

O. Nechypurenko, L. Avdeeva, M. Kharkhota

CAROTINE SYNTHESIZING ABILITIES AND PROBIOTIC PROPERTIES OF BACTERIA OF BACILLUS GENUS

It was studied the literature data of the ability of bacteria of the genus Bacillus to form red and yellow colors' pigments, analyzed their structure and biochemical routes of synthesis. It was investigated that the vast majority of pigments produced by Bacillus spp. relates to compounds of carotenoids nature. Also was evaluated the probiotic abilities of Bacillus strains and proposed the opportunity to further use of carotene-producing strains in the veterinary.

Keywords: carotenoid pigments, Bacillus strains, carotenoids, probiotics.

Матеріал надійшов 20.06.2013

УДК 576.354+575.616.697

Пилип Л. Я., Білько Н. М.

АНАЛІЗ ЧАСТОТ УТВОРЕННЯ НЕЗБАЛАНСОВАНИХ ЗА ХРОМОСОМНИМ НАБОРОМ СПЕРМАТОЗОЇДІВ У НОСІЇВ ТРАНСЛОКАЦІЙ

Проведено аналіз частот утворення незбалансованих гамет у носіїв реципрокних та робертсонівських транслокацій методом флуоресцентної гібридизації in situ на деконденсованих інтерфазних ядрах сперматозоїдів із використанням комбінацій флуоресцентних зондів, що дозволяли ідентифікувати усі варіанти сегрегації хромосом. У носіїв робертсонівських транслокацій виявлено гомогенну картину сегрегації хромосом з переважанням альтернативного типу сегрегації з утворенням нормальних / збалансованих гамет. Середня частота утворення незбалансованих гамет становила $20,4 \pm 8,3$ % (від 5,8 % до 32 %). У носіїв реципрокних транслокацій зареєстровано індивідуальне варіювання частот утворення незбалансованих гамет (від 49 % до 68,1 %, в середньому $58,5 \pm 6,5$ %) залежно від хромосом і точок розриву та сполучення, що залучені до перебудови. Отримані результати розглянуті в контексті їх використання для медико-генетичного консультування носіїв збалансованих транслокацій.

Ключові слова: реципрокні транслокації, робертсонівські транслокації, сегрегація хромосом, незбалансовані гамети.

Вступ

Хромосомні аномалії є одним із етіологічних чинників безпліддя. Збалансовані робертсонівські та реципрокні транслокації – найпоширеніші структурні перебудови хромосом, які виявляють у новонароджених із частотою 1,23:1000 та 1:625 відповідно [1]. Частота таких перебудов у пацієнтів із безпліддям вища і становить близько 1–3 %, залежно від особливостей досліджуваної групи [2; 3]. Носійство збалансованих хро-

мосомних перебудов, як правило, не має фенотипового прояву, однак призводить до підвищеного ризику невиношування та народження дітей із хромосомною патологією через утворення незбалансованих гамет. Кон'югація дериватних хромосом та їхніх гомологів у мейозі забезпечується за рахунок утворення специфічних структур – тривалентів у носіїв робертсонівських транслокацій та тетравалентів у носіїв реципрокних транслокацій [4]. Тип анафазного розходження три- та тетравалентів визначає утво-

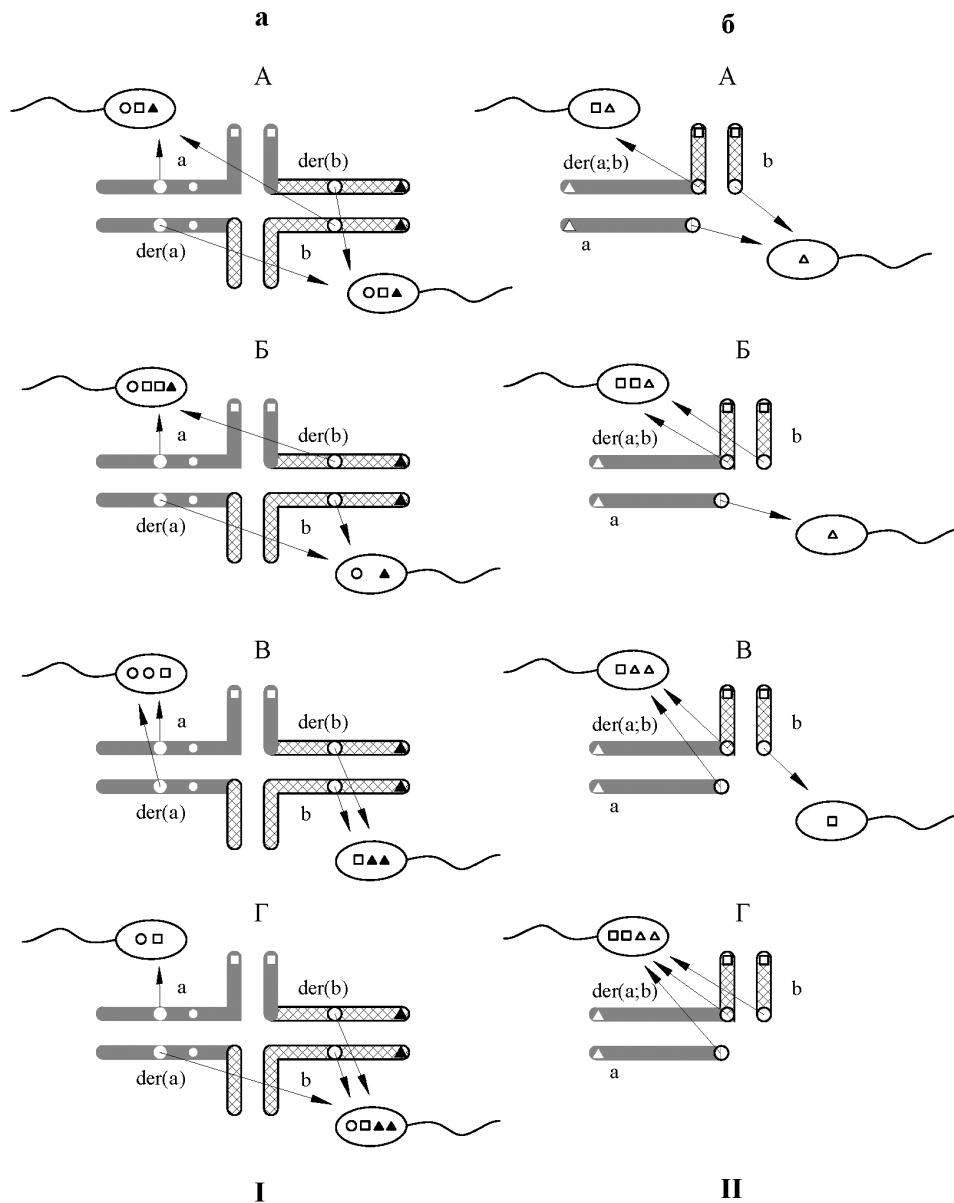


Рис. 1. а, б, I, II, А, Б, В, Г – схематичне зображення утворення тетравалентів та тривалентів та їх сегрегації у сперматозоїдах та можливі комбінації флуоресцентних сигналів для детекції сегрегаційних варіантів: I – носії реципрокних транслокацій; II – носії робертсонівських транслокацій: А) альтернативний тип сегрегації; Б) сумісний тип сегрегації-1; В) сумісний тип сегрегації-2; Г) сегрегація за типом 3:1 та 3:0

рення збалансованих (альтернативний тип сегрегації) або незбалансованих гамет (сумісний тип сегрегації, 3:0, 3:1) (рис. 1).

Метод флуоресцентної *in situ* гібридизації (FISH) на інтерфазних ядрах сперматозоїдів із використанням комбінацій проб для виявлення незбалансованих варіантів хромосомного набору дозволяє визначати частоту утворення сперматозоїдів із нормальним / збалансованим та незбалансованим хромосомним набором (рис. 1). Існує низка досліджень особливостей сегрегації хромосом у носіїв як реципрокних, так і робертсонівських транслокацій [5–8]. Однак результати цих досліджень щодо частоти

утворення незбалансованих гамет є суперечливими та недостатніми для визначення груп пацієнтів із високим та низьким ризиками хромосомних аномалій плода. Тому у випадку настання вагітності носіям транслокацій показано проведення пренатальної діагностики для виключення хромосомної патології плода. Альтернативною процедурі інвазивної діагностики та медичному перериванню вагітності при виявленні незбалансованого каріотипу плода є проведення передімплантаційної генетичної діагностики (ПГД), яка можлива лише у програмах допоміжних репродуктивних технологій (ДРТ). Оскільки, зазвичай, носії хромосом-

них перебудов характеризуються порушенням сперматогенезу різного ступеня – від астенозооспермії до тяжкої олігоастенотератозооспермії – у програмах ДРТ, як правило, застосовують інтрацитоплазматичну ін'єкцію сперматозоїда (ICSI). У нормі сперматозоїди із хромосомними аномаліями мають низький потенціал до запліднення, оскільки природна селекція гамет із нормальним хромосомним набором, як правило, унеможливує запліднення або утворення зигот із серйозними хромосомними аномаліями. Однак застосування ICSI забезпечує подолання цього ефективного природного бар'єру і, як наслідок, збільшує ймовірність передачі незбалансованих варіантів хромосомних перебудов нащадкам, що підвищує ризик виникнення у них аномалій генетичної природи [9; 10]. ПГД у таких випадках для перенесення у порожнину матки ембріонів із нормальним / збалансованим хромосомним набором за результатами діагностики дозволяє не лише знизити ризик невиношування та народження дітей із хромосомною аномалією, а й підвищити ймовірність настання вагітності [11; 12]. Визначення частки незбалансованих сперматозоїдів у носіїв транслокацій забезпечує індивідуалізований підхід до медико-генетичного консультування таких пацієнтів, дозволяючи оцінити ймовірність отримання ембріонів із нормальним / збалансованим хромосомним набором у програмах ДРТ із ПГД. Тому метою дослідження було проаналізувати особливості сегрегації хромосом у сперматозоїдах носіїв реципрокних і робертсонівських транслокацій і визначити частоту утворення незбалансованих гамет.

Матеріали та методи

Хромосомні перебудови (8 реципрокних та 9 робертсонівських транслокацій) у чоловіків було виявлено при дослідженні каріотипу лімфоцитів периферичної крові подружніх пар, що звернулись для лікування безпліддя до Клініки репродуктивної медицини «Надія». Цитогенетичне дослідження проводили за стандартним методом; точки розриву і сполучення ідентифікували при аналізі GTG-зabarвлених метафазних хромосом із мінімальною роздільною здатністю від 450 до 550 дисків на гаплоїдний геном; за необхідності, для уточнення точок розриву та сполучення використовували FISH з індивідуальними зондами. Дослідження еякуляту проводили згідно із рекомендаціями Всесвітньої організації охорони здоров'я [13].

Особливості сегрегації хромосом досліджували за допомогою FISH на інтерфазних ядрах фракції сперматозоїдів із прямолінійно-поступальним рухом, яку фіксували фіксатором Карнуа. Деконденсацію ядер сперматозоїдів проводили в 1 н розчині NaOH з подальшою дегідратацією у 70 % та 96 % розчинах етилового спирту. Суміш проб для гібридизації підбирали індивідуально. Для носіїв реципрокних транслокацій використовували комбінацію із щонайменше трьох проб (однієї дистальної та двох проксимальних або двох проксимальних та однієї дистальної до точок розриву) [14; 15]. Для носіїв робертсонівських транслокацій застосовували комбінацію із двох проб для ділянок хромосом, що залучені до перебудови. Використовували центромерні, субтеломерні та локуспецифічні комерційні проби (Vysis, Cytocell, Kreatech). Зразки денатурували у 0,25 % розчині формаміду в 2 x SSC буфері. Гібридизацію проводили за допомогою HybriMax (Abbott Molecular). Постгібридизаційна обробка предметних скелець включала промивання у 0,4 x SSC / 0,3 % NP-40 (pH=7) 2 хв при температурі 72 °C та промивання в 2 x SSC / 0,1 % NP-40 (pH=7) 1 хв при кімнатній температурі. Предметні скельця покривали DAPI II (Vysis). Мікроскопічне дослідження проводили за допомогою мікроскопа дослідницького класу AxioImagerM1 (Zeiss), результати документували у комп'ютерній програмі Isis (MetaSystems). Оцінювали препарати із гібридизаційною ефективністю вищою за 99 %. Сперматозоїди із ядрами, що перекривались, та із порушенням цілісності головки не враховували.

Статистичний аналіз проводили в MsExcel. Для порівняння частот застосовували критерій χ^2 .

Результати дослідження та їх обговорення

Загалом проаналізовано 7659 сперматозоїдів 8 носіїв збалансованих реципрокних транслокацій та 8000 сперматозоїдів 9 носіїв робертсонівських транслокацій. У пацієнтів виявлено порушення сперматогенезу: у 6 чоловіків (35 %) виявлено астенотератозооспермію, у 10 (59 %) – олігоастенотератозооспермію, у 1 (6 %) – астенозооспермію.

Носії робертсонівських транслокацій характеризувались гомогенною картиною сегрегації хромосом із переважною сегрегацією за альтернативним типом з утворенням гамет із нормальним/збалансованим хромосомним набором. Частота сперматозоїдів із незбалансованим хромосомним набором варіювала від 5,8 % до 32 % (в середньому $20,4 \pm 8,3$ %) (табл. 1).

Таблиця 1. Частоти варіантів сегрегації хромосом у сперматозоїдах носіїв робертсонівських транслокацій

Тип транслокації	Частка гамет із сегрегацією за певним типом, %					
	Alt	Adj-1, дисомія	Adj-1, нулїсомія	Adj-2, дисомія	Adj-2, нулїсомія	3:0
der(13;14)	78,4	3,2	5,4	4,8	6,9	1,4
der(13;14)	75,5	4,1	5,3	6,1	4,4	2,0
der(13;14)	81,2	3,8	4,2	2,9	3,6	3,7
der(13;14)	86,5	3,1	3,2	4,3	1,7	1,1
der(13;14)	69,4	7,3	8,6	5,9	4,4	4,2
der(14;21)	75,2	6,2	4,3	5,8	4,4	3,8
der(14;21)	84,3	3,3	4,5	2,9	2,1	2,8
der(14;21)	68,0	7,4	6,3	7,8	7,5	3,0
der(13;21)	94,4	1,5	1,3	1,7	1,1	0,2
Середнє значення	79,2 ± 8,4	4,4 ± 2,1	4,8 ± 2,0	4,7 ± 1,9	4,0 ± 2,2	2,5 ± 1,4

Примітки: Alt – альтернативний тип сегрегації; Adj-1 – сумісний-1 тип сегрегації; Adj-2 – сумісний-2 тип сегрегації; 3:0 – сегрегація за типом 3:0.

Переважаючий альтернативний тип сегрегації хромосом у сперматозоїдах носіїв робертсонівських транслокацій зумовлено утворенням триваленту у профазі I мейозу із *cis*-конфігурацією, що має схильність до сегрегації за альтернативним типом [16]. За даними літератури, частка збалансованих гамет у носіїв робертсонівських транслокацій коливається від 71,5 % [17] до 90,9 % [18]; у досліджуваній групі – від 68 % до 94,4 %. Таке варіювання у частотах збалансованих гамет може мати або біологічну, або технічну природу. Зокрема, за даними аналізу 51 дослідження мейотичної сегрегації у носіїв робертсонівських транслокацій виявлено, що частоти утворення збалансованих гамет є більш гомогенними серед пацієнтів, обстежених у одній лабораторії. Таке варіювання у частотах може бути обумовлено, певною мірою, лабораторними аспектами дослідження, такими як протокол FISH, типи та комбінації проб та критерії підрахунку сигналів, що застосовуються [19]. Однак існують дані, що свідчать і про біологічну природу варіювання частот сегрегаційних варіантів. Зокрема, виявлено кореляцію між співвідношенням збалансованих та незбалансованих сперматозоїдів та певними характеристиками еякуляту носіїв транслокацій: концентрацією [20], зрілістю [8], рівнями маркерів апоптозу та фрагментації ДНК [21]. Ймовірно, наявність змін у нормальному процесі сегрегації хромосом у носіїв транслокацій призводить до порушення спермогенезу, наприклад через блокування клітинного циклу внаслідок затримки анафази та подальшої загибелі клітини через апоптоз, як показано для мишей-носіїв робертсонівських транслокацій [22]. Накопичення інформації щодо асоціацій між частотами утворення незбалансо-

ваних сперматозоїдів та певними характеристиками еякуляту дозволить не лише визначити природу варіювання частот сегрегаційних типів серед носіїв транслокацій, а й застосовувати певні критерії (як, наприклад, рухливість, зрілість) для відбору фракції сперматозоїдів із вищою ймовірністю нормального / збалансованого хромосомного набору перед проведенням ICSI.

При дослідженні сперматозоїдів носіїв реципрокних транслокацій нами виявлено переважне утворення незбалансованих гамет (від 49 % до 68,1 %, в середньому $58,5 \pm 6,5$ %) (табл. 2).

Через низьку популяційну частоту реципрокних транслокацій дослідження особливостей сегрегації хромосом у сперматозоїдах носіїв обмежені поодинокими випадками [23–26] або групами із кількох пацієнтів [7; 8; 18; 21]. За даними досліджень сегрегації хромосом у сперматозоїдах носіїв реципрокних транслокацій, виконаних до 2007 р., частота утворення незбалансованих гамет становить від 18,6 % до 62,8 % (в середньому $42,5 \pm 10,7$ %) [19]. Таке варіювання частот може бути зумовлено як цитогенетичними характеристиками хромосомної перебудови, які визначають особливості формування тетравалентів (локалізація точок розриву та сполучення, розмір транслокованих сегментів), так і технічними особливостями дослідження сегрегації методом FISH. Зокрема, для дослідження особливостей сегрегації хромосом у сперматозоїдах носіїв реципрокних транслокацій застосовують щонайменше три проби, мічені різними флуорохромами, у тому числі, центромерні, теломерні та локуспецифічні проби, які мають різну гібридаційну ефективність. У окремих випадках зниження

Таблиця 2. Частоти варіантів сегрегації хромосом у сперматозоїдах носіїв реципрокних транслокацій

№ пацієнта	Транслокація	Alt, %	Adj-1, %	Adj-2, %	3:1	Σ незбалансовані
1	t(6;7)(q12;p15)	38,3	43,5	10,3	4,0	61,7
2	t(1;5)(p13;q11.2)	46,3	26,5	20,8	4,3	68,1
3	t(5;19)(q11.1;q12)	41,4	25,8	23,5	7,9	58,6
4	t(10;19)(p14;p12)	31,9	52,2	6,0	8,0	65,2
5	t(1;10)(p36;p11.2)	51,0	24,0	20,8	2,9	49,0
6	t(15;22)(q24;q11)	49,7	23,2	22,4	3,9	50,3
7	t(2;17)(q31;p13)	34,8	20,6	30,4	12,0	61,8
8	t(2;15)(q21.2;q25)	38,2	28,9	25,9	3,3	53,7
Середнє значення		41,5 ± 7	30,6 ± 11	20,0 ± 8	5,8 ± 3,2	58,5 ± 6,5

Примітки: Alt – альтернативний тип сегрегації; Adj-1 – сумісний-1 тип сегрегації; Adj-2 – сумісний-2 тип сегрегації; 3:1 – сегрегація за типом 3:1.

ефективності гібридизації може призводити до втрати сигналів та артефактного зростання частот комбінацій сигналів, які відповідають незбалансованому набору хромосом. Лише дослідження особливостей сегрегації хромосом на значній вибірці носіїв реципрокних транслокацій із використанням стандартного лабораторного протоколу в межах однієї лабораторії дало б можливість виключити технічну причину варіювання частот утворення незбалансованих гамет. На жаль, кількість таких праць обмежена. За даними Anton та колег [19], у 14 із 16 пацієнтів виявлено гомогенну картину сегрегації хромосом (середня частота утворення не-

збалансованих гамет становила $43,9 \pm 4 \%$); за даними Escudero та колег [27], зареєстровано значне варіювання частот утворення незбалансованих гамет серед 11 носіїв реципрокних транслокацій (від 81,4 % до 54,9 %, в середньому 69,7 %). Отримані нами результати також свідчать про значну гетерогенність у частотах утворення незбалансованих гамет у носіїв реципрокних транслокацій (від 49 % до 68,1 %, в середньому $58,5 \pm 6,5 \%$). Ймовірно, саме конфігурація тетравалентів визначає схильність до сегрегації за певним типом. Зокрема, більш симетричні конфігурації мають вищу схильність до розходження за типом 2:2, тоді як менш

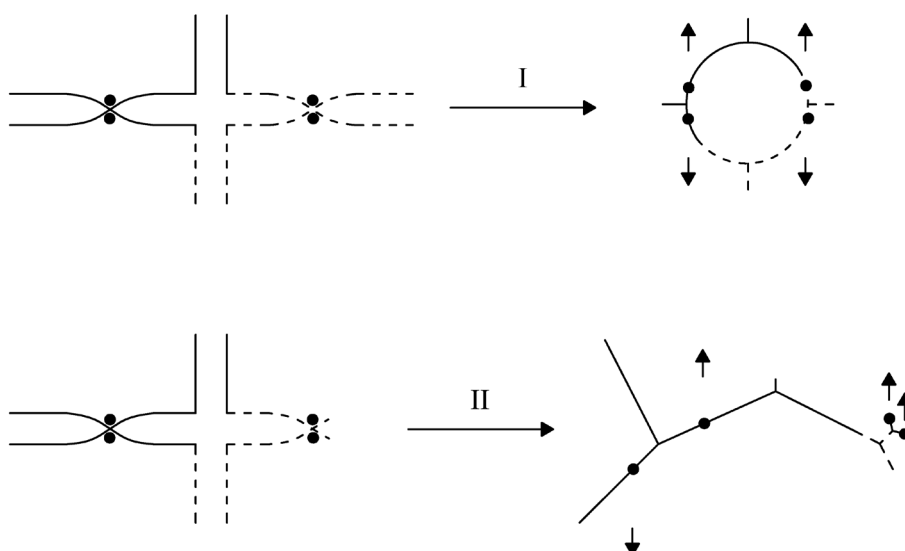


Рис. 2. Схема утворення закритої (I) та відкритої (II) конфігурації тетраваленту у метафазі I мейозу

симетричні (наприклад, у випадку залучення акроцентричних хромосом або локалізації точок розриву та сполучення у термінальних ділянках хромосом) утворюють відкриті конфігурації тетравалентів за типом ланцюга, які із високою ймовірністю сегрегують 3:1 (рис. 2).

Висока частота утворення гамет із хромосомними аномаліями у носіїв збалансованих транслокацій зумовлює підвищений ризик невиношування та народження дітей із незбалансованим каріотипом. Природна селекція гамет для запліднення та селекція ембріонів під час розвитку, у тому числі в умовах *in vitro* у програмах ДРТ, знижують ймовірність настання вагітності плодом із незбалансованим хромосомним набором. Проте емпіричні ризики невиношування досягають 20 % – 40 % [4; 28], а народження дитини із хромосомною аномалією – від 0,1 % до 13,8 % залежно від перебудови [29]. Тому носіям збалансованих транслокацій показано проведення ПГД, яка дозволяє суттєво знизити ризик невиношування та підвищити ймовірність настання вагітності за рахунок перенесення у порожнину матки ембріонів із нормальним / збалансованим хромосомним набором. У таких випадках результати дослідження сегрегації хромосом сперматозоїдів можуть бути використані для прогнозування частки нормальних / збалансованих ембріонів, та, відповідно, успішності циклів ДРТ із ПГД, оскільки частоти сегрегаційних варіантів у передім-

плантаційних ембріонах корелюють із аналогічними частотами у сперматозоїдах [27]. Тому FISH дослідження сперматозоїдів можна використовувати як прогностичний тест перед проведенням ПГД, однак, на жаль, не можна застосовувати для відбору гамет із нормальним / збалансованим хромосомним набором.

Висновки

1. У носіїв Робертсонівських транслокацій виявлено гомогенну картину сегрегації хромосом у сперматозоїдах із переважанням альтернативного типу сегрегації з утворенням гамет із нормальним / збалансованим хромосомним набором. Частота виникнення незбалансованих сперматозоїдів варіювала від 6 % до 32 % та в середньому становила $20,4 \pm 8,3$ %.
2. У носіїв реципрокних транслокацій виявлено гетерогенну картину сегрегації хромосом у сперматозоїдах із варіюванням частот утворення незбалансованих гамет від 49 % до 68,1 %, в середньому $58,5 \pm 6,5$ %.
3. Визначення особливостей сегрегації хромосом у сперматозоїдах носіїв реципрокних та Робертсонівських транслокацій слід використовувати для медико-генетичного консультування таких пацієнтів та індивідуальної оцінки репродуктивних ризиків.

Список літератури

1. Nielsen J. Chromosome abnormalities found among 34910 newborn children: results from a 13-year incidence study in Aarhus, Denmark / J. Nielsen, W. Wohlerth // Hum. Genet. – 1991. – Vol. 87. – P. 81–83.
2. Chantot-Bastaraud S. Underlying karyotype abnormalities in IVF/ICSI patients / S. Chantot-Bastaraud, S. Ravel, J. P. Siffroi // Reprod. Biomed. Online. – 2008. – Vol. 16. – P. 514–522.
3. The prevalence of chromosomal abnormalities in subgroups of infertile men / E. C. Dul, H. Groen, C. M. A. van Ravenswaaij-Arts et al. // Hum. Reprod. – 2012. – Vol. 27. – P. 36–43.
4. Gardner R. J. Chromosome abnormalities and genetic counseling [Fourth edition] / R. J. Gardner. – New York : Oxford Univ. Press, 2011. – 643 p.
5. Chromosomal segregation in spermatozoa of 14 Robertsonian translocation carriers / J. Ogur, E. Van Assche, W. Vegetti et al. // Molec. Hum. Reprod. – 2006. – Vol. 12. – P. 209–215.
6. DNA fragmentation and meiotic segregation in sperm of carriers of a chromosomal structural abnormality / A. Perin, E. Caer, M. Oliver-Bonet et al. // Fertil. Steril. – 2009. – Vol. 92. – P. 583–589.
7. 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. L. Foll, S. Chantot-Bastaraud et al. // Fertil. Steril. – 2011. – Vol. 96. – P. 826–832.
8. The effect of the swim-up and hyaluronan-binding methods on the frequency of abnormal spermatozoa detected by FISH and SCSA in carriers of balanced chromosomal translocations / M. Vozdova, K. Kasikova, E. Oracova et al. // Hum. Reprod. – 2012. – Vol. 27. – P. 930–937.
9. Genetic and epigenetic risks of intracytoplasmic sperm injection method / I. Georgiou, M. Syrrou, N. Pardalidis et al. // Asian J. Androl. – 2006. – Vol. 8. – P. 643–673.
10. Lipshultz L. I. Risk of transmission of genetic diseases by assisted reproduction / L. I. Lipshultz, D. J. Lamb // Nat. Clin. Prac. Urol. – 2007. – Vol. 4. – P. 460–466.
11. Outcome of preimplantation genetic diagnosis of translocations / S. Munne, M. Sandalinas, T. Escudero et al. // Fertil. Steril. – 2000. – Vol. 73. – P. 1209–1218.
12. Preimplantation genetic diagnosis (PGD) improves pregnancy outcome for translocation carriers with a history of recurrent losses / J. Fischer, P. Colls, T. Escudero et al. // Fertil. Steril. – 2010. – Vol. 94. – P. 283–289.
13. WHO laboratory manual for examination and processing of human semen [Fifth edition]. – Cambridge : University Press, 2010. – 286 p.
14. Guidelines for good practice in PGD: programme requirements and laboratory quality assurance / The Preimplantation Genetic Diagnosis Society (PGDIS) // Reprod. Biomed. Online. – 2008. – Vol. 16. – P. 134–147.
15. ESHRE PGD consortium best practice guidelines for fluorescence in situ hybridization-based PGD / J. L. Harper, J. C. Harper, E. Coonen et al. // Hum. Reprod. – 2011. – Vol. 1. – P. 1–8.
16. Sybenga J. Chromosome structural variants / General Cytogenetics. – Amsterdam : North-Holland Publishing Company, 1975. – P. 165–212.

17. Chromosomal segregation in spermatozoa of five Robertsonian translocation carriers t (13;14) / M. Mahjob, M. Mehdi, S. Brahem et al. // J. Assis. Reprod. Genet. – 2011. – Vol. 28. – P. 607–613.
18. Segregation of chromosomes in spermatozoa of four Hungarian translocation carriers / A. Kekesi, E. Erdei, M. Torok et al. // Fertil. Steril. – 2007. – Vol. 88. – P. 5–11.
19. 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. 2088–2092.
20. The chromosomal risk in sperm from heterozygous Robertsonian translocation carriers is related to the sperm count and the translocation type // F. Ferfour, J. Selva, F. Boitrelle et al. // Fertil. Steril. – 2011. – Vol. 96. – P. 1337–1343.
21. Apoptosis and meiotic segregation in ejaculated sperm from Robertsonian translocation carrier patients / S. Brugnol, L. Janny, Y. Communal et al. // Fertil. Steril. – 2010. – Vol. 25. – P. 1–12.
22. Evidence for meiotic spindle checkpoint from analysis of spermatocytes from Robertsonian-chromosome heterozygous mice / S. Eaker, A. Pyle, J. Cobb et al. // J. Cell. Sci. – 2001. – Vol. 114. – P. 2953–2965.
23. Sperm FISH analysis in two healthy infertile brothers with t (15; 18) unbalanced translocation: Implications for genetic counselling and reproductive management / S. Leclercq, J. Auger, C. Dupont et al. // Eur. J. Med. Genet. – 2010. – Vol. 53. – P. 127–132.
24. Fluorescence in situ hybridization sperm analysis of six translocation carriers provides evidence of an interchromosomal effect / N. Machev, P. Gosset, S. Warter et al. // Fertil. Steril. – 2005. – Vol. 84. – P. 365–373.
25. Lack of intraindividual variation of unbalanced spermatozoa frequencies from a 46, XY, t (9;22) (q21; q11.2) carrier: Case report / F. Morel, M. Douet-Guilbert, M. J. Le Bris et al. // Hum. Reprod. – 2004. – Vol. 19. – P. 2227–2230.
26. Meiotic segregation of X-autosome translocation in two carriers and implications for assisted reproduction / A. Perrin, F. Vialard, N. Douet-Guilbert et al. // Reprod. Biomed. Online. – 2009. – Vol. 18. – P. 850–855.
27. Predictive value of sperm fluorescence in situ hybridization analysis on the outcome of preimplantation genetic diagnosis for translocations // T. Escudero, Abdelhadi I., Sandalinas M. et al. // Fertil. Steril. – 2003. – Vol. 79. – P. 1528–1534.
28. Poor prognosis of recurrent aborters with either maternal or paternal reciprocal translocations / M. Sigura-Ogasawa, Y. Ozaki, T. Sato et al. // Fertil. Steril. – 2004. – Vol. 81. – P. 367–373.
29. Midro A. T. Experiences with risk estimates for carriers of chromosomal reciprocal translocations / A. T. Midro, S. Stengel-Rutkowski, J. Stene // Clin. Genet. – 1992. – Vol. 41. – P. 113–122.

L. Pylyp, N. Bilko

ANALYSIS OF CHROMOSOMALLY UNBALANCED SPERM FORMATION IN TRANSLOCATION CARRIERS

The frequencies of unbalanced gametes were analyzed by fluorescence in situ hybridization on decondensed interphase sperm nuclei of reciprocal and Robertsonian translocation carriers with the combination of probes that allowed identification of all variants of chromosome segregation. A homogenous segregation pattern with the predominance of normal/balanced sperm formation was observed in Robertsonian translocation carriers. The mean frequency of unbalanced gametes varied from 5.8 % to 32 % (mean 20.4 ± 8.3 %). Reciprocal translocation carriers had individual patterns of chromosome segregation; the frequency of unbalanced sperm ranged from 49 % to 68.1 % (mean 58.5 ± 6.5 %). The possible application of these results in genetic counselling of balanced translocation carriers is discussed.

Keywords: reciprocal translocation, Robertsonian translocations, chromosome segregation, unbalanced gametes.

Матеріал надійшов 1.06.2013