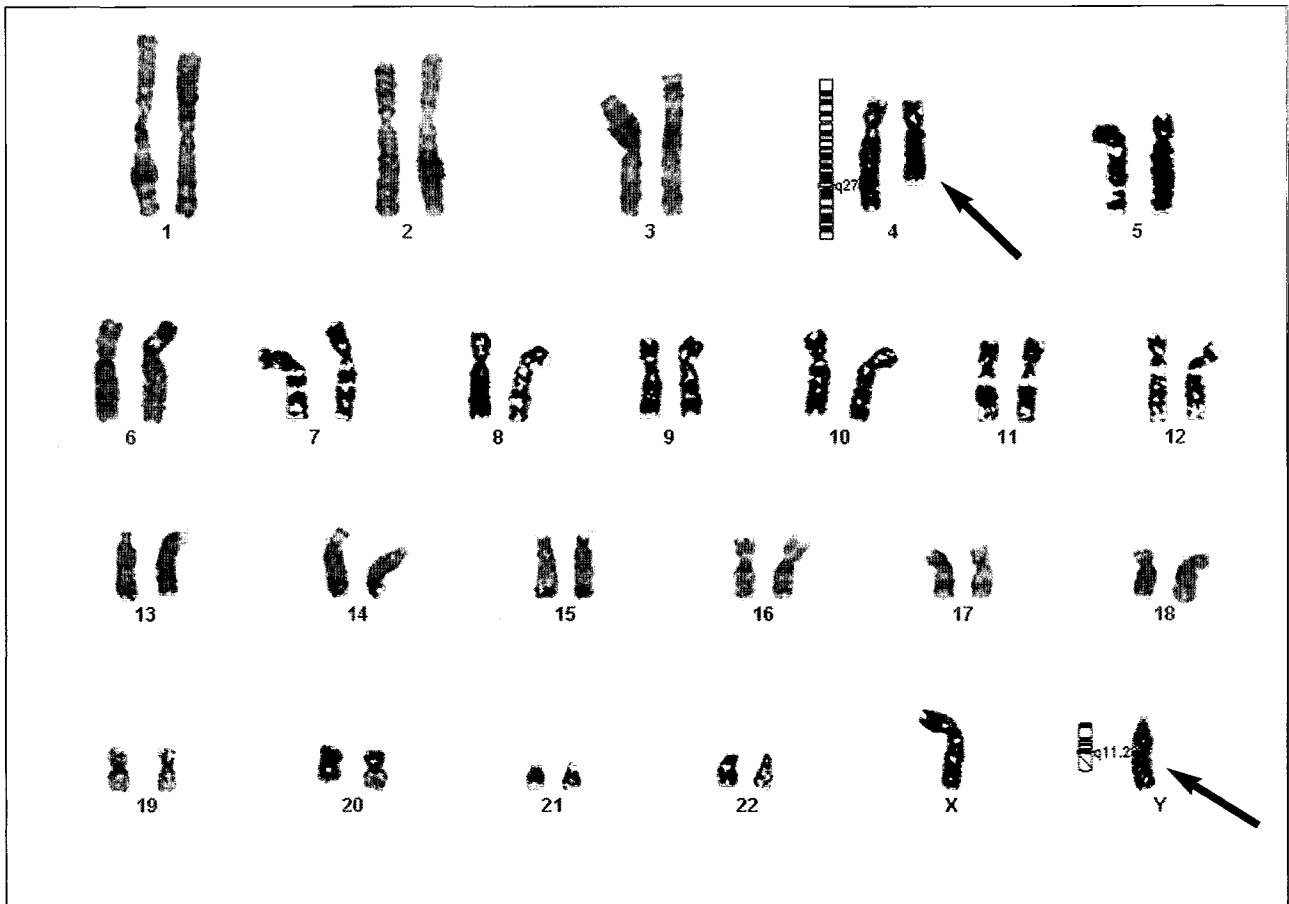


Фото 2.11. Клетка с хромосомным набором 46,X,t(Y;4)(q11.23;q27),14ps+. Дифференциальное окрашивание GTG-методом; x1000. Стрелками указаны хромосомы, участвующие в транслокации

Случай 5

В Клинику проблем планирования семьи (Киев, Украина) обратились две семьи, в которых супруги – сибсы (родные братья), в связи с нарушением репродуктивной функции. При клинико-генеалогическом обследовании было установлено наличие в анамнезе матери братьев двух случаев мертворождения.

В семье старшего брата бесплодие вторичное, в анамнезе два спонтанных аборта на ранних сроках беременности. Супруге 27 лет, кариотип: 46,XX. Супругу 29 лет, спермиологический анализ показал нормальный результат, кариотип: 47,XY,+21,9qh+[3]/46,XY,9qh+[48] (**фото 2.12**). После проведения лечебной программы ЭКО с ICSI была получена двуплодная беременность. Цитогенетический анализ ворсин хориона обоих плодов показал нормальный кариотип (46,XY; 46,XY), у обоих наблюдалось увеличение длины гетерохроматинового района в длинном плече хромосомы 9 отцовского происхождения. Беременность закончилась рождением двух здоровых доношенных мальчиков.

В семье младшего брата бесплодие первичное (2 года). Супруге 28 лет, кариотип: 46,XX. Супругу 28 лет, спермиологический анализ выявил астенотератозооспермию, кариотип: 47,XY,+21,9qh+[3]/47,XXY,9qh+[1]/46,XY,9qh+[45] (**фото 2.13, 2.14**). После проведения лечебной программы ЭКО с ICSI была получена беременность. Цитогенетический анализ ворсин хориона плода показал нормальный кариотип (46,XX), у плода наблюдалось увеличение длины гетерохроматинового района в длинном плече хромосомы 9 отцовского происхождения. Беременность закончилась рождением здоровой доношенной девочки.

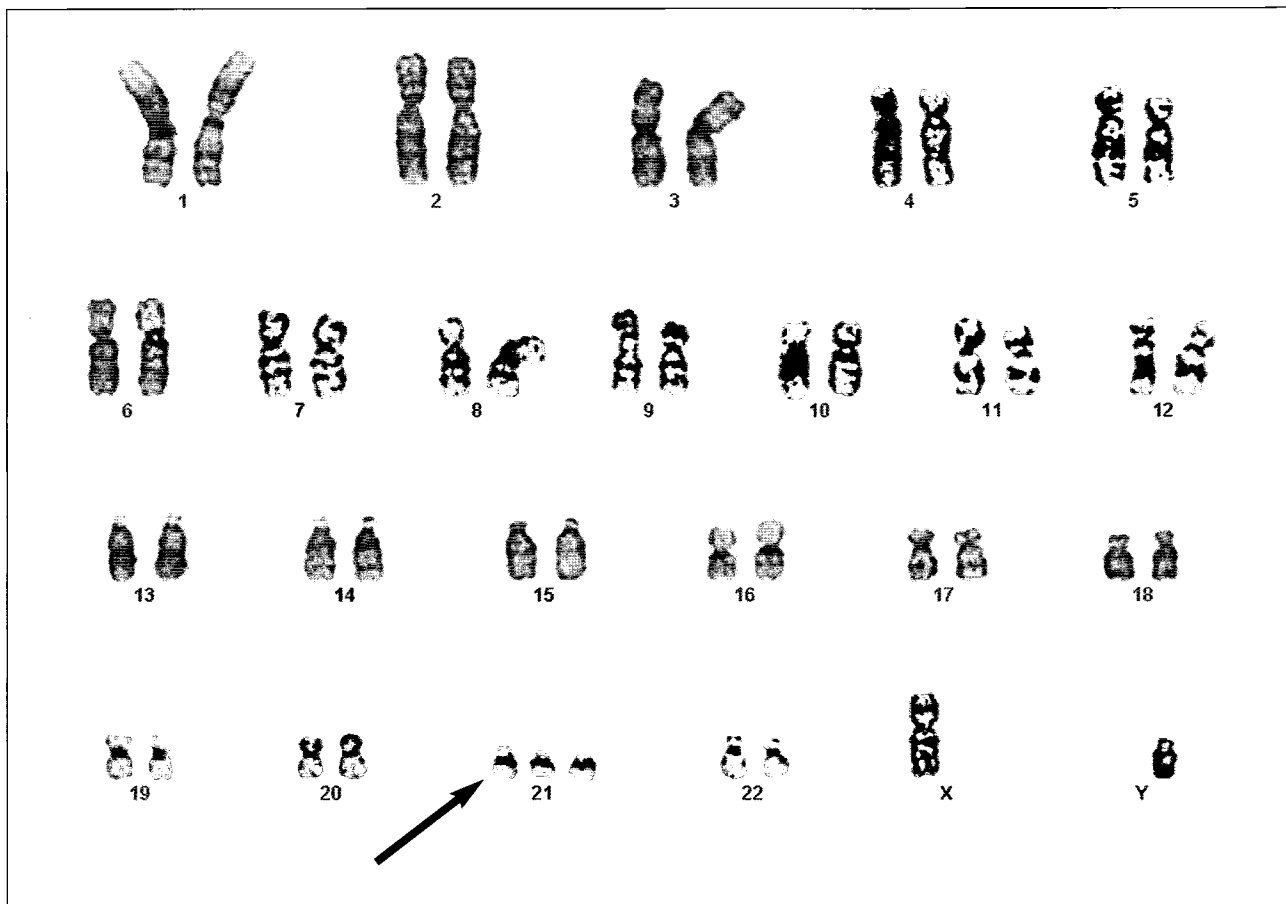
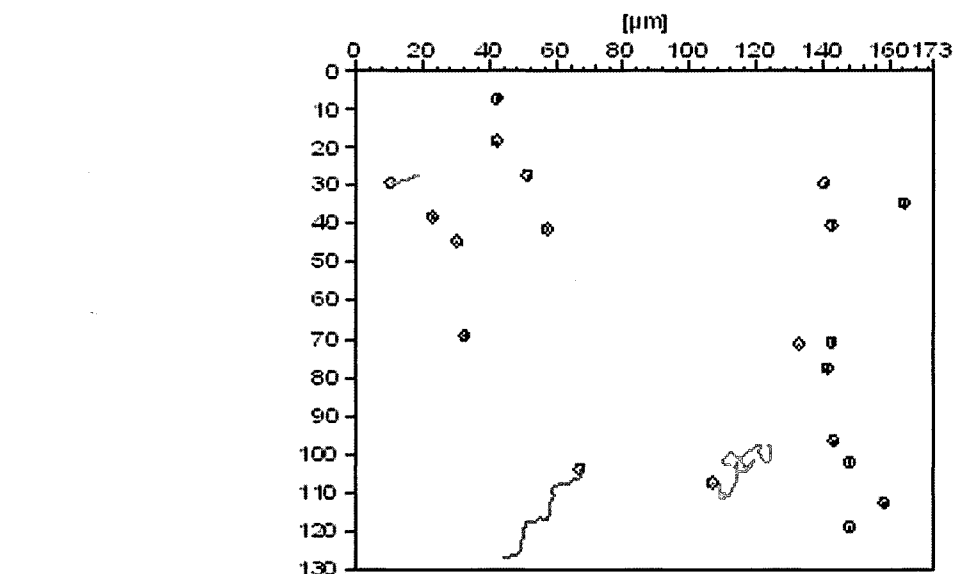
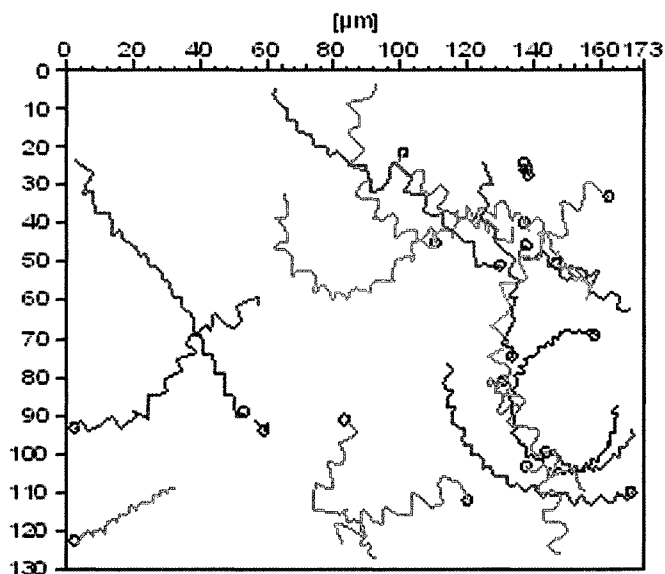


Фото 2.12. Кариотип одного из сибсов. Клетка с хромосомным набором 47,XY,+21,9qh+. Дифференциальное окрашивание GTG-методом; x1000. Стрелкой указана дополнительная хромосома 21 (**Случай 5**)



а



б

Таблица. Классификация сперматозоидов по подвижности согласно критериям ВОЗ

Категории подвижности сперматозоидов	Примеры траекторий сперматозоидов
Двигающиеся быстро и прямолинейно (ВОЗ а)	
Двигающиеся медленно и прямолинейно (ВОЗ б)	
Двигающиеся не прямолинейно или качающиеся (ВОЗ с)	
Неподвижные (ВОЗ д)	

Фото 2.13. Компьютерная система анализа концентрации, подвижности и морфологии сперматозоидов (CASA 5.2). Астенозооспермия у одного из sibсов **(а)**. Для сравнения представлены траектории движения сперматозоидов в норме **(б)** **(Случай 5)**

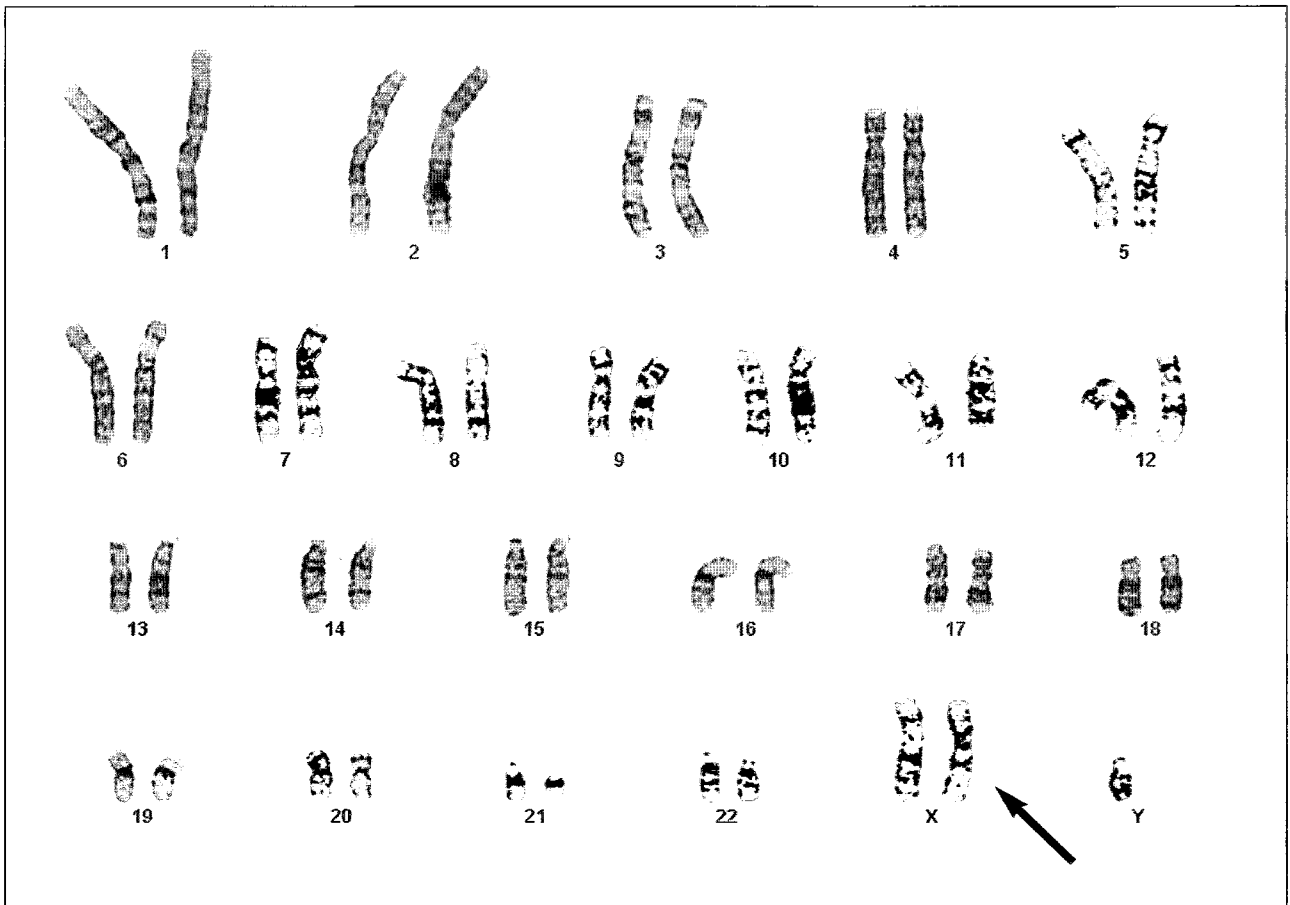


Фото 2.14. Кариотип одного из сибсов. Клетка с хромосомным набором 47,XXY,9qh+. Дифференциальное окрашивание GTG-методом; x1000. Стрелкой указана дополнительная хромосома X в мужском кариотипе (Случай 5)

Случай 6

В Клинику проблем планирования семьи (Киев, Украина) обратилась супружеская пара в связи с первичным бесплодием (18 лет). Супруге 39 лет, кариотип:46,XX. Супругу 40 лет, спермиологический анализ выявил олиготератозооспермию, кариотип: 45,XY,rob(14;22) (**фото 2.15, 2.16**). После проведения лечебной программы ЭКО с ICSI была получена беременность. Цитогенетический анализ ворсин хориона плода показал нормальный кариотип (46,XX). Беременность закончилась рождением здоровой доношенной девочки.



Фото 2.15. Микрофотография пробы эякулята супруга с олиготератозооспермией, окрашивание по Папаниколау; x1000 (**Случай 6**)

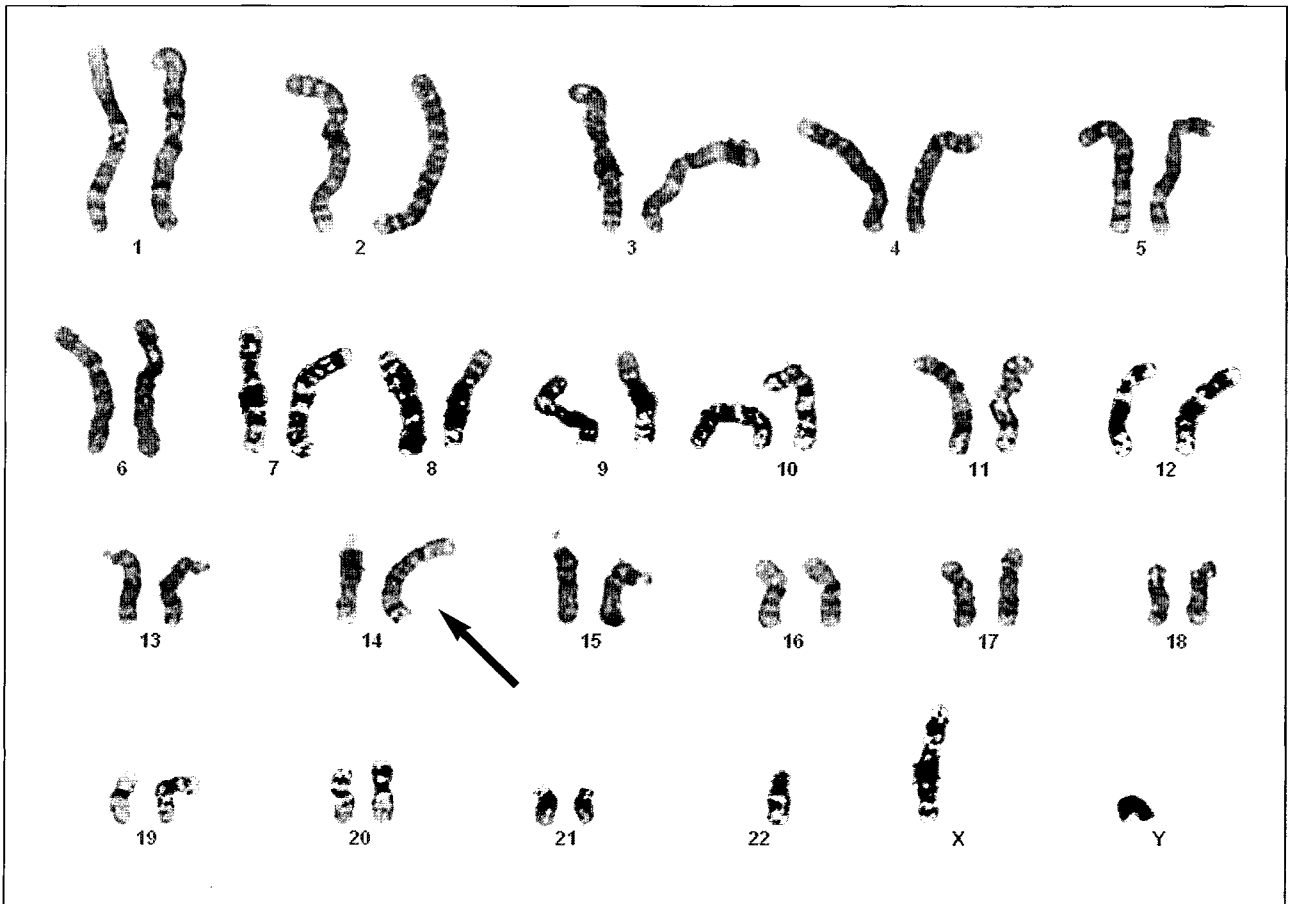


Фото 2.16. Кариотип супруга: 45,XY,rob(14;22)(q10;q10). Дифференциальное окрашивание GTG-методом; x1000. Стрелкой указана дериватная хромосома (**Случай 6**)

Случай 7

В Клинику проблем планирования семьи (Киев, Украина) обратилась супружеская пара в связи с первичным бесплодием (15 лет). Супруге 37 лет, кариотип: 46,XX. Супругу 40 лет, спермиологический анализ выявил олигозооспермию, кариотип: 45,X,Y,rob(13;14)(q10;q10),inv(9)(p11) (**фото 2.17**). После проведения лечебной программы ЭКО с ICSI с последующим переносом эмбрионов была получена трехплодная беременность. Цитогенетический анализ биоптата ворсин хориона показал различный кариотип у плодов. У первого плода с нормальным кариотипом наблюдалась инверсия хромосомы 9 отцовского происхождения (**фото 2.18**). У второго плода была выявлена транслокация, аналогичная отцовской (**фото 2.19**). Третий плод имел кариотип 46,XY. По желанию семьи развитие двух плодов (первого и второго) было остановлено. Беременность закончилась рождением здорового доношенного мальчика.

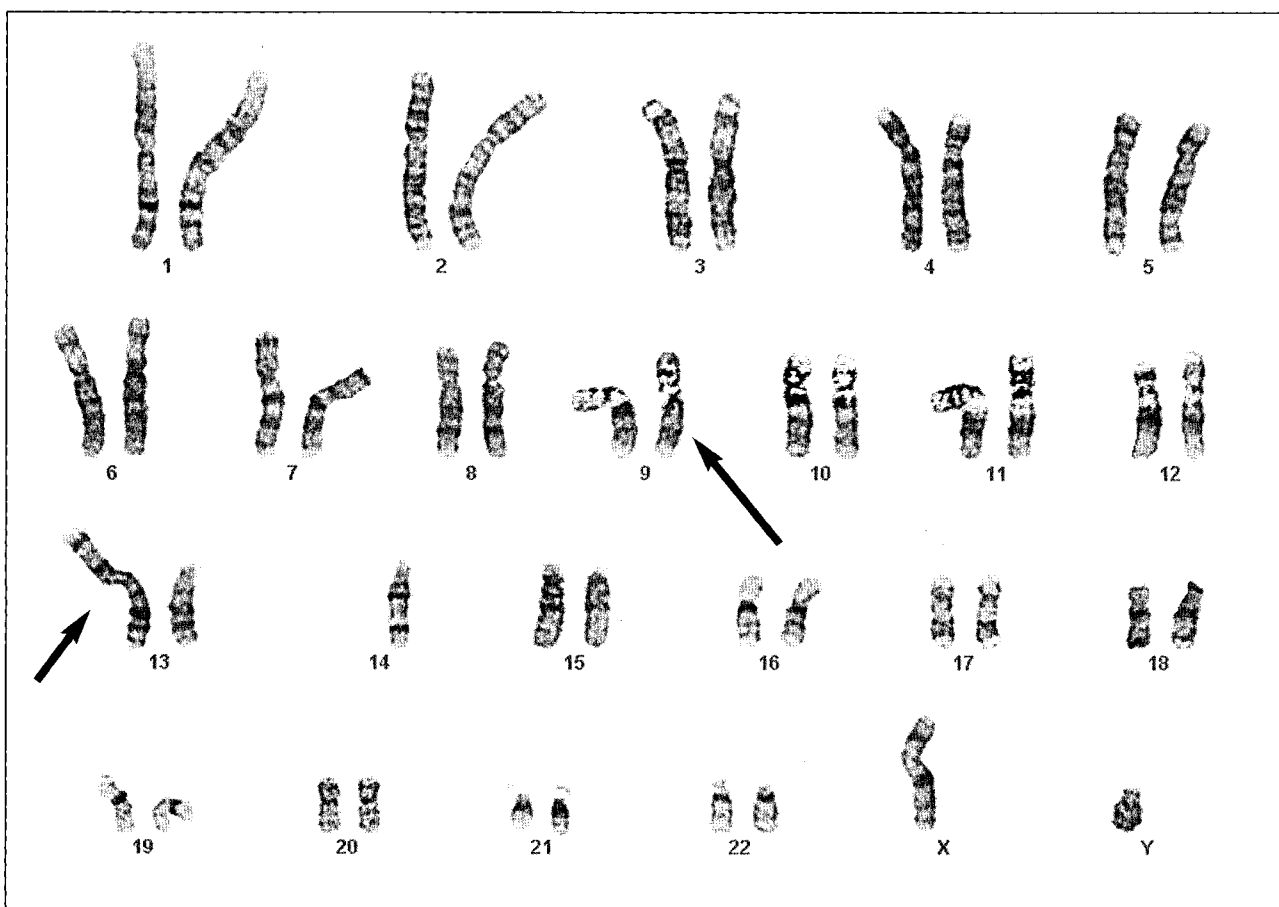


Фото 2.17. Кариотип супруга: 45,X,Y,rob(13;14)(q10;q10),inv(9)(p11). Дифференциальное окрашивание GTG-методом; x1000. Короткой стрелкой указана дериватная хромосома, длинной – хромосома 9 с перичесентрической инверсией (**Случай 7**)

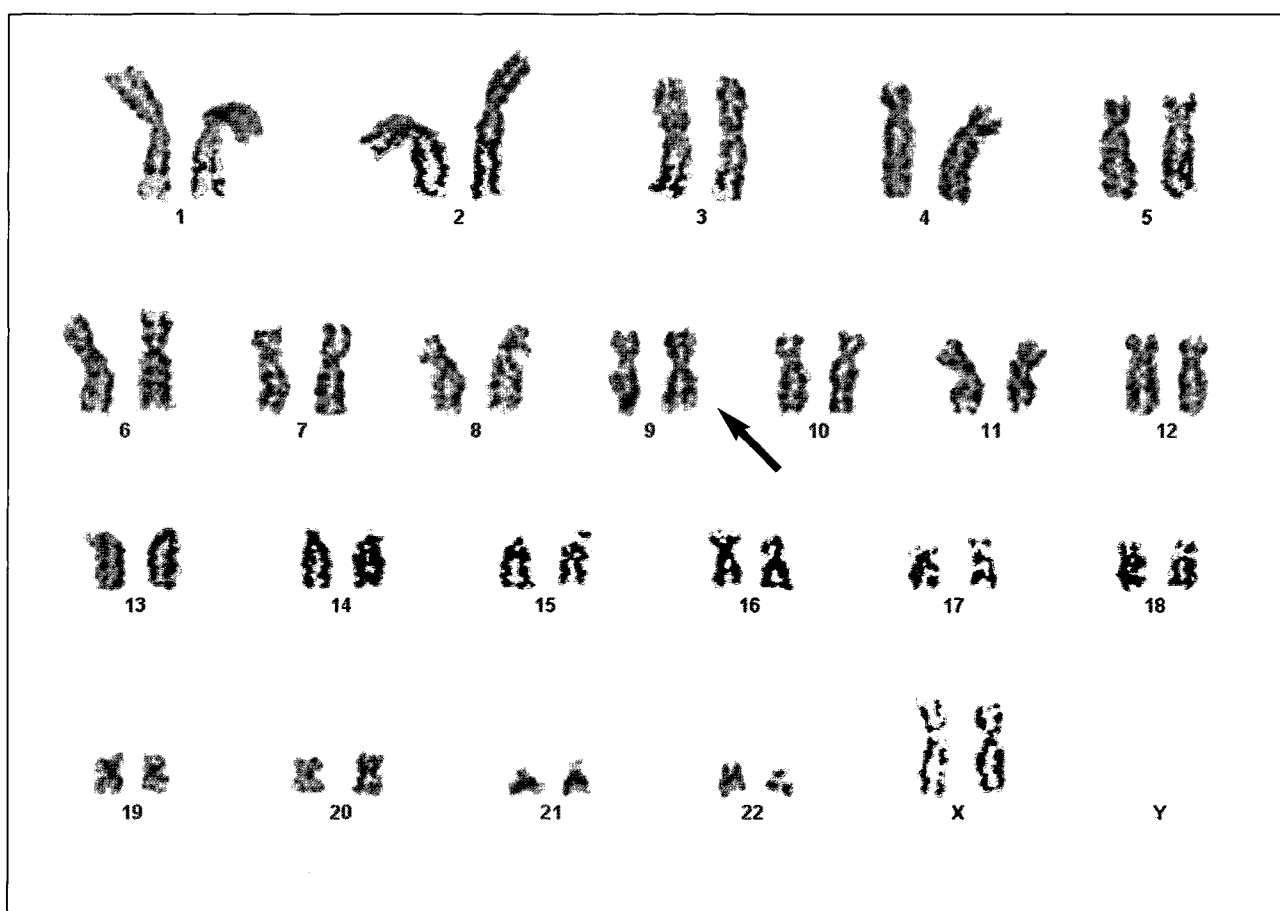


Фото 2.18. Кариотип плода 1: 46,XX,inv(9)(p11q13)pat. Дифференциальное окрашивание GTG-методом; x1000. Стрелкой указана хромосома 9 с перичесентрической инверсией (**Случай 7**)

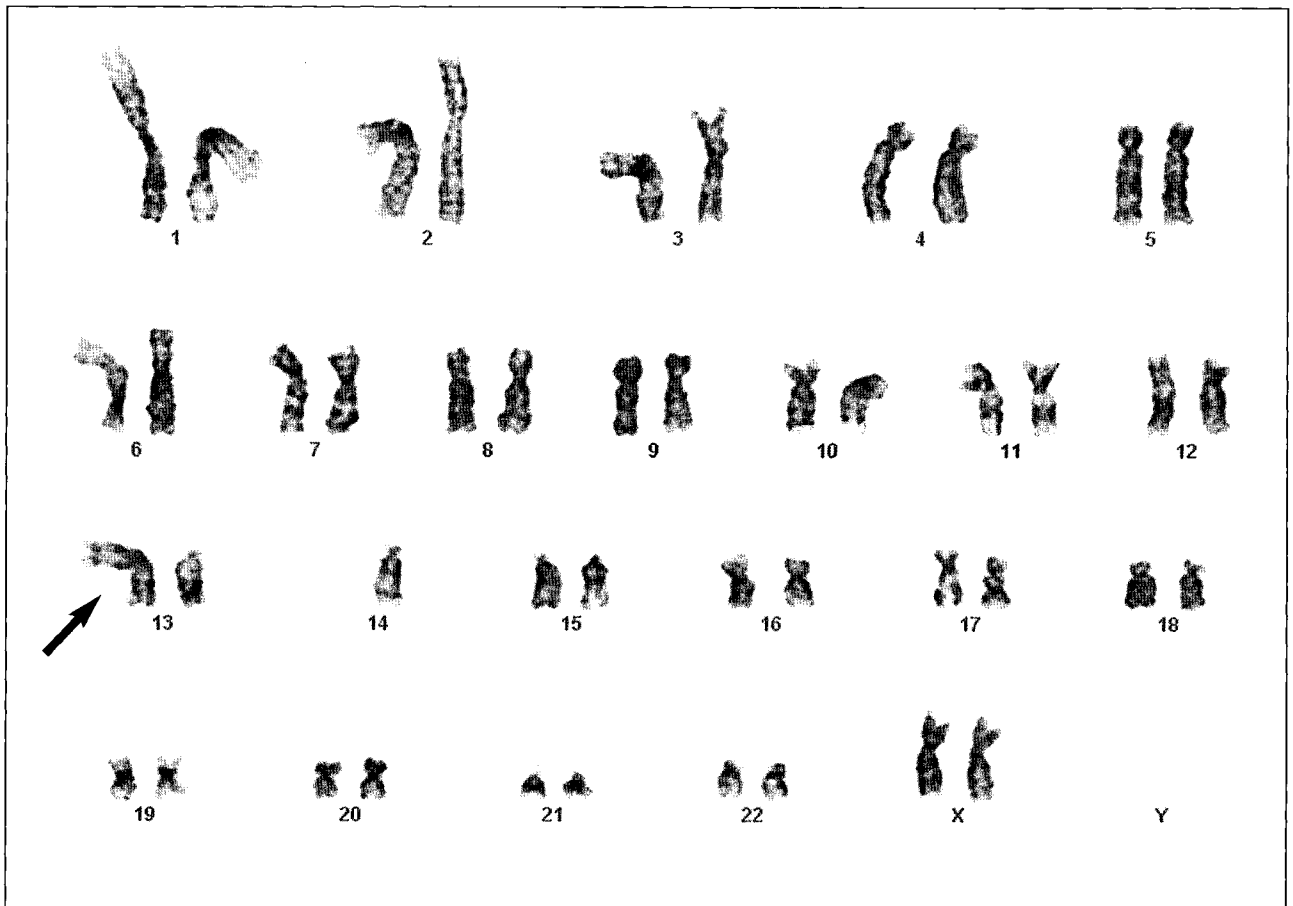


Фото 2.19. Кариотип плода 2: 45,XX,rob(13;14)(q10;q10). Дифференциальное окрашивание GTG-методом; $\times 1000$. Стрелкой указана дериватная хромосома (Случай 7)

Случай 8

В Клинику проблем планирования семьи (Киев, Украина) обратилась супружеская пара в связи с первичным бесплодием (12 лет) и тремя неудачными попытками программы IVF в клиниках СНГ. Супруге 30 лет, кариотип: 46,XX.

Супругу 36 лет, спермиологический анализ выявил олиготератозооспермию (**фото 2.20**). Цитогенетический анализ супруга показал наличие сбалансированной транслокации, кариотип: 46,XY,t(5;7)(p11.1;p11.1),9qh+ (**фото 2.21**). После проведения лечебной программы ЭКО с ICSI с последующим переносом эмбрионов была получена трехплодная беременность. Развитие двух эмбрионов остановилось на ранних сроках беременности. Для установления кариотипа нормально развивающегося плода был проведен цитогенетический анализ биоптата ворсин хориона, результат – 46,XX (**фото 2.22**). Беременность закончилась рождением здоровой доношенной девочки.

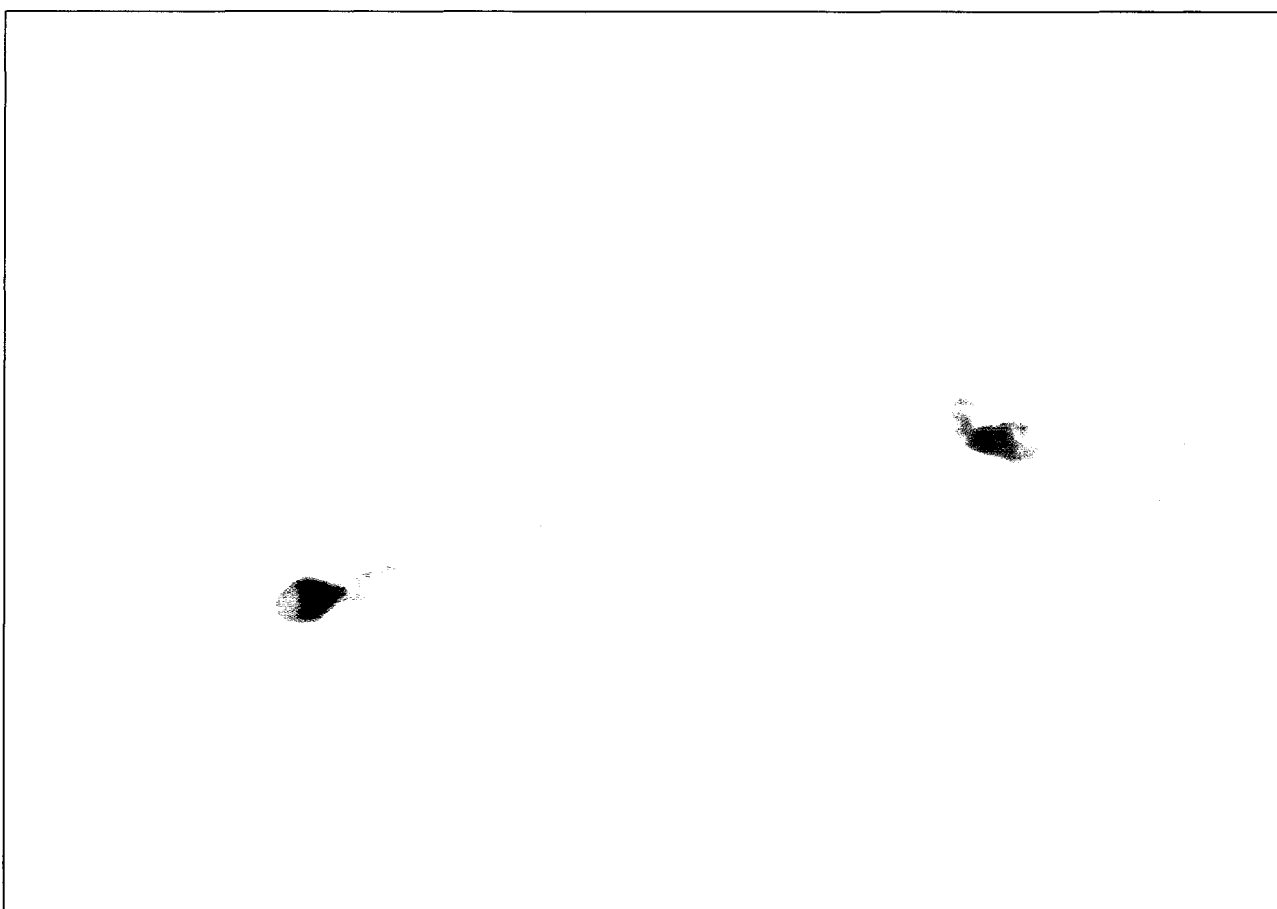


Фото 2.20. Микрофотография пробы эякулята супруга с олиготератозооспермией, окрашивание по Папаниколау; x1000 (**Случай 8**)

Случай 8

В Клинику проблем планирования семьи (Киев, Украина) обратилась супружеская пара в связи с первичным бесплодием (12 лет) и тремя неудачными попытками программы IVF в клиниках СНГ. Супруге 30 лет, кариотип: 46,XX.

Супругу 36 лет, спермиологический анализ выявил олиготератозооспермию (**фото 2.20**). Цитогенетический анализ супруга показал наличие сбалансированной транслокации, кариотип: 46,XY,t(5;7)(p11.1;p11.1),9qh+ (**фото 2.21**). После проведения лечебной программы ЭКО с ICSI с последующим переносом эмбрионов была получена трехплодная беременность. Развитие двух эмбрионов остановилось на ранних сроках беременности. Для установления кариотипа нормально развивающегося плода был проведен цитогенетический анализ биоптата ворсин хориона, результат – 46,XX (**фото 2.22**). Беременность закончилась рождением здоровой доношенной девочки.

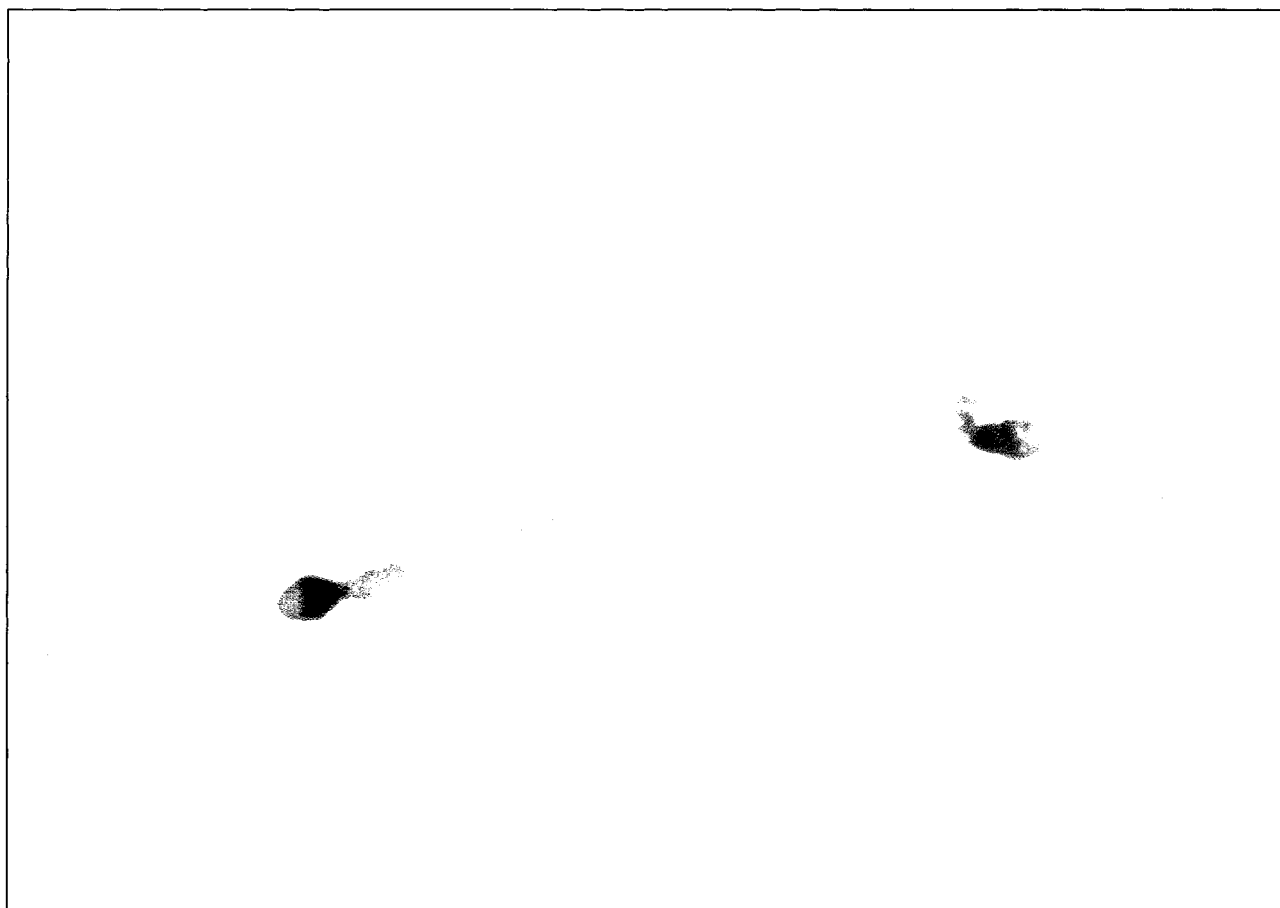


Фото 2.20. Микрофотография пробы эякулята супруга с олиготератозооспермией, окрашивание по Папаниколау; x1000 (**Случай 8**)

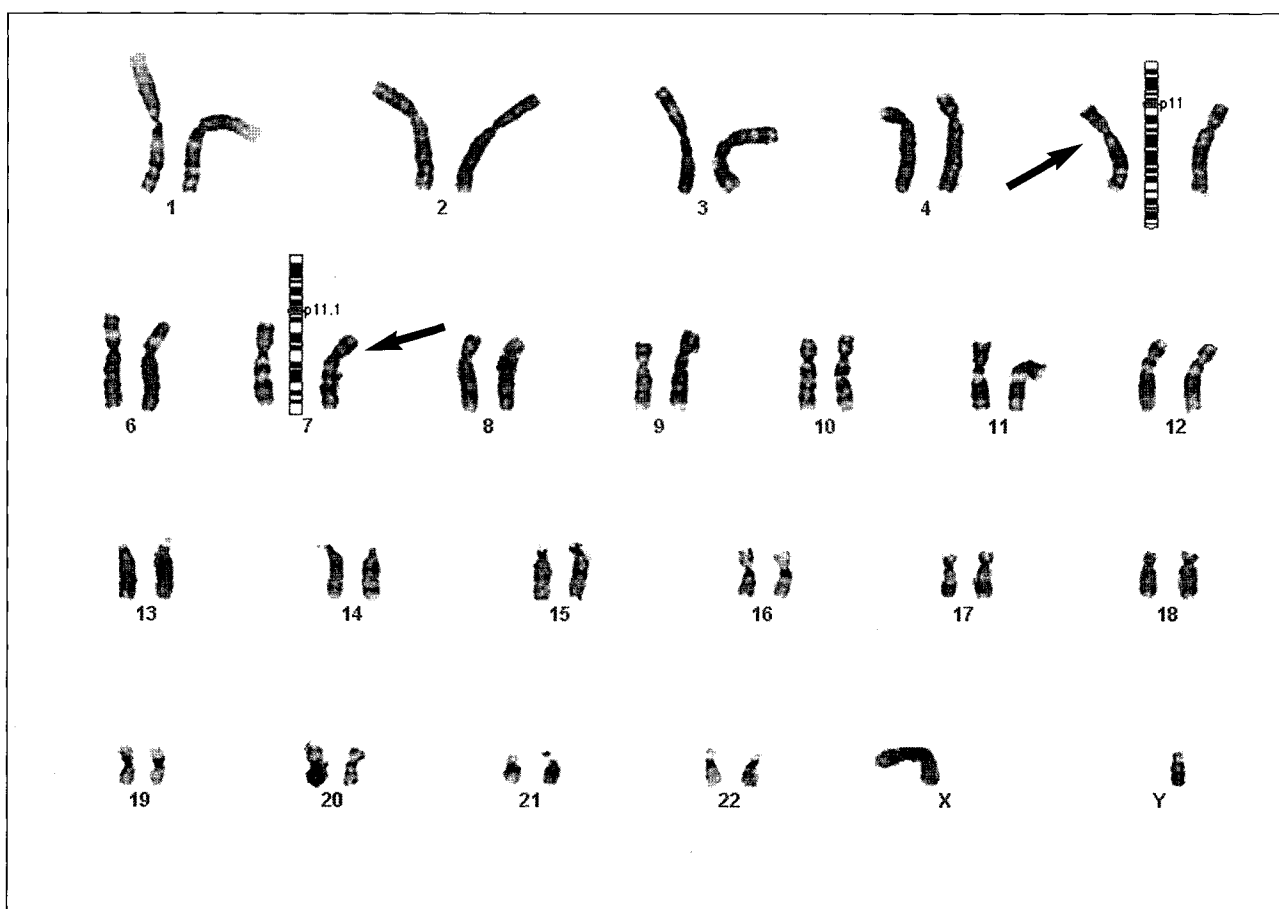


Фото 2.21. Кариотип супруга: 46,XY,t(5;7)(p11.1;p11.1),9qh+. Дифференциальное окрашивание GTG-методом; x1000. Стрелками указаны хромосомы, участвующие в транслокации (**Случай 8**)

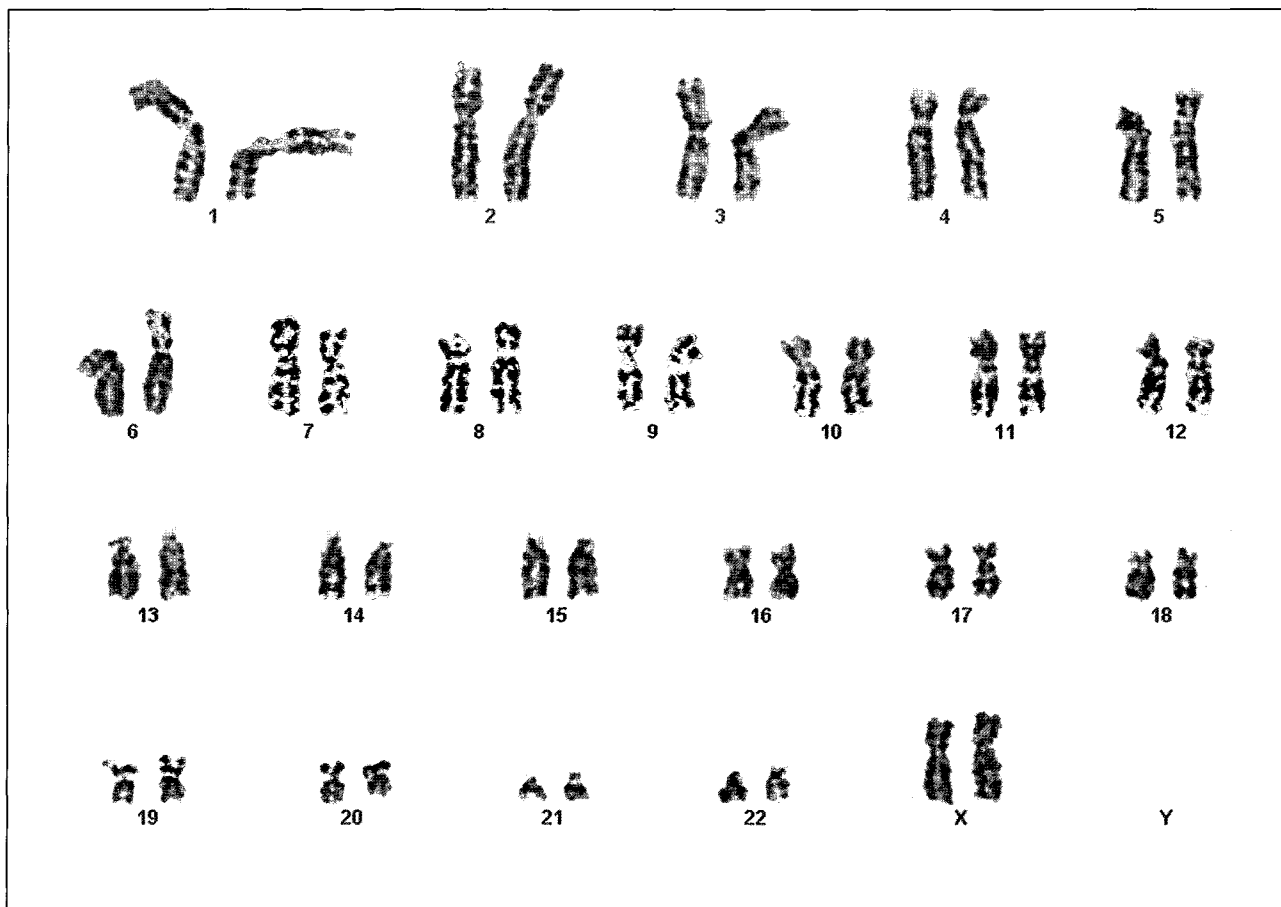


Фото 2.22. Кариотип плода: 46,XX. Дифференциальное окрашивание GTG-методом; x1000 (Случай 8)

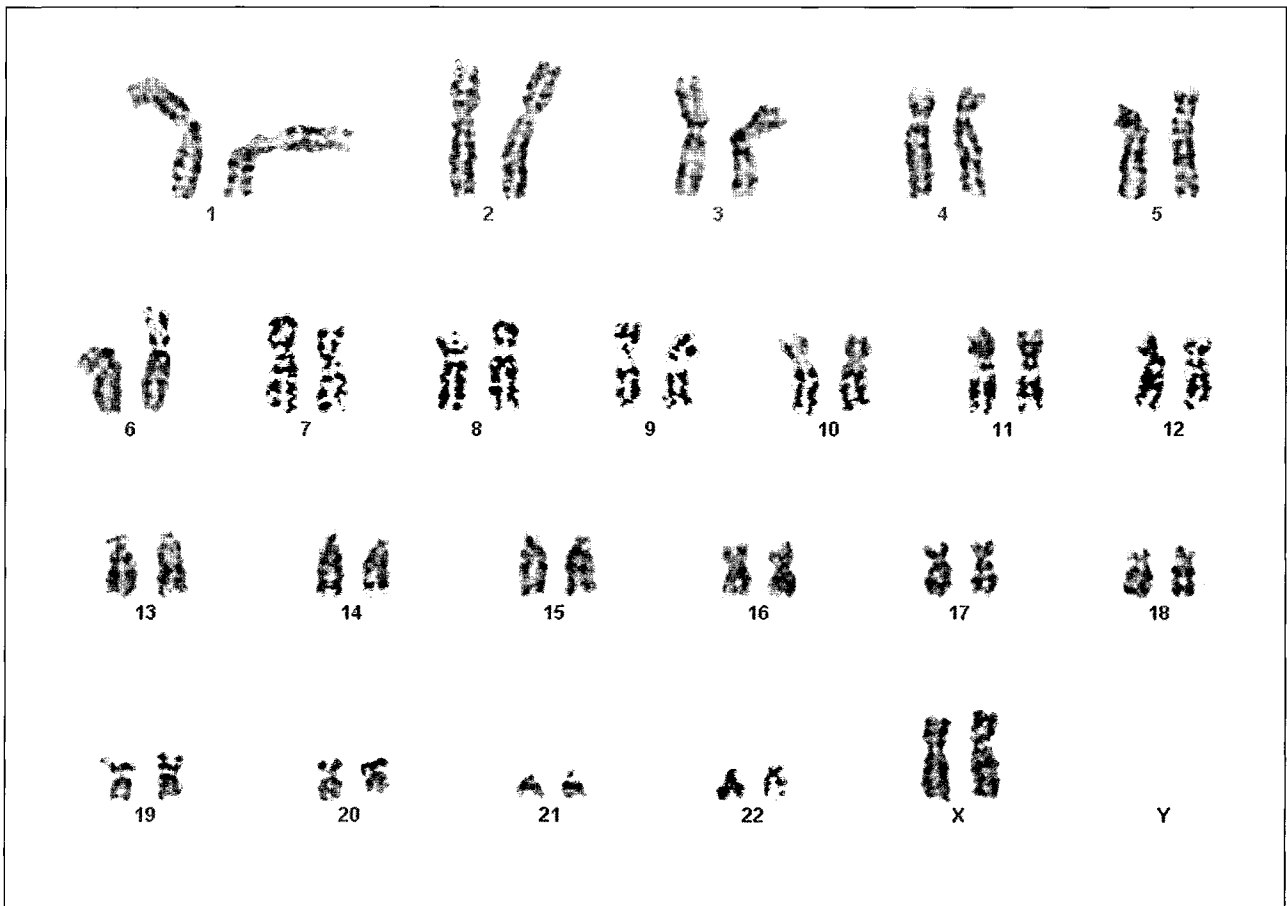
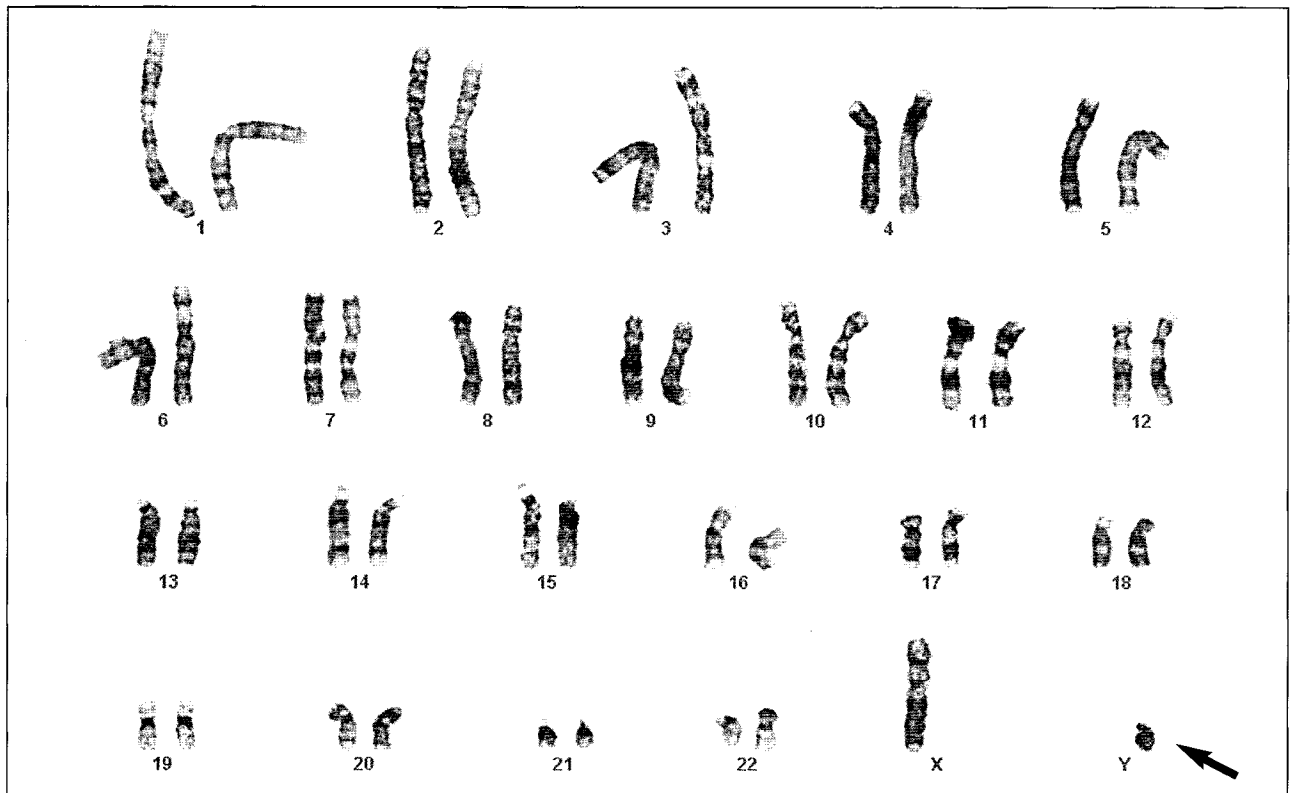
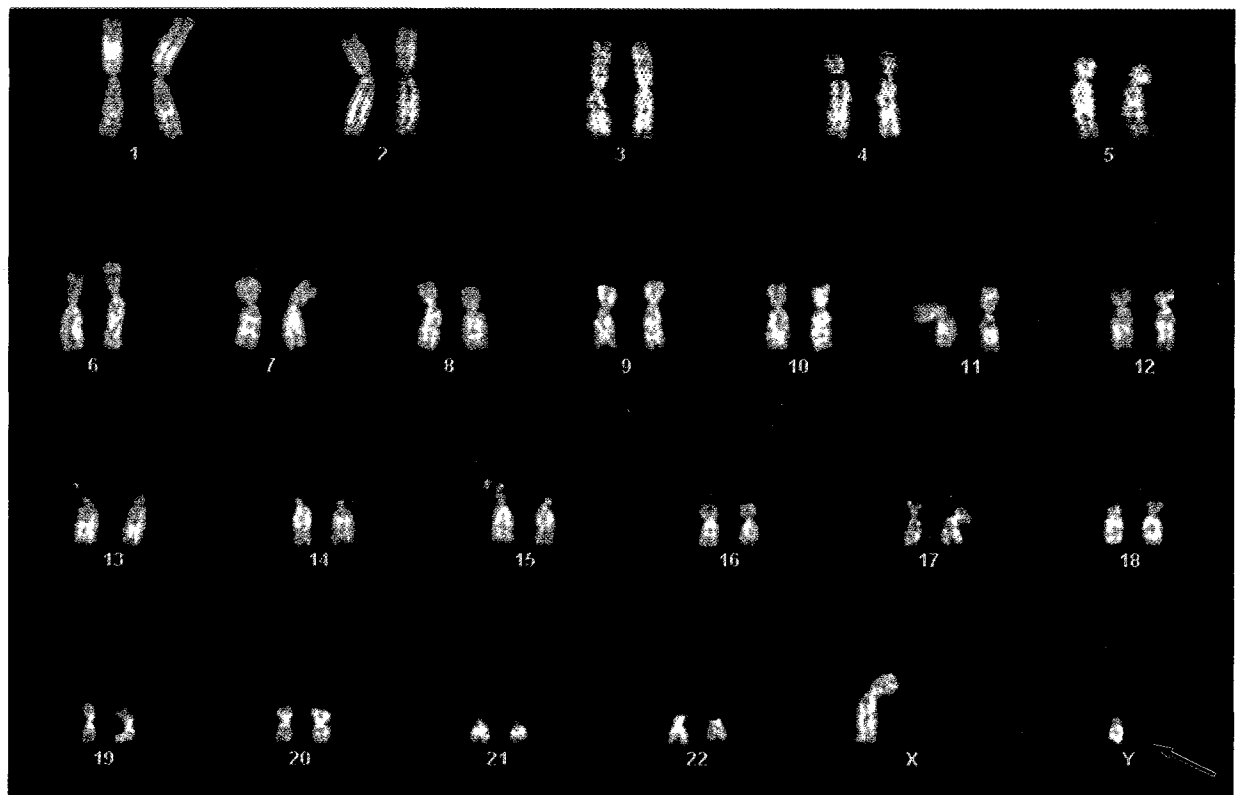


Фото 2.22. Кариотип плода: 46,XX. Дифференциальное окрашивание GTG-методом; x1000 (Случай 8)



а



б

Фото 2.23. Кариотип: 46,XYqh- при дифференциальном окрашивании GTG- (а) и QFQ-методами (б); x1000. Стрелками указана хромосома Y

**ПРИЛОЖЕНИЕ
К ГЛАВЕ III**

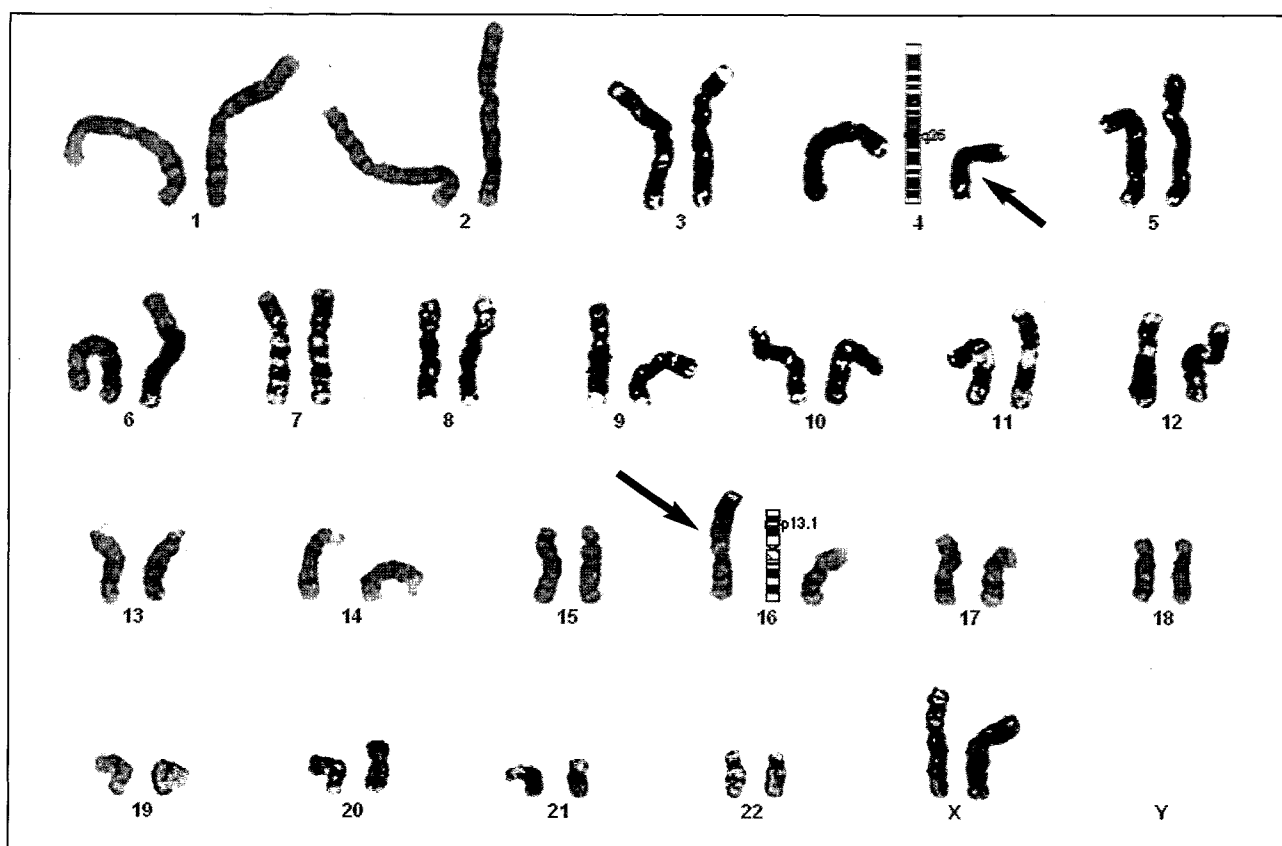


Фото 3.1. Клетка с хромосомным набором 46,XX,t(4;16)(q25;p13.1). Дифференциальное окрашивание GTG-методом; x1000. Стрелками указаны хромосомы, участвующие в транслокации

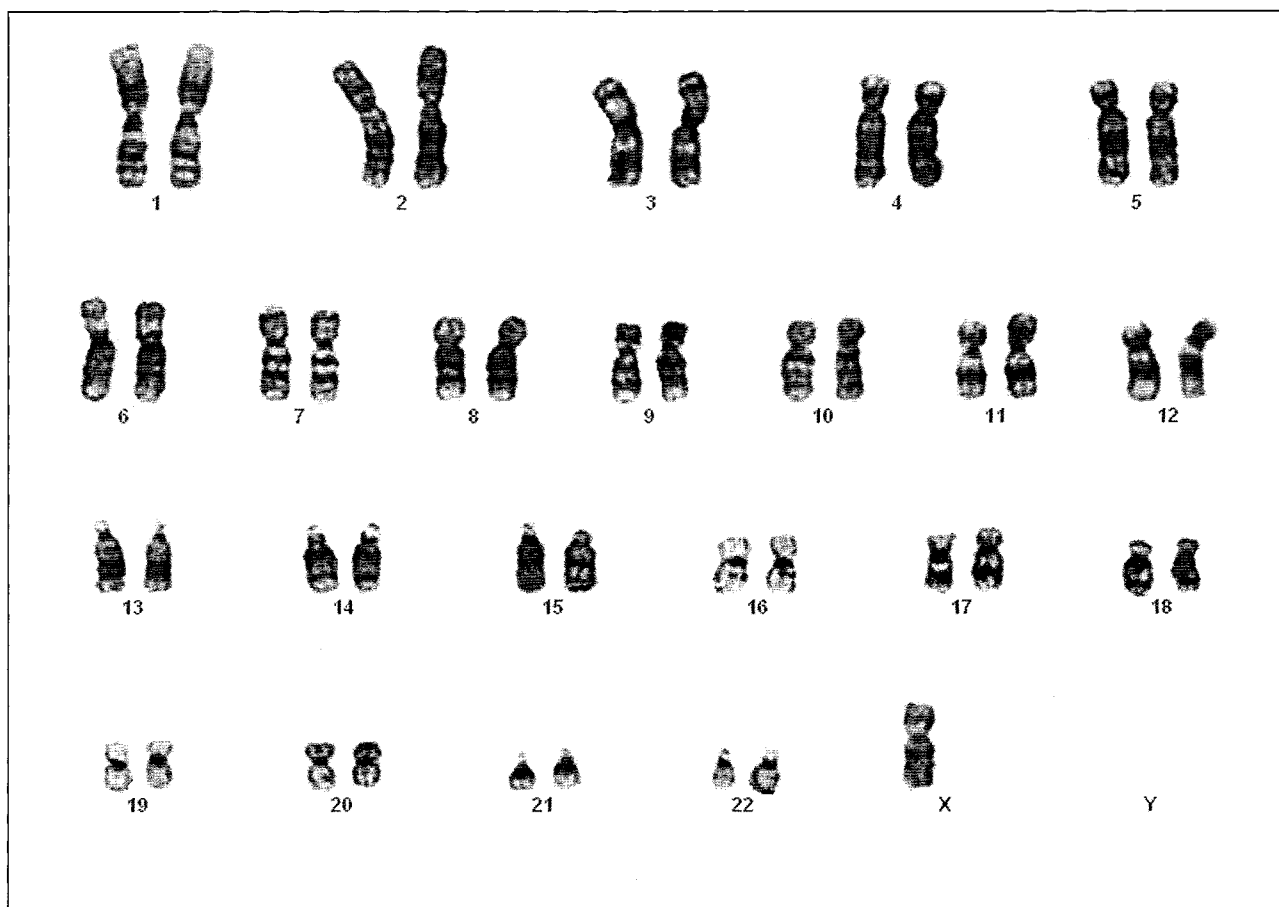


Фото 3.2. Клетка с хромосомным набором 45,X. Дифференциальное окрашивание GTG-методом; x1000

Случай 9

В Клинику проблем планирования семьи (Киев, Украина) обратилась супружеская пара в связи с вторичным бесплодием (2 года). Супругу 44 года, результат спермограммы – вариант нормы, кариотип: 46,XY.

Супруге 29 лет, из анамнеза известно: рост 1,59 м, менархе в 14 лет, менструальный цикл регулярный. Две внематочные беременности завершились тубэктомией. Цитогенетический анализ выявил одну клетку с моносомией по хромосоме X, кариотип: 45,X[1]/46,XX[24]. Молекулярно-цитогенетический анализ на интерфазных ядрах подтвердил наличие клона клеток с моносомией по хромосоме X, а также выявил дополнительный клон клеток с тремя хромосомами X (**фото 3.3**). Запись кариотипа анализа с помощью FISH следующая: nuc ish Xcen(DXZ1x1)[34]/nuc ish Xcen(DXZ1x3)[20]/nuc ish Xcen(DXZ1x2)[681].

При УЗ обследовании патологические изменения со стороны внутренних гениталий не выявлены: форма матки грушевидная, размер тела матки 51x33x46 мм, длина шейки матки 32 мм, эндометрий толщиной 10 мм соответствует фазе овариально-менструального цикла. Правый яичник размером 44x18 мм содержит желтое тело. Левый яичник размером 33x19 мм без особенностей.

После проведения лечебной программы ЭКО с ICSI была получена двуплодная беременность. Цитогенетический анализ ворсин хориона обоих плодов показал нормальный кариотип (46,XY). Беременность закончилась рождением двух здоровых доношенных мальчиков.

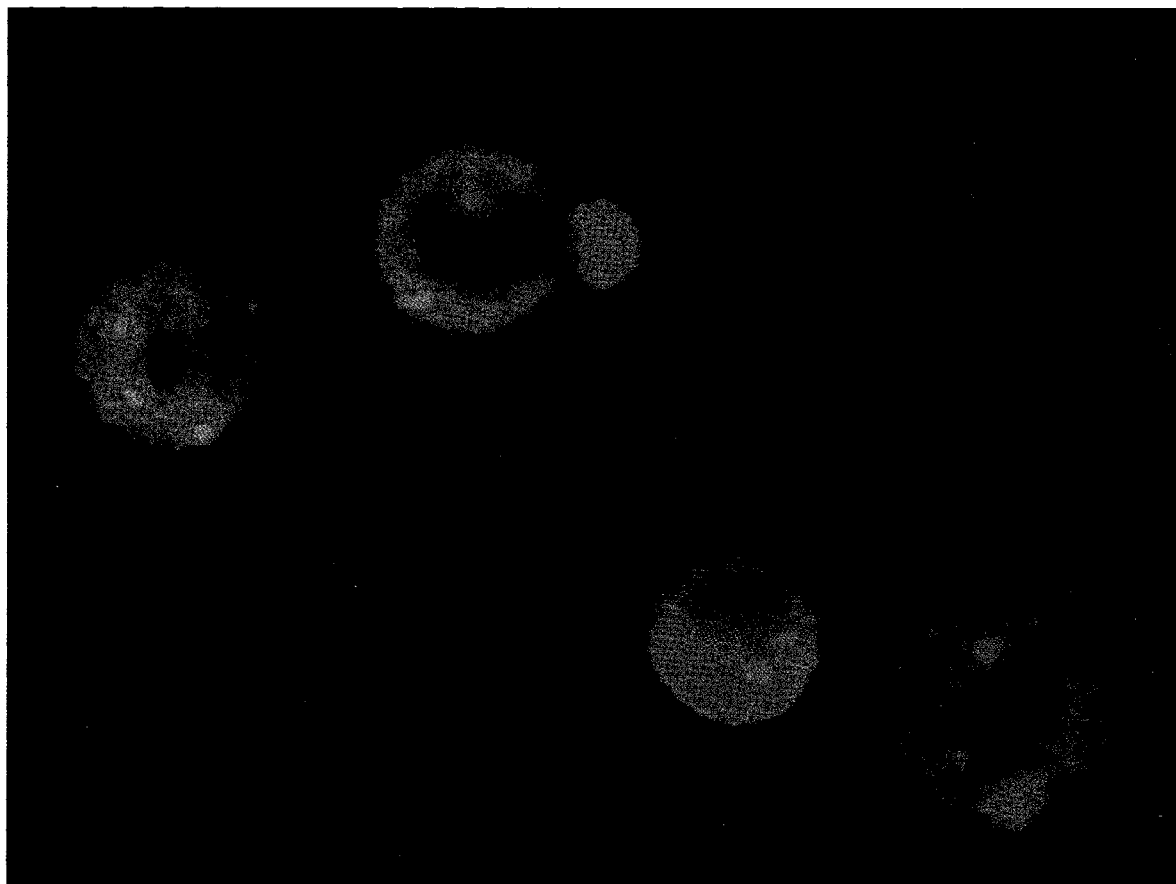


Фото 3.3. FISH исследование супруги. Видны три, два и один сигналы на хромосоме X (СЕР X маркирован FITC); x1000 (**Случай 9**)

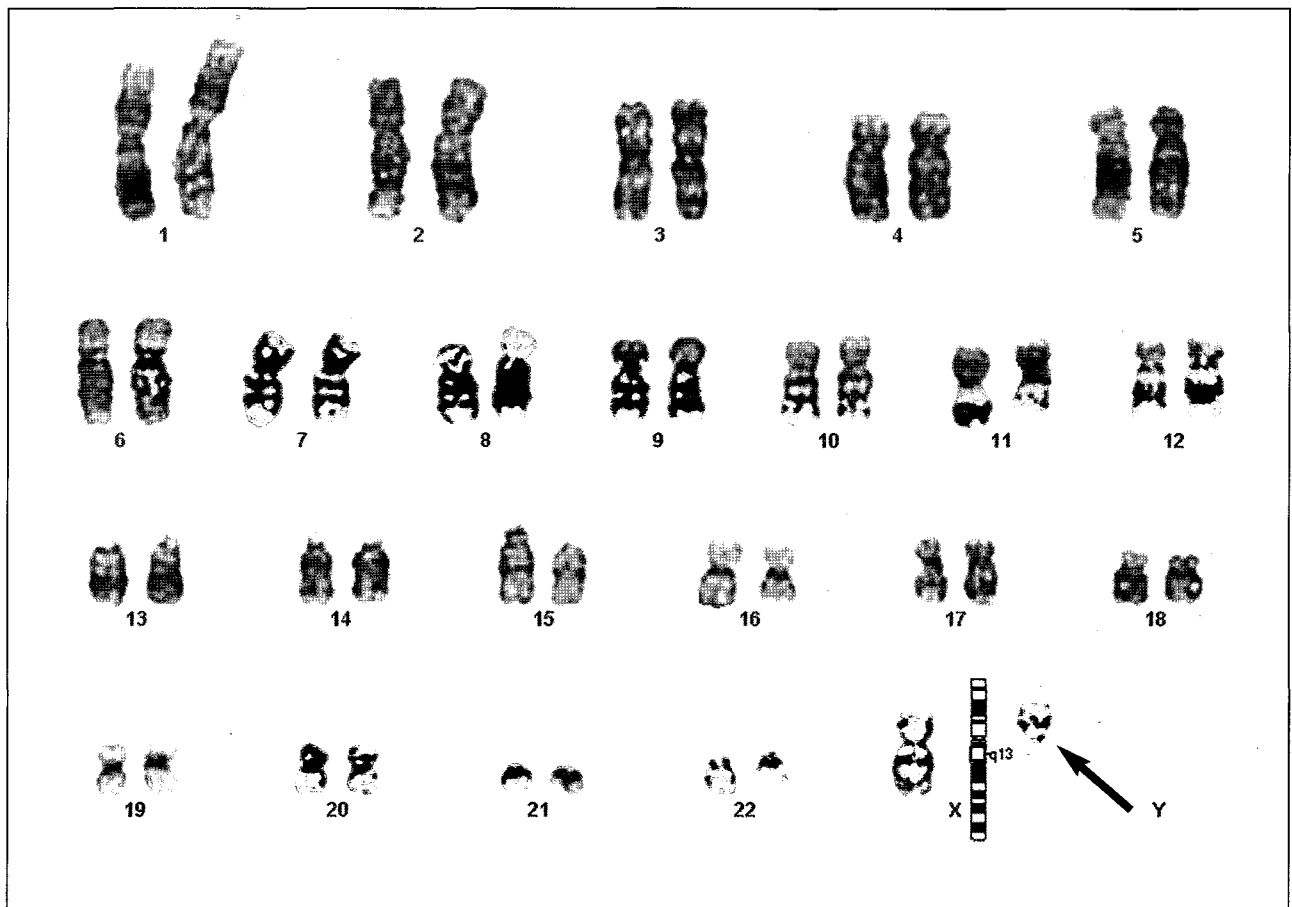


Фото 3.4. Клетка с хромосомным набором 46,X,del(X)(q13). Дифференциальное окрашивание GTG-методом; x1000. Стрелкой указана делетированная хромосома X

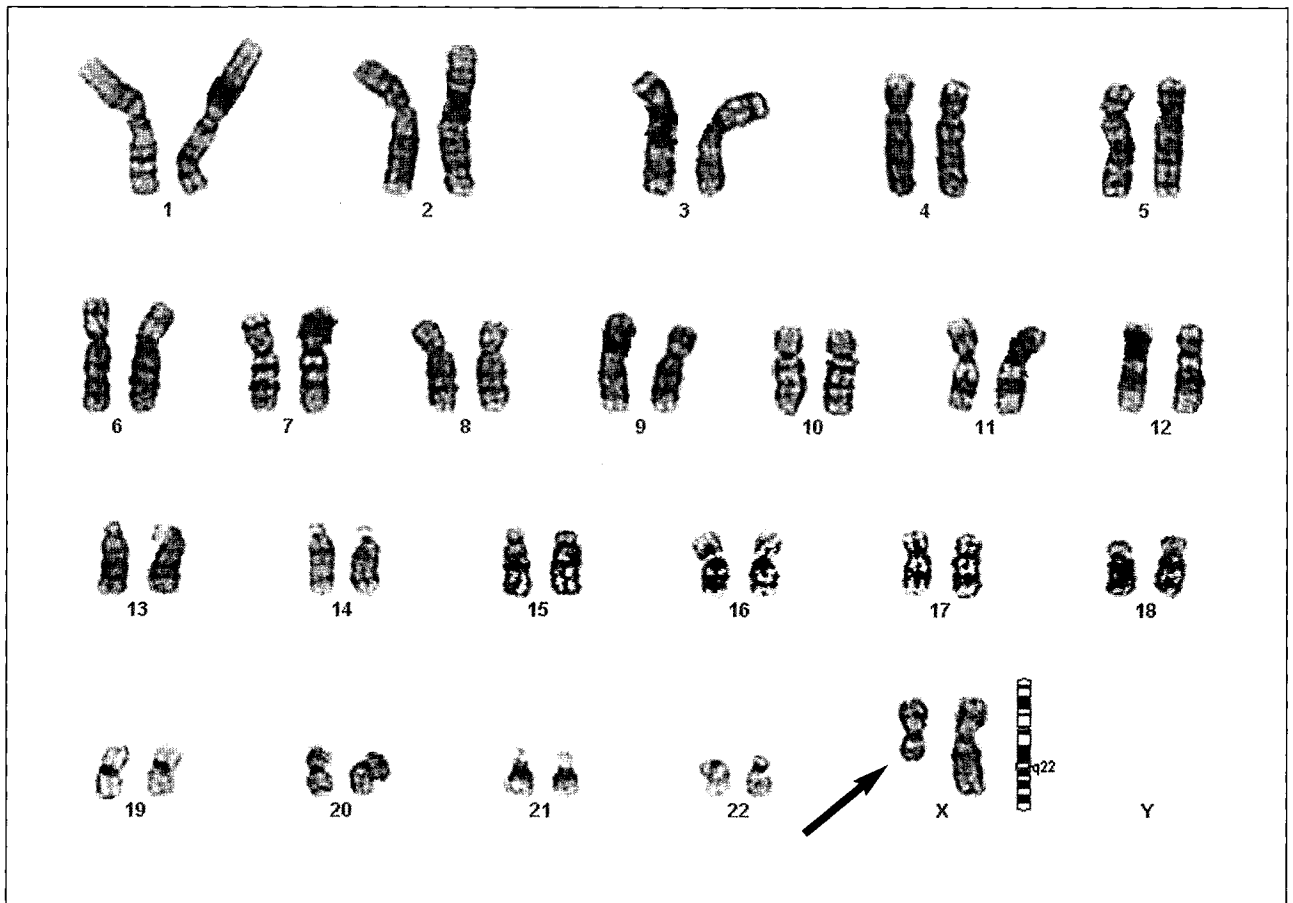


Фото 3.5. Клетка с хромосомным набором 46,X,del(X)(q22). Дифференциальное окрашивание GTG-методом; x1000. Стрелкой указана делетированная хромосома X

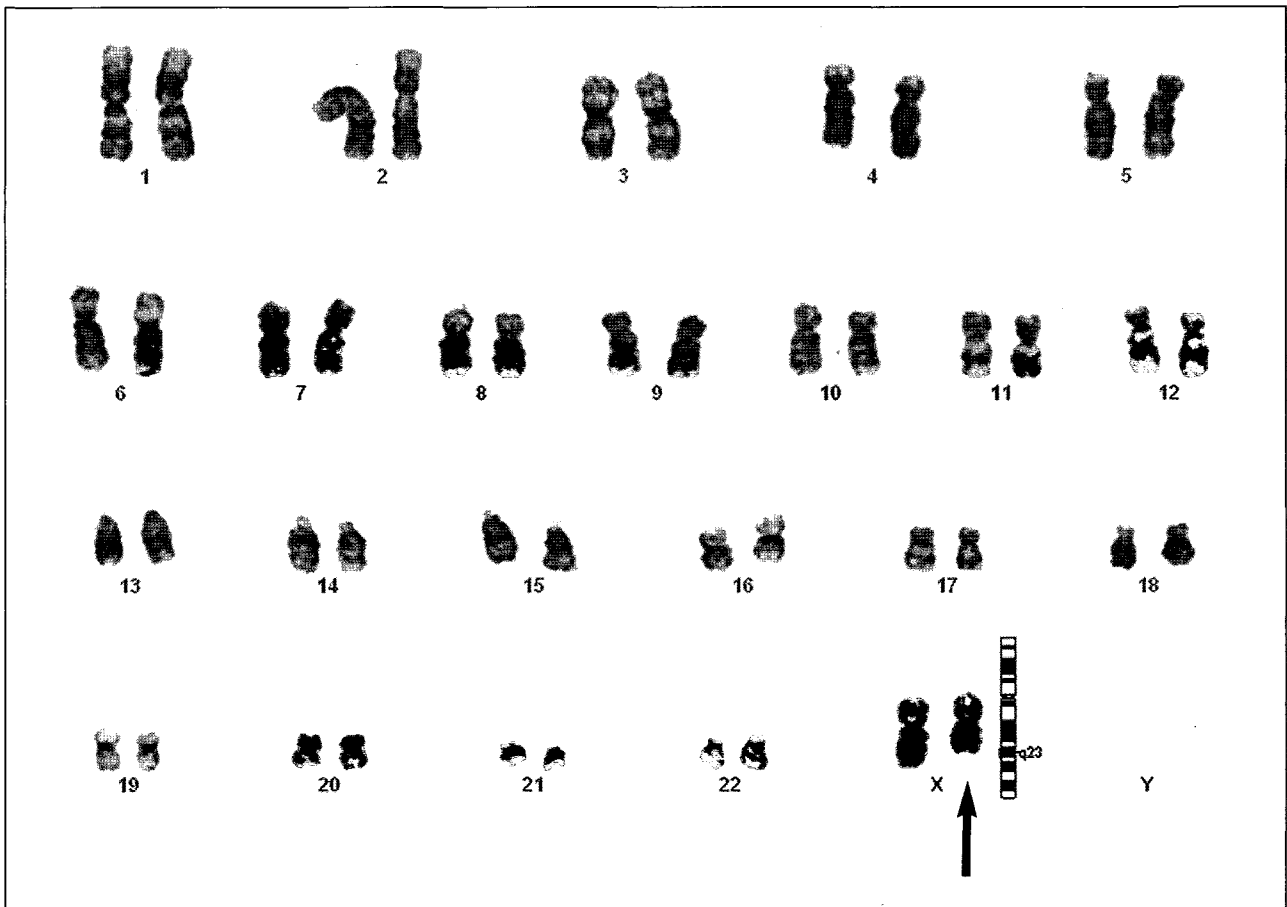


Фото 3.6. Клетка с хромосомным набором 46,X,del(X)(q23). Дифференциальное окрашивание GTG-методом; x1000. Стрелкой указана делетированная хромосома X

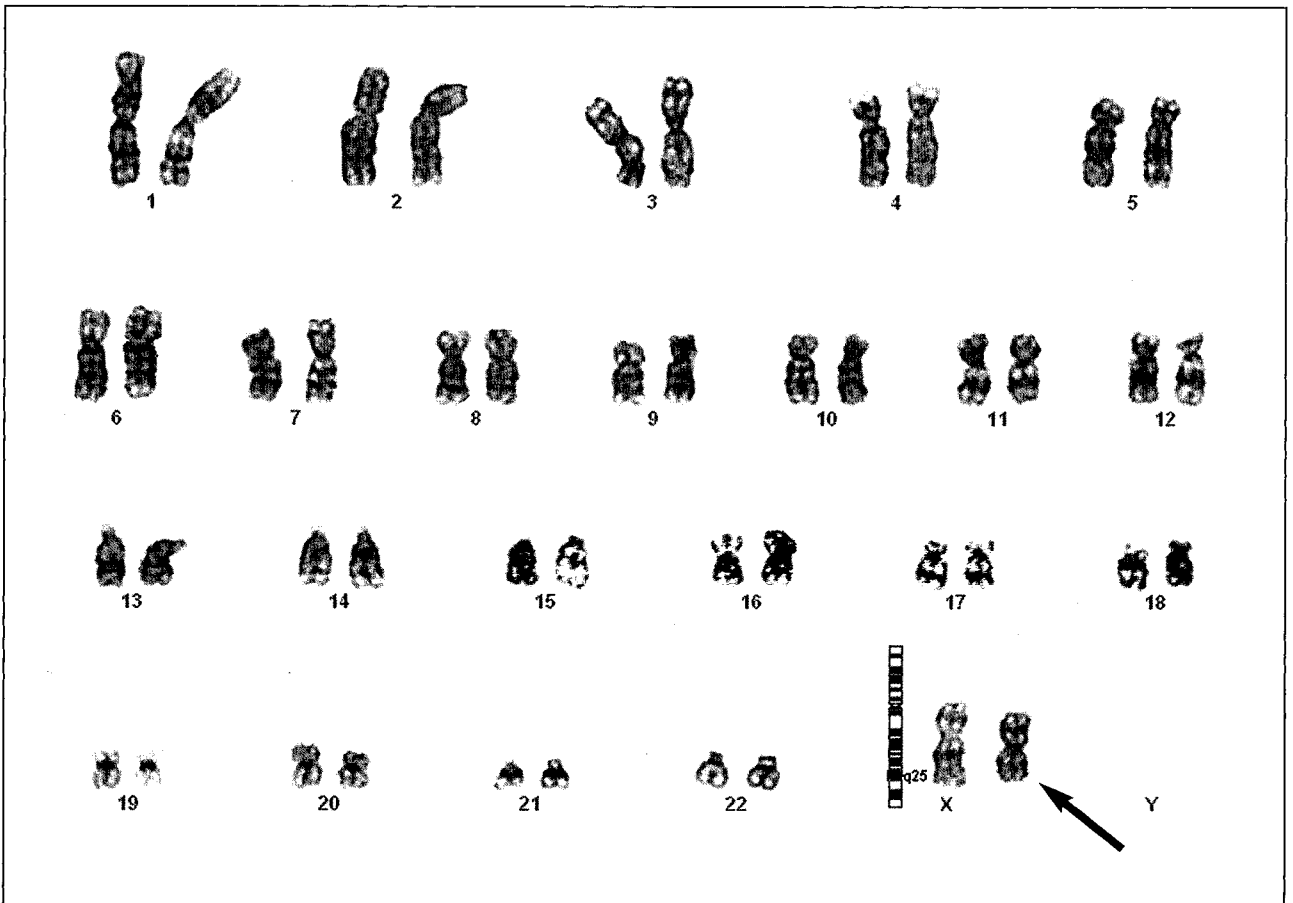


Фото 3.7. Клетка с хромосомным набором 46,X,del(X)(q25). Дифференциальное окрашивание GTG-методом; x1000. Стрелкой указана делетированная хромосома X

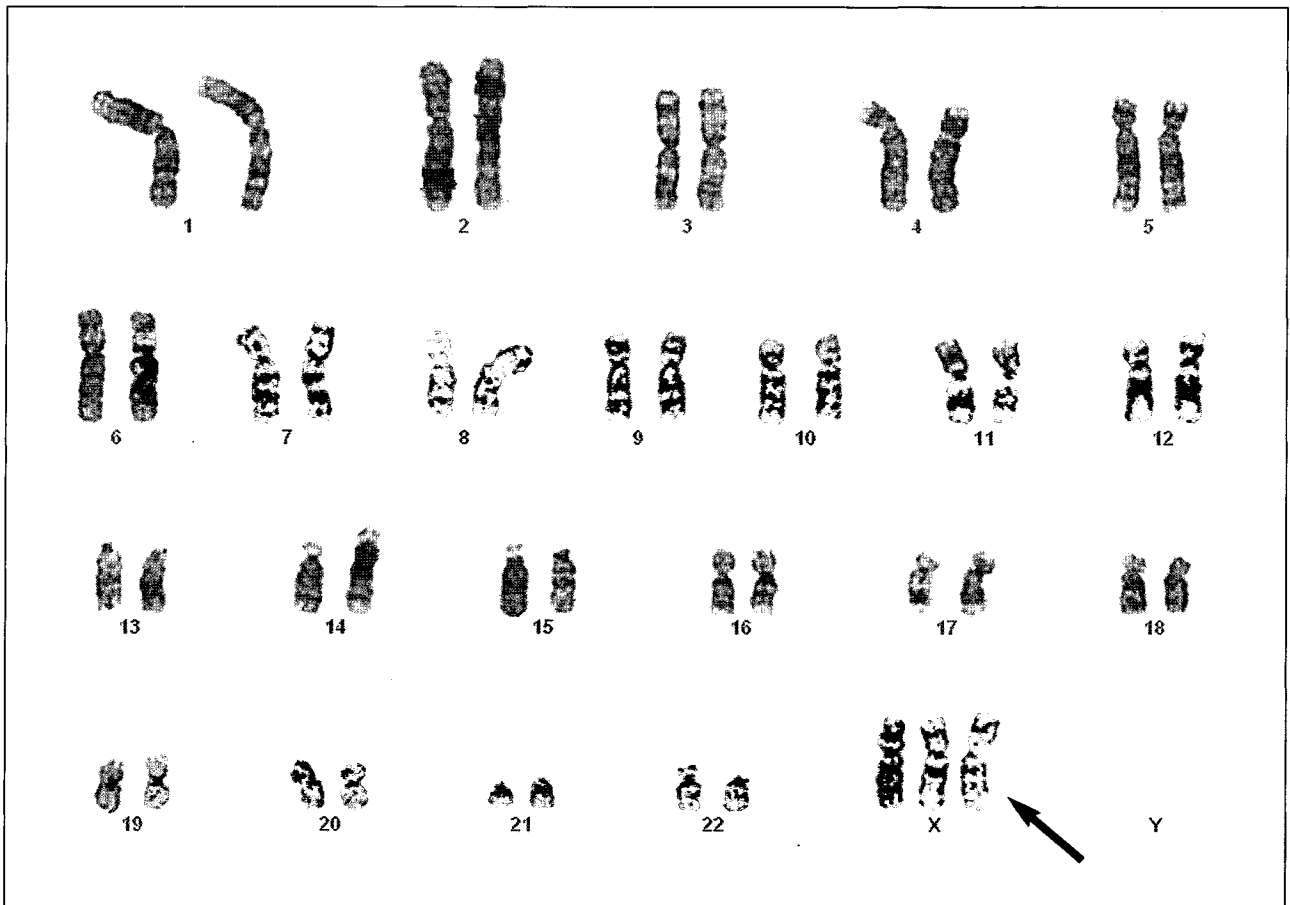


Фото 3.8. Клетка с хромосомным набором 47,XXX. Дифференциальное окрашивание GTG-методом; $\times 1000$. Стрелкой указана дополнительная хромосома X

Случай 10

В Клинику проблем планирования семьи (Киев, Украина) обратилась супружеская пара в связи с первичным бесплодием (10 лет). Супругу 50 лет, результат спермограммы – вариант нормы, кариотип: 46,XY, в первом браке двое детей. Супруге 34 года, рост 1,75 м, вес 54,9 кг. Цитогенетический анализ выявил мозаичный кариотип: 49,XXXXX[1]/47,XXX[1]/46,XX[48] (**фото 3.9**), что заставило провести молекулярно-цитогенетическое исследование. FISH анализ на интерфазных ядрах подтвердил наличие клонов клеток с три-, тетра- и пентасомией по хромосоме X, а также выявил клон клеток с моносомией хромосомы X. Запись анализа с помощью FISH следующая: nuc ish Xcen(DXZ1x1)[13]/nuc ish Xcen(DXZ1x3)[9]/nuc ish Xcen(DXZ1x4)[4]/nuc ish Xcen(DXZ1x5)[3]/nuc ish Xcen(DXZ1x2)[511].

Из анамнеза супруги известно: менархе в 14 лет, менструальный цикл регулярный; фиброма шеи, хронический холецистит. При обследовании были выявлены: эндометриоидные кисты обоих яичников, хронический двусторонний сальпингит, спаечный процесс органов малого таза, эндометриоз органов брюшной полости. В ходе лапароскопии пациентке произведена цистэктомия, коагуляция очагов эндометриоза.

После проведения лечебной программы ЭКО с ICSI была получена одноплодная беременность. Цитогенетический анализ ворсин хориона показал нормальный кариотип у плода (46,XX). Беременность закончилась рождением на 34 неделе девочки весом 2000 г, ростом 47 см. Ребенок развивается нормально.

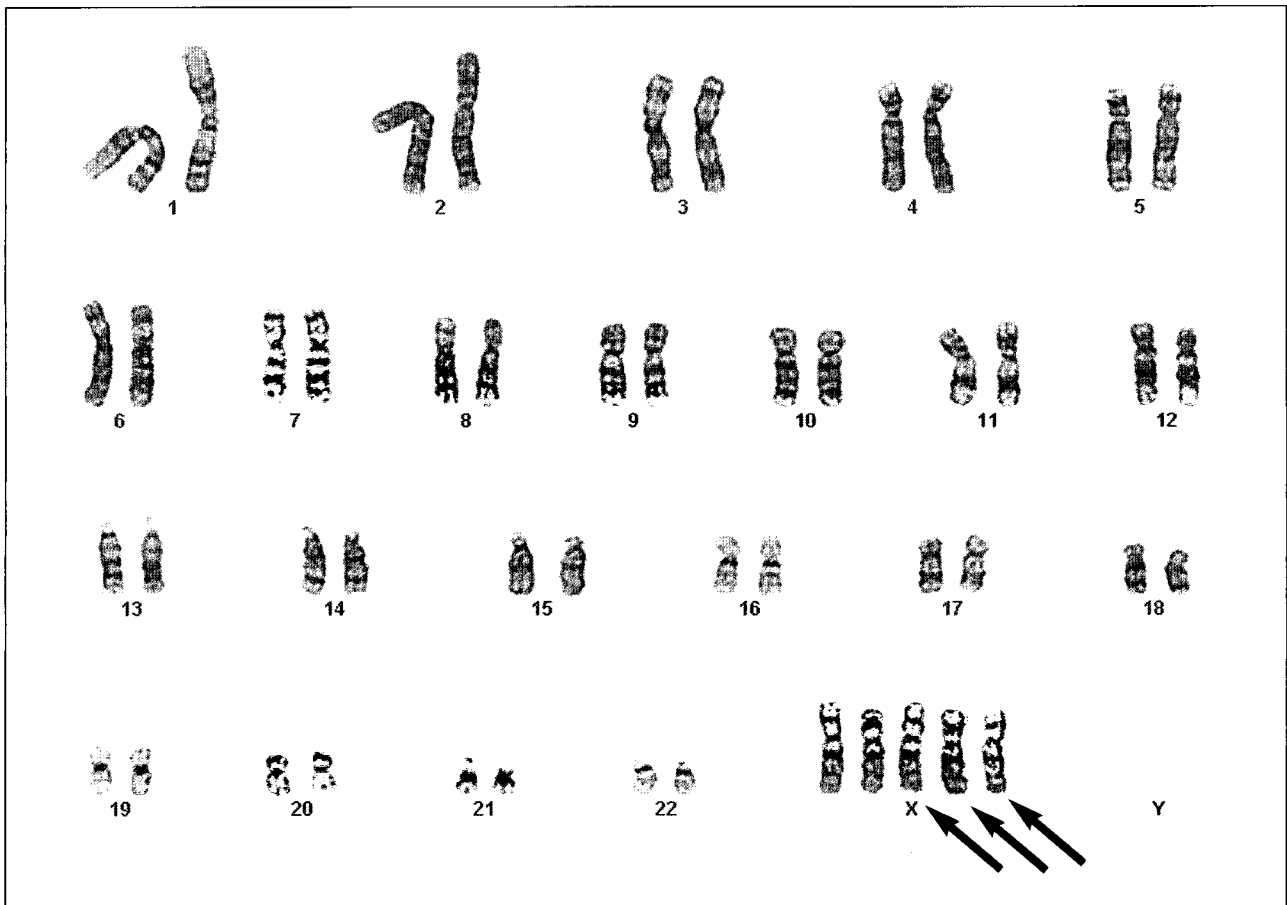


Фото 3.9. Клетка с хромосомным набором 49,XXXXX. Дифференциальное окрашивание GTG-методом; x1000. Стрелками указаны дополнительные хромосомы X (**Случай 10**)

Случай 11

В Клинику проблем планирования семьи (Киев, Украина) обратилась супружеская пара в связи с первичным бесплодием (2 года). Супругу 24 года, результат спермограммы – вариант нормы, кариотип: 46,XY.

Супруге 24 года, рост 1,75 м, вес 66 кг, телосложение нормальное, молочные железы развиты, в анамнезе первичная аменорея, гипоплазия матки. В медико-генетическом центре был поставлен диагноз дисгенезии гонад.

Проведенный в Клинике проблем планирования семьи (Киев, Украина) цитогенетический анализ супруги показал мужской кариотип (46,XY).

Выполнена лапароскопическая двусторонняя аднексэктомия для профилактики малигнизации рудиментарных яичек. Перед началом программы ЭКО с ICSI и донации ооцитов пациентке была проведена заместительная гормональная терапия с восстановлением менструальной функции в течении 6 месяцев.

Донор ооцитов – родная сестра пациентки – 26 лет, здорова, кариотип: 46,XX, мать двухлетней девочки.

После проведения лечебной программы ЭКО с ICSI и донации ооцитов была получена двуплодная беременность. Цитогенетический анализ ворсин хориона проведен для обоих плодов. У одного плода кариотип нормальный (46,XY), у второго – 47,XY,+14[2]/46,XY[15] (**фото 3.10**). По согласию семьи развитие второго плода остановлено. Беременность плодом с нормальным кариотипом протекала с осложнением – истмико-цервикальной недостаточностью (наложен циркулярный шов на шейку матки). Мальчик родился на 36-й неделе, вес при рождении – 1820 г, рост – 44 см. Ребенок развивается нормально.



Фото 3.10. Кариотип одного из плодов, клетка с хромосомным набором 47,XY,+14. Дифференциальное окрашивание GTG-методом; x1000. Стрелкой указана дополнительная хромосома 14 (**Случай 11**)

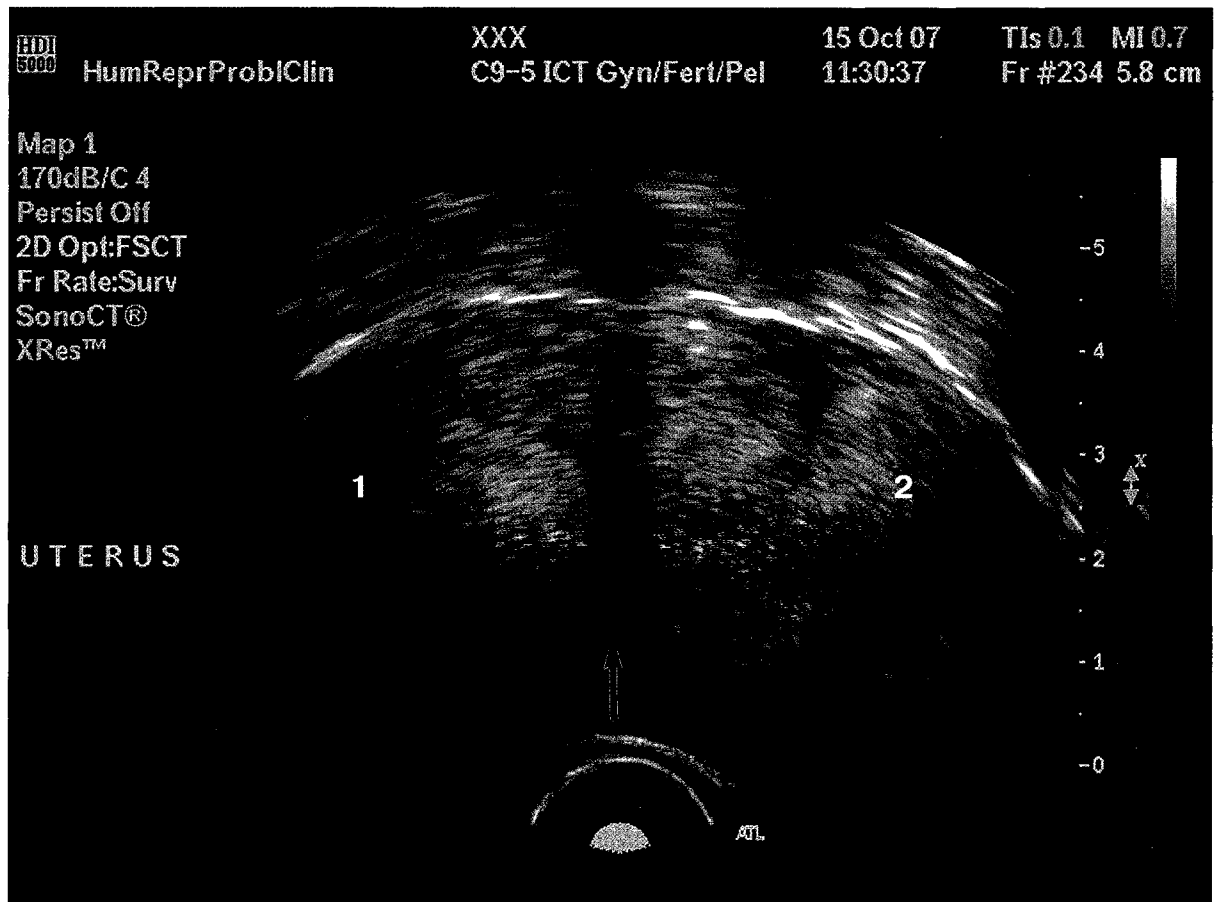


Фото 3.11. Поперечная эхограмма двурогой матки. В полости каждой части матки (1 и 2) виден эндометрий. Стрелкой указана разделяющая их перегородка

Случай 12

В Клинику проблем планирования семьи (Киев, Украина) обратилась супружеская пара в связи с первичным бесплодием (3 года). Супругу 30 лет, результат спермограммы – вариант нормы, кариотип: 46,XY.

Супруге 23 года, кариотип: 46,XX. Из анамнеза: менархе в 14 лет, менструации нерегулярные через 35-60 дней продолжительностью 3-5 дней, болезненные; отмечен сахарный диабет.

В результате клинического обследования обнаружено: однорогая матка, аномалия развития левой маточной трубы, дермоидная киста правого яичника, правосторонний гидросальпинкс, спаечный процесс органов малого таза, аномалия развития левой почки (**фото 3.12**). Киста правого яичника и измененная правая маточная труба удалены лапароскопически.

После проведения лечебной программы ЭКО с ICSI была получена многоплодная беременность (два плодных яйца в полости матки и одно плодное яйцо в правом маточном углу). Лапароскопически удалено плодное яйцо в маточном углу, беременность в полости матки сохранена. На 9-й неделе беременности произведена биопсия ворсин хориона. Цитогенетический анализ ворсин хориона показал нормальный кариотип у обоих плодов (46,XX и 46,XY). При селективной редукции было учтено пожелание супругов – сохранен плод женского пола. В сроке 15 недель беременности у пациентки развилась клиническая картина истмико-цервикальной недостаточности, что, связано с особенностями строения матки. После 2-х недельной медикаментозной терапии принято решение о наложении циркулярного шва на шейку матки (17-я неделя беременности). В дальнейшем до родов проводилась токолитическая терапия. Роды на 30-31 неделе завершились рождением девочки весом 2270 г, ростом 46 см. Ребенок развивается нормально.

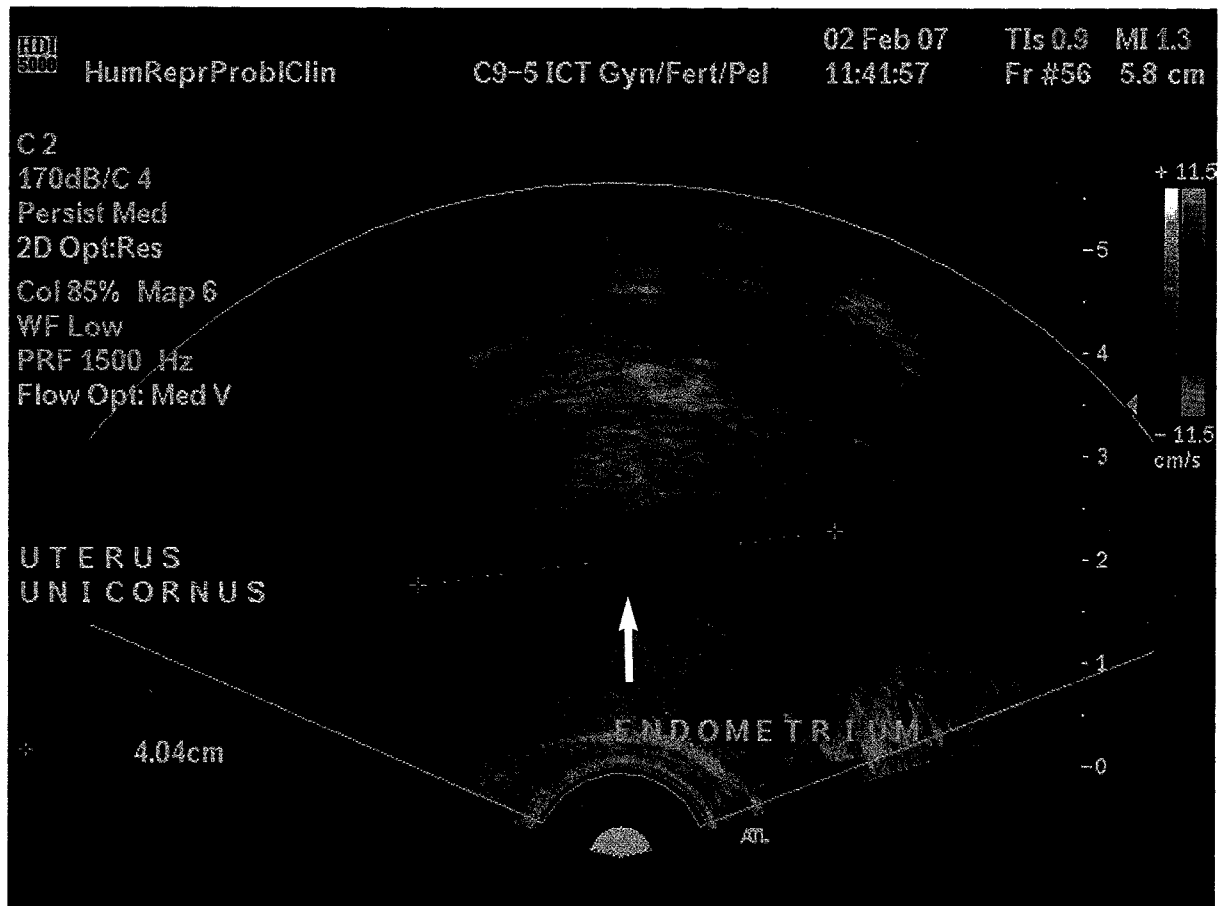
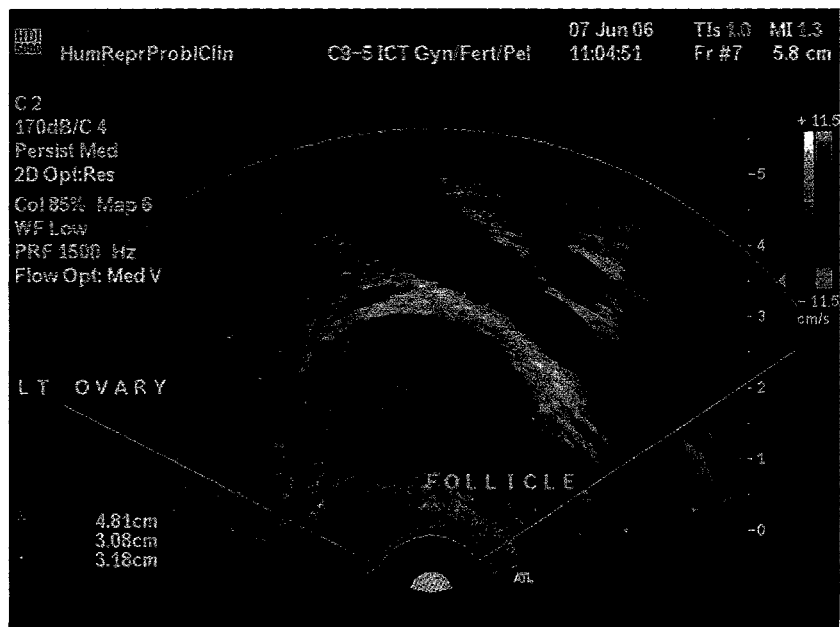
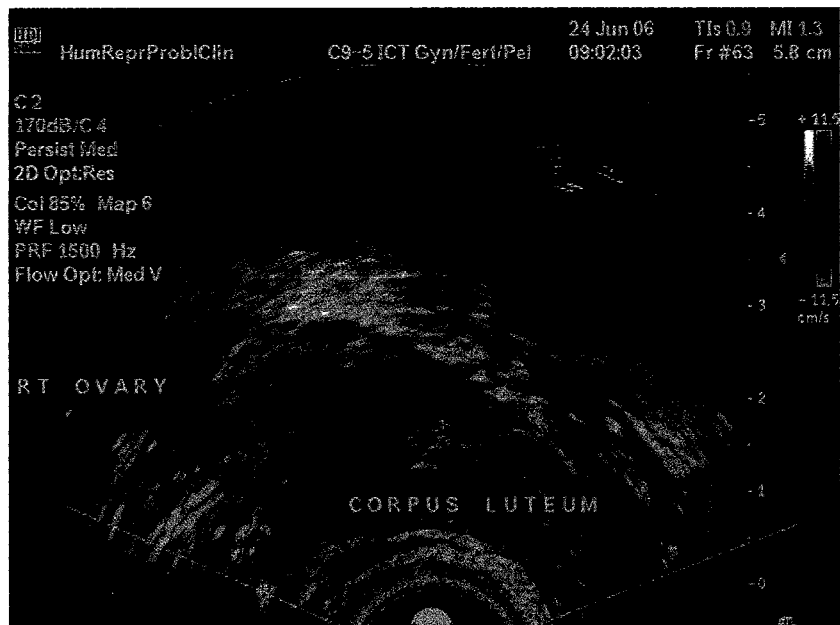


Фото 3.12. Поперечная эхограмма однорогой матки. Стрелкой указана однорогая матка (поперечное изображение) **(Случай 12)**

**ПРИЛОЖЕНИЕ
К ГЛАВЕ IV**

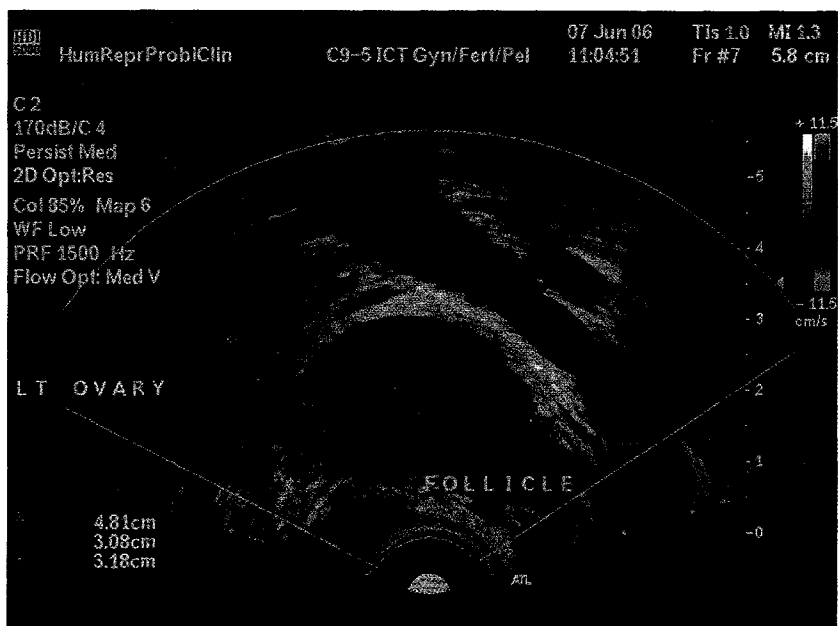


a

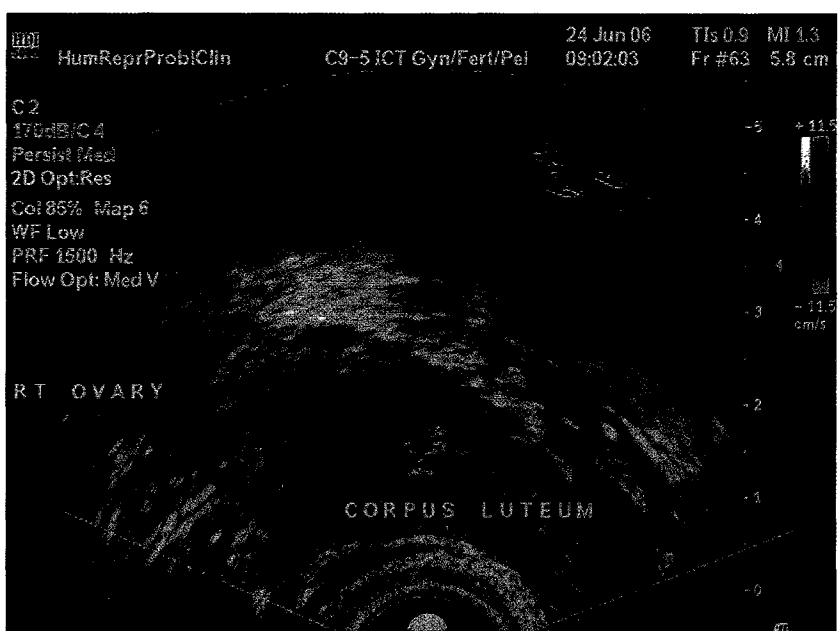


б

Фото 4.1. УЗ изображение яичника с применением цветового доплеровского картирования на стадии созревания фолликула **(а)** и желтого тела **(б)**



a



б

Фото 4.1. УЗ изображение яичника с применением цветового доплеровского картирования на стадии созревания фолликула **(а)** и желтого тела **(б)**

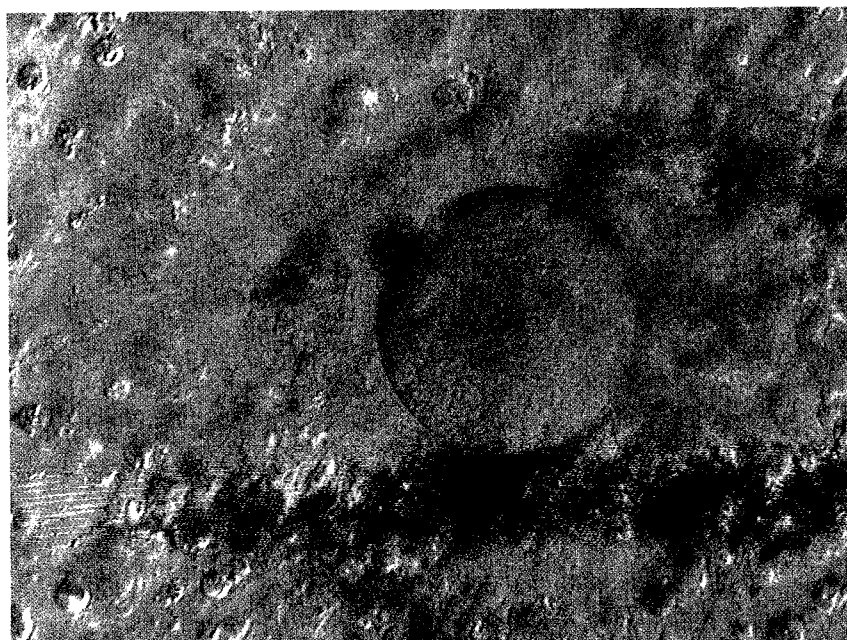
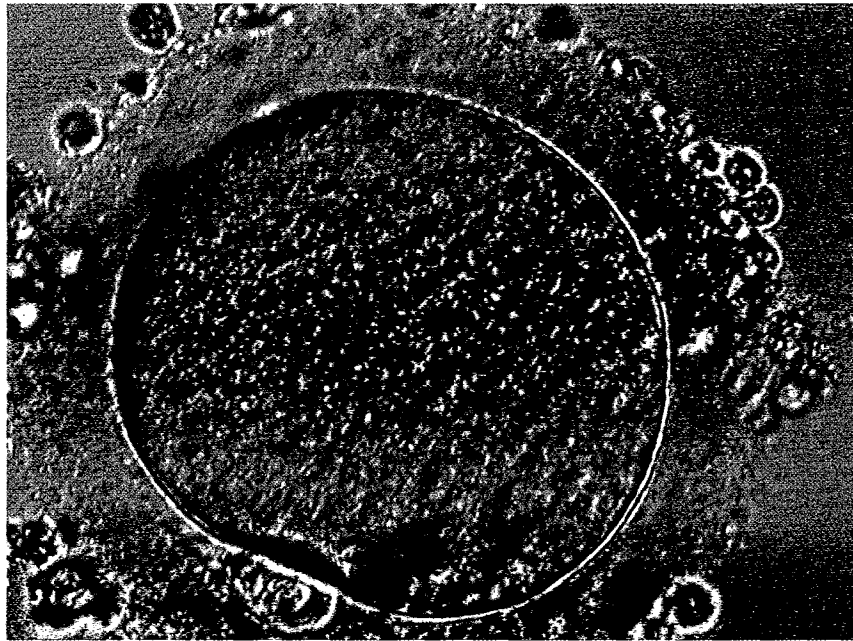
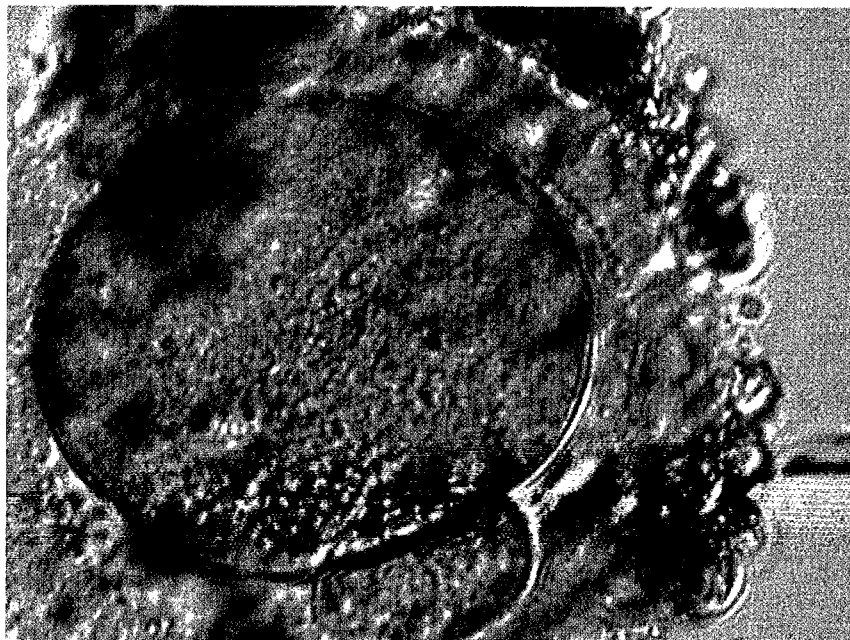


Фото 4.2. Ооцит-кумулюсный комплекс; x100



а

Фото 4.3. Оценка ооцита: зрелый ооцит на стадии метафазы II, четко видно полярное тельце; x200 **(а)**; зрелый ооцит на стадии метафазы II, аномально большое полярное тельце; x200 **(б)**; незрелый ооцит; x200 **(в)**



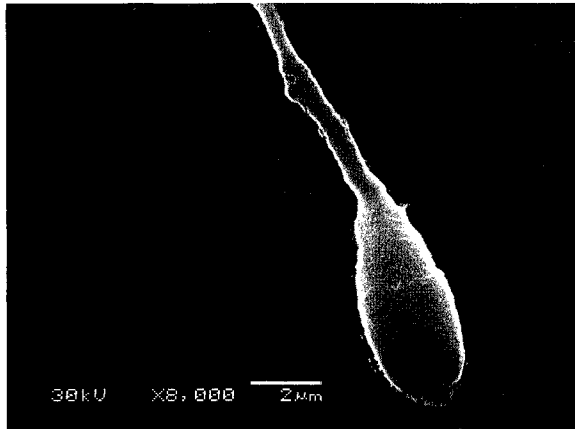
6

Фото 4.3. (продолжение)

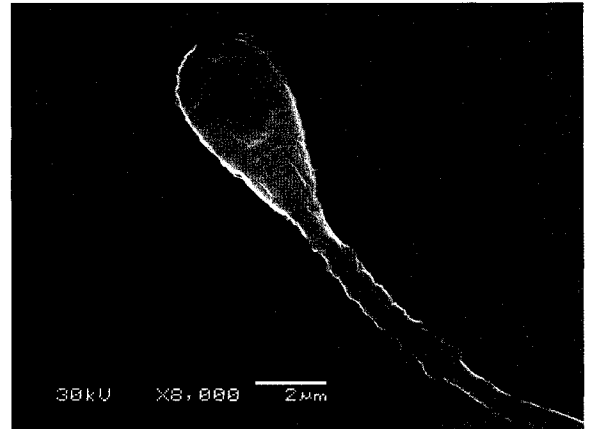


В

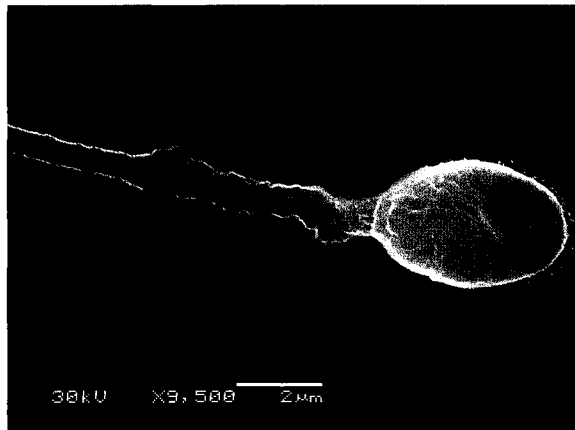
Фото 4.3. (продолжение)



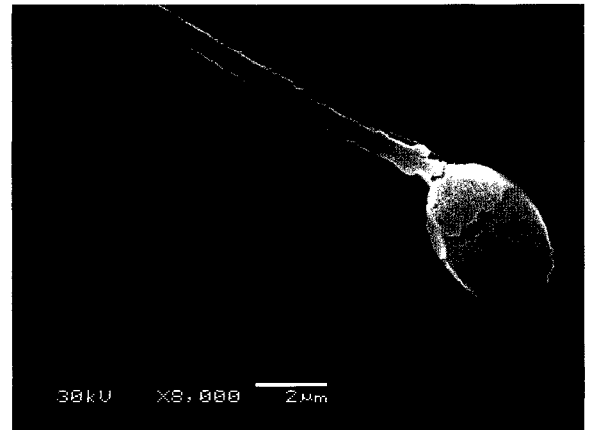
а



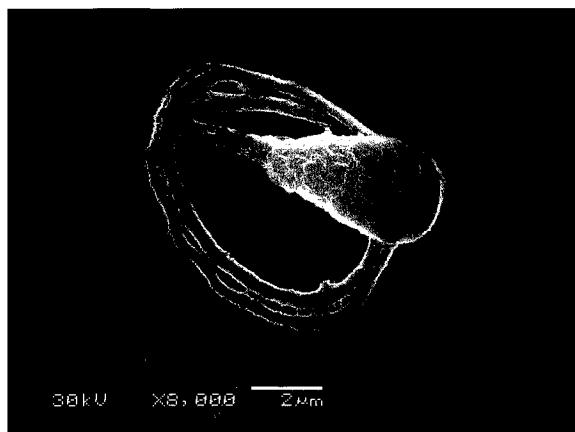
б



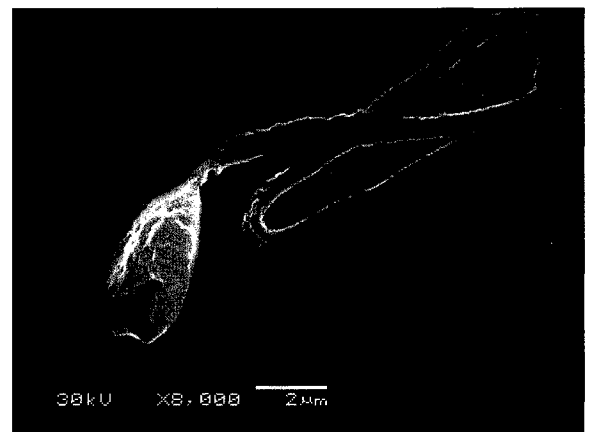
в



г



д

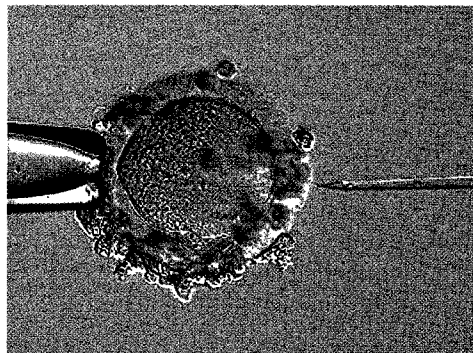


е

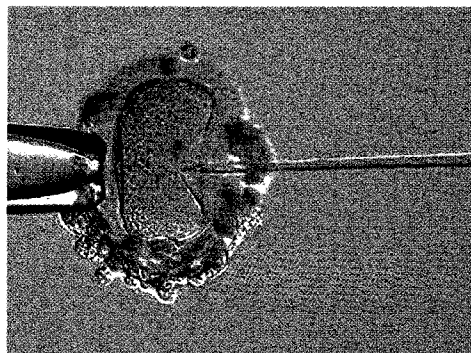
Фото 4.4. Варианты аномальной морфологии сперматозоидов в сканирующем микроскопе: вытянутая головка (**а**); вакуолированная головка (**б**); наличие цитоплазматической капли (**в**); гетероаксиальность (**г**); свернутый хвост (**д**); согнутый хвост (**е**)



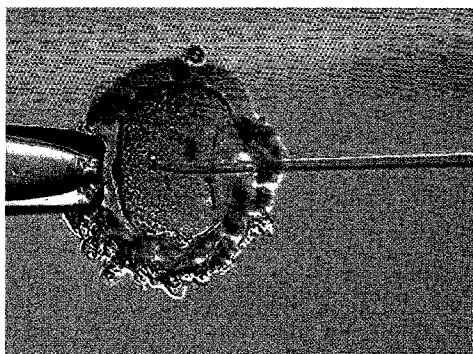
Фото 4.5. Материал, полученный с помощью TESA: семявыносящий каналец яичка (1); сперматоциты 1-го порядка (2); сперматозоиды (3). Окраска гематоксилин-эозином; x50, x100, x200



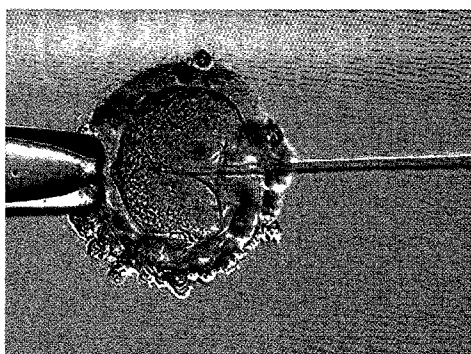
а



б

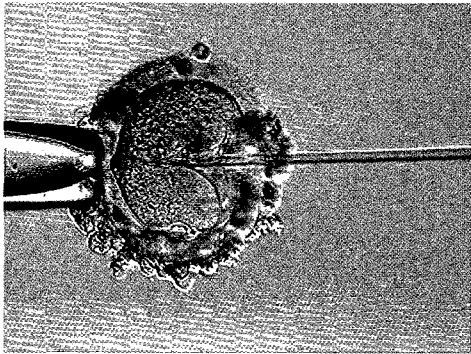


в

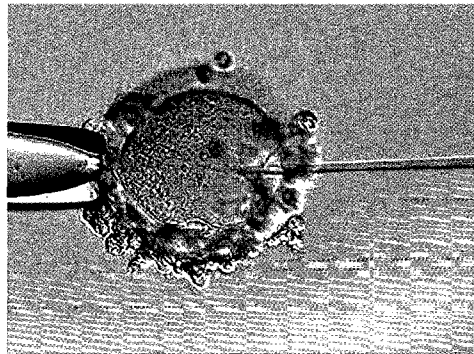


г

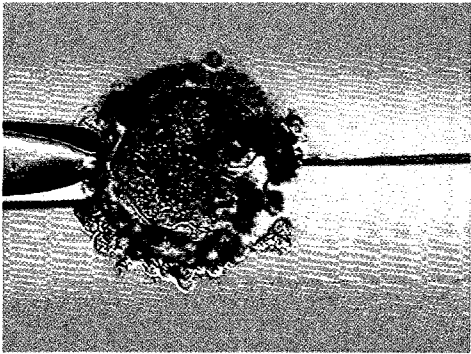
Фото 4.6. Последовательность проведения процедуры ICSI: правильное расположение ооцита для проведения инъекции и удержание его специальной микропипеткой, которое подразумевает размещение ооцита таким образом, чтобы полярное тельце находилось в положении б или 12 ч (**а**); выбор и иммобилизация сперматозоида инъекционной острой, полый микроиглой, прокол (разрыв) зоны пеллюцида и введение микроиглы в цитоплазму ооцита (**б, в**); осторожное продвижение микроиглы и введение иммобилизованного сперматозоида, находящегося в 1-2 мкл среды, в цитоплазму ооцита (**г, д**); аккуратное выведение микроиглы из ооцита (**е-з**)



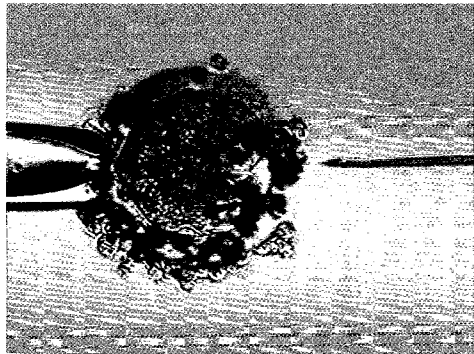
д



е

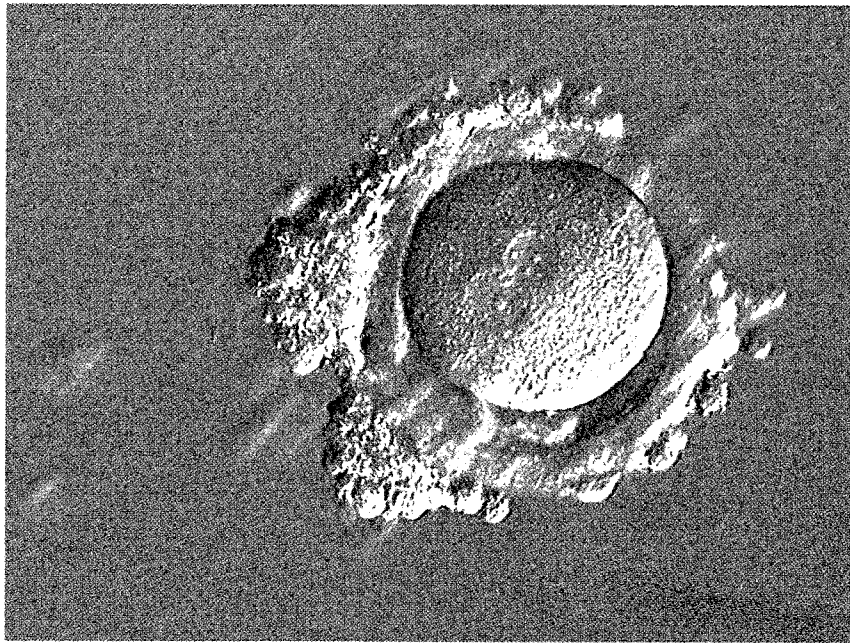


ж

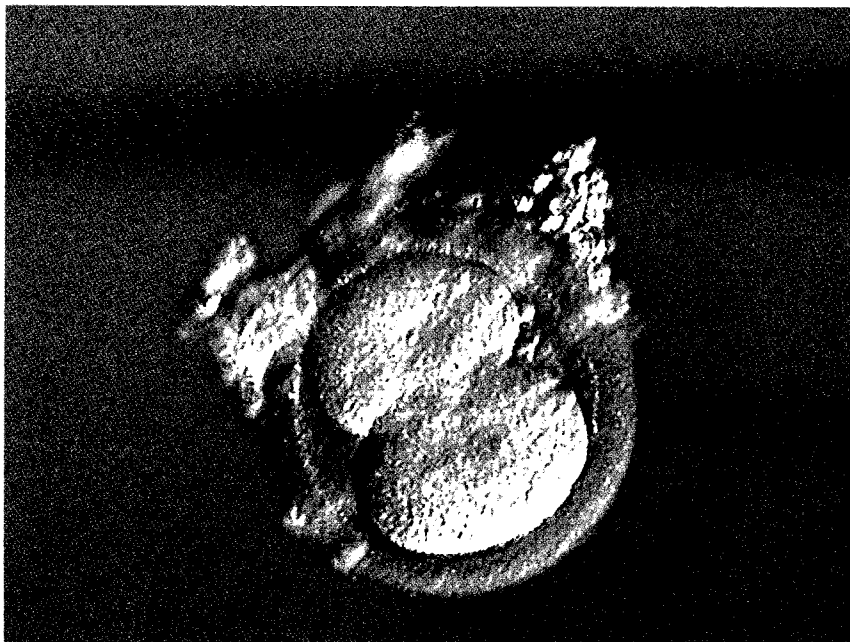


з

Фото 4.6. (продолжение)

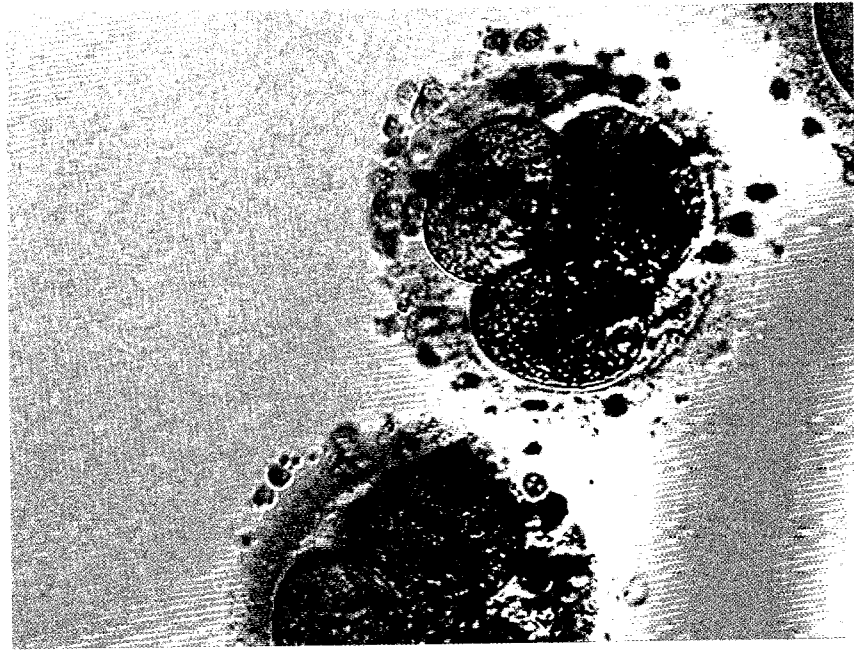


а

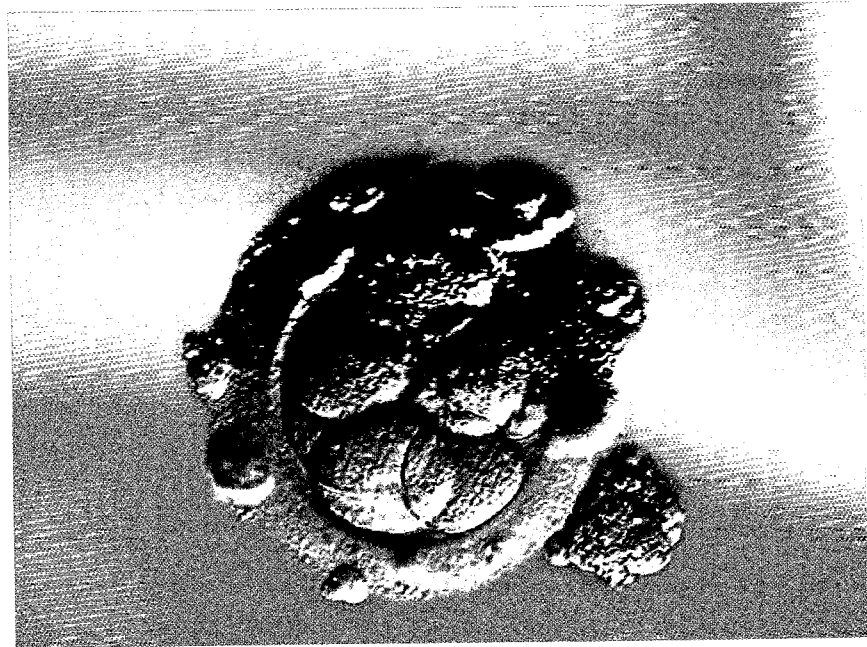


б

Фото 4.7. Этапы развития преэмбриона: оплодотворенная яйцеклетка, сближение пронуклеусов (примерно через 16-18 ч после проведения ICSI); x100 **(а)**; двухклеточный эмбрион; x100 **(б)**; четырехклеточный эмбрион; x100 **(в)**; восьмиклеточный эмбрион; x100 **(г)**

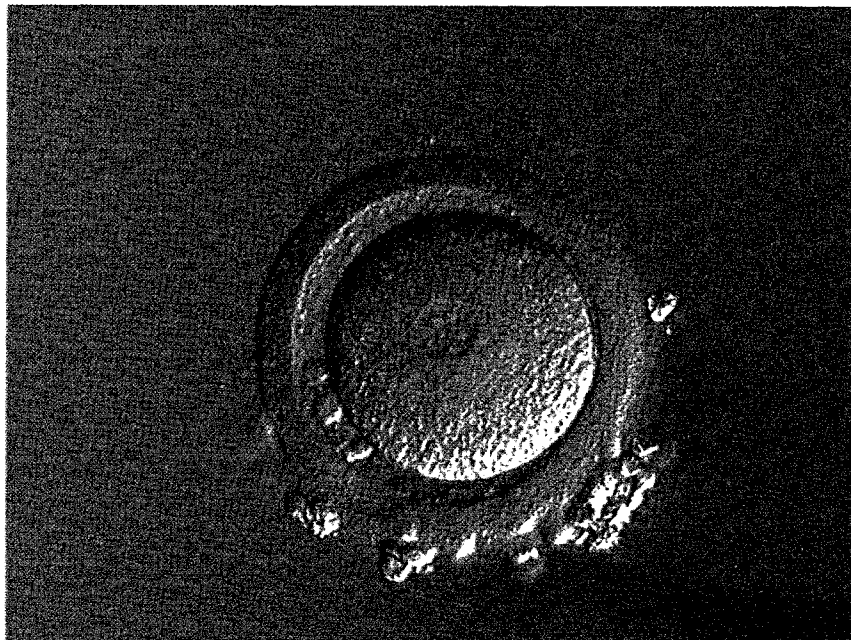


В

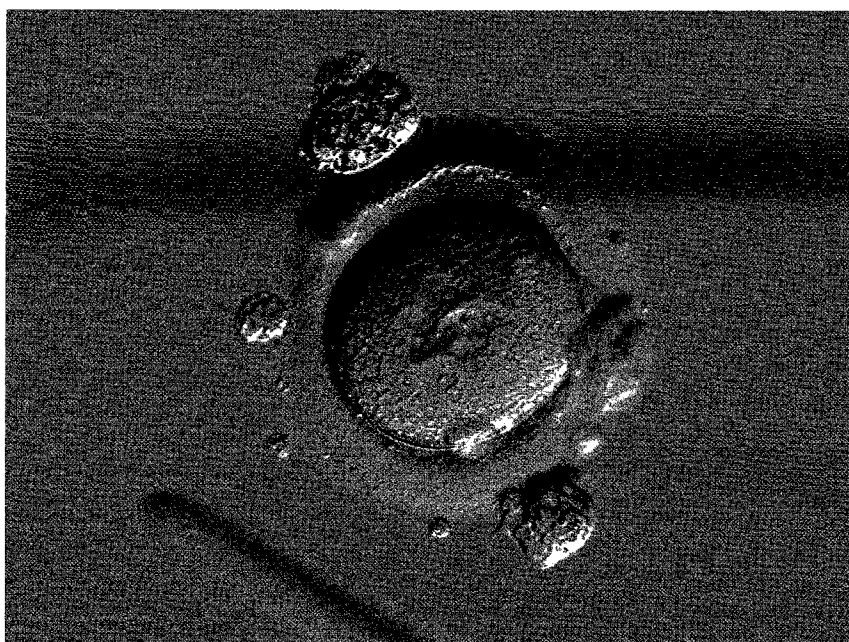


Г

Фото 4.7. (продолжение)

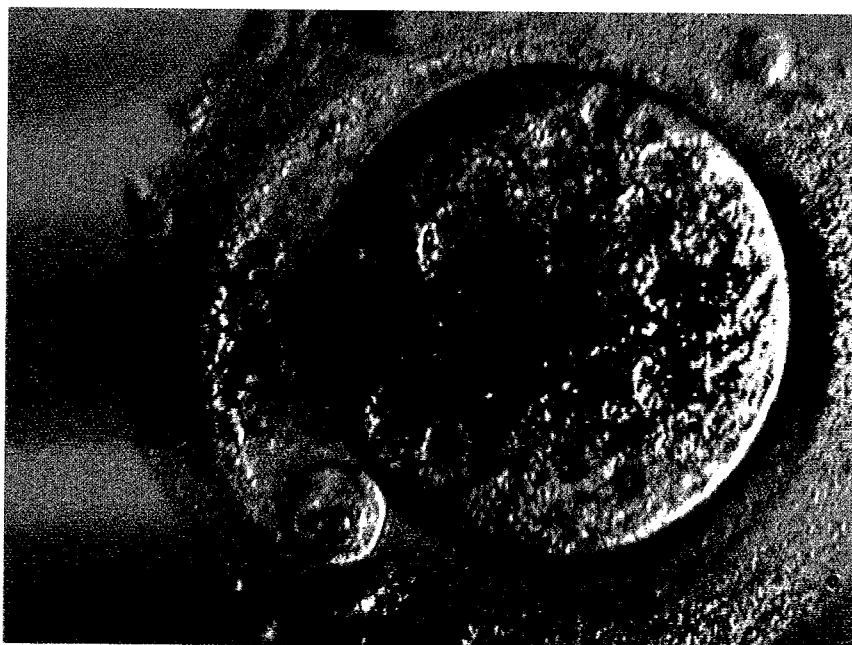


а



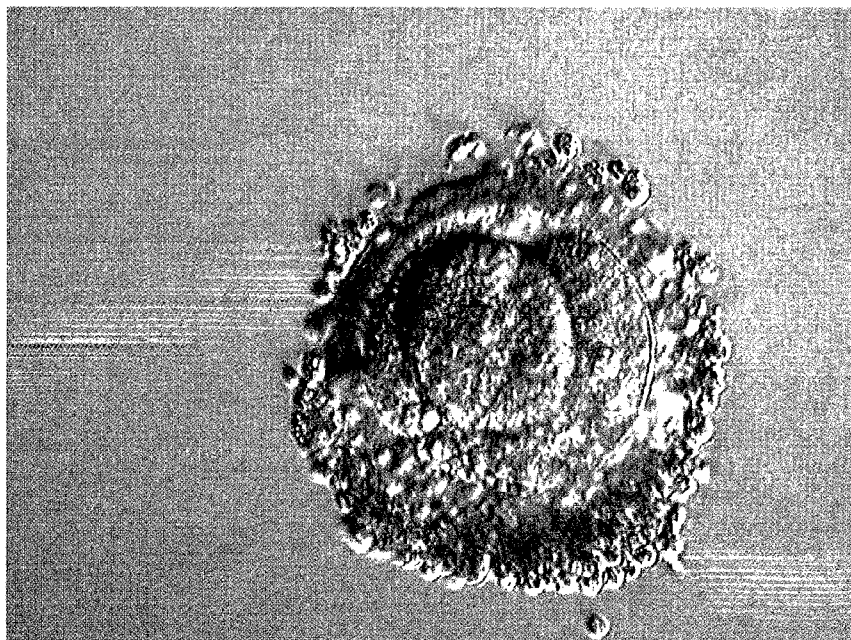
б

Фото 4.8. Различные варианты аномальной фертилизации: наличие одного пронуклеуса, полярные тельца разрушены (18 ч после проведения процедуры ICSI); x100 (**а**); наличие четырех пронуклеусов (тетраплоид) через 18 ч после проведения процедуры ICSI; x100 (**б**); вакуолизация цитоплазмы оплодотворенного ооцита (через 24 ч после проведения процедуры ICSI); x200 (**в**)

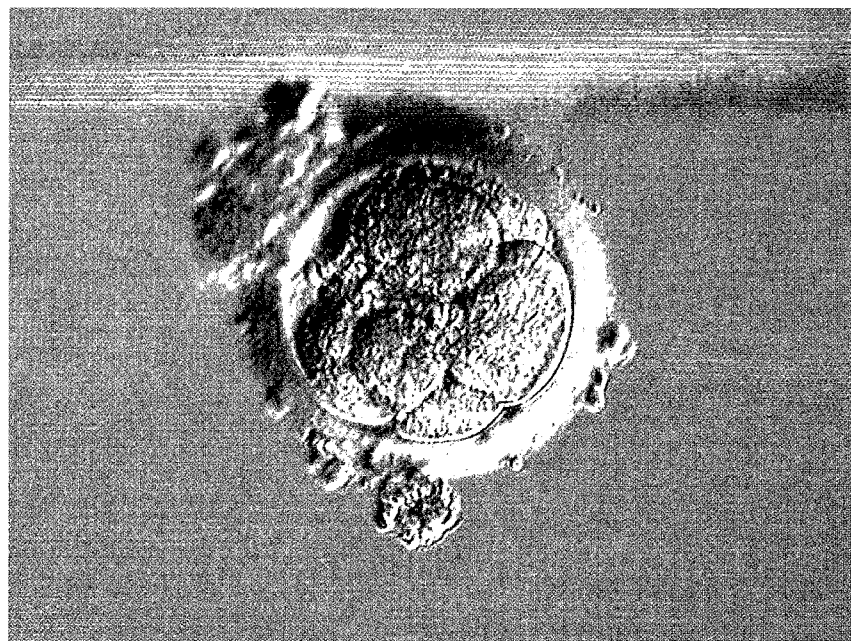


В

Фото 4.8. (продолжение)

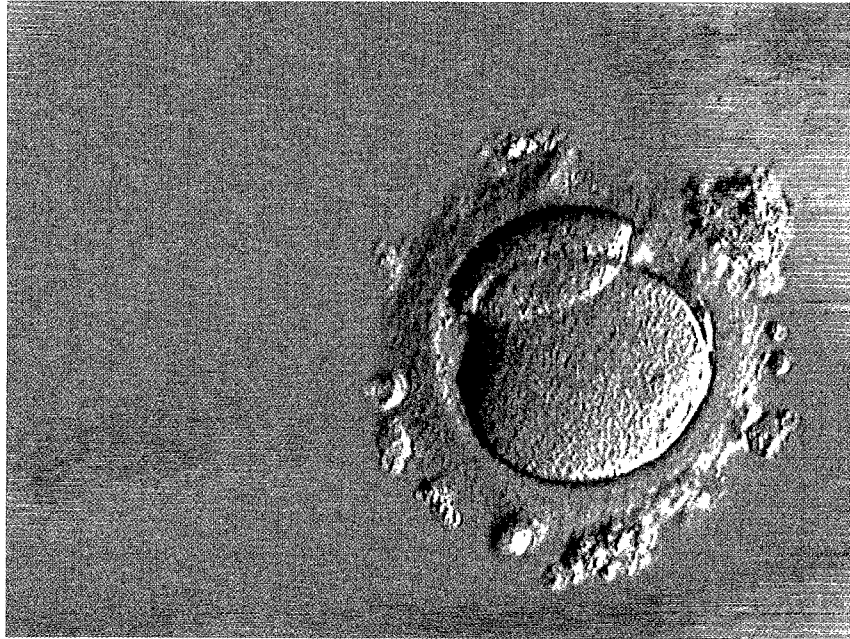


а

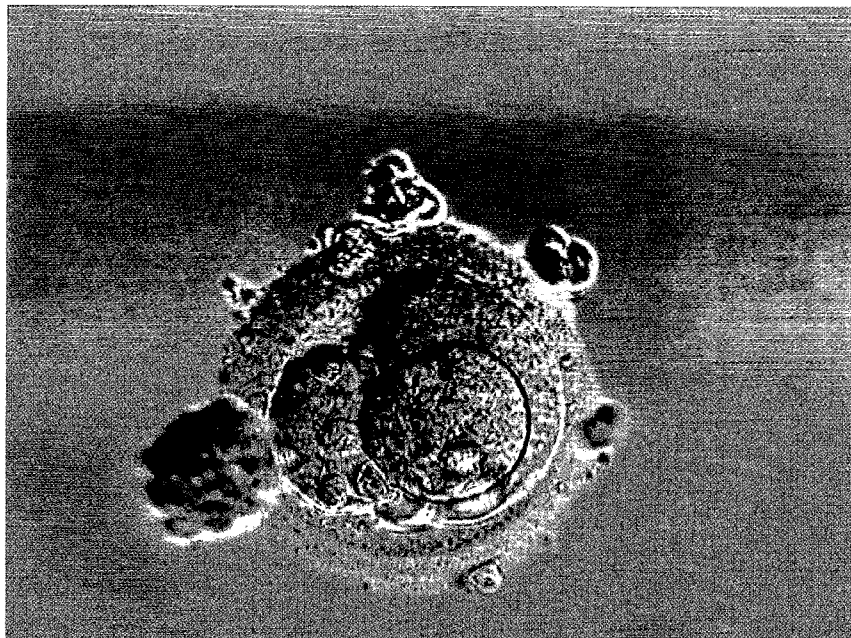


б

Фото 4.9. Варианты непропорционального дробления и фрагментации эмбрионов: непропорциональное дробление; x100 (**а**); фрагментация; x100 (**б**); непропорциональное дробление, остановка дробления; x100 (**в**); непропорциональное дробление, фрагментация; x100 (**г**)

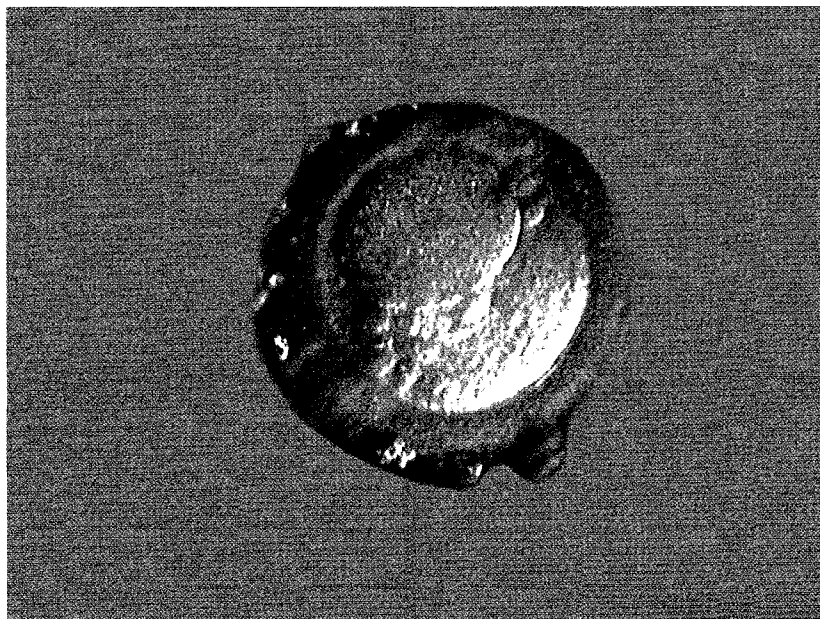


В

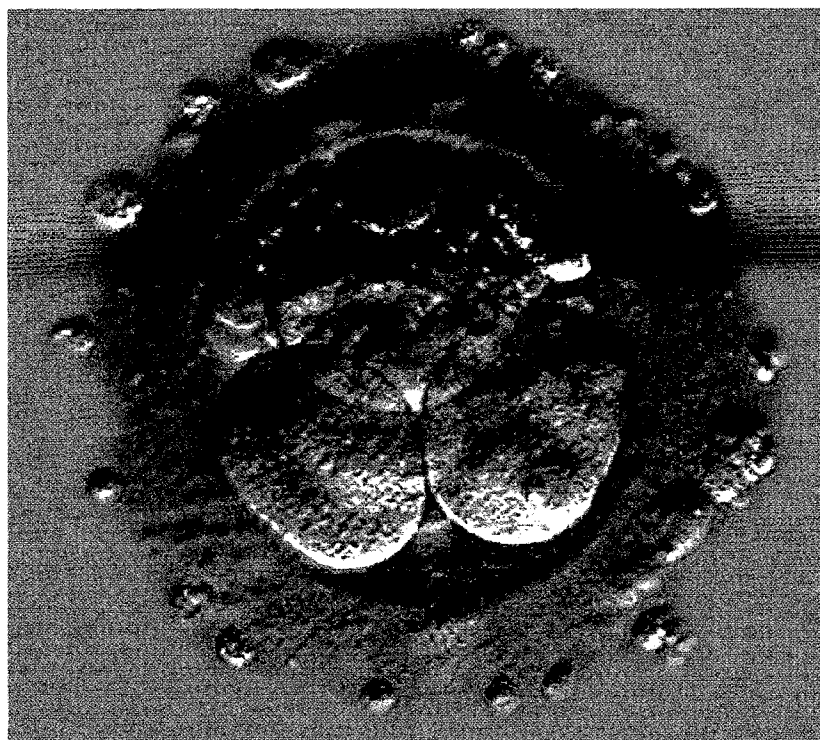


Г

Фото 4.9. (продолжение)

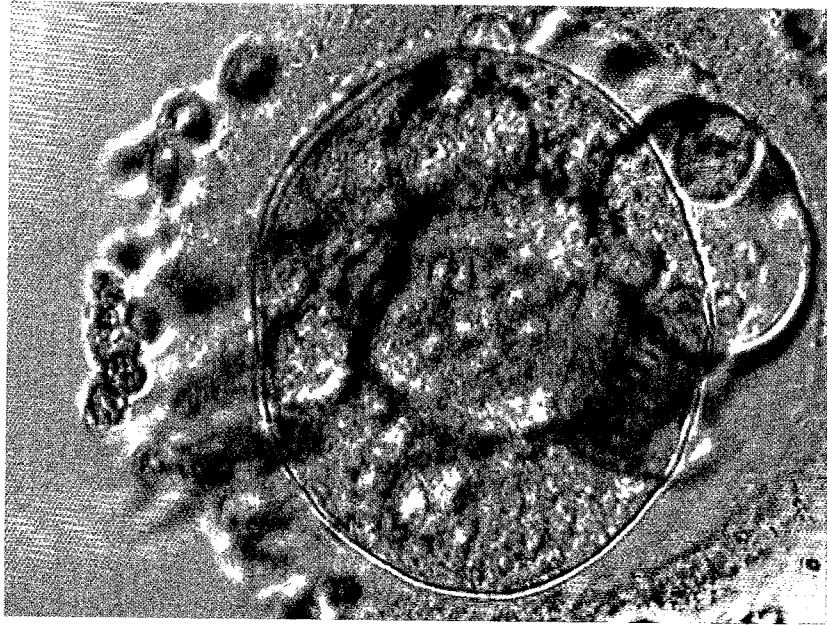


а

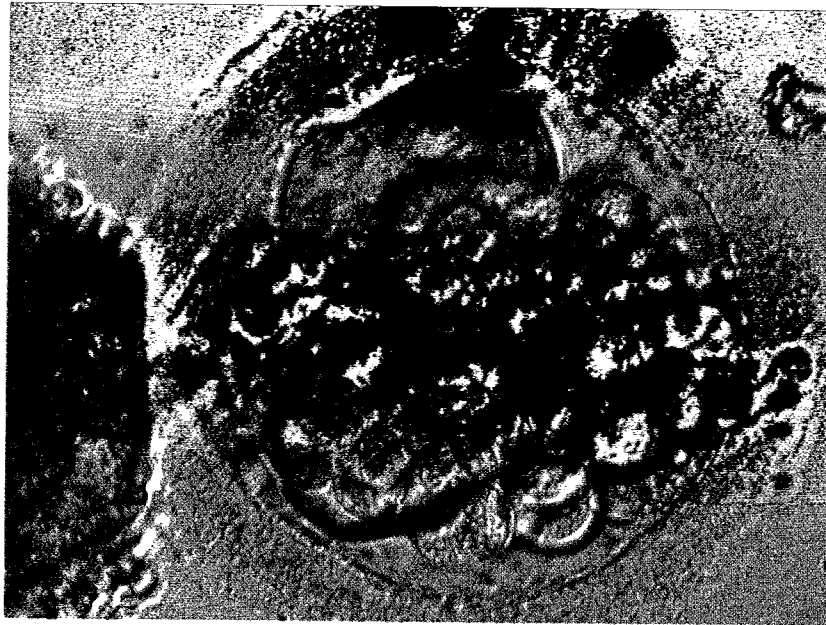


б

Фото 4.10. Отклонения в развитии, выявляемые при оценке эмбрионов на 2-й и 3-й дни культивирования: двухклеточный эмбрион с непропорциональным дроблением и заметной фрагментацией, дальнейшее развитие маловероятно; x100 (а); четырехклеточный эмбрион с фрагментацией; x100 (б); непропорциональное дробление и фрагментация; x200 (в); непропорциональное дробление, наличие фрагментации; x200 (г); восьмиклеточный эмбрион с незначительной фрагментацией; x100 (д); тотальная фрагментация; x100 (е)

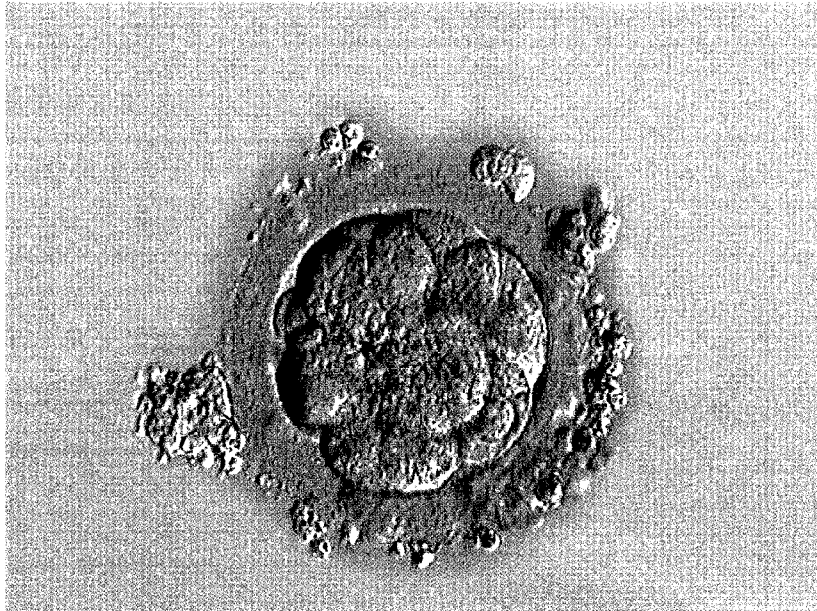


В

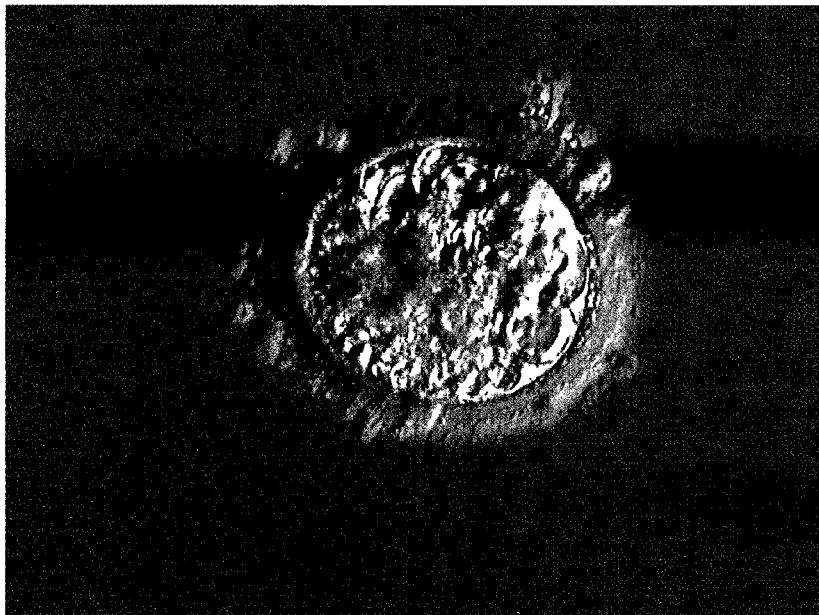


Г

Фото 4.10. (продолжение)



д



е

Фото 4.10. (продолжение)

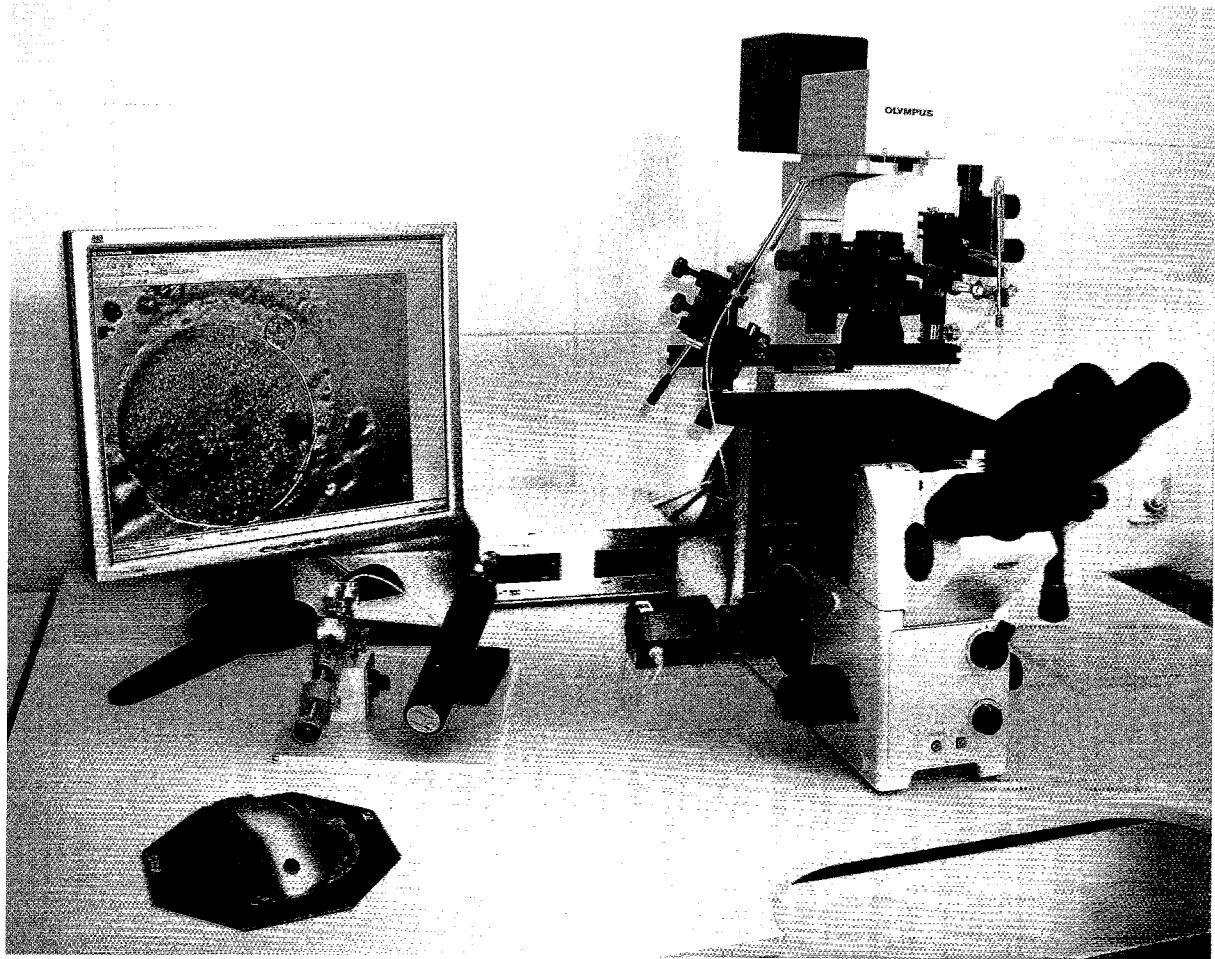
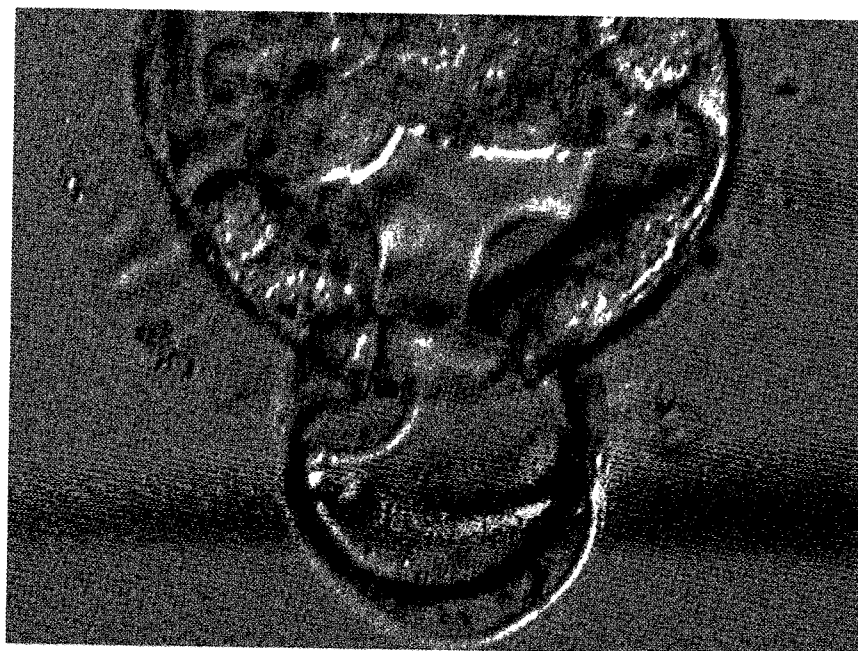
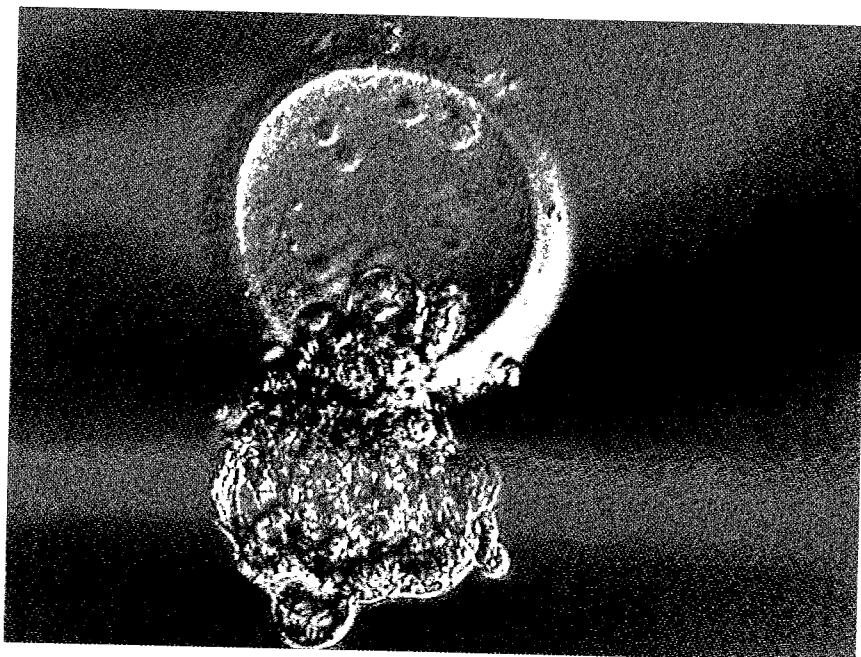


Фото 4.11. Рабочее место эмбриолога с оборудованием для лазерного хэтчинга



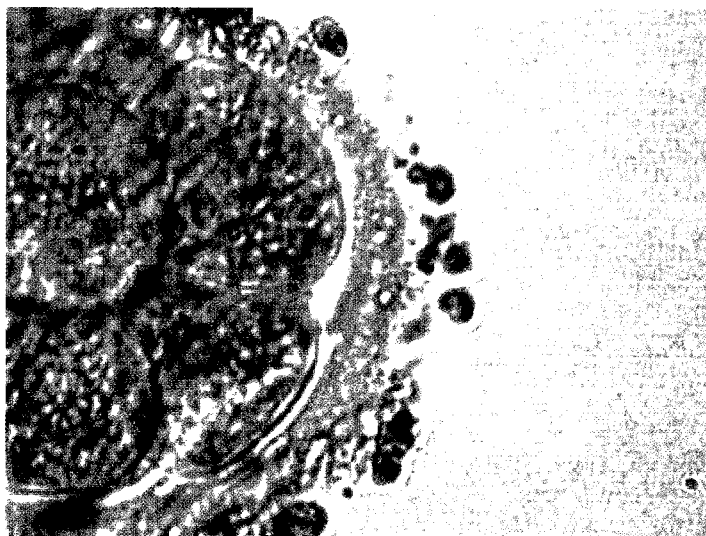
а

Фото 4.12. Этапы естественного хэтчинга: начало хэтчинга; х200 (**а**); завершение хэтчинга; х100 (**б**)

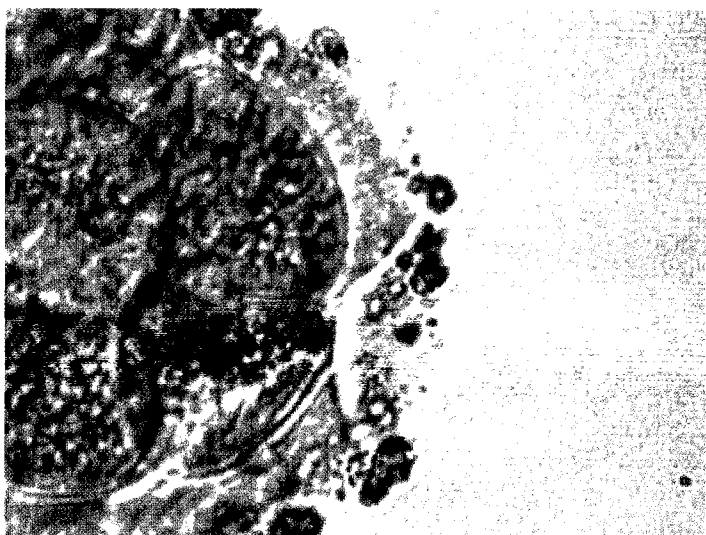


6

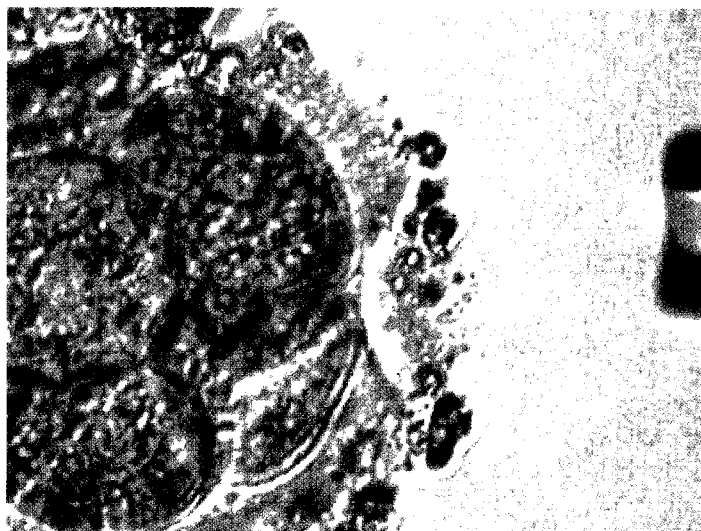
Фото 4.12. (продолжение)



а

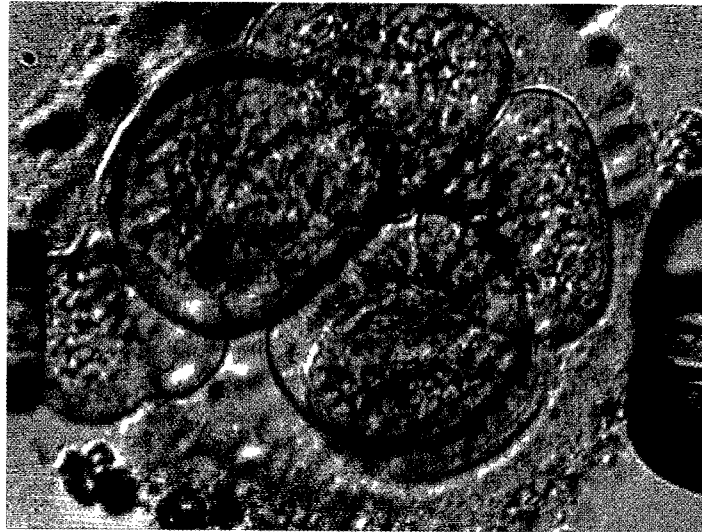


б

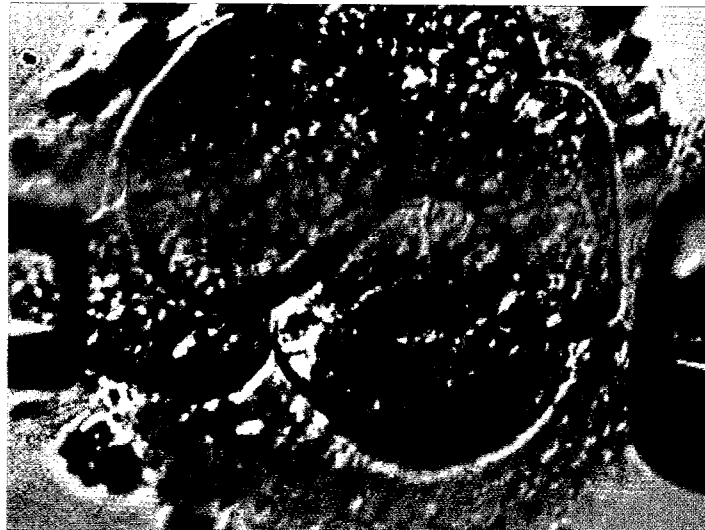


в

e

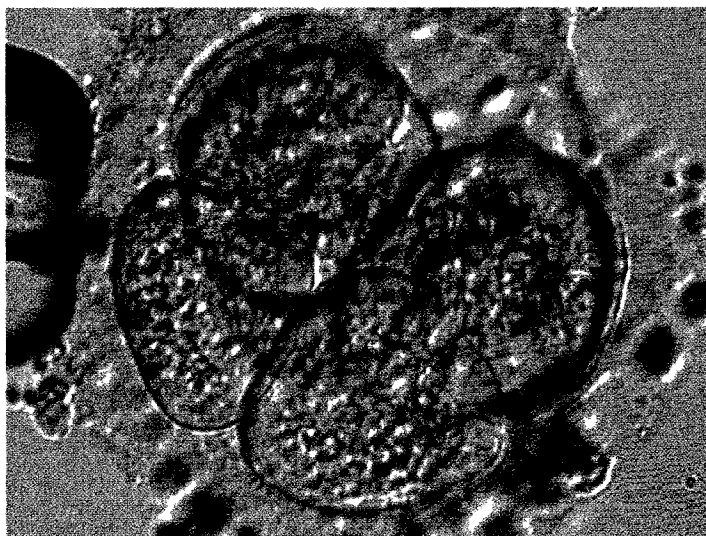


f

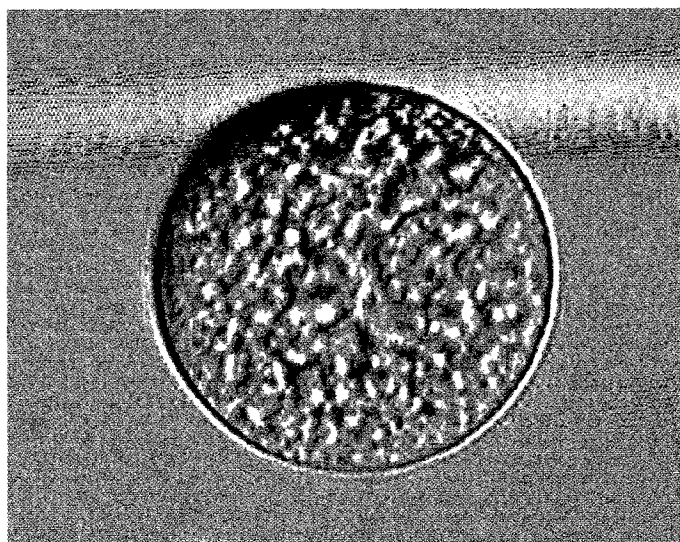


g





ж



з

Фото 4.13. Последовательность проведения биопсии blastомера для ПГД: зафиксированный с помощью пипетки-держателя эмбрион (а); эмбрион с отверстием в зоне пеллюцида (б, в); постепенное извлечение пипеткой blastомера (г-е); эмбрион без одного blastомера (ж); извлеченный blastомер (з); x200

Случай 13

В Клинику проблем планирования семьи (Киев, Украина) обратилась супружеская пара в связи с первичным бесплодием (20 лет) и тремя неудачными программами ЭКО в клиниках СНГ. Супруге 39 лет, кариотип: 46,XX.

Супругу 42 года, спермиологический анализ показал олиготератозооспермию. При цитогенетическом обследовании была обнаружена сбалансированная структурная перестройка, кариотип: 46,XY,t(2;5)(q21;p15.1) **(фото 4.14)**. Молекулярно-цитогенетический анализ с помощью теломерных ДНК зондов подтвердил наличие транслокации и уточнил точки разрывов хромосом.

Семье была предложена преимплантационная генетическая диагностика для выявления эмбрионов со сбалансированным и несбалансированным кариотипом.

В ходе проведения лечебной программы ЭКО с ICSI получено пять эмбрионов различного качества: два с равномерным делением клеток и три с элементами фрагментации. После забора бластомеров, их фиксации и гибридизации *in situ* проводили анализ сигналов в бластомерах. Во всех извлеченных бластомерах визуализировали гибридизационные сигналы, однако их количество различалось. Один эмбрион содержал сбалансированный кариотип – в бластомерах наблюдали по два сигнала хромосомы 2 и хромосомы 5 **(фото 4.15)**. У четырех эмбрионов выявлен несбалансированный кариотип – в бластомерах визуализировали два сигнала хромосомы 2 и три сигнала хромосомы 5 **(фото 4.16)**. В полость матки был перенесен один эмбрион со сбалансированным кариотипом. Беременность не наступила.

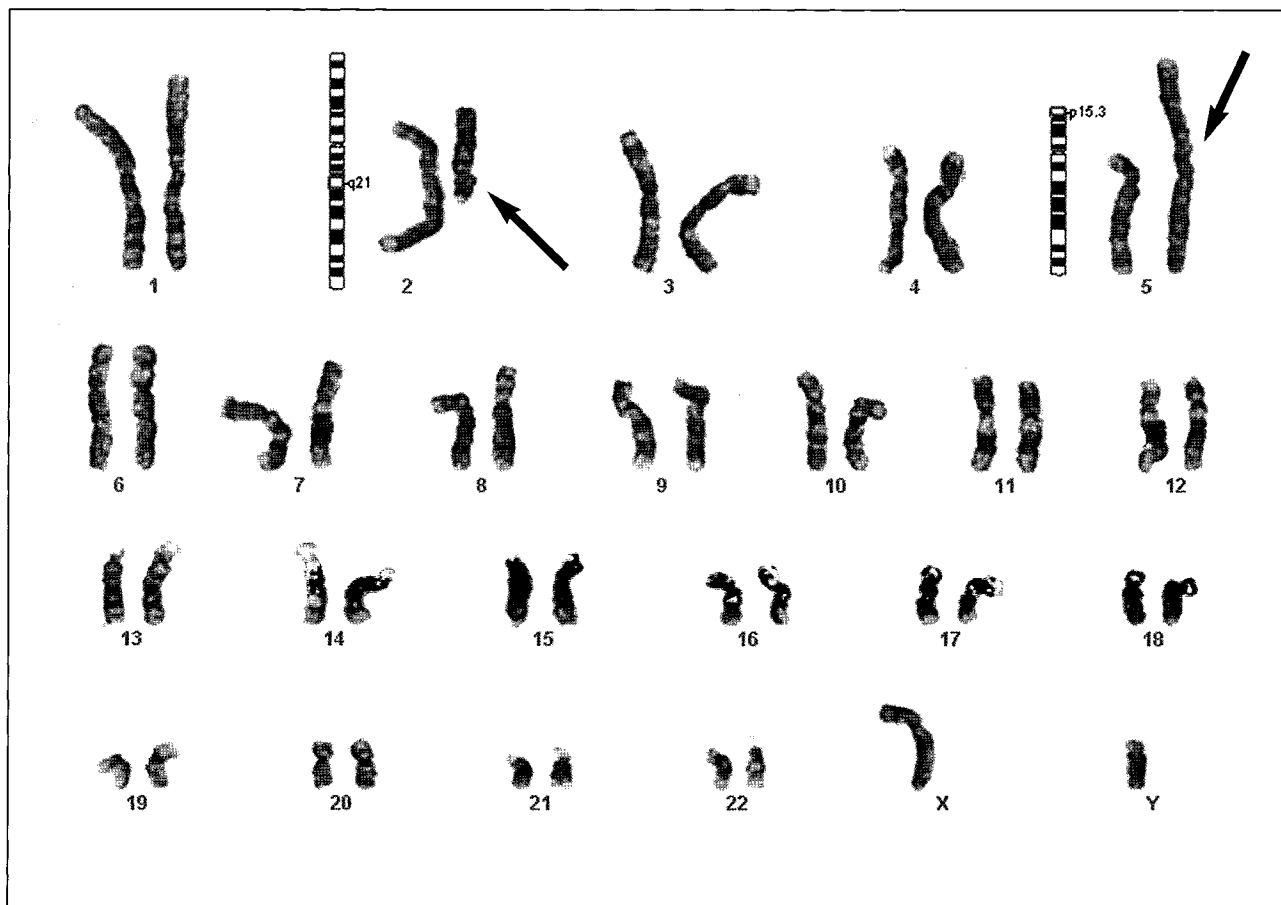


Фото 4.14. Кариотип супруга, клетка с хромосомным набором 46,XY,t(2;5)(q21;p15.3); x1000. Стрелками указаны хромосомы, участвующие в транслокации (**Случай 13**)



Фото 4.15. Интерфазная FISH на бластомере; x1000. Стрелками указаны хромосомы 2 и 5. Видны две хромосомы 2 и две хромосомы 5 (**Случай 13**)

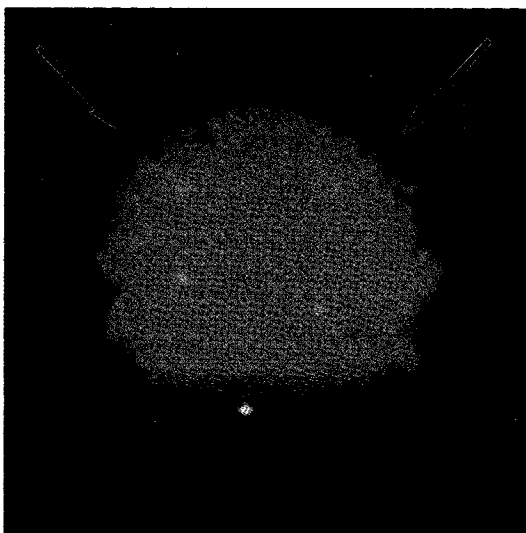


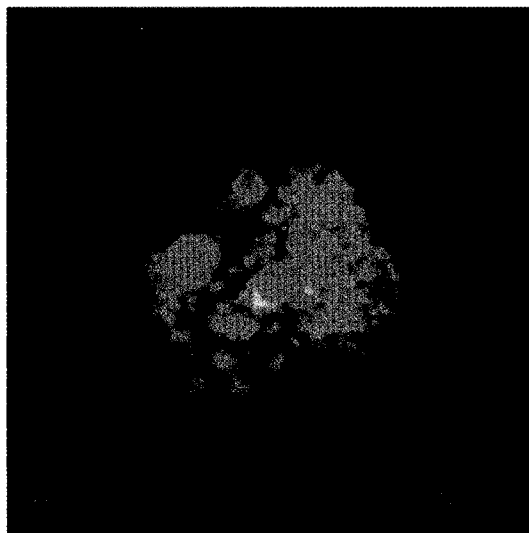
Фото 4.16. Интерфазная FISH на бластомере; x1000. Стрелками указаны хромосомы 2 и 5. Видны две хромосомы 2 и три хромосомы 5 (**Случай 13**)

Случай 14

В Клинику проблем планирования семьи (Киев, Украина) обратилась супружеская пара в связи с планированием пола будущего ребенка. В анамнезе первый ребенок с миодистрофией Дюшенна. На момент обращения супругов ДНК анализ на бластомерах не выполнялся.

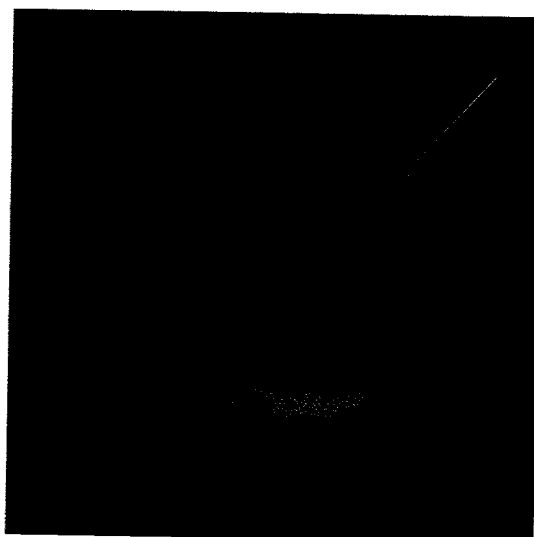
После проведения лечебной программы ЭКО с ICSI на 3-и сут после оплодотворения было получено 17 эмбрионов; из них с нормальной морфологией – 12, с фрагментацией – 5. Для проведения ПГД использовали ДНК зонды на центромерные участки хромосом X и Y (СЕР X и СЕР Y). Установление пола эмбриона было возможно в четырнадцати случаях: наличие одного сигнала на хромосому X и одного сигнала на хромосому Y – в восьми случаях; наличие двух сигналов на хромосому X – в пяти случаях; наличие одного сигнала на хромосому X и отсутствие второго сигнала – в одном случае (**фото 4.17**). Отсутствие сигналов наблюдалось в трех бластомерах, полученных из эмбрионов с фрагментацией. Бластомер с наличием одного сигнала на хромосому X и отсутствием второго также был получен у эмбриона с фрагментацией.

В полость матки были перенесены пять эмбрионов женского пола. При проведении УЗИ на 22-й день после переноса эмбрионов визуализировались три плодных яйца (**фото 4.18**). Цитогенетический анализ ворсин хориона показал нормальный хромосомный набор у всех трех плодов (кариотип 46,XX). По просьбе пациентов была произведена селективная редукция двух эмбрионов. Согласно десятилетнему опыту работы Клиники проблем планирования семьи (Киев, Украина) вероятность осложнений после селективной редукции составляет 0,1 %. Последующее УЗИ показало нормальное развитие плода (**фото 4.19**). Беременность закончилась рождением здоровой доношенной девочки. Ребенок развивается нормально.



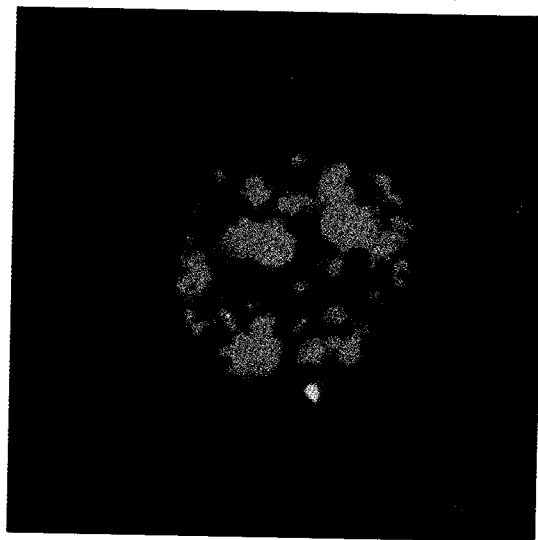
а

Фото 4.17. Интерфазная двухцветовая FISH на бластомерах (СЕР X маркирован FITC – зеленый, СЕР Y маркирован родамином – красный). Стрелками указано наличие одного сигнала на хромосоме X и одного сигнала на хромосоме Y (**а**); наличие двух сигналов на хромосоме X (**б**); наличие одного сигнала на хромосоме X (**в**); x1000 (**Случай 14**)



б

Фото 4.17. (продолжение)



В

Фото 4.17. (продолжение)

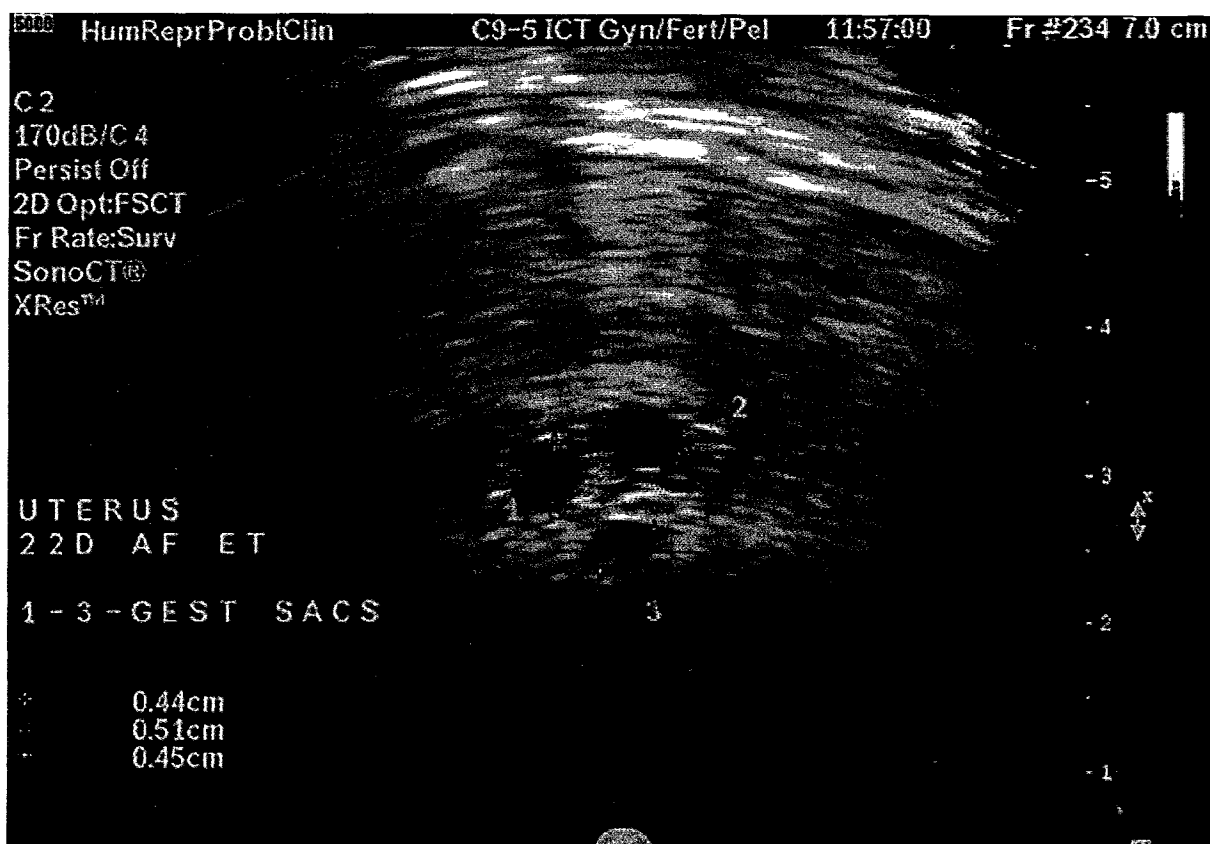
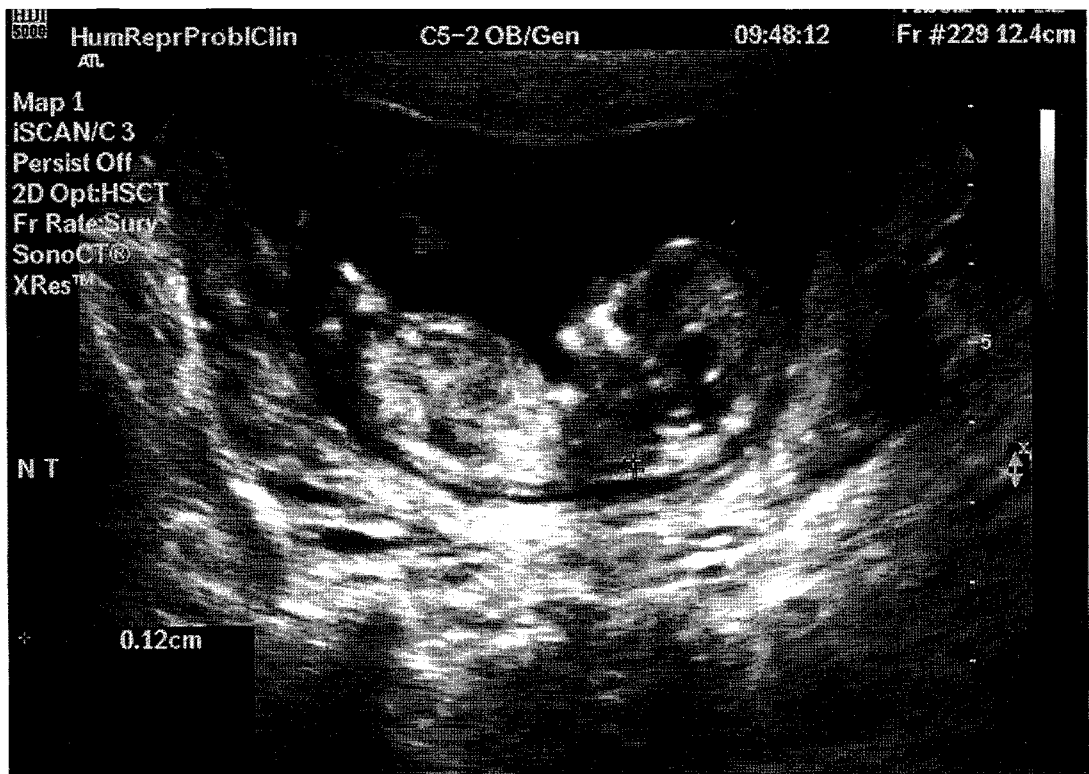
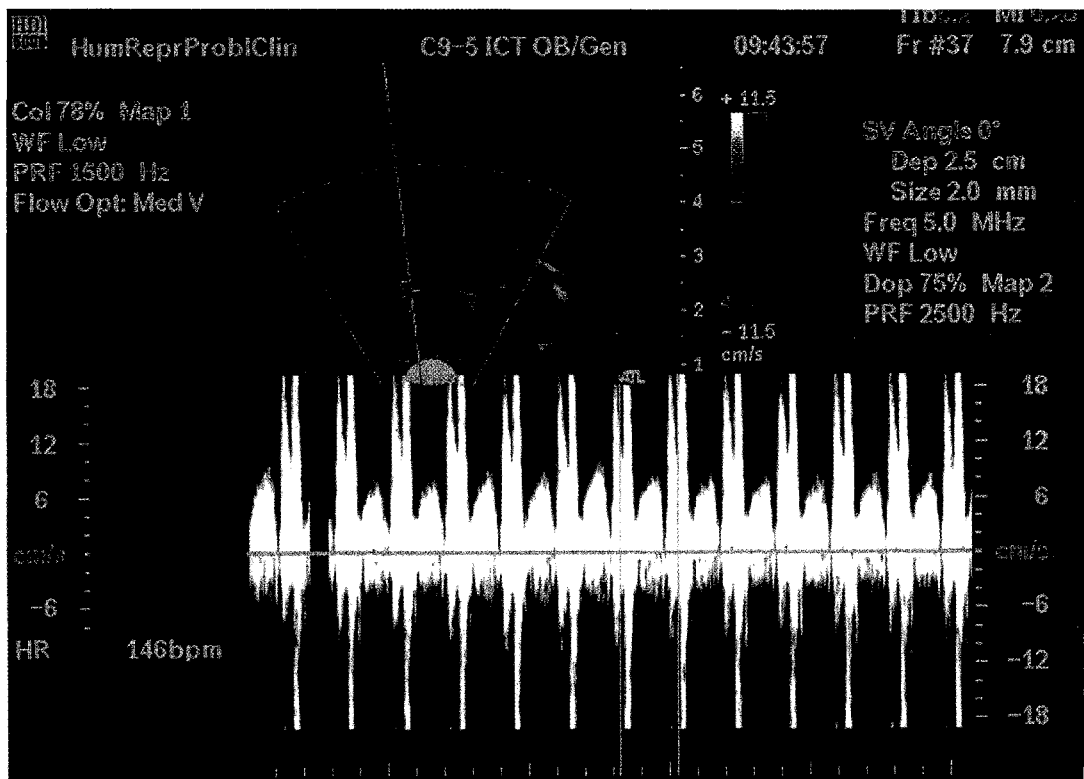


Фото 4.18. Визуализация трех плодных яиц в полости матки с помощью УЗИ-сканирования на 20-й день после переноса эмбрионов (**Случай 14**)



а



б

Фото 4.19. Ультразвуковое исследование плода на 12-й неделе гестации: толщина воротникового пространства 0,12 см (а); регистрация частоты сердечных сокращений с помощью пульсовой доплерометрии (б) (Случай 14)