

Neitsyiden lapset



Aseksuaalinen eli neitseellinen lisääntyminen on tavallista hyönteisten ja muiden alkeellisten lajien keskuudessa. Viime vuosina on kuitenkin geenitekniikan menetelmin osoitettu, että yllättävän moni selkärangainenkin laji kykenee lisääntymään myös neitseellisesti. Ihmisen neitseellinen lisääntyminen ei ole tähän mennessä onnistunut, mutta ihmisalkion kantasolulinjoja on tehty partenogeneettisesti. Suurin este ihmisen neitseelliselle lisääntymiselle on geneettinen leimautuminen.

Partenogeneesi eli neitseellinen lisääntyminen on naaraiden aseksuaalisen lisääntymisen muoto, jossa munasolun erilaistuminen käynnistyy ilman siittiön hedelmöittävää vaikutusta. Partenogeneesi on yleistä kasveilla ja hyönteisillä. Selkärankaisten keskuudessa se on poikkeuksellista, ja imettäväsillä se onnistuu ainoastaan kokeellisin menetelmin. Jotkut lajit lisääntyvät neitseellisesti lähes koko ajan, toiset jaksoittaisesti. Esimerkiksi lehtikirva lisääntyy kesällä partenogeneettisesti ja syksyllä seksuaalisesti. Selkäränkaisilla partenogeneesiä esiintyy erällä hailla, liskoilla, linnuilla ja kaloilla. Uusimpia tulokkaita partenogeneettisten lajien listalla on komodonvaraani, joka on maailman suurin lisko. Tähän mennessä 80:n selkärankaisiin kuuluvan lajin on osoitettu lisääntyvän myös partenogeneettisesti (Neaves ja Baumann 2011).

Partenogeneesin etu on tietysti se, että siihen ei tarvita urosta. Haitta on se, että siinä ei synny ominaisuuksien uusia yhdistelmiä kuten tekijäinvaihtoon johtavassa suvullisessa lisääntymisessä. Kaikki partenogeneettisesti syntyvät yksilöt ovat äitinsä kloonija, eikä geneettistä muuntelua tapahdu. Kaikenlaisesta sosiaalisesta ja psyykkisestä häiriöstä huolimatta seksuaalinen lisääntyminen on evoluutiossa voitokas ilmeisesti sen mukana syntyvän monimuotoisuuden takia (Hadany ja Comeron 2008).

Siittiöt käyvät läpi kromosomiston meiotin eli vähennysjakautumisen kiveksessä ennen siemensyöksyä, mutta munasolu puollittaa kromosomistonsa vasta hedelmöityksen jälkeen. Partenogeneettiset yksilöt eli partenootit ovat yleensä diploideja. Jotkut säilyttävät munasolun alkuperäisen diploidin kromosomiston (todelliset partenootit). Jotkut kahdentavat haploidin kromosomistonsa, ja

niistä tulee puolikloonija. Jotkut partenootit ovat valepartenootteja: raskaus käynnistyy siittiön avulla hedelmöityksessä, mutta siittiön genomi tuhoutuu ja jäljelle jää vain äidin kromosomisto.

Rypäleraskaudessa on ainoastaan miehen kromosomistoa

Rypäleraskaudessa eli mola hydatidosassa hedelmöittyneen munasolun äitiperäinen haploidi kromosomisto tuhoutuu ja jäljelle jää vain isäperäinen eli siittiön kromosomisto. Toinen, harvinaisempi syy rypäleraskauteen on, että munasolun hedelmöittää kaksi siittiötä. Kummassakaan tapauksessa sikiö ei kehity mutta istukka jatkaa kasvuaan ja muodostaa kookkaita rakkuloita (Loukovaara ja Lehtovirta 2001).

Geneettinen leimautuminen

Useimmissa geneeissä luenta kohdistuu sekä isältä että äidiltä perittyyn alleeliin. Kunkin geenin ilmentymistä säätelevät promootorin metylaatio ja muutamat muut kemialliset ryhmät. Pääsääntö on, että runsaat metyyliiryhmät estävät geenin toisen tai molempien alleelien ilmentymisen. Tällä hetkellä tunnetaan yli sata geeniä, joissa luenta kohdistuu vain joko äidiltä tai isältä perittyyn muotoon. Toisen alleelin luenta on pysyvästi estetty metylaatioisidoksin. Ilmiötä kutsutaan geneettiseksi leimautumiseksi, silloin kun hiljentäminen kohdistuu aina joko äidiltä tai isältä perittyyn alleeliin. Melko monissa geneeissä luenta kohdistuu vain jompaankumpaan alleeleista, mutta yleensä toisen alleelin inaktivaatio on satunnaista. Tällöin kyse ei ole geneettisestä leimautumisesta, koska alleelin inaktivaatio ei määräydy sen mukaan, kummalta vanhemmalta se on peritty (Taipale 2006).

Leimautumisen biologinen selitysmalli tunnetaan David Haigin sukupuolten ristiriita-teorian. Sen mukaan isältä perityt geenit

KUVA. Partenogeneettisesti lisääntyneitä liskoja. (Kuva Alistair J. Cullum)

pyrkivät edistämään ravinnon kaappaamista äidiltä. Tyypillisiä paternaalisesti ilmentyviä geenejä löytyykin istukasta. Maternaalisesti perittyjen geenien tehtävä on estää sikiön kasvua. Ne pyrkivät vähentämään raskaudesta äidin hyvinvoinnille muodostuvaa taakkaa (Barton ym. 1984, Sturm ym. 1994). Virheet geneettisessä leimautumisessa ovat syynä useisiin harvinaisiin sairauksiin, kuten Beckwith-Wiedemannin, Angelmanin ja Prader-Willin oireyhtymiin (Hall 1990). Luettelo geneettisesti leimautuneista geeneistä löytyy osoitteesta <http://igc.otago.ac.nz/home.html>.

Transkriptiotekijä *Grb10* on leimautuneiden geenien tyylipuhtain edustaja. Isältä peritty geeni ilmentyy ainoastaan keskushermostossa ja äidiltä peritty kaikkialla muualla sikiössä. Jos isän *Grb10*-geeni hiljennetään hiiressä, seurauksena on vallitseva, ”pomottava” käyttäytyminen. Äidin geenin hiljentäminen johtaa sikiön liikakasvuun (Garfield ym. 2011). Jotkut muutkin isältä perityt geenit näyttäisivät vaikuttavan yksilön yhteisölliseen toimintaan. Niiden on esitetty lisäävään yksilön altruistista käyttäytymistä.

Tapausselostus

Ihmisen partenogeneettisestä lisääntymisestä ei ole näyttöä. On kuitenkin perinnetietoa ja riittävä määrä kokeellisia tutkimuksia, jotta voidaan hahmottaa, miten se ehkä voisi tapahtua. Kuvitellaan noin 21-vuotias, parhaassa hedelmällisessä iässä oleva nainen. Hänen kuukautiskiertonsa on säännöllinen ja hän elää vakituisessa parisuhteessa, mutta raskautta ei ole todettu yhdynnöistä huolimatta. Hedelmöityshoitoja ei ole vielä aloitettu, koska lapsettomuus on kestänyt alle vuoden.

Munasolun erilaistuminen käynnistyy useilla lajeilla kemiallisesti, ärsyttämällä munasolua mekaanisesti neulalla tai lämpö- tai sähköshokilla. Ihmisestä ja monesta muusta selkärangaisesta lajista on tehty alkion kantasolulinjoja partenogeneettisesti (Nakagawa ym. 2001, Mai ym. 2007). Jos tapauksemme nainen yöpyisi rakennuksessa, jota ei ole suojattu ukkosenjohdattimella, salamanisku voisi käynnistää munasolun erilaistumisen. Salaman seurauk-

sena erilaistuva alkio ei todennäköisesti kehittyisi kuin sikiönkehityksen alkuvaiheeseen ja kuolisi istukan vajaatoimintaan, koska isän geenejä tarvitaan istukan rakentumiseen. Jos salamanisku ajaisi siittiön tavoin munasolun meioosiin, ihmisen partenootti olisi haploidi ja kuolisi todennäköisesti jo alkion rakkulavaiheessa. Yksikään monosomia ei ole elinkelpoinen paitsi Turnerin oireyhtymässä.

Partenogeneesi voisi onnistua, jos erilaistuminen käynnistyisi diploidissa munasolussa tai apuna olisi toinen alkio. Munasolu säilyy diploidisena, jos toinen meioosi estetään tai munasolun toiseen polaariseen kappaleeseen pakatun kromosomipuoliskon ei anneta tuhoutua. Kolkisiini estää tumasukkuluan muodostumisen. Se saattaisi estää meioosissa syntyvän haploidin kromosomiston puolikkaan tuhoutumisen polaarisisä kappaleessa.

Kolkisiini on erittäin myrkyllistä. Sen TD_{Lo} -arvo on lapsilla 2,4 mg/kg, naisilla 3 mg/kg ja miehillä 11 mg/kg. Kolkisiini eristetään syysmyrkkyliljasta. Suomessa se on koristekasvi, mutta Keski-Euroopassa ja etelämpänä sitä kasvaa kosteilla niityillä. Jos nainen on ukkosen aikana sattunut nukkumaan tilassa, jossa on säilytetty eläinten rehuksi kuivattuja, kosteilta niityiltä kerättyjä kasveja, joukkoon eksynyt syysmyrkkylilja on saattanut aiheuttaa lievän myrkytyksen. Sen oireena on pahoinvointi, minkä pakottamana nainen on mennyt pihalle oksentamaan. Juuri sillä hetkellä iskenyt salama voisi käynnistää alkion kehityksen. Kolkisiini suojaisi polaarisien kappaleen kromosomiston ja alkio säilyisi diploidina.

Kolkisiinin hyödyistä partenogeneesissä ei ole pitävää näyttöä. Sen sijaan sian ja monen muun selkärangaisen neitseellinen lisääntyminen onnistuu toisen solunjakautumista estävän aineen, sytokalasiini B:n, avulla (Balakier ja Tarkowski 1976, Bischoff ym. 2010). Tätä ainetta käyttämällä on tehty sian partenootisia sikiöitä, joissa on pelkästään äidin genomia. Sikiöt elävät parhaimmillaan 33-päiväisiksi ja kuolevat istukan vajaatoimintaan. Partenoottisen ihmisenkin keskenmenon riski olisi suuri, mutta on julkaistu selostus naisen mosaikismista, jossa esiintyi partenogeneet-

tistä solukkoa ja normaalia hedelmöityksessä syntyntä solukkoa (Strain ym. 1995). On myös osoitettu, että munasarjojen teratoomat ovat neitseellistä alkuperää (Linder ym. 1975).

Tetraploidi komplementaatio on ratkaisu

Hiiren geenitutkimusten avulla on kehitetty menetelmä, jolla poistogeeninen, raskausaikana menehtyvä hiiri saa toimivan istukan. Muutamassa vuodessa hiiren viimeistenkin geenien tehtävät on tutkittu geenimuuntelun menetelmin. Niistä tavallisin on homologiiseen rekombinaatioon perustuva poistogeenitekniikka, jolla halutun geenin toiminta lopetetaan. Useat poistogeeniset hiiret kuolevat jo sikiöaikana istukan kehityshäiriön takia, eikä geenin vaikutuksia aikuisessa päästä tutkimaan. Ongelman ratkaisu on tetraploidi komplementaatio. Laboratoriossa kaksisoluisen alkion solut saadaan sulautumaan toisiinsa ja niistä tulee kromosomistoltaan tetraploideja (4n). Tetraploidit alkion kantasolut kykenevät erilaistumaan vain istukaksi. Tetraploidissa komplementaatioissa sotketaan poistogeenisen ja tetraploidin alkion solukot. Näin muodostuva kimeerinen alkio tekee poistogeenisestä solukosta sikiön ja tetraploidista solukosta istukan. Solukkojen valikoituminen sikiöksi ja istukaksi tapahtuu täysin automaattisesti, koska tetraploidi solukko pystyy tekemään ainoastaan istukkaa (Nagy ym. 1990, 1993, Eggen ym. 2001).

Se toinen alkio?

Entä jos salamaniskua edeltävässä ovulaatiossa on irronnut kaksi munasolua? Partneri on hedelmöittänyt toisen näistä, mutta alkion äitiperäinen kromosomisto on tuhoutunut. Jäljelle jäänyt isältä peritty kromosomisto ei kykene tekemään muuta kuin istukkaa. Kyse on tavallisesta rypäleraskaudesta. Sen yhteydessä voi joskus kasvaa normaali sikiö, joka syntyy normaalisti. Tällainen tapaus on julkaistu nauhasta (Mainecke ym. 2003). Salamaniskun seurauksena käynnistynyt partenogeneettinen

alkio ja rypäleraskausalkio voisivat fuusioitua. Tästä eteenpäin raskaus etenisi todennäköisesti normaaliin synnytykseen.

Miten tyttöalkiosta tulee mies?

Kaikki partenogeneettisesti syntyneet yksilöt ovat geneettisesti naaraita. Kaikista heistä ei kuitenkaan tule tyttöjä. Käänteissukupuoli tarkoittaa sitä, että on ristiriita henkilön geneettisen sukupuolen ja ulkoisten tai sisäisten sukuelinten välillä; kromosomistoltaan nainen onkin ilmiänsultaan mies. Mutaatio *Wnt4*-geenissä johtaa kahdella X-kromosomilla varustetun sikiön hyperandrogenismiin ja ovotestiksen tai kivesten kehittymiseen (Biaison-Lauber ym. 2004). Toinen syy naarasalkion maskulinisaatioon on androgeeneille altistuminen sikiöaikana. Esimerkiksi karjan kasvatuksessa ja paperiteollisuudessa käytetty ympäristöandrogeeni trenboloni aiheuttaa naarasrottien sikiöiden maskulinisaation (Hotchkiss ym. 2007).

Uudet partenogeneesin menetelmät

Kokeellisen partenogeneesin menetelmiä ovat somaattisen solun kloonaminen Dolly-menetelmällä ja indusoitu pluripotenssi (Aalto-Setälä ym. 2008). Jotkut eivät pidä niitä aitona partenogeneesinä, koska ne vaativat aina kokeellisia laboratoriotemppeja. Dolly-menetelmässä aikuisen solu tai sen tuma ruiskutetaan tumattomaksi tehtyyn munasoluun. Indusoidussa pluripotenssissa erilaistuminen käynnistetään ilmentämällä virusten avulla solussa neljää alkion erilaistumisessa keskeistä geeniä (Takahashi ja Yamanaka, 2006). Kumpikin menetelmä on teholtaan heikko. Roslin-instituutti onnistui kloonamaan Dolly-lampaan vasta 277 yrityksen jälkeen ja lymfosyytin kloonamiseen tarvittiin 10 000 yritystä. Lisääntymislääketeeteseen näistä menetelmistä ei ole.

Syynä kloonamisen ja indusoidun pluripotenssin huonoon tehoon ovat ainakin osittain geenien metylaation virheet. Aikuisen solussa suuri osa genomista on metyloitunut. Kloonaatessa kaikki metylaatiomerkit pitää

ensiksi poistaa ja sen jälkeen rakentaa uudelleen muutaman tunnin kuluessa. Ei ihme, että useimmiten tapahtuu virheitä. Joulunumeron teemaan sopien on ihme, että se edes joskus onnistuu. Tyypillisiä epämuodostumia kloonatuissa eläimissä ovat liikakasvu (viittaa maternaalisten leimautuneiden geenien liialliseen metylaatioon), yliaikaisuus, keuhkojen epäkypsyys ja munuaisten epämuodostumat. Ei ole mitään syytä olettaa, että kloonatuilla ihmisillä näitä ongelmia olisi muita vähemmän.

Indusoituun pluripotenssiin liittyy lisäksi mutaatio-ongelma. Timo Otonkosken tutkimusryhmä osoitti vastikään Nature-lehden artikkelissaan, että indusoitu pluripotenssi aiheuttaa genomissa tuhansia mutaatioita (Hussein ym. 2011). Tällä menetelmällä tehdyillä kantasoluilla saattaa olla poikkeuksellisen suuri epämuodostuma- ja syöpäriski.

Kahdeksankymmentä selkärankaislajia pystyy lisääntymään partenogeneettisesti, ja ihmisalkion kantasolulinjoja on tehty tällä menetelmällä. Kaikki, mitä tässä tapausselostuksessa on sepitetty, voikin olla totta. Ihmeessä kyse on epätodennäköisten sattumien ketjusta, jota ei pystytä ennustamaan tieteellisesti. Lisääntymislääketieteen valtavan tietomäärän valossa munasolun aktivaatioissa, hedelmöityksessä ja sukupuolen määräytymisessä juuri mikään ei ole enää ihmeellistä, ei edes syntyminen neitsyestä. Muuten – ehkä joulutarina Neitsyt Marian synnytyksestä on kautta aikojen ymmärretty väärin ja kyse onkin siitä, että Maria oli tähtimerkiltään neitsyt. ■

HANNU SARIOLA, kehitysbiologian professori
 Biolääketieteen laitos ja HUSLAB, lastenpatologia
 Helsingin yliopisto
 ja HYKS

KIRJALLISUUTTA

- Aalto-Setälä K, Silvennoinen O, Otonkoski T. Ihmisen erilaistuneiden solujen uudelleen ohjelmointi kantasoluiksi. *Duodecim* 2008;124:215–6.
- Balakier H, Tarkowski AK. Diploid parthenogenetic mouse embryos produced by heat-shock and cytochalasin B. *J Embryol Exp Morphol* 1976;35:25–39.
- Barton SC, Surani MA, Norris ML. Role of paternal and maternal genomes in mouse development. *Nature* 1984;311:374–6.
- Biason-Laubert A, de Filippo G, Konrad D, Scarano G, Nazzano A, Schoenle EJ. Wnt4-deficiency – a clinical phenotype distinct from the classic Mayer-Rokitansky-Kuster-Hauser syndrome: a case report. *Human Reprod* 2007;22:224–9.
- Eggan K, Akutsu H, Loring J, ym. Hybrid vigor, fetal overgrowth, and viability of mice derived by nuclear cloning and tetraploid embryo complementation. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001;98:6209–14.
- de Fried EP, Ross P, Zang G, Divita A, Cunniff K, Denaday F, et al. Human parthenogenetic blastocysts derived from noninseminated cryopreserved human oocytes. *Fertil Steril* 2008;89:943–7.
- Garfield AS, Cowley M, Smith FM, ym. Distinct physiological and behavioural

functions for parental alleles of imprinted Grb10. *Nature* 2011;469:534–8.

- Hadany L, Comeron JM. Why are sex and recombination so common? *Ann N Y Acad Sci* 2008;1133:26–43.
- Hall JG. Genomic imprinting: review and relevance to human diseases. *Am J Hum Genet* 1990;46:857–73.
- Hotchkiss AK, Furr J, Makynen EA, Ankley GT, Gray LE Jr. In utero exposure to the environmental androgen trenbolone masculinizes female Sprague-Dawley rats. *Toxicol Letters* 2007;174:31–41.
- Hussein SM, Batada NN, Vuoristo S, ym. Copy number variation and selection during reprogramming to pluripotency. *Nature* 2011;471:58–62.
- Linder D, McCaw BK, Hecht F. Parthenogenic origin of benign ovarian teratomas. *N Engl J Med* 1975;292:63–6.
- Loukovaara M, Lehtovirta P. Trofoblastitaudit – ryhmä harvinaisia sairauksia. *Duodecim* 2001;117:2539–46.
- Mai Q, Yu Y, Li T, ym. Derivation of human embryonic stem cell lines from parthenogenetic blastocysts. *Cell Res* 2007;17:1008–19.
- Meinecke B, Kuiper H, Drögemüller C, Leeb T, Meinecke-Tillmann S. A mola hydatidosa coexistent with a foetus in a bovine freemartin pregnancy. *Placenta* 2003;24:107–12.

- Nagy A, Gocza E, Diaz EM, ym. Embryonic stem cells alone are able to support fetal development in the mouse. *Development* 1990;110:815–21.
- Nagy A, Rossant J, Nagy R, Abramow-Newerly W, Roder JC. Derivation of completely cell culture-derived mice from early-passage embryonic stem cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993;90:9424–8.
- Nakagawa K, Yamano S, Nakasaka H, Hinokio K, Yoshizawa M, Aono T. A combination of calcium ionophore and puromycin effectively produces human parthenogenones with one haploid pronucleus. *Zygote* 2001;9:83–8.
- Neaves WB, Baumann P. Unisexual reproduction among vertebrates. *Trends Genet* 2011;27:81–8.
- Strain L, Warner JP, Johnston T, Bonthron DT. A human parthenogenetic chimaera. *Nat Genet* 1995;11:164–9.
- Sturm KS, Flannery ML, Pedersen RA. Abnormal development of embryonic and extraembryonic cell lineages in parthenogenetic mouse embryos. *Dev Dyn* 1994;201:11–28.
- Taipale M. Epigenetiikka, geeninsäätely ja syöpä. *Duodecim* 2006;122:2611–8.
- Takahashi K, Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell* 2006;126:663–76.