

# Μονογονιδιακές διαταραχές στην ανδρική υπογονιμότητα

Δανάη Παλαιολόγου, MSc, PhD  
Μοριακή Βιολόγος – Γενετίστρια  
Genesis Genoma Lab

# Ανδρική υπογονιμότητα

- Επηρεάζει μέχρι και 7% των ανδρών αναπαραγωγικής ηλικίας
- Στο 30-50% των υπογόνιμων ζευγαριών παίζει ρόλο ο ανδρικός παράγοντας
- ✓ Περιβαλλοντικοί παράγοντες – ακτινοβολία, τοξικές ουσίες, υπερθέρμανση όρχεων
- ✓ Τρόπος ζωής – κάπνισμα, στρες, καταχρήσεις, κακή διατροφή
- ✓ Άλλες οργανικές αιτίες – κίρσοκήλη, υδροκήλη, συστροφή των όρχεων
- ✓ Καρκίνος και η αντιμετώπισή του – χημειοθεραπεία, ακτινοβολίες
- ✓ Βακτηριακές ή ιογενείς λοιμώξεις
- ✓ Γενετικά αίτια

# Γενετικός έλεγχος στην ανδρική υπογονιμότητα

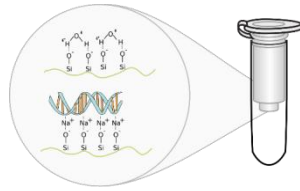
- ✓ Εντοπισμός της αιτίας της υπογονιμότητας και ορθή διαχείρισή της
- ✓ Ανίχνευση γενετικών νοσημάτων που θα μπορούσαν να μεταφερθούν στους απογόνους με τεχνικές υποβοηθούμενης αναπαραγωγής
- ✓ Αναγνώριση γενετικών νοσημάτων που θα οδηγούσαν σε αποτυχία συλλογής σπερματοζωαρίων μετά από βιοψία όρχεων (αποφυγή βιοψίας)

# Μεθοδολογία γενετικού ελέγχου

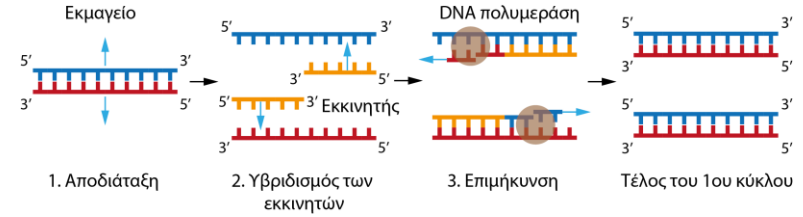
Δείγμα αίματος



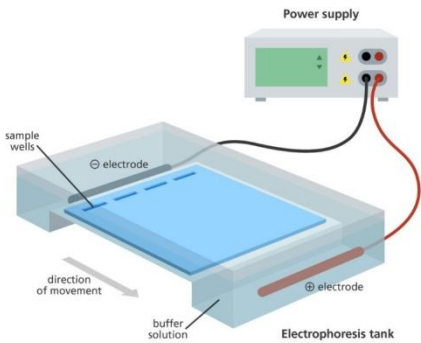
Απομόνωση DNA



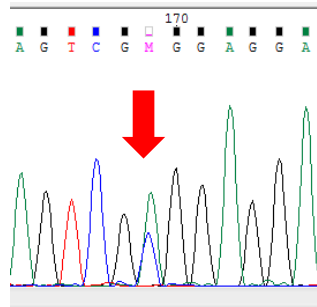
PCR



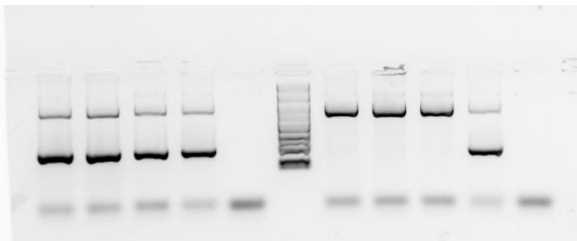
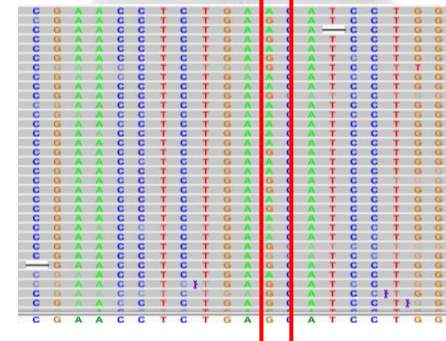
Ηλεκτροφόρηση σε gel αγαρόζης



Sanger sequencing



Next Generation Sequencing



# Μονογονιδιακές διαταραχές στην ανδρική υπογονιμότητα

1. Κυστική ίνωση
2. Μικροελλείψεις του χρωμοσώματος Y
3. Σύνδρομο αντίστασης στα ανδρογόνα
4. Συγγενής υπερπλασία των επινεφριδίων
5. Υπογοναδοτροπικός υπογοναδισμός

Φαινοτυπική αναγνώριση – μοριακή διάγνωση- θεραπευτική παρέμβαση

# Υπογονιμότητα και κυστική ίνωση

Σε περιπτώσεις αποφρακτικής αζωοσπερμίας:

Λόγω απουσίας του ενός ή των δύο σπερματικών πόρων

(CUAVD & CBAVD: congenital uni/bilateral absence of the vas deferens)

- ✓ 80-97% των ασθενών με CBAVD έχουν τουλάχιστον μια μετάλλαξη στο γονίδιο της κυστικής ίνωσης (CFTR) (Kanavakis et al. 1998, Casals et al., 1995; Chillón et al., 1995).
- ✓ Από αυτούς το 63-83% φέρουν μεταλλάξεις και στα δύο αλληλόμορφα του γονιδίου (Claustres et al., 2000; Jézéquel et al., 2000; Taulán et al., 2007)

# Υπογονιμότητα και κυστική ίνωση

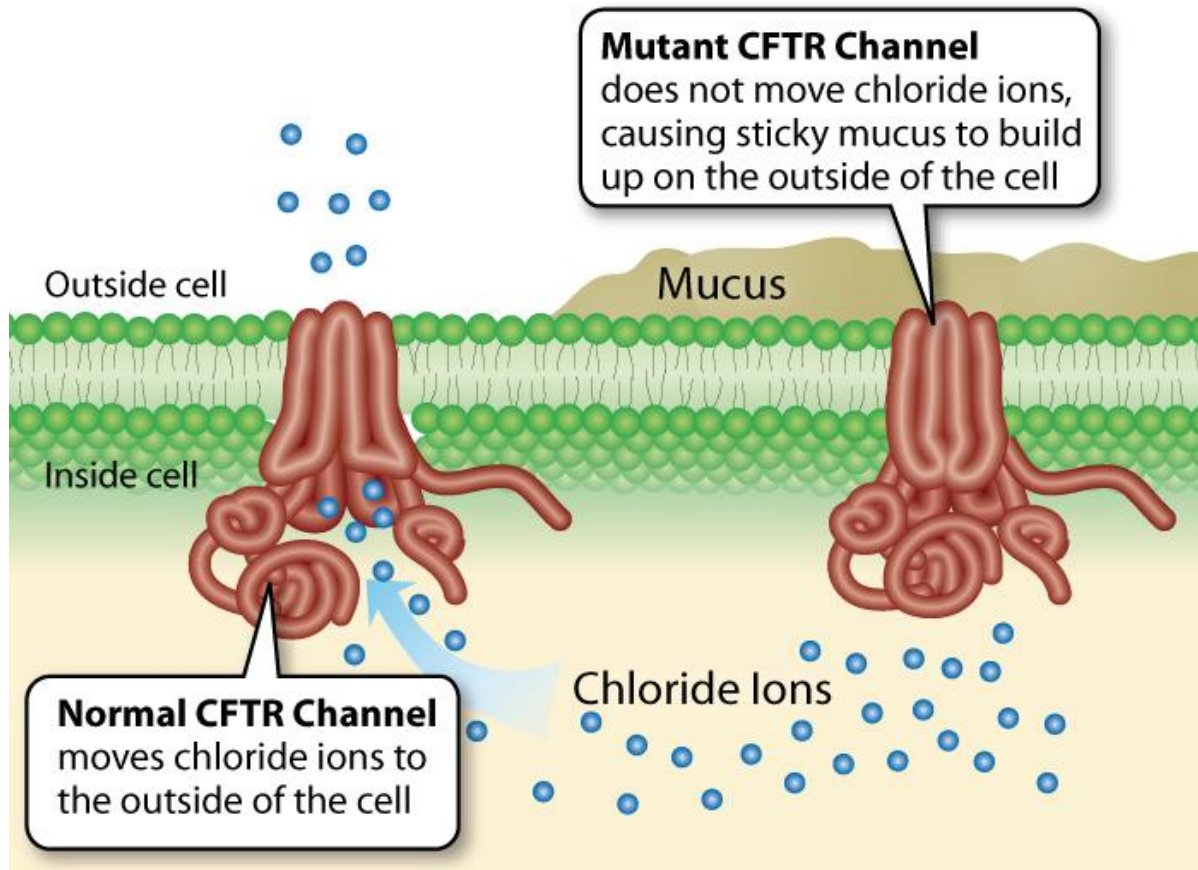
## Κυστική ίνωση

- Συχνότερο κληρονομικό νόσημα στη λευκή φυλή
- Δεύτερο σε συχνότητα στην Ελλάδα μετά την ΜΑ
- Συχνότητα φορέων : ~4-5%
- Συχνότητα ασθενών : 1:2000 - 1:2500 γεννήσεις
- Αυτοσωμική υπολειπόμενη κληρονομικότητα  
Μεταλλάξεις και στα 2 αλληλόμορφα του γονιδίου  
για να εκδηλωθεί η νόσος
- Φαινοτυπική ποικιλομορφία ανάλογα με τον τύπο  
των μεταλλάξεων



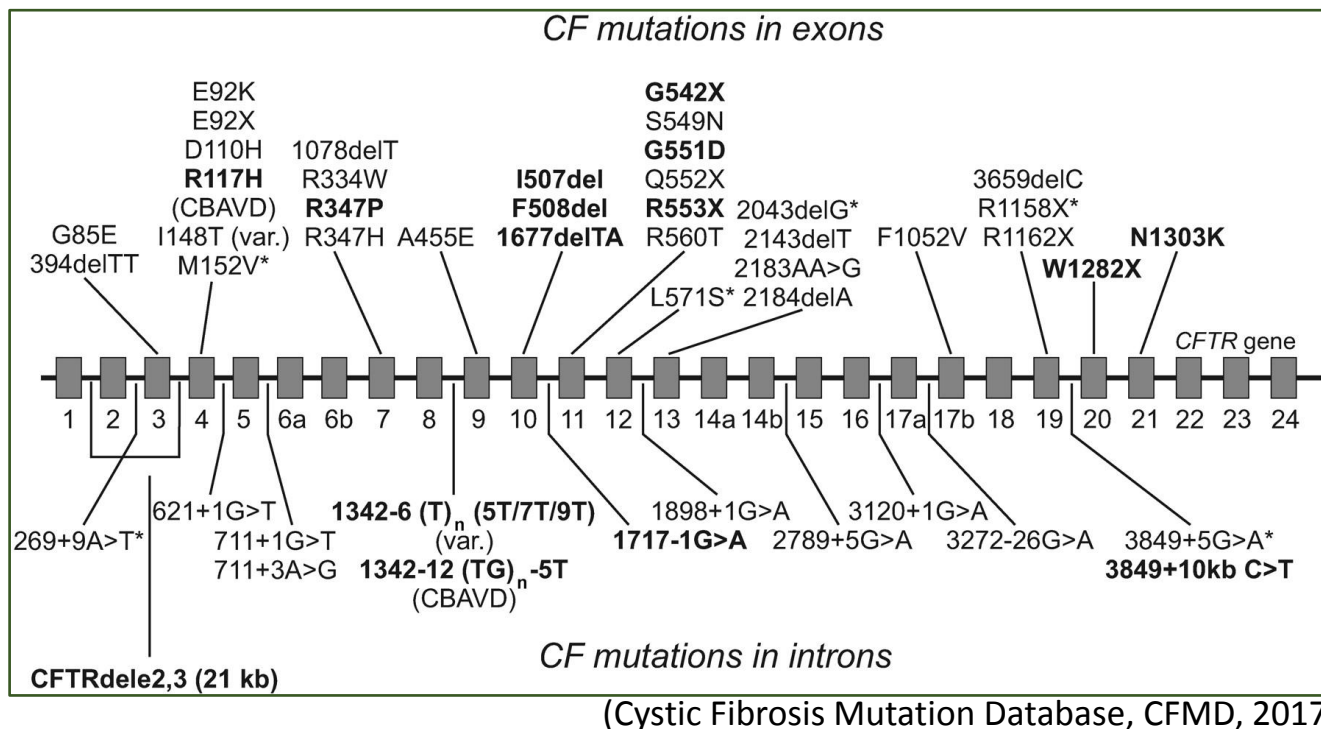
# Η CFTR είναι μια διαμεμβρανική πρωτεΐνη

Αποτελεί κανάλι  $\text{Cl}^-$  και εντοπίζεται στη μεμβράνη εκκριτικών επιθηλιακών κυττάρων





# Διεθνώς έχουν εντοπιστεί >2000 μεταλλάξεις του γονιδίου CFTR

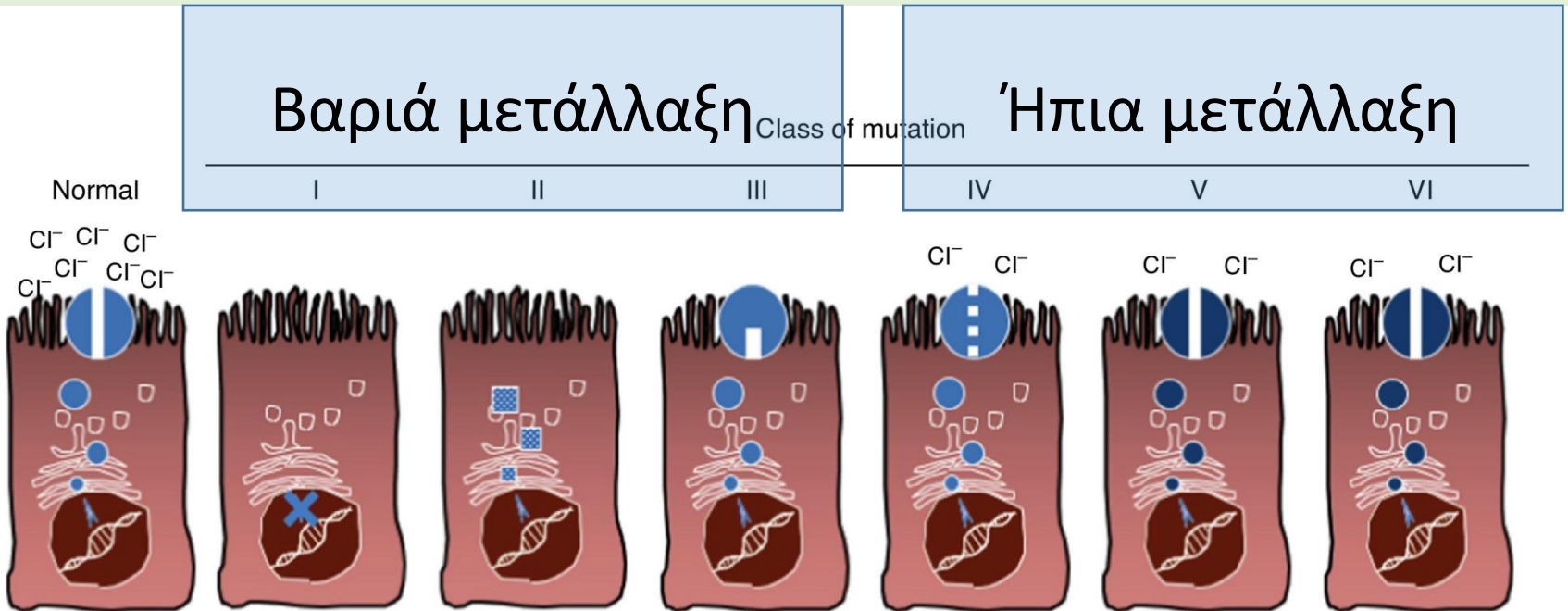


Η συχνότητα και το είδος της μετάλλαξης έχουν σαφή πληθυσμιακή και γεωγραφική κατανομή

**ρ.Phe508del** πιο κοινή μετάλλαξη

(54% στον ελληνικό πληθυσμό)

# Οι μεταλλάξεις του CFTR έχουν διαφορετική επίπτωση στη λειτουργία της πρωτεΐνης



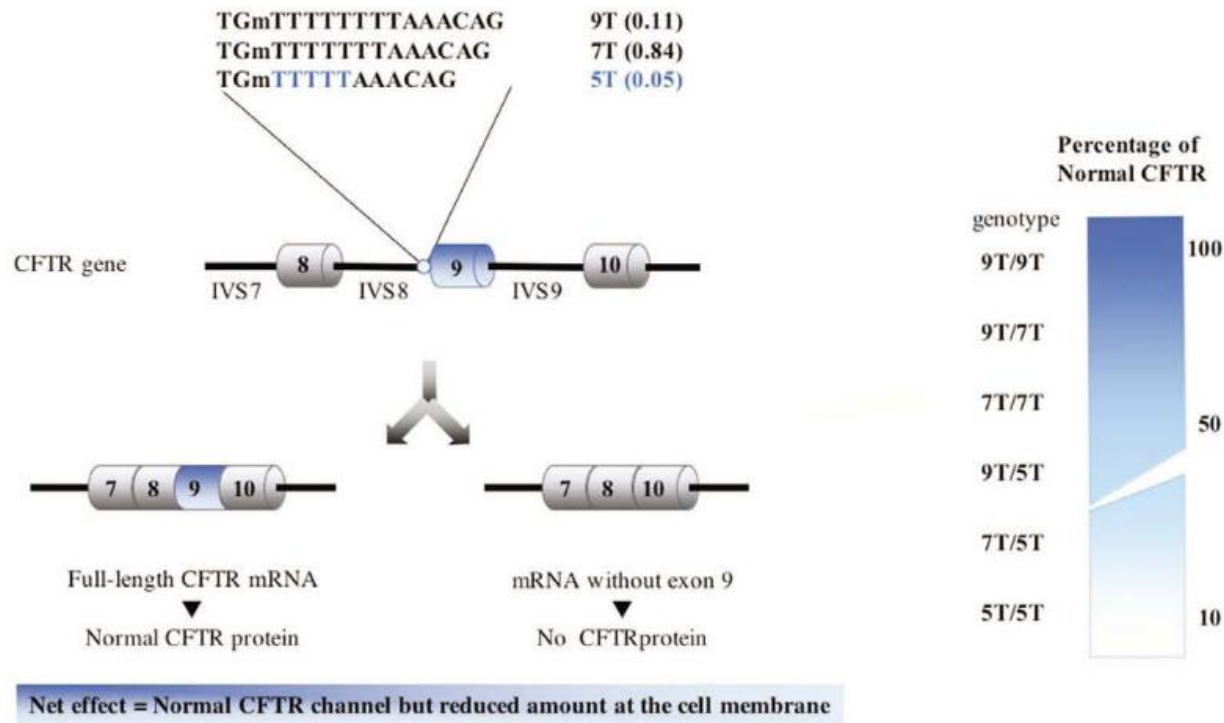
| Molecular defect       | Σύνθεση                                   | Αναδίπλωση  | Ρύθμιση  | Αγωγιμότητα                                      | Σύνθεση                                      | Χρ. Ημιζωής                        |
|------------------------|---|---|--|--|--|------------------------------------|
| Functional abnormality | Protein is not synthesized                | Folding defect                                    | Channel opening defect                           | Ion transport defect                             | Decreased protein synthesis                  | Decreased half-life of the protein |
| Main mutations         | Gly542X<br>Trp128X<br>Arg553X<br>621+1G→T | Phe508del<br>Asn1303Lys<br>Ile507del<br>Arg560Thr | Gly551Asp<br>Gly178Arg<br>Gly551Ser<br>Ser549Asn | Arg117His<br>Arg347Pro<br>Arg117Cys<br>Arg334Trp | 3849+10kbC→T<br>2789+5G→A<br>3120+1G→A<br>5T | 4326delTC<br>Gln1412X<br>4279insA  |

# Το 85% των ασθενών με CBAVD έχουν τουλάχιστον μια μετάλλαξη στο CFTR

- 1 βαριά μετάλλαξη και 1 ήπια
- 2 ήπιες μεταλλάξεις

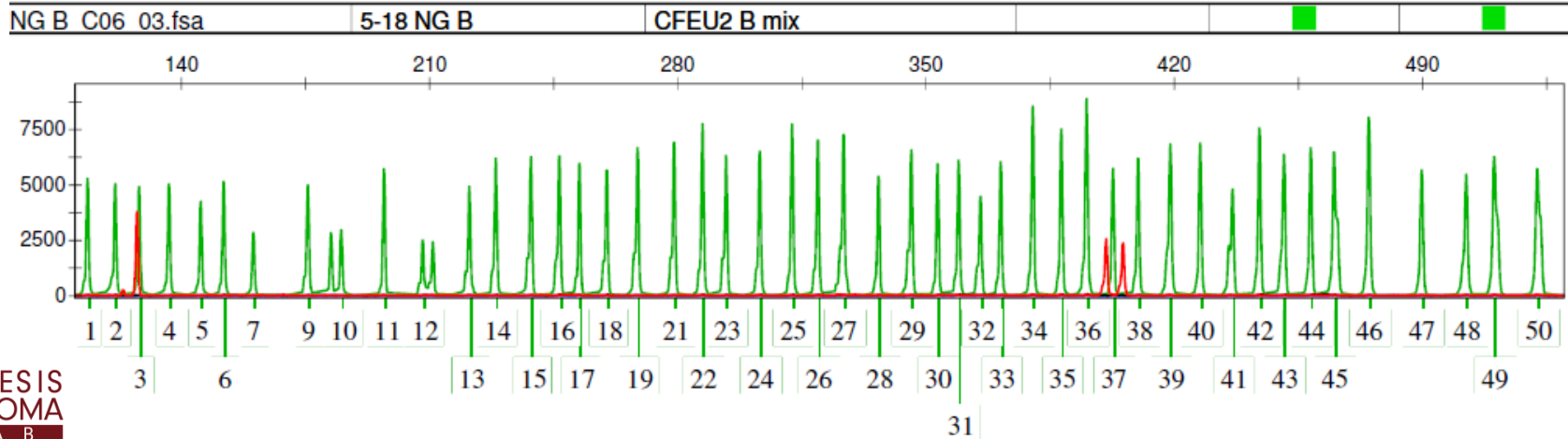
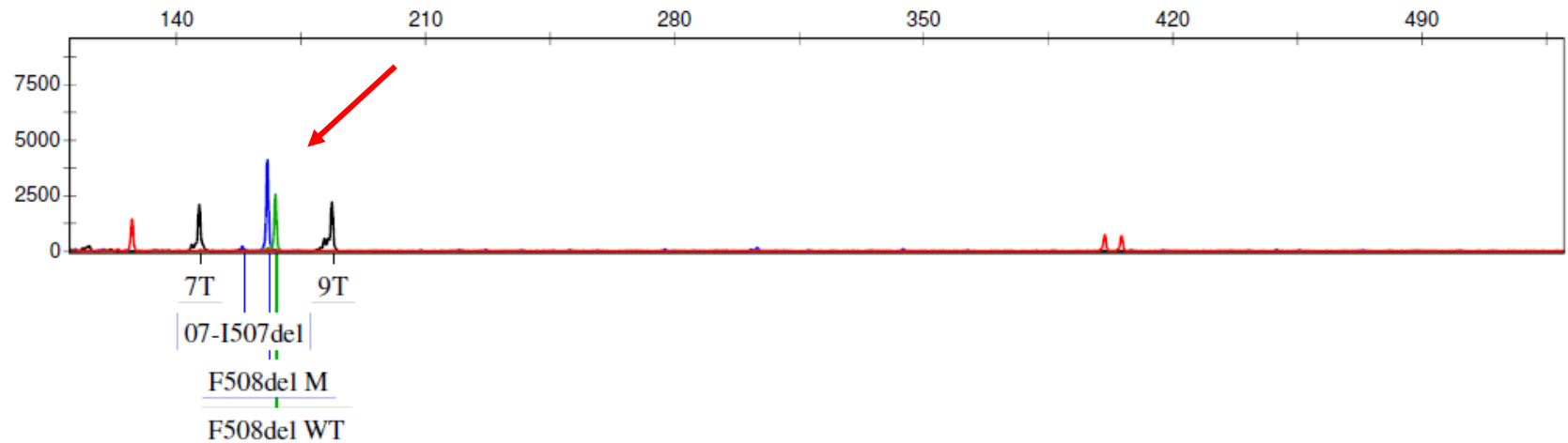
Άνδρες με χαμηλή ποιότητα σπέρματος έχουν συνήθως μια μετάλλαξη στο CFTR – ηπιότερος φαινότυπος

# Το αλληλόμορφο IVS8-5T μαζί με μία μετάλλαξη του CFTR είναι η συχνότερη αιτία CBAVD



**Η διεισδυτικότητα του IVS8-5T ποικίλει:**  
40% των ανδρών που φέρουν μια τυπική μετάλλαξη στο CFTR και το IVS8-5T είναι υγιείς

# Ανίχνευση μεταλλάξεων στο γονίδιο CFTR με fragment analysis



# Ανίχνευση μεταλλάξεων στο γονίδιο CFTR με αλληλούχιση επόμενης γενιάς (NGS)

## Analysis Results

Analysis Name: 2-41\_TE\_2ND\_v1\_bf211a38-c93b-4f7b-8824-6d67...

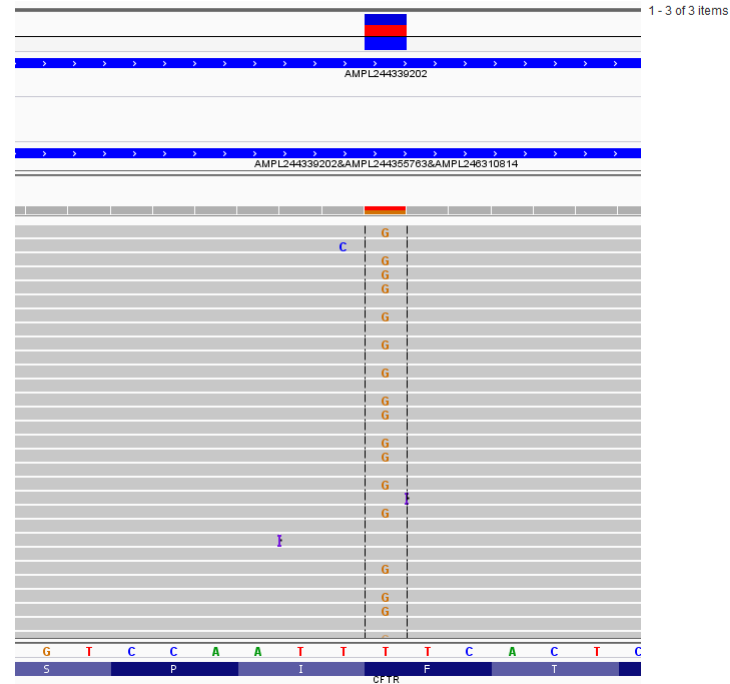
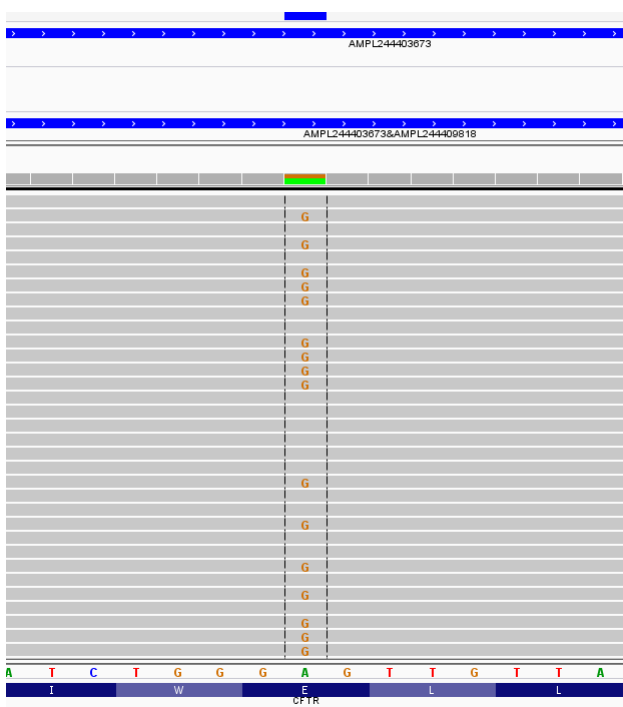
Summary **Functional** Population Ontologies Pharmacogenomics QC

Download Selected

Search Actions

| ... | Classification | Locus          | Genotype | Ref | Type ... | Genes | St | Exon | Transcript  | Coding    | Amino Acid Change | Variant Effect |
|-----|----------------|----------------|----------|-----|----------|-------|----|------|-------------|-----------|-------------------|----------------|
|     | Unclassified   | chr7:117175372 | A/G      | A   | SNV      | CFTR  | +  | 6    | NM_000492.3 | c.650A>G  | p.Glu217Gly       | missense       |
|     | Unclassified   | chr7:117199533 | A/A      | G   | SNV      | CFTR  | +  | 11   | NM_000492.3 | c.1408G>A | p.Val470Met       | missense       |
|     | Unclassified   | chr7:117251649 | T/G      | T   | SNV      | CFTR  | +  | 20   | NM_000492.3 | c.3154T>G | p.Phe1052Val      | missense       |

20 items per page



Σε ζευγάρια με πρόβλημα ανδρικής υπογονιμότητας πρέπει να προτείνεται εκτός των άλλων πλήρης έλεγχος του γονιδίου της κυστικής ίνωσης και γενετική καθοδήγηση πριν την εξωσωματική γονιμοποίηση

Εάν βρεθούν μεταλλάξεις στο γονίδιο CFTR στον άντρα πρέπει να γίνει ο πλήρης έλεγχος και στη γυναίκα

# Μονογονιδιακά αίτια υπογονιμότητας στους άνδρες

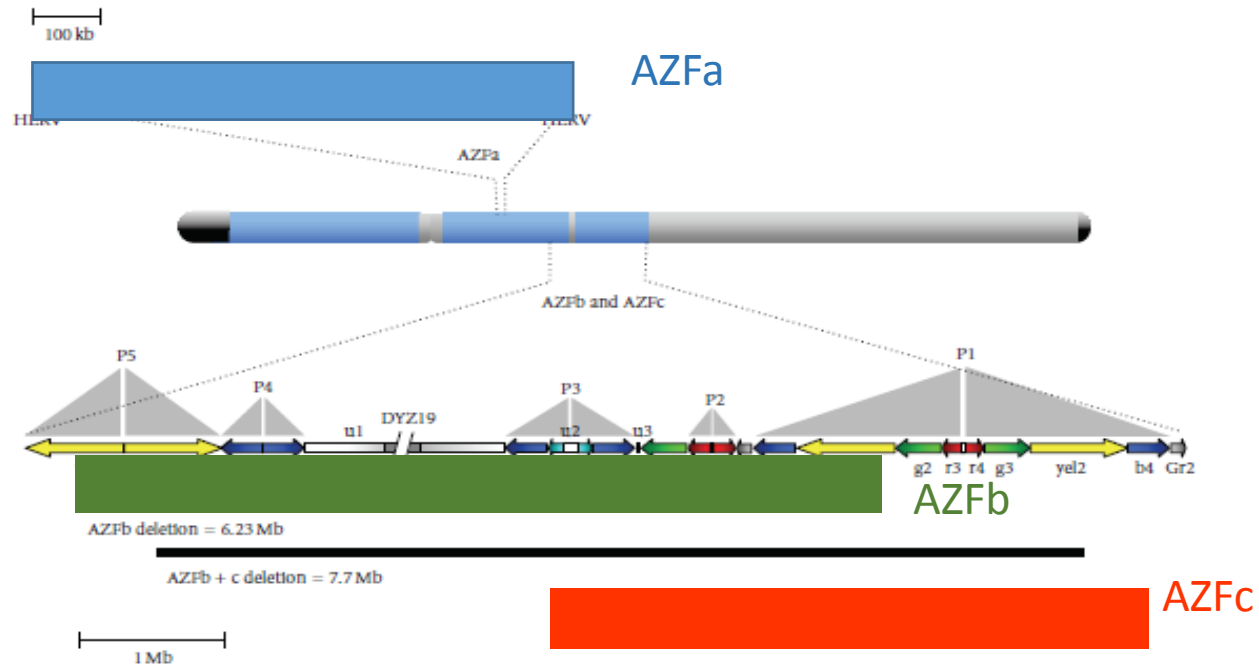
1. Κυστική ίνωση
2. Μικροελλείψεις του χρωμοσώματος Y
3. Σύνδρομο αντίστασης στα ανδρογόνα
4. Συγγενής υπερπλασία των επινεφριδίων
5. Υπογοναδοτροπικός υπογοναδισμός



# Οι μικροελλείψεις του χρωμοσώματος Y είναι η δεύτερη συχνότερη αιτία υπογονιμότητας

- Μετά το σύνδρομο Klinefelter
- Ανιχνεύονται στο 10-15% των ανδρών με αζωοσπερμία και στο 5-10% των ανδρών με ολιγοσπερμία
- Πολύ σπάνιες σε άνδρες με συγκέντρωση σπέρματος  $>5 \times 10^6$  /mL

# Η περιοχή του αζωοσπερμικού παράγοντα AZF είναι απαραίτητη για τη σπερματογένεση



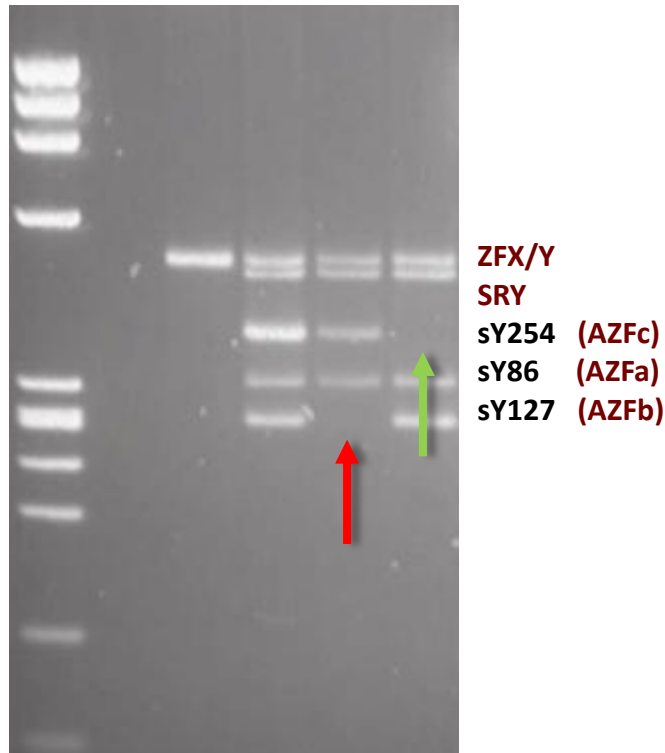
Τρεις περιοχές του AZF:

**AZFa**, **AZFb** και **AZFc** στην αρρενοειδική περιοχή του χρωμοσώματος Y

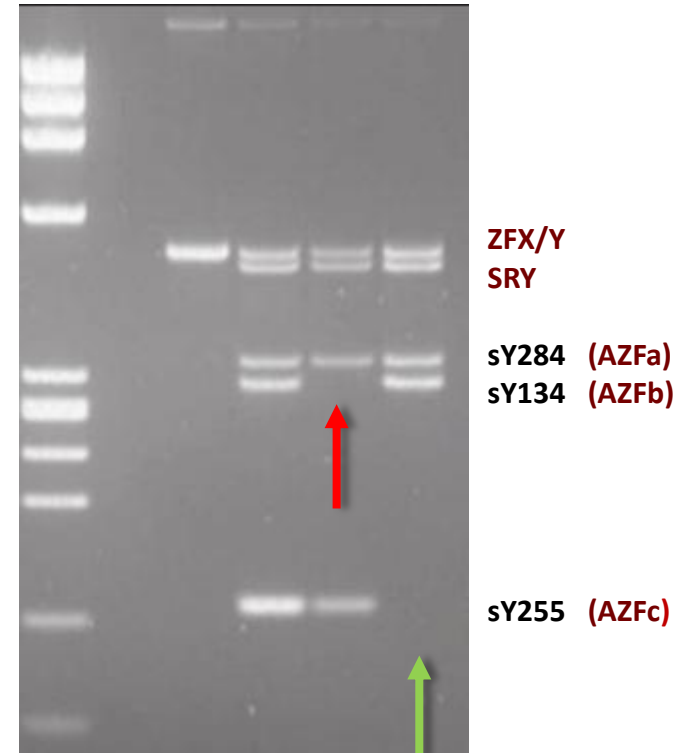
# EAA/EMQN best practice guidelines for molecular diagnosis of Y-chromosomal microdeletions: state-of-the-art 2013

<sup>1</sup>C. Krausz, <sup>2</sup>L. Hoefsloot, <sup>3,4</sup>M. Simoni and <sup>5</sup>F. Tüttelmann

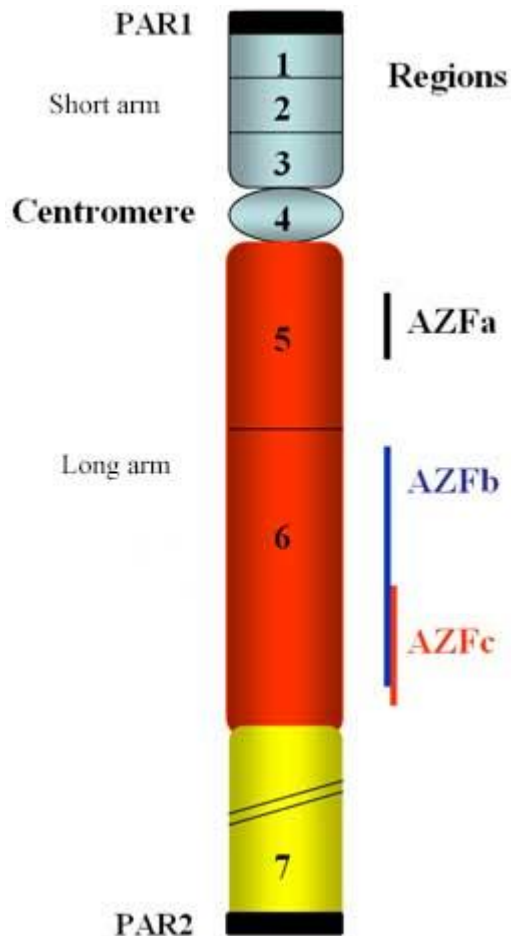
**Multiplex PCR  
reaction A**



**Multiplex PCR  
reaction B**



# Από τον τύπο του ελλείματος εξαρτάται η κλινική εικόνα του ασθενούς



| Συχνότητα εμφάνισης μικροελλειμμάτων |            | Κλινική εικόνα   |
|--------------------------------------|------------|--|
| <b>AZFc</b>                          | <b>79%</b> | μείωση αριθμού, κινητικότητας και άτυπη μορφολογία σπερματοζωαρίων έως και πλήρη απουσία γαμετών |
| <b>AZFb</b>                          | 9%         | παρουσία μόνο των κυττάρων Sertoli ή στάση της σπερματογένεσης στο στάδιο των σπερματίδων        |
| <b>AZFa</b>                          | 3%         | παρουσία μόνο των κυττάρων Sertoli   |
| <b>AZFabc</b>                        | 3%         | XX άρρεν   |

συλλογή σπερματοζωαρίων από βιοψία όρχεος και IVF – άρρενες απόγονοι με AZF deletions

# Μονογονιδιακά αίτια υπογονιμότητας στους άνδρες

1. Κυστική ίνωση
2. Μικροελλείψεις του χρωμοσώματος Y
3. Σύνδρομο αντίστασης στα ανδρογόνα
4. Συγγενής υπερπλασία των επινεφριδίων
5. Υπογοναδοτροπικός υπογοναδισμός

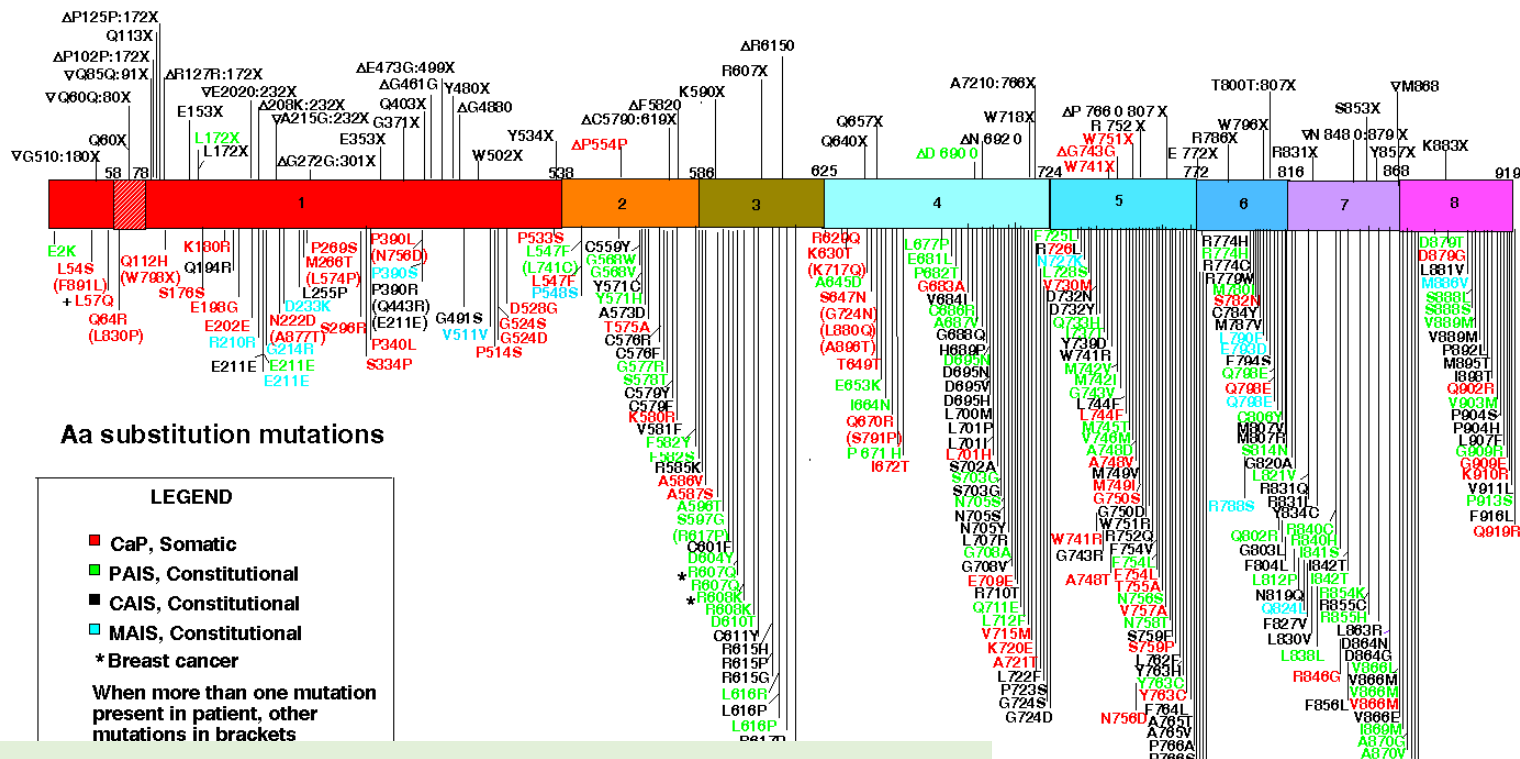
# Σύνδρομο αντίστασης στα ανδρογόνα ή Σύνδρομο ορχικής θηλεοποίησης 46,XY

- Φυλοσύνδετο υπολειπόμενο νόσημα
- Επηρεάζει την αναπτυξη των εξωτερικών και εσωτερικών ανδρικών γεννητικών όργανων

Προκαλείται από μεταλλάξεις στο γονίδιο του ανδρογονικού υποδοχέα με συνέπεια τα κύτταρα να ανταποκρίνονται λίγο ή καθόλου στα ανδρογόνα

# Ο ανδρογονικός υποδοχέας είναι ένας μεταγραφικός παράγοντας

Premature termination mutations or 1-6 bp Δ or V



Σημιακές μεταλλάξεις  
 Προσθήκες και ελλείψεις βάσεων  
 Μεταλλάξεις σε θέσεις ματίσματος  
 Πληρης ή μερική απαλοιφή του γονιδίου

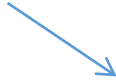
Μη λειτουργική  
 πρωτεΐνη

# Σύνδρομο αντίστασης στα ανδρογόνα

3 κλινικοί φαινότυποι ~είδος και την περιοχή της μετάλλαξης

|                              |  |                                       |
|------------------------------|--|---------------------------------------|
| <b>πλήρες AIS (complete)</b> | 2-5/100.000 γεννήσεις<br>φαινότυπος θήλεος<br>στεριότητα | Φαινότυπος γυναίκας<br>Χρωμοσώματα XY |
|------------------------------|--|---------------------------------------|

|                             |  |  |
|-----------------------------|--|--|
| <b>μερικό AIS (partial)</b> | ποικιλομορφία στη φαινοτυπική έκφραση<br>φαινότυπος θήλεος έως άρρενος<br>στεριότητα |  |
|-----------------------------|--|--|

|                        |  |   |
|------------------------|--|---|
| <b>ήπιο AIS (mild)</b> | φαινοτυπικά φυσιολογικοί άρρενες<br><u>2 μορφές στην εφηβεία</u> <ul style="list-style-type: none"><li>• μη φυσιολογική σπερματογένεση και στεριότητα</li><li>• φυσιολογική σπερματογένεση</li></ul> |  |
|------------------------|--|---|

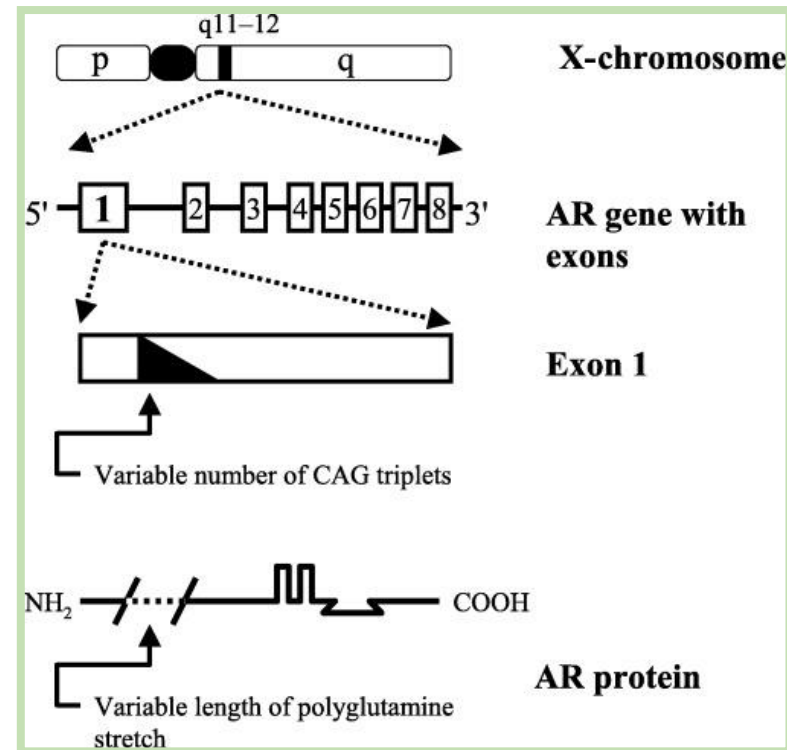
Αυξημένος κίνδυνος εκδήλωσης νόσου Kennedy στους απογόνους

Γενετική συμβουλευτική πριν την έναρξη IVF



# Νόσος του Kennedy

- ✓ ή προμηκο-νωτιαία μυϊκή ατροφία είναι μια νευροεκφυλιστική νόσος.
- ✓ Οφείλεται σε μια ασταθή **επέκταση του τρινουκλεοτιδίου (CAG)<sub>n</sub>** που βρίσκεται στο 1<sup>ο</sup> εξώνιο του γονιδίου *AR*
- ✓ Κύρια συμπτώματα: προοδευτική μυϊκή αδυναμία και ατροφία
- ✓ ενδοκρινολογικές διαταραχές που οδηγούν σε **γυναικομαστία, ολιγοσπερμία ή αζωοσπερμία.**



# Ενδείξεις για έλεγχο μεταλλάξεων του AR

- Συγκέντρωση σπέρματος  $<10^6/\text{ml}$
- Κλινική εικόνα συνδρόμου αντίστασης στα ανδρογόνα:  
κρυψορχία, γυναικομαστία, χαμηλός βαθμός αρρενοποίησης

# Μονογονιδιακά αίτια υπογονιμότητας στους άνδρες

1. Κυστική ίνωση
2. Μικροελλείψεις του χρωμοσώματος Y
3. Σύνδρομο αντίστασης στα ανδρογόνα
4. Συγγενής υπερπλασία των επινεφριδίων
5. Υπογοναδοτροπικός υπογοναδισμός

# Συγγενής υπερπλασία των επινεφριδίων (CAH)

Διαταραχή βιοσύνθεσης της κορτιζόλης  
στο φλοιό των επινεφριδίων, λόγω  
έλλειψης σε ένα από τα 5 ένζυμα που  
είναι απαραίτητα στη στεροειδογένεση



**Υπερπαραγωγή ανδρογόνων**

# Η πιο συχνή αιτία CAH είναι η ανεπάρκεια της 21-υδροξυλάσης

- 90% των περιπτώσεων CAH
- Αυτοσωμική υπολειπόμενη κληρονομικότητα

## Κλασική μορφή: 1/15.000

- Με απώλεια άλατος (salt wasting) 75%  
αρρενοποίηση των έξω γεννητικών οργάνων στα κορίτσια και βαριές ηλεκτρολυτικές διαταραχές και στα δυο φύλα
- Απλή αρρενοποιητική (simple virilizing) 25%  
ποικίλου βαθμού αρρενοποίηση στα κορίτσια και πρώιμη ήβη

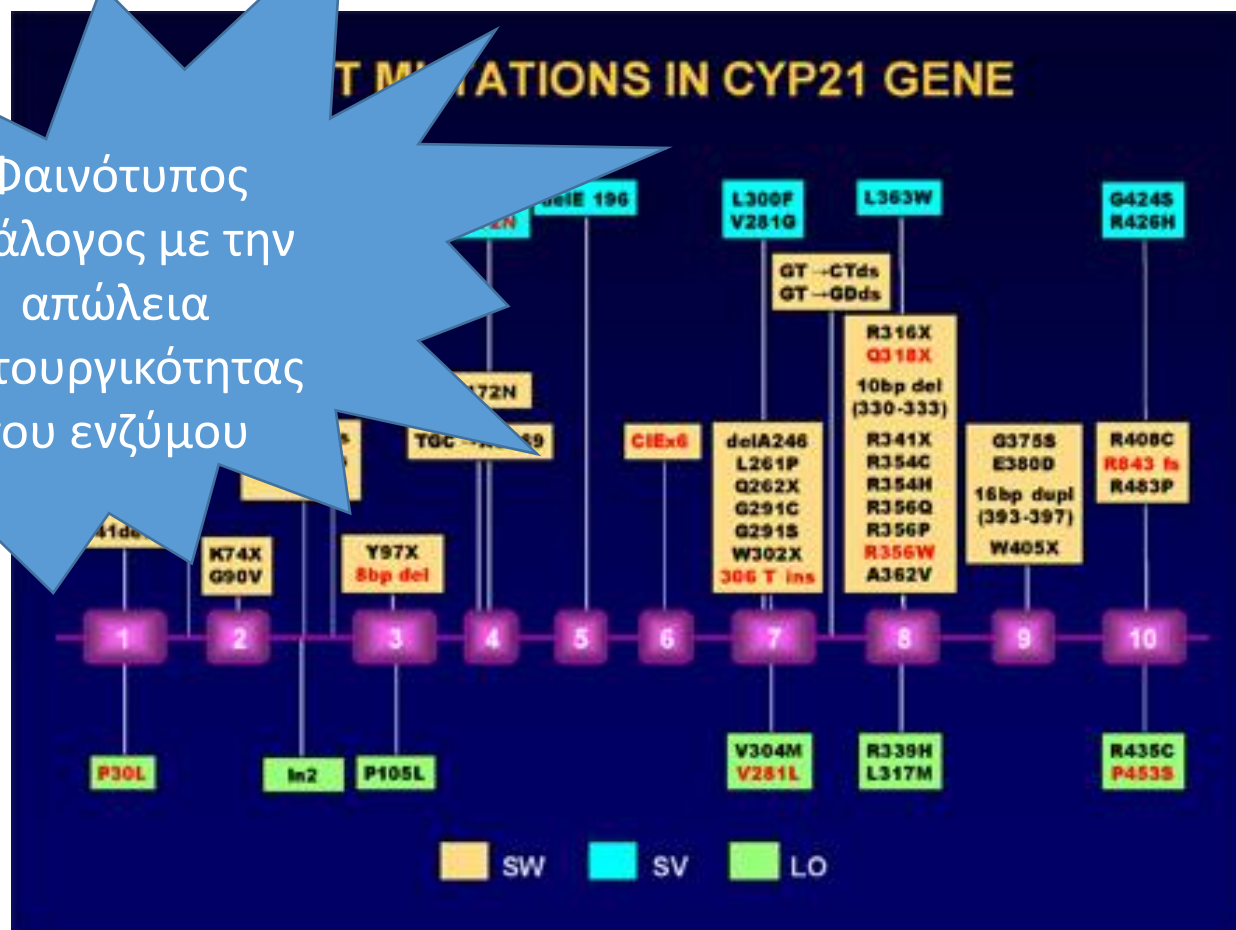
## Μη κλασική μορφή: 1/1000

### Άνδρες

Ολιγο- αζωοσπερμία ή ανεπάρκεια κυττάρων Leydig

>90% της ανεπάρκειας της 21-υδροξυλάσης οφείλεται σε μεταλλάξεις του γονιδίου CYP21A2

Φαινότυπος  
ανάλογος με την  
απώλεια  
λειτουργικότητας  
του ενζύμου



# Μονογονιδιακά αίτια υπογονιμότητας στους άνδρες

1. Κυστική ίνωση
2. Μικροελλείψεις του χρωμοσώματος Y
3. Σύνδρομο αντίστασης στα ανδρογόνα
4. Συγγενής υπερπλασία των επινεφριδίων
5. Υπογοναδοτροπικός υπογοναδισμός

# Υπογοναδοτροπικός υπογοναδισμός

Διαταραχές του άξονα HPG:

υποθάλαμος, υπόφυση, γονάδες

χαμηλά επίπεδα FSH και LH (<5 mIU/ml),

- Άνδρες: μικρό μέγεθος γεννητικών οργάνων  
& κρυπορχία, έλλειψη τριχοφυΐας

συνυπάρχει ανοσμία  
(60%)

**Σύνδρομο Kallmann**

**Ιδιοπαθής ΥΥ**



# Σύνδρομο Kallmann

Λειτουργική ανεπάρκεια στην παραγωγή GnRH

- συχνότητα 1/8000 άνδρες
- περισσότερες περιπτώσεις σποραδικές
- ανοσμία, ασυμμετρία προσώπου, λυκόστομα, αχρωματοψία, κρυφορχία, κώφωση, παρεγκεφαλιδική αταξία, βλάβες οστών και νεφρών

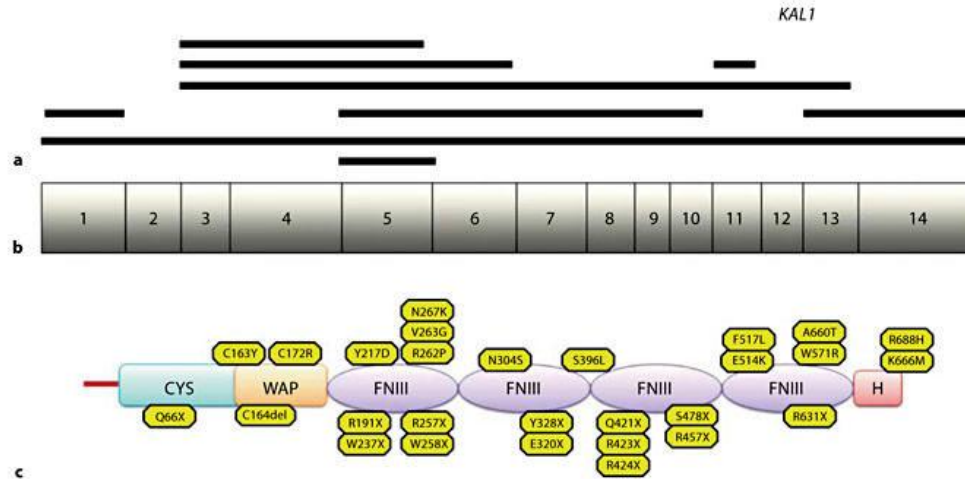
3 τρόποι κληρονομικότητας:

X-linked (KAL1), πιο κοινό

AD, AR (FGFR1, PROK2, PROKR2, NELF, CHD7)

} 20-25%  
μεταλλάξεων  
συνδρόμου  
Kallmann

# Σύνδρομο Kallmann



## **KAL1 γονίδιο** (Χρ22.3) - Anosmin-1

κυτταρικές προσκολλήσεις και σωστή ανάπτυξη νευρώνων

Μεταλλάξεις στο 14% των οικογενών και

11% των σποραδικών περιπτώσεων

ποικίλη διεισδυτικότητα

# Νεότερη προσέγγιση στον έλεγχο της ανδρικής υπογονιμότητας

- ✓ χρήση νέων τεχνολογιών (NGS) για τον ταυτόχρονο έλεγχο πολλών γονιδίων – οικονομικότερα και ταχύτερα σε σχέση με τις μεμονωμένες εξετάσεις

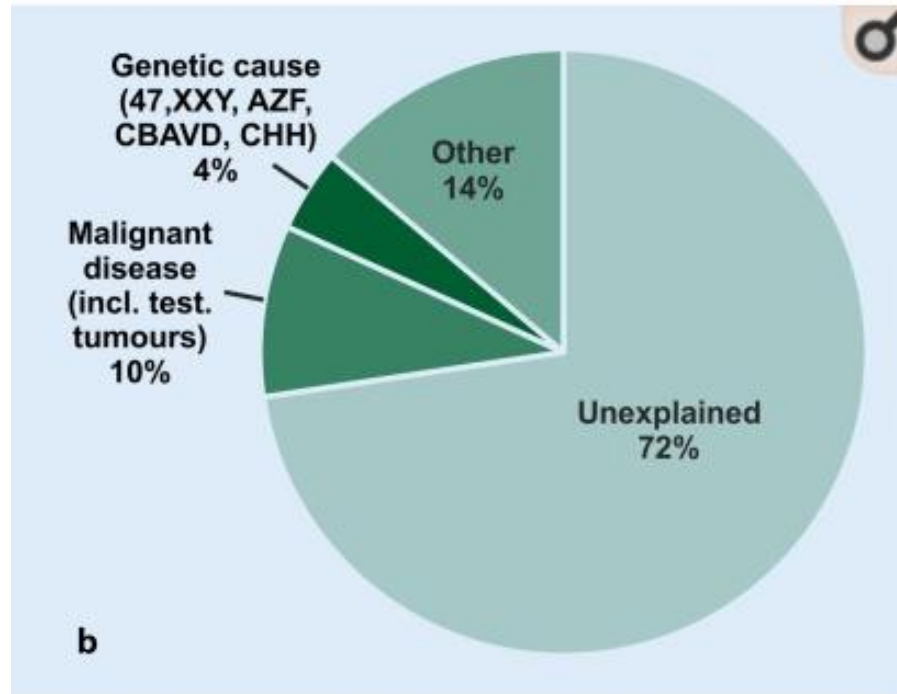
Προσοχή: Τα ελλείμματα στην περιοχή AZF δεν ανιχνεύονται με αυτή τη μεθοδολογία

**Male infertility panel**  
AR, CATSPER1, CFTR, FSHR, LHCGR

**Male Infertility NGS Panel**

Genes:  
AMH, AMHR2, ANOS1, AR, AURKC, CATSPER1, CFTR, CYP17A1, CYP19A1, CYP21A2, DNAI1, DPY19L2, FGF8, FGFR1, FSHB, FSHR, GNRH1, GNRHR, HESX1, HSD17B3, KISS1, KISS1R, KLHL10, LHB, LHCGR, LHX3, LHX4, NR0B1, NR5A1, NSMF, POU1F1, PROKR2, PROP1, RSP01, SEMA3A, SOX3, SOX9, SPATA16, SRD5A2, SRY, TAC3, TACR3, USP9Y, WDR11, WNT4 (45 genes)

# Το 72% των περιπτώσεων ανδρικής υπογονιμότητας είναι αγνώστου αιτιολογίας



Tüttelmann et al. Med Genet. 2018; 30(1): 12–20.

Αντικείμενο έντονου ερευνητικού ενδιαφέροντος

# Δυσκολίες στην έρευνα για την ανδρική υπογονιμότητα

- Οι υπογόνιμες οικογένειες κατά κανόνα δεν έχουν πολλά μέλη
- Μεγάλη ηλικία τεκνοποίησης, αργεί να εντοπιστεί το πρόβλημα
- Το πρόβλημα συχνά δεν κοινοποιείται
  
- Πολυπαραγοντική διαταραχή
- Φαινοτυπική ποικιλομορφία
  
- ✓ Δύσκολη η αξιολόγηση γενετικών ευρημάτων

# Διεθνείς ερευνητικές συνεργασίες

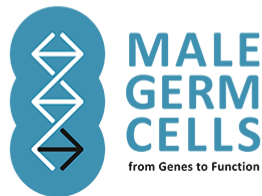


[HOME](#) | [PROJECTS](#) | [PUBLICATIONS](#) | [GENDER EQUALITY](#)

[MEDIZINISCHE FAKULTÄT MÜNSTER](#) [UNIVERSITÄTSKLINIKUM MÜNSTER](#)

## Male Germ Cells: from Genes to Function - DFG Clinical Research Unit (CRU) 326

Male infertility is a genetically and clinically highly heterogeneous disease. Thus, unravelling the underlying causes and the pathophysiology is challenging and requires an integrated approach. To this end, we set up a Clinical Research Unit (CRU) that investigates in translational projects human male germ cell function from complete germ cell loss to sperm dysfunction at the genetic, epigenetic, and molecular level. In Münster, the setting to study male infertility is unique. On the campus, interdisciplinary expertise on the biology of male germ cells



[HOME](#) [CENTERS](#) [RESEARCH](#) [PUBLICATIONS](#) [NEWS](#) [CONTACT](#)

## GENETICS OF MALE INFERTILITY INITIATIVE

GEMINI is a NIH funded, multi-center study aiming to map the genetic architecture of infertility phenotypes

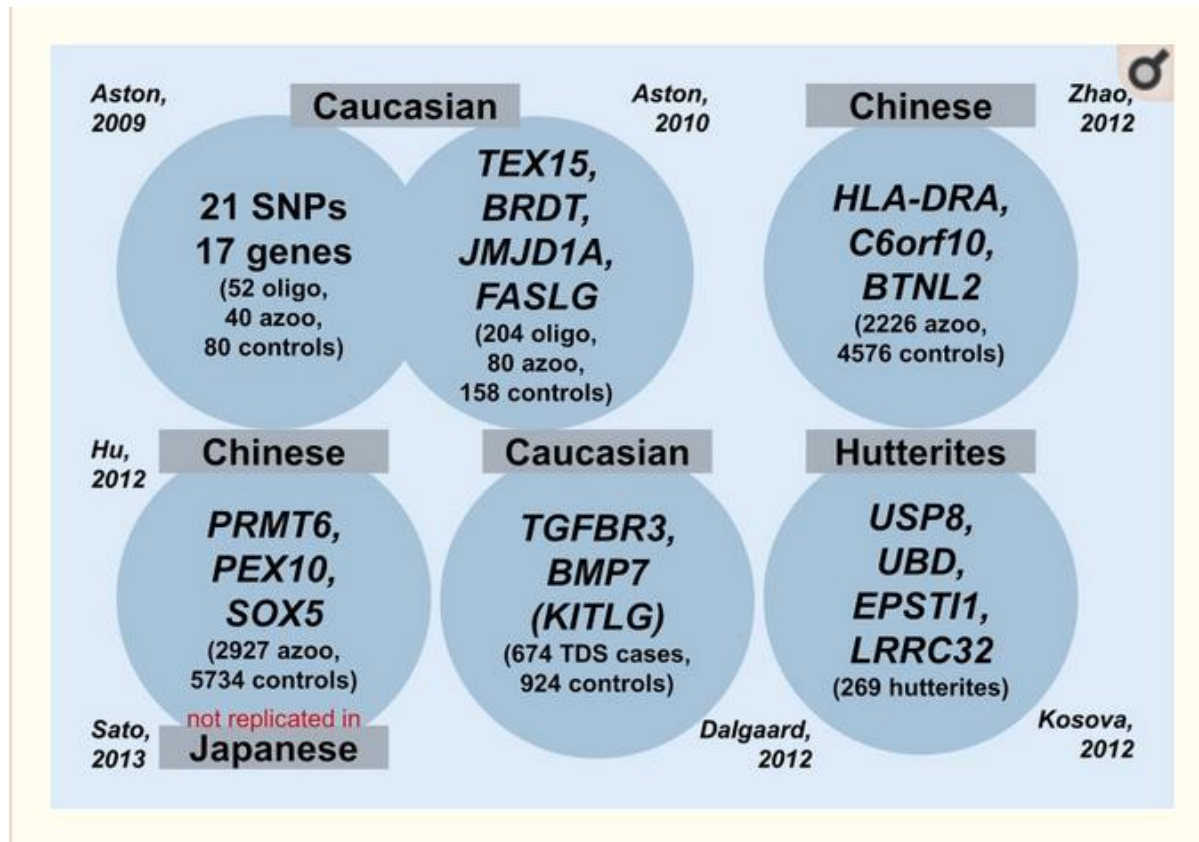
### PARTICIPATING INSTITUTIONS

University Münster (local)

- Centre of Reproductive Medicine and Andrology
- Core Facility Genomics
- Department of General Paediatrics



# Genome Wide Association Studies στην ανδρική υπογονιμότητα



Δεν έχουν ανιχνευθεί κοινοί πολυμορφισμοί που να προδιαθέτουν για την εμφάνιση υπογονιμότητας στους άντρες

# NGS στην ανδρική υπογονιμότητα

## Ανίχνευση νέων γονιδίων/ μεταλλάξεων που σχετίζονται με διαταραχές στη σπερματογένεση

Human Genetics

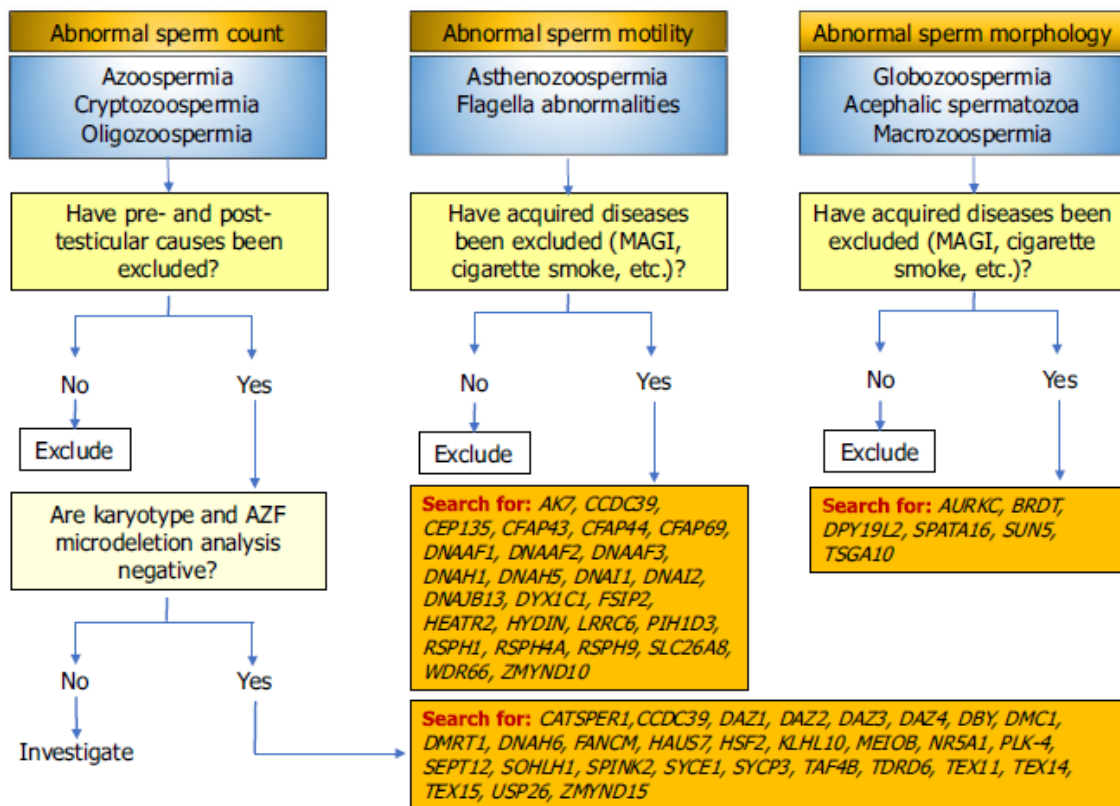


Fig.2 Genetic work-up for spermatogenic failure

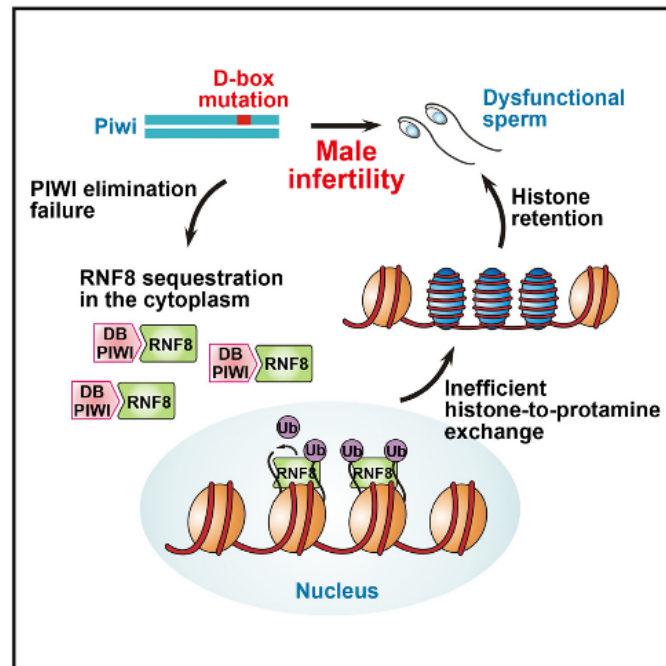


# Μελέτη επιγενετικών τροποποιήσεων στα σπερματοζώαρια

Cell

## Ubiquitination-Deficient Mutations in Human *Piwi* Cause Male Infertility by Impairing Histone-to-Protamine Exchange during Spermiogenesis

Graphical Abstract



Authors

Lan-Tao Gou, Jun-Yan Kang, Peng Dai, ..., Jinsong Li, Hui-Juan Shi, Mo-Fang Liu

Correspondence

shihuijuan@sippr.org.cn (H.-J.S.),  
mfliu@sibcb.ac.cn (M.-F.L.)

In Brief

Male infertility in mice and humans can result from mutations that stabilize the *Piwi* protein in late spermatids: sperm defects are due to aberrant histone retention, not piRNA misregulation.

**Εμμανουήλ Καναβάκης**  
Διευθυντής του Genesis Genoma Lab

**Αριάδνη Μαύρου**  
Υπεύθυνη του Τμήματος Κυτταρογενετικής

***Ευχαριστώ!***

**Τμήμα Μοριακής Γενετικής**

**Λέανδρος Λάζαρος**  
**Δανάη Παλαιολόγου**  
**Αμέλια Πάντου**  
**Γεωργία Τούντα**  
**Αναστάσιος Μητράκος**

**Τμήμα Κυτταρογενετικής**

**Ελισάβετ Κουβίδη**  
**Χαρούλα Τσαρουχά**  
**Σοφία Ζαχάκη**  
**Ιωάννα Χαραλάμπους**

