

РЕЦИПРОКНІ ТА РОБЕРТСОНІВСЬКІ ТРАНСЛОКАЦІЇ: ЧАСТОТИ ЗБАЛАНСОВАНИХ ВАРІАНТІВ СЕГРЕГАЦІЇ У СПЕРМАТОЗОЇДАХ НОСІЇВ

Клініка репродуктивної медицини «Надія», Київ

Реципрокні (Rec) та робертсонівські транслокації (Rob) — найпоширеніший тип структурних хромосомних перебудов, які виявляють серед новонароджених із частотою 0,178 та 0,086 % відповідно [1]. Виникають Rec у результаті обміну сегментами між двома хромосомами з утворенням дериватних хромосом без зміни кількості генетичного матеріалу, однак зі змінами його розташування, а Rob утворюються внаслідок центромерного злиття двох акроцентричних хромосом із формуванням дериватної хромосоми. Оскільки каріотип носіїв транслокацій залишається збалансованим, фенотиповий прояв перебудов, зазвичай, відсутній. Однак накопичуються дані про порушення сперматогенезу у носіїв транслокацій від незначного зниження рухливості, концентрації та морфологічних характеристик еякуляту до тяжкої олігоастенотератозооспермії або азооспермії [2; 3].

Частота транслокацій у підгрупах чоловіків із безплідністю перевищує популяційну у 8–10 разів, а також позитивно корелює зі ступенем тяжкості порушень сперматогенезу [2–4].

Ймовірно, транслокації є фактором, який, затримуючи анафазу, порушує нормальний перебіг мейозу та призводить до часткового або повного блоку сперматогенезу. Для проходження мейозу у носіїв транслокацій необхідним є формування специфічних структур (тривалентів у носіїв Rob та тетравалентів у носіїв Rec), тип анафазного розходження яких зумовлює утворення або нормальних/збалансованих гамет (альтерна-

тивний тип сегрегації, Alt) або гамет із незбалансованим хромосомним набором (тип спільної сегрегації-1 (Adj-1), сумісної сегрегації-2 (Adj-2), 3 : 1, 3 : 0) (рис. 1).

Підвищена частота утворення незбалансованих гамет призводить до зростання у носіїв транслокацій ризику невино-

шування або народження дітей із незбалансованим хромосомним набором. Оцінка частот утворення незбалансованих сперматозоїдів дозволяє індивідуалізувати вищенаведені ризики та проводиться із застосуванням двох підходів: міжвидового запліднення ооцитів хом'яка сперматозоїдами носіїв із

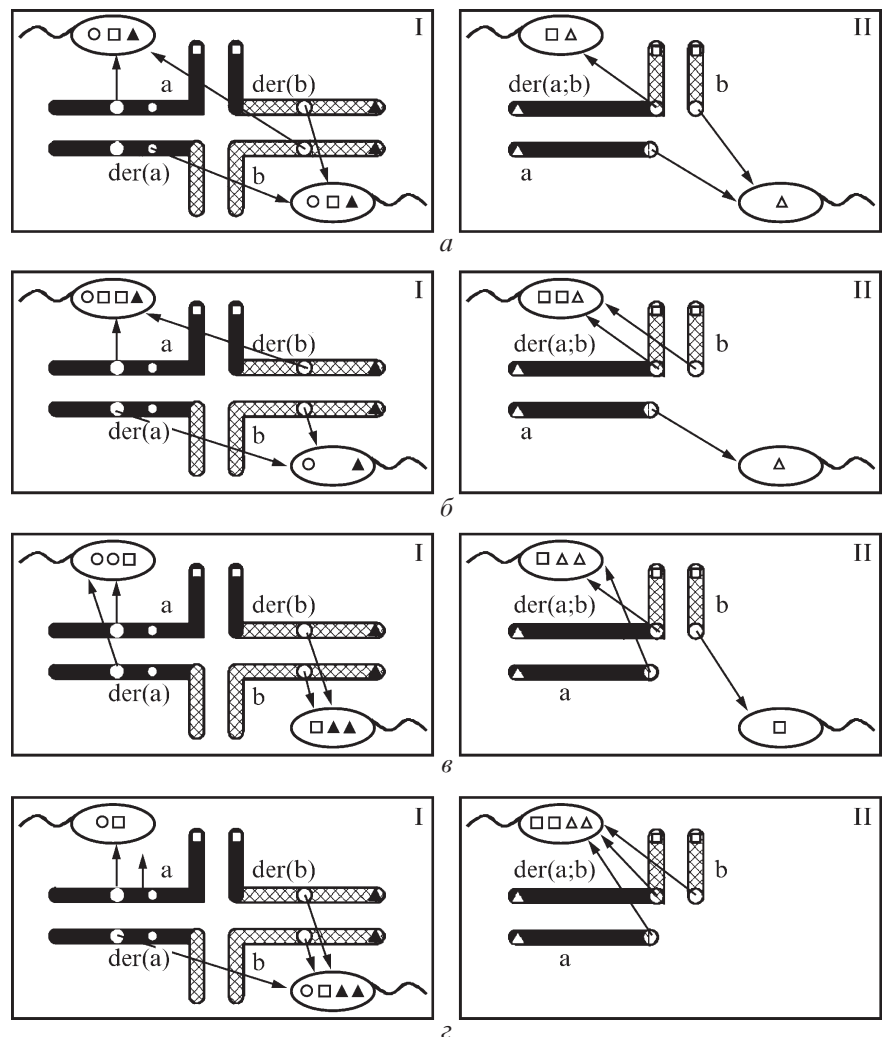


Рис. 1. Схема утворення тетра- (I) і тривалентів (II) у пахітені та варіанти сегрегації транслокацій у гаметах носіїв (пунктиром позначені осі сегрегації): *a* — альтернативний тип сегрегації (Alt); *b* — сегрегація за сумісним типом-1 (Adj-1); *в* — сегрегація за сумісним типом-2 (Adj-2); *z* — сегрегація за типом 3 : 1 та 3 : 0

**Частоти утворення
нормальних/збалансованих
сперматозоїдів у носіїв Rob**

Поси- лання	N паці- єнта	N клітини	Середня частота гамет із Alt, %
der(13;14)			
[5]*	1	117	73,5
[6]*	1	45	91,1
[7]*	1	78	92,3
[12]	7	5213	84,6
[13]	6	8775	86,1
[14]	2	600	84,9
[15]	5	842	71,5
[16]	11	9881	81,8
[17]	5	5000	78,2
der(13;22)			
[11]	1	10157	98,9
der(14;21)			
[12]	2	2098	86,8
[16]	3	3000	90,3
[17]	3	3000	75,8
der(13;21)			
[19]	1	2000	86,3
[17]	1	1000	94,4
der(13;15)			
[20]	1	891	77,5
der(14;15)			
[20]	1	7978	91,9
[19]	1	1000	94,9

Примітка. * — дослідження прове-
дені із застосуванням міжвидового за-
пліднення.

еякуляту. Зокрема, Ferfour et al. (2011) виявили обернену залежність між частотою незбалансованих варіантів сегрегації та концентрацією сперматозоїдів [16]. Таким чином, у носіїв Rob переважає альтернативний тип сегрегації з утворенням нормальних/збалансованих гамет, частота яких може варіювати від 73 до 99 %.

**Частоти утворення
незбалансованих
сперматозоїдів у носіїв Rec**

Дослідження особливостей мейотичної сегрегації у носіїв Rec виявили значний розмах варіювання частот нормальних/

подальшим визначенням каріо-
типу зигот [5; 6] та досліджен-
ня частот сегрегаційних варі-
антів із застосуванням флуо-
ресцентної гібридизації *in situ*
(FISH) [7]. Нижче наведено ана-
ліз результатів досліджень особ-
ливостей мейотичної сегрегації
Rec та Rob, проведених із за-
стосуванням обох підходів.

**Методи для визначення
частки незбалансованих гамет
у носіїв транслокацій**

Сперматозоїд — високоди-
ференційована клітина зі знач-
ним рівнем конденсації хрома-
тину, що досягається за раху-
нок часткової заміни гістонів на
протаміни [8]. Для дослідження
хромосомного набору сперма-
тозоїдів необхідно є декон-
денсація хроматину. Перший
метод, який застосовували для
досягнення даної мети, — між-
видове запліднення позбавле-
них блискучої оболонки яйце-
клітин хом'яка сперматозоїда-
ми носіїв транслокацій [5; 6].
Після запліднення деконденса-
ція хромосомного матеріалу із
подальшим формуванням про-
нуклеусів відбувається у цито-
золі. Даний процес блокують
додаванням антимітотичних ре-
човин у момент досягнення ге-
терозиготою метафази мітозу.
Фіксація зиготи дозволяє дослі-
дити хромосомний набір із за-
стосуванням стандартних цито-
генетичних методів фарбування
метафазних хромосом.

Унікальність даного підходу
полягає у можливості визначен-
ня повного хромосомного на-
бору сперматозоїда, що дозво-
ляє розрізняти нормальні та
збалансовані варіанти сегрега-
ції. Однак через значну трудно-
місткість і низьку частоту за-
пліднення кількість хромосом-
них наборів, яку можна дослі-
дити у кожному випадку, зі ста-
тистичної точки зору, є недо-
статньою для встановлення
особливостей мейотичної сег-
регації транслокацій [9].

Використання методу FISH
дозволяє подолати дані обмежен-
ня та проводити аналіз гібри-

дизації зондів до ДНК декон-
денсованих ядер значної кілько-
сті сперматозоїдів. Зазвичай за-
стосовують комбінації із центро-
мерних, теломерних або локус-
специфічних зондів різного
кольору, які допомагають іден-
тифікувати сперматозоїди з нор-
мальним/збалансованим і незба-
лансованим хромосомним набо-
ром, але не дають можливості
дослідити повний каріотип.

Найсучаснішим методом пов-
ногеномного хромосомного до-
слідження є матрична порів-
няльна геномна гібридизація
(еррей-ПГГ), що дозволяє вияв-
ляти хромосомні аномалії з роз-
дільною здатністю від 1–2 Мб
до 50 kb залежно від матриць,
що застосовуються. Сьогодні
дослідження сегрегації Rec бу-
ли проведені лише у 43 сперма-
тозоїдах одного носія t(2;12)
[10]. Висока вартість і трудно-
місткість — головні обмеження
еррей-ПГГ, які унеможлиблю-
ють широке клінічне застосу-
вання даного методу для дослі-
дження частот незбалансованих
сперматозоїдів у носіїв транс-
локацій.

**Частоти утворення
незбалансованих
сперматозоїдів у носіїв Rob**

За результатами досліджень
особливостей мейотичної сег-
регації Rob виявлено значне ва-
ріювання частот утворення нор-
мальних/збалансованих сперма-
тозоїдів: від 73,5 % [5] до 98,9 %
[11], у середньому (84,5±7,0) %
(табл. 1).

Переважає у носіїв Rob
альтернативного типу сегрега-
ції зумовлено утворенням три-
валентну у профазі I мейозу із
cis-конфігурацією, яка є більш
схильною до розходження за
альтернативним типом, що зу-
мовлює переважне утворення
гамет із нормальним/збалансо-
ваним хромосомним набором
[21]. Тим не менше, розмах ва-
ріювання частот нормальних/
збалансованих гамет у носіїв
Rob залишається значним і мо-
же бути зумовленим як типом
Rob, так і характеристиками

збалансованих гамет (від 18,6 до 80,7 %), у середньому ($42,5 \pm \pm 10,7$) % [7; 9; 13]. Одержані результати є більш гетерогенними, ніж у носіїв Rob. Теоретично, у носіїв Rec повинні переважати типи сегрегації Alt і Adj-1, оскільки гомологічні центромери мають тенденцію до розходження до протилежних полюсів, як за нормального перебігу анафази. Такі особливості сегрегації були виявлені у низці досліджень [22; 23]. Оскільки сегрегація за типом Adj-2 та 3 : 1 характеризується розходженням гомологічних центромер до одного полюса (як під час випадкового нерозходження хромосом), дані типи сегрегації повинні бути менш поширеними. Втім, описані випадки переважної сегрегації як за типом Adj-2, так і за типом 3 : 1 у окремих носіїв Rec [7; 13; 22; 23]. Такі відхилення очікуваних частот сегрегаційних варіантів свідчать про залежність картини мейотичної сегрегації Rec від цитогенетичних характеристик перебудови: локалізації точок розриву та сполучення, розміру транслокованих сегментів, залученості eu- та гетерохроматинових районів, — які визначають конфігурацію тетраваленту та його схильність до переважної сегрегації за певним типом. Виявлення близьких частот сегрегаційних варіантів у носіїв сімейних транслокацій також свідчить про визначеність напрямку сегрегації цитогенетичними характеристиками перебудови. Так, існують роботи із дослідження сегрегації t(15;17) у батька і трьох синів [24] та t(7;8) у двох братів [25], де описано близькі частоти сегрегаційних варіантів.

Таким чином, у носіїв Rec, як правило, утворюється більше гамет із незбалансованим, ніж збалансованим хромосомним набором. Однак особливості сегрегації Rec залежать від цитогенетичних характеристик перебудови, тому є індивідуальними, що ускладнює медико-генетичне консультування носіїв.

Роль досліджень сегрегації хромосом у репродуктивному консультуванні носіїв транслокацій

Через підвищену частоту утворення незбалансованих гамет у носіїв транслокацій зростає ризик безпліддя, невиношування та народження дітей із хромосомними аномаліями. Тому у разі настання вагітності носіям транслокацій рекомендують проводити пренатальну діагностику для виключення незбалансованого каріотипу плода. Альтернативою інвазивній пренатальній діагностиці та перериванню вагітності у разі незбалансованого варіанта сегрегації батьківської транслокації у плода є передімплантаційна генетична діагностика (ПГД) у програмах допоміжних репродуктивних технологій (ДРТ). Завдяки переносу у порожнину матки ембріонів із нормальним/збалансованим хромосомним набором, ПГД дозволяє не лише знизити ризик мимовільного викидня або народження дитини із хромосомною патологією, а й підвищити ймовірність настання вагітності [26]. Escudero et al. (2003) виявили кореляцію між частотами незбалансованих сперматозоїдів та передімплантаційних ембріонів із незбалансованим варіантом сегрегації батьківської транслокації [27]. Тому результати FISH досліджень сегрегації транслокацій у сперматозоїдах носіїв можуть бути використані для прогнозування ймовірності одержання ембріонів із нормальним/збалансованим хромосомним набором при проведенні ПГД у програмах ДРТ.

Висновки

Носії Робертсонівських транслокацій характеризуються гомогенною картиною сегрегації хромосом із переважанням альтернативного типу з утворенням нормальних/збалансованих за хромосомним набором сперматозоїдів (від 18,6 до 80,7 %). Носії реципрокних транслокацій

мають індивідуальні особливості мейотичної сегрегації транслокацій, що залежать від цитогенетичних характеристик перебудови; частота утворення нормальних/збалансованих гамет може варіювати від 18,6 до 80,7 %. Результати дослідження сегрегації транслокацій у сперматозоїдах носіїв дозволяють індивідуалізувати репродуктивні ризики при проведенні медико-генетичного консультування, особливо перед програмами допоміжних репродуктивних технологій із передімплантаційною генетичною діагностикою. Враховуючи досить низьку популяційну частоту реципрокних і Робертсонівських транслокацій, необхідним є накопичення даних про особливості їх мейотичної сегрегації.

ЛІТЕРАТУРА

1. De Braekeleer M. Cytogenetic studies in male infertility: a review / M. De Braekeleer, T. N. Dao // Hum. Reprod. – 1991. – Vol. 6. – P. 245–250.
2. Chromosomal abnormalities in patients with oligozoospermia and non-obstructive azoospermia / L. Y. Pylyp, L. O. Spinenko, N. V. Verhoglyad [et al.] // J. Assist. Reprod. Genet. – 2013. – Vol. 30. – P. 729–732.
3. Influence of genetic abnormalities on semen quality and men fertility: a four-year prospective study / E. Elfateh, R. Wang, Z. Zhang [et al.] // Iran. J. Reprod. Med. – 2014. – Vol. 12. – P. 95–102.
4. The prevalence of chromosomal abnormalities in subgroups of infertile men / E. C. Dul, H. Grohen, J. van Echten-Arends [et al.] // Hum. Reprod. – 2012. – Vol. 27. – P. 36–43.
5. Martin R. H. Cytogenetic analysis of sperm from a male heterozygous for a 13;14 Robertsonian translocation / R. H. Martin // Hum. Genet. – 1988. – Vol. 80. – P. 357–361.
6. Chromosome analysis of human spermatozoa from an oligoasthenozoospermic carrier for a 13;14 Robertsonian translocation by their injection into mouse oocytes / S. Ogawa, S. Araki, Y. Araki [et al.] // Hum. Reprod. – 2000. – Vol. 15. – P. 1136–1139.
7. Meiotic segregation of translocations during male gametogenesis / F. Morrel, N. Douet-Guilbert, M. J. Le Bris [et al.] // Int. J. Androl. – 2004. – Vol. 27. – P. 200–212.
8. Oliva R. Proteomics and the genetics of sperm chromatin condensation

/ R. Oliva, J. Castillo // *As. J. Androl.* – 2012. – Vol. 13. – P. 24–30.

9. *Guttenbach M.* Analysis of structural and numerical chromosome abnormalities in sperm of normal men and carriers of constitutional chromosome aberrations. A review / M. Guttenbach, W. Engel, M. Schmid // *Hum. Genet.* – 1997. – Vol. 100. – P. 1–21.

10. *Molecular* karyotyping of human single sperm by array-comparative genomic hybridization / C. Patassini, A. Garolla, A. Bottacin [et al.] // *PLOS one.* – 2013. – Vol. 8. – P. 1–7.

11. *Sperm* segregation analysis of a (13;22) Robertsonian translocation carrier by FISH: a comparison of locus-specific probe and whole chromosome painting / T. Anahory, S. Hamamah, B. Andero [et al.] // *Hum. Reprod.* – 2005. – Vol. 20. – P. 1850–1854.

12. *Chromosomal* segregation in sperm of 14 Robertsonian translocation carriers / G. Ogur, E. Van Assche, W. Vegetti [et al.] // *Mol. Hum. Rep.* – 2006. – Vol. 12. – P. 209–215.

13. *DNA* fragmentation and meiotic segregation in sperm of carriers of a chromosomal structural abnormality / A. Perrin, E. Caer, M. Oliver-Bonet [et al.] // *Fertil. Steril.* – 2009. – Vol. 92. – P. 583–589.

14. *Sperm* fluorescence in situ hybridization study in nine men carrying a Robertsonian or a reciprocal translocation: relationship between segregation modes and high-magnification sperm morphology examination / N. G. Cassuto, N. Le Foll, S. Chantot-Bastaraud [et al.] // *Fertil. Steril.* – 2011. – Vol. 96. – P. 826–832.

15. *Mahjob M.* Chromosomal segregation in spermatozoa of five Robertsonian translocation carriers t(13;14) / M. Mahjob, M. Mehdi, S. Brahem // *J. Assist. Reprod. Genet.* – 2011. – Vol. 28. – P. 607–613.

16. *The chromosomal* risk in sperm from heterozygous Robertsonian translocation carriers is related to the sperm count and the translocation type / F. Fefouri, J. Selva, F. Boitrelle [et al.] // *Fertil. Steril.* – 2011. – Vol. 96. – P. 1337–1343.

17. *Rare* Robertsonian translocations and meiotic behaviour: sperm FISH analysis of t(13;15) and t(14;15) translocations: a case report / K. Moradkhani, J. Puechberty, S. Bhatt [et al.] // *Hum. Reprod.* – 2006. – Vol. 21. – P. 3193–3198.

18. *Analysis* of meiotic segregation patterns and interchromosomal effects in sperm from a Robertsonian translocation family / S. Xu, D. Tang, K. Fang [et al.] // *Biomed. Res.* – 2014. – Vol. 25. – P. 233–239.

19. *Analysis* using fish of sperm and embryos from two carriers of rare rob(13;21) and rob(15;22) robertsonian translocation undergoing PGD / I. Bernicot, A. Schneider, A. Mace [et al.] // *Eur. J. Med. Genet.* – 2012. – Vol. 55. – P. 245–251.

20. *Pylyp L. Y.* Chromosomal segregation in sperm of Robertsonian translocation carriers / L. Y. Pylyp, V. D. Zukin, N. M. Bilko // *J. Assist. Reprod.* – 2013. – Vol. 30. – P. 1141–1145.

21. *Luciani J. M.* Pachytene analysis of a man with a 13q;14q translocation and infertility. Behavior of the trivalent

and nonrandom association with the sex vesicle / J. M. Luciani, M. R. Guichaoua, A. Mattei // *Cytogenet. Cell. Genet.* – 1984. – Vol. 38. – P. 14–22.

22. *Anton E.* Role of sperm FISH studies in the genetic reproductive advice of structural reorganization carriers / E. Anton, F. Vidal, J. Blanco // *Hum. Reprod.* – 2007. – Vol. 22. – P. 2088–2032.

23. *Segregation* of chromosomes in sperm of reciprocal translocation carriers: a review / J. Benet, M. Oliver-Bonet, P. Cifuentes [et al.] // *Cytogenet. Gen. Res.* – 2005. – Vol. 111. – P. 281–290.

24. *Cora T.* Molecular cytogenetic detection of meiotic segregation patterns in sperm nuclei of carriers of 46,XY,t(15;17)(q21; q25) / T. Cora, H. Acar, M. Kaynak // *J. Androl.* – 2002. – Vol. 23. – P. 793–798.

25. *Meiotic* segregation of a t(7;8)(q11. 21;cen) translocation in two carrier brothers / F. Morel, N. Douet-Guilbert, C. Roux [et al.] // *Fertil. Steril.* – 2004. – Vol. 81. – P. 682–685.

26. *Fischer J.* Preimplantation genetic diagnosis (PGD) improves pregnancy outcome for translocation carriers with a history of recurrent losses / J. Fischer, P. Colls, T. Escudero // *Fertil. Steril.* – 2010. – Vol. 94. – P. 283–286.

27. *Predictive* value of sperm fluorescence in situ hybridization analysis on the outcome of preimplantation genetic diagnosis for translocations / T. Escudero, I. Abdelhadi, M. Sandalinas [et al.] // *Fertil. Steril.* – 2003. – Vol. 79. – P. 1528–1534.

УДК [575.116.4+576.316]:001.891.5

Л. Я. Пилип

РЕЦИПРОКНІ ТА РОБЕРТСОНІВСЬКІ ТРАНСЛОКАЦІЇ: ЧАСТОТИ ЗБАЛАНСОВАНИХ ВАРІАНТІВ СЕГРЕГАЦІЇ У СПЕРМАТОЗОЇДАХ НОСІЇВ

Гетерозиготне носійство реципрокних та робертсонівських транслокацій не має фенотипового прояву. Мейотична сегрегація перебудов відбувається за рахунок утворення три- та тетравалентів, тип анафазного розходження яких зумовлює утворення у носіїв не лише збалансованих, але й незбалансованих за хромосомним набором гамет, підвищуючи ризик безплідності, невиношування та народження дітей із хромосомними аномаліями. Наводяться результати дослідження сегрегації транслокацій у сперматозоїдах носіїв, які дозволяють не лише проаналізувати особливості мейотичної сегрегації транслокацій, але й оцінити репродуктивні ризики у їх носіїв.

Ключові слова: реципрокні і робертсонівські транслокації, мейотична сегрегація.

UDC [575.116.4+576.316]:001.891.5

L. Ya. Pylyp

RECIPROCAL AND ROBERTSONIAN TRANSLOCATIONS: THE AMOUNT OF UNBALANCED SEGREGATION MODES IN SPERM OF CARRIERS

Reciprocal and Robertsonian translocations do not normally manifest phenotypically. Meiotic segregation of translocation is achieved by tri- or tetravalent formation. These structures segregate at anaphase in different modes, leading to the production of both balanced and unbalanced gametes and increasing the risk of infertility, miscarriage or livebirth of children with chromosomal abnormalities in translocation carriers.

The review of translocation segregation research results is provided in the article, leading not only to understanding of mechanisms of meiotic segregation of translocations, but also providing the information for reproductive risks assessment.

Key words: reciprocal and Robertsonian translocations, meiotic segregation.