

ХРОМОСОМНІ ПОРУШЕННЯ В ГАМЕТОГЕНЕЗІ ПЛІДНИКІВ РІЗНИХ ВИДІВ СІЛЬСЬКОГОСПОДАРСЬКИХ ТВАРИН

В. В. Дзіцюк

Національний університет біоресурсів і природокористування України

У статті узагальнені літературні дані про числові і структурні хромосомні аберації у статевих клітинах плідників різних видів сільськогосподарських тварин. Показаний їх зв'язок з життєздатністю, репродуктивною функцією і хворобами тварин.

Ключові слова: ХРОМОСОМИ, МЕЙОЗ, ПОЛІМОРФІЗМ, ЧИСЛОВІ І СТРУКТУРНІ АБЕРАЦІЇ, КАРІОТИП, ПЛІДНИКИ

Аналіз літератури за останні 40 років вказує на зростаючий інтерес вчених до процесів мейозу і формування гамет. Зважаючи на важливість питання репродуктивного здоров'я людей, основні зусилля спрямовано на вивчення мейозу саме у людини. Однак, послідовного аналізу всього ланцюга порушень гаметогенезу за хромосомних аберацій в гаметах проведено недостатньо навіть у медичній цитогенетиці [1].

Сільськогосподарські тварини є найменш вивченими в цьому плані. Дослідження сперматогенезу ссавців до недавнього часу мали в основному морфологічний чисто описовий характер, що не давало уявлення про механізми його визначення [2]. Але актуальність питання і прямий зв'язок його з відтворною функцією спонукають до вивчення особливостей мейозу у сільськогосподарських тварин.

Однією з причин низькоякісної сперми і зниження відтворної здатності плідників є порушення їх сперматогенезу. І хоча під час гаметогенезу відбувається селекція гамет, все ж певна частка фізіологічно дегенерованих через наявність генних і хромосомних мутацій клітин еякулює, здатна до запліднення і стає джерелом виникнення неповноцінного, життєздатного плоду. Іноді за нормального соматичного каріотипу у тварини спостерігаються фенотипові вияви мутацій, в цьому випадку можна припустити, що їх причиною є хромосомні порушення в мейотичному каріотипі [3].

Хромосомні аберації є одним з основних етіологічних факторів, що призводять до неплідності у особин чоловічої статі. Хромосомний аналіз у випадках безпліддя самців проводився рядом дослідників [4–6].

Очевидно, що в цих випадках аналіз хромосом статевих клітин плідників не лише дасть змогу встановити хромосомну природу репродуктивної нестабільності, а і прояснити патогенез хвороб, що є неможливим при використанні інших методичних підходів.

Особливого значення при цьому набувають методи цитогенетичного контролю гаметогенезу, зокрема шляхом аналізу формування синаптонемального комплексу [7].

Єдиним підходом до дослідження хромосомного матеріалу є цитогенетичний аналіз біопсійного матеріалу сім'яників. Однак, цей спосіб не знайшов широкого застосування не лише через необхідність проведення процедури біопсії, а і через низьку інформативність методу [8].

Хромосомні аберації в клітинах зародкової тканини можна розділити на три класи: числові, власне структурні і порушення синапсису (кон'югації), що найчастіше є наслідком вступу у мейоз аберантних передмейотичних клітин.

Хромосомні перебудови призводять до порушень сперматогенезу, що обумовлює продукування малої кількості спермій чи їх відсутність і, як наслідок, призводять до безпліддя у тварин і людини.

Кількісні порушення мейотичних хромосом. Аномалії кількості хромосом в генеративних клітинах сільськогосподарських тварин представлені в основному поліплоїдією і анеуплоїдією. Описаний високий рівень (9 %) поліплоїдних сперматоцитів у барана [9]. Поліплоїдні клітини в мейозі можуть виникнути внаслідок порушення цитокінезу в сперматогоніях або злиття клітин у ранній профазі мейозу. Деякі автори [10] вважають, що найвірогіднішою причиною виникнення поліплоїдних сперматоцитів I (не лише з подвоєним числом хромосом, а і більш високих плоідностей) є злиття клітин на стадії пахітени.

Анеуплоїдія здебільшого (у сперматоцитах II) виникає за відсутності або надлишку акроцентричних або статевих хромосом внаслідок їх нерозходження під час мітотичного поділу сперматогоніїв або мейотичного поділу в метафазах I чи II. Дані про анеуплоїдні генеративні клітини у сільськогосподарських тварин зустрічаються в літературі лише щодо свиней, у яких рівень анеуплоїдії складає 6,4 %, з них частка гіпоанеуплоїдії становить 4,1 %, гіперанеуплоїдії — 2,3 % [11]. Анеуплоїдні мейотичні клітини зустрічаються в межах 0,05–0,28 % без переваг будь-якої хромосоми в наборі [12]. Під час формування зародка з анеуплоїдної статевої клітини його розвиток зупиняється і зародок елімінується, народжується лише невелика частина (0,5–0,7 %) тварин із патологією, спричиненою хромосомними абераціями.

Структурні аномалії мейотичних хромосом. Всі типи хромосомних перебудов (нестачі, дуплікації, інверсії, транслокації) можуть бути виявлені в мейозі на стадії пахітени, що і було вперше зроблено Мак-Клінток [13].

Серед усіх хромосомних порушень мейотичних хромосом найчастіше виявлено делеції (нестачі) різного типу: втрачений кінець хромосоми (кінцева нестача) або випала ділянка всередині хромосоми (інтерстиціальна нестача). Хромосоми з такими нестачами елімінуються.

У літературі є опис бугая з дуплікацією однієї з мейотичних хромосом [14]. Кросинговер у дуплікованих ділянках призводить до утворення дицентричних і ацентричних хромосом. Якщо дуплікована ділянка перенесена на іншу хромосому, то вихідна хромосома має втрату ділянки хромосоми.

Транслокації детально описані як порушення хромосом в соматичному каріотипі: це зазвичай взаємні обміни між негомологічними хромосомами. Мітотична транслокація не виявляє вираженого фенотипового впливу, що дає змогу її носіям мати нормальну репродуктивну здатність. Мейоз у гетерозиготних носіїв транслокації не порушується. Успадкування транслокації за менделівським типом дає змогу одній половині потомства мати нормальний каріотип, другій — бути збалансованим носієм цього порушення [15].

При мейозі зустрічаються лише симетричні транслокації. З аналізу літературних даних про різні види транслокацій видно, що якщо транслокації виникають на певній стадії мейозу, то при виникненні транслокації (коли одна хромосома є ацентричною, друга — дицентричною) ацентрик губиться під час розходження хромосом в анафазі мітозу, а дицентрики зазвичай утворюють в анафазі міст, розриваються, що призводить делеціями до

виникнення клітин з делеціями і дуплікаціями, такі клітини є мало життєздатними і елімінуються в процесі внутрісоматичного добору [16].

Встановлено, що за реципрокних і робертсонівських транслокацій відбувається порушення диференціювання сперматид, тобто така хромосомна аномалія, утворена в мейоцитах, виявляється в морфофункціональному аспекті на постмейотичних подіях, порушуючи процес формування спермій і призводячи до оліго- чи азооспермії [17].

Більшість транслокацій, що виникають, очевидно, порушують кон'югаційні здатності хромосом, нормальний хід мейозу і знижують плодючість тварин.

Особливий інтерес для дослідників має Y-хромосома, гени в якій відповідальні за процес сперматогенезу. Нині відомо, що два гени Y-хромосоми — ген детермінації статі (SRY — the sex-determining gene on the Y-chromosome), відповідальний за диференціацію гонад у процесі ембріогенезу, та ген фактору азоспермії (AZF — the azoospermia factor) безпосередньо впливають на фертильність особин чоловічої статі [18]. Ще у 1989 році Chandley A. C., Gosden J. R., Hargreave T. B. et al. [19] вперше припустили, що делеції в довгому плечі Y-хромосоми спричинюють порушення сперматогенезу у чоловіків. Вони показали, що три ділянки Y-хромосоми є найважливішими для нормального проходження сперматогенезу у чоловіків. Ці три гени, позначені як AZF (a,b,c) (azoospermia factor), виявляють вплив на проходження сперматогенезу до стерильності [20]. Зокрема, у чоловіків з азоспермією була виявлена термінальна делеція в довгому плечі Y-хромосоми, а це стало основою для припущення, що один з генів локалізований в дистальній ділянці Yq11 [21]. Пізніше була виявлена маленька інтерстиціальна делеція у чоловіків з азоспермією і нормальним каріотипом. Зроблено припущення про те, що локус AZF може включати більше, ніж один ген Y-сперматогенезу. Експериментальні результати показали, що у особин з делецією AZF блокування сперматогенезу відбувається перед розвитком сперматогоній і пов'язана з порушенням дистальної Yq11.22 або проксимальної Yq11.23 ділянки хромосоми [22]. Наступні дослідження дали змогу встановити, що делеція гена AZF маркує невелику групу генів під назвою DAZ/SPGY [23].

Можна припустити, що більшість делецій виникає на всіх стадіях сперматогенезу, але найбільш імовірно, що делеції мають тестикулярне походження. Первинні сперматоцити в профазі мейозу є найбільш імовірним ресурсом клітин із делеціями.

У ряді джерел описані асоціації X-хромосоми з аутосомами, які викликають, як правило, блокування розвитку мейозу і є причиною стерильності. У цьому випадку у ссавців зникають зрілі сперматозоїди і припиняється процес диференціювання клітин. Більшість дослідників розглядають це як арешт або блокування сперматогенезу [24].

Згідно з гіпотезою, висунутою Форейтом [25], асоціація вісей аутосом із статевим бівалентом призводить до активації X-хромосоми, що в свою чергу призводить до арешту клітин на стадії пахітени і в кінцевому результаті — до зниження плодючості у таких тварин.

Асоціації X-хромосом з аутосомами можуть бути маркером хромосомних мікроаберацій. Іншою причиною порушення сперматогенезу також, на думку Wytobek A. J. et al. [26], є асоціації транслокаційних конфігурацій з X-Y-бівалентом.

Відкриття СК і розвиток методів його досліджень дало змогу вивчати хромосомні перебудови на більш ранній стадії мейозу, в пахітени. У літературі є дані про можливість аналізу сперматоцитів на стадії пахітени, отриманих з осаду еякуляту. Встановлено, що в нормі близько 4 % клітин еякуляту належать до незрілих форм, тобто більш ранніх, ніж сперматозоїди. При олігоспермії число незрілих форм збільшується до 40 %.

Порушення кон'югації гомологічних хромосом, обумовленої хромосомними порушеннями в мейозі. Процесом перевірки цілісності гамет є попарна кон'югація (синапсис) гомологічних хромосом. Відсутність чи передчасне припинення кон'югації (асинапсис чи десинапсис) призводять до порушення правильної сегрегації гомологічних хромосом в ході

мейозу і до анеуплоїдії гамет. Вивчення синапсису хромосом в мейозі завжди було актуальним завданням цитогенетики. Підрахунки числа бі-, уні-, і мультівалентів і частоти хіазм є важливими методами геномного аналізу, оцінки «сили» синапсису і рекомбінаційної здатності хромосом. Порушення кон'югації (синаптичні аномалії) складають окрему групу причин безпліддя і є найскладнішими для їх вияву, оскільки часто зустрічаються у особин з нормальним каріотипом як соматичних, так і генеративних клітин. За даними F. Vidal et al. [27], в 31 % випадків синаптичні аномалії можуть бути виявлені лише при дослідженні синаптонемного комплексу. Цей метод широко впроваджений в практику медико-генетичних центрів США, Англії, Іспанії і Канади. Відкриття синаптонемного комплексу і розвиток методів його дослідження дало змогу вивчати хромосомні перебудови на більш ранній стадії мейозу — в пахітені [28]. Встановлено, що тонка морфологія СК є видоспецифічною, розміри СК можуть варіювати у різних видів тварин, але в певних межах. Довжина СК відповідає довжині бівалентів, місця прикріплення кінців СК до ядерної оболонки співпадають з теломерами хромосом [29].

Порушення кон'югації виявляється в таких формах: асинапсис гомологічних хромосом, асинапсис X і Y хромосом, негомологічний синапсис, десинапсис, інтерлокінг, гетеросинапсис.

Асинапсис X- і Y-хромосом є аномалією, яка слугує достатньою причиною для анеуплоїдії спермійів. За тандемних дуплікацій, інверсій тощо включається механізм негомологічного синапсису, який супроводжується вкороченням більш довгої вісі і її закручуванням навколо короткої. Іноді не виявлені під час аналізу мітотичних хромосом у соматичних клітинах транслокації призводять до порушення кон'югації хромосом у мейозі і утворення три-, тетра- чи унівалентів.

A. E. Dollin і G. D. Murray [30] виявили у бугая герефордської породи потрійне спаровування СК, утворення якого вони пояснюють спонтанним мутуванням і виникненням анеуплоїдної клітини ($2n+1$). Ці ж автори виявили реципрокную транслокацію і квадрівалентні хрести (відкриті і ланцюгові) у семи бугаїв з порушенням плодючості, отриманих при схрещуванні браманів з герефордами.

Висновки

Таким чином, цитогенетика мейозу, зокрема сперматогенезу сільськогосподарських тварин перебуває на стадії вивчення і накопичення фактів про види хромосомних порушень у мейозі, їх специфічність, частоту у різних видів сільськогосподарських тварин, механізмів виникнення і впливу на відтворну здатність плідників. Вивчення цих питань має велике теоретичне і практичне значення, оскільки стосується отримання повноцінного потомства.

Перспективи подальших досліджень. Досліджувати числові і структурні хромосомні аберації у статевих клітинах плідників різних видів сільськогосподарських тварин на основі отримання повноцінного потомства.

V. V. Dzitsiuk

CHROMOSOMAL POLYMORPHISM OF CATTLE (*Bos taurus L.*)

S u m m a r y

The literary information about the cattle numeric and structural chromosome aberrations is generalized in the article. The connection between this data and the reproductive function viability and animal diseases is shown.

В. В. Дзицюк

ХРОМОСОМНЫЕ АБЕРРАЦИИ В ПОЛОВЫХ КЛЕТКАХ ПРОИЗВОДИТЕЛЕЙ РАЗНЫХ ВИДОВ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ЖИВОТНЫХ

А н н о т а ц и я

В статье обобщены литературные данные о числовых и структурных хромосомных aberrациях в гаметах производителей разных видов сельскохозяйственных животных. Показана их связь с жизнеспособностью, репродуктивной функцией и болезнями животных.

1. Курило Л. Ф. Генетический контроль за половой дифференцировкой и некоторыми этапами репродукции человека / Л. Ф. Курило. — М. : Уфа, 2000. — С. 51–66.

2. Райцина С. С. Сперматогенез и структурные основы его регуляции / С. С. Райцина. — М. : Наука, 1983. — 206 с.

3. Burgoyne P. S. The role of mammalian Y chromosome in spermatogenesis / P. S. Burgoyne // *Development*. — 1987. — V. 101 (Suppl.). — P. 133–141

4. Brugnon F. Study of two markers of apoptosis and meiotic segregation in ejaculated sperm of chromosomal translocation carrier patients / F. Brugnon, E. Van Assche, G. Verheyen et al. // *Hum Reprod*. — 2006; 21: 3: 683–685.

5. Check J. H. Predictive value of the sperm chromatin assay in different populations / J. H. Check, J. K. Choe // *Hum Reprod*. — 2006; 85: 3: 809.

6. Micic M. Chromosomal constitution of infertile men / M. Micic., S. Micic, V. Dirlik // *Clin. Genet*. — 1984. — V. 25. — P. 33–36.

7. Long S. E. Chromosome anomalies and infertility in the mare / S. E. Long // *Equine Vet. J*. — 1988. — № 20. — P. 89–93.

8. Жигачев А. И. Цитогенетический контроль быков / А. И. Жигачев // *Зоотехния*. — 1989. — № 6. — С. 24–26.

9. Switonski M. Meiotic chromosome studies in a ram carrying a reciprocal translocation / M. Switonski; B. Z. S. Kovacs, G. Erhardt, G. Stranzinger // *J. Animal Breeding and Genetics*. — 1998. — V. 115, № 1. — P. 79.

10. Egozcue J. C. Meiotic studies in a series of 1100 in fertile and sterile males / J. C. Egozcue, C. Templado, F. Vidal et al. // *Hum. Genet*. — 1983. — V. 65. — P. 185–188.

11. Switonski M. Meiotic chromosome studies in a ram carrying reciprocal translocation / M. Switonski, B. Z. Kovacs, S. Erhardt, G. Stranzinger // *J. Anim. Breed. and Genet*. — 1998. — V. 11, № 1. — С. 79–85.

12. Погосянц Е. Е. О некоторых особенностях мейоза у млекопитающих / Е. Е. Погосянц // *Цитология*. — 1971. — Т. XIII, № 4. — С. 447–453.

13. McClintock B. The association of non-homologous parts of chromosomes in mid-prophase of meiosis in *Zea mays* / B. McClintock // *Z. Zellforsch. Mikroskop. Anat*. — 1933. — V. 19. — P. 191–237.

14. Abramson L. Chromosomal aberrations and male infertility / L. Abramson, G. Beckman, M. Duchek // *J. Urol*. — 1982. — V. 128. — P. 52–53.

15. Gilles C. B. Electron microscopy of spread maize pachytene synaptonemal complex / C. B. Gilles // *Chromosoma*. — 1981. — V. 59. — P. 419.

16. Seli E. Spermatozoal nuclear determinants of reproductive outcome: implications for ART / E. Seli, D. Sakkas // *Hum Reprod Update*. — 2005; 11: 4: 337–349.

17. Chandley A. C. Deleted Yq in the sterile son of a man with a satellited Y-chromosome (Yqs) / A. C. Chandley, J. R. Gosden., T. B. Hargreave et al. // *J. Med. Genet*. — 1989. — 26. — P. 145–153.

18. Arnedo N. Sperm aneuploidy in fathers of Klinefelter's syndrome offspring assessed by multicolour fluorescent in situ hybridization using probes for chromosomes 6, 13, 18, 21, 22, X and Y. / N. Arnedo, C. Templado, Y. Sanchez-Blaque, O. Rajmil, C. Nogues Hum // *Reprod.* — 2006. — V. 21, № 2. — P. 524–528.
19. Evenson D. P. Predictive value of the sperm chromatin assay in different populations / D. P. Evenson, R. Wixon // *Hum Reprod.* — 2006; 85: 3: 810–811.
20. Chandley A. C. Human male fertility-Y-linked genes and spermatogenesis / A. C. Chandley, H. J. Cooke // *Num.Mol. Genet.* — 1994. — V. 38. — P. 1149–1452.
21. Henkel R., Hajimohammad M., Stalf T. et al. Influence of deoxyribonucleic acid damage on fertilization and pregnancy. *Fertil Steril* 2004; 81: 965–972. Schlegel P. N., Paduch D. A. Yet another test of sperm chromatin structure. *Fertil Steril* 2005; 84: 4: 854–859.
22. Кудрявцев И. В. Генетический контроль сперматогенеза и детерминации пола у млекопитающих / И. В. Кудрявцев, Л. Д. Сафронова, П. И. Кудрявцев // *Онтогенез.* — 2003. — Т. 34, № 6. — С. 105–416.
23. Rousseaux S. Establishment of male-specific epigenetic information / S. Rousseaux, C. Caron, J. Govin et al. // *Gene.* — 2005; 345, 2: 31: 139–153.
24. Zini A. Potential adverse effect of sperm DNA damage on embryo quality after ICSI / A. Zini, J. Meriano, K. Kader et al. // *Hum Reprod.* — 2005; 20: 12: 3476–3480.
25. Forejet J. Chromosomal and genic sterility of hybrid Type in mice and men / J. Forejet // *Expl. Clin. Immunogenet.* — 1985. — № 2. — P. 112–119
26. Wyrobek A. J. Detection of sex chromosomal aneuploidies X-X, Y-Y and X-Y in human sperm using two-chromosome fluorescence in situ hybridization / A. J. Wyrobek, W. A. Robbins, Y. Mehraein. // *Am.J.Med. Genet.* — 1994. — V. 53. № 1. — P. 1–7.
27. Vidal F. A method for the study of synaptonemal complexes in semen / F. Vidal, C. Navarro, C. Templado, J. Egozcue // *Hum. Reprod.* — 1985. — № 10. — P. 45.
28. Martin R. Chromosome analysis of spermatozoa extracted from testes of men with non-obstructive azoospermia / R. Martin, C. Greene, A. Rademaker, L. E. Barclay, J. Chernos // *Hum Reprod.* — 2000. — № 15. — P. 1121–1124.
29. Villagomez D. A. F. Synaptonemal complex analysis of an X-autosome translocation-carrier in the domestic pig / D. A. F. Villagomez, M. Switonski, B. Singh, K. R. Ficher // *Genet.Selec.Evol.* — 1991. — V. 23, № 1. — P. 222–225
30. Dollin A. E. Triple chromosome pairing in an aneuploid bull spermatocyte / A. E. Dollin, J. D. Murray // *Can. J. Genet. Cytol.* — 1984. — V. 26. — P. 782–783.

Рецензент: старший науковий співробітник лабораторії репродуктивної біотехнології та розведення тварин, кандидат ветеринарних наук Сливчук Ю. І.