

Сперматологические нарушения у мужчин-носителей робертсоновских транслокаций

Андреева М.В.¹, Курило Л.Ф.¹, Сорокина Т.М.¹, Соловова О.А.^{1,2}, Черных В.Б.¹

1 — ФГБНУ «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова»;

115522, г. Москва, ул. Москворечье, д.1

2 — ГБУЗ МО «Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М. Ф. Владимирского»

129110, г. Москва, ул. Щепкина, д. 61/2

Введение. Робертсоновские транслокации (РТ) являются наиболее частым типом сбалансированных структурных перестроек. Носители РТ имеют повышенный риск нарушений репродукции (бесплодия и невынашивания, рождения детей с хромосомными аномалиями/МВПР), но механизмы нарушений гаметогенеза и фертильности у них недостаточно изучены.

Цель: оценить состояние, параметры эякулята и прохождение мейоза у мужчин-носителей РТ.

Методы. Обследована группа из 21 мужчины с бесплодием в браке, являющихся носителями РТ: rob(13;14) (n=16), rob(13;15) (n=3), rob(13;21) (n=1) и rob(14;15) (n=1). Кариотип определен при стандартном цитогенетическом исследовании с использованием GTG-окрашивания. Всем пациентам выполняли спермиологический анализ, пяти пациентам с РТ(13;14) выполнен количественный кариологический анализ незрелых половых клеток эякулята (ККА НПК).

Результаты. У всех обследованных мужчин выявлены сперматологические нарушения, при этом преобладают тяжелые формы патозооспермии: олигоастенотератозооспермия (81%, n=17) и азооспермия (14%, n=3), у одного пациента (5%) обнаружена астеноотератозооспермия. ККА НПК позволил выявить механизм нарушения сперматогенеза – частичный блок на допахитенных стадиях и в пахитене профазы I мейоза при олигозооспермии. При нормальной концентрации сперматозоидов блок сперматогенеза в профазе I мейоза не обнаружен.

Заключение. Нарушение фертильности у обследованных мужчин-носителей РТ связано с патозооспермией и у большинства пациентов вызвано частичным блоком сперматогенеза в профазе I мейоза, приводящим к снижению количества сперматозоидов (олигозооспермии) или их отсутствию (азооспермии).

Ключевые слова: азооспермия, олигозооспермия, мейоз, мужское бесплодие, робертсоновские транслокации, сперматогенез.

Для цитирования: Андреева М.В., Курило Л.Ф., Сорокина Т.М., Соловова О.А., Черных В.Б. Сперматологические нарушения у мужчин-носителей робертсоновских транслокаций. *Медицинская генетика* 2021; 20(12): 53-57.

DOI: 10.25557/2073-7998.2021.12.53-57

Автор для корреспонденции: Черных Вячеслав Борисович, e-mail: chernykh@med-gen.ru

Финансирование. Работа выполнена в рамках государственного задания Минобрнауки России для ФГБНУ «МГНЦ» на выполнение НИР в 2021 году.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила: 01.12.2021.

Spermatological defects in male with robertsonian translocations

Andreeva M.V.¹, Kurilo L.F.¹, Sorokina T.M.¹, Solovova O.A.^{1,2}, Chernykh V.B.¹

1 — Research Centre for Medical Genetic

1, Moskvorechie st., Moscow, 115522, Russian Federation

2 — Moscow Regional Research and Clinical Institute (MONIKI)

61/2, Schepkina st., Moscow, 129110, Russian Federation

Introduction. Robertsonian translocations (RT) are the most common balanced chromosomal abnormalities. RT carriers may have an increased risk of reproductive disorders (infertility, pregnancy loss and chromosomal abnormalities/multiple congenital abnormalities in offspring), but the mechanisms of gametogenesis and fertility disorders are still under consideration.

Aim: to evaluate semen parameters and meiosis in infertile male RT carriers.

Methods. 21 men from infertile couples, RT carriers, were examined: rob(13;14), (n=16), rob(13;15) (n=3), rob(13;21) (n=1) and rob(14;15) (n=1). Chromosome analysis was performed according to a standard cytogenetic procedure using GTG staining. Semen analysis was done for all the patients, and for 5 patients with RT (13;14) quantitative karyological analysis of immature germ cells was done (QKA IGC).

Results. Abnormal semen parameters were detected in all the men examined, with severe forms of pathozoospermia prevailing: oligoasthenoteratozoospermia (81%, n=17) and azoospermia (14%, n=3); asthenoteratozoospermia was detected in one patient (5%). The QKA IGC revealed the mechanism of spermatogenesis failure - a partial arrest of spermatogenesis at the pre-pachytene

stages and in the pachytene of prophase I of meiosis in oligozoospermic samples; and the absence of meiotic arrest in semen with normal sperm concentration.

Conclusions. Subfertility in examined male RT carriers is associated with pathozoospermia and in most patients is caused by a partial arrest of spermatogenesis in prophase I of meiosis, which leads to a decrease in the number of spermatozoa (oligozoospermia) or their absence (azoospermia).

Keywords: azoospermia, oligozoospermia, meiosis, male infertility, Robertsonian translocations, spermatogenesis.

For citation: Andreeva M.V., Kurilo L.F., Sorokina T.M., Solovova O.A., Chernykh V.B. Spermatological defects in male with robertsonian translocations. *Meditsinskaya genetika [Medical genetics]* 2021; 20(12): 53-57. (In Russ.)

DOI: 10.25557/2073-7998.2021.12.53-57

Corresponding author: Vyacheslav B. Chernykh, e-mail: chernykh@med-gen.ru

Funding. The research was carried out within the state assignment of Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Accepted: 01.12.2021.

Введение

Около 15% супружеских пар испытывают проблемы репродукции, при этом в среднем в половине случаев они связаны с «мужским фактором» [1]. Генетическими причинами нарушений мужской фертильности могут быть хромосомные и генные нарушения у мужчин (синдром Клайнфельтера, полные делеции в регионе AZF хромосомы Y и др.). При некоторых типах хромосомных аномалий (сбалансированные транслокации, инверсии) нарушения репродукции могут быть выражены в разной степени. Пациенты со сбалансированными хромосомными перестройками могут иметь сохранную фертильность, частичный или полный блок сперматогенеза.

Наиболее частым типом сбалансированных структурных перестроек у человека являются робертсоновские транслокации (РТ). Большинство РТ образуются путем слияния двух негомологичных хромосом, при этом наиболее распространены транслокации хромосом 13 и 14 и хромосом 14 и 21 (около 73% и 10% всех случаев РТ, соответственно) [2]. Считается, что потеря коротких плеч акроцентрических хромосом не оказывает влияния на фенотип носителей РТ, поскольку гены, расположенные на данных участках, представлены во множестве копий. Однако образование несбалансированных гамет у таких пациентов может приводить к повышенному риску бесплодия, невынашивания беременности или рождения ребенка с пороками развития.

Частота встречаемости РТ составляет приблизительно 1:1000 новорожденных [3]. Среди мужчин с бесплодием, особенно с тяжелыми формами нарушения сперматогенеза — азооспермией (отсутствием сперматозоидов) или олигозооспермией (уменьшением количества половых клеток), частота встречаемости РТ примерно в 10 раз превышает общепопуляционную [4-7]. Мужчины с РТ могут иметь как патозооспермию разной

степени тяжести (вплоть до азооспермии), так и нормальные параметры спермограммы (нормозооспермию) [8,9], при этом точные причины и механизмы нарушения сперматогенеза у носителей РТ до настоящего времени не известны [10].

Методы

В выборку для обследования включен 21 мужчина с носительством РТ, обратившийся в лабораторию генетики нарушений репродукции ФГБНУ «МГНЦ» в связи бесплодием в браке. Обследованная группа включала 16 носителей rob(13;14), двое из которых являлись родственниками, 3 носителей rob(13;15), а также по 1 пациенту с rob(13;21) и rob(14;15). Средний возраст пациентов 33 ± 8 лет.

Кариотип определен при стандартном цитогенетическом исследовании препаратов метафазных хромосом культивированных лимфоцитов периферической крови с использованием GTG-окрашивания. Спермиологический анализ выполняли согласно рекомендациям лабораторного руководства ВОЗ [11]. Количественный кариологический анализ незрелых половых клеток (ККА НПК) из осадка эякулята выполняли по методике, разработанной Л.Ф. Курило (патент №2328736). ККА НПК выполнен 5 пациентам-носителям РТ (13;14). Индекс НПК рассчитывали как отношение количества незрелых половых клеток, найденных на 1000 сперматозоидов, к общему количеству половых клеток.

Результаты и обсуждение

Большинство обследованных мужчин (16 из 21 пациентов; 76%) являлись носителями РТ (13;14), что согласуется с данными литературы о высокой частоте

распространения данной РТ [2]. У остальных 5 мужчин выявлены другие, более редкие типы РТ (табл. 1).

У всех пациентов выявлена патозооспермия различной тяжести, при этом у мужчин с разными типами РТ отмечены сходные сперматологические нарушения. У 17 (81%) пациентов выявлена олигоастенотератозооспермия (ОАТ), т.е. низкое количество половых клеток, а также морфологически нормальных и прогрессивно подвижных сперматозоидов. Следует отметить, что у 11 из 21 (52,4%) пациентов обнаружена олигозооспермия тяжелой степени (концентрация сперматозоидов менее 1 млн/мл). У 3 (14%) мужчин выявлены азооспермия или криптозооспермия (единичные сперматозоиды в осадке эякулята), т.е. отсутствие сперматозоидов в препаратах нативного эякулята. Только у одного (5%) пациента обнаружена нормальная концентрация сперматозоидов при сниженном количестве прогрессивно подвижных (PR) и морфологически типичных сперматозоидов (астенотератозооспермия).

По данным ККА НПК из осадка эякулята у всех обследованных пациентов с РТ (13;14) отмечен повышенный индекс НПК от 7,2% до 17,3% (при норме 2-4%), а также повышенное количество неидентифицированных (дегенерирующих) половых клеток, что косвенно свидетельствует о нарушении созревания клеток сперматогенного эпителия (табл. 2).

У всех мужчин-носителей РТ с ОАТ, которым выполнен ККА НПК, обнаружены признаки нарушения сперматогенеза: частичный блок на допахитенных стадиях, в пахитене и других стадиях профазы I мейоза. У пациента с нормальной концентрацией сперматозоидов признаки блока на стадиях мейоза I не выявлены, при этом обнаружено повышенное количество нераззошедшихся ядер НПК.

Двое из обследованных мужчин с РТ (13;14) являлись родственниками (дядя и племянник), у них наблюдали сходную картину нарушения сперматогенеза (ОАТ). Согласно данным анализа родословной в этой семье, мать и сестра пробанда (носители РТ) имели со-

хранную фертильность. Показано, что на степень нарушения фертильности у носителей сбалансированных хромосомных аномалий влияет пол пациента. В целом РТ являются причиной бесплодия у мужчин чаще, чем у женщин. Согласно литературным данным, среди носителей транслокаций (13;14) и (14;21) с бесплодием, мужчин в 6 раз больше, чем женщин [10]. У мужчин-носителей РТ доля гамет с нормальным или сбалансированным кариотипом, выше, чем у женщин-носителей, и составляет 80-90%, при этом возраст не оказывает влияния на тип расхождения хромосом в мейозе [12].

Причины влияния структурных перестроек хромосом на мужскую фертильность до настоящего времени остаются дискуссионным вопросом. В литературе обсуждают различные причины и механизмы нарушения сперматогенеза у мужчин с РТ. Предполагают, что причиной частичного блока сперматогенеза на стадии мейоза у таких пациентов является ассоциация трехвалента и XY бивалента («полового пузырька»). Показано, что в профазе мейоза I происходит неслучайная ассоциация тривалента с половым (XY) бивалентом [13-15]. По данным разных авторов ее частота значительно варьирует (от 20 до 75%) [13-17], и в некоторых исследованиях подобная ассоциация не обнаружена [18]. Предполагают, что частота ассоциации тривалента с половым пузырьком может влиять на тяжесть нарушения мейоза в сперматоцитах у носителей РТ. Так, у пациентов с азоосpermией частота ассоциации тривалента с XY-бивалентом выше, чем у пациентов с нормальной концентрацией сперматозоидов (47% и 20%, соответственно) [15].

Есть мнение, что одной из причин бесплодия мужчин с РТ может быть дефект конъюгации (асинапис) структурно аномальных хромосомных сегментов вблизи точек разрыва [19]. Однако некоторые авторы не поддерживают эту гипотезу, поскольку показано, что незначительное снижение числа хиазм у мужчин с РТ(13;14) не приводит к бесплодию [18].

Возможно, дополнительным фактором нарушения фертильности у мужчин-носителей РТ могут являть-

Таблица 1

Кариотипы и сперматологические диагнозы пациентов с РТ

Кариотип	Спермиологический диагноз	Количество пациентов
45,XY,der(13;14)(q10;q10)	азооспермия/криптозооспермия	3
	олигоастенотератозооспермия	12
	астенотератозооспермия	1
45,XY,der(13;15)(q10;q10)	олигоастенотератозооспермия	3
45,XY,der(13;21)(q10;q10)	олигоастенотератозооспермия	1
45,XY,der(14;15)(q10;q10)	олигоастенотератозооспермия	1

Результаты количественного кариологического анализа незрелых половых клеток у пациентов-носителей РТ (13;14)

Код пациента	Сперматологический диагноз	Индекс НПК (%)	Сперматоциты I				Сперматоциты II и сперматиды		Неидентифицированные половые клетки (%)
			В прелептотене/зиготене (%)	В пахитене (%)	В диплотене (%)	В диакинезе/МI, МII (%)	Сперматоциты II и сперматиды (%)	Неразошедшиеся ядра (%)	
	Нормативные показатели (нормозооспермия)	2-4	0,66±0,16	0,45±0,10	1,11±0,02	0,04±0,02	91,99±0,89	22,98±2,65	5,85±0,85
1	АТ	17,3	0,9	0,0	0,0	0,0	81,7	39,4	17,4
2	ОАТ	7,2	4,4	6,6	4,4	0,0	74,6	16	10
3	ОАТ	15,6	7,6	4,4	1,5	0,0	78,5	20	8
4	ОАТ	4	10	5,7	4,4	0,0	61,4	18	18,5
5	ОАТ	15,3	4	0,4	0,6	0,4	71,7	47,7	23
Средние значения		11,88±5,89	5,38±3,51	3,42±3,04	2,18±2,10	0,08±0,18	73,58±7,80	28,22±14,37	15,38±6,23

Примечание: АТ – астенотератозооспермия; ОАТ – олигоастенотератозооспермия.

ся изменения в топологии (локализации) хромосом в сперматозоидах. Полагают, что пространственная организация мужского генома в ядре половых клеток имеет значение для нормального функционирования сперматозоида и раннего эмбрионального развития. Показано, что неслучайное внутриядерное расположение хромосом в сперматозоидах определяется линейным расположением центромер [20]. Есть мнение, что у носителей сбалансированных транслокаций изменена локализация хромосом в гаметах, что также может оказывать влияние на локализацию других хромосом в ядрах сперматозоидов [21]. Однако влияние этих и других генетических и эпигенетических изменений, наблюдаемых в гаметах у мужчин-носителей РТ (анеуплоидия, изменение целостности и степени компактизации хроматина, метилирование ДНК, некодирующие РНК и др.) остаются недостаточно исследованы [22].

Выводы

У всех обследованных нами мужчин-носителей РТ выявлена патозооспермия, варьирующая от умеренных (астенотератозооспермия) до тяжелых форм (азооспермия и ОАТ тяжелой степени) и обуславливающая нарушение фертильности. При всех типах РТ наиболее частым сперматологическим нарушением является ОАТ, вызванная частичным блоком сперматогенеза на допахитенных стадиях и в пахитене профазы I мейоза.

Благодарности. Благодарим за сотрудничество лабораторию цитогенетики ФГБНУ «МГНЦ» и лично заведующую лабораторией Надежду Владимировну Шилову.

Литература/References

1. Agarwal A., Mulgund A., Hamada A., Chyatte M.R. A unique view on male infertility around the globe. *Reprod Biol Endocrinol.* 2015 Apr 26;13:37. doi: 10.1186/s12958-015-0032-1.
2. Therman E., Susman B., Denniston C. The nonrandom participation of human acrocentric chromosomes in Robertsonian translocations. *Ann Hum Genet.* 1989 Jan;53(1):49-65. doi: 10.1111/j.1469-1809.1989.tb01121.x.
3. Nielsen J., Wohler M. Chromosome abnormalities found among 34,910 newborn children: results from a 13-year incidence study in Arhus, Denmark. *Hum Genet.* 1991 May;87(1):81-3. doi: 10.1007/BF01213097.
4. De Braekeleer M., Dao T.N. Cytogenetic studies in male infertility: a review. *Hum Reprod.* 1991 Feb;6(2):245-50.
5. Van Assche E., Bonduelle M., Tournaye H., Joris H. et al. Cytogenetics of infertile men. *Hum Reprod.* 1996 Dec;11 Suppl 4:1-24; discussion 25-6. doi: 10.1093/humrep/11.suppl_4.1.
6. Mau-Holzmänn UA. Somatic chromosomal abnormalities in infertile men and women. *Cytogenet Genome Res.* 2005;111(3-4):317-36. doi: 10.1159/000086906
7. Ogur G., Van Assche E., Vegetti W. et al. Chromosomal segregation in spermatozoa of 14 Robertsonian translocation carriers. *Mol Hum Reprod.* 2006 Mar;12(3):209-15. doi: 10.1093/molehr/gah253.
8. Ferfour F., Selva J., Boitrelle F. et al. The chromosomal risk in sperm from heterozygous Robertsonian translocation carriers is related to the sperm count and the translocation type. *Fertil Steril.* 2011 Dec;96(6):1337-43. doi: 10.1016/j.fertnstert.2011.09.008.
9. Lamotte A., Martinez G., Devillard F. et al. Is sperm FISH analysis still useful for Robertsonian translocations? Meiotic analysis for 23

- patients and review of the literature. *Basic Clin Androl.* 2018 May 7;28:5. doi: 10.1186/s12610-018-0069-z.
10. Kovaleva N.V. Examination of Rates and Spectrums of Robertsonian Translocations in the General Population and in Patients with Reproductive Disorders. *Russ J Genet.* 2018; 54: 489–493. <https://doi.org/10.1134/S1022795418040099>.
 11. WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen. 5th ed. WHO, 2010. 271 p.
 12. Zhang L., Jiang W., Zhu Y. et al. Effects of a carrier's sex and age on the segregation patterns of the trivalent of Robertsonian translocations. *J Assist Reprod Genet.* 2019 Sep;36(9):1963-1969. doi: 10.1007/s10815-019-01534-6.
 13. Luciani J.M., Guichaoua M.R., Mattei A., Morazzani M.R. Pachytene analysis of a man with a 13q;14q translocation and infertility. Behavior of the trivalent and nonrandom association with the sex vesicle. *Cytogenet Cell Genet.* 1984;38(1):14-22. doi: 10.1159/000132023.
 14. Rosenmann A., Wahrman J., Richler C., Voss R. et al. Meiotic association between the XY chromosomes and unpaired autosomal elements as a cause of human male sterility. *Cytogenet Cell Genet.* 1985;39(1):19-29. doi: 10.1159/000132098.
 15. Johannisson R., Schwinger E., Wolff H.H. et al. The effect of 13;14 Robertsonian translocations on germ-cell differentiation in infertile males. *Cytogenet Cell Genet.* 1993;63(3):151-5. doi: 10.1159/000133524.
 16. Guichaoua M.R., Quack B., Speed R.M. et al. Infertility in human males with autosomal translocations: meiotic study of a 14;22 Robertsonian translocation. *Hum Genet.* 1990 Dec;86(2):162-6. doi: 10.1007/BF00197698.
 17. Navarro J., Vidal F., Benet J. et al. XY-trivalent association and synaptic anomalies in a male carrier of a Robertsonian t(13;14) translocation. *Hum Reprod.* 1991 Mar;6(3):376-81. doi: 10.1093/oxford-journals.humrep.a137343.
 18. Templado C., Vidal F., Navarro J. et al. Meiotic studies and synaptonemal complex analysis in two infertile males with a 13/14 balanced translocation. *Hum Genet.* 1984;67(2):162-5. doi: 10.1007/BF00272992.
 19. Oliver-Bonet M., Benet J., Sun F. et al. Meiotic studies in two human reciprocal translocations and their association with spermatogenic failure. *Hum Reprod.* 2005 Mar;20(3):683-8. doi: 10.1093/humrep/deh654.
 20. Mudrak O.S., Nazarov I.B., Jones E.L., Zalensky A.O. Positioning of chromosomes in human spermatozoa is determined by ordered centromere arrangement. *PLoS One.* 2012;7(12):e52944. doi: 10.1371/journal.pone.0052944.
 21. Wiland E., Zegałó M., Kurpisz M. Interindividual differences and alterations in the topology of chromosomes in human sperm nuclei of fertile donors and carriers of reciprocal translocations. *Chromosome Res.* 2008;16(2):291-305. doi: 10.1007/s10577-007-1194-2.
 22. Wiland E., Olszewska M., Woźniak T., Kurpisz M. How much, if anything, do we know about sperm chromosomes of Robertsonian translocation carriers? *Cell Mol Life Sci.* 2020 Dec;77(23):4765-4785. doi: 10.1007/s00018-020-03560-5.