



# ΑΝΗΡ

ΕΠΙΣΗΜΗ ΕΚΔΟΣΗ  
ΤΗΣ ΕΛΛΗΝΙΚΗΣ  
ΑΝΔΡΟΛΟΓΙΚΗΣ ΕΤΑΙΡΕΙΑΣ

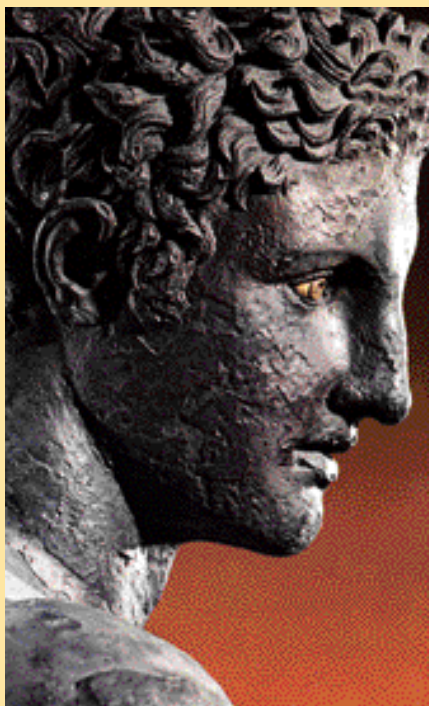
OFFICIAL JOURNAL  
OF THE HELLENIC SOCIETY OF  
ANDROLOGY

ΤΟΜΟΣ 8ος • ΤΕΥΧΟΣ 2ο • ΑΠΡΙΛΙΟΣ-ΜΑΪΟΣ -ΙΟΥΝΙΟΣ 2006

ΤΡΙΜΗΝΙΑΙΑ ΕΚΔΟΣΗ ΕΛΛΗΝΙΚΗΣ ΑΝΔΡΟΛΟΓΙΚΗΣ ΕΤΑΙΡΕΙΑΣ

## ειδικό αφιέρωμα

- ΔΙΑΦΟΡΟΠΟΙΗΣΗ  
ΑΡΡΕΝΟΣ (1<sup>ο</sup> Μέρος)



MEDLINE, ΓΡΑΜΜΟΥ 20, 152 35 ΒΡΗΛΗΣΣΙΑ

**ΙΔΙΟΚΤΗΣΙΑ ΚΑΙ ΣΥΝΤΑΞΗ - ΕΚΔΟΤΗΣ:**

ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΑΝΔΡΟΛΟΓΙΚΗ ΕΤΑΙΡΕΙΑ

Ενδοκρινολογικό Τμήμα Νοσοκομείου "ΕΛΕΝΑ ΒΕΝΙΖΕΛΟΥ"

Πλατεία Ε. Βενιζέλου 2 - Αθήνα 115 21

Τηλ. 210 64 11156 - 210 6402179 - Fax : 210 6411156

**Copyright** - Ελληνική Ανδρολογική Εταιρεία**Συντετμημένος Τίτλος :** Ανήρ**ISSN** 1108-3522**ΕΚΔΟΤΗΣ:** Δ.Α.Αδαμόπουλος

Τριμηνιαία έκδοση.

Εκδίδεται σε 2000 αντίτυπα.

Επιμέλεια εκτύπωσης, σελιδοποίηση: MEDLINE

"ANIR" is published quarterly as the official Journal of the Hellenic Society of Andrology

**Copyright :** Hellenic Society of Andrology**Short title:** ANIR**ISSN** 1108-3522**Correspondance:** D.A. Adamopoulos, MD, Endocrine Department

"Elena Venizelou" Hospital, 2, E. Venizelou Square, 115 21 Athens, Greece

Tel : 210 6411156, 210 6402179, Fax : 210 6411156

E-mail:hel-soc-andro@ath.forthnet.gr

Το περιοδικό "ΑΝΗΡ" είναι τριμηνιαία έκδοση της Ελληνικής Ανδρολογικής Εταιρείας. Σκοπό έχει την ενημέρωση των ιατρών πάνω σε θέματα που αφορούν την Ανδρολογία. Τα άρθρα που δημοσιεύονται αφορούν τον ευρύ τομέα του ενδιαφέροντός της, από τη μοριακή και γενετική πλευρά ως το νεοαναδυόμενο πεδίο των προβλημάτων στον γηράσκοντα άνδρα. Στα περιεχόμενα θα περιλαμβάνονται ανασκοπήσεις, άρθρα σύνταξης, ερευνητικές εργασίες, ενδιαφέροντα περιστατικά αλλά και παρουσιάσεις δραστηριοτήτων της Εταιρείας με κείμενα συμποσίων, στρογγύλων τραπεζών, διαλέξεων, που θα διοργανώνει η Εταιρεία. Τέλος, (μέσω του περιοδικού) θα προβάλλονται αξιόλογες εργασίες δημοσιευμένες σε διεθνή περιοδικά ενώ θα γίνεται και ενημέρωση για γεγονότα και εκδηλώσεις που αφορούν την Ανδρολογία στον Ελληνικό και διεθνή χώρο.

**ΑΝΗΡ**ΕΠΙΣΗΜΗ ΕΚΔΟΣΗ  
ΤΗΣ ΕΛΛΗΝΙΚΗΣ  
ΑΝΔΡΟΛΟΓΙΚΗΣ ΕΤΑΙΡΕΙΑΣ**ΑΝΙΡ**OFFICIAL JOURNAL  
OF THE  
HELLENIC SOCIETY OF ANDROLOGY**ΚΩΔΙΚΟΣ:** 4310**COPYRIGHT**

Τα δημοσιευμένα άρθρα είναι ιδιοκτησία του περιοδικού "ΑΝΗΡ" και απαγορεύεται μερική ή ολική αναδημοσίευσή τους χωρίς την έγγραφη συγκατάθεση του Διευθυντού Σύνταξης. Για την αναπαραγωγή εικόνων, σχεδίων και πινάκων απαιτείται επίσης σχετική έγκριση και αναφορά της πηγής.

**ΓΡΑΜΜΑΤΕΙΑ**

Ε. Βενάκη,

Ενδοκρινολογικό Τμήμα Νοσοκομείου "ΕΛΕΝΑ ΒΕΝΙΖΕΛΟΥ"

**ΔΙΑΦΗΜΙΣΕΙΣ**

Για καταχώρηση διαφημίσεων οι ενδιαφερόμενοι παρακαλούνται να επικοινωνούν με την Εταιρία **MEDLINE**, ΤΗΛ.: 210 6828708, 210 6828278, FAX: 210 6828771, e-mail: medline@otenet.gr (Υπεύθυνη: Χριστίνα Τσαρούχα).

**ΔΙΟΙΚΗΤΙΚΟ ΣΥΜΒΟΥΛΙΟ  
ΕΛΛΗΝΙΚΗΣ ΑΝΔΡΟΛΟΓΙΚΗΣ ΕΤΑΙΡΕΙΑΣ**

**ΠΡΟΕΔΡΟΣ:** Ν. Σοφικίτης, Ουρολόγος  
**ΑΝΤΙΠΡΟΕΔΡΟΣ:** Χ. Ασβέστης, Ουρολόγος  
**ΓΕΝΙΚΟΣ ΓΡΑΜΜΑΤΕΑΣ:** Ευτυχία Κούκκου, Ενδοκρινολόγος  
**ΕΙΔΙΚΟΣ ΓΡΑΜΜΑΤΕΑΣ:** Δ. Μπαλτογιάννης, Ουρολόγος  
**ΤΑΜΙΑΣ:** Ε. Βενάκη, Ενδοκρινολόγος  
**ΜΕΛΗ:** Θ. Ζεγκινιάδου, Βιολόγος  
 Σ.Χ. Νικοπούλου, Ενδοκρινολόγος  
**ΑΝΑΠΛΗΡΩΜΑΤΙΚΑ ΜΕΛΗ:** Κ. Μαυρομαμάτης, Μαιευτήρας-Γυναικολόγος  
 Σ. Τουρνής, Ενδοκρινολόγος

**ΣΥΝΤΑΚΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ**

**ΔΙΕΥΘΥΝΤΗΣ ΣΥΝΤΑΞΗΣ:**  
 Δ.Α. Αδαμόπουλος, Ενδοκρινολόγος

**ΑΝΑΠΛΗΡΩΤΕΣ:**  
 Δ. Πανίδης, Ενδοκρινολόγος  
 Ν. Σοφικίτης, Ουρολόγος

**ΥΠΕΥΘΥΝΟΙ ΥΛΗΣ:**  
 Ε. Βενάκη, Ενδοκρινολόγος  
 Ε. Κούκκου, Ενδοκρινολόγος  
 Ε. Σπυρόπουλος, Ουρολόγος

**ΕΝΔΙΑΦΕΡΟΥΣΕΣ ΠΕΡΙΠΤΩΣΕΙΣ -ΣΧΟΛΙΑ:**  
 Σ.Χ. Νικοπούλου, Ε. Ανδρέου,  
 Δ. Γουλής, Α. Γκέκας

**ΔΙΟΡΘΩΣΕΙΣ:**  
 Α. Δεσύπρης, Κλινικός Βιοχημικός

Αλεβιζάκη Μαρία Ενδοκρινολόγος  
 Αναπλιώτου Μαργαρίτα Ενδοκρινολόγος  
 Αρβανίτη Ήβη Παθολογοανατόμος  
 Βαϊδάκης Νικόλαος Ψυχίατρος  
 Γεωργόπουλος Νεοκλής Ενδοκρινολόγος  
 Γκέκας Αριστομένης Ουρολόγος  
 Διαμάντη-Κανδαράκη Ε. Ενδοκρινολόγος  
 Ζεγκινιάδου Θεοδοσία Βιολόγος  
 Θεοδωρίδης Χαράλαμπος Ενδοκρινολόγος  
 Καλλιπολίτης Γεώργιος Μαιευτήρας/Γυναικολόγος  
 Λυμπερόπουλος Γεώργιος Βιολόγος/Βιοχημικός  
 Μαυρομαμάτης Κωνσταντίνος Μαιευτήρας/Γυναικολόγος  
 Μηλίγκος Σπύρος Μαιευτήρας/Γυναικολόγος  
 Μητρόπουλος Διονύσιος Ουρολόγος  
 Μιχαλάκης Γεώργιος Ουρολόγος  
 Μπαλτογιάννης Δημήτριος Ουρολόγος  
 Μπαρμπαλιάς Γεώργιος Ουρολόγος  
 Μπουρούνης Μιχαήλ Ουρολόγος  
 Παπαδήμας Ιωάννης Ενδοκρινολόγος  
 Σπυρόπουλος Ευάγγελος Ουρολόγος  
 Τουρνής Συμεών Ενδοκρινολόγος

## ΟΔΗΓΙΕΣ ΠΡΟΣ ΣΥΓΓΡΑΦΕΙΣ

Το περιοδικό ANHP, έκδοση της Ελληνικής Ανδολογικής Εταιρείας έχει στόχο τη συνεχή επιμόρφωση των ασχολούμενων στο χώρο της Ανδρολογίας και την προαγωγή του γνωστικού αντικείμενου της στον ελληνικό χώρο. Για την πραγμάτωση αυτού του σκοπού δημοσιεύονται στο περιοδικό:

**1. Άρθρα Σύνταξης.** Σύντομες ανασκοπήσεις σε επίκαιρα και αμφιλεγόμενα θέματα, που γράφονται με προτροπή της συντακτικής επιτροπής. Όταν εκφράζουν συλλογικά τη Σύνταξη του περιοδικού, είναι ανυπόγραφα. Στις άλλες περιπτώσεις είναι ενυπόγραφα.

**2. Γενικά θέματα.** Σχετιζόμενα με την Ανδρολογία

**3. Ανασκοπήσεις.** Ολοκληρωμένες αναλύσεις ιατρικών θεμάτων, στις οποίες υπογραμμίζονται οι σύγχρονες απόψεις. Γίνονται δεκτές ανασκοπήσεις μέχρι δύο συγγραφέων.

**4. Ερευνητικές εργασίες.** Κλινικές δοκιμές ή μη πειραματικές έρευνες προοπτικού ή αναδρομικού χαρακτήρα, που πραγματοποιήθηκαν με βάση ερευνητικό πρωτόκολλο, το οποίο να περιγράφεται αναλυτικά στη μεθοδολογία. Περιέχουν πρωτοδημοσιευμένα αποτελέσματα.

**5. Ενδιαφέρουσες περιπτώσεις.** Γίνονται δεκτά άρθρα εφόσον αφορούν νέα και πολύ σπάνια νοσήματα ή νοσήματα εμφανίζοντα ιδιαιτερότητες ως προς την κλινική τους εκδήλωση ή την διερευνητική τους προσπέλαση ή έχει ακολουθηθεί νέα θεραπευτική μεθόδευση με ελεγχόμενο το αποτέλεσμα. Επίσης στα άρθρα αυτά μπορούν να παρουσιασθούν πρωτότυπες περιπτώσεις προς συζήτηση με τους αναγνώστες του περιοδικού.

**6. Επίκαιρα θέματα.** Σύντομη περιγραφή των τελευταίων απόψεων σε συγκεκριμένα θέματα.

**7. Πρακτικά από σεμινάρια και στρόγγυλά τραπέζια ή κείμενα από διαλέξεις.**

**8. Περίληψη άρθρων της διεθνούς βιβλιογραφίας συνοδευόμενη από σύντομο σχόλιο.** Δημοσιεύονται ενυπόγραφα.

**9. Γράμματα προς τη Σύνταξη.** Περιέχουν κρίσεις για δημοσιευμένα άρθρα, πρόδρομα αποτελέσματα εργασιών, παρατηρήσεις για ανεπιθύμητες ενέργειες, κρίσεις για το περιοδικό κ.λπ. Δημοσιεύονται ενυπογράφως.

**Προηγούμενη ταυτόχρονη δημοσίευση.** Τα άρθρα που υποβάλλονται στο περιοδικό ANHP δεν μπορεί να έχουν υποβληθεί ταυτόχρονα για δημοσίευση σε άλλα Ελληνικά περιοδικά. Το γεγονός πρέπει να βεβαιώνεται από επιστολή - δήλωση του πρώτου συγγραφέα προς τον Διευθυντή Σύνταξης. Όμως επιτρέπεται η υποβολή εργασιών μέρος των οποίων έχει δημοσιευθεί ή παρουσιασθεί με μορφή περίληψης σε Ελληνικό ή Διεθνές Συνέδριο.

Όλα τα χειρόγραφα συνοδεύονται από επιστολή που υπογράφεται από τον υπεύθυνο για την αλληλογραφία συγγραφέα. Η συνοδευτική επιστολή πρέπει να περιλαμβάνει δήλωση ότι τα χειρόγραφα έχουν εγκριθεί και από όλους τους υπόλοιπους συγγραφείς οι οποίοι και συνυπογράφουν την επιστολή.

**Προετοιμασία του χειρόγραφου.** Η γλωσσική ομοιομορφία των άρθρων είναι απαραίτητη. Τα άρθρα που υποβάλλονται για δημοσίευση πρέπει να είναι γραμμένα στη δημοτική και με το μονοτονικό σύστημα.

Το περιοδικό ANHP έχει αποδεχθεί το σύστημα Vancouver και εφαρμόζει το ελληνικό πρότυπο γραφής βιοιατρικών κειμένων.

Τα άρθρα πρέπει να είναι δακτυλογραφημένα με διπλό διάστημα σε λευκό χαρτί, από τη μια πλευρά των σελίδων, με περιθώρια τουλάχιστον 2,5 cm. Τα εξής κεφάλαια αρχίζουν σε ιδιαίτερη σελίδα: η σελίδα με τον τίτλο, η περίληψη και οι λέξεις ευρετηρίου, το κείμενο, οι ευχα-

ριστίες, η αγγλική περίληψη, οι βιβλιογραφικές παραπομπές, οι πίνακες, οι εικόνες και οι υπότιτλοι των εικόνων. Όλες οι σελίδες αριθμούνται, αρχίζοντας από τη σελίδα τίτλου.

**Σελίδα τίτλου.** Περιλαμβάνει (α) τον τίτλο του άρθρου, ο οποίος πρέπει να είναι σύντομος (μέχρι 12 λέξεις), (β) το όνομα και τον τίτλο του συγγραφέα (-ων), (γ) το ίδρυμα ή το εργαστήριο, από το οποίο προέρχεται η εργασία και η προέλευση του συγγραφέα, (δ) το όνομα, τη διεύθυνση και το τηλέφωνο του συγγραφέα για αλληλογραφία και ανάτυπα, (ε) πηγές που ενδεχομένως ενίσχυσαν και βοήθησαν στην πραγματοποίηση της εργασίας, (στ) αν υπάρχουν διαφωνούντες με την εργασία.

**Περίληψη και λέξεις ευρετηρίου.** Η περίληψη δεν πρέπει να υπερβαίνει τις 300 λέξεις, ενώ για τα επίκαιρα θέματα και τις περιγραφές περιπτώσεων ασθενών τις 200 λέξεις. Για τις ανασκοπήσεις πρέπει να εφαρμόζονται οι περιγραφικές περιλήψεις (descriptive), που αναφέρουν συνοπτικά όλα τα κεφάλαια που περιέχει το άρθρο και σημαντικά συμπεράσματα. Οι περιλήψεις των ερευνητικών εργασιών πρέπει να χωρίζονται σε τέσσερις παραγράφους, οι οποίες φέρουν κατά σειρά την ακόλουθη επικεφαλίδα. Σκοπός, Υλικό Μέθοδος, Αποτελέσματα, Συμπεράσματα. Μετά την περίληψη παρατίθενται 3 - 10 λέξεις κλειδιά. Οι λέξεις αυτές πρέπει να αντιστοιχούν στους διεθνείς όρους που χρησιμοποιεί το Index Medicus.

**Κείμενο.** Οι ερευνητικές εργασίες αποτελούνται συνήθως από την Εισαγωγή, Υλικό και μέθοδοι, Αποτελέσματα και Συζήτηση. Η εισαγωγή περιλαμβάνει τις απαραίτητες βιβλιογραφικές παραπομπές και αναφέρει το λόγο για τον οποίο πραγματοποιήθηκε η εργασία.

Στη μεθοδολογία περιγράφεται το πρωτόκολλο, με βάση το οποίο εξελίχθηκε η έρευνα. Αναφέρονται λεπτομερώς ο τρόπος επιλογής ασθενών ή οποιουδήποτε υλικού, καθώς και η μέθοδος που εφαρμόστηκε, ώστε η ίδια έρευνα να μπορεί να αναπαραχθεί από μελλοντικούς ερευνητές. Στην περίπτωση ερευνών που αφορούν ανθρώπους, πρέπει να τονίζεται ότι η έρευνα πραγματοποιήθηκε με βάση την Υπουργική απόφαση Αριθ. Α6/10983/1 {ΦΕΚ 886/Β 20-12-84} για τη "Διεξαγωγή Κλινικών Δοκιμών φαρμάκων και την προστασία του ανθρώπου" και η οποία παραπέμπει στη Διακήρυξη του Ελσίνκι (1975). Οι φαρμακευτικές ουσίες που χρησιμοποιήθηκαν στη μελέτη πρέπει να αναφέρονται με την κοινόχρηστη ονομασία τους. Περιγράφεται το υλικό που αξιολογήθηκε κατά τη διάρκεια της μελέτης και το κεφάλαιο ολοκληρώνεται με τα στατιστικά κριτήρια που χρησιμοποιήθηκαν.

Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται ολοκληρωμένα και σύντομα. Όσα αναφέρονται σε πίνακες, δεν επαναλαμβάνονται στο κείμενο.

Στη συζήτηση περιγράφονται οι προοπτικές που διανοίγονται με τα αποτελέσματα της μελέτης, καθώς και τα τελικά συμπεράσματα. Δεν επαναλαμβάνονται όσα έχουν αναφερθεί στα αποτελέσματα. Επίσης, μπορεί να γίνει σύγκριση με τα αποτελέσματα άλλων ομοειδών εργασιών. Συνδέονται τα αποτελέσματα με τους στόχους της μελέτης, αποφεύγονται όμως αυθαίρετα συμπεράσματα, που δεν προκύπτουν από τα αποτελέσματα της εργασίας.

**Ευχαριστίες.** Απευθύνονται μόνο προς τα άτομα, που έχουν βοηθήσει ουσιαστικά.

Στα υπόλοιπα είδη άρθρων, το κείμενο διαμορφώνεται ανάλογα με τις απαιτήσεις και τους στόχους του συγγραφέα. Στις ενδιαφέρουσες περιπτώσεις ασθενών προηγείται η εισαγωγή και ακολουθούν η περιγραφή της περιπτώσεως και η συζήτηση.

**Βιβλιογραφικές παραπομπές.** Αριθμούνται στο κείμενο με αύξοντα αριθμό, ανάλογα με τη σειρά που εμφανίζονται. Σε περίπτωση αναφοράς σε ονόματα συγγραφέων στο κείμενο, εφόσον είναι ξένοι, μετά το επώνυμο του πρώτου συγγραφέα ακολουθεί η συντομογραφία et al, ενώ στους Έλληνες συγγραφείς "και συν.". Εφόσον οι συγγρα-

φείς είναι δύο, μεταξύ των επωνύμων τοποθετείται η λέξη "και". Όλες οι βιβλιογραφικές παραπομπές του κειμένου - και μόνον αυτές - πρέπει να υπάρχουν στο βιβλιογραφικό κατάλογο.

Ο αριθμός των βιβλιογραφικών παραπομπών πρέπει να περιορίζεται στον τελειώς απαραίτητο. Στις ανασκοπήσεις, οι βιβλιογραφικές παραπομπές πρέπει να είναι μέχρι 200. Στα άρθρα επικαιρότητας (επίκαιρα θέματα, άρθρα Σύνταξης) θα πρέπει να αναφέρονται μόνο 5-6 άρθρα ή μονογραφίες, για τα οποία ο συγγραφέας πιστεύει ότι είναι απαραίτητα για την ολοκληρωμένη πληροφόρηση του αναγνώστη στο θέμα.

Η σύνταξη του βιβλιογραφικού καταλόγου γίνεται αριθμητικώς, με βάση τον αύξοντα αριθμό και τη σειρά των βιβλιογραφικών παραπομπών στο κείμενο. Αναφέρονται τα επώνυμα και τα αρχικά των ονομάτων όλων των συγγραφέων μέχρι έξι (όταν είναι περισσότεροι ακολουθεί η ένδειξη et al), ο τίτλος της εργασίας, η συντομογραφία του τίτλου του περιοδικού, το έτος, ο τόμος, η πρώτη και η τελευταία σελίδα της δημοσίευσής π.χ. You CH, Lee KY, Chey WY, Menguy R. Electrogastric study of patients with unexplained nausea. *Gastroenterology* 1980, 79:311 - 314.

Σε περίπτωση που δεν αναφέρεται όνομα συγγραφέως, σημειώνεται η λέξη Ανώνυμος (για ελληνική δημοσίευση) ή Anonymous Π.χ. Anonymous. Coffee drinking and cancer of the pancreas (Editorial). *Br Med J* 1981; 283:628.

Παραπομπές που αναφέρονται σε εργασίες που δημοσιεύονται σε συμπληρώματα (supplements) εκδόσεων, πρέπει να συνοδεύονται με τον αριθμό του συμπληρώματος, που σημειώνεται σε παρένθεση, μετά τον τόμο. Π.χ. *Blood*, 54 (Suppl 1):26. Οι συντμήσεις των τίτλων των περιοδικών πρέπει να γίνονται με βάση το *Index Medicus*. Δεν τοποθετούνται τελείες στα ακρώνυμα των συγγραφέων και στις συντμήσεις των περιοδικών. Στη βιβλιογραφία των επίκαιρων θεμάτων, παραλείπονται οι τίτλοι των εργασιών. Για την καταχώρηση συγγραμμάτων ή μονογραφιών στο βιβλιογραφικό κατάλογο, αναφέρονται στη σειρά τα επώνυμα και τα αρχικά των συγγραφέων, ο τίτλος, ο αριθμός εκδόσεως, ο εκδότης, η πόλη εκδόσεως, το έτος και οι σελίδες της αναφοράς. Η αναφορά σε κεφάλαιο βιβλίου πρέπει να γίνεται με τον ακόλουθο τρόπο: Παπαβασιλείου ΙΘ. Πρωτόζωα. Στο: Παθολογία μύκητες και παράσιτα. ΒΗΤΑ, Αθήνα, 1983:67 - 113.

Αν η βιβλιογραφική παραπομπή αποτελεί κεφάλαιο συγγραμματος που έχει γραφτεί από άλλον συγγραφέα, η αναφορά γίνεται ως εξής: Weinstein L, Swartz MN. Pathogenic properties of invading microorganisms. In: (Στο): Sodeman WA ed *Pathologic Physiology*. Saunders, Philadelphia, 1987: 457-472.

Μη δημοσιευμένες εργασίες καθώς και "προσωπικές επικοινωνίες" δεν χρησιμοποιούνται ως βιβλιογραφικές παραπομπές. Άρθρα, που έχουν γίνει δεκτά για δημοσίευση, μπορούν να περιληφθούν στη βιβλιογραφία. Στην τελευταία περίπτωση, μετά τη συντομογραφία του περιοδικού σημειώνεται η ένδειξη "υπό δημοσίευση".

**Αγγλική περίληψη.** Περιλαμβάνει τα ονόματα των συγγραφέων και την ιδιότητά τους, τον τίτλο της εργασίας και το ίδρυμα ή το εργαστήριο από το οποίο προέρχεται η εργασία. Η περίληψη δεν πρέπει να υπερβαίνει τις 300 λέξεις, ενώ για τα επίκαιρα θέματα και τις περιγραφές περιπτώσεων ασθενών τις 200 λέξεις. Για τις ανασκοπήσεις πρέπει να εφαρμόζονται οι περιγραφικές περιλήψεις (descriptive), που αναφέρουν συνοπτικά όλα τα κεφάλαια που περιέχει το άρθρο και σημαντικά συμπεράσματα. Οι περιλήψεις των ερευνητικών εργασιών πρέπει να χωρίζονται σε πέντε παραγράφους, οι οποίες φέρουν κατά σειρά την ακόλουθη επικεφαλίδα. Aim, Material, Methods, Results, Conclusions. Μετά την περίληψη παρατίθενται 3-10 λέξεις, απαραίτητες για τη σύνταξη των ευρημάτων του περιοδικού (Key words). Η ποιότη-

τα των αγγλικών περιλήψεων πρέπει να είναι αρκετά ικανοποιητική, επειδή αποτελεί σημαντικό κριτήριο αποδοχής του περιοδικού στους διεθνείς καταλόγους βιοιατρικών περιοδικών (*Index Medicus*).

**Αρίθμηση κεφαλαίων σε ανασκοπήσεις, επίκαιρα θέματα.** Όλα τα κεφάλαια αριθμούνται με αραβικούς αριθμούς: 1,2,3 κλπ. Τα υποκεφάλαια φέρουν τον αριθμό του αρχικού κεφαλαίου, τελεία και ακολουθεί ο αριθμός του υποκεφαλαίου: 1.1., 1.2 ή 1.1.1., 1.2.1. κ.ο.κ.

**Πίνακες.** Δακτυλογραφούνται με διπλό διάστημα, σε χωριστή σελίδα. Αριθμούνται με τη σειρά που εμφανίζονται στο κείμενο, με αραβικούς αριθμούς. Πρέπει να φέρουν περιεκτική και σύντομη επεξήγηση, ώστε για την κατανόησή τους να μην είναι απαραίτητο να καταφύγει ο αναγνώστης στο κείμενο. Κάθε στήλη φέρει επεξηγηματική και σύντομη επικεφαλίδα. Οι επεξηγήσεις των συντομογραφιών καθώς και οι λοιπές διευκρινίσεις γίνονται στο τέλος του πίνακα.

**Εικόνες.** Τα σχήματα, σχεδιασμένα με σιλικόνη και οι φωτογραφίες πρέπει να στέλνονται στο πρωτότυπο, ώστε να είναι κατάλληλα για άμεση φωτογραφική αναπαραγωγή και εκτύπωση. Στο πίσω μέρος τους να γράφονται με μολύβι ο αριθμός της εικόνας, ένα βέλος που να δείχνει το άνω μέρος και οι συγγραφείς. Τοποθετούνται σε φάκελο, ανάμεσα σε δύο σκληρά χαρτόνια, για να μην τσακιστούν στη μεταφορά. Οι τίτλοι των εικόνων πρέπει να αναγράφονται με τον αριθμό που αντιστοιχεί στην εικόνα σε χωριστό χαρτί. Επεξηγήσεις σχετικές με τις εικόνες μπορούν να αναφερθούν στον τίτλο. Για το μέγεθος των εικόνων συμβουλευθείτε το σχήμα του περιοδικού. Εφόσον χρησιμοποιούνται φωτογραφίες ασθενών, το πρόσωπο δεν πρέπει να φαίνεται. Στην αντίθετη περίπτωση επιβάλλεται έγγραφη συγκατάθεση του ασθενούς για τη δημοσίευση της φωτογραφίας. Όλες οι εικόνες αναφέρονται στο κείμενο και αριθμούνται με αραβικούς αριθμούς.

**Ονοματολογία.** Οι συγγραφείς πρέπει να χρησιμοποιούν τους παγκοσμίως παραδεκτούς τίτλους. Για την επιλογή των όρων και των ονομάτων (ουσιών, οντοτήτων, οργανισμών, νοσημάτων κ.λπ.), κρίνεται σκόπιμο οι συγγραφείς να συμβουλευτούν το Λεξιλόγιο Βιοιατρικής Ορολογίας, MeSH-ΕΛΛΑΣ. Εκδοση ΙΑΤΡΟΤΕΚ, Αθήνα, 1991.

**Μετρήσεις.** Μετρήσεις μήκους, ύψους, βάρους και όγκου πρέπει να αναφέρονται σε μετρικές μονάδες (μέτρο, χιλ., λίτρο) ή στις υποδιαιρέσεις τους. Οι θερμοκρασίες πρέπει να δίνονται σε βαθμούς Κελσίου. Οι αρτηριακές πιέσεις πρέπει να δίνονται σε χιλιοστά στήλης υδραργύρου.

**Διόρθωση τυπογραφικών δοκιμών.** Πραγματοποιείται μία φορά από τους συγγραφείς. Εκτεταμένες μεταβολές δεν γίνονται δεκτές.

**Ανάτυπα.** Απαγορεύεται η φωτοτυπική αναπαραγωγή των δημοσιευμένων εργασιών. Η προμήθεια από τους συγγραφείς ανατύπων γίνεται αποκλειστικά από την εταιρεία MEDLINE. Οι συγγραφείς επιβαρύνονται με το κόστος τους. Τα ανάτυπα παραγγέλλονται κατά τη διόρθωση των δοκιμών.

Χειρόγραφα εργασιών που δημοσιεύονται, δεν επιστρέφονται στους συγγραφείς.

**Υποβολή χειρογράφου:** Τα χειρόγραφα αποστέλλονται στη διεύθυνση: Δ.Α. ΑΔΑΜΟΠΟΥΛΟΣ

ΠΕΡΙΟΔΙΚΟ ΑΝΗΡ

ΕΝΔΟΚΡΙΝΟΛΟΓΙΚΟ ΤΜΗΜΑ-ΠΓΝ ΜΑΙΕΥΤΗΡΙΟ "ΕΛΕΝΑ ΒΕΝΙΖΕΛΟΥ"  
Πλ. Ε. ΒΕΝΙΖΕΛΟΥ 2 -115 21 ΑΘΗΝΑ

Η εργασία ταχυδρομείται σε φάκελο από χοντρό χαρτί, εσωκλείοντας τις φωτογραφίες και τη δισκέττα (εφ' όσον υπάρχει) μέσα σε σκληρό χαρτόνι. Εάν η αποστολή γίνεται μέσω των Ελληνικών Ταχυδρομείων να μην ακολουθείται συστημένη διαδικασία.

# ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

---

- 78** Σημείωμα Σύνταξης
- ΑΦΙΕΡΩΜΑ:** Διαφοροποίηση Άρρενος (Μέρος 1<sup>ο</sup>), *P. Αγγελοπούλου*
- 80** Καθορισμός του Αρσενικού Φύλου και Ορχική Διαφοροποίηση, *P. Αγγελοπούλου*
- 91** Εξέλιξη των Μηχανισμών Καθορισμού του Φύλου, *P. Αγγελοπούλου και Συνεργάτες*
- 103** Μοριακοί Δείκτες Ορχικής Διαφοροποίησης, *P. Αγγελοπούλου και Συνεργάτες*
- 111** Πριαπισμός: σύγχρονη διαγνωστική και θεραπευτική προσέγγιση, *Χ. Κωνσταντινίδης, Δ. Δελακάς*
- 121** Ενδιαφέροντα περιστατικά στην Ανδρολογία  
Άνδρας με αμφίβολα έξω γεννητικά όργανα, 45,Χ/46,ΧΥ μωσαϊκό καρυότυπο και μικροελλείψεις του μακρού σκέλους του Υ χρωματοσώματος, *Π. Κ. Ηλιάδου, Δ. Γ. Γουλή, Α. Παπανικολάου, Χ. Γιαννούλη, Ι. Ν. Μπόντης, Ι. Παπαδήμας*
- 125** Πρόγραμμα 7ου Πανελληνίου Συνεδρίου Ανδρολογίας
- 127** Έντυπο Εργασιών

Προσεχές Τεύχος  
**Διαφοροποίηση Άρρενος** (2<sup>ο</sup> Μέρος)  
Προσκεκλημένη Εκδότρια  
Ρωξάνη Αγγελοπούλου

Το παρόν τεύχος του περιοδικού, μετά το διάλειμμα της αγγλόφωνης έκδοσης του αφιερώματος για τα "Οιστρογόνα στον Άνδρα", επανέρχεται στη μικτή ελληνόμορφη μορφή του. Τη φορά αυτή περιλαμβάνει το πρώτο μέρος ενός εκτενούς αφιερώματος στη διαφοροποίηση του φύλου, που αποτελεί προσφορά της Καθηγήτριας Ρωξάνης Αγγελοπούλου και της ομάδας της. Με την εκλεκτή αυτή ερευνήτρια και Πανεπιστημιακή δάσκαλο η Ελληνική Ανδρολογική Εταιρεία έχει στενή επαφή και συνεργασία από την εποχή της πρώτης επιστημονικής εκδήλωσης. Η συνεργασία αυτή συνεχίσθηκε με ποικίλους τρόπους και τώρα κορυφώνεται με την πρόσκληση προς αυτή να αναλάβει, σαν προσκεκλημένη Εκδότρια, την παρουσίαση του θέματος στο οποίο έχει διακριθεί διεθνώς επιστημονικά και συγγραφικά. Η σύνταξη του περιοδικού ευχαριστεί τη Ρωξάνη Αγγελοπούλου και την ομάδα της για την τιμή να συμμετάσχει στην προσπάθειά μας με μια τόσο σημαντική συμβολή και θεωρεί ότι η συμπόρευση αυτή θα συνεχιστεί επί μακρόν.

Το εξ ίσου σημαντικό υπόλοιπο μέρος του τεύχους περιλαμβάνει τη συμβολή συναδέλφων σε επί μέρους θέματα ανδρολογικού ενδιαφέροντος. Υπενθυμίζω ότι στο τέλος του τεύχους δημοσιεύουμε το αναλυτικό πρόγραμμα του 2ου Πανελληνίου Ανδρολογικού Συνεδρίου, που αποτελεί την κορυφαία εκδήλωση της Εταιρείας μας. Το συνέδριο θα πραγματοποιηθεί στην Αθήνα στις 24 και 25 Νοεμβρίου και φιλοδοξεί να σας ενημερώσει για σημαντικές πλευρές της Ανδρολογίας από έγκριτους Έλληνες και ξένους ομιλητές. Σημειώνω, ότι η Εταιρεία μας για πρώτη φορά αφιερώνει ειδική συνεδρία στο ρόλο της γυναίκας στην Ανδρολογία και η πρωτοτυπία αυτή ελπίζουμε ότι θα ενισχυθεί δεόντως από τις γυναίκες που υπηρετούν τον ευρύτερο χώρο της αναπαραγωγής. Ασφαλώς θα θυμάστε ότι η Εταιρεία πρωτοτύπισε διεθνώς με την εκλογή γυναίκας προέδρου προ 10ετίας αλλά και αξιωματούχων στο Διοικητικό Συμβούλιο της Εταιρείας πολύ νωρίτερα.

Ευχές για καλό καλοκαίρι

**Δημήτρης Α. Αδαμόπουλος**

# ΚΑΘΟΡΙΣΜΟΣ ΤΟΥ ΑΡΣΕΝΙΚΟΥ ΦΥΛΟΥ ΚΑΙ ΟΡΧΙΚΗ ΔΙΑΦΟΡΟΠΟΙΗΣΗ

ΡΩΞΑΝΗ ΑΓΓΕΛΟΠΟΥΛΟΥ

ΑΝΑΠΛΗΡΩΤΡΙΑ ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ ΙΣΤΟΛΟΓΙΑΣ ΚΑΙ ΕΜΒΡΥΟΛΟΓΙΑΣ

ΚΕΝΤΡΟ ΠΡΟΕΛΕΥΣΗΣ: ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΙΣΤΟΛΟΓΙΑΣ ΚΑΙ ΕΜΒΡΥΟΛΟΓΙΑΣ ΙΑΤΡΙΚΗΣ ΣΧΟΛΗΣ ΕΚΠΑ

## Περίληψη

Ο καθορισμός του αρσενικού φύλου εξαρτάται από το γονίδιο *Sry* που εκφράζεται στα κύτταρα *Sertoli*, δρα στην αδιαφοροποίητη γεννητική καταβολή και επιβάλλει την εφαρμογή του προγράμματος οργανογένεσης του όρχι. Η ανάπτυξη των δευτερογενών χαρακτηριστικών του φύλου, περιλαμβανομένων των εξωτερικών γεννητικών οργάνων και του συστήματος των πόρων, εξαρτάται από την παρουσία λειτουργικά δραστικού όρχι. Τα γονίδια *Emx2*, *Ir*, *Irr*, *Igf1r*, *Lhx9*, *M33*, *Sf1* για τη ρύθμιση της έκφρασης του γονιδίου της *Amh*, *Wt1* *Pod1*, *Dmrt1*, *Dmrt2*, *Gata4* και *Fog2* παρουσιάζουν ένα πρότυπο έκφρασης ειδικό του άρρενος, πριν από την έναρξη της γοναδικής μορφογένεσης και την έκφραση του *Sry*. Τα γονίδια *Arx*, *Dax1*, *Sox9* με αποκλειστικό στόχο το γονίδιο της *Amh*, *Sox 8*, *Dhh*, *Pdgfra*, *Fgf9*, *Vnn1* και *Pn-1* εκφράζονται καθοδικά του *Sry* και εμπλέκονται στα αρχικά στάδια σχηματισμού των σπερματικών χορδών. Η διαφοροποίηση των κυττάρων *Leydig*, από τα μεσεγχυματικά κύτταρα του διάμεσου ιστού, εξαρτάται από παρακρινή σήματα των κυττάρων *Sertoli*. Τα πειραματόζωα, στα οποία έχουν εξαλειφθεί τα εξεταζόμενα γονίδια (*knockouts*) εμφανίζουν το φαινοτυπικό αποτέλεσμα της αντιστροφής του φύλου (άτομο XY με γονάδες και εξωτερικά γεννητικά όργανα θηλυκού). Η δραστηριότητα ορισμένων γονιδίων είναι γνωστή αλλά οι αλληλεπιδράσεις των προϊόντων των υπολοίπων, στο περίπλοκο δίκτυο της γοναδικής μορφογένεσης, παραμένουν αδιευκρίνιστες.

**Λέξεις κλειδιά:** αντιστροφή φύλου, γοναδική μορφογένεση, κοιλωματικό επιθήλιο, κύτταρα *Leydig*, περισωληναριακά μυοειδή, *Sertoli*, μεσόνεφρος, σπερματικές χορδές, *Sry*.

## Abstract

Sex determination in mammals directs an initially bipotential gonadal anlagen to differentiate into either a testis or an ovary. Male sex-determining pathway is controlled by the presence or absence of *Sry* expression in *Sertoli* cells. *Sry* acts on the indifferent gonad and imposes the differentiation of other cell types according to the program of testicular differentiation. Secondary sex characteristics, including external genitalia and the system of ducts depend on the presence of a functionally active testis. Genes *Emx2*, *Ir*, *Irr*, *Igf1r*, *Lhx9*, *M33*, *Sf1* controlling the expression of *Amh*, *Wt1* *Pod1*, *Dmrt1*, *Dmrt2*, *Gata4* and *Fog2* present a male-specific pattern of expression before the initiation of testicular morphogenesis and *Sry* expression. Downstream target genes of *Sry* are *Arx*, *Dax1*, *Sox9* with exclusive target the *Amh* gene, *Sox 8*, *Dhh*, *Pdgfra*, *Fgf9*, *Vnn1* and *Pn-1* implicated in the initial stages of testicular cords formation. *Leydig* cell differentiation depends on paracrine signaling from *Sertoli* cells. Knockout alleles mice, for several of these genes, present phenotypic male to female sex reversal. Activity of some genes is fully understood but the interactions of the products of others, in the complicated network of gonadal morphogenesis, needs to be elucidated.

**Key words:** cells *Leydig*, peritubular myoid, *Sertoli*, coelomic epithelium, gonadal morphogenesis, male sex reversal, mesonephros, spermatid cords, *Sry*.

## 1.Εισαγωγή

Όπως όλα τα όργανα του εμβρύου, η γονάδα προέρχεται από μία αδιαφοροποίητη καταβολή, η οποία, σε αντίθεση προς τα άλλα αρχέγονα, μπορεί να ακολουθήσει αντί μιας δύο αναπτυξιακές οδούς. Ο καθορισμός του αρσενικού ή του θηλυκού φύλου με τη μορφογένεση του όρχι ή της ωοθήκης, αποτελεί το ουσιαστικό γεγονός που ελέγχει την ανάπτυξη και τη διαφοροποίηση της γεννητικής οδού. Ο Alfred Jost το 1947, με κλασικά πειράματα ευνουχισμού και στα 2 φύλα, έδειξε ότι, το βασικό πρόγραμμα ανάπτυξης της γοναδικής καταβολής ακολουθεί την οδό της θηλυκής διαφοροποίησης και η ανάπτυξη του αρσενικού φαινοτύπου προϋποθέτει την παρουσία φυσιολογικά αναπτυγμένων όρχων (1).

Σύμφωνα με το κλασικά παραδεκτό πρότυπο, κατά τη γονιμοποίηση του απλοειδικού ωοκυττάρου που φέρει τη Χ χρωματίδα, από το σπερματοζωάριο που φέρει χρωματίδα Χ ή Υ, καθορίζεται **το γενετικό φύλο** ΧΧ ή ΧΥ του εμβρύου. Με βάση το γενετικό φύλο πραγματοποιείται η οργανογένεση του όρχι, αν το γενετικό φύλο είναι ΧΥ και της ωοθήκης, αν είναι ΧΧ. Μετά την ολοκλήρωση αυτού του σταδίου, αναγνωρίζεται **το γοναδικό φύλο**, του ατόμου. Η λειτουργική διαφοροποίηση των γονάδων οδηγεί στην παραγωγή και έκκριση των ειδικών ορμονών του φύλου, οι οποίες ελέγχουν την ανάπτυξη **του φαινοτυπικού φύλου**, με την προϋπόθεση ότι, οι καταβολές των οργάνων-στόχων φέρουν τους ειδικούς υποδοχείς για τη δέσμευση των ορμονών. Στον άνθρωπο, ανάλογα με τον τρόπο που κάθε άτομο εννοεί τη φυλετική του ταυτότητα, καθορίζεται και **το φύλο της συμπεριφοράς**.

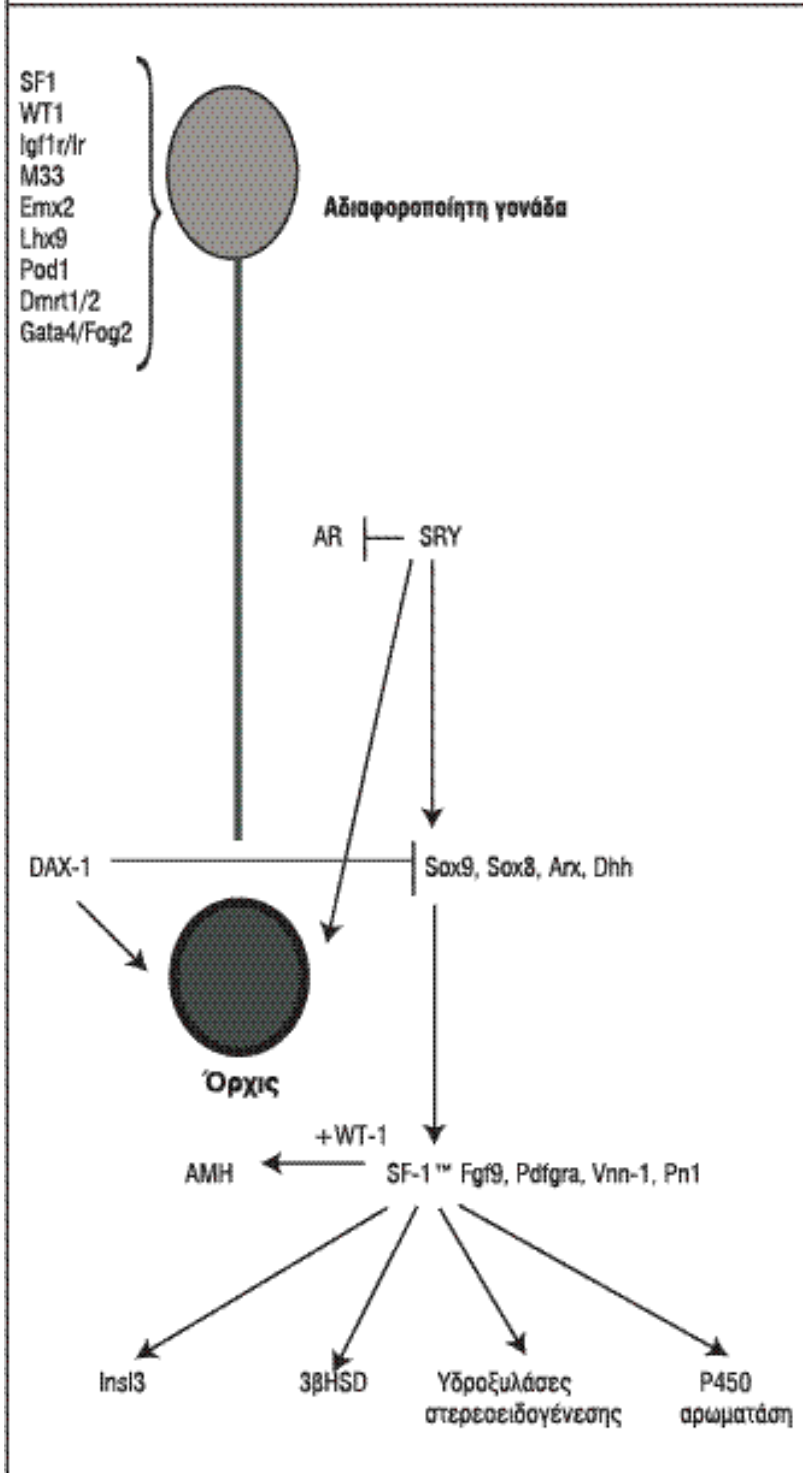
Ο καθορισμός του αρσενικού φύλου, στα θηλαστικά, εξαρτάται από το γονίδιο *Sry* που εντοπίζεται στο Υ χρωμόσωμα, δρα στην αδιαφοροποίητη γεννητική καταβολή και επιβάλλει την εφαρμογή του προγράμματος που οδηγεί στη διαφοροποίηση του όρχι. Από αρκετά στοιχεία φαίνεται ότι το *Sry* ασκεί τη δράση του σε μία από τις σωματικές κυτταρικές σειρές της γεννητικής ακρολοφίας και προκαλεί τη διαφοροποίηση των κυττάρων αυτής σε κύτταρα Sertoli. Όταν λείπει το *Sry* ή η πρωτεΐνη που κωδικοποιεί, τα κύτταρα αυτής της σειράς ακολουθούν τη θηλυκή οδό και διαφοροποιούνται σε θυλακικά (κοκκιώδη) κύτταρα (2). Συνεπώς, το ερώτημα για τον τρόπο που καθορίζεται το φύλο στα θηλαστικά μπορεί να τεθεί ως εξής: Διαφοροποιούνται ή όχι κύτταρα Sertoli στη γοναδική καταβολή;

Μετά τη διαφοροποίησή τους, τα κύτταρα Sertoli εκπέμπουν σήματα προς τις υπόλοιπες κυτταρικές σειρές και τις κατευθύνουν προς την οδό της ορχικής μορφογένεσης (3). Η σειρά των γεγονότων που διαδραματίζονται κατά τη μετάφραση του γενετικού στο φαινοτυπικό φύλο, δείχνει ότι, οι διαταραχές στα αρχικά στάδια και η ανώμαλη ανάπτυξη του όρχι, οδηγούν σε ατελή φυλετική

διαφοροποίηση των ατόμων 46,ΧΥ. Κλινικά, ο φαινότυπος που προκύπτει μπορεί να κυμαίνεται μεταξύ της πλήρους αντιστροφής του φύλου (sex reversal) και των διαφόρων βαθμών υποαρρενοποίησης, εξαρτώμενων από τη σοβαρότητα της αναπτυξιακής βλάβης και την ποσότητα του σχηματισθέντος ορχικού ιστού. Μία ιδιαίτερη πρόκληση κατά την κλινική αντιμετώπιση αποτελούν τα νεογνά, στα οποία η μερική αρρενοποίηση δημιουργεί ένα ενδιάμεσο φαινότυπο, αμφίβολου φύλου. Από την εξέταση των ασθενών που παρουσιάζουν ανωμαλίες της ανάπτυξης των φυλετικών χαρακτήρων, όπως μερική ή πλήρη αντιστροφή του φύλου, συγγενείς ανωμαλίες του γεννητικού συστήματος ή υπογονιμότητα προκύπτει ότι, μόνο 10% οφείλονται σε μεταλλάξεις του γονιδίου *SRY* (4). Η πειραματική μελέτη, στον άνθρωπο και στα πειραματόζωα, έδειξε ότι, εκτός από το ορχεοκαθοριστικό γονίδιο *SRY*, του οποίου η παρουσία είναι αναγκαία και αρκετή για το σχηματισμό του όρχι και τη δημιουργία του άρρενος φαινοτύπου και άλλα γονίδια εμπλέκονται στη διαφοροποίηση του φύλου. Ορισμένα, αποτελούν τους μεταγραφικούς στόχους του *Sry* ενώ άλλα εκφράζονται πριν από αυτό και εξειδικεύουν το ουρογεννητικό αρχέγονο και στα 2 φύλα (5). Επειδή η ουρογεννητική ακρολοφία αποτελεί το αρχέγονο της γονάδας, των επινεφριδίων, του νεφρού και της γεννητικής οδού, είναι προφανές ότι οι μεταλλάξεις των εμπλεκόμενων γονιδίων επηρεάζουν την ανάπτυξη και των υπόλοιπων οργάνων. Η κυτταρογενετική αποκαλύπτει ελλείψεις, διπλασιασμούς και μεταθέσεις σε περιοχές του γονιδιώματος που εμπειρεύουν γονίδια εξαιρετικής σημασίας για τη δημιουργία του παρατηρούμενου φαινοτύπου. Οι οικογενείς περιπτώσεις, για ορισμένες ανωμαλίες, επιτρέπουν, επίσης, να ορισθεί ο τρόπος που κληρονομείται ο υπό μελέτη χαρακτήρας και να γίνει η χαρτογράφηση αυτών των γονιδίων.

Σήμερα, έχει συγκεντρωθεί ένας εντυπωσιακός αριθμός δεδομένων σχετικών με το δίκτυο των μοριακών οδών που εμπλέκονται στη ανάπτυξη του όρχι. Για να διευκολυνθεί ο αναγνώστης, τα γονίδια που συμμετέχουν στην ορχική διαφοροποίηση ταξινομούνται σε 2 ομάδες: Στην 1<sup>η</sup>, περιλαμβάνονται τα γονίδια που παρουσιάζουν ένα πρότυπο έκφρασης ειδικό του άρρενος, πριν από την έναρξη της γοναδικής μορφογένεσης και την έκφραση του *Sry* (Εικόνα 1, Πίνακας 1). Στη 2<sup>η</sup>, ανήκουν τα γονίδια που εμπλέκονται στα αρχικά στάδια σχηματισμού των σπερματικών χορδών (Πίνακας 2). Τα πειραματόζωα, στα οποία έχει εξαλειφθεί το εξεταζόμενο γονίδιο (knockout) αποτελούν χαρακτηριστικά μοντέλα μελέτης και δείχνουν το φαινοτυπικό αποτέλεσμα της απάλειψής του. Σε αρκετά από αυτά διαπιστώνεται αντιστροφή του φύλου, από αρσενικό σε θηλυκό (άτομο ΧΥ με γονάδες και εξωτερικά γεννητικά όργανα θηλυκού). Παρακάτω, αναφέρονται τα χαρακτηριστικά μέλη κάθε ομάδας (Πίνακες 1 και 2).

**Εικόνα 1:** Τα γονίδια που εμπλέκονται στο σχηματισμό της αδιαφοροποίητης γονάδας και τη διαφοροποίησή του όρχι.



## 2. Ανάπτυξη της αδιαφοροποίητης γονάδας

Η αδιαφοροποίητη γονάδα αναπτύσσεται από την ουρογεννητική ακρολοφία, σε συνδυασμό με το ουροποιητικό σύστημα, το οποίο προέρχεται από το διάμεσο μεσόδερμα και εκτείνεται σε μεγάλο μήκος του εμβρύου, εκατέρωθεν της μέσης γραμμής. Αυτή η ακρολοφία υποδιαιρείται, κεφαλαικά, σε τρία τμήματα: τον πρόνεφρο, στον οποίο περιλαμβάνεται και η καταβολή των επινεφριδίων, το μεσόνεφρο, επί του οποίου αναπτύσσεται η γονάδα και το μετάνεφρο, από τον οποίο προέρχεται ο μόνιμος νεφρός. Στο ανθρώπινο έμβρυο, η γοναδική καταβολή εμφανίζεται την 4<sup>η</sup> εβδομάδα και παραμένει στο αδιαφοροποίητο ή αμφιφυλετικό στάδιο έως την 7<sup>η</sup> εβδομάδα. Κατά την ίδια περίοδο, το έμβρυο αποκτά και ένα διπλό σύστημα γεννητικών πόρων, προδρόμων των εσωτερικών γεννητικών οργάνων του αρσενικού και του θηλυκού. Μόνο ένα από αυτά θα διατηρηθεί στον ώριμο οργανισμό και αυτό θα εξαρτηθεί από το αν η αδιαφοροποίητη γονάδα θα εξελιχθεί σε όρχι ή ωθήκη. Στο ποντίκι, οι αδιαφοροποίητες γονάδες διακρίνονται την E10,5 (E=ημέρες μετά τη γονιμοποίηση) και ο καθορισμός του αρσενικού φύλου γίνεται την E11,5.

## 3. Η διαφοροποίηση του όρχι και ο σχηματισμός των σπερματικών χορδών

Το πρώτο ορατό στοιχείο ορχικής διαφοροποίησης παρατηρείται, στο ποντίκι, την E12,5, όταν διαφοροποιούνται τα κύτταρα Sertoli και διευθετούνται κατά τέτοιο τρόπο ώστε να σχηματίσουν το επιθήλιο των σπερματικών χορδών, μέσα στο οποίο εγκλωβίζονται τα γεννητικά κύτταρα. Ακολουθεί η διαφοροποίηση των κυττάρων Leydig, τα οποία συνθέτουν τα ανδρογόνα και ο σχηματισμός του συνδετικού ιστού και των αγγείων του όρχι. Στο θηλυκό, οι γονάδες δεν παρουσιάζουν στοιχεία διαφοροποίησης παρά μετά την E16,5. Το μόνο γονίδιο του Y χρωμοσώματος που απαιτείται για το σχηματισμό του όρχι είναι το Sry (6-8). Η μεταγραφή του Sry γίνεται στα κύτταρα

Sertoli από την E10,5 έως την E12,5, δηλαδή κατά την περίοδο καθορισμού του αρσενικού φύλου. Εκτός από το Sry και άλλα γονίδια εμπλέκονται στις μορφογενετικές διερ-

Πίνακας 1. Τα γονίδια που εκφράζονται στην ουρογεννητική ακρολοφία πριν από το Sry (1η Ομάδα)

Γονίδιο	Φαινότυπος εξάλειψης	Λειτουργία
<i>Epx2</i>	Οι ΧΧ και ΧΥ γονάδες έχουν φαινότυπο παρόμοιο των μεταλλαγμένων <i>Wt1</i> , <i>Sf1</i> και <i>Lhx9</i> . Εκφυλίζονται μετά την E13 (5).	Άγνωστη
<i>Igf1r/Irt1r</i>	Τριπλή εξάλειψη των <i>Ir,Irt,Igf1r</i> προκαλεί αναστροφή του φύλου. Το Sry εκφράζεται αλλά δεν ανιχνεύονται οι υπόλοιποι δείκτες των κυττάρων Sertoli (33).	Προάγει την αρχική αύξηση των γονάδων. Διαταραχές του πολλαπλασιασμού μπορεί να επηρεάσουν τον αριθμό των κυττάρων που εκφράζουν το Sry.
<i>Lhx9</i>	Στα <i>Lhx9</i> <sup>-/-</sup> ποντίκια, οι γονάδες εκφυλίζονται και τα ΧΥ άτομα έχουν φαινότυπο ΧΧ (9).	Ρυθμιστής του <i>Sf1</i> ή του πολλαπλασιασμού των κυττάρων του κατώματικού επιθηλίου που εκφράζουν το <i>Sf1</i> .
<i>M33</i>	Γοναδική δυσγενεσία με καθυστέρηση της ανάπτυξης των όρχεων και αναστροφή του φύλου. Δεν παρατηρείται απόπτωση (10).	Ελάττωση του πολλαπλασιασμού στη γοναδική καταβολή ή στον αναπτυσσόμενο όρχι, μετά την έκφραση του Sry.
<i>Sf1</i>	Επινεφριδική ανεπάρκεια και αγενεσία των επινεφριδίων, των γονάδων και του μέσου καιλιακού πυρήνα του υποθάλαμου.	Διαφοροποίηση του διάμεσου μεσοδέρματος και του συνόλου ουρογεννητικού συστήματος.
<i>Wt1</i>	Αγενεσία των νεφρών και των γονάδων. Καρδιακές και πνευμονικές ανωμαλίες.	Διαφοροποίηση του διάμεσου μεσοδέρματος και του συνόλου ουρογεννητικού συστήματος.
<i>Pod1</i>	Στα <i>Pod1</i> <sup>-/-</sup> ποντίκια ΧΥ, παρατηρείται αναστροφή του φύλου με υποπλαστικές γονάδες και στα δύο φύλα (21).	Επαγωγική δράση στην ανάπτυξη των αγγείων του κατώματος και στη μετανάστευση των ενδοθηλιακών κυττάρων από το μεσόνεφρο.
<i>Dmrt1</i> και <i>Dmrt2</i>	Βλάβες του ώριμου όρχι με αποδόμηση των σπερματικών σωληνιδίων και απουσία των σπερματογονίων (22).	Εκφράζεται στις αδιαφοροποίητες γονάδες και των δύο φύλων και αποκλειστικά στον όρχι.
<i>Gata4/Fog2</i>	Τα <i>Gata4</i> <sup>-/-</sup> ποντίκια πεθαίνουν, in utero, πριν αρχίσει η ανάπτυξη των γονάδων (24). Τα <i>Fog2</i> <sup>-/-</sup> ποντίκια παρουσιάζουν ελαττωμένη έκφραση του Sry και μηδενική έκφραση των Sox9, Amh και Dhrt αλλά διατηρούν τον ισοθετικό δείκτη <i>Wt1</i> .	Εκφράζεται στις αδιαφοροποίητες γονάδες και των δύο φύλων και αποκλειστικά στα κύτταρα Sertoli και Leydig του όρχι.

γασίες της γοναδογένεσης του αρσενικού, όπως τα γονίδια *Sox9*, *Dax1*, *Wt1*, *Gata4*, *M33*, *Dmrt1*, *Sf1* και *Amh*, τα οποία παρουσιάζουν χαρακτηριστικό τρόπο έκφρασης κατά την περίοδο ανάπτυξης του όρχι. Σήμερα είναι γνωστή η δραστηριότητα ορισμένων (όπως των *Sox9* και *Sf1* για τη ρύθμιση της έκφρασης του γονιδίου της *Amh*) αλλά οι αλληλε-

πιδράσεις των προϊόντων των υπολοίπων, στο περίπλοκο δίκτυο της γοναδικής μορφογένεσης, δεν είναι γνωστές.

Στον άνθρωπο, η ορχική διαφοροποίηση γίνεται την 7<sup>η</sup> εβδομάδα της κύησης. Κατά την περίοδο αυτή που αντιστοιχεί σε ένα 24ωρο (E11,5-12,5) στο ποντίκι και (E13-14) στον αρουραίο, αρχίζει ο σχηματισμός των σπερματικών

Πίνακας 2. Τα γονίδια που εκφράζονται στον αναπτυσσόμενο όρχι, μετά το *Sry* (2η Ομάδα)

Γονίδιο	Φαινότυπος εξάλειψης	Λειτουργία
<i>Arlx</i>	Στα <i>Arlx<sup>-/-</sup></i> ποντίκια δεν διαφοροποιούνται κύτταρα Leydig.	Παρακρινής δράση στα κύτταρα Leydig.
<i>Dax1</i>	Σοβαρή διαταραχή της μορφολογίας του όρχι.	Δρα παράλληλα ή μετά το <i>Sry</i> και προάγει τη μορφογένεση των σπερματικών χορδών και την έκφραση των ορχικών δεικτών.
<i>Dhh</i>	Στις γονάδες XY των <i>Dhh<sup>-/-</sup></i> διακόπτεται η διαφοροποίηση των κυττάρων Leydig και ο σχηματισμός των σπερματικών χορδών.	Ειδικό του αρσενικού για την ανάπτυξη των κυττάρων Leydig. Ο υποδοχέας του <i>Pitx1</i> εκφράζεται στα κύτταρα του διάμεσου ιστού (43).
<i>Fgf9</i>	Αναστροφή του φύλου και διαταραχή του μεσεγγύματος, της μετανάστευσης των μεσονεφρικών κυττάρων και της ανάπτυξης των κυττάρων Sertoli (35).	Προάγει τον πολλαπλασιασμό των προδρόμων μορφών των κυττάρων Sertoli.
<i>Sox9</i> <i>Sox8</i>	Τα <i>Sox9<sup>-/-</sup></i> ποντίκια πεθαίνουν πριν από τη διαφοροποίηση του όρχι.	Το γονίδιο της <i>Arlx</i> αποτελεί αποκλειστικό στόχο του <i>Sox9</i> . Το <i>Sox8</i> έχει συμπληρωματική δράση με το <i>Sox9</i> .
<i>Pdgfra</i>	Οι γονάδες των <i>Pdgfra<sup>-/-</sup></i> έχουν ανώμαλες σπερματικές χορδές και διαταραχή της ανάπτυξης του διάμεσου ιστού.	Ειδικό για την ανάπτυξη των κυττάρων Leydig (44).
<i>Vnn1</i>	Άγνωστος	Εμπλέκεται στη μετανάστευση κυττάρων από το μεσόνεφρο προς τους αναπτυσσόμενους όρχεις (46).
<i>Pn-1</i>	Άγνωστος	Αναστολέας της σερίνο-πρωτεάσης διατηρεί την ακεραιότητα της βασικής μεμβράνης, στα αρχικά στάδια σχηματισμού των σπερματικών χορδών.

χορδών. Πρόκειται για τα μελλοντικά σπερματικά σωληνάρια, τα οποία αποτελούνται από γεννητικά κύτταρα περιβαλλόμενα από κύτταρα Sertoli και μυοειδή κύτταρα (9). Τα κύτταρα Sertoli, στα οποία εκφράζεται αποκλειστικά το *Sry*, κατευθύνουν τη διαφοροποίηση των υπόλοιπων κυτταρικών τύπων της αρσενικής γονάδας. Για παράδειγμα, η διαφοροποίηση των κυττάρων Leydig, από τα μεσεγγυματικά κύτταρα του διάμεσου ιστού, μεταξύ 8ης και 9ης εβδομάδας, εξαρτάται από παρακρινή σήματα, της εξωκυττάριας πρωτεΐνης Desert Hedgehog, που εκκρίνεται από τα κύτταρα Sertoli (10). Επίσης, το μέγεθος των κυτ-

τάρων Sertoli αυξάνει και τα σωματικά κύτταρα πολλαπλασιάζονται, λόγω της δράσης του γονιδίου *Sry* (11). Στους αναπτυσσόμενους όρχεις παρατηρείται ταχεία αγγείωση και η σχηματιζόμενη ορχική αρτηρία αποτελεί ένα από τα αρχικά μορφολογικά γνωρίσματα του διαφοροποιούμενου όρχι. Τα στοιχεία του συνδετικού ιστού και τα ενδοθηλιακά κύτταρα σχηματίζουν μία στήβα, τον ινώδη χιτώνα, ο οποίος χωρίζει τις σπερματικές χορδές από τα υπερκείμενα κύτταρα του κοιλωματικού επιθηλίου.

Είναι γνωστό ότι, αρκετοί τύποι σωματικών κυττάρων της γονάδας προέρχονται είτε από το μεσόνεφρο είτε από το κοιλωματικό επιθήλιο (12-14). Στην περίπτωση των 3 κυτταρικών τύπων (περισωληναριακά μυοειδή, ενδοθηλιακά και μυοεπιθηλιακά), η μετανάστευσή τους από το μεσόνεφρο γίνεται, στο ποντίκι, πριν από την E11,5, κατά το πρότυπο ανάπτυξης του αρσενικού και αποτελεί έμμεση συνέπεια της έκφρασης του *Sry* (13). Έχει, άλλωστε, υποθεθεί ότι, τα μεταναστεύοντα περισωληναριακά μυοειδή κύτταρα επάγουν το σχηματισμό των σπερματικών χορδών μέσω αλληλεπιδράσεων με τα κύτταρα Sertoli της αναπτυσσόμενης γονάδας (15). Η σημασία της γεινιάσης με το μεσόνεφρο για το σχηματισμό και τη λειτουργία της αρσενικής γονάδας τονίζεται σε αρκετές εργασίες. Για παράδειγμα, πειράματα, *in vitro*, έδειξαν ότι όταν καλλιεργούνται γονάδες XY εμβρύων, ηλικίας 11,5 ημερών, χωρίς το μεσόνεφρο, δεν σχηματίζονται σπερματικές χορδές. Αν, οι γονάδες αυτές, καλλιεργηθούν σε επαφή με μεσόνεφρο, θηλυκής ή αρσενικής προέλευσης, αναπτύσσουν σπερματικές χορδές, περιβαλλόμενες από μυοειδή κύτταρα, μεσονεφρικής προέλευσης (12, 13). Άλλωστε, η μετανάστευση των μεσονεφρικών κυττάρων είναι απαραίτητη και για την επαγωγή της έκφρασης του *Sox9* (15). Όταν οι αδιαφοροποίητες γονάδες προέρχονται από XX έμβρυο δεν παρατηρείται μετανάστευση κυττάρων μεσονεφρικής προέλευσης, μετά την έναρξη της μείωσης των γεννητικών κυττάρων (E13,5) (16). Επομένως, η αρσενική γονάδα θα πρέπει να θεωρείται ένα χημειοτακτικό όργανο, με μεγάλη ακτίνα δράσης. Χρησιμοποιώντας μία γενετική προσέγγιση, οι Capel et al., έδειξαν ότι η μετανάστευση των μεσονεφρικών κυττάρων στην εμβρυϊκή γονάδα εξαρτάται από την έκφραση του γονιδίου *Sry* και ότι τα ενδοθηλιακά και μυοεπιθηλιακά κύτταρα, τα οποία περιβάλλουν τα αγγεία, είναι μεσονεφρικής προέλευσης (17). Δύο παράγοντες που επάγουν τη μετανάστευση των μεσονεφρικών κυττάρων είναι ο FGF9 και η αντιμυλλέριος ορμόνη AMH, που εκκρίνονται από τα κύτταρα Sertoli (18, 19).

#### 4. Τα γονίδια που εκφράζονται στην ουρογεννητική ακρολοφία πριν από το *Sry* (1<sup>a</sup> Ομάδα) (Πίνακας 1)

- *Emx2* (Empty spiracles homolog 2). Η εξάλειψη του γονιδίου προκαλεί σοβαρές ανωμαλίες της ανάπτυξης του πρόσθιου εγκεφάλου και της ουρογεννητικής καταβολής, όπως η απουσία νεφρών, ουρητήρων και γονάδων. Ειδικότερα, οι μεσονεφρικοί πόροι εκφυλίζονται και δεν αναπτύσσεται το κοιλωματικό επιθήλιο. Ο φαινότυπος των γονάδων και στα δύο φύλα είναι παρόμοιος με αυτόν που εκδηλώνεται στα πειραματόζωα που έχουν εξαλειφθεί τα γονίδια *Wt1*, *Sf1* και *Lhx9* (20).

- Τα αρσενικά ποντίκια με τριπλή εξάλειψη των γονιδίων *Ir*, *Irr*, *Igf1r* (insulin receptor, insulin-related receptor,

*Igf1 receptor*) παρουσιάζουν αντιστροφή του φύλου, ελαττωμένη έκφραση των *Sry* και *Sox9* και απουσία όλων των μεταγενέστερων δεικτών του όρχι. Και στα δύο φύλα, οι γονάδες είναι μικρού μεγέθους και, αργότερα εκφράζουν ωθητικούς δείκτες. Πρόκειται για έμμεση δράση που απορρέει από μία γενική διαταραχή του κυτταρικού πολλαπλασιασμού με αποτέλεσμα την ελάττωση του αριθμού των σωματικών κυττάρων που εκφράζουν το *Sry*, πράγμα που τονίζει τη σημασία της σηματοδότησης της ινσουλίνης στα αρχικά στάδια της ορχικής μορφογένεσης (21, 22).

- Το γονίδιο *Lhx9*, από το ομοιοτικό κουτί LIM, είναι ουσιαστικής σημασίας για τη γοναδική ανάπτυξη. Το *Lhx9* ρυθμίζει το *Sf1* ή τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων του κοιλωματικού επιθηλίου που εκφράζουν το *Sf1*. Τα ποντίκια *Lhx9<sup>-/-</sup>*, δεν έχουν γονάδες και, λόγω της απουσίας AMH και τεστοστερόνης, τα XY άτομα έχουν φαινότυπο XX ατόμου (23).

- Το γονίδιο *M33*, ανήκει στην ομάδα των γονιδίων *polycomb* που δρουν με μεταγραφική αποσιώπηση. Οι πρωτεΐνες τους λειτουργούν ως σύμπλεγμα που προκαλεί αρνητική ρύθμιση της έκφρασης των γονιδίων *hox*. Η εξάλειψη του *M33*, προκαλεί ομοιοτική μεταμόρφωση και γοναδική δυσγενεσία με καθυστέρηση της ανάπτυξης των όρχεων και αντιστροφή του φύλου. Ωστόσο, δεν παρατηρείται εκφύλιση ούτε απόπτωση των γοναδικών κυττάρων (24).

Δύο γονίδια αυτής της ομάδας είναι αναγκαία για τη διαφοροποίηση του διάμεσου μεσοδέρματος και του συνόλου ουρογεννητικού συστήματος. Πρόκειται για το γονίδιο του στεροειδογόνου παράγοντα 1 (*Sf-1*) και το γονίδιο του όγκου του Wilm's (*WT1*).

- Το γονίδιο του στεροειδογόνου παράγοντα 1 (Steroidogenic factor 1 *Sf-1*) ενεργοποιεί τη μεταγραφή του *Dax1* (Dosage-sensitive sex reversal, adrenal hypoplasia congenital, X chromosome) και τα δύο εκφράζονται στις γονάδες, τα επινεφρίδια, τα γοναδοτρόπα κύτταρα της αδενούποφύσης και τον υποθάλαμο (25, 26). Τα πρώτα μετάγραφα *Sf-1* ανιχνεύονται μέσα στο γοναδικό βλάστημα, την E9, στο ποντίκι. Η έκφρασή του *Sf-1* στα κύτταρα Sertoli και Leydig, διατηρείται σταθερή και μετά τη γέννηση. Η παρουσία θέσεων δέσμευσης της *Sf-1* σε όλους τους υποκινητές των γονιδίων που κωδικοποιούν για τη σύνθεση των στεροειδογόνων κυτοχρωμάτων P450 υποδηλώνει ότι η αυτή η πρωτεΐνη παίζει πρωταρχικό ρόλο στη ρύθμιση της έκφρασης των ενζύμων της στεροειδογένεσης, του υποδοχέα της ACTH και των υποφυσιακών γοναδοτροφινών, στα επινεφρίδια και τις γονάδες (27). Οι Lala et al., έδειξαν ότι, ορισμένες οξυστερόλες είναι τα πιθανά δεσμευτικά μόρια της *Sf-1* και έχουν την ικανότητα να διεγείρουν τη δραστηριότητα του υποκινητή της 17-υδροξυλάσης που ελέγχει (28). Η ανίχνευση του *Sf-1* στα κύτταρα που πολλαπλασιάζονται σημαίνει ότι, άμεσα ή έμμεσα, διε-

γείρει τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό. Τα ποντίκια με μηδενική μετάλλαξη του *Sf-1* και στα δύο φύλα πεθαίνουν, αμέσως μετά τη γέννηση, από επινεφριδιακή ανεπάρκεια και παρουσιάζουν αγενεσία των επινεφριδίων, των γονάδων και του μέσου κοιλιακού πυρήνα του υποθάλμου. Η εξέταση των γονάδων αποκαλύπτει ότι τα κύτταρα της ουρογεννητικής καταβολής αποπίπτουν και οι γονάδες εκφυλίζονται από την E12,5, γεγονός που δηλώνει ότι η *Sf-1* είναι απαραίτητη για την επιβίωσή τους (25).

- Το γονίδιο *Wt1*, λειτουργεί πριν από τους πυρηνικούς υποδοχείς *Sf-1* και *Dax1* (29). *Wt1* και *Sf-1* συνεργάζονται για να ενισχύσουν τη μεταγραφή του γονιδίου της *Amh*, μία ενέργεια που καταστέλλεται από το *Dax1* (30). Η πρωτεΐνη που κωδικοποιεί το γονίδιο *Wt1*, διαθέτει μία δομή δακτύλων ψευδαργύρου που της επιτρέπει να συνδέεται στο DNA και να λειτουργεί ως παράγων μεταγραφής. Εκφράζεται στην ουρογεννητική ακρολοφία από την E9, στο ποντίκι και επάγει την επιβίωση και εξειδίκευση των επιθηλιακών κυττάρων του κοιλώματος. Στον άνθρωπο, οι μεταλλάξεις με απώλεια της λειτουργίας της πρωτεΐνης προκαλούν 3 χαρακτηριστικά σύνδρομα, στα οποία συνυπάρχουν διαμαρτίες του ουροποιητικού και του γεννητικού συστήματος: το σύνδρομο Frasier, το σύνδρομο Denys-Drash, με αυξημένη συχνότητα εμφάνισης όγκου Wilms και ψευδοερμαφροδιτισμό και το σύνδρομο WAGR (όγκος Wilms, ανιριδία, ουρογεννητικές ανωμαλίες και πνευματική καθυστέρηση). Σε αυτές τις περιπτώσεις ενοχοποιείται η ταινία 11p13 και το γονίδιο *WT1* που περιέχει. Τα ομόζυγα διαγονιδιακά ποντίκια, στα οποία έχει αδρανοποιηθεί το γονίδιο *Wt1*, πεθαίνουν, *in utero*, πριν από την E15. Παρουσιάζουν, όχι μόνο αγενεσία νεφρών και γονάδων αλλά και καρδιοπνευμονικές ανωμαλίες (31-33). Ο φαινότυπος είναι παρόμοιος προς το φαινότυπο των γυναικών XY που έχουν προσβληθεί από το σύνδρομο Denys-Drash και έχουν ινώδεις γονάδες χωρίς διαφοροποιημένα στοιχεία και βλαστικά γεννητικά κύτταρα.

- Το γονίδιο *Pod1* (*Podocyte1*) κωδικοποιεί για ένα παράγοντα μεταγραφής, μοτίβου έλικα-θηλειά-έλικα, με πρωταρχικό ρόλο τη διαφοροποίηση των επιθηλιακών κυττάρων του αγγειώδους σπειράματος στο νεφρό και τη διακλαδωτή μορφογένεση νεφρού και πνεύμονα (34). Στην αδιαφοροποίητη καταβολή, ασκεί επαγωγική δράση για την ανάπτυξη των αγγείων του κοιλώματος και τη μετανάστευση των ενδοθηλιακών κυττάρων από το μεσόνεφρο. Στον όρχι, η έκφραση του *Pod1* περιορίζεται στα κύτταρα Leydig, στα περισωληναριακά μυοειδή κύτταρα και τα περικύτταρα. Στα ποντίκια XY, με μηδενική μετάλλαξη του γονιδίου, παρατηρείται αντιστροφή του φύλου ενώ οι γονάδες είναι υποπλαστικές και στα δύο φύλα (35).

- Τα γονίδια *DMRT1* και *DMRT2* (*Doublesex- and mab-related transcription factor*) απομονώθηκαν από μία περιοχή, στο βραχύ σκέλος του χρωμοσώματος 9 του

ανθρώπου, η οποία συνδυάζεται με ένα σύνδρομο έλλειψης 9p και περιλαμβάνει γοναδική δυσγενεσία και αντιστροφή του φύλου, στα XY άτομα. Τα γονίδια αυτά περιέχουν μία περιοχή σύνδεσης με το DNA, την αποκαλούμενη περιοχή DM. Η ίδια περιοχή βρίσκεται σε δύο πρωτεΐνες που συνδέονται με το DNA και παίζουν σημαντικό ρόλο στη διαφοροποίηση του φύλου. Η πρώτη είναι η *mab3* του σκώληκα *Caenorhabditis elegans* και η δεύτερη είναι η *doublesex* (*dsx*) της *Drosophila*. Στο ποντίκι, το γονίδιο *dmrt1* εκφράζεται στις αδιαφοροποίητες γονάδες και των δύο φύλων, αλλά, μετά την ορχική διαφοροποίηση, εκφράζεται, ειδικά, στον όρχι. Το *dmrt2* παρουσιάζει ευρύτερο φάσμα έκφρασης. Τα ποντίκια, στα οποία λείπει το *dmrt1*, παρουσιάζουν βλάβες του ώριμου όρχι, περιλαμβανομένης της αποδόμησης των σπερματικών σωληναρίων και της απουσίας των σπερματογονίων (36). Αντίθετα, στα XX ποντίκια, οι ωοθήκες έχουν φυσιολογική δομή. Στον άνθρωπο, δεν έχουν ανακινωθεί, μέχρι τώρα, σημειακές μεταλλάξεις των *DMRT1* και *DMRT2*.

- Τα γονίδια *Gata4* και *Fog2* (*Friend of Gata*) εμπλέκονται στη μορφογένεση της καρδιάς αλλά επηρεάζουν και τη γοναδική ανάπτυξη. Το γονίδιο *Gata4* είναι μεταγραφικός παράγοντας δακτύλων ψευδαργύρου που εκφράζεται και στα δύο φύλα, στα σωματικά κύτταρα της αναπτυσσόμενης γονάδας, την E11,5, στο ποντίκι (37). Αργότερα, η έκφρασή του περιορίζεται στα κύτταρα Sertoli και Leydig, ενώ καταστέλλεται στις εμβρυϊκές ωοθήκες, από την E13,5. Τα ποντίκια που δεν εκφράζουν το *Gata4* πεθαίνουν, *in utero*, μεταξύ E8,5 και E10,5, δηλαδή πριν αρχίσει η ανάπτυξη των γονάδων (38). Τα ποντίκια με μηδενική έκφραση του *Fog2* παρουσιάζουν ελαττωμένη έκφραση του *Sry* και μηδενική έκφραση των *Sox9*, *Amh* και *Dhh* αλλά διατηρούν τον ωοθηκικό δείκτη *Wnt4* (39). Στον άνθρωπο, το γονίδιο *GATA4* εκφράζεται από την αρχή της ορχικής ανάπτυξης ως την ώριμη ηλικία, στα κύτταρα Sertoli και στα κύτταρα Leydig. Η έκφρασή του συμπίπτει με τις περιόδους έντονης σύνθεσης ανδρογόνων, γεγονός που δηλώνει μία σχέση μεταξύ του *GATA4* και της στεροειδογένεσης (40).

## 5. Τα γονίδια που εκφράζονται στον αναπτυσσόμενο όρχι, μετά το *Sry* (2<sup>η</sup> Ομάδα) (Πίνακας 2)

- Το γονίδιο *Arx* (*Aristaless-related homeobox*) εκφράζεται, κυρίως, στα περισωληναριακά μυοειδή, τα ενδοθηλιακά και τα επιθηλιακά κύτταρα που καλύπτουν τον ινώδη χιτώνα. Στα πειραματόζωα με μηδενική μετάλλαξη του *Arx*, τα αρχικά στάδια σχηματισμού των σπερματικών χορδών εξελίσσονται κανονικά αλλά η διαφοροποίηση των κυττάρων Leydig επηρεάζεται, με παρακρινή τρόπο, από

τα γειτονικά κύτταρα του διάμεσου ιστού (41).

- Αναφέρθηκε ότι τα κύτταρα του φλοιού των επινεφριδίων προέρχονται από την ουρογεννητική ακρολοφία και ότι, η έκφραση του γονιδίου *Dax1*, στο ποντίκι, συμπίπτει με τα αρχικά στάδια της ορχικής διαφοροποίησης, και την έκφραση του *Sry*. Αλλά, ενώ το *Sry* εκφράζεται μόνο στα XY έμβρυα το *Dax1* εκφράζεται και στα XX έμβρυα. Όταν πρόκειται για έμβρυα XY το γονίδιο *Dax1* εντοπίζεται στην αδιαφοροποίητη γεννητική ακρολοφία, στα κύτταρα που προορίζονται να διαφοροποιηθούν σε κύτταρα Sertoli. Δρα παράλληλα ή μετά το *Sry* και προάγει τη μορφογένεση των σπερματικών χορδών και την έκφραση των υπόλοιπων ορχικών δεικτών. Καθώς η ανάπτυξη του όρχι προχωρά η έκφραση του, στην αρσενική γονάδα, ελαττώνεται αλλά διατηρείται στις αναπτυσσόμενες ωθήκες. Αυτό σημαίνει ότι, η παράταση της έκφρασης του *Dax1* στη γοναδική καταβολή είναι ασυμβίβαστη με την ανάπτυξη του όρχι. Για το λόγο αυτό χαρακτηρίζεται και ως αντι-ορχικό γονίδιο, μάλλον, παρά ως γονίδιο υπεύθυνο για την ανάπτυξη της ωθήκης (42). Οι μεταλλάξεις του γονιδίου *DAX1* προκαλούν συγγενή υποπλασία των επινεφριδίων και η ίδια κατάσταση παρατηρείται σε άτομα που παρουσιάζουν ελλείμματα της περιοχής DSS (Dosage-sensitive sex reversal) και υπογοναδοτρόπο υπογοναδισμό με υπογονιμότητα, παρά αντιστροφή του φύλου ή ψευδοεμφροδιτισμό. Το γεγονός αυτό ενισχύει την άποψη ότι, το *DAX1* παίζει ρόλο στη φυλετική διαφοροποίηση (43).

- Το γονίδιο *SOX9* ανήκει στην οικογένεια των ομόλογων του *SRY* γονιδίων (οικογένεια *SOX* για τα *SRY* related HMG box genes). Είναι το μόνο μέλος της οικογένειας *SOX* που παρουσιάζει την ιδιαιτερότητα να έχει ιντρονικές αλληλουχίες. Η αναμενόμενη πρωτεΐνη αποτελείται από 509 αμινοξέα και περιέχει μία περιοχή HMG 78 αμινοξέων, η οποία μοιάζει αντίστοιχα κατά 100 και 71% με τη *Sox* στο ποντίκι και την *SRY* στον άνθρωπο. Η καρβοξυτελική περιοχή της πρωτεΐνης είναι πλούσια σε προλίνη και γλουταμίνη γεγονός που δηλώνει ένα ρόλο παράγοντα μεταγραφής, με μία περιοχή ενεργοποιητή. Στον άνθρωπο και στο ποντίκι, το μήνυμα μπορεί να ανιχνευτεί, εκτός από άλλους ιστούς, στον υπό σχηματισμό οστίτη ιστό και τον όρχι, που αποτελούν τις κύριες θέσεις έκφρασης του.

Στους πάσχοντες από καμπτομελική δυσπλασία (Campromelic dysplasia) παρατηρούνται στοιχεία προσβολής του σκελετού (βράχυνση και γωνίωση των μακρών οστών, ατυπία στον αριθμό των πλευρών, υποπλασία της ωμοπλάτης κ.λ.π.), των ώτων, υδρονέφρωση και υδροκέφαλος. Τα προσβεβλημένα έμβρυα γεννιούνται νεκρά ή πεθαίνουν τους πρώτους μήνες της ζωής λόγω αναπνευστικής δυσχέρειας. Περιγράφεται σποραδική εμφάνιση και υπολειπόμενος χαρακτήρας κληρονομικό-

τητας, που συνδυάζεται με αντιστροφή του φύλου, στα 2/3 των ασθενών, με θηλυκό φαινότυπο και καρυότυπο XY (44, 45). Καμία ατυπία δεν έχει παρατηρηθεί στα γονοσώματα αλλά, σε αρκετές περιπτώσεις έχουν αναφερθεί επαναδιατάξεις στο χρωμόσωμα 17. Η ανάλυση των σημείων θραύσης στα χρωμοσώματα των καμπτομελικών ασθενών, που φέρουν ισοσταθμισμένες μεταθέσεις, επέτρεψε τη χαρτογράφηση της εμπλεκόμενης περιοχής στην ταινία q24 του χρωμοσώματος 17, ανάμεσα στα γονίδια της αυξητικής ορμόνης και της κινάσης της θυμίδινης. Η ζώνη που περιέχει το ή τα γονίδια που εμπλέκονται στην αιτιολογία της καμπτομελικής δυσπλασίας καθορίστηκε μεταξύ δύο δεικτών από τους οποίους ο ένας είναι το γονίδιο *SOX9*. Στις περιπτώσεις που συνυπάρχει και αντιστροφή του φύλου, διαπιστώθηκαν ελλείψεις και σημειακές μεταλλάξεις του γονιδίου. Οι περισσότερες, προκύπτουν, *de novo*, σε ετερόζυγο μορφή, αλλά υπάρχουν και δύο παραδείγματα μετάδοσης από ένα γονέα στο τέκνο του. Τα *Sox9*<sup>-/-</sup> ποντίκια πεθαίνουν πριν από τη διαφοροποίηση του όρχι. Το γονίδιο της *Ahh* αποτελεί αποκλειστικό στόχο του *Sox9*.

- Το γονίδιο *Sox 8*, ένα ακόμη μέλος της οικογένειας των ομόλογων του *Sry* γονιδίων, ενεργοποιείται, επίσης, κατά την ανάπτυξη του όρχι και εκφράζεται, κατά το πρότυπο ανάπτυξης της αρσενικής γονάδας, στα κύτταρα Sertoli, από την E12, ακριβώς μετά την ενεργοποίηση του *Sox9*, του οποίου τη λειτουργία ενισχύει (46, 47).

- Τα γονίδια *Dhh* και *Pdgfra* είναι ειδικά του αρσενικού για τη διαφοροποίηση και την ανάπτυξη των κυττάρων Leydig. Το *Dhh* εκφράζεται στα κύτταρα Sertoli και ο υποδοχέας του *Ptch1* στα κύτταρα του διάμεσου ιστού (48). Στις γονάδες XY, με μηδενική έκφραση του *Dhh* διακόπτεται η διαφοροποίηση των κυττάρων Leydig και ο σχηματισμός των σπερματικών χορδών. Κατά παρόμοιο τρόπο το γονίδιο *Pdgfra* εκφράζεται στο διάμεσο ιστό και επάγει τη διαφοροποίηση των κυττάρων Leydig. Οι γονάδες *Pdgfra*<sup>-/-</sup> παρουσιάζουν ανωμαλίες της ανάπτυξης των σπερματικών χορδών και του διάμεσου ιστού (49).

- Οι ινοβλαστικοί αυξητικοί παράγοντες ρυθμίζουν πολλαπλές αναπτυξιακές διεργασίες. Ο *Fgf9* εκφράζεται ευρέως στο έμβρυο του ποντικίου και από την E11,5 ανιχνεύεται στις σπερματικές χορδές της αναπτυσσόμενης αρσενικής γονάδας. Προάγει τον πολλαπλασιασμό των προδρόμων μορφών των κυττάρων Sertoli και η διακοπή της έκφρασής του προκαλεί αναστροφή του φύλου και διαταραχή του πολλαπλασιασμού του μεσεγγύματος, της μετανάστευσης των μεσοεμφρικών κυττάρων και της ανάπτυξης των κυττάρων Sertoli (18). Ο υποδοχέας *FgfR2* κατευθύνει τη διαφοροποίηση των κυττάρων Sertoli, ίσως λόγω πυρηνικής μετάθεσης, η οποία συμβαίνει παράλληλα με τη μετάθεση των *Sry* και *Sox9* (50).

- Το γονίδιο *vanin-1* (*Vnn1*) κωδικοποιεί για τη σύνθεση

μιας πρωτεΐνης της κυτταρικής επιφάνειας, η οποία συμμετέχει στην εγκατάσταση των κυττάρων του μυελού των οστών στο θύμο αδένα. Έχει, όμως, απομονωθεί και εκφράζεται από τα κύτταρα Sertoli της αναπτυσσόμενης αρσενικής γονάδας. Πιθανώς, να εμπλέκεται στη μετανάστευση κυττάρων από το μεσόνεφρο προς τους αναπτυσσόμενους όρχεις (51). Δεδομένου ότι, τα μεταναστεύοντα περισωληναριακά μυοειδή κύτταρα επάγουν το σχηματισμό των σπερματικών χορδών, μέσω αλληλεπιδράσεων με τα κύτταρα Sertoli, ενδέχεται η πρωτεΐνη που κωδικοποιεί το *Vnn1* να ρυθμίζει τη σύνδεση των κυττάρων Sertoli και την προσκόλλησή τους στα μυοειδή κύτταρα. Όμως, πιθανώς να ρυθμίζει και άλλες λειτουργίες αυτών των κυττάρων, όπως για παράδειγμα την αλληλεπίδρασή τους με τα γεννητικά κύτταρα (52).

## 6. Πρωτεΐνες για τη δομική οργάνωση του όρχι

### α. Μόρια κυτταρικής προσκόλλησης

**Ιντεγκρίνες:** Πρόκειται για ομάδα συμπλεγμάτων διαμβρανικών πρωτεϊνών, οι οποίες ενσωματώνονται στις κυτταρικές μεμβράνες και δρουν ως μόρια κυτταρικής προσκόλλησης. Σπουδαιότερη ιντεγκρίνη είναι ο υποδοχέας της φιμπρονεκτίνης που ανιχνεύεται στα κύτταρα Sertoli και συμμετέχει στη μορφογένεση των σπερματικών χορδών. Έχει διαπιστωθεί ότι, τα γεννητικά κύτταρα, τα οποία στερούνται της ιντεγκρίνης β1 δεν μεταναστεύουν φυσιολογικά στις γονάδες και δεν ενσωματώνονται στις σπερματικές χορδές (53).

Το μόριο προσκόλλησης **NCAM** (Neural Cell Adhesion Molecule), εκφράζεται στα μεσονεφρικά κύτταρα, αλλά όταν αυτά αρχίζουν τη μετανάστευσή τους προς τις γονάδες η έκφραση του διακόπτεται. Κύτταρα θετικά για το NCAM ανιχνεύονται στις σπερματικές χορδές από την E13 (54). Τα μεταναστεύοντα γεννητικά κύτταρα εκφράζουν το μόριο προσκόλλησης Ep-CAM και αργότερα, όταν συγκεντρωθούν στις γονάδες η έκφρασή του ελαττώνεται (55).

Η **P-καδχερίνη** εκφράζεται στο στάδιο της αδιαφοροποίησης γονάδας και στα δύο φύλα. Κατά το σχηματισμό των σπερματικών χορδών η έκφρασή της περιορίζεται στα κύτταρα Sertoli, στο αρσενικό, ενώ στις γονάδες ΧΧ διακόπτεται εντελώς (56). Μία παρόμοια πρωτεΐνη η E-καδχερίνη εκφράζεται αρχικά στα γεννητικά κύτταρα και ακολούθως, στα κύτταρα Sertoli. Αργότερα, εκφράζεται και στα κύτταρα Leydig. Την ανάγκη παρουσίας της καδχερίνης για την προσκόλληση των σωματικών κυττάρων με τα γεννητικά κύτταρα, κατά τη γοναδική μορφογένεση, έδειξαν πειράματα, *in vitro*, στα οποία καλλιεργήθηκαν γεννητικά και σωματικά κύτταρα, προερχόμενα από γονάδες και των δύο φύλων. Η παρουσία αντισώματος αντι-καδχερίνης στο καλλιεργητικό μέσο, εμπόδισε την προσκόλληση των δύο κυτταρικών τύπων και κατά συνέπεια το σχηματισμό των γοναδικών δομών (57).

### β. Ο κυτταροσκελετός

Είναι ένα στηρικτικό δίκτυο πρωτεϊνικών νημάτων στο κυτταρόπλασμα των ευκαρυωτικών κυττάρων, το οποίο εξασφαλίζει τη δομική σταθερότητα αυτών και τη δυνατότητα κατευθυνόμενης κίνησης. Στοιχεία του κυτταροσκελετού είναι τα μικρονημάτια ακτίνης, τα ενδιάμεσα νημάτια και οι μικροσωληνίσκοι, καθώς και άλλες επικουρικές πρωτεΐνες, υπεύθυνες για τη σύνδεση των στοιχείων αυτών μεταξύ τους, με την κυτταροπλασματική μεμβράνη και τις μεμβράνες των κυτταροπλασματικών οργανιδίων.

Ενδιάμεσα νημάτια νεστίνης, βημαντίνης και κυτταροκερατίνης εκφράζονται στα σωματικά κύτταρα του διαφοροποιούμενου εμβρυϊκού όρχι, αλλά δεν ανιχνεύονται μετά τη γέννηση (58). Τα νημάτια της ακτίνης ανιχνεύονται στα κύτταρα Sertoli, κατά τη διάρκεια σχηματισμού των σπερματικών χορδών. Μικρονημάτια μυοσίνης ανιχνεύονται στον ινώδη χιτώνα και γύρω από τις σπερματικές χορδές από την E16 ημέρα, στον όρχι του ποντικίου. Κατά τη γέννηση, οι μικροσωληνίσκοι συντελούν στην επανατοποθέτηση των γεννητικών κυττάρων κοντά στη βασική μεμβράνη του σπερματικού σωληναρίου (59).

### γ. Η εξωκυττάρια θεμέλια ουσία

Τα μόρια της εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας αποτελούν το στηρικτικό υπόστρωμα, εξασφαλίζουν τη δομική ακεραιότητα των κυττάρων και συμμετέχουν στους μηχανισμούς της κυτταρικής διαφοροποίησης. Το κολλαγόνο από κοινού με τη φιμπρονεκτίνη και τη λαμινίνη σχηματίζουν το βασικό υμένα (60, 61). Τα γεννητικά κύτταρα κατά την περίοδο της μετανάστευσής τους προς τις γονάδες εφάπτονται στα μόρια της εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας. Μετά την ήβη, η λαμινίνη παίζει σημαντικό ρόλο στην προσκόλληση των γεννητικών κυττάρων στη βασική μεμβράνη και στα παρακείμενα κύτταρα Sertoli, πριν από τη μετακίνησή τους στο προσαύλειο διαμέρισμα των σπερματικών σωληναρίων (62).

### δ. Οι πρωτεάσες και οι αναστολείς αυτών

Η ελεγχόμενη πρωτεόλυση είναι απαραίτητη κατά την οργανογένεση. Οι πρωτεάσες και οι αναστολείς τους συμμετέχουν στην ιστική αναδιοργάνωση. Οι κυστατίνες, αναστολείς των καθεψινών αποτελούν ένα από τα σημαντικότερα συστήματα αναστολέων των πρωτεασών της κυστεΐνης. Εμπλέκονται σε πολλές φυσιολογικές και παθολογικές διεργασίες, όπως η εμφύτευση του εμβρύου στη μήτρα και η καρκινική διήθηση. Πολλές από τις καθεψίνες και τις κυστατίνες εκφράζονται στον εμβρυϊκό και τον ώριμο όρχι (63). Αν και ο ρόλος τους δεν είναι ακόμη εντελώς σαφής, από τον τρόπο και το χρόνο έκφρασής τους, πιστεύεται ότι παίζουν ρόλο στη διαφοροποίηση του όρχι. Η τεστατίνη, ένα μόριο ομόλογο προς τις κυστατίνες, εκφράζεται στις αρσενικές γονάδες, στο ποντίκι, από την E11,5 (64). Η

πρωτεύαση *nexin-1* (*PN-1*) είναι αναστολέας της σερινοπρωτεύασης και μεταβάλλει την πρωτεολυτική δραστηριότητα της θρομβίνης, της θρυψίνης κ.α. Παρουσιάζει μεγάλο εύρος έκφρασης στο έμβρυο, κυρίως στο αναπτυσσόμενο νευρικό σύστημα. Αναφέρεται και, κατά το πρότυπο ανάπτυξης του αρσενικού, έκφραση στην αναπτυσσόμενη αρσενική γονάδα από την E11,5 και για 24 ώρες, πριν από την πλήρη διαφοροποίηση του όρχι (52). Η έκφρασή της στα κύτταρα Sertoli παρατηρείται από την E12,5 έως την E13,5. Η περιοχή του υποκινητή του γονιδίου *PN-1* περιέχει μία θέση δέσμευσης για την πρωτεΐνη WT1, η οποία εμπλέκεται στις γεννητικές ανωμαλίες που παρατηρούνται στους πάσχοντες του συνδρόμου Denny-Drash (65). Η έναρξη έκφρασης του *PN-1* στην αναπτυσσόμενη αρσενική γονάδα, τουλάχιστον 24 ώρες πριν από τη διαφοροποίηση του όρχι, δηλώνει ένα ρόλο στη συγκεκριμένη διεργασία. Είναι γνωστό ότι η βασική μεμβράνη που περιβάλλει τις σπερματικές χορδές παράγεται από τα κύτταρα Sertoli και τα περιωλθηναριακά μυοειδή κύτταρα (66). Ένας αναστολέας της πρωτεύασης, όπως η *PN-1*, εκκρινόμενος κατά την έναρξη της διαφοροποίησης των κυττάρων Sertoli, μπορεί να έχει ως ρόλο τη διατήρηση της ακεραιότητας της βασικής μεμβράνης, στα αρχικά στάδια σχηματισμού των σπερματικών χορδών.

#### Ευχαριστίες

Απευθύνονται στο Διευθυντή του Εργαστηρίου Ιστολογίας και Εμβρυολογίας της Ιατρικής Σχολής Καθηγητή κ. Χρήστο Κίττα για την ουσιαστική υποστήριξη στην πραγματοποίηση αυτής της εργασίας.

Το παρόν άρθρο αποτελεί μέρος της έρευνας με τίτλο: «FISH και Ανδρική Υπογονιμότητα» που επιχορηγείται από το ΕΠΕΑ-ΕΚ II, Πρόγραμμα Πυθαγόρας: Ενίσχυση Ερευνητικών Ομάδων στα Πανεπιστήμια, με κωδικό έργου 70/3/7361.

#### ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Jost A. Recherches sur la différenciation sexuelle de l'embryon de lapin. Arch Anat Microsc Morph Exp 1947, 36:271-315.
- Koopman P, Gubbay J, Vivian N, Goodfellow P, Lovell-Badge R. Male development of chromosomally female mice transgenic for Sry. Nature 1991, 351:117-121.
- Swain A, Lovell-Badge R. Mammalian sex determination: a molecular drama. Genes Dev 1999, 13:755-767.
- Hawkins JR, Taylor A, Berta, Levilliers J, Van der Auwera B, Goodfellow P. Mutational analysis of SRY: nonsense and missense mutations in XY sex reversal. Hum Genet 1992, 88:471-474.
- Park S, Jameson JL. Transcriptional regulation of gonadal development and differentiation. Endocrinology 2005, 146:1035-1042.
- Sinclair AH, Berta P, Palmer MS, Hawkins JR, Griffiths BL, Smith MJ et al. A gene from the human sex-determining region encodes a protein with homology to a conserved DNA-binding motif. Nature 1990, 346: 240-244.
- Gubbay J, Collignon J, Koopman P, Capel B, Economou A, Münsterberg A et al. A gene mapping to the sex-determining region of the mouse Y chromosome is a member of a novel family of embryonically expressed genes. Nature 1990, 346:245-250.
- Koopman P, Münsterberg A, Capel B, Vivian N, Lovell-Badge R. Expression of a candidate sex-determining gene during mouse testis differentiation. Nature 1990, 348:450-452.
- Agelopoulos R, Magre S, Patsavoudi E, Jost A. Initial phases of rat testis differentiation in vitro. J Embryol Exp Morphol 1984, 83:15-31.
- Yao HH, Whoriskey W, Capel B. Desert Hedgehog/Patched 1 signaling specifies fetal Leydig cell fate in testis organogenesis. Genes Dev 2002, 16:1433-1440.
- Schmahl J, Eicher EM, Washburn LL, Capel B. Sry induces cell proliferation in the mouse gonad. Development 2000, 127:65-73.
- Buehr M, Gu S, McLaren A. Mesonephric contribution to testis differentiation in the fetal mouse. Development 1993, 117:273-281.
- Martineau J, Nordqvist K, Tilmann C, Lovell-Badge R, Capel B. Male-specific cell migration into the developing gonad. Curr Biol 1997, 7:958-968.
- Karl J, Capel B. Sertoli cells of the mouse testis originate from the coelomic epithelium. Dev Biol 1998, 203:323-333.
- Tilmann C, Capel B. 1999. Mesonephric cell migration induces testis cord formation and Sertoli cell differentiation in the mammalian gonad. Development 126:2883-2890.
- Yao HH, Dinapoli L, Capel B. Meiotic germ cells antagonize mesonephric cell migration and testis cord formation in mouse gonads. Development 2003, 130:5895-5902.
- Capel B, Albrecht KH, Washburn LL, Eicher EM. Migration of mesonephric cells into the mammalian gonad depends on Sry. Mech Dev 1999, 84:127-131.
- Colvin JS, Green RP, Schmahl J, Capel B, Ornitz DM. Male-to-female sex reversal in mice lacking fibroblast growth factor 9. Cell 2001, 104:875-889.
- Ross AJ, Tilmann C, Yao HH, MacLaughlin D, Capel B. AMH induces mesonephric cell migration in XX gonads. Mol Cell Endocrinol 2003, 211:1-7.
- Miyamoto N, Yoshida M, Kuratani S, Matsuo I, Aizawa S. Defects of urogenital development in mice lacking *Emx2*. Development 1997, 124:1653-1664.
- Nef S, Verma-Kurvari S, Merenmies J, Vassali JD, Efstratiadis A, Accili D et al. Testis determination requires insulin receptor family function in mice. Nature 2003, 426:291-295.
- Brennan J, Capel B. One tissue, two fates: molecular genetic events that underlie testis versus ovary development. Nature Reviews/Genetics 2004, 5:509-521.
- Birk OS, Casiano DE, Wassif CA, Cigliati T, Zhao L, Zhao Y, et al. The LIM homeobox gene *Lhx9* is essential for mouse gonad formation. Nature 2000, 403, 909-913.
- Katoh-Fukui Y, Tsuchiya R, Shiroishi T, Nakahara Y, Hashimoto N, Noguchi K, et al. Male-to-female sex reversal in M33 mutant mice. Nature 1998, 393:688-692.
- Luo X, Ikeda Y, Parker KL. A cell-specific nuclear receptor is essential for adrenal and gonadal development and sexual differentiation. Cell 1994, 77:481-490.
- Ikeda Y, Luo X, Abbud R, Nilson JH, Parker KL. The nuclear receptor steroidogenic factor 1 is essential for the formation of the ventromedial hypothalamic nucleus. Mol Endocrinol 1995, 9:478-486.
- Ikeda Y, Shen W-H, Ingraham HA, Parker KL. Developmental expression of mouse steroidogenic factor-1, an essential regulator of the steroid hydroxylases. Mol Endocrinol 1994, 8:654-662.
- Lala DS, Syka PM, Lazarchik SB, Mangelsdor DJ, Parker KL, Heyman RA. Activation of the orphan nuclear receptor steroidogenic factor 1 by oxysterols. Proc Natl Acad Sci USA 1997, 94:4895-4900.
- Wilhelm D, Englert C. The Wilms tumor suppressor WT1 regulates early gonad development by activation of Sf1. Genes Dev 2002, 16:1839-1851.

30. Nagchtigal MW, Hirokawa Y, Enyeart-VanHouten DL, Flanagan JN, Hammer GD, Ingraham HA. Wilms' tumor 1 and dax-1 modulate the orphan nuclear receptor SF-1 in sex-specific gene expression. *Cell* 1998, 93:445-454.
31. Kreidberg JA, Sariola H, Loring JM, Maeda M, Pelletier J, Housman D. Expression of the Wilms' tumor gene WT1 is required for early kidney development. *Cell* 1993, 74:679-691.
32. Armstrong JF, Pritchard-Jones K, Bickmore WA, Hastie ND, Bard JB. The expression of the Wilms' tumor gene, WT1, in the developing mammalian embryo. *Mech Dev* 1993, 40:85-97.
33. Moore AW, McInnes L, Kreidberg JA, Hastie ND, Schedl A. YAC complementation shows a requirement for Wt1 in the development of epicardium, adrenal gland and throughout nephrogenesis. *Development* 1999, 126:1845-1857.
34. Quaggin SE, Swartz L, Cui S, Igarashi P, Deimling J, Post M. The basic helix-loop-helix protein pod1 is critically important for kidney and lung organogenesis. *Development* 1999, 126:5771-5783.
35. Cui S, Ross A, Stallings N, Parker KL, Capel B, Quaggin SE. Disrupted gonadogenesis and male-to-female sex reversal in Pod1 knockout mice. *Development* 2004, 131:4095-4105.
36. Raymond CS, Murphy MW, O'Sullivan MG, Bardwell VJ, Zarkower D. Dmrt1, a gene related to worm and fly sexual regulators, is required for mammalian testis differentiation. *Genes Dev* 2000, 14:2587-2595.
37. Viger RS, Mertineit C, Trasler JM, Nemer M. Transcription factor GATA-4 is expressed in a sexually dimorphic pattern during mouse gonadal development and is a potent activator of the Mullerian inhibiting substance promoter. *Development* 1998, 125:2665-2675.
38. Molkentin JD, Lin Q, Duncan SA, Olson EN. Requirement of the transcription factor GATA4 for heart tube formation and ventral morphogenesis. *Genes Dev* 1997, 11:1061-1072.
39. Tevosian SG, Albrecht KH, Crispino JD, Fujiwara Y, Eicher EM, Orkin SH. Gonadal differentiation, sex determination and normal Sry expression in mice require direct interaction between transcription partners GATA4 and FOG2. *Development* 2002, 129:4627-4634.
40. Ketola I, Pentikainen V, Vaskivuo T, Ilvesmaki V, Herva R, Dunkel L. Expression of the transcription factor GATA-4 during human testicular development and disease. *J Clin Endocrinol Metab* 2000, 85:3925-3931.
41. Kitamura K, Yanazawa M, Sugiyama N, Miura H, Iizuka-Kogo A, Kusaka M, et al. Mutation of ARX causes abnormal development of forebrain and testes in mice and X-linked lissencephaly with abnormal genitalia in humans. *Nature Genet* 2002, 32:359-369.
42. Goodfellow PN, Camerino G. DAX-1, an "antitestis" gene. *Experientia Suppl* 2001, 57-69.
43. Meeks JJ, Crawford SE, Russell TA, Morohashi K, Weiss J, Jameson JL. Dax1 regulates testis cord organization during gonadal differentiation. *Development* 2003, 130:1029-1036.
44. Foster JW, Dominguez-Steglich MA, Guioli S, Kwok C, Weller PA, Stevanovic M et al. Campomelic dysplasia and autosomal sex reversal caused by mutations in an SRY-related gene. *Nature* 1994, 372:525-530.
45. Wagner T, Wirth J, Meyer J, Zabel B, Held M, Zimmer J et al. Autosomal sex reversal and campomelic dysplasia are caused by mutations in and around the SRY-related gene SOX9. *Cell* 1994, 79:1111-1120.
46. Schepers G, Wilson M, Wilhelm D, Koopman P. SOX8 is expressed during testis differentiation in mice and synergizes with SF1 to activate the Amh promoter in vitro. *J Biol Chem* 2003, 278:28101-28108.
47. Chaboissier M-C, Kobayashi A, Vidal V, Lützkendorf S, van de Kant H, Wegner M et al. Functional analysis of Sox8 and Sox9 during sex determination in the mouse. *Development* 2004, 131:1891-1901.
48. Clark A, Garland K, Russel L. Desert hedgehog (Dhh) gene is required in the mouse testis for formation of adult-type Leydig cells and normal development of peritubular cells and seminiferous tubules. *Biol Reprod* 2000, 63:1825-1838.
49. Brennan J, Tilmann C, Capel B. Pdgfr- $\alpha$  mediates testis cord organization and fetal Leydig cell development in the XY gonad. *Genes Dev* 2003, 17:800-810.
50. Schmahl J, Kim Y, Colvin JS, Ornitz DM, Capel B. Fgf9 induces proliferation and nuclear localization of FGFR2 in Sertoli precursors during male sex determination. *Development* 2004, 131:3627-3636.
51. Bowles J, Bullejos M, Koopman P. A subtractive gene expression screen suggests a role for vanin-1 in testis development in mice. *Genesis* 2000, 27:124-135.
52. Grimmond S, Van Hateren N, Siggers P, Arkell R, Larden R, Soares MB. Sexually dimorphic expression of protease nexin-1 and vanin-1 in the developing mouse gonad prior to overt differentiation suggests a role in mammalian sexual development. *Hum Mol Genet* 2000, 10:1553-1560.
53. Anderson R, Fassler R, Georges-Labouesse E, Hynes RO, Bader BL, Kreidberg JA, et al. Mouse primordial germ cells lacking beta 1 integrins enter the germline but fail to migrate normally to the gonads. *Development* 1999, 126:1655-1664.
54. Moller CJ, Byskov AG, Roth J, Celis JE, Bock E. NCAM in developing mouse gonads and ducts. *Anat Embryol* 1991, 184:541-548.
55. Anderson R, Schaible K, Heasman J, Wylie C. Expression of the homophilic adhesion molecule, Ep-CAM, in the mammalian germ line. *J Reprod Fertil* 1999, 116:379-384.
56. Lin LH, DePhilip RM. Sex-dependent expression of placental (P)-cadherin during mouse gonadogenesis. *Anat Rec* 1996, 246:535-544.
57. Mackay S, Nicholson CL, Lewis SP, Brittan M. E-cadherin in the developing mouse gonad. *Anat Embryol* 1999, 200:91-102.
58. Frojman K, Pelliniemi LJ, Lendahl U, Virtanen I, Ericksson JE. The intermediate filament protein nestin occurs transiently in differentiating testis of rat and mouse. *Differentiation* 1997, 61:243-249.
59. Kanai Y, Kawakami H, Takata K, Kurohmaru M, Hirano H, Hayashi Y. Involvement of actin filaments in mouse testicular cord organization in vivo and in vitro. *Biol Reprod* 1992, 46:233-245.
60. Pelliniemi LJ, Paranko J, Grund SK, Frojman K, Foidart JM, Lakkala-Paranko T. Extracellular matrix in testicular differentiation. *Ann NY Acad Sci* 1984, 438:405-416.
61. Agelopoulou R, Magre S. Expression of fibronectin and laminin in fetal male gonads in vivo and in vitro with and without testicular morphogenesis. *Cell Differ* 1987, 21:31-36.
62. el Ouali H, Leheup BP, Gelly JL, Grignon G. Laminin ultrastructural immunolocalization in rat testis during ontogenesis. *Histochemistry* 1991, 95:241-246.
63. Chung SS, Zhu LJ, Mo MY, Silvestrini B, Lee WM, Cheng CY. Evidence for cross-talk between Sertoli and germ cells using selected cathepsins as markers. *J Androl* 1998, 19:686-703.
64. Tohonen V, Osterlund K, Nordqvist K. Testatin: A cystatin-related gene expressed during early testis development. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998, 95:14208-14213.
65. Pelletier J, Bruening W, Li FP, Haber DA, Glaser T, Housman DE. WT1 mutations contribute to abnormal genital system development and hereditary Wilms' tumour. *Nature* 1991, 353:431-434.
66. Tung PS, Fritz IB. Morphogenetic restructuring and formation of basement membranes by Sertoli cells and peritubular myoid cells in coculture: inhibition of the morphogenetic cascade by cyclic AMP derivatives and by blocking direct cell contact. *Dev Biol* 1987, 120:139-153.

# ΕΞΕΛΙΞΗ ΤΩΝ ΜΗΧΑΝΙΣΜΩΝ ΚΑΘΟΡΙΣΜΟΥ ΤΟΥ ΦΥΛΟΥ

ΡΩΞΑΝΗ ΑΓΓΕΛΟΠΟΥΛΟΥ, ΓΙΑΓΚΟΣ ΛΑΒΡΑΝΟΣ, ΠΑΝΑΓΙΩΤΑ ΜΑΝΩΛΑΚΟΥ,  
ΔΗΜΗΤΡΙΟΣ ΜΑΝΤΑΣ

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΙΣΤΟΛΟΓΙΑΣ-ΕΜΒΡΥΟΛΟΓΙΑΣ ΙΑΤΡΙΚΗΣ ΣΧΟΛΗΣ - ΕΚΠΑ

## Περίληψη

Η σύγκριση μεταξύ των διαφορετικών οργανισμών και τα δεδομένα της μοριακής φυλογενετικής, δίνουν μια αδρή εικόνα για την εξέλιξη των μηχανισμών καθορισμού του φύλου, από την εμφάνιση της αμφιγονικής αναπαραγωγής μέχρι σήμερα. Στα ερπετά, το φύλο καθορίζεται με βάση τη θερμοκρασία. Αντίθετα, στα έντομα, φυλοκαθοριστικό ρόλο παίζουν ορισμένα γονίδια (γονιδιακός φυλοκαθορισμός), αλλά η εντόπιση του «κρίσιμου» γονιδίου δεν είναι πάντοτε σταθερή. Στα αμφίβια, τα πτηνά και τα θηλαστικά, ο καθορισμός του φύλου γίνεται με βάση την παρουσία συγκεκριμένων χρωμοσωμάτων (γονοσωμάτων), των Z/W και X/Y (χρωμοσωμικός φυλοκαθορισμός). Τα γονοσώματα εξελίχθηκαν από ένα αρχικό αυτοσωμικό ζεύγος, όπως πρόσφατα επιβεβαίωσαν οι συγκριτικές αναλύσεις αλληλουχιών DNA. Για τη μελέτη των μηχανισμών φυλοκαθορισμού χρησιμοποιούνται οι οργανισμοί-μοντέλα *Drosophila melanogaster* και *Caenorhabditis elegans*, στους οποίους το φύλο ελέγχεται με βάση την αναλογία των χρωμοσωμάτων X προς τα αυτοσώματα. Ο καθορισμός του φύλου, σε επίπεδο κυττάρου για τη *D. melanogaster* και σε επίπεδο οργανισμού για τον *C. Elegans*, ρυθμίζεται από τη μεταγραφική δραστηριότητα των γονιδίων *sxl* και *xol-1*, αντίστοιχα.

**Λέξεις κλειδιά:** αρωματάση, αυτοσώματα, γονοσώματα, ερμαφρόδιτα, νηματώδη, παλίνδρομα, φύλο.

## Abstract

The mechanisms of sex determination have been extensively studied over the last fifty years, due to their importance for the maintenance of fertility and the development of normal, mature adults, as far as androgen and estrogen-regulated functions are concerned. Sex determination strategies have evolved during a period of several million years, dating back to the formation of the first aerobic, eukaryotic cell from two initially independent cells, the mitochondrion and the eukaryotic host. Since then, a series of sex determination patterns have evolved, examples of which can still be traced today. For example, most reptiles experience a brief thermo-sensitive period during embryonic life that determines aromatase expression and thus, sex formation. In insects, it is more usual to observe a genetic sex determination pattern, where the presence of a dominant gene regulates sex selection. In *Drosophila melanogaster* and *Caenorhabditis elegans*, the ratio of autosomes to X chromosomes determines the expression of two genes, *sxl* & *xol-1*, respectively that control a cascade of molecules related to sex differentiation. Birds, avians and mammals seem to have adopted a more sophisticated pattern, since a whole chromosome acts as the major sex determinant, both in the case of Z/W and X/Y sex chromosome pairs. The X and Y have recently been proved to be descendants of an original autosomal pair, whose chromosomes gradually degenerated to form the two distinct structures that are currently recognized as X and Y chromosomes. This gradual lack of homology between the two gonosomes is attributed to a series of recombination failures, all of which are chronologically associated to the formation of distinct divisions of mammals (i.e. monotremes, marsupials, hominids etc).

**Key words:** aromatase, autosomes, gonosomes, hermaphrodite, nematoids, palindromes, sex.

## 1. Εισαγωγή

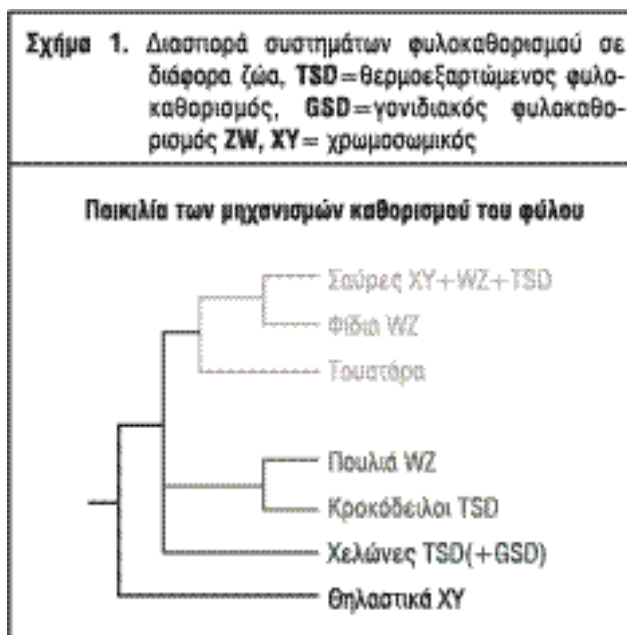
Η διαφοροποίηση του φύλου αποτελεί σημαντική ιδιότητα των περισσότερων ζωντανών οργανισμών, με σημασία όχι μόνο για την αναπαραγωγική τους συμπεριφορά, αλλά και για την καθημερινή τους ζωή. Η φυσιολογική έκφραση του φύλου συμβάλλει σημαντικά στην ομοιοστασία του ατόμου, ενώ αντίθετα, οι διαταραχές αυτής συνεπάγονται γενικευμένη ανισορροπία που φτάνει μέχρι το σημείο αδυναμίας επιβίωσης των ατόμων που πάσχουν (φυσικός / βιολογικός θάνατος) αλλά και του πληθυσμού στον οποίο ανήκουν (αναπαραγωγικός θάνατος). Κατά συνέπεια, η μελέτη της διαχρονικής πορείας της εξέλιξης του φύλου, αποκτά εξαιρετικό ενδιαφέρον, όπως αυτή γίνεται αντιληπτή σήμερα, με τη φυσιολογική και την παθοφυσιολογική δυναμική της.

Για την εξέλιξη του καθορισμού του φύλου δεν έχει ακόμη διαμορφωθεί μία συνεχής και ολοκληρωμένη θεωρία. Βασικές πληροφορίες προέρχονται από πειραματικά δεδομένα στα σύγχρονα είδη και από την πρόσφατη προσπάθεια συγκριτικής χαρτογράφησης του γονιδιώματος αυτών (στα πλαίσια του Human Genome Project). Η αξιοποίησή τους επιτρέπει τη διερεύνηση της διαδικασίας από την οποία προέκυψε, μέσω των μεταλλάξεων, της φυσικής επιλογής και της γενετικής δυναμικής των πληθυσμών, από ένα κοινό κύτταρο-πρόγονο, η ποικιλία μορφών ζωής του 21ου αιώνα.

Θα πρέπει εξαρχής να επισημανθεί ότι η συνύπαρξη διαφορετικών φυσιολογικών μηχανισμών καθορισμού του φύλου στο σύγχρονο κόσμο προϋποθέτει την παραδοχή πολλών ξεχωριστών και παράλληλων μεταξύ τους εξελικτικών γραμμών / επιπέδων. Σε κάθε επίπεδο, η αλληλεπίδραση των οργανισμών του ίδιου οικοσυστήματος μεταξύ τους και με το περιβάλλον καθορίζει, μακροπρόθεσμα, τις αλλαγές που παρατηρούνται στο φαινότυπο των ειδών, μέσω της αρχής της διατήρησης και επιβίωσης του καλύτερα προσαρμοσμένου (ευνοημένου) οργανισμού. Αυτή η αλληλεπίδραση τροποποιεί, επομένως, διαχρονικά, και την εκδήλωση των φυλετικών ιδιοτήτων με αποτέλεσμα μία μεγάλη ποικιλία μοντέλων καθορισμού του φύλου, που παρατηρείται ακόμη και σε συγγενή είδη (π.χ. ερπετά). Βάσει των περιβαλλοντικών συνθηκών στις οποίες προσαρμόστηκε το κάθε είδος, εμφανίζονται διαφορετικοί μηχανισμοί για τον καθορισμό του φύλου (θερμοεξαρτώμενος, γονιδιακός, χρωμοσωμικός) (Σχήμα 1).

Για την κατανόηση της εξελικτικής του καθορισμού του φύλου, πρέπει να αναφερθεί ότι, όπως και κάθε άλλο φαινοτυπικό γνώρισμα των οργανισμών, το φύλο είναι προϊόν πρωτεϊνικής δράσης. Είναι γνωστό ότι η κάθε πρωτεΐνη υπόκειται σε μεταγραφικό, μετα-μεταγραφικό, μεταφραστικό και μετα-μεταφραστικό έλεγχο. Κατ'αντιστοιχία, η ανάπτυξη μηχανισμών καθορισμού του φύλου, δεν αφορά παρά στη διαχρονική επαγωγή μεταβολών στα

ρυθμιστικά συστήματα «κρίσιμων» για την αναπαραγωγή πρωτεϊνών.



## 2. Ο ρόλος των μιτοχονδρίων στην εμφάνιση της αμφιγονίας

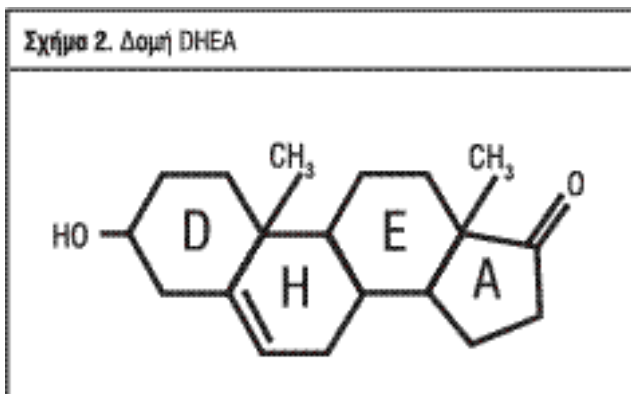
Η πρώτη κυτταρική μορφή ζωής θεωρείται ότι εμφανίστηκε στη γη πριν από περίπου 3,2 δισεκατομμύρια χρόνια (ΔΧΠ). Παρουσίαζε απλούστερη εσωτερική οργάνωση και μικρότερη λειτουργική διαφοροποίηση από τα κύτταρα των σύγχρονων οργανισμών και έμοιαζε περισσότερο με αρχαιοβακτήριο. Περιβαλλόταν από μεμβράνη και περιείχε το γενετικό υλικό, κατά πάσα πιθανότητα τύπου RNA, στο κυτταρόπλασμα. Η αναπαραγωγή της ήταν μονογονική (διαίρεση / σχάση) και βασιζόταν στον αυτοδιπλασιασμό του γενετικού υλικού.

Περίπου 3 ΔΧΠ, πιστεύεται ότι εμφανίστηκε ο μηχανισμός του ανασυνδυασμού του γονιδιώματος. Αναπτύχθηκε ως μέθοδος επιδιόρθωσης του DNA εξαιτίας της αυξημένης ανάγκης ελέγχου της ομαλής μεταβίβασης του γενετικού υλικού από τη μία κυτταρική γενιά στην επόμενη. Εξάλλου, ο ανασυνδυασμός επέτρεπε μεγαλύτερες ανακατατάξεις γενετικού υλικού (σε σχέση με τις τυχαίες μεταλλάξεις) και προκάλεσε την επαγωγή μόνιμων αλλαγών στο γονιδίωμα. Σε κάθε περίπτωση, αναγκαιότητα, αλλά και δυνατότητα καθορισμού του φύλου δεν είχε, ακόμα, προκύψει.

Περίπου 2 ΔΧΠ εντοπίζεται ο κοινός πρόγονος των ευκαρυωτών. Στο μεταξύ, οι αυξανόμενες λειτουργικές ανάγκες του κυττάρου προκάλεσαν τη διαμερισματοποίη-

ση του εσωτερικού του, με τη δημιουργία των πρώτων οργανιδίων και του πυρηνικού φακέλου.

Μέσα σε 1-2 ΔΧΠ, τοποθετεί η συγκριτική και εξελικτική βιολογία την εμφάνιση της αμφιγονικής αναπαραγωγής. Προκειμένου να εξηγηθεί ο μηχανισμός με τον οποίο προέκυψε, έχουν διατυπωθεί διαφορετικές απόψεις, με πλέον πρόσφατη εκείνη που θεωρεί καθοριστικό το ρόλο του μιτοχονδρίου, που ενσωματώθηκε στο κύτταρο-ξενιστή περίπου την ίδια περίοδο (1). Συγκεκριμένα, υποστηρίζει ότι, στον ξενιστή εκφράζεται η ορμόνη δεϋδροεπιανδροστερόνη (DHEA) (Σχήμα 2), η οποία επάγει την αποσυμπύκνωση του DNA. Εξαιτίας αυτού του πλεονεκτήματος, τα μιτοχόνδρια διατήρησαν τη σχέση τους με τον ξενιστή ενώ και ο ξενιστής επωφελήθηκε από την ενεργειακή απόδοση της μιτοχονδριακής λειτουργίας. Με τη δημιουργία του πυρηνικού φακέλου και των ιστονών, η DHEA, εκτός από την πυρηνική της δραστηριότητα χρησιμοποιήθηκε και στη μιτοχονδριακή λειτουργία, δεδομένου ότι διαχωρίστηκε το γενετικό υλικό του μιτοχονδρίου από το πυρηνικό DNA. Κύτταρα που διέθεταν μιτοχόνδριο και χαρακτηρίζονταν από έντονη σύνθεση ιστονών απέκτησαν πληθυσμιακό πλεονέκτημα, αφού συνδύαζαν επαρκή αερόβιο μεταβολισμό και μεγάλο δυναμικό πολλαπλασιασμού. Για την αναπαραγωγή των κυττάρων αυτών ήταν, αρχικά, απαραίτητη η ανεξάρτητη μονογονική διαίρεση του μιτοχονδρίου και του ξενιστή και στη συνέχεια η σύντηξη των δύο επιμέρους παραγώγων, προκειμένου να σχηματιστεί, αμφιγονικά πλέον, το τελικό κύτταρο. Στη συνέχεια, το μιτοχόνδριο θα πρέπει να έχασε την ανεξαρτησία του, καθώς μέρος των γονιδίων του, μεταφέρθηκε στον πυρήνα και έτσι διαμορφώθηκαν δύο πλέον, υβριδικά στοιχεία, καθένα με μιτοχόνδριο και πυρήνα, τα οποία συνέχισαν την αμφιγονική αναπαραγωγή, αλλά άρχισαν να αποκλίνουν σταδιακά, καθώς δημιουργήθηκαν ξεχωριστές εξελικτικές σειρές για τα διάφορα είδη. Η διαδικασία αυτή προτείνεται από τον JM Howard ως η πιθανότερη προέλευση του μηχανισμού της αμφιγονικής αναπαραγωγής. Εξάλλου, σε ορισμένα σύγχρονα είδη, όπως η μέδουσα, παρατηρείται εναλλαγή μονογονικής (πολύποδας) και αμφιγονικής (ώριμη μέδουσα) αναπαραγωγής, αλλά ο



αμφιγονικός οργανισμός είναι αυτός που εμφανίζει μεγάλο χρόνο ζωής, ενώ τα μονογονικά άτομα επιβιώνουν μόνο όσο χρειάζεται για να παράγουν την ώριμη μέδουσα.

### 3. Μη χρωμοσωμικός καθορισμός του φύλου: ερπετά – έντομα

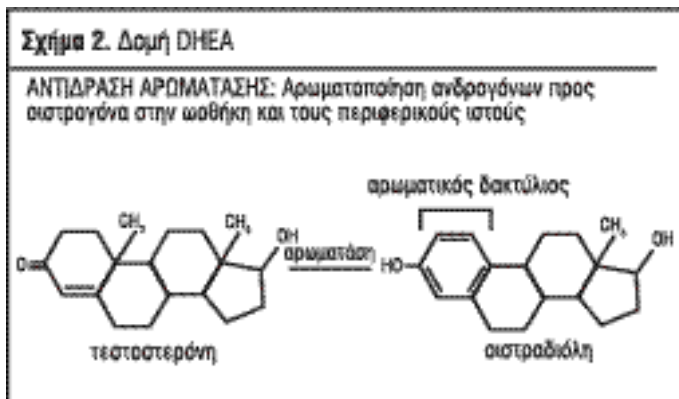
Το βασικό πλεονέκτημα της αμφιγονικής αναπαραγωγής είναι η δυνατότητα ανάμιξης γενετικού υλικού διαφορετικής προέλευσης, γεγονός που διευκολύνει σημαντικά την απόκτηση νέων, «επιθυμητών» ιδιοτήτων, σε κάθε γενιά. Στο διαρκώς μεταβαλλόμενο αλλά, κατά κανόνα, αναταγωνιστικό περιβάλλον μία τέτοια δυνατότητα αποτελεί κριτήριο επιβίωσης. Όμως, οι δυνατότητες διασταύρωσης των ατόμων περιορίζονται μεταξύ αυτών που διαθέτουν συμπληρωματικούς μηχανισμούς αναπαραγωγής, οι οποίοι καθορίζονται με βάση περιβαλλοντικά ή γονιδιακά ελεγχόμενα μοντέλα πρωτεϊνικής έκφρασης, τα φύλα.

Σε μία πρώτη φάση, ο άμεσος ρυθμιστής καθορισμού του φύλου είναι το περιβάλλον. Η επίδρασή του στη σύνθεση των κυτταρικών πρωτεϊνών και των υποδοχέων τους, οδήγησε, αρχικά, σε προσαρμογή των ειδών. Έτσι, ο πρώτος από τους μηχανισμούς καθορισμού του φύλου είναι ο περιβαλλοντικός και, ειδικότερα, ο θερμοεξαρτώμενος, ο οποίος συναντάται και σήμερα σε ορισμένα είδη χελώνας, σε ερπετά (κροκόδειλοι, γιγάντιες σαύρες τουατάρα και άλλες μικρότερες) και ορισμένα είδη ψαριών (2). Η θερμοκρασία καθορίζει την παραγωγή ή τη διαμόρφωση κρίσιμων πρωτεϊνών που κατευθύνουν την ανάπτυξη των χαρακτηριστικών του φύλου.

Σε επόμενο εξελικτικό στάδιο, τοποθετείται η εμφάνιση ειδικών γονιδίων για τον καθορισμό του φύλου (3). Τα γονίδια αυτά, κατά κανόνα, κωδικοποιούν για τις πρωτεΐνες της προηγούμενης φάσης. Η διαφορά εντοπίζεται στο ότι, στην περίπτωση αυτή, το φυλοκαθοριστικό γονίδιο εκφράζεται αποκλειστικά σε ένα φύλο, χωρίς να απαιτείται περιβαλλοντική παρέμβαση. Συνήθως, η έκφραση του κρίσιμου γονιδίου (π.χ. SRY) οδηγεί στην ανάπτυξη αρσενικού ατόμου, ενώ η απουσία έκφρασης αυτού οδηγεί στην ανάπτυξη θηλυκού.

#### 3.1 Ερπετά

Οι έρευνες του C. Pieau έχουν προσφέρει σημαντικές πληροφορίες για το θερμοεξαρτώμενο καθορισμό του φύλου στα ερπετά και κυρίως στις χελώνες, τις σαύρες και τους κροκόδειλους (4). Το θερμοευαίσθητο στάδιο αφορά στη δραστηριότητα του συμπλέγματος της αρωματάσης, τελικού ενζύμου στην οδό βιοσύνθεσης των οιστρογόνων από τα ανδρογόνα (Σχήμα 3) (5). Τα οιστρογόνα είναι απαραίτητα, όχι μόνο για την ανάπτυξη του θηλυκού ατόμου



αλλά και για τη διατήρηση των δομών του γεννητικού συστήματος του θήλεος και κυρίως των ωοθηκών. Η θερμοκρασία τροποποιεί τους μεταγραφικούς παράγοντες για το γονίδιο της αρωματάσης και επάγει ή αναστέλλει την έκφρασή του. Άλλα γονίδια σχετικά με τη διαφοροποίηση του φύλου, γνωστά από τις μελέτες στα θηλαστικά, όπως τα *WT1*, *SF1*, *SOX9*, *DAX1* & *AMH*, έχουν εντοπιστεί και στα ερπετά, αλλά δεν είναι γνωστό αν σχετίζονται άμεσα με την αρωματάση και τη θερμοεξαρτώμενη ρύθμισή της.

Σε μια σειρά πειραμάτων στη χελώνα *Emys Orbicularis*, η ομάδα του C. Pieau εξέτασε την επίδραση της θερμοκρασίας, στη συγκέντρωση των οιστρογόνων και την εξέλιξη της εμβρυογένεσης. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι, η αναστολή της δραστηριότητας της αρωματάσης με λετροζόλη (Letrozole = αναστολέας αρωματάσης) προκαλεί αρρενοποίηση (διαφορετικού βαθμού) σε όλα τα στάδια της κύησης και μέχρι τον 1<sup>ο</sup> μήνα της ζωής, ακόμη και σε θερμοκρασία 30°C, που αντιστοιχεί στη θερμοκρασία της φυσιολογικής ανάπτυξης του θηλυκού ατόμου (6).

### 3.2 Έντομα

Ενδιαφέρον παρουσιάζει το είδος *Megaselia scalaris*, στο οποίο το φυλοκαθοριστικό γονίδιο συμπεριφέρεται ως τρανσποζόνιο, δηλαδή ως κινητή αλληλουχία που αντιγράφεται και ενσωματώνεται σε τυχαίες θέσεις στα διάφορα χρωμοσώματα. Στη *Drosophila*, για την οποία θα γίνει εκτενής αναφορά αργότερα, παρατηρείται, επίσης, γονιδιακός καθορισμός του φύλου, ενώ κάτι ανάλογο ισχύει και για το νηματώδη σκώληκα *Caenorhabditis elegans*. Ωστόσο, σε αυτά τα είδη, τα γονίδια καθορισμού του φύλου έχουν σταθερή εντόπιση σε συγκεκριμένα χρωμοσώματα (7). Κατά συνέπεια, πρόκειται για ένα πιο σύνθετο πρότυπο καθορισμού του φύλου, δηλαδή ένα ενδιάμεσο στάδιο μεταξύ του γονιδιακού καθορισμού του φύλου σε αυτοσωμικά χρωμοσώματα (απουσία συγκεκριμένου εξειδικευμένου χρωμοσώματος υπεύθυνου για τον καθορισμό του φύλου) και του γνήσιου χρωμοσωμικού φυλοκαθορισμού, που αφορά σε αμιγή γονοσώματα.

## 4. Χρωμοσωμικός καθορισμός του φύλου: αμφίβια-πτηνά-θηλαστικά

Ο χρωμοσωμικός καθορισμός του φύλου αποτελεί τον πλέον σύγχρονο μηχανισμό διάκρισης των φύλων. Εμφανίζει μία εξελικτική ιστορία 300 εκατομμυρίων ετών αν και οι καταβολές του, όπως ήδη αναφέρθηκε, είναι πολύ παλαιότερες. Πρακτικά, γίνεται αποδεκτό ότι, με μηχανισμούς ανασυνδυασμού και μετάθεσης, οι σχετικές με το φύλο αλληλουχίες συγκεντρώθηκαν σε ένα μόνο αυτοσωμικό χρωμόσωμα, το οποίο μετατράπηκε σε φυλετικό, αφού η παρουσία ή η απουσία του σε ένα άτομο καθορίζει το φύλο του (Σχήμα 4).

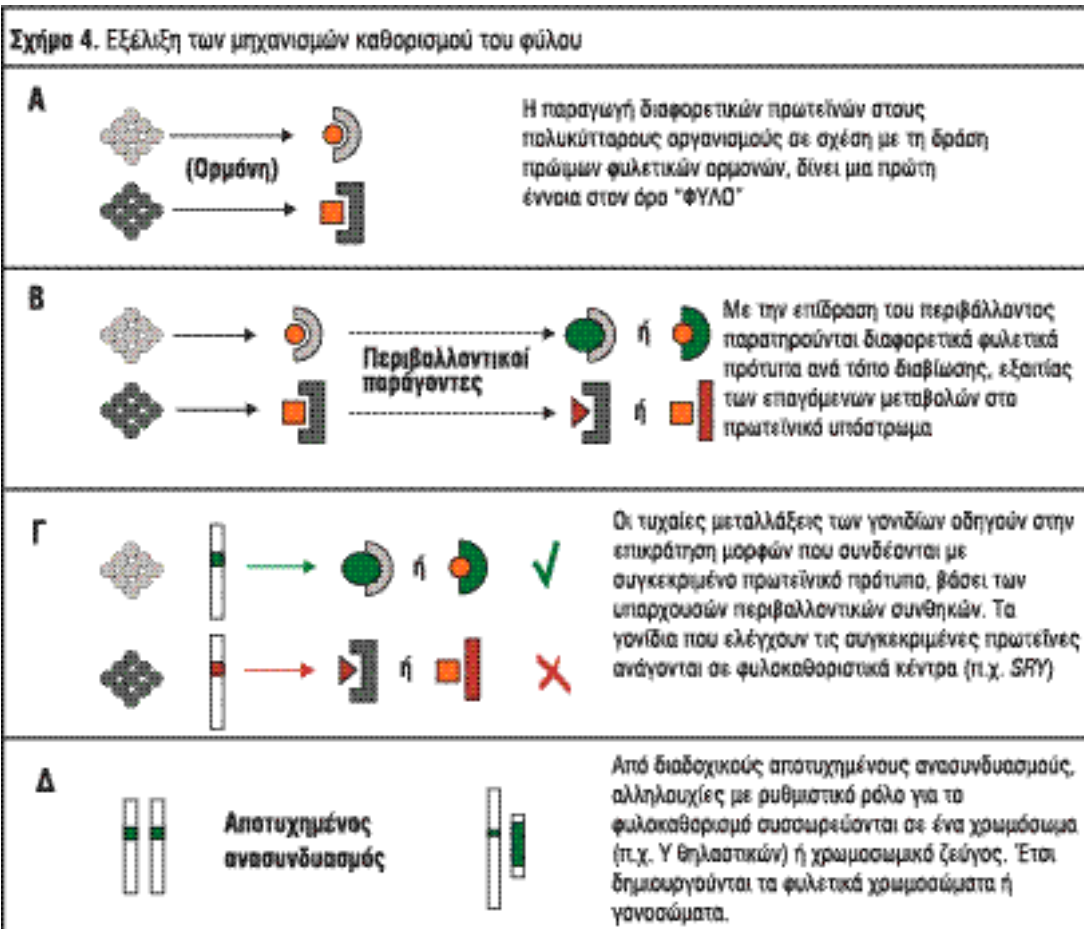
Στα είδη που φέρουν δύο όμοια φυλετικά χρωμοσώματα στο αρσενικό και δύο διαφορετικά χρωμοσώματα στο θηλυκό, γίνεται λόγος για Z/W καθορισμό του φύλου. Παρατηρείται στα πτηνά, τα φίδια, τις σαύρες και πολλά ψάρια. Αντίθετα, ο αποκαλούμενος X/Y καθορισμός του φύλου, χαρακτηρίζεται από ομοζυγωτία στο θηλυκό και ετεροζυγωτία στο αρσενικό άτομο. Αφορά, κυρίως, στα θηλαστικά και σε ορισμένα είδη φυτών (*Silene latifolia*) και εντόμων (8).

Για τα X και Y γονοσώματα των θηλαστικών και άλλων ειδών, ο Susumu Ohno (3) πρότεινε ότι: 1) το X χρωμόσωμα συντηρείται εξελικτικά μέχρι σήμερα, 2) το Y χρωμόσωμα μικραίνει διαχρονικά (αν και σήμερα φαίνεται ότι εμφανίζει κάποια δομική σταθερότητα - βλ. σχετικά άρθρα Page 1999-2001), 3) τα φυλετικά χρωμοσώματα προέκυψαν από ένα αρχικό ζεύγος ομόλογων αυτοσωμάτων, μέσω μιας σειράς αποτυχημένων ανασυνδυασμών, 4) σε κάθε είδος, μπορεί να υπάρχουν διαφορές ως προς την προέλευση ή την τελική δομή των φυλετικών χρωμοσωμάτων, αλλά οι βασικές παράμετροι της διεργασίας καθορισμού του φύλου παραμένουν, πρακτικά, αναλλοίωτες.

Η διαφορετική αυτοσωμική προέλευση των φυλετικών χρωμοσωμάτων, σε μη συγγενικά είδη (π.χ. θηλαστικά και πτηνά), έχει αποδειχτεί από μία σειρά πειραμάτων, τα οποία επιβεβαιώνουν τις παραπάνω διαπιστώσεις του S. Ohno. Εξάλλου, στα συγγενικά είδη εντοπίζονται ομόλογες περιοχές, ενδεικτικές της κοινής εξελικτικής τους πορείας, αλλά η ακριβής ερμηνεία και χρονολόγηση αυτής, παρά την εντατική έρευνα, δεν είναι ακόμη εφικτή (Σχήμα 5).

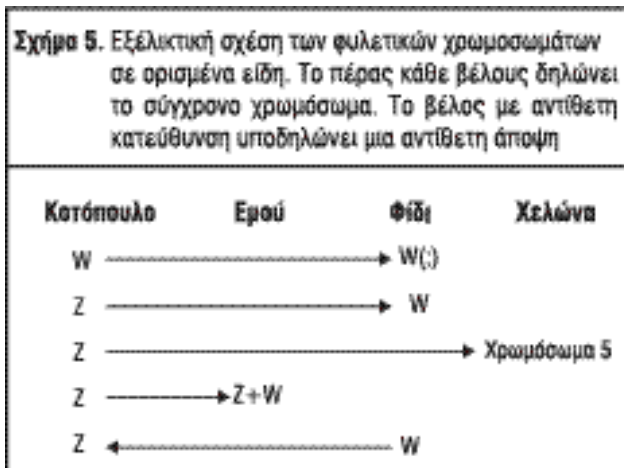
## 5. Η εξέλιξη των γονοσωμάτων X και Y

Σύμφωνα με πρόσφατες δημοσιεύσεις (8, 9), η σύγκριση της γονιδιακής σύστασης / αλληλουχίας των X και Y χρωμοσωμάτων (ως προς το ποσοστό ομολογίας τους) στα διάφορα θηλαστικά οδηγεί στο συμπέρασμα ότι η ανάπτυξη διακριτών X και Y χρωμοσωμάτων προέκυψε σε 4 χρονικά, ανεξάρτητα μεταξύ τους, εξελικτικά στάδια. Καθένα από τα στάδια αυτά προήλθε από αδυναμία ανα-



διέθετε, ακόμη, άθικτο το αυτοσωμικό ζεύγος χρωμοσώματων που εξελίχτηκε, αργότερα, στα γονοσώματα X και Y (10). Κατά συνέπεια, τα 2 χρωμοσώματα εμφάνιζαν την ίδια μορφολογία και παρουσίαζαν τον κλασικό αυτοσωμικό τύπο ανασυνδυασμού, κατά τη μειωτική διαίρεση I.

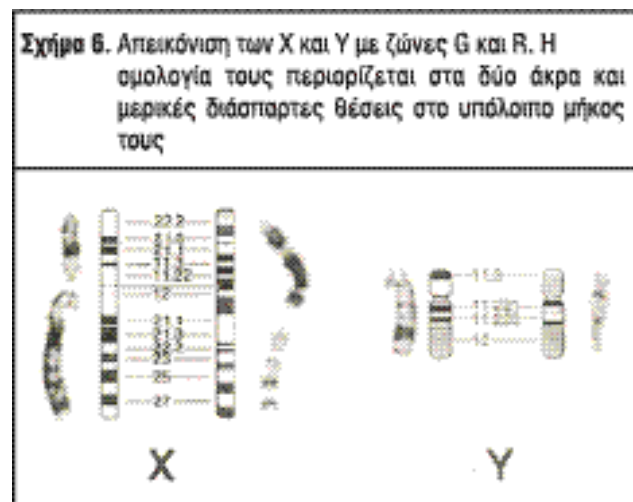
Στο επόμενο εξελικτικό στάδιο, φαίνεται ότι τμήμα του ενός χρωμοσώματος (του μελλοντικού Y) του ζεύγους, υπέστη, κατά τη διάρκεια της μείωσης, αναστροφή. Έτσι, καταργήθηκε η ομόλογη αντιστοιχία προς το άλλο



συνδυασμού των, αρχικά, ομόλογων χρωμοσώματων, με συνέπεια την αποσταθεροποίησή τους (ιδίως του Y) και τη διαρκή, μεταξύ τους, απόκλιση.

Σύμφωνα με το μοντέλο που πρότειναν οι Page και Lahn το 1999, περισσότερο από 400 εκατομμύρια χρόνια πριν (δηλαδή πολύ πριν την απόκλιση της ιδιαίτερης γραμμής των θηλαστικών, περίπου 300 εκατομμύρια χρόνια πριν) η κοινή προγονική μορφή θηλαστικών και ερπετών

χρωμόσωμα του ζεύγους, ιδιότητα που αποτελεί προϋπόθεση για το σωστό ανασυνδυασμό. Μετά το στάδιο αυτό, η δυνατότητα ανασυνδυασμού υποβαθμιζόταν βαθμιαία, με το πέρασμα των γενεών. Επιπλέον, λόγω της μορφολογικής απόκλισης μεταξύ των δύο χρωμοσώματων, σταδιακά δημιουργήθηκε η σημερινή τους δομή, με τις περιορισμένες ομόλογες θέσεις (Σχήμα 6) (11).



Η πρώτη περιοχή, στην οποία παρατηρήθηκε απώλεια ανασυνδυασμού, ήταν η περιοχή του γονιδίου SRY, που όπως και άλλα γονίδια του Y, απέκτησε, εκ των υστέρων, φυλοκαθοριστικό ρόλο, υποκείμενο σε σειρά τροποποιήσεων των αλληλουχιών του και της ρύθμισης αυτών. Το στάδιο αυτό εντοπίζεται περίπου 240-320 εκατομμύρια χρόνια πριν, πράγμα που συμφωνεί με τη συμπεριφορά των μονοτημάτων θηλαστικών (απόκλιση 300 εκατομμύρια χρόνια πριν) που διαθέτουν Sry γονίδιο και περιορισμένη, γύρω από αυτό, μη ανασυνδυαζόμενη περιοχή στα X και Y χρωμοσώματα (12).

Μια δεύτερη απόκλιση, ως συνέπεια δεύτερου λάθους στον ανασυνδυασμό, εντοπίζεται 130-170 εκατομμύρια χρόνια πριν, κατά το διαχωρισμό των πλακουντοφόρων από τα μαρσιποφόρα θηλαστικά. Ήδη, μετά τις δύο αποκλίσεις, η διάκριση του ποσού του γονιδιακού προϊόντος, στα ετερόφυλα θηλαστικά, έγινε προβληματική, εφόσον μετά τη μειωτική αναστροφή, το χρωμόσωμα Y είχε ήδη χάσει σημαντικό ποσοστό των αλληλουχιών του, σε σύγκριση με το αρχικό και με το άθικτο X. Για την αντιμετώπιση του προβλήματος αναπτύχθηκε ο μηχανισμός της αδρανοποίησης (13, 14). Ωστόσο, είναι προφανές, ότι αυτό συνέβη σε βάθος χρόνου και ενώ συνεχίζονταν η απόκλιση μεταξύ των X και Y και είναι πιθανόν, αρχικά, να επιστρατεύθηκαν απλούστεροι τρόποι αύξησης της δραστηριότητας του αρσενικού X (όπως στη *Drosophila melanogaster*) (15, 16).

Ένα γνωστό παράδειγμα σταδιακής εξέλιξης των «εργαλείων» της αδρανοποίησης αποτελούν οι αλληλουχίες LINE1. Εξαπλώθηκαν στο X των πλακουντοφόρων θηλαστικών περίπου 100-60 εκατομμύρια χρόνια πριν. Οι αλληλουχίες αυτές συκρατούν το Xist RNA, κατά την επέκταση της αδρανοποίησης και απαιτούνται για τη σταθερότητα αυτής. Κατά συνέπεια, τα μαρσιποφόρα απέκλιναν πριν την πλήρη διαμόρφωση αυτών, με συνέπεια την αστάθεια της αδρανοποίησης, γεγονός που δικαιολογείται επιπλέον και από την έλλειψη μορφοποιημένου προτύπου μεθυσίας (17).

Τέλος, αναγνωρίζεται ένα τρίτο στάδιο αποτυχίας ανασυνδυασμού των X και Y, 130-80 εκατομμύρια χρόνια πριν και μία τελική φάση που τοποθετείται 50-30 εκατομμύρια χρόνια πριν, κατά την αρχική εμφάνιση των πρωτεύοντων. Νεώτερες έρευνες, βασιζόμενες στη σύγκριση του γονιδιώματος και, ιδίως, στις σημειακές μεταλλάξεις στα διάφορα είδη, δίνουν περισσότερες πληροφορίες για την περίοδο απόκλισης του φυλογενετικού δέντρου στα επιμέρους είδη, τροποποιούν τα υπάρχοντα στάδια της χρωμοσωμικής εξέλιξης ή διακρίνουν σε αυτά επιπλέον υποστάδια. Για παράδειγμα, αναφορικά με τα γονοσώματα, το πρώτο στάδιο αποτυχούς ανασυνδυασμού μπορεί να διακριθεί σε δύο επιμέρους στάδια, 350-290 και 290-230 εκατομμύρια χρόνια πριν (18). Αυτό θα δικαιολογούσε την

παρουσία, στην αρχή του πρώτου σταδίου, κάποιας πιθανής χρωμοσωμικής δομής που αποτέλεσε κοινό πρόγονο για τα φυλετικά χρωμοσώματα θηλαστικών και πτηνών (Σχήμα 7). Επισημαίνεται, ωστόσο, ότι κάτι τέτοιο δεν έχει επαληθευτεί μέχρι σήμερα, αλλά, αντίθετα, θεωρείται επικρατέστερη η αντίληψη της διαφορετικής προέλευσης των φυλετικών χρωμοσωμάτων στις δύο αυτές περιπτώσεις.

Σύμφωνα με πρόσφατη προσπάθεια ανάλυσης του χρωμοσώματος Y, θεωρείται ότι το 95% αυτού αποτελεί τη λεγόμενη «ειδική του άρρενος περιοχή του Y» (Male Specific region of the Y chromosome, MSY) (18). Πρόκειται για την περιοχή που, παλαιότερα, περιγραφόταν ως «περιοχή του Y που δεν ανασυνδυάζεται με το X» (Non-recombining Region of the Y chromosome, NRY), αλλά ο χαρακτηρισμός αυτός δεν χρησιμοποιείται πλέον (19). Ουσιαστικά, οι θέσεις ανασυνδυασμού X-Y εντοπίζονται στις δύο ψευδοαυτοσωμικές περιοχές των άκρων τους (PAR1, PAR2). Το υπόλοιπο, μη ομόλογο του X, τμήμα του Y είναι η MSY. Εδώ, γίνονται μόνο εσωτερικές (ενδοχρωμοσωμικές) ανακατατάξεις.

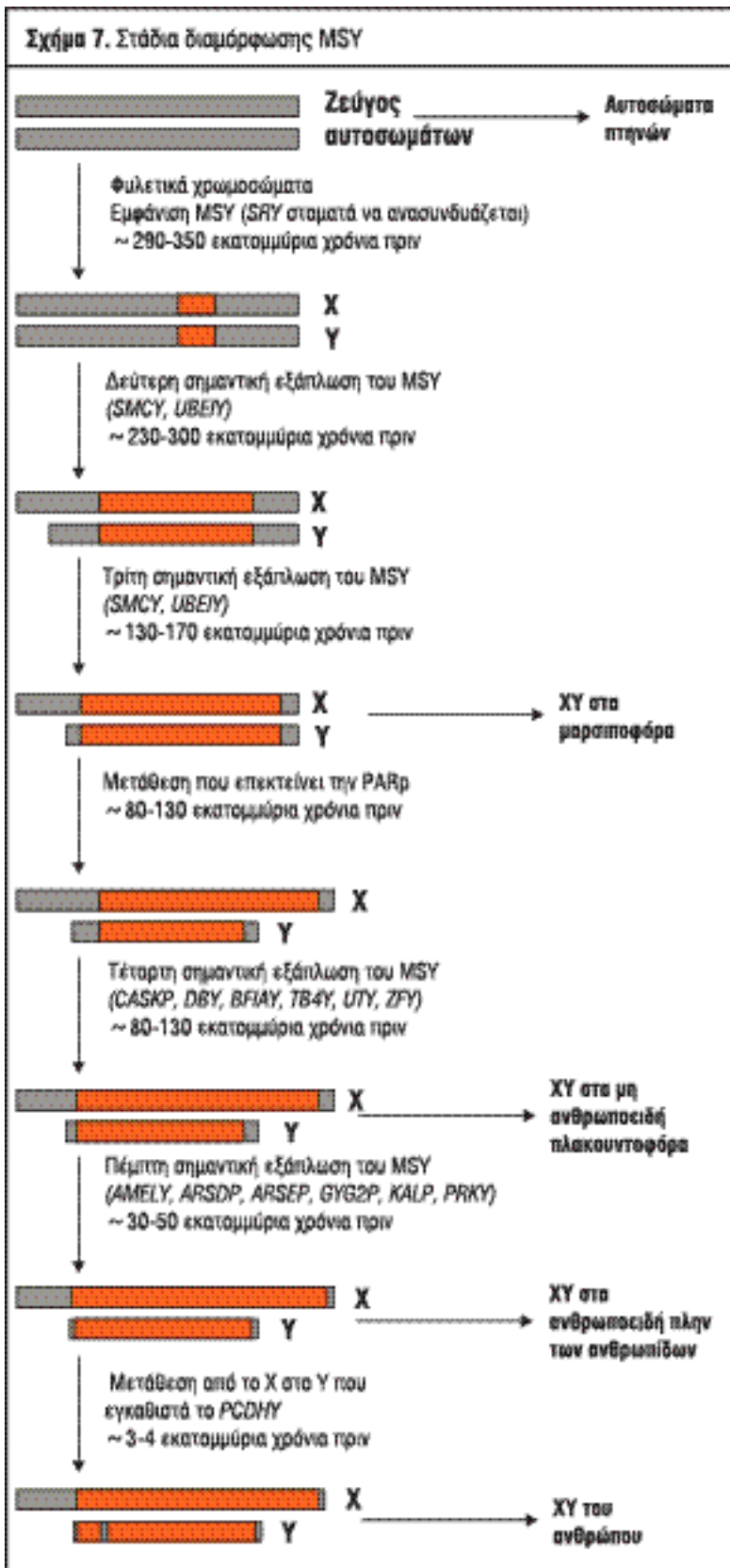
Οι αλληλουχίες της MSY μπορούν να ταξινομηθούν εξελικτικά σε 3 κατηγορίες (Σχήμα 8):

1) τα προϊόντα απόκλισης των X και Y χρωμοσωμάτων, όπως το SRY, που χαρακτηρίζονται ως «X-εκφυλισμένα» (X-degenerate), επειδή είναι προϊόντα του εκφυλισμένου X. Αντιστοιχούν σε μονά αντίγραφα 14 ψευδογονιδίων και 13 γονιδίων με ομόλογα στο X χρωμόσωμα. Η εξελικτική προέλευση των γονιδίων αυτών ακολουθεί τη σταδιοποίηση κατά Page, όπως αυτή ήδη περιγράφηκε. Τα περισσότερα από αυτά τα γονίδια δεν εκφράζονται αποκλειστικά σε ένα ιστό αλλά αφορούν σε πρωτεΐνες με παρουσία και δράση σε ολόκληρο τον οργανισμό.

2) τα μεταθετά από το X στοιχεία (X-transposed) (20). Αυτά εμφανίζουν ελάχιστο ποσοστό γονιδίων και μεγάλο ποσοστό αλληλουχιών LINE1 και άλλου μη κωδικού DNA. Η υψηλή ομολογία τους με στοιχεία του χρωμοσώματος X οδηγεί στο συμπέρασμα ότι αποτελούν προϊόν ξεχωριστής εξελικτικής διεργασίας, πολύ πιο πρόσφατης ως προς την προηγούμενη κατηγορία. Πρόκειται για ένα κύμα μεταθέσεων γενετικού υλικού από το X στο Y και μεταφορά αυτούσιων γονιδίων από το ένα χρωμόσωμα στο άλλο.

3) τα προϊόντα πολλαπλασιασμού, που χαρακτηρίζονται ως «ενισχυμένα γονίδια» (amplificonic genes). Τα στοιχεία αυτά εμφανίζονται σε πολλαπλά αντίγραφα και περιλαμβάνουν 8 μεγάλα ατελή παλίνδρομα που περιλαμβάνουν «εγκλωβισμένα» στο εσωτερικό τους γονίδια αλλά και αρκετές επαναληπτικές αλληλουχίες (Σχήμα 9) (21).

Προκειμένου να ερμηνευτεί η παρουσία των παλίνδρομων προτάθηκε ο ακόλουθος εξελικτικός μηχανισμός: α) αποτυχής ανασυνδυασμός και μεταφορά των γονιδίων από τα αυτοσώματα στο Y, β) άτυπος πολλαπλασιασμός



των περιοχών αυτών και παρουσία πολλαπλών αντιγράφων τους στο Y, γ) αναστροφή ορισμένων αντιγράφων και σχηματισμός των παλίνδρομων, στο εσωτερικό των οποίων «παγιδευτήκαν» τμήματα του Y.

Φαίνεται πως τα παλίνδρομα αυξάνουν τη σταθερότητα του Y και η παρουσία τους αποτελεί ένδειξη σταθεροποίησης της σημερινής μορφής του, μετά τη μακρά περίοδο αστάθειας και κερματισμού που προηγήθηκε (22). Αν αυτό επιβεβαιωθεί, θα σημαίνει ότι απομακρύνεται ο κίνδυνος για την ανδρική γονιμότητα, ο οποίος είχε συνδεθεί με την αντίληψη της συνεχούς φθοράς του Y και την απώλεια των γονιδίων που ελέγχουν τη σπερματογένεση (23).

Σε σχέση με τους παράγοντες που επέδρασαν στη διαφοροποίηση των X και Y χρωμοσωμάτων έχουν γίνει ενδιαφέρουσες υποθέσεις. Ο JM Howard πρότεινε το 2002, ότι τα ανδρογόνα είναι, πιθανώς, ο ρυθμιστής της διαφοροποίησης X-Y (24). Η αυξημένη τεστοστερόνη θεωρείται ευεργετική για την αναπαραγωγική ικανότητα, όμως η διαρκής έκθεση σε μεγάλες ποσότητες μπορεί να αναστείλει τη σπερματογένεση. Το γονίδιο *DAZ*, το οποίο ανήκει στην περιοχή *AZF* του χρωμοσώματος Y φαίνεται ότι εμφανίστηκε 40-30 εκατομμύρια χρόνια πριν και η παρουσία του εξασφάλιζε την ομαλή διανομή ανδρογόνων στα σπερματικά σωληνάκια και επομένως, την ωρίμανση των σπερματοζωαρίων (συντήρηση σπερματογένεσης) (25). Στις γυναίκες, τα αυξημένα επίπεδα τεστοστερόνης περιορίσαν τη γονιμότητα και προκάλεσαν μία ισχυρή εξελικτική πίεση και πληθυσμιακή ελάττωση, με αποτέλεσμα μόνο λίγες να μεταβιβάσουν το μιτοχονδριακό τους DNA στις επόμενες γενιές [φαινόμενο της Εύας (24, 26), επιβεβαιωμένο και από τη συγκριτική γενωμική π.χ. Hammer 1995 (27)]. Η αυξημένη τεστοστερόνη προκάλεσε στους απόγονους των γυναικών αυτών ένα δεύτερο κύμα εξελικτικής πίεσης, που ξεπεράστηκε με το διπλασιασμό του γονιδίου *DAZ* 200000-50000 χρόνια πριν (28). Τα στάδια εξελικτικής πίεσης και ελάττωσης του πληθυσμού ερμηνεύουν τη σύγκλιση, στους άνδρες, ικανού ποσοστού αλληλουχιών στο Y χρωμόσωμα, αφού αυτές προέρχονται από τους λίγους κοινούς πρόγονούς τους που επιβίωσαν κατά τα στάδια πίεσης και τους κληροδότησαν τα γονιδιά τους [φαινόμενο Αδάμ (24, 29)].

Παρακάτω, συνοψίζονται οι μηχανισμοί καθορισμού του φύλου που αφορούν στους δύο

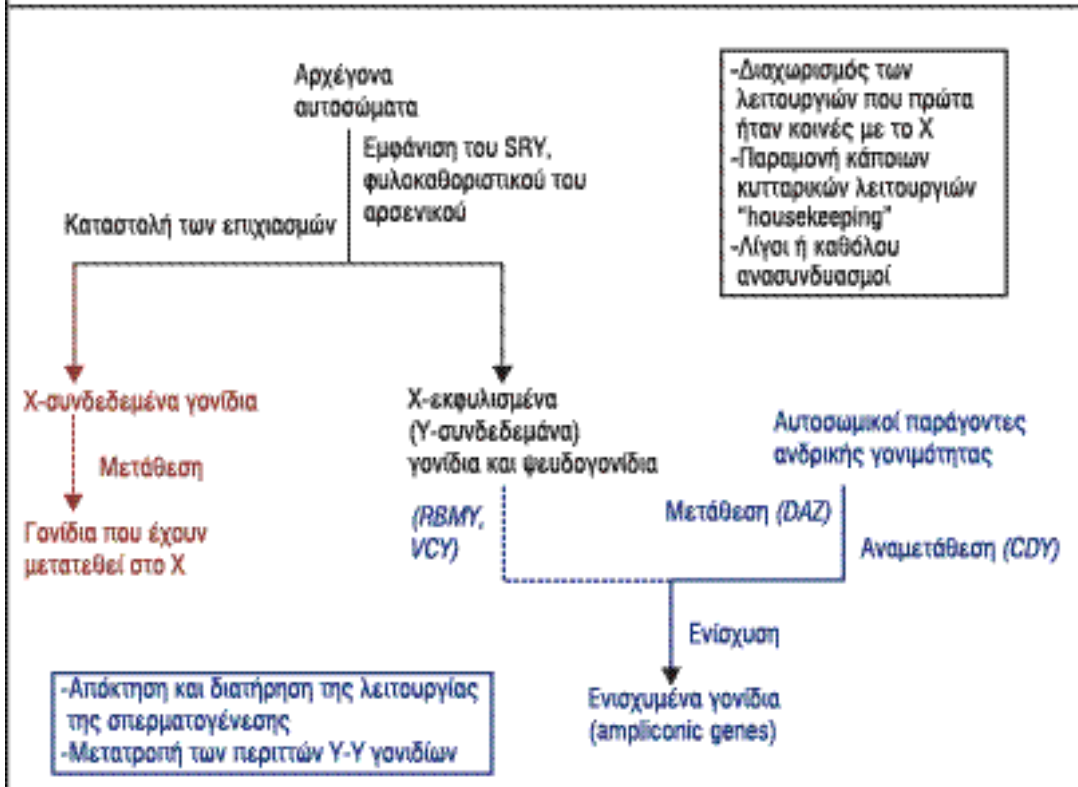
## 6. Καθορισμός του φύλου στη *Drosophila melanogaster*

Στη *Drosophila melanogaster* υπάρχουν δύο φύλα, αρσενικό και θηλυκό, τα οποία καθορίζονται από την παρουσία στο γονιδίωμα του ζεύγους XY ή XX. Βασικός ρυθμιστής των διαδικασιών που οδηγούν στη φυλετική διαφοροποίηση είναι το γονίδιο *sex-lethal* (*sxl*), το οποίο, ουσιαστικά, καθορίζει το φύλο, ενώ εμπλέκεται και στους μηχανισμούς αντιστάθμισης του γονιδιακού πλεονάσματος των γονοσωμάτων, στα θηλυκά άτομα. Το προϊόν του γονιδίου αυτού εντοπίζεται αποκλειστικά στα θηλυκά και εμπλέκεται στην έναρξη των διεργασιών σχηματισμού τους. Ονομάστηκε *sex-lethal* επειδή η παρουσία του στα αρσενικά άτομα είναι ασύμβατη με τη φυσιολογική ανάπτυξη αυτών (30).

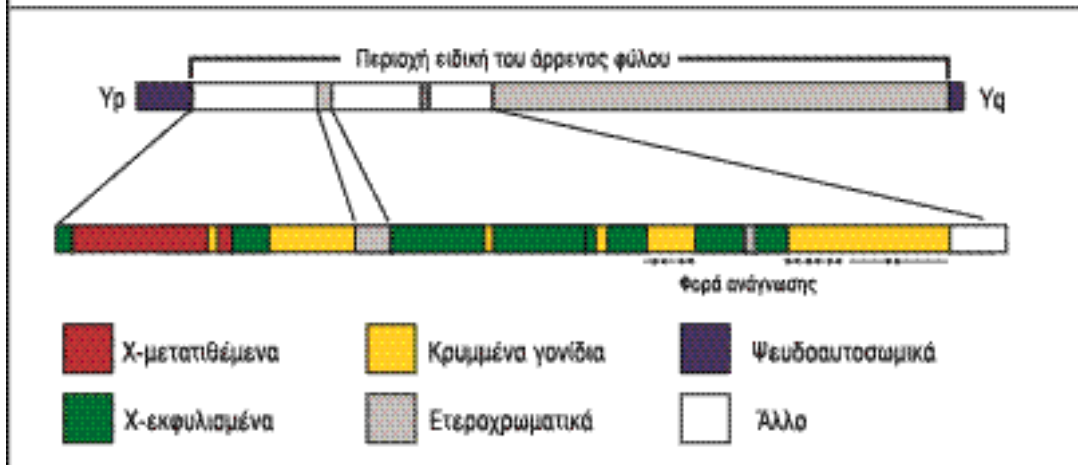
Οι διαφορές μεταξύ των δύο φύλων, στο ενήλικο άτομο, είναι ελάχιστες, και περιορίζονται, κυρίως, στο γεννητικό σύστημα. Η φυλετική διαφοροποίηση στη *Drosophila*, γίνεται

αυτόνομα σε κάθε σωματικό κύτταρο, με τη βοήθεια ενός καταρράκτη γονιδίων (31). Σε αντίθεση προς τον άνθρωπο, το φύλο στη *Drosophila* καθορίζεται από την αναλογία X:A (φυλετικά : αυτοσωμικά χρωμοσώματα) (32). Στα άτομα αρσενικού φύλου που διαθέτουν ένα X χρωμόσωμα η αναλογία είναι 1X:2A. Αντίθετα, στα θηλυκά άτομα

Σχήμα 8. Εξέλιξη των 3 τύπων γονιδίων του Y σύμφωνα με την έρευνα της ομάδας Skaletsky, 2003



Σχήμα 9. Διαγραμματική απεικόνιση του Y χρωμοσώματος. Τα βέλη οριοθετούν τα μεγάλα παλίνδρομα της ΜΣΥ



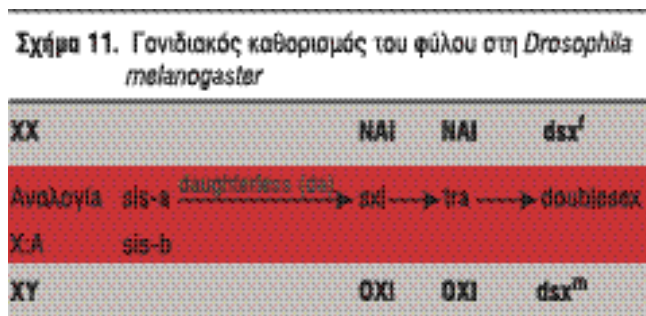
καλύτερα μελετημένους οργανισμούς-μοντέλα, δηλαδή τη *Drosophila melanogaster* και το νηματώδη σκώληκα *Caenorhabditis elegans*.

υπάρχουν δύο X χρωμοσώματα και η αναλογία είναι 2X:2A (Σχήμα 10).

**Σχήμα 10.** Το αποτέλεσμα των διαφορετικών συνδυασμών των φυλετικών χρωμοσωμάτων στον άνθρωπο και τη *Drosophila*

	Φυλετικά χρωμοσώματα			
	XX	XY	XXY	XD
Άνθρωπος	θηλυκό	αρσενικό	αρσενικό	θηλυκό
<i>Drosophila</i>	θηλυκό	αρσενικό	θηλυκό	αρσενικό

Για την «αντίληψη» αυτής της αναλογίας είναι υπεύθυνα δύο γονίδια, τα *sisterless-a* (*sis-a*) και *sisterless-b* (*sis-b*). Τα γονίδια *sis* αναλαμβάνουν να πληροφορήσουν το κύτταρο πόσα αντίγραφα του X χρωμοσώματος διαθέτει σε σχέση με τα αυτοσωμικά, δηλαδή την ακριβή αναλογία X:A (Σχήμα 11). Έχει διαπιστωθεί ότι, η προσθήκη ενός επιπλέον ζεύγους γονιδίων *sis*, στα αρσενικά άτομα, ενεργοποιεί τους θηλυκούς γονιδιακούς μηχανισμούς και το αντίστροφο (18).



Όπως αναφέρθηκε προηγουμένως, ο βασικός παράγοντας καθορισμού του φύλου είναι το γονίδιο *sxl*. Το γονίδιο *sxl* διαθέτει δύο υποκινητές, οι οποίοι έχουν ονομαστεί  $P_E$  και  $P_L$ . Ο υποκινητής  $P_E$  χρησιμοποιείται στα αρχικά στάδια της ανάπτυξης, όταν το προϊόν των γονιδίων *sis*, σε συνδυασμό με το προϊόν του γονιδίου *daughterless* (*da*), το οποίο παρέχεται έτοιμο από τη μητέρα και όχι από το αναπτυσσόμενο έμβρυο, καθορίζουν αν θα αρχίσει να εκφράζεται το γονίδιο *sxl*. Τα γονίδια αυτά δρουν ως μεταγραφικοί παράγοντες που αλληλεπιδρούν με τον  $P_E$ . Όταν τα γονίδια *sis* δίνουν σήμα για την παρουσία μιας αναλογίας 2X:2A ο υποκινητής  $P_E$  ενεργοποιείται και αρχίζει η παραγωγή της πρώιμης μορφής της πρωτεΐνης *sxl*. Αυτή διαφέρει από το κανονικό *sxl* γονιδιακό προϊόν που συναντάται στα ενήλικα άτομα (32).

Μεταγραφική δραστηριότητα του γονιδίου *sxl*, στα πρώτα στάδια της εμβρυϊκής ανάπτυξης, παρατηρείται μόνο στα θηλυκά έμβρυα. Απαραίτητα στοιχεία για την εκδήλωσή της αποτελούν τόσο τα γονίδια *sis*, στη σωστή

αναλογία, όσο και το γονίδιο *da* που συνεργάζεται μαζί τους για την αλληλεπίδραση με τον υποκινητή  $P_E$ . Αν το προϊόν του γονιδίου αυτού λείπει από τη μητέρα, το γονίδιο *sxl* δεν ενεργοποιείται στους απόγονούς της, με σοβαρές συνέπειες για τα θηλυκά έμβρυα.

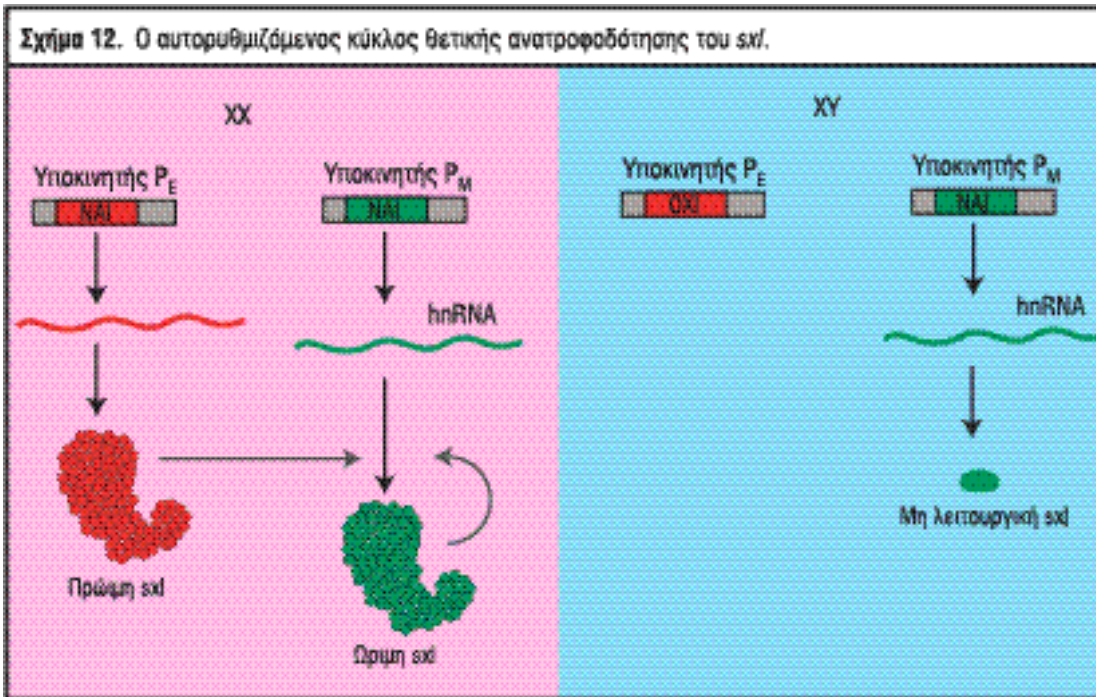
Λίγο μετά την ενεργοποίηση του  $P_E$  στα θηλυκά έμβρυα, παρατηρείται ενεργοποίηση του  $P_L$  στα έμβρυα και των δύο φύλων ενώ απενεργοποιείται ο  $P_E$  στα θηλυκά. Η πρώιμη *sxl* ξεκινά έναν κύκλο αυτορυθμιζόμενης θετικής ανατροφοδότησης κατά τον οποίο καταλύεται η συρραφή των εξονίων του *hnRNA* του *sxl*, με τρόπο ειδικό για τα θηλυκά άτομα. Δηλαδή, η παρουσία της πρώιμης *sxl* στο κύτταρο καθοδηγεί το *hnRNA* του *sxl* που προκύπτει από το δεύτερο υποκινητή να συρραφεί με διαφορετικό τρόπο στα θηλυκά και τα αρσενικά. Μετά την απενεργοποίηση του πρώιμου υποκινητή, τον ίδιο ρόλο αναλαμβάνει η ώριμη *sxl*. Έτσι, διατηρείται σταθερή η έκφραση του *sxl* (32).

Αντίθετα, στα αρσενικά έμβρυα, ενεργοποιείται ο υποκινητής  $P_L$  και παράγεται το ίδιο *hnRNA* με τα θηλυκά, αλλά η έλλειψη έτοιμων πρωτεϊνών *sxl* επιτρέπει την ελεύθερη συρραφή των εξονίων, με αποτέλεσμα αμέσως μετά το σήμα έναρξης να προστίθεται ένα εξόνιο με σήμα λήξης της μεταγραφής, μέσα στο πλαίσιο ανάγνωσης. Ένα τέτοιο mRNA παράγει ένα μικρό, μη λειτουργικό προϊόν και ουσιαστικά το γονίδιο *sxl* φαίνεται να παραμένει ανενεργό (Σχήμα 12) (30, 32).

Η ρύθμιση του *sxl* είναι πρωτεύουσας σημασίας επειδή, ακολούθως, το γονίδιο αλληλεπιδρά με μία σειρά ρυθμιστικών παραγόντων που συμμετέχουν στους βασικούς μηχανισμούς καθορισμού του φύλου και της αντιστάθμισης του γονιδιακού πλεονάσματος. Συγκεκριμένα, το *sxl* επιτρέπει τη σωστή έκφραση του γονιδίου *transformer* (*tra*) στα θηλυκά άτομα. Παρουσία του προϊόντος του γονιδίου *tra*, το *hnRNA* του γονιδίου *doublesex* (*dsx*) υφίσταται διαφορετικές μετα-μεταγραφικές τροποποιήσεις και καθοδηγεί τη φυσιολογική ανάπτυξη του θηλυκού ή αρσενικού φαινότυπου. Παράλληλα, το γονίδιο *tra* ελέγχει την έκφραση των γονιδίων *fruitless* και *dissatisfaction*, τα προϊόντα των οποίων καθορίζουν τη φυσιολογική σεξουαλική συμπεριφορά (32).

### 7. Καθορισμός του φύλου στο *Caenorhabditis elegans*

Στο νηματώδη σκώληκα *Caenorhabditis elegans* υπάρχουν δύο φύλα: ερμαφρόδιτο και αρσενικό. Τα ερμαφρόδιτα άτομα διαθέτουν δύο X χρωμοσώματα (XX), ενώ τα αρσενικά ένα X χρωμόσωμα (X). Αντίστοιχο του Y δεν υπάρχει και το φύλο καθορίζεται από την αναλογία X:A, όπως και στη *Drosophila melanogaster* (33).



λόμορφο είναι δυνατό να υπάρχουν τρία διαφορετικά, αναπαραγωγικά ενεργά, φύλα.

Βασικός παράγοντας καθορισμού του φύλου, στο νηματώδη σκόληκα, είναι το γονίδιο *xol-1* (*xo lethal*) (34), το οποίο είναι δραστικό στα αρσενικά άτομα και αδρανές στα ερμαφρόδιτα (Σχήμα 13). Η σωστή ρύθμιση του *xol-1* είναι απαραίτητη για την επιβίωση του ατόμου, καθώς ο

Τα περισσότερα άτομα αυτού του είδους είναι ερμαφρόδιτα με όρχεις και ωθήκες. Στο στάδιο της προνύμφης, παράγουν και αποθηκεύουν σπερματοζωάρια. Στον ώριμο οργανισμό, οι ωθήκες παράγουν ωοκύτταρα, τα οποία, καθώς μεταναστεύουν προς τη μήτρα, γονιμοποιούνται από τα αποθηκευμένα σπερματοζωάρια. Με την αυτογονιμοποίηση παράγονται σχεδόν πάντα ερμαφρόδιτοι απόγονοι. Με αυτόν τον τρόπο, ωστόσο, τα υπολειπόμενα γονίδια έχουν περισσότερες πιθανότητες να γίνουν ομόζυγα και να εκφράσουν τις ιδιότητές τους. Αν, λόγω λάθους διαχωρισμού των Χ χρωμοσωμάτων, κατά τη μείωση, προκύψει γαμέτης χωρίς Χ, το αντίστοιχο άτομο θα διαθέτει μόνο ένα Χ χρωμόσωμα και θα είναι αρσενικό. Πράγματι, το 20% των απογόνων των ερμαφρόδιτων είναι αρσενικά άτομα. Τα αρσενικά αυτά μπορούν να ζευγαρώσουν με τα ερμαφρόδιτα και, επειδή τα σπερματοζωάριά τους πλεονεκτούν έναντι των σπερματοζωαρίων των ερμαφρόδιτων, παράγονται 50% αρσενικοί απόγονοι και 50% ερμαφρόδιτοι (31).

Αξίζει, ακόμη, να αναφερθεί ότι, σε συγγενικά τους είδη, τα άτομα ΧΧ είναι θηλυκά, υποδεικνύοντας ότι τα ερμαφρόδιτα άτομα αποτελούν εξέλιξη των θηλυκών. Όντως, η σωματική κατασκευή των θηλυκών και των ερμαφρόδιτων ατόμων είναι η ίδια, μόνο που τα ερμαφρόδιτα παράγουν και σπερματοζωάρια, νωρίς στην ανάπτυξή τους. Υπάρχει ακόμη και μία κυρίαρχη μετάλλαξη, στο γονίδιο *tra-1D*, που μετατρέπει τα ΧΧ ή ΧΟ άτομα σε γόνιμα θηλυκά. Σε αποικίες με ένα τέτοιο αλλη-

παράγοντας *xol-1* εκτός από τον καθορισμό του φύλου εμπλέκεται και στους μηχανισμούς αντιστάθμισης του γονιδιακού πλεονάσματος. Σήμερα, πιστεύεται ότι υπάρχουν 5 γονίδια στο Χ, τα οποία πληροφορούν το κύτταρο για τον αριθμό των Χ χρωμοσωμάτων που διαθέτει. Τα γονίδια αυτά ονομάστηκαν συνολικά *X-signal elements* και μεταφέρουν την πληροφορία, σχετικά με τον αριθμό των Χ, για τη ρύθμιση των επιπέδων της πρωτεΐνης *xol-1* με τουλάχιστον δύο διαφορετικούς τρόπους. Ο πρώτος, συνίσταται στη μεταγραφική καταστολή του γονιδίου *xol-1* στα έμβρυα με δύο Χ, μέσω ενός πυρηνικού ορμονικού υποδοχέα, της πρωτεΐνης *sex-1* (signal element on X). Η *sex-1* δρα κατευθείαν στο *xol-1*, συνδεδεμένη με τον υποκινητή του, *in vivo*, με αποτέλεσμα την καταστολή της μεταγραφής του *xol-1* στα ΧΧ έμβρυα. Έτσι, το γονίδιο *xol-1* είναι ο άμεσος μοριακός στόχος αυτού του πρωτογενούς φυλοκαθοριστικού σήματος και τα επίπεδα της *sex-1* αποτελούν ένα σημαντικό συνδετικό κρίκο ανάμεσα στον αριθμό των Χ χρωμοσωμάτων και την έκφραση του *xol-1*.

**Σχήμα 13.** Γονιδιακός καθορισμός του φύλου στο *Caenorhabditis elegans*.

XX	OXI	NAI	OXI	NAI	OXI	NAI
		<i>sdc-1</i>			<i>fem-1</i>	
Αναλογία	—  <i>xol-1</i> —	<i>sdc-2</i> —	<i>her-1</i> —	<i>tra-2</i> —	<i>fem-2</i> —	<i>tra-1</i>
X:A		<i>sdc-3</i>		<i>tra-3</i>	<i>fem-3</i>	
X	NAI	OXI	NAI	OXI	NAI	OXI

Ο δεύτερος μηχανισμός, δρα στο πλαίσιο της μετα-μεταγραφικής τροποποίησης της πρωτεΐνης *xol-1* και απαιτεί την παρουσία της πρωτεΐνης *fox-1* (feminizing locus on X), η οποία έχει την ιδιότητα να δεσμεύει το RNA. Η *fox-1* δεσμεύεται σε ένα ιντρόνιο του μεταγράφου, με αποτέλεσμα να εμποδίζεται η σωστή συρραφή των εξονίων του mRNA και να μην παράγεται η λειτουργική μορφή της *xol-1*. Και σε αυτήν την περίπτωση, μεγάλη σημασία έχει η ποσότητα της *fox-1*, επειδή μεταφέρει το σήμα για τον αριθμό των X.

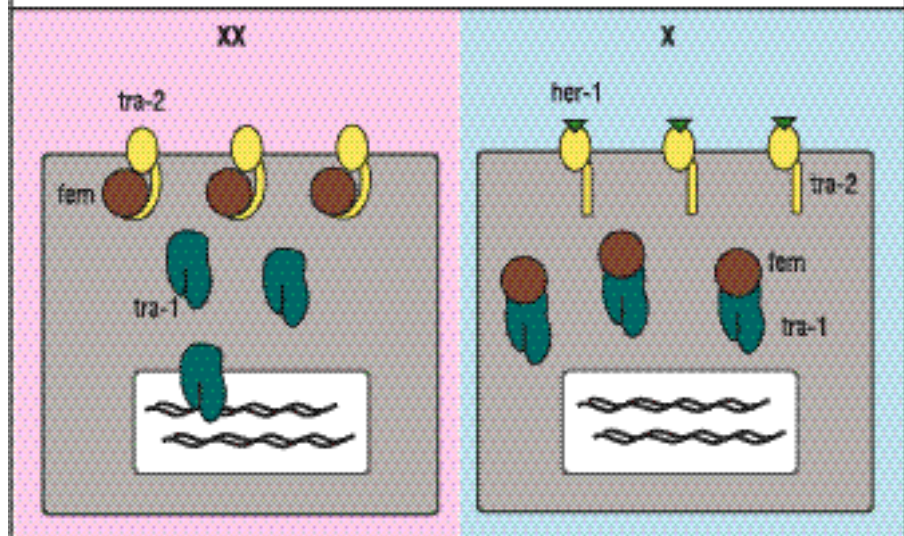
Οι δύο αυτοί εναλλακτικοί μηχανισμοί συμβάλλουν στη σωστή ρύθμιση της *xol-1* (34). Τυχόν κενό στον έναν από τους δύο αντισταθμίζεται με αύξηση της λειτουργικότητας του άλλου. Τέτοιοι πολυγονιδιακοί ρυθμιστικοί μηχανισμοί μπορούν να χρησιμεύσουν ως μοντέλα για τη μελέτη πολύπλοκων ανθρώπινων κληρονομήσιμων χαρακτήρων. Για το λόγο αυτό, οι έρευνες συγκεντρώνονται στην ταυτοποίηση και των υπολοίπων *X-signal elements*, καθώς και στην ταυτοποίηση των αυτοσωμικών στοιχείων που, μαζί με τα *X-signal elements*, παρέχουν πληροφορίες στο κύτταρο για την αναλογία X:A.

Με τη σειρά της, η *xol-1* αναστέλλει την έκφραση μιας σειράς γονιδίων με την ονομασία *sdc* (*sex determination and dosage compensation*), τα οποία είναι υπεύθυνα για την εκδήλωση του φαινότυπου των ερμαφρόδιτων, αλλά και για την ενεργοποίηση του μηχανισμού της υπομεταγραφής των γονιδίων στα δύο X αυτών. Η πρωτεΐνη *sdc-1* δεν δρα απαραίτητως στα κύτταρα όπου παράγεται, αλλά κυκλοφορεί στον οργανισμό του *C. elegans* ως εκκριτικό μόριο. Επίσης, οι πρωτεΐνες *sdc-1* και *sdc-2* διαθέτουν μία ενιαία πρωτεϊνική περιοχή αλληλεπίδρασης με τους μηχανισμούς καθορισμού του φύλου και της αντιστάθμισης της δόσης (35, 36). Αντίθετα, η *sdc-3* διαθέτει ξεχωριστές περιοχές αλληλεπίδρασης με τους δύο αυτούς μηχανισμούς (33). Αυτό όμως που είναι κοινό και στις τρεις πρωτεΐνες είναι ότι αναστέλλουν την έκφραση του γονιδίου *her-1*.

Η *her-1*, η οποία επίσης εκκρίνεται, ρυθμίζει μια σειρά γονιδίων με την ονομασία *tra* και *fem*. Τα γονίδια *tra* παραμένουν ενεργά στα ερμαφρόδιτα άτομα και αναστέλλουν την έκφραση των γονιδίων *her*, τα οποία με τη σειρά τους παραμένουν ενεργά στα αρσενικά άτομα και αναστέλλουν την έκφραση των *tra* (36). Η σειρά με την οποία τα γονίδια αυτά εμπλέκονται στη διεργασία καθορισμού του φύλου προσδιορίστηκε έπειτα από αρκετές μελέτες. Όλες συμ-

φωνούν ότι το *tra-1* είναι αυτό που τελικά καθορίζει το φύλο. Σύμφωνα με το προτεινόμενο μοντέλο, το γονίδιο *tra-2*, αντί για κάποιου είδους ρυθμιστικό παράγοντα, κωδικοποιεί μια μεμβρανική πρωτεΐνη με πολλές διαμεμβρανικές περιοχές. Επιπλέον, το mRNA του έχει βρεθεί (αν και σε διαφορετικές ποσότητες) και στα δύο φύλα. Έτσι, θεωρήθηκε ότι οι πρωτεΐνες *fem-1*, *fem-2* και *fem-3* σχηματίζουν ένα ενιαίο σύμπλοκο με την ονομασία *fem*, το οποίο δεσμεύεται από τη μεμβρανική πρωτεΐνη *tra-2* (Σχήμα 14). Σε ερμαφρόδιτα άτομα με δύο X, το πρωτεϊνικό σύμπλοκο *fem* είναι δεσμευμένο στη μεμβράνη, και η πρωτεΐνη *tra-1* μπορεί να εισέλθει στον πυρήνα. Στα αρσενικά άτομα, με ένα X, η πρωτεΐνη *her-1* δεσμεύει την εξωκυττάρια περιοχή της *tra-2*, αναγκάζοντάς την να απελευθερώσει το σύμπλοκο *fem*. Αυτό, μόλις απελευθερωθεί στο κυτταρόπλασμα, δεσμεύει την *tra-1* και δεν της επιτρέπει να εισέλθει στον πυρήνα. Εφόσον η *tra-1* (πιθανός μεταγραφικός παράγοντας) δεν μπορεί να εισέλθει στον πυρήνα, αλλάζει το πρότυπο μεταγραφής μίας σειράς πιο εξειδικευμένων γονιδίων. Έτσι, ο καθορισμός του φύλου στο *Caenorhabditis elegans* συμπεριλαμβάνει διακυτταρικές αλληλεπιδράσεις επειδή, σε αντίθεση με τη *Drosophila*, ορισμένες από τις πρωτεΐνες του εκκρίνονται για να εκδηλώσουν τη δράση τους (π.χ. *her-1*).

Σχήμα 14. Αλληλεπίδραση των πρωτεϊνών *her-1*, *tra-2*, *fem* και *tra-1*.



Στα αρσενικά, το γονίδιο *mab-3* δρα μετά την *tra-1* και κατευθύνει την ειδική για τα αρσενικά ανάπτυξη του περιφερικού νευρικού συστήματος και των σπλάγχχνων. Μοιάζει με το γονίδιο *doublesex* της *Drosophila* και, στα αρχικά στάδια της ανάπτυξης, εμπλέκεται στην απόπτωση ορισμένων νευρώνων, οι οποίοι σχετίζονται με την παραγωγή ωοκυττάρων στα ερμαφρόδιτα άτομα (31).

**Ευχαριστίες**

Απευθύνονται στο Διευθυντή του Εργαστηρίου Ιστολογίας και Εμβρυολογίας της Ιατρικής Σχολής Καθηγητή κ. Χρήστο Κίττα για την ουσιαστική υποστήριξη στην πραγματοποίηση αυτής της εργασίας.

Το παρόν άρθρο αποτελεί μέρος της έρευνας με τίτλο: «Μοριακή Ανάλυση της Ανδρικής Υπογονιμότητας» που επιχορηγείται από το ΕΠΕΑΕΚ II, πρόγραμμα Ηράκλειτος: Υποτροφίες Έρευνας με προτεραιότητα στη βασική έρευνα, με κωδικό έργου 70/3/7210.

**ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ**

- Howard J. Androgens in human evolution. A new explanation of human evolution. *Riv Biol* 2001, 94:345-362.
- Pieau C, Dorizzi M, Richard-Mercier N. Temperature-dependent sex determination and gonadal differentiation in reptiles. *EXS* 2001, 91:117-141.
- Ohno S. Sex chromosomes and sex-linked genes. Springer Verlag, Berlin 1967.
- Zaborski P, Dorizzi M, Pieau C. H-Y antigen expression in temperature sex-reversed turtles (*Emys orbicularis*). *Differentiation* 1982, 22:73-78.
- Dorizzi M, Richard-Mercier N, Desvages G. Sexual differentiation of gonads as a function of temperature in the turtle *Emys orbicularis*: endocrine function intersexuality and growth. *J Exp Zool* 1998, 281:400-408.
- Dorizzi M, Richard-Mercier N, Pieau C. The ovary retains male potential after the thermosensitive period for sex determination in the turtle *Emys orbicularis*. *Differentiation* 1996, 60:193-201.
- Mahesh G, Ramachandra NB, Ranganath HA. Patterns of replication in the neo-sex chromosomes of *Drosophila nasuta albomicans*. *J Biosci* 2000, 25:229-234.
- Ellegren H. Evolution of the avian sex chromosomes and their role in sex determination. *Trends Ecol Evol* 2000, 15:188-192.
- Jegalian K, Lahn B. Why the Y is so weird? *Scientific American* 2001, 2(Feb):42-47.
- Lahn B, Page D. Four evolutionary strata on the human X chromosome. *Science* 1999, 286:964-967.
- Page D, Harper M, Love J. Occurrence of a transposition from the X chromosome long arm to the Y chromosome short arm during human evolution. *Nature* 1984, 311:119-123.
- Watson JM, Spencer JA, Riggs AD. Sex chromosome evolution: Platypus gene mapping suggests that part of the human X chromosome was originally autosomal. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991, 88:11256-11260.
- Carrel L, Cottle A, Goglin KC. A first generation X-inactivation profile of the human X chromosome. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999, 96:14440-14444.
- Lyon M. The William Allan Memorial Award Address: X-chromosome inactivation and the location and expression of X-linked genes. *Am J Hum Genet* 1988, 42:8-16.
- Jegalian K, Page D. A proposed path by which genes common to mammalian X and Y Chromosomes evolve to become X inactivated. *Nature* 1998, 394:776-780.
- Lyon M. Some milestones in the history of X-chromosome inactivation. *Annu Rev Genet* 1992, 26:17-28.
- Riggs A. Marsupials and mechanisms of X chromosome inactivation. *Aust J Zool* 1990, 37:419-441.
- Skaletsky H, Kuroda-Kawaguchi T, Minx PJ. The male-specific region of the human Y chromosome is a mosaic of discrete sequence classes. *Nature* 2003, 423:825-837.
- Willard HF. Genome biology: Tales of the Y chromosome. *Nature* 2003, 423:810-813.
- Schwartz A, Chan D, Brown LG. Reconstructing hominid Y evolution: X-homologous block, created by X-Y transposition, was disrupted by Yp inversion through LINE-LINE recombination. *Hum Mol Genet* 1998, 7:1-11.
- Rozen S, Skaletsky H, Marszalek JD. Abundant gene conversion between arms of palindromes in human and ape Y chromosomes. *Nature* 2003, 423:873-876.
- Lahn B, Page D. Functional coherence of the human Y chromosome. *Science* 1997, 278:675-680.
- Repping S, Skaletsky H, Lange J. Recombination between palindromes P5 and P1 on the human Y chromosome causes massive deletions and spermatogenic failure. *Am J Hum Genet* 2002, 71:906-922.
- Howard J. Mitochondrial Eve, Y chromosome Adam, testosterone and human evolution. *Riv Biol* 2002, 95:319-325.
- Agulnik AK, Zharkikh A, Boettger-Tong H. Evolution of the DAZ gene family suggests that Y-linked DAZ plays little or a limited role in spermatogenesis but underlines a recent African origin for human populations. *Hum Mol Genet* 1998, 7:1371-1377.
- Ayala FJ. The myth of Eve: molecular biology and human origins. *Science* 1995, 270:1930-1936.
- Hammer MF. A recent common ancestry for human Y chromosomes. *Nature* 1995, 378:376-378.
- Saxena R, Brown LG, Hawkins T. The DAZ gene cluster on the human Y chromosome arose from an autosomal gene that was transposed, repeatedly amplified and pruned. *Nat Genet* 1996, 14:292-299.
- Whitfield LS, Sulston JE, Goodfellow PN. Sequence variation of the human Y chromosome. *Nature* 1995, 378:379-380.
- Bell LR, Horabin JI, Schedl P. Positive autoregulation of sex-lethal by alternative splicing maintains the female determined state in *Drosophila*. *Cell* 1991, 65:229-239.
- Wolpert L, Beddington R, Jessell T. Principles of Development. Oxford University Press (Second edition), Oxford, 2002.
- Keyes LN, Cline TW, Schedl P. The primary sex determination signal of *Drosophila* acts at the level of transcription. *Cell* 1992, 68:933-943.
- Gu W, Wei X, Pannuti A. Targeting the chromatin-remodelling MSL complex of *Drosophila* to its sites of action on the X chromosome requires both acetyl transferase and ATPase activities. *EMBO* 2000, 19:5202-5211.
- Jin Y, Wang Y, Johansen J. JIL-1, a chromosomal kinase implicated in regulation of chromatin structure, associates with the Male Specific Lethal (MSL) dosage compensation complex. *J. Cell Biol* 2000, 149:1005-1010.
- Kelley RL, Meller VH, Gordadze PR. Epigenetic spreading of the *Drosophila* dosage compensation complex from roX RNA genes into flanking chromatin. *Cell* 1999, 98:513-522.
- Kelley RL, Kuroda MI. Noncoding RNA genes in dosage compensation and imprinting. *Cell* 2000, 103:9-12.

# ΜΟΡΙΑΚΟΙ ΔΕΙΚΤΕΣ ΟΡΧΙΚΗΣ ΔΙΑΦΟΡΟΠΟΙΗΣΗΣ

ΡΩΞΑΝΗ ΑΓΓΕΛΟΠΟΥΛΟΥ, ΓΙΑΓΚΟΣ ΛΑΒΡΑΝΟΣ, ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΑ ΠΛΑΣΤΗΡΑ

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΙΣΤΟΛΟΓΙΑΣ ΚΑΙ ΕΜΒΡΥΟΛΟΓΙΑΣ, ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ, Ε.Κ.Π.Α.

## Περίληψη

Η μελέτη της ανάπτυξης των γονάδων βασίστηκε, στο παρελθόν, στην περιγραφή της ιστολογικής οργάνωσης και της κυτταρικής διαφοροποίησης, με τη χρήση φωτονικού και ηλεκτρονικού μικροσκοπίου. Τα τελευταία χρόνια, η έρευνα διεξάγεται σε μοριακό επίπεδο, με εφαρμογή τεχνικών ανάδειξης της έκφρασης γονιδίων - δεικτών, ανά ηλικία ανάπτυξης και κυτταρικό τύπο που εμφανίζεται στην αδιαφοροποίητη καταβολή και διαφοροποιείται, *in situ*. Οι διαπιστούμενες διαφορές επιτρέπουν τη διάκριση συγκεκριμένων σταδίων διαφοροποίησης κάθε κυτταρικού πληθυσμού, ανάλογα με την ηλικία μελέτης. Ως δείκτες σήμανσης χρησιμοποιούνται μόρια κυτταρικής προσκόλλησης, συστατικά της εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας, ειδικά ένζυμα (π.χ. μετατρεπτικό ένζυμο αγγειοτασίνης ή ένζυμο της στεροειδογένεσης, όπως η 11β-υδροξυ-στεροειδο-αφυδρογονάση), αυξητικοί παράγοντες, ορμόνες και παρακρινείς διαβιβαστές. Παράλληλα, αξιοποιούνται και οι κλασικοί δείκτες της επιθηλιακής ή μεσεγχυματικής προέλευσης των κυτταρικών πληθυσμών, όπως οι διάφοροι τύποι ενδιάμεσων νηματίων του κυτταροσκελετού (κυτταροκερατίνες, βιμεντίνη). Στην παρούσα ανασκόπηση παρουσιάζονται οι βασικοί δείκτες σήμανσης στον αναπτυσσόμενο όρχι, με έμφαση σε μόρια που ήδη χρησιμοποιούνται σε πειραματικά πρωτόκολλα.

**Λέξεις κλειδιά:** ανοσοϊστοχημεία, γεννητικά κύτταρα, διαφοροποίηση του φύλου, ιστοχημεία, κύτταρα Leydig, κύτταρα Sertoli, όρχις, σπερματογόνια.

## Abstract

In previous decades, the study of gonadal development was based on the description of the histological organization and cellular differentiation of the developing gonad, as they were observed under the photomicroscope and electron microscope. In recent years, however, research focuses on molecular interactions, using techniques that allow the selective labeling of different cell populations within the gonad. The latter process is achieved by a combination of data from biochemical analysis of the gonadal micro-environment and the analysis of gene expression per developmental stage and cell type. The revelation of differences in protein content among cell groups allows the use of these molecules as markers of cell differentiation. These markers include: cell adhesion molecules, proteins of the extra-cellular matrix, cell-specific enzymes of the cytoplasm, (such as the Angiotensin Converting Enzyme or Enzymes involved in Steroidogenesis), growth and differentiation factors, hormones and paracrine mediators. Additionally, common markers of epithelial and mesenchymal cells, such as intermediate filaments, are also used. The present study attempts to consolidate the current trends in the choice of markers for gonadal development during fetal and neonatal life.

**Key words:** Immunohistochemistry, Germ cells, Leydig cells, PAS Stain, Sertoli Cells, Sex Determination, Spermatogonia, Testis.

## 1. Εισαγωγή

Ο όρχις είναι η αρσενική γονάδα, που έχει διπλή λειτουργία: την παραγωγή των σπερματοζωαρίων και την έκκριση των ανδρογόνων. Η βασική ανατομική και λειτουργική μονάδα του όρχι είναι το σπερματικό σωληνάριο, το οποίο σχηματίζεται από τα επιθηλιακά κύτταρα Sertoli, τα περισωληναριακά μυοειδή κύτταρα και τα γεννητικά κύτταρα. Στο διάμεσο ιστό, ανάμεσα στα σωληνάρια, εντοπίζονται, μεμονωμένα ή σε νησίδες, τα στεροειδογόνα κύτταρα Leydig. Η διαφορετική μορφολογία, εντόπιση και λειτουργική εξειδίκευση - διαφοροποίηση κάθε κυτταρικού τύπου συνιστούν τα κριτήρια για τη διάκρισή τους, στα πλαίσια διαγνωστικών ή ερευνητικών ιστολογικών μελετών.

Στον ώριμο όρχι, επομένως, συνυπάρχουν κύτταρα επιθηλιακής και μεσεγγυματικής προέλευσης, καθώς και κύτταρα της γεννητικής σειράς. Η παρουσία του κάθε κυτταρικού πληθυσμού επάγει μορφολογικές και λειτουργικές μεταβολές στα άλλα είδη κυττάρων (παρακρινής επικοινωνία), γεγονός που γίνεται αντιληπτό σε περιπτώσεις απουσίας ενός κυτταρικού τύπου, π.χ., Sertoli Cell Only Syndrome (SCOS). Στην περίπτωση αυτή, η απουσία των γεννητικών κυττάρων συνεπάγεται ανεπαρκή λειτουργία των κυττάρων Sertoli, με μερική απώλεια της μορφολειτουργικής τους εξειδίκευσης. Ακόμη, μπορεί να επηρεάζεται και η παραγωγή ανδρογόνων από τα κύτταρα Leydig (1).

Τα γεννητικά κύτταρα αποτελούν προϊόντα μιτωτικής και στη συνέχεια μειωτικής διαίρεσης, ενώ το τελικό στάδιο της ωρίμανσής τους (σπερμιόγνεση) περιλαμβάνει τη διαφοροποίηση των προϊόντων της μείωσης (σπερματίδων) σε πλήρως λειτουργικά σπερματοζωάρια, των οποίων η δομική συγκρότηση ολοκληρώνεται στο σπερματικό σωληνάριο ενώ η λειτουργική διαφοροποίηση και ενεργοποίηση επιτυγχάνεται μόνο μετά τη διέλευση από την αρσενική και γυναικεία γεννητική οδό.

Κατά την εμβρυϊκή περίοδο, η αρσενική γονάδα περιλαμβάνει γεννητικά κύτταρα που διακρίνονται σε αρχέγονα βλαστικά γεννητικά κύτταρα (ABGK), βλαστικά γεννητικά κύτταρα (BGK) και προσπερματογόνια. Τα πρώτα αποτελούν την πλέον πρώιμη μορφή γεννητικών κυττάρων, όπως αναγνωρίζονται κατά την άφιξή τους στη γοναδική καταβολή, προερχόμενα από τον αρχέγονο λεκιθικό ασκό. Αντίθετα, τα BGK είναι ωριμότερα και αναγνωρίζονται μέσα στην αδιαφοροποίητη γοναδική καταβολή πριν και κατά το σχηματισμό των σπερματικών χορδών. Τέλος, τα προσπερματογόνια αποτελούν τη μορφή των γεννητικών κυττάρων που χαρακτηρίζεται, κυρίως, από τη δυνατότητα πολλαπλών διαδοχικών μιτώσεων.

Το πρώτο κύμα πολλαπλασιασμού των BGK παρατηρείται κατά την εμβρυϊκή ζωή και ακολουθείται από ένα

αποπτωτικό κύμα, κατά το οποίο χάνεται ένας μεγάλος αριθμός προσπερματογόνων. Κατά την ήβη, όλα τα γεννητικά κύτταρα βρίσκονται στο στάδιο του σπερματογονίου και αρχίζουν να πολλαπλασιάζονται, σε διαδοχικά κύματα, κατά μήκος των σπερματικών σωληναρίων. Ορισμένα σπερματογόνια διαφοροποιούνται σε πρωτογενή σπερματοκύτταρα, τα οποία υφίστανται την πρώτη μειωτική διαίρεση (MI). Από τη MI προκύπτουν τα δευτερογενή σπερματοκύτταρα, τα οποία περιέχουν η χρωμοσώματα. Κάθε χρωμόσωμα, του δευτερογενούς σπερματοκύτταρου αποτελείται από δύο χρωματίδες ενωμένες στο κεντρομερίδιο. Η δεύτερη μειωτική διαίρεση (MII) ακολουθεί αμέσως την πρώτη. Δεν παρατηρείται διπλασιασμός του DNA. Τα χρωμοσώματα παραμένουν συμπυκνωμένα και διατάσσονται γρήγορα στη δεύτερη άτρακτο. Σε πολλά είδη και στον άνθρωπο, τα χρωμοσώματα περνούν, αμέσως, από την τελόφαση I στη μετάφαση II. Από τα δευτερογενή σπερματοκύτταρα σχηματίζονται οι σπερματίδες, οι οποίες περιέχουν απλοειδή αριθμό χρωμοσωμάτων, μονής χρωματίδας. Στον άνθρωπο, για να ολοκληρωθούν οι δύο μειωτικές διαίρεσεις χρειάζονται 24 ημέρες. Τέλος, οι σπερματίδες, κατά τη σπερμιόγνεση, διαφοροποιούνται σε σπερματοζωάρια, τα οποία απελευθερώνονται στον αυλό των σπερματικών σωληναρίων, που επικοινωνεί με το ορχικό δίκτυο και την υπόλοιπη γεννητική οδό. Ο κύκλος ωρίμανσης από το στάδιο του σπερματογονίου μέχρι και το σχηματισμό ωρίμων σπερματοζωαρίων επαναλαμβάνεται καθ'όλη τη διάρκεια της αναπαραγωγικής ζωής του αρσενικού και χαρακτηρίζεται ως κύκλος σπερματογένεσης με διάρκεια 74 ημερών (2).

Σύμφωνα με την κλασική μελέτη των Beaumont και Mandl, η αύξηση του όγκου των γεννητικών κυττάρων σε σχέση με την ηλικία είναι σταθερή, δεν επηρεάζεται από τα παρατηρούμενα εκφυλιστικά κύματα, ενώ, αντίθετα, σχετίζεται θετικά με τις περιόδους έντονης μιτωτικής δραστηριότητας. Παράλληλα, ο ολικός όγκος του όρχι αυξάνει σταθερά με την ηλικία και φαίνεται ότι τα κύτταρα Sertoli αποτελούν ένα συνεχώς αυξανόμενο ποσοστό του ολικού όγκου του όρχι, τουλάχιστον μέχρι και τη νεογενική περίοδο (3). Παράλληλα, ο ολικός όγκος του όρχι αυξάνει σταθερά και μέχρι την ηλικία των 9 ετών, δηλαδή ακριβώς πριν από την έναρξη της ήβης, ο όγκος του όρχι έχει τριπλασιαστεί (από 0,5 ml σε 1,5 ml). Ο ορχικός ιστός αποτελείται, κυρίως, από κύτταρα Sertoli, ο πολλαπλασιασμός των οποίων αποτελεί τον κύριο παράγοντα αύξησης του όγκου της γονάδας, πριν από την ήβη. Κατά την ήβη, η αύξηση του όγκου του όρχι οφείλεται κυρίως στον πολλαπλασιασμό των γεννητικών κυττάρων, ενώ στον ώριμο όρχι ο όγκος φθάνει τα 23 ml (4-6).

Τα επιθηλιακά κύτταρα των όρχεων, με την εξαίρεση του περιφερικού κοιλωματικού επιθηλίου και του υποπληθυσμού των μυοεπιθηλιακών κυττάρων, είναι τα κύτταρα

Sertoli. Αφορίζουν το τοίχωμα των σπερματικών σωληναρίων και εγκλωβίζουν, στις κυτταροπλασματικές τους προσεκβολές τα γεννητικά κύτταρα, σε διάφορα στάδια ωρίμανσης. Συγκροτούν τον αιματορχικό φραγμό, περιβάλλοντας στενά τα γεννητικά κύτταρα σε μια άριστη αναλογία που προκύπτει με την εκλεκτική απόπτωση των κυττάρων που περισσεύουν (7). Οι στενές κυτταρικές αλληλεπιδράσεις εξασφαλίζουν στα γεννητικά κύτταρα τους απαραίτητους τροφικούς παράγοντες για την επιβίωση και τη διαφοροποίησή τους ενώ, παράλληλα, αποκλείουν την επίδραση βλαπτικών εξωγενών παραγόντων και αποβάλλουν τα τοξικά προϊόντα του μεταβολισμού.

Ανάμεσα στα διάφορα προϊόντα των κυττάρων Sertoli, ορισμένα παρουσιάζουν ιδιαίτερο ενδιαφέρον λόγω της διαφορετικής χρώσης με αποτέλεσμα την ανάδειξη αυτών των κυττάρων σε ιστολογικά παρασκευάσματα. Μεταξύ αυτών περιλαμβάνονται, στις εμβρυϊκές γονάδες, οι πρωτεΐνες καθορισμού του φύλου SRY και SOX9 και η αντιμυλλέριος ορμόνη AMH (Anti-Müllerian Hormone) (8) και στον ώριμο όρχι, η ανδρογονοδεσμευτική πρωτεΐνη ABP (androgen binding protein) και η ανασταλτίνη (inhibin).

Στα μεσεγγυματογενή κύτταρα του όρχι περιλαμβάνονται, κυρίως, δύο υποπληθυσμοί: τα περισωληναρικά μυοειδή και τα διάμεσα κύτταρα Leydig. Όλα τα κύτταρα με εξειδίκευση παραγωγής στεροειδών έχουν παρεμφερή δομή, που χαρακτηρίζεται από την εκτενή ανάπτυξη λείου ενδοπλασματικού δικτύου, συστήματος Golgi και συσσώρευση λιποσταγονιδίων στο κυτταρόπλασμα. Τα κύτταρα αυτής της κατηγορίας φαίνεται ότι προέρχονται από τον ίδιο πρόγονο, από τον οποίο «κληρονομούν» την έκφραση του γονιδίου *FtzF1*, που κωδικοποιεί το στεροειδογόνο παράγοντα SF1. Αυτό το μόριο δρα ως κοινός και κύριος επαγωγέας των ενζύμων της στεροειδογένεσης, στα οποία περιλαμβάνονται ισόένζυμα της ομάδας P450 και υδρολάσες. Είναι χαρακτηριστικό ότι, η εκλεκτική ενεργοποίηση και αναστολή του SF1 από άλλα μόρια, στα διάφορα στάδια της οργανογένεσης, καθορίζει σε μεγάλο βαθμό την τελική δέσμευση των στεροειδογόνων κυττάρων στην παραγωγή αλατοκορτικοειδών, γλυκοκορτικοειδών, ανδρογόνων ή οιστρογόνων, ώστε να προκύπτει η γνωστή εκκριτική συμπεριφορά των επιμέρους αδένων του ενήλικα.

Τα περισωληναρικά μυοειδή κύτταρα (peritubular myoid cells) είναι μεσεγγυματογενή κύτταρα τα οποία, σε αντίθεση με τα κύτταρα Leydig, δεν εκφράζουν το γονίδιο *FtzF1* και, επομένως, δεν παράγουν στεροειδή. Παρουσιάζουν χαρακτηριστικά συσταλτών κυττάρων και εντοπίζονται στην περιφέρεια των σπερματικών σωληναρίων. Η διάταξη αυτή φαίνεται ότι εξυπηρετεί την προώθηση των σπερματοζωαρίων από τα περιφερικά σωληνάκια του όρχι προς το αλλήρειο δίκτυο και την επιδιδυμίδα.

## 2. Δείκτες Γονιδιακού Καθορισμού του Φύλου

Η διαφοροποίηση της γοναδικής καταβολής σε όρχι προϋποθέτει την παρουσία χρωμοσώματος Y και, ειδικότερα, την έκφραση του γονιδίου SRY από τα κύτταρα Sertoli. Σε αντίθετη περίπτωση, η γονάδα προσανατολίζεται σε φαινότυπο ωθήκης, με κάποιες αξιοσημείωτες εξαιρέσεις που αφορούν σε μεταλλάξεις των ρυθμιστικών γονιδίων που εκφράζονται καθοδικά του SRY, μετά τη λεγόμενη «κρίσιμη περίοδο» (στην οποία αποκλειστικός καθοριστής του γοναδικού φύλου είναι η απουσία ή παρουσία του γονιδίου SRY) (9). Ο πίνακας 1 παραθέτει συνοπτικά τους κυριότερους γονιδιακούς δείκτες που χρησιμοποιούνται για τον καθορισμό της δέσμευσης της αδιαφοροποίητης γονάδας σε όρχι (ή αντίθετα, σε ωθήκη).

Πίνακας 1. Δείκτες Γονιδιακού Καθορισμού του Φύλου. Απεικονίζεται η παρουσία ή μη σήμανσης σε έμβρυα αρουραίου 11,5 και 12,5 ημερών.		
Γονίδια-Δείκτης	Όρχις	Ωθήκη
<b>11,5 Ημέρες</b>		
<i>Sry</i>	+	-
<i>SOX9</i>	++	-
<i>DAX1</i>	++	++
<b>12,5 Ημέρες</b>		
<i>AMH</i>	++	-
<i>SOX9</i>	++	-
<i>DAX1</i>	+/-	++
<i>Sry</i>	-	-

## 3. Δείκτες σήμανσης των γεννητικών κυττάρων

Τα κύτταρα της γεννητικής σειράς αναδεικνύονται με τη χρήση δεικτών που τα διακρίνουν, κυρίως, από τα κύτταρα Sertoli, αφού λόγω της στενής σχέσης τους με τα τελευταία, είναι δυσχερής η αναγνώρισή τους αποκλειστικά με μορφολογικά κριτήρια. Άλλωστε, ειδικά στην εμβρυϊκή ζωή, η ύπαρξη πολλών μεταβατικών μορφών ωρίμανσης των γεννητικών κυττάρων καθιστά την αναγνώριση των επιμέρους υποπληθυσμών ακόμη πιο περίπλοκη. Από την ποικιλία των διαθέσιμων μορίων - δεικτών, χρησιμοποιούνται ευρύτερα οι: ALP, GATA4, GCAP, M2A, sACE.

Σημειώνεται ότι, στον αναπτυσσόμενο όρχι, η σήμανση για κάθε δείκτη χαρακτηρίζεται από ένα μέγιστο και μια περίοδο γύρω από αυτό, κατά την οποία διατηρείται ικανού βαθμού αντίδραση. Αντίθετα, στον ενήλικα άνδρα κανένας από τους δείκτες ανάπτυξης και διαφοροποίησης

των κυττάρων της γεννητικής σειράς δεν παραμένει θετικός. Σε περιπτώσεις νεοπλασίας, ωστόσο, είναι δυνατό να παρατηρηθούν, στον ενήλικα, ΑΒΓΚ, τα οποία έχουν υποστεί μετάλλαξη που προκαλεί την ανάπτυξη του νεοπλασματικού ιστού. Σε τέτοιες νεοπλασίες μπορεί να είναι θετική η σήμανση για δείκτες αρχικών σταδίων διαφοροποίησης των κυττάρων της γεννητικής σειράς, όπως το αντιγόνο M2A, το SACE και η GCAP (π.χ. όγκος λεκιθικού ασκού, αδιαφοροποίητο τεράτωμα) (10).

Στα γεννητικά κύτταρα, η έκφραση των επιμέρους δεικτών κατά την εμβρυϊκή και περιγεννητική περίοδο τροποποιείται ανά στάδιο διαφοροποίησης, από την πλέον πρώιμη μορφή, δηλαδή τα ΑΒΓΚ, έως τα σπερματογόνια. Τα τελευταία, στον άνθρωπο, δεν αποτελούν μία ενιαία, μορφολογικά, ομάδα κυττάρων και έχει προταθεί η ταξινόμησή τους σε υποκατηγορίες. Οι ιστολογικοί τύποι ΒΓΚ και σπερματογονίων που έχουν περιγραφεί, περιλαμβάνουν τα ΒΓΚ, που επικρατούν από την 8<sup>η</sup> έως τη 12<sup>η</sup> εβδομάδα της κύησης, τα Μ προσπερματογόνια (13<sup>η</sup> - 16<sup>η</sup> εβδομάδα κύησης), τα Τ1 προσπερματογόνια (17<sup>η</sup> - 23<sup>η</sup> εβδομάδα κύησης) και τα Τ2 προσπερματογόνια (25<sup>η</sup> - 35<sup>η</sup> εβδομάδα κύησης). Τέλος, ως ώριμα σπερματογόνια χαρακτηρίζονται αυτά που παρατηρούνται μετά τον τοκετό και κατά τη διάρκεια της νεογνικής ζωής. Η διάκριση αυτή βασίζεται τόσο σε μορφολογικές ιδιαιτερότητες, όσο και σε διαφορές στη μιτωτική δραστηριότητα. Συγκεκριμένα, από τους ανωτέρω ιστολογικούς τύπους, μιτωτικά αδρανή είναι μόνο τα Τ1 ή μεταβατικά προσπερματογόνια. Επιπλέον, η διαφοροποίηση των υποτύπων αυτών επεκτείνεται και στη σχετική ευαισθησία στους επιμέρους δείκτες, όπως χαρακτηριστικά αναλύεται στον πίνακα 2 (11).

**Πίνακας 2.** Δείκτες διαφοροποίησης κυττάρων της γεννητικής σειράς στον αναπτυσσόμενο όρχι ανθρώπου και χαρακτηρισμός του κυρίαρχου ιστολογικού τύπου ανά ηλικία. (Από τους Folker et al., 2004, τροποποιημένο).

Δείκτης	8 <sup>η</sup> -12 <sup>η</sup> εβδ/δα	13 <sup>η</sup> -16 <sup>η</sup> εβδ/δα	17 <sup>η</sup> -23 <sup>η</sup> εβδ/δα	24 <sup>η</sup> -35 <sup>η</sup> εβδ/δα	Νεογνό
Κύριος Τύπος	ΒΓΚ	Μ	Τ1	Τ2	Σπ/νια
M2A	+++	+++	+++	+	-
GCAP	+	+	++	+	-
SACE	+	+	+++	+	-

Υπόμνημα: Εβδ/δα= Εβδομάδα Κύησης  
ΒΓΚ= Βλαστικά Γεννητικά Κύτταρα  
Σπ/νια= Σπερματογόνια

#### 4. Δείκτες σήμανσης των κυττάρων Sertoli

Η ανάδειξη των κυττάρων Sertoli γίνεται είτε με γενικούς δείκτες επιθηλιακών κυττάρων (π.χ. κυτταροκερατίνες), είτε με προϊόντα της λειτουργικής τους εξειδίκευσης. Τα τελευταία, διακρίνονται περαιτέρω σε όσα αφορούν δείκτες διαφοροποίησης της εμβρυϊκής ζωής (π.χ. SRY) και σε παράγωγα με λειτουργική σημασία και για τον ενήλικα οργανισμό (π.χ. ABP). Από τους διάφορους δείκτες που έχουν προταθεί, επικρατέστερη είναι η χρήση των SRY, AMH, ABP, Ανασταλτίνη (Inhibin), Αντιγόνο M<sub>2</sub>A, Κυτταροκερατίνη 18 (CK-18) και Βιμεντίνη.

Ενώ στον αναπτυσσόμενο όρχι η έκφραση των δεικτών διαφοροποιείται ανά ηλικία, μετά την ωρίμανση της γονάδας, κατά την εφηβεία, φυσιολογικά εμμένει μόνο η έκφραση των ενδιάμεσων ινιδίων βιμεντίνης. Οι δείκτες διαφοροποίησης, όπως το SRY, εκφράζονται μόνο σε συγκεκριμένη περίοδο της εμβρυϊκής ζωής, ενώ η έκφραση των AMH, M<sub>2</sub>A και CK-18 ελαττώνεται βαθμιαία, μέχρι την οριστική της διακοπή, κατά την ενηλικίωση.

Σε περίπτωση εμμένουσας έκφρασης της κυτταροκερατίνης 18 (CK-18), διαπιστώνεται ισχυρή συσχέτιση με παθολογικό ιστολογικό φαινόμενο, συμβατό με υπογονιμότητα, που μπορεί να αφορά διάφορα παθολογοανατομικά πρότυπα, όπως το σύνδρομο σπερματικών σωληναρίων αποκλειστικά εκ κυττάρων Sertoli (Sertoli Cell Only Syndrome, SCOS), η αναστολή της ωρίμανσης των κυττάρων της γεννητικής σειράς αλλά και η νεοπλασία εκ γεννητικών κυττάρων (IGCN: Intratubular Germ Cell Neoplasia).

Η σήμανση των κυττάρων Sertoli χαρακτηρίζεται από χρονοεξαρτώμενες, κυρίως, μεταβολές δεδομένου ότι η διαφοροποίησή τους οριστικοποιείται σε αρχικά στάδια της ορχικής οργανογένεσης και δεν επιδέχονται άλλες μείζονες μορφολειτουργικές τροποποιήσεις. Ο πίνακας 3 παρουσιάζει συνοπτικά τις μεταβολές της αντίδρασης των κυττάρων Sertoli στους κυριότερους δείκτες που χρησιμοποιούνται για την ανάδειξή τους κατά την εμβρυϊκή και νεογνική περίοδο.

**Πίνακας 3.** Δείκτες διαφοροποίησης κυττάρων Sertoli στον αναπτυσσόμενο όρχι ανθρώπου (Από τους Folker et al., 2004, τροποποιημένο).

Δείκτης	8 <sup>η</sup> -12 <sup>η</sup> εβδομάδα	13 <sup>η</sup> -23 <sup>η</sup> εβδομάδα	24 <sup>η</sup> -35 <sup>η</sup> εβδομάδα	Νεογνό
AMH	+++	+++	+++	+++
CK18	+++	-	-	-
VIM	+++	+	+	+
M2A	-	+	+	++
SACE	-	+	+	+

## 5. Γενικοί Δείκτες Επιθηλίου (Κοιλωματικό Επιθήλιο, Κύτταρα Sertoli)

Πρόκειται για δείκτες που σημαίνουν εκλεκτικά κάθε κυτταρικό πληθυσμό επιθηλιακής προέλευσης της γονάδας. Πρακτικά, αναμένεται να αναδειχθούν με τους δείκτες αυτούς στα μεν σπερματικά σωληνάρια, τα κύτταρα Sertoli, στη δε περιφέρεια της γονάδας, τα κύτταρα του κοιλωματικού επιθηλίου. Οι δύο βασικότερες κατηγορίες δεικτών επιθηλίου είναι τα ενδιάμεσα ινίδια του κυτταροσκελετού και τα επιθηλιακά προϊόντα της εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας. Κύριος εκπρόσωπος των πρώτων είναι οι κυτταροκερατίνες ενώ των δεύτερων η λαμινίνη. Η τελευταία, σημαίνει εκλεκτικά τη βασική μεμβράνη που παράγουν τα επιθηλιακά κύτταρα (στρώμα κολλαγόνου τύπου IV, λαμινίνης και πρωτεογλυκανών).

## 6. Γενικοί Δείκτες μεσεγγύματος

Για την ανάδειξη των μεσεγγυματογενών κυττάρων μπορούν να χρησιμοποιηθούν γενικοί (μη ειδικοί) δείκτες, από τους οποίους οι συχνότερα χρησιμοποιούμενοι είναι αυτοί που περιλαμβάνουν συστατικά της εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας. Κύριος εκπρόσωπος της κατηγορίας αυτής είναι η φιβρονεκτίνη ή ινωδονεκτίνη (fibronectin). Σημειώνεται πάντως ότι εξαιτίας της διασποράς των μεσεγγυματογενών κυττάρων σε όλο το διάμεσο ιστό, αλλά και στις παρυφές των σπερματικών σωληναρίων (περισωληναριακά μυοειδή κύτταρα), η χρώση αναμένεται να διαχυθεί σε σημαντικό βαθμό, καθιστώντας τη χρησιμότητά της για κυτταρολογικές μετρήσεις και ποσοτική ανοσοϊστοχημεία (με μορφομετρική ανάλυση εικόνας) περιορισμένη.

## 7. Δείκτες για τα διάμεσα κύτταρα Leydig

Τα διάμεσα κύτταρα Leydig μπορούν να σημανθούν με χρώση κυττάρων μεσεγγύματος. Ωστόσο, για την εκλεκτική τους ανάδειξη διατίθενται ειδικότεροι δείκτες που εκμεταλλεύονται κυρίως τη στεροειδογόνο δράση τους. Έτσι, χρησιμοποιούνται ως δείκτες διάφορα ένζυμα της στεροειδογένεσης, όπως η 11β-υδροξυλάση, αλλά και τα προϊόντα της αντίδρασης, δηλαδή τα ανδρογόνα. Ακόμη, τα κύτταρα αυτά εμφανίζουν κάποιου βαθμού ευαισθησία στην ανασταλτίνη - ινχιμπίνη και τον ινσουλινομιμητικό αυξητικό παράγοντα 1 (insulin like growth factor 1, IGF-1), ενώ λόγω της κοινής προέλευσης με τα κύτταρα του φλοιού των επινεφριδίων, η σήμανση με προ-οπιο-μελανοκορτίνη (POMC) παρουσιάζει, επίσης, υψηλή ευαισθησία (12).

## 8. Δείκτες για τα περισωληναριακά μυοειδή κύτταρα

Τα κύτταρα αυτά συνιστούν το σπανιότερο υποπληθυσμό της γονάδας και δύσκολα διακρίνονται μικροσκοπικά. Αναδεικνύονται με χρώση κυττάρων μεσεγγύματος (π.χ. φιβρονεκτίνη ή κολλαγόνο τύπου I) και, πρόσφατα, δοκιμάστηκε με επιτυχία το αντιγόνο PModS. Επίσης, χαρακτηριστική αντίδραση παρατηρείται σε αντίσωμα κατά του αναστολέα του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου (plasminogen activator inhibitor, PA-I) (13).

## 9. Ιστοχημικές χρώσεις υπεριοδικού οξέος (Periodic Acid Stain - PAS) και λίπους

Με τη χρώση PAS σημαίνονται τα γεννητικά κύτταρα μέχρι τη 12η εβδομάδα της κύησης. Η διαφοροποίησή τους σε προσπερματογόνα M και η συνοδος έντονη μιτωτική δραστηριότητα (που μπορεί να ανιχνευθεί με δείκτες όπως το MIB1), καταργεί την ιδιότητα ανίχνευσης με PAS. Παράλληλα, περιορισμένη σήμανση παρατηρείται και για τα αντιγόνα GCAP και sACE, ενώ αντίθετα διατηρείται η σήμανση για το M<sub>2</sub>A. Οι χρωστικές εντοπισμού του λίπους, όπως π.χ. το Ερυθρό του Σουδάν, αναδεικνύουν τα στεροειδογόνα κύτταρα με υψηλό περιεχόμενο σε λιπασταγονίδια, όπως τα διάμεσα κύτταρα Leydig, στην περίπτωση του όρχι.

## 10. Περιγραφή των κυριότερων κυτταρικών δεικτών του όρχι

### 10.1 Ανασταλτίνη - Ινχιμπίνη (Inhibin)

Παράγεται από τα κύτταρα Sertoli, στον όρχι και τα θυλακικά κύτταρα, στην ωοθήκη σε ποσότητα που αντιστοιχεί στο βαθμό διέγερσής τους από τη θυλακιοτρόπο ορμόνη της υπόφυσης (FSH). Δρα στην υπόφυση, αναστέλλοντας την υπερέκκριση της FSH από τα γοναδοτρόφα κύτταρα (κύκλωμα αρνητικής ανάδρασης). Η κυκλοφορία της στο αίμα πιθανόν να οδηγεί σε διάχυση του σήματος στο ιστολογικό παρασκεύασμα.

### 10.2 Ανδρογόνο-Δεσμευτική Πρωτεΐνη (Androgen Binding Protein -ABP)

Παράγεται από τα κύτταρα Sertoli και δεσμεύει την παραγόμενη τεστοστερόνη από τα κύτταρα Leydig. Συνδέεται με υποδοχείς των γεννητικών κυττάρων, εξασφαλίζοντάς τους πολύ υψηλές συγκεντρώσεις ανδρογόνων, σε σχέση με τον περιβάλλοντα ιστό. Σημειώνεται ότι, αν και τα ανδρογόνα είναι παράγοντες επιβίωσης, αύξησης και διαφοροποίησης, απαραίτητα για την ανάπτυξη του γεννητικού συστήματος και των δύο φύλων, σε ακραίες συγκεντρώσεις καθίστανται τοξικά και εμποδίζουν την

ομαλή οργανογένεση. Μόριο-διακόπτης για τον έλεγχο της δόσης τους είναι η πρωτεΐνη του στεροειδογόνου παράγοντα SF1.

### 10.3 AMH (Anti-Müllerian Hormone)

Ανήκει στους δείκτες διαφοροποίησης του επιθηλίου των σπερματικών χορδών (κύτταρα του Sertoli) (14). Η έκφραση του γονιδίου της AMH επάγεται από το προϊόν του γονιδίου *Sry / SRY* στο ποντίκι και τον άνθρωπο, αντίστοιχα. Αυτό το γεγονός, επιτρέπει την επαλήθευση των αποτελεσμάτων της χρώσης με AMH, χρησιμοποιώντας για δεύτερο έλεγχο, στον ίδιο ιστό, το γονίδιο *Sry / SRY* ή το *SOX9*, μέσω του οποίου πραγματοποιούνται οι περισσότερες δράσεις του *Sry / SRY*.

Την 8<sup>η</sup> ημέρα αντιδρούν στο δείκτη τα κύτταρα του επιθηλίου, αλλά η χρώση διαχέεται και στο περιβάλλον στρώμα. Από τη 13<sup>η</sup> ημέρα, η χρώση συγκεντρώνεται σταθερά μόνο στα κύτταρα Sertoli (15). Τα κύτταρα παραμένουν θετικά στο δείκτη σε όλη την περίοδο της κύησης. Η οριστική και πλήρης απώλεια της έκφρασης της AMH από τα κύτταρα Sertoli αντιστοιχεί στη λειτουργική τους ωρίμανση και την έναρξη της εφηβείας, σε αντίθεση με όγκους ατελούς διαφοροποίησης, στους οποίους είναι χαρακτηριστική η εμμένουσα έκφραση εμβρυϊκών δεικτών, όπως η AMH (16).

Η δράση της AMH συνίσταται στην αναστολή της ανάπτυξης των πόρων του Müller, την προαγωγή της ανάπτυξης των πόρων του Wolff και, τελικά, την αρρενοποίηση του εμβρύου. Η βασική της λειτουργία είναι η παρέμβασή της στην ανάπτυξη του γεννητικού συστήματος, όπου επάγει την υποστορφή των παραμεσονεφρικών πόρων, επιτρέποντας την ανάπτυξη έσω γεννητικής οδού αρσενικού τύπου. Συνεργεί, επίσης, με τα ανδρογόνα στη διαφοροποίηση των εξωτερικών γεννητικών οργάνων και ιδιαίτερα με τη διϋδροτεστοστερόνη (DHT), μέσω της δράσης του ενζύμου 5<sup>α</sup>-αναγωγάση. Στη λειτουργία αυτή συμμετέχουν και παράγοντες επαγωγής της ορχικής καθόδου, όπως ο LNT1.

Η AMH εκκρίνεται στην αγγειακή μικρο-κυκλοφορία του όρχι, γεγονός που δικαιολογεί κάποιου βαθμού διάχυση της χρώσης με αυτό το δείκτη, τόσο ενδο- όσο και περι-σωληναριακά. Θετικά, σημαίνονται, επίσης, τα ομόλογα των Sertoli, θυλακικά κύτταρα της ωθήκης, καθώς και νεοπλασματικά κύτταρα προερχόμενα από εξαλλαγή των κυττάρων Sertoli σε άνδρες ή των θυλακικών κυττάρων των ωθηκών, σε γυναίκες (17).

### 10.4 Αντιγόνο M2A (M2A Antigen)

Περιγράφηκε, αρχικά, το 1989 από την ομάδα των Baumal et al., ως ειδικός δείκτης για την ιστοχημική εντόπιση των κυττάρων Sertoli στον αναπτυσσόμενο όρχι.

Τελικά, με υψηλής ευαισθησίας ανοσοϊστοχημική χρώση και ποσοτική μορφομετρική ανάλυση εικόνας, διαπιστώθηκαν επιπλέον και θετικά ABΓΚ στο αντίσωμα, αλλά και προσπερματογόνια, σε μεγαλύτερες ηλικίες εμβρυϊκής ανάπτυξης.

Στα εμβρυϊκά κύτταρα Sertoli, η χρώση για το αντιγόνο M<sub>2</sub>A είναι ασθενής. Αντίθετα, ενισχύεται σταθερά στα επόμενα στάδια της ανάπτυξης, δηλαδή την περιγεννητική και νεογνική περίοδο. Στον όρχι του ανθρώπου, ο δείκτης ανιχνεύεται σταθερά και με αυξανόμενη ένταση μετά τη 12<sup>η</sup> εβδομάδα της κύησης. Στα γεννητικά κύτταρα, η σήμανση είναι έντονη από την 8<sup>η</sup> μέχρι και την 23<sup>η</sup> εβδομάδα της κύησης και στη συνέχεια φθίνει, για να μηδενιστεί μετά τη γέννηση (18).

### 10.5 Κυτταροκερατίνες (Cytokeratins, CK) και Βιμεντίνη (Vimentin, VIM)

Οι κυτταροκερατίνες και η βιμεντίνη ανήκουν στα ενδιάμεσα ινίδια του κυτταροσκελετού και αποτελούν το βασικό δείκτη διαφοροποίησης των ιστών επιθηλιακής προέλευσης. Χρησιμοποιούνται, πολύ συχνά, στην Παθολογική Ανατομική, π.χ. για τη διερεύνηση του βαθμού διαφοροποίησης νεοπλασματικών όγκων επιθηλιακής προέλευσης. Για την ορχική μορφογένεση, χαρακτηριστική είναι η έκφραση του υποτύπου 18 των κυτταροκερατινών (CK18). Η έκφρασή της CK18, στα κύτταρα Sertoli του ανθρώπου, αρχίζει την 9<sup>η</sup> εβδομάδα της κύησης και σταματά τη 12<sup>η</sup> εβδομάδα. Αντίστοιχα, η αντίδραση στην CK18, σε εμβρυϊκούς όρχεις αρουραίου, λήγει την 20<sup>η</sup> ημέρα της κύησης. Υπολειμματική έκφραση παραμένει μόνο στα κύτταρα του ορχικού δικτύου (19).

Σε όλη την περίοδο της οργανογένεσης, παρατηρείται στενή συσχέτιση της έκφρασης της κυτταροκερατίνης 18 με τη βιμεντίνη. Το γεγονός αυτό, επιτρέπει την επαλήθευση των ευρημάτων της χρώσης με τον ένα δείκτη, χρησιμοποιώντας σε επάλληλες τομές το δεύτερο ως δείκτη ελέγχου. Η βιμεντίνη ανιχνεύεται στα κύτταρα Sertoli σε όλα τα στάδια της ανάπτυξης (μετά την 8<sup>η</sup> εβδομάδα της κύησης), αλλά και στο ενήλικο άτομο. Μέχρι την 20<sup>η</sup> εβδομάδα, το πρότυπο έκφρασης συμπίπτει με την κυτταροκερατίνη 18, αλλά σε μεταγενέστερες ηλικίες, εκφράζεται μόνο η βιμεντίνη (19).

### 10.6 Αλκαλική Φωσφατάση (Germ Cell Alkaline Phosphatase, GCAP)

Το ένζυμο αλκαλική φωσφατάση (ορθοφωσφο-μονοεστερική φωσφοϋδρολάση) ανήκει σε μια μικρή οικογένεια ενζύμων (γλυκοπρωτεϊνών) της επιφάνειας του κυττάρου που συμμετέχουν στη μορφογένεση και τη διαφοροποίηση. Η σπουδαιότητα της έγκειται στην ειδική κατανομή ανάλογα με τον ιστό και το στάδιο ανάπτυξης. Η δραστη-

ριότητα της αλκαλικής φωσφατάσης αναγνωρίζεται, ιστοχημικά, στο έμβρυο του ποντικίου, από το στάδιο των 2 - 4 κυττάρων και, κατά τη γαστριδίωση, παρατηρούνται εστίες έντονης δραστηριότητας του ενζύμου. Ο βιολογικός ρόλος της αλκαλικής φωσφατάσης στα ABΓΚ δεν έχει καθοριστεί και, όπως έδειξαν οι Lewis-Jones et al. (20), η δραστηριότητα του ενζύμου παρατηρείται σε όλα τα στάδια της ανάπτυξης, αλλά σε ορισμένες περιόδους σημειώνονται χαρακτηριστικές αλλαγές στις 160 ισομορφές του ενζύμου. Οι Donovan et al., υποστήριξαν ότι στο ποντίκι η δραστηριότητα της αλκαλικής φωσφατάσης ανιχνεύεται στα ΒΓΚ από τις 8,5 έως τις 17 ημέρες της κύησης ενώ, δεν θεωρείται αξιόπιστος δείκτης ανίχνευσης των ΒΓΚ, στις μεγαλύτερες ηλικίες (21). Οι πρώτες μελέτες έδειξαν ότι, το προϊόν αντίδρασης του ενζύμου κατανέμεται στο κυτταρόπλασμα αλλά, αργότερα, διαπιστώθηκε ότι εντοπίζεται στη μεμβράνη των ABΓΚ και στη συσκευή Golgi. Πιθανόν, η συγκέντρωση του ενζύμου να γίνεται στη συσκευή Golgi και από εκεί να μεταφέρεται στην κυτταρική μεμβράνη.

Στον άνθρωπο, τα πειραματικά δεδομένα καταδεικνύουν συνεχιζόμενη αντίδραση στην αλκαλική φωσφατάση και σε γεννητικά κύτταρα υψηλότερης διαφοροποίησης, όπως τα προσπερματογόνια, που εκφράζουν τη GCAP από τη 18<sup>η</sup> έως και την 22<sup>η</sup> εβδομάδα της κύησης. Παρ' όλα αυτά, η έκφραση αίρεται σε προσπερματογόνια μεταβατικού σταδίου (T2 προσπερματογόνια), ενώ μετά τη γέννηση δεν σημαίνεται πλέον κανένας κυτταρικός πληθυσμός του νεογνικού όρχι. Η έκφραση της GCAP σχετίζεται με την έκφραση του μετατρεπτικού ενζύμου της αγγειοτασίνης (MEA), ώστε να μπορεί να χρησιμοποιηθεί η διπλή χρώση σε επάλληλες τομές για την επαλήθευση.

Το ισοένζυμο ορχικής προέλευσης αποτελεί στόχο ιδιαίτερου αντισώματος στα πλαίσια της ανοσοϊστοχημικής απεικόνισης του αναπτυσσόμενου όρχι. Για το λόγο αυτό, γίνεται ξεχωριστή αναφορά με τον όρο αλκαλική φωσφατάση των γεννητικών κυττάρων (Germ Cell Alkaline Phosphatase, GCAP) (22). Λόγω της ανάγκης διάκρισης της GCAP από την αλκαλική φωσφατάση άλλης προέλευσης, χρησιμοποιείται, ειδικά για την ποσοτικοποίηση των ανοσοϊστοχημικών μετρήσεων αυτού του δείκτη, μάρτυρας συγκρίσιμης ηλικίας με τον υπό εξέταση ιστό, ώστε, η επιπρόσθετη σήμανση που παρατηρείται να μπορεί να αποδοθεί, εξ ολοκλήρου, στην έκφραση του ενζύμου από τα κύτταρα της γεννητικής σειράς.

### 10.7 Μετατρεπτικό Ένζυμο της Αγγειοτασίνης (MEA) somatic Angiotensin Converting Enzyme (sACE)

Το ένζυμο αυτό μεσολαβεί στη μετατροπή της αγγειοτασίνης 1 σε αγγειοτασίνη 2. Η οδός ξεκινά με την παραγωγή αγγειοτασινογόνου στο ήπαρ (μόνιμη βασική παραγωγή και αιχμή σε αναβολικές συνθήκες ή υπό stress).

Το αγγειοτασινογόνο είναι ανενεργό προένζυμο, της κατηγορίας των ζυμογόνων (όπως π.χ. το κινινογόνο στην οδό της πήξης ή το θρυψινογόνο στην οδό της πέψης). Η μετατροπή του σε ενεργό μορφή επάγεται με τη δράση της ρενίνης, που παράγεται από την παρασπειραματική συσκευή του νεφρού. Η παραγόμενη αγγειοτασίνη 1 έχει κάποια αγγειοσυσπαστική δράση, αλλά μετατρέπεται στη δραστικότερη μορφή της αγγειοτασίνης 2, με τη δράση του MEA. Η αγγειοτασίνη 2 είναι ισχυρό αγγειοσυσπαστικό μόριο και δρα, επίσης, στο φλοιό των επινεφριδίων, επάγοντας την παραγωγή της αλδοστερόνης. Αναστολείς του MEA και των υποδοχέων αγγειοτασίνης χρησιμοποιούνται στη θεραπευτική της υπέρτασης.

Στη γονάδα, MEA παράγουν τόσο τα κύτταρα Sertoli, όσο και τα γεννητικά κύτταρα. Τα κύτταρα Sertoli αντιδρούν στο δείκτη μετά τη 12<sup>η</sup> εβδομάδα της κύησης. Τα ABΓΚ δεν αντιδρούν στο δείκτη ενώ, αντίθετα, γεννητικά κύτταρα υψηλότερης διαφοροποίησης, όπως τα προσπερματογόνια, εκφράζουν το MEA, με αιχμή έκφρασης την περίοδο από τη 18<sup>η</sup> έως και την 22<sup>η</sup> εβδομάδα της κύησης. Αντίθετα, η έκφραση του MEA αίρεται σε προσπερματογόνια μεταβατικού σταδίου (T<sub>2</sub> προσπερματογόνια) και μετά τη γέννηση δεν σημαίνεται πλέον κανένας κυτταρικός πληθυσμός στο νεογνικό όρχι. Η έκφραση του MEA, όπως προαναφέρθηκε, σχετίζεται με την έκφραση της αλκαλικής φωσφατάσης των γεννητικών κυττάρων, GCAP.

### 10.8 Πρωτεΐνη προσδένουσα στην αλληλουχία GATA, νούμερο 4 (G.A.T.A. sequence binding protein 4, GATA4)

Είναι μεταγραφικός παράγοντας που αλληλεπιδρά με ρυθμιστικά μόρια τύπου κίνησης της τυροσίνης. Αναδεικνύει τα γεννητικά κύτταρα στον αναπτυσσόμενο εμβρυϊκό όρχι αλλά δεν είναι κατάλληλος για τη σήμανση κυττάρων στον όρχι ενηλικων ατόμων (23).

### 10.9 Γονίδιο του αντιγόνου του μελανώματος (Melanoma Antigen Gene, MAGE)

Το γονίδιο αυτό χρησιμοποιείται, σπανιότερα, ως δείκτης στη μελέτη της ορχικής μορφογένεσης, δεδομένου ότι, όπως αποκαλύπτει και το όνομά του, εφαρμόζεται σε βιοψίες δέρματος που ελέγχονται για κακοήθεια εκ μελανοκυττάρων. Σε μοριακό επίπεδο, το γονίδιο φαίνεται ότι λειτουργεί προ-αποπτωτικά, επάγοντας τον κυτταρικό θάνατο, μέσω της ενεργοποίησης μιας p-53 εξαρτώμενης οδού αναστολής του κυτταρικού κύκλου. Με βάση το μηχανισμό αυτό, το γονίδιο αναμένεται να δρα ανταγωνιστικά ως προς μεσολαβητές με αντι-αποπτωτική λειτουργία, όπως η πρωτεΐνη Bcl-2.

### 10.10 Τρανσκαρβαμύλαση της ορνιθίνης (Ornithine Carbamyl-transferase, OCT4)

Πρόκειται για ένα ένζυμο - δείκτη που χρησιμοποιείται σπάνια. Μετέχει στον κύκλο της ουρίας, με τον οποίο ανακυκλώνεται το αζωτούχο τμήμα των διατροφικών αμινοξέων. Αν και πιθανολογήθηκε σύνδεση του ενζύμου με την εκδήλωση του συνδρόμου Rett (πιθανώς ΦΧΕ κληρονομηση) και τις συνοδές ενδοκρινικές - μεταβολικές διαταραχές (υπογλυκαιμία νηστείας, γαλακτική οξέωση, αποβολή οροτικού οξέος από τα ούρα μετά την κατανάλωση αλανίνης), η συσχέτιση δεν αποδείχτηκε, μετά την εξέταση οικογενειών με πάσχουσες από τη νόσο (24, 25).

### 10.11 Vasa homologue, c-kit

Ανοσοϊστοχημική χρώση για το προϊόν του γονιδίου Vasa homologue (MVH) του ποντικού αναδεικνύει αποκλειστικά τα γεννητικά κύτταρα σπονδυλωτών και ασπονδυλών (26). Αντίστοιχα, για το πρωτο-ογκογονίδιο c-kit, έχει προταθεί πρόσφατα κάποιος ρόλος στην ορχική μορφογένεση.

### Ευχαριστίες

Απευθύνονται στο Διευθυντή του Εργαστηρίου Ιστολογίας και Εμβρυολογίας της Ιατρικής Σχολής Καθηγητή κ. Χρήστο Κίττα για την ουσιαστική υποστήριξη στην πραγματοποίηση αυτής της εργασίας.

Το παρόν άρθρο αποτελεί μέρος της έρευνας με τίτλο: «FISH και Ανδρική Υπογονιμότητα» που επιχορηγείται από το ΕΠΕΑΕΚ II, Πρόγραμμα Πυθαγόρας: Ενίσχυση Ερευνητικών Ομάδων στα Πανεπιστήμια, με κωδικό έργου 70/3/7361.

### ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Francavilla S, Cordeschi G, Properzi G. Ultrastructure of fetal human gonad before sexual differentiation and during early testicular and ovarian development. *J Submicrosc Cytol Pathol* 1990, 22: 389-400.
2. Fukuda T, Hedinger C, Groscurth P. Ultrastructure of developing germ cells in the fetal human testis. *Cell Tissue Res* 1975, 161: 55-70.
3. Beaumont H, Mandl A. A quantitative study of primordial germ cells in the male rat. *J Embr Exp Morph* 1963, 11: 715-740.
4. Müller J, Skakkebaek NE. Quantification of germ cells and seminiferous tubules by stereological examination of testicles from 50 boys who suffered from sudden death. *Int J Androl* 1983, 6: 143-156.
5. Nistal M, Abaurrea MA, Paniagua R. Morphological and histometric analysis on the human Sertoli cell from birth to the onset of puberty. *J Anat* 1982, 14: 351-363.
6. Rivkees SA, Hall DA, Boepple PA, Crawford JD. Accuracy and reproducibility of clinical measures of testicular volume. *J Pediatr* 1987, 110: 914-917.
7. Rodriguez I, Ody C, Araki K, Garcia I, Vassali P. An early and massive wave of germinal cell apoptosis is required for the development of functional spermatogenesis. *EMBO J* 1997, 16: 2262-2270.
8. Αγγελοπούλου Ρ. Η Αντι-Μυλλέριος Ορμόνη. στο: Αγγελοπούλου Ρ. Πειραματική Εμβρυολογία, 2η Έκδοση, Ιατρικές Εκδόσεις Π. Χ. Πασχαλίδης 2005, σελ. 55-76.
9. Αγγελοπούλου Ρ. Καθορισμός και Διαφοροποίηση του Φύλου. στο: Αγγελοπούλου Ρ. Πειραματική Εμβρυολογία, 2η Έκδοση, Ιατρικές Εκδόσεις Π. Χ. Πασχαλίδης 2005, σελ. 15-30.
10. Folker F, Pauls K, Rey R. Differentiation markers of Sertoli cells and germ cells in fetal and early postnatal human testis. *Anat Embryol* 2004, 209: 169-177.
11. Gaskell T, Esnal A, Robinson L. Immunohistochemical profiling of germ cells within the human fetal testis: identification of three subpopulations. *Biol Reprod* 2004, 71: 2012-2021.
12. Todorovic A, Haskell-Luevano C. A review of melanocortin receptor small molecule ligands. *Peptides* 2005, Jul 25; [Epub ahead of print].
13. Skinner MK, McLachlan RI, Bremner WJ. Stimulation of Sertoli cell inhibin secretion by the testicular paracrine factor PModS. *Mol Cell Endocrinol* 1989, 66: 239-249.
14. Baker M, Metcalfe S, Hutson J. Serum levels of Müllerian Inhibiting substance in boys from birth to 18 years, as determined by enzyme immunoassay. *J Clin Endocrinol Metab* 1990, 70: 11-15.
15. Hudson P, Douglas I, Donahoe P. An immunoassay to detect human Müllerian inhibiting substance in males and females during development. *J Clin Endocrinol Metab* 1990, 70: 16-22.
16. Rey R, Sabourin J, Venara M. Anti-Müllerian hormone is a specific marker of Sertoli and granulosa cells in gonadal tumors. *Hum Pathol* 2000, 31: 1202-1208.
17. Vigier B, Picard JY, Tran D, Legeai L, Josso N. Production of Anti-Müllerian hormone: another homology between Sertoli and granulosa cells. *Endocrinology* 1984, 114: 1315-1320.
18. Baumal R, Bailey D, Giwercman A. A novel maturation marker for human Sertoli cells. *Int J Androl* 1989, 12: 354-359.
19. Rogatsch H, Jezek D, Hittmair A. Expression of vimentin, cytokeratin and desmin in Sertoli cells of human fetal, cryptorchid and tumour-adjacent testicular tissue. *Virch Arch* 1996, 427: 497-502.
20. Lewis-Jones DI, Johnson PM, Desmond AD, McLaughlin PJ. Ge4rm cell alkaline phosphatase in human seminal plasma following vasectomy. *Br J Urol* 1992, 69: 418-420.
21. Donovan PJ, Stott D, Cairns LA, Heasman J, Wylie CC. Migratory and postmigratory mouse primordial germ cells behave differently in culture. *Cell* 1986, 44: 831-838.
22. Hustin J, Gillerot Y, Collette J. Placental alkaline phosphatase in developing normal and abnormal gonads and in germ-cell tumours. *Virchows Archiv A Pathol Anat* 1990, 417: 67-72.
23. Jarvis S, Elliott D, Morgan D, Winston R, Readhead C. Molecular markers for the assessment of postnatal male germ cell development in the mouse. *Hum Reprod* 2004, 20: 108-116.
24. Clarke A, Gardner-Medwin D, Richardson J. Abnormalities of carbohydrate metabolism and of OCT gene function in the Rett syndrome. *Brain Dev* 1990, 12: 119-124.
25. Kehler J, Tolkunova E, Koschorz B, Pesce M, Gentile L, Boiani M. Oct4 is required for primordial germ cell survival. *EMBO* 2004, 5: 1078-1083.
26. Fujiwara Y. Isolation of a DEAD-family protein gene that encodes a murine homolog of Drosophila vasa and its specific expression in germ cell lineage. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994, 91: 12258-12262.

# ΠΡΙΑΠΙΣΜΟΣ: ΣΥΓΧΡΟΝΗ ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΗ ΚΑΙ ΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΗ ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΗ

ΧΑΡΑΛΑΜΠΟΣ ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΙΔΗΣ, ΔΗΜΗΤΡΗΣ ΔΕΛΑΚΑΣ

ΟΥΡΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ ΑΣΚΛΗΠΕΙΟΥ ΒΟΥΛΑΣ

## Περίληψη

Πριαπισμός θεωρείται η παθολογική στύση που παραμένει μετά από σεξουαλική διέγερση ή που δεν σχετίζεται με σεξουαλική επιθυμία. Αποτελεί ένα μείζον οξύ πρόβλημα με ενδεχόμενες απώτερες συνέπειες για τον ασθενή (ίνωση των σπαραγγιδίων σωμάτων, στυτική δυσλειτουργία), αν δεν αντιμετωπιστεί άμεσα και κατάλληλα. Υπάρχουν δυο τύποι πριαπισμού: ο ισχαιμικός ή ελαττωμένης φλεβικής απορροής και ο μη ισχαιμικός ή αυξημένης αρτηριακής παροχής. Οι επιπλοκές του ισχαιμικού τύπου είναι ανάλογες με αυτές του συνδρόμου διαμερίσματος. Η ισχαιμία που παραμένει μετά από το σημείο των αναστρέψιμων κυτταρικών βλαβών, σχετίζεται με αμετάκλητες αλλαγές της κυτταρικής λειτουργίας, που επιφέρουν ανατομικές μεταβολές στα σπαραγγίδια σώματα. Η αντιμετώπιση είναι κλιμακωτή με αυξανόμενη επεμβατικότητα αντισταθμίζοντας τον κίνδυνο στυτικής δυσλειτουργίας που οφείλεται στη θεραπεία, με τη βεβαιότητα της μόνιμης βλάβης του στυτικού ιστού που οφείλεται στην παρατεταμένη ισχαιμία.

Ο μη ισχαιμικός πριαπισμός είναι λιγότερο συχνός, προκύπτει από αυξημένη αρτηριακή παροχή σε σχέση με τη φυσιολογική φλεβική αποχέτευση. Η στύση δεν είναι συνήθως πλήρης και απαιτεί διερεύνηση χωρίς να χρήζει άμεσης αντιμετώπισης, καθώς δεν οδηγεί σε ίνωση των σπαραγγιδίων σωμάτων και στυτική δυσλειτουργία.

Περιγράφεται ακόμη και ο διαλείπων ή υποτροπιάζων πριαπισμός που χαρακτηρίζεται από συχνές υποτροπές του ισχαιμικού πριαπισμού με μεσοδιαστήματα μεγαλύτερα των 24 ωρών. Σε αυτή τη περίπτωση το ενδιαφέρον επικεντρώνεται στη πρόληψη των επεισοδίων αυτών. Κάθε μεμονωμένο επεισόδιο αντιμετωπίζεται ως πριαπισμός χαμηλής ροής.

**Λέξεις ευρετηρίου:** πριαπισμός, ισχαιμικός, υψηλής ροής, χαμηλής ροής, στυτική δυσλειτουργία.

## Summary

Priapism is a persistent penile erection that continues hours beyond, or is unrelated to, sexual stimulation. Clinical priapism is a major acute issue for patients, which has grave potential long-term consequences (erectile dysfunction, penile fibrosis) if it is not managed appropriately. Priapism may be classified as ischemic (veno-occlusive or low-flow) and nonischemic (arterial or high-flow). The consequences of ischemic priapism are in the same class as those from a compartmental syndrome – ischemia persisting beyond the point of cellular recovery will be associated with irreversible changes in cellular function and anatomy. The treatment options are applied in a step-wise pattern with increasing invasiveness and risk balanced against the likelihood of prolonged ischemia and permanent damage to the corpora cavernosa if treatment is delayed or absent.

Nonischemic priapism is less common, derives from unregulated arterial inflow with continuing outflow, is less than completely rigid and requires investigation but not emergency intervention as it does not lead to sexual dysfunction and cavernosal fibrosis.

Patients with ischemic priapism may develop a pattern of recurrence over time that is distinct from persistence or rapid recurrence of single episode of priapism. This pattern of recurrence, known as stuttering priapism, challenges the clinician to develop a management strategy to prevent future episodes of priapism. Each episode is treated as ischemic priapism.

**Key words:** Ischemic priapism, hi-flow priapism, low-flow priapism, sexual dysfunction

## Εισαγωγή

Ο πριαπισμός είναι γνωστός από την αρχαιότητα και οφείλει την ονομασία του στον θεό Πρίαπο. Αν και αποτελεί μια σπάνια διαταραχή, είναι μια πραγματικά επείγουσα κατάσταση. Παρότι δεν απαιτείται άμεση αντιμετώπιση σε όλες τις μορφές πριαπισμού, ο ισχαιμικός τύπος σχετίζεται με προοδευτική ίνωση του ιστού των σηραγγωδών σωμάτων και εμφάνιση στυτικής δυσλειτουργίας (1, 2). Για αυτό τον λόγο όλοι οι ασθενείς θα πρέπει να αντιμετωπίζονται με τη διαδικασία του επείγοντος προκειμένου να αναγνωριστεί ο τύπος του πριαπισμού. Ο στόχος στην αντιμετώπιση όλων των τύπων πριαπισμού είναι η υποχώρηση της στύσης και η διαφύλαξη της στυτικής επάρκειας. Δυστυχώς, ορισμένοι θεραπευτικοί χειρισμοί επιπλέκονται αναπόφευκτα με στυτική δυσλειτουργία. Η αντιμετώπιση είναι κλιμακωτή με αυξανόμενη επεμβατικότητα αντισταθμίζοντας τον κίνδυνο στυτικής δυσλειτουργίας που οφείλεται στη θεραπεία, με τη βεβαιότητα της μόνιμης βλάβης του στυτικού ιστού που οφείλεται στην παρατεταμένη ισχαιμία.

## Ορισμοί

Πριαπισμός θεωρείται η κατάσταση παρατεταμένης στύσης (για περισσότερες από τέσσερις ώρες), μετά από σεξουαλική διέγερση ή ανεξάρτητα από σεξουαλικό ερεθισμό που δεν συνοδεύεται από σεξουαλική επιθυμία (3-6). Συνήθως μόνο τα σηραγγώδη σώματα είναι σε πλήρωση ενώ το σπογγώδες της ουρήθρας και η βάλανος παραμένουν σε χάλαση. Απαιτείται άμεση διερεύνηση και επείγουσα αντιμετώπιση. Οι μορφές πριαπισμού είναι:

- Ισχαιμικός ή χαμηλής ροής ή ελαττωμένης φλεβικής απορροής

Παρατηρείται παρατεταμένη στύση που δεν συνοδεύεται από σεξουαλική επιθυμία και χαρακτηρίζεται από ελάχιστη ή μηδενική αιματική ροή στα σηραγγώδη και εντός αυτών παθολογικά αέρια αίματος (υποξία, υπερκαπνία και οξέωση). Συνήθως υπάρχει έντονος πόνος. Λύση του ισχαιμικού πριαπισμού έχει σαν αποτέλεσμα την εξάλειψη του πόνου και την επιστροφή του πέους στη κατάσταση της χαλάρωσης. Μερικές φορές, παραμένον οίδημα, εκχυμώσεις και καταστάσεις μερικής στύσης μπορεί να μιμηθούν πριαπισμό που επιμένει και η απάντηση θα δοθεί από τα αέρια αίματος των σηραγγωδών σωμάτων και το έγχρωμο Triplex των πείκων αγγείων.

- Μη ισχαιμικός ή υψηλής ροής ή αυξημένης αρτηριακής παροχής

Παρατηρείται παρατεταμένη στύση που δεν συνοδεύεται από σεξουαλική επιθυμία, προκαλούμενη από αυξη-

μένη αρτηριακή παροχή στα σηραγγώδη. Τα αέρια αίματος των σηραγγωδών σωμάτων δε δείχνουν υποξία ή οξέωση. Συνήθως η στύση δεν είναι πλήρης και δεν συνοδεύεται από πόνο. Το συνηθέστερο αίτιο είναι προηγούμενο τραύμα. Αυτός ο τύπος του πριαπισμού δεν απαιτεί επείγουσα αντιμετώπιση, ενώ η λύση του έχει σαν αποτέλεσμα την επιστροφή στην απόλυτα φυσιολογική κατάσταση.

- Διαλείπων ή υποτροπιάζων

Αποτελεί την συχνά υποτροπιάζουσα μορφή του ισχαιμικού πριαπισμού όπου μη επιθυμητές επώδυνες στύσεις εναλλάσσονται με μεσοδιαστήματα χάλασης του πέους. Σε αυτούς τους ασθενείς εφαρμόζονται μέτρα πρόληψης των ενδεχόμενων μελλοντικών επεισοδίων.

Τη λύση του διαλείποντος πριαπισμού συνοδεύει η χάλαση του πέους για τουλάχιστον 24 ώρες.

Υποτροπή του πριαπισμού υφίσταται όταν επανέρχεται μετά από 24 ώρες πλήρους χάλασης του πέους.

## Διερεύνηση του ασθενούς με πριαπισμό

Η διάγνωση του πριαπισμού είναι εμφανής και αυταπόδεικτη. Η διερεύνηση πρέπει να εστιαστεί στη διαφορική διάγνωση μεταξύ ισχαιμικού και μη ισχαιμικού τύπου. Στον Πίνακα 1 καταγράφονται τα κυριότερα ευρήματα των δυο τύπων. Η διάγνωση βασίζεται στο ιστορικό, τη φυσική εξέταση, τον εργαστηριακό και απεικονιστικό έλεγχο.

Πίνακας 1		
Ευρήματα	Ισχαιμικός Πριαπισμός	Μη Ισχαιμικός Πριαπισμός
Πλήρης στύση των σηραγγωδών σωμάτων	Ναι	Συνήθως όχι
Πόνος	Ναι	Συνήθως όχι
Αέρια αίματος σηραγγωδών σωμάτων	Υποξία, υπερκαπνία, οξέωση	Φυσιολογικά, τμές κοντά στο αρτηριακό αίμα
Αιμοσφαινοπάθειες, κακοήθειες νόσοι αιμοποιητικού συστήματος	Συνήθως Ναι	Όχι
Πρόσφατη χρήση ενδοσηραγγωδών ενέσεων αγγειοδραστικών ουσιών	Συνήθως Ναι	Όχι
Χρονιότητα, επαρκής και ανώδυνη στύση για σεξουαλική επαφή χωρίς τη μέγιστη σκληρότητα	Όχι	Συνήθως Ναι
Περνεϊκό τραύμα	Όχι	Συνήθως Ναι

**Ιστορικό**

Από το ιστορικό του ασθενούς θα πρέπει να καθορισθούν οι παρακάτω παράμετροι:

- Διάρκεια της στύσης
- Ύπαρξη και ένταση του πόνου (ο χαμηλής ροής πριαπισμός είναι επώδυνος ενώ ο υψηλής ροής συνήθως όχι)
- Ύπαρξη προηγούμενου επεισοδίου πριαπισμού και ο τρόπος αντιμετώπισης του
- Χρήση φαρμάκων που μπορεί να ευθύνονται (τα φάρμακα που ενέχονται στην αιτιοπαθογένεια του πριαπισμού είναι αντιυπερτασικά, αντιπηκτικά, αντικαταθλιπτικά καθώς και η χρήση ψυχοτρόπων ουσιών όπως αλκοόλ, κοκαΐνη, μαριχουάνα). Οι ενδοσηραγγώδεις ενέσεις αγγειοδραστικών ουσιών για την αντιμετώπιση της στυτικής δυσλειτουργίας μπορεί να επιπλακούν με πριαπισμό, κυρίως η παπαβερίνη και σε μικρότερα ποσοστά η αλπροσταδίλη και η φαιτολαμίνη.
- Ιστορικό πυελικού ή περινεϊκού τραύματος, ή των γεννητικών οργάνων, ειδικά περινεϊκού τραύματος με νύσσον όργανο.
- Ιστορικό δρεπανοκυταρικής αναιμίας ή άλλων αιματολογικών διαταραχών (7).

**Φυσική εξέταση**

Η φυσική εξέταση θα πρέπει να περιλαμβάνει εστιασμένη αξιολόγηση της κατάστασης των έξω γεννητικών οργάνων, της κοιλιάς και του περινέου. Τα σηραγγώδη σώματα του πέους είναι σε πλήρωση ενώ το σπογγειώδες της ουρήθρας και η βάλανος είναι συνήθως σε χάλαση. Στις περιπτώσεις πριαπισμού υψηλής ροής, τα σηραγγώδη σώματα είναι σε πλήρωση, όχι όμως σε στύση πλήρους σκληρότητας. Η εξέταση των έξω γεννητικών οργάνων, της κοιλιάς και του περινέου μπορεί να αναδείξει σημεία τραύματος ή κακοήθειας στη περιοχή.

**Εργαστηριακός και απεικονιστικός έλεγχος**

Ο εργαστηριακός έλεγχος ξεκινά με τον προσδιορισμό του αριθμού και της μορφολογίας των ερυθρών και λευκών αιμοσφαιρίων και των αιμοπεταλίων μέσω της γενικής εξέτασης του αίματος και την επίστρωση σε πλακάκι. Οξείες λοιμώξεις και αιματολογικές διαταραχές (δρεπανοκυταρική αναιμία, λευχαιμία, διαταραχές αιμοπεταλίων) μπορούν να προκαλέσουν πριαπισμό. Ο αριθμός των δукτιοερυθροκυττάρων (ΔΕΚ) συχνά είναι αυξημένος στους ασθενείς με δρεπανοκυταρική αναιμία ενώ η ηλεκτροφόρηση αιμοσφαιρίνης αναδεικνύει την δρεπανοκυταρική αναιμία ή άλλες αιμοσφαιρινοπάθειες. Ο προσδιορισμός των δукτιοερυθροκυττάρων (ΔΕΚ) και η ηλεκτροφό-

ρηση αιμοσφαιρίνης πρέπει να γίνονται σε όλους τους άνδρες με πριαπισμό εκτός εάν υπάρχει άλλη προφανής αιτία.

Έλεγχος για ψυχοτρόπες ουσίες και φάρμακα καθώς και τοξικολογική εξέταση ούρων πρέπει να γίνονται εάν υπάρχουν υποψίες, αφού τόσο οι κανονικές δόσεις αλλά και η υπερδοσολογία αντικαταθλιπτικών και άλλων ψυχοφαρμάκων μπορεί να προκαλέσουν πριαπισμό.

Η ανάλυση των αερίων αίματος από τα σηραγγώδη σώματα και το έγχρωμο TRIPLEX πείκων αγγείων αποτελούν τις πιο αξιόπιστες μεθόδους διάκρισης μεταξύ ισχαιμικού και μη ισχαιμικού πριαπισμού. Στους ασθενείς με ισχαιμικό πριαπισμό το αίμα που προκύπτει από την αναρρόφηση των σηραγγωδών σωμάτων είναι υποξικό και ως εκ τούτου σκουρόχρωμο, ενώ στη περίπτωση πριαπισμού υψηλής ροής είναι φυσιολογικά οξυγονωμένο και ως εκ τούτου ζωηρό κόκκινο. Στον πριαπισμό χαμηλής ροής τα αέρια του αίματος των σηραγγωδών σωμάτων έχουν συνήθως  $PO_2 < 30 \text{ mmHg}$ ,  $PCO_2 > 60 \text{ mmHg}$  και  $pH < 7.25$  (8). Στον πριαπισμό υψηλής ροής τα αέρια του αίματος των σηραγγωδών σωμάτων έχουν συνήθως τιμές παραπλήσιες με αυτές του αρτηριακού αίματος. Στη κατάσταση φυσιολογικής στύσης τα αέρια του αίματος των σηραγγωδών έχουν τιμές παραπλήσιες με το μικτό φλεβικό αίμα (πίνακας 2).

Πίνακας 2			
Τιμές αερίων αίματος			
Τύπος αίματος	$PO_2$ (mmHg)	$PCO_2$ (mmHg)	pH
Αίμα σηραγγωδών σωμάτων (ισχαιμικός πριαπισμός)	< 30	> 60	< 7.25
Φυσιολογικό αρτηριακό αίμα, αίμα σηραγγωδών σωμάτων (μη ισχαιμικός πριαπισμός)	> 90	< 40	7.40
Μικτό φλεβικό αίμα, αίμα σηραγγωδών σωμάτων (φυσιολογική στύση)	~ 40	~ 50	7.35

Το έγχρωμο TRIPLEX μπορεί να χρησιμοποιηθεί εναλλακτικά με την εξέταση των αερίων αίματος για να διαχωριστεί ο υψηλής από τον χαμηλής ροής πριαπισμό. Στον ισχαιμικό τύπο υπάρχει χαμηλή ή καθόλου αιματική ροή στις πείκεις αρτηρίες ενώ στον μη ισχαιμικό τύπο η ροή στις πείκεις αρτηρίες είναι φυσιολογική ή αυξημένη. Το έγχρωμο TRIPLEX μπορεί να καταγράψει την απουσία ροής εντός των σηραγγωδών σωμάτων στον ισχαιμικό τύπο, ενώ μπορεί να αναδείξει παθολογικές αρτηριοφλεβώδεις επικοινωνίες (σηραγγο-πείκική επικοινωνία, ψευδοανεύρυσμα) στον μη ισχαιμικό τύπο. Οι επικοινωνίες αυτές είναι συχνές σε ασθενείς με ιστορικό τραύματος περινέου ή οσχέου, συνήθως από νύσσον όργανο και εντοπίζονται

κυρίως στη κοιλιακή επιφάνεια των σπληνικών αγγείων. Το έγχρωμο TRIPLEX γίνεται με τον ασθενή σε θέση λιθοτομής και εξετάζεται αρχικά το περίνεο και στη συνέχεια ολόκληρο το πεικίο στελέχος.

Η αρτηριογραφία πεικίων αγγείων μπορεί να αποτελέσει μια επιπλέον μέθοδο καθορισμού των ανώμαλων αγγειακών επικοινωνιών. Από την εφαρμογή της έγχρωμης υπερηχοτομογραφίας (TRIPLEX), η αρτηριογραφία εφαρμόζεται μόνο ως μέρος της διαδικασίας καθετηριασμού και εμβολισμού των αναστομών αυτών. Οι διαγνωστικές δοκιμασίες φαίνονται συνοπτικά στον πίνακα 3.

Πίνακας 3
Εργαστηριακός και απεικονιστικός έλεγχος στον πριαπισμό
Γενική αίματος
Προσδιορισμός ΔΕΚ
Ηλεκτροφόρηση αιμοσφαιρίνης
Έλεγχος για ψυχοτρόπες ουσίες – φάρμακα
Τοξικολογική εξέταση ούρων
Ανάλυση αερίων αίματος σπληνικών αγγείων
Triplex υπερηχογράφημα πεικίων αγγείων
Αρτηριογραφία πεικίων αγγείων

### Ισχαιμικός πριαπισμός

Ο ισχαιμικός πριαπισμός αποτελεί ένα οξύ πρόβλημα με δυνητική επίπτωση στη μελλοντική στυτική λειτουργία (9) και ως εκ τούτου χρήζει επείγουσας αντιμετώπισης. Αν και τα αίτια του πριαπισμού είναι σημαντικά για την περαιτέρω πρόληψη και αποφυγή νέων επεισοδίων, η θεραπευτική προσέγγιση είναι κοινή και ανεξάρτητη της αιτιολογίας. Η ανταπόκριση στη θεραπεία δεν μπορεί να προβλεφθεί πάντα και για αυτό εφαρμόζεται αρχικά κλιμακούμενη αγωγή με ενδοσπληνικές ενέσεις α-αδρενεργικού, συμπαθητικομιμητικού παράγοντα, με ή χωρίς αφαίρεση του παλαιού αίματος, και τελικά χειρουργικές σπληνοφλεβικές αναστομές, όπου αυτό απαιτηθεί.

Η θεραπευτική προσέγγιση των ασθενών με υποκείμενες αιματολογικές διαταραχές όπως η δρεπανοκυτταρική αναιμία ή οι κακοήθεις νόσοι του αίματος, δεν θα πρέπει να περιορίζεται στη συστηματική αγωγή για την υποκείμενη νόσο. Ο ισχαιμικός πριαπισμός είναι ανάλογος του συνδρόμου διαμερίσματος και απαιτεί ενδοσπληνική θεραπεία παράλληλα με τη συστηματική αγωγή της υποκείμενης νόσου. Σε περιπτώσεις ασθενών με δρεπανοκυτταρική αναιμία που αντιμετωπίστηκαν μόνο με συστηματική, συντηρητική αγωγή (ενυδάτωση, οξυγονοθεραπεία,

αλκαλοποίηση, μετάγγιση), αναφέρεται λύση του πριαπισμού σε ποσοστό 0 – 37% (3, 10), ενώ με την εφαρμογή ενδοσπληνικών θεραπειών το ποσοστό αυτό είναι 85 – 97% (11-13). Σε ασθενείς με κακοήθεις νόσους του αιμοποιητικού συστήματος, αναφέρεται λύση του πριαπισμού σε 3 από τους 4 ασθενείς με αφαιμαζομετάγγιση και σε 3 από τους 15 ασθενείς μετά από χημειοθεραπεία. Η λύση του πριαπισμού όμως συνέβη μετά από αρκετές ώρες και μάλλον αντιπροσωπεύει τη φυσική εξέλιξη του συνδρόμου παρά την πραγματική θεραπευτική παρέμβαση (3). Στους ασθενείς αυτούς αναφέρεται στυτική δυσλειτουργία σε ποσοστά άνω του 30%. Η συστηματική αγωγή της υποκείμενης νόσου είναι επικουρική και δεν θα πρέπει να καθυστερεί την ενδοσπληνική θεραπεία.

Η θεραπεία του ισχαιμικού πριαπισμού είναι κλιμακωτή και στοχεύει στην άμεση λύση του. Αρχικά γίνεται αναρρόφηση αίματος από τα σπληνικά σώματα με βελόνα 19 ή 21 gauge (με ή χωρίς έγχυση φυσιολογικού ορού), και στη συνέχεια ενίεται συμπαθητικομιμητικός φαρμακευτικός παράγοντας. Επαναλαμβανόμενες ενέσεις τέτοιων παραγόντων σε αυξανόμενη δοσολογία πρέπει να εφαρμοστούν πριν προχωρήσει κανείς σε χειρουργικές τεχνικές αναστόμωσης και επαναιμάτωσης. Η δράση των συμπαθητικομιμητικών φαρμάκων οφείλεται στη σύσπαση των λείων μυϊκών ινών των κολποειδών των σπληνικών αγγείων και την επαγωγή κατ' αυτό τον τρόπο της φλεβικής απορρόφησης. Με αναρρόφηση μόνο αναφέρεται λύση του πριαπισμού σε ποσοστό 24 – 36% ενώ με τη προσθήκη των αδρενεργικών ενδοσπληνικών ενέσεων το ποσοστό ανέρχεται σε 43 – 81 % (3). Ο κίνδυνος απώτερων στυτικών διαταραχών είναι μικρότερος όταν εφαρμόζονται ενδοσπληνικές ενέσεις. Το φάρμακο εκλογής είναι η φαινυλεφρίνη καθώς εμφανίζει το μικρότερο ποσοστό συστηματικών επιπλοκών. Άλλα συμπαθητικομιμητικά φάρμακα που έχουν χρησιμοποιηθεί είναι η επινεφρίνη, η νορεπινεφρίνη, η εφεδρίνη και η μεταραμινόλη. Αν και δεν έχουν γίνει μελέτες απευθείας σύγκρισης των φαρμάκων μεταξύ των, έχουν αναφερθεί ποσοστά λύσης του πριαπισμού 81% με την επινεφρίνη, 70% με τη μεταραμινόλη, 43% με την νορεπινεφρίνη και 65% με την φαινυλεφρίνη. Από τα σχετικά λίγα στοιχεία που έχουν δημοσιευθεί και αφορούν στην επίπτωση στη στυτική λειτουργία της θεραπείας με ενδοσπληνικές αγγειοδραστικές ενέσεις, έχει αναφερθεί μόνο ένα περιστατικό με διαταραχές στύσης μετά την επιτυχή θεραπεία (3). Οι περισσότεροι συμπαθητικομιμητικοί παράγοντες έχουν α και β αδρενεργική δράση. Μεταξύ των άλλων, επάγουν την ενδογενή έκλυση νορεπινεφρίνης και επιτείνουν έτσι τις ανεπιθύμητες συστηματικές αδρενεργικές παρενέργειες (14). Η φαινυλεφρίνη είναι α1 εκλεκτικός αδρενεργικός αγωνιστής και σε αυτό οφείλεται το μικρότερο ποσοστό συστηματικών επιπλοκών, καθώς στερείται β αδρενεργικής δράσης (θετική ινότροπο και χρονό-

τροπο δράση στη καρδιά). Οι κατευθυντήριες οδηγίες τόσο της Αμερικανικής Ουρολογικής Ενωσης (AUA) (3), όσο και της Ευρωπαϊκής (EAU) (15) αναφέρουν: «για την αντιμετώπιση του πριαπισμού συστήνεται αναρρόφηση αίματος από τα σηραγγώδη σώματα με βελόνη 19-gauge με σκοπό την ελάττωση της πίεσης εντός αυτών και την έναρξη της φλεβικής απορροής. Αν αυτό δεν είναι επαρκές, τότε συστήνεται η ενδοσηραγγώδης ένεση φαινυλεφρίνης σε δόση που ξεκινά από 200μg κάθε 5 λεπτά και αυξάνεται στα 500μg αν δεν λύνεται ο πριαπισμός. Οι ασθενείς κατά τη διάρκεια των φαρμακευτικών χειρισμών πρέπει να παρακολουθούνται με monitor για τη πρώιμη αναγνώριση και αντιμετώπιση πιθανών συστηματικών αδρενεργικών επιπλοκών». Μικρότερες δόσεις συνιστώνται σε άτομα με σοβαρά καρδιαγγειακά προβλήματα καθώς και σε παιδιατρικούς ασθενείς.

Οι χειρουργικές τεχνικές αναστόμωσης και επαναιμάτωσης εφαρμόζονται μόνο αν αποτύχουν οι προηγούμενοι χειρισμοί και δεν αποτελούν επιλογές πρώτης γραμμής (16, 17). Το πότε θα αποφασιστεί η διακοπή των προσπαθειών συντηρητικής αντιμετώπισης και θα εφαρμοστούν χειρουργικές τεχνικές αναστόμωσης και επαναιμάτωσης εξαρτάται από το χρόνο διάρκειας του πριαπισμού. Στις περιπτώσεις που προσέρχονται για αντιμετώπιση καθυστερημένα, η πιθανότητα ανταπόκρισης στις ενδοσηραγγώδεις ενέσεις φαινυλεφρίνης είναι μικρή και μειώνεται όσο ο χρόνος περνά. Ύστερα από 48 ώρες η φαινυλεφρίνη χάνει την αποτελεσματικότητά της καθώς η ισχαιμία και η οξείωση ελαττώνουν την ανταπόκριση του λείου μυϊκού ιστού των σηραγγωδών σωμάτων στα συμπαθητικομιμητικά φάρμακα (8). Στο περιβάλλον της εκσεσημασμένης ισχαιμίας η φαινυλεφρίνη αδυνατεί να προκαλέσει παρατεταμένες φασικές συστολές στις λείες μυϊκές ίνες των φλεβικών κολποειδών. Ύστερα από 72 ώρες η πιθανότητα ανταπόκρισης στις ενδοσηραγγώδεις ενέσεις είναι ελάχιστη και η αναγκαιότητα χειρουργικής προσέγγισης για την αποκατάσταση της κυκλοφορίας στα σηραγγώδη είναι επιβεβλημένη.

Η βαλανο-σηραγγώδης επικοινωνία θα πρέπει να είναι η πρώτη επιλογή αναστόμωσης καθώς είναι η ευκολότερη και παρουσιάζει τις λιγότερες επιπλοκές. Μια βελόνη βιοψίας εισάγεται διαδερμικά δια μέσου της βάλανου στην κορυφή των σηραγγωδών σωμάτων επιτυγχάνοντας την επικοινωνία των σηραγγωδών σωμάτων με τη βάλανο που έχει φυσιολογική φλεβική απορροή (Εικόνα 1). Αντί για βελόνη βιοψίας μπορεί να χρησιμοποιηθεί χειρουργική λάμα Νο 11 ή να εφαρμοστεί χειρουργική αποκάλυψη της κορυφής των σηραγγωδών και εκτομή μικρού τμήματος του λευκού χιτώνα αυτών. Αυτή η τελευταία μέθοδος είναι η πιο αποτελεσματική (και η πιο τραυματική) από τις περιφερικές αναστομωτικές επεμβάσεις, και μπορεί να εφαρμοστεί ακόμη και αν αποτύχουν οι δύο άλλες τεχνικές

διαδερμικής βαλανο-σηραγγώδους επικοινωνίας. Στις περισσότερες περιπτώσεις οι επικοινωνίες αυτές κλείνουν με το χρόνο, η παραμονή τους ωστόσο σχετίζεται με απώτερη στυτική δυσλειτουργία (18).

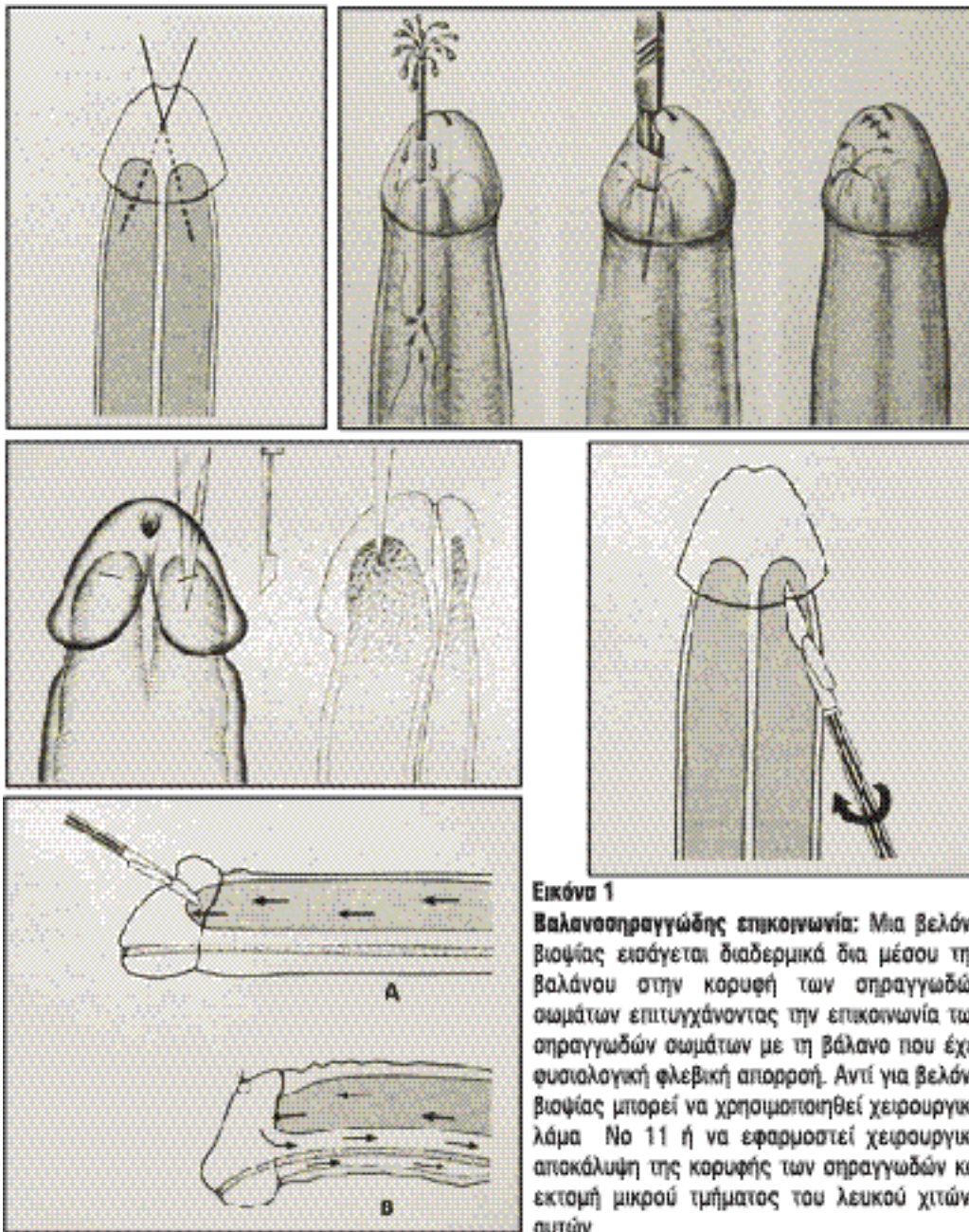
Οι κεντρικές αναστομωτικές επεμβάσεις επαναιμάτωσης περιλαμβάνουν την σηραγγο-σπογγειώδη και τη σηραγγο-σαφηνή αναστόμωση (Εικόνα 2). Εφαρμόζονται όταν οι περιφερικότερες τεχνικές δεν αποδίδουν ή όταν η χρονική καθυστέρηση προσέλευσης του ασθενούς έχει προδικάσει το αποτέλεσμα ως προς τη μελλοντική του στυτική κατάσταση. Η αποτελεσματικότητα των επεμβάσεων αυτών είναι πολύ μεγάλη (≈75%) αλλά και η στυτική δυσλειτουργία που επιφέρουν αγγίζει το 50% (έναντι <25% των περιφερικών τεχνικών). Οι πιθανές επιπλοκές, αν και σε μικρά ποσοστά, είναι σημαντικές όπως το ουρηθρικό συρίγγιο μετά από σηραγγο-σπογγειώδη αναστόμωση (19) και η πνευμονική εμβολή μετά σηραγγο-σαφηνή αναστόμωση (20). Όταν αποτύχουν οι αναστομωτικές τεχνικές και ο χρόνος του πριαπισμού έχει ως βέβαιο αποτέλεσμα τη στυτική δυσλειτουργία, έχει αναφερθεί η τοποθέτηση πείκης πρόθεσης χωρίς ωστόσο να θεωρείται απαραίτητη η άμεση εφαρμογή της (21).

Η από του στόματος συστηματική αγωγή δεν έχει θέση στη θεραπεία του ισχαιμικού πριαπισμού. Αν και υπάρχουν κάποιες βιβλιογραφικές αναφορές που αναφέρονται στην πρόληψη παρατεταμένων στύσεων μετά από ενδοσηραγγώδεις ενέσεις με τη χρήση τερβουταλίνης, εντούτοις τα στοιχεία δεν είναι ικανοποιητικά για την αποτελεσματικότητά της, μετά τις τέσσερις ώρες στύσης, οπότε μιλάμε για πριαπισμό (22).

### Μη ισχαιμικός πριαπισμός

Ο πριαπισμός υψηλής ροής είναι μια σπάνια μορφή πριαπισμού που προκαλείται από αυξημένη αρτηριακή παροχή στα σηραγγώδη σώματα. Συχνά σχετίζεται με ιστορικό περινεϊκού τραύματος όπου εμπλέκεται η σηραγγώδης αρτηρία. Ωστόσο αρκετοί ασθενείς δεν εμφανίζουν σαφή αιτιολογικό παράγοντα. Αυτόματη λύση περιγράφεται σε ποσοστό 62% και απώτερη στυτική δυσλειτουργία στο 1/3 των ασθενών (3). Σπάνιες περιπτώσεις έχουν αναφερθεί μετά από τη λύση ισχαιμικού πριαπισμού μέσω άγνωστου παθογενετικού μηχανισμού (23). Πιθανοί μηχανισμοί αποτελούν η μηχανική διάρρηξη των αρτηριολίων και των φλεβικών κολποειδών (24) καθώς και η διαταραχή του μηχανισμού αγγειοδιαστολής/χάλασης συνεπεία της παρατεταμένης ισχαιμίας (25).

Η αναρρόφηση αίματος από τα σηραγγώδη σώματα έχει μόνο διαγνωστικό ρόλο και δεν συμβάλει καθόλου στην αντιμετώπιση του πριαπισμού υψηλής ροής. Επιπρόσθετα η εφαρμογή αγγειο-συσπαστικών παραγόντων έχει σημαντικές συστηματικές παρενέργειες καθώς λόγω της αυξη-



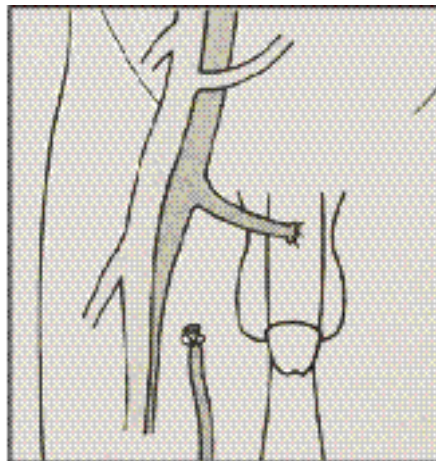
Εικόνα 1

**Βαλανοσηραγγώδης επικοινωνία:** Μια βελόνη βιοψίας εισάγεται διαδερμικά δια μέσου της βάλανου στην κορυφή των σηραγγωδών σωμάτων επιτυγχάνοντας την επικοινωνία των σηραγγωδών σωμάτων με τη βάλανο που έχει φυσιολογική φλεβική απορροφή. Αντί για βελόνη βιοψίας μπορεί να χρησιμοποιηθεί χειρουργική λάμα Νο 11 ή να εφαρμοστεί χειρουργική αποκάλυψη της κορυφής των σηραγγωδών και εκτομή μικρού τμήματος του λευκού χιτώνα αυτών.

μένης αιματικής παροχής περνούν άμεσα στη κυκλοφορία. Έχει αναφερθεί η ένεση κυανού του μεθυλενίου ως θεραπευτική επιλογή, δρώντας μέσω της αναστολής της γουανυλικής κυκλάσης, επάγοντας την διαστολή των φλεβικών κολποειδών, σε μια προσπάθεια υπερκέρασης της αυξημένης αρτηριακής παροχής (26). Λόγω των περιορισμένων στοιχείων, η θεραπευτική αυτή προσέγγιση δεν συστήνεται ως αποδεκτή επιλογή. Ο μη ισχαιμικός πριαπισμός δεν είναι επείγουσα κατάσταση και αρκετά συχνά λύεται αυτόματα. Άμεση συντηρητική αγωγή όπως εφαρμογή

παγωμένων επιθεμάτων ή πίεση ενδεχόμενου τραύματος, μπορεί να ακολουθηθεί, όμως δεν έχει τεκμηριωθεί η επιπρόσθετη συνεισφορά των μέτρων αυτών στην αυτόματη λύση του πριαπισμού υψηλής ροής. Το περινεϊκό τραύμα εάν υπάρχει μπορεί να προηγηθεί από ημέρες έως χρόνια χωρίς αυτό να έχει προγνωστικό χαρακτήρα για την εξέλιξη ή τις ενδεχόμενες επιπλοκές της νόσου. Αρκετοί ασθενείς παραμένουν στυτικά επαρκείς μετά την αυτόματη λύση του πριαπισμού αυτού του τύπου. Άμεση επεμβατική θεραπεία (χειρουργική ή εμβολισμός) μπορεί να εφαρμοστεί εάν ο ασθενής το επιθυμεί, όμως θα πρέπει να προηγηθεί ενημέρωση για τις πιθανότητες αυτόματης υποχώρησης, την ενδεχόμενη διαταραχή της στύσης συνεπεία των θεραπευτικών χειρισμών και την έλλειψη αξιοσημείων επιπλοκών από την καθυστέρηση της θεραπείας.

Ο εκλεκτικός αρτηριακός εμβολισμός αποτελεί την μέθοδο εκλογής για την αντιμετώπιση του μη ισχαιμικού πριαπισμού στους ασθενείς που ζητούν θεραπεία. Για τον εμβολισμό μπορεί να χρησιμοποιηθούν μόνιμα υλικά όπως σπειράματα (coils) ή χημικές ουσίες (αιθανόλη, αλκοολικές ενώσεις πολυβινυλίου, ακριλική κόλλα) καθώς και απορροφήσιμες ουσίες (αυτόλογοι θρόμβοι αίματος, απορροφήσιμο gel) που προκαλούν παροδική έμφραξη υπεύθυνης αρτηρίας. Η χρήση απορροφήσιμων ουσιών είναι προτιμότερη, καθώς από τη βιβλιογραφία αναφέρεται εξίσου καλή αποτελε-



**Εικόνα 2**  
Οι κεντρικές αναστοματικές επεμβάσεις επαναιμάτωσης περιλαμβάνουν την σπραγγοσπογγεώδη και τη σπραγγοσαφηνή αναστόμωση

### Διαλείπων ή υποτροπιάζων πριαπισμός

Οι ασθενείς με ισχαιμικού τύπου πριαπισμό μπορεί να αναπτύξουν μια μορφή υποτροπιάζοντος πριαπισμού που είναι διαφορετική από τον επιμένοντα ή ταχέως υποτροπιάζοντα τύπο. Σε αυτή την περίπτωση το ενδιαφέρον επικεντρώνεται στην πρόληψη των επεισοδίων αυτών. Κάθε μεμονωμένο επεισόδιο αντιμετωπίζεται σύμφωνα με τα παραπάνω ως πριαπισμός χαμηλής ροής. Αν και η αιτιολογία του διαλείποντος ή υποτροπιάζοντος πριαπισμού είναι συχνά ιδιοπαθής στους ενήλικες, οι νεαρότεροι ασθενείς με αιματολογικές διαταραχές, όπως δρεπανοκυτταρική αναιμία είναι πιο επιρρεπείς (4, 7, 10).

Η πρόληψη των νέων επεισοδίων περιλαμβάνει συστηματικές θεραπείες, άμεση ένεση συμπαθομιμητικών παραγόντων από τον ίδιο τον ασθενή (27-29) και σαν τελευταία επιλογή την τοποθέτηση πεικής πρόθεσης (21). Για συστηματική θεραπεία έχουν χρησιμοποιηθεί ορμονικοί παράγοντες (28, 30-33), η μπακλοφαίνη (34), η διγοξίνη (35) και η τερβουταλίνη (36-38). Αν και η τελευταία είναι σχετικά αποτελεσματική στην αντιμετώπιση παρατεταμένων στύσεων μετά από ενδοσπραγγώδεις ενέσεις προσταγλανδίνης E1 (22), δεν φαίνεται να μειώνει σημαντικά τα επεισόδια του υποτροπιάζοντος πριαπισμού. Η διγοξίνη δεν έχει αποδεδειγμένη αποτελεσματικότητα ενώ έχουν αναφερθεί μεμονωμένες περιπτώσεις αντιμετώπισης διαλείποντος πριαπισμού με μπακλοφαίνη.

Η χρήση των ορμονικών παραγόντων στοχεύει στη καταστολή των επιπέδων της τεστοστερόνης μέσω αρνητικής παλίνδρομης ρύθμισης (οιστρογόνα), μπλοκάροντας τους ανδρογονικούς υποδοχείς (αντιανδρογόνα) και καταστέλλοντας την υποφυσιακή έκκριση

σματικότητα με τα μόνιμα υλικά, όμως με σημαντικά μικρότερο ποσοστό στυτικής δυσλειτουργίας σχετιζόμενη με τον εμβολισμό (3). Χειρουργική αποκάλυψη του πέους και απολίνωση της υπεύθυνης αναστόμωσης αποτελεί λύση τελευταίας επιλογής σε ασθενείς που έχουν αποτύχει οι εμβολισμοί και έχει δημιουργηθεί κυστικός σχηματισμός που μπορεί να αναγνωριστεί διεγχειρητικά με το έγχρωμο Triplex. Η στυτική δυσλειτουργία σε αυτή τη περίπτωση αφορά περίπου τους μισούς από τους ασθενείς. Το έγχρωμο Triplex έχει ευρεία εφαρμογή στη διάγνωση, τον εντοπισμό της υπεύθυνης επικοινωνίας, στον προσδιορισμό του αγγείου πριν τον εμβολισμό, τον έλεγχο της αποτελεσματικότητας του εμβολισμού και στη διαπίστωση της αυτόματης λύσης. Στον Πίνακα 4 φαίνονται συγκριτικά τα ποσοστά επιτυχίας και επιπλοκών των διαφόρων τρόπων αντιμετώπισης του πριαπισμού υψηλής ροής.

Πίνακας 4			
Πριαπισμός υψηλής ροής			
Αντιμετώπιση	Εκλεκτικός αρτηριακός εμβολισμός		Χειρουργική αποκάλυψη και απολίνωση της υπεύθυνης αναστόμωσης
	Μόνιμα υλικά	Απορροφήσιμες ουσίες	
Αποτελεσματικότητα	78%	74%	63%
Στυτική δυσλειτουργία	39%	5%	50%

γονοδοτροπικών (LH-RH ανάλογα). Δεν υπάρχουν επαρκή στοιχεία ώστε οι ορμονικοί αυτοί χειρισμοί να αποτελέσουν θεραπείες εκλογής στον υποτροπιάζοντα πριαπισμό. Τα ανάλογα LH-RH φαίνεται να έχουν κάποια αποτελέσματα και παρόλο που επηρεάζουν τη libido, οι περισσότεροι ασθενείς καταφέρνουν να έχουν σεξουαλική δραστηριότητα. Τα οιστρογόνα παρουσιάζουν μεγαλύτερο ποσοστό επιπλοκών συμπεριλαμβανομένης της γυναικομαστίας και τον αυξημένο κίνδυνο θρομβοεμβολικών επεισοδίων. Οι ορμονικοί αυτοί χειρισμοί αναστέλλουν την σεξουαλική ωρίμανση και επιταχύνουν την οστεοποίηση των επιφύσεων, ως εκ τούτου δε θα πρέπει να χρησιμοποιούνται πριν την ολοκλήρωση της εφηβείας. Η ελάττωση των επιπέδων της τεστοστερόνης έχει άμεση συνέπεια στη σπερματογένεση και ως εκ τούτου δεν θα πρέπει να χορηγούνται οι ορμονικοί παράγοντες στους ασθενείς που προσπαθούν να τεκνοποιήσουν.

Στους ασθενείς που η συστηματική θεραπεία αποτυγχάνει, είτε αρνούνται να τη λάβουν λόγω των επιπλοκών της, προτείνεται η ένεση από τους ίδιους, συμπαθομιμητικών παραγόντων, αμέσως μόλις αντιληφθούν παρατεταμένη στύση και μάλιστα πολύ πριν τις τέσσερις ώρες που έχουμε την εγκατάσταση του πριαπισμού. Η αλήθεια είναι πως με αυτό τον τρόπο, μάλλον αντιμετωπίζουμε έγκαιρα τον ισχαιμικό πριαπισμό, παρά θεραπεύουμε τον διαλείποντα ή υποτροπιάζοντα πριαπισμό.

## Συμπεράσματα

Ο πριαπισμός αποτελεί ένα μείζον οξύ πρόβλημα με ενδεχόμενες απώτερες επιπλοκές για τον ασθενή (ίνωση των σπαραγγωδών σωμάτων, στυτική δυσλειτουργία), αν δεν αντιμετωπιστεί άμεσα και κατάλληλα. Λόγω της μικρής συχνότητάς του αλλά και της σοβαρότητας των επιπλοκών, αρκετοί ουρολόγοι δεν είναι εξοικειωμένοι με την αντιμετώπιση του (39).

Πριαπισμός θεωρείται η παθολογική κατάσταση στύσης που παραμένει μετά από σεξουαλική διέγερση ή που δεν σχετίζεται με σεξουαλική επιθυμία. Υπάρχουν δυο τύποι πριαπισμού: ο ισχαιμικός ή ελαττωμένης φλεβικής απορροής και ο μη ισχαιμικός ή αυξημένης αρτηριακής παροχής. Περιγράφεται ακόμη και ο διαλείπων ή υποτροπιάζων πριαπισμός που χαρακτηρίζεται από συχνές υποτροπές του ισχαιμικού πριαπισμού με μεσοδιαστήματα μεγαλύτερα των 24 ωρών. Οι επιπλοκές του ισχαιμικού τύπου είναι ανάλογες με αυτές του συνδρόμου διαμερίσματος. Η ισχαιμία που παραμένει πέραν του σημείου των αναστρέψιμων κυτταρικών βλαβών, σχετίζεται με αμετάκλητες αλλαγές της κυτταρικής λειτουργίας που επιφέρουν ανατομικές μεταβολές. Ο ισχαιμικός πριαπισμός ξεκινά με την παθολογική απόφραξη της φλεβικής απορροής και προκαλεί διακοπή της αιματικής ροής προς

τα σπαραγγώδη σώματα, συνήθως σχετίζεται με πόνο και αποτελεί ένα επείγον ουρολογικό πρόβλημα, εάν διαρκέσει περισσότερο από τέσσερις ώρες. Η ανατομία της βάλανου δεν επιτρέπει τη φλεβική απόφραξη καθώς δεν υπάρχει ο σκληρός χιτώννας στον οποίο συνθλιβονται τα φλεβικά τοιχώματα στα σπαραγγώδη σώματα κατά τη διάρκεια της φλεβικής συσώρευσης. Έτσι είναι χαρακτηριστική η πολύ μεγάλη σκληρότητα των σπαραγγωδών σωμάτων ενώ η βάλανος και το σπογγειώδες σώμα της ουρήθρας παραμένουν χαλαρά. Ο μη ισχαιμικός πριαπισμός είναι λιγότερο συχνός, προκύπτει από αυξημένη αρτηριακή παροχή σε σχέση με τη φυσιολογική φλεβική αποχέτευση. Η στύση δεν είναι συνήθως πλήρης και απαιτεί διερεύνηση χωρίς να χρήζει άμεσης αντιμετώπισης, καθώς δεν οδηγεί σε στυτική δυσλειτουργία και ίνωση των σπαραγγωδών σωμάτων.

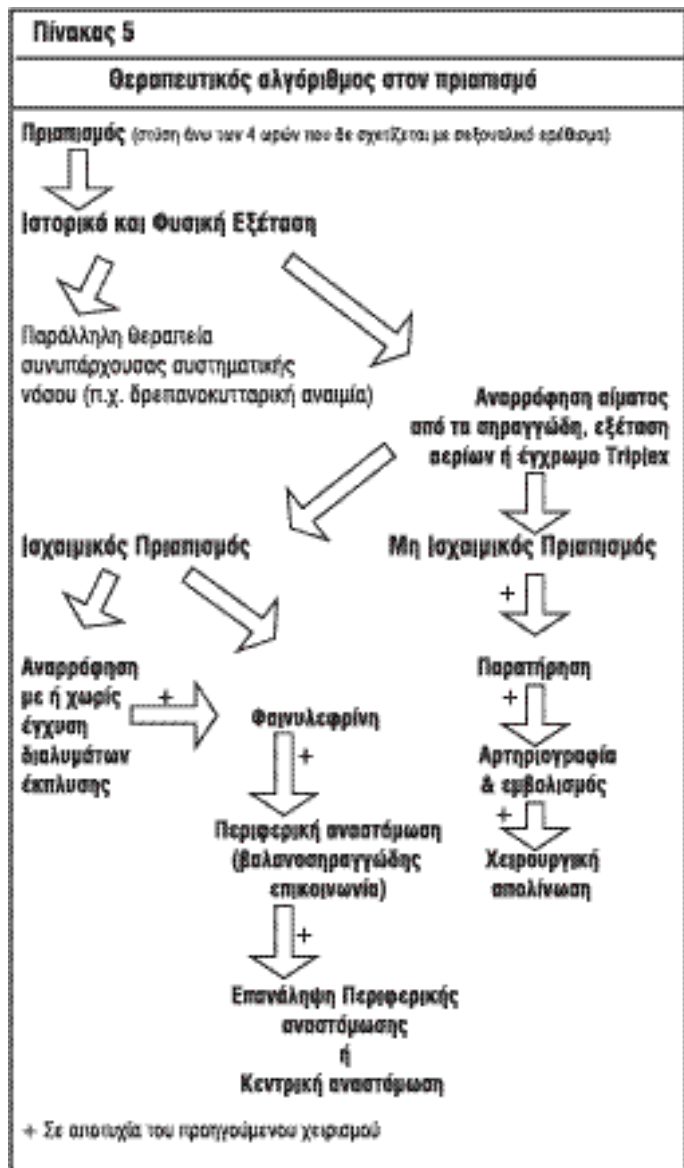
Τα συνήθη αίτια του ισχαιμικού πριαπισμού είναι φαρμακευτικά, αιματολογικά, δρεπανοκυτταρική αναιμία και άλλες αιμοσφαιρινοπάθειες, θρομβοφιλικές καταστάσεις, σύνδρομα αυξημένης γλοιότητας. Η διάγνωση συνάγεται από ένα κατάλληλα εστιασμένο ιατρικό και σεξουαλικό ιστορικό, από τη φυσική εξέταση και λαμβάνοντας υπόψη επιπρόσθετες εργαστηριακές εξετάσεις (τοξικολογικές και αιματολογικές έλεγχος καθώς και έλεγχος ηηκτικότητας). Ο ειδικός εργαστηριακός έλεγχος περιλαμβάνει ανάλυση αερίων αίματος από τα σπαραγγώδη, ύστερα από αναρρόφηση (pH, pO<sub>2</sub> χαμηλότερα αυτών του φλεβικού, pCO<sub>2</sub> υψηλότερο του φλεβικού), καθώς και έγχρωμο Triplex των σπαραγγωδών σωμάτων. Η ηλεκτροφόρηση της αιμοσφαιρίνης και η μέτρηση του PSA έχουν θέση σε ορισμένες περιπτώσεις. Το έγχρωμο Triplex των σπαραγγωδών σωμάτων είναι η εξέταση εκλογής για την ανάδειξη του μη ισχαιμικού πριαπισμού και μπορεί σε αρκετές περιπτώσεις να προσδιορίσει ανατομικά τις αρτηριοφλεβώδεις επικοινωνίες.

Οι αρχές της αντιμετώπισης του ισχαιμικού πριαπισμού βασίζονται στην ελάττωση της πίεσης εντός των σπαραγγωδών σωμάτων ώστε να επιτραπεί η είσοδος οξυγονωμένου αίματος στα φλεβικά κολποειδή. Η χρήση ισχυρών κεντρικών δρώντων αναλγητικών και η ενυδάτωση περιλαμβάνονται στην προετοιμασία των ασθενών με δρεπανοκυτταρική αναιμία πριν την αναρρόφηση αίματος και την εφαρμογή αγγειοσπαστικών ουσιών. Επιπρόσθετα, εφαρμογή οξυγόνου με μάσκα και αφαιμαξομετάγγιση μπορούν να χρησιμοποιηθούν. Η θεραπεία των ασθενών χωρίς δρεπανοκυτταρική αναιμία βασίζεται στη καλή τοπική αναισθησία, αναρρόφηση και χορήγηση αγγειοσπαστικών ουσιών. Η αναισθησία και αναλγησία του πέους επιτυγχάνεται με στελεχειαία αναισθησία του ραχιαίου πείκου νεύρου ή/και κυκλοτερή τοπική αναισθησία σε συνδυασμό με καταστολή από το στόμα, ειδικά σε παιδιατρικούς ασθενείς. Η αναρρόφηση αίματος από τα σπαραγγώδη

γώδη με βελόνη 19 ή 21 gauge θα μειώσει την ενδοσηραγγώδη πίεση και θα επιτρέψει την είσοδο οξυγονωμένου αίματος.

Η επανοξυγόνωση του στυτικού ιστού επιτρέπει στους ενδογενείς αγγειοσυσπαστικούς μηχανισμούς να δράσουν αποτελεσματικότερα. Ενδοσηραγγώδης έγχυση διαλυμάτων για ενδοφλέβια χρήση μπορεί να βοηθήσει στην απομάκρυνση πηγμάτων και στην διόρθωση του pH. Η επόμενη κίνηση είναι η έγχυση ενός αδρενεργικού αγωνιστή που αναμένεται να δράσει προκαλώντας αγγειοσπασση μόνο αν ο ιστός των σηραγγωδών σωμάτων είναι ακόμη υγιής. Υπάρχουν πολλά πρωτόκολλα τέτοιων εγχύσεων. Όποια ουσία και αν επιλεγεί θα πρέπει να εφαρμόζεται με σταδιακά αυξανόμενη δόση με μεσοδιαστήματα αναμονής. Όλοι οι αδρενεργικοί αγωνιστές έχουν τη πιθανότητα συστηματικών επιπλοκών λόγω της πιθανής λύσης του πριαπισμού που συνεπάγεται την είσοδο αυτών στη συστηματική κυκλοφορία μέσω της φλεβικής απορροής, για τον λόγο αυτό οι ασθενείς θα πρέπει να παρακολουθούνται με monitor. Μερικοί συστήνουν την από του στόματος λήψη ενός α-αδρενεργικού αγωνιστή ύστερα από δυο ώρες στύσης, σε ασθενείς που χρησιμοποιούν ενδοσηραγγώδεις ενέσεις λόγω στυτικής δυσλειτουργίας, πριν καταφύγουν στο τμήμα επειγόντων περιστατικών. Η αποτυχία των συντηρητικών μεθόδων καθιστά απαραίτητη την επεμβατική εφαρμογή φλεβικής διαφυγής από τα σηραγγώδη. Η θεραπεία του μη ισχαιμικού πριαπισμού συχνά εστιάζεται στον εμβολισμό με τη βοήθεια της επεμβατικής ακτινολογίας της υπεύθυνης αρτηριο-φλεβώδους επικοινωνίας. Η Αμερικανική ουρολογική ένωση προτείνει (3) ένα διαγνωστικό και θεραπευτικό αλγόριθμο, βασιζόμενος σε όλα τα παραπάνω (Πίνακας 5). Η Ευρωπαϊκή ουρολογική ένωση για την αντιμετώπιση του πριαπισμού συστήνει (15) αναρρόφηση αίματος από τα σηραγγώδη σώματα με βελόνη 19-gauge με σκοπό την ελάττωση της πίεσης εντός αυτών και την έναρξη της φλεβικής απορροής. Αν αυτό δεν επιτευχθεί τότε συστήνεται η ενδοσηραγγώδης ένεση φαινυλεφρίνης σε δόση που ξεκινά από 200μg κάθε 5 λεπτά και αυξάνεται στα 500μg αν δεν λύνεται ο πριαπισμός. Οι ασθενείς κατά τη διάρκεια των φαρμακευτικών χειρισμών πρέπει να παρακολουθούνται με monitor για τη πρώιμη αναγνώριση και αντιμετώπιση πιθανών συστηματικών αδρενεργικών επιπλοκών.

Οι συνέπειες του πριαπισμού εξαρτώνται από την έκταση των μη αναστρέψιμων βλαβών στα σηραγγώδη σώματα. Υπάρχει πάντα ο κίνδυνος της πλήρους ισχαιμικής βλάβης που έχει σαν αποτέλεσμα την ίνωση και την εξάλειψη όλης της αρχιτεκτονικής των κυττάρων. Η σεξουαλική απογοήτευση που μπορεί να επιφέρει οποιουδήποτε βαθμού πριαπισμό πρέπει να λαμβάνεται υπ' όψη στη θεραπεία των ασθενών αυτών. Η στυτική δυσλειτουργ-



για δεν είναι μονόδρομος για τους ασθενείς αυτούς ειδικά εάν αντιμετωπιστούν εντός τεσσάρων ωρών, όμως παραμένει ένας ρεαλιστικός κίνδυνος που πρέπει με κάθε τρόπο να αποφευχθεί.

**ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ**

1. Powars DR, Johnson CS Priapism. Hematol Oncol Clin North Am 1996, 10: 1363-72
2. Spycher MA and Hauri D. The ultrastructure of erectile tissue in Priapism. J Urol 1986, 135: 142-145
3. American Urological Association, Erectile Dysfunction Guideline Update Panel, AUA Guideline on the Management of Priapism 2003: 4
4. Mantadakis E, Cavender JD, Rogers ZR et al. Prevalence of priapism in children and adolescents with sickle cell anemia. J Pediatr Hematol Oncol 1999, 21: 512 – 22

5. **Bruno D, Wigfall DR, Zimmerman SA et al.** Genitourinary complications of sickle cell disease. *J Urol* 2001, 166: 803 – 11
6. **Harmon WJ, Nehra A.** Priapism: Diagnosis and Management. *Mayo Clin Proc* 1997, 72: 350 – 5
7. **Adeyoju AB, Olujohungbe ABK, Morris J, Yardumian A, Bareford D, Akenova A, Akinyanju O, Cinkotai K and O' Reilly PH.** Priapism in sickle-cell disease; incidence, risk factors and complications – an international multicentre study. *BJU Int* 2002, 90: 898-902
8. **Broderick GA and Harkaway R.** Pharmacologic erection: time dependant changes in the corporal environment. *Int J Impot Res* 1994, 6: 9-13
9. **El-Bahnasawy MS, Dawood A and Farouk A.** Low-flow Priapism: risk factor for erectile dysfunction. *BJU Int* 2002, 89: 285-90
10. **Maples B and Hagemann T.** Treatment of priapism in pediatric patients with sickle cell disease. *Am J Helth- Syst Pharm* 2004, 61(4):355 - 363
11. **Mantadakis E, Ewalt DH, Cavender JD et al.** Outpatient penile aspiration and epinephrine irrigation for young patients with sickle cell anemia and prolonged priapism. *Blood* 2000, 95:78 – 82
12. **Molina L, Bejany D, Lynne CM et al.** Diluted epinephrine solution for the treatment of priapism. *J Urol* 1989, 141:1127 – 8
13. **Gbdoe AD, Atakouma Y, Kusiaku K et al.** Management of sickle cell priapism with etilefrine. *Arch Dis Child* 2001, 85:52 – 3
14. **Hoffman B.** "Catecholamines, sympathomimetic drugs, and adrenergic receptor antagonists". In: Goodman and Gilman's The Pharmacological basis of Therapeutics. Edited by Hardman JG, Limbird LE, and Gilman AG. New York: McGraw-Hill Professional Publishing 2001, chapter 10: 215 – 268
15. **Urological Guidelines, European Association of Urology,** Erectile Dysfunction, Treatment, Intracavernosal injection, 3.2.1. August 2004
16. **Nitihara KS, and Lue TF.** Priapism. In: Glenn's Urologic Surgery. Graham SD, Glen JF, and Carson CC. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 1998
17. **Hinman F Jr, Donley S, and Stempen PH.** Atlas of Urologic Surgery Second Edition. Philadelphia: WB Saunders, section 6, pp 177 - 228, 1998
18. **Kulmala RV, Lehtonen TA, Lindholm TS, and Tammela TL.** Permanent open shunt as a reason for impotence or reduced potency after surgical treatment of priapism in 26 patients. *Int J Impot Res* 1995, 7: 175-178
19. **Urdangarain O, and Perez HJA** Priapism. Our experience. *Arch Esp Urol* 1998, 51: 269-271
20. **Kandel GL, Bender LI, and Grove JS.** Pulmonary embolism: a complication of corpus saphenous shunt for priapism. *J Urol* 1968, 99: 196-198
21. **Rees RW, Kalsi J, Minhas S, Peters J, Kell P and Ralph DJ.** The management of low-flow Priapism with the immediate insertion of a penile prosthesis. *BJU Int* 2002, 90: 893-7
22. **Lowe FC and Jarow JP.** Placebo-controlled study of oral terbutaline and pseudoephedrine in management of prostaglandin E1-induced prolonged erections. *Urology* 1993, 42: 51-53
23. **Seftel AD, Haas CA, Brown SL, Herbener TE, Sands M and Lipuma J.** High flow priapism complicating veno-occlusive priapism: pathophysiology of recurrent idiopathic priapism? *J Urol* 1998, 159: 1300-1303
24. **Matson S, Herndon CDA and Honig SC.** Pathophysiology of "low flow" priapism: Intermediate phase- evidence of "hi flow" defined with duplex ultrasound. *Int J Impot Res* 1999, 11: S27-30
25. **Bastuba MD, Saenz de Tejada I, Dinlenc CZ, Sarazen A, Krane RJ, and Goldstein I.** Arterial priapism: diagnosis, treatment and long-term follow up. *J Urol* 1994, 151:1231-1234
26. **Steers WD, and Selby JB Jr.** Use of methylene blue and selective embolization of the pudendal artery for hi flow Priapism refractory to medical and surgical treatments. *J Urol* 1991, 146:1361-1366
27. **Virag R, Bachir D, Lee K, and Galacteros F.** Preventive treatment of Priapism in sickle cell disease with oral and self-administered intracavernous injection of etilefrine. *Urology* 1996, 47: 777-780
28. **Steinberg J and Eyre RC.** Management of recurrent priapism with epinephrine self-injection and gonadotropin-releasing hormone analogue. *J Urol* 1995, 153: 152-3
29. **Van Driel MF, Joosten EA and Mensink HJ.** Intracorporal self-injection with epinephrine as treatment for idiopathic recurrent priapism. *Eur Urol* 1990, 17: 95-9
30. **Dahm P, Rao DS and Donatucci CF.** Antiandrogens in the treatment of priapism. *Urology* 2002, 59: 138-141
31. **Gbdoe AD, Assimadi JK and Segbena YA.** Short period of administration of diethylstilbestrol in stuttering priapism in sickle cell anemia. *Am J Hematol* 2002, 69: 297-299
32. **Levine LA and Guss SP.** Gonadotropin-releasing hormone analogues in the treatment of sickle cell anemia-associated priapism. *J Urol* 1993, 150: 475-478
33. **Serjeant GR, De Ceulaer K and Maude GH.** Stilboestrol and stuttering priapism in homozygous sickle-cell disease. *Lancet* 1985, 2: 1274-1277
34. **Rourke KF, Fischler AH and Jordan GH.** Treatment of recurrent idiopathic priapism. *J Urol* 2002, 168: 2552-2554
35. **Gupta S, Salimpour P, Saenz de Tejada I, Daley J, Gholami S, Daller M, et al.** A possible mechanism for alteration of human erectile function by digoxin: inhibition of corpus cavernosum sodium/potassium adenosine triphosphatase activity. *J Urol* 1998, 159: 1529-1532
36. **Ahmed I and Shaikh NA.** Treatment of intermittent idiopathic priapism with oral terbutaline *Br J Urol* 1997, 80: 341-344
37. **Shantha TR, Finnerty DP and Rodriguez AP.** Treatment of persistent penile erection and priapism using terbutaline. *J Urol* 1989, 141: 1427-9
38. **Govier FE, Jonsson E and Kramer-Levien D.** Oral terbutaline for the treatment of priapism. *J Urol* 1994, 151: 878-9
39. **Heaton JPW.** Priapism: Recent developments in the approach to this condition. *AUA news* 2001, Vol 6, Number 7: 1, 4

## ΕΝΔΙΑΦΕΡΟΝΤΑ ΠΕΡΙΣΤΑΤΙΚΑ ΣΤΗΝ ΑΝΔΡΟΛΟΓΙΑ

### Άνδρας με αμφίβολα έξω γεννητικά όργανα, 45,X/46,XY μωσαϊκό καρυότυπο και μικροελλείψεις του μακρού σκέλους του Y χρωματοσώματος

ΠΑΣΧΑΛΙΑ Κ. ΗΛΙΑΔΟΥ, ΔΗΜΗΤΡΙΟΣ Γ. ΓΟΥΛΗΣ, ΑΘΑΝΑΣΙΟΣ ΠΑΠΑΝΙΚΟΛΑΟΥ,  
ΧΑΡΙΚΛΕΙΑ ΓΙΑΝΝΟΥΛΗ, ΙΩΑΝΝΗΣ Ν. ΜΠΟΝΤΗΣ, ΙΩΑΝΝΗΣ ΠΑΠΑΔΗΜΑΣ

ΜΟΝΑΔΑ ΕΝΔΟΚΡΙΝΟΛΟΓΙΑΣ ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΗΣ, Α' ΜΑΙΕΥΤΙΚΗ ΚΑΙ ΓΥΝΑΙΚΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ, ΓΝΘ «ΠΑΠΑΓΕΩΡΓΙΟΥ»,  
ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗ

Ατομικό αναμνηστικό	
Ασθενής	<ul style="list-style-type: none"> <li>• άνδρας, 17 ετών</li> </ul>
Αιτίες προσέλευσης	<ul style="list-style-type: none"> <li>• κοντό ανάστημα</li> <li>• διερεύνηση μελλοντικής γονιμότητας</li> </ul>
Σύλληψη, κύηση, τοκετός	<ul style="list-style-type: none"> <li>• φυσιολογική σύλληψη</li> <li>• κύηση χωρίς επιπλοκές</li> <li>• νεογνό με αμφίβολα έξω γεννητικά όργανα:               <ul style="list-style-type: none"> <li>✦ οσχεικός υποσπαδίας</li> <li>✦ γωνίωση του πέους</li> <li>✦ αμφοτερόπλευρη κρυφορχία</li> </ul> </li> </ul>
18 μηνών έως 9 ετών	<ul style="list-style-type: none"> <li>• οκτώ χειρουργικές επεμβάσεις για την αποκατάσταση του υποσπαδία και της γωνίωσης του πέους με επιτυχή τελικά αποτελέσματα</li> </ul>
6 ετών	<ul style="list-style-type: none"> <li>• τέσσερεις ανεπιτυχείς προσπάθειες καθόδου των όρχεων με χοριακή γοναδοτροπίνη (hCG)</li> <li>• αμφοτερόπλευρη ορχεοπηξία</li> <li>• ανοικτή βιοψία όρχεων (βιοψία 1): ευρήματα συμβατά με αλλοιώσεις κρυφορχίας τύπου II, χωρίς στοιχεία κακοήθους εξεργασίας</li> </ul>
6 ετών	<ul style="list-style-type: none"> <li>• παραπομπή σε Πανεπιστημιακή Παιδιατρική Κλινική του ΑΠΘ εξαιτίας του κοντού αναστήματος</li> <li>• ύψος: 1,16 m (25<sup>η</sup> εκατοστιαία θέση)</li> <li>• οστική ηλικία: 7 ετών</li> <li>• GnRH test: FSH 0,0 / 1,0 / 1,6 mIU/ml, LH 2,3 / 5,4 / 4,7 mIU/ml στα 0, 30 και 60 min αντίστοιχα</li> <li>• καρυότυπος (περιφερικό αίμα): μωσαϊκισμός 45,X/46,XY</li> <li>• δε χορηγήθηκε θεραπεία</li> </ul>

<b>14 ετών</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• ύψος : 1,55 m (10<sup>η</sup> εκατοστιαία θέση)</li> <li>• οστική ηλικία: 17 ετών</li> <li>• εφηβεία: στάδιο IV κατά Tanner</li> <li>• δε χορηγήθηκε θεραπεία</li> </ul>
<b>Οικογενειακό αναμνηστικό</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• ύψος πατέρα: 1,82 m</li> <li>• ύψος μητέρας: 1,57 m</li> <li>• αδελφός: 18 ετών με ελεύθερο ατομικό αναμνηστικό</li> <li>• ελεύθερο οικογενειακό αναμνηστικό</li> </ul>

**Σχόλιο:** Η ανοικτή βιοψία των όρχεων (βιοψία 1) κατέδειξε ευρήματα συμβατά με αλλοιώσεις κρυφορχίας τύπου II. Τα ευρήματα αυτά περιελάμβαναν υποπλασία των κυττάρων της σπερματογένεσης και υποπλασία των σπερματικών σωληναρίων. Ο μέσος αριθμός σπερματογονίων ανά σπερματικό σωληνάριο (Tubular Fertility Index - TFI) ήταν ελαττωμένος (0,36 - εύρος 0 έως 4), ενώ ο μέσος αριθμός κυττάρων Sertoli ανά σπερματικό σωληνάριο ήταν φυσιολογικός (25 - εύρος 19 έως 31). Ο ελαττωμένος TFI ήταν ενδεικτικός μελλοντικής υπογονιμότητας.

### Έλεγχος στη Μονάδα Ενδοκρινολογίας Αναπαραγωγής

<b>17 ετών</b>	
<b>Κλινική εξέταση</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• ύψος 1,58 m (3<sup>η</sup> εκατοστιαία θέση)</li> <li>• βάρος 52 kg (5<sup>η</sup> εκατοστιαία θέση)</li> <li>• ευγοναδικός με φυσιολογικό πέος, όσχεο και δευτερογενή χαρακτηριστικά του φύλου (στάδιο V κατά Tanner)</li> <li>• όγκος όρχεων: 15 ml δεξιά, 12 ml αριστερά, μαλακή σύσταση</li> <li>• επιδιδυμίδες και σπερματικοί τόνοι φυσιολογικοί στην ψηλάφηση</li> <li>• απουσία κισσοκήλης</li> </ul>
<b>Εργαστηριακός έλεγχος</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• GnRH test: FSH 9,8 / 25,7 / 28,9 mIU/ml, LH 1,3 / 24,8 / 27,9 mIU/ml στα 0, 30 και 60 min αντίστοιχα</li> <li>• TSH, free T3/T4, PRL, F, 17-OH-P, DHEA-S, Δ4-ανδροστενεδιόνη, T, E2, PTH: εντός των φυσιολογικών ορίων</li> <li>• β-hCG, AFP, CEA: εντός των φυσιολογικών ορίων</li> <li>• οστική ηλικία: 19 ετών</li> <li>• σπερμοδιάγραμμα: επίμονη άρνηση παρά τις επανειλημμένες αιτήσεις</li> </ul>
<b>Απεικονιστικός έλεγχος</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• υπερηχογράφημα όρχεων: <ul style="list-style-type: none"> <li>✦ αμφοτερόπλευρη μικρολιθίαση των όρχεων</li> <li>✦ καλά περιγεγραμμένη περιοχή 2,5 x 2,6 cm στον κάτω πόλο του δεξιού όρχεως</li> </ul> </li> <li>• δεύτερο υπερηχογράφημα μετά από χορήγηση αντιβίωσης: ίδια ακριβώς εικόνα</li> <li>• έγχρωμο doppler: αυξημένη αγγείωση στην περιοχή της «μάζας»</li> </ul>

**Σχόλιο:** Ο μωσαϊκισμός 45,X/46,XY έχει συσχετισθεί με ευρύ φάσμα φαινοτύπων που περιλαμβάνει γυναίκες με σύνδρομο Turner στο ένα άκρο, άνδρες με μικτή γοναδική δυσγενεσία, άρρενα ψευδεμφροδιτισμό καθώς και άνδρες με φυσιολογικό φαινότυπο στο άλλο άκρο. Ο φαινότυπος των ασθενών με μωσαϊκισμό 45,X/46,XY δεν έχει βρεθεί να έχει συσχέτιση με το ποσοστό των παθολογικών σειρών τόσο στα κύτταρα του περιφερικού αίματος, όσο και στους ινοβλάστες του δέρματος. Στις σπάνιες περιπτώσεις ασθενών με 45,X/46,XY καρυότυπο στους οποίους υπάρχει κάποια παραγωγή σπερματοζωαρίων, εμφανίζεται μεγαλύτερη συχνότητα ανευπλοειδίας σε σύγκριση με γόνιμους μάρτυρες.

<p><b>Ανοικτή βιοψία των όρχεων άμφω (βιοψία 2)</b></p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• μακροσκοπικά δεν εντοπίστηκε περιγεγραμμένη παθολογική περιοχή στον δεξιό όρχι παρά το υπερηχογραφικό εύρημα</li> <li>• μικροσκοπική εικόνα:             <ul style="list-style-type: none"> <li>✦ απλασία του σπερματικού επιθηλίου (Sertoli cell-only syndrome)</li> <li>✦ εστίες σπερματογένεσης, με διακοπή της ωρίμανσης στο επίπεδο των σπερματογονίων</li> <li>✦ λίγα σπερματογόνια με κυτταρικές ατυπίες</li> </ul> </li> <li>• ανοσοϊστοχημική χρώση για πλακουντιακή αλκαλική φωσφατάση (PIAP): θετική</li> <li>• ιστολογική διάγνωση: Ενδοσωληνιακή νεοπλασία των κυττάρων της σπερματικής σειράς (Intratubular Germ Cell Neoplasia - IGCN, παλαιότερη ονομασία: καρκίνωμα in-situ)</li> </ul>
---	---

**Σχόλιο:** Οι άνδρες με 45,X/46,XY καρυότυπο και κρυφορχία εμφανίζουν μεταξύ των άλλων και αυξημένο κίνδυνο ανάπτυξης νεοπλασίας των κυττάρων της σπερματικής σειράς. Οι IGCN, αν αφεθούν χωρίς θεραπεία, εξελίσσονται σε διθητικές νεοπλασίες στο 50% περίπου των περιπτώσεων στα επόμενα πέντε έτη από τη διάγνωση. Ο πληθυσμός που πρέπει να ελεγχθεί για IGCN παραμένει αντικείμενο συζήτησης μεταξύ των ερευνητών.

Η βιοψία μπορεί συνήθως να αναβληθεί έως την ηλικία των 18 ετών, καθώς φαίνεται ότι υπάρχει μικρός μόνο κίνδυνος ανάπτυξης διθητικής νεοπλασίας έως αυτήν την ηλικία. Επιπρόσθετα, η ιστολογική διάγνωση της IGCN είναι εξαιρετικά δύσκολη σε ασθενείς που δεν έχουν ολοκληρώσει την εφηβεία.

<p><b>Γενετικός έλεγχος</b></p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• έλεγχος με PCR για Yq μικροελλείψεις (περιφερικό αίμα και ορχικός ιστός): μικροελλείψεις Yq στα τμήματα AZFb και AZFc τόσο στο περιφερικό αίμα, όσο και στον ορχικό ιστό</li> <li>• έλεγχος RNA από τον ορχικό ιστό με RT-PCR: επιβεβαίωση των μικροελλείψεων στις περιοχές AZFb και AZFc του μακρού σκέλους του Y χρωματοσώματος</li> <li>• έλεγχος με PCR για μεταλλάξεις στο γονίδιο της κυστικής ίνωσης (περιφερικό αίμα): αρνητικός</li> </ul>
---------------------------------	--

**Σχόλιο:** Ένα ποσοστό μεταξύ του 3% και 10% των φαινοτυπικά φυσιολογικών ανδρών με ιδιοπαθή υπογονιμότητα και φυσιολογικό καρυότυπο εμφανίζουν Yq μικροελλείψεις, που οδηγούν στην απώλεια γονιδίων που είναι απαραίτητα για τη σπερματογένεση, όπως τα γονίδια της περιοχής AZF (azoospermia factor). Οι Yq μικροελλείψεις μπορεί να οδηγούν σε μηχανική αστάθεια του Y χρωματοσώματος με αποτέλεσμα τον σχηματισμό 45,X κυτταρικών σειρών.

<b>Αντιμετώπιση</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• αμφοτερόπλευρη ορχεκτομή (βιοψία 3)</li> <li>• τοποθέτηση «πλαστικών όρχεων» άμφω</li> <li>• έναρξη θεραπείας υποκατάστασης με τεστοστερόνη</li> <li>• απόρριψη αριστερού «πλαστικού όρχεως» και αντικατάσταση με μικρότερο μέγεθος</li> </ul>
---------------------	---

**Σχόλιο:** Η απόφαση για την αμφοτερόπλευρη ορχεκτομή στηρίχθηκε στα εξής δεδομένα: παθολογικός καρυότυπος 45,X/46,XY και διάγνωση του IGCN, όπως αυτή τεκμηριώθηκε από τις κυτταρικές ατυπίες και τη θετική ανοσοϊστοχημική χρώση για PIAP. Η χρώση PIAP εμφανίζει ευαισθησία για τη διάγνωση IGCN μεταξύ 83% και 100%. Η ειδικότητα είναι επίσης πολύ υψηλή, καθώς τα μη νεοπλασματικά κύτταρα της σπερματικής σειράς είναι σχεδόν πάντα αρνητικά για PIAP.

<b>Ιστολογική εξέταση (βιοψία 3)</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• τελική εμπέδωση της διάγνωσης της IGCN</li> <li>• κατανομή των σπερματικών σωληναρίων με IGCN ομοιόμορφη και στους δύο όρχεις</li> <li>• εξαίρεση ο κάτω πόλος του δεξιού όρχεως, όπου η συγκέντρωση των προσβεβλημένων σπερματικών σωληναρίων ήταν σημαντικά υψηλότερη</li> </ul>
--------------------------------------	---

**Σχόλιο:** Ένας μικρός αριθμός ορχικών βιοψιών, ακόμη και μία μοναδική βιοψία, μπορεί να αποδειχθεί αρκετή για τη διάγνωση της IGCN στην πλειοψηφία των περιπτώσεων, καθώς η τελευταία τείνει να είναι μια γενικευμένη διαδικασία που αφορά και τους δύο όρχεις με ομοιόμορφο τρόπο. Παρ' όλο που ο πληθυσμός που χρειάζεται παρακολούθηση για IGCN παραμένει αντικείμενο συζητήσεων, η πρώιμη μετεφηβική περίοδος φαίνεται να αποτελεί τη βέλτιστη χρονική στιγμή για τη διενέργεια ορχικής βιοψίας.

### Συμπεράσματα

- Η διενέργεια καρυότυπου σε όλα τα νεογνά με αμφίβολα έξω γεννητικά όργανα συνιστάται από τη μεγάλη πλειοψηφία των ειδικών.
- Η συστηματική παρακολούθηση για την πιθανή ανάπτυξη ορχικών νεοπλασμάτων είναι υποχρεωτική για όλους τους ασθενείς με 45,X/46,XY καρυότυπο. Η παρακολούθηση αυτή πρέπει να περιλαμβάνει κλινική εξέταση και εργαστηριακή εκτίμηση τόσο με υπερηχογράφημα, όσο και με βιοχημικούς δείκτες νεοπλασίας.
- Το χαμηλό ανάστημα και η καθυστερημένη εφηβεία έχουν αναφερθεί ως μέρος της κλινικής εικόνας των ασθενών με 45,X/46,XY μωσαϊκισμό που διαγιγνώσκονται κατά την εφηβεία. Η βέλτιστη θεραπευτική προσέγγιση σε αυτούς τους ασθενείς αποτελεί ακόμη πεδίο συζητήσεων μεταξύ των ειδικών.

### ΕΝΔΕΙΚΤΙΚΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- **Berthelsen J, Skakkebaek N.** Value of testicular biopsy in diagnosing carcinoma in situ testis. *Scan J Urol Nephrol* 1981, 15:165-168.
- **Burke A, Mostofi F.** Intratubular malignant germ cells in testicular biopsies: clinical course and identification by staining for placental alkaline phosphatase. *Mol Pathol* 1988, 1:475-479.
- **Giwerzman A, von der Maase H, Skakkebaek N.** Epidemiological and clinical aspects of carcinoma of the testis. *Eur Urol* 1993, 93:23.
- **Manivel J, Jessurun J, Wick M, Dehner L.** Placental alkaline phosphatase immunoreactivity in testicular germ cell tumors. *Am J Surg Pathol* 1987, 11:21-29.
- **Muller J, Ritzen E, Ivarsson S, Rajpert-De Meyts E, Norjavaara E, Skakkebaek N.** Management of males with 45,X/46,XY gonadal dysgenesis. *Horm Res* 1999, 52:11-14.
- **Muller J, Skakkebaek N, Ritzen M, Ploen L, Petersen K.** Carcinoma in situ of the testis in children with 45,X/46,XY gonadal dysgenesis. *J Pediatr* 1985, 106:431-416.
- **Newberg M, Francisco R, Pang M, Brugo S, Doncel G.** Cytogenetics of somatic cells and sperm from a 45,X/46,XY mosaic male with moderate oligoasthenoteratozoospermia. *Fertil Steril* 1998, 69:146-148.
- **Nistal M, Paniagua R, Diez-Pardo J.** Histologic classification of undescended testes. *Hum Pathol* 1980, 11:66-674.
- **Nistal M, Paniagua R, Queizan A.** Histologic lesions in undescended ectopic obstructed testes. *Fertil Steril* 1985, 43:455-462.
- **Renshaw A.** Testicular calcifications: incidence, histology and proposed pathological criteria for testicular microlithiasis. *J Urol* 1998, 160:1625-1998.
- **Siffroi J, Le Bourhis C, Krausz C, Barbaux S, Quintana-Murci L, Kanafani S, et al.** Sex chromosome mosaicism in males carrying Y chromosome long arm deletions. *Hum Reprod* 2000, 15:2559-2562.
- **Skakkebaek N, Berthelsen J, Visfeldt J.** Clinical aspects of testicular carcinoma-in-situ. *Int J Androl* 1981, 4(Suppl):153-162.
- **Telvi L, Lebbar A, Del Pino O, Bardet J, Chaussain J.** 45,X/46,XY mosaicism: report of 27 cases. *Pediatrics* 1999, 104:304-308.
- **Ulbricht T, Roth L.** Testicular and paratesticular neoplasms, in *Diagnostic surgical pathology*, S. Sternberg, Editor. 1994, Raven Press: New York. p. 1885-1947.

# 7<sup>ο</sup> ΠΑΝΕΛΛΗΝΙΟ ΣΥΝΕΔΡΙΟ ΑΝΔΡΟΛΟΓΙΑΣ

Αθήνα

Παρασκευή 24 – Σάββατο 25 Νοεμβρίου 2006

## Παρασκευή, 24 Νοεμβρίου 2006

09.00-10.00 **Εγγραφές**

10.00-12.00 **Επίδραση του περιβάλλοντος στην ανδρική αναπαραγωγική λειτουργία**

Πρόεδροι: Π. Νικολοπούλου Σταμάτη, Μ. Καραμερτζάνη

- Γονιμότητα Β. Συρίου
- Σεξουαλική δραστηριότητα Ε. Κούκκου
- Συγγενείς ανωμαλίες - κακοήθειες Σ. Αντύπας
- Διατροφή – συμπληρώματα διατροφής - τρόπος ζωής Α. Θωμόπουλος

12.00-12.30 **Διάλειμμα**

12.30-14.00 **Γυναίκες στην Ανδρολογία**

Πρόεδροι: Μ. Αναπλιώτου, Α. Αμπραχαμάν

- Η γυναίκα σαν αναπαραγωγικός σύντροφος Σ. Καλανταρίδου
- Η γυναίκα σαν σεξουαλικός σύντροφος Ι. Παύλου
- Η γυναίκα σαν θεραπευτής Ε. Ανδρέου

14.00-16.00 **Διάλειμμα**

16.00-17.30 **Ο προστάτης σαν αναπαραγωγικό όργανο**

Πρόεδροι: Χ. Δεληβελιώτης, Σ. Τουλουπίδης

- Ο ρόλος του προστάτη στην γονιμοποιητική ικανότητα του σπέρματος Δ. Μπαλτογιάννης
- Νέοι ορίζοντες στη διαγνωστική προσέγγιση Ν. Λεγάκης
- Τεκμηριωμένη ιατρική πρακτική στη θεραπεία του χρόνιου πυελικού άλγους Φ. Σοφράς

17.30-18.00 **Διάλεξη προσκεκλημένου ομιλητή**

Πρόεδρος: Σ. Μηλίγκος

- Λειτουργία της επιδιδυμίδας Τ. Cooper

18.00-18.30 **Διάλειμμα**

18.30-19.30 **Δυναμική της σπερματογένεσης**

Πρόεδροι: Ι. Παπαδήμας, Ν. Καρόλλα

- Γονίδια και σπερματογένεση Ρ. Αγγελοπούλου
- Ορμονική λειτουργία του όρχι Δ. Γουλής

19.30-20.00 **Διάλεξη προσκεκλημένου ομιλητή**

Πρόεδρος: Δ.Α. Αδαμόπουλος

- Οιστρογόνα και σπερματογένεση Κ. Kula

20.30-22.00 **Επίσημη έναρξη Συνεδρίου**

**Δεξίωση**

Χαιρετισμοί: Δ. Αβραμόπουλος, Υπουργός Υγείας ή Αθ. Γιαννόπουλος

Γ. Κρεατσάς, Πρόεδρος Ιατρικής Σχολής

Πρόεδρος Ελληνικής Ουρολογικής Εταιρείας

Πρόεδρος Ελληνικής Ενδοκρινολογικής Εταιρείας

Πρόεδρος Ελληνικής Μικροβιολογικής Εταιρείας

**Σάββατο, 25 Νοεμβρίου 2006**

- 09.00-10.30 **Γενετικοί κίνδυνοι από την εφαρμογή IVF-ICSI**  
 Πρόεδροι: *Θ. Μαντζαβίνος, Κ. Μαυρομμάτης*
- Γενετική βάση της ανδρικής υπογονιμότητας *Γ. Γεωργίου*
  - Ο ρόλος της ινοκυστικής νόσου στην ανδρική υπογονιμότητα *Μ. Καναβάκης*
  - Χρωμοσωματικές ανωμαλίες των σπερματοζωαρίων *Β. Βελισσαρίου*
- 10.30-11.00 **Διάλειμμα**
- 11.00-12.00 **Νεότερες εξελίξεις στην Ανδρολογία**  
 Πρόεδροι: *Γ. Κουκούλης, Ν. Γεωργόπουλος*
- Kissreptin: νέος ρυθμιστής; a new maestro? *Ε. Βενάκη*
  - SARMS: πολύς χρόνος ακόμη; *Σ. Νικοπούλου*
  - Έλεγχος DNA σπερματοζωαρίων *Γ. Λυμπερόπουλος*
- 12.00-14.00 **Βραχείες διαλέξεις προσκεκλημένων ομιλητών από την Ιαπωνία**  
 Πρόεδροι: *Κ. Miyakoza, Ν. Σοφικίτης, Χ. Ασβέστης*
- Ο ρόλος των αναστολέων της φωσφοδιεστεράσης στην *Ι. Miyagawa*  
 ποιότητα του σπέρματος και την ορχική λειτουργία.
  - Συνέπειες της επαναιμάτωσης του ισχαιμούντος όρχεος *Motoaki Saito*
  - Αντιοξειδωτική προστασία της ορχικής λειτουργίας *Tasuku Harada*
- 14.00-14.30 **Βραχείες διαλέξεις προσκεκλημένων ομιλητών από την Αφρική**  
 Πρόεδρος: *M'Imunya J. Machoki*
- Η Ανδρολογία στην Αφρική *M'Imunya J. Machoki & A. Kamanga*
- 14.30-16.00 **Διάλειμμα**
- 16.00-17.00 **Poster presentations**  
 Πρόεδροι: *Χ. Τασσόπουλος, Ε. Σπυρόπουλος, Α. Αργυρίου*
- 17.00-18.00 **Υπογονιμότητα: από το εργαστήριο στην κλινική πράξη**  
 Πρόεδροι: *Μ. Μελέκος, Θ. Ζεγκινιάδου*
- Ποιοτικός έλεγχος στην εξέταση σπέρματος *Λ. Björndahl*
  - Υπογονιμότητα και ποιότητα σπέρματος *Β. Mirone*
- 18.00-18.30 **Διάλειμμα**
- 18.30-19.00 **Διάλεξη προσκεκλημένου ομιλητή**  
 Πρόεδρος: *Δ. Πανίδης*
- Ανδρογόνα στην Ανδρολογία *Η. Behre*
- 19.00-20.30 **Λειτουργία στύσης – εκσπερμάτισης**  
 Πρόεδροι: *Ν. Ανάγνου, Γ. Μπαρμπαλιάς*
- Ο ρόλος του ΚΝΣ στη στύση *Δ. Μαγγουρά*
  - Ο ρόλος του λείου μυϊκού κυττάρου στη στύση *Κ. McKenna*
  - Διαταραχές εκσπερμάτισης *Δ. Χατζηχρήστου*
- 20.30-20.45 **Συμπεράσματα – Κλείσιμο Συνεδρίου**
- Δ.Α. Αδαμόπουλος,  
 Δ. Χατζηχρήστου  
 Ν. Σοφικίτης*

**ΠΡΟΣΚΛΗΣΗ ΕΝΔΙΑΦΕΡΟΝΤΟΣ**

**Το 7<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Συνέδριο Ανδρολογίας** με διεθνή συμμετοχή θα λάβει χώρα στην **Αθήνα** στις **24-25 Νοεμβρίου 2006**

Προθεσμία **υποβολής εργασιών** για παρουσίαση στο συνέδριο έως **30/9/06**

Οι δύο καλύτερες εργασίες, μια κλινικού ενδιαφέροντος και μία εργαστηριακού, θα βραβευσθούν

Για την εγγραφή στο Συνέδριο επικοινωνήστε με: **Ελληνική Ανδρολογική Εταιρεία**  
κ. Μαρία Μπότη  
Τηλ.: 210 64 11 156

**Υπόδειγμα περίληψης**

**Η επίδραση των φυτοοιστρογόνων στη σπερματογένεση**

Κ. Παπαδόπουλος<sup>1</sup>, Β. Βασιλείου<sup>2</sup>, Γ. Γεωργίου<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Μονάδα Ενδοκρινολογίας Αναπαραγωγής, Α' Μαιευτική - Γυναικολογική Κλινική, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης,

<sup>2</sup>Α' Παθολογική Κλινική, Γ.Ν. Σερρών

**Σκοπός:** Ο κύριος σκοπός της μελέτης είναι ...

**Ασθενείς και Μέθοδοι:** Μελετήθηκαν 145 άνδρες ...

**Αποτελέσματα:** Η ομάδα των ανδρών που εκτέθηκε σε φυτοοιστρογόνα ...

**Συμπεράσματα:** Οι άνδρες που εκτέθηκαν ...

Μέγιστο πλέξεων: 400

