

The role of oocyte in the genetic determinations of fertility and infertility

Błażej Męczekalski, Alina Warenik-Szymankiewicz

Department of Endocrine Gynaecology, Poznan University of Medical Sciences, Poznan

Abstract

Oocyte specific genes play important role in the folliculogenesis, ovulation, fertilization and early embryogenesis. It is suggested that 17-20% of infertility in both sex has idiopathic aspect. This kind of infertility is mainly associated with genetic background. The study on the role of oocyte specific genes can help in our understanding of the causes of idiopathic infertility.

Key words: oocyte, folliculogenesis, ovulation, embryogenesis, infertility

Rola komórki jajowej w genetycznych uwarunkowaniach płodności i niepłodności

Błażej Męczekalski, Alina Warenik-Szymankiewicz

*Katedra i Klinika Endokrynologii Ginekologicznej Akademia Medyczna im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu
Kierownik Katedry i Kliniki: Prof. dr hab. med. Alina Warenik-Szymankiewicz*

Streszczenie

Geny ulegające specyficznej transkrypcji w komórce jajowej mogą odgrywać bardzo istotną rolę w procesie formowania się pęcherzyka jajnikowego, owulacji, zapłodnienia i wczesnej embriogenezy. Należy zauważyć, że około 17 - 20% przypadków niepłodności u obu płci ma tło idiopatyczne. Liczne dane sugerują, że w głównej mierze defekty genetyczne mogą leżeć u podłoża tych nierozpoznanych przyczyn niepłodności. Nadzieje nad poznaniem przyczyn niepłodności idiopatycznej wiążą się między innymi z poznaniem funkcji i roli genów ulegających specyficznej transkrypcji w oocycie.

Słowa kluczowe: oocyt, folikulogeneza, owulacja, embriogeneza, niepłodność



Katedra i Klinika Endokrynologii Ginekologicznej AM w Poznaniu,
ul. Polna 33, 60-535 Poznań,
tel (61) 8419 366, fax. (61) 8419 454

Wstęp

Dotychczas zidentyfikowano kilka genów ulegających specyficznej transkrypcji w oocycie. Do grupy tych genów zalicza się: onkogen mięsaka Maloney (*C-mos*); Różnicujący czynnik wzrostu-9 (*GDF-9*); Gen osłonki przezroczystej 1 (*ZP1*); (Gen osłonki przezroczystej 2, *ZP2*; Gen osłonki przezroczystej 3, *ZP3*, Gen czynnika w linii zarodkowej alfa, *Figa*; Antygen matczyzny wymagany przez embrion (*Mater*), Gen zatrzymania zygotycznego 1 (*Zar 1*); histone H100 specyficzny dla oocytu (*H100*). Rola wymienionych genów sprowadza się przede wszystkim do istotnego wpływu na rozwój oocytu oraz formowania się pęcherzyka jajnikowego. Jednym z najlepszych modeli do badania funkcji genów specyficznych dla oocytu jest model myszy z wykorzystaniem techniki „knock out” (pozbawienie myszy określonego genu i ocena fenotypu

myszy). Należy podkreślić, że wszystkie wymienione geny zidentyfikowane u myszy posiadają swoje homologi u człowieka.

Oocyt jako komórka wyjątkowa

Oocyt ssaków jest również jedną z najdłużej żyjących komórek w organizmie. Trudno zaprzeczyć, że może uchodzić również za jedną z najważniejszych (jeśli można użyć takiego określenia) - ponieważ jest odpowiedzialny za przekazywanie genomu następnym pokoleniom.

Wyjątkowe cechy oocytu są także związane z jego szczególnym cyklem życia [1]. Oocyt formuje się w w jajniku płodowym i następnie jego rozwój jest zatrzymany w diplotenie mejozy przez lata aż do czasu uzyskania przez organizm dojrzałości płciowej u kobiety. Po czym pod wpływem

bodźców hormonalnych przechodzi proces dojrzewania, a następnie tuż przed owulacją proces I mejozy. U większości kręgowców ten proces zatrzymuje się na etapie podziału metafazy II aż do momentu zapłodnienia. Zapłodnienie stymuluje ukończenie mejozy [2].

Do niedawna oocyt w rozwijającym się pęcherzyku był postrzegany jako bierny element, nieposiadający żadnego wpływu na rozwój pęcherzyka jajnikowego. Uważa się, że komórki otaczające oocyt odgrywają rolę w procesie jego odżywiania i transmisji do jajowodu. Ostatnie badania wykazały, że dwukierunkowa komunikacja pomiędzy oocytem i otaczającymi go komórkami somatycznymi ma bardzo istotny wpływ na proces oogenezy i embriogenezy [3].

Oocyt jest jedyną komórką, dla której różnicowanie się nie jest ostatecznym etapem rozwoju. Dokładne poznanie funkcji oocytu wymaga analizy jego struktury, rozwoju oraz roli w procesie folikulogenezy, owulacji, zapłodnienia i embriogenezy. Główny model do badań oocytu ssaków stanowią komórki jajowe myszy oraz szczura [4].

Należy zauważyć, że chociaż genom myszy jest o około 14% mniejszy niż genom człowieka to wykazano, że ponad 90% obu genomów można być podzielić na korespondujące regiony, zawierające segmenty, w których porządek genów został zachowany u obu gatunków [5]. Jedną z cennych metod stosowanych do badań nad rolą poszczególnych genów w funkcjach rozrodczych jest metoda „knock out” polegająca na eliminacji określonego genu i ocenie wpływu tej eliminacji na fenotyp osobnika.

Geny specyficzne dla komórki jajowej

Do genów ulegających specyficznej ekspresji w oocycie zalicza się: *c-Mos* (onkogen mięsaka Maloney, Maloney sarcoma oncogene), *GDF-9* (Różnicujący czynnik wzrostu-9, Growth differentiation factor-9), *ZP1* (Gen osłonki przezroczystej 1, zona pellucida 1,) *ZP2* (Gen osłonki przezroczystej 2, zona pellucida 2,) *ZP3* (Gen osłonki przezroczystej 3, zona pellucida 3,) *Fig alfa* (Gen czynnika w linii zarodkowej alfa, Factor in germline alfa,) *MATER* (Antygen matczyny wymagany przez embrion, Maternal antigen that embryo require), *ZAR1* *Zygotie arrest 1* (Gen zatrzymania zygotycznego 1, Zar 1) oraz *H100* / gen H100 specyficzny dla oocytu/ Oocyte-specific histone H100, i *ZP4* (Gen osłonki przezroczystej 4, zona pellucida 4)

Onkogen mięsaka Maloney (*c-Mos*)

c-Mos (Maloney sarcoma oncogene; onkogen mięsaka Maloney) jest proto-onkogenem, którego ekspresja zachodzi w oocytach kręgowców w czasie dojrzewania mejotycznego (faza MII) (lub G2-M progresja) [6]. Samce pozbawione genu *c-Mos* charakteryzują się prawidłową płodnością,

natomiast samice myszy mają obniżoną płodność z powodu upośledzenia dojrzałej komórki jajowej do zatrzymania w stadium mejozy [7]. Homolog genu *c-Mos* został zidentyfikowany w genomie człowieka [8].

Czynnik różnicowania- 9 (*GDF-9*)

GDF-9 został opisany jako pierwszy specyficzny dla oocytu czynnik wzrostu wymagany dla somatycznej funkcji tej komórki *in vivo*. *GDF-9* mRNA jest syntetyzowany tylko w oocycie począwszy od oocytu otoczonego przez jedną warstwę komórek ziarnistych aż do stadium owulacji. Samice myszy homozygotycznych pozbawione tego genu charakteryzowały się niepłodnością pierwotną [9]. Dochodziło do szybkiej zahamowania rozwoju oocytu w stadium pęcherzyka zawiązkowego, degeneracji oocytu.

GDF-9 został także zidentyfikowany w genomie człowieka. *GDF-9* może odgrywać rolę w patogenezie zespołu policystycznych jajników i zespołu przedwczesnego wygasania czynności jajników [10].

Geny otoczki przezroczystej ZP (*ZP1*, *ZP2*, *ZP3*)

Badania eksperymentalne na zwierzętach transgenicznych pozbawionych pojedynczego genu (knock out) z rodziny genów *ZP* wykazały całe spektrum fenotypowych nieprawidłowości. Obejmowały one dysorganizację kompleksu wzgórek jajonośny-oocyt, obniżoną liczbę pęcherzyków przedowulacyjnych, zaburzenia w procesie owulacji, zaburzenie w rozwoju do stadium blastocysty, obniżoną płodność. Można stwierdzić, że dwie *ZP* proteiny są wystarczające do formowania macierzy otoczki. Jedną proteina musi być zawsze *ZP3* a drugą albo *ZP1* albo *ZP2*. Uważa się, że *Zp 1* pełni istotną rolę dla integralności osłonki przezroczystej i zapobiega przedwczesnemu wylęganiu się i obniżonemu wskaźnikowi zapłodnienia [11]. Homolog *Zp1* został również zidentyfikowany u człowieka jako *ZPB*. Identyfikacja w zakresie sekwencji aminokwasowej tej glikoproteiny u myszy i człowieka wynosi 42%. Myszy pozbawione genu *Zp2* są bezpłodne. Przyczyna tej bezpłodności tkwi w obniżonej ilości oocytów, które można znaleźć w jajowodach po owulacji oraz w zmniejszonej liczbie embrionów rozwijających się powyżej stadium 2 komórkowego [12]. Należy stwierdzić, że defekt strukturalny występujący u myszy pozbawionych genu *Zp2* jest poważniejszy niż w przypadku braku genu *Zp1*.

Mutanty pozbawione genu *ZP3* posiadają prawidłowy oocyt ale są całkowicie pozbawione macierzy otoczki przezroczystej i mają zdeorganizowaną *corona radiata* [13]. Myszy te przechodzą owulację ale są niepłodne. U człowieka gen dla *ZP3* jest zlokalizowany na chromosomie 7 i koduje proteinę złożoną z 424 aminokwasów.

Czynnik *a* w linii zarodkowej (*Fig a*)

Jego ekspresja jest obserwowana w komórkach zarodkowych (począwszy od dnia 13 jajnika embrionalnego) w oocytach zawiązkowych i wzrastających [14]. *Fig a* jest odpowiedzialny za koordynację ekspresji 3 genów otoczki przezroczystej (*Zp1*, *Zp2*, *Zp3*) [14]. Mutanty pozbawione tego genu nie wykazują ekspresji genów *Zp1*, *Zp2*, *Zp3*. Jajniki takich myszy są dużo mniejszych rozmiarów i zawierają głównie struktury podobne do sznurów płciowych. Myszy pozbawione genu *Fig a* są bezpłodne [14]. Homolog genu *Fig a* został zidentyfikowany u człowieka jako *FIGLA*.

Matczyzny gen wymagany przez embrion (*MATER*)

Gen *Mater* u myszy jest zlokalizowany na chromosomie 7 i zawiera 15 egzonów. Ekspresja tego genu jest ograniczona wyłącznie do oocytu [15]. Gen ten jest bardzo ważny dla rozwoju embrionalnego poza stadium 2 komórek. Myszy pozbawione genu *Mater* są bezpłodne. Embriony tych mutantów są zatrzymane na etapie 2-komórek. Zidentyfikowano również homolog genu *Mater* w genomie człowieka [15]. Jest on zbudowany z 15 egzonów i 14 intronów (63kbp) i zlokalizowany na chromosomie 19. Ekspresja tego genu jest również wyłącznie ograniczona do oocytu.

Gen zygotycznego zatrzymania (*Zar 1*)

Gen zygotycznego zatrzymania *Zar-1*; zygotic arrest 1 (*Zar-1*) [16] u myszy koduje białko zbudowane z 361 aminokwasów. Jego homolog u człowieka odpowiedzialny jest za powstawanie białka złożonego z 424 aminokwasów. Wykazano, że myszy pozbawione genu *Zar-1* są niepłodne. Rozwój jajnika i oogeneza aż do okresu zapłodnienia nie jest upośledzona. Charakterystyczne jest, że większość embrionów tych mutantów zatrzymuje się w rozwoju na etapie stadium 1 lub 2-komórek [16].

Histone H1 specyficzny dla oocytu (*H1oo*)

W ostatnim czasie zidentyfikowano specyficzny dla oocytu ssaków histon łącznikowy, znany również jako *H1oo* lub *H1fo* [17]. Ekspresja tego genu występuje podczas oogenezy i wczesnej embriogenezy. Wydaje się, że może odgrywać rolę przy regulacji procesów transkrypcji podczas przejścia oocytu w embrion. Homolog tego genu został również zidentyfikowany u człowieka jako *osH1*.

Problem płodności zarówno u kobiety jak i u mężczyzny jest uzależniony od skoordynowanej prawidłowej funkcji całego układu rozrodczego. Defekty anatomiczne, zaburzenia gametogenezy, endokrynopatie, problemy immunologiczne jak również czynniki środowiskowe warunkują niepłodność. Jest rzeczą znaną, że część przyczyn niepłodności jest związanych z określonymi zespołami genetycznymi, na przykład zespół

Turnera, cystis fibrosis. Należy jednak zauważyć, że około 20% przypadków niepłodności o obu płci ma tło idiopatyczne. Znaczy to, że przyczyna tego typu zaburzeń może być związana ze słabym poznaniem pewnych mechanizmów regulujących procesy płodności. W przedstawionym artykule zwrócono uwagę na rolę genetycznych uwarunkowań komórki jajowej w płodności niepłodności. Należą tu uwarunkowane genetycznie mechanizmy odpowiedzialne za folikulogenezę, owulację, zapłodnienie i wczesną embriogenezę.

Piśmiennictwo

- Gosden RG: Oocyte development throughout life. In: Gametes: The oocyte, Grudzinskas JG, Yovich JL (eds), Cambridge Reviews in Human Reproduction, Cambridge University Press, Cambridge 1995, 19–149
- Sardet C, Prodon F, Dumollard R, et al: Structure and function of the egg cortex from oogenesis through fertilization. *Dev Biol* 2002; 241: 1–23
- Eppig JJ: Oocyte control of ovarian follicular development and function in mammals. *Reproduction* 2001; 122: 829–838
- van Blerkom J: Morphodynamics of nuclear and cytoplasmic reorganization during the resumption of arrested meiosis in the mouse oocyte. *Prog Clin Biol Res* 1989; 294: 33–51
- Waterston RH et al.: Initial sequencing and comparative analysis of the mouse genome. *Nature*, 2002; 5; 420(6915): 520–562
- Sagata N: Introduction: meiotic maturation and arrest in animal oocytes. *Semin Cell Dev Biol* 1998; 9(5): 535–537
- Colledge WH, Carlton MB, Udy GB, Evans M.J.: Disruption of *c-mos* causes parthenogenetic development of unfertilized mouse eggs. *Nature* 1994; 7, 370: 65–68
- Watson R, Oskarsson M, Vande Woude GF: Human DNA sequence homologous to the transforming gene (*mos*) of Moloney murine sarcoma virus. *Proc Nat Acad Sci* 1982; 79: 4078–4082
- Dong J, Albertini DF, Nishimori K, et al: Growth differentiation factor-9 is required during early ovarian folliculogenesis. *Nature* 1996; 383: 531–535
- Teixeira Filho FL, Barakat EC, Lee TH, et al: Aberrant expression of growth differentiation factor-9 in oocytes of women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87: 1337–1344
- Epifano O, Liang LF, Dean J, Mouse *Zp1* encodes a zona pellucida protein homologous to egg envelope proteins in mammals and fish. *J Biol Chem* 1995; 270: 27254–27258
- Liang LF, Chamow SM, Dean J: Oocyte-specific expression of mouse *Zp-2*: developmental regulation of the zona pellucida genes. *Mol Cell Biol* 1990; 10: 1507–1515
- Lunsford RD, Jenkins NA, Kozak CA et al: Genomic mapping of murine *Zp-2* and *Zp-3*, two oocyte-specific loci encoding zona pellucida proteins. *Genomics* 1990; 6(1): 184–187
- Liang L, Soyak SM, Dean J: *FIGalpha*, a germ cell specific transcription factor involved in the coordinate expression of the zona pellucida genes. *Development* 1997; 124(24): 4939–4947
- Tong ZB, Nelson LM: A mouse gene encoding an oocyte antigen associated with autoimmune premature ovarian failure. *Endocrinology* 1999; 140(8): 3720–3726
- Wu X, Viveiros MM, Eppig JJ, et al: Zygote arrest 1 (*Zar 1*) is a novel maternal-effect gene critical for the oocyte-to-embryo transition. *Nat Genet* 2003; 33: 187–191
- Tanaka M, Hennebold JD, Macfarlane J, Adashi EY: A mammalian oocyte-specific linker histone gene *H1oo*: homology with the genes for the oocyte-specific cleavage stage histone (*cs-H1*) of sea urchin and the *B4/H1M* histone of the frog. *Development* 2001; 128(5): 655–664