

Infertiliteetin genetiikka

Sofia Gullsten

750376A LuK-seminaari
ja tutkielma

20.4.2017

Oulun Yliopisto

Lähdeluettelo

1. Johdanto	3
2. Infertiliteetin fysiologiaa: Hypotalamus-aivolisäke-sukupuolirauhaset –akseli	4
3. Geeneettisiä ominaisuuksia, jotka voivat aiheuttaa infertiliteettiä	5
3.1 Translokaatiot.....	5
3.2 Deleetiot ja duplikaatiot	7
3.3 Sukupuolikromosomien aneuploidia	7
3.4 Yhden geenin mutaatiot	7
3.5 Epigeneettiset syyt	8
3.6 Kompleksiset, monitekijäiset sairaudet.....	8
3.7 mtDNA:n mutaatiot	8
4. Miksi infertiliteettiä aiheuttavat geenit säilyneet ihmispopulaatiossa?	10
5. Infertiliteettiin liittyvien geenien tutkimus	12
6. Tulevaisuus: hoidot ja niiden seuraukset	13
7. Yhteenveto	14
8. Lähdeluettelo.....	16

1. Johdanto

Infertiliteetti eli lisääntymiskyvyn aleneminen on kompleksinen monitekijäinen sairaus.

Infertiliteetin määritelmä on, että lapsen saaminen ei onnistu vuoden yrittämisen jälkeen (Shah *et al.* 2003). Infertiliteettiä tavataan laajasti eri puolilla maailmaa. Jos lapsen saaminen ei onnistu, turvaututaan usein hedelmöityshoitoihin (ART, assisted reproductive technology). Vuonna 2008, 61 430 lasta syntyi keinohedelmöityksen avulla (Hanson *et al.* 2017). Infertiliteetin on arvioitu koskettavan 7% lasta yrittävistä pareista, joista puolella on arvioitu syynä olevan geneettiset tekijät ja puolella ympäristölliset syyt (Zorrilla & Yatsenko 2013). WHO:n tutkimuksen mukaan infertiliteetin yleisyys on pysynyt samana vuosien 1990-2010 välillä (Mascarenhas *et al.* 2012).

Infertiliteetti voidaan jakaa primaariseen ja sekundaariseen. Primaarisessa infertiliteetissä sukupuolisolujen rakenteessa tai fysiologiassa on häiriöitä, jotka estävät naisilla munasolujen kypsymisen tai ovulaation, ja miehillä aiheuttavat häiriöitä spermatogeneesiin. Tällöin siis geenit vaikuttavat suoraan sukupuolisoluihin. Primaariseen infertiliteettiin liittyviä geenejä on löydetty toistaiseksi vähän (Zorrilla & Yatsenko 2013).

Sekundaarinen infertiliteetti taas johtuu henkilön geneettisistä häiriöistä, jotka voivat aiheuttaa kantajalleen myös muita sairauksia. Sairauden seurauksena on esimerkiksi kehityksellisiä, endokriinisiä tai metabolisia häiriöitä. Sekundaariseen infertiliteettiin liittyvät endokriiniset häiriöt voivat esimerkiksi estää sukupuolisteroidien tuoton (Zorrilla & Yatsenko 2013). Gonadotropiinit säätelevät sukupuolisteroidien tuottoa sukupuolirauhasista. Jos gonadotropiineihin kuuluvan lutenisoivan hormonin (LH) tuotto estyy geenivirheen vuoksi, se johtaa myös sukupuolisteroidien tuoton alenemiseen ja sitä kautta sukupuolirauhasien epänormaaliin kehittymiseen ja sukupuolisolujen häiriintyneeseen tuottoon poistogeenisellä hiirellä (Ma *et al.* 2004).

Osa infertiliteettiin liittyvistä geeneistä voi esiintyä ainoastaan miehellä tai naisella, kun taas osa geeneistä voi esiintyä kummallakin sukupuolella (Venkatesh *et al.* 2014). Geneettiset syyt voidaan jakaa kromosomaalisiin poikkeavuuksiin, deleetioiden ja duplikaatioiden seurauksena syntyviin DNA:n kopiomäärämuutoksiin, yhden geenin aiheuttamiin sairauksiin, polygeenisiin sairauksiin ja epigeneettisiin sairauksiin (Zorrilla & Yatsenko 2013). Myös genomien ei-koodaavan alueen tuottamat mikroRNA:t vaikuttavat infertiliteettiin (Matzuk & Lamb 2008).

Infertiliteettiä aiheuttavissa alleeleissa on tapahtunut haitallisia mutaatioita. Valinnan vaikutuksesta haitallisen mutaation esiintyvyys populaatiossa pysyy alhaisena. Haitallisen alleelin frekvenssi on tasapainossa, kun sen esiintyvyys populaatiossa pysyy vakiona. Tähän tasapainoon vaikuttavat haitallisen alleelin syntyvyys (mutaatiotaajuus) ja valinnan karsiva vaikutus tähän alleeliin (valintakerroin). Mutaatio-selektio –tasapainon johdosta haitallinen alleeli esiintyy populaatiossa tietyllä frekvenssillä: $q = \sqrt{\frac{u}{s}}$, jossa q on haitallisen alleelin frekvenssi, u on mutaatiotaajuus ja s on valintakerroin. Mutaatio-selektio –tasapainon johdosta jokin alleeli voi säilyä populaatiossa matalalla frekvenssillä, ollen siten harvinainen alleeli (Hedrick 2011).

Alleelien esiintyvyyteen vaikuttaa kuitenkin koko genomi ja geenien väliset vuorovaikutukset, jolloin haitallinenkin mutaatio voi säilyä genomissa pitkään, ja olla tärkeänä osana kokonaisuutta. On mielenkiintoista, miten infertiliteettiä aiheuttavat geenit säilyvät populaatiossa, vaikka niiden olettaisi karsiutuvan geenipoolista pois hyvin nopeaa niiden tuoman negatiivisen valinnan vuoksi. Kuitenkin esimerkiksi munasarjojen monirakkulaoireyhtymälle (polycystic ovarian syndrome, PCOS) altistavia genejä on arvioitu kehittyneen jo paleoliittisella kaudella yli 50 000 vuotta sitten, ja niitä esiintyy nykyihmisillä edelleen runsaasti. Niinpä tätä sairautta aiheuttaneisiin alleeleihin oletetaan liittyneen tasapainottavaa valintaa (Corbett & Morin-Papunen 2013; Ünlütürk *et al.* 2016).

2. Infertiliteetin fysiologiaa: Hypotalamus-aivolisäke-sukupuolirauhaset –akseli

Hypotalamus-aivolisäke-sukupuolirauhaset –akseli vastaa sukupuolisolujen kypsymisestä siten, että aivolisäkkeestä eritetään sukupuolisolujen kypsymistä ohjaavia hormoneja (gonadotropiineja), kuten LH:ta (luteinisoiva hormoni) ja FSH:ta (follikkeleita stimuloiva hormoni). Näiden hormonien syntetisoitumista ja eritystä aivolisäkkeestä ohjaa hypotalamuksesta erittyvä GnRH –hormoni (gonadotropin releasing hormone). Eritetyt gonadotropiinit sitoutuvat sukupuolirauhasen membraanin reseptoreihin, jolloin rauhaset alkavat tuottaa steroidihormoneja ja sukupuolisoluja. Steroidihormonit aiheuttavat hypotalamukselle ja aivolisäkkeelle negatiivisen vasteen, jolloin LH:n ja FSH:n erityks vähenee, kun steroidihormoneja on riittävästi veressä. Jos LH:ta ja FSH:ta ei eritetä riittävästi aivolisäkkeestä, kehittyy henkilölle hypogonadotrooppinen hypogonadismi, jolloin henkilöllä ei erity riittävästi gonadotropiineja eikä steroidihormoneja. Tällöin syynä on hypotalamuksen ja/tai aivolisäkkeen häiriö. Jos taas hormoneja tuotetaan, mutta

sukupuolisoluja ei tuoteta, kehittyy hypergonadotrooppinen hypogonadismi. Tässä tapauksessa gonadotropiineja tuotetaan, mutta ne eivät indusoi steroidihormonien tuottoa. Tällöin häiriö on sukupuolirauhasissa, esimerkiksi gonadotropiiniin reseptoreissa, jolloin gonadotropiineihin ei reagoita. Tästä voi seurata se, että gonadotropiinitasot kohoavat normaalia korkeammaksi (Matzuk & Lamb 2008; Layman 2013). Naisilla hypogonadotrooppiseen hypogonadismiin on tutkimuksissa löydetty liittyvän ainakin 20 geeniä ja hypergonadotrooppiseen hypogonadismiin ainakin 14 geeniä. Hyper- tai hypogonadotrooppinen hypogonadismi on tyypillinen tila useille fertiiliteettiä alentaville sairauksilla. Lisääntymiseen vaikuttavat sairaudet voidaan karkeasti luokitella hypogonadaalisiin ja eugonadaalisiin häiriöihin. Hypogonadotrooppinen ja hypergonadotrooppinen hypogonadismi luokitellaan hypogonadaalisiin häiriöihin, jolloin sukupuolirauhasen sukupuolisolujen tuotto on jostain syystä häiriintynyt. Eugonadismiin taas liittyy sukupuolirauhasen hyperstimulaatiota (Layman 2013). Hypogonadismiin ja eugonadismiin voivat johtaa erilaiset geenivirheet, joita esitellään seuraavaksi.

3. Geneettisiä ominaisuuksia, jotka voivat aiheuttaa infertiliiteettiä

3.1 Translokaatiot

Kromosomiston rakenteellisiin poikkeavuuksiin kuuluu translokaatiot, joiden on todettu alentavan fertiiliteettiä. Translokaatioihin kuuluvat Robertsonin translokaatio ja resiprookkinen translokaatio (Martin 2008). Translokaatiot voivat olla joko tasapainoisia, jolloin kromosomimäärä ei muutu, tai epätasapainoisia, jolloin kromosomimäärä lisääntyy tai vähenee. Tasapainoista translokaatiota kantava mies on fenotyypillisesti normaali, tosin hänellä voi esiintyä infertiliiteettiä, sillä tasapainoista translokaatiota kantava spermatoosyytti muuttuu usein epätasapainoista translokaatiota kantavaksi siittiöksi meiosisin jälkeen. Tämä johtuu siitä, että tasapainoisen translokaation johdosta solunjakautumisvaiheessa homologisten kromosomien pariutuessa syntyy kvadrivalentti, jolloin neljä kromosomia kahden sijasta pariutuu. Tällöin kromosomien oikeanlainen jako tytärsoluihin häiriintyy helposti. Tällaisen epänormaalin kromosomimäärän sisältävän siittiön hedelmöittäessä munasolun, tsygoottiin tulee epänormaali määrä kromosomeja, jolloin keskenmenon riski kasvaa (Zorrilla & Yatsenko 2013). Translokaatioiden yhteydessä on tavattu myös DNA fragmentaatiota, mikä osaltaan alentaa fertiiliteettiä (Perrin *et al.* 2011).

Robertsonin translokaatio on yleisin genomien rakenteellinen poikkeavuus ihmisellä, esiintyen arviolta joka tuhannella ihmisellä. Siinä kahden akrosentrisen kromosomin pitkät haarat ovat sulautuneet yhteen omaksi kromosomiksi, jolloin yhteen kromosomiin tulee kahden kromosomin pitkät haarat. Kromosomien pienet haarat voivat kadota, eivätkä silloin osallistu meioottiseen jakoon. Meioosin myötä osaan syntyvistä sukupuolisoluista tulee normaali kromosomimäärä, mutta osaan sukupuolisoluista tulee trisomiaa ja monosomiaa (Zorrilla & Yatsenko 2013; Rios *et al.* 2004). Kromosomin katkeaminen Robertsonin translokaation yhteydessä näyttäisi tapahtuvan usein NOR-alueen (nucleolar organizer region) proksimaalisella puolella poistaen tämän alueen kromosomista. Tällä alueella on paljon ribosomaalisen RNA:n geenejä, jolloin translokaatio tällä alueella voi poistaa ribosomeja tuottavan alueen kromosomista. Tällaisen translokaation tuloksena voi olla disentriininen kromosomi, jossa on kaksi sentromeeriä. Robertsonin translokaation yhteydessä tapahtuvia DNA:n katkeamisia on paikannettu useisiin satelliitti-DNA-jaksoihin, jotka ovat DNA:ssa esiintyviä muutaman emäksen toistojaksoja. Robertsonin translokaatin paikka kromosomissa ei siis ole täysin sattumanvaraista, vaan on todennäköisempää tietyissä kohdissa kromosomia (Page *et al.* 1996). Robertsonin translokaatio voi johtaa vähäiseen siittiömäärään ja siittiöiden lisääntyneeseen aneuploidiaan (Sobotka *et al.* 2015). Brugnon *et al.* (2010) totesivat siittiöiden lisääntynyttä apoptoosia henkilöillä, joilla esiintyy Robertsonin translokaatiota.

Resiprookkisessa translokaatiossa perintöainesta siirtyy kahden ei-homologisen kromosomin välillä (Emanuel & Shaikh 2001). Miehellä perintöaineksen siirtyminen voi tapahtua autosomaalisten kromosomien, X-kromosomin ja autosomaalisen, tai Y-kromosomin ja autosomaalisen kromosomin välillä (Shah *et al.* 2003). Useimmiten resiprookkista translokaatiota tapahtuu kromosomien 2, 3, 7 ja 22 välillä (Tilak 2010). Meioosin onnistuminen resiprookkisen translokaation yhteydessä riippuu siitä, mitkä kromosomit vaihtavat perintöainesta, sekä mistä kohtaa DNA-ketju katkeaa translokaation yhteydessä. Y-kromosomin resiprookkinen translokaatio on todettu liittyvän vahvasti miehen infertiliteettiin (Ghevaria *et al.* 2017).

Miehillä tavataan 46,XX-karyotyyppejä, joka tunnetaan nimellä DSD (Testicular Disorder of Sex Development). Tällaisessa tapauksessa DSD-henkilön isän siittiön kehittyessä meioottisessa jakautumisessa on tapahtunut translokaatio X- ja Y-kromosomin välillä, jolloin X-kromosomin lyhyen haaran päähän on siirtynyt Y-kromosomin SRY-alue (sex determining region Y), joka ohjaa kivesten kehitystä (Andersson *et al.* 1986). Tällöin henkilölle kehittyy normaalit miehen

sukupuolielimet, mutta spermatogeneesi ei toimi kunnolla. Tämän karyotyypin yhteydessä esiintyy azoospermiaa ja kivesten atrofiaa (Kousta et al. 2010).

3.2 Deleetiot ja duplikaatiot

Mikrodeleetiot ja –duplikaatiot voivat aiheuttaa fertilitettä alentavia DNA:n kopiomäärämuutoksia. Azoospermiaa eli siittiöiden vähäistä määrää siemennesteessä voi aiheuttaa Y-kromosomin mikrodeleetiot, jotka sijaitsevat Y-kromosomin pitkässä haarassa AZF-alueella (azoospermia factor –alueella) (Reijo et al. 1996). Naisilla on todettu munasarjojen toimimattomuutta mikrodeleetioiden ja -duplikaatioiden esiintyessä SYCE1 ja CPEB1 –geeneissä (autosomaalisia), ja sekundaarista amenorreaa eli kuukautisten häiriötä mikrodeleetioiden sijaitessa X-kromosomin BMP15 –geenissä (McGuire et al. 2011).

3.3 Sukupuolikromosomien aneuploidia

Aneuploidiaassa kromosomien lukumäärä on normaalista poikkeava. Naisilla yleisin kromosomiston rakenteellinen muutos on 47,XXX –syndrooma, jolloin naisella on yksi ylimääräinen X-kromosomi (Otter et al. 2010). Syndrooman on todettu aiheuttavan ennen aikaista munasarjojen toiminnan heikkenemistä (POF, premature ovarian failure), jolloin munasarjojen hormonituotto ja munasolujen tuottaminen lakkaa ennen normaalia vaihdevuosi-ikää (Villanueva & Rebar 1983). Sukupuolikromosomien aneuploidiaa esiintyy myös 47,XXY (Klinefelterin syndrooma), 47,XYY, 47,XXX ja 45,X –karyotyypeillä. Tällöin sukupuolisolujen kehittyessä meioottisessa jakautumisessa osaan sukuoluista menee epänormaali määrä sukupuolikromosomeja, kun taas osasta sukupuolisoluista tulee ”normaaleja”. Sukupuolikromosomien aneuploidia voi siis aiheuttaa ongelmia meioottiseen jakautumiseen ja siten voi heikentää fertilitettä (Hall et al. 2006).

3.4 Yhden geenin mutaatiot

Yhden geenin mutaatiot voivat aiheuttavat primaarista infertilitettä, kun mutaatioita syntyy geeneihin, jotka vastaavat esimerkiksi spermatogeesistä, tai sekundaarista, jolloin mutaatioita syntyy esimerkiksi sukupuolihormonien tuotosta vastaaviin geeneihin (Mitchell et al. 2017).

3.5 Epigeneettiset syyt

Epigeneettisten muutosten on todettu liittyvän infertiliteettiin. Hammoud *et al.* (2011) tutki DNA:n metylaatiota infertiliteetistä kärsivillä miehillä, ja vertasi fertiilitteettään normaaliin ryhmään. Tutkimuksessa havaittiin eroja histonien modifikaatiossa näiden kahden ryhmän välillä. Infertiliteetistä kärsivien miesten sukusoluissa todettiin histonin H3 –alaysiköissä samankaltaista metylaatiota, ja samankaltaista yhteneväisyyttä ei todettu kontrolliryhmällä. Histonit osallistuvat DNA:n pakkaukseen, ja erityisesti solun jakautumisessa esimerkiksi meioosissa DNA:n pakkautuminen on tärkeää. Infertiilillä ryhmällä todettiin histonien metyloinnista johtuvaa epänormaalia DNA:n pakkausta ja siten myös häiriöitä meioottisessa jakautumisessa ja spermatogeneesissä.

3.6 Polygeeniset sairaudet

Infertiliteetin syynä voi olla myös polygeeniset sairaudet. Tällöin useat geenit vaikuttavat sairauden syntyyn. Kun assosiaatiotutkimuksessa saadaan jollekin infertiliteettiä aiheuttavalle sairaudelle useita kandidaattigeenejä, mutta niistä millekään yksittäiselle geenille ei löydy tarpeeksi vahvaa näyttöä fertiilitteetin alentamiseen, voidaan olettaa kyseessä olevan geneettisesti kompleksinen monitekijäinen sairaus. Esimerkiksi munasarjojen monirakkulaoireyhtymän (PCOS) oletetaan olevan monitekijäinen sairaus, sillä siihen on löydetty liittyvän useita eri geenejä. Useiden PCOS:ään liittyvien geenien on todettu liittyvän myös lihavuuteen ja 2-tyyppin diabetekseen (Zorrilla & Yatsenko 2013).

3.7 mtDNA:n mutaatiot

Mitokondrion DNA koostuu yhdestä kaksoiskierteisestä DNA molekyylistä, jossa ei ole juuri yhtään koodaamatonta DNA:ta eikä introneita. Koska mitokondriot periytyvät äidiltä, myös mitokondrio-DNA:n mutaatiota ja niistä johtuvat sairaudet periytyvät äidiltä. Näin ollen nämä sairaudet eivät periydy Mendelisten periytymismallien mukaan, kuten tuman DNA:n alleelit. Mitokondriossa tapahtuu oksidatiivista metaboliaa, energian tuottoa ja vapaiden radikaalien syntyä (Rajender *et al.* 2010).

Kypsä munasolu on ihmisen suurimpia soluja, ja siksi sisältää paljon mitokondrioita, joilla on tärkeä rooli munasolun kypsymisessä (Van Blerkom 2011). Myös kehittyvissä kiveksissä, joissa energian

tarve on suuri, ovat mitokondriot tärkeässä roolissa tuottaessaan energiaa spermatogeneesiin (Amaral *et al.* 2013). Mitokondriot tuottavat energiaa myös siittiön liikkumiseen, ja siittiöiden vähentynyt motiliteetti (määrän ohella) onkin todettu vaikuttavan suuresti miesperäiseen infertiliteettiin. Mitokondrioiden DNA:n geneettisiä virheitä (sekä pistemutaatioita että deleetioita) on yhdistetty siittiöiden fysiologisiin puutteisiin, kuten vähentyneeseen liikkeeseen, sekä epänormaaliin morfologiaan (Rajender *et al.* 2010; St. John *et al.* 2005). Energiaa (ATP:tä) tuotetaan mitokondrioissa oksidatiivisen fosforylaation kautta. Oksidatiiviseen fosforylaatioon tarvitaan entsyymikomplekseja, jotka koostuvat alayksiköistä. Näistä alayksiköistä 13 tuotetaan mitokondrion DNA:n (mtDNA) geeneistä. Niinpä mutaatiot mtDNA:ssa voivat vaikuttaa suoraan solun energian tuottoon. Mitokondrion DNA ei sisällä suojaavia histoneita, niinpä siihen syntyy melko helposti mutaatioita esimerkiksi reaktiivisten happiradikaalien (ROS) aiheuttamina. Näin ollen mtDNA:n mutaatioita voitaisiin käyttää markkereina osoittamaan huonolaatuista siemennestettä (Zhang *et al.* 2016).

Osa tutkimuksista kuitenkin osoittaa, että mitokondrioiden sisällä sitruunahappokierrossa ja oksidatiivisessa fosforylaatiossa tuotettu ATP ei ole kovin merkittävä energian lähde siittiön liikkumiseen, vaan tärkeämpää siittiön liikkumiselle on glykolyysissä (sytosolissa) tuotettu ATP (Amaral *et al.* 2013). Näin ollen mtDNA:n mutaatiot eivät vaikuttaisi niin suuresti siittiöiden liikkumiseen.

Mitokondriot vaikuttavat miehen hedelmällisyyteen myös niiden ohjaaman siittiöiden apoptoosin kautta. Menetelmän on arvioitu kehittyneen siksi, että DNA-vaurioita sisältävät siittiöt on käynnistäneet ohjelmoidun solukuoleman, jotta ne eivät päätyisi hedelmöittämään munasolua. Myös mitokondrioiden tuottamat reaktiiviset happiradikaalit (ROS) käynnistävät siittiön apoptoosin, jos niitä tuotetaan liikaa, tai ei hajoteta tarpeeksi antioksidanttien vaikutuksesta. Sopiva ROS-taso on välttämätön siittiön toiminnalle, mutta jos tasapaino häiriintyy, voi se aiheuttaa siittiöissä apoptoosia (Amaral *et al.* 2013).

Mitokondriot osallistuvat myös steroidien biosynteesiin siten, että niissä syntetisoidaan steroidien synteesiin tarvittavia entsyymejä, sekä tuotetaan steroidihormonien esiastetta mitokondrion sisäkalvolla. Häiriintynyt steroidihormonien tuotto voi aiheuttaa infertiliteettiä (Miller 2013; Stocco & McPhaul 2006).

4. Miksi infertiliiteettiä aiheuttavat geenit säilyneet ihmispopulaatiossa?

Infertiliiteetin esiintyvyys ihmispopulaatiossa maailmanlaajuisesti on yllättävän yleinen ongelma, vaikka sen olettaisi karsiutuvan populaatiosta siihen kohdistuvan negatiivisen valinnan vuoksi (Corbett & Morin-Papunen 2013). Infertiliiteetille altistavien geenien säilyminen populaation geenipoolissa voi olla seurausta siitä, että ne ovat olleet populaation menestymisen kannalta hyödyllisiä ihmispopulaation varhaisemmissa kehitysvaiheissa. Tästä hyvänä esimerkkinä voidaan pitää munasarjojen monirakkulaoireyhtymää (PCOS), johon yhdistetyt geenit ovat kehittyneet arviolta jo paleoliittisella aikakaudella yli 50 000 vuotta sitten, ja tasapainoittavan valinnan vuoksi säilyneet tähän päivään asti (Ünlütürk *et al.* 2016).

PCOS on maailman laajuisesti yleinen fertiliiteettiin vaikuttava primaarinen sairaus, ja yksi yleisimmistä ovulaatiohäiriön aiheuttajista (Hull 1987). PCOS:ää sairastavat naiset pystyvät saamaan jälkeläisiä, joskin fertiliiteetti on alentunut (Azziz *et al.* 2001). Tätä oireyhtymää esiintyy arviolta 8-18 % lisääntymisikäisistä naisista, ollen siten yleisin endokriininen sairaus tällä ryhmällä (Aydos *et al.* 2016). 2-tyyppin diabetestä sairastavista naisista valtaosa kärsii kyseisestä oireyhtymästä (Arslanian *et al.* 2001). PCOS:n oireita ovat mm. mieshormonien ja insuliinin liiallinen esiintyvyys, insuliiniresistenssi ja ovulaation häiriöt.

PCOS on polygeeninen sairaus, johon on löydetty liittyvän useita eri geenejä (Corbett & Morin-Papunen 2013). Monien munarakkulan kehittymisestä vastaavien geenien säätely on todettu olevan häiriintynyt PCOS:ää sairastavilla potilailla (Hossain *et al.* 2013). Oireyhtymän genetiikka on kuitenkin vielä epäselvä, joten sen heritabiliteetistä ei tiedetä paljoa (Barber & Franks 2013).

PCOS:n korkeaa esiintyvyyttä voidaan pitää paradoksaalisena, sillä jo RA Fisher totesi 1930-luvulla fertiliiteettiin vaikuttaviin geeneihin kohdistuvan enemmän luonnonvalintaa kuin elinkelpoisuuteen vaikuttaviin geeneihin. Ilman tasapainottavaa luonnonvalintaa PCOS:ää aiheuttavien geenien pitäisikin karsiutua populaatiosta nopeasti pois (Corbett & Morin-Papunen 2013). Suuri esiintyvyys voidaan selittää sillä, että kun PCOS:ää aiheuttavat geenit kehittyivät, niistä oli yksilölle valintaetua. Kuitenkin nykymaailmassa, jossa eliniän odote on korkea, lapset saadaan myöhemmällä iällä ja ihmiset liikkuvat vähemmän, PCOS:stä on tullut negatiivinen ominaisuus (Ünlütürk *et al.* 2016).

Alun perin PCOS:ään liittyviä geenejä tutkittiin kiinalaispopulaatiossa (Chen *et al.* 2011).

Myöhemmin samojen geenien ilmenemistä tutkittiin eurooppalaisessa populaatiossa, ja 12

PCOS:ään liitettyä geeniä 17:sta todettiin esiintyvän myös eurooppalaisilla (Louwers *et al.* 2013). Koska samoja PCOS:ää aiheuttavia geenejä löytyy eri ihmispopulaatioilta ympäri maailmaa, ja koska PCOS on lähes yhtä yleinen eri populaatioissa, voidaan sairauden geneettisten tekijöiden olettaa olleen kehittynyt jo muinaisihmisellä 50 000 vuotta sitten, eli ennen Afrikasta levittäytymistä (Ünlütürk *et al.* 2016). PCOS arvioidaan kehittyneen paleoliittisellä aikakaudella metsästäjä-keräilijöillä. Ruoan rajallisesta määrästä johtuen luonnonvalinta suosi yksilöitä, joiden elimistö varastoi energiaa tehokkaasti (Chakravarthy & Booth 2004). PCOS:ään liittyvä insuliiniresistenssi piti verensokerin koholla myös aikoina, jolloin ruokaa oli vain vähän saatavilla, minkä johdosta energiaa riitti ovulaation toimimiseen ja raskauden ylläpitoon. Paleoliittisella aikakaudella, jolloin ylipainon ja diabeteksen riskiä ei ollut ruoan vähyydestä johtuen, insuliiniresistenssin voidaan siis ajatella olleen valintaetu luonnonvalinnassa. Nyky maailmassa insuliiniresistenssi kuitenkin altistaa moniin metabolisiin sairauksiin, kuten PCOS:ään (Azziz *et al.* 2011; Foong *et al.* 2006; Soeters & Soeters 2012).

PCOS:ään liittyvä hyperandrogenismi lisää naisen luutiheyttä sekä lihasmassaa ja –voimaa, mikä myös on ollut valintaetuna aikana, jolloin ihmisen piti selviytyä luonnossa (Ünlütürk *et al.* 2016; Notelovitz 2002).

PCOS ja hyperandrogenismin on myös todettu suojaavan patogeeneiltä, mikä osaltaan aiheuttaa positiivista valintaa PCOS:ää kohtaan. Escobar-Morreale ym. (2005) hypoteesin mukaan insuliinia tuottavien geenien ja resistenssigeenien, sekä androgeenejä syntetisoivien geenien vuorovaikutus parantaa vastustuskykyä patogeenejä vastaan, sekä tehostaa energian varastoimista rasvaksi.

PCOS:n on arvioitu tuovan valintaetua myös siksi, että se on pienentänyt lapsilukua aikana, jolloin synnytyksuolleisuus on ollut yleistä, ja näin ollen parantanut naisen selviytymistä. Kun äiti on säilynyt hengissä, on se tuonut paremmat edellytykset jälkeläisille selviytyä lisääntymisikään asti (Azziz *et al.* 2011).

PCOS on siis tuonut etua naiselle aikakaudella, jolloin ruoan saanti oli vähäistä ja kausittaista, sekä synnytyksuolleisuus yleistä, ja on osaltaan siksi säilynyt populaatiossa tähän päivään asti. Vasta myöhemmin teollistumisen myötä ja ruoan määrän lisääntyessä valinta PCOS:ää kohtaan on kääntynyt negatiiviseksi (Corbett & Morin-Papunen 2013).

Gleicher (2003) esitti artikkelissaan hypoteesin, jonka mukaan nykylääketiede osaltaan vaikuttaa joidenkin polygeenisten sairauksien yleisyyden lisääntymiseen tulevaisuudessa, ja niiden esiintymiseen entistä nuoremmalla iällä. Yleistyminen johtuu siitä, että aikaisemmin fertiiliteettiä laskevat sairaudet estivät tai alensivat jälkeläisten tuottoa, kun taas nykylääketieteen myötä sairauksia voidaan hoitaa siten, että ne eivät enää vaikuta yhtä vahvasti fertiiliteettiin, jolloin kyseisten geenien on mahdollista siirtyä seuraaville sukupolville.

5. Infertiiliteettiin liittyvien geenien tutkimus

Mallieläimillä, joiden genomia on muokattu, on löydetty satoja, jopa tuhansia geenejä, jotka vaikuttavat lisääntymiseen. Fertiliiteettiin vaikuttavien geenien tutkimiseen ja kartoitukseen on käytetty myös QTL-kartoitusta (quantitative-trait loci). Lukuisista fertiiliteettiin liittyvistä löydetyistä geeneistä huolimatta ihmisen infertiiliteettiin liittyvistä geeneistä tiedetään suhteellisen vähän (Kosova *et al.* 2012; Rocha *et al.* 2004). PCOS:ään liittyvien geenien löytämiseen on käytetty myös geneettisiä sukututkimuksia ja kaksostutkimuksia (Goodarzi & Azziz 2006), sekä geeniekspressiotutkimuksia munasarjakudoksista microarray –tekniikalla. Microarray tekniikalla on löytynyt mm. DKK1-geeni, joka näyttäisi ekspressoituvan normaalia enemmän PCOS-kudoksessa. DKK1-geenin suuresta ekspressiosta johtuen PCOS-potilaiden testosteronitaso on koholla (Wood *et al.* 2003).

Fertiiliteettiin vaikuttava geenejä pystytään nykytekniikan ansiosta tutkimaan koko genomien kattavilla assosiaatiotutkimuksilla (GWAS). Kun yksilön genotyypin määrittämisessä käytettävät tekniikat paranivat, ja kun tietokoneohjelmat kehittyivät siten, että ne pystyvät käsittelemään ison määrän dataa, mahdollistui myös GWAS:n kehittyminen ja koko genomien analysointi.

Infertiiliteettiin liittyviä tutkimuksia ja tuloksia on julkaistu yli 1600 julkaisussa vuoteen 2014 mennessä, joissa on raportoitu yli 30 sairaudesta, joiden on todettu liittyvän fertiiliteetin alenemiseen. Tutkimukset osoittavat, että infertiiliteettiin vaikuttavat useat eri geenit ja genomien geenialueet, joista jokaisella yksittäisellä geenillä on vain pieni vaikutus fertiiliteettiin (Montgomery *et al.* 2014).

GWAS:n avulla on löydetty useita markkereita liittyen eri sairauksiin. Löydetyistä markkereista yli 80 % sijaitsee geenien välisellä alueella DNA:ssa. Geenien transkription säätelystä täytyykin vielä

oppia paljon, jotta tällaisten markkerien liittyminen tutkittavaan sairauteen pystyttäisiin selittämään (Montgomery *et al.* 2014).

PCOS:ää tutkittiin GWAS:lla ensimmäisen kerran kiinalaisilla naisilla, jolloin löydettiin kolme PCOS:än riskiä nostavaa geeniä: LHCGR, THADA, ja DENND1A lokuksissa 2p16.3, 2p21, and 9q33.1 (Chen *et al.* 2011). GWAS:n avulla on tutkittu myös mm. endometrioosia (Montgomery *et al.* 2014).

Montgomery (2014) toteaa artikkelissaan, että aiemmin fertiiliteettiin liittyvien geenien tutkimuksissa on käytetty usein melko pieniä otoskokoja, niinpä tulevaisuudessa pitäisi tutkia suurempia populaatioita, jotta voitaisiin arvioida paremmin mm. geenien aiheuttamia tautiriskejä. GWAS:n myötä saatuja tuloksia fertiiliteettiin vaikuttavista geeneistä on myös kyseenalaistettu johtuen löydettyjen geenivarianttien pienestä vaikuttavuudesta taudin syntyyn. Koska fertiiliteettiin vaikuttavat sairaudet ovat yleensä polygeenisia, ei yksittäinen geeni juurikaan vaikuta fertiiliteettiin. Myös ympäristötekijöillä on suuri merkitys taudin synnyssä. Siksi useilla löydettyillä geeneillä ei ole suurtakaan diagnostista arvoa, sillä vaikka potilaalla olisi jokin fertiiliteettiä tutkimusten mukaan laskeva geeni, ei se kovinkaan todennäköisesti hänellä aiheuta infertiiliteettiä.

6. Tulevaisuus: hoidot ja niiden seuraukset

Eläinkokeet ovat antaneet paljon tietoa ihmisen infertiiliteetin taustoista. Perustutkimuksen myötä on alettu ymmärtää sukupuolen määräytymisen fysiologiaa, sukupuolisolujen tuoton fysiologiaa ja sukupuolisolujen toimintaa ja hedelmöitymistä. Kuitenkin tämän tiedon hyödyntäminen kliinisesti hoitomuotojen kehittämisessä on ollut hidasta. Tulevaisuudessa fertiiliteettiin liittyvän tiedon voidaan odottaa lisääntyvän entisestään (Matzuk & Lamb 2008).

Aikuisen hiiren siittiöiden kantasolujen on todettu olevan hyvin plastisia ja multipotentteja soluja, pystyen erilasitumaan erilaisiksi solutyypeiksi (Guan *et al.* 2006). Myös ihmisellä näitä multipotentteja kantasoluja voitaisiinkin hyödyntää geeniterapiassa infertiiliteetin hoidossa sellaisilla miehillä, joilla spermatogeneesi ei toimi. Näiden kantasolujen geenejä pystytään myös tarpeen tullen muokkaamaan, jolloin syntyy siittiöitä, joiden genomia on muokattu. Tällaisia kokeita on tehty hiirellä useammassa tutkimuksessa. Hiiritutkimuksissa pystyttiin muokkaamaan siittiöstä sitä geeniä, joka aiheuttaa siittiölle kyvyttömyyttä hedelmöittää munasolu. Genomin muokkaus voi tapahtua tekemällä jokin geeni toimimattomaksi, tai siirtämällä genomiin geenejä

käyttämällä sopivia vektoreita. Vaikka alkioista peräisin olevien kantasolujen käyttöä pidetään epäeettisenä, voisi aikuisesta otettujen kantasolujen käyttö olla hyväksyttävämpää. Jos genomista pystyttäisiin poistamaan infertiliteettiä aiheuttava geeni ja näin ollen tekemään siittiö fertiiliksi, ei syntyvällä jälkeläiselläkään olisi tätä infertiliteettiä aiheuttavaa alleelia (Matzuk & Lamb 2008).

Nykytekniikan myötä on mahdollista geneettisesti muokata myös somaattisia aikuisen soluja toimimaan kantasolujen tavoin (induced pluripotent stem cells, iPSCs). Myös iPSC-kantasolujen käyttöä voisi pitää eettisempänä kuin alkioista peräisin olevien kantasolujen käyttö. iPSC-kantasoluja voitaisiin laboratoriossa käsitellä siten, että ne tuottaisivat sukupuolisoluja. Tiede on ottanut edistysaskelia siittiöiden tuottamisessa kantasoluista, mutta myös munasolujen tuotto kantasoluista voi tulevaisuudessa olla mahdollista. Munasolujen tuotto kantasoluista vastaisi nykykulttuurin tarpeisiin, sillä lapsia saadaan nykyään vasta myöhemmällä iällä, ja niin ollen munasolujen tuotto on vaarassa ehtyä naisella ennenaikaisesti. Jos kantasoluista pystyttäisiin tuottamaan munasoluja, ei luonnollisen ovulaation ehtyminen olisi ongelma (Volarevic *et al.* 2014).

7. Yhteenveto

Infertiliteettiä esiintyy maailmanlaajuisesti, ja esimerkiksi PCOS:n syntyyn liitetyt geenit esiintyvät yhtä vallitsevina eri puolilla maapalloa. Geenit vaikuttavat vahvasti fertiiliteettiin, sillä noin 50% lapsettomista pareista geenien on arvioitu olevan infertiliteettiä aiheuttava tekijä. Infertiliteettiä aiheuttavat geneettiset tekijät voidaan jakaa kromosomaalisiin poikkeavuuksiin, deleetioiden ja duplikaatioiden seurauksena syntyviin DNA:n kopiomäärämuutoksiin, yhden geenin aiheuttamiin sairauksiin, polygeenisiin sairauksiin ja epigeneettisiin sairauksiin.

Geenitutkimuksen menetelmien kehittymisen myötä on saatu paljon uutta tietoa geeneistä, jotka voivat vaikuttaa fertiiliteettiin. Myös lisääntymiseen liittyvästä fysiologiasta ja siihen liittyvistä hormoneista tiedetään nykyään suhteellisen paljon. Koko genomien kattavat assosiaatiotutkimukset (GWAS) ovat antaneet tietoa eri geeneistä, jotka vaikuttavat fertiiliteettiin. Myös genomien ei-koodavan alueen on todettu vaikuttavan hedelmällisyyteen. Tutkimusten myötä myös tieto mitokondrio-DNA:n vaikutuksesta sukupuolisoluihin on lisääntynyt.

Luonnonvalinta osaltaan ehkäisee infertiliteettiä aiheuttavien ominaisuuksien yleistymistä ja siirtymisen sukupolvelta seuraavalle. Kuitenkin, nykyaikaiset hedelmöityshoitotekniikat ovat

vähentäneet luonnonvalinnan vaikutusta ja sen seurauksena infertiliteettiä aiheuttavat geneettisten ominaisuuksien voidaan odottaa yleistyvät (Ferlin *et al.* 2006).

8. Lähdeluettelo

Amaral A, Loureno B, Marques M, Ramalho-Santos J (2013) Mitochondria functionality and sperm quality. *Reproduction*, **146**.

Arslanian SA, Lewy VD, Danadian K (2001) Glucose intolerance in obese adolescents with polycystic ovary syndrome: Roles of insulin resistance and β -cell dysfunction and risk of cardiovascular disease. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, **86**, 66-71.

Aydos A, Gurel A, Islakoglu YO, et al (2016) Identification of polycystic ovary syndrome (PCOS) specific genes in cumulus and mural granulosa cells. *PLoS ONE*, **11**.

Azziz R, Dumesic DA, Goodarzi MO (2011) Polycystic ovary syndrome: An ancient disorder? *Fertility and sterility*, **95**, 1544-1548.

Azziz R, Ehrmann D, Legro RS, et al (2001) Troglitazone improves ovulation and hirsutism in the polycystic ovary syndrome: A multicenter, double blind, placebo-controlled trial. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, **86**, 1626-1632.

Barber TM, Franks S (2013) Genetics of polycystic ovary syndrome. *Frontiers of Hormone Research*, **40**.

Brugnon F, Janny L, Communal Y, et al (2010) Apoptosis and meiotic segregation in ejaculated sperm from Robertsonian translocation carrier patients. *Human Reproduction*, **25**, 1631-1642.

Chakravarthy MV, Booth FW (2004) Eating, exercise, and "thrifty" genotypes: Connecting the dots toward an evolutionary understanding of modern chronic diseases. *Journal of applied physiology*, **96**, 3-10.

Chen Z-, Zhao H, He L, et al (2011) Genome-wide association study identifies susceptibility loci for polycystic ovary syndrome on chromosome 2p16.3, 2p21 and 9q33.3. *Nature genetics*, **43**, 55-59.

Corbett S, Morin-Papunen L (2013) The Polycystic Ovary Syndrome and recent human evolution. *Molecular and cellular endocrinology*, **373**, 39-50.

Emanuel BS, Shaikh TH (2001) Segmental duplications: An 'expanding' role in genomic instability and disease. *Nature Reviews Genetics*, **2**, 791-800.

Escobar-Morreale HF, Luque-Ramrez M, San Milln JL (2005) The molecular-genetic basis of functional hyperandrogenism and the polycystic ovary syndrome. *Endocrine reviews*, **26**, 251-282.

Ferlin A, Arredi B, Foresta C (2006) Genetic causes of male infertility. *Reproductive Toxicology*, **22**, 133-141.

Foong SC, Abbott DH, Zschunke MA, Lesnick TG, Phy JL, Dumesic DA (2006) Follicle luteinization in hyperandrogenic follicles of polycystic ovary syndrome patients undergoing gonadotropin therapy for in vitro fertilization. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, **91**, 2327-2333.

Ghevaria H, Naja R, SenGupta S, Serhal P, Delhanty J (2017) Meiotic outcome in two carriers of Y autosome reciprocal translocations: selective elimination of certain segregants. *Molecular Cytogenetics*, **10**, 1-8.

Gleicher N (2003) Modern obstetrical and infertility care may increase the prevalence of disease: an evolutionary concept. *Fertility and sterility*, **79**, 249-252.

Goodarzi MO, Azziz R (2006) Diagnosis, epidemiology, and genetics of the polycystic ovary syndrome. *Best Practice and Research: Clinical Endocrinology and Metabolism*, **20**, 193-205.

Guan K, Nayernia K, Maier LS, et al (2006) Pluripotency of spermatogonial stem cells from adult mouse testis. *Nature*, **440**, 1199-1203.

Hall H, Hunt P, Hassold T (2006) Meiosis and sex chromosome aneuploidy: how meiotic errors cause aneuploidy; how aneuploidy causes meiotic errors. *Current Opinion in Genetics and Development*, **16**, 323-329.

Hammoud SS, Nix DA, Hammoud AO, Gibson M, Cairns BR, Carrell DT (2011) Genome-wide analysis identifies changes in histone retention and epigenetic modifications at developmental and imprinted gene loci in the sperm of infertile men. *Human Reproduction*, **26**, 2558-2569.

Hanson B, Johnstone E, Dorais J, Silver B, Peterson CM, Hotaling J (2017) Female infertility, infertility-associated diagnoses, and comorbidities: a review. *Journal of assisted reproduction and genetics*, **34**, 167-177.

Hedrick PW (2011) *Genetics of populations*
, 4th ed edn. Jones and Bartlett Publishers, Sudbury, Mass.

Hossain MM, Cao M, Wang Q, et al (2013) Altered expression of miRNAs in a dihydrotestosterone-induced rat PCOS model. *Journal of Ovarian Research*, **6**.

Hull MGR (1987) Epidemiology of infertility and polycystic ovarian disease: Endocrinological and demographic studies. *Gynecological Endocrinology*, **1**, 235-245.

Kosova G, Scott NM, Niederberger C, Prins GS, Ober C (2012) Genome-wide association study identifies candidate genes for male fertility traits in humans. *American Journal of Human Genetics*, **90**, 950-961.

Layman LC (2013) The genetic basis of female reproductive disorders: Etiology and clinical testing. *Molecular and cellular endocrinology*, **370**, 138-148.

Louwers YV, Stolk L, Uitterlinden AG, Laven JSE (2013) Cross-Ethnic meta-Analysis of genetic variants for polycystic ovary syndrome. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, **98**, E2012.

Ma X, Dong Y, Matzuk MM, Kumar TR (2004) Targeted disruption of luteinizing hormone -subunit leads to hypogonadism, defects in gonadal steroidogenesis, and infertility. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **101**, 17294-17299.

Martin RH (2008) Cytogenetic determinants of male fertility. *Human reproduction update*, **14**, 379-390.

Mascarenhas MN, Flaxman SR, Boerma T, Vanderpoel S, Stevens GA (2012) National, Regional, and Global Trends in Infertility Prevalence Since 1990: A Systematic Analysis of 277 Health Surveys. *PLoS Medicine*, **9**.

Matzuk MM, Lamb DJ (2008) The biology of infertility: Research advances and clinical challenges. *Nature medicine*, **14**, 1197-1213.

McGuire MM, Bowden W, Engel NJ, Ahn HW, Kovanci E, Rajkovic A (2011) Genomic analysis using high-resolution single-nucleotide polymorphism arrays reveals novel microdeletions associated with premature ovarian failure. *Fertility and sterility*, **95**, 1595-1600.

Miller WL (2013) Steroid hormone synthesis in mitochondria. *Molecular and cellular endocrinology*, **379**, 62-73.

Mitchell MJ, Metzler-Guillemain C, Toure A, Coutton C, Arnoult C, Ray PF (2017) Single gene defects leading to sperm quantitative anomalies. *Clinical genetics*, **91**, 208-216.

Montgomery GW, Zondervan KT, Nyholt DR (2014) The future for genetic studies in reproduction. *Molecular human reproduction*, **20**, 1-14.

Notelovitz M (2002) Androgen effects on bone and muscle. *Fertility and sterility*, **77**, S41.

Otter M, Schrandt-Stumpel CT, Curfs LM (2010) Triple X syndrome: A review of the literature. *European Journal of Human Genetics*, **18**, 265-271.

Page SL, Shin J-, Han J-, Choo KHA, Shaffer LG (1996) Breakpoint diversity illustrates distinct mechanisms for Robertsonian translocation formation. *Human molecular genetics*, **5**, 1279-1288.

Perrin A, Basinko A, Douet-Guilbert N, et al (2011) Aneuploidy and DNA fragmentation in sperm of carriers of a constitutional chromosomal abnormality. *Cytogenetic and Genome Research*, **133**, 100-106.

Rajender S, Rahul P, Mahdi AA (2010) Mitochondria, spermatogenesis and male infertility. *Mitochondrion*, **10**, 419-428.

Reijo R, Alagappan RK, Patrizio P, Page DC (1996) Severe oligozoospermia resulting from deletions of azoospermia factor gene on Y chromosome. *Lancet*, **347**, 1290-1293.

Rios A, Furdon SA, Adams D, Clark DA (2004) Recognizing the clinical features of Trisomy 13 syndrome. *Advances in Neonatal Care*, **4**, 332-343.

Rocha JL, Eisen EJ, Siewerdt F, Van Vleck LD, Pomp D (2004) A large-sample QTL study in mice: III. Reproduction. *Mammalian Genome*, **15**, 878-886.

Shah K, Sivapalan G, Gibbons N, Tempest H, Griffin DK (2003) The genetic basis of infertility. *Reproduction*, **126**, 13-25.

Sobotka V, Vozdova M, Heracek J, Rubes J (2015) A rare Robertsonian translocation rob(14;22) carrier with azoospermia, meiotic defects, and testicular sperm aneuploidy. *Systems Biology in Reproductive Medicine*, **61**, 245-250.

Soeters MR, Soeters PB (2012) The evolutionary benefit of insulin resistance. *Clinical Nutrition*, **31**, 1002-1007.

St. John JC, Jokhi RP, Barratt CLR (2005) The impact of mitochondrial genetics on male infertility. *International journal of andrology*, **28**, 65-73.

Stocco DM, McPhaul MJ (2006) Physiology of testicular steroidogenesis. In: *Knobil and Neill's Physiology of Reproduction* pp. 977-1016.

Tilak P (2010) Effect of reciprocal translocations on Phenotypic Abnormalities. *International Journal of Human Genetics*, **10**, 113-119.

Ünlütürk U, Sezgin E, Yildiz BO (2016) Evolutionary determinants of polycystic ovary syndrome: part 1. *Fertility and sterility*, **106**, 33-41.

Van Blerkom J (2011) Mitochondrial function in the human oocyte and embryo and their role in developmental competence. *Mitochondrion*, **11**, 797-813.

Venkatesh T, Suresh PS, Tsutsumi R (2014) New insights into the genetic basis of infertility. *Application of Clinical Genetics*, **7**, 235-243.

Villanueva AL, Rebar RW (1983) Triple-X syndrome and premature ovarian failure. *Obstetrics and gynecology*, **62**, 73s.

Volarevic V, Bojic S, Nurkovic J, et al (2014) Stem cells as new agents for the treatment of infertility: Current and future perspectives and challenges. *BioMed Research International*, **2014**.

Wood JR, Nelson VL, Ho C, et al (2003) The molecular phenotype of polycystic ovary syndrome (PCOS) theca cells and new candidate PCOS genes defined by microarray analysis. *Journal of Biological Chemistry*, **278**, 26380-26390.

Zhang G, Wang Z, Ling X, et al (2016) Mitochondrial biomarkers reflect semen quality: Results from the MARCHS study in chongqing, China. *PLoS ONE*, **11**.

Zorrilla M, Yatsenko A (2013) The Genetics of Infertility: Current Status of the Field. *Current Genetic Medicine Reports*, **1**, 247-260.