



ΤΜΗΜΑ

**Βιοχημείας &  
Βιοτεχνολογίας**

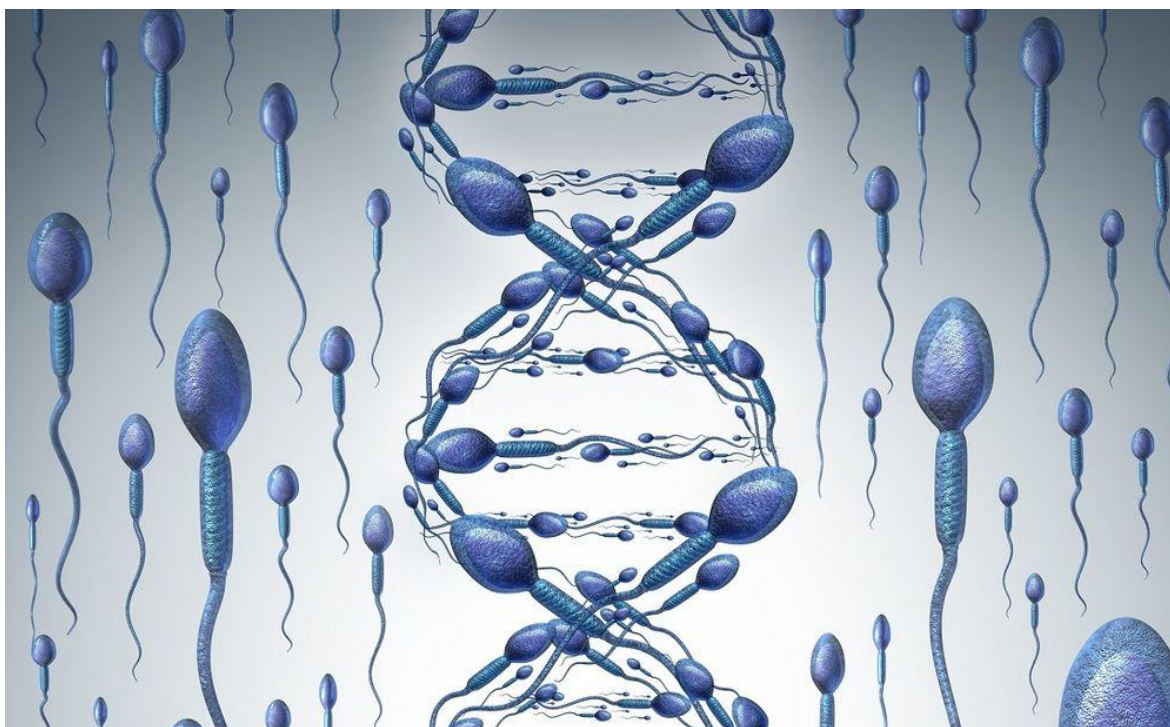
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ  
ΣΧΟΛΗΣ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ  
ΤΜΗΜΑ ΒΙΟΧΗΜΕΙΑΣ ΚΑΙ ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ

## ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

«Οσφρητικοί υποδοχείς και ανδρική υπογονιμότητα: ανάλυση πολυμορφισμών του whole genome sequencing»

«Olfactory receptors and male infertility: variation analysis of whole genome sequencing»



Ντελλάκη Ειρήνη Αικατερίνη του Φωτίου  
Λάρισα, 2022

Τριμελής Επιτροπή

ΜΑΜΟΥΡΗΣ ΖΗΣΗΣ

Καθηγητής Γενετικής Ζωικών Πληθυσμών του τμήματος Βιοχημείας - Βιοτεχνολογίας του  
Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

ΣΑΡΑΦΙΔΟΥ ΘΕΟΛΟΓΙΑ

Επίκουρος Καθηγήτρια Μοριακής Γενετικής Ζωικών Οργανισμών του τμήματος  
Βιοχημείας - Βιοτεχνολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

ΣΤΑΜΑΤΗΣ ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΟΣ

Διδάκτορας - Μέλος του Εργαστηριακού Διδακτικού Προσωπικού (Ε.ΔΙ.Π.) του τμήματος  
Βιοχημείας - Βιοτεχνολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

## Ευχαριστίες

Θα ήθελα να αποδώσω τις εγκάρδιες ευχαριστίες μου στον κ. Μαμούρη Ζήση για την εμπιστοσύνη του αναθέτοντάς μου αυτό το εξαιρετικά ενδιαφέρον θέμα μελέτης, καθώς και την κ. Σαραφίδου Θεολογία και τον κ. Σταμάτη Κωνσταντίνο που συμφώνησαν να αποτελέσουν μέλη της τριμελούς επιτροπής της παρούσας διπλωματικής εργασίας. Ακόμη, θα ήθελα να τους ευχαριστήσω για όλες τις υποδείξεις, συμβουλές και γνώσεις που αποκόμισα καθ' όλη την διάρκεια των σπουδών μου.

Μεγάλη ευγνωμοσύνη οφείλω στην υποψήφια διδάκτορα του τμήματός μας Μαρία Μαρκαντώνη για την αμέριστη βοήθεια και τις πολύτιμες συμβουλές που μου προσέφερε καθ' όλη τη διάρκεια εκπόνησης της διπλωματικής μου εργασίας.

Φυσικά, δε θα μπορούσα να μην ευχαριστήσω όλους τους αξιότιμους καθηγητές και διδάκτορες του Τμήματος Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας, που με την εξαιρετική διδασκαλία και τη συνεχή καθοδήγηση ενέτειναν την αγάπη μου για την Επιστήμη και έθεσαν γερά θεμέλια για την μελλοντική μου εκπαιδευτική και επαγγελματική πορεία.

Τέλος, θα ήθελα από καρδιάς να ευχαριστήσω τους φίλους και την οικογένεια μου για την υπομονή και τη στήριξή τους καθ' όλη τη διάρκεια των σπουδών μου.

## Περιεχόμενα

Περίληψη.....	5
Abstract.....	6
1. Εισαγωγή.....	7
1.1. Ανδρική υπογονιμότητα.....	7
1.2. Σπερματογένεση.....	7
1.3. Διάγνωση της ανδρικής υπογονιμότητας.....	11
1.4. Τύποι ανδρικής υπογονιμότητας.....	12
1.5. Αίτια της ανδρικής υπογονιμότητας.....	14
1.5.1. Ορμονικές διαταραχές.....	14
1.5.2. Σωματικοί τραυματισμοί.....	15
1.5.3. Περιβαλλοντικοί παράγοντες.....	15
1.5.4. Γενετικοί παράγοντες.....	15
1.6. Υποδοχείς συνδεδεμένοι με G πρωτεΐνες-GPCRs.....	20
1.7. Οσφρητικοί υποδοχείς.....	21
1.8. Εκτοπική έκφραση των οσφρητικών υποδοχέων.....	22
1.9. Whole-genome sequencing.....	24
1.10. Μονονουκλεοτιδικό πολυμορφισμό SNPs.....	25
2. Σκοπός.....	26
3. Υλικά και μέθοδοι.....	27
3.1. Απομόνωση DNA από δείγματα αίματος.....	27
3.2. Ανάλυση whole-genome sequencing.....	27
4. Αποτελέσματα.....	34
4.1. Λίστες πολυμορφισμών.....	34
4.1.1. Ασθενοζωοσπερμία.....	34
4.1.2. Ολιγοζωοσπερμία.....	35
4.1.3. Τερατοζωοσπερμία.....	37
4.2. Κοινά SNPs μεταξύ των φαινοτύπων.....	38
4.2.1. Κοινά SNPs μεταξύ ασθενοζωοσπερμικών και ολιγοζωοσπερμικών.....	38
4.2.2. Κοινά SNPs μεταξύ ολιγοζωοσπερμικών και τερατοζωοσπερμικών.....	49
4.2.3. Κοινά SNPs μεταξύ ασθενοζωοσπερμικών και τερατοζωοσπερμικών.....	54
4.2.4. Κοινά SNPs μεταξύ όλων των φαινοτύπων.....	56
5. Συζήτηση.....	59
Βιβλιογραφία.....	61

## Περίληψη

Η υπογονιμότητα αποτελεί ένα μεγάλο ζήτημα υγείας που απασχολεί 1 στα 6 των ετερόφυλων ζευγαριών παγκοσμίως, ενώ ο ανδρικός παράγοντας υπογονιμότητας είναι παρών στο 50% των περιστατικών. Η κλινική εικόνα των ατόμων με ανδρική υπογονιμότητα χαρακτηρίζεται από μεγάλη ποικιλομορφία και εκδηλώνεται με μη φυσιολογικές παραμέτρους σπέρματος, όπως είναι ο αριθμός, η κινητικότητα και η μορφολογία των σπερματοζωαρίων. Το περιβάλλον και ο τρόπος ζωής μπορούν να συμβάλλουν στην εμφάνιση της ανδρικής υπογονιμότητας, ωστόσο σε περίπου 15% των περιστατικών ο κύριος παράγοντας είναι μια χρωμοσωμική ή μονογονιδιακή διαφοροποίηση. Οι συνεχώς αναπτυσσόμενες τεχνολογίες ανάλυσης του γονιδιώματος έχουν συνεισφέρει σημαντικά στην εκτενή μελέτη πολυμορφισμών και γονιδίων που μπορεί να σχετίζονται με διαταραχές στην ανδρική γονιμότητα. Στο επίκεντρο των ερευνών για τον σκοπό αυτό βρίσκονται γονίδια που συμμετέχουν στην πολύπλοκη διαδικασία της σπερματογένεσης. Η έκφραση διαφόρων οσφρητικών υποδοχέων στο σπέρμα και το ανδρικό αναπαραγωγικό σύστημα ενισχύει την πεποίθηση πως οι οσφρητικοί υποδοχείς συμμετέχουν στη σπερματογένεση και την αναπαραγωγική διαδικασία, δίνοντας νέες προοπτικές στην διερεύνηση των γενετικών αιτιών της ανδρικής υπογονιμότητας. Στην παρούσα εργασία πραγματοποιείται ανάλυση δεδομένων του whole genome sequencing χρησιμοποιώντας δείγματα που λήφθηκαν από νορμοσπερμικούς, ασθενοζωοσπερμικούς, ολιγοζωοσπερμικούς και τερατοζωοσπερμικούς άνδρες. Η μελέτη επικεντρώθηκε σε πολυμορφισμούς που επηρεάζουν γονίδια οσφρητικών υποδοχέων σε κάθε ομάδα ξεχωριστά αλλά και σε πολυμορφισμούς που εντοπίζονται σε περισσότερες από μία ομάδες υπογονίμων φαινοτύπων. Η επισήμανση των SNPs που παρατηρούνται από κοινού σε ολιγοζωοσπερμικά, ασθενοζωοσπερμικά και τερατοζωοσπερμικά άτομα θα μπορούσε να αποτελέσει έναυσμα περεταίρω αναλύσεων που θα έχουν ως στόχο την διελεύκανση του λόγου έκφρασης των οσφρητικών υποδοχέων στο ανδρικό αναπαραγωγικό σύστημα, του ρόλου τους στην σπερματογένεση και τελικά στην αναπαραγωγική υγεία.

## *Abstract*

Infertility is considered a grand health issue that affects 1 in 6 heterosexual couples worldwide, with the male factor being present in 50% of the cases. The clinical presentation of subjects with male infertility is characterized by a wide diversity and manifests as defective sperm parameters, such as spermatozoa number, motility and morphology. The environment and lifestyle may contribute to male infertility, however in 15% of the cases the main factor is a chromosomal or single-gene alteration. The continuous development of genome analysis technologies has contributed to extended studying of polymorphisms and genes that may play a role in disorders of the male fertility. Focal points in these studies are genes that participate in the complicated process of spermatogenesis. The discovery of olfactory receptor expression in spermatozoa and the male reproductive system strengthens the belief that olfactory receptors participate in spermatogenesis and the reproductive process, giving a new perspective in the research of male infertility causes. The purpose of this thesis was to analyze whole genome sequencing data using samples from normospermic, asthenozoospermic, oligozoospermic and teratozoospermic men. The study was focused on polymorphisms that affect olfactory receptor genes in every group separately, but also on polymorphisms that are present in more than one groups of infertile phenotypes. Pointing out the SNPs that have been observed jointly in oligozoospermic, asthenozoospermic and teratozoospermic individuals could be a motivation to fully clarify the reason olfactory receptors are expressed in the male reproductive system, as well as their role in spermatogenesis and overall, in human reproductive health.

## 1. Εισαγωγή

### 1.1. Ανδρική υπογονιμότητα

Ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας ορίζει ως υπογονιμότητα την αδυναμία ενός ετερόφυλου ζευγαριού να επιτύχει σύλληψη και να αποκτήσει τέκνο έπειτα από τουλάχιστον ένα έτος τακτικών σεξουαλικών επαφών χωρίς αντισυλληπτική προστασία. Αποτελεί ένα μείζον πρόβλημα υγείας παγκοσμίως και υπολογίζεται πως επηρεάζει το 8-12% των ετερόφυλων ζευγαριών που ανήκουν στην αναπαραγωγική ηλικία. Η εμφάνιση υπογονιμότητας μπορεί να συνεπάγεται σημαντικές ψυχολογικές, οικονομικές και κοινωνικές επιπτώσεις στο ζευγάρι, ωστόσο η υπογονιμότητα έγκειται αποκλειστικά στον άνδρα σε 20-30% των περιστατικών, ενώ σε ένα επιπλέον 20% υπάρχει συνδυασμός ανδρικού και γυναικείου παράγοντα υπογονιμότητας (Agarwal, Baskaran, et al., 2021).

### 1.2. Σπερματογένεση

Η σπερματογένεση αποτελεί ένα περίπλοκο δίκτυο διάφορων διαδικασιών που λαμβάνουν χώρα στα σπερματικά σωληνάκια των όρχεων και έχουν ως τελικό στόχο την δημιουργία των ώριμων αρσενικών γαμετών. Οι κύριες διαδικασίες της σπερματογένεσης είναι ο πολλαπλασιασμός των σπερματογονίων και η διαφοροποίηση τους σε σπερματοκύτταρα, η μειωτική διαίρεση των σπερματοκυττάρων για παραγωγή σπερματίδων, η ωρίμανση των σπερματίδων και η απελευθέρωση εξειδικευμένων ώριμων σπερματοζωαρίων στον αυλό των σπερματικών σωληνίων του όρχι (Neto et al., 2016).

Τα σπερματικά σωληνάκια είναι οι λειτουργικές μονάδες των όρχεων και καταλαμβάνουν τα δύο τρίτα του όγκου του οργάνου. Κάθε όρχις μπορεί να περιλαμβάνει περίπου 400-600 σπερματικά σωληνάκια τα οποία αν συνδυαστούν μπορούν να φτάσουν τα 400 μέτρα σε μήκος (Chen et al., 2017). Αποτελούνται από μια βασική μεμβράνη, κύτταρα Sertoli και γαμετικά κύτταρα σε διάφορα στάδια της ωρίμανσής τους. Συγκεκριμένα, τα γαμετικά κύτταρα βρίσκονται οργανωμένα στο χώρο με πολύ συγκεκριμένο τρόπο: τα λιγότερο ώριμα κύτταρα βρίσκονται στο βασικό διαμέρισμα των σωληναρίων και μεταφέρονται στο επιφανειακό διαμέρισμα όσο ωριμάζουν (Neto et al., 2016).

Τα κύτταρα Sertoli χαρακτηρίζονται ως οι απαραίτητοι συντελεστές της σπερματογένεσης και καταλαμβάνουν το 17-20% του επιθυλίου των σπερματοφόρων αγγείων ενός ενήλικου άνδρα (Neto et al., 2016). Είναι επιθηλιακά κύτταρα τα οποία διατάσσονται το ένα δίπλα στο άλλο δημιουργώντας ένα δαχτύλιο γύρω από τον αυλό των σωληναρίων (Sherwood et al., 2013). Κατά τη διάρκεια της σπερματογένεσης, τα γαμετικά κύτταρα εξαρτώνται αποκλειστικά στα κύτταρα

Sertoli για δομική, θρεπτική και παρακρινή υποστήριξη, καθώς οι μετα-μειωτικές σπερματίδες είναι μεταβολικά αδρανείς (Chen et al., 2017). Ένα κύτταρο Sertoli μπορεί να υποστηρίξει από 30 έως 50 γαμετικά κύτταρα στα διαφορετικά στάδια της σπερματογένεσης (Neto et al., 2016), για τον λόγο αυτό χαρακτηρίζονται και ως «μητρικά» ή «τροφικά» κύτταρα (Chen et al., 2017).

Ένας ακόμη σημαντικός ρόλος των κυττάρων Sertoli είναι ο σχηματισμός του αιματο-ορχικού φραγμού. Χάρη στην υψηλή ανοσογονικότητά τους και τις εξειδικευμένες μεταβολικές ανάγκες τους, τα γαμετικά κύτταρα απαιτούν ένα κλειστό και ασφαλές μικροπεριβάλλον. Ο αιματο-ορχικός φραγμός είναι ένα ανατομικό και λειτουργικό εμπόδιο που διαχωρίζει το επιθήλιο των σπερματικών σωληναρίων σε δύο διαμερίσματα, το βασικό και το παρα-αυλικό. Ο αιματο-ορχικός φραγμός επιτελεί πολλές λειτουργίες σημαντικές στην διαδικασία της σπερματογένεσης. Ρυθμίζει την ποσότητα ουσιών όπως το νερό, τα ιόντα, οι ηλεκτρολύτες και οι ορμόνες που απαιτούνται για την ανάπτυξη των σπερματίδων. Επιπλέον, εμποδίζει την διέλευση των αντιγόνων που παράγονται κατά την ανάπτυξη των σπερματογονίων, αποτρέποντας συνεπώς την παραγωγή αντι-σπερματικών αντισωμάτων. Τέλος, ο αιματο-ορχικός φραγμός προσδίδει πολικότητα στα κύτταρα του όρχι, κατευθύνοντας την παραγωγή διάφορων ουσιών στα διαμερίσματα των σωληναρίων.

Μέσα στο επιθήλιο των σπερματικών σωλήνων, η σπερματογένεση ξεκινά με τα διπλοειδή σπερματογόνια που βρίσκονται προσκολλημένα στην βασική μεμβράνη των σωληναρίων και τα οποία διαιρούνται μέσω της μίτωσης (de Kretser et al., 2016). Από τη διαίρεση των σπερματογονίων προκύπτουν τρεις τύποι σπερματογονίων: τα τύπου A βαθυχρωματικά (dark-Ad), τα τύπου A ωχρά (pale-Ap) και τα τύπου B σπερματογόνια (B). Τα σπερματογόνια τύπου Ad συνεχίζουν να διαιρούνται καθ'όλη τη διάρκεια της ζωής του άνδρα, εξασφαλίζοντας μια δεξαμενή γαμετών που διατηρεί την γονιμοποιητική ικανότητα του άνδρα. Η διαίρεση των σπερματογονίων Ad μπορεί να οδηγήσει είτε στην παραγωγή δύο σπερματογονίων Ad, είτε στην παραγωγή δύο σπερματογονίων Ap, τα οποία τελικά θα διαφοροποιηθούν σε σπερματογόνια τύπου B (Μιντζιώρη et al., 2020).

Τα πρώτα σπερματοκύτταρα προκύπτουν από μιτωτική διαίρεση των σπερματογονίων τύπου B. Είναι τα πρώτα γαμετικά κύτταρα που διαπερνούν τον αιματο-ορχικό φραγμό και καταλήγουν στον αυλό των σπερματικών σωληναρίων, όπου απομονώνονται ανοσολογικά και περνούν σε φάση μείωσης (Neto et al., 2016).

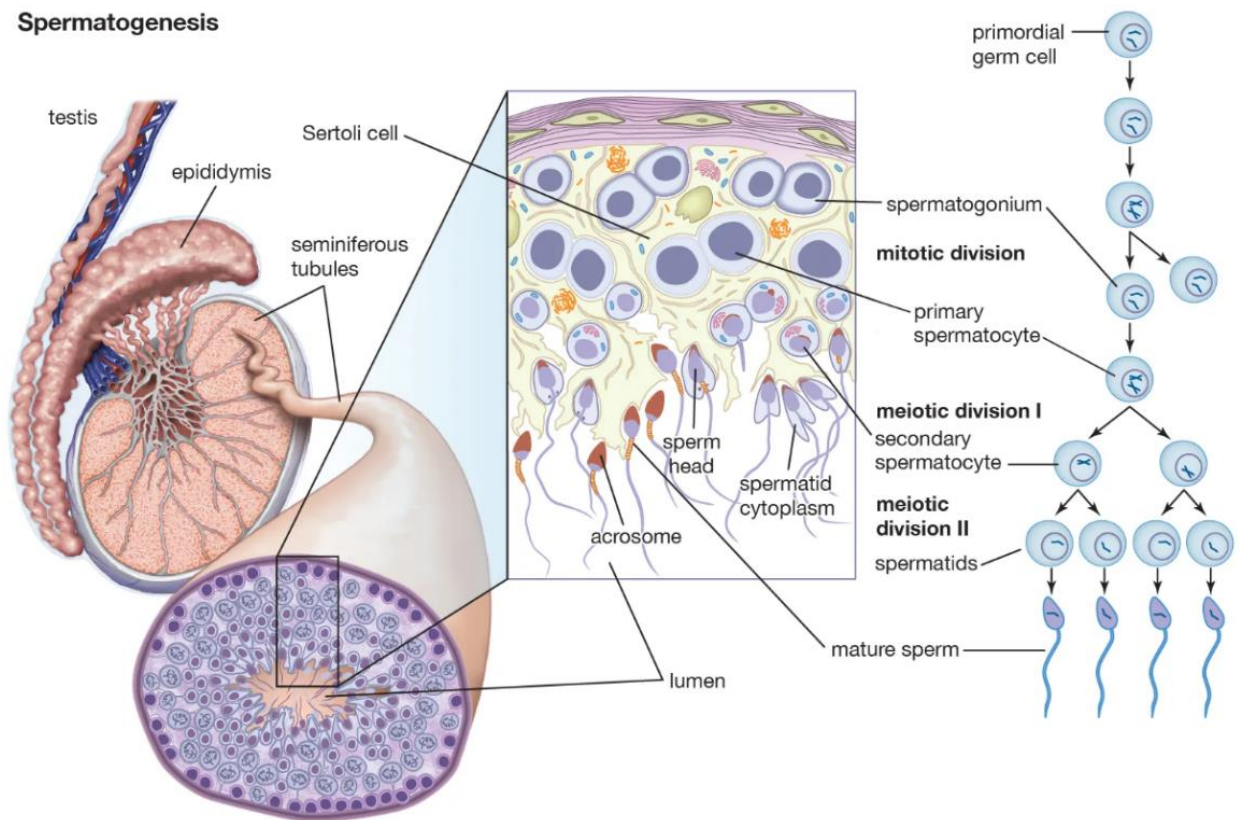
Έπειτα από την πρώτη μειωτική διαίρεση, προκύπτουν δύο δευτερεύοντα απλοειδή σπερματοκύτταρα με διπλασιασμένα χρωμοσώματα, τα οποία θα διαιρεθούν περεταίρω, ολοκληρώνοντας τη μείωση και σχηματίζοντας 4 σπερματίδες, απλοειδή κύτταρα με μη διπλασιασμένα χρωμοσώματα (Neto et al., 2016).



Η σπερμιογένεση είναι η διαδικασία κατά την οποία μία σπερματίδα μετατρέπεται σε σπερματοζωάριο. Κατά τη διάρκεια αυτού του σταδίου, το κύτταρο δεν υφίσταται περεταίρω διαιρέσεις αλλά λαμβάνουν χώρα μια σειρά από κυτταροπλασματικές και πυρηνικές αλλαγές. Το ακρόσωμα σχηματίζεται από το σύμπλεγμα Golgi με τη βοήθεια μιας κυτταροσκελετικής δομής που ονομάζεται περιπυρινική θήκη (perinuclear theca) (Neto et al., 2016). Η περιπυρινική θήκη είναι ένα συμπυκνωμένο κυτοσολικό πρωτεϊνικό στρώμα που περιβάλλει τον πυρήνα του σπέρματος των θηλαστικών εκτός από την περιοχή της εμφύτευσης της ουράς (Oko & Sutovsky, 2009). Ο πυρήνας συμπυκνώνεται και απομακρύνεται από το κέντρο, ενώ το μαστίγιο του σπερματοζωαρίου αναπτύσσεται και επιμηκώνεται. Γύρω από τη βάση του μαστιγίου συγκεντρώνεται μεγάλος αριθμός μιτοχονδρίων και σχηματίζεται το μεσαίο τμήμα. Μόλις η μεταμόρφωση της σπερματίδας σε σπερματοζωάριο ολοκληρωθεί, αποκολλάται από τα σπερματικά σωληνάκια και οδηγείται στην επιδιδυμίδα. Εκεί θα παραμείνει περίπου 21 μέρες περνώντας από την φάση της ωρίμανσης, αποκτώντας την ικανότητα για γονιμοποίηση (Μηντζιώρη & Γούλης, 2021).

Η σπερματογένεση απαιτεί 65-75 ημέρες για να ολοκληρωθεί και συμβαίνει ταυτόχρονα σε διαφορετικά στάδια σε διαφορετικά σημεία του όρχι, με αποτέλεσμα μια ομαλή παραγωγή και συνεχή διαθεσιμότητα ώριμων σπερματοζωαρίων (Szmelskyj et al., 2015). Η εκτιμώμενη ημερήσια παραγωγή σε έναν υγιή άνδρα ποικίλλει από 150-275 εκατομμύρια σπερματοζωάρια (Neto et al., 2016).

## Spermatogenesis



© 2013 Encyclopædia Britannica, Inc.

(Encyclopedia Britannica, 2020). Η διαδικασία της σπερματογένεσης λαμβάνει χώρα στα σπερματικά σωληνάρια του όρχι. Από τα διπλοειδή σπερματογόνια τελικά προκύπτουν τα απλοειδή ώριμα σπερματοζώαρια.

Η ορμονική ρύθμιση της διαδικασίας της σπερματογένεσης γίνεται από τις ορμόνες του άξονα υποθαλάμου-υπόφυσης-γονάδων (hypothalamic-pituitary-gonadal axis ή HPG axis). Ο έλεγχος της σπερματογένεσης αλλά και της παραγωγής τεστοστερόνης έγκειται στη δράση δύο γοναδοτροπινών της υπόφυσης, την ωχρινοτρόπο ορμόνη (luteinizing hormone ή LH) και την θυλακιοτρόπο ορμόνη (follicle-stimulating hormone ή FSH) (Ramasamy et al., 2018). Ο στόχος της LH στον όρχι είναι τα κύτταρα Leydig τα οποία εντοπίζονται σε συστάδες μεταξύ των σπερματικών σωληναρίων και των αιμοφόρων αγγείων. Η τεστοστερόνη είναι το βασικό προϊόν των κυττάρων Leydig, με την ημερήσια έκκριση από τους όρχεις να κυμαίνεται μεταξύ 3 και 10mg, ποσότητα που αποτελεί περίπου το 95% της συνολικής τεστοστερόνης στους μετεφηβικούς άνδρες (Neto et al., 2016). Η ορμόνη LH ευθύνεται για την ενεργοποίηση της παραγωγής τεστοστερόνης στα κύτταρα Leydig, ενώ στα κύτταρα Sertoli η FSH σε συνεργασία με την τεστοστερόνη ελέγχει την παραγωγή ρυθμιστικών μορίων και θρεπτικών συστατικών που απαιτούνται για την ομαλή διατήρηση της σπερματογένεσης. Τόσο η LH όσο και η FSH εκκρίνονται και ρυθμίζονται μέσω του άξονα HPG ως απόκριση στην εκλυτική ορμόνη της γοναδοτροπίνης (gonadotropin releasing factor ή GnRH) (Ramasamy et al., 2018).

### 1.3. Διάγνωση της υπογονιμότητας

Η επιτυχής διάγνωση της ανδρικής υπογονιμότητας αποτελεί μεγάλη πρόκληση, καθώς στην διαδικασία της σύλληψης εμπλέκονται δύο οργανισμοί, συνεπώς η διερεύνηση της υπογονιμότητας και των αιτιών της θα πρέπει επίσης να περιλαμβάνει και τα δύο άτομα. Για την διάγνωση της υπογονιμότητας είναι απαραίτητο να πραγματοποιηθούν οι παρακάτω αναλύσεις:

1. Λήψη του ιστορικού. Αποτελεί το πρώτο βήμα στην εκτίμηση της υπογονιμότητας. Η υπογονιμότητα μπορεί να διακριθεί σε πρωτογενής, εάν δεν υπάρχει κανένα ιστορικό γονιμότητας, ή δευτερογενής, εάν το άτομο υπήρξε γόνιμο στο παρελθόν αλλά δεν εμφανίζει γονιμότητα στο παρόν (Agarwal, Baskaran, et al., 2021). Είναι σημαντικό, συνεπώς, να ληφθεί ιστορικό της γονιμότητας, της σεξουαλικής δραστηριότητας, ευρύτερο ιατρικό ιστορικό και προηγούμενες χειρουργικές επεμβάσεις.
2. Σωματική εξέταση. Είναι ένας ακόμη σημαντικός παράγοντας στην διάγνωση της ανδρικής υπογονιμότητας και θα πρέπει να περιλαμβάνει εκτίμηση της φυσικής κατάστασης, εξέταση των δευτερευόντων σεξουαλικών χαρακτηριστικών και των αναπαραγωγικών οργάνων.
3. Ορμονική εκτίμηση. Μια βασική εξέταση περιλαμβάνει ανάλυση της FSH (follicle-stimulating hormone) και της τεστοστερόνης. Εάν οι συγκεντρώσεις της τεστοστερόνης είναι χαμηλές, τότε συνίσταται μια εκτενέστερη ορμονική ανάλυση (Agarwal, Baskaran, et al., 2021).
4. Γενετική ανάλυση. Οι γενετικές ανωμαλίες που σχετίζονται με την ανδρική υπογονιμότητα επηρεάζουν περίπου το 15% των ανδρών με υπογονιμότητα (Agarwal et al., 2021). Τα πιο συχνά γενετικά τεστ για διάγνωση της ανδρικής υπογονιμότητας που βρίσκονται σε κλινική εφαρμογή σήμερα είναι η καρυστύπηση, η ανίχνευση μικροελλείψεων του Y χρωμοσώματος και η ανίχνευση μεταλλάξεων του γονιδίου CFTR (Pelzman & Hwang, 2021).
5. Ανάλυση σπέρματος. Είναι σημαντικό να εξετασθούν οι εξής παράμετροι: όγκος του σπέρματος, η συγκέντρωσή του, ο συνολικός αριθμός των σπερματοζωαρίων καθώς και χαρακτηριστικά τους όπως είναι η ζωτικότητα, η κινητικότητα και η μορφολογία. Λεπτομερής ανάλυση των παραγόντων αυτών συμβάλλουν στην ανίχνευση των αιτιών της υπογονιμότητας στον άνδρα (Sunder et al., 2021).

Ο Παγκόσμιος οργανισμός Υγείας έχει ορίσει τις φυσιολογικές τιμές αναφοράς που χρησιμοποιούνται στις αναλύσεις σπέρματος και απεικονίζονται στον παρακάτω πίνακα.

Όγκος	= >1.5 ml
Ph	= > 7.2
Συνολικός αριθμός σπερματοζωαρίων	= > 39 εκατομμύρια ανά εκσπερμάτωση
Μορφολογία	= > 4%
Ζωτικότητα	= > 58%
Συνολική κινητικότητα (προοδευτική και μη-προοδευτική)	= > 40%

Όταν οι τιμές ανάλυσης ενός δείγματος αποκλίνουν από τις παραπάνω, τότε η ανάλυση σπέρματος δεν θεωρείται φυσιολογική και συνίστανται περαιτέρω αναλύσεις για να γίνει διάγνωση της υπογονιμότητας και η διάκρισή της στους διαφορετικούς τύπους υπογονιμότητας.

#### 1.4. Τύποι ανδρικής υπογονιμότητας

Η ανάλυση σπέρματος αποτελεί την πιο σημαντική εξέταση στην διαδικασία διάγνωσης της ανδρικής υπογονιμότητας. Ανάλογα με το ποιες ποσοτικές ή ποιοτικές παράμετροι είναι αλωιωμένες, η υπογονιμότητα μπορεί να διακριθεί σε συγκεκριμένες κατηγορίες.

Η αζωοσπερμία είναι η πιο σοβαρή μορφή ανδρικής υπογονιμότητας και χαρακτηρίζεται από την απόλυτη απουσία σπερματοζωαρίων στο σπέρμα (Sharma et al., 2022). Έχει εντοπιστεί περίπου στο 1% όλων των ανδρών και στο 10% των ανδρών με υπογονιμότητα. Τα αίτια της μπορεί να εντοπίζονται εντός των όρχεων, αλλά και σε διαδικασίες που λαμβάνουν χώρα πριν γύρω από αυτούς (Agarwal, Baskaran, et al., 2021). Με βάση την ύπαρξη ή μη απόφραξης του σπερματικού πόρου, η αζωοσπερμία μπορεί να ταξινομηθεί σε Αποφρακτική (ΟΑ) και Μη αποφρακτική (ΝΟΑ). Ανάμεσα στους αζωοσπερμικούς άνδρες, το 40% εμφανίζει αποφρακτική αζωοσπερμία η οποία μπορεί να ευθύνεται σε απουσία του σπερματικού πόρου, ατρησία των σπερματοδόχων κυστιδίων και άλλες ουρογεννητικές λοιμώξεις. Η πλειοψηφία όμως των αζωοσπερμικών ανδρών παρουσιάζει μη αποφρακτική αζωοσπερμία, της οποίας τα αίτια είναι συνήθως σοβαρές διαταραχές στη διαδικασία της σπερματογένεσης. Οι διαταραχές αυτές ευθύνονται συνήθως σε πρωτογενή δυσλειτουργία των όρχεων, ή ακόμα και του υποθαλάμου ή της υπόφυσης.

Ως ασθενοσπερμία ορίζεται η κινητικότητα του σπέρματος που δεν ξεπερνά το 40% ή το 32% με προοδευτική κινητικότητα. Η σοβαρή μορφή της ασθενοζωοσπερμίας χαρακτηρίζεται από απόλυτη ακινησία του σπέρματος και εμφανίζεται σε 1 στους 5000 άνδρες (Barak & Baker, 2015). Μια απλή ανάλυση σπέρματος συνήθως εμφανίζει φυσιολογικές συγκεντρώσεις σπερματοζωαρίων και φυσιολογική μορφολογία, αλλά είναι πιθανό να υπάρχουν δομικές ανωμαλίες στο μεσαίο τμήμα ή το μαστίγιο, δυσχεραίνοντας την κίνηση των κυττάρων (Barak & Baker, 2016).

Η ολιγοζωοσπερμία ορίζεται ως η συγκέντρωση μικρότερη των 20 εκατομμυρίων σπερματοζωαρίων ανά χιλιοστόλιτρο σπέρματος, ενώ μπορεί περεταίρω να κατηγοριοποιηθεί σε ελαφράς μορφής (10-15 εκατομμύρια σπερματοζωάρια/mL), μέτρια (5-10 εκατομμύρια σπερματοζωάρια/mL) και σοβαρή (<5 εκατομμύρια σπερματοζωάρια/mL). Η ολιγοζωοσπερμία μπορεί να θεωρηθεί μια λιγότερο σοβαρή μορφή της αζωοσπερμίας, καθώς οι ίδιες μεταλλάξεις που εντοπίζονται σε αζωοσπερμικούς ασθενείς μπορούν να προκαλέσουν ολιγοζωοσπερμία σε άλλους (Castañeda et al., 2018). Η χαμηλή συγκέντρωση σπερματοζωαρίων συχνότερα οφείλεται σε διαταραχές στην διαδικασία της σπερματογένεσης οι οποίες μπορεί να προκύπτουν από έκθεση σε επιβλαβείς περιβαλλοντικούς παράγοντες, ορμονικές απορρυθμίσεις ή τραυματισμούς στον όρχι (Hussein, 2018).

Η τερατοζωοσπερμία χαρακτηρίζεται από παρουσία σπερματοζωαρίων με ανώμαλη μορφολογία σε περισσότερο από το 85% του σπέρματος (de Braekeleer et al., 2015). Η μορφολογία συχνά αφορά το σχήμα της κεφαλής των σπερματοζωαρίων ή τον αριθμό των μαστιγίων. Για να θεωρείται μορφολογικά φυσιολογικό ένα σπερματοζωάριο θα πρέπει να έχει φυσιολογικό ακρόσωμα, μια ωοειδή κεφαλή μήκους 5 έως 6 μm και 2.5 έως 3.5 μm πλάτος, ένα μεσαίο τμήμα 4 έως 5 μm και ένα μαστίγιο μήκους περίπου 50 μm (de Braekeleer et al., 2015). Όταν όλα τα σπερματοζωάρια ενός δείγματος εμφανίζουν τον ίδιο τύπο ανώμαλης μορφολογίας, τότε η τερατοζωοσπερμία χαρακτηρίζεται μονομορφική. Όταν παρατηρούνται περισσότεροι από ένας τύποι ανώμαλης μορφολογίας, τότε η τερατοζωοσπερμία χαρακτηρίζεται ως πολυμορφική.

Τα κριτήρια των ανώμαλων φαινοτύπων του σπέρματος συνοψίζονται στον παρακάτω πίνακα:

	Σημασία	Κριτήρια	Αναφορές
<b>Ασθενοζωοσπερμία</b>	Χαμηλή κινητικότητα σπέρματοζωαρίων	Κινητικότητα σπέρματος μικρότερη του 40% ή 32% με προοδευτική κινητικότητα.	(Barak & Baker, 2015)
<b>Ολιγοζωοσπερμία</b>	Χαμηλή συγκέντρωση σπέρματοζωαρίων στο σπέρμα	Ελαφρά μορφή: 10-15 εκατομμύρια σπέρματοζωάρια ανά ml σπέρματος Μέτρια μορφή: 5-10 εκατομμύρια σπέρματοζωάρια ανά ml σπέρματος Σοβαρή μορφή: <5 εκατομμύρια σπέρματοζωάρια ανά ml σπέρματος	(Hopps et al., 2004)
<b>Τερατοζωοσπερμία</b>	Ανώμαλη μορφολογία σπέρματοζωαρίων	Ανώμαλη μορφολογία ακροσώματος, κεφαλής ή ουράς σε περισσότερο από το 85% του σπέρματος.	(de Braekeleer et al., 2015)

Πίνακας 1: Φαινότυποι του σπέρματος που συσχετίζονται με την ανδρική υπογονιμότητα.

Άλλοι τύποι ανδρικής υπογονιμότητας συνοπτικά αποτελούν η νεκροζωοσπερμία (συγκέντρωση ζωντανών σπέρματοζωαρίων μικρότερη του 58%)(Agarwal, Sharma, et al., 2021) και η υποσπερμία (όγκος σπέρματος μικρότερος των 2ml)(Robin et al., 2008).

### 1.5. Αίτια της ανδρικής υπογονιμότητας

Είναι πολλοί οι παράγοντες που μπορούν να αποτελέσουν αίτια για την εμφάνιση ανδρικής υπογονιμότητας. Παρόλα αυτά, σε περίπου 40% των υπογόνιμων ανδρών δεν υπάρχει ξεκάθαρη αιτιολογία, οι περιπτώσεις αυτές χαρακτηρίζονται και ως ιδιοπαθείς. Κάποιες από τις πιθανές αιτίες υπογονιμότητας είναι ορμονική ανεπάρκεια, σωματικοί τραυματισμοί, σεξουαλικά μεταδιδόμενα νοσήματα, επίδραση του περιβάλλοντος και του τρόπου ζωής καθώς και γενετικοί παράγοντες (Babakhanzadeh et al., 2020).

#### 1.5.1. Ορμονικές διαταραχές

Ο βασικός άξονας των ορμονών του ανδρικού αναπαραγωγικού συστήματος περιλαμβάνει τον υποθάλαμο, την υπόφυση και τους αδένες των όρχεων. Ο άξονας αυτός λειτουργεί υπό αυστηρή ρύθμιση με σκοπό να παράγει στις σωστές συγκεντρώσεις τις ορμόνες που είναι υπεύθυνες για την αναπαραγωγική ανάπτυξη και λειτουργία. Οποιαδήποτε απορρύθμιση του συστήματος αυτού μπορεί να οδηγήσει στην υπογονιμότητα. Για παράδειγμα, αδυναμία του εγκεφάλου να παράξει την εκλυτική ορμόνη των γοναδοτροπινών GnRH οδηγεί στην έλλειψη τεστοστερόνης και τελικά στην αναστολή παραγωγής σπέρματος. Αυξημένες συγκεντρώσεις των

ορμονών LH και FSH επίσης σχετίζονται με ελάττωση των επιπέδων της τεστοστερόνης, επιφέροντας βλάβες στην διαδικασία της σπερματογένεσης (Babakhanzadeh et al., 2020).

#### 1.5.2. Σωματικοί τραυματισμοί

Σωματικές βλάβες μπορούν επιπλέον να επηρεάσουν την παραγωγή του σπέρματος και να μπλοκάρουν την εκσπερματική οδό. Η ελικοειδής διάταση των φλεβών του όρχεως γνωστή και ως Κιρσοκήλη (varicocele) είναι μία από τις πιο συνηθεις παθήσεις υπογονιμότητας καθώς εμφανίζεται σε περίπου 40% των ανδρών με αντίστοιχο πρόβλημα. Ένας άλλος τραυματισμός που μπορεί να επιφέρει πρόβλημα στην γονιμότητα των ανδρών είναι η συστροφή των όρχεων, η οποία προκαλεί πίεση στα αγγεία και διαταραγμένη κυκλοφορία του αίματος στον όρχι. Τέλος, σεξουαλικά μεταδιδόμενα νοσήματα όπως η Γονόρροια και τα Χλαμύδια μπορούν να επιφέρουν διαταραχές στη γονιμότητα λόγω απόφραξης της επιδιδυμίδας (Babakhanzadeh et al., 2020).

#### 1.5.3. Περιβαλλοντικοί παράγοντες

Άνδρες που έχουν εκτεθεί σε επικίνδυνες ουσίες στον χώρο εργασίας τους όπως είναι διαλύτες, εντομοκτόνα, κόλλες, σιλικόνες καθώς και ραδιενέργεια φέρουν μεγάλο κίνδυνο να εμφανίσουν υπογονιμότητα. Έκθεση σε ραδιενέργεια μπορεί να ελαττώσει την παραγωγή σπέρματος, ακόμα και να την μηδενίσει, εάν η έκθεση γίνεται σε μεγάλες δόσεις. Επιπλέον, επαγγέλματα που απαιτούν συνεχόμενη έκθεση σε υψηλές θερμοκρασίες μπορούν να έχουν αρνητικά αποτελέσματα στην γονιμότητα. Όσον αφορά την κατανάλωση αλκοόλ και το κάπνισμα, δεν υπάρχουν σαφή αποτελέσματα για την επίδρασή τους στις παραμέτρους του σπέρματος ή στην ανδρική γονιμότητα, ωστόσο επικρατεί η θεωρία πως οι δύο αυτές συνηθεις μπορούν να επιφέρουν σταδιακή ελάττωση της ποιότητας του σπέρματος. Ελάττωση της συγκέντρωσης του σπέρματος έχει επίσης παρατηρηθεί σε περιπτώσεις κακής διατροφής ή επανειλημμένης χρήσης ναρκωτικών ουσιών όπως τα κανναβινοειδή και η κοκαΐνη. Τέλος, το περιβάλλον δείχνει να διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην ανδρική γονιμότητα, καθώς μελέτες έχουν δείξει πως η ύπαρξη ρύπων και διοξειδίου του θείου στην ατμόσφαιρα μπορούν να επηρεάσουν το φυσιολογικό σχήμα και τελικά την κινητικότητα του σπέρματος (Babakhanzadeh et al., 2020).

#### 1.5.4. Γενετικοί παράγοντες

Γενετικοί παράγοντες έχουν εντοπιστεί σε 15% των περιπτώσεων ανδρικής υπογονιμότητας και μπορούν να ταξινομηθούν σε δύο κατηγορίες: στις χρωμοσωμικές ανωμαλίες και στις μονογονιδιακές μεταλλάξεις. Περίπου το 14% των ανδρών με αζωοσπερμία και το 2% των

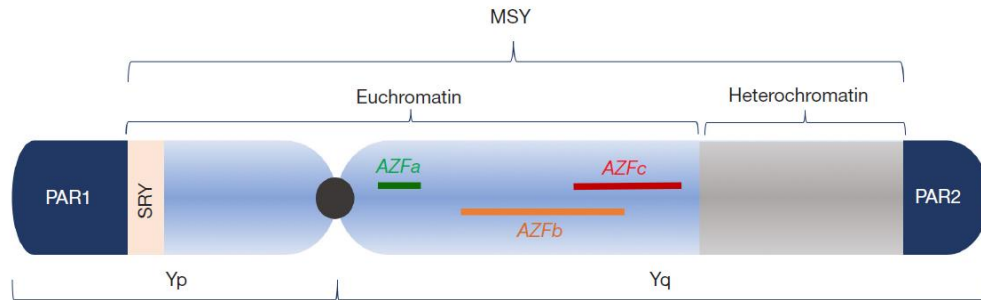
ανδρών με ολιγοσπερμία έχουν κάποια χρωμοσωμική ανωμαλία, ποσοστά που είναι πολύ μεγαλύτερα από τον γενικό πληθυσμό (~0,6%).

- Η πιο συχνή ανευπλοειδία που αποτελεί γενετική αιτία της αζωοσπερμίας είναι το σύνδρομο Klinefelter, δηλαδή η ύπαρξη δύο ή περισσότερων αντιγράφων του χρωμοσώματος X και ευθύνεται για περίπου το 14% των περιπτώσεων ανδρικής υπογονιμότητας (Babakhanzadeh et al., 2020). Αναλύσεις σπέρματος ατόμων με σύνδρομο Klinefelter συνήθως δείχνουν την αζωοσπερμία ως αιτία της υπογονιμότητας (Kuroda et al., 2020). Ακόμη, το σύνδρομο 47,XY που χαρακτηρίζεται από την ύπαρξη ενός επιπλέον αντιγράφου του Y χρωμοσώματος φαίνεται να προκαλεί διαταραχές στη σπερματογένεση λόγω αυξημένων επιπέδων της FSH ορμόνης (Babakhanzadeh et al., 2020).

Εκτός από τις αριθμητικές χρωμοσωμικές αποκλίσεις, συχνά φαινόμενα χρωμοσωμικών ανωμαλιών αποτελούν και οι δομικές ανωμαλίες όπως διαγραφές, διπλασιασμοί και μετατοπίσεις, οι οποίες μάλιστα εντοπίζονται στο 5% των υπογόνιμων ανδρών. Οι μετατοπίσεις κατά Robertson εμφανίζονται στο 0,8% των ανδρών με υπογονιμότητα (Sudhakar et al., 2021) και στο 3% των ασθενών με σοβαρές μορφές ολιγοζωοσπερμίας (Babakhanzadeh et al., 2020).

- Το φυλετικό χρωμόσωμα Y διαδραματίζει ιδιαίτερο ρόλο στην ανδρική γονιμότητα, καθώς μικροελλείψεις του Y χρωμοσώματος είναι εμφανείς σε 10% των υπογόνιμων ανδρών και επικρατούν σε 7% των ανδρών με ολιγοζωοσπερμία (Babakhanzadeh et al., 2020). Το χρωμόσωμα Y είναι το μικρότερο ανθρώπινο χρωμόσωμα με 60 εκατομμύρια νουκλεοτίδια και μέγεθος 57 mb. Τα χρωμοσώματα X και Y μοιράζονται μικρές ομόλογες περιοχές οι οποίες χαρακτηρίζονται ψευδο-αυτοσωμικές (pseudoautosomal regions ή PAR 1 και 2) (Pelzman & Hwang et al., 2021) και μπορούν να υφίστανται ομόλογο ανασυνδυασμό κατά τη μείωση (Sudhakar et al., 2021). Η περιοχή MSY (male-specific region of the Y chromosome) περιλαμβάνει περίπου 80 γονίδια που διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη του ανδρικού αναπαραγωγικού συστήματος και τη σπερματογένεση. Η περιοχή αυτή δεν είναι ικανή για ομόλογο ανασυνδυασμό, ωστόσο περιέχει οκτώ επαναλαμβανόμενα παλίνδρομα τμήματα τα οποία είναι επιρρεπή σε χρωμοσωμικές αναδιατάξεις κατά τη μείωση. Η διαδικασία αυτή ονομάζεται μη-αλληλόμορφος ομόλογος ανασυνδυασμός και είναι μεγάλης σημασίας καθώς μπορεί να προκαλέσει ελλείψεις, διπλασιασμούς ή αναστροφές εντός του Y χρωμοσώματος (Pelzman & Hwang, 2021).





Εικόνα 3: (Pelzman & Hwang, 2021) Σχηματική απεικόνιση του χρωμοσώματος Υ.

Οι πιο συχνές περιπτώσεις που αφορούν το 80% μικροελλείψεων εντοπίζονται στην περιοχή AZF (azoospermia factor region), η οποία περιέχει γονίδια που εμπλέκονται στην διαδικασία της σπερματογένεσης. Συγκεκριμένα, η περιοχή AZF διακρίνεται σε τρία τμήματα, τα AZFa, AZFb και AZFc και οι μικροελλείψεις στα τμήματα αυτά εμφανίζουν συχνότητα 4%, 5% και 80% αντίστοιχα (Sudhakar et al., 2021). Ελλείψεις στην περιοχή αυτή μπορούν να οδηγήσουν σε ένα μεγάλο φάσμα φαινοτύπων με υπογονιμότητα, όπως είναι η αζωοσπερμία, η ολιγοζωοσπερμία και το σύνδρομο των κυττάρων Sertoli (Babakhanzadeh et al., 2020).

Το σύνδρομο των κυττάρων Sertoli (Sertoli-cell-only Syndrome ή SCO) οφείλεται στην αδυναμία ανάπτυξης των γαμετικών κυττάρων πέρα από το στάδιο των σπερματογονίων (Neto et al., 2016). Στο σύνδρομο αυτό, τα σπερματικά σωληνάρια των όρχεων αποτελούνται μόνο από κύτταρα Sertoli και τα άτομα που πάσχουν εμφανίζουν πολύ χαμηλή ή και καθόλου σπερματογένεση (Ramphul et al., 2022).

- ο Το γονίδιο του ρυθμιστή της διαμεμβρανικής αγωγιμότητας της κυστικής ίνωσης CFTR (cystic fibrosis transmembrane conductance regulator) έχει επίσης αποτελέσει αντικείμενο έντονης μελέτης στους υπογόνιμους άνδρες. Το γονίδιο CFTR έχει μέγεθος 250 kb και εντοπίζεται στο χρωμόσωμα 7. Κωδικοποιεί για ένα ATP-εξαρτώμενο κανάλι χλωρίου που βρίσκεται κυρίως στην μεμβράνη των επιθηλιακών κυττάρων. Μεταλλάξεις και στα δύο αλληλόμορφα του γονιδίου που οδηγούν στην απουσία του καναλιού προκαλούν την ασθένεια της κυστικής ίνωσης (cystic fibrosis), η οποία συνεπάγεται αναπνευστική και παγκρεατική ανεπάρκεια. Ωστόσο, πιο ήπιες μεταλλάξεις του ίδιου γονιδίου φαίνεται πως μπορούν να προκαλέσουν συγγενή απουσία του σπερματικού πόρου (congenital absence of the vas deferens ή CAVD). Συγκεκριμένα, σχεδόν το 80% με CAVD εμφανίζουν μεταλλάξεις στο γονίδιο CFTR (Pelzman & Hwang, 2021).

Η CAVD μπορεί να επηρεάζει τον ένα ή και τους δύο σπερματικούς πόρους και να διαχωρίζεται σε CUAVD (congenital unilateral absence of vas deferens) και CBAVD

(congenital bilateral absence of vasa deferentia) αντίστοιχα. Η απουσία και των δύο σπερματικών πόρων εμφανίζεται σε 2-10% των ανδρών με υπογονιμότητα αλλά είναι υπεύθυνη για το 40% των περιπτώσεων με αποφρακτική αζωοσπερμία. Ο ακριβής μηχανισμός με τον οποίο οι μεταλλάξεις στο CFTR γονίδιο προκαλούν αγενεσία των σπερματικών πόρων παραμένει ακόμα άγνωστος, ωστόσο, πιθανολογείται πως οι διαταραχές στα μεμβρανικά κανάλια που προκαλούνται από τις μεταλλάξεις του γονιδίου παρεμποδίζουν την ομαλή ανάπτυξη του αγωγού του Wolff in utero (Pelzman & Hwang, 2021), (Radpour et al., 2008).

Οι τεχνολογίες αλληλούχισης νέας γενιάς έχουν αποτελέσει σημαντικό εργαλείο στην αναζήτηση υποψήφιων γονιδίων που ευθύνονται για την εμφάνιση ανδρικής υπογονιμότητας. Επιπρόσθετα, όχι μόνο γενετικοί αλλά και επιγενετικοί μηχανισμοί βρίσκονται υπό μελέτη, καθώς οι δεύτεροι μπορούν να επηρεάζουν σημαντικά την γονιδιακή έκφραση και γονιδιωματική σταθερότητα χωρίς να προκαλούν μη αναστρέψιμες αλλαγές στην χρωματίνη (Kuroda et al., 2020).

- ο Μη κωδικοποιητικά RNAs: Η ανακάλυψη των microRNAs (miRNAs) το 1993 έδωσε φως στην ύπαρξη των μη κωδικοποιητικών RNAs (non-coding RNAs ή ncRNAs) ως γονιδιακών ρυθμιστές. Από τότε, όλο και περισσότερες μελέτες προσφέρουν στοιχεία που υποδεικνύουν πως τα μη-κωδικοποιητικά RNAs, που δρουν ως ρυθμιστές της γονιδιακής έκφρασης σε μεταγραφικό, μετα-μεταγραφικό και επιγενετικό επίπεδο, διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη της αρσενικής γαμετικής σειράς (Gou et al., 2014). Στα θηλαστικά και στα περισσότερα ζώα, υπάρχουν τρεις τάξεις μικρών RNAs: τα microRNAs (miRNAs), τα μικρά ενδογενή παρεμβατικά (small interfering RNAs ή siRNAs) και τα RNAs που αλληλεπιδρούν με Piwi πρωτεΐνες (Piwi-interacting RNAs ή piRNAs), όλες εκ των οποίων εντοπίζονται στην αρσενική γαμετική σειρά (Hilz et al., 2016).

miRNAs: Μελέτες έχουν οδηγήσει σε ενδείξεις της χρησιμότητας των miRNAs στην σπερματογένεση, καθώς η αφαίρεση διάφορων παραγόντων απαραίτητων για την βιογένεση των miRNAs μπορούν να διαταράξουν την ανάπτυξη της αρσενικής γαμετικής σειράς. Για παράδειγμα, η απώλεια της ενδονουκλεάσης DICER, ένζυμο απαραίτητο για την ωρίμανση των miRNAs, στα κύτταρα Sertoli φαίνεται να επηρεάζει σημαντικά την λειτουργία τους και οδηγεί σε εκφυλισμό των όρχεων, υπογονιμότητα και απουσία σπερματοζωαρίων (Papaioannou et al., 2009). Ακόμη, επιλεκτική απενεργοποίηση ενός εκ των ενζύμων DICER ή DROSHA στα σπερματογονικά κύτταρα προκαλεί μείωση των σπερματοκυττάρων και των σπερματίδων στον όρχι, οδηγώντας σε ολιγοτεροαζωοσπερμία ή αζωοσπερμία (Wu et al., 2012). Τα παραπάνω ευρήματα αποτελούν στοιχεία για την σημαντικότητα των miRNAs στην διαδικασία της

σπερματογένεσης και τις επιπτώσεις της διατάραξης των βιογενετικών μονοπατιών τους στην ανδρική γονιμότητα.

siRNAs: Στα θηλαστικά, τα ενδογενή siRNAs μελετήθηκαν αρχικά σε οοκύτταρα και εμβρυϊκά βλαστοκύτταρα ποντικών (Gou et al., 2014). Επιπλέον μελέτες έχουν δείξει την έκφραση των siRNAs και σε σπερματογονικά κύτταρα ποντικών (Song et al., 2011), θέτοντας θεμέλια για επιπλέον έρευνα που θα αποκαλύψει τον ρόλο τους στην ανάπτυξη των αρσενικών γαμετικών κυττάρων.

piRNAs: Ο ακριβής μηχανισμός λειτουργίας των piRNAs δεν έχει αποσαφηνιστεί πλήρως, ωστόσο είναι γνωστό πως η σύζευξη των piRNAs με τις Piwi πρωτεΐνες προκαλούν την σίγηση τρανσποζονίων και παίζουν ρόλο στη μετα-μεταγραφική ρύθμιση πολλών γονιδίων (Litwack, 2018). Αρκετές μελέτες έχουν συγκεντρώσει στοιχεία που υποδεικνύουν τη χρησιμότητα των Piwi πρωτεϊνών, και κατ'επέκταση των piRNAs, στην διαδικασία ανανέωσης των βλαστικών κυττάρων και την ανάπτυξη των αρσενικών γαμετικών κυττάρων στα σπονδυλωτά (Bak et al., 2011).

lncRNAs: Τα long non-coding RNAs ή lncRNAs είναι αλληλουχίες νουκλεοτιδίων στον πυρήνα και το κυτταρόπλασμα, οι οποίες μεταγράφονται από την RNA πολυμεράση II έχουν μέγεθος μεγαλύτερο από 200 νουκλεοτίδια σε μήκος. Τα lncRNAs είναι γνωστό ότι διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στη ρύθμιση της γονιδιακής έκφρασης. Για παράδειγμα, σε προ-μεταγραφικό επίπεδο τα lncRNAs ρυθμίζουν την τροποποίηση των ιστονών και την μεθυλίωση του DNA, ενώ κατά τη διάρκεια της μεταγραφής ελέγχουν την δραστηριότητα των ενισχυτών και των μεταγραφικών παραγόντων (Zhao et al., 2021). Η ανάπτυξη των τεχνολογιών αλληλούχισης έχει οδηγήσει στην ανακάλυψη πολλών λειτουργικών lncRNAs, πολλά εκ των οποίων φαίνεται να συμμετέχουν στην περίπλοκη διαδικασία της παραγωγής των σπερματοζωαρίων. Τα lncRNAs εμπλέκονται στην ρύθμιση της σπερματογένεσης μέσω cis ή trans δράσεων σε διάφορα γονίδια στόχους. Επιπλέον, εμφανίζουν μεταβαλλόμενα επίπεδα έκφρασης και ιστοειδικότητα στα διαφορετικά στάδια της σπερματογένεσης, υποδηλώνοντας πως διαδραματίζουν ρυθμιστικό ρόλο σε συγκεκριμένα σηματοδοτικά μονοπάτια (Zhao et al., 2021). Για παράδειγμα, μελέτες σε ποντίκια έδειξαν πως 241 συγκεκριμένα lncRNAs μπορούν να ελέγχουν την επιβίωση, τον πολλαπλασιασμό και την διαφοροποίηση των σπερματογονικών βλαστοκυττάρων μέσω κωδικοποιητικών γονιδίων και miRNAs (Liang et al., n.d.).

## 1.6. Υποδοχείς συνδεδεμένοι με G πρωτεΐνες – GPCRs

Οι πρωτεϊνικοί υποδοχείς συνδεδεμένοι με G πρωτεΐνες (G-Protein Coupled Receptors ή GPCRs) εκπροσωπούν την μεγαλύτερη οικογένεια γονιδίων στο ανθρώπινο γονδίωμα (Milardi et al., 2018). Είναι γλυκοπρωτεΐνες μεγέθους 400-600 αμινοξέων και ξεχωρίζουν για την χαρακτηριστική δομή των επτά  $\alpha$ -ελίκων (TM1-TM7) που διαπερνούν την κυτταρική μεμβράνη και συνδέονται μέσω 3 εξωκυτταρικών και 3 ενδοκυτταρικών βρόχων. Το αμινοτελικό τους άκρο περιέχει θέσεις γλυκοζυλίωσης και καταλήγει εξωκυτταρικά ενώ το καρβοξυτελικό τους άκρο καταλήγει ενδοκυτταρικά και περιέχει κατάλοιπα σερίνης (Ser) και θρεονίνης (Thr) που αποτελούν θέσεις φωσφορυλίωσης από πρωτεϊνικές κινάσες.

Οι GPCRs κατευθύνουν μεγάλο αριθμό λειτουργιών μέσω μεταγωγικών μονοπατιών που βασίζονται σε ένα κοινό μοντέλο μεταγωγής σήματος. Συνοπτικά, ένας προσδέτης, που αποτελεί τον πρώτο διαβιβαστή, συνδέεται με τον υποδοχέα μέσα στην διαμεμβρανική περιοχή. Ως απόκριση, ο υποδοχέας ενεργοποιεί μια ετεροτριμερή G πρωτεΐνη η οποία με τη σειρά της ενεργοποιεί τον τελεστή ο οποίος μπορεί να είναι ένα ένζυμο (αδενυλική κυκλάση, φωσφολιπάση C και A, φωσφοδιεστεράση κλπ) ή ένα κανάλι ιόντων. Από τον τελεστή, στη συνέχεια, συντίθεται ένας δεύτερος διαβιβαστής (cAMP, cGMP, DAG, IP3, Ca<sup>2+</sup>), οποίος διαχέεται στο κυτταρόπλασμα και ενεργοποιεί άμεσα ή έμμεσα πρωτεϊνικές κινάσες (PKA, PKC, PKG, CaMK κλπ) ικανές να φωσφορυλιώσουν πρωτεϊνικούς στόχους (Ζίφα Αιμιλία, 2017).

Οι υποδοχείς της υπεροικογένειας των GPCRs ταξινομούνται σε 3 οικογένειες σύμφωνα με κάποιες χαρακτηριστικές δομικές διαφοροποιήσεις:

- Η οικογένεια A ή οικογένεια της ροδοψίνης παίρνει το όνομά της από τον υποδοχέα ροδοψίνη, έναν GPCR φωτούποδοχέα με τον οποίο έχουν κοινά χαρακτηριστικά. Οι υποδοχείς της οικογένειας αυτής ξεχωρίζουν λόγω της πολύ καλά συντηρημένης αλληλουχίας-μοτίβο DRY (ασπαρτικό-αργινίνη-τυροσίνη), στην διασταύρωση της έλικας TM3 και του ενδοκυτταρικού βρόχου IL2, καθώς και λόγω της παλμιτοϋλιωμένης κυστεΐνης στο καρβοξυτελικό άκρο που διευκολύνει την πρόσδεση στην κυτταρική μεμβράνη.
- Η οικογένεια B ή οικογένεια της σεκρετίνης μοιράζεται αρκετά κοινά δομικά στοιχεία με την οικογένεια της ροδοψίνης, ένα χαρακτηριστικό που τις διαχωρίζει όμως είναι η απουσία της θέσης παλμιτοϋλίωσης στο καρβοξυτελικό άκρο. Επιπλέον, οι υποδοχείς της οικογένειας της σεκρετίνης διαθέτουν ένα μεγάλο αμινοτελικό άκρο, το οποίο περιέχει μεγάλο αριθμό συντηρημένων κυστεϊνών οι οποίες σχηματίζουν ένα δίκτυο δισουλφιδικών δεσμών.
- Η οικογένεια C έχει μοναδικό κοινό χαρακτηριστικό με την οικογένεια A τον δισουλφιδικό δεσμό που συνδέει τον 1<sup>ο</sup> και 2<sup>ο</sup> εξωκυτταρικό βρόχο του υποδοχέα.

Ξεχωρίζει από τις άλλες δύο οικογένειες καθώς διαθέτει ένα μεγάλο αμινοτελικό άκρο που περιλαμβάνει την θήκη σύνδεσης του προσδέτη, μια δομή που μοιάζει μορφολογικά με το γράμμα C. Μια ακόμη διαφοροποίηση είναι ότι οι υποδοχείς της οικογένειας αυτής εμφανίζονται σε ομοδιμερή ή ετεροδιμερή μορφή.

### 1.7. Οσφρητικοί υποδοχείς

Οι οσφρητικοί υποδοχείς ανήκουν στην οικογένεια A ή οικογένεια της ροδοψίνης, αποτελώντας μάλιστα την μεγαλύτερη ομάδα της οικογένειας αυτής. Στον άνθρωπο, τα γονίδια που κωδικοποιούν για οσφρητικούς υποδοχείς αποτελούν περισσότερο από το 2% του γονιδιώματος, ενώ σε πρωτεϊνικό επίπεδο, οι οσφρητικοί υποδοχείς καταλαμβάνουν πάνω από το 4% του πρωτεώματος (de March et al., 2015).

Οι οσφρητικοί υποδοχείς συνήθως εκφράζονται στους οσφρητικούς νευρώνες της ρινικής κοιλότητας. Εκεί συμμετέχουν σε σηματοδοτικά μονοπάτια που οδηγούν στην διέγερση της μεμβρανικής αδενυλικής κυκλάσης III και τελικά στην αύξηση των ενδοκυτταρικών συγκεντρώσεων των ιόντων ασβεστίου ( $Ca^{2+}$ ) και νατρίου ( $Na^+$ ). Αναλυτικότερα, ο μηχανισμός λειτουργίας των οσφρητικών υποδοχέων μπορεί να περιγραφεί ως εξής: Οι G πρωτεΐνες περιλαμβάνουν τρεις υπομονάδες: μια  $\alpha'$  υπομονάδα (G $\alpha$ -olf συγκεκριμένα για τους οσφρητικούς υποδοχείς), μία  $\beta'$  υπομονάδα και μια  $\gamma'$  υπομονάδα. Η G $\alpha$  αποτελεί την λειτουργική υπομονάδα, ενώ οι υπομονάδες  $\beta'$  και  $\gamma'$  διαδραματίζουν ρυθμιστικό ρόλο της  $\alpha'$  υπομονάδας. Στην ανενεργή της διαμόρφωση, η G $\alpha$  είναι συνδεδεμένη με ένα μόριο GDP. Η σύνδεση ενός προσδέτη στον υποδοχέα θα δώσει έναρξη στο σηματοδοτικό μονοπάτι. Ο υποδοχέας ενεργοποιείται καθώς υφίσταται αλλαγές στη διαμόρφωση, όπως η κλίση και περιστροφή της TM6 έλικας σε σχέση με την TM3. Η μετατόπιση της TM6 έλικας εκθέτει κρυμμένα αμινοξέα των ενδοκυτταρικών ελίκων και του καρβοξυτελικού άκρου, επιτρέποντας περαιτέρω ενδοκυτταρικές αλληλεπιδράσεις. Η ένωση του ενεργοποιημένου υποδοχέα με την G πρωτεΐνη οδηγεί στην αντικατάσταση του GDP της G $\alpha$  υπομονάδας από GTP, επιτυγχάνοντας την ενεργή διαμόρφωση. Η υπομονάδα G $\alpha$ -olf συνδεδεμένη με το GTP αποσπάται και απομακρύνεται από τις υπομονάδες  $\beta'$  και  $\gamma'$  και στη συνέχεια ενεργοποιεί την αδενυλική κυκλάση III, η οποία με τη σειρά της μετατρέπει μόρια τριφωσφορικής αδενοσύνης (ATP) στον δεύτερο διαβιβαστή κυκλική μονοφωσφορική αδενοσύνη (cAMP) (Sharma et al., 2018). Η αύξηση του ενδοκυτταρικού cAMP προακλεί άνοιγμα των εξαρτώμενων από κυκλικά νουκλεοτίδια καναλιών, με αποτέλεσμα την αύξηση των ιόντων  $Ca^{2+}$  και  $Na^+$  και τελικά την εκπόλωση της μεμβράνης. Ως απόκριση, τα ασβεστοεξαρτώμενα κανάλια  $Cl^-$  ανοίγουν και προκαλούν περαιτέρω εκπόλωση της μεμβράνης οδηγώντας τελικά στην δημιουργία ενός δυναμικού ενέργειας (Ali et al., 2021).

### **1.8. Εκτοπική έκφραση των οσφρητικών υποδοχέων**

Είναι ωστόσο γνωστή και η εκτοπική έκφραση των υποδοχέων αυτών, με τον όρο «εκτοπική» να αναφέρεται σε ένα βιολογικό γεγονός ή διαδικασία που λαμβάνει χώρα σε μη αναμενόμενο ιστό ή θέση στο σώμα (Feldmesser et al., 2006). Συγκεκριμένα, έκφραση ορισμένων οσφρητικών υποδοχέων έχει εντοπιστεί στο μυοκάρδιο και ερυθροειδή κύτταρα, σε γάγγλια του αυτόνομου νευρικού συστήματος, σε σπλήνα, κόλον, προστάτη αλλά και στον όρχι. Η εκτοπική αυτή έκφραση έχει αποτελέσει αντικείμενο μεγάλης έρευνας. Ειδικότερα, η παρουσία οσφρητικών αλλά και γευστικών υποδοχέων στον όρχι, τον προστάτη και το σπέρμα έχει εντείνει το ενδιαφέρον για τον ρόλο τους στην χημειοταξία του σπέρματος και την αναπαραγωγική διαδικασία.

Μέχρι σήμερα, διάφορες έρευνες έχουν καταφέρει να εντοπίσουν την ύπαρξη μεταγράφων οσφρητικών υποδοχέων στον όρχι, σε προμειωτικά και μεταμειωτικά γεννητικά κύτταρα, αλλά και ώριμα σπερματοζώα. Οι Goto και συνάδελφοι χρησιμοποίησαν PCR με ολιγονουκλειοτιδικούς εκκινήτες με σκοπό να ενισχύσουν τα γονίδια οσφρητικών υποδοχέων που εκφράζονται σε δείγματα πρωτογενών γεννητικών κυττάρων PGC (Goto et al., 2001a). Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι μία συγκεκριμένη αλληλουχία εκφράζεται συχνά στην κυτταρική αυτή σειρά. Η αλληλουχία αυτή συγκρίθηκε με αλληλουχίες από βάσεις δεδομένων και διαπιστώθηκε ότι είναι ίδια με αυτή του γονιδίου του οσφρητικού υποδοχέα HT2. Ο κλώνος του HT2 γονιδίου είχε απομονωθεί ξανά (Vanderhaeghen et al., 1997) από μια cDNA βιβλιοθήκη από ιστό ανθρώπινου όρχι. Η διαπίστωση της έκφρασης του υποδοχέα αυτού από δύο ερευνητικές ομάδες με τη χρήση διαφορετικών πειραματικών μεθόδων στηρίζει την υπόθεση πως ο οσφρητικός υποδοχέας διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη της γαμετικής σειράς. Άλλοι κλώνοι που απομονώθηκαν από πρωτογενή γεννητικά κύτταρα ταυτίστηκαν με το γονίδιο του οσφρητικού υποδοχέα OR1D4, το οποίο όμως δεν απομονώθηκε από τον όρχι (Goto et al., 2001b).

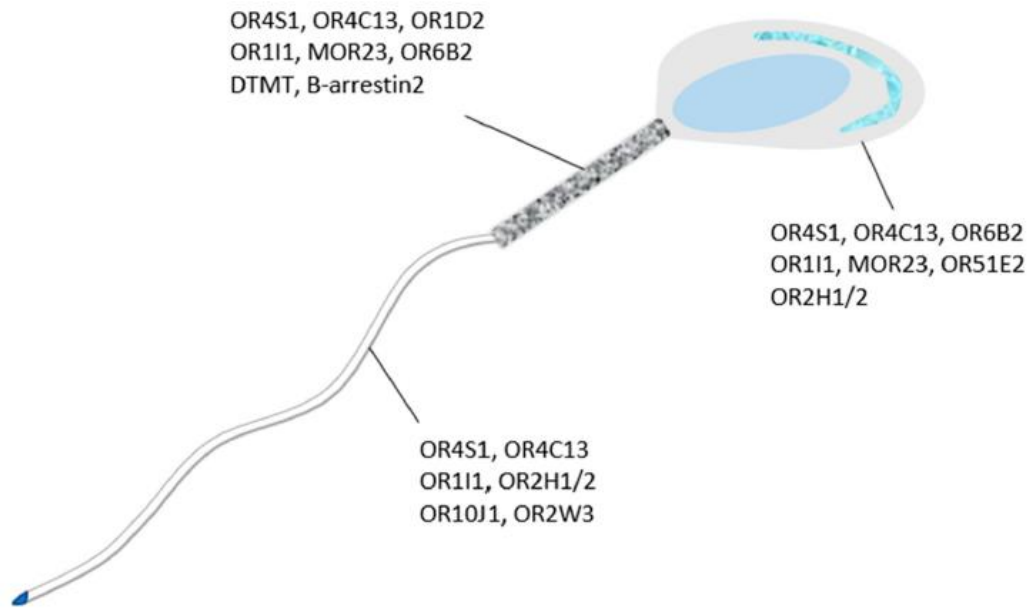
Ο Milardi και οι συνεργάτες ταυτοποίησαν μέσω πρωτεομικής ανάλυσης οκτώ ακόμη οσφρητικούς υποδοχείς σε σπερματικό πλάσμα (Milardi et al., 2018). Συγκεκριμένα, ανάλυση με τη χρήση ανοσοφθορισμού επιβεβαίωσε την έκφραση των οσφρητικών υποδοχέων OR4S1, OR4C13 και OR1I1 στην επιφάνεια των σπερματικών κυττάρων, συμπεριλαμβανόμενου του ακροσώματος, του μεσαίου τμήματος και του μαστιγίου.

Σε έρευνα των Flegel και συνεργατών, ταυτοποιήθηκαν οι οσφρητικοί υποδοχείς OR1D2, OR7A5 OR4D1 σε σπέρμα και όρχεις (Flegel et al., 2016). Επιπλέον, μελέτες ανοσοκυτταροχημείας στο ανθρώπινο σπέρμα αποκάλυψαν ότι οι οσφρητικοί υποδοχείς εμφανίζουν σταθερό μοτίβο έκφρασης σε διαφορετικά σημεία του σπέρματος, όπως είναι το ισημερινό τμήμα, το μεσαίο

τμήμα και η ουρά. Για παράδειγμα, ο υποδοχέας OR1D2 εκφράζεται στο μεσαίο τμήμα του σπερματοζωαρίου (Neuhaus et al., 2006), ενώ ο υποδοχέας OR6B2 εκφράζεται έντονα στο ισημερινό τμήμα, γεγονός που θα μπορούσε να υποδηλώνει και την εξειδικευμένη λειτουργία του υποδοχέα αυτού κατά την ακροσωμική αντίδραση και την αλληλεπίδραση μεταξύ ωαρίου-σπερματοζωαρίου.

	Μέθοδοι	Αναφορές
HT2, OR1D4	Χρήση ολιγονουκλεοτιδικών εκκινητών που στοχεύουν συντηρημένα αμινοξέα μεταξύ της 3 <sup>ης</sup> και 4 <sup>ης</sup> διαμεμβρανικής έλικας των οσφρητικών υποδοχέων για αλληλούχηση σε cDNA βιβλιοθήκη κυττάρων PGC.	(Goto et al., 2001b)
OR4S1, OR4C13, OR1I1	Ανάλυση Western Blot, χρήση αντισωμάτων anti-OR4S1, anti-OR1I1, anti-OR4C13, ανοσοφθορισμός.	(Milardi et al., 2018)
OR1D2, OR7A5, OR4D1	Αλληλούχηση δειγμάτων σπέρματος με Illumina, σύγκριση με πέντε ιστούς αναφοράς (εγκεφάλου, κόλον, ήπαρ, πνεύμονα και σκελετικό μυ).	(Flegel et al., 2016)

Πίνακας 2: Οσφρητικοί υποδοχείς που εντοπίστηκαν σε σπέρμα και όρχι με τη χρήση διαφορετικών μεθοδολογιών.



Εικόνα 1: (Ali et al., 2021) Οι οσφρητικοί υποδοχείς εμφανίζουν σταθερό μοτίβο έκφρασης στα διαφορετικά τμήματα του σπερματοζωαρίου, το ισημερινό τμήμα, το μεσαίο τμήμα και την ουρά. Οι υποδοχείς OR4S1, OR4C13, OR1I1 εκφράζονται σε όλο το κύτταρο, ενώ ο OR1D2 εκφράζεται μόνο στο μεσαίο τμήμα.

Τα παραπάνω ευρήματα για την στοχευμένη και οργανωμένη έκφραση των οσφρητικών υποδοχέων στον όρχι και το σπέρμα, εντείνουν το ενδιαφέρον για μελέτη του ρόλου των υποδοχέων αυτών στη μορφολογία και λειτουργία του σπέρματος, αλλά και κατ'επέκταση των επιπτώσεων τους στην ανδρική υπογονιμότητα.

### 1.9. Whole Genome Sequencing

Η Αλληλούχηση Ολόκληρου του Γονιδιώματος (Whole Genome Sequencing ή WGS) έχει φέρει την επανάσταση στις βιοεπιστήμες και έχει αποδειχθεί να είναι ανεκτίμητης αξίας και απαραίτητη για την ταυτοποίηση της λειτουργίας των γονιδίων και την εμπλοκή τους σε ασθένειες. Η πραγματοποίηση αναλύσεων WGS είναι εφικτή χάρη στην υποστήριξη τεχνολογιών αλληλούχησης νέας γενιάς (Next Generation Sequencing ή NGS), οι οποίες απαιτούν ουσιώδη υπολογιστικά και βιοϊατρικά μέσα για την λήψη και ανάλυση μεγάλων και περίπλοκων δεδομένων αλληλουχίας (Yin et al., 2018). Η WGS μπορεί να χρησιμοποιηθεί για εντοπισμό παραλλαγών του γονιδιώματος, φυλογενετική ανάλυση, κατασκευή γονιδιώματος αναφοράς και πολλά ακόμη. Η αλληλούχηση του γονιδιώματος για την ακρίβεια έχει καταφέρει να καλύψει το 95% του γονιδιώματος και όχι ολόκληρη την έκταση του, καθώς δεν το επιτρέπουν οι τεχνικές δυσκολίες στην αλληλούχηση περιοχών όπως τα τελομερή και τα κεντρομερή.

Η πορεία εργασίας για την Αλληλούχηση Ολόκληρου Γονιδιώματος περιγράφεται με το παρακάτω σχεδιάγραμμα.





### 1.10. Μονονουκλεοτιδικοί πολυμορφισμοί SNPs

Οι μονονουκλεοτιδικοί πολυμορφισμοί (Single Nucleotide Polymorphisms ή SNPs) είναι παραλλαγές ζευγών βάσεων σε συγκεκριμένα σημεία του γονιδιώματος. Μία γενετική παραλλαγή θεωρείται SNP εφόσον τουλάχιστον δύο αλληλόμορφα έχουν συχνότητες μεγαλύτερες του 1% σε μεγάλο δείγμα ενός πληθυσμού χωρίς συγγένεια. SNPs (Børsting & Morling et al., 2013). Υπάρχουν πολλές πιθανές συνέπειες παρουσίας ενός SNP σε συγκεκριμένη θέση του DNA (Brody e. al., 2016):

- Εάν το SNP βρίσκεται σε κωδική περιοχή, μπορεί να προκαλέσει ή να μην προκαλέσει αλλαγή σε αντίστοιχο αμινοξύ της παραγόμενης πρωτεΐνης.
- Εάν το SNP βρίσκεται σε ρυθμιστική περιοχή γονιδίου, το πιθανό αποτέλεσμα είναι διαταχή της έκφρασης του γονιδίου.
- Το SNP μπορεί να βρίσκεται σε περιοχή ανάμεσα σε γονίδια, τότε το αποτέλεσμα δεν είναι προβλέψιμο.

Λόγω της αφθονίας τους στο ανθρώπινο γονιδίωμα (συχνότητα περίπου 1 ανά 300 νουκλεοτίδια), τα SNPs θεωρούνται οι πιο χρήσιμοι βιολογικοί δείκτες και μπορούν να συνεισφέρουν στην δημιουργία φυλογενετικών χαρτών, στην πρόβλεψη αντίδρασης ενός ατόμου σε κάποιο φάρμακο αλλά και στον εντοπισμό γονιδίων που σχετίζονται με ασθένειες.

## 2. Σκοπός

Η παρούσα διπλωματική εργασία έχει ως αντικείμενο μελέτης γενετικούς πολυμορφισμούς που αφορούν οσφρητικούς υποδοχείς σε άτομα με φυσιολογικές παραμέτρους σπέρματος, αλλά και σε άτομα με φαινοτύπους όπως η ασθενοζωοσπερμία, η ολιγοζωοσπερμία και η τερατοζωοσπερμία. Σκοπός είναι η σύγκριση των πολυμορφισμών που εντοπίζονται σε κάθε ομάδα δειγμάτων, η εύρεση των μοναδικών ή και κοινών μεταξύ των ομάδων πολυμορφισμών, ώστε να μπορεί να μελετηθεί η χρησιμότητά τους στην αναπαραγωγική διαδικασία και ο ρόλος τους στην εμφάνιση υπογόνιμων φαινοτύπων.

### 3. Υλικά και Μέθοδοι

#### 3.1. Απομόνωση DNA από δείγματα αίματος

Πραγματοποιήθηκε απομόνωση DNA από αίμα νορμοσπερμικών (10 άτομα) και μη νορμοσπερμικών ανδρών (5 ασθενοσπερμικοί, 5 ολιγοσπερμικοί, 5 τερατοζωοσπερμικοί). Τα δείγματα αυτά για την διαδικασία του Whole Genome Sequencing χωρίστηκαν σε 5 pools: 2 pools νορμοσπερμικών, 1 pool ασθενοζωοσπερμικών, 1 pool ολικοζωοσπερμικών και 1 pool τερατοζωοσπερμικών.

Για την απομόνωση ολικού DNA από δείγματα αίματος χρησιμοποιήθηκε το PureLink™ Genomic DNA Mini Kit της εταιρίας Invitrogen. Το πρωτόκολλο απομόνωσης βασίζεται στην λύση των κυττάρων καθώς και στην απομάκρυνση των πρωτεϊνών με τη χρήση κατάλληλων διαλυμάτων. Ένα ειδικό διάλυμα χαστροπικών αλάτων επιτρέπει την δέσμευση του DNA στις πορώδεις μεμβράνες των στηλών που συμπεριλαμβάνονται στο kit και στη συνέχεια, το DNA εκλύεται και αποθηκεύεται σε κατάλληλη θερμοκρασία.

#### 3.2. Ανάλυση Whole Genome Sequencing

Έπειτα από την προετοιμασία των δειγμάτων, την κατασκευή της βιβλιοθήκης και την αλληλούχιση των γονιδιωμάτων, σειρά έχει η βιοπληροφορική ανάλυση των δεδομένων που προέκυψαν. Σε αυτό το σημείο της ανάλυσης, για κάθε υποκατηγορία υπογονιμότητας (ολιγοσπερμία, τερατοσπερμία, ασθενοσπερμία) έγινε σύγκριση μεταξύ των νορμοσπερμικών και μη νορμοσπερμικών ώστε να εντοπιστούν μοναδικά variants, variants δηλαδή που συναντώνται π.χ. μόνο σε τερατοσπερμικούς σε σύγκριση με τους νορμοσπερμικούς ή μόνο στους νορμοσπερμικούς σε σύγκριση με τους τερατοσπερμικούς. Επομένως, έγιναν τρεις συγκρίσεις (Asthenos vs Control, Oligo vs Control, Terato vs Control) και προέκυψαν δύο αρχεία για κάθε σύγκριση (Asthenos, Control, Oligo, Control, Terato, Control).

Για την μελέτη των πολυμορφισμών χρησιμοποιήθηκε το πρόγραμμα Moba Xterm, ένα τερματικό για Windows που επιτρέπει την χρήση εντολών Linux. Τα τερματικά, επίσης γνωστά και ως γραμμές εντολών, είναι επιφάνειες εργασιών βασισμένες σε σύντομες γραπτές εντολές, που δίνουν την δυνατότητα πολύπλοκων και εξειδικευμένων προγραμματιστικών χειρισμών. Η χρήση τερματικών αποτελεί ένα πολύτιμο εργαλείο στην μελέτη και ανάλυση βιολογικών δεδομένων, καθώς επιτρέπει την εύκολη διαχείριση και αποθήκευση μεγάλου όγκου δεδομένων όπως νουκλεοτιδικές ακολουθίες και πρωτεϊνικές δομές.

Στον παρακάτω πίνακα συνοψίζονται οι βασικές εντολές που χρησιμοποιήθηκαν στο πρόγραμμα Moba Xterm για την διαχείριση των πληροφοριών και την πραγματοποίηση της μελέτης:

Εντολή	Σημασία	Λειτουργία
<b>cd</b>	change directory	αλλαγή της διεύθυνσης εργασίας
<b>cat</b>	concatenate	εμφάνιση περιεχομένου ενός αρχείου
<b>sort</b>	sort	αλφαβητική ταξινόμηση των περιεχομένων ενός αρχείου
<b>grep</b>	global search for regular expression and print out	αναζήτηση και εμφάνιση συγκεκριμένου μοτίβου χαρακτήρων

Για κάθε ομάδα δειγμάτων η μελέτη ξεκίνησε με 4 αρχεία.

Σε έναν φάκελο «astheno» περιλαμβάνονται τα εξής αρχεία:

1. Αρχείο astheno, περιλαμβάνει όλους τους πολυμορφισμούς όλων των γονιδίων που εντοπίστηκαν στο pool των ασθενοζωοσπερμικών.
2. Αρχείο control, περιλαμβάνει όλους τους πολυμορφισμούς όλων των γονιδίων που εντοπίστηκαν στα pool των νορμοσπερμικών
3. Αρχείο uniq\_astheno, περιλαμβάνει λίστες πολυμορφισμών που είναι μοναδικοί για τα δείγματα των ασθενοζωοσπερμικών
4. Αρχείο uniq\_control, περιλαμβάνει λίστες πολυμορφισμών που είναι μοναδικοί για τα δείγματα των νορμοσπερμικών.

Αντίστοιχα, σε έναν φάκελο «oligo» περιλαμβάνονται τα εξής αρχεία:

1. Αρχείο oligo, περιλαμβάνει όλους τους πολυμορφισμούς όλων των γονιδίων που εντοπίστηκαν στο pool των ολιγοζωοσπερμικών.
2. Αρχείο control, περιλαμβάνει όλους τους πολυμορφισμούς όλων των γονιδίων που εντοπίστηκαν στα pool των νορμοσπερμικών.
3. Αρχείο uniq\_oligo, περιλαμβάνει λίστες πολυμορφισμών που είναι μοναδικοί για τα δείγματα των ολιγοζωοσπερμικών.
4. Αρχείο uniq\_control, περιλαμβάνει λίστες πολυμορφισμών που είναι μοναδικοί για τα δείγματα των νορμοσπερμικών.

Τέλος, σε έναν φάκελο «terato» περιλαμβάνονται τα εξής αρχεία:

1. Αρχείο terato, περιλαμβάνει όλους τους πολυμορφισμούς όλων των γονιδίων που εντοπίστηκαν στο pool των τερατοζωοσπερμικών.
2. Αρχείο control, περιλαμβάνει όλους τους πολυμορφισμούς όλων των γονιδίων που εντοπίστηκαν στα pool των νορμοσπερμικών.

3. Αρχείο `uniq_terato`, περιλαμβάνει λίστες γονιδίων που είναι μοναδικοί για τα δείγματα των τερατοζωοσπερμικών.
4. Αρχείο `uniq_control`, περιλαμβάνει λίστες γονιδίων που είναι μοναδικοί για τα δείγματα των νορμοσπερμικών.

Από τα αρχεία `uniq_` στη συνέχεια απομονώθηκαν οι πολυμορφισμοί που αφορούν γονίδια οσφρητικών υποδοχέων. Για πολλά χρόνια υπάρχει μια κοινώς αποδεχόμενη ονοματολογία για τους ανθρώπινους οσφρητικούς υποδοχείς. Η ονοματολογία αυτή βασίζεται σε ταξινόμηση σύμφωνα με ομοιότητες στην νουκλεοτιδική ακολουθία σε 18 οικογένειες και περισσότερες από 300 υποοικογένειες, όπου οι συμβολισμοί των γονιδίων συμπεριλαμβάνουν το ακρονύμιο OR (olfactory receptor) ακολουθούμενο από την αρίθμηση της οικογένειας, τα γράμματα της υποοικογένειας και τέλος έναν αριθμό που διακρίνει το συγκεκριμένο γονίδιο ανάμεσα στην υποοικογένεια. Για παράδειγμα, η ονομασία OR3A1 αντιστοιχεί στο μέλος 1 της οικογένειας 3, υποοικογένεια A. Στην περίπτωση των ψευδογονιδίων, την αντίστοιχη ονοματολογία ακολουθείται από το γράμμα P (pseudogene) (Olender et al., n.d.).

Στο πρόγραμμα Moba Xterm, με την εντολή `grep` δίνεται η δυνατότητα να αναζητηθεί ένα ορισμένο μοτίβο χαρακτήρων ή λέξεις μέσα από ένα αρχείο, συνοδεύοντας την εντολή με το μοτίβο προς αναζήτηση έπειτα από το σύμβολο «`^`». Επομένως, για την αναζήτηση των οσφρητικών υποδοχέων στα αρχεία `uniq_`, με την εντολή `grep` χρησιμοποιήθηκε η συνοδευτική εντολή «`^OR`».

Στο πρόγραμμα Moba Xterm εκτέλεστηκαν τις παρακάτω εντολές:

```
cd astheno
sort uniq_astheno.txt
grep ^OR uniq_astheno.txt > uniq_astheno_or.txt
```

Με την παραπάνω ακολουθία εντολών, επιλέχθηκε ο φάκελος `astheno`, τα περιεχόμενα του αρχείου `uniq_astheno.txt` ταξινομήθηκαν με αλφαβητική σειρά και τελικά επιλέχθηκαν οι γραμμές που ξεκινούν με OR. Οι γραμμές αυτές μεταφέρθηκαν σε νέο αρχείο το οποίο ονομάστηκε `uniq_astheno_or.txt`. Στο αρχείο `uniq_astheno_or.txt` τελικά περιλαμβάνονται όλοι οι πολυμορφισμοί που είναι μοναδικοί για τα ασθενοσπερμικά δείγματα και αφορούν γονίδια οσφρητικών υποδοχέων.

Αντίστοιχα επεξεργάστηκαν τα υπόλοιπα αρχεία `uniq_`:

Για το αρχείο `uniq_control.txt`:

```
cd astheno
sort uniq_control.txt
grep ^OR uniq_control.txt > uniq_control_or.txt
```

Στο αρχείο `uniq_control_or.txt` περιλαμβάνονται όλοι οι πολυμορφισμοί που είναι μοναδικοί για τα νορμοσπερμικά δείγματα και αφορούν γονίδια οσφρητικών υποδοχέων.

Για το αρχείο `uniq_oligo.txt`:

```
cd oligo
sort uniq_oligo.txt
grep ^OR uniq_oligo.txt > uniq_oligo_or.txt
```

Στο αρχείο `uniq_oligo_or.txt` περιλαμβάνονται όλοι οι πολυμορφισμοί που είναι μοναδικοί για τα ολιγοσπερμικά δείγματα και αφορούν γονίδια οσφρητικών υποδοχέων.

Για το αρχείο `uniq_control.txt`:

```
cd oligo
sort uniq_control.txt
grep ^OR uniq_control.txt > uniq_control_or.txt
```

Στο αρχείο `uniq_control_or.txt` περιλαμβάνονται όλοι οι πολυμορφισμοί που είναι μοναδικοί για τα νορμοσπερμικά δείγματα και αφορούν γονίδια οσφρητικών υποδοχέων.

Για το αρχείο `uniq_terato.txt`:

```
cd terato
sort uniq_terato.txt
grep ^OR uniq_terato.txt > uniq_terato_or.txt
```

Στο αρχείο `uniq_terato_or.txt` περιλαμβάνονται όλοι οι πολυμορφισμοί που είναι μοναδικοί για τα τερατοζωοσπερμικά δείγματα και αφορούν γονίδια οσφρητικών υποδοχέων.

Για το αρχείο `uniq_control.txt`:

```
cd terato
sort uniq_control.txt
grep ^OR uniq_control.txt > uniq_control_or.txt
```

Στο αρχείο `uniq_control_or.txt` περιλαμβάνονται όλοι οι πολυμορφισμοί που είναι μοναδικοί για τα νορμοσπερμικά δείγματα και αφορούν γονίδια οσφρητικών υποδοχέων.

Τα τελικά αυτά αρχεία περιλαμβάνουν μόνο τις ονομασίες των γονιδίων οσφρητικών υποδοχέων που είναι μοναδικοί για κάθε ομάδα δειγμάτων αντίστοιχα, όπως αναφέρονται παραπάνω. Στον φάκελο `astheno`, τα αρχεία `astheno` και `control` περιλαμβάνουν περισσότερες λεπτομέρειες και πληροφορίες για όλους τους πολυμορφισμούς των αντίστοιχων ομάδων. Το ίδιο ισχύει για τον φάκελο `oligo` και τα αρχεία `oligo` και `control`, καθώς και για τον φάκελο `terato` και τα αρχεία `terato` και `control`. Για να απομονωθούν οι πληροφορίες που αφορούν τα γονίδια των οσφρητικών υποδοχέων που απαιτούνται στην συνέχεια της μελέτης, κάθε αρχείο θα συγκριθεί με το αντίστοιχο αρχείο `uniq_`. Στο σημείο αυτό χρησιμοποιήθηκε η εντολή `grep`, η

οποία πραγματοποιεί αναζήτηση συγκεκριμένων μοτίβων χαρακτήρων σε ένα αρχείο, εμφανίζει τα αποτελέσματα της αναζήτησης αυτής και τα αποθηκεύει σε νέο αρχείο. Για να οριστούν τα μοτίβα της αναζήτησης, χρησιμοποιήθηκαν οι συνοδευτικές εντολές -w και -f. Η συνοδευτική εντολή -w ορίζει πως το μοτίβο που αναζητείται είναι ολόκληρη λέξη, ενώ η συνοδευτική εντολή -f ορίζει πως τα μοτίβα που τίθενται προς αναζήτηση θα ληφθούν από το αρχείο που συνοδεύει την εντολή.

Αναλυτικότερα, για το αρχείο `uniq_astheno_or.txt`:

```
cd astheno
grep -w -f uniq_astheno_or.txt astheno > astheno_common.txt
```

Το νέο αρχείο `astheno_common.txt` περιλαμβάνει όλες τις πληροφορίες για τους πολυμορφισμούς των οσφρητικών υποδοχέων που είναι μοναδικοί για την ομάδα των ασθενοζωοσπερμικών δειγμάτων.

Αντίστοιχα έγινε για τις υπόλοιπες ομάδες:

Για το αρχείο `uniq_control_or.txt`:

```
cd astheno
grep -w -f uniq_control_or.txt control > control_common.txt
```

Το νέο αρχείο `control_common.txt` περιλαμβάνει όλες τις πληροφορίες για τους πολυμορφισμούς των οσφρητικών υποδοχέων που είναι μοναδικοί για την ομάδα των νορμοσπερμικών δειγμάτων.

Για το αρχείο `uniq_oligo_or.txt`:

```
cd oligo
grep -w -f uniq_oligo_or.txt oligo > oligo_common.txt
```

Το νέο αρχείο `oligo_common.txt` περιλαμβάνει όλες τις πληροφορίες για τους πολυμορφισμούς των οσφρητικών υποδοχέων που είναι μοναδικοί για την ομάδα των ολιγοζωοσπερμικών δειγμάτων.

Για το αρχείο `uniq_control.txt`

```
cd oligo
grep -w -f uniq_control_or.txt control > control_common.txt
```

Το νέο αρχείο `control_common.txt` περιλαμβάνει όλες τις πληροφορίες για τους πολυμορφισμούς των οσφρητικών υποδοχέων που είναι μοναδικοί για την ομάδα των νορμοσπερμικών δειγμάτων.

Για το αρχείο `uniq_terato_or.txt`:

```
cd terato
```

```
grep -w -f uniq_terato_or.txt terato > terato_common.txt
```

Το νέο αρχείο `terato_common.txt` περιλαμβάνει όλες τις πληροφορίες για τους πολυμορφισμούς των οσφρητικών υποδοχέων που είναι μοναδικοί για την ομάδα των τερατοζωοσπερμικών δειγμάτων.

Για το αρχείο `uniq_control_or.txt`:

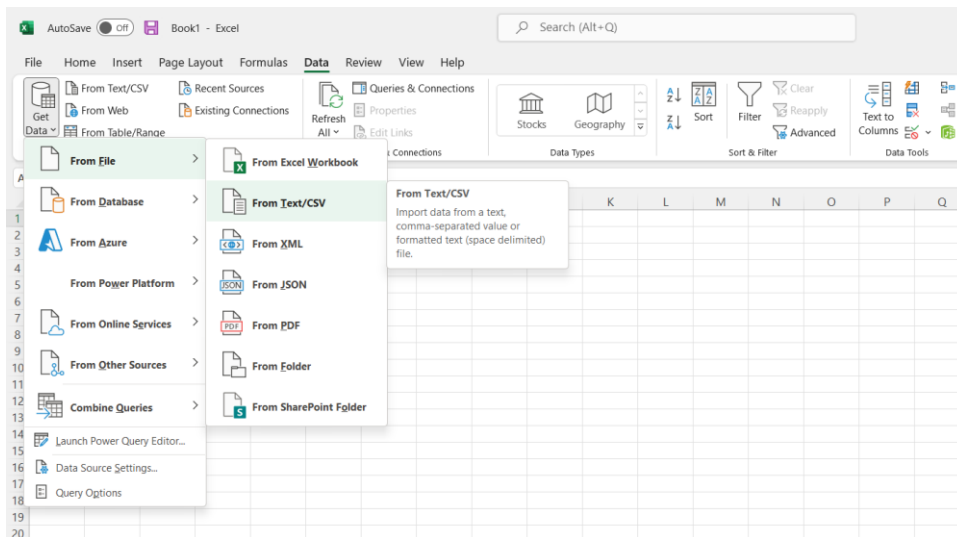
```
cd terato
```

```
grep -w -f uniq_control_or.txt control > control_common.txt
```

Το νέο αρχείο `control_common.txt` περιλαμβάνει όλες τις πληροφορίες για τους πολυμορφισμούς των οσφρητικών υποδοχέων που είναι μοναδικοί για την ομάδα των νορμοσπερμικών δειγμάτων.

Στη συνέχεια, όλες οι πληροφορίες των πολυμορφισμών που περιλαμβάνονται στα αρχεία `_common` μεταφέρθηκαν σε αρχεία Excel. Αυτό αποτελεί ένα πολύ σημαντικό βήμα στην πορεία της μελέτης, καθώς πλέον όλες οι πληροφορίες είναι ταξινομημένες, εύκολα ορατές και διαχειρίσιμες.

Σε νέο φύλλο στο Excel, πραγματοποιήθηκε η εξής ακολουθία εντολών: επιλογή “Data” → “Get data” → “From File” → “From Text/CSV” και έπειτα επιλέχθηκε το αρχείο `astheno_common.txt`.



Με αυτόν τον τρόπο πλέον έχουν μεταφερθεί όλες οι πληροφορίες στο φύλλο Excel, το οποίο αποθηκεύεται με την ονομασία `excel_astheno_common`.

Αντίστοιχα επεξεργάστηκαν και τα υπόλοιπα αρχεία `_common`, δημιουργώντας τελικά τα εξής αρχεία:



Στον φάκελο *astheno* περιλαμβάνονται τα αρχεία *excel\_astheno\_common* και *excel\_control\_common*.

Στον φάκελο *oligo* περιλαμβάνονται τα αρχεία *excel\_oligo\_common* και *excel\_control\_common*.

Στον φάκελο *terato* περιλαμβάνονται τα αρχεία *excel\_terato\_common* και *excel\_control\_common*.

Στα αρχεία Excel για κάθε πολυμορφισμό περιλαμβάνονται βασικές πληροφορίες όπως οι εξής:

- Τοποθεσία της μετάλλαξης
- Την μετάλλαξη που χαρακτηρίζει τον εκάστοτε πολυμορφισμό
- Ονομασία του γονιδίου στην Ensembl
- Ονομασία της μετάλλαξης στην Ensembl
- Την επίπτωση της μετάλλαξης στο μετάγραφο του γονιδίου

Από τις πιο χρήσιμες πληροφορίες που μπορούν να αντληθούν από τα αρχεία Excel είναι ο αριθμός rsID. Ο αριθμός rsID (reference SNP) είναι μια ταυτότητα που χαρακτηρίζει ένα συγκεκριμένο μονοκνουκλεοτιδικό πολυμορφισμό (SNP) σύμφωνα με την Βάση Δεδομένων των Μονοκνουκλεοτιδικών Πολυμορφισμών (Single Nucleotide Polymorphism database ή dbSNP). Κάθε πολυμορφισμός SNP που καταχωρείται στη συγκεκριμένη βάση δεδομένων λαμβάνει έναν κωδικό που ξεκινά με τα αρχικά rs και ακολουθείται από έναν μοναδικό αριθμό. Ο αριθμός αυτός υποδικνύει την ακριβή θέση του πολυμορφισμού στο γονιδίωμα και αποτελεί χρήσιμο εργαλείο σε όλη την επιστημονική βιβλιογραφία (Cariaso & Lennon, 2012).

Στη συνέχεια, φάνηκε χρήσιμο να ερευνηθεί η ύπαρξη κοινών SNPs σε γονίδια οσφρητικών υποδοχέων μεταξύ των διαφορετικών φαινοτύπων υπογονιμότητας που μελετώνται. Με τη βοήθεια των αρχείων Excel έγιναν τρεις συγκρίσεις: σύγκριση μεταξύ ασθενοζωοσπερμικών και ολιγοζωοσπερμικών, μεταξύ ολιγοζωοσπερμικών και τερατοζωοσπερμικών και τελικά μεταξύ ασθενοζωοσπερμικών και τερατοζωοσπερμικών.

- Η σύγκριση μεταξύ ασθενοζωοσπερμικών και ολιγοζωοσπερμικών επέφερε 26 κοινά SNPs.
- Η σύγκριση μεταξύ ολιγοζωοσπερμικών και τερατοζωοσπερμικών επέφερε 13 κοινά SNPs.
- Η σύγκριση μεταξύ ασθενοζωοσπερμικών και τερατοζωοσπερμικών επέφερε 3 κοινά SNPs.
- Η σύγκριση μεταξύ των τριών ομάδων μαζί, ασθενοζωοσπερμικών, ολιγοζωοσπερμικών και τερατοζωοσπερμικών, επέφερε 3 κοινά SNPs.

## 4. Αποτελέσματα

### 4.1. Λίστες πολυμορφισμών

Η επεξεργασία των παραπάνω αρχείων επέφερε λίστες πολυμορφισμών που αφορούν γονίδια οσφρητικής υποδοχέων, οι οποίοι εντοπίζονται σε κάθε ομάδα ατόμων με ανδρική υπογονιμότητα και όχι στις ομάδες των νορμοσπερμικών ατόμων. Οι λίστες αυτές είναι ιδιαίτερης σημασίας καθώς οι πολυμορφισμοί που περιλαμβάνουν μπορούν να προσανατολίσουν τις έρευνες για την διερεύνηση των αντίστοιχων φαινοτύπων ανδρικής υπογονιμότητας.

#### 4.1.1. Ασθενοζωοσπερμία

Αρχείο excel\_astheno\_common:

A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M
1	1:158449749-158449749	G	ENSG00000198965	ENST00000368152.1	Transcript	missense_variant	82	82	28	M/V	Atg/Gtg	rs61739693
2	1:158746678-158746678	C	ENSG00000188340	ENST00000339258.1	Transcript	missense_variant	748	748	250	I/V	Atc/Gtc	rs41273541
3	1:159375955-159375955	G	ENSG00000249197	ENST00000511932.1	Transcript	non_coding_transcript_exon_variant	245	-	-	-	-	rs17422585
4	1:247752109-247752109	G	ENSG00000177489	ENST00000320065.1	Transcript	missense_variant	448	448	150	M/V	Atg/Gtg	rs61732336
5	1:247783489-247783489	A	ENSG00000198452	ENST00000366486.2	Transcript	non_coding_transcript_exon_variant	507	-	-	-	-	rs41268351
6	1:247783489-247783489	A	ENSG00000198452	ENST00000419087.1	Transcript	non_coding_transcript_exon_variant	545	-	-	-	-	rs41268351
7	2:159718894-159718894	T	ENSG00000251491	ENST00000505191.2	Transcript	non_coding_transcript_exon_variant	72	-	-	-	-	rs144087548
8	2:159719031-159719031	G	ENSG00000251491	ENST00000505191.2	Transcript	non_coding_transcript_exon_variant	209	-	-	-	-	rs34995873
9	3:75419791-75419791	T	ENSG00000230655	ENST00000504027.1	Transcript	non_coding_transcript_exon_variant	703	-	-	-	-	rs1027075753
10	3:98001858-98001858	G	ENSG00000197938	ENST00000355273.2	Transcript	missense_variant	127	127	43	T/A	Act/Gct	rs138288586
11	5:101152240-101152240	G	ENSG00000251261	ENST00000342275.5	Transcript	non_coding_transcript_exon_variant	245	-	-	-	-	rs187193183
12	5:101152240-101152240	G	ENSG00000251261	ENST00000513483.2	Transcript	non_coding_transcript_exon_variant	245	-	-	-	-	rs187193183
13	5:180166141-180166141	T	ENSG00000174339	ENST00000307832.2	Transcript	synonymous_variant	959	918	306	R	agG/agA	rs9329115
14	9:125316179-125316179	G	ENSG00000171501	ENST00000373688.2	Transcript	missense_variant	789	731	244	V/G	gTc/gGc	rs1341044
15	9:125562527-125562527	C	ENSG00000165204	ENST00000277309.2	Transcript	synonymous_variant	158	126	42	G	ggT/gGc	rs10985782
16	11:5036845-5036845	C	ENSG00000224300	ENST00000447547.1	Transcript	non_coding_transcript_exon_variant	478	-	-	-	-	rs16908492
17	11:5080337-5080337	C	ENSG00000176787	ENST00000321522.2	Transcript	missense_variant	521	521	174	H/R	cAt/cGt	rs61746343
18	11:5364295-5364295	T	ENSG00000242180	ENST00000300773.2	Transcript	missense_variant	515	460	154	V/I	Gtt/Att	rs12273630
19	11:5548824-5548824	A	ENSG00000249633	ENST00000515557.1	Transcript	non_coding_transcript_exon_variant	581	-	-	-	-	rs12364340
20	11:5548973-5548973	C	ENSG00000249633	ENST00000515557.1	Transcript	non_coding_transcript_exon_variant	432	-	-	-	-	rs61892124
21	11:6079028-6079028	T	ENSG00000262980	ENST00000572217.1	Transcript	non_coding_transcript_exon_variant	478	-	-	-	-	rs61735897
22	11:6088824-6088824	A	ENSG00000234895	ENST00000446117.1	Transcript	non_coding_transcript_exon_variant	193	-	-	-	-	rs7931072
23	11:6129152-6129152	C	ENSG00000180919	ENST00000316529.3	Transcript	synonymous_variant	239	144	48	N	aaT/aaC	rs4758387
24	11:6173364-6173364	A	ENSG00000180909	ENST00000316506.1	Transcript	missense_variant	455	455	152	N/I	aaT/aaT	rs325695
25	11:6898758-6898758	C	ENSG00000170782	ENST00000379829.2	Transcript	synonymous_variant	903	880	294	R	Agg/Cgg	rs7102808
26	11:6913290-6913290	G	ENSG00000166368	ENST00000299459.2	Transcript	missense_variant	541	442	148	S/P	Tca/Cca	rs1965209
27	11:8285448-8285448	T	ENSG00000176567	ENST00000320048.1	Transcript	synonymous_variant	36	36	12	F	ttC/ttT	rs372952391
28	11:8442749-8442749	G	ENSG00000182655	ENST00000530855.1	Transcript	non_coding_transcript_exon_variant	988	-	-	-	-	-
29	11:8547833-8547833	G	ENSG00000255534	ENST00000532938.1	Transcript	non_coding_transcript_exon_variant	218	-	-	-	-	rs61916491
30	11:51435628-51435628	T	ENSG00000225997	ENST00000418689.1	Transcript	missense_variant	776	776	259	P/H	cCc/cAc	rs573973826
31	11:51435866-51435866	G	ENSG00000225997	ENST00000418689.1	Transcript	missense_variant	538	538	180	Y/H	Tac/Cac	rs61891402
32	11:51436215-51436215	A	ENSG00000225997	ENST00000418689.1	Transcript	synonymous_variant	189	189	63	C	tgC/tgT	rs1846261
33	11:51451377-51451377	T	ENSG00000227547	ENST00000527276.1	Transcript	non_coding_transcript_exon_variant	606	-	-	-	-	rs61891425
34	11:51451818-51451818	A	ENSG00000227547	ENST00000527276.1	Transcript	non_coding_transcript_exon_variant	165	-	-	-	-	rs61891426
35	11:51459057-51459057	A	ENSG00000254769	ENST00000532898.1	Transcript	non_coding_transcript_exon_variant	558	-	-	-	-	rs5009058
36	11:51459057-51459057	A	ENSG00000254769	ENST00000599355.1	Transcript	non_coding_transcript_exon_variant	557	-	-	-	-	rs5009058
37	11:51461842-51461842	C	ENSG00000255660	ENST00000530815.1	Transcript	non_coding_transcript_exon_variant	279	-	-	-	-	rs2201852
38	11:55110648-55110648	A	ENSG00000181961	ENST00000314721.2	Transcript	S_prime_UTR_variant	22	-	-	-	-	rs7959987
39	11:55110903-55110903	A	ENSG00000181961	ENST00000314721.2	Transcript	stop_gained	277	227	76	S/*	tCa/tAa	rs116924453
40	11:55110941-55110941	A	ENSG00000181961	ENST00000314721.2	Transcript	missense_variant	315	265	89	A/T	Gct/Act	rs147336887
41	11:55111013-55111013	C	ENSG00000181961	ENST00000314721.2	Transcript	synonymous_variant	387	337	113	L	Tgt/Ctg	rs74777917
42	11:55111222-55111222	A	ENSG00000181961	ENST00000314721.2	Transcript	synonymous_variant	596	546	182	L	ttG/tTA	rs7121804
43	11:55136219-55136219	T	ENSG00000181958	ENST00000314706.3	Transcript	missense_variant	860	860	287	A/V	gCa/gTa	rs7927370
44	11:55199540-55199540	A	ENSG00000254886	ENST00000526498.1	Transcript	non_coding_transcript_exon_variant	108	-	-	-	-	rs117813952
45	11:55234406-55234406	G	ENSG00000181950	ENST00000529316.1	Transcript	non_coding_transcript_exon_variant	160	-	-	-	-	rs61916458
46	11:55258709-55258709	A	ENSG00000181943	ENST00000532759.1	Transcript	non_coding_transcript_exon_variant	82	-	-	-	-	rs61919683
47	11:55258881-55258881	G	ENSG00000181943	ENST00000532759.1	Transcript	non_coding_transcript_exon_variant	254	-	-	-	-	rs17494249
48	11:55277617-55277617	G	ENSG00000254576	ENST00000530880.1	Transcript	non_coding_transcript_exon_variant	401	-	-	-	-	rs17579825
49	11:55277617-55277617	C	ENSG00000254576	ENST00000530880.1	Transcript	non_coding_transcript_exon_variant	545	-	-	-	-	rs17494990
50	11:55305250-55305250	G	ENSG00000233301	ENST00000440929.1	Transcript	non_coding_transcript_exon_variant	773	-	-	-	-	rs34099327
51	11:55406524-55406524	T	ENSG00000181927	ENST00000314612.2	Transcript	missense_variant	691	691	231	R/C	Cgt/Tgc	rs61896975
52	11:55418963-55418963	G	ENSG00000174982	ENST00000312422.2	Transcript	missense_variant	584	584	195	V/G	gTt/gGt	rs7949664
53	11:55541620-55541620	T	ENSG00000198877	ENST00000361760.1	Transcript	missense_variant	707	707	236	R/L	cGc/cTc	rs7124871_COSV62332863
54	11:55563336-55563336	T	ENSG00000186113	ENST00000335605.1	Transcript	missense_variant	305	305	102	Q/L	cAg/cTg	rs76383258
55	11:55563761-55563761	A	ENSG00000186113	ENST00000335605.1	Transcript	missense_variant	730	730	244	A/T	Gcc/Acc	rs61896309
56	11:55563846-55563846	A	ENSG00000186113	ENST00000335605.1	Transcript	missense_variant	815	815	272	T/K	aCa/aAa	rs61896310
57	11:56823085-56823085	T	ENSG00000273255	ENST00000608772.1	Transcript	non_coding_transcript_exon_variant	24	-	-	-	-	-
58	11:71305139-71305139	A	ENSG00000184055	ENST00000532397.1	Transcript	non_coding_transcript_exon_variant	640	-	-	-	-	rs111635283
59	11:71331879-71331879	A	ENSG00000255261	ENST00000530317.1	Transcript	non_coding_transcript_exon_variant	814	-	-	-	-	rs59191949
60	11:72960483-72960499	GAGAGAGAGAGAGA	ENSG00000256347	ENST00000543943.1	Transcript	non_coding_transcript_exon_variant	336-351	-	-	-	-	rs57304893

61	11:124247361-124247361	T	ENSG00000229254	ENST00000427511.1	Transcript	non_coding_transcript_exon_variant	337	-	-	-	-	rs538032
62	11:124310300-124310300	C	ENSG00000197125	ENST00000328064.2	Transcript	missense_variant	755	682	228	I/V	Att/Gtt	rs776621907
63	12:48596875-48596876	AA	ENSG00000172640	ENST00000310248.2	Transcript	frameshift_variant	295	200	67	L/LX	cTg/cTTg	rs144247841
64	12:55552888-55552888	T	ENSG00000224622	ENST00000412200.1	Transcript	non_coding_transcript_exon_variant	258	-	-	-	-	rs545369065
65	12:55846623-55846623	C	ENSG00000179695	ENST00000322678.1	Transcript	missense_variant	626	626	209	L/P	cTa/cCa	rs11171467
66	13:42014615-42014615	G	ENSG00000234655	ENST00000412208.1	Transcript	non_coding_transcript_exon_variant	421	-	-	-	-	rs565447093
67	13:42014615-42014615	G	ENSG00000234655	ENST00000422155.2	Transcript	non_coding_transcript_exon_variant	297	-	-	-	-	rs565447093
68	13:64316803-64316803	A	ENSG00000215430	ENST00000400303.2	Transcript	non_coding_transcript_exon_variant	306	-	-	-	-	rs372401357
69	14:20228424-20228424	A	ENSG00000176312	ENST00000316004.2	Transcript	non_coding_transcript_exon_variant	356	-	-	-	-	rs4283140
70	14:20228424-20228424	A	ENSG00000176312	ENST00000556269.1	Transcript	non_coding_transcript_exon_variant	398	-	-	-	-	rs4283140
71	14:20502044-20502044	T	ENSG00000176253	ENST00000315693.2	Transcript	missense_variant	876	874	292	Q/K	Caa/Aaa	rs17277025
72	14:20692595-20692595	C	ENSG00000176219	ENST00000315519.2	Transcript	missense_variant	805	727	243	V/L	Gtg/Ctg	rs61993884
73	14:20697589-20697589	T	ENSG00000258806	ENST00000553765.1	Transcript	missense_variant	29	29	10	T/M	aCg/aTg	rs61993889
74	15:22297514-22297514	T	ENSG00000258721	ENST00000554547.2	Transcript	non_coding_transcript_exon_variant	967	-	-	-	-	rs3910009
75	15:102359203-102359203	A	ENSG00000182854	ENST00000332238.4	Transcript	missense_variant	838	814	272	A/T	Gct/Act	rs79724132
76	15:102387095-102387095	T	ENSG00000214344	ENST00000560066.1	Transcript	intron_variant,non_coding_transcript_variant	-	-	-	-	-	rs146481603
77	15:102467527-102467527	C	ENSG00000183909	ENST00000328113.3	Transcript	non_coding_transcript_exon_variant	384	-	-	-	-	rs1638312
78	16:3406756-3406758	T	ENSG00000168158	ENST00000304936.2	Transcript	frameshift_variant	869-870	817-818	273	F/X	Ttc/Tc	rs142397376
79	17:38082831-38082831	C	ENSG00000172057	ENST00000304046.2	Transcript	intron_variant	-	-	-	-	-	rs17608925
80	17:38082831-38082831	C	ENSG00000172057	ENST00000394169.1	Transcript	5_prime_UTR_variant	264	-	-	-	-	rs17608925
81	17:38082831-38082831	C	ENSG00000172057	ENST00000579695.1	Transcript	intron_variant	-	-	-	-	-	rs17608925
82	17:38082831-38082831	C	ENSG00000172057	ENST00000582052.1	Transcript	intron_variant,non_coding_transcript_variant	-	-	-	-	-	rs17608925
83	17:38082831-38082831	C	ENSG00000172057	ENST00000584000.1	Transcript	intron_variant	-	-	-	-	-	rs17608925
84	18:14613454-14613454	G	ENSG00000266693	ENST00000578842.1	Transcript	non_coding_transcript_exon_variant	319	-	-	-	-	rs3910686
85	18:14613815-14613815	G	ENSG00000266693	ENST00000578842.1	Transcript	non_coding_transcript_exon_variant	680	-	-	-	-	rs12960773
86	19:9297381-9297381	C	ENSG00000188000	ENST00000344248.2	Transcript	synonymous_variant	1103	924	308	A	gcA/gcC	rs61733545
87	19:15839081-15839081	T	ENSG00000171942	ENST00000305899.3	Transcript	synonymous_variant	248	228	76	A	gcC/gcT	rs2067083
88	21:33993539-33993539	T	ENSG00000228433	ENST00000435600.1	Transcript	non_coding_transcript_exon_variant	181	-	-	-	-	rs7278846
89	21:33993861-33993862	CC	ENSG00000228433	ENST00000435600.1	Transcript	non_coding_transcript_exon_variant	504	-	-	-	-	rs149222990
90	21:33994187-33994187	T	ENSG00000228433	ENST00000435600.1	Transcript	non_coding_transcript_exon_variant	829	-	-	-	-	rs2006852
91	X:130458654-130458654	T	ENSG00000185903	ENST00000415818.1	Transcript	non_coding_transcript_exon_variant	571	-	-	-	-	rs7881794

Τα παραπάνω SNPs αφορούν γενετικούς τόπους που επηρεάζουν οσφρητικούς υποδοχείς και εντοπίζονται στα γονιδιώματα ανδρών με ασθενοζωοσπερμία. Αξίζει να σημειωθεί πως παρατηρείται έντονη παρουσία SNPs στο χρωμόσωμα 11, συνεπώς πιθανολογείται να υπάρχουν γονίδια οσφρητικών υποδοχέων στην περιοχή εκείνη που συντελούν σημαντικό ρόλο στην σπερματογένεση και την ανδρική γονιμότητα.

#### 4.1.2. Ολιγοζωοσπερμία

Αρχείο excel\_oligo\_common:

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
	Column1	Column2	Column3	Column4	Column5	Column6	Column7	Column8	Column9	Column10
1	1:158532614-158532614	A	missense_variant	MODERATE	OR6P1	ENSG00000186440	Transcript	ENST00000334632.1	protein_coding	
2	1:158746678-158746678	C	missense_variant	MODERATE	OR6N2	ENSG00000188340	Transcript	ENST00000339258.1	protein_coding	
3	1:159375903-159375903	T	non_coding_transcript_exon_variant	MODIFIER	OR10J9P	ENSG00000249197	Transcript	ENST00000511932.1	unprocessed_pseudogene	
4	1:247752109-247752109	G	missense_variant	MODERATE	OR2G2	ENSG00000177489	Transcript	ENST00000320065.1	protein_coding	
5	1:247769217-247769217	G	synonymous_variant	LOW	OR2G3	ENSG00000177476	Transcript	ENST00000320002.2	protein_coding	
6	1:247875583-247875583	C	missense_variant	MODERATE	OR6F1	ENSG00000169214	Transcript	ENST00000302084.2	protein_coding	
7	2:71265187-71265187	T	non_coding_transcript_exon_variant	MODIFIER	OR7E46P	ENSG00000234485	Transcript	ENST00000503990.2	unprocessed_pseudogene	
8	2:96212712-96212712	G	non_coding_transcript_exon_variant	MODIFIER	OR7E102P	ENSG00000168992	Transcript	ENST00000306515.2	unprocessed_pseudogene	
9	2:96212712-96212712	G	non_coding_transcript_exon_variant	MODIFIER	OR7E102P	ENSG00000168992	Transcript	ENST00000448855.1	unprocessed_pseudogene	
10	2:159710981-159710981	A	non_coding_transcript_exon_variant	MODIFIER	OR7E89P	ENSG00000243792	Transcript	ENST00000411729.1	transcribed_unprocessed_pseudogene	
11	2:159711036-159711036	T	non_coding_transcript_exon_variant	MODIFIER	OR7E89P	ENSG00000243792	Transcript	ENST00000411729.1	transcribed_unprocessed_pseudogene	
12	2:159718894-159718894	T	non_coding_transcript_exon_variant	MODIFIER	OR7E28P	ENSG00000251491	Transcript	ENST00000505191.2	transcribed_unprocessed_pseudogene	
13	2:159719031-159719031	G	non_coding_transcript_exon_variant	MODIFIER	OR7E28P	ENSG00000251491	Transcript	ENST00000505191.2	transcribed_unprocessed_pseudogene	
14	3:75419993-75419993	A	non_coding_transcript_exon_variant	MODIFIER	OR7E55P	ENSG00000230655	Transcript	ENST00000504027.1	unprocessed_pseudogene	
15	3:97824222-97824222	C	non_coding_transcript_exon_variant	MODIFIER	OR5AC4P	ENSG00000251090	Transcript	ENST00000509306.1	unprocessed_pseudogene	
16	3:125466156-125466156	G	non_coding_transcript_exon_variant	MODIFIER	OR7E97P	ENSG00000179170	Transcript	ENST00000466578.1	unprocessed_pseudogene	
17	5:180166461-180166461	G	missense_variant	MODERATE	OR2Y1	ENSG00000174339	Transcript	ENST00000307832.2	protein_coding	
18	5:180166599-180166599	T	missense_variant	MODERATE	OR2Y1	ENSG00000174339	Transcript	ENST00000307832.2	protein_coding	
19	5:180166677-180166677	A	missense_variant	MODERATE	OR2Y1	ENSG00000174339	Transcript	ENST00000307832.2	protein_coding	
20	7:143771557-143771557	C	missense_variant	MODERATE	OR2A25	ENSG00000221933	Transcript	ENST00000408898.2	protein_coding	
21	9:125562527-125562527	C	synonymous_variant	LOW	OR1K1	ENSG00000165204	Transcript	ENST00000277309.2	protein_coding	
22	11:4615857-4615857	A	missense_variant	MODERATE	OR5211	ENSG00000232268	Transcript	ENST00000450052.2	protein_coding	
23	11:4615857-4615857	A	missense_variant	MODERATE	OR5211	ENSG00000232268	Transcript	ENST00000530443.2	protein_coding	
24	11:4616062-4616062	T	missense_variant	MODERATE	OR5211	ENSG00000232268	Transcript	ENST00000450052.2	protein_coding	
25	11:4616062-4616062	T	missense_variant	MODERATE	OR5211	ENSG00000232268	Transcript	ENST00000530443.2	protein_coding	
26	11:4616119-4616119	C	missense_variant	MODERATE	OR5211	ENSG00000232268	Transcript	ENST00000450052.2	protein_coding	
27	11:4616119-4616119	C	missense_variant	MODERATE	OR5211	ENSG00000232268	Transcript	ENST00000530443.2	protein_coding	
28	11:4773534-4773534	A	non_coding_transcript_exon_variant	MODIFIER	OR51F4P	ENSG00000273051	Transcript	ENST00000609301.1	unprocessed_pseudogene	
29	11:4790575-4790575	G	synonymous_variant	LOW	OR51F1	ENSG00000188069	Transcript	ENST00000343430.3	protein_coding	

31	11:4790575-4790575	G	synonymous_variant	LOW	OR51F1	ENSG00000188069	Transcript	ENST00000380383.1	protein_coding
32	11:4790605-4790605	G	synonymous_variant	LOW	OR51F1	ENSG00000188069	Transcript	ENST00000343430.3	protein_coding
33	11:4790605-4790605	G	synonymous_variant	LOW	OR51F1	ENSG00000188069	Transcript	ENST00000380383.1	protein_coding
34	11:4790890-4790890	A	synonymous_variant	LOW	OR51F1	ENSG00000188069	Transcript	ENST00000343430.3	protein_coding
35	11:4790890-4790890	A	synonymous_variant	LOW	OR51F1	ENSG00000188069	Transcript	ENST00000380383.1	protein_coding
36	11:4808541-4808541	A	non_coding_transcript_exon_variant	MODIFIER	OR51N1P	ENSG00000176951	Transcript	ENST00000322493.3	pseudogene
37	11:4808541-4808541	A	non_coding_transcript_exon_variant	MODIFIER	OR51N1P	ENSG00000176951	Transcript	ENST0000033299.1	unprocessed_pseudogene
38	11:5036866-5036866	T	non_coding_transcript_exon_variant	MODIFIER	OR51P1P	ENSG00000224300	Transcript	ENST00000447547.1	unprocessed_pseudogene
39	11:5037065-5037065	A	non_coding_transcript_exon_variant	MODIFIER	OR51P1P	ENSG00000224300	Transcript	ENST00000447547.1	unprocessed_pseudogene
40	11:5068297-5068297	A	missense_variant	MODERATE	OR52J3	ENSG00000205495	Transcript	ENST00000380370.1	protein_coding
41	11:5098143-5098143	C	non_coding_transcript_exon_variant	MODIFIER	OR52S1P	ENSG00000237354	Transcript	ENST00000427016.1	unprocessed_pseudogene
42	11:5126175-5126183	AAAAAAA	non_coding_transcript_exon_variant	MODIFIER	OR52J1P	ENSG00000203560	Transcript	ENST00000450596.1	unprocessed_pseudogene
43	11:5191680-5191680	G	non_coding_transcript_exon_variant	MODIFIER	OR51A1P	ENSG00000176752	Transcript	ENST00000511110.1	unprocessed_pseudogene
44	11:5548824-5548824	A	non_coding_transcript_exon_variant	MODIFIER	OR52V1P	ENSG00000249633	Transcript	ENST00000515557.1	unprocessed_pseudogene
45	11:5548973-5548973	C	non_coding_transcript_exon_variant	MODIFIER	OR52V1P	ENSG00000249633	Transcript	ENST00000515557.1	unprocessed_pseudogene
46	11:5757785-5757785	T	synonymous_variant	LOW	OR56B1	ENSG00000181023	Transcript	ENST00000317121.3	protein_coding
47	11:6079028-6079028	T	non_coding_transcript_exon_variant	MODIFIER	OR52L2P	ENSG00000262980	Transcript	ENST00000572217.1	unprocessed_pseudogene
48	11:6191528-6191528	C	missense_variant	MODERATE	OR52B2	ENSG00000255307	Transcript	ENST00000530810.1	protein_coding
49	11:6220376-6220376	C	5_prime_UTR_variant	MODIFIER	OR52W1	ENSG00000175485	Transcript	ENST00000311352.2	protein_coding
50	11:6221169-6221169	G	missense_variant	MODERATE	OR52W1	ENSG00000175485	Transcript	ENST00000311352.2	protein_coding
51	11:6817062-6817062	C	5_prime_UTR_variant	MODIFIER	OR6A2	ENSG00000184933	Transcript	ENST00000332601.3	protein_coding
52	11:7949707-7949707	G	missense_variant	MODERATE	OR10A6	ENSG00000175393	Transcript	ENST00000309838.2	protein_coding
53	11:48547833-48547833	G	non_coding_transcript_exon_variant	MODIFIER	OR4A43P	ENSG00000255534	Transcript	ENST00000255534	unprocessed_pseudogene
54	11:51435510-51435510	T	missense_variant	MODERATE	OR4A8P	ENSG00000225997	Transcript	ENST00000418689.1	polymorphic_pseudogene
55	11:51435866-51435866	G	missense_variant	MODERATE	OR4A8P	ENSG00000225997	Transcript	ENST00000418689.1	polymorphic_pseudogene
56	11:51451377-51451377	T	non_coding_transcript_exon_variant	MODIFIER	OR4A2P	ENSG00000227547	Transcript	ENST00000527276.1	unprocessed_pseudogene
57	11:51451882-51451882	T	non_coding_transcript_exon_variant	MODIFIER	OR4A2P	ENSG00000227547	Transcript	ENST00000527276.1	unprocessed_pseudogene
58	11:51459057-51459057	A	non_coding_transcript_exon_variant	MODIFIER	OR4A4P	ENSG00000254769	Transcript	ENST00000532898.1	unprocessed_pseudogene
59	11:51459057-51459057	A	non_coding_transcript_exon_variant	MODIFIER	OR4A4P	ENSG00000254769	Transcript	ENST00000599355.1	unprocessed_pseudogene
60	11:51461842-51461842	C	non_coding_transcript_exon_variant	MODIFIER	OR4R2P	ENSG00000255560	Transcript	ENST00000530815.1	unprocessed_pseudogene
61	11:51462017-51462017	G	non_coding_transcript_exon_variant	MODIFIER	OR4R2P	ENSG00000255560	Transcript	ENST00000530815.1	unprocessed_pseudogene
62	11:55110903-55110903	A	stop_gained	HIGH	OR4A16	ENSG00000181961	Transcript	ENST00000314721.2	protein_coding
63	11:55110918-55110918	C	missense_variant	MODERATE	OR4A16	ENSG00000181961	Transcript	ENST00000314721.2	protein_coding
64	11:55110928-55110928	A	synonymous_variant	LOW	OR4A16	ENSG00000181961	Transcript	ENST00000314721.2	protein_coding
65	11:55110930-55110930	T	missense_variant	MODERATE	OR4A16	ENSG00000181961	Transcript	ENST00000314721.2	protein_coding
66	11:55110934-55110934	A	missense_variant	MODERATE	OR4A16	ENSG00000181961	Transcript	ENST00000314721.2	protein_coding
67	11:55110941-55110941	A	missense_variant	MODERATE	OR4A16	ENSG00000181961	Transcript	ENST00000314721.2	protein_coding
68	11:55111013-55111013	C	synonymous_variant	LOW	OR4A16	ENSG00000181961	Transcript	ENST00000314721.2	protein_coding
69	11:55111585-55111585	C	missense_variant	MODERATE	OR4A16	ENSG00000181961	Transcript	ENST00000314721.2	protein_coding
70	11:55111602-55111602	T	missense_variant	MODERATE	OR4A16	ENSG00000181961	Transcript	ENST00000314721.2	protein_coding
71	11:55111607-55111607	T	missense_variant	MODERATE	OR4A16	ENSG00000181961	Transcript	ENST00000314721.2	protein_coding
72	11:55111627-55111627	G	missense_variant	MODERATE	OR4A16	ENSG00000181961	Transcript	ENST00000314721.2	protein_coding
73	11:55111631-55111631	G	missense_variant	MODERATE	OR4A16	ENSG00000181961	Transcript	ENST00000314721.2	protein_coding
74	11:55111632-55111632	C	missense_variant	MODERATE	OR4A16	ENSG00000181961	Transcript	ENST00000314721.2	protein_coding
75	11:55111634-55111634	A	missense_variant	MODERATE	OR4A16	ENSG00000181961	Transcript	ENST00000314721.2	protein_coding
76	11:55111659-55111659	A	missense_variant	MODERATE	OR4A16	ENSG00000181961	Transcript	ENST00000314721.2	protein_coding
77	11:55111697-55111697	C	3_prime_UTR_variant	MODIFIER	OR4A16	ENSG00000181961	Transcript	ENST00000314721.2	protein_coding
78	11:55111701-55111701	C	3_prime_UTR_variant	MODIFIER	OR4A16	ENSG00000181961	Transcript	ENST00000314721.2	protein_coding
79	11:55136219-55136219	T	missense_variant	MODERATE	OR4A15	ENSG00000181958	Transcript	ENST00000314706.3	protein_coding
80	11:55234722-55234722	T	non_coding_transcript_exon_variant	MODIFIER	OR4A13P	ENSG00000181950	Transcript	ENST00000529316.1	unprocessed_pseudogene
81	11:55234738-55234738	T	non_coding_transcript_exon_variant	MODIFIER	OR4A13P	ENSG00000181950	Transcript	ENST00000529316.1	unprocessed_pseudogene
82	11:55277617-55277617	G	non_coding_transcript_exon_variant	MODIFIER	OR4C1P	ENSG00000254576	Transcript	ENST00000530880.1	unprocessed_pseudogene
83	11:55277617-55277617	C	non_coding_transcript_exon_variant	MODIFIER	OR4C1P	ENSG00000254576	Transcript	ENST00000530880.1	unprocessed_pseudogene
84	11:55277909-55277909	G	non_coding_transcript_exon_variant	MODIFIER	OR4C1P	ENSG00000254576	Transcript	ENST00000530880.1	unprocessed_pseudogene
85	11:55278100-55278100	T	non_coding_transcript_exon_variant	MODIFIER	OR4C1P	ENSG00000254576	Transcript	ENST00000530880.1	unprocessed_pseudogene
86	11:55339829-55339829	G	missense_variant	MODERATE	OR4C16	ENSG00000181935	Transcript	ENST00000314634.3	protein_coding
87	11:55340170-55340170	C	missense_variant	MODERATE	OR4C16	ENSG00000181935	Transcript	ENST00000314634.3	protein_coding
88	11:55340466-55340466	G	missense_variant	MODERATE	OR4C16	ENSG00000181935	Transcript	ENST00000314634.3	protein_coding
89	11:55371132-55371132	T	missense_variant	MODERATE	OR4C11	ENSG00000172188	Transcript	ENST00000302231.4	protein_coding
90	11:55371828-55371828	T	missense_variant	MODERATE	OR4C11	ENSG00000172188	Transcript	ENST00000302231.4	protein_coding
91	11:55606693-55606693	A	missense_variant	MODERATE	OR5D16	ENSG00000205029	Transcript	ENST00000378396.1	protein_coding
92	11:56180505-56180505	T	non_coding_transcript_exon_variant	MODIFIER	OR5A11	ENSG00000181395	Transcript	ENST00000327258.5	pseudogene
93	11:56180505-56180505	T	missense_variant	MODERATE	OR5A11	ENSG00000272987	Transcript	ENST00000440231.1	polymorphic_pseudogene
94	11:56344260-56344260	G	missense_variant	MODERATE	OR5M10	ENSG00000254834	Transcript	ENST00000526812.2	protein_coding
95	11:71305139-71305139	A	non_coding_transcript_exon_variant	MODIFIER	OR7E87P	ENSG00000184055	Transcript	ENST00000532397.1	unprocessed_pseudogene
96	11:71305234-71305234	T	non_coding_transcript_exon_variant	MODIFIER	OR7E87P	ENSG00000184055	Transcript	ENST00000532397.1	unprocessed_pseudogene
97	11:71604603-71604603	G	non_coding_transcript_exon_variant	MODIFIER	OR7E128P	ENSG00000228915	Transcript	ENST00000532736.1	unprocessed_pseudogene
98	11:71604665-71604665	G	non_coding_transcript_exon_variant	MODIFIER	OR7E128P	ENSG00000228915	Transcript	ENST00000532736.1	unprocessed_pseudogene
99	11:71604800-71604800	A	non_coding_transcript_exon_variant	MODIFIER	OR7E128P	ENSG00000228915	Transcript	ENST00000532736.1	unprocessed_pseudogene
100	11:71605332-71605332	G	non_coding_transcript_exon_variant	MODIFIER	OR7E128P	ENSG00000228915	Transcript	ENST00000532736.1	unprocessed_pseudogene
101	11:124195243-124195243	A	non_coding_transcript_exon_variant	MODIFIER	OR8B7P	ENSG00000254976	Transcript	ENST00000526868.1	unprocessed_pseudogene
102	12:48596875-48596876	AA	frameshift_variant	HIGH	OR10AD1	ENSG00000172640	Transcript	ENST00000310248.2	protein_coding
103	12:49021979-49021979	A	non_coding_transcript_exon_variant	MODIFIER	OR11M1P	ENSG00000224709	Transcript	ENST00000415975.1	unitary_pseudogene
104	12:55846623-55846623	C	missense_variant	MODERATE	OR6C2	ENSG00000179695	Transcript	ENST00000322678.1	protein_coding
105	13:42013990-42013990	A	non_coding_transcript_exon_variant	MODIFIER	OR7E155P	ENSG00000234655	Transcript	ENST00000412208.1	processed_pseudogene
106	13:42013990-42013990	A	non_coding_transcript_exon_variant	MODIFIER	OR7E155P	ENSG00000234655	Transcript	ENST00000422155.2	processed_pseudogene
107	13:42014003-42014003	G	non_coding_transcript_exon_variant	MODIFIER	OR7E155P	ENSG00000234655	Transcript	ENST00000412208.1	processed_pseudogene
108	13:42014003-42014003	G	non_coding_transcript_exon_variant	MODIFIER	OR7E155P	ENSG00000234655	Transcript	ENST00000422155.2	processed_pseudogene
109	13:42014676-42014676	G	non_coding_transcript_exon_variant	MODIFIER	OR7E155P	ENSG00000234655	Transcript	ENST00000412208.1	processed_pseudogene
110	13:42014676-42014676	G	non_coding_transcript_exon_variant	MODIFIER	OR7E155P	ENSG00000234655	Transcript	ENST00000422155.2	processed_pseudogene
111	13:64316803-64316803	A	non_coding_transcript_exon_variant	MODIFIER	OR7E156P	ENSG00000215430	Transcript	ENST00000400303.2	processed_pseudogene
112	14:20425151-20425151	G	non_coding_transcript_exon_variant	MODIFIER	OR4K16P	ENSG00000258822	Transcript	ENST00000554603.1	unprocessed_pseudogene
113	14:20482471-20482471	T	synonymous_variant	LOW	OR4K14	ENSG00000169484	Transcript	ENST00000305045.2	protein_coding
114	14:20482919-20482919	C	missense_variant	MODERATE	OR4K14	ENSG00000169484	Transcript	ENST00000305045.2	protein_coding
115	14:20502044-20502044	T	missense_variant	MODERATE	OR4K13	ENSG00000176253	Transcript	ENST00000315693.2	protein_coding
116	14:20691888-20691888	A	missense_variant	MODERATE	OR11H6	ENSG00000176219	Transcript	ENST00000315519.2	protein_coding
117	14:20691962-20691962	G	missense_variant	MODERATE	OR11H6	ENSG00000176219	Transcript	ENST00000315519.2	protein_coding
118	14:20692595-20692595	C	missense_variant	MODERATE	OR11H6	ENSG00000176219	Transcript	ENST00000315519.2	protein_coding
119	14:20697589-20697589	T	missense_variant	MODERATE	OR11H7	ENSG00000258806	Transcript	ENST0000053765.1	polymorphic_pseudogene
120	14:20711811-20711811	G	synonymous_variant	LOW	OR11H4	ENSG00000176198	Transcript	ENST00000315409.2	protein_coding

121	14:23102784-23102784	G	synonymous_variant	LOW	OR6J1	ENSG00000255804	Transcript	ENST00000540461.1	protein_coding
122	14:23102882-23102882	A	missense_variant	MODERATE	OR6J1	ENSG00000255804	Transcript	ENST00000540461.1	protein_coding
123	14:23102896-23102896	G	missense_variant	MODERATE	OR6J1	ENSG00000255804	Transcript	ENST00000540461.1	protein_coding
124	14:23103044-23103044	T	missense_variant	MODERATE	OR6J1	ENSG00000255804	Transcript	ENST00000540461.1	protein_coding
125	14:23103282-23103282	C	synonymous_variant	LOW	OR6J1	ENSG00000255804	Transcript	ENST00000540461.1	protein_coding
126	14:23103304-23103304	T	missense_variant	MODERATE	OR6J1	ENSG00000255804	Transcript	ENST00000540461.1	protein_coding
127	14:23103347-23103347	C	missense_variant	MODERATE	OR6J1	ENSG00000255804	Transcript	ENST00000540461.1	protein_coding
128	14:23103354-23103354	G	synonymous_variant	LOW	OR6J1	ENSG00000255804	Transcript	ENST00000540461.1	protein_coding
129	14:23103355-23103355	T	missense_variant	MODERATE	OR6J1	ENSG00000255804	Transcript	ENST00000540461.1	protein_coding
130	14:23103356-23103356	A	missense_variant	MODERATE	OR6J1	ENSG00000255804	Transcript	ENST00000540461.1	protein_coding
131	16:30963385-30963404	TTCCCTTTCCCTT	intron_variant	MODIFIER	OAI3	ENSG00000175938	Transcript	ENST00000318663.4	protein_coding
132	16:30963385-30963404	TTCCCTTTCCCTT	intron_variant	MODIFIER	OAI3	ENSG00000175938	Transcript	ENST00000562699.1	protein_coding
133	16:30963385-30963404	TTCCCTTTCCCTT	intron_variant,NMD_transcript_variant	MODIFIER	OAI3	ENSG00000175938	Transcript	ENST00000563161.1	nonsense_mediated_decay
134	16:30963385-30963404	TTCCCTTTCCCTT	intron_variant	MODIFIER	OAI3	ENSG00000175938	Transcript	ENST00000566237.1	protein_coding
135	17:3101076-3101076	C	synonymous_variant	LOW	OR1A2	ENSG00000172150	Transcript	ENST00000381951.1	protein_coding
136	17:3213728-3213728	G	non_coding_transcript_exon_variant	MODIFIER	OR3A4P	ENSG00000180068	Transcript	ENST00000323164.5	transcribed_unprocessed_pseudogene
137	17:3213728-3213728	G	non_coding_transcript_exon_variant	MODIFIER	OR3A4P	ENSG00000180068	Transcript	ENST00000545655.1	transcribed_unprocessed_pseudogene
138	17:3213862-3213862	G	non_coding_transcript_exon_variant	MODIFIER	OR3A4P	ENSG00000180068	Transcript	ENST00000323164.5	transcribed_unprocessed_pseudogene
139	17:3213862-3213862	G	non_coding_transcript_exon_variant	MODIFIER	OR3A4P	ENSG00000180068	Transcript	ENST00000545655.1	transcribed_unprocessed_pseudogene
140	17:3213911-3213911	C	non_coding_transcript_exon_variant	MODIFIER	OR3A4P	ENSG00000180068	Transcript	ENST00000323164.5	transcribed_unprocessed_pseudogene
141	17:3213911-3213911	C	non_coding_transcript_exon_variant	MODIFIER	OR3A4P	ENSG00000180068	Transcript	ENST00000545655.1	transcribed_unprocessed_pseudogene
142	17:3213962-3213962	G	non_coding_transcript_exon_variant	MODIFIER	OR3A4P	ENSG00000180068	Transcript	ENST00000323164.5	transcribed_unprocessed_pseudogene
143	17:3213962-3213962	G	non_coding_transcript_exon_variant	MODIFIER	OR3A4P	ENSG00000180068	Transcript	ENST00000545655.1	transcribed_unprocessed_pseudogene
144	17:3301626-3301626	G	missense_variant	MODERATE	OR1E1	ENSG00000180016	Transcript	ENST00000322608.2	protein_coding
145	19:8841499-8841499	G	missense_variant	MODERATE	OR2Z1	ENSG00000181733	Transcript	ENST00000324068.2	protein_coding
146	19:9362799-9362799	G	3_prime_UTR_variant	MODIFIER	OR7E24	ENSG00000237521	Transcript	ENST00000456448.1	protein_coding
147	19:14951898-14951898	T	synonymous_variant	LOW	OR7A10	ENSG00000127515	Transcript	ENST00000248058.1	protein_coding
148	19:15838972-15838972	A	missense_variant	MODERATE	OR10H2	ENSG00000171942	Transcript	ENST00000305899.3	protein_coding
149	19:15839081-15839081	T	synonymous_variant	LOW	OR10H2	ENSG00000171942	Transcript	ENST00000305899.3	protein_coding
150	21:33993861-33993862	CC	non_coding_transcript_exon_variant	MODIFIER	OR7E23P	ENSG00000228433	Transcript	ENST00000435600.1	processed_pseudogene
151	X:130458654-130458654	T	non_coding_transcript_exon_variant	MODIFIER	OR11N1P	ENSG00000185903	Transcript	ENST00000415818.1	processed_pseudogene

Όπως και στην ομάδα των ασθενοζωοσπερμικών ατόμων, έτσι και στην ομάδα των ολιγοζωοσπερμικών ατόμων παρατηρείται μεγάλος αριθμός SNPs στο χρωμόσωμα 11, εντείνοντας το ενδιαφέρον για τον γενετικό αυτό τόπο.

#### 4.1.3. Τερατοζωοσπερμία

Αρχείο excel\_terato\_common:

A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
1	1:158532614-158532614	A	missense_variant	MODERATE	OR6P1	ENSG00000186440	Transcript	ENST00000334632.1	protein_coding
2	1:158725655-158725655	A	3_prime_UTR_variant	MODIFIER	OR6K6	ENSG00000180433	Transcript	ENST00000368144.2	protein_coding
3	1:159375955-159375955	G	non_coding_transcript_exon_variant	MODIFIER	OR10I9P	ENSG00000249197	Transcript	ENST00000511932.1	unprocessed_pseudogene
4	1:247655102-247655102	A	non_coding_transcript_exon_variant	MODIFIER	OR2W5	ENSG00000203664	Transcript	ENST00000366492.1	transcribed_unprocessed_pseudogene
5	1:247655102-247655102	A	non_coding_transcript_exon_variant	MODIFIER	OR2W5	ENSG00000203664	Transcript	ENST00000522351.1	processed_transcript
6	1:247655102-247655102	A	non_coding_transcript_exon_variant	MODIFIER	OR2W5	ENSG00000203664	Transcript	ENST00000530852.2	transcribed_unprocessed_pseudogene
7	1:247902070-247902070	T	missense_variant	MODERATE	OR14K1	ENSG00000153230	Transcript	ENST00000283225.2	protein_coding
8	1:247902259-247902259	T	missense_variant	MODERATE	OR14K1	ENSG00000153230	Transcript	ENST00000283225.2	protein_coding
9	1:247978339-247978339	A	synonymous_variant	LOW	OR14A16	ENSG00000196772	Transcript	ENST00000357627.1	protein_coding
10	1:247978924-247978924	A	synonymous_variant	LOW	OR14A16	ENSG00000196772	Transcript	ENST00000357627.1	protein_coding
11	1:247996706-247996706	C	non_coding_transcript_exon_variant	MODIFIER	OR6R1P	ENSG00000230576	Transcript	ENST00000431838.1	unprocessed_pseudogene
12	1:248004614-248004614	A	synonymous_variant	LOW	OR11L1	ENSG00000197591	Transcript	ENST00000355784.2	protein_coding
13	1:248285441-248285441	T	non_coding_transcript_exon_variant	MODIFIER	OR2M1P	ENSG00000177233	Transcript	ENST00000318104.2	unprocessed_pseudogene
14	2:159710981-159710981	A	non_coding_transcript_exon_variant	MODIFIER	OR7E89P	ENSG00000243792	Transcript	ENST00000411729.1	transcribed_unprocessed_pseudogene
15	2:159711036-159711036	T	non_coding_transcript_exon_variant	MODIFIER	OR7E89P	ENSG00000243792	Transcript	ENST00000411729.1	transcribed_unprocessed_pseudogene
16	3:75419791-75419791	T	non_coding_transcript_exon_variant	MODIFIER	OR7E55P	ENSG00000230655	Transcript	ENST00000504027.1	unprocessed_pseudogene
17	3:97916890-97916890	G	non_coding_transcript_exon_variant	MODIFIER	OR5H5P	ENSG00000249321	Transcript	ENST00000503164.1	unprocessed_pseudogene
18	3:97957473-97957473	T	non_coding_transcript_exon_variant	MODIFIER	OR5H7P	ENSG00000187900	Transcript	ENST00000514084.1	unprocessed_pseudogene
19	3:98217178-98217178	A	stop_gained	HIGH	OR5K2	ENSG00000231861	Transcript	ENST00000427338.1	protein_coding
20	6:27879397-27879397	C	missense_variant	MODERATE	OR2B2	ENSG00000168131	Transcript	ENST00000303324.2	protein_coding
21	7:5156883-5156883	T	non_coding_transcript_exon_variant	MODIFIER	OR10AH1P	ENSG00000272595	Transcript	ENST00000608262.1	unprocessed_pseudogene
22	7:99473858-99473858	C	missense_variant	MODERATE	OR2AE1	ENSG00000244623	Transcript	ENST00000316368.2	protein_coding
23	7:143771557-143771557	C	missense_variant	MODERATE	OR2A25	ENSG00000221933	Transcript	ENST00000408898.2	protein_coding
24	12:48596875-48596876	AA	frameshift_variant	HIGH	OR10AD1	ENSG00000172640	Transcript	ENST00000310248.2	protein_coding
25	12:55846623-55846623	C	missense_variant	MODERATE	OR6C2	ENSG00000179695	Transcript	ENST00000322678.1	protein_coding
26	14:20228424-20228424	A	non_coding_transcript_exon_variant	MODIFIER	OR4H12P	ENSG00000176312	Transcript	ENST00000316004.2	unprocessed_pseudogene
27	14:20228424-20228424	A	non_coding_transcript_exon_variant	MODIFIER	OR4H12P	ENSG00000176312	Transcript	ENST00000556269.1	unprocessed_pseudogene
28	14:20691888-20691888	A	missense_variant	MODERATE	OR11H6	ENSG00000176219	Transcript	ENST00000315519.2	protein_coding
29	14:20691962-20691962	G	missense_variant	MODERATE	OR11H6	ENSG00000176219	Transcript	ENST00000315519.2	protein_coding
30	14:20692595-20692595	C	missense_variant	MODERATE	OR11H6	ENSG00000176219	Transcript	ENST00000315519.2	protein_coding

31	14:20711811-20711811	G	synonymous_variant	LOW	OR11H4	ENSG00000176198	Transcript	ENST00000315409.2	protein_coding
32	14:22070440-22070440	C	non_coding_transcript_exon_variant	MODIFIER	OR10G1P	ENSG00000169202	Transcript	ENST00000312058.3	unprocessed_pseudogene
33	14:22070478-22070478	A	non_coding_transcript_exon_variant	MODIFIER	OR10G1P	ENSG00000169202	Transcript	ENST00000312058.3	unprocessed_pseudogene
34	14:22070707-22070707	A	non_coding_transcript_exon_variant	MODIFIER	OR10G1P	ENSG00000169202	Transcript	ENST00000312058.3	unprocessed_pseudogene
35	14:23102784-23102784	G	synonymous_variant	LOW	OR6J1	ENSG00000255804	Transcript	ENST00000540461.1	protein_coding
36	14:23102882-23102882	A	missense_variant	MODERATE	OR6J1	ENSG00000255804	Transcript	ENST00000540461.1	protein_coding
37	14:23102896-23102896	G	missense_variant	MODERATE	OR6J1	ENSG00000255804	Transcript	ENST00000540461.1	protein_coding
38	14:23103282-23103282	C	synonymous_variant	LOW	OR6J1	ENSG00000255804	Transcript	ENST00000540461.1	protein_coding
39	14:23103347-23103347	C	missense_variant	MODERATE	OR6J1	ENSG00000255804	Transcript	ENST00000540461.1	protein_coding
40	14:23103354-23103354	G	synonymous_variant	LOW	OR6J1	ENSG00000255804	Transcript	ENST00000540461.1	protein_coding
41	14:23103355-23103355	T	missense_variant	MODERATE	OR6J1	ENSG00000255804	Transcript	ENST00000540461.1	protein_coding
42	14:25827360-25827360	G	non_coding_transcript_exon_variant	MODIFIER	OR7K1P	ENSG00000258275	Transcript	ENST00000546439.1	processed_pseudogene
43	14:25827407-25827410	CTCGCTC	non_coding_transcript_exon_variant	MODIFIER	OR7K1P	ENSG00000258275	Transcript	ENST00000546439.1	processed_pseudogene
44	14:52224331-52224331	T	non_coding_transcript_exon_variant	MODIFIER	OR7E10SP	ENSG00000258423	Transcript	ENST00000555893.1	unprocessed_pseudogene
45	17:3020421-3020421	G	non_coding_transcript_exon_variant	MODIFIER	OR1E3	ENSG00000142163	Transcript	ENST00000270133.5	pseudogene
46	17:3020421-3020421	G	non_coding_transcript_exon_variant	MODIFIER	OR1E3	ENSG00000142163	Transcript	ENST00000575608.1	unprocessed_pseudogene
47	19:9298919-9298919	T	3_prime_UTR_variant	MODIFIER	OR7D2	ENSG00000188000	Transcript	ENST00000344248.2	protein_coding
48	19:9362501-9362501	T	missense_variant	MODERATE	OR7E24	ENSG00000237521	Transcript	ENST00000456448.1	protein_coding
49	19:9362805-9362805	A	3_prime_UTR_variant	MODIFIER	OR7E24	ENSG00000237521	Transcript	ENST00000456448.1	protein_coding

#### 4.2. Κοινά SNPs μεταξύ των φαινοτύπων

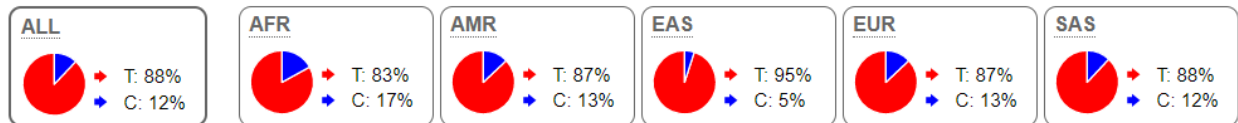
Από τη σύγκριση των πολυμορφισμών των παραπάνω ομάδων προέκυψαν SNPs τα οποία εμφανίζονται από κοινού μεταξύ των ομάδων. Η παρουσία των SNPs αυτών σε παραπάνω από έναν φαινότυπο ανδρικής υπογονιμότητας θα μπορούσε να υποδεικνύει μια σημαντικότητα των αντίστοιχων γενετικών τόπων, συνεπώς κρίθηκε απαραίτητη η περαιτέρω ανάλυση τους με σκοπό την ανάκτηση πληροφοριών για τον ρόλο τους στην ανδρική γονιμότητα. Σημαντικό εργαλείο για την μελέτη των πολυμορφισμών αποτέλεσε η Ensembl, ένα πρόγραμμα περιήγησης σε γονιδιώματα σπονδηλωτών με σκοπό την συγέντρωση βιολογικών πληροφοριών γύρω από τις αλληλουχίες αυτών των μεγάλων γονιδιωμάτων (Birney et al., 2004). Οι δυνατότητες της Ensembl περιλαμβάνουν την περιγραφή γονιδίων, την ευθυγράμμιση πολλαπλών γονιδιωμάτων καθώς και την συγκέντρωση δεδομένων χρήσιμων για τον χαρακτηρισμό και τη μελέτη ασθενειών.

##### 4.2.1. Κοινά SNPs μεταξύ ασθενοζωσπερικών και ολιγοζωσπερμικών ατόμων

###### rs10985782

Το SNP rs10985782 προκύπτει από τη μετάλλαξη της θυμίνης T σε κυτοσίνη C στη θέση 122.800.248 του χρωμοσώματος 9 και συγκεκριμένα στην forward strand. Ο πολυμορφισμός αυτός εντοπίζεται στο γονίδιο του οσφρητικού υποδοχέα OR1K1 (forward strand).

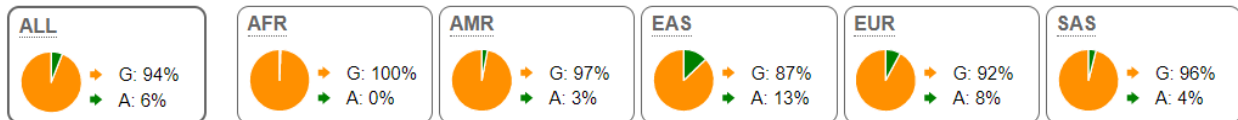
Συγκεκριμένα, η μετάλλαξη βρίσκεται στη θέση 126 του μεταγράφου μήκους 951bp και στη θέση 42 της παραγόμενης πρωτεΐνης μήκους 316 αμινοξέων. Η μετάλλαξη του πολυμορφισμού καταλήγει σε συνώνυμο κωδικόνιο, συνεπώς το αμινοξύ γλυκίνη G δεν μεταβάλλεται και δεν παρατηρείται αλλαγή στην αλληλουχία και δομή της πρωτεΐνης.



Τα δεδομένα πληθυσμιακής γενετικής για τον πολυμορφισμό rs10985782 δείχνουν πως το αλληλόμορφο C εμφανίζεται με μέσο όρο 12% στον παγκόσμιο πληθυσμό, με την υψηλότερη συχνότητα να εντοπίζεται σε πληθυσμούς της Αφρικής (5%) και χαμηλότερη σε πληθυσμούς της Ανατολικής Ασίας.

### rs111635283

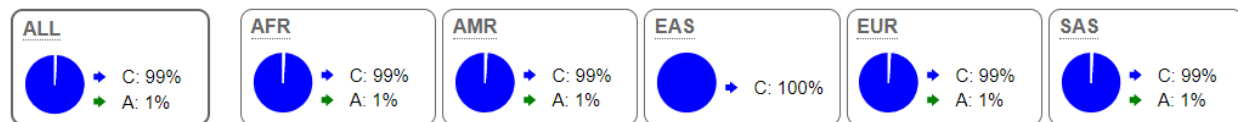
Ο πολυμορφισμός rs111635283 προκύπτει από τη μετάλλαξη της γουανίνης G σε αδενίνη A στη θέση 71.594.093 του 11<sup>ου</sup> χρωμοσώματος και συγκεκριμένα στη forward strand. Η μετάλλαξη εντοπίζεται στο ψευδογονίδιο OR7E87P (forward strand) και συγκεκριμένα στη θέση 640 του παραγόμενου μεταγράφου που έχει μήκος 929bp.



Τα δεδομένα πληθυσμιακής γενετικής για τον πολυμορφισμό rs111635283 υποδεικνύουν πως το αλληλόμορφο A εμφανίζεται σε ποσοστό 13% στην Ανατολική Ασία, ενώ στην Αφρική δεν έχουν υπάρξει καταγραφές του αλληλομόρφου.

### rs116924453

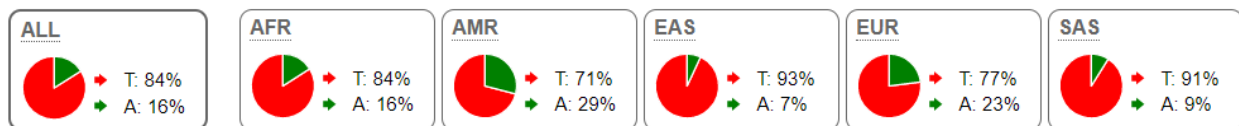
Το SNP rs116924453 προκύπτει από τη μετάλλαξη της κυτοσίνης C σε αδενίνη A στη θέση 55.343.427 του 11<sup>ου</sup> χρωμοσώματος και συγκεκριμένα στη forward strand. Η μετάλλαξη εδράζεται στο γονίδιο OR4A16 (forward strand) που κωδικοποιεί για τον αντίστοιχο οσφρητικό υποδοχέα. Η μετάλλαξη εντοπίζεται στη θέση 227 του μεταγράφου μήκους 987bp και στη θέση 76 της παραγόμενης πρωτεΐνης. Αποτέλεσμα της μετάλλαξης είναι η μετατροπή του κωδικονίου TCA σε κωδικόνιο τερματισμού TAA, καταλήγοντας σε πρόωρο τερματισμό της μεταγραφής και τελικά σε μικρότερη πρωτεΐνη.



Τα δεδομένα πληθυσμιακής γενετικής υποδεικνύουν πως ο πολυμορφισμός είναι αρκετά σπάνιος καθώς έχει εντοπιστεί σε μόλις 1% των πληθυσμών παγκοσμίως.

### rs12364340

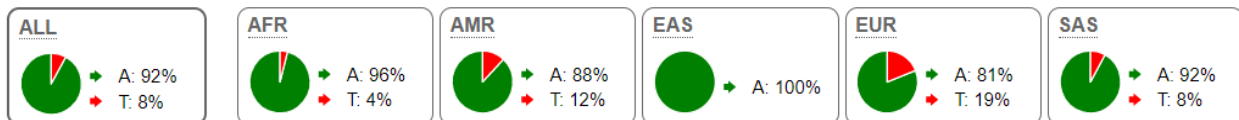
Ο πολυμορφισμός rs12364340 προκύπτει από την μετάλλαξη της αδενίνης A σε θυμίνη T στη θέση 5.527.594 του χρωμοσώματος 11 και συγκεκριμένα στη forward strand. Η μετάλλαξη εντοπίζεται στο ψευδογονίδιο οσφρητικού υποδοχέα OR52V1P (reverse strand). Το SNP βρίσκεται συγκεκριμένα στη θέση στη θέση 581 του παραγόμενου μεταγράφου μήκους 898bp .



Τα δεδομένα πληθυσμιακής γενετικής για τον πολυμορφισμό rs12364340 υποδεικνύουν μεγάλες διακυμάνσεις στην εμφάνιση των αλληλομόρφων μεταξύ των διαφορετικών πληθυσμών. Πιο συγκεκριμένα, η μικρότερη συχνότητα εμφάνισης του αλληλομόρφου A αφορά πληθυσμούς της Ανατολικής Ασίας (7%), ενώ στους πληθυσμούς της Αμερικής το αλληλόμορφο εμφανίζεται με συχνότητα 29%.

### rs144087548

Ο πολυμορφισμός rs144087548 προκύπτει από τη μετάλλαξη της αδενίνης A σε θυμίνη T στη θέση 158.862.382 του 2<sup>ου</sup> χρωμοσώματος και συγκεκριμένα στη forward strand. Η μετάλλαξη εδράζεται στο ψευδογονίδιο OR7E28P (forward strand) και βρίσκεται στη θέση 72 του παραγόμενου μεταγράφου μήκους 975bp.



Τα δεδομένα πληθυσμιακής γενετικής για τον πολυμορφισμό rs144087548 υποδεικνύουν μεγάλη διακύμανση στην εμφάνιση του αλληλομόρφου T ανάμεσα στους πληθυσμούς. Συγκεκριμένα, οι πληθυσμοί της Ευρώπης εμφανίζουν το αλληλόμορφο T σε ποσοστό 19%, ενώ σε πληθυσμούς της Ανατολικής Ασίας δεν έχει σημειωθεί εμφάνιση του αλληλομόρφου αυτού.

### rs147336887

Το SNP rs147336887 προκύπτει από τη μετάλλαξη της γουανίνης G σε κυτοσίνη C, θυμίνη T ή αδενίνη A στη θέση 55.343.465 του 11<sup>ου</sup> γονιδίου, συγκεκριμένα στη forward strand. Οι μεταλλάξεις εντοπίζονται στη θέση 265 του μεταγράφου που παράγεται από το γονίδιο OR4A16 (forward strand) που κωδικοποιεί για τον αντίστοιχο οσφρητικό υποδοχέα. Το μετάγραφο αυτό έχει μήκος 987bp, ενώ καμία από τις 3 παραλλαγές του SNP δεν επηρεάζει το μήκος της παραγόμενης πρωτεΐνης (328 αμινοξέα). Ωστόσο, η μετάλλαξη της γουανίνης σε κυτοσίνη, θυμίνη ή αδενίνη, προκαλεί τη μετατροπή του αμινοξέος 89 από αλανίνη A σε προλίνη P, σερίνη S ή θρεονίνη T αντίστοιχα.

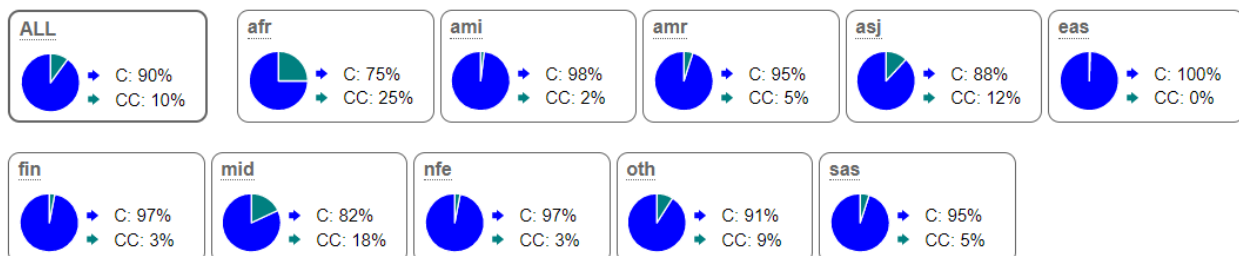


Population	Allele: frequency (count)				
gnomADe:ALL		G: 0.999 (236751)	A: 0.001 (175)	C: 9.285e-05 (22)	T: 8.441e-06 (2)
gnomADe:afr		G: 0.999 (15479)	A: 0.0003874 (6)	C: 0.0001291 (2)	T: 6.457e-05 (1)
gnomADe:amr		G: 0.9996 (33701)	A: 0.0002076 (7)	C: 0.0002373 (8)	T: 0.000
gnomADe:asj		G: 1.000 (9814)	A: 0.000	C: 0.000	T: 0.000
gnomADe:eas		G: 1.000 (18356)	A: 0.000	C: 0.000	T: 0.000
gnomADe:fin		G: 0.999 (20469)	A: 0.001 (22)	C: 4.88e-05 (1)	T: 0.000
gnomADe:nfe		G: 0.999 (103959)	A: 0.001 (110)	C: 8.647e-05 (9)	T: 0.000
gnomADe:oth		G: 0.998 (5760)	A: 0.002 (14)	C: 0.000	T: 0.000
gnomADe:sas		G: 0.999 (29213)	A: 0.001 (16)	C: 6.842e-05 (2)	T: 3.421e-05 (1)

Τα δεδομένα πληθυσμιακής γενετικής για τον πολυμορφισμό rs147336887 υποδεικνύουν πως το αλληλόμορφο A εμφανίζεται με συχνότητα σχεδόν 100% ανάμεσα στους πληθυσμούς.

### rs149222990

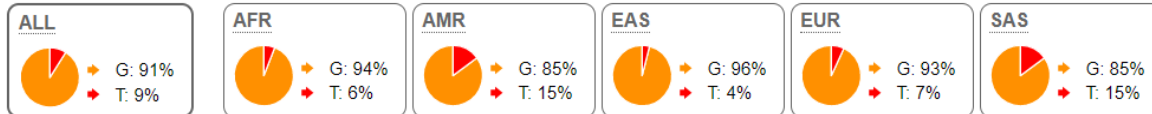
Το SNP rs149222990 προκύπτει έπειτα από προσθήκη μιας κυτοσίνης C στη θέση 32.621.552 του 21<sup>ου</sup> χρωμοσώματος και συγκεκριμένα στη forward strand. Η μετάλλαξη εντοπίζεται στο ψευδογονίδιο OR7E23P (forward strand) και συγκεκριμένα στη θέση 469 του παραγόμενου μεταγράφου μήκους 1000bp.



Τα δεδομένα πληθυσμιακής γενετικής για τον πολυμορφισμό rs149222990 υποδεικνύουν πως υπάρχει μεγάλη διακύμανση στη συχνότητα εμφάνισης του αλληλομόρφου CC μεταξύ των πληθυσμών. Συγκεκριμένα, τη μεγαλύτερη συχνότητα έχουν οι πληθυσμοί της Αφρικής με 23%, οι πληθυσμοί της Ευρώπης εμφανίζουν συχνότητα μόλις 3%, ενώ στους πληθυσμούς της Ανατολικής Ασίας η συχνότητα είναι 0%.

### rs17277025

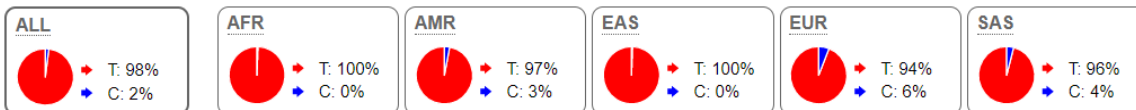
Ο πολυμορφισμός rs17277025 προκύπτει από μετάλλαξη της γουανίνης G σε θυμίνη T στη θέση 20.033.885 του 14<sup>ου</sup> χρωμοσώματος, συγκεκριμένα στη forward strand. Το SNP εδράζεται στο γονίδιο του οσφρητικού υποδοχέα OR4K13 (reverse strand), το οποίο κωδικοποιεί για δύο μεταγράφα, τα OR4K13-201 και OR4K13-202. Τα δύο μεταγράφα έχουν μήκη 5980bp και 5684bp, ωστόσο κωδικοποιούν για τον ίδιο οσφρητικό υποδοχέα μεγέθους 304 αμινοξέων. Η μετάλλαξη του SNP έχει αντίκτυπο στη θέση 292 της πρωτεΐνης, όπου η γλουταμίνη Q μετατρέπεται σε λυσίνη K, χωρίς αυτό να επιφέρει αλλοιώσεις στο μήκος της παραγόμενης πρωτεΐνης.



Τα δεδομένα πληθυσμιακής γενετικής για τον πολυμορφισμό rs17277025 δείχνουν πως οι πληθυσμοί της Αμερικής και της Ανατολικής Ασίας εμφανίζουν μεγαλύτερες συχνότητες του αλληλομόρφου T (15%).

#### rs17494990

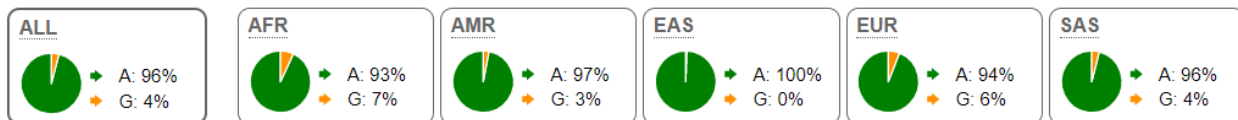
Ο πολυμορφισμός rs17494990 προκύπτει έπειτα από μετάλλαξη της θυμίνης T σε κυτοσίνη C στη θέση 55.510.285 του 11<sup>ου</sup> γονιδίου, συγκεκριμένα στη forward strand. Το SNP εντοπίζεται στο ψευδογονίδιο OR4C1P (forward strand) το οποίο παράγει δύο μετάγραφα, τα OR4C1P-201 και το OR4C1P-202. Το OR4C1P-201 έχει μήκος 937bp και η μετάλλαξη εντοπίζεται στη θέση 557, ενώ το OR4C1P-202 έχει μήκος 1569bp και η μετάλλαξη βρίσκεται στη θέση 685.



Τα δεδομένα πληθυσμιακής γενετικής για τον πολυμορφισμό rs17494990 υποδεικνύει πως το αλληλόμορφο C εμφανίζεται σε μέγιστη συχνότητα 6% στους πληθυσμούς της Ευρώπης, ενώ η συχνότητα εμφάνισης στους πληθυσμούς της Αφρικής και της Ανατολικής Ασίας είναι σχεδόν μηδενική.

#### rs17579825

Το SNP rs17579825 προκύπτει από τη μετάλλαξη της γουανίνης G σε αδενίνη A στη θέση 55.510.141 του 11<sup>ου</sup> γονιδίου και συγκεκριμένα στη forward strand. Όπως και ο πολυμορφισμός rs17494990, αυτό το SNP εντοπίζεται στο ψευδογονίδιο OR4C1P (forward strand) και συγκεκριμένα στις θέσεις 413 και 541 των μεταγράφων OR4C1P-201 και OR4C1P-202 αντίστοιχα.

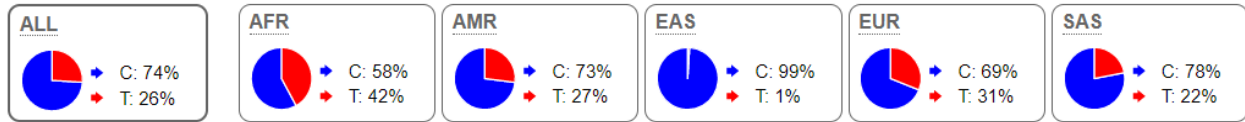


Τα δεδομένα πληθυσμιακής γενετικής για τον πολυμορφισμό rs17579825 δείχνουν πως οι πληθυσμοί της Αφρικής εμφανίζουν τη μεγαλύτερη συχνότητα εμφάνισης του αλληλομόρφου G (7%), ενώ οι πληθυσμοί της Ανατολικής Ασίας εμφανίζουν σχεδόν μηδενική συχνότητα.

#### rs2067083

Ο πολυμορφισμός rs2067083 προκύπτει από τη μετάλλαξη της κυτοσίνης C σε θυμίνη T στη θέση 15.728.271 του χρωμοσώματος 19, συγκεκριμένα στη forward strand. Το SNP εδράζεται στο γονίδιο OR10H2 (forward strand) που κωδικοποιεί για τον αντίστοιχο οσφρητικό υποδοχέα. Το μετάγραφο έχει μήκος 1029bp και μετάλλαξη εντοπίζεται στη θέση 248, ωστόσο δεν υπάρχει

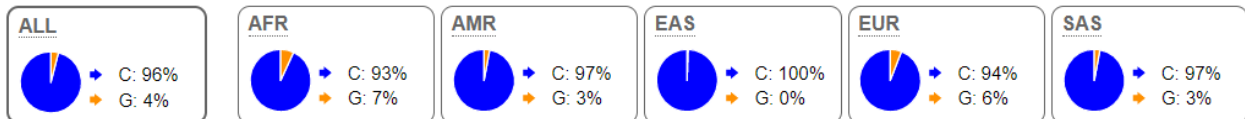
επίπτωση στο μήκος ή τη δομή της πρωτεΐνης καθώς η μετάλλαξη είναι συνώνυμη και κωδικοποιεί για το ίδιο αμινοξύ.



Τα δεδομένα πληθυσμιακής γενετικής για τον πολυμορφισμό rs2067083 υποδεικνύουν μια πολύ σημαντική συχνότητα του αλληλομόρφου T ανά τους πληθυσμούς, Αναλυτικότερα, οι πληθυσμοί της Αφρικής εμφανίζουν το αλληλόμορφο με μεγάλη συχνότητα 42%, οι πληθυσμοί της Ευρώπης με 31%, ενώ ενδιαφέρον προκαλεί το ποσοστό εμφάνισης του αλληλομόρφου στους πληθυσμούς της Ανατολικής Ασίας, μόλις 1%.

### rs2201852

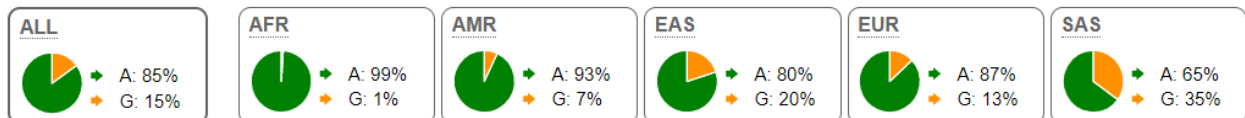
Το SNP rs2201852 προκύπτει από τη μετάλλαξη της κυτοσίνης C σε γουανίνη G ή θυμίνη T στη θέση 54.657.438 του 11<sup>ου</sup> χρωμοσώματος στη forward strand. Η μετάλλαξη εντοπίζεται στο ψευδογονίδιο του οσφρητικού υποδοχέα OR4R2P (reverse strand). Συγκεκριμένα βρίσκεται στη θέση 279 του παραγόμενου μεταγράφου μήκους 597bp.



Τα δεδομένα πληθυσμιακής γενετικής για τον πολυμορφισμό rs2201852 δείχνουν τη μέγιστη συχνότητα εμφάνισης του αλληλομόρφου G στους πληθυσμούς της Αφρικής (7%) και την σχεδόν μηδενική συχνότητα εμφάνισης στους πληθυσμούς της Ανατολικής Ασίας.

### rs34995873

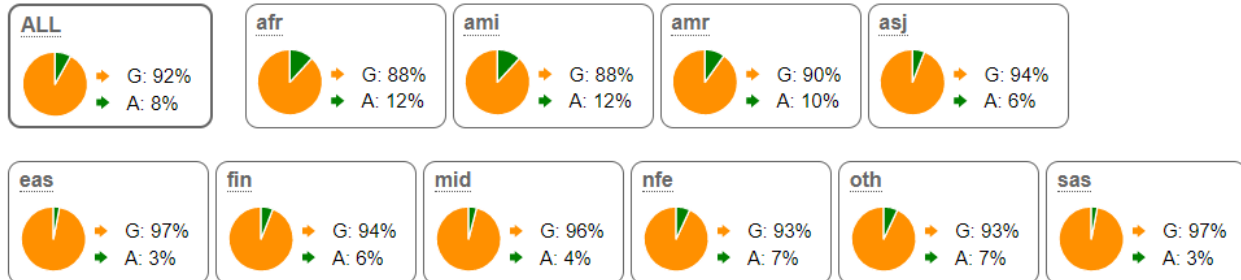
Το SNP rs34995873 προκύπτει έπειτα από μετάλλαξη της αδενίνης A σε γουανίνη G στη θέση 158.862.519 του δεύτερου γονιδίου και συγκεκριμένα στη forward strand. Η μετάλλαξη βρίσκεται στο ψευδογονίδιο OR7E28P (forward strand) και συγκεκριμένα στη θέση 209 του παραγόμενου μεταγράφου μήκους 975bp.



Τα δεδομένα πληθυσμιακής γενετικής για τον πολυμορφισμό rs34995873 υποδεικνύουν μεγάλες διακυμάνσεις έκφρασης του αλληλομόρφου G μεταξύ των πληθυσμών. Συγκεκριμένα, η μεγαλύτερη συχνότητα έκφρασης αφορά τους πληθυσμούς της Νότιας Ασίας (35%), ενώ τη μικρότερη συχνότητα εμφανίζουν οι πληθυσμοί της Αφρικής.

### rs372401357

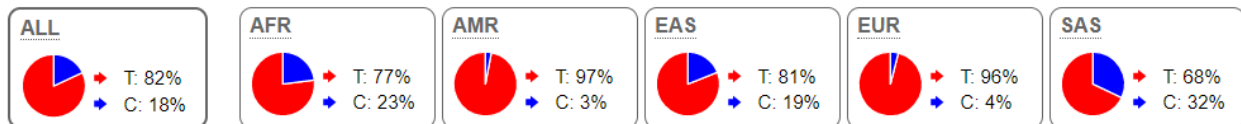
Ο πολυμορφισμός rs372401357 προκύπτει από τη μετάλλαξη της γουανίνης G σε αδενίνη A ή κυτοσίνη C στη θέση 63.742.670 του χρωμοσώματος 13, συγκεκριμένα στη forward strand. Το SNP εντοπίζεται στο ψευδογονίδιο οσφρητικού υποδοχέα OR7E156P (forward strand), συγκεκριμένα στη θέση 330 του παραγόμενου μεταγράφου μήκους 464bp.



Τα δεδομένα πληθυσμιακής γενετικής για το SNP rs372401357 δείχνουν πως τη μέγιστη συχνότητα εμφάνισης του αλληλομόρφου A έχουν οι πληθυσμοί της Αφρικής, ενώ τη μικρότερη εμφανίζουν οι πληθυσμοί της Ανατολικής Ασίας. Επίσης, υπάρχει μόλις μία καταγεγραμμένη εμφάνιση του αλληλομόρφου C και μάλιστα σε πληθυσμούς της Ευρώπης.

### rs41273541

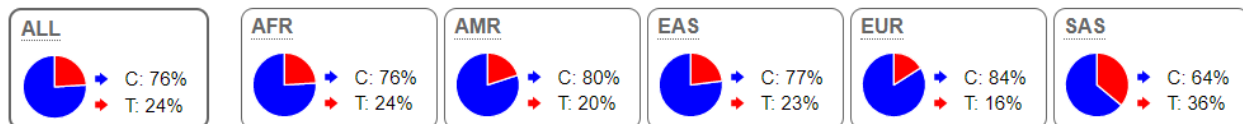
Ο πολυμορφισμός rs41273541 προκύπτει από μετάλλαξη της θυμίνης T σε αδενίνη A ή κυτοσίνη C στη θέση 158.776.888 του 1<sup>ου</sup> χρωμοσώματος, στη forward strand. Το SNP εδράζεται στο γονίδιο OR6N2 (reverse strand), το οποίο κωδικοποιεί για τον αντίστοιχο οσφρητικό υποδοχέα. Η μετάλλαξη βρίσκεται στη θέση 789 του μεταγράφου που έχει μήκος 3455bp, ενώ έχει ως αποτέλεσμα την αλλαγή του αμινοξέος στη θέση 250 της πρωτεΐνης μήκους 317 αμινοξέα. Στη θέση αυτή, το αμινοξύ ισολευκίνη I μετατρέπεται σε φαινυλαλανίνη εάν η μετάλλαξη είναι προς αδενίνη A, ή σε βαλίνη V αν η μετάλλαξη είναι προς θυμίνη T, ωστόσο το μήκος της πρωτεΐνης δεν επηρεάζεται.



Τα δεδομένα πληθυσμιακής γενετικής για το SNP rs41273541 υποδεικνύει μεγάλη διακύμανση στην συχνότητα εμφάνισης του αλληλομόρφου C, ενώ η συχνότητα του αλληλομόρφου A είναι σχεδόν μηδενική. Οι πληθυσμοί της Ανατολικής Ασίας εμφανίζουν το αλληλόμορφο C σε ποσοστό 32%, ενώ οι πληθυσμοί της Αμερικής και της Ευρώπης σημειώνουν ποσοστά 3% και 4% αντίστοιχα.

### rs5009058

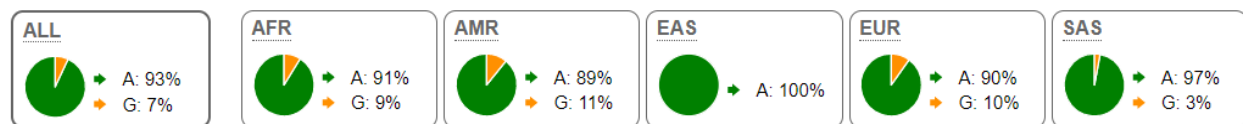
Ο πολυμορφισμός rs5009058 προκύπτει από τη μετάλλαξη της κυτοσίνης C σε γουανίνη G ή θυμίνη T στη θέση 54.660.223 του γονιδίου 11, forward strand. Ο πολυμορφισμός εδράζεται στο ψευδογονίδιο OR4A4P (forward strand) το οποίο παράγει ένα μεταγράφο μήκους 930bp. Η μετάλλαξη εντοπίζεται στη θέση 557 του μεταγράφου, το οποίο δεν κωδικοποιεί για την πρωτεΐνη του οσφρητικού υποδοχέα.



Τα δεδομένα πληθυσμιακής γενετικής για το SNP rs5009058 υποδεικνύουν μεγάλη συχνότητα του αλληλομόρφου T σε όλους τους πληθυσμούς, με συχνότητες εμφάνισης που ξεκινούν από 16% στους πληθυσμούς της Ευρώπης και φτάνουν το 36% στους πληθυσμούς της Ανατολικής Ασίας.

### rs61732336

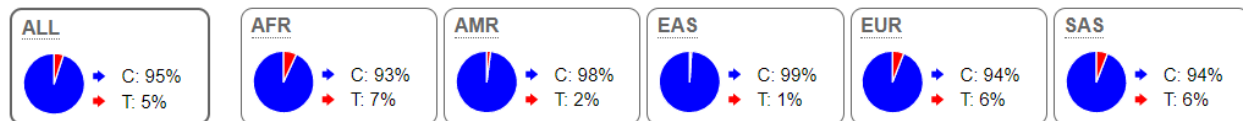
Το SNP rs61732336 προκύπτει έπειτα από μετάλλαξη της αδενίνης A σε γουανίνη G στη θέση 247.588.807 του 1<sup>ου</sup> χρωμοσώματος, συγκεκριμένα στη forward strand. Ο πολυμορφισμός εντοπίζεται στο γονίδιο που κωδικοποιεί για τον οσφρητικό υποδοχέα OR2G2 (forward strand). Η μετάλλαξη εντοπίζεται στη θέση 448 του μεταγράφου μήκους 954bp και προκαλεί τη μετατροπή της μεθειονίνης M σε βαλίνη V στη θέση 150 της πρωτεΐνης μήκους 317 αμινοξέων που παράγεται.



Τα δεδομένα πληθυσμιακής γενετικής για τον πολυμορφισμό rs61732336 δείχνουν μικρές συχνότητες εμφάνισης του αλληλομόρφου G, συγκεκριμένα στους πληθυσμούς της Αμερικής η συχνότητά του είναι 11%, ενώ στους πληθυσμούς της Ανατολικής Ασίας παρατηρείται κατά 100% το αλληλόμορφο A.

### rs61735897

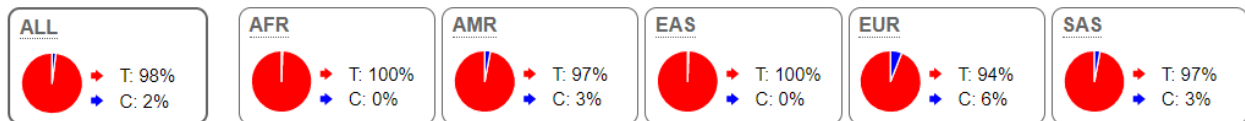
Ο πολυμορφισμός rs61735897 προκύπτει από τη μετάλλαξη της κυτοσίνης C σε θυμίνη T στη θέση 6.057.798 του 11<sup>ου</sup> γονιδίου και συγκεκριμένα στη forward strand. Εδράζεται στο ψευδογονίδιο OR52L2P (reverse strand) από το οποίο προκύπτει ένα μεταγράφο μήκους 990bp. Η μετάλλαξη εντοπίζεται στη θέση 478 του μεταγράφου, το οποίο όμως δεν κωδικοποιεί για πρωτεΐνη.



Τα δεδομένα πληθυσμιακής γενετικής υποδεικνύουν πως το μετάγραφο T εμφανίζει χαμηλές συχνότητες εμφάνισης. Συγκεκριμένα, εμφανίζει μεγαλύτερη συχνότητα στους πληθυσμούς της Αφρικής (7%) και μικρότερη στους πληθυσμούς της Ανατολικής Ασίας (1%).

#### rs61891402

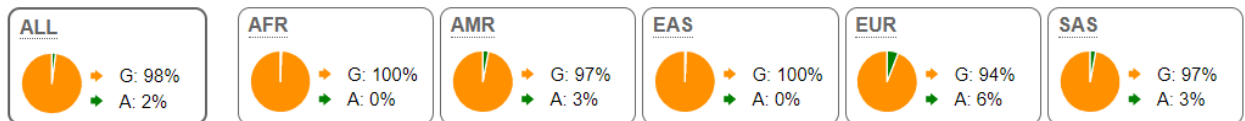
Ο πολυμορφισμός rs61891402 προκύπτει από τη μετάλλαξη της θυμίνης T σε κυτοσίνη C στη θέση 54.683.414 του χρωμοσώματος 11 στη forward strand. Εντοπίζεται στο γονίδιο OR4A8 (forward strand) το οποίο κωδικοποιεί για τον αντίστοιχο οσφρητικό υποδοχέα. Η μετάλλαξη εντοπίζεται στη θέση 538 του μεταγράφου μήκους 945bp. Η παραγόμενη πρωτεΐνη έχει μήκος 315 αμινοξέα και η μετάλλαξη εντοπίζεται στη θέση 180. Το αποτέλεσμα της μετάλλαξης είναι η μετατροπή της τυροσίνης Y σε ιστιδίνη H και έχει σαν συνέπεια την απουσία λειτουργικότητας της πρωτεΐνης (LoF ή Loss of Function).



Τα δεδομένα πληθυσμιακής γενετικής για το SNP rs61891402 δείχνουν πολύ χαμηλά ποσοστά εμφάνισης του αλληλομόρφου C, συγκεκριμένα εμφανίζεται σε ποσοστό μόλις 6% στους πληθυσμούς της Ευρώπης και 0% στους πληθυσμούς της Αφρικής και της Ανατολικής Ασίας.

#### rs61891425

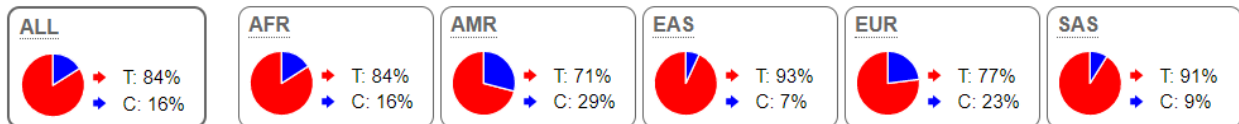
Το SNP rs61891425 προκύπτει από τη μετάλλαξη της γουανίνης G σε αδενίνη A ή θυμίνη T στη θέση 54.667.903 του χρωμοσώματος 11, συγκεκριμένα στη forward strand. Ο πολυμορφισμός εντοπίζεται στο ψευδογονίδιο OR4A2P (forward strand). Η μετάλλαξη βρίσκεται στη θέση 606 του μεταγράφου μήκους 913bp που παράγεται, το οποίο δεν κωδικοποιεί για την πρωτεΐνη του οσφρητικού υποδοχέα.



Τα δεδομένα πληθυσμιακής γενετικής για τον πολυμορφισμό rs61891423 δείχνουν μια ισχυρή επικράτηση του αλληλομόρφου G, καθώς η συχνότητα εμφάνισης του αλληλομόρφου A είναι μόλις 6% στους πληθυσμούς της Ευρώπης και 3% στους πληθυσμούς της Αμερικής και της Νότιας Ασίας.

#### rs61892124

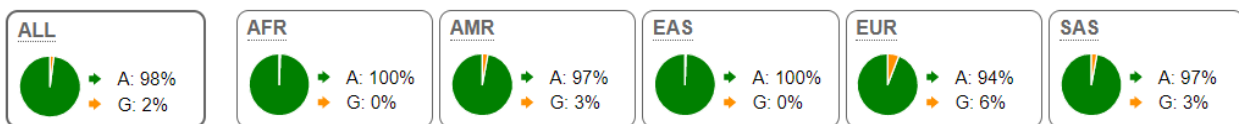
Το SNP rs61892124 προκύπτει από τη μετάλλαξη της θυμίνης T σε κυτοσίνη C στη θέση 5.527.743 του 11<sup>ου</sup> χρωμοσώματος, στη forward strand. Η μετάλλαξη εδράζεται στο ψευδογονίδιο OR52V1P (reverse strand) και εντοπίζεται στη θέση 432 του μεταγράφου μήκους 898 που παράγεται, το οποίο δεν κωδικοποιεί για πρωτεΐνη.



Τα δεδομένα πληθυσμιακής γενετικής για τον πολυμορφισμό rs61892124 υποδεικνύουν μεγάλη διακύμανση στις συχνότητες εμφάνισης του αλληλομόρφου C ανάμεσα στους πληθυσμούς. Η μικρότερη συχνότητα εμφάνισης εντοπίζεται στους πληθυσμούς της Ανατολικής Ασίας (7%), ενώ η μεγαλύτερη στους πληθυσμούς της Αμερικής (29%).

#### rs61916491

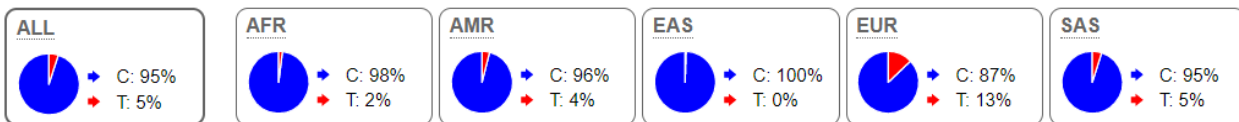
Ο πολυμορφισμός rs61916491 προκύπτει από τη μετάλλαξη της αδενίνης A σε γουανίνη G στη θέση 48.526.281 του 11<sup>ου</sup> χρωμοσώματος. Η μετάλλαξη εδράζεται στο ψευδογονίδιο OR4A43P (forward strand) και συγκεκριμένα βρίσκεται στη θέση 218 του μεταγράφου μήκους 908bp που παράγεται.



Τα δεδομένα πληθυσμιακής γενετικής δείχνουν πως οι συχνότητες εμφάνισης του αλληλομόρφου G κυμαίνονται από 0% σε πληθυσμούς της Αφρικής και της Ανατολικής Ασίας, έως και 6% στους πληθυσμούς της Ευρώπης.

#### rs61993889

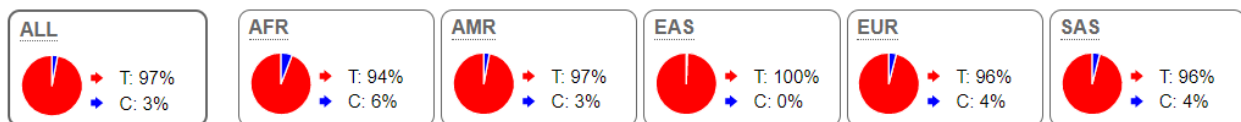
Ο πολυμορφισμός rs61993889 προκύπτει από τη μετάλλαξη της κυτοσίνης C σε αδενίνη A ή θυμίνη T στη θέση 20.229.430 του 14<sup>ου</sup> χρωμοσώματος, στη forward strand. Το SNP εντοπίζεται στο γονίδιο OR11H7 (forward strand), το οποίο κωδικοποιεί για τον αντίστοιχο οσφρητικό υποδοχέα. Συγκεκριμένα, η μετάλλαξη εντοπίζεται στη θέση 29 του μεταγράφου μήκους 945bp και τελικά στη θέση 10 της πρωτεΐνης που παράγεται, μήκους 314 αμινοξέων. Το αποτέλεσμα της μετάλλαξης σε αδενίνη A είναι η μετατροπή της θρεονίνης T σε λυσίνη K, ενώ η μετάλλαξη σε θυμίνη T οδηγεί στη μετατροπή της θρεονίνης T σε μεθειονίνη M. Και στις δύο περιπτώσεις το μήκος της πρωτεΐνης δεν επηρεάζεται.



Τα δεδομένα πληθυσμιακής γενετικής δείχνουν πως μέγιστη συχνότητα εμφάνισης του αλληλομόρφου T παρατηρείται στους πληθυσμούς της Ευρώπης (13%), ενώ στους πληθυσμούς της Αφρικής παρατηρείται συχνότητα μόλις 2%. Ακόμη, η συχνότητα εμφάνισης του αλληλομόρφου στους πληθυσμούς της Ανατολικής Ασίας είναι σχεδόν μηδενική.

### rs74777917

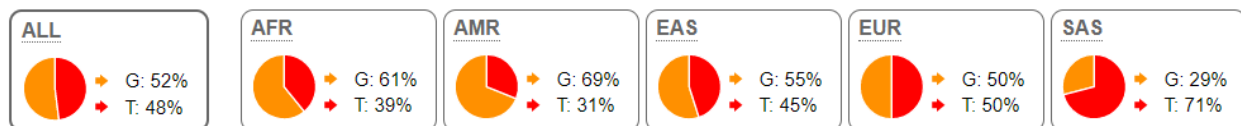
Το SNP rs74777917 προκύπτει από τη μετάλλαξη της θυμίνης T σε κυτοσίνη C στη θέση 55.343.537 του χρωμοσώματος 11, στη forward strand. Η μετάλλαξη εντοπίζεται στο γονίδιο που κωδικοποιεί για τον οσφρητικό υποδοχέα OR4A16 (forward strand) και συγκεκριμένα βρίσκεται στη θέση 337 του παραγόμενου μεταγράφου μήκους 987bp. Το αποτέλεσμα της μετάλλαξης είναι συνώνυμο κωδικόνιο, συνεπώς η λευκίνη L στη θέση 113 της πρωτεΐνης δεν επηρεάζεται.



Τα δεδομένα πληθυσμιακής γενετικής για τον πολυμορφισμό rs74777917 δείχνουν πολύ μικρές συχνότητες εμφάνισης του αλληλομόρφου C, με υψηλότερη αυτή των πληθυσμών της Αφρικής (6%).

### rs7881794

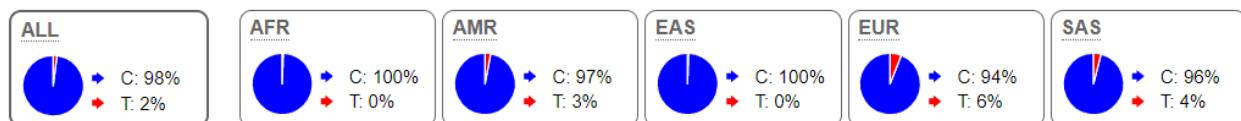
Το SNP rs7881794 προκύπτει από τη μετάλλαξη της γουανίνης G σε αδενίνη A ή θυμίνη T στη θέση 131.324.680 του φυλετικού χρωμοσώματος X, στη forward strand. Ο πολυμορφισμός εδράζεται στο ψευδογονίδιο OR11N1P (reverse strand) και συγκεκριμένα βρίσκεται στη θέση 634 του μεταγράφου μήκους 923bp που παράγεται.



Τα δεδομένα πληθυσμιακής γενετικής για τον πολυμορφισμό αυτό υποδεικνύουν πως το αλληλόμορφο T εντοπίζεται σε πολύ μεγάλα ποσοστά ανάμεσα στους πληθυσμούς. Αξίζει να σημειωθεί πως στους πληθυσμούς της Νότιας Ασίας, το αλληλόμορφο επικρατεί σε συχνότητα εμφάνισης με 71%, ενώ η χαμηλότερη συχνότητα εμφάνισης είναι 31% στους πληθυσμούς της Αμερικής.

### rs7927370

Ο πολυμορφισμός rs7927370 προκύπτει από τη μετάλλαξη της κυτοσίνης C σε θυμίνη T στη θέση 55.368.743 του χρωμοσώματος 11, forward stand. Η μετάλλαξη εδράζεται στο γονίδιο OR4A15 (forward strand) το οποίο κωδικοποιεί για τον αντίστοιχο οσφρητικό υποδοχέα. Η μετάλλαξη βρίσκεται στη θέση 770 του μεταγράφου μήκους 945bp και στη θέση 257 της πρωτεΐνης μήκους 314 αμινοξέων. Ως αποτέλεσμα, η αλανίνη A μετατρέπεται σε βαλίνη V, χωρίς να επηρεάζεται το μήκος της πρωτεΐνης.



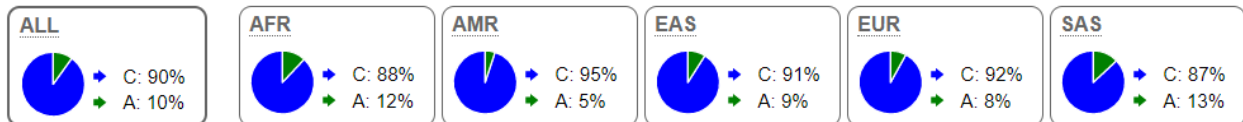


Τα δεδομένα πληθυσμιακής γενετικής για το SNP rs7927370 υποδεικνύουν μικρή συχνότητα εμφάνισης στους πληθυσμούς, με μόλις 6% παρουσία στους πληθυσμούς της Ευρώπης και 3% στους πληθυσμούς της Αμερικής.

#### 4.2.2. Κοινά SNPS μεταξύ ολιγοζωοσπερμικών και τερατοζωοσπερμικών ατόμων

##### rs10140652

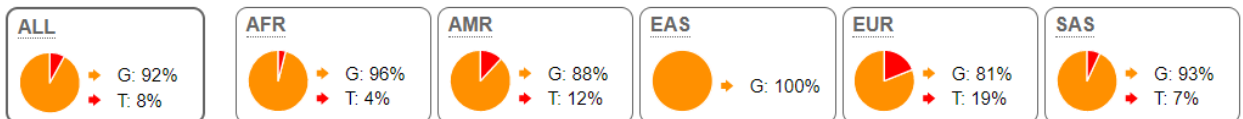
Ο πολυμορφισμός rs10140652 προκύπτει έπειτα από μετάλλαξη της κυτοσίνης C σε αδενίνη A ή θυμίνη T στη θέση 20.223.729 του χρωμοσώματος 14, συγκεκριμένα στη forward strand. Ο πολυμορφισμός βρίσκεται στο γονίδιο OR11H6 (forward strand) που κωδικοποιεί για τον αντίστοιχο οσφρητικό υποδοχέα. Η μετάλλαξη εντοπίζεται στη θέση 20 του παραγόμενου μεταγράφου, το οποίο έχει μήκος 993bp. Η πρωτεΐνη έχει μήκος 330 αμινοξέα το οποίο δεν επηρεάζεται από την μετάλλαξη, η οποία προκαλεί την μετατροπή του αμινοξέος 7 από σερίνη S σε φαινυλαλανίνη F όταν η μετάλλαξη στο μετάγραφο αφορά θυμίνη T, ή τυροσίνη Y, εάν η μετάλλαξη στο μετάγραφο είναι προς αδενίνη A.



Τα δεδομένα πληθυσμιακής γενετικής για τον πολυμορφισμό rs10140652 υποδεικνύουν πως το αλληλόμορφο A εντοπίζεται στους πληθυσμούς της Ανατολικής Ασίας με συχνότητα εμφάνισης 13%, ενώ η χαμηλότερη συχνότητα παρατηρείται στους πληθυσμούς της Αμερικής (5%).

##### rs111494772

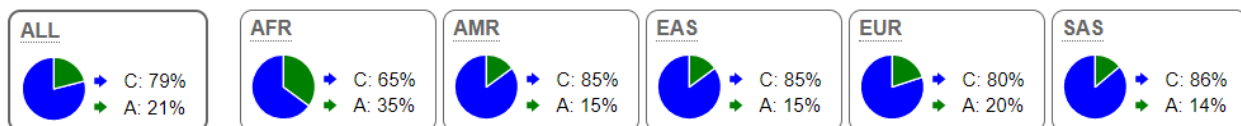
Ο πολυμορφισμός rs111494772 προκύπτει από τη μετάλλαξη της γουανίνης G σε οποιοδήποτε άλλη νουκλεοτιδική βάση στη θέση 158.854.524 του 2<sup>ου</sup> χρωμοσώματος, στη forward strand. Η μετάλλαξη εντοπίζεται στο ψευδογονίδιο OR7E89P (forward strand) και συγκεκριμένα βρίσκεται στη θέση 770 του παραγόμενου μεταγράφου μήκους 822bp.



Τα δεδομένα πληθυσμιακής γενετικής υποδεικνύουν πως τα αλληλόμορφα A και C εμφανίζονται σπάνια σε όλους τους πληθυσμούς. Το αλληλόμορφο T έχει μεγαλύτερη συχνότητα εμφάνισης στους πληθυσμούς της Ευρώπης (19%) και χαμηλότερη στους πληθυσμούς της Αφρικής (4%).

### rs1681596

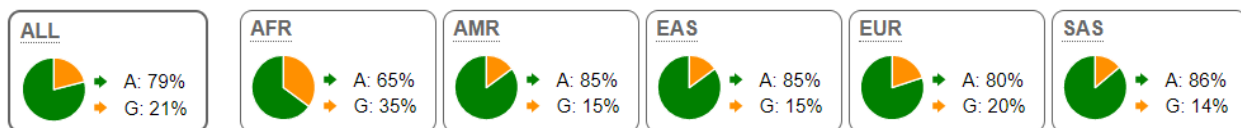
Το SNP rs1681596 προκύπτει από τη μετάλλαξη της κυτοσίνης C σε αδενίνη A στη θέση 22.633.977 του χρωμοσώματος 14, στη forward strand. Το SNP εδράζεται στο γονίδιο OR6J1 (reverse strand) το οποίο κωδικοποιεί για τον αντίστοιχο οσφρητικό υποδοχέα. Συγκεκριμένα, η μετάλλαξη εντοπίζεται στη θέση 1117 του μεταγράφου μήκους 4165bp. και στη θέση 279 της παραγόμενης πρωτεΐνης μήκους 347 αμινοξέων. Το αποτέλεσμα της μετάλλαξης είναι η μετατροπή της βαλίνης V σε λευκίνη L, ενώ το μήκος της πρωτεΐνης δεν επηρεάζεται.



Τα δεδομένα πληθυσμιακής γενετικής υποδεικνύουν μεγάλες συχνότητες του αλληλομόρφου A ανά τους πληθυσμούς. Αναλυτικότερα, μεγάλη συχνότητα εμφάνισης του αλληλομόρφου παρατηρείται στους πληθυσμούς της Αφρικής (35%), ενώ το μικρότερο αλλά εξίσου σημαντικό ποσοστό παρατηρείται στους πληθυσμούς της Νότιας Ασίας (14%).

### rs1681597

Ο πολυμορφισμός rs1681597 προκύπτει από τη μετάλλαξη της αδενίνης A σε γουανίνη G ή θυμίνη T στη θέση 22.633.991 του 14<sup>ου</sup> χρωμοσώματος, στη forward strand. Ο πολυμορφισμός βρίσκεται στο γονίδιο OR6J1 (reverse strand) που κωδικοποιεί για τον αντίστοιχο οσφρητικό υποδοχέα και η μετάλλαξη εντοπίζεται στη θέση 1103 του μεταγράφου μήκους 4165bp. Εάν η μετάλλαξη είναι προς γουανίνη G, το αποτέλεσμά της είναι η μετατροπή της λευκίνης L στη θέση 274 σε σερίνη S χωρίς να επηρεάζεται το μήκος της πρωτεΐνης 347 αμινοξέων. Εάν η μετάλλαξη είναι προς θυμίνη T οι συνέπειες είναι πιο σοβαρές, καθώς τότε δημιουργείται κωδικόνιο λήξης TAG οδηγώντας στον πρόωρο τερματισμό της μετάφρασης και συνεπώς σε μικρότερη πρωτεΐνη.

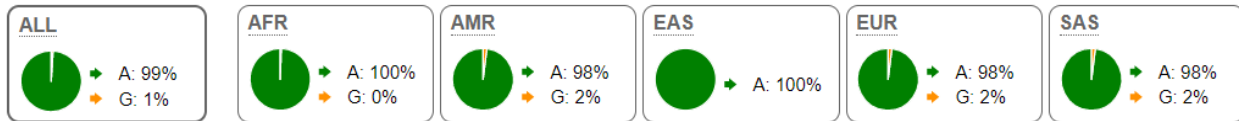


Τα δεδομένα πληθυσμιακής γενετικής για τον πολυμορφισμό rs1681597 υποδεικνύουν σημαντική συχνότητα εμφάνισης του αλληλομόρφου G, συγκεκριμένα από 14% στους πληθυσμούς της Νότιας Ασίας έως και 35% στους πληθυσμούς της Αφρικής. Για το αλληλόμορφο T δεν υπάρχει μεγάλος αριθμός καταγραφών, με αποτέλεσμα η συχνότητα εμφάνισής του να θεωρείται σχεδόν μηδενική.

### rs17277263

Ο πολυμορφισμός rs17277263 προκύπτει από τη μετάλλαξη της αδενίνης A σε γουανίνη G στη θέση 20.243.652 του χρωμοσώματος 14, συγκεκριμένα στη forward strand. Η μετάλλαξη βρίσκεται στο γονίδιο OR11H4 (forward strand) το οποίο κωδικοποιεί για τον αντίστοιχο

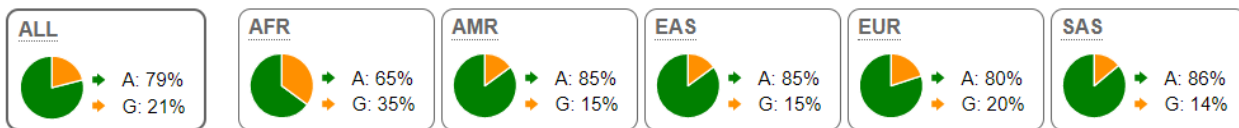
οσφρητικό υποδοχέα. Από το γονίδιο προκύπτουν δύο μετάγραφα, τα OR11H4-201 και OR11H4-202, και τα δύο εκ των οποίων κωδικοποιούν για την πρωτεΐνη του υποδοχέα. Το μετάγραφο OR11H4-201 έχει μήκος 1585bp και η μετάλλαξη εντοπίζεται στη θέση 888, ενώ το μετάγραφο OR11H4-202 έχει μήκος 1082bp και η μετάλλαξη εντοπίζεται στη θέση 914. Η παραγόμενη πρωτεΐνη έχει μήκος 314 αμινοξέα και η μετάλλαξη εντοπίζεται στη θέση 277, οδηγώντας σε συνώνυμο κωδικόνιο άρα προκαλώντας καμία αλλαγή στην αλληλουχία και το μήκος της πρωτεΐνης.



Τα δεδομένα πληθυσμιακής γενετικής υποδεικνύει πως το αλληλόμορφο G δεν παρατηρείται συχνά, καθώς έχει συχνότητα εμφάνισης μόλις 2% στους πληθυσμούς της Αμερικής και της Νότιας Ασίας και σχεδόν μηδενική συχνότητα στους πληθυσμούς της Αφρικής και της Ανατολικής Ασίας.

#### rs1753429

Ο πολυμορφισμός rs1753429 προκύπτει από μετάλλαξη της αδενίνης A σε γουανίνη G ή θυμίνη T στη θέση 22.633.879 του χρωμοσώματος 14, στη forward strand. Ο πολυμορφισμός βρίσκεται στο γονίδιο OR6J1 (reverse strand) το οποίο κωδικοποιεί για τον αντίστοιχο οσφρητικό υποδοχέα. Η μετάλλαξη εντοπίζεται στη θέση 1215 του μεταγράφου μήκους 4165bp και αναλόγως τη νουκλεοτιδική βάση, μπορεί να έχει τις εξής επιπτώσεις στην πρωτεΐνη: εάν η μετάλλαξη είναι προς G, τότε προκύπτει συνώνυμο κωδικόνιο το οποίο δεν οδηγεί σε αλλαγή του αμινοξέος στη θέση 311 της πρωτεΐνης, εάν η μετάλλαξη είναι προς θυμίνη, τότε το αμινοξύ φαινυλαλανίνη F μετατρέπεται σε λευκίνη L. Και στις δύο περιπτώσεις το μήκος της πρωτεΐνης του υποδοχέα δεν επηρεάζεται (347 αμινοξέα).

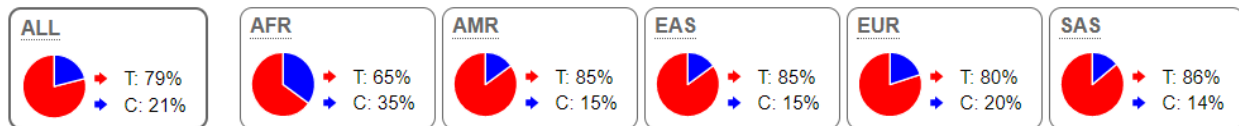


Τα δεδομένα πληθυσμιακής γενετικής για τον πολυμορφισμό rs1753429 υποδεικνύουν πως το αλληλόμορφο G παρατηρείται συχνά στους πληθυσμούς. Συγκεκριμένα, παρατηρείται συχνότητα εμφάνισης του αλληλομόρφου G 35% στους πληθυσμούς της Αφρικής, ενώ εξίσου σημαντικό ποσοστό παρατηρείται και στους πληθυσμούς της Νότιας Ασίας 14%.

#### rs3751481

Ο πολυμορφισμός rs3751481 προκύπτει από τη μετάλλαξη της θυμίνης T σε κυτοσίνη C στη θέση 22.634.377 του χρωμοσώματος 14, στη forward strand. Η μετάλλαξη εντοπίζεται το γονίδιο OR6J1 (reverse strand) το οποίο κωδικοποιεί για τον αντίστοιχο οσφρητικό υποδοχέα. Η μετάλλαξη εντοπίζεται στη θέση 717 του παραγόμενου μεταγράφου μήκους 4165bp και στη

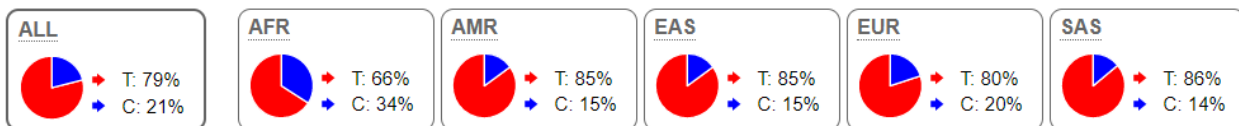
θέση 145 της τελικής πρωτεΐνης μήκους 347 αμινοξέων. Το αποτέλεσμα της μετάλλαξης είναι ένα συνώνυμο κωδικόνιο, συνεπώς η βαλίνη V στη θέση αυτή καθώς και το συνολικό μήκος της πρωτεΐνης δεν επηρεάζονται.



Τα δεδομένα πληθυσμιακής γενετικής για το SNP rs3751481 υποδεικνύουν πως η συχνότητα εμφάνισης του αλληλομόρφου C είναι μεγαλύτερη στους πληθυσμούς της Αφρικής (35%) ενώ στους πληθυσμούς της Νότιας Ασίας η συχνότητα εμφάνισης είναι 14%.

### rs3751482

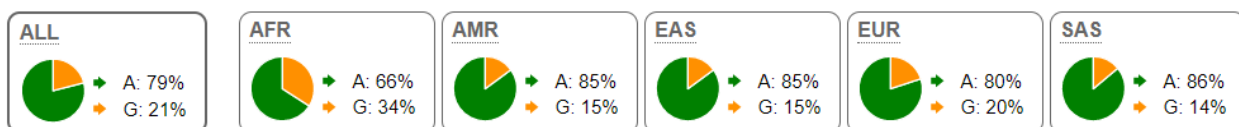
Το SNP rs3751482 προκύπτει από τη μετάλλαξη της θυμίνης T σε κυτοσίνη C στη θέση 22.634.442 του 14<sup>ου</sup> χρωμοσώματος, στη forward strand. Ο πολυμορφισμός εντοπίζεται στο γονίδιο OR6J1 (reverse strand) που κωδικοποιεί για τον αντίστοιχο οσφρητικό υποδοχέα. Η μετάλλαξη βρίσκεται στη θέση 652 του μεταγράφου 4165 και στη θέση 124 της παραγόμενης πρωτεΐνης μήκους 347. Στη θέση αυτή, η μετάλλαξη προκαλεί τη μετατροπή της θρεονίνης T σε αλανίνη A, χωρίς να επηρεάζεται το μήκος της πρωτεΐνης.



Τα δεδομένα πληθυσμιακής γενετικής δείχνουν υψηλά ποσοστά εμφάνισης του αλληλομόρφου C. Στους πληθυσμούς της Αφρικής το αλληλόμορφο παρατηρείται με συχνότητα 34% ενώ μικρότερη συχνότητα παρατηρείται στους πληθυσμούς της Νότιας Ασίας με 14%.

### rs3751483

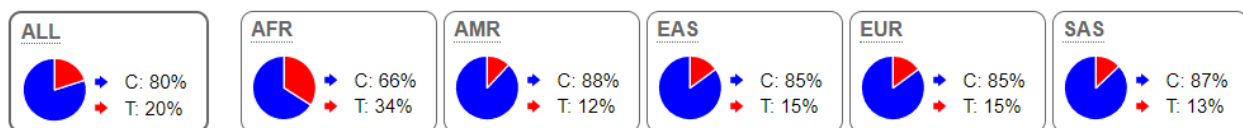
Ο πολυμορφισμός rs3751483 προκύπτει από τη μετάλλαξη της αδενίνης A σε γουανίνη G ή θυμίνη T στη θέση 22.634.449 του 14<sup>ου</sup> χρωμοσώματος, στη forward strand. Εδράζεται στο γονίδιο OR6J1 (reverse strand) το οποίο κωδικοποιεί για τον αντίστοιχο οσφρητικό υποδοχέα. Η μετάλλαξη εντοπίζεται στη θέση 645 του μεταγράφου μήκους 4165bp και στη θέση 121 της πρωτεΐνης μήκους 347 αμινοξέων. Ενδιαφέρον προκαλεί το γεγονός ότι και οι δύο πιθανές μεταλλάξεις οδηγούν σε συνώνυμα κωδικόνια, συνεπώς το αμινοξύ αργινίνη R στη θέση αυτή αλλά και το μήκος της πρωτεΐνης δεν επηρεάζονται.



Τα δεδομένα πληθυσμιακής γενετικής για τον πολυμορφισμό rs3751483 δείχνουν πως συχνότητα εμφάνισης του αλληλομόρφου G είναι μέγιστη στους πληθυσμούς της Αφρικής (34%) και ελάχιστη στους πληθυσμούς της Νότιας Ασίας (14%).

### rs3751484

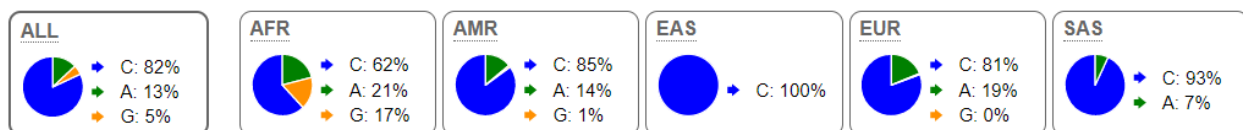
Ο πολυμορφισμός rs3751484 προκύπτει από τη μετάλλαξη της κυτοσίνης C σε θυμίνη T στη θέση 22.634.450 του χρωμοσώματος 14, στη forward strand. Ο πολυμορφισμός βρίσκεται στο γονίδιο OR6J1 (reverse strand) που κωδικοποιεί για τον αντίστοιχο οσφρητικό υποδοχέα. Η μετάλλαξη εντοπίζεται στη θέση 644 του μεταγράφου μήκους 4165bp και στη θέση 362 της παραγόμενης πρωτεΐνης. Αποτέλεσμα της μετάλλαξης είναι η μετατροπή της αργινίνης R σε ιστιδίνη H, ενώ το τελικό μήκος της πρωτεΐνης δεν επηρεάζεται.



Τα δεδομένα πληθυσμιακής γενετικής για τον πολυμορφισμό rs3751484 υποδεικνύουν πως το αλληλόμορφο T εμφανίζει μεγαλύτερη συχνότητα στους πληθυσμούς της Αφρικής (34%) και μικρότερη στους πληθυσμούς της Αμερικής (12%).

### rs59737258

Το SNP rs59737258 προκύπτει από τη μετάλλαξη της κυτοσίνης C σε αδενίνη A ή γουανίνη G στη θέση 158.854.469 του 2<sup>ου</sup> χρωμοσώματος, forward strand. Ο πολυμορφισμός εντοπίζεται στο ψευδογονίδιο OR7E89P (forward strand) και συγκεκριμένα η μετάλλαξη βρίσκεται στη θέση 715 του παραγόμενου μεταγράφου μήκους 822bp.

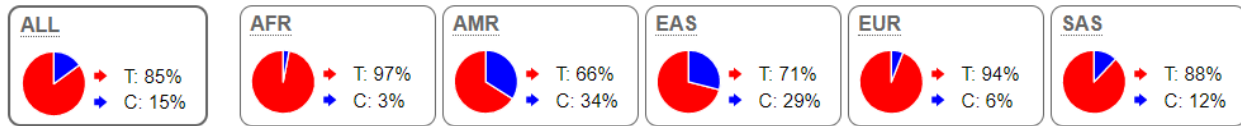


Τα δεδομένα πληθυσμιακής γενετικής για τον πολυμορφισμό rs59737258 υποδεικνύουν μεγάλη διακύμανση στις συχνότητες εμφάνισης των αλληλομόρφων ανάμεσα στους πληθυσμούς. Συγκεκριμένα, η συχνότητα εμφάνισης του αλληλομόρφου A ξεκινάει από 7% στους πληθυσμούς της Νότιας Ασίας και φτάνει έως 21% στους πληθυσμούς της Αφρικής. Η συχνότητα του αλληλομόρφου G ξεκινάει από 1% στους πληθυσμούς της Αμερικής και φτάνει έως 17% στους πληθυσμούς της Αφρικής, ωστόσο παρατηρείται μηδενική συχνότητα στους πληθυσμούς της Ευρώπης. Τόσο το αλληλόμορφο A όσο και το αλληλόμορφο G εμφανίζουν σχεδόν μηδενική συχνότητα στους πληθυσμούς της Ανατολικής Ασίας.

### rs61731397

Ο πολυμορφισμός rs61731397 προκύπτει από τη μετάλλαξη της θυμίνης T σε κυτοσίνη C στη θέση 144.074.464 του γονιδίου 7, στη forward strand. Ο πολυμορφισμός βρίσκεται στο γονίδιο OR2A25 (forward strand) το οποίο κωδικοποιεί για τον αντίστοιχο οσφρητικό υποδοχέα. Από το γονίδιο προκύπτουν 3 μεταγράφα, τα OR2A25-201, OR2A25-202 και OR2A25-203, μήκους 1014bp, 1733bp και 1742bp αντίστοιχα. Από τα τρία μεταγράφα κωδικοποιείται ο ίδιος

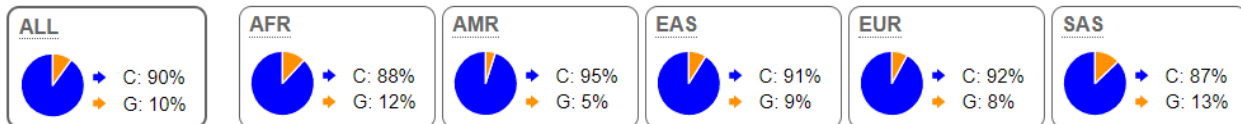
οσφρητικός υποδοχέας μήκους 310 αμινοξέων και το αποτέλεσμα της μετάλλαξης είναι η μετατροπή της βαλίνης V σε αλανίνη A στη θέση 82 της πρωτεΐνης.



Τα δεδομένα πληθυσμιακής γενετικής υποδεικνύουν μεγάλες διακυμάνσεις στις συχνότητες εμφάνισης του αλληλομόρφου C ανάμεσα στους πληθυσμούς. Η μέγιστη συχνότητα εμφάνισης του αλληλομόρφου παρατηρείται στους πληθυσμούς της Αμερικής (34%), ενώ η μικρότερη παρατηρείται στους πληθυσμούς της Αφρικής (3%).

#### rs9323693

Το SNP rs9323693 προκύπτει από τη μετάλλαξη της κυτοσίνης C σε αδενίνη A ή γουανίνη G στη θέση 20.223.803 του χρωμοσώματος 14, στη forward strand. Η μετάλλαξη εδράζεται στο γονίδιο OR11H6 (forward strand) το οποίο κωδικοποιεί για τον αντίστοιχο οσφρητικό υποδοχέα. Η μετάλλαξη εντοπίζεται στη θέση 94 του μεταγράφου μήκους 993bp και στη θέση 32 της παραγόμενης πρωτεΐνης μήκους 330 αμινοξέων. Αποτέλεσμα της μετάλλαξης είναι η μετατροπή της λευκίνης L σε ισολευκίνη I ή βαλίνη V, εάν η μετάλλαξη είναι προς αδενίνη A ή γουανίνη G αντίστοιχα, ενώ το τελικό μήκος της πρωτεΐνης δεν επηρεάζεται.

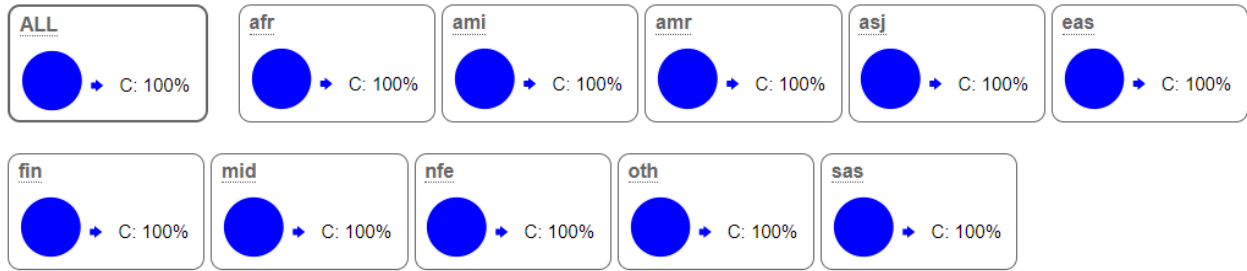


Τα δεδομένα πληθυσμιακής γενετικής για τον πολυμορφισμό rs9323693 υποδεικνύουν πως η μέγιστη συχνότητα εμφάνισης του αλληλομόρφου G αφορά τους πληθυσμούς της Νότιας Ασίας (13%) ενώ η μικρότερη συχνότητα παρατηρείται στους πληθυσμούς της Αμερικής (5%).

#### **4.2.3. Κοινά SNPs μεταξύ ασθενοζωοσπερμικών και τερατοζωοσπερμικών ατόμων**

#### rs1027075753

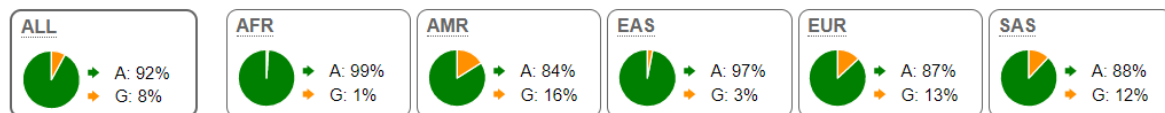
Το SNP rs1027075753 προκύπτει από τη μετάλλαξη της κυτοσίνης C σε θυμίνη T στη θέση 75.370.640 του 3ου χρωμοσώματος και συγκεκριμένα στην forward strand. Το SNP εντοπίζεται στο γονίδιο OR7E55P (reverse strand), το οποίο αποτελεί ψευδογονίδιο της οικογένειας των οσφρητικών υποδοχέων. Η μετάλλαξη εντοπίζεται στη θέση 703 του παραγόμενου μεταγράφου μήκους 895bp.



Τα δεδομένα πληθυσμιακής γενετικής για τον πολυμορφισμό rs1027075753 δείχνουν πως το αλληλόμορφο C είναι σχεδόν απόλυτα επικρατέστερο του αλληλομόρφου T, το οποίο εμφανίζεται σε πληθυσμούς της Ευρώπης εκτός της Φινλανδίας.

### rs17422585

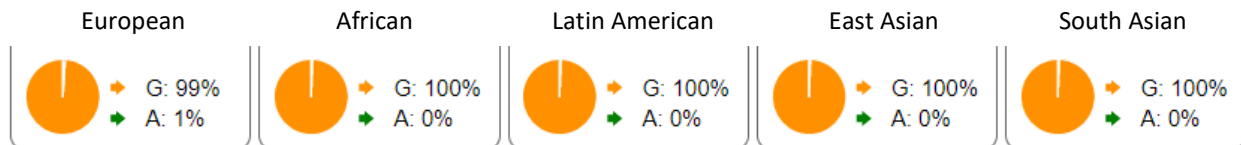
Το SNP rs17422585 προκύπτει από την μετάλλαξη της αδενίνης A σε γουανίνη G στη θέση 159.406.165 του 1<sup>ου</sup> χρωμοσώματος, συγκεκριμένα στην forward strand. Η μετάλλαξη εδράζεται στο ψευδογονίδιο OR10J9P (reverse strand) και εντοπίζεται στην θέση 245 του παραγόμενου μεταγράφου μήκους 987bp.



Τα δεδομένα πληθυσμιακής γενετικής για το SNP rs17422585 υποδεικνύουν πως το μικρότερο ποσοστό εμφάνισης του αλληλομόρφου G εντοπίζεται σε πληθυσμούς της Αφρικής με μόλις 1%, ενώ το μεγαλύτερο ποσοστό αφορά πληθυσμούς της Αμερικής με 16%.

### rs4283140

Το SNP rs4283140 προκύπτει από τη μετάλλαξη της γουανίνης G σε αδενίνη A ή κυτοσίνη C στη θέση 19.760.265 του 14<sup>ου</sup> χρωμοσώματος και συγκεκριμένα στην forward strand. Η μετάλλαξη αυτή εντοπίζεται σε δύο γονίδια, το OR4H12P (forward strand) και το OR4N2 (forward strand). Το OR4H12P αποτελεί ψευδογονίδιο οσφρητικού υποδοχέα, βρίσκεται στην forward strand και η μετάλλαξη βρίσκεται στη θέση 398 του παραγόμενου μεταγράφου μήκους 907. Το γονίδιο OR4N2 εντοπίζεται επίσης στην forward strand και κωδικοποιεί για τον αντίστοιχο οσφρητικό υποδοχέα. Το γονίδιο αυτό έχει 4 μετάγραφα: τα OR4N2-201, OR4N2-202, OR4N2-203 και OR4N2-204 τα οποία προκύτουν έπειτα από εναλλακτικό μάτισμα. Τα μετάγραφα OR4N2-201, OR4N2-203 και OR4N2-204 παράγουν την ίδια πρωτεΐνη 307aa παρά τις διαφορές στα μήκη των μεταγράφων (924bp, 2889bp και 3331bp αντίστοιχα). Επίσης, αξίζει να σημειωθεί πως το μετάγραφο OR4N2-202 παράγει μια διαφορετική πρωτεΐνη, την 21aa. Και οι δύο πρωτεΐνες σχετίζονται με τον οσφρητικό υποδοχέα OR4N2.

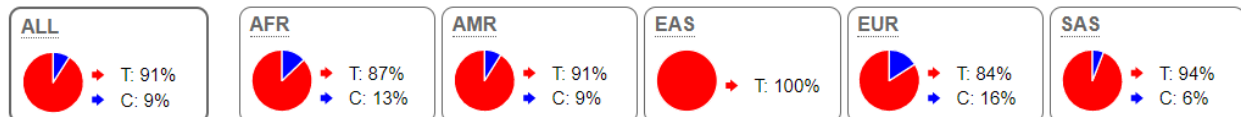


Τα δεδομένα πληθυσμιακής γενετικής για τον πολυμορφισμό rs4283140 υποδεικνύουν πως το αλληλόμορφο A εμφανίζεται σπάνια στους πληθυσμούς, με συχνότητα εμφάνισης μόλις 1% στους πληθυσμούς της Ευρώπης.

#### 4.2.4. Κοινά SNPs μεταξύ όλων των φαινοτύπων

##### rs11171467

Το SNP rs11171467 προκύπτει από τη μετάλλαξη της θυμίνης T σε κυτοσίνη C στη θέση 55.452.839 του 12<sup>ου</sup> χρωμοσώματος και συγκεκριμένα στην forward strand. Το SNP αυτό εδράζεται στο γονίδιο OR6C2 (forward strand) που εντοπίζεται επίσης στην forward strand, το οποίο κωδικοποιεί για τον οσφρητικό υποδοχέα OR6C2. Από το γονίδιο OR6C2 κωδικοποιούνται δύο πιθανά μεταγράφα, τα OR6C2-201 και OR6C2-202. Το μεταγράφο OR6C2-201 έχει μήκος 2.105 bps ενώ το OR6C2-202 έχει μήκος 1.682bps, ωστόσο και τα δύο κωδικοποιούν για την ίδια πρωτεΐνη του οσφρητικού υποδοχέα μήκους 312aa. Η μετάλλαξη που χαρακτηρίζει το rs11171467 βρίσκεται στη θέση 1597 του μεταγράφου OR6C2-201 και στη θέση 1174 του μεταγράφου OR6C2-202, ενώ το αποτέλεσμα είναι η μετατροπή της λευκίνης (L) σε προλίνη (P), χωρίς να επηρεάζεται το μήκος του μεταγράφου.

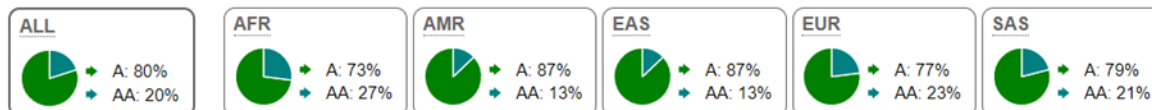


Τα παραπάνω δεδομένα πληθυσμιακής γενετικής υποδεικνύουν πως το αλληλόμορφο C εντοπίζεται σε ποσοστά 9-16% στους πληθυσμούς της Ευρώπης, της Αμερικής και της Αφρικής. Στους πληθυσμούς της Νότιας Ασίας (χώρες όπως η Ινδία, το Πακιστάν και το Νεπάλ) παρατηρείται πολύ μικρό ποσοστό εμφάνισης 6% ενώ στους πληθυσμούς της Ανατολικής Ασίας (χώρες όπως η Κίνα, η Ιαπωνία, η Νότια και η Βόρεια Κορέα) επικρατεί κατά 100% το αλληλόμορφο T.

##### rs144247841

Το SNP rs144247841 προκύπτει από την προσθήκη μίας αδενίνης A στη θέση 48.203.093 του 12<sup>ου</sup> χρωμοσώματος και συγκεκριμένα στην forward strand. Η προσθήκη του νουκλεοτιδίου αυτού αποτελεί μετάλλαξη μετακίνησης του πλαισίου μεταγραφής. Το SNP αυτό βρίσκεται στο γονίδιο OR10AD1 (reverse strand) το οποίο κωδικοποιεί για τον αντίστοιχο οσφρητικό υποδοχέα. Συγκεκριμένα η μετάλλαξη εντοπίζεται στη θέση 200 του μεταγράφου με μήκος 954 bp και στη θέση 67 της πρωτεΐνης μήκους 317 αμινοξέων.

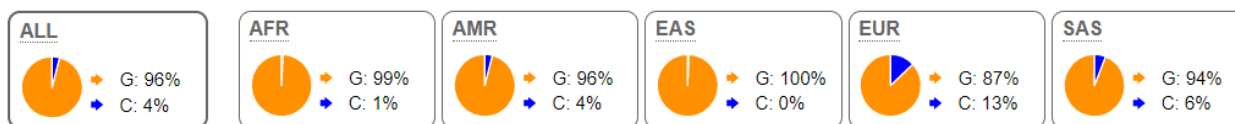




Τα δεδομένα πληθυσμιακής γενετικής για τον πολυμορφισμό rs144247841 υποδεικνύουν πως το αλληλόμορφο AA που φέρει το επιπλέον νουκλεοτίδιο εμφανίζεται σε σημαντικό ποσοστό σε πολλούς πληθυσμούς. Συγκεκριμένα, οι πληθυσμοί της Αφρικής εμφανίζουν το μεγαλύτερο ποσοστό εμφάνισης του AA με 27%, ενώ πληθυσμοί της Αμερικής και Ανατολικής Ασίας παρουσιάζουν το αλληλόμορφο στο χαμηλότερο ποσοστό 13%.

#### rs61993884

Ο πολυμορφισμός rs61993884 προκύπτει από τη μετάλλαξη της γουανίνης G σε αδενίνη A ή κυτοσίνη C στη θέση 20.224.436 του 14<sup>ου</sup> χρωμοσώματος, στη forward strand. Η μετάλλαξη εντοπίζεται στο γονίδιο OR11H6 (forward strand) που κωδικοποιεί για τον αντίστοιχο οσφρητικό υποδοχέα. Εντοπίζεται στη θέση 727 του μεταγράφου μήκους 993bp και στη θέση 243 της παραγόμενης πρωτεΐνης μήκους 330 αμινοξέων. Το αποτέλεσμα της μετάλλαξης είναι η μετατροπή της βαλίνης V σε λευκίνη L ή μεθειονίνη M, εάν η μετάλλαξη είναι προς κυτοσίνη η προς αδενίνη αντίστοιχα, ενώ το μήκος της πρωτεΐνης δεν επηρεάζεται.



Τα δεδομένα πληθυσμιακής γενετικής για τον πολυμορφισμό rs61993884 δείχνουν πως η μεγαλύτερη συχνότητα εμφάνισης του αλληλομόρφου C παρατηρείται στους πληθυσμούς της Ευρώπης (13%), ενώ η χαμηλότερη παρατηρείται στους πληθυσμούς της Αφρικής (1%).

Από τα παραπάνω δεδομένα αντλείται το συμπέρασμα πως υπάρχει μεγάλος αριθμός κοινών πολυμορφισμών που αφορούν οσφρητικούς υποδοχείς μεταξύ των διαφορετικών φαινοτύπων ανδρικής υπογονιμότητας. Τα γονίδια που αφορούν οι παραπάνω πολυμορφισμοί, οι επιπτώσεις των μεταλλάξεων σε αυτά καθώς και ο αριθμός των διαφορετικών πολυμορφισμών που εντοπίζεται σε κάθε γονίδιο, συνοψίζονται στον παρακάτω πίνακα.

Όνομασία γονιδίου	SNPs στο γονίδιο	Τύπος γονιδίου	Τύπος μεταλλάξεων
OR1K1	I	protein coding	synonym
OR7E87P	I	pseudogene	noncoding transcript
OR4A16	II	protein coding	stop gain, synonym
OR52V1P	I	pseudogene	noncoding transcript
OR7E28P	II	pseudogene	noncoding transcript
OR4A16	I	protein coding	missense variant
OR7E23P	I	pseudogene	noncoding transcript
OR4K13	I	protein coding	missense variant
OR4C1P	II	pseudogene	noncoding transcript
OR10H2	I	protein coding	synonym
OR4R2P	I	pseudogene	noncoding transcript
OR7E156P	I	pseudogene	noncoding transcript
OR6N2	I	protein coding	missense
OR4A4P	I	pseudogene	noncoding transcript
OR2G2	I	protein coding	missense
OR52L2P	I	pseudogene	noncoding transcript
OR4A8	I	protein coding	loss of function
OR4A2P	I	pseudogene	noncoding transcript
OR52V1P	I	pseudogene	noncoding transcript
OR4A43P	I	pseudogene	noncoding transcript
OR11H7	I	protein coding	missense
OR11N1P	I	pseudogene	noncoding transcript
OR4A15	I	protein coding	missense
OR11H6	III	protein coding	missense
OR7E89P	II	pseudogene	noncoding transcript
OR6J1	IIIIII	protein coding	missense, stop gain, synonym
OR11H4	I	protein coding	synonym
OR2A25	I	protein coding	missense
OR7E55P	I	pseudogene	noncoding transcript
OR10J9P	I	pseudogene	noncoding transcript
OR4H12P	I	pseudogene	noncoding transcript
OR4N2	I	protein coding	intron variant
OR6C2	I	protein coding	missense
OR10AD1	I	protein coding	frameshift variant

## 5. Συζήτηση

Η ανδρική υπογονιμότητα είναι μια πολυπαραγοντική πάθηση που επηρεάζει σχεδόν το ένα-τρίτο των ζευγαριών με υπογονιμότητα παγκοσμίως. Με το μεγαλύτερο ποσοστό των περιστατικών να χαρακτηρίζονται ως ιδιοπαθή, είναι επόμενο πως αυξάνεται και η ανάγκη για ταυτοποίηση γονιδίων και μεταλλάξεων που επηρεάζουν την ανδρική γονιμότητα. Οι τεχνολογίες αλληλούχησης νέας γενιάς, όπως είναι η αλληλούχηση ολόκληρου γονιδιώματος, έχουν επιτρέψει την ανίχνευση γονιδίων που θα μπορούσαν να σχετίζονται με την ανδρική υπογονιμότητα και ειδικότερα με κάθε φαινότυπο της ξεχωριστά, όπως είναι η ολιγοζωοσπερμία, η ασθενοζωοσπερμία και η τερατοζωοσπερμία.

Η ανακάλυψη οσφρητικών υποδοχέων στον ανθρώπινο όρχι και στο σπέρμα, έχει εντείνει το ενδιαφέρον για διερεύνηση του ρόλου τους στην ομαλή λειτουργία του σπέρματος και την αναπαραγωγική υγεία. Οι γνώσεις αυτές θα συνεισφέρουν στην αναλυτική διάγνωση και πιθανή θεραπεία της ανδρικής υπογονιμότητας, παρέχοντας τη δυνατότητα υγιούς τεκνοποίησης σε άτομα και ζευγάρια που το επιθυμούν.

Η παρούσα εργασία είχε ως αντικείμενο μελέτης την ανάλυση πολυμορφισμών του whole genome sequencing με απώτερο σκοπό τον εντοπισμό γονιδίων που μπορεί να εμπλέκονται στα αίτια εμφάνισης ανδρικής υπογονιμότητας. Με την πολύτιμη βοήθεια των εργαλείων βιοπληροφορικής ανάλυσης, δημιουργήθηκαν λίστες πολυμορφισμών που επηρεάζουν γονίδια οσφρητικών υποδοχέων στο ανθρώπινο γονιδίωμα. Επιπλέον, πραγματοποιήθηκε σύγκριση μεταξύ των πολυμορφισμών που εντοπίζονται σε ομάδες ατόμων με διαφορετικούς φαινοτύπους ανδρικής υπογονιμότητας.

Ο εντοπισμός SNPs που αφορούν γονίδια οσφρητικών υποδοχέων μόνο σε ομάδες ασθενοζωοσπερμικών, ολιγοζωοσπερμικών ή τερατοζωοσπερμικών ατόμων, υποδεικνύει τη συσχέτιση των γονιδίων αυτών με τον αντίστοιχο φαινότυπο υπογονιμότητας και θα είναι χρήσιμο να τεθούν σε περεταίρω αναλύσεις για την πλήρη κατανόηση του ρόλου τους στην αναπαραγωγική διαδικασία.

Είναι επίσης σημαντικό να παρατηρήσουμε τα γονίδια στα οποία εδράζονται παραπάνω από ένας πολυμορφισμοί, όπως είναι τα OR4A16, OR7E28P, OR4C1P, OR11H6, OR7E890P και ειδικότερα το OR6J1, στο οποίο εδράζονται 7 διαφορετικοί πολυμορφισμοί. Το γεγονός ότι μεταλλάξεις που αλλάζουν τη δομή της πρωτεΐνης ή μεταβάλλουν την έκφραση του γονιδίου εντοπίζονται συχνά σε άτομα με ανδρική υπογονιμότητα, υποδηλώνει τη σημαντικότητα των γονιδίων στην διαδικασία της σπερματογένεσης και της ανάπτυξης της ανδρικής αναπαραγωγικής οδού.

Έναυσμα της παρούσας μελέτης υπήρξε το ενδιαφέρον για την εύρεση οσφρητικών υποδοχέων στο ανθρώπινο σπέρμα και ανδρικό αναπαραγωγικό σύστημα, καθώς και τα αναπάντητα ερωτήματα γύρω από τα γενετικά αίτια της ανδρικής υπογονιμότητας. Η εργασία αυτή ολοκληρώνεται με την ελπίδα πως τα ευρήματά της θα δώσουν μια κατεύθυνση και συνέχεια στην έρευνα των οσφρητικών υποδοχέων, με τελικό σκοπό την διασφάλιση της έγκυρης διάγνωσης αλλά και την ανάπτυξη μέσων αντιμετώπισης και πιθανών θεραπειών της ανδρικής υπογονιμότητας.

## Βιβλιογραφία

- Agarwal, A., Baskaran, S., Parekh, N., Cho, C. L., Henkel, R., Vij, S., Arafa, M., Panner Selvam, M. K., & Shah, R. (2021). Male infertility. In *The Lancet* (Vol. 397, Issue 10271, pp. 319–333). Lancet Publishing Group. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)32667-2](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)32667-2)
- Agarwal, A., Sharma, R. K., Gupta, S., Boitrelle, F., Finelli, R., Parekh, N., Durairajanayagam, D., Saleh, R., Arafa, M., Lam Cho, C., Rambhatla, A., Henkel, R., Vogiatzi, P., Tadros, N., Kavoussi, P., Ko, E., Leisegang, K., Kandil, H., Palani, A., ... Shah, R. (2021). Sperm Vitality and Necrozoospermia: Diagnosis, Management, and Results of a Global Survey of Clinical Practice. <https://doi.org/10.5534/wjmh.210149>
- Ali, M. A., Wang, Y., Qin, Z., Yuan, X., Zhang, Y., & Zeng, C. (2021). Odorant and taste receptors in sperm chemotaxis and cryopreservation: Roles and implications in sperm capacitation, motility and fertility. In *Genes* (Vol. 12, Issue 4). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/genes12040488>
- Babakhanzadeh, E., Nazari, M., Ghasemifar, S., & Khodadadian, A. (2020). Some of the factors involved in male infertility: A prospective review. In *International Journal of General Medicine* (Vol. 13, pp. 29–41). Dove Medical Press Ltd. <https://doi.org/10.2147/IJGM.S241099>
- Bak, C. W., Yoon, T. K., & Choi, Y. (2011). Functions of PIWI proteins in spermatogenesis. In *Clinical and Experimental Reproductive Medicine* (Vol. 38, Issue 2, pp. 61–67). <https://doi.org/10.5653/cerm.2011.38.2.61>
- Barak, S., & Baker, H. W. G. (2015). Clinical Management of Male Infertility. *Endocrinology: Adult and Pediatric*, 2–2, 2431-2455.e4. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-18907-1.00141-4>
- Barak, S., & Baker, H. W. G. (2016). Clinical Management of Male Infertility. *Endocrinology: Adult and Pediatric*, 2–2, 2431-2455.e4. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-18907-1.00141-4>
- Birney, E., Andrews, T. D., Bevan, P., Caccamo, M., Chen, Y., Clarke, L., Coates, G., Cuff, J., Curwen, V., Cutts, T., Down, T., Eyra, E., Fernandez-Suarez, X. M., Gane, P., Gibbins, B., Gilbert, J., Hammond, M., Hotz, H. R., Iyer, V., ... Clamp, M. (2004). An overview of Ensembl. In *Genome Research* (Vol. 14, Issue 5, pp. 925–928). <https://doi.org/10.1101/gr.1860604>
- Børsting, C., & Morling, N. (2013). Single-Nucleotide Polymorphisms. *Encyclopedia of Forensic Sciences: Second Edition*, 233–238. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-382165-2.00042-8>
- Brody, T. (2016). Biomarkers. *Clinical Trials*, 377–419. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-804217-5.00019-9>
- Cariaso, M., & Lennon, G. (2012). SNPedia: A wiki supporting personal genome annotation, interpretation and analysis. *Nucleic Acids Research*, 40(D1). <https://doi.org/10.1093/NAR/GKR798>
- Castañeda, J. M., Miyata, H., Ikawa, M., & Matzuk, M. M. (2018). Sperm Defects. *Encyclopedia of Reproduction*, 276–281. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-801238-3.64778-5>

- Chen, H., Mruk, D., Xiao, X., & Cheng, C. Y. (2017). Human spermatogenesis and its regulation. *Contemporary Endocrinology*, 49–72. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-53298-1\\_3](https://doi.org/10.1007/978-3-319-53298-1_3)
- de Braekeleer, M., Nguyen, M. H., Morel, F., & Perrin, A. (2015). Genetic aspects of monomorphic teratozoospermia: a review. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*, 32(4), 615–623. <https://doi.org/10.1007/s10815-015-0433-2>
- de Kretser, D. M., Loveland, K., & O'Bryan, M. (2016). Spermatogenesis. *Endocrinology: Adult and Pediatric*, 2–2, 2325-2353.e9. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-18907-1.00136-0>
- de March, C. A., Kim, S. K., Antonczak, S., Goddard, W. A., & Golebiowski, J. (2015). G protein-coupled odorant receptors: From sequence to structure. *Protein Science*, 24(9), 1543–1548. <https://doi.org/10.1002/pro.2717>
- Feldmesser, E., Olender, T., Khen, M., Yanai, I., Ophir, R., & Lancet, D. (2006). Widespread ectopic expression of olfactory receptor genes. *BMC Genomics*, 7. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-7-121>
- Flegel, C., Vogel, F., Hofreuter, A., Schreiner, B. S. P., Osthold, S., Veitinger, S., Becker, C., Brockmeyer, N. H., Muschol, M., Wennemuth, G., Altmüller, J., Hatt, H., & Gisselmann, G. (2016). Characterization of the Olfactory receptors expressed in human spermatozoa. *Frontiers in Molecular Biosciences*, 2(JAN). <https://doi.org/10.3389/fmolb.2015.00073>
- Goto, T., Salpekar, A., & Monk, M. (2001a). Expression of a testis-specific member of the olfactory receptor gene family in human primordial germ cells. In *Molecular Human Reproduction* (Vol. 7, Issue 6).
- Goto, T., Salpekar, A., & Monk, M. (2001b). Expression of a testis-specific member of the olfactory receptor gene family in human primordial germ cells. In *Molecular Human Reproduction* (Vol. 7, Issue 6).
- Gou, L. T., Dai, P., & Liu, M. F. (2014). Small noncoding RNAs and male infertility. In *Wiley interdisciplinary reviews. RNA* (Vol. 5, Issue 6, pp. 733–745). <https://doi.org/10.1002/wrna.1252>
- Hilz, S., Modzelewski, A. J., Cohen, P. E., & Grimson, A. (2016). The roles of microRNAs and siRNAs in mammalian spermatogenesis. <https://doi.org/10.1242/dev.136721>
- Hopps, C. v., Schlegel, P. N., & Goldstein, M. (2004). A Practical Approach to Male Infertility. *Principles of Gender-Specific Medicine*, 1, 538–549. <https://doi.org/10.1016/B978-012440905-7/50318-2>
- Hussein, A. (2018). Overview Treatment and Male Reproductive Medicine. *Encyclopedia of Reproduction*, 307–313. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-801238-3.64782-7>
- Kuroda, S., Usui, K., Sanjo, H., Takeshima, T., Kawahara, T., Uemura, H., & Yumura, Y. (2020). Genetic disorders and male infertility. In *Reproductive Medicine and Biology* (Vol. 19, Issue 4, pp. 314–322). John Wiley and Sons Ltd. <https://doi.org/10.1002/rmb2.12336>
- Liang, M., Li, W., Tian, H., Hu, T., Wang, L., Lin, Y., Li, Y., Huang, H., & Sun, F. (n.d.). Sequential expression of long noncoding RNA as mRNA gene expression in specific stages of mouse spermatogenesis. <https://doi.org/10.1038/srep05966>
- Litwack, G. (2018). *Nucleic Acids and Molecular Genetics. Human Biochemistry*, 257–317. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-383864-3.00010-7>
- Milardi, D., Colussi, C., Grande, G., Vincenzoni, F., Pierconti, F., Mancini, F., Baroni, S., Castagnola, M., Marana, R., & Pontecorvi, A. (2018). Olfactory receptors in semen and in

- the male tract: From proteome to proteins. *Frontiers in Endocrinology*, 8(JAN).  
<https://doi.org/10.3389/fendo.2017.00379>
- Neto, F. T. L., Bach, P. V., Najari, B. B., Li, P. S., & Goldstein, M. (2016). Spermatogenesis in humans and its affecting factors. *Seminars in Cell & Developmental Biology*, 59, 10–26.  
<https://doi.org/10.1016/J.SEMCDB.2016.04.009>
- Oko, R., & Sutovsky, P. (2009). Biogenesis of sperm perinuclear theca and its role in sperm functional competence and fertilization. *Journal of Reproductive Immunology*, 83(1–2), 2–7. <https://doi.org/10.1016/J.JRI.2009.05.008>
- Olender, T., Jones, T. E. M., Bruford, E., & Lancet, D. (n.d.). A unified nomenclature for vertebrate olfactory receptors. <https://doi.org/10.1186/s12862-020-01607-6>
- Papaioannou, M. D., Pitetti, J. L., Ro, S., Park, C., Aubry, F., Schaad, O., Vejnar, C. E., Kühne, F., Descombes, P., Zdobnov, E. M., McManus, M. T., Guillou, F., Harfe, B. D., Yan, W., Jégou, B., & Nef, S. (2009). Sertoli cell Dicer is essential for spermatogenesis in mice. *Developmental Biology*, 326(1), 250–259. <https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2008.11.011>
- Pelzman, D. L., & Hwang, K. (2021). Genetic testing for men with infertility: Techniques and indications. In *Translational Andrology and Urology* (Vol. 10, Issue 3, pp. 1354–1364). AME Publishing Company. <https://doi.org/10.21037/tau-19-725>
- Radpour, R., Gourabi, H., Dizaj, A. V., Holzgreve, W., & Zhong, X. Y. (2008). Review Genetic Investigations of CFTR Mutations in Congenital Absence of Vas Deferens, Uterus, and Vagina as a Cause of Infertility. *J Androl*, 29, 506–513.  
<https://doi.org/10.2164/jandrol.108.005074>
- Ramasamy, R., Masterson, J. M., Lee, J. A., Huhtaniemi, I. T., Oduwole, O. O., & Peltoketo, H. (2018). Role of Follicle-Stimulating Hormone in Spermatogenesis. *Frontiers in Endocrinology | Www.Frontiersin.Org*, 9, 763. <https://doi.org/10.3389/fendo.2018.00763>
- Robin, G., Marcelli, F., Mitchell, V., Marchetti, C., Lemaitre, L., Dewailly, D., Leroy-Billiard, M., & Rigot, J. M. (2008). Pourquoi et comment réaliser un bilan d’hypospermie ? *Gynécologie Obstétrique & Fertilité*, 36(10), 1035–1042.  
<https://doi.org/10.1016/J.GYOBFE.2008.04.021>
- Sharma, A., Kumar, R., Aier, I., Semwal, R., Tyagi, P., & Varadwaj, P. (2018). Sense of Smell: Structural, Functional, Mechanistic Advancements and Challenges in Human Olfactory Research. *Current Neuropharmacology*, 17(9), 891–911.  
<https://doi.org/10.2174/1570159x17666181206095626>
- Song, R., Hennig, G. W., Wu, Q., Jose, C., Zheng, H., & Yan, W. (2011). Male germ cells express abundant endogenous sirnas. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 108(32), 13159–13164.  
<https://doi.org/10.1073/pnas.1108567108>
- Sudhakar, D. V. S., Shah, R., & Gajbhiye, R. K. (2021). Genetics of male infertility – Present and future: A narrative review. In *Journal of Human Reproductive Sciences* (Vol. 14, Issue 3, pp. 217–227). Wolters Kluwer Medknow Publications.  
[https://doi.org/10.4103/jhrs.jhrs\\_115\\_21](https://doi.org/10.4103/jhrs.jhrs_115_21)
- Szmelskyj, I., Aquilina, L., & Szmelskyj, A. O. (2015). Anatomy and physiology of the reproductive system: Prerequisites for conception. *Acupuncture for IVF and Assisted Reproduction*, 23–58. <https://doi.org/10.1016/B978-0-7020-5010-7.00002-3>

- Vanderhaeghen, P., Schurmans, S., Vassart, G., & Parmentier, M. (1997). Molecular Cloning and Chromosomal Mapping of Olfactory Receptor Genes Expressed in the Male Germ Line: Evidence for Their Wide Distribution in the Human Genome. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 237(2), 283–287. <https://doi.org/10.1006/BBRC.1997.7043>
- Wu, Q., Song, R., Ortogero, N., Zheng, H., Evanoff, R., Small, C. L., Griswold, M. D., Namekawa, S. H., Royo, H., Turner, J. M., & Yan, W. (2012). The RNase III enzyme DRISHA is essential for MicroRNA production and spermatogenesis. *Journal of Biological Chemistry*, 287(30), 25173–25190. <https://doi.org/10.1074/jbc.M112.362053>
- Yin, R., Kwoh, C. K., & Zheng, J. (2018). Whole genome sequencing analysis. In *Encyclopedia of Bioinformatics and Computational Biology: ABC of Bioinformatics* (Vols. 1–3, pp. 176–183). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809633-8.20095-2>
- Zhao, S., Heng, N., Sahl, B. W., Wang, H., & Zhu, H. (2021). Molecular Sciences Long Noncoding RNAs: Recent Insights into Their Role in Male Infertility and Their Potential as Biomarkers and Therapeutic Targets. *Int. J. Mol. Sci*, 22, 13579. <https://doi.org/10.3390/ijms222413579>
- Ζίφα Αιμιλία. (2017). *Διακυτταρική Επικοινωνία, Μεταγωγή Σήματος* (Δεύτερη Έκδοση). Πανεπιστημιακές Εκδόσεις Θεσσαλίας.
- Μητζιώρη, Γ., & Γούλης, Δ. Γ. (2021). *Σπερματογένεση. 24ος Κύκλος - Εντατική Εκπαίδευση Στην Ενδοκρινολογία*.