

Ανασκόπηση

Γενετική βάση της ανδρικής υπογονιμότητας

Ι. Γεωργίου
Ι. Μπούπα
Α. Λάζαρος
Ε. Χατζή
Μ. Σύρρου

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η ανδρική υπογονιμότητα αποτελεί ένα από τα κλινικά χαρακτηριστικά ορισμένων συνδρόμων, όπως η πρωτοπαθής ακινησία των μαστιγίων (σύνδρομο Kartagener), ή μεμονωμένο εύρημα μιας γενετικής βλάβης, όπως η συγγενής αμφοτερόπλευρη απουσία του σπερματικού πόρου (ΣΑΑΣΠ) που οφείλεται σε μεταλλάξεις του γονιδίου διαμεμβρανικού ρυθμιστική αγωγιμότητας της κυστικής ίνωσης (CFTR).

Οι χρωμοσωματικές ανωμαλίες έχουν συσχετιστεί επίσης με την ανδρική υπογονιμότητα. Το 4.2% των υπογόνιμων ανδρών έχει χρωμοσωματικές ανωμαλίες που εμφανίζονται στα φυλετικά χρωμοσώματα, ενώ το 1.5% των υπογόνιμων ανδρών έχει χρωμοσωματικές ανωμαλίες των αυτοσωματικών χρωμοσωμάτων. Αυτές διακρίνονται σε μεταθέσεις αυτοσωματικών χρωμοσωμάτων, σε μεταθέσεις κατά Robertson, σε δομικές ανωμαλίες του χρωμοσώματος X, σε αναστροφές χρωμοσωμάτων και ανευπλοειδίες των φυλετικών χρωμοσωμάτων, όπως στο σύνδρομο Klinefelter και στο σύνδρομο XYY.

Το ανθρώπινο χρωμόσωμα Y περιέχει μικρότερο αριθμό γονιδίων σε σχέση με τα άλλα χρωμοσώματα και δρα σαν ένας γενετικός καθοριστής των ανδρικών χαρακτηριστικών. Αντιπροσωπεύει ένα μωσαϊκό ετεροχρωματινικών και ευχρωματινικών αλληλουχιών DNA. Η υπογονιμότητα, όπως επίσης και αρκετές γονιδιακές δυσλειτουργίες του παρακρινικού ελέγχου της σπερματογένεσης, έχουν αποδοθεί σε γονίδια του χρωμοσώματος Y. Ιδιαίτερα τα ελλείμματα ενός ή και των τριών υποπεριοχών του παράγοντα αζωοσπερμίας (AZFa, AZFb, AZFc) στο χρωμόσωμα Y βρίσκονται σε ποσοστό περίπου 5% των ανδρών με μη αποφρακτική αζωοσπερμία.

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η πιθανή συσχέτιση ανάμεσα στις χρωμοσωμικές ανωμαλίες και την ανδρική υπογονιμότητα έγινε εμφανής από τα αποτελέσματα των πρώτων μεγάλων μελετών καρουτύπων υπογόνιμων ανδρών. Παρατηρήθηκε ότι, σε σύγκριση με τον γενικό πληθυσμό, οι υπογόνιμοι άνδρες παρουσίαζαν υψηλότερο ποσοστό χρωμοσωμικών ανωμαλιών (5.8% έναντι 0.6%).

Η ανδρική υπογονιμότητα οφείλεται επίσης σε μονογονιδιακές γενετικές βλάβες, σε μεγάλο αριθμό γονιδίων των αυτοσωματικών ή των φυλετικών χρωμοσωμάτων. Στο χρωμόσωμα Y, που είναι το μικρότερο χρωμόσωμα του ανθρώπου, υπάρχουν περισσότερα από 150 ενεργά γονίδια, ορισμένα από τα οποία απουσιάζουν σε υπογόνιμους άνδρες. Οι μονογονιδιακές γε-

Εργαστήριο Γενετικής της Ανθρώπινης Αναπαραγωγής
 Τμήμα Μαιευτικής & Γυναικολογίας
 Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων

Αλληλογραφία:
 Ιωάννης Γεωργίου
 Εργαστήριο Γενετικής της Ανθρώπινης Αναπαραγωγής
 Τμήμα Μαιευτικής & Γυναικολογίας
 Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων
 451 10 Ιωάννινα
 Τηλ.: 26510 99783,
 Fax: 26510 99224
 E-mail: igeorgio@uoi.gr
 Κατατέθηκε: 10/9/2006
 Εγκρίθηκε: 10/11/2006

νετικές βλάβες μπορεί να έχουν χαρακτήρα συνδρόμου με πολλαπλές κλινικές εκδηλώσεις, η μπορεί να αποτελούν μεμονωμένες εκδηλώσεις που εστιάζονται αποκλειστικά στην υπογονιμότητα.

Όροι ευρητηρίων: ανδρική υπογονιμότητα, γενετική βάση, χρωμοσωματικές ανωμαλίες, μονογονιδιακά νοσήματα, ελλείμματα του χρωμοσώματος Y.

ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΤΗΣ ΑΝΔΡΙΚΗΣ ΥΠΟΓΟΝΙΜΟΤΗΤΑΣ

Οι γενετικές αιτίες της ανδρικής υπογονιμότητας μπορούν να χωριστούν σε τρεις κατηγορίες:

- A) Μονογονιδιακές γενετικές βλάβες
- B) Δομικές και αριθμητικές ανωμαλίες των χρωμοσωμάτων
- Γ) Μικροελλείμματα στο χρωμόσωμα Y

ΜΟΝΟΓΟΝΙΔΙΑΚΕΣ ΓΕΝΕΤΙΚΕΣ ΒΛΑΒΕΣ

Οι γενετικές βλάβες που οφείλονται σε συγκεκριμένα γονίδια είναι περισσότερες από 13.700 και έχουν καταγραφεί συστηματικά στη βάση δεδομένων OMIM (www.ncbi.nlm.nih.gov/omim). Συγκεκριμένα, για το χρωμόσωμα Y υπάρχουν στη βάση δεδομένων - gene data bank (GDB) - περισσότερες από 200 αναγνωρισμένες γενετικές θέσεις (Απρίλιος 2006). Ορισμένες από τις γενετικές βλάβες έχουν χαρακτήρα συνδρόμου με πολλαπλές κλινικές εκδηλώσεις, ενώ άλλες έχουν μεμονωμένες εκδηλώσεις. Η ανδρική υπογονιμότητα αποτελεί ένα από τα κλινικά χαρακτηριστικά κάποιων συνδρόμων ή μεμονωμένο εύρημα μιας γενετικής βλάβης. Οι σημαντικότερες αναφέρονται παρακάτω:

1. Συγγενής αμφοτερόπλευρη απουσία του σπερματικού πόρου (ΣΑΑΣΠ) που οφείλεται σε μεταλλάξεις του γονιδίου διαμεμβρανικού ρυθμιστική αγωγιμότητας της κυστικής ίνωσης (CFTR)

Οι περισσότερες περιπτώσεις ΣΑΑΣΠ (60%-90%) και ορισμένες περιπτώσεις ετερόπλευρης απουσίας του σπερματικού πόρου, οφείλονται σε μεταλλάξεις του γονιδίου CFTR (cystic fibrosis transmembrane regulator). Το γονίδιο CFTR ευθύνεται για την κυστική ίνωση. Η κυστική ίνωση είναι το συχνότερο αυτοσωματικό υπολειπόμενο νόσημα στους Κανκασίους και τους πληθυσμούς Βόρειας Ευρωπαϊκής προέλευσης (συχνότητα ετεροζυγωτίας 5%-6%) και σχετίζεται με διαμεμβρανική μεταφορά χλωρίου. Σήμερα γνωρίζουμε ότι το εύρος των κλινικών εκδηλώσεων του νοσήματος είναι μεγάλο. Έχει καταγραφεί πως, στους υπογόνιμους άνδρες με ΣΑΑΣΠ, η συχνότητα μεταλλάξεων του γονιδίου CFTR είναι 20 φορές μεγαλύτερη από ότι είναι στο γενικό πληθυσμό (Patrizio & Leonard, 2000). Οι μεταλλάξεις του γονιδίου CFTR ταξινομούνται σε ήπιες και βαριές, όμως η συσχέτιση μεταξύ γονοτύπου και φαινοτύπου εί-

ναι σύνθετη. Γενικώς, οι ήπιες μεταλλάξεις προκαλούν ήπιες εκδηλώσεις της νόσου, οι οποίες περιορίζονται στο ανδρικό αναπαραγωγικό σύστημα προκαλώντας αποφρακτική αζωοσπερμία.

Το γονίδιο, οι μεταλλάξεις του οποίου είναι υπεύθυνες για την κυστική ίνωση, κωδικοποιεί για μια πολύ μεγάλη πρωτεΐνη, το διαμεμβρανικό ρυθμιστή αγωγιμότητας της κυστικής ίνωσης (cystic fibrosis transmembrane regulator-CFTR). Περισσότερες από 700 μεταλλάξεις του γονιδίου CFTR, το οποίο έχει μέγεθος ~ 230 kb, έχουν περιγραφεί μέχρι σήμερα (De Braekeleer and Ferec, 1996). Άνδρες με ΣΑΑΣΠ μπορεί να φέρουν στο γονίδιο CFTR είτε δύο ήπιες μεταλλάξεις, είτε μια ήπια και μια βαρεία μετάλλαξη. Η πιο συχνή βαρεία μετάλλαξη είναι η ΔF508, η οποία απαντάται σε ποσοστό 60%-70%, στους φορείς και ασθενείς. Έχουν βρεθεί επίσης πολυμορφισμοί που έχουν σαν αποτέλεσμα να μειώνουν την παραγωγή της πρωτεΐνης CFTR (5T, 7T). Αναλυτικότερα, το αλληλόμορφο 5T σε ομοζυγωτία ή ετεροζυγωτία εμφανίζεται πολύ συχνά σε άνδρες με ΣΑΑΣΠ με ατελή διεισδυτικότητα. Το αλληλόμορφο 5T, το οποίο, λόγω ανεπαρκούς μετα-μεταγραφικής τροποποίησης, έχει σαν αποτέλεσμα να μειώνεται η παραγωγή της πρωτεΐνης κατά 90%, συσχετίζεται με ένα ευρύ φάσμα φαινοτυπικών εκδηλώσεων, από υγιείς γόνιμους άνδρες μέχρι άνδρες με ΣΑΑΣΠ (Cuppens et al, 1998). Οι σύνθετοι ετεροζυγώτες που φέρουν το αλληλόμορφο 5T, καθώς επίσης και μια μετάλλαξη στο γονίδιο CFTR, μπορεί να εμφανίζουν άτυπο ή τυπικό κλινικό φαινότυπο της κυστικής ίνωσης. Έχουν περιγραφεί τουλάχιστον επτά μεταλλάξεις που συσχετίζονται με την ΣΑΑΣΠ καθώς συνδέονται με την ελαττωματική παραγωγή της πρωτεΐνης CFTR (Patrizio & Leonard, 2000). Έχει βρεθεί επίσης πως η παρερμηνεύσιμη μετάλλαξη R117H στο εξόνιο 4 συσχετίζεται με ΣΑΑΣΠ (Kiesewetter et al, 1993). Για το λόγο αυτό θα πρέπει να συμπεριλαμβάνεται στον μοριακό γενετικό έλεγχο και η ανίχνευση της μετάλλαξης R117H και των πολυμορφισμών 5T/7T/9T.

Οι υπογόνιμοι ασθενείς αυτής της κατηγορίας μπορούν να αποκτήσουν απογόνους με αναρρόφηση σπερματοζωαρίων από την επιδιδυμίδα ή τον όρχι με τη χρήση της ICSI. Όμως, διατρέχουν ένα μεγάλο κίνδυνο να αποκτήσουν παιδιά με τη νόσο αν η σύντροφός τους είναι φορέας της νόσου. Στις περιπτώσεις αυτές συνιστάται ο μοριακός γενετικός έλεγχος του υπογόνιμου ζεύγους, τουλάχιστον για τις συχνότερες μεταλλάξεις της κυστικής ίνωσης και η κατάλληλη γενετική καθοδήγηση. Η προεμφυτευτική γενετική διάγνωση (preimplantation genetic diagnosis - PGD) συστήνεται σε ζευγάρια στα οποία και οι δύο είναι φορείς μιας μετάλλαξης στο γονίδιο CFTR και επιθυμούν τη χρήση της μικρογονιμοποίησης (ICSI), καθώς επίσης και τη γενετική διάγνωση στα αρχικά στάδια της εμβρυϊκής ανάπτυξης (Liebaers et al, 1998; Vandervors et al, 2000).

2. Πρωτοπαθής ακινησία των μαστιγίων (σύνδρομο Kartagener) και άλλες μονομορφικές ανωμαλίες των σπερματοζωαρίων

Η πρωτοπαθής ακινησία ή δυσκινησία των μαστιγίων, είναι ένας συγκεντρωτικός όρος που περιλαμβάνει τις διαταραχές της κινητικότητας και της δομής των μαστιγίων, κυρίως των αεραγωγών και της ουράς των σπερματοζωαρίων (Nieschlag et al, 1997). Οι ασθενείς παρουσιάζουν χρόνια νοσήματα των αεραγωγών, ενώ οι άρρενες είναι συνήθως υπογόνιμοι λόγω ακινησίας των σπερματοζωαρίων τους, η οποία μπορεί να οφείλεται σε ανωμαλίες της δομής των υπεύθυνων πρωτεϊνών, με συχνότερη την απουσία των συνδετικών βραχιόνων της δυνεΐνης του αξωνήματος (Nieschlag et al, 1997). Η ταυτόχρονη παρουσία βρογχιεκτασίας, ακινησίας σπερματοζωαρίων και αναστροφής των σπλάγγων ονομάζεται σύνδρομο Kartagener. Η συχνότητα της αναστροφής του σπλάγγων οποιασδήποτε αιτιολογίας κυμαίνεται μεταξύ 1:25.000 και 1:8.000 γεννήσεις. Ένα ποσοστό 20%-25%, με πλήρη αναστροφή των σπλάγγων, παρουσιάζει δυσκινησία των μαστιγίων και αναπνευστικά προβλήματα ως συνοδά ευρήματα (σύνδρομο Kartagener) (Bartoloni et al, 2002). Στο γενικό πληθυσμό το σύνδρομο Kartagener εμφανίζεται σε 1:40.000.

Παλαιότερα, σε μελέτες γενετικής ανάλυσης σύνδεσης που πραγματοποιήθηκαν σε οικογένειες με πρωτοπαθή δυσκινησία των μαστιγίων φάνηκε πως υπάρχει μεγάλη ετερογένεια (Bartoloni et al, 2002). Δεν βρέθηκε κάποια περιοχή στο γονιδίωμα που να συνδέεται με πρωτοπαθή δυσκινησία των μαστιγίων (Bartoloni et al, 2002). Σήμερα, μεταλλάξεις σε δύο γονίδια έχουν ενοχοποιηθεί για ένα μικρό ποσοστό των περιπτώσεων με σύνδρομο Kartagener. Τα γονίδια αυτά ευθύνονται για την κωδικοποίηση της βαρείας αλυσίδας 5 και της ενδιάμεσης αλυσίδας 1 της δυνεΐνης του αξωνήματος.

Επιπρόσθετα, έχουν περιγραφεί και άλλες μονομορφικές διαταραχές των σπερματοζωαρίων, οι περισσότερες από τις οποίες είναι πολύ σπάνιες και οι οποίες μπορεί να ανιχνευτούν μόνο με ηλεκτρονικό μικροσκόπιο (Zamboni, 1987). Αν και οι μονομορφικές διαταραχές των σπερματοζωαρίων φαίνεται πως έχουν γενετική προέλευση, όπως για παράδειγμα η σφαιροζωοσπερμία, δεν έχουν ενοχοποιηθεί ακόμη γονίδια για τις ανωμαλίες αυτές (Meschede & Horst, 1997; Nieschlag et al, 1997). Η σφαιροζωοσπερμία εμφανίζεται στους υπογόνιμους άνδρες σε ποσοστό <0.1% (Pirello et al, 2005). Σε μια πρόσφατη μελέτη (Pirello et al, 2005), όπου εξετάστηκαν 6 άτομα με σφαιροζωοσπερμία, δε βρέθηκε καμία μετάλλαξη. Οι συνήθεις τρόποι κληρονομής αυτών των διαταραχών είναι ο αυτοσωματικός υπολειπόμενος και ο φυλοσύνδετος (Meschede & Horst, 1997). Και εδώ η θεραπεία της υπογονιμότητας βασίζεται στην ICSI, με αποτέλεσμα να υπάρχει σοβαρός κίνδυνος μετάδοσης

μιας γενετικής βλάβης και σε άλλα συστήματα, εκτός από τα σπερματοζωάρια. Επειδή η κατηγορία αυτή των νοσημάτων είναι ετερογενής, η γενετική διάγνωση βασίζεται στην κλινική εξέταση και στη λήψη ιστορικού με κατάλληλη γενετική καθοδήγηση.

3. Γενετικές ανωμαλίες με ενδοκρινικές ή νευρολογικές εκδηλώσεις

Το σύνδρομο Kallman ευθύνεται για το 5% των υπογόνιμων ανδρών με υπογοναδοτροφικό υπογοναδισμό και οφείλεται σε ελλείμματα του Xp22 ή μεταλλάξεις του γονιδίου KAL-1 gene. Ο φαινότυπος του συνδρόμου ποικίλει από τους νορμογοναδοτροφικούς γόνιμους ασθενείς, έως την απόλυτη έλλειψη των γοναδοτροφινών (FSH και LH), σαν αποτέλεσμα της ανεπάρκειας της GnRH. Ο πλήρης φαινότυπος του συνδρόμου εμφανίζεται με ανοσμία, γιατί το ίδιο γονίδιο κωδικοποιεί μια πρωτεΐνη συγκόλλησης η οποία είναι απαραίτητη για την ανάπτυξη και των υποθαλαμικών νευρώνων που παράγουν GnRH και των οσφρητικών. Εάν οι συγκεντρώσεις της τεστοστερόνης στους πάσχοντες είναι επαρκείς για να στηρίξουν τη σεξουαλική διαφοροποίηση κατά τη διάρκεια της οργανογένεσης, τότε ο φαινότυπος του άρρενος είναι φυσιολογικός. Η σπερματογένεση σε αυτούς τους ασθενείς μπορεί να διεγερθεί με τη χορήγηση γοναδοτροφινών, με αποτέλεσμα να καταφέρουν σε ICSI για να αποκτήσουν παιδιά (Behre et al, 1997). Άρα και σε αυτή την κατηγορία η κατάλληλη γενετική καθοδήγηση και διερεύνηση θα ελαχιστοποιούσε τον κίνδυνο και τις συνέπειες από τη μετάδοση του συνδρόμου.

Μεταλλάξεις στο γονίδιο του υποδοχέα GnRH (αυτοσωματικά υπολειπόμενος τρόπος κληρονομής) προκαλούν υπογοναδοτροφικό υπογοναδισμό με ολιγοζωοσπερμία και μεταλλάξεις στο γονίδιο του υποδοχέα της FSH συσχετίζονται με ανωμαλίες στη σπερματογένεση που παρουσιάζουν ποικίλη βαρύτητα. Στο ίδιο γονίδιο έχουν περιγραφεί επίσης μεταλλάξεις ενεργοποίησης. Επίσης, μεταλλάξεις στα γονίδια του υποδοχέα LH, 5α-αναγωγής 2, ή CYP-21 μπορεί να δημιουργούν ανωμαλίες στη σπερματογένεση (Kalantaridou & Chrousos, 2002).

Μια μορφή της νόσου Kennedy, η οποία χαρακτηρίζεται από την αντίσταση στα ανδρογόνα, οφείλεται σε μετάλλαξη του γονιδίου του υποδοχέα των ανδρογόνων και συσχετίζεται με την ανδρική υπογονιμότητα και διαταραχές στη σπερματογένεση (Willems, 1994; Mifsud A et al, 2001). Το κύριο χαρακτηριστικό αυτής της νόσου είναι η νωτιαία μυϊκή ατροφία (SBMA - spinobulbar muscular atrophy), με νευροεγκεφαλίστικο φαινότυπο. Το γονίδιο που ευθύνεται για την κωδικοποίηση του υποδοχέα των ανδρογόνων εδράζεται στο χρωμόσωμα X (Xq11-q12, OMIM #313700). Σημειακές μεταλλάξεις και μικρές ελλείψεις στο γονίδιο αυτό προκαλούν θη-

λεοποίηση των όρχεων (testis fertilization syndrome) σε άτομα με καρυότυπο 46,XY, με θηλυκό φαινότυπο και απουσία υποδοχέων ανδρογόνων (Beitel et al, 1994). Επιπλέον, στο πρώτο εξώνιο του γονιδίου υπάρχει μια πολυμορφική επανάληψη του τρινουκλεοτιδίου CAGn που ανευρίσκεται σε 16-30 αντίτυπα στον φυσιολογικό πληθυσμό, αλλά επεκτείνεται σε περισσότερο από 39 αντίγραφα σε ασθενείς με το σύνδρομο Kennedy. Η εκδήλωση της νόσου αρχίζει μετά από την ηλικία των 20 ετών και ακολουθεί συνήθως βραδεία εξέλιξη με συμπτώματα την προοδευτική μυϊκή αδυναμία και ατροφία μυών των άκρων και ενδοκρινολογικές διαταραχές που περιλαμβάνουν ολιγοζωοσπερμία, αζωοσπερμία και γυναικομαστία. Για το λόγο αυτό θα πρέπει, πριν την εμφάνιση των συμπτωμάτων της νόσου, όσοι ενδιαφέρονται για την εφαρμογή της ICSI, να ενημερώνονται για τις επιπτώσεις της ασθένειας αυτής, οι οποίες είναι πολύ πιο σοβαρές από την υπογονιμότητα. Η εφαρμογή επομένως της ICSI θα πρέπει να γίνεται σε συνδυασμό με τη γενετική καθοδήγηση, όπως συνέβη ήδη σε ζευγάρια στα οποία η γυναίκα ήταν φορέας και στα οποία εφαρμόστηκε η προεμφυτευτική γενετική διάγνωση με σκοπό την απόκτηση υγιούς παιδιού (Georgiou et al, 2001).

Η μυοτονική δυστροφία, το σύνδρομο ευθραύστου X και το σύνδρομο Kennedy αντιπροσωπεύουν τα νοσήματα που οφείλονται στη δυναμική αύξηση των επαναλήψεων μια αλληλουχίας τρινουκλεοτιδίων. Η μειωμένη παραγωγή σπερματοζωαρίων ή η αζωοσπερμία απαντάται συχνά σε ασθενείς με μυοτονική δυστροφία (Hortas et al, 2000; Pan et al, 2002; Dean et al, 2002). Στις περιπτώσεις μυοτονικής δυστροφίας ενδιάμεσης κλινικής βαρύτητας η συνδυαστική εφαρμογή της ICSI και PGD μπορεί να βοηθήσει στην αποφυγή μετάδοσης του γενετικού νοσήματος στους απογόνους (Sermon et al, 1998). Το χρωμόσωμα X δεν μεταβιβάζεται απευθείας από τον άνδρα-φορέα μιας φυλοσύνδετης νόσου στο γιο, ωστόσο μπορεί να μεταβιβαστεί από την κόρη στον γιο της. Η Sermon και συνεργάτες (1998) περιγράφουν αναλυτικά τις τεχνικές που εφαρμόζουν στην προεμφυτευτική γενετική διάγνωση της μυοτονικής δυστροφίας και των άλλων νοσημάτων με δυναμική μετάλλαξη.

Το σύνδρομο ευθραύστου X συναντάται αρκετά συχνά και, σύμφωνα με τους τελευταίους υπολογισμούς, η συχνότητά του είναι περίπου 1 στους 2000 άνδρες. Το σύνδρομο αυτό οφείλεται σε δυναμική μετάλλαξη, δηλαδή αστάθεια της τρινουκλεοτιδικής αλληλουχίας CGG του DNA που βρίσκεται στην 5' μη μεταφραζόμενη περιοχή του γονιδίου FMR-1. Όταν υπάρχει η πλήρως ανεπτυγμένη μετάλλαξη, δηλαδή όταν ο αριθμός των επαναλαμβανόμενων αλληλουχιών CGG είναι πολύ μεγάλος (250-4000 CGG), δεν παράγεται πρωτεΐνη. Η συχνότητα των φορέων μιας προμετάλλαξης (δηλαδή 50-200 επαναλήψεις αλληλουχιών CGG) είναι 1/1000

στους άνδρες και 1/350 στις γυναίκες (Sherman, 2002). Οι φορείς της προμετάλλαξης δεν εμφανίζουν συμπτώματα ή, όταν εμφανίζουν, αυτά είναι ήπια και ο άνδρας χαρακτηρίζεται ως 'φυσιολογικός μεταβιβάζων το νόσημα άνδρας'. Οι κόρες του, οι οποίες έχουν κληρονομήσει υποχρεωτικά την προμετάλλαξη (αφού κληρονόμησαν το μοναδικό X του πατέρα τους) είναι συνήθως ασυμπτωματικές και έχουν μικρή αύξηση του αριθμού των επαναλαμβανόμενων αλληλουχιών, σε σχέση με τον αριθμό που έχει ο πατέρας. Αλλά τόσο στους γιους όσο και στις κόρες των γυναικών αυτών, υπάρχει κίνδυνος μεγάλης αύξησης τους αριθμού των επαναλαμβανόμενων αλληλουχιών ως την πλήρως ανεπτυγμένη μετάλλαξη και την εμφάνιση του φαινοτύπου του συνδρόμου. Οι άνδρες ασθενείς που φέρουν πλήρως ανεπτυγμένη μετάλλαξη του συνδρόμου FRAXA, παρουσιάζουν ήπια έως σοβαρή διανοητική καθυστέρηση, προβλήματα συμπεριφοράς και διαταραχές στη σπερματογένεση λόγω του ότι το υπεύθυνο γονίδιο εκφράζεται στους όρχεις (Tamanini et al, 1997). Στις περιπτώσεις στις οποίες οι άνδρες πάσχουν ή φέρουν την προμετάλλαξη, η θεραπεία με ICSI προκαλεί αντιγνωμίες γύρω από σοβαρά θέματα ηθικής. Επιβάλλεται επομένως σε αυτές τις περιπτώσεις η γενετική συμβουλή ή καθοδήγηση, η γραπτή συγκατάθεση και πιθανώς η άδεια κάποιας εθνικής αρχής. Οι γυναίκες φορείς της προμετάλλαξης έχουν κατά 50% αυξημένο κίνδυνο (ο οποίος εξαρτάται από την επέκταση των επαναλήψεων CGG) να μεταβιβάσουν το σύνδρομο του ευθραύστου X στον απόγονό τους και κατά 15%-20% αυξημένο κίνδυνο να εμφανίσουν πρόωγη ωοθηκική ανεπάρκεια (POF) (Allingham-Hawking et al, 1999; Sherman, 2002).

ΧΡΩΜΟΣΩΜΑΤΙΚΕΣ ΑΝΩΜΑΛΙΕΣ

Οι χρωμοσωματικές ανωμαλίες έχουν συσχετιστεί με την ανδρική υπογονιμότητα. Το ποσοστό εμφάνισης χρωμοσωματικών ανωμαλιών σε καρυότυπους που πραγματοποιούνται σε υπογόνιμους άνδρες ανέρχεται σε 5.8% περίπου. Από αυτές τις χρωμοσωματικές ανωμαλίες το 4.2% περίπου εμφανίζεται στα φυλετικά χρωμοσώματα, ενώ ένα ποσοστό 1.5% αφορά τα αυτοσωματικά χρωμοσώματα (Johnson et al, 1998). Σε σχέση με τις επιπτώσεις των αυτοσωματικών χρωμοσωματικών ανωμαλιών, οι επιπτώσεις των φυλετικών χρωμοσωματικών διαταραχών στο φαινότυπο των ανδρών είναι συνήθως περιορισμένες ή ήπιες (Diemer & Desjardin, 1999). Επίσης, έχει παρατηρηθεί πως η συχνότητα εμφάνισης χρωμοσωματικών ανευπλοειδιών και ιδιαίτερα των φυλετικών χρωμοσωμάτων είναι υψηλότερη σε σπερματοζωάρια υπογόνιμων ανδρών (Palermo et al, 2002). Η Mateizel και συνεργάτες (2002) έδειξαν πως η ανευπλοειδία για το χρωμόσωμα 18 εμφανίζεται πιο συχνά σε άνδρες με ανωμαλίες στη σπερματογένεση. Επιπρόσθετα, παρατηρείται πως σε συγκέντρωση σπερ-

ματοζωαρίων $<20 \times 10^6/\text{ml}$ υπάρχει σημαντική αύξηση de novo χρωμοσωματικών ανωμαλιών σε δείγματα προερχόμενα από προγεννητική διάγνωση κνήσεων, μετά από εξωσωματική γονιμοποίηση (Devroy & Van Steirteghem, 2004; Bonduelle et al, 2002).

1. Μεταθέσεις αυτοσωματικών χρωμοσωμάτων

Στους υπογόνιμους άνδρες οι μεταθέσεις των αυτοσωματικών χρωμοσωμάτων είναι 4-10 φορές συχνότερες από ό,τι στους γόνιμους άνδρες (Chandley et al, 1975; Elliot & Cooke, 1997). Περισσότερες από 265 ισοζυγισμένες αμοιβαίες μεταθέσεις (balanced reciprocal translocations) έχουν αναφερθεί ότι σχετίζονται με την υπογονιμότητα (Mendelian Cytogenetic Network) (Olessen et al, 2001). Στις περιπτώσεις ισοζυγισμένων χρωμοσωματικών ανακατατάξεων (balanced chromosomal rearrangements) που σχετίζονται με την ανδρική υπογονιμότητα, βρέθηκε πως τα μισά από τα σημεία θραύσης που αναγνωρίστηκαν σε αυτοσωματικά χρωμοσώματα εντοπίζονται στο χρωμόσωμα 1, πράγμα που οδηγεί στην υπόθεση ότι στο χρωμόσωμα 1 εδράζονται γενετικές θέσεις ολανδρικών γονιδίων. Σε καρυότυπους υπογόνιμων ανδρών βρέθηκαν σε αυξημένο ποσοστό σημεία θραύσης που εντοπίζονται στο χρωμόσωμα 1 (Mendelian Cytogenetics Network) (Bache et al, 2004).

Σχεδόν όλα τα αυτοσωματικά χρωμοσώματα που εμπλέκονται σε αμοιβαίες ή μη μεταθέσεις ή σε πολύπλοκες χρωμοσωματικές ανακατατάξεις (στις οποίες εμπλέκονται τρία ή περισσότερα χρωμοσώματα) σχετίζονται με την υπογονιμότητα. Οι μεταθέσεις των αυτοσωματικών χρωμοσωμάτων δεν επιτρέπουν το κατάλληλο ζευγάρι των ομόλογων ζευγών των χρωμοσωμάτων κατά τη μείωση και παρακωλύουν το ζευγάρι των φυλετικών χρωμοσωμάτων (Guichaoua et al, 1992; Siffroi et al, 1997; Johnson, 1998).

2. Μεταθέσεις κατά Robertson

Οι μεταθέσεις μεταξύ ακροκεντρικών χρωμοσωμάτων (Robertsonian) είναι από τις συχνότερες στον άνθρωπο, όμως η επίδρασή τους στη σπερματογένεση ποικίλει από βαρεία απώλεια των σπερματογόνιων έως μικρές ή καθόλου αλλαγές στο σπερματικό επιθήλιο. Αυτές οι μεταθέσεις βρίσκονται συχνά μεταξύ των υπογόνιμων ανδρών και η θεραπευτική τους αντιμετώπιση βασίζεται στην ICSI. Στις περιπτώσεις, όμως, στις οποίες εφαρμόζεται η ICSI, αυξάνεται ο κίνδυνος να εμφανιστούν χρωμοσωματικές ανωμαλίες στα έμβρυα που αναπτύσσονται (Staessen & Van Steirteghem, 1997; Liebaers et al, 1998; Vandervors et al, 2000). Ο κίνδυνος για το νεογέννητο εξαρτάται από τα χρωμοσώματα που εμπλέκονται και το φύλο που φέρει τη μετάθεση αυτή. Οι πιο συχνές χρωμοσωματικές ανωμαλίες που εμφανίζονται στα νεογέννητα αφορούν τρισωμίες των χρωμοσωμάτων 13, 14, 21 ή 22. Έχει βρεθεί πως στους

ολιγοζωοσπερμικούς (1.6%) και στους αζωοσπερμικούς (0.09%) που προσέρχονται σε κέντρα υποβοηθούμενης αναπαραγωγής και σε ζευγάρια με αυτόματες αποβολές υπάρχει αυξημένο ποσοστό ανδρών που είναι φορείς μεταθέσεων κατά Robertson (συνήθως t[13q;14q]) (Johnson, 1998; Meschede et al, 1998). Για τον λόγο αυτό συστήνεται η εφαρμογή της PGD και της ICSI (Scriven et al, 2001). Για τον έλεγχο των χρωμοσωμάτων των σπερματοζωαρίων συστήνονται οι τεχνικές FISH, σε συνδυασμό με ειδικούς ανιχνευτές των χρωμοσωμάτων που συμμετέχουν σε πιθανές αμοιβαίες μεταθέσεις ή μεταθέσεις κατά Robertson (Munne et al, 1998a; Van Asche et al, 1999; Scriven et al, 2000).

3. Το σύνδρομο Klinefelter: 47,XXY

Το σύνδρομο Klinefelter είναι η συχνότερη αριθμητική ανωμαλία (1 στις 600-1000 γεννήσεις αγοριών) που παρατηρείται σε αζωοσπερμικούς άνδρες. Οι άνδρες με καρυότυπο 47,XXY κατά τα πρώτα στάδια της ανάπτυξης φαίνονται φαινοτυπικά φυσιολογικά άρρενα άτομα. Η ανάπτυξη των γονάδων όμως υπολείπεται και παρουσιάζουν υπογοναδισμό και υπογονιμότητα. Τα σπερματογόνια αυτών των ανδρών δεν διαφοροποιούνται πέρα από το πρωτογενές σπερματοκύτταρο, όμως σε ορισμένες περιπτώσεις παρατηρείται εστιακή σπερματογένεση μέχρι τα ώριμα σπερματοκύτταρα. Η πλειοψηφία (περίπου 80%) των ατόμων με σύνδρομο Klinefelter έχει καρυότυπο 47,XXY, ενώ περίπου 15%-20% εμφανίζουν μωσαϊκισμό (46,XY/47,XXY). Τα άτομα με μωσαϊκισμό έχουν ηπιότερο φαινότυπο και είναι πιθανό να έχουν σπερματοζωάρια. Ο καρυότυπος των σπερματογόνιων και σπερματοζωαρίων ανδρών με σύνδρομο Klinefelter δείχνει πως ένα ποσοστό αυτών έχει ανευπλοειδία των φυλετικών χρωμοσωμάτων (εμφανίζουν είτε καρυότυπο 47,XXY, είτε 46,XY), παρουσιάζουν δηλαδή γοναδικό μωσαϊκισμό (Yamamoto et al, 2002).

Η μέθοδος ICSI έχει εφαρμοστεί με επιτυχία σε άνδρες με καρυότυπο που υποδήλωνε σύνδρομο Klinefelter (μη μωσαϊκό), με σπερματοζωάρια από βιοψία όρχεως. Η προεμφυτευτική ανάλυση του βλαστομεριδίου με τη μέθοδο FISH θα πρέπει να πραγματοποιείται με ανιχνευτές που είναι ειδικοί για το χρωμόσωμα X και Y. Με τον τρόπο αυτό μπορεί να εξασφαλιστεί η μεταφορά εμβρύου με φυσιολογικό καρυότυπο. Έχουν ήδη περιγραφεί περιπτώσεις, στις οποίες η ICSI με τη χρήση σπερματοζωαρίων μετά από βιοψία όρχεως ανδρών με σύνδρομο Klinefelter, οδήγησε στη γέννηση παιδιών με φυσιολογικό καρυότυπο (Palermo et al, 1998; Yamamoto et al, 2002). Πιθανολογείται πως η συχνότητα μεταβίβασης του επιπρόσθετου χρωμοσώματος X στους απογόνους σχετίζεται με το ποσοστό των σπερματοζωαρίων με υπεράριθμα χρωμοσώματα X (24,XY), που λαμβάνονται από τη βιοψία όρχεως.

4. Σύνδρομο XYY: 47, XYY

Για το σύνδρομο αυτό ευθύνεται ο πατριζός μη αποχωρισμός του χρωμοσώματος Y κατά τη μείωση και η συνακόλουθη παρουσία ενός υπεραριθμού χρωμοσώματος Y. Αν και τα δευτερογενή χαρακτηριστικά του φύλου δεν προσβάλλονται και συνήθως οι άνδρες είναι γόνιμοι, υπάρχει ένα ποσοστό 47, XYY ανδρών που παρουσιάζουν σοβαρές ανωμαλίες στη σπερματογένεση. Ενώ το υπεραριθμό χρωμόσωμα Y απομακρύνεται κατά τη μείωση, παρατηρείται πως τα άτομα αυτά παράγουν σπερματοζώαρια με δισωμίες όπως 24,XY ή 24,XX σε μεγαλύτερο ποσοστό από ότι τα άτομα με καρύτυπο 46,XY (Blanco et al, 1997). Όπως και στο σύνδρομο 47,XXY ο κίνδυνος μεταβίβασης ανευπλοειδίας των φυλετικών χρωμοσωμάτων υπολογίζεται από το ποσοστό των υπερπλοειδών σπερματοζωαρίων.

5. Δομικές ανωμαλίες του χρωμοσώματος X

Οι δομικές ανωμαλίες του χρωμοσώματος X όπως μικρά ελλείμματα ή μεταθέσεις που αφορούν το χρωμόσωμα X και ένα αυτοσωματικό χρωμόσωμα προκαλούν συνήθως υπογονιμότητα στον άνδρα (Madan et al, 1983). Τα μεγαλύτερα ελλείμματα και ιδιαίτερα αυτά που προσβάλλουν ένα μεγάλο μέρος του χρωμοσώματος X στους θηλυκούς γαμέτες είναι ασύμβατα με την ανάπτυξη άρρενος εμβρύου, διότι οι άνδρες έχουν μόνο ένα χρωμόσωμα X και οι απώλεια των γονιδίων που εδράζονται στο χρωμόσωμα αυτό δεν αναπληρώνονται (Diemer & Desjardins, 1999).

Οι συνέπειες μιας μετάθεσης του χρωμοσώματος X σε αυτοσωματικά χρωμοσώματα ποικίλουν και εξαρτώνται από το φύλο που φέρει τη μετάθεση και το σημείο θραύσης. Οι γυναίκες φορείς μιας ισοζυγισμένης μετάθεσης του χρωμοσώματος X και ενός αυτοσωματικού χρωμοσώματος είναι συνήθως φαινοτυπικά φυσιολογικές, εκτός από τις περιπτώσεις στις οποίες τα σημεία θραύσης εντοπίζονται στην κρίσιμη περιοχή Xq13-q26. Στις περιπτώσεις αυτές οι γυναίκες παρουσιάζουν πάντα υπογονιμότητα εξαιτίας της γοναδικής δυσγενεσίας (Kalz-Fuller et al, 1999). Οι αμοιβαίες μεταθέσεις ανάμεσα στο χρωμόσωμα X και ένα αυτοσωματικό χρωμόσωμα επηρεάζουν την γονιμότητα στον άνδρα. Η φυσιολογική σπερματογένεση εξαρτάται από την αδρανοποίηση του χρωμοσώματος X κατά τη διάρκεια του σταδίου των σπερματοκυττάρων.

Οι αμοιβαίες μεταθέσεις ανάμεσα στο χρωμόσωμα X και ένα αυτοσωματικό χρωμόσωμα πιθανολογείται ότι μπορεί να παρεμβαίνουν στην αδρανοποίηση του χρωμοσώματος X, με αποτέλεσμα τα σπερματοκύτταρα να μην μπορούν να εισέλθουν στα επόμενα στάδια της μείωσης (Kalz-Fuller et al, 1999). Αυτό πιστεύεται ότι μπορεί να οφείλεται σε επανενεργοποίηση του χρωμοσώματος X, το οποίο θα πρέπει να είναι αδρανές κατά τη διάρκεια της σπερματογένεσης, με τελικό αποτέλε-

σμα την αζωοσπερμία (Handel & Hunt, 1992; Jamieson et al, 1996).

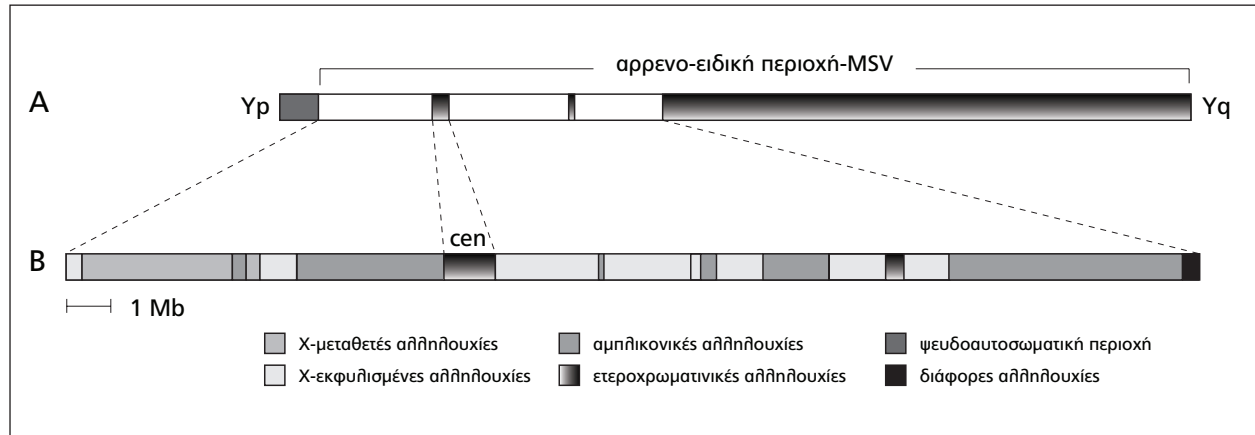
Όπως αναφέρεται παραπάνω, η φυσιολογική σπερματογένεση εξαρτάται από την αδρανοποίηση του χρωμοσώματος X, η οποία κατευθύνεται από ένα φυλοσύνδετο γονίδιο που δρα κατά τη διάρκεια του σταδίου των σπερματοκυττάρων (Diemer & Desjardins, 1999). Τα χρωμοσώματα X και Y σχηματίζουν στο στάδιο της ζυγοταινίας κατά τη διάρκεια της σύζευξης των χρωμοσωμάτων στη μείωση I, μια ενιαία μάζα (Solarì, 1974). Στα σπερματοκύτταρα και τις σπερματίδες, το γονίδιο της πυρουνβικής αφυδρογονάσης I είναι απενεργοποιημένο (Jamieson et al, 1996). Η αδρανοποίηση του X αποτρέπει τον ανασυνδυασμό μεταξύ των χρωμοσωμάτων X και (Jamieson et al, 1996).

Δεν είναι γνωστό ακόμη γιατί θα πρέπει το χρωμόσωμα X να είναι αδρανές κατά τη διάρκεια της σπερματογένεσης, αλλά προτείνεται πως εμπλέκεται σε μειωτικές διεργασίες όπως σύζευξη χρωμοσωμάτων και ανασυνδυασμό. Έτσι, οι μεταθέσεις ενός τμήματος του χρωμοσώματος X έχουν ισχυρή επίδραση στη σπερματογένεση, με αποτέλεσμα τα περισσότερα σπερματοκύτταρα να μη μπορούν να εισέλθουν στα επόμενα στάδια της μείωσης (Jamieson et al, 1996).

Σε ορισμένες περιπτώσεις, η σπερματογένεση ολοκληρώνεται μέχρι το στάδιο των επιμήκων σπερματίδων, η διαδικασία όμως αυτή είναι εξαιρετικά ανεπαρκής και παράγονται λίγα σπερματοζώαρια (Diemer & Desjardins, 1999). Σε αυτούς που έχουν ολοκληρώσει τη σπερματογένεση μέχρι το στάδιο των σπερματίδων μπορούν να εφαρμοστούν οι τεχνικές της υποβοηθούμενης αναπαραγωγής (ICSI), χωρίς όμως να αποκλείεται η πιθανότητα τα έμβρυα να φέρουν χρωμοσωματικές ανωμαλίες. Στις περιπτώσεις αυτές η PGD μπορεί να βοηθήσει στην αποφυγή μεταφοράς εμβρύων με χρωμοσωματικές ανωμαλίες (Liebaers et al, 1998; Vandervors et al, 2000).

6. Αναστροφές χρωμοσωμάτων

Στους υπογόνιμους άνδρες απαντώνται επίσης αναστροφές (περικεντρικές και παρακεντρικές) των χρωμοσωμάτων 1, 3, 5, 6, 9, 10 ή 21 (Meschede et al, 1994 - 1998; Navarro et al, 1993; Gabriel-Rodez et al, 1988). Οι επιπτώσεις των χρωμοσωματικών αναστροφών που έχουν σαν αποτέλεσμα να διαταράσσουν τη σπερματογένεση είναι ποικίλες. Έχει βρεθεί πως μια συγκεκριμένη περικεντρική αναστροφή στο χρωμόσωμα 1 προκαλεί στάση της σπερματογένεσης στο στάδιο των σπερματοκυττάρων, ενώ περικεντρικές αναστροφές σε άλλα χρωμοσώματα έχουν συσχετιστεί με αζωοσπερμία ή ολιγοζωοσπερμία (Meschede et al, 1994). Τα ζευγάρια που επιλέγουν την υποβοηθούμενη αναπαραγωγή θα πρέπει να ενημερώνονται για την πιθανότητα αυτόματης αποβολής (Andrews et al, 1998).



Εικόνα 1. Η αρρενο-ειδική περιοχή του χρωμοσώματος Y: A) Σχηματική απεικόνιση ολόκληρου του χρωμοσώματος Y, περιλαμβανομένης και της ψευδοαυτοσωματικής και ετεροχρωματινικής περιοχής, B) Μεγέθυνση της περιοχής μήκους 24Mb της MSY όπου απεικονίζονται και οι τρεις τάξεις ευχρωματινικών αλληλουχιών, όπως επίσης και οι ετεροχρωματινικές περιοχές (Skaletsky et al, 2003) [Cen: κεντρομερίδιο].

ΕΛΛΕΙΜΜΑΤΑ ΤΟΥ ΧΡΩΜΟΣΩΜΑΤΟΣ Y

Το χρωμόσωμα Y

Το χρωμόσωμα Y είναι ένα ιδιαίτερο χρωμόσωμα που εμπλέκεται συχνά σε δομικές ανωμαλίες διακριτές στο μοριακό ή στο κυτταρογενετικό επίπεδο, που αφορούν αποκλειστικά τη γονιμότητα και τη φυλετική διαφοροποίηση. Οι μεταθέσεις και τα μικροελλείμματα αποτελούν τις πιο συχνές δομικές του ανωμαλίες. Οι μεταθέσεις μεταξύ του χρωμοσώματος Y και των αυτοσωματικών χρωμοσωμάτων αφορούν συνήθως τα χρωμοσώματα 1, 3 και 11 και έχουν βλαπτική επίδραση στην σπερματογένεση. Άλλες ανωμαλίες του χρωμοσώματος Y όπως το δακτυλιοειδές Y και το δικεντρικό βραχύ σκέλος του Y παρεμποδίζουν τη σπερματογένεση με αποτέλεσμα την έλλειψη διαφοροποίησης των σπερματογόνιων. Το ανθρώπινο χρωμόσωμα Y περιέχει πάνω από 6 Mb DNA. Συγκρινόμενο με οποιοδήποτε άλλο χρωμόσωμα περιέχει ένα μικρό αριθμό γονιδίων και δρα σαν ένας γενετικός καθοριστής των ανδρικών χαρακτηριστικών. Η αρρενο-ειδική περιοχή MSY (Male Specific Region), που αποτελεί το 95% του χρωμοσώματος Y αντιπροσωπεύει ένα μωσαϊκό ετεροχρωματινικών και ευχρωματινικών αλληλουχιών. Μέχρι σήμερα έχουν ταυτοποιηθεί 156 μεταγραφόμενες γονδιακές μονάδες από τις οποίες οι 78 προέρχονται από γονίδια που κωδικοποιούν 27 πρωτεΐνες. Από τις 8 μεγάλες παλίνδρομες αλληλουχίες που έχουν ταυτοποιηθεί στο χρωμόσωμα Y, οι 6 περιέχουν ζωτικής σημασίας ειδικά για τη σπερματογένεση γονίδια.

Η υπογονιμότητα, όπως επίσης και αρκετές γονιδιακές δυσλειτουργίες του παρακρινικού ελέγχου στον άνδρα, έχουν αποδοθεί σε γονίδια του χρωμοσώματος Y, καθώς επίσης και σε γονίδια αυτοσωματικών χρω-

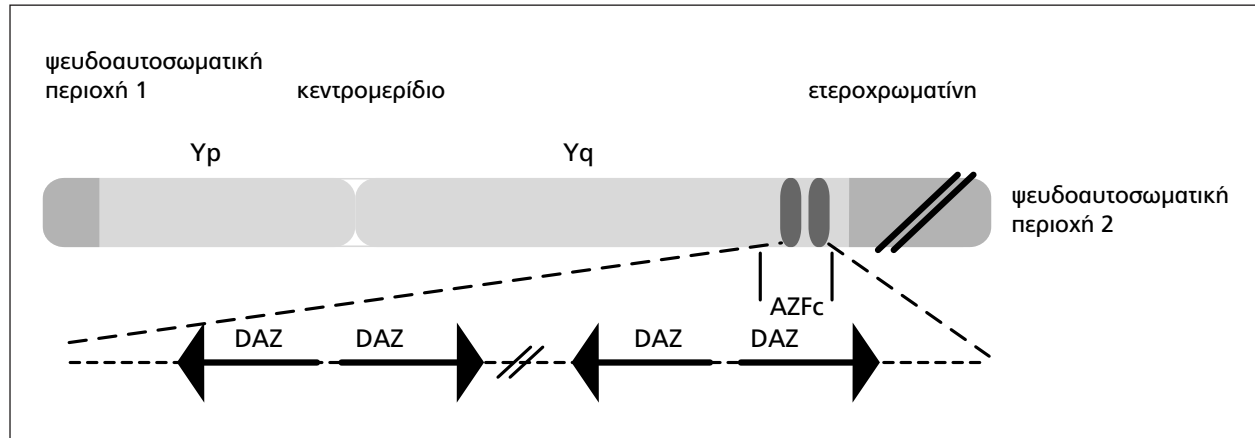
μοσωμάτων. Ιδιαίτερα, ελλείμματα ενός ή και των τριών υποπεριοχών του παράγοντα αζωοσπερμίας (AZFa, AZFb, AZFc) έχουν σαν αποτέλεσμα την ανδρική υπογονιμότητα. Μεταξύ των υποπεριοχών του AZF υπάρχει αξιοσημείωτη επικάλυψη που περικλείει ένα πλήθος γονιδίων και μεταγραφόμενων και μη μεταφραζόμενων μονάδων.

Μικροελλείμματα στο χρωμόσωμα Y και επιπτώσεις στην ανδρική υπογονιμότητα

Το ανθρώπινο χρωμόσωμα Y αποτελείται από ένα βραχύ και έναν μακρό βραχίονα που συμβολίζονται Yp και Yq αντίστοιχα. Στα τελομεριδιακά τμήματα αυτών των βραχιόνων υπάρχουν περιοχές νουκλεοτιδικής ταυτότητας με το χρωμόσωμα X που επιτρέπουν το ζευγάρισμα και τον ανασυνδυασμό κατά την μείωση στους άνδρες και γι' αυτό το λόγο αναφέρονται σαν ψευδοαυτοσωματικές περιοχές. Η περιοχή μετά τις ψευδοαυτοσωματικές περιοχές που διαφεύγει από τον ανασυνδυασμό, αναφέρεται ως μη-ανασυνδυαζόμενη περιοχή του χρωμοσώματος Y και περικλείει μερικές επαναλαμβανόμενες αλληλουχίες που είναι είτε ομόλογες με περιοχές στο χρωμόσωμα X ή ειδικές για το χρωμόσωμα Y (Foresta et al, 2001). Η Yp αλλά και η κεντρομεριδιακή περιοχή του Yq αποτελούνται από ευχρωματίνη, ενώ το τελομεριδιακό τμήμα του Yq αποτελείται από ετεροχρωματίνη. Η τελευταία αυτή περιοχή ποικίλλει γενικά σε μήκος και φυσιολογικά αποτελεί το 1/2 ή τα 2/3 του Yq. Έτσι, ο μακρός βραχίονας του χρωμοσώματος Y διχοτομείται κυτταρογενετικά σε μία ευχρωματινική κεντρική περιοχή (την Yq11) και σε μία ετεροχρωματινική τελομεριδιακή περιοχή (Yq12). Αρχικές προσπάθειες για την κατασκευή ενός χάρτη σύνδεσης για το ανθρώ-

Πίνακας 1. Γονίδια και οικογένειες γονιδίων της περιοχής MSY που φαίνεται να κωδικοποιούν πρωτεΐνες.

Τάξη Αλληλουχίας της MSY	Σύμβολο Γονιδίου	Όνομα γονιδίου	Αριθμός αντιγράφων	Ιστοειδική έκφραση	X-συνδεδεμένα ομόλογα	Αυτοσωμικά ομόλογα
X-μεταθετές αλληλουχίες	TGFLY	TGF(beta)-induced transcription factor 2-like Y	1	Όρχεις	TGF2LX	-
	PCDH11Y	Protocadherin 11 Y	1	Εμβρυϊκός εγκέφαλος, εγκέφαλος	PCDH11X	-
X-εκαφυλισμένες αλληλουχίες	SRY	Sex determining region Y	1	Κυρίως στους όρχεις	SOX3	-
	RPS4Y1	Ribosomal protein S4 Y isoform 1	1	Καθολική	RPS4X	-
	ZFY	Zinc finger 1	1	Καθολική	ZFX	-
	AMELY	Amelogenin Y	1	Δόντια	AMELX	-
	TBL1Y	Transducin (beta)-like 1 protein Y	1	Εμβρυϊκός εγκέφαλος, προστάτης	TBL1X	-
	PRKY	Protein kinase Y	1	Καθολική	PRKX	-
	USP9Y	Ubiquitin-specific protease 9 Y	1	Καθολική	USP9X	-
	DBY	Dead box Y	1	Καθολική	DBX	-
	UTY	Ubiquitous TPR motif Y	1	Καθολική	UTX	-
	TMSB4Y	Thymosin (beta)-4 Y	1	Καθολική	TMSB4X	-
	NLGN4Y	Neurologin 4 isoform Y	1	Εμβρυϊκός εγκέφαλος, εγκέφαλος, προστάτης, όρχεις	NLGN4X	-
	CYorf15A	Chromosome Y open reading frame 15A	1	Καθολική	Cyorf15	-
	Cyorf15B	Chromosome Y open reading frame 15B	1	Καθολική	Cyorf15	-
	SMCY	SMC (mouse) homologue, Y	1	Καθολική	SMCX	-
	EF1AY	Translation initiation factor 1AY	1	Καθολική	EIF1AX	-
RPS4Y2	Ribosomal protein S4 Y isoform2	1	Καθολική	RPS4X	-	
Αμπλικονικές αλληλουχίες	TSPY	Testis-specific protein Y	~35	Όρχεις	-	-
	VCY	Variable charge Y	2	Όρχεις	VCX	-
	XKRY	XK related Y	2	Όρχεις	-	-
	CDY	Chromodomain Y	4	Όρχεις	-	CDYL
	HSFY	Heatshock transcription factor Y	2	Όρχεις	-	-
	RBMV	RNA-binding motif Y	6	Όρχεις	RBMX	-
	PRY	PTP-BL related Y	2	Όρχεις	-	-
	BPY2	Basic protein Y 2	3	Όρχεις	-	-
DAZ	Deleted in azoospermia	4	Όρχεις	-	DAZL	
Όλικό άθροισμα	~78					



Εικόνα 2. Σχηματική απεικόνιση της χωροταξικής τοποθέτησης των γονιδίων DAZ πάνω στο χρωμόσωμα Y (De Vries et al, 2000).

πιο χρωμόσωμα Y καθυστέρησαν από την απουσία μειωτικού ανασυνδυασμού κατά μήκος τις μεγαλύτερης περιοχής του χρωμοσώματος. Συνεπώς η χαρτογράφηση βασίστηκε στα ελλείμματα που βρίσκονται σε ασθενείς και είχε σαν αποτέλεσμα έναν τμηματικό χάρτη που χωρίζει το χρωμόσωμα Y σε επτά διαστήματα (Vergnaud et al, 1986), στον οποίο ο βραχύς βραχίονας Υp και η κεντρομεριδιακή περιοχή περιέχουν τα πρώτα τέσσερα τμήματα. Η ευχρωματινική περιοχή του μακρού βραχίονα Υq αντιπροσωπεύεται από τα τμήματα 5 και 6, ενώ η ετεροχρωματινική περιοχή προς το τελομεριδιακό άκρο του χρωμοσώματος Y θεωρείται διάστημα 7. Οι Vollrath et al χώρισαν τον χάρτη με τα επτά διαστήματα σε 43 υποδιαστήματα, με αποτέλεσμα να προτείνουν τον σημερινό ευρύτερα χρησιμοποιούμενο χάρτη του χρωμοσώματος Y (Vollrath et al, 1992).

Αποδείξεις για την πιθανή σύνδεση μεταξύ αδυναμίας για σπερματογένεση και ενός γενετικού υποστρώματος παρουσιάστηκαν από τους Tiepolo & Zuffardi, που διαπίστωσαν μικροσκοπικά ανιχνεύσιμα ελλείμματα στην περιοχή του Υq σε έξι αζωοσπερμικούς άνδρες από έναν μαζικό έλεγχο 1170 περιπτώσεων (Tiepolo & Zuffardi, 1976). Σε όλους αυτούς τους ασθενείς το μόνο σύμπτωμα που παρατηρούνταν ήταν η απουσία σπερματοζωαρίων στο σπερματικό πλάσμα, κάτι που υποδήλωνε ότι οι παράγοντες που σχετίζονταν με την ανθρώπινη σπερματογένεση βρίσκονταν σε αυτήν την περιοχή (Υq 11) που αργότερα ονομάστηκε «παράγοντας αζωοσπερμίας» (azoospermia factor—AZF).

Ο Vogt και οι συνεργάτες του, μετά από έναν έλεγχο 370 ανδρών με ιδιοπαθή ολιγοσπερμία ή αζωοσπερμία, για 76 γενετικούς τόπους στην περιοχή Υq11, εντόπισαν 12 άτομα που παρουσίαζαν de novo μικροελλείμματα και έναν ασθενή που είχε ένα κληρονομικό έλλειμμα (Vogt et al, 1996), που αντιστοιχούσαν σε διαφορετικές υποπεριοχές μέσα στην Υq11.

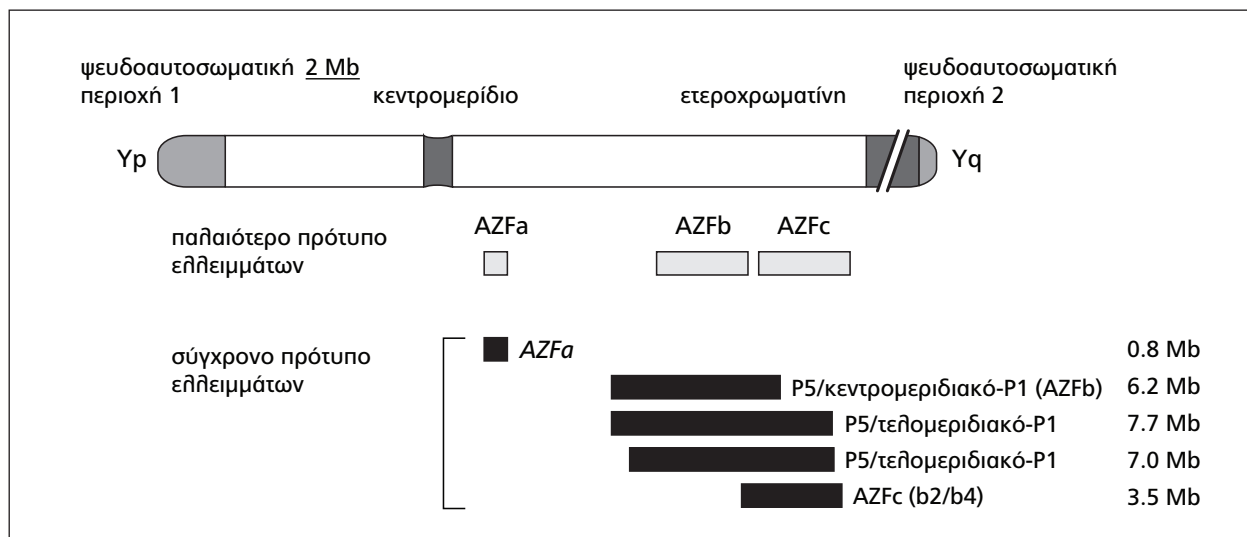
Αυτά τα ευρήματα οδήγησαν στον χαρακτηρισμό τριών περιοχών που απαιτούνται για την σπερματογένεση τα οποία καθιερώθηκε να αναφέρονται σαν AZFa, AZFb, AZFc. Ο πρώτος από αυτούς τους παράγοντες αζωοσπερμίας ο AZFa, βρίσκεται στο κεντρικό τμήμα του διαστήματος 5 (υποδιάστημα 5C). Ο παράγοντας AZFb εκτείνεται από την τελομεριδιακή περιοχή του διαστήματος του 5 στο κεντρομεριδιακό τμήμα του 6 (υποδιαστήματα 5O-6B). Ο AZFc βρίσκεται ακριβώς δίπλα στην ετεροχρωματινική περιοχή του Y χρωμοσώματος, ανάμεσα στα υποδιαστήματα 6C και 6E.

Χαρτογράφηση του Y χρωμοσώματος

Τις τελευταίες δεκαετίες η κατανόηση των βιολογικών λειτουργιών του χρωμοσώματος Y έχει αρχίσει να αναδύεται από μελέτες του DNA σε άτομα με περιορισμένα ελλειματικά τμήματα του χρωμοσώματος Y, που συνοδεύτηκαν από τον μοριακό χαρακτηρισμό συνδεδεμένων με το Y γονιδίων εμπλεκόμενων στη γοναδική αντιστροφή φύλου, το σύνδρομο του Turner, και την απόρριψη μωσχευμάτων (Vogt et al, 1997). Γονιδιακές μελέτες απεκάλυψαν ότι το χρωμόσωμα Y περιέχει μια περιοχή, που αποτελεί το 95% του μήκους του, όπου δεν γίνεται ανασυνδυασμός ανάμεσα στα χρωμοσώματα X-Y. Η μη ανασυνδυαζόμενη αυτή περιοχή ονομάστηκε MSY (male-specific region). Η περιοχή MSY περιβάλλεται και από τις δύο πλευρές από ψευδοαυτοσωμικές περιοχές, όπου ο ανασυνδυασμός ανάμεσα στα χρωμοσώματα X και Y είναι ένα συχνό και φυσιολογικό γεγονός κατά τη μείωση στους άνδρες (Skaletzky et al, 2003). Η ευχρωματινική περιοχή της MSY καλύπτει στο σύνολο περίπου 23 Mb, 8 Mb στο βραχύ βραχίονα Υp και 14.5 Mb στο μακρό βραχίονα του Υq (εικόνα 1).

Γονίδια και μεταγραφόμενες μονάδες

Πρόσφατα έχει βρεθεί πως η περιοχή MSY περιλαμβάνει



Εικόνα 3. Παλαιότερο και σύγχρονο πρότυπο ελλειμμάτων του χρωμοσώματος Y (Repping et al, 2002).

βάνει τουλάχιστον 156 μεταγραφόμενες γονιδιακές μονάδες, οι μισές από τις οποίες πιθανόν να κωδικοποιούν πρωτεΐνες (πίνακας 1 και εικόνα 1). Και οι 156 μεταγραφόμενες γονιδιακές μονάδες που ταυτοποιήθηκαν βρίσκονται σε ευχρωματινικές περιοχές. Δεν υπάρχουν ενδείξεις για την ύπαρξη μεταγραφής στην ετεροχρωματινή της περιοχής MSY. Από τις 78 μονάδες που κωδικοποιούν πρωτεΐνες, περίπου 60 είναι μέλη εννέα διαφορετικών, MSY-ειδικών, οικογενειών-γονιδίων, κάθε μία από τις οποίες είναι ταυτόσημη νουκλεοτιδική αλληλουχία σε ποσοστό >98%. Τα υπόλοιπα 18 γονίδια υπάρχουν σε ένα μόνο αντίγραφο. Έτσι, η περιοχή MSY φαίνεται να κωδικοποιεί για τουλάχιστον 27 διακριτές πρωτεΐνες ή οικογένειες πρωτεϊνών. Επιπρόσθετα, η περιοχή MSY περιλαμβάνει 78 μεταγραφόμενες μονάδες από τις οποίες φαίνεται πως οι περισσότερες δεν κωδικοποιούν πρωτεΐνες.

Οι τρεις κατηγορίες αλληλουχιών στην ευχρωματινική περιοχή της MSY

Σχεδόν όλες οι ευχρωματινικές αλληλουχίες ανήκουν σε τρεις κατηγορίες, οι οποίες έχουν ονομασθεί X-μεταθετές, X-εκφυλισμένες και αμπλικονικές:

1. Οι X-μεταθετές αλληλουχίες είναι κατά 99% ταυτόσημες με αλληλουχίες DNA στο χρωμόσωμα X. Οι αλληλουχίες αυτές ονομάζονται έτσι, γιατί η παρουσία τους στην ανθρώπινη περιοχή MSY είναι το αποτέλεσμα μαζικών μεταθέσεων από το χρωμόσωμα X στο Y που συνέβησαν πριν από 3-4 εκατομμύρια χρόνια, μετά την γενεαλογική απόκλιση του ανθρώπου από τον χιμπατζή (Page et al, 1984; Mumm et al, 1997; Schwartz et al, 1998).

2. Οι X-εκφυλισμένες αλληλουχίες της περιοχής MSY περιέχουν γονίδια που βρίσκονται σε ένα μόνο αντίγραφο ή ψευδογονίδια, ομόλογα με 27 γονίδια, που εντοπίζονται στο χρωμόσωμα X. Οι παραπάνω αλληλουχίες επιδεικνύουν 60%-96% νουκλεοτιδική ταυτότητα με τις ομόλογές τους αλληλουχίες στο χρωμόσωμα X και μοιάζουν να είναι κατάλοιπα αρχέγονων αυτοσωματικών χρωμοσωμάτων από τα οποία εξελίχθηκαν τα χρωμοσώματα X και Y.

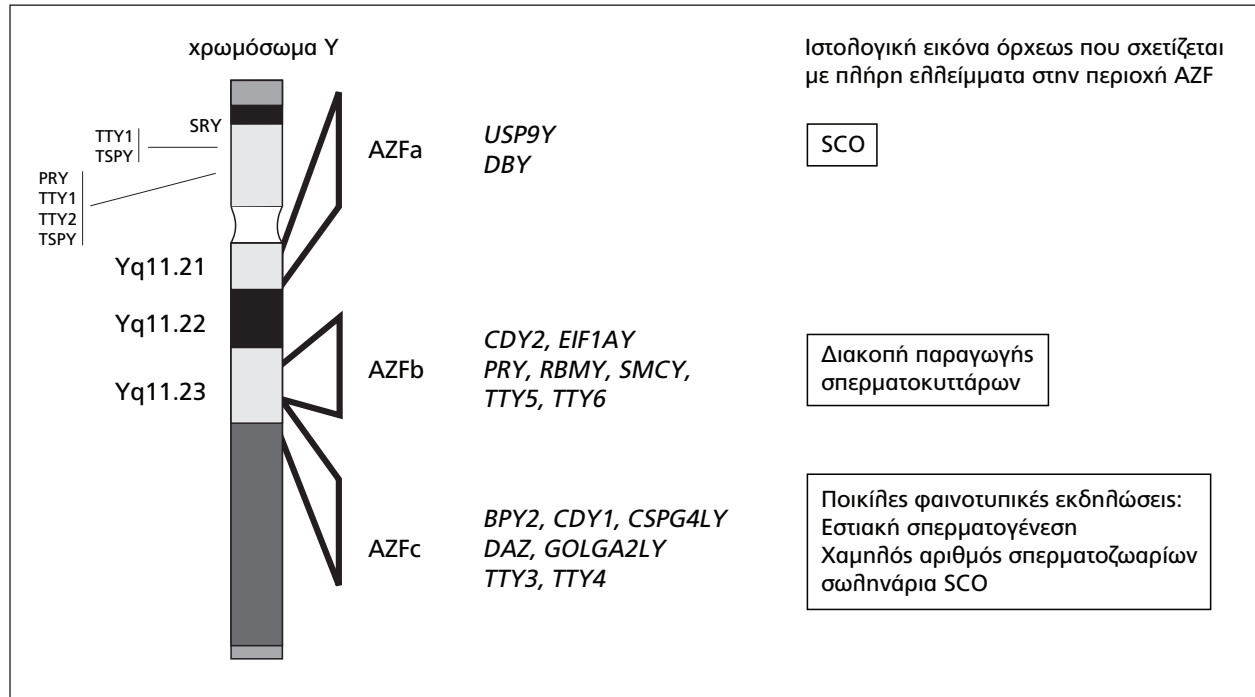
3. Τα αμπλικονικά τμήματα, είναι μεγάλες σε μήκος επαναλαμβανόμενες μονάδες, οι αλληλουχίες των οποίων επιδεικνύουν αξιοσημείωτη ομοιότητα (ως και 99% ταυτότητα σε έκταση δεκάδων ή και εκατοντάδων χιλιοβάσεων).

Οχτώ παλίνδρομες αλληλουχίες αποτελούν το 25% της ευχρωματινής στην MSY

Το πιο ουσιαστικό δομικό χαρακτηριστικό των αμπλικονικών περιοχών του χρωμοσώματος Y είναι οι οχτώ παλίνδρομες αλληλουχίες (είναι αλληλουχίες DNA που περιέχουν την ίδια 5' προς 3' αλληλουχία και στις δύο αλυσίδες, π.χ. 5' GAATTC 3' – 5' CTTAAG 3'). Και οι 8 παλίνδρομες αλληλουχίες, έχουν υψηλό ποσοστό συμμετρίας στα άκρα, με νουκλεοτιδική ομοιότητα από άκρο σε άκρο της τάξης του 99.94%-99.97%.

Η πολυμορφική δομή του γονιδίου DAZ

Το γονίδιο που χάνεται σε περιπτώσεις αζωοσπερμίας (Deleted in Azoospermia), DAZ, εντοπίστηκε στην περιοχή AZFc στον μακρό βραχίονα του ανθρώπινου Y χρωμοσώματος (Reijo et al, 1996). Αν και η γενωμική του δομή και οι μηχανισμοί που προκαλούν τα ελλείμ-



Εικόνα 4. Τρία διαφορετικά μικροελλείμματα που ανιχνεύονται στο χρωμόσωμα Yq11 και έχουν χαρακτηριστεί “de novo” σε άνδρες με ιδιοπαθή υπογονιμότητα χωρίζουν την AZF περιοχή στην AZFa περιοχή, που σχετίζεται με την ύπαρξη του συνδρόμου Sertoli-cell-only (SCOS), στην AZFb περιοχή, που σχετίζεται με τον φαινότυπο της πλήρους διακοπής παραγωγής σπερματοκυττάρων (Complete Spermatocyte Arrest), και στην AZFc περιοχή, που σχετίζεται με ευρύ φάσμα φαινοτυπικών εκδηλώσεων. Σε κάθε μικροέλλειμμα AZF μία σειρά γονιδίων που ταυτοποιήθηκαν ότι εκφράζονται στον ανθρώπινο όρχη αποσιωπούνται (Vogt et al, 2003).

ματα έχουν πλέον αποσαφηνιστεί (Kuroda-Kawaguchi et al, 2001), η βιολογική του λειτουργία είναι ακόμα υπό διερεύνηση. Υπάρχουν 4 αντίτυπα του γονιδίου DAZ με ομολογία πάνω από 99.9%. Τα γονίδια DAZ1, DAZ2, DAZ3, DAZ4 φαίνεται να διαφέρουν μεταξύ τους στον αριθμό των επαναλήψεων του εξωνίου 7. Οι Yen και συνεργάτες επίσης έδειξαν ότι τα γονίδια DAZ παρουσιάζουν υψηλό ποσοστό πολυμορφισμού στις επαναλαμβανόμενες περιοχές του DAZ (Yen et al, 1997). Τα μέλη της οικογένειας DAZ είναι οργανωμένα σε ζεύγη με τα αντίτυπα του ζεύγους DAZ1/DAZ2 και του ζεύγους DAZ3/DAZ4 να έχουν αντίθετο προσανατολισμό (εικόνα 2). Το κάθε ζεύγος χωρίζεται από μια μη-επαναλαμβανόμενη αλληλουχία 20 kb που είναι η περιοχή του υποκινητή των γονιδίων. Η οικογένεια DAZ, όπως και η RBMY, κωδικοποιεί για μια ορχεο-ειδική πρωτεΐνη που περιέχει ένα μοναδικό δεσμευτικό παράγοντα του RNA και 8 ως 24 αντίγραφα από μια αλληλουχία αμινοξέων που ονομάζεται ‘DAZ επαναλαμβανόμενη μονάδα’ (Reijo et al, 1996; De Vries et al, 2000).

Μηχανισμοί και τύποι ελλειμμάτων

1. AZFa: στην περιοχή Yq11 ταυτοποιήθηκε μια με-

γάλη σε μήκος (10 kb) ρετρο-ϊική αλληλουχία, η οποία σχετιζόταν με τον ανθρώπινο ενδογενή ρετροϊό 15 (HERV15). Η αλληλουχία αυτή βρίσκεται σε δύο αντίτυπα στο κεντρομεριδιακό και τελομεριδιακό τμήμα της περιοχής AZFa (HERVYq1 και HERV15Yq2). Φαίνεται, πως αυτή η ρετρο-ϊική αλληλουχία ευθύνεται για τα ελλείμματα στην περιοχή AZFa, που είναι αποτέλεσμα ομόλογου ανασυνδυασμού ανάμεσα στις δύο ταυτόσημες αλληλουχίες HERV15 (Hurles et al, 2004).

2. AZFb: το πλήρες έλλειμμα της περιοχής AZFb απομακρύνει τμήμα του χρωμοσώματος Y μεγέθους 6.2 Mb και αποτελεί συνέπεια του ομόλογου ανασυνδυασμού ανάμεσα στα παλίνδρομα P5/κεντρομεριδιακό P1 (Repping et al, 2002).

3. AZFc: τα συχνά ελλείμματα που ανιχνεύονται στην περιοχή AZFc οφείλονται στη δομή των αμπλικονίων που εντοπίζονται σ’ αυτήν την περιοχή. Το πιο συχνό έλλειμμα στην περιοχή AZFc αφορά την απομάκρυνση 3.5 Mb ανάμεσα στα αμπλικόνια b2/b4, στα παλίνδρομα P3 και P1 αντίστοιχα και αφαιρεί 21 γονίδια και μεταγραφόμενες μονάδες (Kuroda-Kawaguchi et al, 2001). Μερικό έλλειμμα της περιοχής αυτής, που χαρακτηρίζεται gr/gr (g1/g2, r1/r3, r2/r4), έχει περιγραφεί σε

υπογόνιμους άνδρες με διάφορες ανωμαλίες σπερματογένεσης. Με το έλλειμμα αυτό απομακρύνεται η μισή περιοχή AZFc, μεγέθους 1.6 Mb. Το έλλειμμα b2/b3, δε φαίνεται να έχει επίπτωση στη σπερματογένεση (Giachini et al, 2005) (εικόνα 3).

4. AZFb+c: τα ελλείμματα των περιοχών AZFb και AZFbc είναι αποτέλεσμα τριών τουλάχιστον διαφορετικών προτύπων ελλειμμάτων (Repping et al, 2002). Έχουν προταθεί δύο κύριοι μηχανισμοί σύμφωνα με τους οποίους τα ελλείμματα αυτά είναι αποτέλεσμα ομόλογου ανασυνδυασμού ανάμεσα στα παλίνδρομα P5/P1 (7.7 Mb και απομακρύνονται 42 μεταγραφικές μονάδες) ή μεταξύ των P4/P1 (7.0 Mb, απομακρύνονται 38 μεταγραφικές μονάδες) (Repping et al, 2002) (εικόνα 3).

Συμπερασματικά, σύμφωνα με τα υπάρχοντα δεδομένα, τα ακόλουθα εκτεταμένα μικροελλείμματα του Y χρωμοσώματος ανιχνεύονται σε άνδρες με σοβαρή ολιγοασθενοτεροσπερμία ή αζωοσπερμία: AZFa, AZFb (P5/κεντρομεριδιακό P1), AZFbc (P5/τελομεριδιακό P1 ή P4/τελομεριδιακό P1), AZFc (b2/b4).

Συσχέτιση γονότυπου/φαινότυπου

Έχει πλέον αναγνωρισθεί πως τα μικροελλείμματα στο χρωμόσωμα Y συνδέονται παθογενετικά με τη διαταραχή της σπερματογένεσης με τελική συνέπεια βαρεία ΟΤΑ ή αζωοσπερμία και πως αποτελούν μετά το σύνδρομο Klinefelter τη δεύτερη σε σειρά αιτία ανδρικής υπογονιμότητας (Krausz C & McElreavey K, 1999; Maurer B & Simoni M, 2000). Η συχνότητα εμφάνισης αυτών των μικροελλειμμάτων σε έναν πληθυσμό αρρένων που συμμετέχουν σε πρόγραμμα υποβοηθούμενης αναπαραγωγής με τη μέθοδο της ICSI ανέρχεται στο 2%-3%, ενώ το ποσοστό ελλειμμάτων σε υπογόνιμους άνδρες με αζωοσπερμία ποικίλει από 6% έως 12% (Kupker et al, 1999; Van Landuyt et al, 2000). Στους άνδρες με βαρεία ολιγοζωοσπερμία ένα ποσοστό 5.8% εμφανίζει μικροελλείμματα. Ο Katagiri και συνεργάτες (2004) σε μια μελέτη έδειξαν πως το ποσοστό εμφάνισης μικροελλειμμάτων στους αζωοσπερμικούς και βαρεία ολιγοζωοσπερμικούς άνδρες ανέρχεται σε ποσοστό 16% και 4% αντίστοιχα, ενώ δεν παρατηρήθηκαν μικροελλείμματα σε άνδρες με αριθμό σπερματοζωαρίων μεγαλύτερο από 5×10^6 /ml. Τα μικροελλείμματα των τριών περιοχών AZF απαντώνται σε διαφορετικά ποσοστά. Τα πιο συχνά μικροελλείμματα εμφανίζονται στην περιοχή AZFc (79% όλων των μικροελλειμμάτων), ακολουθεί η περιοχή AZFb (9%), η AZFbc (6%), η AZFa (3%) και η AZFabc («XX όρχες»: 3%) (Simoni et al, 2004).

Καθαρή συσχέτιση ανάμεσα στην επέκταση του ελλείμματος και στην ποιότητα των σπερματοζωαρίων ή την ιστολογική εικόνα όρχεως δε φαίνεται να υπάρχει, καθώς ο φαινότυπος ποικίλει από αζωοσπερμία με/ή χωρίς εστιακή σπερματογένεση μέχρι την ολοκληρω-

μένη σπερματογένεση ως το στάδιο του σπερματοζωαρίου. Τα ελλείμματα όμως ολόκληρης της περιοχής AZFa έχουν πάντα σαν αποτέλεσμα την πλήρη απουσία των γεννητικών κυττάρων, τυπική του συνδρόμου παρουσίας μόνο των κυττάρων Sertoli (Sertoli cell only syndrome –SCOS) (Vogt et al, 1996; Krausz et al, 1999). Η διάγνωση ενός πλήρους ελλείμματος της περιοχής AZFa καθιστά ανέφικτη την δυνατότητα εντοπισμού σπερματοζωαρίων μετά από βιοψία όρχεως (TESE) για ICSI. Ελλείμματα μεμονωμένων γονιδίων της περιοχής AZFa, που περιλαμβάνουν μόνο τα γονίδια USPY9 και DBY, είχαν συσχετιστεί με ποικίλους ορχικούς φαινότυπους (Ferlin et al, 1999; Foresta et al, 2000). Τέτοια ελλείμματα ωστόσο έχουν περιγραφεί μόνο σποραδικά και χρειάζονται περαιτέρω επιβεβαίωση και από άλλες ερευνητικές ομάδες (εικόνα 4).

Τα ελλείμματα της περιοχής AZFb και AZFbc συσχετίζονται επίσης με την ιστολογική εικόνα SCOS ή στάση της σπερματογένεσης στο στάδιο των σπερματιδίων (Krausz et al, 2000). Διάφορες αναφορές έχουν δείξει ότι, όπως και με τα πλήρη ελλείμματα της περιοχής AZFa, και σε αυτούς τους ασθενείς δεν έχουν βρεθεί σπερματοζωάρια μετά από βιοψία όρχεων (Hopps et al, 2003). Όπως και με τα πλήρη ελλείμματα της AZFa περιοχής, η διάγνωση των πλήρων ελλειμμάτων της AZFb και AZFbc είναι ασύμβατη με την απομόνωση σπερματοζωαρίων και η βιοψία όρχεων δεν πρέπει να συνιστάται (εικόνες 3, 4).

Αντίθετα, τα ελλείμματα της περιοχής AZFc (b2/b4) σχετίζονται με ποικίλο κλινικό και ιστολογικό φαινότυπο, από απουσία γαμετών στους όρχεις μέχρι μείωση του αριθμού, της κινητικότητας και της μορφολογίας των σπερματοζωαρίων (Luetjens et al, 2002; Oates et al, 2002; Reijo et al, 1998). Αυτό σημαίνει, πως η έλλειψη της περιοχής AZFc, μπορεί μεν να σχετίζεται με την παραγωγή σπερματοζωαρίων, αλλά η παρουσία της φαίνεται να είναι κρίσιμη για την ποιοτική και ποσοτική παραγωγή των σπερματοζωαρίων. Σε γενικές γραμμές τα ελλείμματα αυτά είναι συμβατά με υπολειπόμενη σπερματογένεση. Ελλείμματα AZFc μπορούν να βρεθούν επίσης σε άνδρες με αζωοσπερμία ή με βαρεία ολιγοασθενοτεροαζωοσπερμία και σε σπάνιες περιπτώσεις μπορούν να κληρονομηθούν φυσιολογικά στους άνδρες απογόνους (Kühnert et al, 2004). Σε άνδρες με αζωοσπερμία και ελλείμματα AZFc υπάρχει μια αρκετά μεγάλη πιθανότητα εντοπισμού σπερματοζωαρίων με τη μέθοδο TESE και παιδιά μπορούν να γεννηθούν με ICSI (Kent-First et al, 1996; Jiang et al, 1999; Van Golde et al, 2001; Peterlin et al, 2002). Οι γιοι αυτών των ασθενών θα έχουν έλλειμμα της AZFc (εικόνες 3, 4).

Ο Katagiri και συνεργάτες (2004) έχουν περιγράψει μια και μοναδική περίπτωση στην οποία μετά από χειρουργική αναρρόφηση σπερματοζωαρίων από την επιδιδυμίδα ανιχνεύτηκε μερικό έλλειμμα στην περιοχή

AZFb. Ο γιος αυτού του άνδρα έφερε ακριβώς το ίδιο έλλειμμα. Άλλες μελέτες επιβεβαιώνουν ότι σε αζωοσπερμικούς άνδρες που φέρουν ελλείμματα ολόκληρης της περιοχής AZFa ή AZFb δεν υπάρχει δυνατότητα εντοπισμού σπερματοζωαρίων μετά από βιοψία όρχεως (Schlegel et al, 2002). Σπερματοζωάρια από βιοψία όρχεως ανδρών που φέρουν ελλείμματα (είτε πλήρη είτε μερικά) στην περιοχή AZFc, είτε μερικά ελλείμματα στην περιοχή AZFb, έχουν την ίδια δυνατότητα να γονιμοποιήσουν ωάρια για να δώσουν απογόνους με αυτήν των σπερματοζωαρίων υπογόνιμων ανδρών που δε φέρουν ελλείμματα. Επίσης, ένα ποσοστό ανδρών με έλλειμμα στην περιοχή AZFc εμφανίζει ολιγοζωοσπερμία.

Η παθογένεια των ελλειμμάτων έχει αμφισβητηθεί από αναφορές στις οποίες άνδρες που φέρουν μικροελλείμματα είναι γόνιμοι (Krausz et al, 2003). Έχουν περιγραφεί επίσης σπάνιες περιπτώσεις στις οποίες έλλειμμα στην περιοχή AZFc έχει μεταβιβαστεί από υπογόνιμο πατέρα σε υπογόνιμο γιο μέσω φυσιολογικής σύλληψης (Pryor et al, 1997). Οι Kuhert και συνεργάτες (2004) επίσης ανέφεραν περίπτωση φυσιολογικής μεταβίβασης AZFc μικροελλείμματος από πατέρα σε γιο και ο Rolf και συνεργάτες (2002) περιγράφουν φυσιολογική μεταβίβαση μερικής έλλειψης AZFb σε τρεις γενεές. Με τη μέθοδο ICSI έχει περιγραφεί μεταβίβαση μικροελλειμμάτων από πατέρα σε γιο που περιλάμβαναν τα γονίδια DAZ και CDY1 (Kamischke et al, 1999). Οι άνδρες που φέρουν μικροελλείμματα στο χρωμόσωμα Y και παράγουν σπερματοζωάρια, θα κληρονομήσουν στους γιους που γεννιούνται μετά από ICSI, σχεδόν πάντα το ίδιο έλλειμμα (Kent-First et al, 1996; Maurer & Simoni, 2000). Ο Patsalis και συνεργάτες (2002) προτείνουν πως μπορεί να υπάρχει κάποιος κίνδυνος για χρωμοσωματικές ανευπλοειδίες για τους άνδρες απογόνους, όταν ο πατέρας τους φέρει μικροελλείμματα στο χρωμόσωμα Y. Ο κίνδυνος αυτός δεν αφορά μόνο απογόνους με καρυότυπο 45,X/46,XY αλλά και τους απογόνους με καρυότυπο 45,X. Επίσης, η παραπάνω ομάδα προτείνει πως η μέθοδος PGD θα πρέπει να συστήνεται όταν, λόγω της υποσπερμετογένεσης που προκαλείται από μικροελλείμματα στο Y χρωμόσωμα, εφαρμόζεται η ICSI. Με αυτή τη μέθοδο θα μπορεί επομένως να αποφευχθεί η μεταφορά εμβρύων με καρυότυπο 45X.

Σημασία του γενετικού τεστ για τα μικροελλείμματα του Y χρωμοσώματος

Σε πολλά διαγνωστικά κέντρα, η ανάλυση των ελλειμμάτων του χρωμοσώματος Y εφαρμόζεται μόνο για γενετική συμβουλευτική, μπορεί να έχει όμως και προγνωστική αξία. Το είδος των μικροελλειμμάτων (AZF a, b ή c) έχει προταθεί ότι είναι ένας προγνωστικός παράγοντας για τη ανεύρεση σπερματοζωαρίων σε άνδρες που υποβάλλονται στην διαδικασία της βιοψίας

των όρχεων. Τα μικροελλείμματα της περιοχής AZFc και τα μερικά ελλείμματα της AZFb συσχετίζονται με την ανεύρεση σπερματοζωαρίων στο 50% των περιπτώσεων, ενώ σε έναν άνδρα με απουσία ολόκληρης της περιοχής AZFa ή b ή της AZFa+b η πιθανότητα ανεύρεσης ώριμων σπερματοζωαρίων είναι μηδενική (Mulhall et al, 1997; Silber et al, 1998). Επομένως η έκταση και η εντόπιση του πλήρους ή μερικού ελλείμματος είναι κλινικά σημαντική πληροφορία. Η προγνωστική αξία των μικροελλειμμάτων του χρωμοσώματος Y είναι επίσης σημαντική καθώς έχει παρατηρηθεί μείωση του αριθμού των σπερματοζωαρίων, με την πάροδο της ηλικίας, σε άνδρες με ελλείμματα στην περιοχή AZFc. Κρυστοσυντήρηση των σπερματοζωαρίων αυτών των ασθενών, θα μπορούσε να μειώσει τις επεμβατικές μεθόδους συλλογής σπερματοζωαρίων, όπως η TESE, στο μέλλον. Επιπλέον και οι άρρενες απόγονοι που συλλαμβάνονται με ICSI ή IVF από πατέρες με ολιγοσπερμία ή αζωοσπερμία θα μπορούσαν να επωφεληθούν από την ανίχνευση ελλειμμάτων του χρωμοσώματος Y και να υποστούν λιγότερες διαγνωστικές επεμβάσεις. Συζητείται, επίσης, είτε λόγω του κινδύνου αζωοσπερμίας άρρενων απογόνων, είτε λόγω του κινδύνου για χρωμοσωματικές ανωμαλίες (Patsalis 2002) ή επιλογή φύλου σε όσους φορείς ελλειμμάτων, που έχουν σπερματοζωάρια, το επιθυμούν.

Ενδείξεις για το μοριακό έλεγχο του χρωμοσώματος Y

Η παγκόσμια βιβλιογραφία βασισμένη σε μερικές χιλιάδες ασθενών που έχουν ελεγχθεί, υποδεικνύει ότι τα κλινικά ελλείμματα βρίσκονται σε ασθενείς με αζωοσπερμία ή συγκέντρωση σπέρματος $<1 \times 10^6 / \text{mL}$. Πιο σπάνια, μπορεί να βρεθούν ελλείμματα σε υπογόνιμους ασθενείς με συγκέντρωση σπέρματος μεταξύ 1 και $5 \times 10^6 / \text{mL}$ (Maurer & Simoni, 2000; Foresta et al, 2001). Αν και τα ποσοστά των μικροελλειμμάτων είναι υψηλότερα όταν οι ασθενείς επιλέγονται με βάση την ιστολογία των όρχεων, π.χ. SCOS (Foresta et al, 2001; Kamp et al, 2001), είναι δύσκολο να προταθούν κριτήρια σύμφωνα με τα οποία οι ασθενείς να έχουν απόλυτη ένδειξη για μοριακή ανάλυση. Σε γενικές γραμμές, σε ασθενείς με άλλες γενετικές ανωμαλίες, όπως αποφρακτική αζωοσπερμία ή υπογοναδοτροφικό υπογοναδισμό ή χρωμοσωματική ανωμαλία, δεν ενδείκνυται η μοριακή ανάλυση του χρωμοσώματος Y (Frydelund-Larsen et al, 2002; Tomasi et al, 2003).

Σημασία του βασικού ελέγχου ανάλυσης των ελλειμμάτων του Y χρωμοσώματος

1. AZFa: η μοριακή ανάλυση της περιοχής AZFa γίνεται με τη χρήση των δύο ανώνυμων μοριακών δεικτών STS sY84 και sY86. Σύμφωνα με τον μηχανισμό προέλευσης των ελλειμμάτων και την τρέχουσα εμπειρία, από τη στιγμή που εντοπίζεται ένα έλλειμμα και στους δύο δείκτες STS's, η πιθανότητα να πρόκειται για πλή-

ρες έλλειμμα προσεγγίζει το 100%. Ωστόσο, καθώς τα ελλείμματα της περιοχής AZFa είναι σπάνια, δεν μπορεί να αποκλειστεί η πιθανότητα να ανιχνευτούν ακόμη πιο σπάνια πρότυπα ελλειμμάτων, τα οποία και θα πρέπει να αναλυθούν εκτενέστερα. Αν μόνο ένας από τους δύο δείκτες STS (μόνο ο sY84 ή μόνο ο sY86) έχει διαγραφεί και έχουν αποκλεισθεί σφάλματα στην διαδικασία της ενίσχυσης, η περιοχή AZFa θα πρέπει να εξετάζεται με μεγαλύτερη προσοχή για την παρουσία ή απουσία των δύο γονιδίων της περιοχής AZFa (DBY και USP9Y) (Simoni et al, 2004).

2. AZFb: οι δύο ανώνυμοι δείκτες sY127 και sY134 βρίσκονται στο μεσαίο και τελομεριδικό τμήμα της περιοχής AZFb. Έλλειψη και των δύο δεικτών υποδηλώνει την ύπαρξη πλήρους έλλειψης της περιοχής AZFb.

3. AZFc: οι δύο δείκτες sY254 και sY255 είναι ειδικοί για το γονίδιο DAZ, το οποίο έχει τέσσερα αντίγραφα. Τα μέλη της οικογένειας DAZ είναι οργανωμένα σε ζεύγη με τα αντίτυπα του ζεύγους DAZ1/DAZ2 και του ζεύγους DAZ3/DAZ4 να έχουν αντίθετο προσανατολισμό (εικόνα 2). Η απουσία και των δύο δεικτών υποδηλώνει έλλειμμα ολόκληρης της περιοχής AZFc, που απομακρύνει όλα τα αντίγραφα του DAZ. Σύμφωνα με την υπάρχουσα γνώση, το έλλειμμα ενός μόνο από αυτούς τους δείκτες είναι σημαίνει πως υπάρχει κάποιο σφάλμα στη μεθοδολογία. Ελλείμματα καθενός από τα αντίγραφα του γονιδίου DAZ είναι πιθανό να συμβαίνουν αλλά δεν μπορούν να διερευνηθούν με αυτό το πρωτόκολλο. Ελλείμματα μόνο δύο αντιγράφων του DAZ έχουν αναφερθεί και σε υπογόνιμους αλλά και σε γόνιμους άνδρες (Fernandes et al, 2002; de Vries et al, 2002; Repping et al, 2002).

4. AZFbc: Το πλήρες έλλειμμα των περιοχών AZFb και AZFc ανιχνεύεται με την έλλειψη και των τεσσάρων δεικτών sY127, sY134, sY254 και sY255. Η χρήση περισσότερων ειδικών δεικτών, όπως προτείνεται από τους Repping et al (2002), καθορίζει εάν το έλλειμμα αντιστοιχεί στο πρότυπο πλήρους ελλείμματος.

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Από την ανωτέρω ανάλυση γίνεται κατανοητό ότι η γενετική βάση της ανδρικής υπογονιμότητας είναι ιδιαίτερα πολύπλοκη. Οι κυριότερες αιτίες της ανδρικής υπογονιμότητας είναι οι μονογονιδιακές γενετικές βλάβες, οι χρωμοσωματικές ανωμαλίες και τα ελλείμματα του χρωμοσώματος Y.

Έχει περιγραφεί ένας μεγάλος αριθμός μονογονιδιακών γενετικών βλαβών τόσο στα αυτοσωματικά όσο και στα φυλετικά χρωμοσώματα, οι οποίες έχουν χαρακτηρίσει συνδρόμου, με πολλαπλές κλινικές εκδηλώσεις, ή μεμονωμένες εκδηλώσεις που αφορούν αποκλειστικά την υπογονιμότητα. Συνεπώς, η ανδρική υπογονιμότητα αποτελεί ένα από τα κλινικά χαρακτηριστικά κάποιων συνδρόμων ή μεμονωμένο εύρημα μιας γενετικής

βλάβης. Οι χρωμοσωματικές ανωμαλίες στα φυλετικά και τα αυτοσωματικά χρωμοσώματα σχετίζονται με την ανδρική υπογονιμότητα. Σε σύγκριση με τις επιπτώσεις των αυτοσωματικών χρωμοσωματικών ανωμαλιών, οι επιπτώσεις των φυλετικών χρωμοσωματικών διαταραχών στο φαινότυπο των ανδρών είναι συνήθως περιορισμένες ή ήπιες. Οι υπογόνιμοι ασθενείς αυτής της κατηγορίας μπορούν να αποκτήσουν απογόνους με τη χρήση της ICSI, γι' αυτό είναι απαραίτητη η κατάλληλη γενετική καθοδήγηση και διερεύνηση για την ελαχιστοποίηση του κινδύνου μετάδοσης της γενετικής βλάβης. Σε αυτές τις περιπτώσεις συστήνεται η εφαρμογή της PGD, ενώ για τον έλεγχο των χρωμοσωμάτων των σπερματοζωαρίων συστήνονται οι τεχνικές FISH, σε συνδυασμό με ειδικούς ανιχνευτές των αυτοσωματικών και φυλετικών χρωμοσωμάτων.

Το χρωμόσωμα Y είναι ένα ιδιαίτερο χρωμόσωμα που εμπλέκεται συχνά σε δομικές ανωμαλίες διακριτές στο μοριακό ή στο κυτταρογενετικό επίπεδο, που αφορούν αποκλειστικά τη γονιμότητα και τη φυλετική διαφοροποίηση. Οι μεταθέσεις και τα μικροελλείμματα αποτελούν τις πιο συχνές δομικές του ανωμαλίες. Ιδιαίτερα, ελλείμματα στην αρρενο-ειδική περιοχή MSY συνδέονται παθογενετικά με τη διαταραχή της σπερματογένεσης, με τελική συνέπεια αζωοσπερμία ή βαρεία ολιγοασθενοτερατοζωοσπερμία.

Η ανάλυση των ελλειμμάτων του χρωμοσώματος Y εφαρμόζεται κυρίως για να δοθεί η κατάλληλη γενετική συμβουλή, μπορεί να έχει όμως και προγνωστική αξία. Το είδος των μικροελλειμμάτων έχει προταθεί ότι είναι ένας προγνωστικός παράγοντας για τη ανεύρεση σπερματοζωαρίων σε άνδρες που υποβάλλονται στην διαδικασία της βιοψίας των όρχεων. Η έκταση και η εντόπιση του πλήρους ή του μερικού ελλείμματος είναι κλινικά σημαντική πληροφορία διότι έχει παρατηρηθεί παντελής απουσία σπερματοζωαρίων σε ορισμένα ελλείμματα, όπως και μείωση του αριθμού των σπερματοζωαρίων με την πάροδο της ηλικίας σε άνδρες με ηπιότερα ελλείμματα. Κρυοσυντήρηση των σπερματοζωαρίων αυτών των ασθενών θα μπορούσε να μειώσει τις επεμβατικές μεθόδους συλλογής σπερματοζωαρίων, όπως η TESE, στο μέλλον. Επιπλέον, οι άρρενες απόγονοι που γεννήθηκαν μετά από ICSI από πατέρες με ολιγοσπερμία ή αζωοσπερμία θα μπορούσαν να επωφεληθούν από την ανίχνευση ελλειμμάτων του χρωμοσώματος Y και να υποστούν λιγότερες διαγνωστικές επεμβάσεις.

Summary

Genetic basis of male infertility

Georgiou I, Bouba I, Lazaros L, Hatzi E, Sirou M.
Helen Obstet Gynecol 18(4):316-333, 2006

There are more than 13.700 monogenic disorders linked to specific genes. In the Y chromosome, there

are more than 200 known genetic loci. Many monogenic disorders are syndromic, with one or multiple clinical symptoms. Male infertility is one of the clinical features of syndromes, such as one form of situs inversus totalis with primary ciliary dyskinesia (Kartagener syndrome), or an isolated finding of a genetic disorder, such as the congenital absence of the vas deferens due to the cystic fibrosis gene mutations.

Chromosomal abnormalities are related to male infertility. The 4.2% of the infertile males have chromosomal abnormalities in the sex chromosomes, whereas the 1.5% of the infertile males have chromosomal abnormalities in the autosomes. The common chromosomal aberrations in infertile males are autosomal translocations, Robertsonian translocations, X chromosome structural abnormalities, inversions and aneuploidies of the X and Y chromosomes, such as Klinefelter and XYY syndrome.

The human Y chromosome includes a small gene number in contrast to other chromosomes and defines the genetic male characteristics. The human Y chromosome is a mosaic of euchromatic and heterochromatic sequences. Microdeletions of one or more regions of the azoospermia factor AZF (AZFa, AZFb, AZFc) are the genetic basis of male infertility in approximately 5% of non-obstructive azoospermia men.

Key words: male infertility, genetic basis, chromosomal abnormalities, single gene defects, Y deletions.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Allingham-Hawkins DJ, Babul-Hirji R, Chitayat D, Holden JJ, Yang KT, Lee C, Hudson R, Gorwill H, Nolin SL, Glicksman A, Jenkins EC et al. The International collaborative POF in Fragile X study-preliminary data. *Am J Med Genet* 1999; 83:651-652.
- Andrews L, Elster N, Gatter R. ART into science: regulation of fertility techniques. *Science* 1998; 281:651-652.
- Bache I, Assche EV, Cingoz S, Bugge M, Tumer Z, Hjorth M, Lundsteen C, Lespinasse J, Winther K, Niebuhr A et al. An excess of chromosome 1 breakpoints in male infertility. *Eur J Hum Genet* 2004; 12:993-1000.
- Bartolini L, Blouin J, Pan Y, Gehrig C, Maiti A, Scamuffa N, Rossier C, Antonarakis S. Mutations in the DNAH11 (axonemal heavy chain dynein type 11) gene cause one form of situs inversus totalis and most likely primary ciliary dyskinesia. *Proceedings of The National Academy of Science* 2002; 99(16):10282-6.
- Behre HM, Nieschlag E and Behre HM. (eds) *Andrology: Male Reproductive Health and Dysfunction*. Springer-Verlag, Berlin, 1997; pp.115-129.
- Beitel LK, Prior L, Vassiliou DM et al. Complete androgen insensitivity due to mutations in the probable a helical segments of the DNA binding domain in the human androgen receptor. *Hum Mol Gen* 1994; 3:21-27.
- Blanco J, Rubio C, Simon C. Increased incidence of disomic sperm nuclei in a 47,XYY male assessed by fluorescent in situ hybridization. *Hum Genet* 1997; 99:413-416.
- Bonduelle M, Van Assche E, Joris H, Keymolen K, Devroey P, Van Steirteghem A, Liebaers I. Prenatal testing in ICSI pregnancies: incidence of chromosomal anomalies in 1586 karyotypes and relation to sperm parameters. *Hum Reprod* 2002; 17:2600-2614.
- Chandley AC, Edmond P, Christie S, Gowans L, Fletcher J, Frackiewicz A, Newton M. Cytogenetics and infertility in man. I. Karyotype and seminal analysis. *Ann Hum Genet* 1975; 39:231-252.
- Cuppens H, Lin W, Jaspers M, Costes B, Teng H, Vankeerberghen A, Jorissen M, Droogmans G, Reynaert I, Goossens M et al. Polyvariant mutant cystic fibrosis transmembrane conductance regulator genes. *J Clin Invest* 1998; 101:487-496.
- De Braekeleer M, Ferec C. Mutations in the cystic fibrosis gene in men with congenital bilateral absence of vas deferens. *Mol Hum Reprod* 1996; 6:245-250.
- De Vries JW, Repping S, Van Daalen SK, Korver CM, Leschot NJ, Van Der Veen F. Clinical relevance of partial AZFc deletions. *Fertil Steril* 2002; 74:1209-1214.
- Dean NL, Phillips SJ, Chan P, Tan SL, Ao A. Reported relationship between increased CTG repeat lengths in myotonic dystrophy and azoospermia. *Hum Reprod* 2002; 17:3003-4.
- Diemer T, Desjardins C. Developmental and genetic disorders in spermatogenesis. *Hum Reprod Update* 1999; 5:120-140.
- Elliot DJ, Cooke HJ. The molecular genetics of male infertility. *Bioassays* 1997; 19:801-809.
- Ferlin A, Moro E, Garolla A, Foresta C. Human male infertility and Y chromosome deletions: role of the AZF-candidate genes DAZ, RBM and DFFRY. *Hum Reprod* 1999; 14:1710-1716.
- Foresta C, Ferlin A, Moro E. Deletion and expression analysis of AZFa genes on the human Y chromosome revealed a major role for DBY in male infertility. *Hum Mol Genet* 2000; 9:1161-1169.
- Foresta C, Moro E, Ferlin A. Y chromosome microdeletions and alterations in spermatogenesis. *Endocr Rev* 2001; 22:226-239.
- Frydelund-Larsen L, Krausz C, Leffers H, Andersson AM, Carlsen E, Bangsboell S, McElreavey K, Skakkebaek NE, Rajpert-De Meyts E. Inhibin B: a marker for the functional state of the seminiferous epithelium in patients with azoospermia factor c microdeletions. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87:5618-5624.

20. Georgiou I, Serman K, Lissens W, De Vos A, Platteau P, Lolis D, Van Steirthehem A, Liebaers I. Preimplantation genetic diagnosis for spinal and bulbar muscular atrophy (SBMA). *Hum Genet* 2001; 108:494-498.
21. Giachini C, Guarducci E, Longepied G, Degl'Innocenti S, Becherini L, Forti G, Mitchell MJ, Krausz C. The gr/gr deletion(s): a new genetic test in male infertility? *J Med Genet* 2005; 42(6):497-502.
22. Guichaoua MR, Speed RM, Luciani JM, Delafontaine D, Chandley AC. Infertility in human males with autosomal translocations. *Cytogenet Cell Genet* 1992; 60:96-101.
23. Handel MA, Hunt PA. Sex chromosome pairing and activity during mammalian meiosis. *Bioassays* 1992; 14:817-822.
24. Hopps CV, Mielnik A, Goldstein M, Palermo GD, Rosenwaks Z, Schlegel PN. Detection of sperm in men with Y chromosome microdeletions of the AZFa, AZFb and AZFc regions. *Hum Reprod* 2003; 18:1660-1665.
25. Hortas ML, Castilla JA, Gil MT, Molina J, Garrido ML, Morell M, Redondo M. Decreased sperm function of patients with myotonic muscular dystrophy. *Hum Reprod* 2000; 15(2):445-8.
26. Hurles ME, Willey D, Matthews L, Hussain SS. Origins of chromosomal rearrangement hotspots in the human genome: evidence from the AZFa deletion hotspots. *Enome Biol* 2004; 5(8):R55
27. Jamieson RV, Tam PPL, Gardiner-Garden M. X-chromosome activity: impact of imprinting and chromatin structure. *Int J Dev Biol* 1996; 40:1065-1080.
28. Johnson MD. Genetic risks of intracytoplasmic sperm injection in the treatment of male infertility: recommendations for genetic counselling and screening. *Fertil Steril* 1998; 70:397-411.
29. Kalantaridou SN, Chrousos GP. Monogenic disorders of puberty. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87:2481-2494.
30. Kalz-Fuller B, Slegers E, Schwanitz G, Schubert R. Characterization, phenotypic manifestations and X-inactivation pattern in 14 patients with X autosome translocations. *Clin Genet* 1999; 55:352-66.
31. Kamischke A, Gromoll J, Simoni M, Behre HM, Nieschlag E. Transmission of a Y chromosomal deletion involving the deleted in azoospermia (DAZ) and chromodomain (CDY1) genes from father to son through intracytoplasmic sperm injection: case report. *Hum Reprod* 1999; 14:2320-2322.
32. Kamp C, Huellen K, Fernandes S, Sousa M, Schlegel PN, Mielnik A et al. High deletion frequency of the complete AZFa sequence in men with Sertoli-cell-only syndrome. *Mol Hum Reprod* 2001; 7:987-994.
33. Katagiri Y, Neri QV, Takeuchi T, Schlegel PN, Megid WA, Kent-First M, Rosenwaks Z, Palermo GD. Y chromosome assessment and its implications for the development of ICSI children. *Reprod Biomed Online* 2004; 8(3):307-18.
34. Kent-First MG, Kol S, Muallem A, Ofir R, Manor D, Blazer S, First N, Itskovitz-Eldor J. The incidence and possible relevance of Y-linked microdeletions in babies born after intracytoplasmic sperm injection and their infertile fathers. *Mol Hum Reprod* 1996; 2:943-950.
35. Kiewewetter S, Macek M Jr, Davis C, Curristin SM, Chu CS, Graham C, Shrimpton AE, Cashman SM, Tsui LC, Mickle J et al. A mutation in CFTR produces different phenotypes depending on chromosomal background. *Nat Genet* 1993; 5:274-278.
36. Krausz C, McElreavey K. Y chromosome and male infertility. *Frontiers in Bioscience* 1999; 4:31-8.
37. Kupker W, Schwinger E, Hiort O, Ludwig M, Nikolettos N, Schelegel PN, Diedrich K. Genetics of male subfertility: consequences for the clinical work-up. *Hum Reprod* 1999; Suppl(1):24-37.
38. Kühnert B, Gromoll J, Kostova E, Tschanter P, Luetjens CM, Simoni M, Nieschlag E. Natural transmission of an AZFc Y-chromosomal microdeletion from father to his sons. *Hum Reprod* 2004; 19:886-888.
39. Kuroda-Kawaguchi T, Skaletsky H, Brown LG, Minx PJ, Cordum HS, Waterston RH et al. The AZFc region of the Y chromosome features massive palindromes and uniform recurrent deletions in infertile men. *Nature Genet* 2001; 29:279-286.
40. Liebaers I, Sermon K, Staessen C, Joris H, Lissens W, Van Assche E, Nagy P, Bonduelle M, Vandervorst M, Devroey P et al. Clinical experience with preimplantation genetic diagnosis and intracytoplasmic sperm injection. *Hum Reprod* 1998; 13(Suppl.1):186-195.
41. Luetjens CM, Gromoll J, Engelhardt M, Von Eckardstein S, Bergmann M, Nieschlag E, Simoni M. Manifestation of Y-chromosomal deletions in the human testis: a morphometrical and immunohistochemical evaluation. *Hum Reprod* 2002; 17:2258-2266.
42. Maurer B, Gromoll J, Simoni M, Nieschlag E. Prevalence of Y chromosome microdeletions in infertile men who consulted a tertiary care medical centre: the Münster experience. *Andrologia* 2001; 33:27-33.
43. Mateizel I, Verheyen G, Van Assche E, Tournaye H, Liebaers I, Van Steirthehem A. FISH analyses of chromosome X,Y and 18 abnormalities in testicular sperm from azoospermic patients. *Hum Reprod* 2002; 17:2249-2257.
44. Meschede D, Froster UG, Bergmann M, Nieschlag E. Familial pericentric inversion of chromosome 1(p34q23) and male infertility with stage specific spermatogenic arrest. *J Med Genet* 1994; 31:573-575.
45. Meschede D, Horst J. The molecular genetics of male

- infertility. *Mol Hum Reprod* 1997; 3:419-430.
46. Mulhall JP, Reijo R, Alagappan R, Brown L, Page D, Carson R, Oates RD. Azoospermic men with deletion of the DAZ gene cluster are capable of completing spermatogenesis: fertilization, normal embryonic development and pregnancy occur when retrieved testicular spermatozoa are used for intracytoplasmic sperm injection. *Hum Reprod* 1997; 12:503-508.
 47. Munne S, Fung J, Cassel MJ, Marquez C, Weier HU. Preimplantation genetic analysis of translocations: case-specific probes for interphase cell analysis. *Hum Genet* 1998; 102:663-674.
 48. Nieschlag E, Behre HM, Meschede D. Disorders at the testicular level. In: Nieschlag E & Behre HM (eds). *Andrology: Male Reproductive Health and Dysfunction*. Springer-Verlag, Berlin, 1997; pp.133-159.
 49. Olessen C, Hansen C, Bendtsen E, Byskov AG, Schwinger E, Lopez-Pajares I, Jensen PK, Kristoffersson U, Schubert R, Van Assche E et al. Identification of human candidate genes for male infertility by digital differential display. *Mol Hum Reprod* 2001; 7:11-20.
 50. Page DC, Harper ME, Love J, Botstein D. Occurrence of a transposition from the X-chromosome long arm to the Y-chromosome short arm during human evolution. *Nature* 1984; 311:119-123.
 51. Palermo GD, Colombero LT, Hariprashad JJ, Schlegel PN, Rosenwaks Z. Chromosomal analysis of epididymal and testicular sperm in azoospermic patients undergoing ICSI. *Hum Reprod* 2002; 17:570-575.
 52. Patsalis PC, Sismani C, Quintana-Murci L, Taleb-Bekkouche F, Krausz C, McElreavey K. Effects of transmission of Y chromosome AZFc deletions. *Lancet* 2002; 360, 1222-1224.
 53. Patrizio P, Leonard DGB. Mutations of the cystic fibrosis gene and congenital absence of the vas deferens. In: McElreavey K (ed). *The genetic basis of male infertility*. Springer Verlag, Berlin, Germany, 2000; pp.175-186.
 54. Pirrello O, Machev N, Schimdt F, Terriou P, Menezo Y, Xiville S. Search for mutations involved in human globozoospermia. *Hum Reprod* 2005; 20(5):1314-1318.
 55. Pryor JL, Kent-First M, Muallem A, Van Bergen AH, Nolten WE, Meisner L, Roberts KP. Microdeletions in the Y chromosome of infertile men. *N Engl J Med* 1997; 336(8):534-9.
 56. Reijo R et al. Severe oligozoospermia resulting from deletions of azoospermia factor gene on Y chromosome. *Lancet* 1996; 347:1290-1293.
 57. Repping S, Skaletsky H, Lange J, Silber S, Van Der Veen F, Oates RD, Page DC, Rozen S. Recombination between palindromes P5 and P1 on the human Y chromosome causes massive deletions and spermatogenic failure. *American J Hum Genet* 2002; 71:906-922.
 58. Rolf C, Gromolt J, Simoni M, Nieschlag E. Natural transmission of a partial AZFb deletion of the Y chromosome over three generations. *Hum Reprod* 2002; 17:2267-71.
 59. Schlegel PN. The Y chromosome. *Reproductive Bio-Medicine Online* 2002; 5:22-25.
 60. Scriven PN, Flinter FA, Braude PR, Mackie Ogilvie C. Robertsonian translocations - reproductive risks and indications for preimplantation genetic diagnosis. *Hum Reprod* 2001; 16:2267-2273.
 61. Scriven PN, O'Mahony F, Bickerstaff H, Yeong CT, Braude P, Mackie Ogilvie C. Clinical pregnancy following blastomere biopsy and PGD for a reciprocal translocation carrier: analysis of meiotic outcomes and embryo quality in two IVF cycles. *Prenat Diagn* 2000; 20:587-592.
 62. Sermon K, De Vos A, Van de Velde H, Seneca S, Lissens W, Joris H, Vandervorst M, Van Steirteghem A, Liebaers I. Fluorescent PCR and automated fragment analysis for the clinical application of preimplantation genetic diagnosis of myotonic dystrophy (Steinert's disease). *Mol Hum Reprod* 1998; 4:791-796.
 63. Sherman S. Epidemiology. In: Hagerman RJ, Hagerman PJ (eds). *Fragile X syndrome*. The Johns Hopkins University Press, Baltimore & London, 2002; pp.136-168.
 64. Silber SJ, Alagappan R, Brown LG, Page DC. Y chromosome deletions in azoospermic and severely oligozoospermic men undergoing intracytoplasmic sperm injection after testicular sperm extraction. *Hum Reprod* 1998; 13:3332-3337.
 65. Simoni M, Bakker E, Krausz C. EAA/EMQN best practice guidelines for molecular diagnosis of Y-chromosomal microdeletions. State of the art. *Int J Androl* 2001; 27:240-249.
 66. Skaletsky H, Kuroda-Kawaguchi T, Minx PJ, Cordum HS, Hillier L, Brown LG et al. The male-specific region of the human Y chromosome is a mosaic of discrete sequence classes. *Nature* 2003; 423:825-837.
 67. Solari AJ. The behavior of the XY pair in mammals. *Int Rev Cytol* 1974; 38:273-317.
 68. Tamanini F, Willemsen R, van Unen L, Bontekoe C, Galjaard H, Oostra BA, Hoogeveen AT. Differential expression of FMR1, FXR1 and FXR2 proteins in human brain and testis. *Hum Mol Genet* 1997; 6:1315-1322.
 69. Tiepolo L, Zuffardi O. Localization of factors controlling spermatogenesis in the nonfluorescent portion of the human Y chromosome long arm. *Hum Genet* 1976; 34:119-124.
 70. Tomasi PA, Oates R, Brown L, Delitala G, Page DC. The pituitary-testicular axis in Klinefelter's syndrome and in oligo-azoospermic patients with and without

- deletions of the Y chromosome long arm. *Clin Endocrinol (Oxford)* 2003; 59:214-222.
71. Vandervors M, Staessen C, Sermon K, De Vos A, Van de Velde H, Van Assche E, Bonduelle M, Vanderfaelie A, Lissens W, Tournaye H et al. The Brussels' experience of more than 5 years of clinical preimplantation genetic diagnosis. *Hum Reprod Update* 2000; 6:364-373.
 72. Van Golde RJ, Wetzels AM, de Graaf R, Tuerlings JH, Braat DD, Kremer JA. Decreased fertilization rate and embryo quality after ICSI in oligozoospermic men with microdeletions in the azoospermia factor c region of the Y chromosome. *Hum Reprod* 2001; 16(2):289-292.
 73. Van Landuyt L, Lissens W, Stouffs K, Tournaye H, Liebaers I, Van Steirteghem. Validation of a simple Yq deletion screening programme in an ICSI candidate population. *Mol Hum Reprod* 2000; 6(4):291-297.
 74. Vergnaud G, Page DC, Simmier MC, Brown L, Rouyer E, Noel B, Botstein D, de la Chapelle A, Weissenbach J. A deletion map of the human Y chromosome based on DNA hybridization. *Am J Hum Genet* 1986; 38:109-124.
 75. Vollrath D, Foote S, Hilton A, Brown LG, Beer-Romeiro P, Bogan JS, Page DC. The human Y chromosome: a 43-interval map based on naturally occurring deletions. *Science* 1992; 258:52-59.
 76. Vogt PH, Edelmann A, Kirsch S, Henegariu O, Hirschmann P, Kiesewetter F, Kohn FM, Schill WB, Farah S, Ramos C et al. Human Y chromosome azoospermia factors (AZF) mapped to different subregions in Yq11. *Hum Mol Genet* 1996; 5:933-943.
 77. Vogt PH, Affara N, Davey P, Hammer M, Jobling MA, Lan YF, Mitchell M, Schempp W, Tyler-Smith C, Williams G, Yen P, Rappold GA. Report of the Third International Workshop on Y Chromosome Mapping 1997. *Cytogenet Cell Genet* 1997; 79:1-20.
 78. Willems PJ. Dynamic mutations hit double figures. *Nat Genet* 1994; 8:213-215.
 79. Yamamoto Y, Sofikitis N, Kaponis A, Georgiou J, Giannakis D, Mamoulakis Ch, Loutradis D, Yianakopoulos X, Mio Y, Miyagawa I et al. Use of a highly sensitive quantitative telomerase assay in intracytoplasmic sperm injection programmes for the treatment of 47,XXY non-mosaic Klinefelter men. *Andrologia* 2002b; 34:218-226.
 80. Yen PH, Chai NN, Salido EC. The human DAZ genes, a putative infertility factor on the Y chromosome, are highly polymorphic in the DAZ repeat regions. *Mamm Genome* 1997; 8(10):756-759.
 81. Zamboni L. The ultrastructural pathology of the spermatozoon as a cause of infertility: the role of electron microscopy in the evaluation of semen quality. *Fertil Steril* 1987; 48(5):711-34.