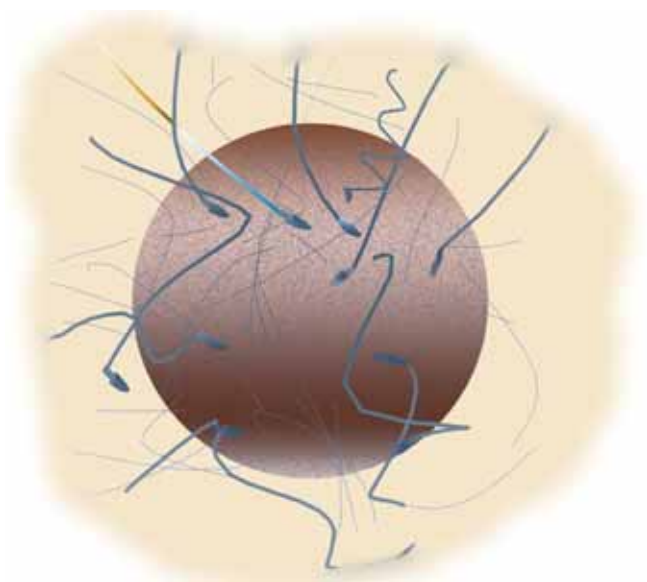


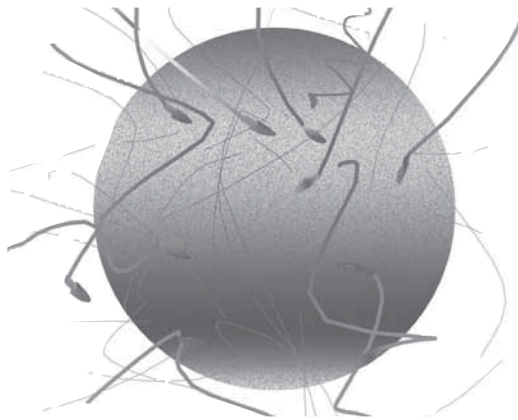
FISIOLOGIA DE LA REPRODUCCIÓ I DESENVOLUPAMENT HUMÀ

Jovita Mezquita Pla



FISIOLOGIA DE LA REPRODUCCIÓ I DESENVOLUPAMENT HUMÀ

Jovita Mezquita Pla



Capítol 1

Reproducció sexual. Avantatges i limitacions **15**

1. L'espècie humana	17
2. La reproducció sexual és un esdeveniment relativament recent en la història evolutiva	17
3. Haploides, diploides i poliploides	18
4. Variabilitat genètica en l'espècie humana. Evolució i complexitat	19
5. L'organisme humà com a ecosistema	21
6. Avantatges i limitacions de la reproducció sexual	22
7. Evolució, reproducció i longevitat	23

Capítol 2

Diferenciació sexual **27**

1. Determinació i diferenciació sexual	27
2. De la bipotencialitat a la formació d'una gònada masculina o femenina	31
3. Cèl·lules germinals. Especificació, migració, colonització i diferenciació	35
4. Diferenciació sexual. Testosterona, DHT, MIF	37
5. Descens testicular	38
6. Alteracions de la diferenciació sexual	39

Capítol 3

Creixement **43**

1. Factors implicats en el creixement	43
2. Creixement embrionari i fetal	44
3. Creixement i remodelació òssia	45
4. Hormones implicades en el creixement	47
5. Implicacions del calci i el fosfat en el creixement	52

Capítol 4

Hormones sexuals **61**

1. Producció, circulació, metabolisme i funcions dels andrògens	61
2. Producció, circulació, metabolisme i funcions dels estrògens i la progesterona	65
3. El còrtex suprarenal	70
4. Receptors d'hormones sexuals i mecanisme d'acció	70
5. Funcions dels andrògens en el sexe femení i dels estrògens en el sexe masculí	73
6. Hormones sexuals i patró de comportament	74

Capítol 5

Pubertat **77**

1. La Pubertat	78
2. Adrenarquia i activació de les gònades	79

3. L'eix hipotàlem-hipòfisi	80
4. Factors que posen en marxa la pubertat	81
5. Canvis en la composició de l'organisme	86
6. Pubertat i canvis de comportament	87
7. Desenvolupament de les gònades a la pubertat	87
8. La pubertat en el sexe femení i el masculí	89
9. Pubertat precoç i retardada	91

Capítol 6

Funció testicular 93

1. Organització i ubicació del testicle	93
2. Funció testicular. Espermatogènesi i espermiogènesi	95
3. Control hormonal de l'espermatogènesi	105
4. Regulació testicular de la producció de gonadotrofines	106
5. Maduració i desplaçament dels espermatozoides	106

Capítol 7

Funció ovàrica 113

1. Ovari i funció ovàrica	113
2. Creixement fol·licular	114
3. Cicle ovàric	118

4. Comunicació entre les cèl·lules de l'ovari	123
5. Expressió gènica en l'oòcit	125
6. Regulació hormonal del cicle ovàric	126
7. Regulació ovàrica de l'eix hipotàlem-hipòfisi	127
8. Nivells circulants d'hormones durant el cicle ovàric	127
9. Úter i cicle uterí	128

Capítol 8

Fisiologia de la resposta sexual 131

1. Fases de la resposta sexual	131
2. Mecanismes neurals de la resposta sexual	133
3. Mecanismes moleculars implicats en el comportament sexual	135
4. Alteracions de la resposta sexual. Impotència	136
5. Contracepció	137
6. Infertilitat	139

Capítol 9

Fecundació i implantació 143

1. Activació i capacitació dels espermatozoides	143
2. Fecundació i formació del zigot	145
3. Progressió del zigot i formació del blastocist	147

4. Canvis a l'úter. Adhesió, invasió i implantació	148
5. Implicació de la decídua, les cèl·lules dendrítiques i les cèl·lules NK, en la implantació i la placentació	151

Capítol 10

La placenta **153**

1. Organització funcional de la placenta	153
2. Pseudovasculogènesi i flux sanguini placentari	155
3. Funcions de transport de la placenta	158
4. Funcions paracrines i endocrines de la placenta	160

Capítol 11

Desenvolupament embrionari i fetal **167**

1. Aspectes generals del desenvolupament	167
2. Creixement fetal	171
3. Mecanismes moleculars implicats en el desenvolupament	174
4. Importància del VEGF i de l'endoteli en el desenvolupament	180
5. Desenvolupament del fetge	183
6. Desenvolupament del sistema cardiovascular. Circulació fetal	184
7. Desenvolupament pulmonar	186
8. El líquid amniòtic	188

Capítol 12

Fisiologia de l'embaràs. Canvis materns **191**

1. Canvis endocrins	191
2. Adaptacions del sistema respiratori	194
3. Adaptacions cardiovasculars	194
4. Requeriments calòrics i nutritius	195
5. Canvis metabòlics. Fetge i pàncrees	196
6. Funció renal	197

Capítol 13

El part **199**

1. Inducció del part. Factors implicats	199
2. Progressió del part. Mecanismes neuroendocrins	205
3. Oxitocina i sistema GABA	205

Capítol 14

Adaptacions del Nounat **209**

1. Limitacions funcionals del nounat	209
2. Adaptacions pulmonars	212
3. Adaptacions cardiovasculars	213
4. Metabolisme i equilibri hidroelectrolític	215
5. Termoregulació	217
6. Sistema immunitari	218

Capítol 15

Glàndula mamària i lactació **221**

1. Desenvolupament de la glàndula mamària	221
2. Proliferació i diferenciació	224
3. Proliferació i càncer de mama	228
4. Lactogènesi. Prolactina i oxitocina	228
5. Lactació	231
6. Control neuroendocrí de la lactació	232
7. La llet	234
8. Període anovulatori	237
9. La glàndula mamària com a òrgan biotecnològic	237

Capítol 16

Pauses **239**

1. Menopausa	239
2. Andropausa	244
3. Adrenopausa	245
4. Somatopausa	245
5. Altres pauses	245

1. Disfuncions i malalties associades a l'envel·liment	250
2. Sensors i detectors de mort cel·lular i senescència replicativa	250
3. Vies de senyalització i mecanismes moleculars	255
4. Espècies ROS, via TOR i mitocondris	267
5. Restricció calòrica i exercici físic	269
6. Persones centenàries	272
7. La mort com la conseqüència final de l'envel·liment	273
8. Corbes de mortalitat i causes més freqüents de mort	273

Referències bibliogràfiques	278
-----------------------------	-----

Aquest llibre

s'ha escrit seguint el programa dels capítols de fisiologia de la reproducció i desenvolupament humà que imparteixo a la Facultat de Medicina de la Universitat de Barcelona. Amb aquest text he volgut abordar la fisiologia de la reproducció i el desenvolupament humans, donant-li una extensió raonable, ni tan concisa com es troba en la majoria de textos de fisiologia, ni tan detallada com en algunes obres que, malgrat que són de gran interès per a la consulta, esdevenen excessivament complexes per a l'estudiant de segon curs de llicenciatura.

He intentat familiaritzar l'estudiant amb el llenguatge molecular i les metodologies de la genètica molecular, eines imprescindibles per a la comprensió de la fisiologia i de la medicina molecular.

He inclòs conceptes que es consideren ben establerts i dades més recents, ja que l'allau d'informació i les noves metodologies obliguen a replantejar criteris i, alhora, a consensuar la nova informació.

Al final de cada capítol hi ha un apartat de tasques a les quals l'alumne ha d'anar responnent per autoavaluar els coneixements adquirits.

Es pretén estimular l'esperit crític i l'argumentació raonada, i eliminar tòpics, com ara que per a tot tenim una resposta o que existeixen dogmes establerts.

L'estudiant, a més de fer servir un text de referència, ha de buscar respostes a qüestions rellevants de fisiologia en articles publicats en els darrers mesos. Amb aquesta finalitat, el grup docent que formo amb els professors que imparteixen la fisiologia dels sistemes cardiocirculatori, respiratori i renal, plantegem un conjunt de preguntes sobre aspectes concrets de la fisiologia d'aquests sistemes. Aquest treball de recerca bibliogràfica ajuda l'estudiant a entrar en contacte amb l'estil científic i a adonar-se que el coneixement és quelcom en flux constant. Un cop els estudiants han trobat i argumentat les respostes, aquestes es discuteixen en presentacions, en forma de pòsters o en *powerpoint*.

Jovita Mezquita Pla

Llicenciada en Medicina a la Facultat de Medicina de la Universitat de Barcelona (1973)

i doctora en Medicina per la mateixa Universitat (1978).

Formació postdoctoral al Department of Medical Biochemistry, University of Calgary, Canadà (1981-1985) i a la University of North Carolina, Chapel Hill, EUA (1984).

Catedràtica de Fisiologia des del 2003.

Temes de recerca:

Caracterització dels gens de les histones, protamina, ubiquitina, GAPDH, angiopoetina 2 i receptors VEGFR1.

Expressió gènica a la línia germinal espermatogènica.

Angiogènesi i regressió vascular.

Càncer.

Docència:

"Genètica Molecular",

"Introducció a la Recerca: Treball Experimental al Laboratori" i

"Fisiologia de la Reproducció i Desenvolupament Humà".



Capítol 2

Diferenciació sexual

1. Determinació i diferenciació sexual	27
2. De la bipotencialitat a la formació d'una gònada masculina o femenina	31
3. Cèl·lules germinals. Especificació, migració, colonització i diferenciació	35
4. Diferenciació sexual. Testosterona, DHT, MIF	37
5. Descens testicular	38
6. Alteracions de la diferenciació sexual	39

Un aspecte fascinant del desenvolupament és el potencial que té l'embrió per esdevenir d'un sexe o de l'altre. S'anomena determinació sexual al procés de transformació de la gònada indiferenciada en testicles o ovaris. Depèn de l'activació d'un programa genètic arxivat als cromosomes, o, per dir-ho d'una altra manera, depèn del sexe cromosòmic.

S'anomena diferenciació sexual al procés de transformació d'estructures extragonadals comunes en estructures d'un o l'altre sexe. Aquesta decisió depèn, en gran part, dels andrògens, i pot ser, per tant, independent del sexe cromosòmic. La diferenciació sexual dona lloc al fenotip masculí o femení.

1. **Determinació i diferenciació sexual**

En els mamífers, el sexe genètic depèn de l'herència d'un cromosoma X o Y del gàmeta masculí, però en els estadis inicials del desenvolupament, les gònades i els genitals dels embrions masculins i femenins són indistingibles.

Als dos sexes, es formen inicialment les gònades indiferenciades bipotencials i les estructures comunes: el conducte de Wolff, el conducte de Müller i les estructures precursors dels genitals externs.

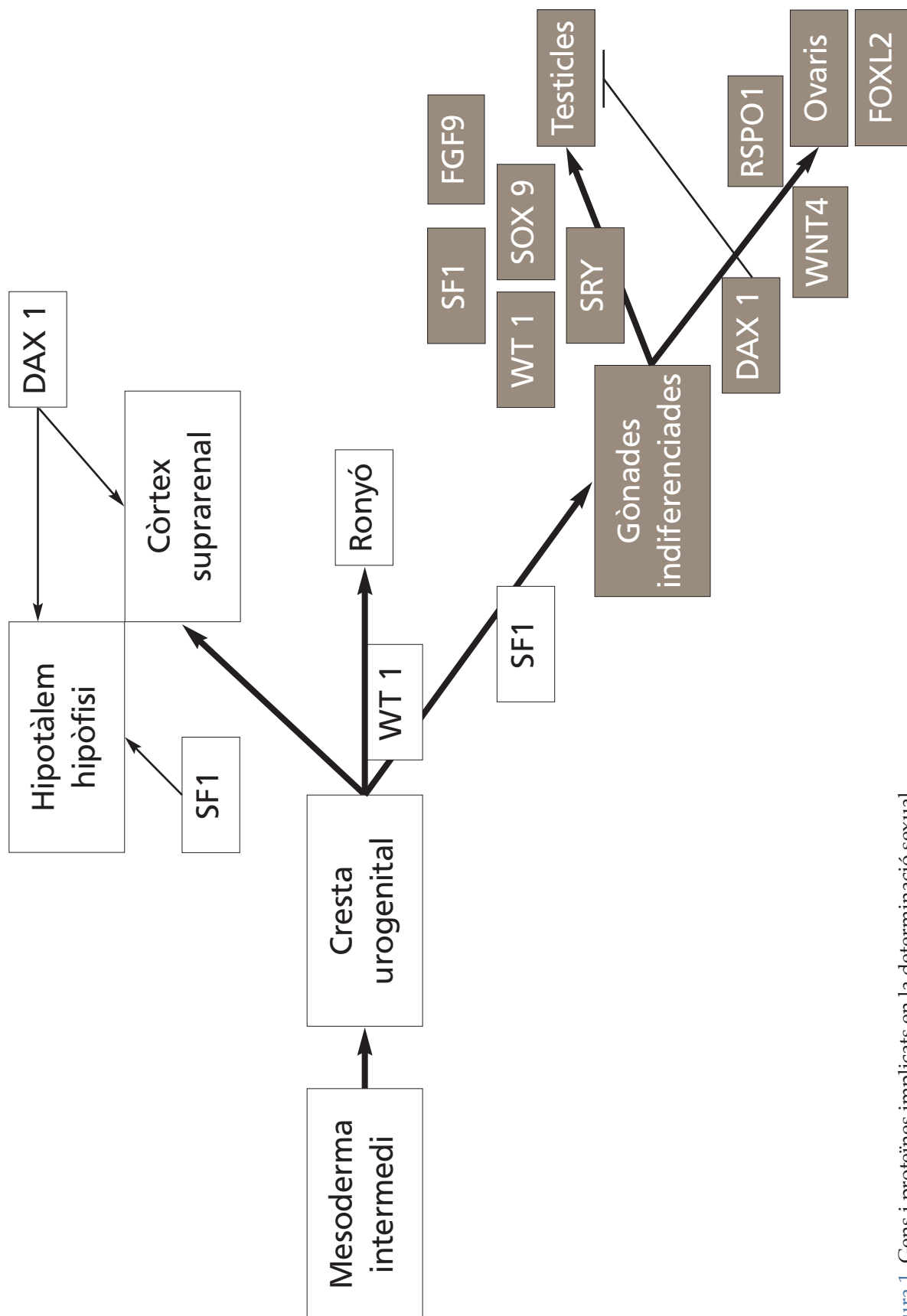


Figura 1. Gens i proteïnes implicats en la determinació sexual.

S'anomena determinació sexual al procés que dóna lloc a la formació dels testicles o dels ovaris a partir de les gònades indiferenciades.

Tot i que la determinació sexual és un procés de diferenciació, s'aplica el nom de diferenciació sexual a la transformació de les estructures extragonadals comunes en estructures de l'un o de l'altre sexe.

El sexe cromosòmic és el responsable de la determinació sexual, però la diferenciació sexual depèn de factors com la testosterona, la dihidrotestosterona (DHT) i el factor AMH. En condicions fisiològiques, el testicle, a través de la producció de testosterona i AMH és responsable de la diferenciació sexual masculina; però els factors desencadenants de la diferenciació sexual poden estar presents i actuar o no amb independència del sexe gonadal. Poden variar tant els nivells d'aquests factors com la capacitat de resposta de les cèl·lules als factors, i la diferenciació sexual i per tant el fenotip poden no correspondre's amb el sexe cromosòmic. Abans que tingui lloc la determinació sexual, les cèl·lules germinals migren, per moviments propis, i s'estableixen a la gònada primitiva.



En els mamífers, per formar les gònades bipotencials resulten necessaris: el factor esteroidegènic (SF1), el factor associat al tumor de Wilms (WT1), LHX1 i LHX9 (factors Lim homeobox), GATA4 i FOG2 (*Friend of Gata 2*). Quan falta qualsevol dels gens que codifica per aquestes proteïnes, els ratolins no formen les gònades (agenèsia gonadal).

Les proteïnes SF1 i WT1 participen addicionalment, junt a d'altres proteïnes [figura 1] en la determinació sexual.

SF1. El gen que codifica el factor SF1 es troba ubicat al cromosoma 9 en els humans. SF1 és un factor de transcripció que regula l'expressió de diferents gens implicats en la determinació i la diferenciació sexuals. SF1 no tan sols és fonamental per a la formació de la gònada masculina i la diferenciació sexual masculina, sinó també per a la formació de les gònades bipotencials, de la suprarenal, de la hipòfisi anterior i del nucli ventromedià de l'hipotàlem.

WT1. Les mutacions inactivants del gen *Wt1* (tumor renal de Wilms) donen lloc a tumors renals en la infància. Afecten a 1 de cada 10.000 nadons. Existeix un gran nombre d'isoformes de la proteïna WT1, una proteïna supressora que actua com a factor de transcripció. D'especial relleu en la determinació sexual són les isoformes $\pm$ KTS [amb o sense tres aminoàcids: lisina (K), treonina (T) i serina (S)] de la proteïna WT1. Una relació adequada de les dues isoformes és fonamental per al desenvolupament renal, i s'ha vist que l'expressió de les dues isoformes varia inversament. La sobreexpressió de la isoforma WT1 KTS menys dóna lloc a la disminució de la isoforma KTS més. En aquest context se sobreexpressa DAX1 i disminueix l'expressió de SRY. El resultat és un fenotip semblant al de la síndrome de Frasier en humans, amb glomeruloesclerosi i inversió de sexe, pseudohermafroditisme masculí i criptorquídia, però rarament tumor de Wilms. D'altra banda, mutacions inactivants del gen

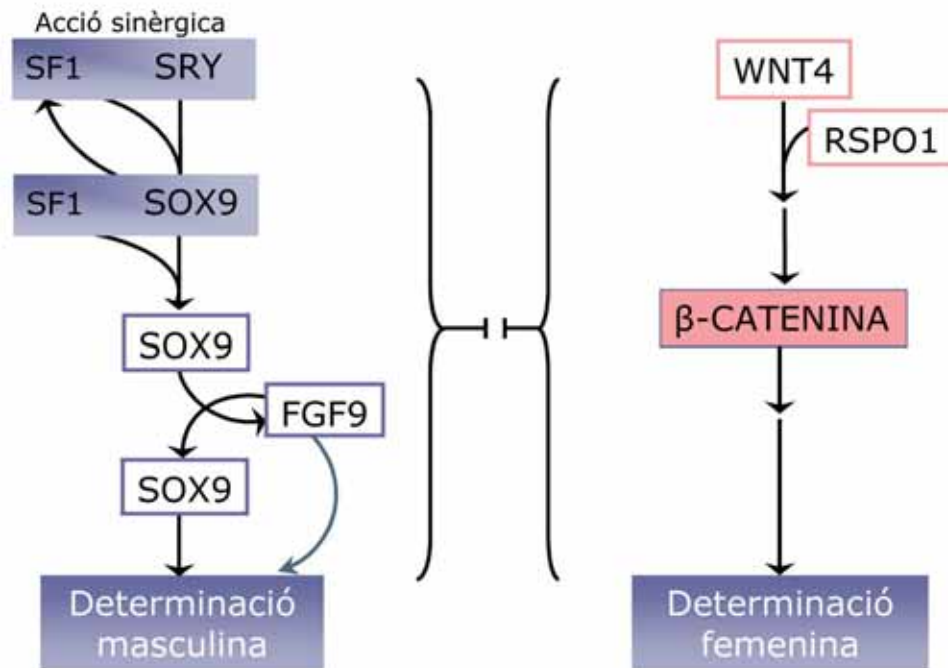


Figura 2. Factors inductors de la determinació sexual. Antagonisme entre els components de la determinació masculina i els components de la determinació femenina.

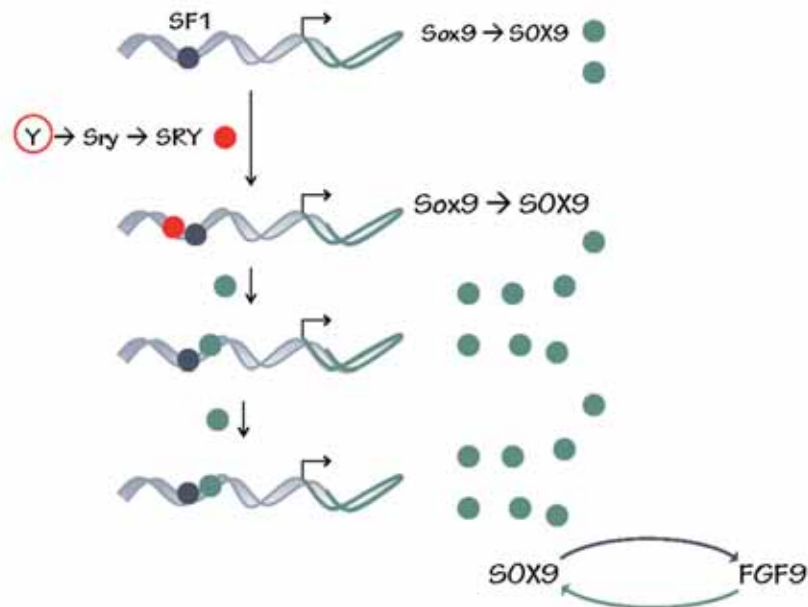


Figura 3. Variació de l'expressió de RSPO i SOX9 durant el desenvolupament que donarà lloc a ovaris o testicles (experiments fets en ratolins). A les gònades dels embrions XX augmenta l'expressió de RSPO1, però no la de SOX9, mentre que a les gònades dels embrions XY, l'expressió de RSPO1 no augmenta, però sí que ho fa l'expressió de SOX9.

Wt1 donen lloc a la síndrome de Denys-Drash, amb alteracions urogenitals i alt risc de desenvolupar el tumor de Wilms. La proteïna WT1 s'expressa a l'embrió en desenvolupament durant la transició mesènquima-epiteli. L'absència de Wt1 impedeix la diferenciació del mesènquima, i no es formen ni els ronyons ni les gònades.

DAX1. El gen Dax1 es troba al cromosoma X. La seva sobreexpressió per duplicació, en individus 46XY, dóna lloc a la inversió de sexe: s'inhibeix la formació de testicles i s'activa la formació d'ovaris. Una còpia de Dax1 activaria el desenvolupament masculí, mentre que dues còpies inhibirien a SRY. DAX1 és també essencial per formar la suprarenal, la hipòfisi anterior i el nucli ventromedià de l'hipotàlem. Les mutacions inactivants o delecions del gen Dax1 donen lloc a hipoplàsia suprarenal congènita i a una alteració de l'hipotàlem-hipòfisi que provoca hipogonadisme.

Gens HMG box. Són gens que codifiquen proteïnes amb la seqüència o caixa HMG. Sry i la família Sox són gens HMG box. Les proteïnes HMG funcionen com factors de transcripció i s'uneixen a seqüències específiques del DNA. Quan Sry s'uneix al DNA provoca una curvatura que modifica la interacció d'altres proteïnes, donant lloc a un programa d'expressió gènica que culmina en la diferenciació de les cèl·lules de Sertoli. Poc després de l'activació de Sry, s'activa Sox9, un homòleg de Sry, amb un domini intercanviable d'unió al DNA. SOX9 és suficient per induir la formació de testicles i pot substituir a SRY. De fet, certes espècies que no disposen del gen Sry, utilitzen Sox9, molt més conservat, com la peça clau de la determinació sexual. Quasi totes les mutacions que donen lloc a inversió de sexe es troben al domini conservat, HMG box, d'unió al DNA, d'aquests gens.

2. De la bipotencialitat a la formació d'una gònada masculina o femenina

El cromosoma Y de mamífers actua com a determinant masculí dominant a través de l'acció d'un sol gen, Sry (regió del cromosoma Y implicada en la determinació sexual), que té com a funció la d'iniciar la formació de testicles. SRY indueix la diferenciació de les cèl·lules de suport de la gònada en cèl·lules de Sertoli. La determinació testicular s'iniciaria amb WT1 i SF1 que indueixen l'expressió de Sry. SRY, aleshores, actuaria de forma sinèrgica amb SF1 [figura 2] per induir a SOX9. D'altra banda, SF1 interacciona físicament amb SOX9 per induir l'expressió d'Amh. Sox9 és un gen autosòmic que pot substituir a Sry per induir la determinació masculina.



Un *enhancer* (TES/TESCO), específic de testicle, ubicat a més de 10 Kb per davant de Sox9, és responsable de la sobreexpressió de Sox9 (Nature, 2008). Sobre aquest enhancer actuen, activant-lo de forma sinèrgica, primer SF1 i SRY i a continuació SF1 i el propi SOX9, que s'auto-activa així per retroacció. SOX9 indueix l'expressió d'uns 1000 gens, entre els quals: Fgf9, Amh i Cyp26b1.

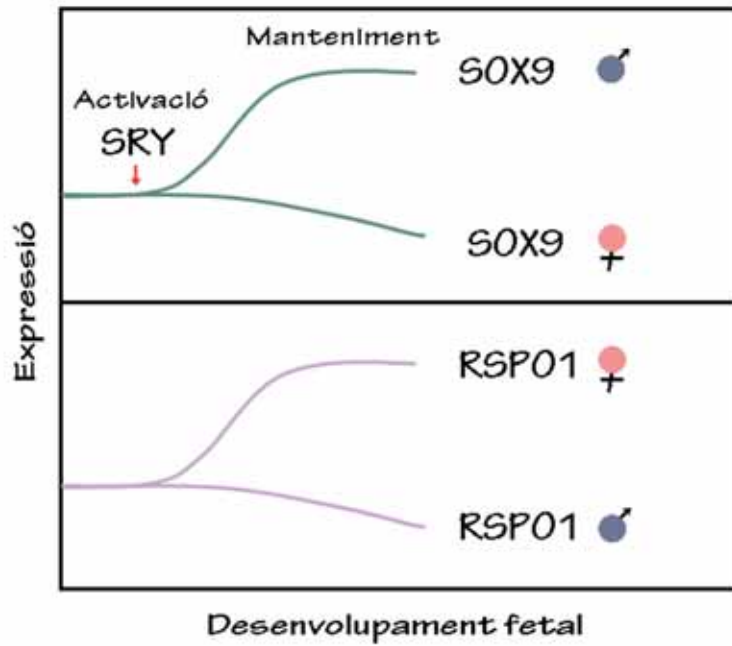


Figura 4. Expressió de Sox9 i RSP01 segons el sexe. Activació de Sox9 induïda per SRY i manteniment de la expressió pel propi SOX9.

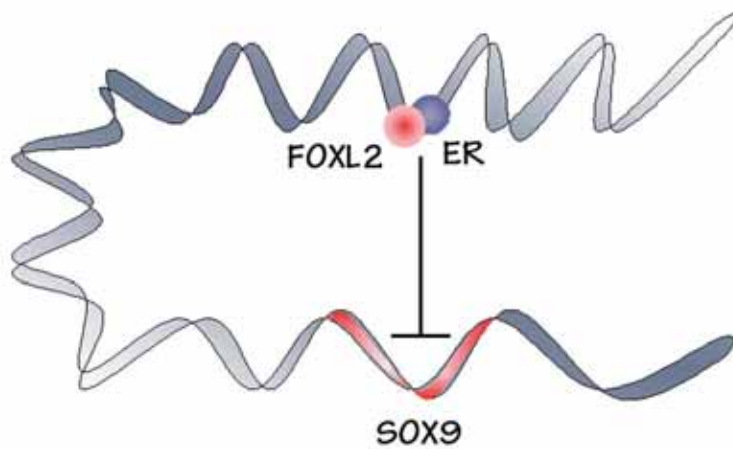


Figura 5. Repressió de l'expressió de Sox9 per FOXL2 i el receptor d'estrògens, ER.

En humans, i en d'altres mamífers, després d'iniciar-se l'expressió d'Sry s'observa una sobreexpressió de Sox9 en les cèl·lules precursors de Sertoli. L'expressió de Sry és transitòria i SOX9 pren el relleu en la determinació masculina. Quan l'expressió de SOX9 supera un cert nivell reprimeix a SRY i l'expressió de SOX9 i de SF1 es manté subsegüentment a nivells alts en les cèl·lules de Sertoli.

SRY induïx a Sox9 [figura 3], i SOX9, a través de l'activació del factor fibroblàstic de creixement (FGF9), induïx la proliferació, la migració cel·lular i la formació d'una vasculatura específica del testicle. Aquests esdeveniments, crítics per a la formació dels testicles, donen lloc a la formació de les anomenades cordes testiculars, constituïdes per cèl·lules de Sertoli que envolten les cèl·lules germinals. Les cordes testiculars donaran lloc als túbuls seminífers.

La proliferació i la diferenciació de les cèl·lules fetals de Leydig depenen de factors paracrins locals i de la gonadotrofina coriònica (hCG). Aquesta hormona prové de la placenta i resulta crítica per a l'activació de les cèl·lules de Leydig i la producció de testosterona. La testosterona és un dels factors clau per a la diferenciació sexual masculina, com es comenta més endavant.

La senyalització a través de SOX9 i FGF9 comporta, doncs, la determinació masculina i antagonitza les vies de determinació femenina. L'expressió mantinguda del factor FGF9 dóna lloc a la formació de testicles, mentre que és necessari que decaigui l'expressió d'aquest factor perquè es formin els ovaris.

En la figura 2 s'esquematitzen els principals mecanismes implicats en la determinació sexual i el seu antagonisme. Les proteïnes secretades WNT4 i RSPO1 activen la via de la β -catenina (Nature Genetics, 2006). La determinació femenina depèn de la senyalització a través d'aquesta via i del factor de transcripció FOXL2. WNT4 reprimeix l'expressió de Sox9 i Fgf9, i la seva expressió s'ha de mantenir perquè es formin els ovaris. La integritat de la proteïna RSPO1 és també essencial per a la formació d'ovaris. RSPO1 antagonitza als factors FGF9 i SOX9, i decanta la balança cap a la determinació femenina. L'augment d'expressió de RSPO1 en la gònada femenina en desenvolupament coincideix amb l'expressió de SOX9 en la gònada masculina [figura 4].



Una mutació, que introdueix un triplet d'aturada en el gen R-spondin1, dóna lloc a la traducció d'un pèptid no funcional de 36 aminoàcids, en lloc dels 263 aminoàcids totals que té la proteïna funcional. En aquest context es pertorba la diferenciació dels queratinòcits, i els individus XX desenvolupen testicles i estructures extragonadals masculines, de manera que la bipotencialitat de l'embrió es dirigeix cap a la determinació sexual masculina.

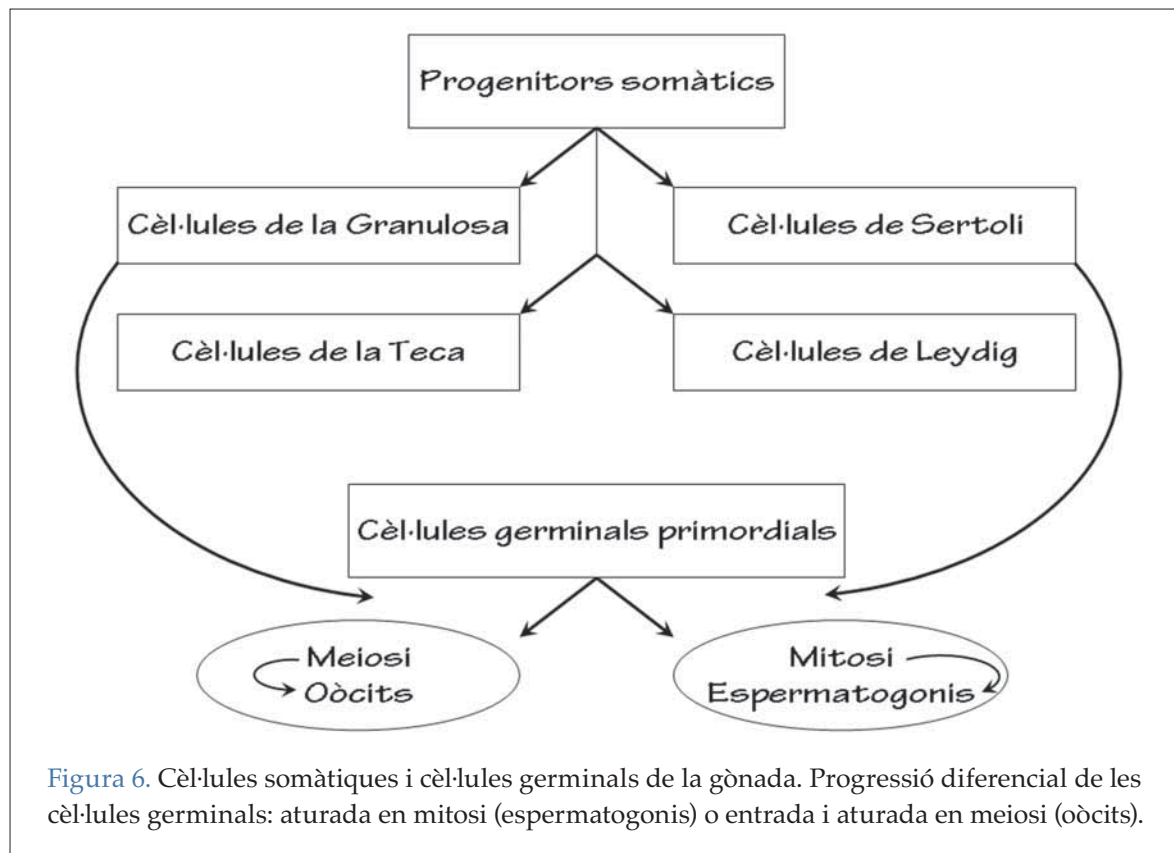


Figura 6. Cèl·lules somàtiques i cèl·lules germinals de la gònada. Progressió diferencial de les cèl·lules germinals: aturada en mitosi (espermatogonis) o entrada i aturada en meiosi (oòcits).

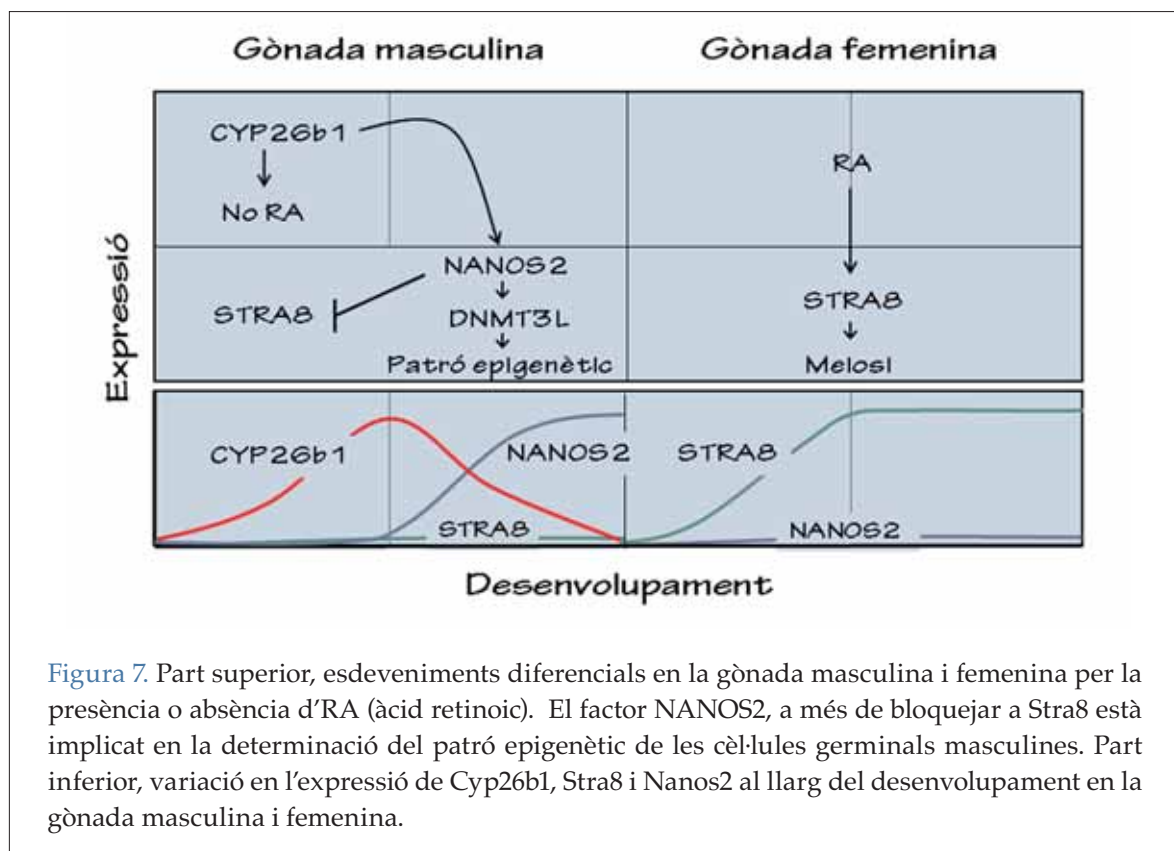


Figura 7. Part superior, esdeveniments diferencials en la gònada masculina i femenina per la presència o absència d'RA (àcid retinoic). El factor NANOS2, a més de bloquejar a Stra8 està implicat en la determinació del patró epigenètic de les cèl·lules germinals masculines. Part inferior, variació en l'expressió de Cyp26b1, Stra8 i Nanos2 al llarg del desenvolupament en la gònada masculina i femenina.



L'expressió de FoxL2 és específica de la gònada femenina, i es considera un marcador de cèl·lula de la granulosa. FOXL2 reprimeix fortament l'expressió de Sox9, induint i preservant la diferenciació fol·licular. La via de la β -catenina seria fonamental abans del naixement i el factor FOXL2 després. Recentment ha estat possible transdiferenciar les cèl·lules somàtiques de l'ovari adult (Cell, 2009) eliminant el gen Foxl2. La transdiferenciació seria induïda per falta de repressió del gen Sox9 [figura 5].

La senyalització per membres de la família WNT també resulta fonamental per a l'organització del sistema urogenital. Es tracta d'una família de proteïnes secretades, implicada en la formació de l'epidídim, del conducte deferent, de l'úter i de la vagina superior.

3. Cèl·lules germinals. Especificació, migració, colonització i diferenciació

L'especificació del llinatge germinal en organismes com *Drosòfila*, *C. elegans* i *Xenopus* depèn de la localització asimètrica de components citoplasmàtics. En canvi, en el ratolí l'especificació del llinatge germinal té lloc per mecanismes d'inducció.

Tot i les diferències esmentades, els components responsables de l'especificació de cèl·lula germinal primordial (PGC) estan força conservats evolutivament.

BLIMP1 és un regulador transcripcional clau responsable de reprimir el programa somàtic. Dirigeix un elaborat programa de transcripció que impedeix que les cèl·lules germinals primordials (PGC) adoptin un patró somàtic.

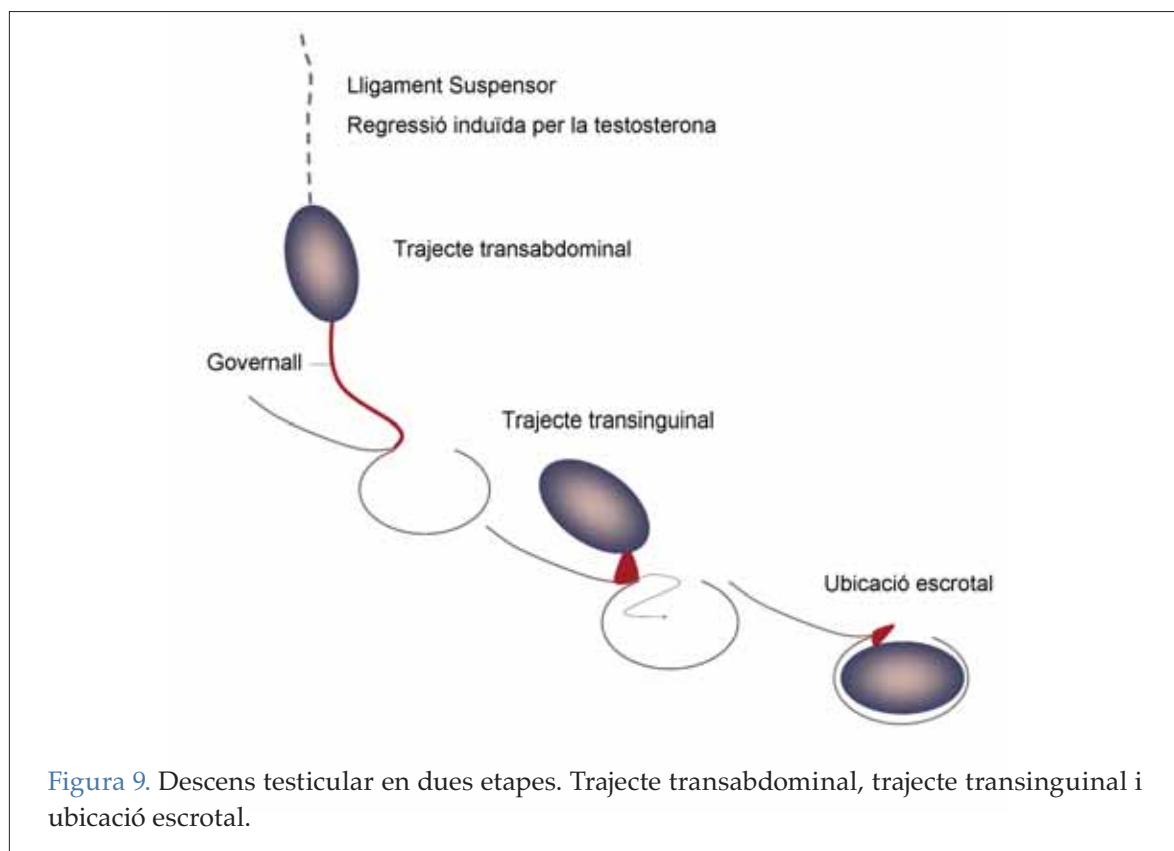
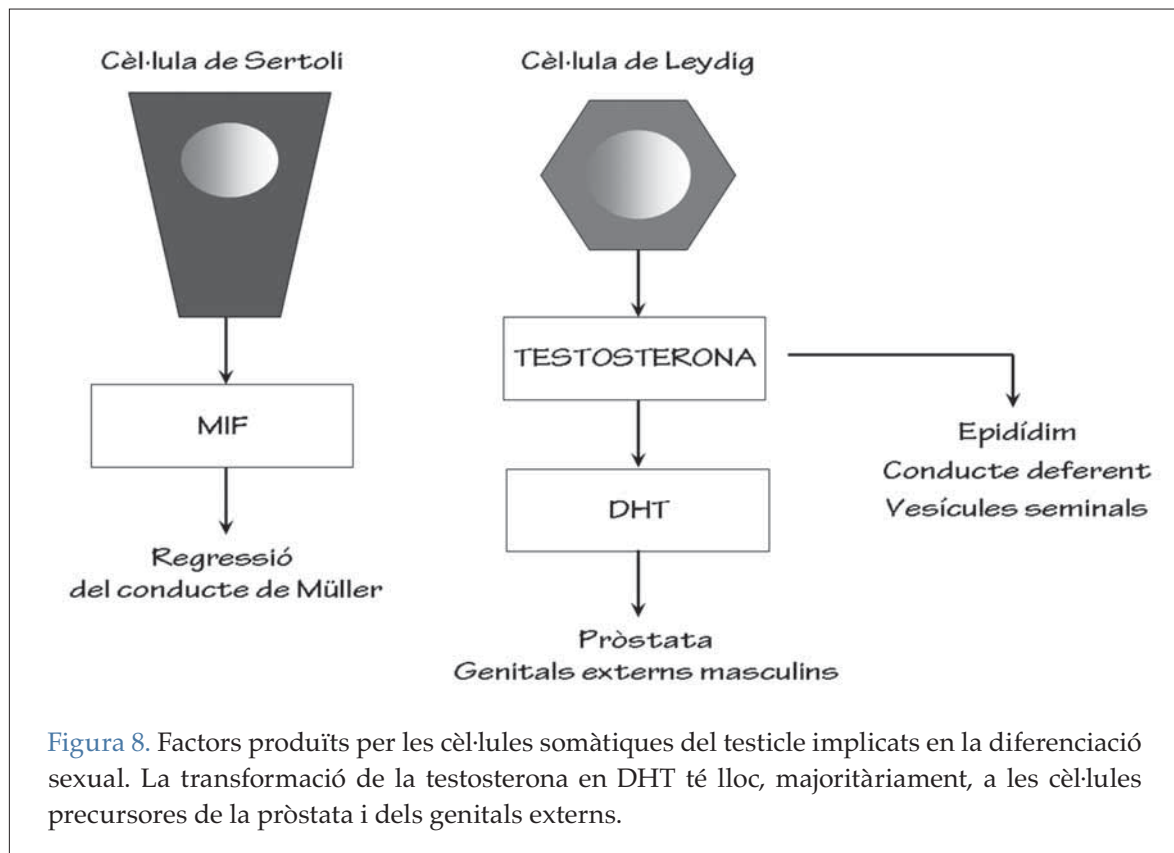
Les cèl·lules PGC s'originen lluny de la gònada i migren, sense deixar de proliferar, fins a la cresta genital, protegides per factors de supervivència com NANOS3, KIT i DEAD END1 (DND1).



Quan Dnd1 està inactivat, hi ha una incidència alta de tumors (teratomes) testiculars congènits i falten les cèl·lules germinals, que es perden per apoptosi. DND1 activa la traducció de proteïnes reprimint a un RNA petit (miR430). Així, les cèl·lules PGC que expressen DND1 no tenen reprimida la traducció de les dianes de miR430.

El sistema Kit lligam (factor Steel) - Kit receptor, promou la supervivència, la proliferació i la migració de les PGC, controlant aquestes cèl·lules des del moment de la seva especificació. Les cèl·lules PGC migren fins a la gònada junt amb una població de cèl·lules que expressen el factor Steel i generen així un entorn d'aquest factor que interacciona amb el receptor c-Kit de la membrana plasmàtica de les cèl·lules PGC. La via Kit facilita d'aquesta manera la migració en direcció a la gònada. En l'etapa de migració, les cèl·lules germinals són bipotencials, i la diferenciació no s'inicia fins després que les cèl·lules PCG han colonitzat la gònada. La decisió del destí cel·lular de les PGC està en funció del tipus de cèl·lules somàtiques de la gònada i de la comunicació que s'estableix entre aquestes i les cèl·lules germinals [figura 6].

Després d'anys de debat sobre quin era el factor de diferenciació de les PGC en la gònada, si es tractava d'un factor inductor de meiosi (sugerit ja el 1970, i que es trobaria a l'ovari) o un factor



inhibidor de meiosi (que es trobaria al testicle), ara sabem que el factor inductor de la meiosi és l'àcid retinoic (RA), un derivat de la vitamina A; i el factor supressor o inhibidor de la meiosi és l'enzim CYP26b1, que modifica l'RA, i elimina així l'activitat promotora de meiosi.

A la [figura 7](#) s'esquematitza com l'àcid retinoic i els factors STRA8 (factor de transcripció estimulat per l'àcid retinoic) i NANOS2 decideixen la progressió diferencial de les cèl·lules germinals en el testicle i en l'ovari.

El testicle embrionari expressa nivells alts de CYP26b1 [\[figura 7\]](#), que elimina l'RA i impedeix l'entrada en meiosi de les cèl·lules germinals; en canvi en l'ovari, l'RA no és modificat i indueix l'expressió d'STRA8 (*Stimulated by RA 8*) que promou l'entrada en la profase meiòtica. STRA8 resulta essencial per a la replicació premeiòtica del DNA, i s'expressa tant a l'ovari embrionari com al testicle puberal i de l'adult en cèl·lules premeiòtiques. La falta de Stra8 dóna lloc a infertilitat en els dos sexes.

CYP26b1 també és necessari perquè s'expressi NANOS2 en el testicle. NANOS 2 és una proteïna d'unió a l'RNA que s'expressa selectivament en les cèl·lules germinals masculines. La seva acció resulta imprescindible per inhibir completament a Stra8. Altres accions importants de NANOS2 són: l'efecte antiapoptòtic, la inducció de la metilació del DNA a escala genòmica (a través de l'expressió de metiltransferases) i l'aturada mitòtica de les cèl·lules germinals (en la fase G0/G1). La metilació del DNA dóna lloc a l'adquisició del patró epigenètic patern en aquesta etapa embrionària premeiòtica. El testicle manté l'expressió de Nanos2 al llarg de tot el procés de desenvolupament. Un cop induït Nanos2, les cèl·lules germinals segueixen el programa de diferenciació masculina encara que hi hagi present l'RA, doncs l'expressió de Cyp26b1 va decaient gradualment en les etapes finals del desenvolupament [\[figura 7\]](#).

Quan s'elimina el gen Cyp26b1 (Cyp26b1^{-/-}), s'expressa Stra8 i s'inhibeix l'expressió de Nanos2. És el que passa en l'àmbit de l'ovari embrionari en condicions fisiològiques. En aquest cas Cyp26b1 hi és però no s'expressa.

L'expressió d'Stra8 en l'ovari indueix l'entrada en meiosi de les cèl·lules germinals. Aquestes cèl·lules progressen fins a l'etapa de diploté de la profase meiòtica i queden aturades en meiosi fins a la pubertat.

La gònada embrionària masculina manté completament inhibida l'entrada en meiosi fins a la pubertat. En canvi, en la gònada femenina totes les cèl·lules germinals entren en meiosi abans del naixement i no poden seguir expandint-se; el nombre queda limitat i, a causa de l'elevat índex d'apoptosi, no paren de disminuir. Aturades en meiosi des d'abans del naixement, les cèl·lules germinals oogèniques no progressaran en la diferenciació fins a la pubertat. Algunes poden trigar més de cinquanta anys a prosseguir i completar la diferenciació.

4. Diferenciació sexual. Testosterona, DHT, MIF

La diferenciació sexual [\[figura 8\]](#) depèn de la testosterona, de la dihidrotestosterona (DHT),

del factor inhibidor del conducte de Müller (MIF) i de factors de la família de la insulina. La testosterona és responsable de la diferenciació del conducte de Wolff en l'epidídim, el conducte deferent i les vesícules seminals.

La dihidrotestosterona (DHT), que resulta de la reducció de la testosterona mitjançant l'enzim 5 α -reductasa, és responsable de la diferenciació de la pròstata i dels genitals externs masculins.

El factor MIF (AMH), una glicoproteïna extracel·lular de la superfamília del TGF β , s'expressa a les cèl·lules de Sertoli, activat per SOX9 i SF1. La mutació de MIF dona lloc a la síndrome de persistència dels conductes de Müller. MIF actua sobre les cèl·lules del conducte de Müller induint l'apoptosi.

En absència de MIF, testosterona i DHT, el programa de diferenciació és femení. El conducte de Müller dona lloc a l'oviducte, l'úter i la vagina superior. El conducte de Wolff experimenta regressió i es formen genitals externs femenins. Tot i que s'ha descrit algun factor que podria estar implicat en la diferenciació sexual femenina, la ignorància respecte als mecanismes implicats en aquest procés ens fa considerar la diferenciació femenina com un programa per defecte. En aquest programa, determinades estructures, sensibles a la testosterona o a la DHT, experimenten regressió en veure's privades d'aquests factors. D'altra banda, l'absència del factor MIF evita l'apoptosi del conducte de Müller, cosa que en permet la diferenciació en estructures reproductores femenines.

5. Descens testicular

Els testicles es formen a la cavitat abdominal, pròxims al ronyó. Al final del desenvolupament té lloc el descens cap a la cavitat escrotal [figura 9], ubicació imprescindible per a la funció testicular. El descens testicular implica la regressió i la reorganització d'estructures per alliberar els testicles de la cavitat abdominal. Aquests testicles es desplacen en dues etapes: primer fins a la base de l'abdomen i, després, pel trajecte transinguinal fins a la cavitat escrotal. D'aquesta manera, els testicles s'ubiquen sota la pell.

La ubicació subcutània dels testicles i l'organització de la seva vasculatura permeten disminuir de forma important la temperatura fins als 32-35°C, que és la temperatura fisiològica d'aquests òrgans.

La falta de descens testicular s'anomena criptorquídia, i dona lloc a esterilitat, atès que la temperatura intraabdominal és incompatible amb la producció d'espermatozoides. La criptorquídia és també responsable d'una major incidència de tumors testiculars.

En els humans, la falta de descens testicular complet és una de les anomalies congènites més freqüents, i afecta aproximadament el 3% dels nadons masculins. A l'any, encara un 1% de nens no han experimentat el descens testicular.

Els mecanismes moleculars del descens testicular són poc coneguts. Dos factors que es creu que hi estan implicats són la testosterona i factors de la família de la insulina.



La ubicació dels testicles fora de l'abdomen no té lloc en totes les espècies. En avantpassats evolutius com els peixos, els testicles es troben dins l'abdomen, prop del cor. La necessitat d'una temperatura més baixa, en un òrgan que es forma embrionàriament a la cavitat abdominal, ha obligat als mamífers a establir un canal inguinal, una cavitat escrotal i un trajecte descendent, a través del qual els testicles es desplacen i s'ubiquen en un emplaçament on la temperatura és compatible amb la funció. El preu evolutiu, però, de preservar d'aquesta manera la funció reproductora ha estat el risc d'hèrnies inguinals, pel simple fet moltes vegades de què l'anell inguinal intern estableix un punt dèbil.

6. Alteracions de la diferenciació sexual

S'anomenen disgenèsies gonadals els defectes en la diferenciació de les gònades.

Les alteracions numèriques dels cromosomes sexuals, com és el cas de la síndrome de Klinefelter (47, XXY) i la síndrome de Turner, (45, XO) són exemples de disgenèsies gonadals, doncs l'alteració primària es troba en la diferenciació de les gònades.

Es creu que les alteracions en el nombre de cromosomes són el resultat d'una alteració durant la meiosi, i 1 de cada 500 a 1000 naixements que arriben a terme mostren algun tipus d'anomalia en els cromosomes sexuals. La freqüència d'alteracions numèriques en els autosomes és molt inferior donat que, en general, l'organisme no tolera aquesta alteració i no arriba a terme.

La tolerància més alta a la variació de cromosomes sexuals ve donada perquè en les cèl·lules somàtiques, tots menys un cromosoma X resten inactivats. En el cas del cromosoma Y, el nombre de gens és molt reduït i la major part estan implicats en el procés d'espermatoït, per la qual cosa, l'espermatoït fracassa quan falta el cromosoma Y.

En la síndrome de Klinefelter, està interferida la diferenciació de les cèl·lules de Sertoli; els testicles són petits i presenten azoospermia. La producció de testosterona és normal i l'individu és fenotípicament masculí. En la síndrome de Turner no hi ha desenvolupament gonadal i el fenotip és femení.

L'hermafroditisme complet o veritable consisteix en la coexistència de testicles i d'ovaris. Es tracta d'un fenomen molt poc freqüent. Les entitats que estan més establertes s'anomenen pseudohermafroditismes, l'individu desenvolupa ovaris o testicles i un grau variable d'estructures extragonadals del sexe contrari.

Com a exemple de pseudohermafroditisme femení hi ha la hiperplàsia suprarenal congènita. En aquesta entitat, el sexe cromosòmic és XX i, per tant, es formen ovaris. No obstant això, per exposició a un excés de precursors de testosterona (DHEA suprarenal) durant la fase crítica del desenvolupament, hi ha un grau variable de virilització de les estructures extragonadals.

Com a exemple de pseudohermafroditisme masculí hi ha la síndrome de feminització tes-

ticular. En aquesta entitat el sexe cromosòmic és XY, però falta el receptor d'andrògens. Per falta de resposta a la testosterona i a la DHT, els testicles són intraabdominals i no té lloc l'espermatoïgenesis, el conducte de Wolff experimenta regressió, no es forma la pròstata, els genitals externs són femenins i falta el pèl sexual. Atès que les cèl·lules de Sertoli no estan alterades, el conducte de Müller experimenta regressió. La producció d'andrògens és normal i dóna lloc a una sobreproducció d'estrògens, que indueix el desenvolupament de pits. Fenotípicament, doncs, el sexe és femení.

Una altra situació que té interès comentar és el dèficit de 5 α -reductasa. Aquest enzim és essencial per a la producció de DHT a partir de la testosterona. Si el sexe cromosòmic és XY, la formació de testicles és normal i té lloc la regressió del conducte de Müller. La testosterona dóna lloc a la diferenciació del conducte de Wolff. La falta de DHT, però, atura la formació de la pròstata i la diferenciació masculina dels genitals externs, la qual cosa dóna lloc a un fenotip femení.

Tasques

1. Defineix:

- Determinació i diferenciació sexual.
 - Patró epigenètic germinal.
 - Agenèsia i disgenèsia gonadal.
 - Pseudohermafroditisme.
-

2. Interrelaciona:

- SRY / SOX9 / WNT4 / FOX12 / formació de testicles / RSPO1 / FGF9 / formació d'ovaris / Àcid retinoic (RA) / STRA8 / NANOS2 / meïosi / aturada en mitosi.
 - Cèl·lules de Sertoli / cèl·lules de Leydig / AMH / testosterona / diferenciació de la pròstata / diferenciació de l'epidídim / diferenciació del conducte deferent / diferenciació de les vesícules seminals / DHT / genitals externs masculins / regressió del conducte de Müller.
-

3. Representa gràficament:

- Les variacions en els nivells de RSPO1 i SOX9 al llarg del desenvolupament gonadal.
 - Les variacions en l'expressió de Cyp26b1, Nanos2 i Stra 8 en el testicle i en l'ovari embrionari.
-

-
4. Quins són els factors promotor i supressor de la meiosi?
 5. Indica com afecta el desenvolupament i quin risc de patologia hi ha quan s'altera el gen WT1.
 6. La dependència del sexe cromosòmic que té la determinació sexual en mamífers, és una característica conservada evolutivament?
 7. Indica la repercussió de:
 - Les mutacions inactivants del gen *dax1*, en l'àmbit reproductor.
 - Les mutacions inactivants del gen *Amh*, en la diferenciació sexual d'un embrió XY.
 8. Descriu el fenotip en la síndrome de Klinefelter i la síndrome de Turner.
 9. Quina alteració molecular pot existir en una persona de sexe cromosòmic masculí (XY) que presenta testicles intraabdominals, absència d'espermatozoides, regressió del conducte de Wolff i del conducte de Müller, absència de pròstata, falta de pèl sexual i fenotip femení?
 10. Quina alteració molecular pot existir en una persona de sexe cromosòmic masculí (XY) que desenvolupa testicles, epidídim, conducte deferent i vesícules seminals, experimenta regressió del conducte de Müller, però no desenvolupa la pròstata i té genitals externs femenins?
 11. Una persona acudeix a la consulta per problemes de fertilitat. L'examen físic mostra una constitució masculina normal sense alteracions macroscòpiques importants de les estructures reproductores, excepte que els testicles tenen una mida reduïda. Els nivells circulants de testosterona són normals i un anàlisi de semen mostra azoospermia. L'anàlisi del cariotip mostra uns cromosomes sexuals XX.

Concatena les causes i mecanismes que donen lloc a la determinació i diferenciació sexual masculina, i en base a aquestes, indica una possible causa pel cas plantejat.
