

# INVESTIGAȚII CITOGENETICE LA CUPLURILE CU STERILITATE DE CAUZĂ MASCULINĂ

ANCA MITROI<sup>1</sup><sup>1</sup>Spitalul Clinic Județean de Urgență Constanța

**Cuvinte cheie:**  
anomalii cromosomiale, deleție, translocație

**Keywords:**  
chromosomal abnormalities, deletion, translocation

**Rezumat:** *Lucrarea își propune identificarea tipului și frecvenței anomaliilor cromosomiale la cuplurile cu sterilitate de cauză masculină, precum și identificarea unor particularități ale acestor cupluri. Studiul a fost realizat pe 26 de cupluri cu sterilitate la care consultanții au prezentat azoospermie sau oligospermie. Cuplurile au fost investigate prin efectuarea anamnezei medicale personale și familiale și efectuarea cariotipului constituțional pentru ambii membrii. Pentru a identifica caracteristicile cuplurilor cu anomalii cromosomiale a fost realizată analiza bivariată. Pe acest lot au fost identificate anomalii cromosomiale cu o frecvență de 7,69% la sexul masculin și 3,84% la sexul feminin. Anomaliile cromosomiale de structură identificate au fost reprezentate de deleția terminală a cromosomului Y (n=1) și translocații reciproce ale autosomilor (n=2). Analiza bivariată a relevat diferențe semnificative statistic la cuplurile cu anomalii cromosomiale prezente la sexul masculin în ceea ce privește durata sterilității, concentrația spermatozoizilor și anamneza familială pozitivă pentru tulburări ale funcției de reproducere.*

**Abstract:** *The paper proposes the identification of the type and frequency of chromosomal abnormalities in couples with male factor infertility, as well as the identification of particularities in such couples. The study was realized on 26 couples in which the male partners had azoospermia or oligozoospermia. Both members of the couples were investigated through medical and familial anamnesis and conventional cytogenetic analyses. For the identification of couple's characteristics with chromosomal abnormalities, bivariate analyses were realized. Regarding this batch, chromosomal abnormalities with a frequency of 7.69% for males and 3.84% for females have been identified. The chromosomal abnormalities identified were: terminal deletion of Yq (n=1) and reciprocal translocation of autosomes (n=2). Bivariate analyzes revealed statistical significant differences in the male partner regarding the infertility duration, concentration of spermatozoa and familial anamnesis, positive for reproduction failure in the couples with chromosomal abnormalities.*

## INTRODUCERE

Conform definiției World Health Organization (WHO) cuplurile sunt considerate ca fiind sterile dacă după cel puțin un an de conviețuire sexuală nu pot avea o sarcină. (1) Sterilitatea poate fi de cauză feminină (40%), masculină (40%) sau de cauză masculină și feminină (20%). (2)

În etiologia sterilității masculine sunt implicați numeroși factori, dintre aceștia așa cum s-a demonstrat în ultimul deceniu, factorii genetici stau la baza unui număr semnificativ de cazuri. Astfel anomaliile cromosomiale constituționale afectează 15% din subiecții cu azoospermie și 6% dintre subiecții cu oligospermie severă. (3)

Deși frecvența anomaliilor cromosomiale diferă între studii ca urmare a criteriilor de includere, pot fi trase următoarele concluzii generale: frecvența anomaliilor cromosomiale constituționale crește direct proporțional cu scăderea numărului de spermatozoizi în ejaculat, iar frecvența anomaliilor cromosomilor sexuali este mai mare la loturile cu azoospermie non-obstructivă, pe când anomaliile structurale autosomale predomină la pacienții cu oligozoospermie.

## SCOPUL

Dat fiind rolul important al anomaliilor cromosomiale implicate în etiologia sterilității masculine, lucrarea își propune identificarea tipului și frecvenței anomaliilor cromosomiale

implicate în etiologia acestei tulburări a funcției de reproducere, precum și identificarea unor caracteristici specifice la aceste cupluri.

## MATERIALE ȘI METODE DE LUCRU

Studiul observațional retrospectiv a fost efectuat pe un număr de 26 de cupluri cu sterilitate masculină. Criteriile de includere în studiu au fost reprezentate de prezența sterilității de cuplu diagnostică de cel puțin un an de zile, la care s-au adăugat prezența azoospermiei sau oligozoospermiei, semnalate la cel puțin două examinări ale spermogramei la un interval de 6-12 săptămâni.

Criteriile de excludere din studiu le-au reprezentat modificările spermogramei datorate unei obstrucții a ductelor genitale, a orhitelor, infecțiilor epididimului sau prostatei, agenezia de vas deferent sau rezultate anormale la vasografie sau radioterapia și chimioterapia în antecedente, precum și prezența la parteneră a unei cauze ginecologice a sterilității.

Cuplurile care au îndeplinit criteriile mai sus menționate au fost investigate prin completarea unei fișe tip de investigație care a conținut date despre anamneza medicală personală și familială, date despre examenul clinic și investigații paraclinice pentru ambii membrii.

Ambii membrii ai cuplului au fost investigați citogenetic prin analiza cromozomilor efectuată prin tehnica

<sup>1</sup>Autor Corespondent: Anca Mitroi, Blv. Tomis, nr. 145, Constanța, 550330, România, e-mail: anatomie\_patologica@yahoo.com, tel +40723398798  
Articol intrat în redacție în 28.10.2011 și acceptat spre publicare în 31.01.2012  
ACTA MEDICA TRANSILVANICA Martie 2012; 2(1)71-73

## ASPECTE CLINICE

standard a culturii limfocitelor din sângele periferic, urmate de bandare G, conform protocoalelor standard. (4) Pentru obținerea unui nivel crescut de rezoluție al bandării s-a realizat sincronizarea ciclului celular cu 5-fluorodeoxiuridină și timidină. Metafazele bandate care au conținut cromozomi nesuprapuși au fost analizate cu ajutorul unui microscop Zeiss Axioskope 4, folosind obiectivul 100X, iar cariotiparea s-a realizat cu ajutorul software-ului Ikaros de la MetaSystems. Pentru fiecare caz luat în studiu au fost evaluate 30-50 de metafaze și cariotipate minim 5 celule.

Pentru a stabili semnificația dintre diferitele variabile care au caracterizat cuplurile cu anomalii cromosomiale și cele fără anomalii cromosomiale, am realizat analiza bivariată, folosind testul t-student sau  $\chi^2$ . Am considerat valorile lui p ca fiind semnificative statistic pentru  $p < 0,005$ .

### REZULTATE

Cele 26 de cupluri care au îndeplinit criteriile pentru includerea în studiu au prezentat următoarele caracteristici: vârsta medie a consultanților a fost  $34,5 \pm 4,12$  ani, iar a consultanțelor  $31,35 \pm 3,58$  ani. Majoritatea cuplurilor (88%) au prezentat sterilitate primară, numai 12% din cazuri fiind diagnosticate cu sterilitate secundară. Durata sterilității a variat între 1,5 și 11 ani, iar durata medie a fost  $4,29 \pm 2,74$  ani. Spermograma a relevat: azoospermie în 8% din cazuri, oligozoospermie severă pentru 27% din cazuri, oligozoospermie moderată pentru 34% din cazuri și oligozoospermie ușoară pentru 31% din cazuri. Anamneza familială a fost pozitivă pentru tulburări ale funcției de reproducere pentru 19% din cupluri.

Examenul clinic general nu a relevat particularități, cu excepția unui caz care la examenul urologic a prezentat testiculi cu volum la limita inferioară a normalului.

Efectuarea analizei citogenetice la ambii membri ai cuplului a relevat prezența anomaliilor cromosomiale de structură la unul din membrii cuplului pentru 3 cupluri, ceea ce corespunde unei frecvențe 11,53% pentru cuplurile introduse în studiu. La două din cupluri anomalia cromosomală de structură a fost depistată la sexul masculin, iar în cazul unui cuplu anomalia a fost depistată la sexul feminin. Frecvența generală a anomaliilor cromosomiale pe lotul nostru a fost de 5,78%, la sexul masculin, frecvența a fost de 7,69% ( $n=2$ ), iar la sexul feminin de 3,84% ( $n=1$ ). Anomaliile cromosomiale identificate au fost reprezentate de anomalii de structură neechilibrate (deleții terminale ale cromosomului Y) și anomalii de structură echilibrate (translocații reciproce ale autosomilor).

Cariotipurile identificate precum și cromosomii implicați în anomalii structurale sunt enumerate în tabelul numărul 1.

**Tabelul nr. 1. Anomaliile cromosomiale depistate la cuplurile cu sterilitate de cauză masculină (n=26)**

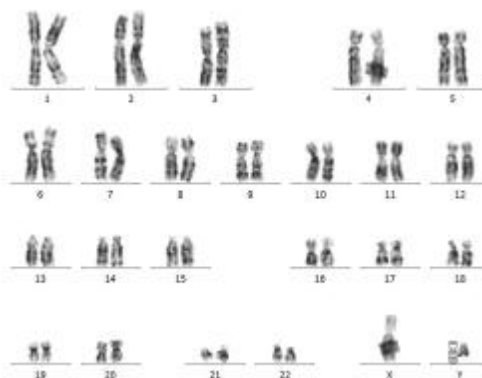
Anomalia cromosomală	Sex feminin cu anomalii cromosomiale (n=1)	Sex masculin cu anomalii cromosomiale (n=2)
Deleții	-	46,XdelY(q11.23→qter)
Translocații reciproce ale autosomilor	46,XX,t(3;18)(q24;q11)	46,XY,t(11;22)(q23;q11.2)

Deleția terminală a cromosomului Y (figura nr. 1) a fost identificată la un proband în vârstă de 40 ani, cu azoospermie și sterilitate de cuplu de zece ani, la care anamneza familială a relevat prezența în familia consultandului a unui frate mai mic cu sterilitate datorată unei orhite urliene.

Translocația t(11;22) a fost identificată la un proband de 27 de ani cu oligozoospermie severă, iar cuplul a prezentat sterilitate primară cu o durată de 9 ani. Anamneza familială a

relevat prezența în familia consultandului a unui frate cu prezența în antecedente a unui nou-născut mort plurimalformat, al cărui cariotip a fost 46,XY.

**Figura nr. 1. Cariogramă bandată GTG, cariotip 46,XdelY (q11.23→qter)**



Translocația t(3;8) a fost identificată la o consultandă în vârstă de 34 de ani, care prezenta asociat hiperprolactinemie. Cuplul a prezentat sterilitate primară de 5 ani și a fost introdus în studiu deoarece partenerul prezenta oligozoospermie moderată.

**Tabelul nr. 2. Analiza bivariată a cuplurilor cu sterilitate de cauză masculină și anomalii cromosomiale la sexul masculin**

Anomaliile cromosomiale la sexul masculin la cuplurile cu sterilitate	NU	DA	P
	N=23	N=2	
Vârsta proband (ani)	34,04±4,14	38,5±2,12	0,151
Vârsta parteneră (ani)	31,09±3,72	33±1,41	0,316
Durata medie a sterilității	3,80±2,41	9,5±0,71	0,003
Greutate proband (kg)	84,57±11	81±1,41	0,657
Înălțime proband (m)	1,79±0,06	1,8±0,01	0,793
IMC proband (kg/m <sup>2</sup> )	26,41±2,95	25±0,04	0,513
Înălțimea parteneră (m)	1,66±0,05	1,70±0,04	0,260
Greutatea parteneră (kg)	59,17±5,77	65±7,07	0,189
IMC parteneră (kg/m <sup>2</sup> )	21,54±1,74	22,69±3,41	0,407
Concentrația spermatozoizilor (x10 <sup>6</sup> /ml)	4,07±2,54	0,1±0,14	0,041
Fumător	39%(9)	50% (1)	0,654
Fertilitatea anterioară	13% (3)	0	0,553
Antecedente patologice	39%(9)	50%(1)	0,654
Anamneza familială pozitivă	13%(3)	100%(2)	0,042

Efectuarea analizei bivariate între cuplurile cu anomalii cromosomiale prezente la sexul masculin și cele fără anomalii cromosomiale (tabelul nr. 2) au relevat prezența de diferențe semnificative statistic în ceea ce privește durata medie a sterilității care a fost crescută la cuplurile cu anomalii cromosomiale, concentrația spermatozoizilor care a fost semnificativ redusă la pacienții cu anomalii cromosomiale și anamneza familială pozitivă pentru tulburări ale funcției de reproducere la cuplurile pentru anomalii cromosomiale.

### DISCUȚII

Pentru numeroase cupluri sterilitatea este asociată cu diminuarea producerii de spermatozoizi, care în anumite cazuri

se datorează anomaliilor cromosomiale. (5) Există numeroase studii care asociază prezența azoospermiei sau oligospermiei cu existența anomaliilor numerice sau structurale ale gonosomilor, precum și cu existența anomaliilor structurale ale autosomilor (translocații reciproce și translocații Robertsoniene); anomaliile cromosomiale care sunt identificate la 3%-13% din pacienții cu astfel de anomalii ale spermogramei. (6-12) Frecvența anomaliilor cromosomiale la sexul masculin, depistată pe lotul nostru este corespunzătoare cu cea identificată în alte studii. (6-12) Depistarea anomaliilor cromosomiale la sexul feminin la cuplurile cu sterilitate de cauză masculină, nu este întâmplătoare, deoarece sterilitatea este o caracteristică a cuplului, iar prezența anomaliilor la sexul feminin a fost semnalată și în cadrul altor studii care au investigat citogenetic cuplurile cu sterilitate masculină.

Translocațiile reciproce au fost identificate la sexul masculin la un pacient care prezenta oligozoospermie severă, iar la sexul feminin la o pacientă care prezenta hiperprolactinemie. Gametogeneza masculină este mai vulnerabilă la prezența translocațiilor în stare heterozigotă față de cea feminină. Un element important al vulnerabilității gametogenezei masculine l-ar putea reprezenta integritatea meiotică a bivalentului X-Y, realizarea sinapsei și a recombinării, având loc la nivelul regiunilor pseudoautosomale de la nivelul Xp și Yp. (13) Segmentele autosomale rămase neîmperecheate ca urmare a translocației, perturbă integritatea meiotică a bivalentului X-Y, determinând blocarea spermatogenezei. (14)

Referitor la deleția terminală a cromosomului Y identificată pe lotul nostru, blocarea spermatogenezei la pacienții cu deleții Yq este explicată prin alterarea regiunii AZF a, b sau c. Cea mai frecventă deleție este cea a regiunii AZFc, localizată Yq11.23. Delețiile AZFa sau AZFb au un efect mai sever față de deleția AZFc. Reducerea fertilității poate fi relativă, în special pentru delețiile AZFc, la vârste tinere și cu o parteneră cu fertilitate excelentă, o persoană de sex masculin cu deleții AZFc poate deveni părinte. (15)

Una din explicațiile posibile ale duratei mai mari a sterilității la cuplurile cu anomalii cromosomiale față de cele fără anomalii cromosomiale, o poate reprezenta faptul că, la cuplurile cu anomalii cromosomiale datorită dezechilibrului genetic al gameților, chiar în urma aplicării tehnicilor de reproducere umană asistată obținerea a unei sarcini este scăzută.

Relația cauzală existentă între anomaliile cromosomiale și sterilitatea masculină este bine cunoscută, astfel incidența anomaliilor cromosomiale este corelată invers proporțional cu concentrația spermatozoizilor/ml (16), fapt observat și în studiul nostru, anomaliile cromosomiale fiind depistate la cazurile diagnosticate cu azoospermie sau cu oligospermie severă.

Anamneza familială pozitivă pentru tulburări ale funcției de reproducere semnalează posibilitatea moștenirii anomaliilor cromosomiale și subliniază necesitatea investigării citogenetice a familiilor probanzilor.

### CONCLUZII

Frecvența și tipul anomaliilor cromosomiale depistate în studiul prezent este similară cu cele citate în alte studii, iar detectarea anomaliilor cromosomiale la sexul feminin nu este întâmplătoare, deoarece sterilitatea este o caracteristică a cuplului. Probabilitatea prezenței anomaliilor cromosomiale la sexul masculin la cuplurile sterile este crescută dacă durata sterilității este crescută, concentrația spermatozoizilor/ml este mult redusă, iar în familie sunt prezente alte cazuri cu tulburări ale funcției de reproducere.

### BIBLIOGRAFIE

1. World Health Organization. WHO Manual for the standardized investigation and diagnosis of the infertile couple. Cambridge, UK: Cambridge University Press. 1993.
2. Speroff L, Glass R, Kase N. Female infertility. In Kase NG (ed): Clinical gynecologic endocrinology and infertility, 6th ed. Baltimore: Lippincott Williams & Wilkins. 1999:1013-1042.
3. Van Assche E, Bonduelle M, Tournaye H et al. Cytogenetics of infertile men. Hum Reprod. 1996;11(Suppl 4):1-26.
4. Drocopli D, Haines J, Korf B et al. Short protocols in human genetics – a compendium from current protocols in human genetics, Wiley. 2004:4.2 – 4.4, 4.14 – 4.17.
5. Gekas J, Thepot F, Turleau C et al. Chromosomal factors of infertility in candidate couples for ICSI: an equal risk of constitutional aberrations in women and men. Hum Reprod. 2001;16:82-90.
6. Causio F, Fischetto R, Schonauer L, Leonetti T. Intracytoplasmic sperm injection in infertile patients with structural cytogenetic abnormalities. J Reprod Med. 1999;44: 59- 864.
7. De Braekeleer M, Dao T. Cytogenetic studies in male infertility: a review. Hum Reprod 1991;6:245-250.
8. Dohle G, Halley J, Van Hemel J et al. Genetic risk factors in infertile men with severe oligozoospermia and azoospermia. Hum Reprod. 2002;17:13-16.
9. Meschede D, Lemcke B, Exeler J et al. Chromosome abnormalities in 447 couples undergoing intracytoplasmic sperm injection – prevalence, types, sex distribution and reproductive relevance. Hum Reprod. 1998;13:576-582.
10. Peschka B, Schwanitz G, Van der Ven K. Types and frequency of constitutional chromosome aberrations in couples undergoing ICSI. Hum Reprod. 1999;14:2257-2263.
11. Stuppia L, Gatta V, Calabrese G et al. A quarter of men with idiopathic oligo-azoospermia display chromosomal abnormalities and microdeletions of different types in interval 6 of Yq11. Hum Genet. 1998;102:566-570.
12. Van der Ven K, Peschka B, Montag M et al. Increased frequency of congenital chromosomal aberrations in female partners of couples undergoing intracytoplasmic sperm injection. Hum Reprod. 1998;13:48-54.
13. Hale D. Is X-Y recombination necessary for spermatocyte survival during mammalian spermatogenesis? Cytogenet Cell Genet 1994;65:278-282.
14. Guichaoua M, Quack B, Speed R et al. Infertility in human males with autosomal translocations: meiotic study of a 14;22 Robertsonian translocation. Hum Genet. 1990;86:162-166.
15. Krausz C, Mc Elreavey K. Y chromosome microdeletion in fertile males. Hum Reprod 2001;16:1306-1307.
16. Chandley A, Edmond P, Christie S. Cytogenetics and infertility in man. Karyotype and seminal analysis: results of a five-year survey of men attending a fertility clinic. Ann Hum Genet. 1975;39:231-254.