

**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ  
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ  
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ**

**ΜΑΙΕΥΤΙΚΗ ΚΑΙ ΓΥΝΑΙΚΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ  
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΒΙΟΛΟΓΙΑΣ  
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΚΥΤΤΑΡΟΓΕΝΕΤΙΚΗΣ ΚΑΙ ΜΟΡΙΑΚΗΣ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ**

**ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ  
«ΒΙΟΛΟΓΙΑ ΤΗΣ ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΗΣ»**

**ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ  
ΜΕΤΑΛΛΑΞΕΙΣ ΓΟΝΙΔΙΩΝ ΣΤΟ ΧΡΩΜΟΣΩΜΑ Χ ΚΑΙ  
ΥΠΟΓΟΝΙΜΟΤΗΤΑ**

**ΚΟΡΩΝΑ ΕΥΑΓΓΕΛΙΑ  
ΒΙΟΛΟΓΟΣ**

**ΛΑΡΙΣΑ  
ΣΕΠΤΕΜΒΡΙΟΣ 2010**

**ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΟΣ ΥΠΕΥΘΥΝΟΣ ΤΟΥ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑΤΟΣ**  
**ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΙΩΑΝΝΗΣ Ε. ΜΕΣΣΗΝΗΣ**

**ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ**  
**Επιβλέπουσα: ΑΣΠΑΣΙΑ ΤΣΕΖΟΥ**

**Τριμελής Συμβουλευτική Επιτροπή:**  
**ΙΩΑΝΝΗΣ Ε. ΜΕΣΣΗΝΗΣ**  
**ΓΕΩΡΓΙΟΣ ΑΝΥΦΑΝΤΗΣ**

## **ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ:**

## **ΣΕΛΙΔΕΣ**

### **Α' ΜΕΡΟΣ**

<b>1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ – ΣΚΟΠΟΣ.....</b>	<b>4</b>
<b>2. ΥΠΟΓΟΝΙΜΟΤΗΤΑ</b>	
<b>2α) Ορισμός υπογονιμότητας.....</b>	<b>4</b>
<b>2β) Συχνότητα της υπογονιμότητας.....</b>	<b>4</b>
<b>2γ) Πιθανότητα φυσιολογικής σύλληψης.....</b>	<b>4</b>
<b>2δ) Αιτίες υπογονιμότητας.....</b>	<b>5</b>
<b>3. ΑΝΑΠΤΥΞΙΑΚΗ ΠΟΡΕΙΑ ΑΡΡΕΝΟΣ ΚΑΙ</b>	
<b>ΘΗΛΕΟΣ ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΙΚΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ.....</b>	<b>8</b>
<b>4. ΓΑΜΕΤΟΓΕΝΕΣΗ.....</b>	<b>9</b>
<b>4α) Σπερματογένεση.....</b>	<b>10</b>
<b>4β) Ωογένεση.....</b>	<b>13</b>

### **Β' ΜΕΡΟΣ**

<b>5. ΧΡΩΜΟΣΩΜΑ X</b>	
<b>5α) Η πορεία και η εξέλιξη του</b>	
<b>χρωμοσώματος X στο χρόνο.....</b>	<b>15</b>
• Χαρακτηριστικά της αλληλουχίας – γονιδίων	
<b>του χρωμοσώματος X.....</b>	<b>16</b>
<b>5β) Χρωμόσωμα X και υπογονιμότητα.....</b>	<b>17</b>
• Γονίδια στο χρωμόσωμα X και υπογονιμότητα.....	<b>19</b>

### **Γ' ΜΕΡΟΣ**

<b>6. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ – ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....</b>	<b>33 - 34</b>
--	----------------

<b>7. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....</b>	<b>35 - 41</b>
-----------------------------	----------------

## **A) ΜΕΡΟΣ**

### **1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ - ΣΚΟΠΟΣ**

Σκοπός της παρούσας εργασίας είναι η συγκέντρωση και ανάλυση των δεδομένων που υπάρχουν στη βιβλιογραφία σχετικά με τα γονίδια που βρίσκονται στο χρωμόσωμα X και ευθύνονται για πολλές περιπτώσεις υπογονιμότητας.

### **2. ΥΠΟΓΟΝΙΜΟΤΗΤΑ**

#### **2α) Ορισμός υπογονιμότητας.**

Σύμφωνα με την Παγκόσμια Οργάνωση Υγείας ως «υπογονιμότητα» ορίζεται η αδυναμία ενός ζευγαριού να επιτύχει σύλληψη και να αποκτήσει απογόνους έπειτα από τουλάχιστον ένα έτος τακτικών σεξουαλικών επαφών χωρίς αντισυλληπτική προστασία. Η υπογονιμότητα διακρίνεται σε πρωτοπαθή και δευτεροπαθή· πρωτοπαθής ορίζεται η υπογονιμότητα σε ζευγάρια που ποτέ δεν είχαν επιτύχει σύλληψη, ενώ δευτεροπαθής ορίζεται η υπογονιμότητα που εμφανίζεται ενώ έχει προηγηθεί εγκυμοσύνη. (WHO)

#### **2β) Συχνότητα της υπογονιμότητας**

Με βάση διάφορες επιδημιολογικές μελέτες περίπου το 15% των ζευγαριών που βρίσκονται σε αναπαραγωγική ηλικία αντιμετωπίζει κάποιας μορφής δυσκολία στην προσπάθειά του να αποκτήσει απογόνους. Παγκοσμίως, υπολογίζεται ότι υπάρχουν 50-80 εκατομμύρια υπογόνιμα ζευγάρια, στα οποία προστίθενται περίπου 2 εκατομμύρια νέα ζευγάρια ετησίως, με τάση για αύξηση. Η συχνότητα της υπογονιμότητας βέβαια μπορεί να ποικίλλει από περιοχή σε περιοχή και από πληθυσμό σε πληθυσμό. (Poongothai J et al., 2009)

#### **2γ) Πιθανότητα φυσιολογικής σύλληψης**

Η μέση φυσιολογική πιθανότητα επιτυχίας κύησης από ένα γόνιμο ζευγάρι με κανονική σεξουαλική ζωή δεν υπερβαίνει το 20% ανά έμμηνο κύκλο. Το ποσοστό αυτό είναι μεγαλύτερο όταν η ηλικία της γυναίκας είναι μικρή (κάτω των 25 ετών), παραμένει περίπου σταθερό μέχρι την ηλικία των 30 και μειώνεται προοδευτικά μέχρι

την ηλικία των 40 ετών. Σε μεγαλύτερες ηλικίες, το ποσοστό φυσιολογικής σύλληψης είναι πολύ μικρό, της τάξεως του 5% το πολύ. Περίπου το 50% των φυσιολογικών γόνιμων ζευγαριών επιτυγχάνει κύηση κατά το πρώτο έτος προσπαθειών και 20-35% των ζευγαριών αυτών επιτυγχάνει κύηση κατά το δεύτερο έτος προσπαθειών. Το υπόλοιπο 15% είναι τα «υπογόνιμα» ζευγάρια.

## **2δ) Αιτίες υπογονιμότητας**

Η υπογονιμότητα ενός ζευγαριού μπορεί να οφείλεται τόσο σε γυναικείο όσο και σε ανδρικό παράγοντα (με παρόμοιο ποσοστό) καθώς επίσης υπάρχει το ενδεχόμενο να ευθύνονται για την υπογονιμότητα και τα δύο μέλη του ζευγαριού. Είναι σημαντικό βέβαια να αναφέρουμε και την περίπτωση της ανεξήγητης υπογονιμότητας που πλήττει περίπου το 5-10% των σημερινών ζευγαριών. Στα ζευγάρια αυτά παρατηρείται αδυναμία σύλληψης παρόλο που και οι δύο είναι καθ'όλα φυσιολογικοί. Αναλυτικότερα οι παράγοντες υπογονιμότητας για γυναίκες και άνδρες είναι οι εξής:

### **Γυναικείοι Παράγοντες**

- Ορμονικές διαταραχές (σύνδρομο πολυκυστικών ωοθηκών, πρόωρη εμμηνόπαυση, ακατάστατη ωορηξία) που επηρεάζουν τόσο τη φυσιολογική ωορηξία όσο και την ποιότητα των παραγόμενων ωαρίων, σε ποσοστό 27%.
- Η απόφραξη των σαλπίγγων συνήθως μετά από φλεγμονές και λοιμώξεις, σε ποσοστό 20%.
- Η ενδομητρίωση, σε ποσοστό 10%.
- Παθήσεις της μήτρας (ινομώματα, διθάλαμος μήτρα)
- Το αφιλόξενο περιβάλλον του τραχήλου (μη φιλική-προς τα σπερματοζώαρια-τραχηλική βλέννη)
- αυξημένη ηλικία της γυναίκας
- Ανοσολογικά αίτια (ύπαρξη διάφορων- 'εχθρικών' προς το έμβρυο-αντισωμάτων στον ορό της γυναίκας)
- Αιτίες που σχετίζονται με τον τρόπο ζωής (άγχος, κάπνισμα, αλκοόλ)
- Γονιδιακές-Χρωμοσωμικές ανωμαλίες
- Επιγενετικοί παράγοντες
- Ανεξήγητη υπογονιμότητα

## Ανδρικοί Παράγοντες

Στον άνδρα η υπογονιμότητα οφείλεται κυρίως στην αλλοίωση των παραμέτρων του σπέρματος (αριθμός, κινητικότητα και μορφολογία των σπερματοζωαρίων). Παρόλο που η ηλικία του άντρα από μόνη της δε θέτει φραγμούς στη γονιμότητα είναι πολύ πιθανόν εξαιτίας των αιτιών που ακολουθούν, πολλοί από τους οποίους σχετίζονται με την ηλικία, να παράγεται σπέρμα χαμηλής ποιότητας\* ανίκανο να γονιμοποιήσει φυσιολογικά το ωάριο. Στις προαναφερθείσες αιτίες συγκαταλέγονται:

- Ορμονικές διαταραχές
- Φλεγμονές
- Ατυχήματα στα γεννητικά όργανα
- Απόφραξη σπερματικών πόρων
- Ανοσολογικά αίτια
- Αιτίες που σχετίζονται με τον τρόπο ζωής (άγχος, κάπνισμα, αλκοόλ, υψηλές θερμοκρασίες)
- Γονιδιακές – χρωμοσωμικές ανωμαλίες

## \*Σπέρμα χαμηλής ποιότητας

Ένα σπερμοδιάγραμμα θεωρείται φυσιολογικό όταν οι τιμές αναφοράς για συγκεκριμένες παραμέτρους του σπέρματος έχουν ως εξής:

### ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΙ

### ΤΙΜΕΣ ΑΝΑΦΟΡΑΣ

• όγκος	$\geq 2\text{ml}$
• pH	7,2-8,0
• πυκνότητα	$\geq 20 \cdot 10^6/\text{ml}$
• κινητικότητα:	a (ευθύγραμμη) $>25\%$
	ή a + b(στροβιλοειδής) $>50\%$ (όταν η μέτρηση γίνει εντός 1 h από εκσπερμάτιση)

Οποιοδήποτε δείγμα σπέρματος έχει τιμές κατώτερες αυτών που έχουν ορισθεί ως φυσιολογικές θεωρείται χαμηλής ποιότητας. Είναι σημαντικό να αναφέρουμε βέβαια

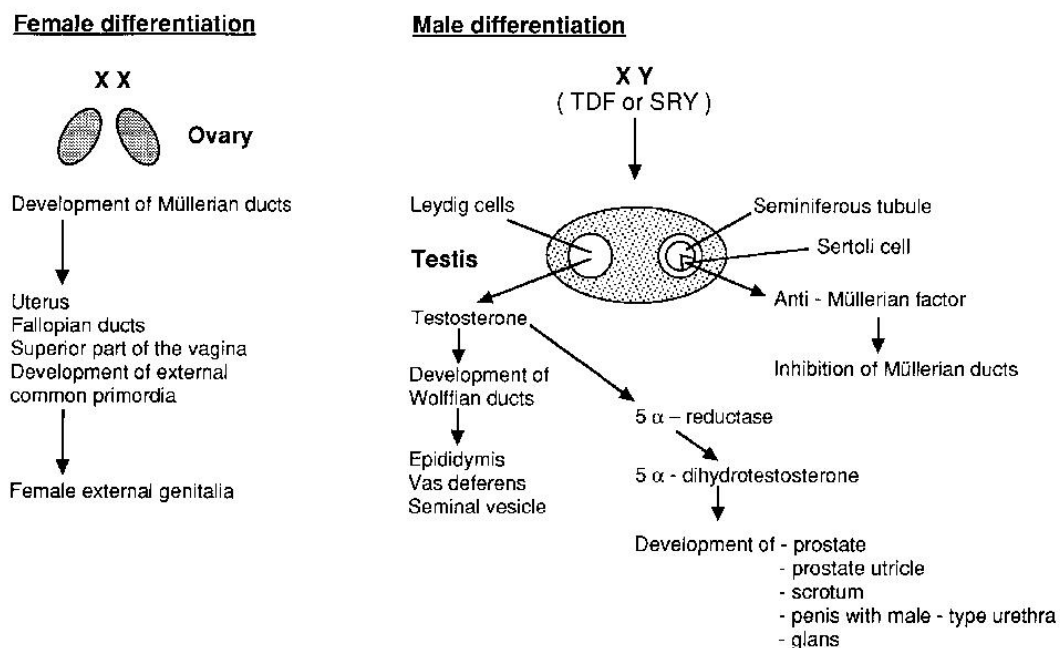
ότι οι αριθμοί αυτοί δεν είναι απόλυτοι, καθώς σε αρκετές περιπτώσεις έχει επιτευχθεί γονιμοποίηση από σπέρματα με χαμηλότερες από τις φυσιολογικές παραμέτρους. (WHO)



### 3. ΑΝΑΠΤΥΞΙΑΚΗ ΠΟΡΕΙΑ ΑΡΡΕΝΟΣ ΚΑΙ ΘΗΛΕΟΣ ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΙΚΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ

Το γεννητικό σύστημα του άρρενος και του θήλεος ατόμου είναι ουσιαστικώς πανομοιότυπο μέχρι το τέλος της 6ης εβδομάδας. Μέχρι τότε το γεννητικό σύστημα του άρρενος και του θήλεος δεν είναι δυνατό να διακριθούν μεταξύ τους με βάση μορφολογικά χαρακτηριστικά, παρ' όλο που μπορεί να υφίστανται ήδη ελαφρές κυτταρικές διαφοροποιήσεις. Η αμφιφυλετική ή αδιαφοροποίητη φάση της γεννητικής ανάπτυξης τελειώνει σε αυτό το σημείο και από την 7η εβδομάδα και έπειτα το γεννητικό σύστημα του άρρενος και του θήλεος ακολουθούν αποκλίνουσες πορείες (Luiz Carlos Junqueira, Jose Carneiro, Βασική Ιστολογία II).

Στην εικόνα που ακολουθεί (εικόνα 1) φαίνονται οι γενετικοί και ορμονικοί παράγοντες που ενεργούν στη διαφοροποίηση των γονάδων.



**Εικόνα 1:** Γενετικοί και ορμονικοί παράγοντες που ενεργούν στη διαφοροποίηση των γονάδων, των εσωτερικών κ' εξωτερικών γεννητικών οργάνων στα αρσενικά και θηλυκά έμβρυα. Η ανάπτυξη των ανδρικών φυλετικών δομών εξαρτάται από την παρουσία της αντι-μυλλέρειας ορμόνης.

#### **4. ΓΑΜΕΤΟΓΕΝΕΣΗ**

Η διαδικασία της γαμετογένεσης χαρακτηρίζεται από μία πολύ συγκεκριμένη διαδικασία τη μειωτική διαίρεση. Αν και η διαδικασία της μείωσης είναι μια συντηρημένη διαδικασία σε κάθε ευκαρυωτικό οργανισμό, στα θηλαστικά διαφέρει σημαντικά μεταξύ θηλυκών και αρσενικών ατόμων (εικόνα 2). (Scott F. Gilbert, *Developmental Biology*)

##### **Sexual dimorphism in mammalian meiosis**

<b>Ωογένεση</b>	<b>Σπερματογένεση</b>
Η έναρξη της μείωσης γίνεται μία φορά σε έναν πεπερασμένο αριθμό αρχέγονων κυττάρων	Η έναρξη της μείωσης γίνεται διαρκώς σε έναν μιτωτικά διαιρούμενο πληθυσμό αρχέγονων κυττάρων
Ένας γαμέτης παράγεται με την ολοκλήρωση κάθε μείωσης	Τέσσερις γαμέτες παράγονται με την ολοκλήρωση κάθε μείωσης
Η ολοκλήρωση της μείωσης καθυστερεί για μήνες ή χρόνια	Η μείωση ολοκληρώνεται σε μέρες ή εβδομάδες
Η μείωση σταματά στο στάδιο της 1 <sup>ης</sup> μειωτικής πρόφασης και αργότερα συνεχίζεται σε έναν μικρότερο αριθμό κυττάρων	Η μείωση και η διαφοροποίηση των κυττάρων γίνονται αδιάκοπα
Η διαφοροποίηση των γαμετών συμβαίνει όταν είναι ακόμα διπλοειδείς, στην 1 <sup>η</sup> μειωτική πρόφαση	Η διαφοροποίηση των γαμετών συμβαίνει όταν είναι πλέον απλοειδείς, μετά το τέλος της μείωσης
Όλα τα χρωμοσώματα μεταγράφονται και ανασυνδυάζονται ισότιμα στη διάρκεια των μειωτικών προφάσεων	Τα φυλετικά χρωμοσώματα δεν ανασυνδυάζονται σε όλο το μήκος τους

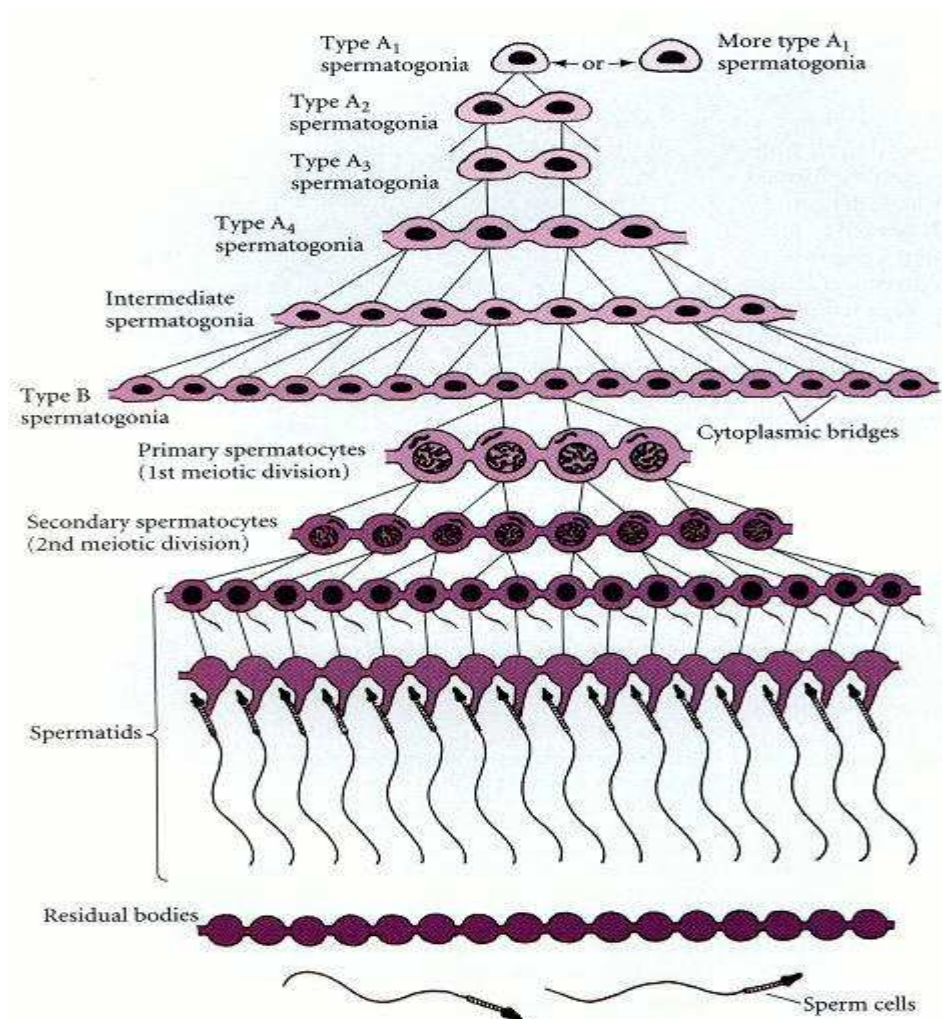
Source: Handel and Eppig 1998, Copyright © 2000, Sinauer Associates

#### **4α) Σπερματογένεση:**

Η σπερματογένεση είναι μια συνεχής διαδικασία κατά την οποία τα αρχικά ανώριμα γεννητικά κύτταρα (σπερματογόνια) μετατρέπονται σε ώριμα σπερματοζώαρια (εικόνα 3). Διακρίνουμε δύο κύριες φάσεις: τη σπερματοκυττογένεση, που περιλαμβάνει τα στάδια από τα σπερματογόνια μέχρι τον σχηματισμό των σπερματίδων και τη σπερμιογένεση, που περιλαμβάνει όλες τις απαραίτητες διαδικασίες για τη μετατροπή των σπερματίδων σε ώριμα σπερματοζώαρια.. Τα σπερματογόνια βρίσκονται στην εξωτερική πλευρά των σπερματικών σωληναρίων του όρχεως ανάμεσα στα κύτταρα του Sertoli. Τα κύτταρα του Sertoli είναι συνέχεια της βασικής μεμβράνης των σπερματικών σωληναρίων, βρίσκονται ανάμεσα στα κύτταρα της σπερματογένεσης και έχουν υποστηρικτικό ρόλο. Ο πληθυσμός των διπλοειδών σπερματογονίων διαιρείται σε δύο πληθυσμούς: τα σπερματογόνια τύπου A και τα σπερματογόνια τύπου B. Τα σπερματογόνια τύπου A υφίστανται διαδοχικές μιτωτικές διαιρέσεις και έτσι εξασφαλίζουν τη διατήρηση του αρχικού αριθμού των σπερματογονίων στον όρχι ενώ τα σπερματογόνια τύπου B μέσω μιτωτικών διαιρέσεων δίνουν τα πρωτογενή σπερματοκύτταρα. Τα σπερματογόνια είναι ανενεργά έως την ήβη. Από την έναρξη της ήβης και μετά, τα σπερματογόνια τύπου B μετατρέπονται σε πρωτογενή σπερματοκύτταρα (λέγονται και πρωτοταγή ή σπερματοκύτταρα πρώτης τάξης). Κάθε πρωτογενές σπερματοκύτταρο υφίσταται την πρώτη μειωτική διαίρεση και μετατρέπεται σε δύο δευτερογενή σπερματοκύτταρα (λέγονται και δευτεροταγή ή σπερματοκύτταρα δεύτερης τάξης) που είναι μικρά, σφαιρικά, απλοειδή κύτταρα. Τα δευτερογενή σπερματοκύτταρα περιέχουν μισό αριθμό χρωμοσωμάτων και ένα μόνο φυλετικό χρωμόσωμα X ή Y. Τα δευτερογενή σπερματοκύτταρα εν συνεχεία υφίστανται τη δεύτερη μειωτική διαίρεση και σχηματίζουν 4 απλοειδείς σπερματίδες. Κατά τη διάρκεια της δεύτερης αυτής διαίρεσης δεν υπάρχει άλλη ελάττωση του αριθμού των χρωμοσωμάτων: η διαίρεση αυτή, παρότι ονομάζεται μειωτική ομοιάζει πολύ με μια απλή μιτωτική διαίρεση. Οι σπερματίδες σταδιακά χάνουν το κυτταρόπλασμά τους και μετατρέπονται σε ώριμα σπερματοζώαρια, με μια εκτεταμένη διεργασία διαφοροποίησης, γνωστή ως σπερμιογένεση (*Lucinda L. Veeck*). Μόνο μετά την οριστική διαφοροποίησή τους τα σπερματοζώαρια απελευθερώνονται στον αυλό των σπερματικών σωληναρίων, υπό την επίδραση της τεστοστερόνης, για να καταλήξουν, μέσω του ορχικού δικτύου, στις επιδιδυμίδες. Μέχρι τότε τα κύτταρα παραμένουν σε εγκολπώσεις των κυττάρων

Sertoli, τα οποία τους παρέχουν προστασία και θρέψη. Από το πρώτο στάδιο της διαδικασίας έως και το στάδιο σχηματισμού των σπερματιδών η κυτταροκίνηση είναι ατελής και έτσι τα κύτταρα διαδοχικών γενεών συνδέονται μεταξύ τους με κυτταροπλασματικές γέφυρες. Συνολικά η σπερματογένεση διαρκεί περίπου 64 ημέρες, από τις οποίες περίπου 40 ημέρες διαρκεί η σπερματοκυττογένεση και περίπου 24 η σπερμιογένεση. Η δε σπερμιογένεση χωρίζεται σε τρεις φάσεις:

- **φάση golgi**, το κυτταρόπλασμα των σπερματιδών περιέχει μια ευδιάκριτη συσκευή golgi κοντά στον πυρήνα, μιτοχόνδρια, ένα ζεύγος κεντριολίων, ελεύθερα ριβοσώματα και σωληνάρια λείου ενδοπλασματικού δικτύου. Προακροσωμιακά κοκκία συσσωρεύονται στο σύμπλεγμα golgi. Αυτά στη συνέχεια συντίκονται και σχηματίζουν ένα ενιαίο ακροσωμιακό κοκκίο μέσα στο ακροσωμιακό κυστίδιο. Τα κεντριόλια μεταναστεύουν σε μια θέση κοντά στην επιφάνεια του κυττάρου και στον αντίθετο πόλο σε σχέση με το σχηματιζόμενο ακρόσωμα. Το αξόνημα των μαστιγίων αρχίζει να σχηματίζεται και τα κεντριόλια μεταναστεύουν πίσω προς τον πυρήνα, αποθώντας τα συστατικά του αξονήματος.
- **Ακροσωμική φάση**, σχηματίζεται το ακρόσωμα το οποίο καλύπτει το πρόσθιο ήμισυ του συμπακνούμενου πυρήνα και περιέχει αρκετά υδρολυτικά ένζυμα τα οποία επιτρέπουν στο σπερματοζώαριο να διαπεράσει τη διάφανη ζώνη των ωαρίων. Κατά τη διάρκεια αυτής της φάσης ο πυρήνας της σπερματίδας προσανατολίζεται προς τη βάση του σπερματικού σωληναρίου και το αξόνημα προβάλλει στον αυλό του. Επιπλέον, ο πυρήνας επιμηκύνεται και συμπακνώνεται περισσότερο. Συγχρόνως ένα από τα κεντριόλια αναπτύσσεται και σχηματίζεται το μαστίγιο.
- **Φάση ωρίμανσης**, όπου απομακρύνεται το πλεονάζον κυτταροπλασματικό υλικό από τα σπερματοζώαρια και φαγοκυτταρώνεται από τα περιβάλλοντα κύτταρα sertoli. Τα σπερματοζώαρια έπειτα απελευθερώνονται στον αυλό του ορχικού σωληναρίου (Luiz Carlos Junqueira, Jose Carneiro, Βασική Ιστολογία II).

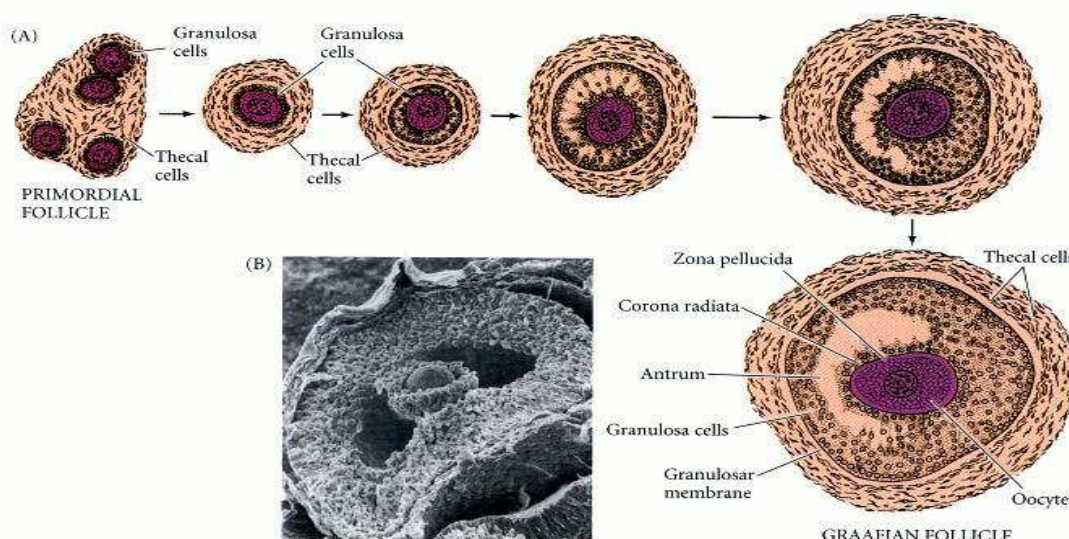


**Εικόνα 3:** The formation of syncytial clones of human male germ cells. (After Bloom and Fawcett 1975)

#### **4β) Ωογένεση:**

Το δευτερογενές ωοκύτταρο ή ωάριο συνιστά τον θηλυκό γαμέτη. Είναι το μόνο κύτταρο του ανθρώπινου οργανισμού το οποίο μετά τη γονιμοποίηση μπορεί να αναπτύσσεται ως νέα, αυτοτελής μονάδα. Το ωάριο είναι ορατό και δια γυμνού οφθαλμού. Έχει διάμετρο περίπου 0,1 mm και είναι το μεγαλύτερο κύτταρο του ανθρώπινου οργανισμού. Η ωογένεση είναι μια διεργασία κατά την οποία το ανώριμο ωογόνιο μετατρέπεται σε ώριμο δευτερογενές ωοκύτταρο, ή ωάριο (εικόνα 4). Το αρχικό στάδιο του ωαρίου είναι το αρχέγονο γεννητικό κύτταρο. Κατά τη διάρκεια της 5ης εβδομάδας της εμβρυϊκής ζωής, τα αρχέγονα γεννητικά κύτταρα (περίπου 1.000-2.000), μεταναστεύουν από το τοίχωμα του λεκιθικού ασκού στην περιοχή των γονάδων. Κατά τη διάρκεια της ανάπτυξης της ωοθήκης τα αρχέγονα γεννητικά κύτταρα, που ονομάζονται πλέον ωογόνια, πολλαπλασιάζονται γρήγορα με μιτωτικές διαιρέσεις, ενώ αρχίζει και η διεργασία της πρώτης μειωτικής διαίρεσης. Ο αριθμός των γεννητικών κυττάρων κατά την 6η-7η εβδομάδα κύησης είναι περίπου 10.000 ωογόνια. Στην 8η εβδομάδα, τα ωογόνια φθάνουν τις 600.000. Από αυτή τη φάση της εμβρυϊκής ζωής τα γεννητικά κύτταρα εξαρτώνται από τρεις συνυπάρχουσες διεργασίες: της μίτωσης, της μείωσης και της ατρησίας. Υπερισχύει η μίτωση και έτσι στις 20 εβδομάδες της εμβρυϊκής ζωής έχουμε τον μεγαλύτερο αριθμό των γεννητικών κυττάρων που φθάνουν περίπου τα 7 εκατομμύρια. Η ατρησία (διεργασία καταστροφής) των ωογονίων παύει τον 7ο μήνα της κύησης, οπότε όλα τα ωογόνια, υφιστάμενα τη μειωτική διαίρεση, έχουν μετατραπεί σε αρχέγονα ωοθυλάκια. Σε αυτή τη φάση η ατρησία των ωοθυλακίων αντικαθιστά την ατρησία των ωογονίων και κατά τη γέννηση η ωοθήκη διαθέτει περίπου 1-2 εκατομμύρια γεννητικά κύτταρα. Ο αριθμός αυτός μειώνεται με την ηλικία και στην ήβη απομένουν περίπου 300,000 – 400,000. Με τον τρόπο αυτό, η ενήλικη γυναίκα έχει απολέσει το 80% των γεννητικών κυττάρων που είχε στην εμβρυϊκή ζωή. Η διεργασία της μείωσης αρχίζει περίπου την 8η εβδομάδα της ενδομήτριας ζωής και διακόπτεται στο στάδιο της διπλοταινίας, (δηλαδή την πρόφαση της πρώτης μειωτικής διαίρεσης), κατά το οποίο τα διπλά χρωμοσώματα έχουν διαταχθεί ανά ζεύγη. Τα ωοκύτταρα πλέον καλούνται πρωτογενή ωοκύτταρα. Κατά τη διάρκεια του σχηματισμού του, το πρωτογενές ωοκύτταρο περιβάλλεται από μία στιβάδα κυβοειδών κυττάρων της ωοθήκης και ο σχηματισμός αυτός ονομάζεται πρωτογενές ωοθυλάκιο. Στη φάση αυτή ο πυρήνας μεγεθύνεται, τα μιτοχόνδρια αυξάνονται σε

αριθμό και κατανέμονται ομοιόμορφα σε όλο το κυτταρόπλασμα, το ενδοπλασματικό δίκτυο υπερτρέφεται και οι συσκευές golgi μεταναστεύουν ακριβώς κάτω από την κυτταρική επιφάνεια. Τα θυλακικά κύτταρα συνεχίζουν να πολλαπλασιάζονται σχηματίζοντας ένα πολύστιβο θυλακικό επιθήλιο, την κοκκιώδη στιβάδα, της οποίας τα κύτταρα επικοινωνούν μεταξύ τους με χασματικές συνάψεις. Τότε το ωοθυλάκιο ονομάζεται πολύστιβο πρωτογενές ή προαντρικό ωοθυλάκιο. Τότε εμφανίζεται και η διαφανής ζώνη που περιβάλλει το ωοκύτταρο. Το πρωτογενές ωοκύτταρο παραμένει αδρανές σε αυτό το στάδιο τουλάχιστον μέχρι την εφηβεία, αλλά ακόμη και για 40 χρόνια αργότερα. Στη μετέπειτα αναπτυξιακή πορεία του ωοθυλακίου αρχίζει να συσσωρεύεται υγρό μεταξύ των θυλακικών κυττάρων (ωοθυλακικό υγρό), το οποίο περιέχει συστατικά του πλάσματος και προϊόντα που εκκρίνονται από τα θυλακικά κύτταρα. Έτσι σχηματίζεται μια μεγάλη κοιλότητα, το άντρο και τα ωοθυλάκια ονομάζονται δευτερογενή. Κατά τη διάρκεια κάθε εμμηνορρυσιακού κύκλου από μια ομάδα επιλεγμένων ωοθυλακίων συνήθως ένα ωοθυλάκιο γίνεται το κυρίαρχο και περνά στο πιο εξελιγμένο στάδιο της αυξητικής τροχιάς, οπότε και ονομάζεται ώριμο ή τριτογενές ή γρααφιανό ωοθυλάκιο. Η μειωτική διαίρεση ολοκληρώνεται ακριβώς πριν την ωοθυλακιόρρηξη, ως αποτέλεσμα της αύξησης των επιπέδων της LH. Όλη η διαδικασία της ανάπτυξης του ωοθυλακίου από το αρχέγονο μέχρι το ώριμο ωοθυλάκιο διαρκεί περίπου 90 ημέρες (Luiz Carlos Junqueira, Jose Carneiro, Βασική Ιστολογία II; Lucinda L. Veeck).



**Εικόνα 4:** The ovarian follicle of mammals. (A) Maturation of the ovarian follicle. When mature, it is often called a Graafian follicle. (B) Scanning electron micrograph of a mature follicle in the rat. The oocyte (center) is surrounded by the smaller granulosa cells that will make up the cumulus. (A after Carlson 1981; B courtesy of P. Bagavandoss.)

## **Β' ΜΕΡΟΣ**

### **5. Χρωμόσωμα X**

Το ανθρώπινο γονιδίωμα αποτελείται από 23 ζεύγη χρωμοσωμάτων, 22 αυτοσωμικά ζεύγη και 1 φυλετικό ζεύγος, κάθε ένα από τα οποία περιέχει εκατοντάδες ή χιλιάδες γονίδια. Το γονιδίωμα ενός απλοειδούς κυττάρου περιλαμβάνει περίπου  $3 \times 10^9$  ζεύγη βάσεων, οποιοδήποτε από τα οποία μπορεί να υποστεί διάφορες μεταβολές που ενδεχομένως να επηρεάσουν την υγεία του ατόμου. (*Nature*, 2005)

#### **5α) Η πορεία και η εξέλιξη του χρωμοσώματος X στο χρόνο**

Τα φυλετικά χρωμοσώματα θεωρείται ότι προέρχονται από την εξέλιξη ενός ζεύγους αυτοσωμικών χρωμοσωμάτων, η οποία συντελέστηκε μέσα στα τελευταία τριακόσια (300) εκατομμύρια έτη. Κατά τη διάρκεια της διαδικασίας τα αυθεντικά λειτουργικά στοιχεία του γονιδιώματος διατηρήθηκαν για το χρωμόσωμα X ενώ για το χρωμόσωμα Y χάθηκαν σχεδόν όλα τα πρότυπα του αρχικού αυτοσωμικού χρωμοσώματος. Έτσι λοιπόν χάθηκαν πολλά γονίδια από το χρωμόσωμα Y τα οποία κάποτε ήταν κοινά μεταξύ των δύο χρωμοσωμάτων X και Y.

Τα θηλυκά άτομα κληρονομούν ένα χρωμόσωμα X από κάθε γονέα ενώ τα αρσενικά κληρονομούν ένα μόνο μητρικό χρωμόσωμα X. Η έκφραση του ενός από τα δύο χρωμοσώματα X στα θηλυκά σταματάει νωρίς στην ανάπτυξη μέσω της διαδικασίας της αδρανοποίησης και παραμένει αδρανοποιημένο από εκεί και έπειτα στα σωματικά κύτταρα. Στα κύτταρα της γαμετικής σειράς όμως αυτό επανενεργοποιείται και υποβάλλεται σε μειωτικό ανασυνδυασμό με το δεύτερο χρωμόσωμα X. Στα αρσενικά άτομα το μοναδικό χρωμόσωμα X δεν αδρανοποιείται και επιπλέον αποτυγχάνει να ανασυνδυαστεί σε όλο το μήκος του με το χρωμόσωμα Y εκτός από μία περιοχή μήκους 2,6 Mb στα τελικά άκρα των βραχέων σκελών των χρωμοσωμάτων, την επονομαζόμενη ψευδοαυτοσωματική περιοχή, που είναι πολύ ομόλογη στα δύο χρωμοσώματα και στην οποία συμβαίνει εκτενής ανασυνδυασμός κατά τη μείωση.

Τα αρσενικά άτομα λοιπόν εμφανίζουν ημιζυγωτία για τα περισσότερα (σχεδόν όλα) γονίδια του χρωμοσώματος X. Αξίζει να σημειωθεί ότι η κατάσταση της ημιζυγωτίας είναι υπεύθυνη για την εκδήλωση σε αυτά τα άτομα συχνότερα, σε σύγκριση με τα

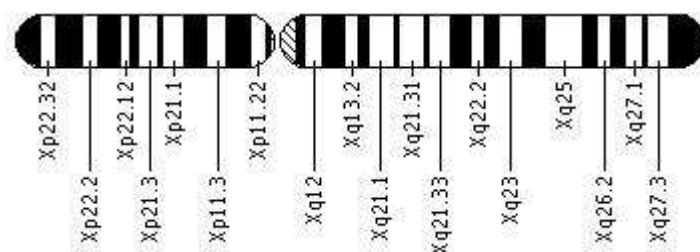


θηλυκά άτομα, φαινοτύπων που οφείλονται στη δράση υπολειπόμενων αλληλομόρφων. Αυτό εξηγεί και την εκδήλωση μεγάλου αριθμού ασθενειών που σχετίζονται με το χρωμόσωμα X σε αρσενικά άτομα. Παρ' όλο λοιπόν που το χρωμόσωμα X περιλαμβάνει περίπου μόνο το 4% του συνόλου των γονιδίων του ανθρώπου, είναι υπεύθυνο για το 10% των ασθενειών που κληρονομούνται με το μεντελιανό πρότυπο κληρονομικότητας και τα υπεύθυνα γονίδια βρίσκονται στο χρωμόσωμα X, καθώς τα αρσενικά άτομα εμφανίζουν ακόμα και αυτά τα χαρακτηριστικά που οφείλονται σε υπολειπόμενα αλληλόμορφα και βέβαια δεν έχουν το αντίστοιχο αλληλόμορφο στο χρωμόσωμα Y. Το χαρακτηριστικό πρότυπο λοιπόν της φυλοσύνδετης (X) κληρονομικότητας συνοψίζεται σε εκδήλωση υπολειπόμενου φαινοτύπου σε αρσενικά άτομα και σε αδυναμία μεταβίβασης φυλοσύνδετων χαρακτηριστικών από αρσενικό γονέα σε αρσενικό απόγονο. (*Nature* 2005; *Daniela Toniolo, Flavio Rizzolio, 2007*)

- **Χαρακτηριστικά της αλληλουχίας – γονιδίων του χρωμοσώματος X**

Το χρωμόσωμα X είναι ένα μεγάλο χρωμόσωμα και περιλαμβάνει περίπου το 6% του συνολικού DNA (εικόνα 5). Περίπου 250 ασθένειες έχει δειχθεί ότι είναι φυλοσύνδετες στο X. Τα γονίδια του χρωμοσώματος X, με βάση και όσα αναφέρθηκαν ήδη, μπορούμε να τα διακρίνουμε σε δύο κατηγορίες ανάλογα με τη θέση τους πάνω στο χρωμόσωμα. Έτσι έχουμε τα ψευδοαυτοσωματικά γονίδια, και είναι αυτά που βρίσκονται στις περιοχές όπου επιτυγχάνεται ανασυνδυασμός μεταξύ X και Y χρωμοσώματος, και τα X – linked γονίδια που βρίσκονται έξω από αυτές τις περιοχές. Η ανάλυση της αλληλουχίας του X χρωμοσώματος αποκάλυψε ότι το χρωμόσωμα X έχει χαμηλή περιεκτικότητα σε γονίδια, ενώ είναι πλούσιο σε διάσπαρτες επαναλαμβανόμενες περιοχές. Επίσης φάνηκε ότι η περιεκτικότητα σε G,C (39%) είναι χαμηλότερη από το μέσο όρο περιεκτικότητας σε G,C του υπόλοιπου γονιδιώματος (41%). Πιο συγκεκριμένα προσδιορίστηκε η ύπαρξη χιλίων ενενήντα οκτώ (1,098) γονιδίων από τα οποία τα ενενήντα εννέα (99) κωδικοποιούν πρωτεΐνες που εκφράζονται στους όρχεις καθώς και σε διάφορους τύπους καρκίνου. Επιπλέον προσδιορίστηκε στην αλληλουχία και η ύπαρξη επτακοσίων (700) ψευδογονιδίων. Τα εξόνια των 1,098 γονιδίων καταλαμβάνουν έκταση 1,7% της αλληλουχίας του X χρωμοσώματος. Σύμφωνα και με τη χαμηλή πυκνότητα γονιδίων του χρωμοσώματος υπολογίζεται ότι η συχνότητα των CpG νησίδων σε αυτό (η οποία

υπολογίζεται σε 5.25 ανά Mb) είναι περίπου η μισή από τον αριθμό των νησίδων αυτών στο υπόλοιπο γονιδίωμα. (Nature 2005; <http://ghr.nlm.nih.gov/> )



**Εικόνα 5:** Το χρωμόσωμα X

### **5β) Χρωμόσωμα X και υπογονιμότητα**

Ένα σύνολο παραγόντων, όπως έχει ήδη αναφερθεί, μπορεί να επηρεάσει τη γονιμότητα αρρένων και θήλεων ατόμων. Ανάμεσα σε αυτούς τους παράγοντες, όπως πχ ανατομικές ανωμαλίες των γεννητικών οργάνων, περιβαλλοντικοί παράγοντες κ.α, μεγάλο μερίδιο έχουν οι γενετικοί παράγοντες. Στην κατηγορία που περιλαμβάνει τους γενετικούς παράγοντες δεν πρέπει να παραληφθεί η προσθήκη της δράση των επιγενετικών μηχανισμών. Οι γενετικοί και επιγενετικοί\* παράγοντες μπορούν να επηρεάσουν τη γονιμότητα των ατόμων σε πολύ σημαντικό βαθμό.

*\*Ο όρος επιγενετική αναφέρεται σε αλλαγές της γενετικής πληροφορίας, οι οποίες δεν επηρεάζουν τη βασική αλληλουχία του γενετικού υλικού (DNA) αλλά αφορούν σε αλλαγές πάνω στο ίδιο το μόριο του DNA, οι οποίες ρυθμίζουν την μεταγραφή και κατά συνέπεια την έκφραση των γονιδίων. (Dupont C, Armant DR, Brenner CA 2009)*

Οι κύριοι μηχανισμοί με τους οποίους κληρονομούνται τα διάφορα χαρακτηριστικά, πολλά από τα οποία μπορούν να οδηγούν και σε υπογόνιμο φαινότυπο είναι οι εξής τέσσερεις: μεντελιανός τρόπος κληρονομικότητας, μεταβίβαση χαρακτηριστικών/συνδρόμων εξαιτίας χρωμοσωμικών ανωμαλιών, μιτοχονδριακή κληρονομικότητα και σύνθετος τρόπος κληρονομικότητας. (The ESHRE Capri Workshop Group 2008)

- Ο **μεντελιανός τρόπος κληρονομικότητας** αφορά κυρίως τη διαιώνιση αλλαγών του γενετικού υλικού, όπως πχ αντικατάσταση, προσθήκη ή έλλειψη αζωτούχας βάσης, και περιλαμβάνει μηχανισμούς αυτοσωμικής επικρατούς ή υπολειπόμενης κληρονομικότητας καθώς και μηχανισμούς φυλοσύνδετης επικρατούς ή υπολειπόμενης κληρονομικότητας.

- Οι **χρωμοσωμικές ανωμαλίες** μπορεί να είναι αριθμητικές (ανεupλοειδία), ή δομικές. Οι αριθμητικές ανωμαλίες των γαμετών μπορούν να οδηγήσουν στη δημιουργία ατόμου με μονοσωμία (στον άνθρωπο η μοναδική βιώσιμη είναι η μονοσωμία στο φυλετικό ζεύγος χρωμοσωμάτων XO – σύνδρομο Turner) ή με τρισωμίες (στον άνθρωπο είναι αρκετά συχνές οι τρισωμίες των αυτοσωμικών χρωμοσωμάτων 13, 18, 21). Όσον αφορά στις δομικές ανωμαλίες μπορούν να παρατηρηθούν τα εξής είδη: διπλασιασμοί, ελλείμματα, αναστροφές, μετατόπιση και αμοιβαία μετατόπιση, με ποικίλα αποτελέσματα το κάθε ένα. Από όλα τα είδη δομικών ανωμαλιών φαίνεται ότι η κλινικά πιο σημαντική είναι η μετατόπιση γενετικού υλικού, αμοιβαία ή μη, ή η μετάθεση κατά Robertson. Ισοζυγισμένες μεταθέσεις προκύπτουν σε περίπου 1 στα 600 νεογνήνητα.

- **Μιτοχονδριακή κληρονομικότητα:** το μιτοχονδριακό DNA μπορεί να είναι 10-20 φορές πιο μεταλλαγμένο σε σχέση με το πυρηνικό. Ανωμαλίες στο mtDNA μπορούν να προκαλέσουν πλήθος προβλημάτων υγείας ανάμεσα στα οποία είναι και προβλήματα γονιμότητας ή και δυσλειτουργίες στην πρώιμη εμβρυική ανάπτυξη. Αυτού του είδους το γενετικό υλικό όμως μεταβιβάζεται μόνο μέσω της μητέρας (στα ωάρια το ένα τρίτο περίπου του γενετικού υλικού είναι μιτοχονδριακό) καθώς τα μιτοχόνδρια των σπερματοζωαρίων δεν εισέρχονται στα ωάρια.

- Η **σύνθετη κληρονομικότητα** περιλαμβάνει μηχανισμούς μεταβίβασης χαρακτηριστικών που δεν φαίνεται να ακολουθούν τους κανόνες της απλής μενδελιανής κληρονομικότητας. Βασικό χαρακτηριστικό της σύνθετης κληρονομικότητας είναι η επαναλαμβανόμενη και αυξημένη, σε σχέση με τον γενικό πληθυσμό, πιθανότητα για εμφάνιση ενός γνωρίσματος μέσα στα πλαίσια μιας οικογένειας με προσβεβλημένα μέλη.

Τόσο η ανδρική όσο και η γυναικεία υπογονιμότητα αντανakλούν ένα παράδειγμα σύνθετης νόσου με σημαντικό γενετικό υπόβαθρο. Πολλές προσπάθειες έχουν γίνει για να διευκρινιστεί η γενετική αιτιολογία της υπογονιμότητας χωρίς όμως πάντα κάποιο ξεκάθαρο τελικό αποτέλεσμα. Το γεγονός αυτό έχει σαν συνέπεια σε μια

μεγάλη μερίδα ατόμων με προβλήματα γονιμότητας να δίνεται η διάγνωση *ιδιοπαθούς υπογονιμότητας*. (Poongothai J et al., 2009) Μέχρι σήμερα βέβαια έχουν χαρακτηριστεί διάφορες καταστάσεις οι οποίες προκαλούν προβλήματα γονιμότητας και έχουν γενετικό υπόβαθρο, όπως αυτές φαίνονται στη συνέχεια:

- **Χρωμοσωμικές ανωμαλίες**, όπως το σύνδρομο Klinefelter και το σύνδρομο Turner
- **Μετατοπίσεις γενετικού υλικού μεταξύ X χρωμοσώματος και αυτοσωμικών χρωμοσωμάτων**, οι οποίες αν και είναι αρκετά σπάνιες, μπορούν να επηρεάσουν την αναπαραγωγική ικανότητα των ατόμων ανάλογα με το σημείο θραύσης του X χρωμοσώματος. Τα πιο κοινά αυτοσωμικά χρωμοσώματα που εμπλέκονται σε αυτού του είδους τις μετατοπίσεις είναι τα ακροκεντρικά 15, 21, 22. (L C Layman, 2002)
- **Επιγενετικές τροποποιήσεις**, οι οποίες μπορούν να επηρεάσουν τη διαδικασία της σπερματογένεσης, είτε διακόπτοντάς την σε πρώιμο στάδιο είτε προκαλώντας καταστροφή και ανώμαλη αναδίπλωση της χρωματίνης, και τη διαδικασία ωρίμανσης του ωαρίου καθώς η λήψη του ωοκυττάρου απ' ευθείας από τις ωοθήκες πριν την ωοθυλακιορρηξία και η εργαστηριακή διέγερση της ανάπτυξης αυτού είναι γεγονότα που θεωρητικά θα μπορούσαν να διακόψουν τη διαδικασία του εντυπώματος των γονιδίων εφ' όσον τα ωοκύτταρα ολοκληρώνουν την διαδικασία επαναμεθυλίωσης ακριβώς λίγο πριν την ωοθυλακιορρηξία (Somjate Manipalviratn et al., 2009).
- **Γονίδια στο χρωμόσωμα X και υπογονιμότητα**

Πολλά από τα γονίδια του χρωμοσώματος X συμμετέχουν στη γαμετογένεση. Όταν λοιπόν υπάρχει μία μετάλλαξη σε κάποιο από αυτά τα γονίδια το αποτέλεσμα είναι να παρεμποδίζεται η φυσιολογική διαδικασία της γαμετογένεσης. Τα υπεύθυνα γονίδια είναι τα εξής: **AR, USP26, TAF7L, TEX11, KAL1, AKAP4, NXF2, NR0B1(AHC), BMP15, FMRI**. (<http://en.wikipedia.org/> ; <http://www.medpedia.com/>)

Οι λειτουργίες του κάθε γονιδίου φαίνονται αναλυτικότερα στη συνέχεια:

- **AR (androgen receptor) gene:** βρίσκεται στο μακρύ σκέλος του χρωμοσώματος X (Xq11.2-q12), έχει μέγεθος μεγαλύτερο από 90 kb και κωδικοποιεί για μία πρωτεΐνη που έχει τέσσερις κύριες λειτουργικές περιοχές: τη N- τελική περιοχή (transactivation domain- TAD και περιλαμβάνει το εξόνιο 1 ), την περιοχή πρόσδεσης στο DNA (DNA binding domain – DBD και περιλαμβάνει τα εξόνια 2-3), την περιοχή άρθρωσης και την περιοχή πρόσδεσης των ανδρογόνων (LBD – που περιλαμβάνει τα εξόνια 4-8). Η πρωτεΐνη λειτουργεί ως μεταγραφικός παράγοντας που ενεργοποιείται από την παρουσία ανδρογόνων. Πιο συγκεκριμένα, με την πρόσδεση του κατάλληλου μορίου ο υποδοχέας αποχωρίζεται από τις πρωτεΐνες θερμικού σοκ, μετατοπίζεται στον πυρήνα, διμερίζεται και ρυθμίζει τη μεταγραφή των ανδρογονοαποκρινόμενων γονιδίων. Η ρύθμιση αυτών των γονιδίων (up or down regulation) γίνεται καθώς το διμερές προσδένεται σε ειδικές αλληλουχίες (ορμονοαποκρινόμενα στοιχεία) και ταυτόχρονα αλληλεπιδρά με ειδικές πρωτεΐνες στον πυρήνα (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>). Ένα από τα γνωστά γονίδια στόχος είναι το IGF-1. Έχει βρεθεί ότι οι υποδοχείς ανδρογόνων έχουν και ένα δεύτερο τρόπο δράσης. Οι υποδοχείς ανδρογόνων φαίνεται ότι αλληλεπιδρούν και με πρωτεΐνες μεταγωγής σήματος του κυτταροπλάσματος επηρεάζοντας τη λειτουργία του κυττάρου, πχ επηρεάζοντας τη φωσφορυλίωση άλλων μεταγραφικών παραγόντων (<http://en.wikipedia.org/>). Το γονίδιο AR συμμετέχει στη διαδικασία της μείωσης και της μετατροπής των σπερματοκυττάρων σε σπερματίδες κατά τη σπερματογένεση στους άνδρες καθώς και στην ωοθηλακική ανάπτυξη και ωοθηλακιορρηξία στις γυναίκες. Μεταλλάξεις του AR γονιδίου μπορούν να οδηγήσουν στο σύνδρομο AIS - androgen insensitivity syndrome, στο σύνδρομο Kennedy καθώς και στο σύνδρομο πολυκυστικών ωοθηκών. Το σύνδρομο AIS προκύπτει από μεταλλάξεις του AR γονιδίου που εμποδίζουν την ικανότητα των ανδρογόνων να προσδένονται στους υποδοχείς τους καθώς και από μείωση της μεταγραφικής ενεργότητας του υποδοχέα (Katherine L, 2010). Πιο συγκεκριμένα πρόκειται για μεταλλάξεις αντικατάστασης νουκλεοτιδίων που έχουν σαν αποτέλεσμα αντικατάσταση αμινοξέων στην πρωτεΐνη (P390S, L547F, Y571H, R607Q, R615H, A645D, D695N, M780I, Q798E, L821V, R855H, V866M, L270F, E353Q, A474V, G506D, S650G, F747I) και σε μία περίπτωση εισαγωγή αμινοξέος στην πρωτεΐνη (insL57). Τα αποτελέσματα

μίας σχετικής μελέτης (Alberto Ferlin, Cinzia Vinanzi, et al., 2006) στην οποία εξετάστηκαν 1517 αζωο-ολιγοσπερμικοί άνδρες έχουν ως εξής: Εικοσιέξι (26) άτομα φέρανε μεταλλάξεις στο AR γονίδιο ενώ κανένα άτομο από την ομάδα ελέγχου (control group) δεν έφερε μεταλλάξεις. Οι μεταλλάξεις που βρέθηκαν ήταν οι εξής: L270F, E353Q, A474V, G506D, S650G, F747I, insL57. Από τα 26 άτομα με μεταλλάξεις οι 2 είχαν κρυπορχία, ένας κρυπορχία και υποσπαδία και ένας γυναικομαστία, ενώ οι υπόλοιποι 22 είχαν μόνο ελαττωματική σπερματογένεση. Από ανάλυση σπέρματος φάνηκε ότι ο όγκος σπέρματος, η μορφολογία και η κινητικότητα ήταν καλύτερα σε άτομα χωρίς μεταλλάξεις του AR γονιδίου όμως πολλές φορές τα δεδομένα επικαλυπτόταν. Σίγουρα όμως οι παράμετροι που αναφέρθηκαν ήταν χαμηλότερης ποιότητας συγκρινόμενες με φυσιολογικούς άνδρες (control). Επίσης διαπιστώθηκε ότι η LH, FSH και η οιστραδιόλη ήταν αυξημένα σε σχέση με την ομάδα control. Όσον αφορά τον εντοπισμό των μεταλλάξεων στο γονίδιο (<http://androgendb.mcgill.ca/>) ισχύει ότι από τις 300 και πλέον μεταλλάξεις που έχουν εντοπιστεί το 15% βρίσκεται στην περιοχή TAD και 70% στην LBD. Αυτό είναι κάπως παράδοξο καθώς εξαιτίας της έκτασης της περιοχής TAD (2/3 της πρωτεΐνης), θα ήταν πιο αναμενόμενο να φέρει και τις περισσότερες μεταλλάξεις. Μεταλλάξεις της LBD ή DBD περιοχής φαίνεται να προκαλούν πιο σοβαρές αλλαγές στην λειτουργία της AR πρωτεΐνης από αυτές που προκαλούνται από μεταλλάξεις στην TAD περιοχή. Επιπλέον στο AR γονίδιο βρέθηκαν δύο πολυμορφισμοί, (Katherine L et al., 2010; Alberto Ferlin et al., 2007) των οποίων ο ρόλος μελετήθηκε ως παράγοντας ανδρικής υπογονιμότητας. Οι δύο πολυμορφισμοί είναι οι CAG και GGC, οι οποίοι βρίσκονται και οι δύο στο εξόνιο 1 και κωδικοποιούν για αλυσίδες πολυγλουταμίνης και πολυγλικίνης αντίστοιχα. Σχετικά με τον πολυμορφισμό GGC τα δεδομένα είναι περιορισμένα. Αν και φαίνεται να υπάρχει μια σχέση του πολυμορφισμού με την μεταγραφική ενεργότητα του υποδοχέα, δεν φαίνεται να υπάρχει σημαντική διαφορά στο μήκος GGC ανάμεσα σε υπογόνιμους άνδρες και στο γενικό πληθυσμό (Tut et al., 1997). Όσον αφορά στον CAG πολυμορφισμό βρέθηκε ότι σχετίζεται στους υπογόνιμους άνδρες με μειωμένη μεταγραφική ενεργότητα του AR υποδοχέα, καταλήγοντας ότι μακρύτερα πολυγλουταμινικά τμήματα σχετίζονται με την ανδρική υπογονιμότητα (Ferlin et al., 2007) και πιο συγκεκριμένα με το σύνδρομο Kennedy, το οποίο είναι μια

νευροεκφυλιστική διαταραχή που χαρακτηρίζεται από ανωμαλίες στη σπερματογένεση (Katherine L et al., 2010). Επιπροσθέτως κάποιοι ερευνητές διαπίστωσαν ότι λιγότερες CAG επαναλήψεις σχετίζονται με καλύτερη ποιότητα σπέρματος και αυξημένα επίπεδα σπερματογένεσης. Βέβαια είναι σημαντικό να σημειωθεί ότι τελικά τα αποτελέσματα της έρευνας δεν είναι οριστικά ως προς την επίδραση αυτών των πολυμορφισμών στην ποιότητα του σπέρματος και στη σπερματογένεση καθώς παρατηρήθηκαν διαφορές στα δεδομένα ανάλογα με την εθνικότητα των ανδρών. Πιο συγκεκριμένα σε ευρωπαίους δεν φάνηκε κάποια συσχέτιση μεταξύ του CAG πολυμορφισμού, όμως σε άνδρες από Ασία, Σιγκαπούρη και Αυστραλία, Β. Αμερική βρέθηκε η ανάλογη συσχέτιση. Μάλιστα ο αριθμός των CAG επαναλήψεων είναι μικρότερος σε Αφροαμερικάνους, ενδιάμεσος σε Ευρωπαίους και υψηλός σε Ασιάτες (Francesca Nuti, Csilla Krausz, 2008; L C Layman, 2002). Επιπροσθέτως ο CAG πολυμορφισμός σχετίζεται με το σύνδρομο πολυκυστικών ωοθηκών (PCOS) στις γυναίκες. Το σύνδρομο PCOS αντικατοπτρίζει δυσλειτουργία των ωοθηκών. Τα κύρια χαρακτηριστικά του συνδρόμου είναι η υπερανδρογοναιμία, η πολυκυστική μορφολογία των ωοθηκών, διαταραχές της εμμηνορρυσίας (ολιγομηνόρροια ή αραιομηνόρροια), παχυσαρκία και αύξηση κινδύνου για διαβήτη τύπου 2. Επηρεάζει το 5-10% των γυναικών αναπαραγωγικής ηλικίας και υπολογίζεται ότι είναι η πιο συχνή αιτία ανωοθυλακιορρηκτικής υπογονιμότητας. Η υψηλή συχνότητα του συνδρόμου ανάμεσα σε μέλη της ίδιας οικογένειας υποδηλώνει την ύπαρξη γενετικής συνιστώσας. Ο τρόπος κληρονομικότητας όμως είναι δύσκολο να διευκρινιστεί καθώς πρόκειται για ένα ετερογενές σύνδρομο, χωρίς κάποιον προφανή αιτιολογικό παράγοντα. Ένα πλήθος γονιδίων έχουν ενοχοποιηθεί για το σύνδρομο, τελικά όμως το AR φαίνεται να σχετίζεται με αυτό καθώς και άλλο ένα γονίδιο το οποίο βρίσκεται στο χρωμόσωμα 19p13.2. Υπογόνιμες γυναίκες με σύνδρομο πολυκυστικών ωοθηκών έχουν υψηλότερη συχνότητα επαναλήψεων του τρινουκλεοτιδίου CAG (>22 επαναλήψεις) σε σχέση με γόνιμες γυναίκες ή τον γενικό πληθυσμό (Hickey T, Chandy A, Norman RJ, 2002; Mifsud A, Ramirez S, Yong EL, 2000). Σε διάφορες μελέτες με θηλυκούς ποντικούς που έγιναν προκειμένου να καταλήξουν σε κάποια συμπεράσματα δημιούργησαν τρία μοντέλα ζώων. Ποντικούς όπου στοχευμένα διέγραψαν το εξόνιο 1 (Shiina H et al., 2006), ποντικούς όπου διέγραψαν το εξόνιο 2 (Yeh S, et al.,

2002; Hu YC *et al.*, 2004 ) και ποντικούς όπου διέγραψαν το εξόνιο 3 (Walters KA *et al.*, 2007). Τα άτομα με έλλειψη του εξονίου 1 ή του εξονίου 2 είχαν πλήρη έλλειψη της πρωτεΐνης ενώ τα άτομα με έλλειψη του εξονίου 3 είχαν μία μη λειτουργική πρωτεΐνη. Και τα τρία μοντέλα ζώων αν και είχαν κάποιες διαφορές (η διαγραφή των εξονίων 1 και 2 του AR γονιδίου ήταν πιο σοβαρές από τη διαγραφή του εξονίου 3) το τελικό αποτέλεσμα ουσιαστικά ήταν υπογόνιμος φαινότυπος.

- **USP26 gene:** βρίσκεται στο μακρύ σκέλος του χρωμοσώματος X (Xq26.2) και εκφράζεται ειδικά στους όρχεις στα αρχικά στάδια της σπερματογένεσης. Εικάζεται ότι συμμετέχει στην απομάκρυνση των ιστονών κατά τη σπερματογένεση καθώς και στην αναδιαμόρφωση των πρωτεϊνών (Stouffs *et al.*, 2005). Σε 8 από 111 ασθενείς (7,2%) με Sertoli cell-only syndrome (Stouffs *et al.*, 2005), βρέθηκαν οι ίδιες τρεις αλλαγές της νουκλεοτιδικής αλληλουχίας του γονιδίου, όλες στο ίδιο αλληλίο: μια εισαγωγή, 370-371insACA, που είχε σαν αποτέλεσμα την εισαγωγή μίας θρεονίνης μεταξύ των κωδικονίων 123 και 124, μία μετατροπή 494T-C που είχε σαν αποτέλεσμα την αντικατάσταση leu165-to-ser (L165S) και μία μετατροπή 1423C-T που είχε σαν αποτέλεσμα αντικατάσταση his475-to-tyr (H475Y). Αυτές οι αλλαγές δεν βρέθηκαν στους 152 γόνιμους άνδρες-control δείγμα. Επιπλέον μελέτες (Padunch *et al.*, 2005; Stouffs *et al.*, 2005) σε αζωοσπερμικούς άνδρες, έδειξαν συσχετισμό του συγκεκριμένου γονιδίου με την υπογονιμότητα. Ωστόσο αυτό ήρθε σε σύγκρουση με την ύπαρξη του πολυμορφισμού σε άνδρα με φυσιολογική σπερματογένεση (Stouffs *et al.*, 2006). Πρόκειται λοιπόν κατά πάσα πιθανότητα για πολυμορφισμούς που σχετίζονται με την εθνικότητα των ατόμων καθώς βρέθηκαν κοινοί πολυμορφισμοί μεταξύ ομάδων αφρικανών και ασιατών ανδρών. (Katherine L, 2010; Francesca Nuti, Csilla Krausz , 2008)



- TAF7L gene:** βρίσκεται στο μακρύ σκέλος του χρωμοσώματος X (Xq22.1), εκφράζεται στους όρχεις και σχετίζεται με το αυτοσωμικό γονίδιο TAF7, το οποίο βρίσκεται στο χρωμόσωμα 5 και είναι μεταγραφικός παράγοντας. Testis – specific TAFs βρέθηκαν στη δροσόφιλα, τον ποντικό και τον άνθρωπο. (Hiller *et al*, 2004; Hiller *et al*, 2001; Wang *et al*, 2001; Wang and Page, 2002). Στη δροσόφιλα αυτός ο παράγοντας είναι απαραίτητος για την πρόοδο της μείωσης και τη γονιμότητα αρσενικών ατόμων. Στα θηλαστικά, ο παράγοντας Taf7l είναι ανάλογος με το taf7, ο οποίος έχει ευρεία έκφραση (Pointed *et al*, 2003; Wang *et al*, 2001) Βρέθηκε ότι το TAF7L γονίδιο εκφράζεται σε διάφορα κύτταρα της σπερματογένεσης, σπερματογόνια, σπερματοκύτταρα, και σπερματίδες (Pointed *et al*, 2003). Καθώς λοιπόν συνεργάζεται με μεταγραφικούς παράγοντες παίζει σημαντικό ρόλο στη σπερματογένεση ρυθμίζοντας τη χωρική και χρονική έκφραση μορίων που απαιτούνται για την ολοκλήρωση της διαδικασίας (Ke Zheng *et al.*, 2010). Σε μία μελέτη ανακαλύφθηκε ένας πολυμορφισμός στο εξόνιο 13, η εξής αντικατάσταση βάσης: (1373G > A) η οποία προκαλεί αλλαγή του αμινοξέος αργινίνη σε ιστιδίνη (R458H). Ο πολυμορφισμός αυτός μπορεί να αποτελεί παράγοντα κινδύνου για υπογονιμότητα ιδιαίτερα εάν συνδυαστεί με επιπρόσθετους πολυμορφισμούς ή μεταλλάξεις (Akinloye *et al.*, *Andrologia* 2007). Σε πειραματόζωα (ποντικούς) φάνηκε ότι διακοπή του TAF7L γονιδίου προκαλεί σημαντική μείωση του αριθμού και της κινητικότητας των σπερματοζωαρίων (Ke Zheng *et al.*, 2010; Katherine L *et al.*, 2010; Francesca Nuti, Csilla Krausz, 2008)
- TEX11 (testis expressed 11) gene:** Το γονίδιο TEX11 βρίσκεται στο μακρύ σκέλος του χρωμοσώματος X (Xq13.1) και βρέθηκε ότι είναι απαραίτητο για τη διαδικασία της μείωσης στα αρσενικά άτομα (yang *et al*, 2008) με άγνωστη όμως λειτουργία (Wang *et al*, 2001). Η μόνη γνωστή περιοχή του Tex11 παράγοντα είναι μία επαναλαμβανόμενη tetratricopeptide (TPR) περιοχή, υπεύθυνη για την αλληλεπίδραση μεταξύ πρωτεϊνών, που είναι παρούσα σε πρωτεΐνες οι οποίες σχηματίζουν σύμπλοκα, όπως πχ οι chaperones (Blatch and Lassle, 1999). Ο Tex11 αλληλεπιδρά με το μόριο SYCP2, που είναι συστατικό

του συναπτονημικού συμπλέγματος (Yang *et al.*, 2006; Yang *et al.*, 2008), συνεντοπίζεται με πρωτεΐνες ανασυνδυασμού και αρσενικά άτομα με πλήρη έλλειψη του TEX11 είναι στείρα, όπως φάνηκε και από μία μελέτη στην οποία δημιουργήθηκαν Tex11 – null ποντικοί διαγράφοντας 27 από τα 30 εξόνια (Yang *et al.*, 2008). Ενδιαφέρον όμως έχει και μία άλλη μελέτη, στην οποία αφαίρεσαν από τον ποντικό μόνο το εξόνιο 3 του Tex11 γονιδίου. Το αποτέλεσμα ήταν ότι δεν επηρεάστηκε η γονιμότητα των μεταλλαγμένων ατόμων (Adelman and Petrini, 2008). Εκτενέστερη ανάλυση έδειξε τελικά ότι το γονίδιο έχει δύο διακριτές λειτουργίες κατά τη μείωση και αυτές είναι οι εξής: α) προάγει τη σύναψη των χρωμοσωμάτων και β) ρυθμίζει τον επιχιασμό (Ke Zheng *et al.*, 2010). Ομόλογα του Tex11 (SPO22) υπάρχουν και σε άλλους οργανισμούς, Arabidopsis and budding yeast (Chelysheva *et al.*, 2007; Tsubouchi *et al.*, 2006). Όπως και στο γονίδιο Tex11 του ποντικού έτσι και το yeast SPO22 φάνηκε ότι α) προάγει τη σύναψη των χρωμοσωμάτων και β) ρυθμίζει τον επιχιασμό. Μεταλλάξεις στο Arabidopsis SPO22 διαταράσσουν τον επιχιασμό όμως δεν επηρεάζουν τη σύναψη των χρωμοσωμάτων (Chelysheva *et al.*, 2007). Τα δεδομένα αυτά ήρθαν να ενισχύσουν τα συμπεράσματα για τις λειτουργίες του Tex11 όπως αυτές αναφέρθηκαν.

#### ο **Συνεργασία μεταξύ TEX11 και TAF7L**

Σε μελέτη που έγινε σε ποντικούς οι οποίοι είχαν έλλειψη του TAF7L παράγοντα η διαδικασία της σπερματογένεσης δεν διακόπηκε, ενώ στους όρχεις ποντικών με έλλειψη του TEX11 παράγοντα φάνηκε ότι υπάρχει διακοπή στο στάδιο της μείωσης (Cheng *et al.*, 2007; Yang *et al.*, 2008). Σε διπλά μεταλλαγμένα άτομα Taf7l/Tex11 οι επιπτώσεις στη μείωση ήταν πολύ πιο σοβαρές από τα Tex11 μεταλλαγμένα άτομα. Πιο συγκεκριμένα στα άτομα που έφεραν μετάλλαξη μόνο στο TEX11 (έλλειψη) η διαδικασία της σπερματογένεσης διακοπτόταν στο στάδιο της παχυνταίνιας των σπερματοκυττάρων, ενώ στα διπλά μεταλλαγμένα άτομα η ύπαρξη σπερματοκυττάρων ήταν σπάνια ή αυτά δεν υπήρχαν καθόλου. Τελικά προτάθηκε ότι τα δύο γονίδια συνεργάζονται κατά τη διαδικασία της μείωσης

στα αρσενικά άτομα στα στάδια της ζυγοταινίας και στην αρχή του σταδίου της παχυταινίας (Ke Zheng et al., 2010).

- **KAL1 gene:** βρίσκεται στο βραχύ σκέλος του χρωμοσώματος X (Xp22.32) – ψευδοαυτωσωμική περιοχή, περιλαμβάνει 14 εξόνια, έχει έκταση 120-200 kb και κωδικοποιεί για το μόριο κυτταρικής προσκόλλησης anosmin – 1. Στο γονίδιο KAL1 έχουν βρεθεί τουλάχιστον 60 μεταλλάξεις. Σε ορισμένες περιπτώσεις οι μεταλλάξεις αφορούν διαγραφή μέρους ή ολόκληρου του γονιδίου ενώ σε άλλες περιπτώσεις οι μεταλλάξεις αφορούν αλλαγές στην αμινοξική αλληλουχία της πρωτεΐνης ή αλλαγή του μεγέθους αυτής (<http://ghr.nlm.nih.gov/>). Η πρωτεΐνη anosmin-1 συμμετέχει στην εμβρυική ανάπτυξη και βρίσκεται στην επιφάνεια των κυττάρων. Ενδεχομένως να αποτελεί μέλος της εξωκυττάριας ουσίας, ένα περίπλοκο δίκτυο πρωτεϊνών και άλλων μορίων που σχηματίζεται στο χώρο μεταξύ των κυττάρων. Βρίσκεται σε διάφορα σημεία του αναπτυσσόμενου εμβρύου, όπως αναπνευστικό σύστημα, νεφρά, πεπτικό σύστημα και συγκεκριμένες περιοχές του εγκεφάλου. Στον αναπτυσσόμενο εγκέφαλο η συγκεκριμένη πρωτεΐνη συμμετέχει στη μετανάστευση και σύναψη των οσφρητικών καθώς και των GnRH νευρώνων. Αποτυχία αυτής της μετανάστευσης προκαλεί το σύνδρομο Kallmann, το οποίο είναι μία γενετική κατάσταση, η οποία προκαλεί υπογονιμότητα και έχει τόσο φυλοσύνδετη (type1) όσο και αυτοσωμική συνιστώσα. Το σύνδρομο χαρακτηρίζεται ως ιδιοπαθής υπογοναδοτροφικός υπογοναδισμός και συνδυάζεται με ανοσμία ή υποσμία. Τα χαρακτηριστικά του ιδιοπαθούς υπογοναδοτροφικού υπογοναδισμού είναι χαμηλά επίπεδα των στεροειδών του φύλου και χαμηλά (έως και φυσιολογικά) επίπεδα FSH και LH. Η δυσλειτουργία αυτή προκύπτει από το προαναφερθέν ελάττωμα στη μετανάστευση των GnRH νευρώνων καθώς η φυσιολογική έκκριση των γοναδοτροφινών από την υπόφυση εξαρτάται από την έκκριση της εκλυτικής ορμόνης των γοναδοτροφινών από τον υποθάλαμο, κάτι που με τη σειρά του εξαρτάται από τη μετανάστευση των GnRH νευρώνων από το ρινικό επιθήλιο. Τα χαμηλά επίπεδα FSH και LH μπορούν να επηρεάσουν την ανάπτυξη και τη γαμετογένεση είτε εμποδίζοντας την είτε καθυστερώντας την. Το δε

αυτοσωμικό υπεύθυνο γονίδιο για το φαινότυπο του συνδρόμου είναι το FGFR1 το οποίο βρίσκεται στο χρωμόσωμα 8 (Adam Fechner et al., 2008). Οι μεταλλάξεις του KAL1 γονιδίου είναι υπεύθυνες για το 14% των κληρονομούμενων περιπτώσεων του συνδρόμου και για το 11% των σποραδικών περιπτώσεων. Ενδεικτικά παρατίθενται τα αποτελέσματα μίας έρευνας όπου μελετήθηκαν 12 άνδρες ασθενείς. Ανωμαλίες του KAL1 γονιδίου βρέθηκαν σε τρεις από τους δώδεκα ασθενείς και συγκεκριμένα οι μεταλλάξεις που βρέθηκαν είναι οι εξής: -πλήρης διαγραφή του εξονίου 5 στον ασθενή Νο6, ενώ τα υπόλοιπα εξόνια ήταν φυσιολογικά· αυτή η διαγραφή έγινε στην περιοχή που κωδικοποιεί την first fibronectin type III-like της KAL1 πρωτεΐνης η οποία συμμετέχει στη διαδικασία μετανάστευσης των αξόνων, -διπλασιασμός των νουκλεοτιδίων 158-168 το οποίο προκάλεσε τη δημιουργία κωδικονίου λήξης (TGA) μέσα στο εξόνιο, 19 κωδικόνια μετά την εισαγωγή βάσεων, στον ασθενή Νο 5, -μία μετάλλαξη C->T η οποία άλλαξε το κωδικόνιο 262 από CGA (αργινίνη) σε λήξης TGA, στον ασθενή Νο 12. στους υπόλοιπους 9 ασθενείς δεν βρέθηκε κάποια μετάλλαξη (D S Derlund, P. Canto, and J. P. Mendez., 2002). Όμως και στα θηλυκά άτομα μία συνήθης αιτία υπογονιμότητας είναι ο υπογοναδοτροφικός υπογοναδισμός και η πιο κοινή έκφρασή του είναι το σύνδρομο **Kallmann**. Κληροδοτείται δε με συχνότητα αρσενικά : θηλυκά 4 : 1 (Simoni and Nieschlag, 2007).

- **Akap4 gene:** βρίσκεται στο βραχύ σκέλος του χρωμοσώματος X (Xp11.2) και κωδικοποιεί για μια πρωτεΐνη, AKAP4. Η AKAP4 είναι μέλος της οικογένειας AKAPs. Τα μέλη της συγκεκριμένης οικογένειας έχουν την κοινή ιδιότητα να προσδένονται στη ρυθμιστική υπομονάδα της πρωτεϊνικής κινάσης A (PKA) και να συγκρατούν το ολοένζυμο σε καθορισμένη περιοχή. Η AKAP4 είναι η πιο άφθονη πρωτεΐνη στο σπερματοζωάριο, και συγκεκριμένα σε μια κυτταροσκελετική δομή στο αρχικό τμήμα της ουράς του σπερματοζωαρίου (fibrous sheath) (Carrera et al, 1994). Έτσι φαίνεται ότι η AKAP4 είναι απαραίτητη για τη δομική και λειτουργική ακεραιότητα της ουράς του σπερματοζωαρίου και μεταλλάξεις της AKAP4 που μειώνουν ή εξαλείφουν τη λειτουργία της έχουν ως αποτέλεσμα να παράγεται στους

υπογόνιμους άνδρες σπέρμα χωρίς δυνατότητα κίνησης (Ke Zheng *et al*, 2010). Επιπλέον δεδομένα από μελέτη σε ποντικούς, έδειξαν ότι έλλειψη του Akap4 δεν επηρεάζει τον αριθμό των σπερματοζωαρίων, επηρεάζει όμως την κινητικότητα καταλήγοντας με αυτόν τον τρόπο σε στειρότητα (Miki *et al*, 2002).

- **Nxf2:** βρίσκεται στο μακρύ σκέλος του χρωμοσώματος X (Xq22.1) και η πρωτεΐνη που κωδικοποιεί είναι μέλος της οικογένειας NXF, της οποίας οι πρωτεΐνες είναι υπεύθυνες για τη μεταφορά του mRNA από τον πυρήνα στο κυτταρόπλασμα. Το Nxf2 γονίδιο εκφράζεται στα γεννητικά κύτταρα στους όρχεις (Wang *et al*, 2001) και η πρωτεΐνη που κωδικοποιεί (NXF2) εντοπίζεται σε δύο διαφορετικά σημεία ανάλογα με το στάδιο της σπερματογένεσης (Lai *et al*, 2006; Wang and Pan, 2007). Πιο συγκεκριμένα στο στάδιο των σπερματογονίων βρίσκεται στον πυρήνα ενώ στο στάδιο των πρώιμων σπερματοκυττάρων βρίσκεται στην περιφέρεια του πυρήνα. Η NXF2 σχετίζεται και με πολλές άλλες πρωτεΐνες όπως η FMR1 (Fragile X mental retardation syndrome 1), η KIF17 (a cytoplasmic motor protein) και η MAP1B (a microtubule – associated protein) προτείνοντας έτσι ότι η NXF2 ίσως ρυθμίζει τη σταθερότητα ή τη μετακίνηση του mRNA (Lai *et al*, 2006; Takano *et al*, 2007; Tretyakova *et al*, 2005). Απενεργοποίηση του Nxf2 σε ποντικούς κατέδειξε διπλή δράση του φυσιολογικού γονιδίου α) πρόοδο της μείωσης και β) διατήρηση του αρχέγονου πληθυσμού των σπερματογονίων (Pan *et al*, 2009). Έτσι αρσενικά άτομα με έλλειψη ή ελαττωματική NXF2 έχουν μειωμένο αριθμό σπερματοζωαρίων, κακής κινητικότητας και ηλικιοεξαρτώμενη απώλεια σπερματογονίων, καταλήγοντας σε υπογονιμότητα ή και στειρότητα (Ke Zheng *et al*, 2010)
- **NR0B1 gene(AHC):** βρίσκεται στο βραχύ σκέλος του χρωμοσώματος X (Xp21.3-p21.2) και η πρωτεΐνη που παράγεται από αυτό (DAX1) είναι ένας μεταγραφικός παράγοντας, ο οποίος είναι μέλος της υπεροικογένειας των πυρηνικών ορμονικών υποδοχέων. Έχουν βρεθεί πάνω από 50 μεταλλάξεις του γονιδίου και φαίνεται ότι οι μεταλλάξεις αυτές προκαλούν τόσο συγγενή

υποπλασία των επινεφριδίων όσο όμως και υπογοναδοτροφικό υπογοναδισμό, για τον οποίο έχει ήδη γίνει σχετική αναφορά. (D. Vaiman, 2002; L C Layman, 2002). Φυσιολογικά ο παράγοντας DAX1 προσδένεται στο DNA, δρα ως καταστολέας της μεταγραφής και συνεντοπίζεται με μία πρωτεΐνη, την Ad4BP/SF-1 (ειδικός μεταγραφικός παράγοντας που ρυθμίζει τη στερεοειδογένεση), την οποία και καταστέλλει. Το DAX1 είναι απαραίτητο για την ανάπτυξη των όρχεων και διπλασιασμός του γενετικού τόπου που περιλαμβάνει και το ανθρώπινο γονίδιο έχει ως αποτέλεσμα χρωμοσωμικά αρσενικά άτομα (XY) να μην υφίστανται πλήρη καθορισμό του φύλου. Υπερέκφραση δε της Dax1 πρωτεΐνης μπορεί να προκαλέσει αντιστροφή του φύλου σε ποντικούς. Από μελέτη σε ποντικούς διαπιστώθηκε ότι η πρωτεΐνη εκφράζεται σε όλα τα στάδια της σπερματογένεσης σημειώνοντας κάποιες διαφοροποιήσεις στο πρότυπο έκφρασης ανάλογα με το στάδιο της σπερματογένεσης. Αντίστοιχα μελέτη σε ανθρώπους έδειξε χαμηλή έκφραση της πρωτεΐνης στον πυρήνα τόσο των κυττάρων Sertoli όσο και των κυττάρων Leydig σε ένα αγόρι ηλικίας ενός έτους, ενώ σε ένα αγόρι οκτώ ετών τα επίπεδα έκφρασης της πρωτεΐνης στα κύτταρα Leydig ήταν μειωμένα. Σε όρχεις έφηβων και ενήλικων ανδρών η Dax1 πρωτεΐνη είχε υψηλά επίπεδα έκφρασης στους πυρήνες των κυττάρων Sertoli και ελάχιστα σε ορισμένα κύτταρα Leydig (αντίθετα βέβαια με τους ποντικούς όπου ποντικοί αντίστοιχης ηλικίας παρουσίαζαν υψηλή έκφραση της πρωτεΐνης τόσο στα κύτταρα Sertoli όσο και στα κύτταρα Leydig (Ikeda et al.). Στην προσπάθεια να ποσοτικοποιηθεί η έκφραση της πρωτεΐνης και να εξακριβωθεί η σχέση της με τη σπερματογένεση μελετήθηκαν 22 βιοψίες όρχεως από αζωοσπερμικούς ασθενείς και συσχέτισαν την έκφραση της πρωτεΐνης με τα επίπεδα LH, FSH και τεστοστερόνη του ορού. Τελικά φάνηκε αρνητική συσχέτιση μεταξύ DAX-1 και LH, FSH και καμία συσχέτιση με την τεστοστερόνη. Το συμπέρασμα αυτής της μελέτης είναι ότι η έκφραση του DAX-1 σχετίζεται με το αναπτυξιακό στάδιο και η μέγιστη έκφρασή του είναι κατά τη διάρκεια της εφηβείας και μετά από αυτή (καθώς φαίνεται ότι προάγει και τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων Sertoli). Η έκφραση λοιπόν του DAX-1 στα κύτταρα Sertoli είναι απαραίτητη για τη φυσιολογική σπερματογένεση και τη γονιμότητα (Yoshiyuki Kojima, Shoichi Sasaki, et al., 2006).

- **BMP15 και FMR1 γονίδια:** τα γονίδια BMP15 και FMR1 ενοχοποιούνται για το φυλοσύνδετο τρόπο κληρονομικότητας της **Πρόωρης ωοθηκικής ανεπάρκειας (premature ovarian failure - POF)**. Το σύνδρομο πρόωρης ωοθηκικής ανεπάρκειας είναι μια ετερογενής ομάδα δυσλειτουργιών που περιλαμβάνει παύση της ωοθηκικής λειτουργίας πριν την ηλικία των 40 ετών και αύξηση των επιπέδων των γοναδοτροφινών. Το σύνδρομο εμφανίζεται με συχνότητα 1 : 1000 γυναίκες στην ηλικία των 30 ετών και 1 : 100 στην ηλικία των 40 ετών. Αρχικά είχε θεωρηθεί ότι η κατάσταση αυτή είναι μη αναστρέψιμη, δηλαδή ότι είναι εμμηνόπαυση με πρόωμη έναρξη, και για το λόγο αυτό είχε ονομαστεί «πρόωρη εμμηνόπαυση». Σήμερα, όμως, έχει αποδειχθεί ότι γυναίκες με πρόωρη ωοθηκική ανεπάρκεια έχουν διαλείπουσα ωοθηκική λειτουργία (Nelson et al., 1994) και, μάλιστα, έχουν παρατηρηθεί αυτόματες κυήσεις ακόμα και μετά τη διάγνωση της νόσου (Kalantaridou et al., 1998). Έτσι, στις μισές τουλάχιστον περιπτώσεις πρόωρης ωοθηκικής ανεπάρκειας υπάρχουν ωοθυλάκια στις ωοθήκες, αλλά αυτά είναι δυσλειτουργικά (resistant ovary syndrome). Τα αίτια του POF μπορεί να είναι μία φτωχή δεξαμενή ωοθηλακίων, αυξημένος ρυθμός ατρησίας των ωοθηλακίων, δυσλειτουργία στην ωρίμανση ωοθηλακίων, ανωμαλίες του χρωμοσώματος X κ.α.. Μελέτες σε οικογένειες με POF έδειξαν ότι ο τρόπος κληρονόμησης μπορεί να είναι αυτοσωμικός επικρατής και φυλοειδικός (ή X – linked) με περιορισμένη διεισδυτικότητα (The ESHRE Capri Workshop Group, 2008; Daniela Toniolo, Flavio Rizzolio, 2007; Paolo Beck-Peccoz and Luca Persani, 2006). Όσον αφορά στον φυλοσύνδετο τρόπο κληρονομικότητας και για τα γονίδια που σχετίζονται με αυτό τα δεδομένα έχουν ως εξής:

- ο **BMP15 gene:** βρίσκεται στο βραχύ σκέλος του χρωμοσώματος X (Xp11.2) και η πρωτεΐνη που παράγεται από αυτό το γονίδιο είναι μέλος της TGF-β οικογένειας. Τα μέλη της TGF-β οικογένειας συμμετέχουν στη διαφοροποίηση των κυττάρων, την ανάπτυξη των ιστών και πολλά από αυτά τα μόρια συμμετέχουν στην αναπαραγωγή των θηλαστικών. Μελέτες σε ποντικούς έδειξαν ότι δύο μόρια, Bmp15 και Gdf9, εκφράζονται ειδικά στα ωοκύτταρα (από τα αρχικά στάδια της ανάπτυξής τους μέχρι και την τελική

ωρίμανση και ωοθηλακιορρηξία) (Su YQ, Wu X, O'Brien Mj, et al 2004; McNatty KP, Juengel JL, Reader KL, et al 2005). Μεταλλάξεις των γονιδίων που κωδικοποιούν τα δύο αυτά μόρια βρέθηκαν σε ποντικούς και πρόβατα. Ενδεικτικά στους ανθρώπους αναφέρθηκε μία μετάλλαξη του BMP15 σε δύο αδερφές με πρωτογενή αμηνόρροια. Η μετάλλαξη κληρονομήθηκε από τον πατέρα και προκάλεσε υποκατάσταση ενός συντηρημένου αμινοξέος στην πρωτεΐνη με αποτέλεσμα τη μείωση της ικανότητας για ανάπτυξη των κοκκωδών κυττάρων *in vitro* (Di Pasquale E, et al., 2004). Πρόκειται λοιπόν για ένα σηματοδοτικό μόριο με παρακρινική δράση που εκφράζεται στις ωοθήκες. Στους ανθρώπους συμβάλλει στην ανάπτυξη των ωοθηλακίων και στην ωρίμανση των ωοκυττάρων. Πιστεύεται ότι δρα είτε σαν ομοδιμερές είτε σχηματίζοντας ετεροδιμερή με την πρωτεΐνη Gdf9 (D. Vaiman, 2002)

- ο **FMRI gene**: βρίσκεται στο μακρύ σκέλος του χρωμοσώματος X (Xq27.3) και κωδικοποιεί μία πρωτεΐνη η οποία προσδένεται στο RNA και συνεργάζεται με τα πολυσώματα. Ενδεχομένως η πρωτεΐνη να συμμετέχει στη μετανάστευση του mRNA από τον πυρήνα στο κυτταρόπλασμα (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>). Το γονίδιο φυσιολογικά έχει στην 5' αμετάφραστη περιοχή μία επαναλαμβανόμενη τρινουκλεοτιδική αλληλουχία, την CGG. Το φυσιολογικό εύρος επαναλήψεων είναι 6-49. Όταν όμως αυτές οι επαναλήψεις αυξηθούν τότε μπορούν να προκύψουν δύο διαφορετικές καταστάσεις: Το σύνδρομο εύθραυστου X και το σύνδρομο POF (στις γυναίκες). Όταν η αύξηση των επαναλήψεων που προαναφέρθηκαν είναι μεταξύ 50-200 τότε μιλάμε για προμετάλλαξη του γονιδίου ενώ πάνω από 200 επαναλήψεις αποτελούν την πλήρη μετάλλαξη. Στην πλήρη μετάλλαξη οι CpG νησίδες που βρίσκονται στην 5' αμετάφραστη περιοχή υπερμεθυλιώνονται με αποτέλεσμα να καταστέλλεται η μεταγραφή του γονιδίου και έτσι να απουσιάζει πλήρως η αντίστοιχη πρωτεΐνη. Στην προμετάλλαξη του γονιδίου όμως η κατάσταση διαφέρει: Τα επίπεδα του mRNA αυξάνονται και η πρωτεΐνη υπάρχει, όμως η ποσότητα της πρωτεΐνης είναι μειωμένη εξ' αιτίας της ελαττωμένης μεταφραστικής ικανότητας του mRNA που παράχθηκε (Isabel Fernandez-Carvajal et al., 2009). Στα άτομα που φέρουν την προμετάλλαξη λοιπόν, ενώ



αρχικά φαίνονται φυσιολογικά στην πραγματικότητα παρουσιάζουν κάποιες δυσλειτουργίες με επικρατέστερο σύμπτωμα στους άνδρες το σύνδρομο fragile X-associated tremor/ataxia syndrome (FXTAS) και έναν πιο ήπιο φαινότυπο στις γυναίκες, στις οποίες μια βασική συνέπεια της προμετάλλαξης του FMR1 γονιδίου είναι το σύνδρομο POF (*Bretherick KL et al., 2005; Bodega B, Bione S et al., 2005*). Η πιθανότητα λοιπόν για εκδήλωση του POF είναι αυξημένη στο 13%-15% των γυναικών που φέρουν την προμετάλλαξη του FMR1, όπως επίσης αυξημένη είναι και η πιθανότητα στο 2%-5% των γυναικών με το σύνδρομο POF να είναι φορείς της προμετάλλαξης συγκρινόμενες με τον γενικό πληθυσμό (*Daniela Toniolo, Flavio Rizzolio 2007; L C Layman, 2002*). Οι γυναίκες με την πλήρη μετάλλαξη ή το φυσιολογικό αλληλόμορφο έχουν ίδιες πιθανότητες με το γενικό πληθυσμό για εκδήλωση POF (1%).

## **Γ' ΜΕΡΟΣ**

### **6. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ - ΣΥΖΗΤΗΣΗ**

Ένα μεγάλο ποσοστό ατόμων αναπαραγωγικής ηλικίας, το οποίο αντιστοιχεί περίπου στο 15% των ζευγαριών που επιθυμούν να τεκνοποιήσουν, αντιμετωπίζει δυσκολίες στην επίτευξη αυτού του στόχου με αποτέλεσμα να καταφεύγουν σε τεχνικές υποβοηθούμενης αναπαραγωγής. Γυναίκες και άνδρες φαίνεται να έχουν παρόμοια ποσοστά ευθύνης απέναντι στην κατάσταση υπογονιμότητας που βιώνουν, με τα ποσοστά αυτά να έχουν ως εξής: στο 35% των περιπτώσεων υπογονιμότητας η αιτία είναι κάποιος γυναικείος παράγοντας, στο 30% των περιπτώσεων υπογονιμότητας η αιτία είναι ανδρικός παράγοντας, στο 20% των περιπτώσεων υπογονιμότητας υπεύθυνα είναι και τα δύο μέλη του ζευγαριού και στο υπόλοιπο 15% των περιπτώσεων υπογονιμότητας η αιτία είναι αδιάγνωστη (ανεξήγητη υπογονιμότητα). Ανάμεσα στο πλήθος των αιτιών που προκαλούν υπογονιμότητα σημαντικό μερίδιο έχουν οι γενετικοί παράγοντες. Παρ' όλο που μέχρι σήμερα δεν έχει καθοριστεί πλήρως ο τρόπος με τον οποίο τα διάφορα γονίδια συμμετέχουν στην εκδήλωση του γόνιμου ή του υπογόνιμου φαινοτύπου, είναι ευρέως αποδεκτό ότι η μεταβίβαση των γενετικών αλλά και επιγενετικών πληροφοριών παίζουν σημαντικό ρόλο στη γονιμότητα. Τα γενετικά αίτια της υπογονιμότητας μπορεί να βρίσκονται είτε στα αυτοσωμικά χρωμοσώματα είτε στα φυλετικά. Από τα φυλετικά χρωμοσώματα τόσο το X όσο και Y χρωμόσωμα παίζουν σημαντικό ρόλο. Βεβαίως το χρωμόσωμα Y ενοχοποιείται προφανώς μόνο για καταστάσεις ανδρικής υπογονιμότητας, ενώ το χρωμόσωμα X ευθύνεται τόσο για ανδρική όσο και για γυναικεία υπογονιμότητα. Το χρωμόσωμα X είναι ένα μεγάλο χρωμόσωμα και περιλαμβάνει περίπου το 6% του συνολικού DNA. Οι τρόποι με τους οποίους μπορεί το χρωμόσωμα X να οδηγήσει σε υπογόνιμο φαινότυπο ποικίλουν καθώς όπως έχει ήδη αναφερθεί μπορεί η υπογονιμότητα να προκαλείται εξ' αιτίας αριθμητικών ανωμαλιών, όπως είναι το σύνδρομο Klinefelter και το σύνδρομο Turner, γονιδιακών ανωμαλιών όπως αύξηση των τρινουκλεοτιδικών επαναλήψεων σε κάποια γονίδια πχ. AR και FMR1, ή σημειακή μετάλλαξη σε συγκεκριμένα γονίδια πχ. KAL1 και NXF2 κ.α. καθώς και μετατοπίσεων μεταξύ X χρωμοσώματος και κάποιου ακροκεντρικού συνήθως

αυτοσωμικού χρωμοσώματος. Μέχρι στιγμής από το σύνολο των γονιδίων που αναφέρθηκαν τα αποτελέσματα είναι πιο συγκεκριμένα για τους ανθρώπους στα εξής τέσσερα γονίδια: KAL1, NR0B1 gene (AHC), BMP15, FMR1 ενώ στα γονίδια: Akap4, Nxf2, TAF7L, TEX11 τα δεδομένα προέρχονται από μελέτες σε πειραματόζωα χωρίς ωστόσο να επιβεβαιώνονται σε ανθρώπους. Για τα άλλα δύο γονίδια AR και USP26 τα δεδομένα είναι πλούσια μεν όμως δεν είναι οριστικά καθώς η εθνικότητα των ατόμων επηρεάζει τα αποτελέσματα. Σήμερα με τη χρήση των διάφορων τεχνολογιών που αναπτύχθηκαν στην υποβοηθούμενη αναπαραγωγή πολλά υπογόνιμα ζευγάρια, όχι όμως όλα, καταφέρουν να τεκνοποιήσουν. Συνεπώς ο εμπλουτισμός των γνώσεων σχετικά με τα γονίδια που προκαλούν υπογόνιμο φαινότυπο, και αν είναι δυνατόν η συσχέτιση μεταξύ γονοτύπου – φαινοτύπου, θα μπορούσαν να συμβάλουν στην καλύτερη αντιμετώπιση των υπογόνιμων ατόμων ώστε να αποφεύγεται η ψυχολογική, σωματική και οικονομική επιβάρυνση των ζευγαριών έπειτα από μία αποτυχημένη προσπάθεια. Ένα επιπλέον ζήτημα που προκύπτει από τη χρήση των μεθόδων υποβοηθούμενης αναπαραγωγής (και πολύ συχνά γίνεται λόγος κυρίως για την ενδοκυτταρική έγχυση σπέρματος – ICSI, η οποία είναι μια καθαρά επεμβατική μέθοδος όπου μάλιστα το σπερματοζώαριο που θα γονιμοποιήσει το ωάριο δεν καθορίζεται από τη φυσική επιλογή αλλά από τη διακριτική ευχέρεια του ατόμου που θα εφαρμόσει την τεχνική) είναι η υγεία των παιδιών που γεννιούνται έπειτα από εξωσωματική γονιμοποίηση καθώς και το αν η ίδια η διαδικασία με όλα τα στάδια που αυτή περιλαμβάνει είναι η πραγματική αιτία για τα αυξημένα ποσοστά λανθασμένων επιγενετικών τροποποιήσεων που παρουσιάζονται στα παιδιά έπειτα από εξωσωματική γονιμοποίηση.

## **7. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ**

### **Άρθρα**

Adam Fechner, Shirley Fong, and Peter McGovern, A Review of Kallmann Syndrome: Genetics, Pathophysiology, and Clinical Management, Obstetrical and Gynecological Survey, Volume 63, Number 3, March 2008

Adelman CA & Petrini JH. ZIP4H (TEX11) deficiency in the mouse impairs meiotic double strand break repair and the regulation of crossing over. PLoS Genet. 2008;4:e1000042

Akinloye O, Gromoll J, Callies C, Nieschlag E, Simoni M. Mutation analysis of the X-chromosome linked, testis-specific TAF7L gene in spermatogenic failure. Andrologia 2007;39:190-195

Alberto Ferlin, Cinzia Vinanzi, Andrea Garolla, Riccardo Selice, Daniela Zuccarello, Carla Cazzadore and Carlo Foresta, Male infertility and androgen receptor gene mutations: clinical features and identification of seven novel mutations, Clinical Endocrinology (2006) 65 , 606–610

Alberto Ferlin, Fiorina Raicu, Valentina Gatta, Daniela Zuccarello, Giandomenico Palka, Carlo Foresta, Male infertility: role of genetic background, Reproductive BioMedicine Online, Vol 14. No 6, 734-745, 2007

Blatch GL & Lassle M. The tetratricopeptide repeat: a structural motif mediating protein - protein interactions. Bioassays. 1999;21:932-939

Bodega B, Bione S, Dalpra L, et al., Influence of intermediate and un interrupted FMR1 CGG expansions in the premature ovarian failure manifestation. Hum Reprod 2005;in press

Bretherick KL, Fluker MR, Robinson WP. FMR1 repeat sizes in the gray zone and high end of the normal range are associated with premature ovarian failure. Hum Genet 2005;117:376-382

Carrell DT, Hammoud SS, The human sperm epigenome and its potential role in embryonic development., Mol Hum Reprod. 2010 Jan;16(1):37-47. Epub 2009 Nov 11.

Carrera A, Gerton GL, Moss SB. The major fibrous sheath polypeptide of mouse sperm: structural and functional similarities to the A-kinase anchoring proteins. Dev Biol. 1994;165:272-284

Chelysheva L, Gendrot G, Vezon D, Doutriaux MP, Mercier R, Grelon M. Zip4/Spo22 is required for class I CO formation but not for synapsis completion in *Arabidopsis thaliana*. *PLoS Genet.* 2007;3:e83

Cheng Y, Buffone MG, Kouadio M, Goodheart M, Page DC, Gerton GL, Davidson I, Wang PJ. Abnormal sperm in mice lacking the *Taf7l* gene. *Mol Cell Biol.* 2007;27:2582-2589

D. Söderlund, P. Canto and J. P. Méndez. Identification of Three Novel Mutations in the *KAL1* Gene in Patients with Kallmann Syndrome *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2002 87: 2589-2592, doi: 10.1210/jc.87.6.2589

D. Vaiman, Fertility, sex determination, and the X chromosome, *Cytogenet Genome Res* 99:224–228, DOI: 10.1159/000071597, 2002

Daniela Toniolo, Flavio Rizzolio, X Chromosome and Ovarian Failure, *Semin Reprod Med* 2007, 25:264-271

Di Pasquale E, Beck-Peccoz P, Persani L. Hypergonadotropic ovarian failure associated with an inherited mutation of human bone morphogenetic protein – 15 (*BMP15*) gene. *Am J Hum Genet* 2004;75:106-111

Dupont C, Armant DR, Brenner CA., Epigenetics: definition, mechanisms and clinical perspective., *Semin Reprod Med.* 2009 Sep;27(5):351-7. Epub 2009 Aug 26.

Ferlin A, Raicu F, Gatta V, Zuccarello D, Palka G, Foretsa C. Male infertility: role of genetic background. *Reprod Biomed Online* 2007;14:734-45

Francesca Nuti, Csilla Krausz, Gene polymorphisms/mutations relevant to abnormal spermatogenesis, Vol 16. No 4, 504-513, *Reproductive BioMedicine Online*, 2008

Grace KS, Sinclair KD., Assisted reproductive technology, epigenetics, and long-term health: a developmental time bomb still ticking, *Semin Reprod Med.* 2009 Sep;27(5):409-16. Epub 2009 Aug 26.

Hickey T, Chandy A, Norman RJ, The androgen receptor CAG repeat polymorphism and X-chromosome inactivation in Australian Caucasian women with infertility related to polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87:161–165

Hiller M, Chen X, Pringle MJ, Suchorolski M, Sancak Y, Viswanathan S, Bolival B, Lin TY, Marino S, Fuller MT. Testis specific TAF homologs collaborate to control a tissue – specific transcription program. *Development* 2004;131:5297-5308

Hiller MA, Lin TY, Wood C, Fuller MT. Developmental regulation of transcription by a tissue specific TAF homolog. *Genes Dev.* 2001;15:1021-1030

Hu YC, Wang PH, Yeh S, Wang RS, Xie C, Xu Q, Zhou X, Chao HT, Tsai MY, Chang C. Subfertility and defective folliculogenesis in female mice lacking androgen receptor. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004; 101: 11209–11214

Isabel Fernandez-Carvajal, Blanca Lopez Posadas, Ruiqin Pan, Christopher Raske, Paul J. Hagerman, and Flora Tassone. Expansion of an FMR1 Grey-Zone Allele to a Full Mutation in Two Generations, *Journal of Molecular Diagnostics*, Vol. 11, No. 4, July 2009

Katherine L. O'Flynn O'Brien, Alex C. Varghese and Ashok Agarwal, The genetic causes of male factor infertility: A review, *Fertility and Sterility* Vol. 93, No. 1, January 2010

Ke Zheng, Fang Yang, and Peijing Jeremy Wang, Regulation of male fertility by X linked genes, *Journal of Andrology*, October 29.2010

Kogo H, Kowa-Sugiyama H, Yamada K, Bolor H, Tsutsumi M, Ohye T, Inagaki H, Taniguchi M, Toda T, Kurahashi H, screening of genew involved in chromosome segregation during meiosis I: toward the identification of genes responsible for infertility in humans, *J Hum Genet.* 2010 May;55(5):293-9. Epub 2010 Mar 26.

L C Layman, Review Article, Human gene mutations causing infertility, *J Med Genet* 2002, 39:153–161

Lai D, Sakkas D, Huang Y. the fragile X mental retardation protein interacts with a distinct mRNA nuclear export factor NXF2. *RNA* 2006;12:1446-1449

Laprise SL., Implications of epigenetics and genomic imprinting in assisted reproductive technologies., *Mol Reprod Dev.* 2009 Nov;76(11):1006-18.

McNatty KP, Juengel JL, Reader KL, et al Bone orphogenetic protein 15 and growth differentiation factor 9 co-operate to regulate granulosa cell function in ruminants. *Reproduction*

2005;129:481-487

Meczekalski B. , Oocyte-specific genes: role in fertility and infertility, *J Endocrinol Invest.* 2009 May;32(5):474-81.

Mifsud A, Ramirez S, Yong EL, Androgen receptor gene CAG trinucleotide repeats in anovulatory infertility and polycystic ovaries. *J Clin Endocrinol Metab* 2000; 85:3484–3488

Miki K, Willis WD, Brown PR, Goulding EH, Fulcher KD, Eddy EM. Targeted disruption of the *Akap4* gene causes defects in sperm flagellum and motility. *Dev Biol.* 2002;248:331-342

P. Jeremy Wang, John R. McCarrey, Fang Yang & David C. Page, An abundance of X-linked genes expressed in spermatogonia, Nature Publishing Group, <http://genetics.nature.com>, 2001

Paduch DA, Mielnik A. Schiegel PN 2005 Novel mutations in testisspecific ubiquitin protease 26 gene may cause male infertility and hypogonadism. *Reproductive BioMedicine Online* 10, 747-754,

Pan J, Eckardt S, Leu NA, Buffone MG, Zhou J, Gerton GL, McLaughlin KJ, Wang PJ. Inactivation of *Nxf2* causes defects in male meiosis and age dependent depletion of spermatogonia. *Dev Biol.* 2009

Paolo Beck-Peccoz and Luca Persani, Review Premature ovarian failure, *Orphanet Journal of Rare Diseases*, 1:9 doi:10.1186/1750-1172-1-9, 06 April 2006

Pointud JC, Mengus G, Brancorsini S, Monaco L, Parvinen M, Sassone-Corsi P, Davidson I. The intracellular localization of TAF7L, a paralogue of transcription factor TFIID subunit TAF7, is developmentally regulated during male germ cell differentiation. *J Cell Sci.*2003;116:1847-1858

Poongothai J, Gopenath TS, Manonayaki S. , Genetics of human male infertility, *Singapore Med J.* 2009 Apr; 50(4):336-47.

Shiina H, Matsumoto T, Sato T, Igarashi K, Miyamoto J, Takemasa S, Sakari M, Takada I, Nakamura T, Metzger D, Chambon P, Kanno J, et al. Premature ovarian failure in androgen receptor-deficient mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006; 103:224–229.

Simoni Manuela Eberhard Nieschlag Genetics of Hypogonadotropic Hypogonadism *Horm Res* 2007;67(suppl 1):149–154 DOI: 10.1159/000097572

Somjate Manipalviratn, Alan DeCherney and James Segars, Imprinting disorders and assisted reproductive technology, Vol. 91, No. 2, February 2009

Stouffs K, Lissens W, Tournaye H, Van Steirteghem A, Liebaers I. Alterations of the USP26 gene in Caucasian men. *Int J Androl* (2006) 29:614–617.

Stouffs K, Lissens W, Tournaye H, Van Steirteghem A, Liebaers I. Possible role of USP26 in patients with severely impaired spermatogenesis. *Eur J Hum Genet* (2005) 13:336–340

Su YQ, Wu X, O'Brien Mj, et al. Synergistic roles of BMP15 and GDF9 in the development and function of the oocyte-cumulus cell complex in mice: genetic evidence for an oocyte – granulosa cell regulatory loop. *Dev Biol* 2004;276:64-73

Takano K, Miki T, Katahira J, Yoneda Y. NXF2 is involved in cytoplasmic mRNA dynamics through interactions with motor proteins. *Nucleic Acids Res.* 2007;35:2513-2521

The DNA sequence of the human X chromosome, *Nature* 434, 325-337 (17 March 2005) | doi:10.1038/nature 03440;

The ESHRE Capri Workshop Group, Genetic aspects of female reproduction, *Human Reproduction Update*, Vol.14, No.4 pp. 293–307, 2008

Tretyakova I, Zolotukhin AS, Tan W, Bear J, Propst F, Ruthel G, Felber BK. Nuclear export family protein participates in cytoplasmic mRNA trafficking. *J Biol Chem.* 2005;280:31981-31990

Tsubouchi T, Zhao H, Roeder GS. The meiosis specific zip4 protein regulates crossover distribution by promoting synaptonemal complex formation together with zip2. *Dev Cell* .2006;10:809-819

Tut TG, Ghadessy FJ, Trifiro MA, Pinsky L, Yong EL. , Long polyglutamine tracts in the androgen receptor are associated with reduced trans-activation, impaired sperm production and male infertility. *J Clin Endocrinol Metab* 1997;82:3777-82

Voshiyuki Kojima, Shoichi Sasaki, Yutaro Hayashi, Yukihiro Umemoto, Ken-ichiro Morohashi, Kenjiro Kohri, Role of transcription factors Ad4 BP/SF-1 and DAX-1 in steroidogenesis and spermatogenesis in human testicular development and idiopathic azoospermia. *International*



Journal of Urology (2006) 13, 785–793

Walters KA, Allan CM, Handelsman DJ., Androgen actions and the ovary., Biol Reprod. 2008 Mar;78(3):380-9. Epub 2007 Nov 14.

Walters KA, Allan CM, Jimenez M, Lim PR, Davey RA, Zajac JD, Illingworth P, Handelsman DJ. Female mice haploinsufficient for an inactivated androgen receptor (AR) exhibit age-dependent defects that resemble the AR null phenotype of dysfunctional late follicle development, ovulation, and fertility. Endocrinology 2007; 148:3674–3684.

Wang PJ & Page DC. Functional substitution for TAFII250 by a retroposed homolog that is expressed in human spermatogenesis. Hum Mol Genet. 2002;11:2341-2346

Wang PJ & Pan J. The role of spermatogonially expressed germ cell-specific genes in mammalian meiosis. Chromosome Res.2007;15:623-632

Wang PJ, McCarrey JR, Yang F, Page DC. An abundance of X-linked genes expressed in spermatogonia. Nat Genet. 2001;27:422-426

Yang F, De La Fuente R, Leu NA, Baumann C, McLaughlin KJ, Wang PJ. Mouse SYCP2 is required for synaptonemal complex assembly and chromosomal synapsis during male meiosis. J Cell Biol. 2006;173:497-507

Yang F, Gell K, van der Heijden GW, Eckardt S, Leu NA, Page DC Benavente R, Her C, Hoog C, McLaughlin KJ, Wang PJ. Meiotic failure in male mice lacking an X linked factor. Genes Dev. 2008;22:682-691

Yeh S, Tsai MY, Xu Q, Mu XM, Lardy H, Huang KE, Lin H, Yeh SD, Altuwaijri S, Zhou X, Xing L, Boyce BF, et al. Generation and characterization of androgen receptor knockout (ARKO) mice: an in vivo model for the study of androgen functions in selective tissues. Proc Natl Acad Sci U S A 2002; 99:13498–13503

## **Βιβλία**

J.M.W. SLACK, Βασικές Αρχές Βιολογίας Ανάπτυξης.

Lucinda L. Veeck, An Atlas of Human Gametes and Conceptuses

Luiz Carlos Junqueira, Jose Carneiro, Βασική Ιστολογία II, Ιατρικές Εκδόσεις Π.Χ ΠΑΣΧΑΛΙΔΗΣ.

Molecular Biology in Reproductive Medicine by B.C.J.M. Fauser (Editor), A. J. Rutherford (Editor), J. F. Strauss

Scott F. Gilbert, Developmental Biology, 6<sup>th</sup> edition.

Thomas D. Gelehrter, Francis S. Collins, David Ginsburg, Αρχές Ιατρικής Γενετικής, Ιατρικές Εκδόσεις Π.Χ ΠΑΣΧΑΛΙΔΗΣ.

Μιχαήλ Γ. Λουκάς, Γενετική, τόμος Α', Εκδόσεις ΑΘ. ΣΤΑΜΟΥΛΗΣ.

### **Ηλεκτρονικές διευθύνσεις**

<http://biogps.gnf.org/>

<http://ghr.nlm.nih.gov/>

<http://www.epsyea.org/>

<http://en.wikipedia.org/>

<http://www.medpedia.com/>

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>

<http://androgendb.mcgill.ca/>