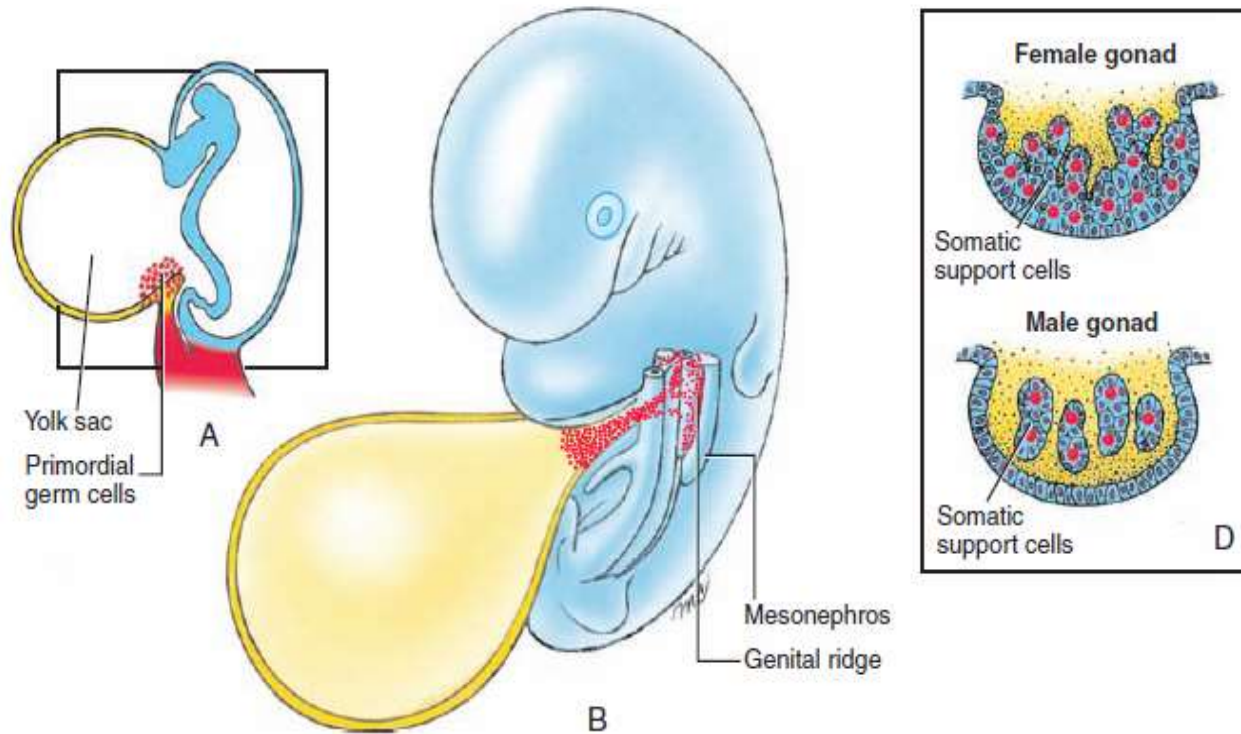


Dóra Dávid

Semmelweis Egyetem,
Anatómiai, Szövet- és
Fejlődéstani Intézet
2018
Fejlődésbiológia I.



Nemek kialakulása

Csírasejtek vándorlása

Gonádok fejlődése

A nem kialakulása

- **Az ősvarsejtek kialakulása és migrációja**
- **A gonádkezdemények kialakulása, az ősvarsejtek betelepülése**
- **A külső és belső nemi jellegek kialakulása**

I. A genetikus, kromoszómális nem meghatározódása

Genetikus nem meghatározódása fertilizációkor – genotipikus szex-determináció



A szex-determináció és manifesztálódása a genetikus nem meghatározódásával kezdődik a megtermékenyítéskor (46,XX vagy 46,XY), mivel a homoterm gerincesekben (mint az ember) dominál a genetikai szex determináció.

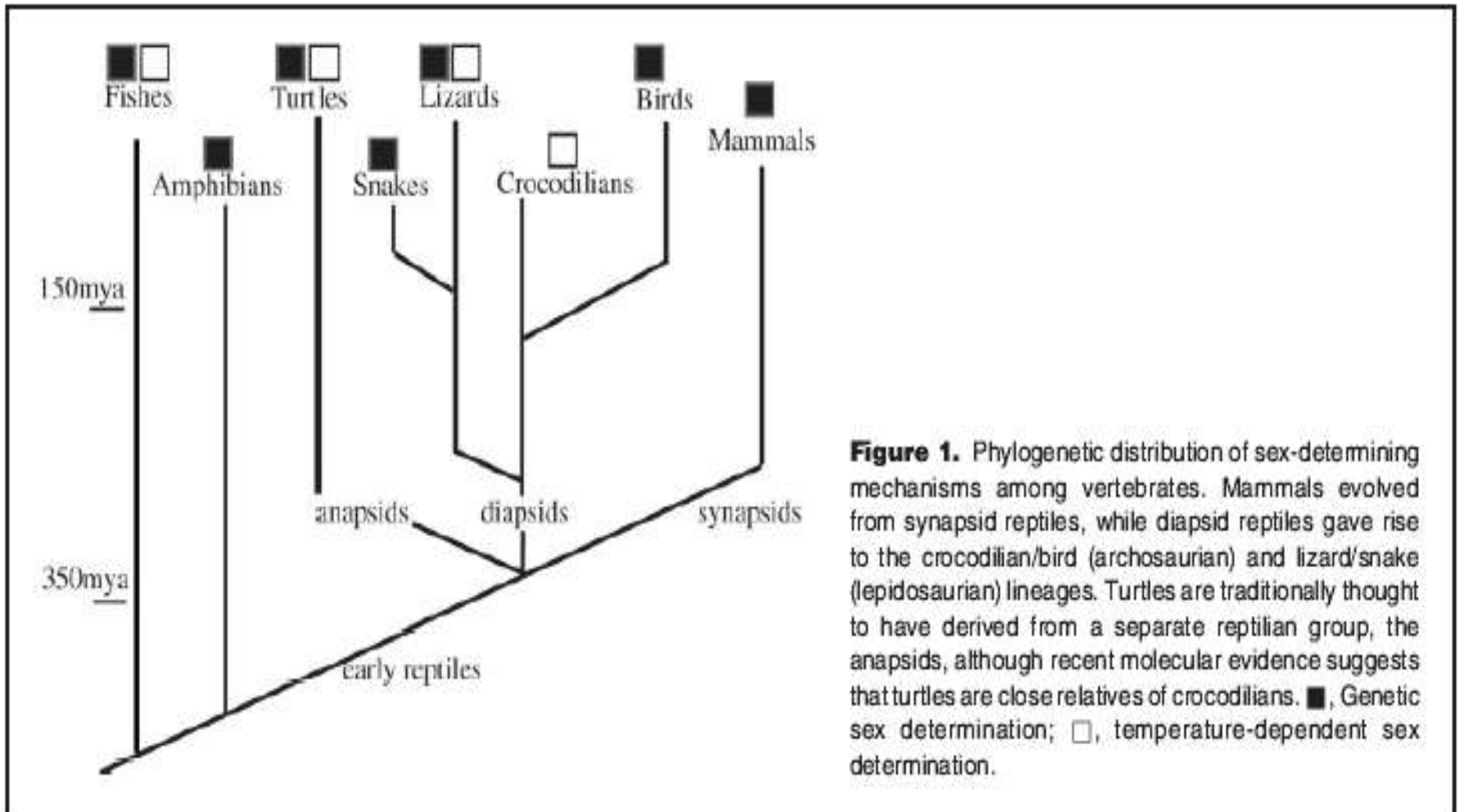
A heterotermekben viszont a környezettől függő, az ú.n. temperature-dependent sex determination (TSD), vagy environmental-dependent SD, ESD) játszik fontos szerepet.

Teknős, krokodil főleg: levegő hőmérséklettől függ a kikelő állat neme, melyet a fészek hőmérsékletének szabályozásával az anyaállat határoz meg.

Sex determination: insights from the chicken

Craig A. Smith* and Andrew H. Sinclair

BioEssays 26:120–132, © 2004 Wiley Periodicals, Inc.



A „férfi nem” az Y kromoszóma jelenlététől függ
Gonadális nem

→ XY – here fejlődik

→ XX – petefészek fejlődik

A genotípus fogja meghatározni, hogy milyen gonád fejlődik ki (here vagy ovárium).

Ez pedig befolyásolja a reprodukív rendszer többi tagjának (ivarsejteket kivezető csatornák) és a külső nemi szervek fejlődését.

→ Amikor a gonadális és fenotipikus nem nem egyezik → pseudohermaphroditizmus alakul ki.



Csak ő a normál férfi...

Férfi pseudohermafroditizmus okai:

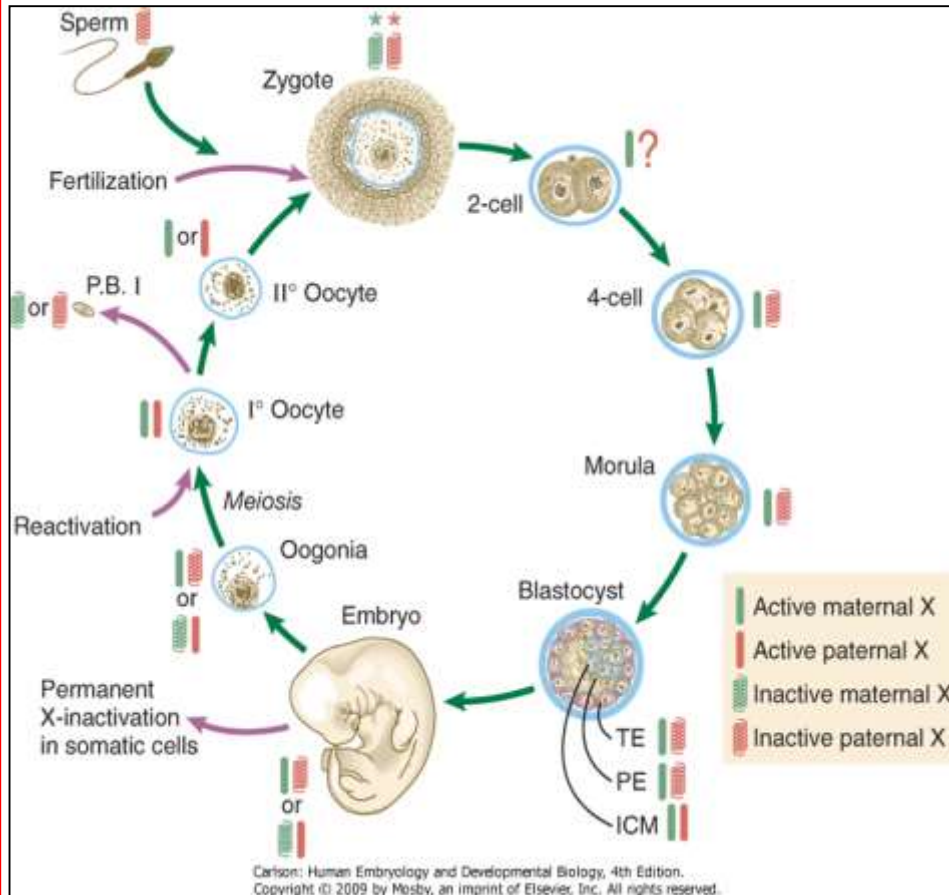
- Testis fejlődési rendellenessége
 - 5-alpha-reduktáz deficiencia → tesztoszteron-hiány
 - Androgén inszenzitivitás (receptor-hiány)
- Tesztikuláris feminizáció

Női pseudohermafroditizmus okai:

- Congenitális adrogenitalis szindróma
Congenitális adrogenitalis hyperplasia (CAH)
- Androgén termelő tumor az anyában

Figure 7. The male on the left and the male in the center are pseudohermaphrodites, and are cousins. The male on the right is a normal male and the brother of the affected male on the left. The affected males are more muscular, whereas the normal male has a beard and temporal hairline recession.

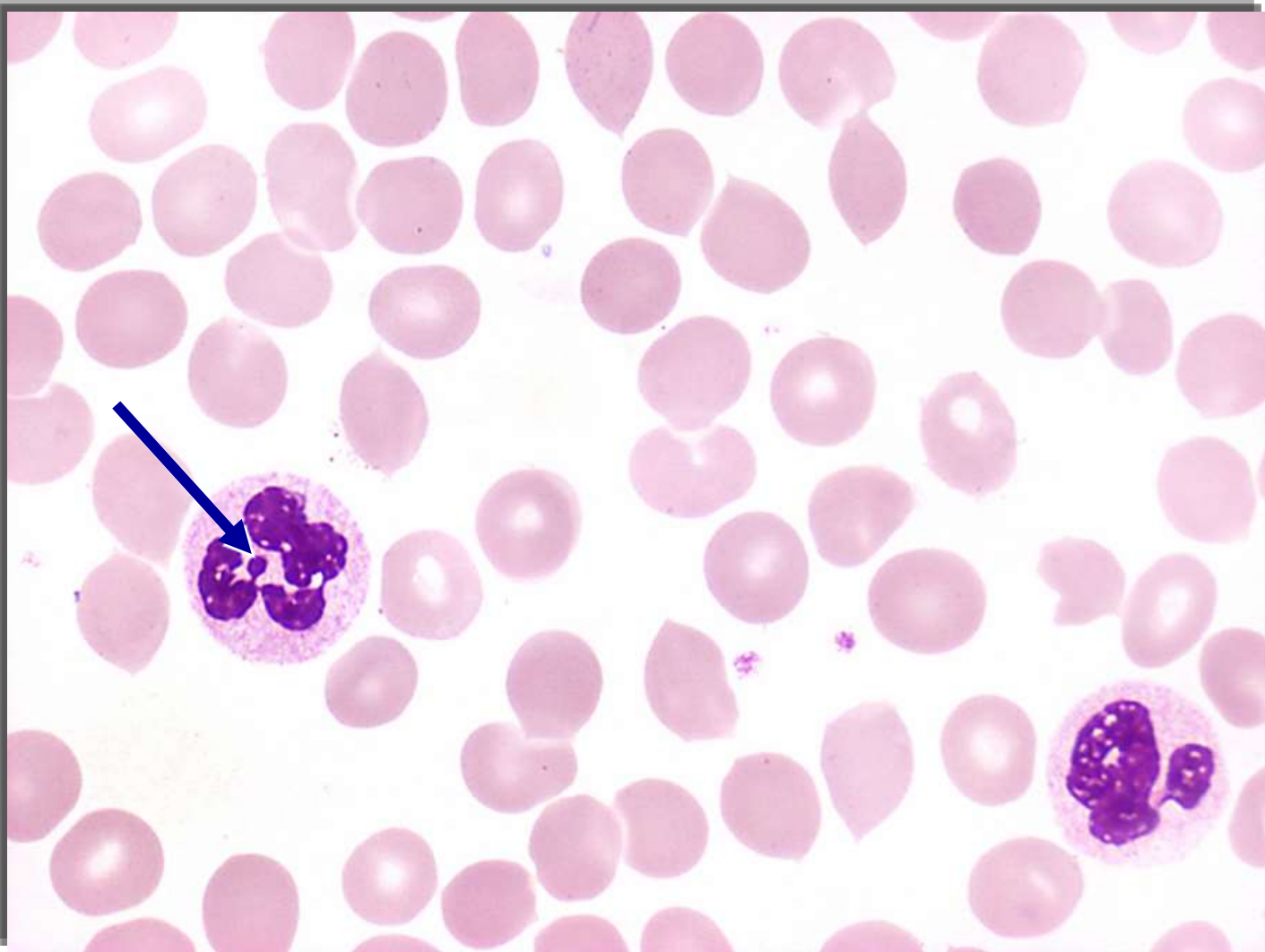
X kromoszóma inaktiváció női nemben, „dóziskompenzáció”



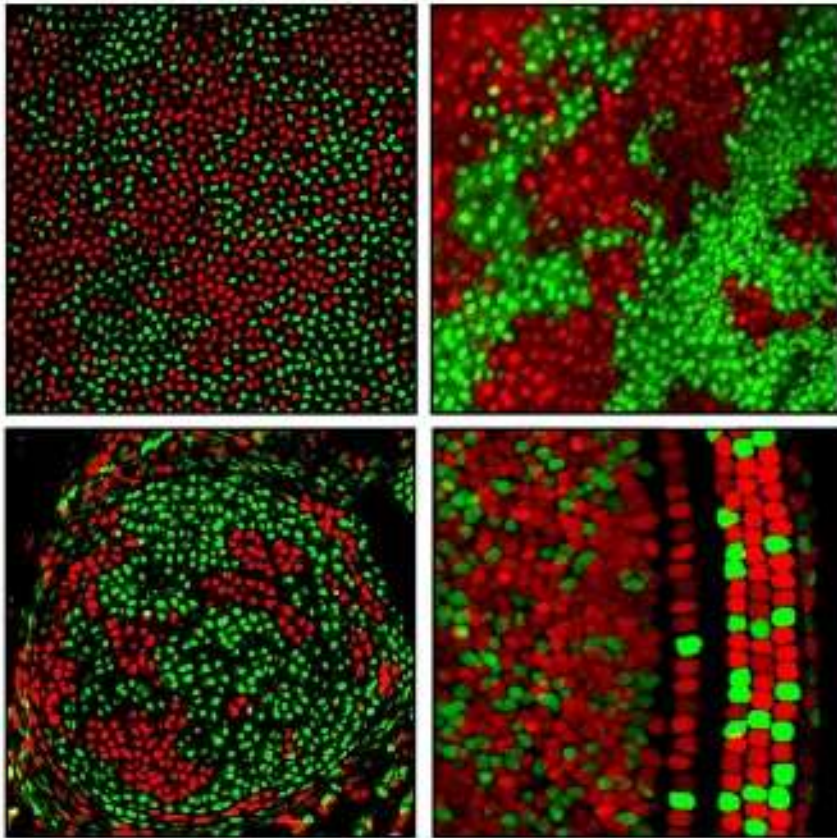
- Az X kromoszómán sok gén nem kapcsolódik a nem meghatározásához és nincs jelen az Y kromoszómán.
- Ezek a gének két dózisban lennének jelen a női egyedekben és 1 dózisban a férfiakban
- A megoldás az egyik X-et kromoszóma inaktivációja a szomatikus sejtekben → 1998-ban leírt gén: X-Inactive Specific Transcript (XIST) szükséges az inaktivációhoz
- Az inaktiválódott X-kromoszóma, mint „Barr-test” marad meg
- aktiváló faktor: RNF12
- gátló: OCT4, SOX2, Nanog

Barr test

inaktivált X chromosoma: nucleus interphasiban
heterochromatin



Az X-inaktiváció nem egységes a sejtekben, mozaikok vagyunk



*fluoreszcensen jelölt X kromoszómák
egérben különböző szövetekben*

- paternalis: piros

- maternalis: zöld



A korai fejlődés során, minden sejt „választ” melyik X kromoszómát fogja kifejezni (maternalis vagy paternalis) → ez egy ismeretlen random mechanizmus

A sejtek a választás után ugyanazt az X kromoszómát fogják kifejezni, mint a progenitor sejt, tehát a szövetek mozaikos felépítésűek lesznek.

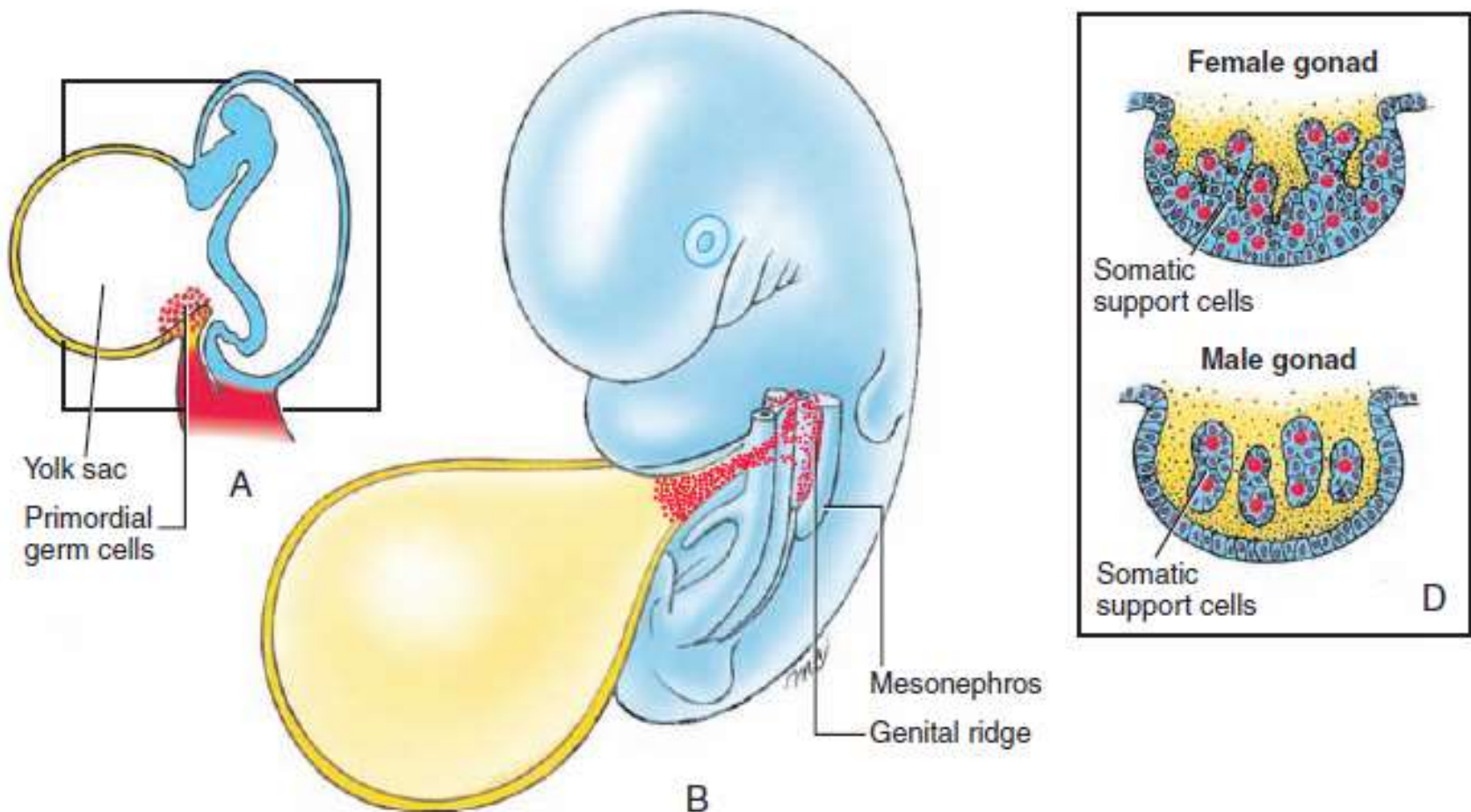
A genetikai nem a megtermékenyítés pillanatában eldől

Az egyetlen morfológiai jel a terhesség 7. hetéig:

a Barr test jelenléte a nőnemű egyed sejtjeiben

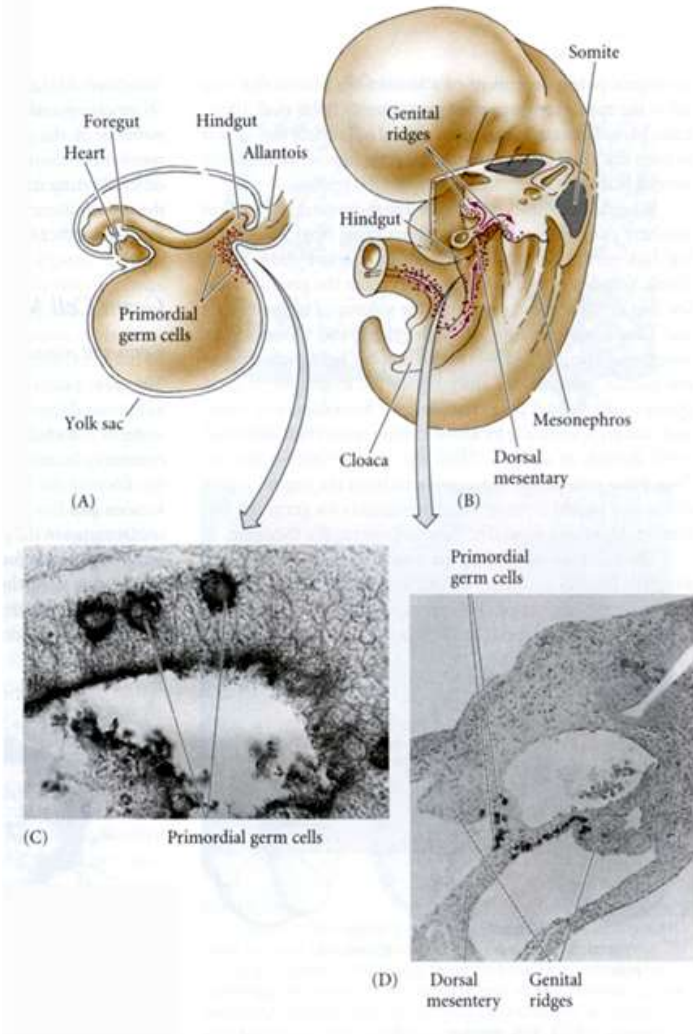
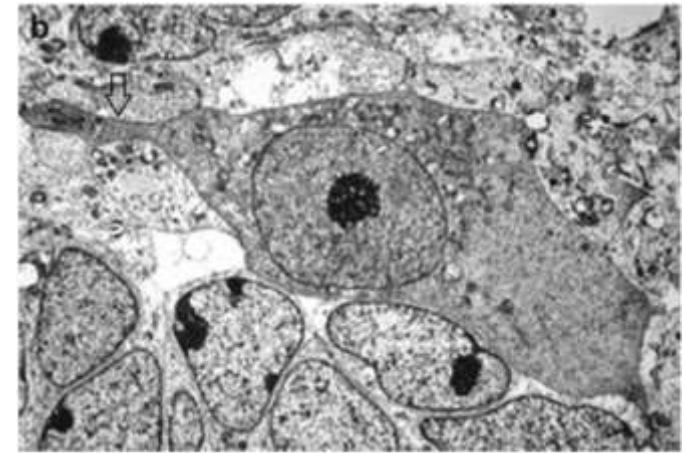
Mindkét nemben a gonádok kialakulása és differenciációja a primordiális csírasejtek megérkezésével kezdődik meg az intermedier mezodermban

A 6. héten a szikhólyag falában várakozó ősvarsejtek elindulnak a mesenterium dorsale mentén a dorsalis testfal felé és megtelepednek a mesonephrostól mediálisan elhelyezkedő ivartelepben (plica genitalis) a 10. mellkasi szelvény szintjében. Az itt lévő coelomahámból alakulnak ki a fejlődésüket tovább segítő szomatikus sejtek.



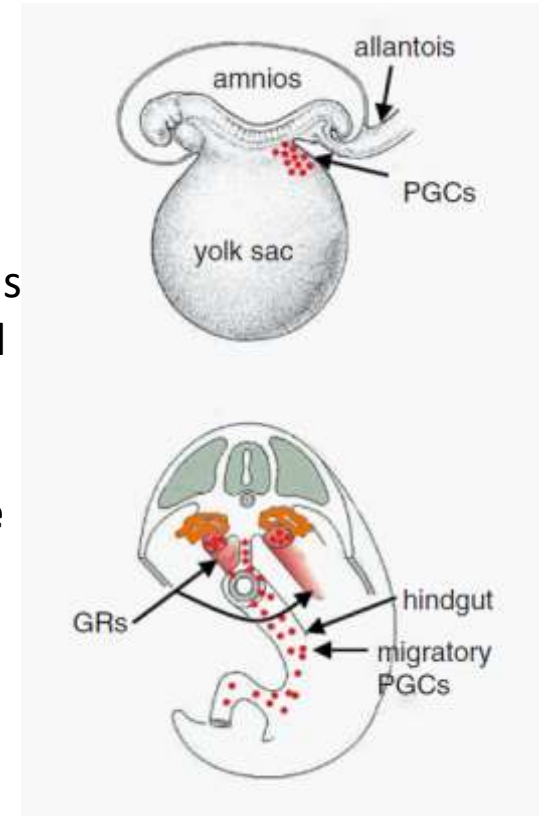
Primordiális csírasejtek, PGCs

A gonád ekkor morfológiailag még indifferens (ambisexual gonadal primordia).

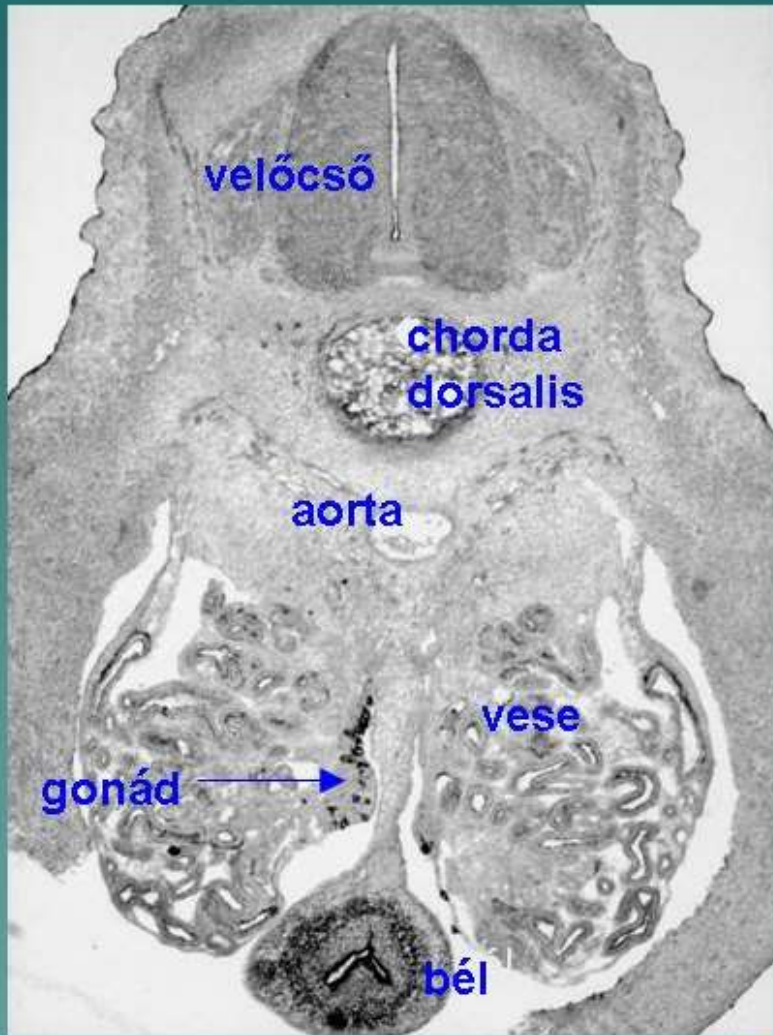


A PGC-k migrációja egérembrióban.

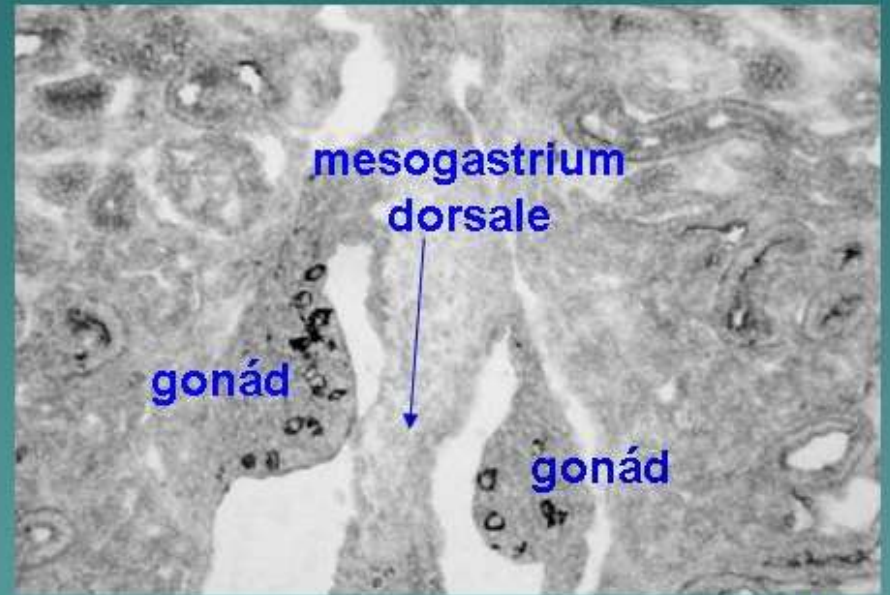
A PGC-k erős alkalikus foszfatáz aktivitással bírnak (alsó képek):
TNAP (tissue nonspecific alkaline phosphatase) - hisztokémia



30B6

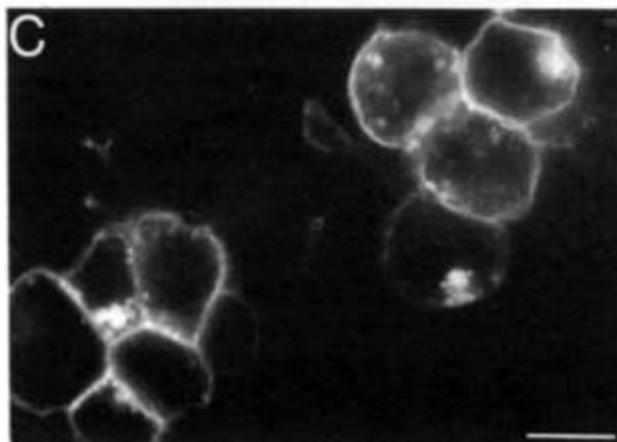
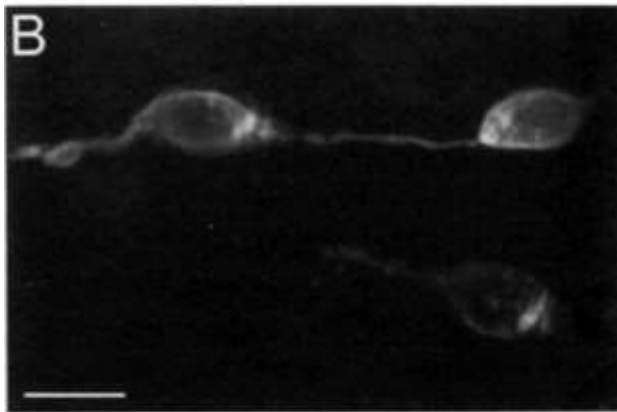
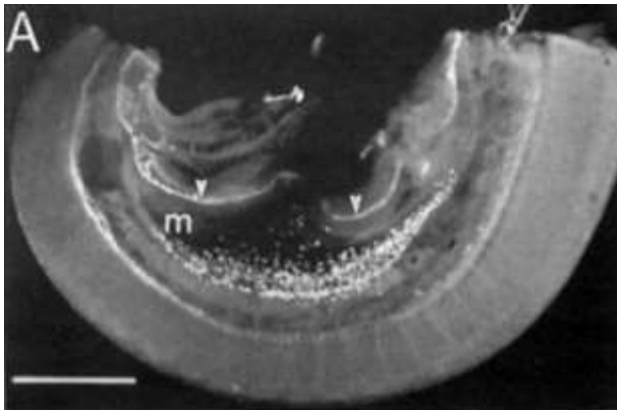


5x

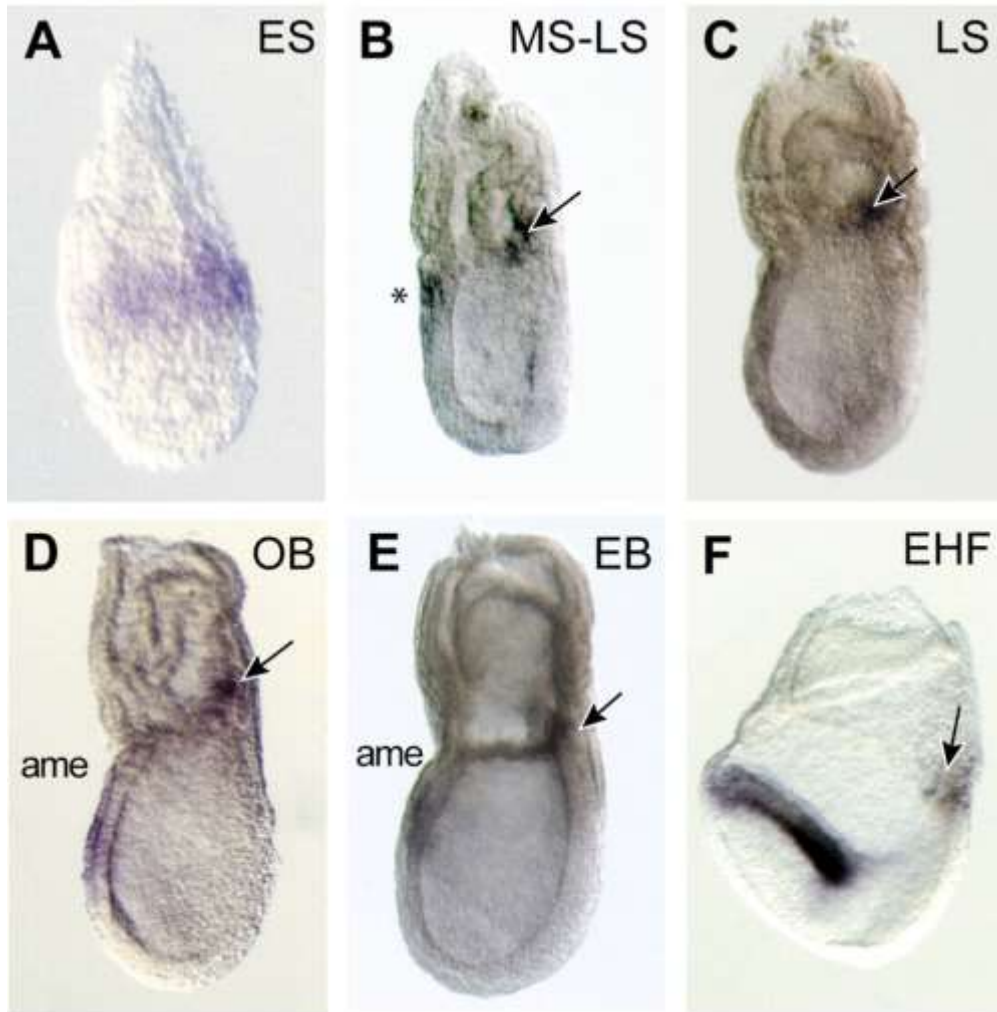


10x

Vándorló (A,B) és megállapodott (C) PGC-k egérembrióban (SSEA-1 IH)



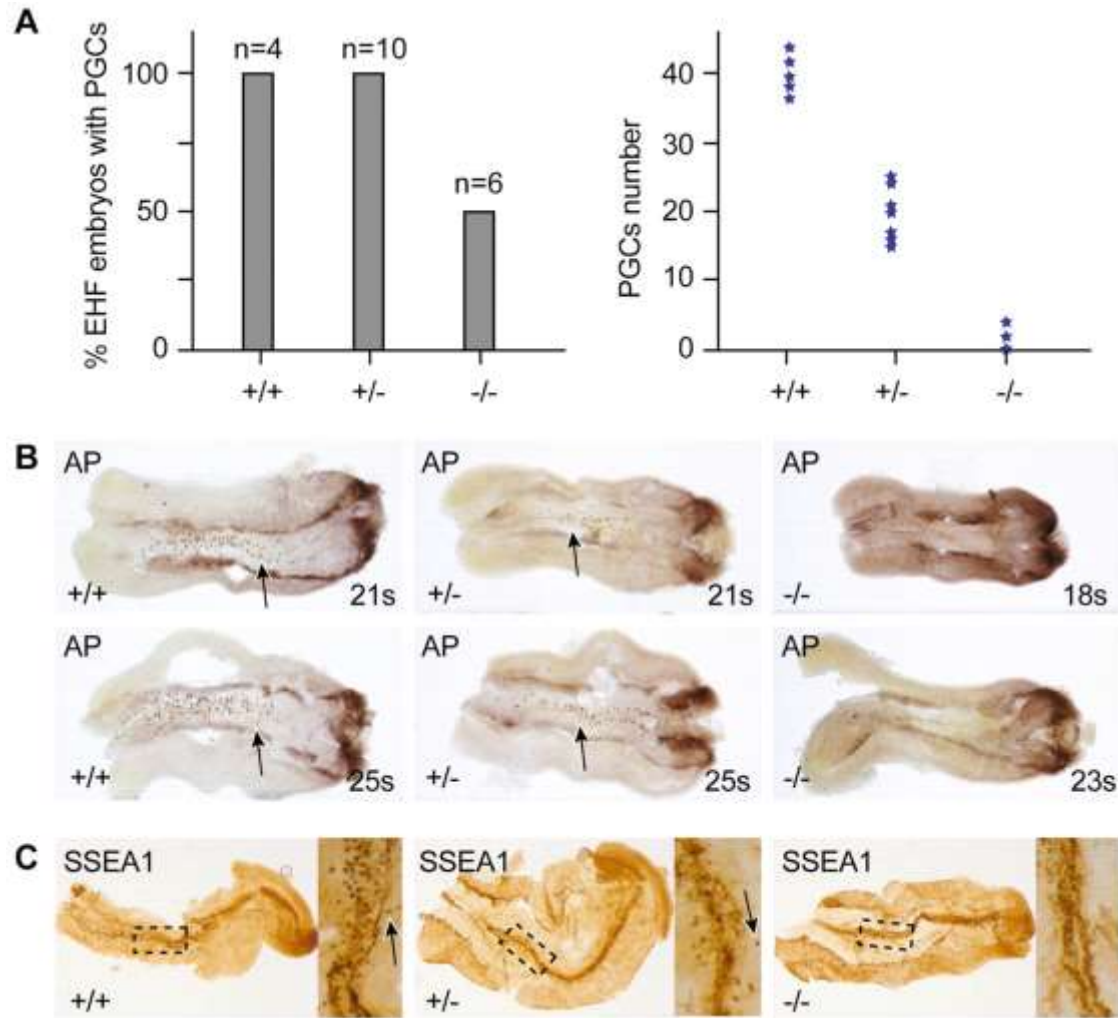
Blimp1 expresszió a korai egér embrióban



- PGC prekurzorok specifikus markere
- Transzkripciós represszor protein, a *PRDM1* gén terméke
- Felnőttben a beta-interferon represszora → immunválaszt provokál vírusfertőzés után → B-sejt toborzásban fontos
- Hemopoietikus sejtvonallal fontos regulátor fehérjéje
- PGC-k specifikációjához elengedhetetlen Hox-gének repressziójában is szerepe van

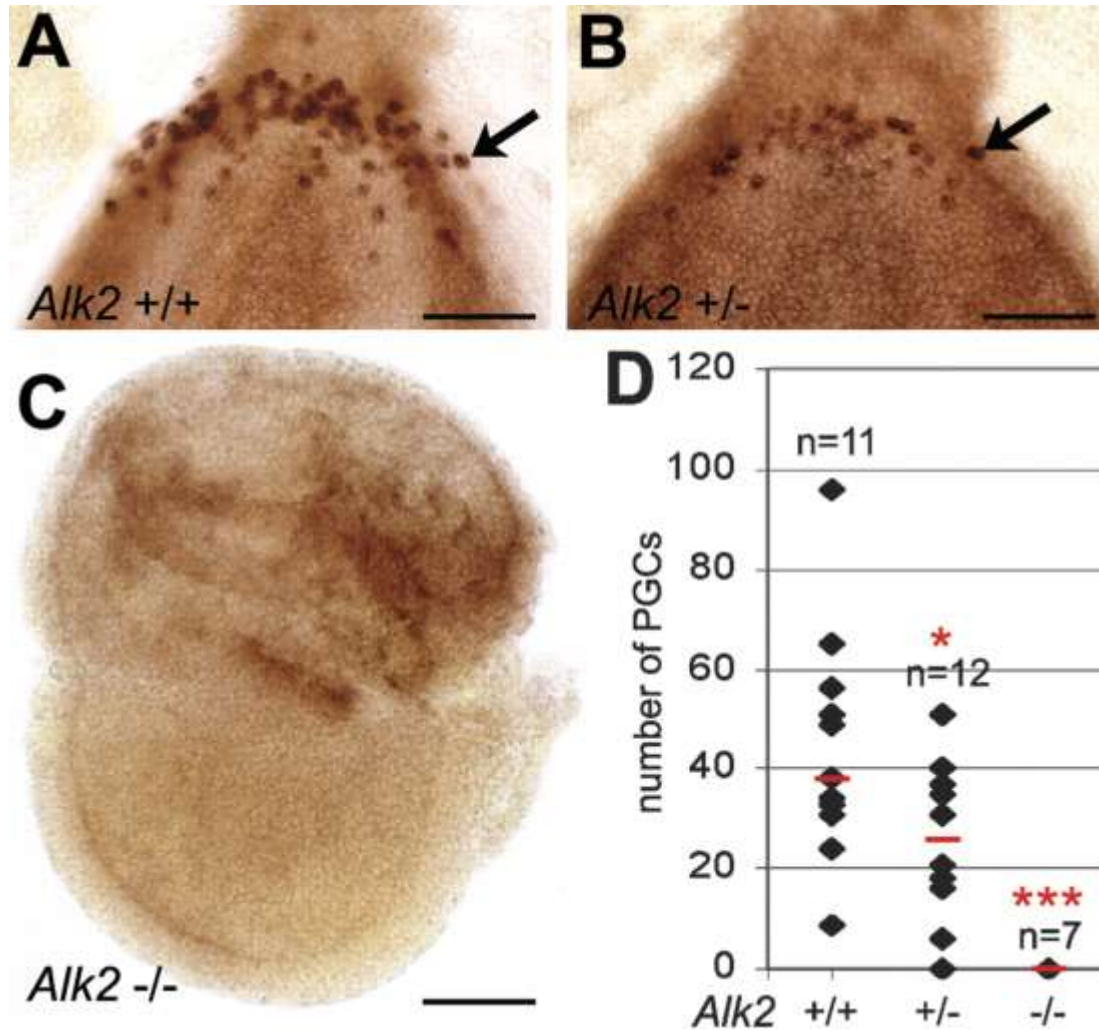
Vincent, S. D. et al. *Development* 2005;132:1315-1325

A Blimp1 mutáns egerek PGC-érése defektes



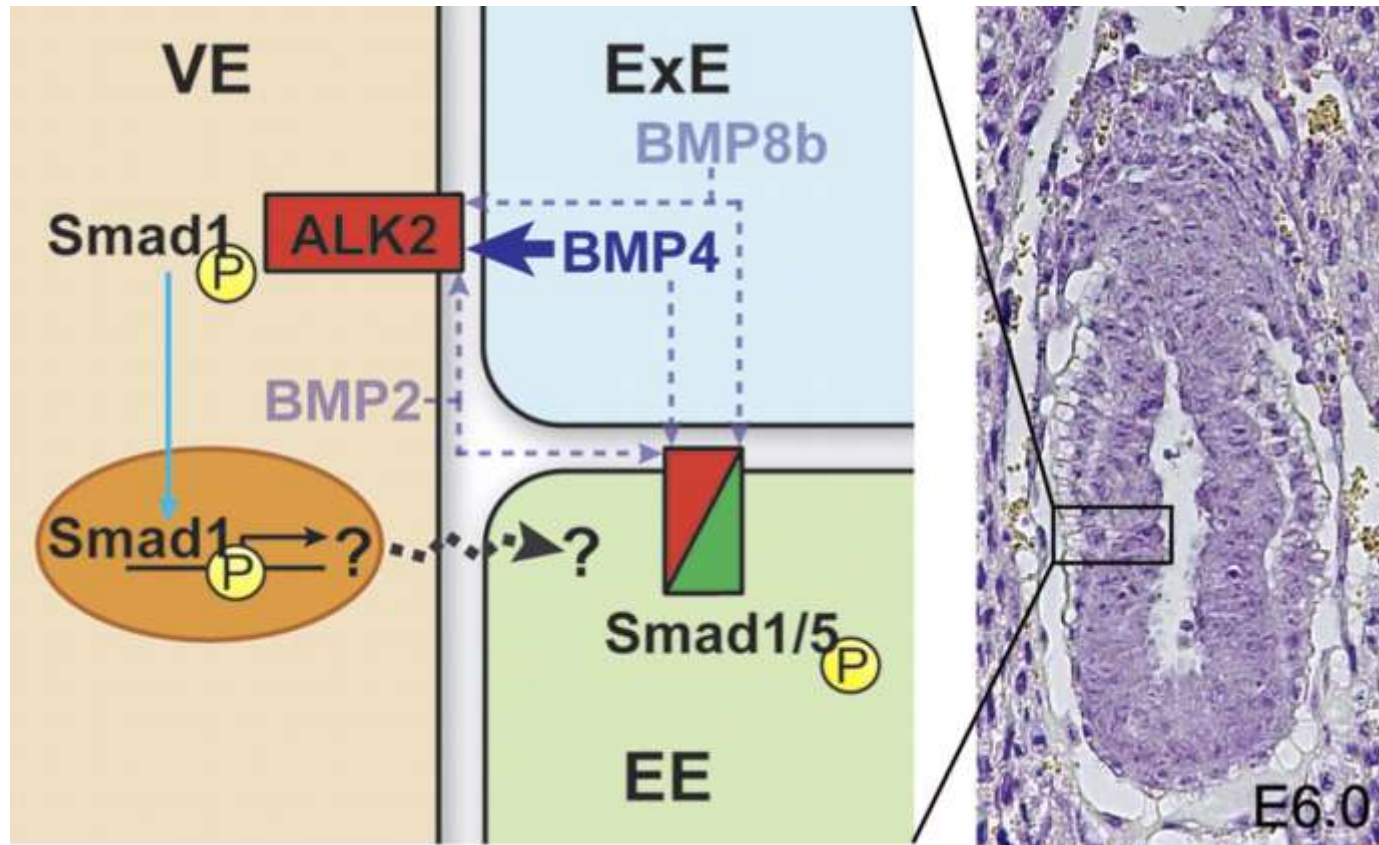
Vincent, S. D. et al. *Development* 2005;132:1315-1325

ALK2 is elengedhetetlen a PGC-k kialakulásához



activin receptor-like kinase-2

BMP szignáltranszdukciója és a PGC-k kialakulása



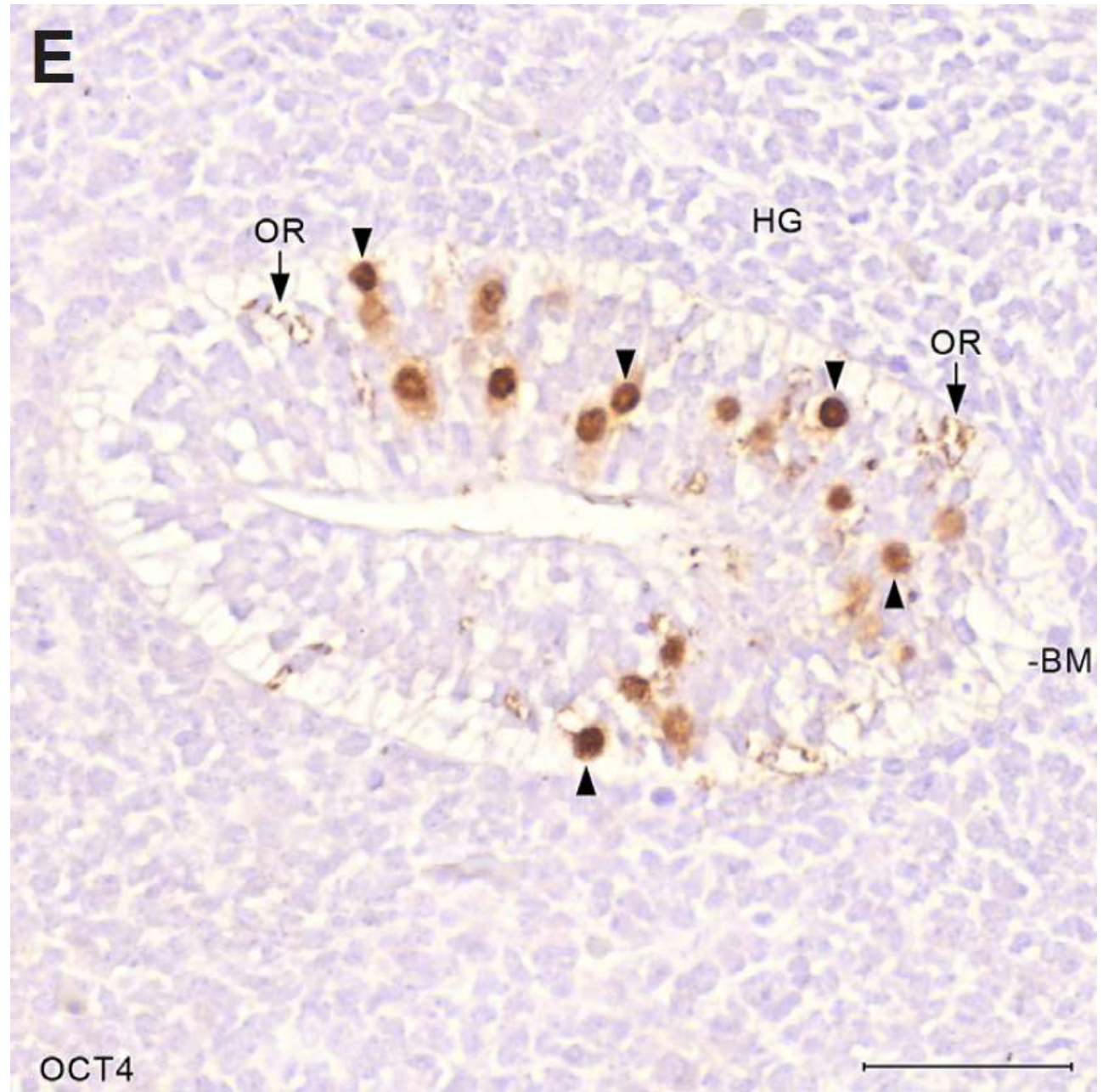
ExE → Extraembrionális ektoderma

VE → Viscerális endoderma

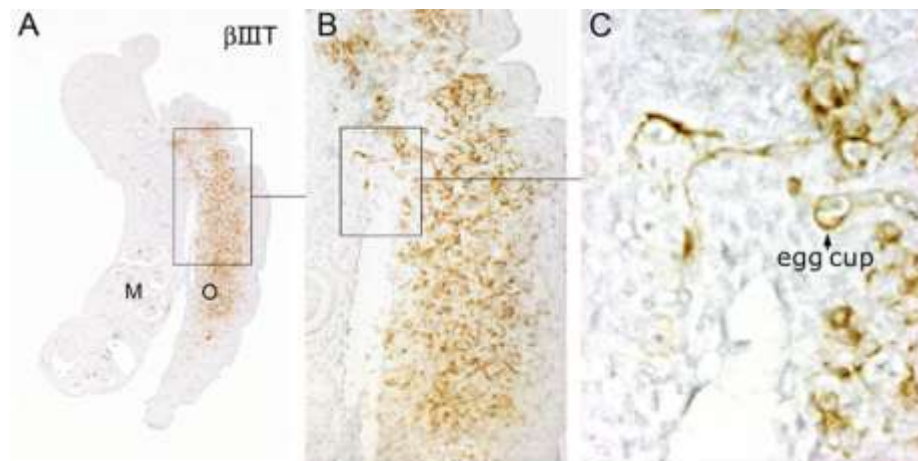
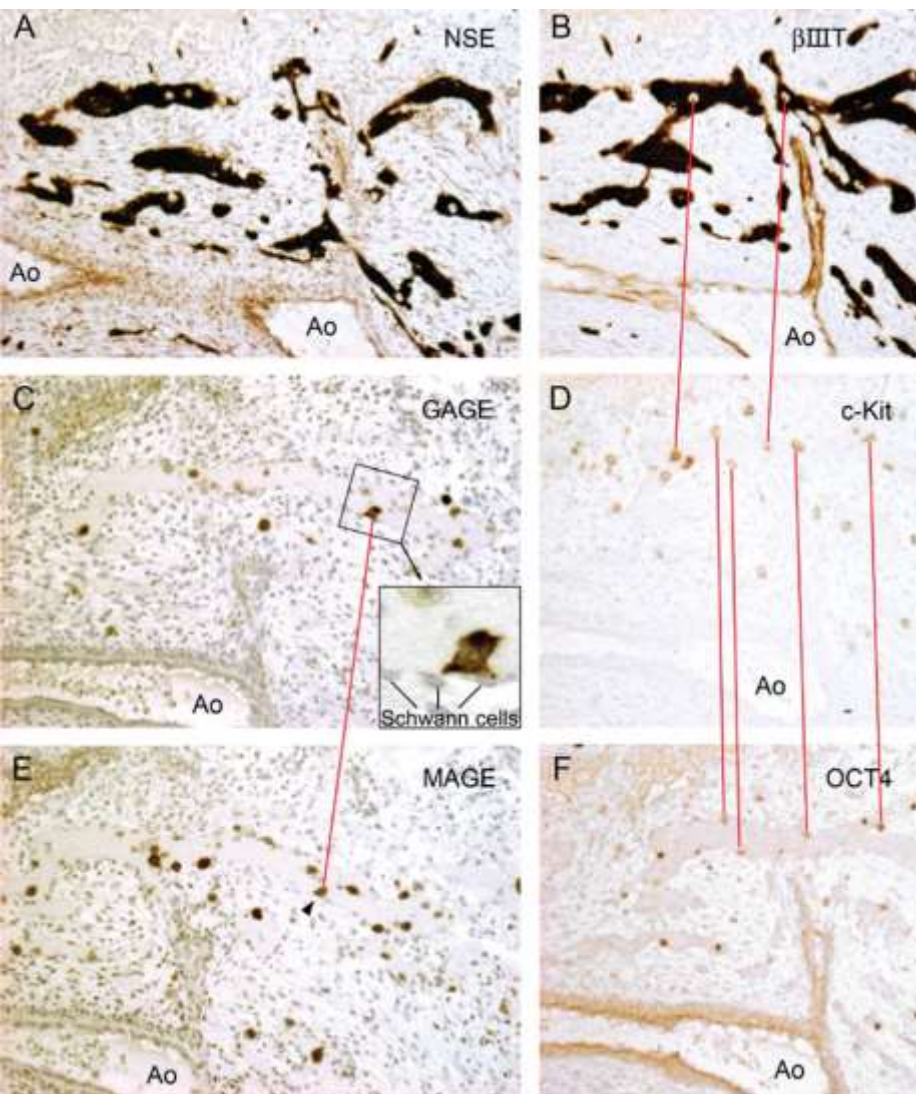
EE → Proximális epiblast

ALK2 → BMP receptor type I

**PGC-k az utóbél
hámsejtjei
között
(Oct4-
immunhisztoké-
mia)**



A primordialis ivarsejtek migrációja a gonadokba vegetatív idegfonatok mentén



- Újabb kutatások felvetik, hogy a PGC-k az autonóm idegfonatok mentén vándorolnak a mesenterium dorsale-ban
- Az őssejtek irányításában valószínűleg Schwann-sejtek által termelt növekedési és túlélési faktorok játszanak kulcsszerepet

PGC migráció zavarjai

Sacrococcygealis (A) és oropharyngealis (B) teratómák újszülöttben

A vándorló PGC-k rossz helyen landolnak, de nem pusztultak el →

Teratóma: csodarece; szövettani összevisszaságban tartalmaz egymás mellett pl. idegszövetet, kontraháló szívizomszövetet, porcot, stb.

A teratómából kivont pluripotens őssejtből (ESCs) egészséges egér klónozható kísérletileg

Table 2. Anatomical locations of extragonadal germ cell tumors (EGGCTs) [11]

Common

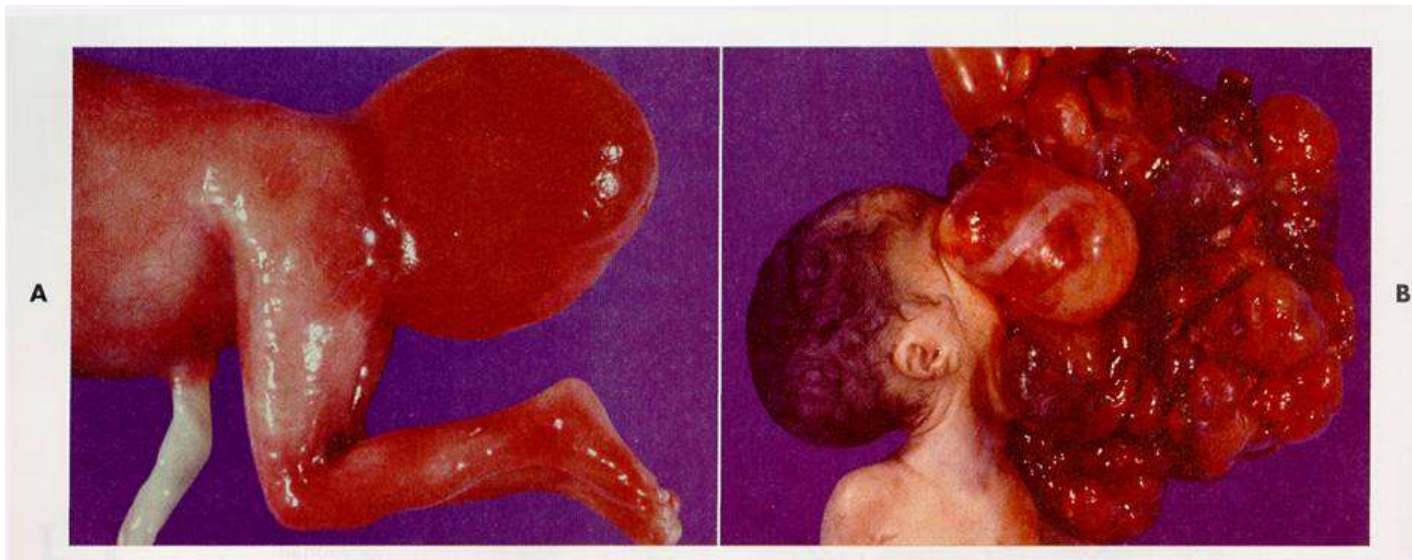
- Mediastinum
- Pineal and suprasellar regions
- Sacrococcyx (infants and young children only)

Controversial

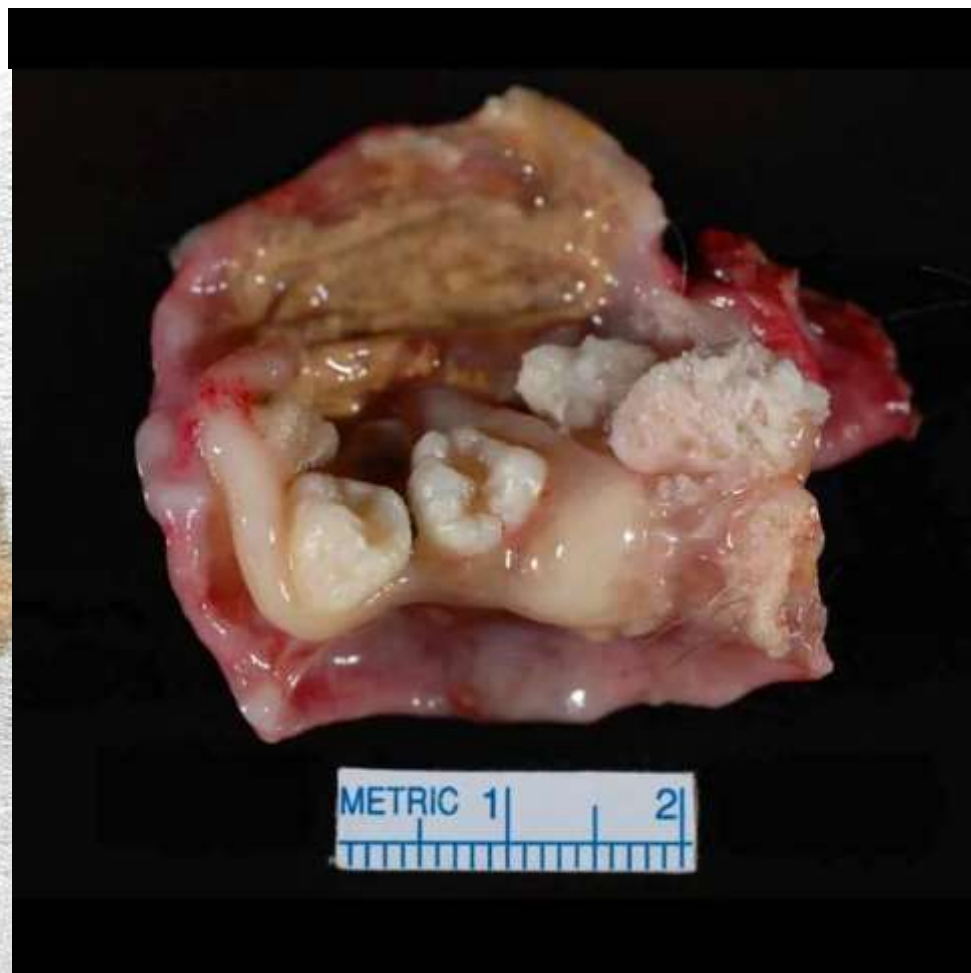
- Retroperitoneum (metastatic versus true EGGCT?)

Very rare

- Vagina
 - Prostate
 - Liver and gastrointestinal tract
 - Orbita
-



Dermoid cysta



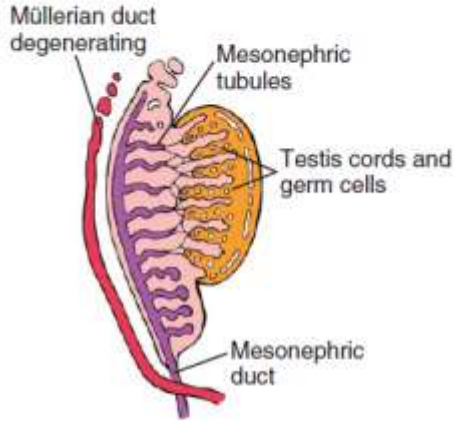
Összefoglalás

A 5. héten a szikhólyag falában várakozó **ősvarsejtek** elindulnak a mesenterium dorsale mentén a dorsalis testfal felé és megtelepednek a mesonephrostól mediálisan elhelyezkedő ivartelepben (**plica genitalis**) a 10. mellkasi szelvény szintjében. Az itt lévő coelomahámból alakulnak ki a fejlődésüket tovább segítő szomatikus sejtek.

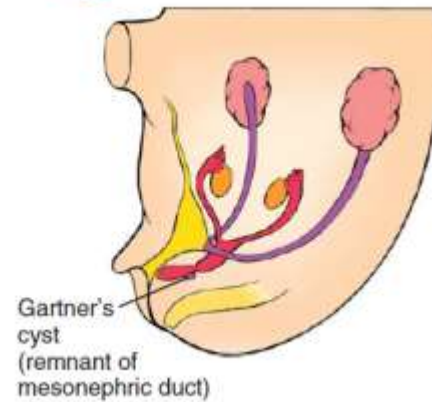
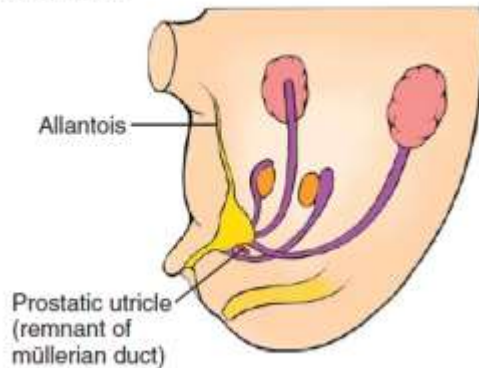
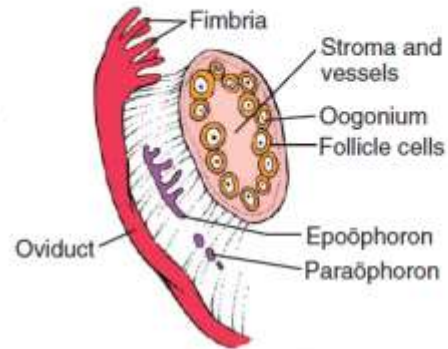
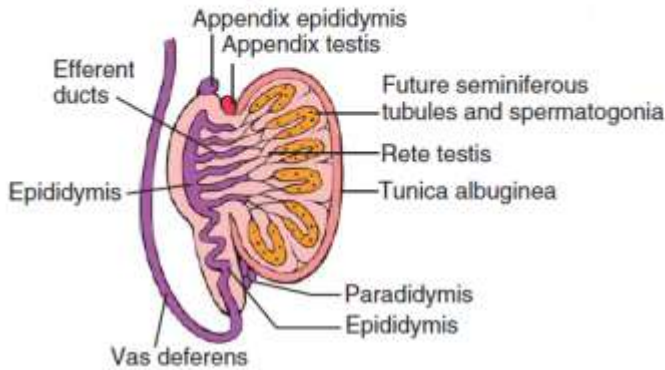
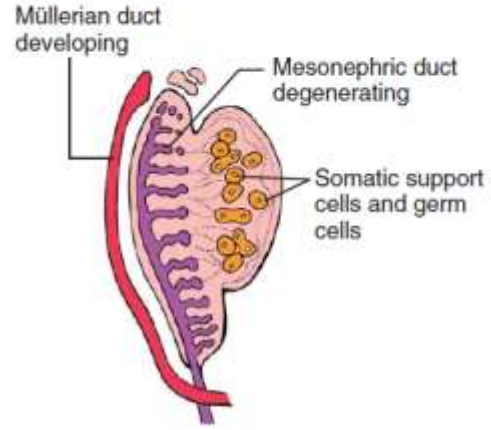
A szomatikus sejtek **Sertoli illetve follikuláris (granulosa) sejtekké** alakulnak.

Ugyanezen idő alatt két új cső is kialakul a hátfó testfalban: a **ductus mesonephricus** és tőle lateralisán a **ductus paramesonephricus (Müller)**.

Male



Female



II. Fenotípus kialakulása

Gonadális nem

A gonádok az intermedier mezoderma származékai.

A gonádok kezdeménye (Anlage, primordium) az embrió háti részén, az ősvesétől mediálisan található. A fejlődés 5. hetében a testüreg fala, a cölómahám megvastagodik (ivarléc, plica genitalis).

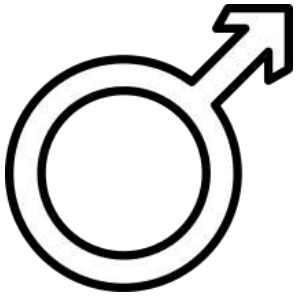
Ez a jelenség ugyanabban az időben, mind a két nemből egyformán zajlik le! Indifferens gonád állapot: nem lehet a szövettan/makroszkópia alapján a nemet megállapítani.

1. A férfi gonád kialakulása az Y kromoszóma meglétéhez kötött (Sry gén az Y kromoszóma rövid karján). A differenciálódó testis által termelt testoszon határozza meg a hím fenotípus kialakulását.
2. A női gonád fejlődésének megindulása legalább egy X kromoszóma jelenlétéhez és az Y kromoszóma hiányához kötött, az ovárium teljes kifejlődéséhez mind a 2 X kromoszóma szükséges. → Turner szindróma (X0) → csíkgonád
3. A gonadális nem fejlődésének indifferens szakasza független a nemi hormonok hatásától (indifferens fejlődési szakasz).

Primer szex differenciáció

- még a szex hormonok hatásától független
- Ez alatt alakulnak ki a szex hormont termelő sejtek
- Az Y kromoszóma által kódolt szignálok irányítják a testis kialakulását

SRY régió

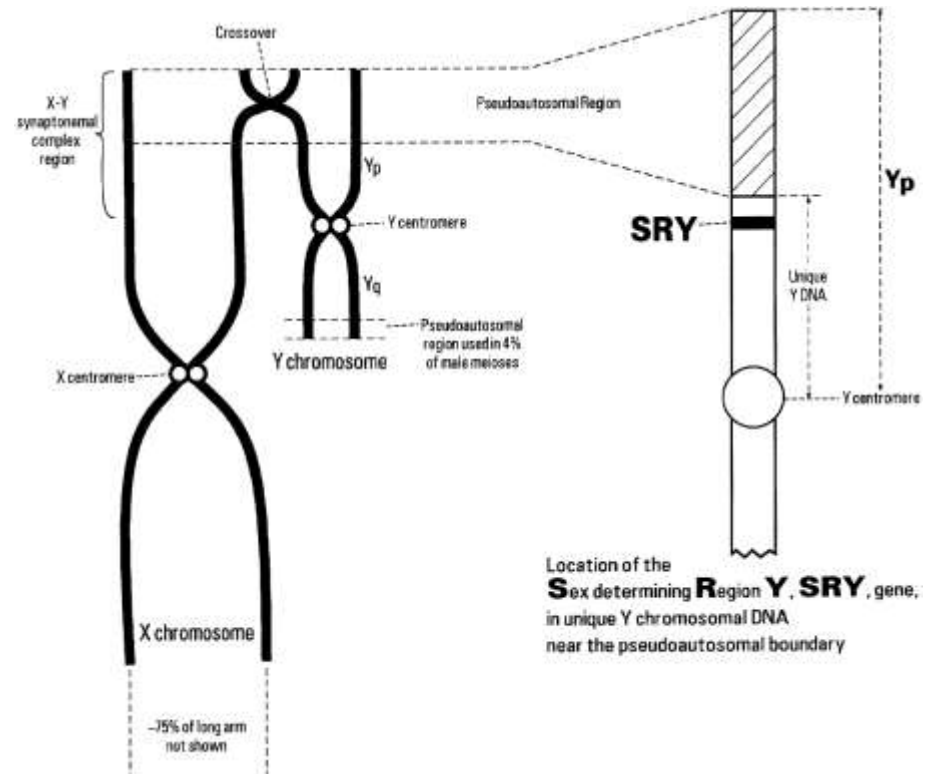


Molekuláris háttér

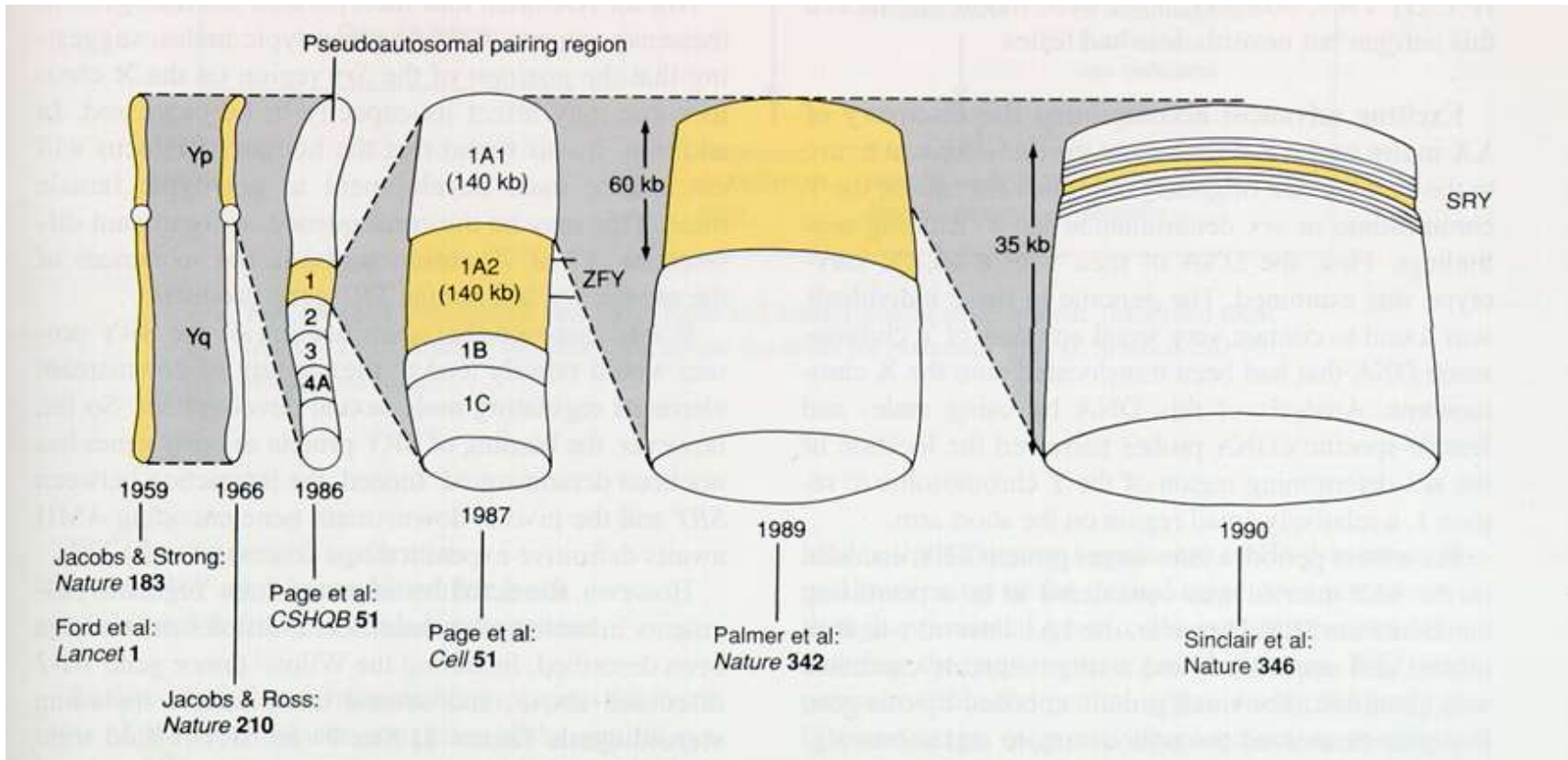
Az Y rövid karja szükséges a here fejlődésének elindításához.

Az itt elhelyezkedő Sry gén egy 223-aminosavas proteint kódol.

A géntermék feltétlen szükséges a férfiakban a gonád kialakításához a kezdeti stádiumban, nőben nem.



- Az Y kromoszóma Sry génje TDF (testis determining factor, vagy SRY protein) termelése felelős a here kialakulásáért
- Az azonosításhoz XY genotipusú nőket vizsgáltak: az Y kromoszóma mely részének elvesztése jár a női fenotípus kialakulásával?



Testis Determining Factor hatásmechanizmusa

-A támasztó sejtvonala (későbbi Sertoli és Leydig sejtek) a TDF hatás elsődleges helye!

- Testis Determining Factor AZ IVARSEJTEKRE NEM HAT

-HÍM IVARSEJTEK HIÁNYÁBAN IS KIFEJLŐDIK A HERE

- a **TDF (SRY)** legfontosabb célpontja a **Dax1 gén**, X-kromoszómához kötött gén

- testisben a gonád differenciálódás előrehaladtával a Dax1 down-regulálódik

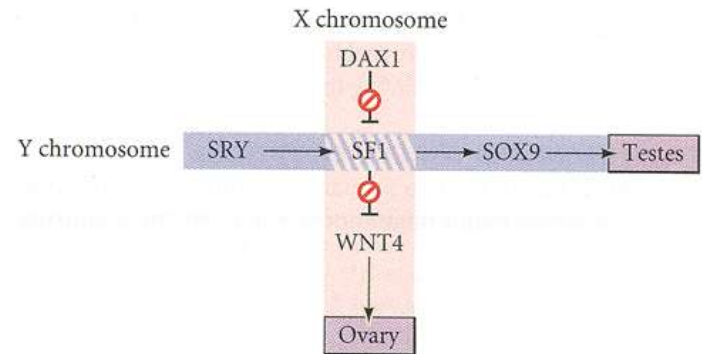
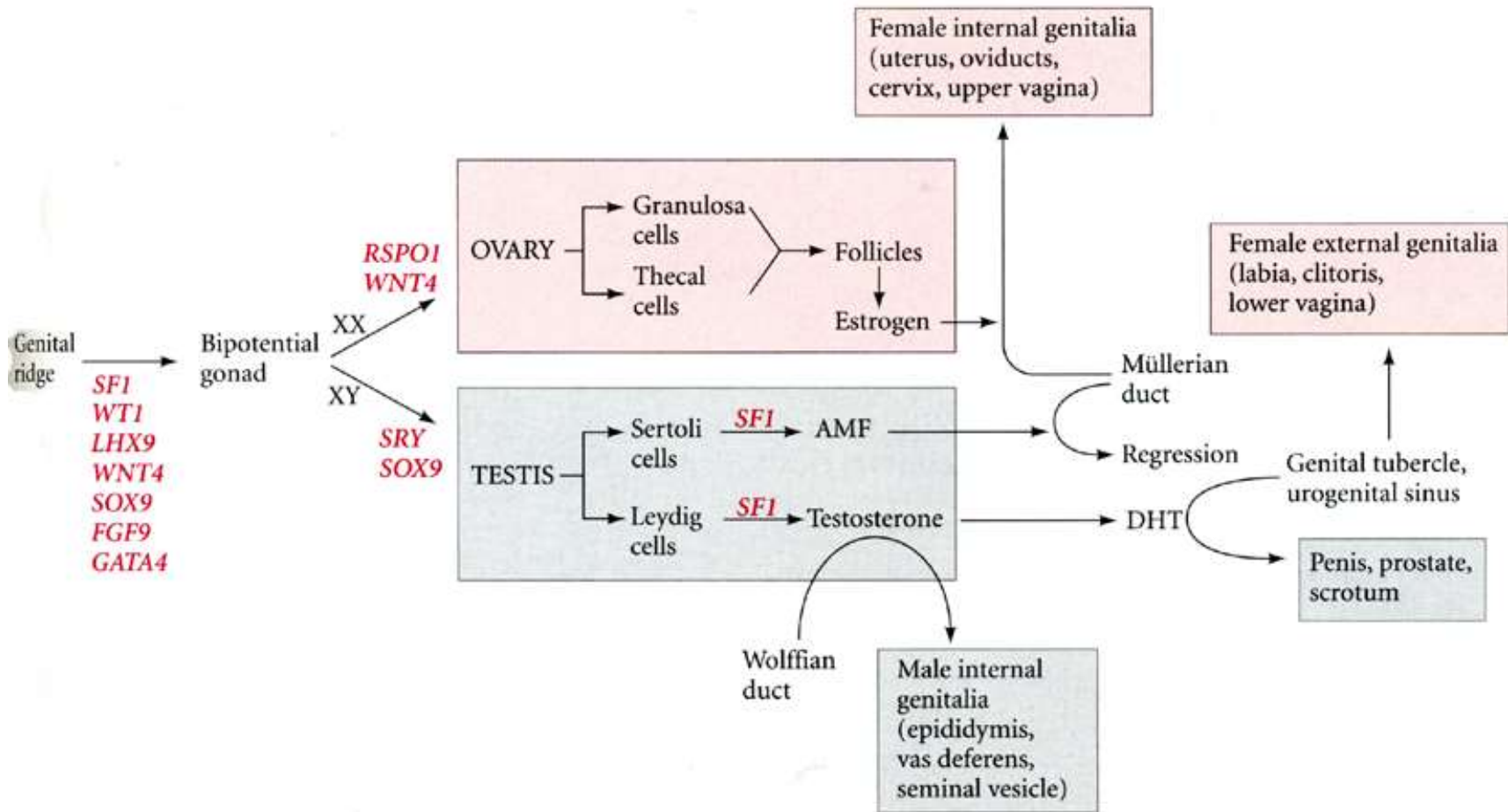
-az ovariumban anti-testis-génként viselkedik

- DE az ovariumban a Dax1 gén aktív marad

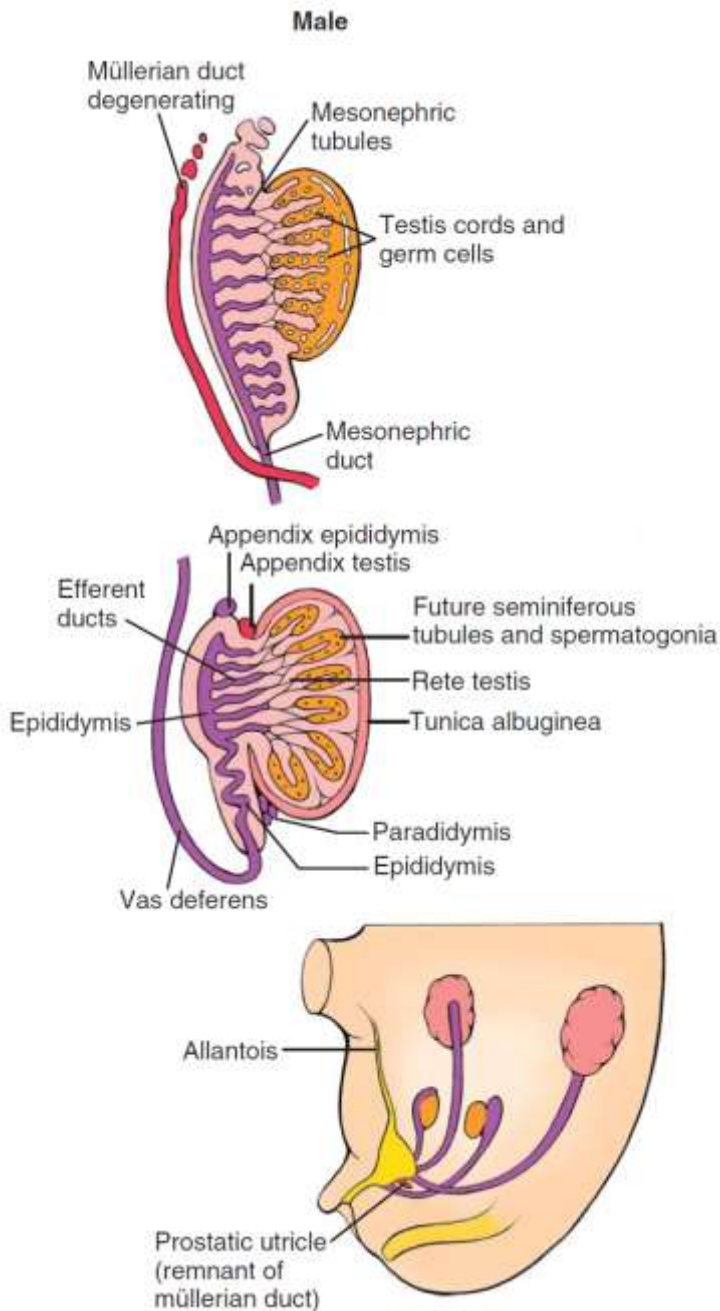
DAX1 (dosage-sensitive sex reversal, adrenal hypoplasia critical region, on chromosome X, gene 1)

Autoszomális gének a szex determinációban: SOX-9

- A SOX9 transzkripciós faktor is csak Sertoli sejtben (élethossziglan) expresszálódik → expressziója szinte azonnal követi az SRY-ét.
- Szexdeterminációs kaszkád: SRY expresszió indukálja a SOX9 expresszióját. Ez utóbbi egy újabb gént kapcsol be → SF-1-et.
- Az SF-1 (steroidogenetic factor-1) a szteroidszintézis kulcsenzimjeinek átíródását serkentő faktor. Ugyanakkor kötődik az AMH (Anti-müller) hormon promoteréhez is.



Szex determináció, korai lépések



In genetic males, the Y-linked testis-determining gene (*SRY*) is expressed in the somatic support cells, resulting in the production of SRY protein. Genetic females lack this gene and do not produce SRY protein.

SRY Protein

In response to SRY protein, the somatic support cells of the gonad differentiate into Sertoli cells and secrete anti-müllerian hormone (AMH).

AMH

Signals arising from Sertoli cells recruit mesenchymal cells into the gonadal ridge that differentiate into Leydig cells and secrete testosterone.

AMH induces degeneration of the müllerian ducts.

Testosterone

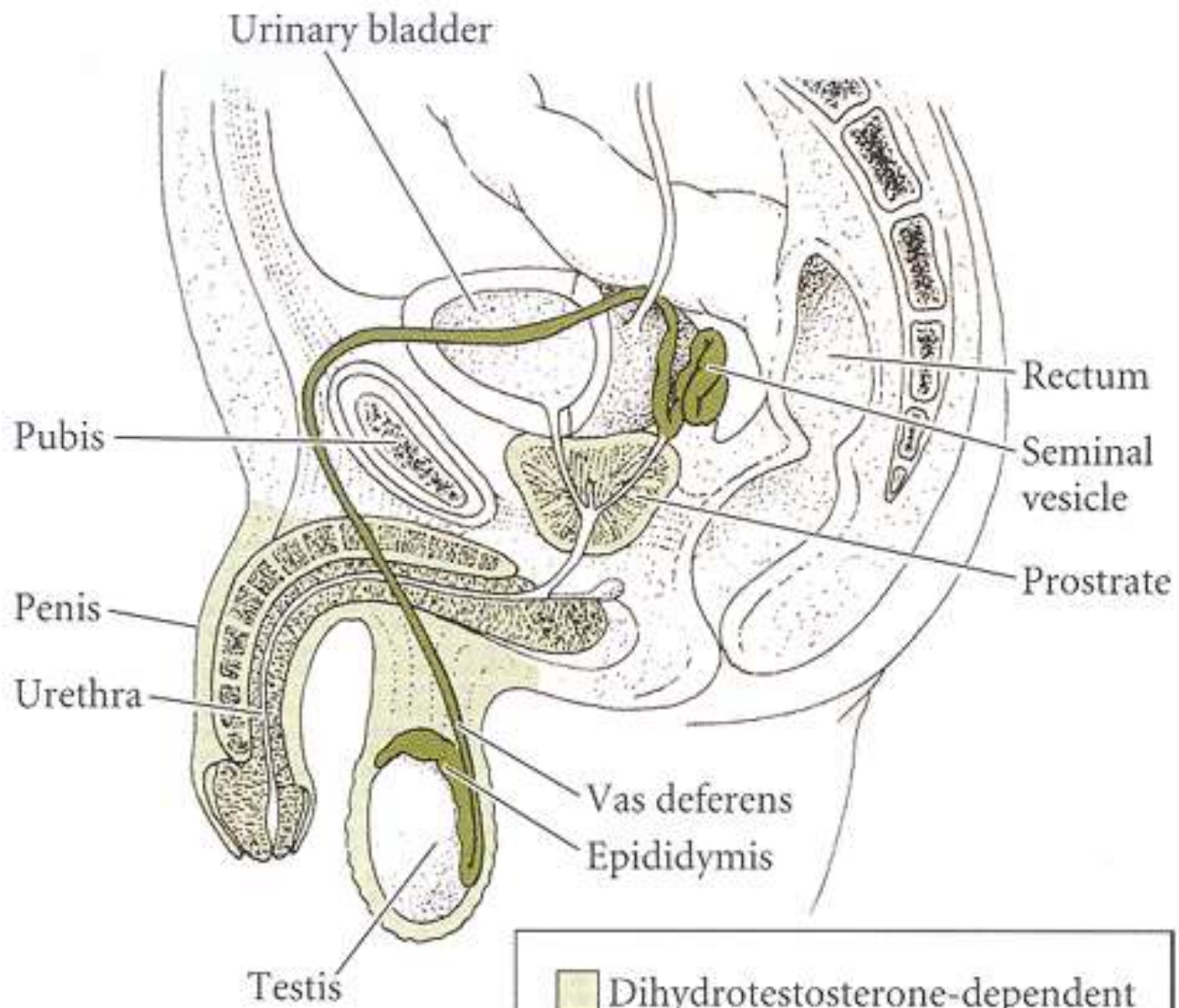
Dihydrotestosterone

During fetal life, testosterone induces differentiation of the epididymis, vas deferens, and seminal vesicles from the mesonephric duct and male differentiation of the brain.

During fetal life, conversion of testosterone to dihydrotestosterone within the relevant target tissues causes the indifferent external genitalia to differentiate into a penis and scrotum and also induces the development or differentiation of some other male structures, such as the prostate.

The testosterone surge at puberty causes the seminiferous tubules to canalize, mature, and commence spermatogenesis, and induces the other pubertal changes in primary and secondary sexual characteristics.

Figure 15-18. Summary of the differentiation cascade of the male genital system development.



A gonádok szomatikus sejtjeinek eredete:

1) Támasztó sejtvonala

- a celomahám eredetű primitive sex cord-okból fejlődik:
Sertoli sejtek a herében – anti-Müller hormont termelnek - Müller-cső regressziója
- a celomahám eredetű szekunder sex cord-okból
folliculus hámsejtek az ováriumban

2) Szteroid szekretáló sejtvonala:

- mesenchymából: Leydig sejtek a herében (8. héttől: tesztoszteron, androstendion)
A tesztoszteron termelés csúcsa a 17-18 héten: a hím genitális csatornák és masculin külső genitáliák differenciálódása
- A 18. hét után a Leydig sejtek némi regresszión esnek át
- Az ovariumban a theca sejtek csak pubertáskor jelennek meg

3) Kötőszöveti sejtvonala

- a gonádok strukturális váza

XY embrió

- a primitive sex cord-ok perzisztálnak a medullában – sejtoszlopok – testis kötegek
- a sejtötegekben pre-Sertoli sejtek differenciálódnak → az első hím specifikus sejtípus
- a primordiális hím ivarsejtek a pre-Sertoli sejtekkel érintkezve még nem kezdik meg a meiotikus osztódást
- pubertásig lassan osztódnak mitózissal
- testis kötegekből tubuli seminiferi, rete testis, tubuli recti fejlődnek
- mesonephros tubulusaiból: ductuli efferentes testis, ductus epididymis

XX embrió

- a primitive sex cord-ok a medullában degenerálódnak (rete ovarii)
- a celomahámból újabb sejtoszlopok nőnek a mesenchymába: szekunder sex cord
- a corticális részből fejlődik a definitív ovárium
- az oogoniumok mitózissal osztódnak a fetalis élet során
- az oogoniumok egy részében elkezdődik az első meiotikus osztódás a 12-16. héten → OOCYTA – follicularis sejtek veszik körbe: primordiális folliculus
- az oocyták meiosis a profázis diploten szakaszában leáll
- a mesenchymába burjánzó coeloma hám sejtekből prefolliculáris sejtek differenciálódnak

OOGONIUMOK MITÓTIKUS OSZTÓDÁSA A SZÜLETÉS UTÁN MEGSZŰNIK

Másodlagos szex determináció

Férfiak:

- Sertoli sejtek
- anti-Müller hormon (TGFbeta család)

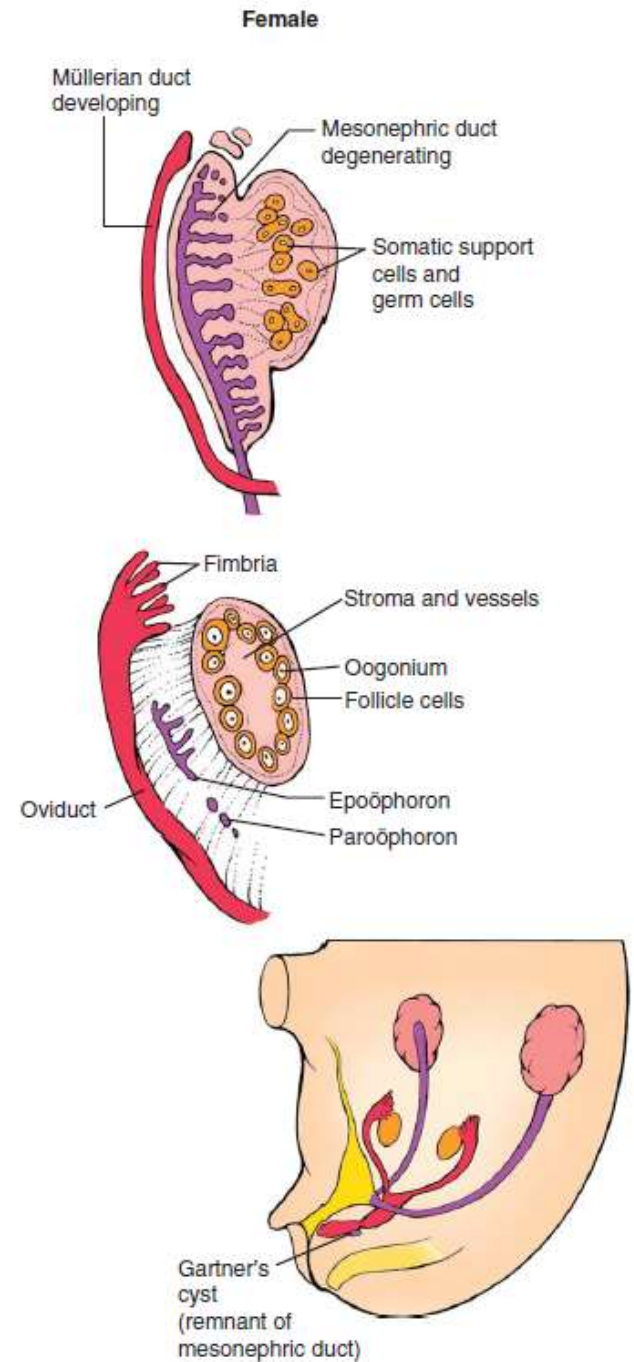
Fontos szerep a másodlagos szex determinációban

Nők:

Wnt4 antagonizálja valószínűleg a tesztoszteron hatást , a TDF-t

Wnt4 leregulálódik a herében, de az ováriumban nem

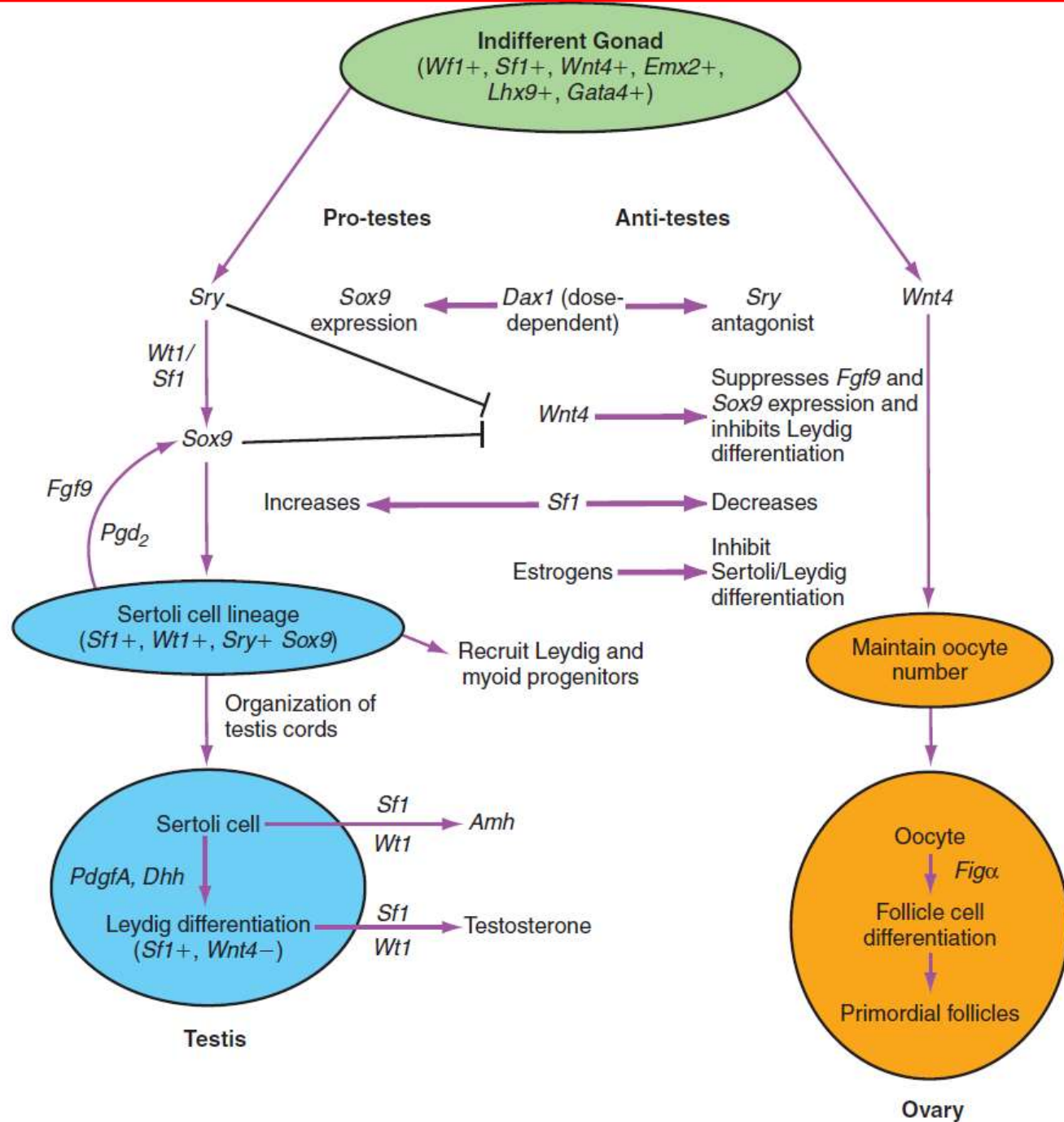
Y kromoszóma hiányában női fejlődés

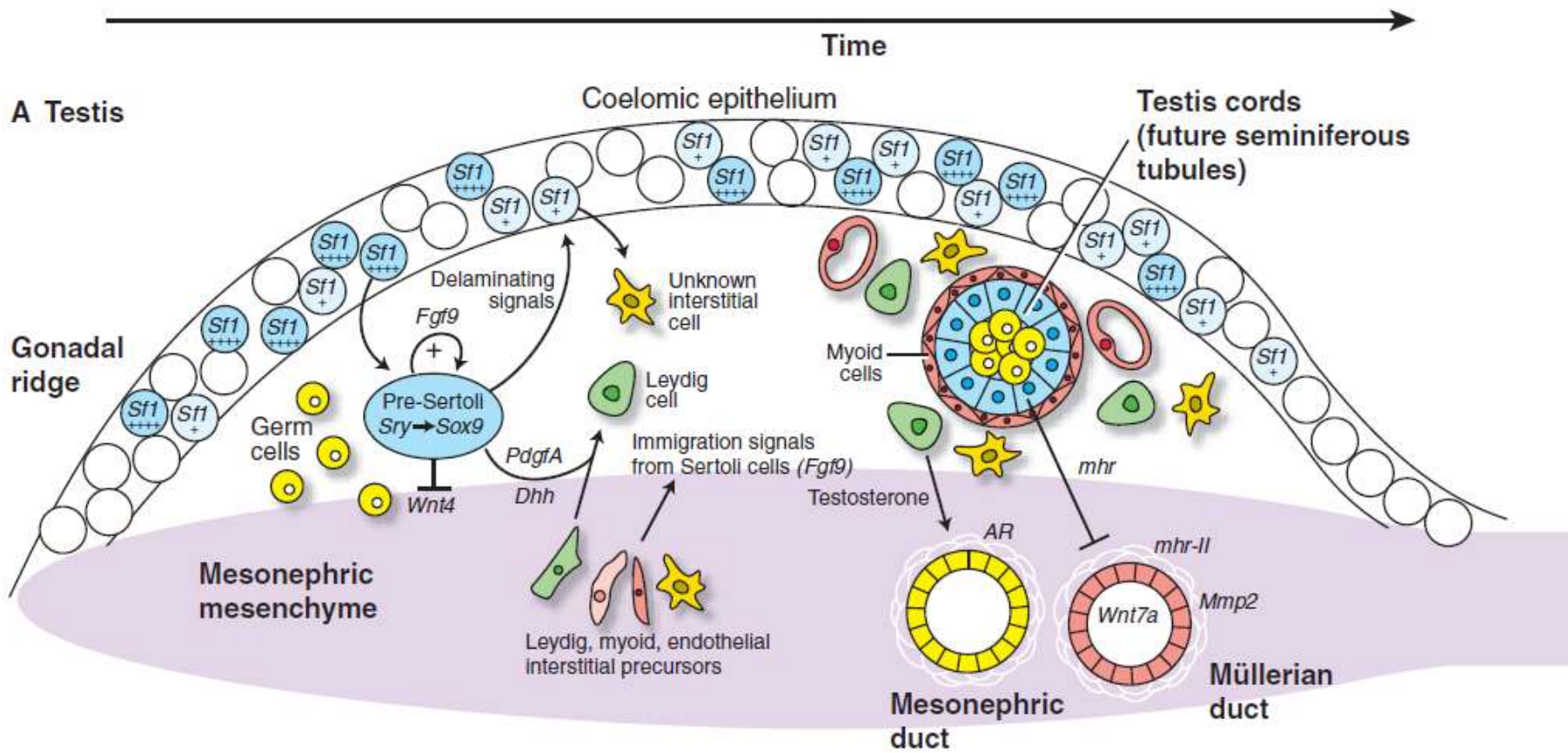


A petefészek indukciója:

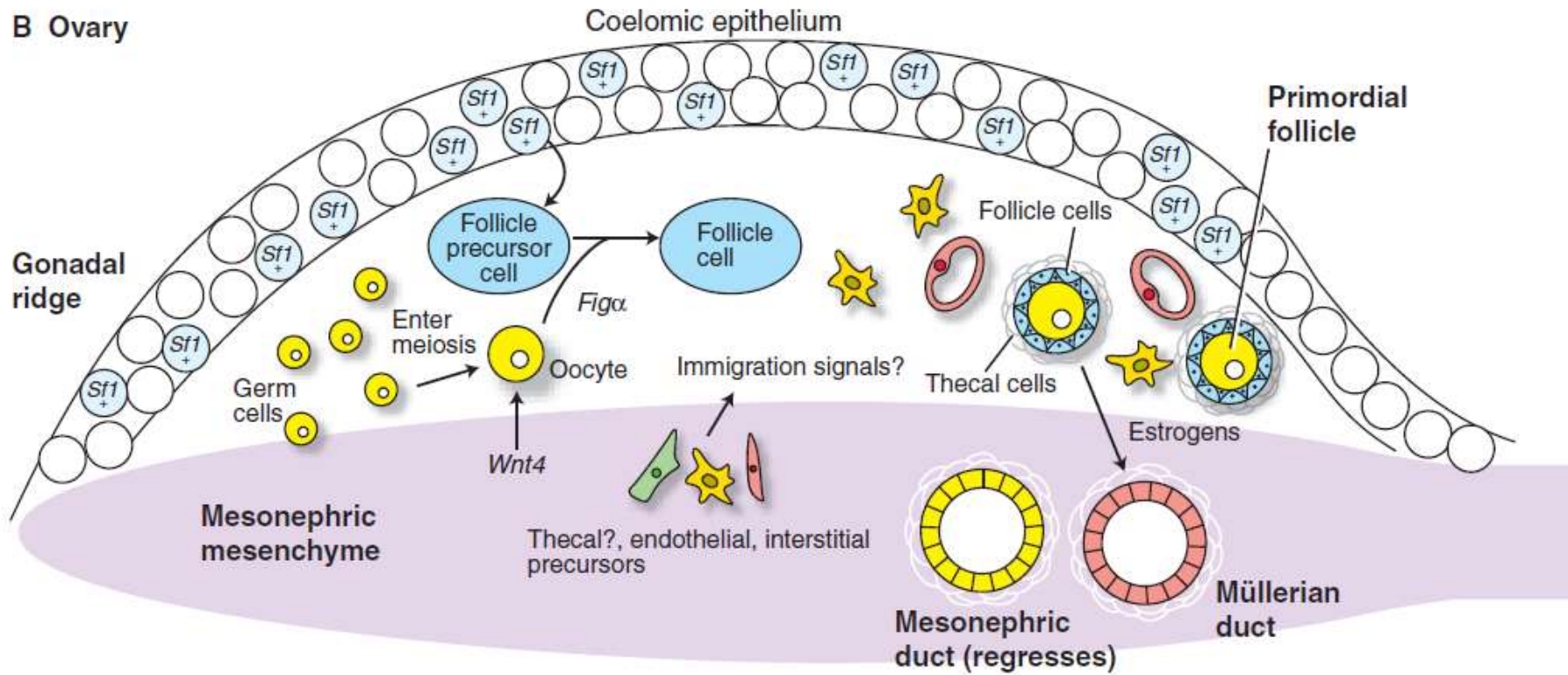
DAX-1

- Expresszió:
 - Mellékvesekéreg sejtjei (szteroidtermelés)
 - indifferens gonád: az SRY expresszió előtt, mindkét nemben
 - ha megindul a here fejlődése: DAX-1↓.
 - petefészek: fennmarad az expresszió.
- DAX-1: (árva, orphan) sejtmagreceptor. Elnyomja egy másik (hasonló) magreceptor hatását, az SF-1-ét (direkt kötődik ahhoz).





B Ovary



Az ivarszervek telepeinek származékai nőben és férfiben

Table 15-2 Adult Derivatives and Vestigial Remnants of Embryonic Male and Female Reproductive Structures

Presumptive Anlagen	Male Structure	Female Structure
Indifferent gonad	Testis	Ovary
Primordial germ cell	Spermatogonia	Oocytes
Somatic support cell	Sertoli cells	Follicle cells
Stromal cells	Leydig cells	Thecal cells
Gubernaculum	Gubernaculum testis	Round ligament of the ovary Round ligament of uterus
Mesonephric tubules	Efferent ducts of testis Paradidymis	Epoöphoron Paroöphoron
Mesonephric duct	Appendix of epididymis Epididymis Vas deferens Seminal vesicle Ejaculatory duct	Appendix vesiculosa Duct of epoöphoron Gartner's duct
Müllerian duct	Appendix of testis	Fallopian tubes Uterus
Urogenital sinus	Prostatic and membranous urethra Prostatic utricle Prostatic gland Bulbourethral glands	Membranous urethra Vagina Urethral/paraurethral glands Greater vestibular glands
Sinus tubercle	Seminal colliculus	Hymen
Genital tubercle	Glans penis Corpus cavernosa of penis Corpus spongiosum of penis	Glans clitoris Corpus cavernosa of clitoris Bulbospongiosum of vestibule
Urogenital folds and urethral plate	Penile urethra/ventral penis	Labia minora
Labioscrotal folds	Scrotum	Labia majora