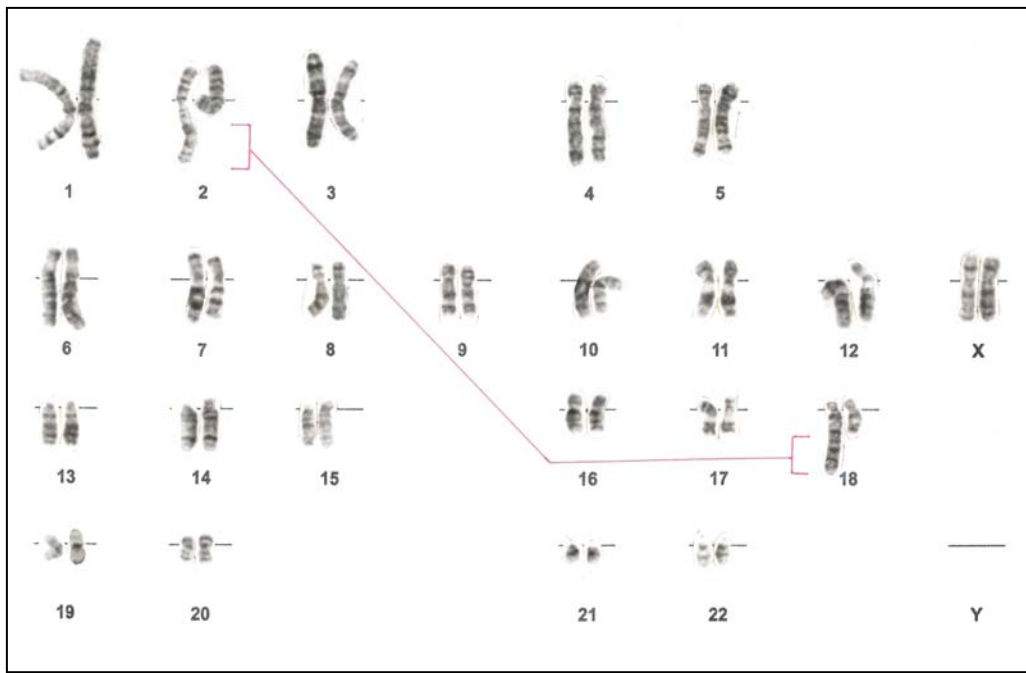


Tabel 2. Meeste infertiilsuse geneetiliste põhjuste klassifikatsioon

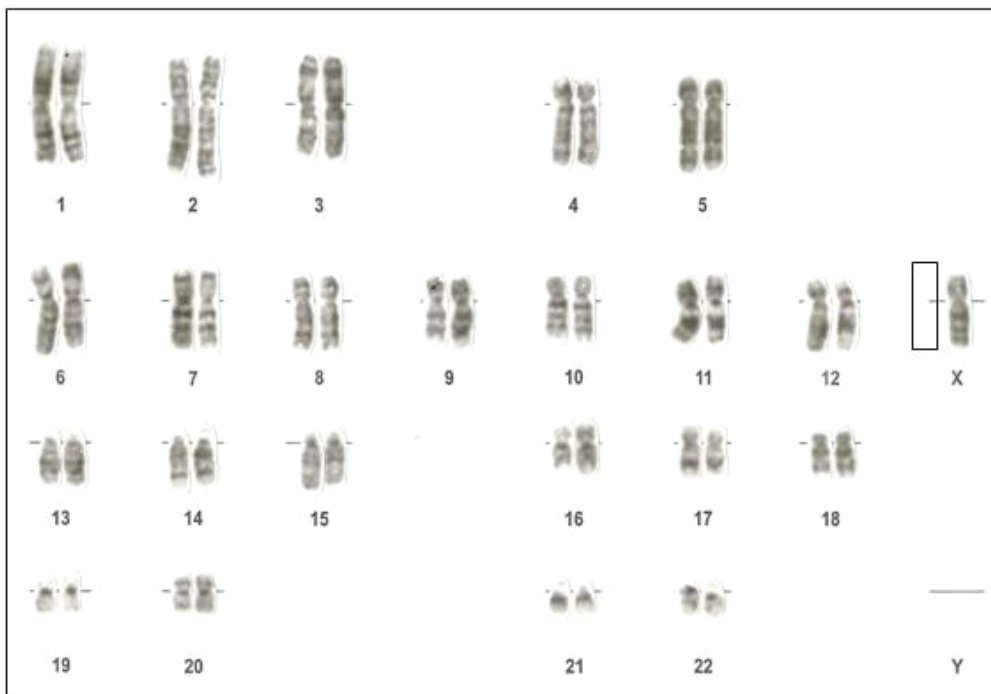
Kromosoomide aberratsioonid
Gonosoomid
47,XXY
47,XYY
46,XX ja 45,X mehed
Y-kromosoomi struktuurianomaaliad
Deletsioonid
Ringkromosoomid
Inversioonid
Translokatsioonid
Autosoomid
Translokatsioonid
Inversioonid
Teised struktuurianomaaliad
Kromosoomide heteromorfism (polümorfism)
Inversioon (9)
Perekondlik Y-kromosoomi inversioon
Yqh+
Heterokromatiini suurenemine, vähenemine
Geenimutatsioonid
Y-kromosoomi liitelised
Mikrodeletsioonid Yq11
X-kromosoomi liitelised
Kallmanni sündroom
Adrenogenitaalne sündroom
Autosoomsed
Komplektsed geneetilised sündroomid, millega kaasneb viljatus

Tabel 1. Naiste infertiilsuse geneetiliste põhjuste klassifikatsioon

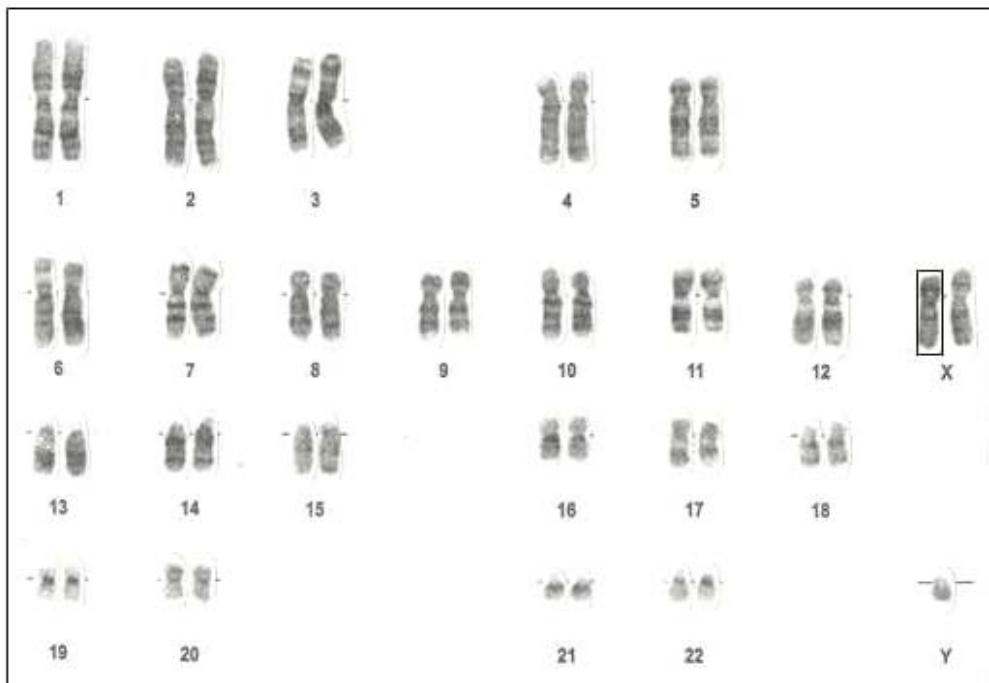
Kromosoomide aberratsioonid
Gonosoomid
Turneri sündroom
Y-kromosoomi sisaldava rakuliiniga gonadaalne düsgenees
X ja autosoomi translokatsioonid
47,XXX ja mosaiigid
Autosoomid
Robertsoni translokatsioonid
Retsiprooksed translokatsioonid
Inversioonid
Geenimutatsioonid
X-liitelised
Fragiilne-X sündroom (FRAXA)
Kallmanni sündroom
Autosoomsed
Komplektsed geneetilised sündroomid, millega kaasneb viljatus



Joonis 3. 46,XX,t(2;18)



Joonis 2. 45,X (S. Turner)



Joonis 1. 47,XXY (S. Klinefelter)

Abielupaaride infertiilsuse tsütogeneetilised põhjused
Kadi Varb, Ruth Mikelsaar, Jelena Lissitsina – TÜ üld- ja molekulaarpatoloogia
instituut

infertiilsus, lastetud abielupaarid, kromosoomid

Lastetust esineb umbes 15% peredest. Selle põhjused võivad olla nii geneetilised kui mittegeneetilised, esinedes võrdse sagedusega nii mehe- kui naisepoolset. Oluline tegur lastetuse korral on ka mehe ja naise vanus. Eestis on viljatuse tsütogeneetilisi põhjusi seni vähe uuritud. Töös on selgitatud lastetuse kromosomaalsete põhjuste esinemissagedust, tuginedes 17 infertiilse pere tsütogeneetilise uuringu tulemustele.

Infertiilseks ehk lastetuks nimetatakse abielupaari, kellel ei esine rasedust vähemalt pärast kaks aastat kestnud regulaarset suguelu ilma rasestumisvastaseid vahendeid kasutamata või kui rasedust ei kanta lõpuni (1). Infertiilsus hõlmab 10–15% peredest. Infertiilsuse esinemissagedust mõjutab eelkõige nii naise kui ka mehe vanus. Naiste viljakuse langus algab umbes 30. eluaastast. Naine rasestub 40aastaselt poole harvemini kui enne 30. eluaastat, kusjuures spontaansete abortide sagedus on isegi kolmekordistunud (2). Vanuse suurenemisel on meestel täheldatud sperma kvaliteedi halvenemist, mis võib olla tingitud suurenenud stressist, alkoholi tarbimisest, suitsetamisest jm (3).

Infertiilsuse põhjuseid on väga palju. Nad võivad olla kas naise- või mehepoolsed, esinedes peaaegu võrdse sagedusega (40%), kuid umbes 10% abielupaaridel on viljatuse põhjus mõlemapoolne. Ülejäänud 10% juhtudel jääb põhjus siiski ebaselgeks (2).

Infertiilsuse põhjuseid jaotatakse ka mittegeneetilisteks ja geneetilisteks. Mittegeneetilised põhjused on väga mitmekesised ja arvukad. Mittegeneetilised haigused (munajuhahaigused, ovulatsioonihäired jt) võivad olla 90% juhtudel naiste infertiilsuse põhjuseks. Meestel põhjustavad mittegeneetilised haigused (suguelundite põletikud jt) 85% juhtudel infertiilsust.

Geneetilised haigused võivad olla 10% juhtudel naiste ja 15% juhtudel meeste infertiilsuse põhjuseks (4). Geneetilistest põhjustest esikohal on mitmesugused kromosoomianomaaliad, esinedes 2–9,8% juhtudel (4, 5). Sellele järgnevad esinemissageduselt monogeensed haigused (tsüstiline fibroos, Kallmanni sündroom jt), mille puhul esinev geenimutatsioon põhjustab reproduktsiooni- või hormoonide produktsiooni

häireid (2, 4). Geneetiliste põhjuste esinemissagedus ning iseloom on naistel ja meestel erinevad.

Naise infertiilsuse kõige sagedasem geneetiline põhjus on mitmesugused kromosoomiberratsioonid, mille esinemissagedus on 5–9,8%. Nendest gonosoomide arvanomaaliaid esineb 2,8–7,5% juhtudel ning autosoomide struktuurianomaaliaid 2,1–2,3% juhtudel (4, 5). Tabelis 1 on toodud naise infertiilsuse geneetiliste põhjuste klassifikatsioon (4).

Tabel 1 (eraldi fail)

Meeste infertiilsuse sagedasemaks geneetiliseks põhjuseks on samuti nagu naistel mitmesugused kromosoomiberratsioonid. Kromosoomide muutusi esineb 2–8% (keskmiselt 5%) lastetutel meestel. Kromosoomiberratsioonide esinemissagedus on neil pöördvõrdeliselt seotud spermatoosidide arvuga. Azoospermiaga (spermatoosidide puudumine seemnevedelikus) meeste seas esineb kromosoomianomaaliaid infertiilsuse põhjusena isegi kuni 15% juhtudel. Kõige sagedamini esineb meestel sugukromosoomide arvanomaaliaid (3,7%), kuid sagedased on ka autosoomide struktuurianomaaliad (2,4%) (4–6). Meeste infertiilsuse geneetiliste põhjuste klassifikatsioon on toodud tabelis 2 (4).

Tabel 2 (eraldi fail)

Meie **töö eesmärgiks** oli esitada tsütogeneetiliste uuringute andmed 17 Eestis elava infertiilse abielupaari kohta ning selgitada infertiilsuse põhjuste avastamise aeg, s.t aeg, millal infertiilsed pered suunati uuringule.

Uurimismaterjal ja -meetodid

Uuriti 17 lastetut abielupaari (17 naist ja 17 meest). Uuritavad saadeti tsütogeneetilisele uuringule androloogi dr Punabi (16 meest) ja günekoloogi dr K. Matti poolt (1 naine) või pöördusid uuringule iseseisvalt (16 naist ja 1 mees) ajavahemikul 1. jaanuarist kuni 31. detsembrini 2002. aastal. Kõik uuritavad võeti vastu TÜ üld- ja molekulaarpatoloogia instituudis inimesegeneetika uurimisrühmas. Uuritavad allkirjastasid informeeritud nõusoleku vormi ning täitsid meie poolt koostatud küsimustiku nii üldandmete (vanus, elukoht jt) kui ka lastetuse kestuse kohta. Uuritavate naiste keskmine vanus oli 29 a (24–38 a) ja uuritavate meeste keskmine vanus oli 30,2 a (23–37 a).

Kõigi 34 uuritava kromosoomid saadi perifeerse vere lümfotsüütide kultuurist, mis valmistati Moorheadi meetodi järgi (7) ja mida uuriti G-vöötdede meetodil

(kromosoomide mõjutatakse lühiajaliselt proteolüütilise ensüümiga ja värvitakse Giemsa järgi). Kromosoomide arvu- ja struktuurianomaaliade selgitamiseks analüüsiti regulaarselt 50 metafaasi. Juhul kui tekkis väikeseprotsendise mosaiiksuse (nähtus, kus indiviidil esineb kaks või enam geneetiliselt erinevat rakuliini, mis pärinevad ühelt sügoodilt) esinemise kahtlus, siis uuriti 100 metafaasi. Kui Giemsa-vöötide meetodiga uurimise järel tekkis kromosoomide heterokromaatse ala muutuse kahtlus, siis kasutati lisaks ka Arrighi ja Hsu (8) C-vöötide meetodi teisendit, kus valikuliselt värvuvad kromosoomide struktuurse heterokromatiini alad. Iga uuritava kromosoomid karütüpeeriti vähemalt kahest metafaasiplaadist.

Tulemused ja arutelu

Uuritud 17 lastetust perest esines kromosoomianomaaliaid 8 peres (47,1%), mis on võrreldes kirjanduses avaldatud kromosoomiaberratsioonide esinemissagedusega (7,2–11,6%) oluliselt suurem (6, 7). Saadud uurimistulemuste erinevus võib olla tingitud kas meie uuritud perede väikesest arvust või erinevast uuritute kontingendist. Nendest 8 perest esines kromosoomiaberratsioone 6 peres mehel ja 3 peres naisel, kusjuures ühes peres esines kromosoomianomaalia nii mehel kui ka naisel.

Uuritud 17 lastetust perest esines kromosoomiaberratsioon kuuel mehel (35,3%), mis on suurem esinemissagedus kui infertiilsetel meestel kirjanduse andmete järgi (2–8%) (4), ning kolmel naisel (17,6%), mille esinemissagedus on samuti suurem kui kirjanduses toodud (5–9,8%) (4, 5). Ühes peres esines kromosoomipatoloogia nii mehel kui ka naisel (5,9%). Kirjanduses on andmeid, et selliste perede esinemissagedus kõikide lastetute perede seas on väga harv, olles ainult 0,18% (5). See et meestel leidsime kromosoomiaberratsioone umbes kaks korda sagedamini kui naistel, ühtib kirjanduse andmetega.

Kromosoomianomaaliad jaotusid mõlemal sool erinevalt. Analüüsides eraldi arvu- ja struktuurianomaaliaid gonosoomide ning autosoomide osas, selgus, et uuritud 17 mehest esines gonosoomide arvu- ja struktuurianomaaliaid (47,XXY) (vt jn 1) 3 mehel (17,6%) ja see on mõnevõrra sagedam kirjanduses toodud esinemissagedusest (3,7%) (4). Autosoomide struktuurianomaaliaid [46,XY,inv(9)(p11;q13)] esines samuti 3 mehel (17,6%), mis on aga suurem kui kirjanduses toodud esinemissagedus (2,4%) (4).

Joonis 1 (eraldi fail)

Uuritud 17 naisest esines gonosoomide arvuanomaalia ($45,X/46,XX$) (vt jn 2) ühel naisel (5,4%) ja selle esinemissagedus ei erine kirjanduse andmetes toodust (2,8–7,5%). Kuid struktuurianomaaliaid gonosoomide [$46,Xfra(X)(q27.3)$] ja autosoomide [$46,XX,t(2;18)(q23;q23)$] (vt jn 3) osas esines kahel naisel (11,8%) ning see on suurem kui kirjanduses toodud esinemissagedus (2,1%) (4, 5). Järelikult, uuringu tulemusena täheldasime nii meestel kui ka naistel kirjanduse andmetest suuremat autosoomide struktuurianomaaliade esinemissagedust.

Joonised 2 ja 3 (eraldi fail)

Lisaks ülal toodud kromosoomianomaaliatele esines veel 6 uuritaval kromosoomivariante ehk kromosoomide polümorfismi heterokromaatse ala pikene misena. Need esinesid 9. kromosoomi pikal õlal ($9qh+$) 3 naisel ja 2 mehel ning nii 9. kromosoomi kui ka Y-kromosoomi pikal õlal ($9qh+$ ja $Yqh+$) ühel mehel. Seega oli kromosoomivariantide esinemissagedus 34 uuritu seas 17,6%, mis ei erine oluliselt kirjanduses toodud esinemissagedusest (8,8%) (6). Heterokromaatsete alade peenstruktuuri muutustest tingitud funktsioonihäireid seostatakse üha enam infertiilsuse tekkega. Arvatakse, et meeste infertiilsuse tekkepõhjuseks on toodud normivariantidest kõige olulisem Y-kromosoomi pika õla heterokromaatilise ala muutused. See viib X- ja Y-kromosoomide paardumise häirele meiosis, põhjustades reproduktioonihäireid (9).

Järgnevalt analüüsim kromosoomide uuringute tulemusi eraldi üksikutes peredes, et seostada kromosoomimuutusi lastetuse tekkega. Kuues peres oli naise ja mehe karüotüüp normaalne, vastavalt $46,XX$ ja $46,XY$. Kromosoomiaberratsioonid esinesid 8 peres ja kromosoomivariante kolmes peres.

I peres oli naise karüotüüp $45,X[4\%]/46XX[96\%]$. Seega esines tal Turneri sündroomi mosaiikne vorm, mille puhul naise karüotüübis oli kahe X-kromosoomi asemel üks X-kromosoom ainult 4% rakkudes. On teada, et Turneri sündroom on 2,5% juhtudel naiste viljatuse põhjuseks (9). Klassikalise X-kromosoomi monosoomia korral esineb munasarjade täielik taandareng, mis põhjustab lastetust. Kuid mosaiikse vormi puhul nagu meie patsiendil esineb X-monosoomiaga rakuliini kõrval ka normaalne kahe X-kromosoomiga rakuliin. Seetõttu on naisel rasedus võimalik, kuigi risk spontaansete abortide esinemise suhtes on väga suur. Mosaiiksuse vormi esineb harva, umbes 10% kõikidest Turneri sündroomi juhtudest (10). Mehe karüotüüp oli $46,XY$.

II peres oli naise karüotüüp 46,XX,t(2;18)(q23;q23). See on translokatsioon 2. ja 18. kromosoomide vahel. Translokatsiooni esinemine põhjustab spontaansete abortide sageduse suurenemist ja suurenenud riski (peaaegu pooltel juhtudel) väärenditega laste sünniks. Samuti võib kromosoomide murrukoht sageli läbida regioone, mis on seotud infertiilsuse tekkega. Mehe karüotüüp oli 46,XY.

III ja IV peres oli naise karüotüüp vastavalt 46,XX ja 46,XX,9qh+. Meeste karüotüübid olid 47,XXY s.t neil esines klassikaline Klinefelteri sündroom. Kirjanduse andmetel on Klinefelteri sündroom kõige sagedasem (7–15% juhtudel) meeste viljatuse põhjus (2). Lisa X-kromosoom põhjustab spermatogeneesi häireid, pidurdab Leydigi rakkude küpsemist jm. Klinefelteri sündroomiga patsientidel esinevad sageli testiste alaareng, vääntuubulite hüalinisatsioon ja fibroos (11).

V peres oli naise karüotüüp 46,X, fra(X)(q27.3)[2%]. Uuritaval naisel esines kahes rakus fragiilne X-kromosoom. Naistel, kellel esineb fragiilne X-kromosoom, täheldatakse sageli munasarjade enneaegse vananemise sündroomi, mille tulemusena saabub ka varane menopaus. Seega tõenäosus saada järglasi on suurem noorematel naistel, kellel munasarjad funktsioneerivad veel normaalselt (4, 11). Meie patsient oli noor 24aastane, mistõttu järglaste saamine on veel võimalik, kuigi nendel naistel on suurem risk saada vaimse alaarenguga järglasi kui normaalse karüotüübiga naistel. Kuid selles peres oli ka mehe karüotüüp anomaalne 47,XXY[92,5%]/46,XY[7,5%], mis vastab Klinefelteri sündroomi mosaiiksele vormile. Lisa X-kromosoom esines enamikus (92,5%) rakkudes. Erinevalt klassikalisest Klinefelteri sündroomist (vt pere III) on mosaiikse vormi puhul tõenäosus saada järglasi suurem, kuna esineb ka normaalse kromosoomide sisaldusega rakuliine.

VI ja VII peres esines naistel normaalne karüotüüp 46,XX. Mehe karüotüübid olid 46,XY,inv(9)(p11q13)[77,3%]/46,XY[22,7%] ja 46,XY,inv(9)(p11q13)[41%]/46,XY[59%]. Esimesel juhul esines 9. kromosoomi peritsentriline inversioon 77,3% rakkudes, teisel juhul 41% rakkudes. Peritsentrilise inversiooni korral esineb kahe murru vahelise tsentromeeri sisaldava fragmendi ümberpöördumine 180°. Viimasel ajal on inv(9)(p11;q13) tähtsusele meeste infertiilsuse põhjusena suuremat tähelepanu pööratud, sest on leitud selle heterokromaatse ala peenstruktuuri muutusi (9, 12).

VIII peres oli naise kariotüüp 46,XX,9qh+. Uuritaval esines 9. kromosoomi heterokromaatse ala pikenemine kõikides rakkudes. 9. kromosoomi heterokromaatsete alade pikkus on varieeruv, kuid pärandumisel konstantne. Kuigi 9qh+ on täheldatud sageli infertiilsete naiste seas, pole selle regiooni osatähtsus infertiilsuse tekkes veel täielikult selge. Mehe kariotüüp oli 46,XY,inv(9)(p11q13),9qh+,Yqh+. Uuritaval esines nii 9. kromosoomi peritsentriline inversioon kui ka 9. ja Y-kromosoomi pikkade õlgade heterokromaatse ala pikenemine.

Kuna uuritud peredes oli lastetuse kromosomaalsete põhjuste esinemissagedus suur, siis selgitasime välja aja, kunas pered suunati tsütogeneetilisele uuringule. Selleks jaotasime 16 peret gruppidesse, arvestades lastetuse kestust. Analüüsi tulemusena selgus, et lastetuse kestusega alla 2 aasta oli 3 peret, kestusega 2–6 aastat oli 9 peret ja üle 6 aasta 4 peret. Lastetuse keskmine kestus oli 4,5 aastat piirväärtustega 0,5–13 aastat (vt jn 4). Seega, enamik infertiilseid peresid (56,3%) suunati kromosoomide uurimisele küllaltki hilja, pärast 2–6 aastat kestnud lastetut abielu.

Joonis 4 (eraldi fail)

Kokkuvõte

Meie töö tulemusena selgus, et 1) uuritud 17 lastetus peres oli kromosoomianomaaliade esinemissagedus (47,1%) suur võrreldes kirjanduses tooduga (7,2–11,6%);

2) kromosoomianomaaliade esinemissagedus oli võrreldes kirjanduse andmetega suurem mõlemal sool (enam meestel), mis oli põhjustatud eeskätt autosoomide struktuurianomaaliade sageduse tõusust;

3) kromosoomivariantide esinemissagedus (17,6%) ei erinenud kirjanduses toodust;

4) üle poolte infertiilsetest peredest (56,3%) suunati kromosoomide uurimisele küllaltki hilja, vahel isegi alles pärast 6 aastat kestnud lastetust.

Meie uuritud Eesti lastetutes peredes oli kromosoomianomaaliade esinemissagedus võrreldes kirjanduses toodud andmetega suur, kuid selle põhjus vajab edaspidist selgitamist. Kuna uuritud lastetute perede arv on veel tagasihoidlik, siis on oluline tööd jätkata ja tihendada meditsiinigeneetikute koostööd erialaarstidega (androloogid, naistearstid jt). Väga oluline on uurida peresid enne kunstlikule viljastamisele suunamist ja teha uuringud juba varakult, et võimaldada infertiilsete perede asjakohast meditsiinigeneetilist nõustamist.

Uurimust on toetanud Eesti Teadusfond (grant nr 5486) ja sihtfinantseering TARMPO421.

Kirjandus

1. World Health Organization. The influence of varicocele on parameters of fertility in a large group of men presenting to infertility clinics. *Fertil Steril* 1992;57:1289–93.
2. Brugo-Olmedo S, Chillik C, Kopelman S. Definition and causes of infertility. *Reproductive BioMedicine Online* webpaper 2000;2(1):41–53.
3. Sofikitis N, Migayana I, Dimitriadis D. Effects of smoking on testicular function, semen quality and sperm fertilizing capacity. *J Urol* 1995;154:1030-4.
4. Foresta C, Ferlin A, Gianaroli L, Dallapiccola B. Guidelines for the appropriate use of genetic tests in infertile couples. *Eur J Hum Genet* 2002;10:303–12.
5. Scholtes MCW, Behrend C, Dietzel-Dahmen J, van Hoogstraten DG, Marx K, Wohlers S, et al. Chromosomal aberrations in couples undergoing intracytoplasmic sperm injection: influence on implantation and ongoing pregnancy rates. *Fertil Steril* 1998;70(5):933–7.
6. Navarrete C, Salamanca F. Clinical, genetic and cytogenetic studies in couples attending an infertility clinic. *Ann Genet* 1986;29(2):98–103.
7. Moorhead PC, Nowell PC, Melman WJ. Chromosome preparations of leukocytes cultured from human peripheral blood. *Exp Cell Res* 1960;20:613–16.
8. Arrighi FE, Hsu TC. Localization of heterochromatin in human chromosomes. *Cytogenetics* 1971;10:81–6.
9. Starke H, Seider J, Henn W, Reichardt S, Volleth M, Stumm M, et al. Homologous sequences at human chromosome 9 bands p12 and q13-21.1 are involved in different patterns of pericentric rearrangements. *Eur J Hum Genet* 2002;10:790–800.
10. Gekas J, Thepot F, Turleau C, Siffroi JP, Dadoune JP, Wasels R, Benzacken B. Chromosomal factors of infertility in candidate couples for ICSI: an equal risk of constitutional aberrations in women and men. *Hum Reprod* 2001;16(1):82–90.
11. Mikelsaar R. Kromosoomihaigused. Tartu: AS Atlex; 2001.
12. Johnson M. Genetic risks of intracytoplasmic sperm injection in the treatment of male infertility: recommendations for genetic counselling and screening. *Fertil Steril* 1998;70(3):397–411.

Summary

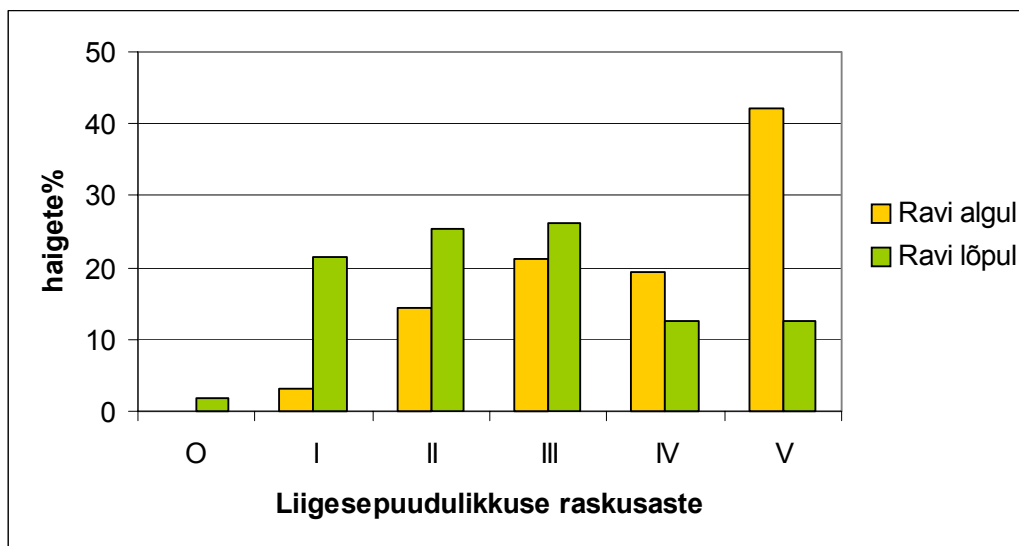
Cytogenetic disorders in infertile couples

Infertility is the inability of a couple to achieve pregnancy or to carry pregnancy to term after two years of unprotected intercourse. About 15% of couples are infertile because of different reasons. The aim of the study was to find out the incidence of chromosomal aberrations in infertile couples in Estonia. The chromosomes of 17 infertile couples (17 females and 17 males) from peripheral blood cultures using GTG and C banding methods were analysed. Patients signed an informed consent and filled in a questionnaire on general data of the family and the duration of infertility.

The incidence of chromosomal aberrations was high. Chromosome analyses of 17 infertile couples revealed aberrations in 8 families (47.1%). Chromosomal aberrations were found in six men (35.5%) among whom 3 men (17.6%) had autosomal aberrations and 3 men (17.6%) had numerical sex chromosome abnormalities. The females had chromosome abnormalities in 3 cases (17.6%) among which autosomal and gonosomal structural abnormalities were found in 2 cases (11.8%) and gonosomal numerical anomaly was found in one infertile woman (5.4%). In one couple, both the female and the male had chromosomal abnormality. In addition, chromosomal variants, mostly 9qh+, were found in 6 cases (17.6%). More than half of infertile families (56.3%) were studied quite late cytogenetically, sometimes even after six years of infertility.

The incidence of chromosomal aberrations in infertile couples in Estonia was high, indicating the necessity to continue this study. For this purpose, cooperation should be intensified between medical geneticists, andrologists and gynaecologists. It is very important to make chromosome analyses of infertile couples quite early, especially before in vitro fertilization, to offer infertile couples appropriate genetic counselling.

kvarb@med.ut.ee



Joonis 1. Liigesepuudulikkuse raskusastmete esinemine (protsentides) gon- ja koksartroosi haigetel ravi algul ja ravi lõpul (6p ja 10–12p rühm koos).