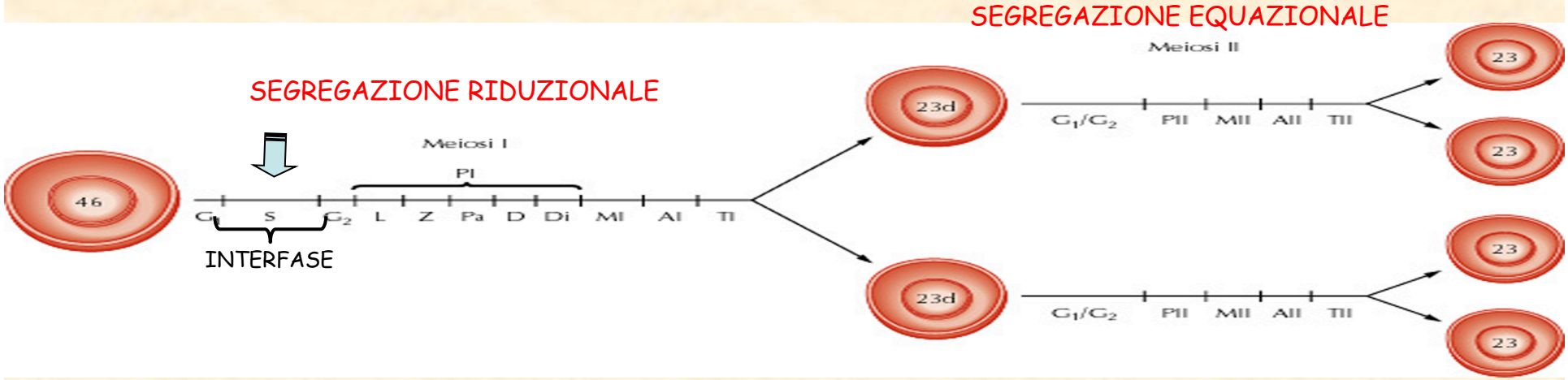
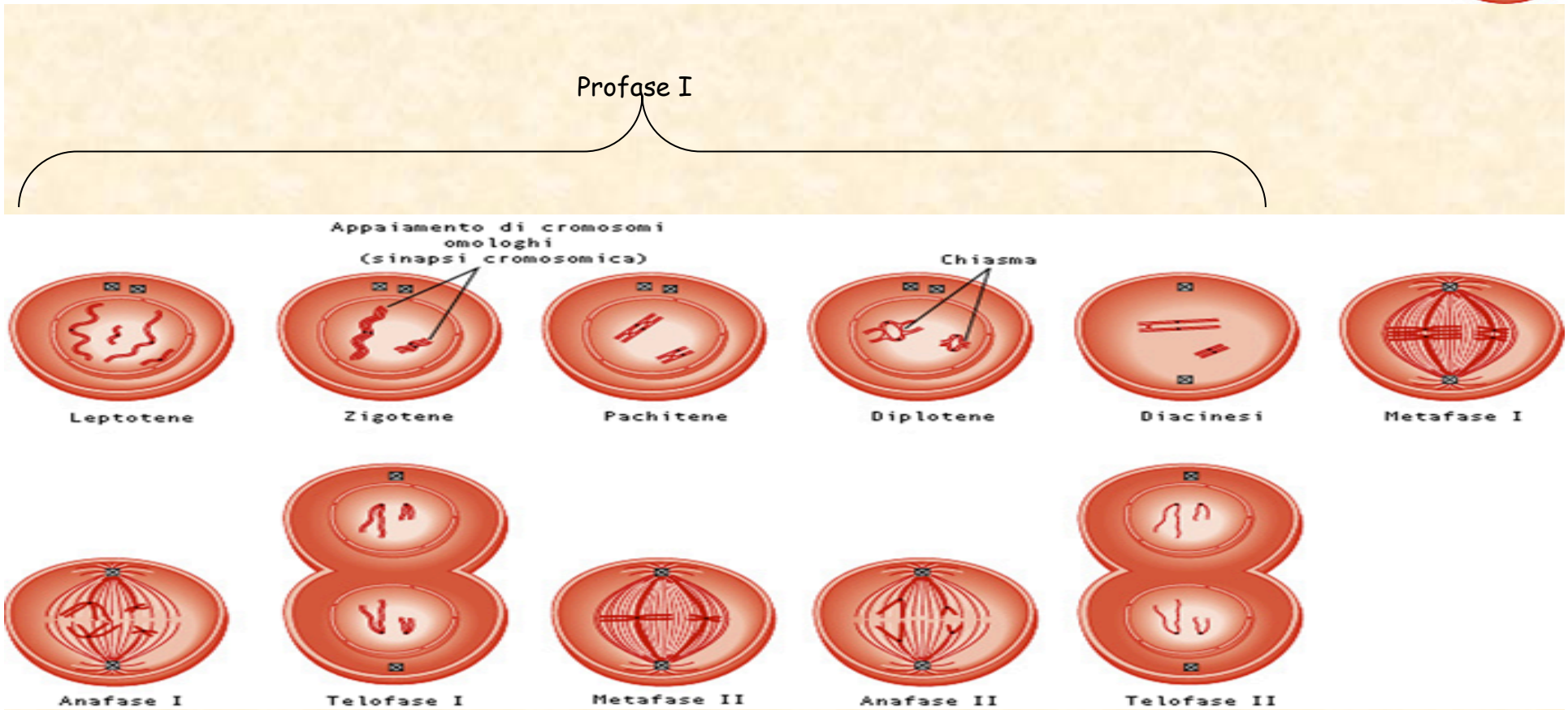
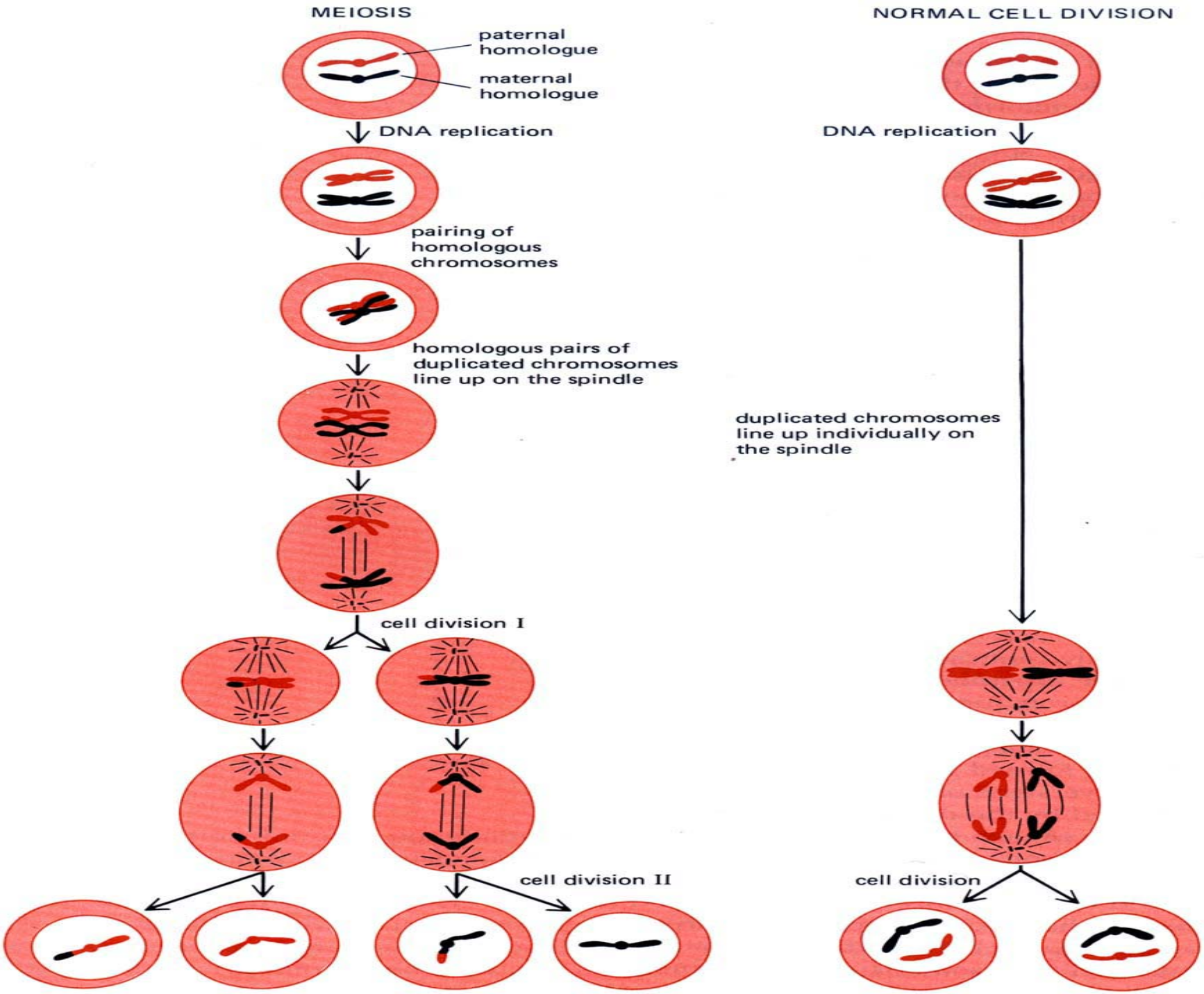
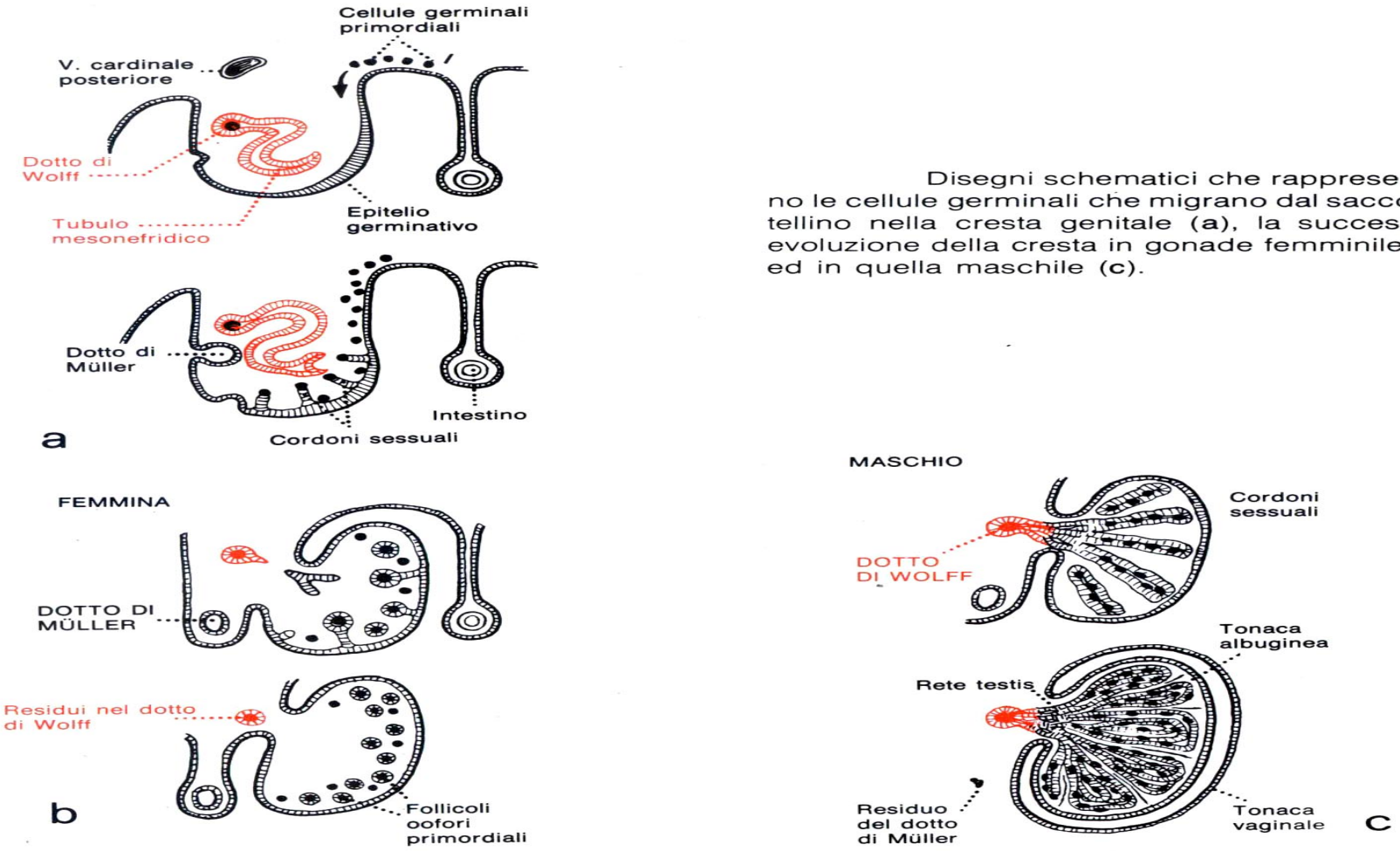
GAMETOGENESI


SEGREGAZIONE EQUAZIONALE
Meiosi II
SEGREGAZIONE RIDUZIONALE
Meiosi I
PI
46
G1
S
G2
L
Z
Pa
D
Di
MI
AI
TI
INTERFASE
23d
23d
G1/G2
PII
MII
AII
TII
23
23
23
23


Profase I
Appaiamento di cromosomi omologhi (sinapsi cromosomica)
Chiasma
Leptotene
Zigotene
Pachitene
Diplotene
Diacinesi
Metafase I
Anafase I
Telofase I
Metafase II
Anafase II
Telofase II


MEIOSIS
paternal homologue
maternal homologue
DNA replication
pairing of homologous chromosomes
homologous pairs of duplicated chromosomes line up on the spindle
cell division I
cell division II
NORMAL CELL DIVISION
DNA replication
duplicated chromosomes line up individually on the spindle
cell division

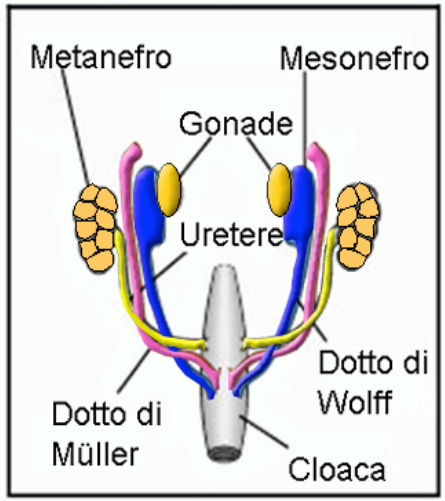


Disegni schematici che rappresentano le cellule germinali che migrano dal sacco vitellino nella cresta genitale (a), la successiva evoluzione della cresta in gonade femminile (b) ed in quella maschile (c).

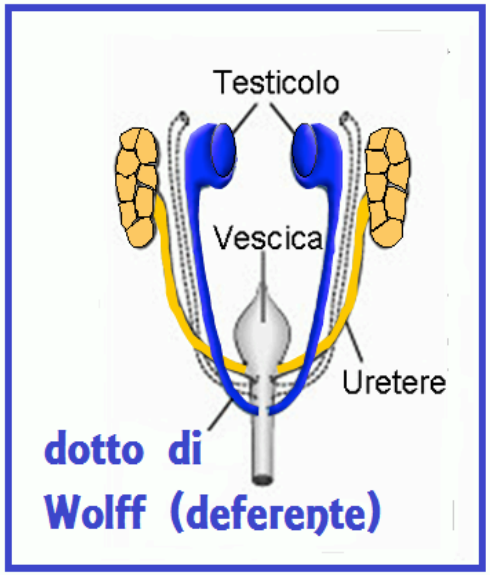
4a settimana --> cresta genitale

6a settimana --> migrazione nella cresta genitale

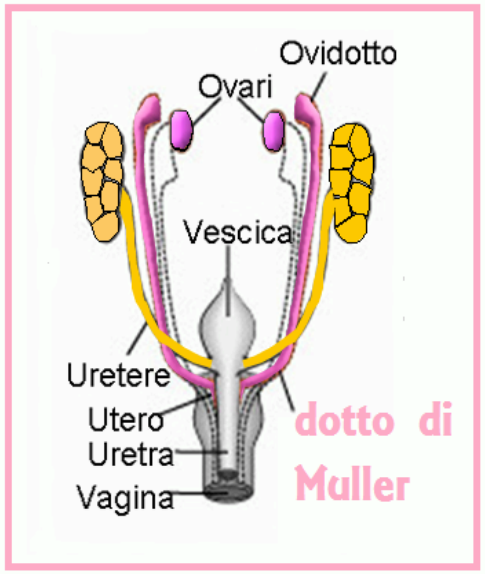
Stadio neutro (<8 w)



maschio



femmina



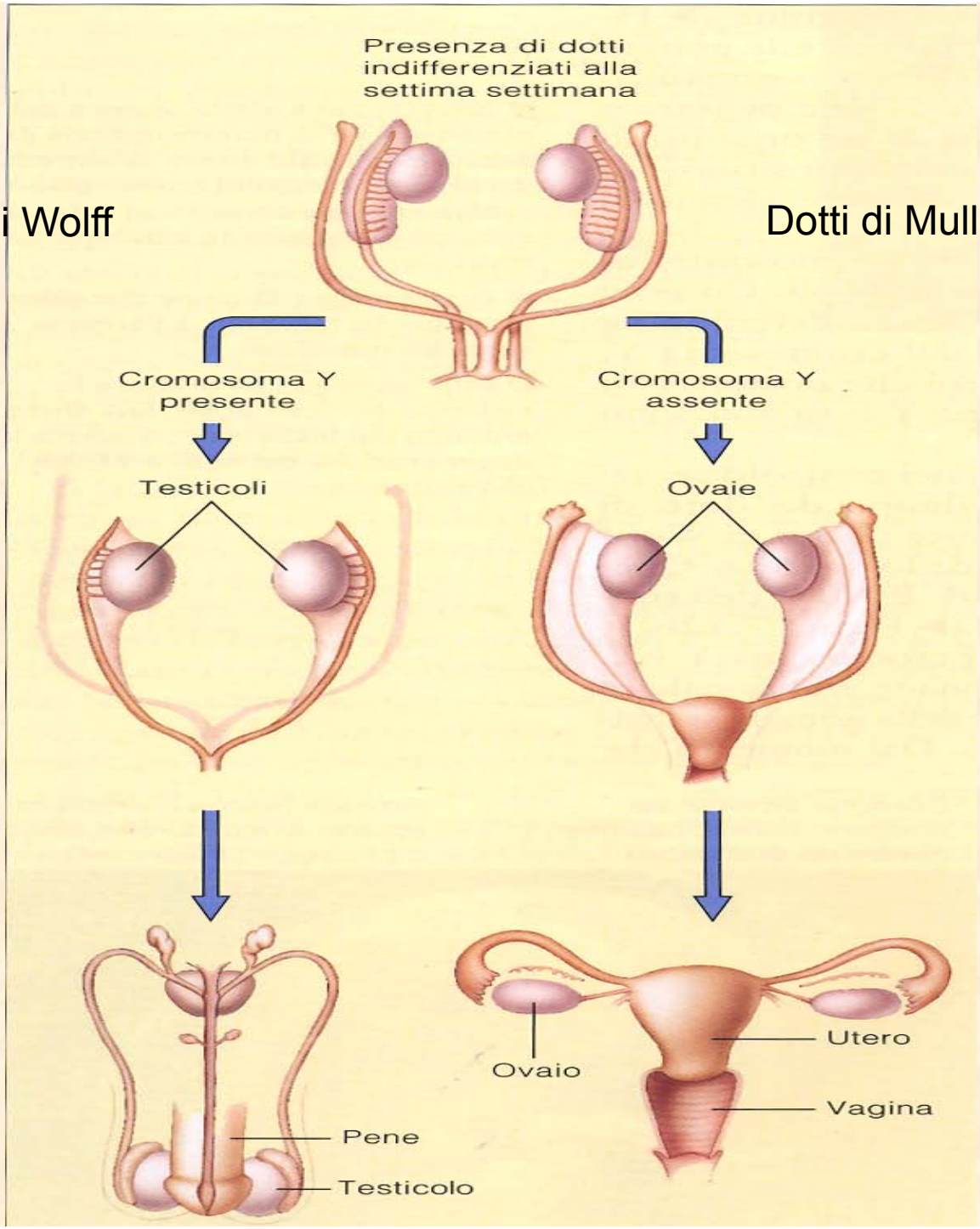
Nei mammiferi gli embrioni allo stadio iniziale dello sviluppo sessuale 4 settimane post-fertilizzazione (wpf) nell'uomo e 9.5 giorni post-coito (dpc) nel topo sono indifferenziati e non mostrano differenze tra gonadi XX e XY che appaiono inizialmente come un ispessimento dell'epitelio celomatico sulla superficie ventromediale del mesonefro (cresta genitale). In questo stadio le cellule dell'epitelio proliferano

A 32 giorni post fertilizzazione (dpf) nell'uomo e 10.5 dpc nel topo parte il differenziamento delle linee cellulari somatiche che coinvolge prima la linea cellulare di supporto (cellule del Sertoli o cellule della granulosa) e poi la linea steroidogenica (cellule del Leyding o cellule della teca). Infine la gonade si sviluppa in testicolo o ovario con le loro specifiche

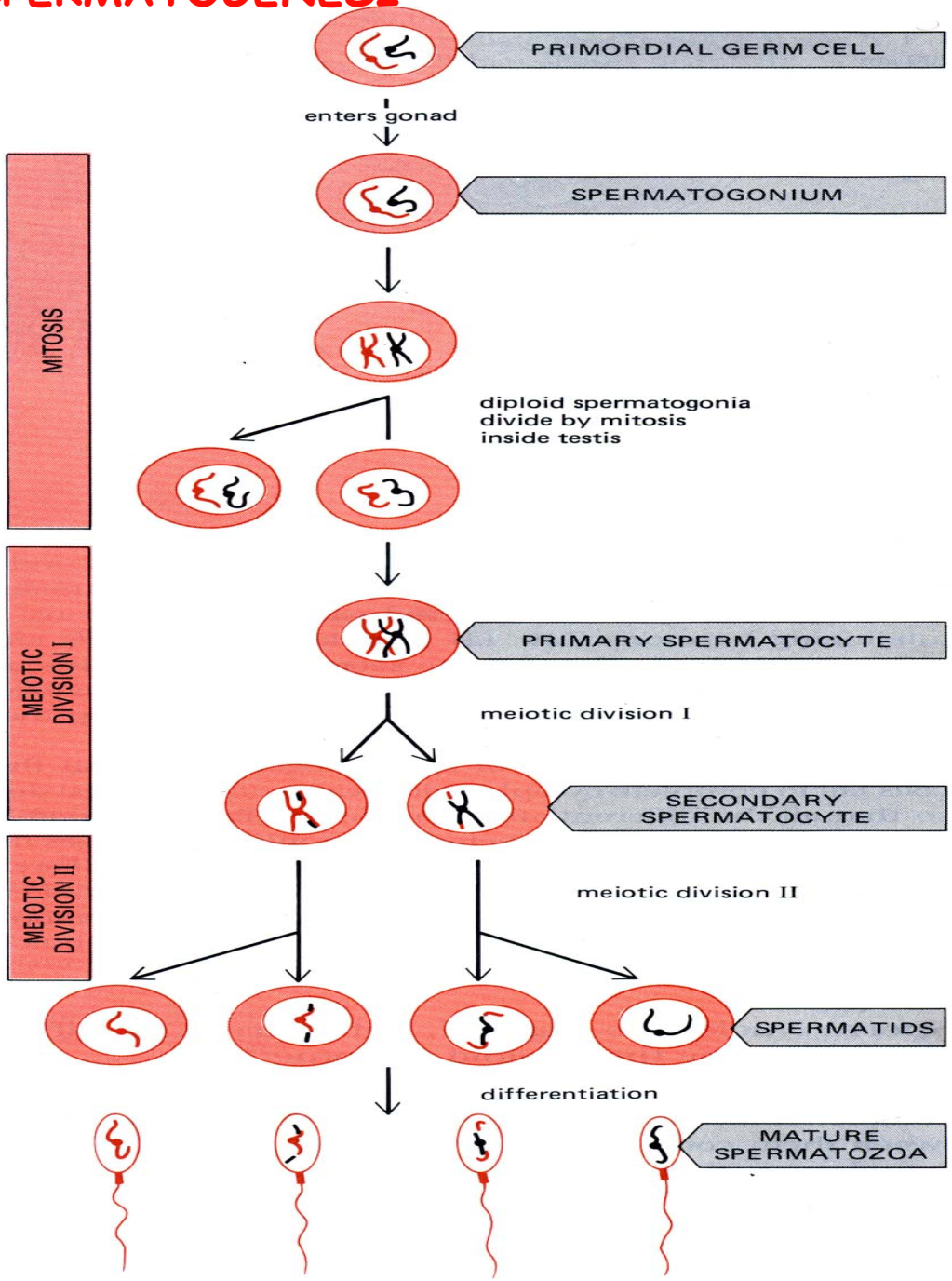
Le cellule primordiali germinali (PGC) non sono proprie della gonade ma migrano dal sacco vitellino. Durante la loro migrazione proliferano e dopo aver colonizzato la gonade si differenziano in spermatogoni o oogoni

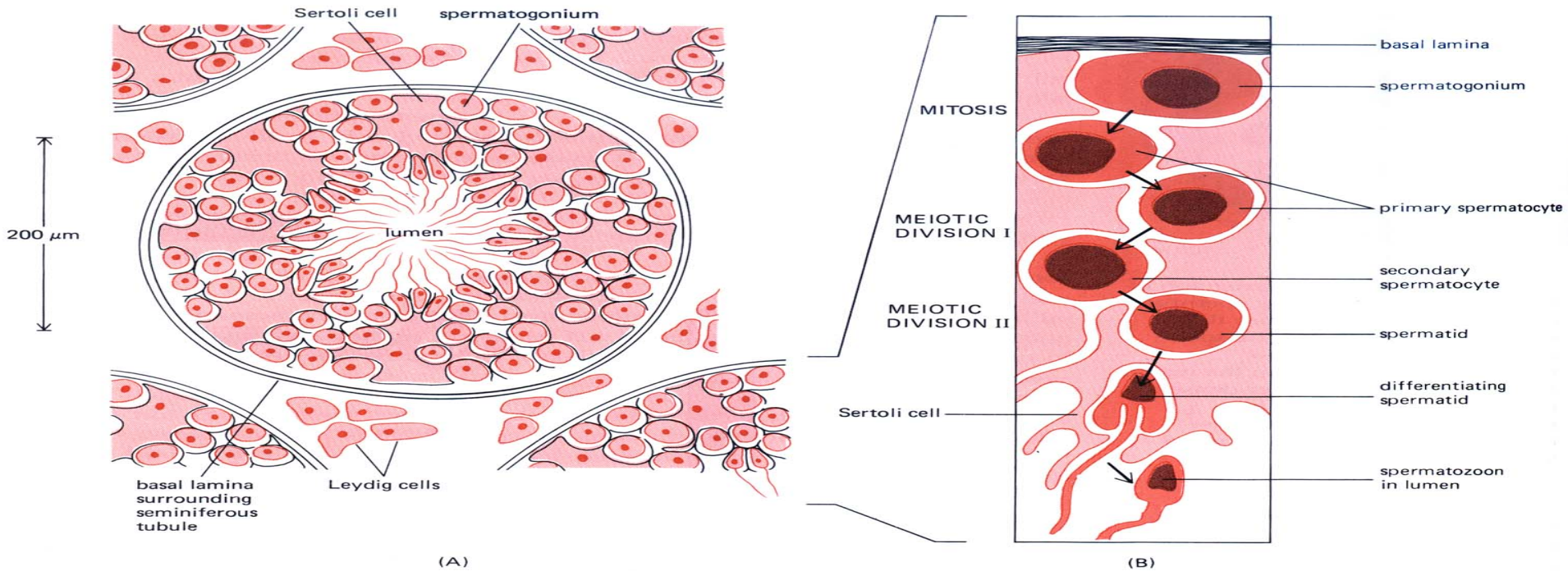
Dotti di Wolff

Dotti di Muller

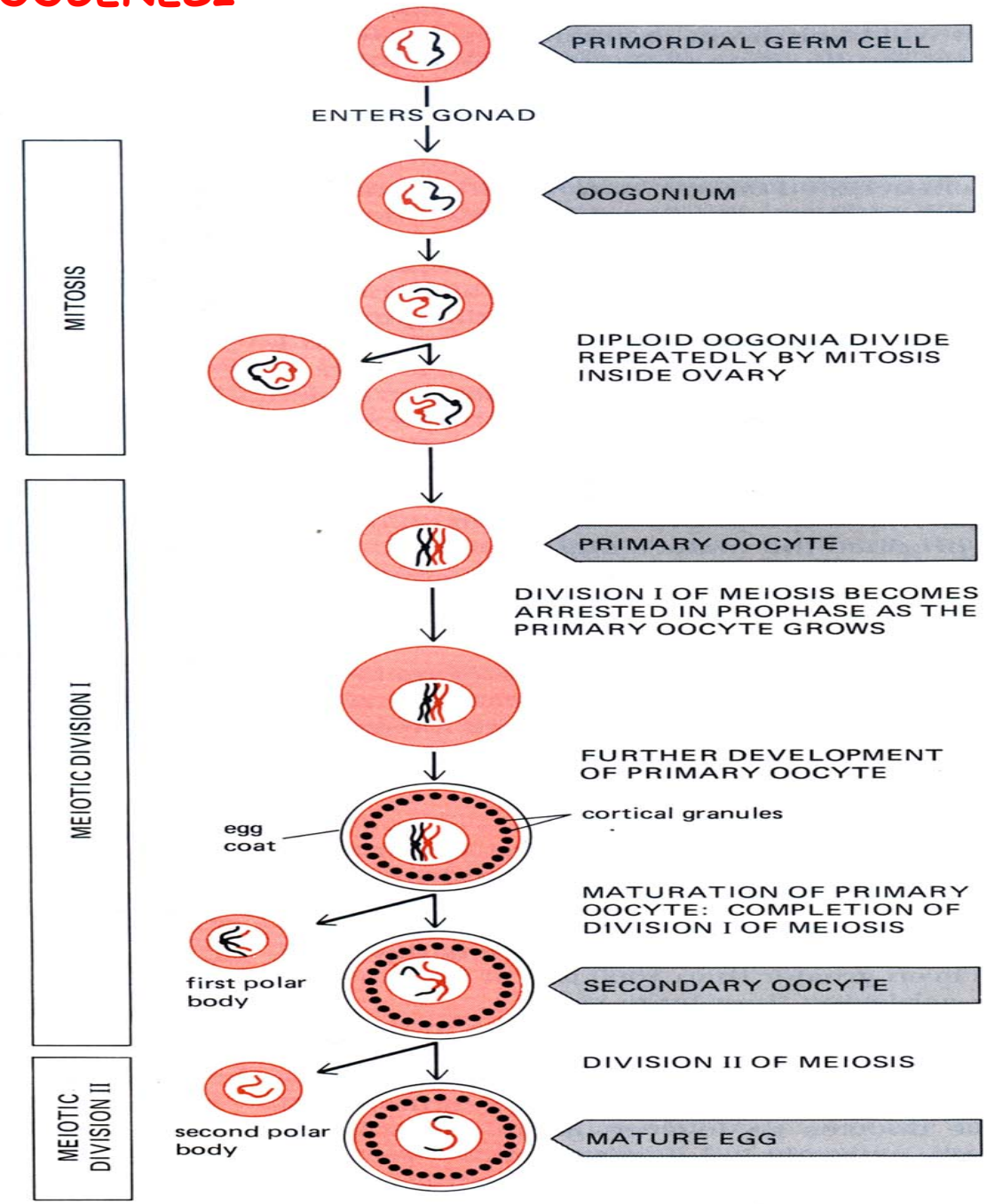


SPERMATOGENESI




Sertoli cell
spermatogonium
200 μm
lumen
basal lamina surrounding seminiferous tubule
Leydig cells
(A)
MITOSIS
MEIOTIC DIVISION I
MEIOTIC DIVISION II
Sertoli cell
basal lamina
spermatogonium
primary spermatocyte
secondary spermatocyte
spermatid
differentiating spermatid
spermatozoon in lumen
(B)

OOGENESI


MITOSIS
MEIOTIC DIVISION I
MEIOTIC DIVISION II
PRIMORDIAL GERM CELL
ENTERS GONAD
OOGONIUM
DIPLOID OOGONIA DIVIDE REPEATEDLY BY MITOSIS INSIDE OVARY
PRIMARY OOCYTE
DIVISION I OF MEIOSIS BECOMES ARRESTED IN PROPHASE AS THE PRIMARY OOCYTE GROWS
FURTHER DEVELOPMENT OF PRIMARY OOCYTE
egg coat
cortical granules
MATURATION OF PRIMARY OOCYTE: COMPLETION OF DIVISION I OF MEIOSIS
first polar body
SECONDARY OOCYTE
DIVISION II OF MEIOSIS
second polar body
MATURE EGG

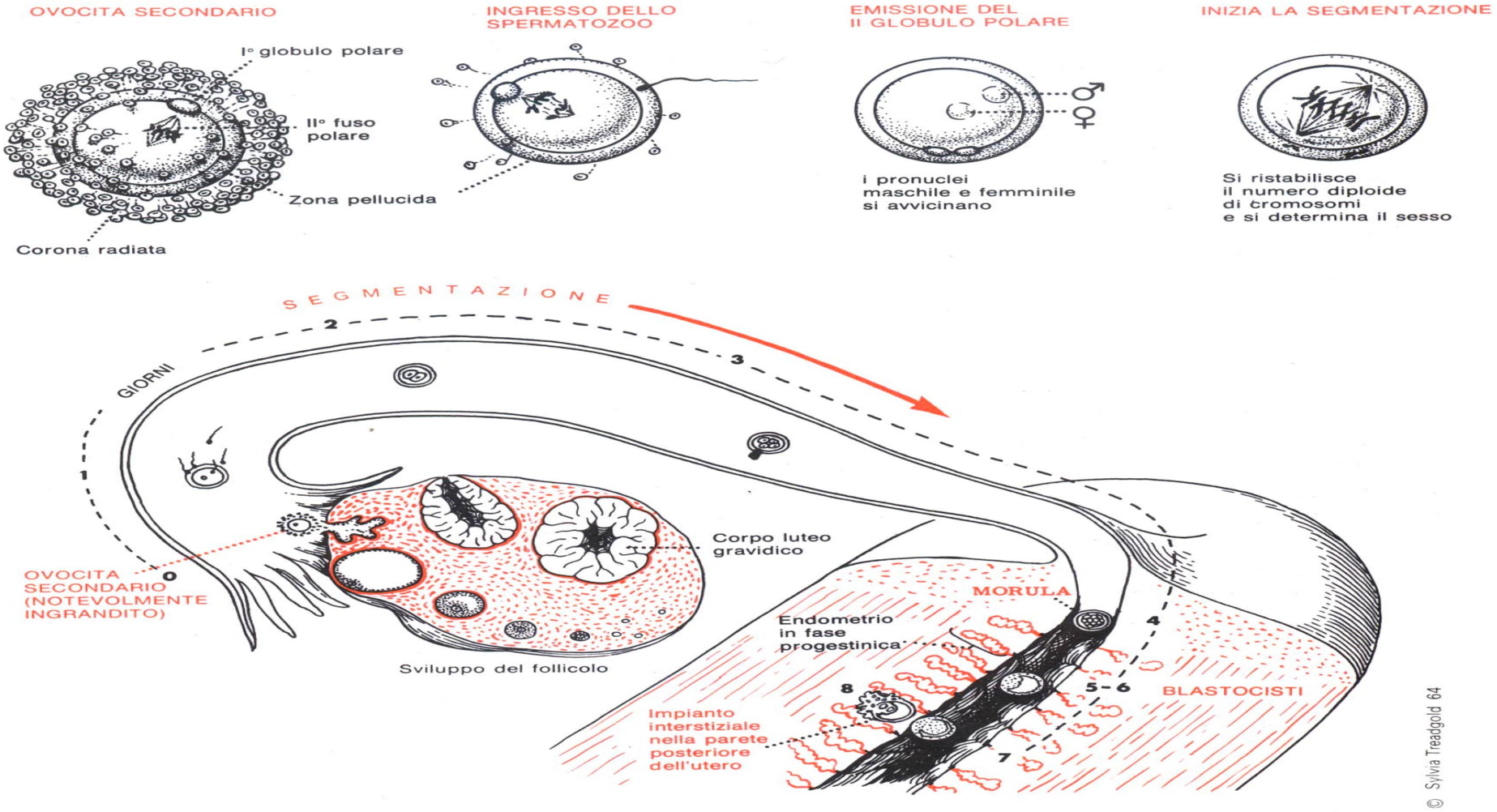
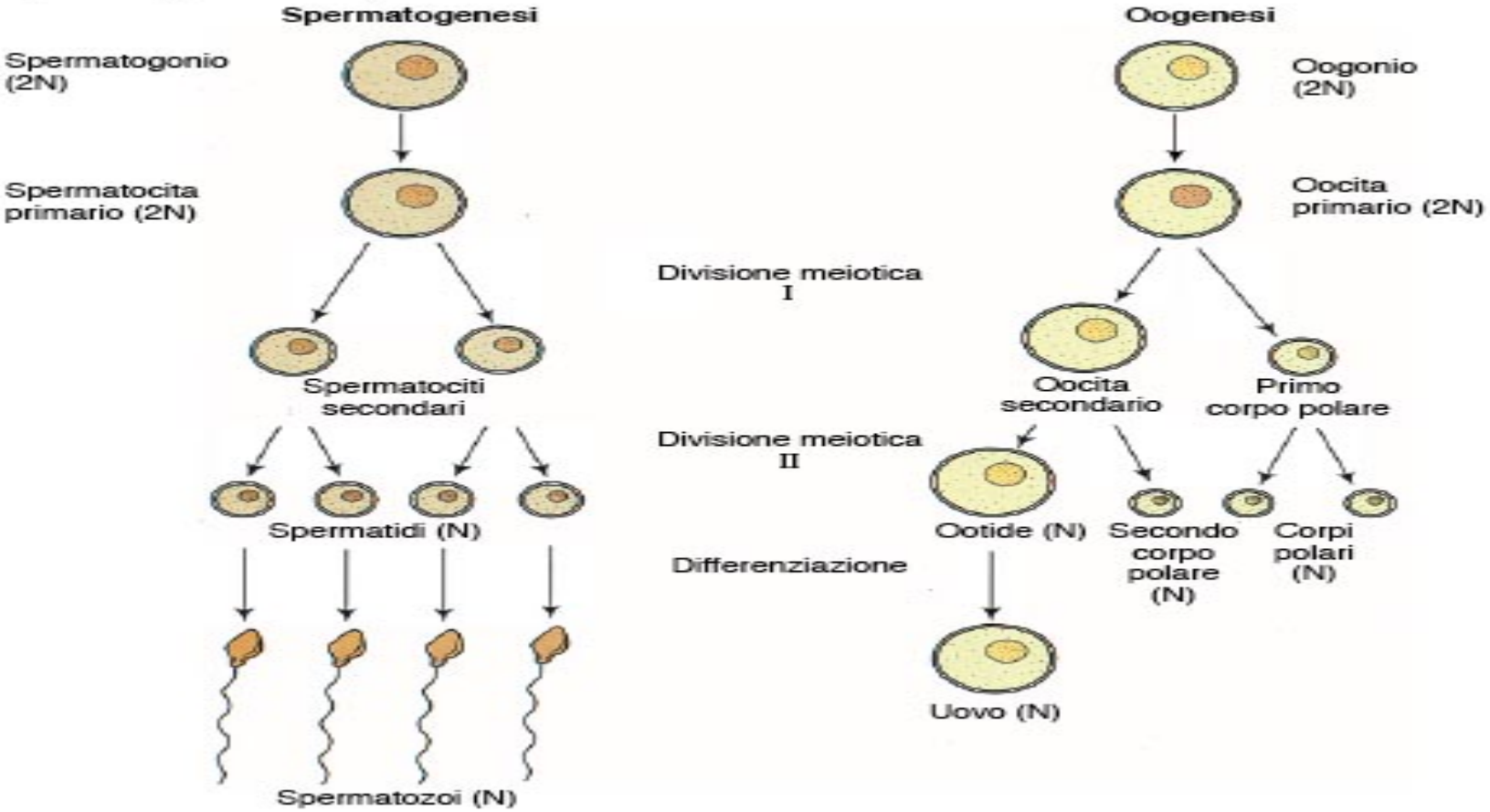


Fig. 56 Fecondazione, segmentazione ed impianto dell'uovo.

Spermatogenesi ed oogenesi in cellule animali.



La meiosi e la formazione dei gameti si realizzano in tempi e modi diversi nei due sessi

Tabella 7.3 Confronto della durata della meiosi tra maschi e femmine

Spermatogenesi		Oogenesi	
Comincia alla pubertà		**Comincia durante la vita embrionale**	
Spermatogonio ↓	16 giorni	Oogonio ↓	2-3 mesi dopo il concepimento
Spermatocita primario ↓	16 giorni	Oocita primario ↓	2-3 mesi di gravidanza. Rimane in meiosi I fino all'ovulazione, che può avvenire 12-50 anni più tardi
Spermatocita secondario ↓	16 giorni	Oocita secondario ↓	Meno di un giorno da quando si verifica la fecondazione
Spermatide ↓	16 giorni	Ootide	
Spermatozoo maturo Tempo totale	64 giorni	Uovo maturo-zigote Tempo totale	12-50 anni

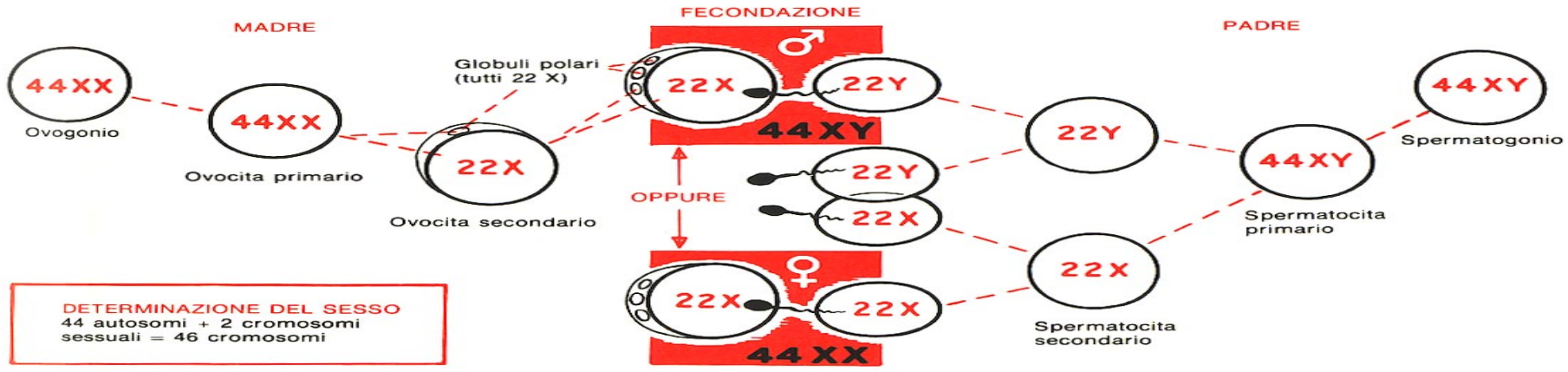
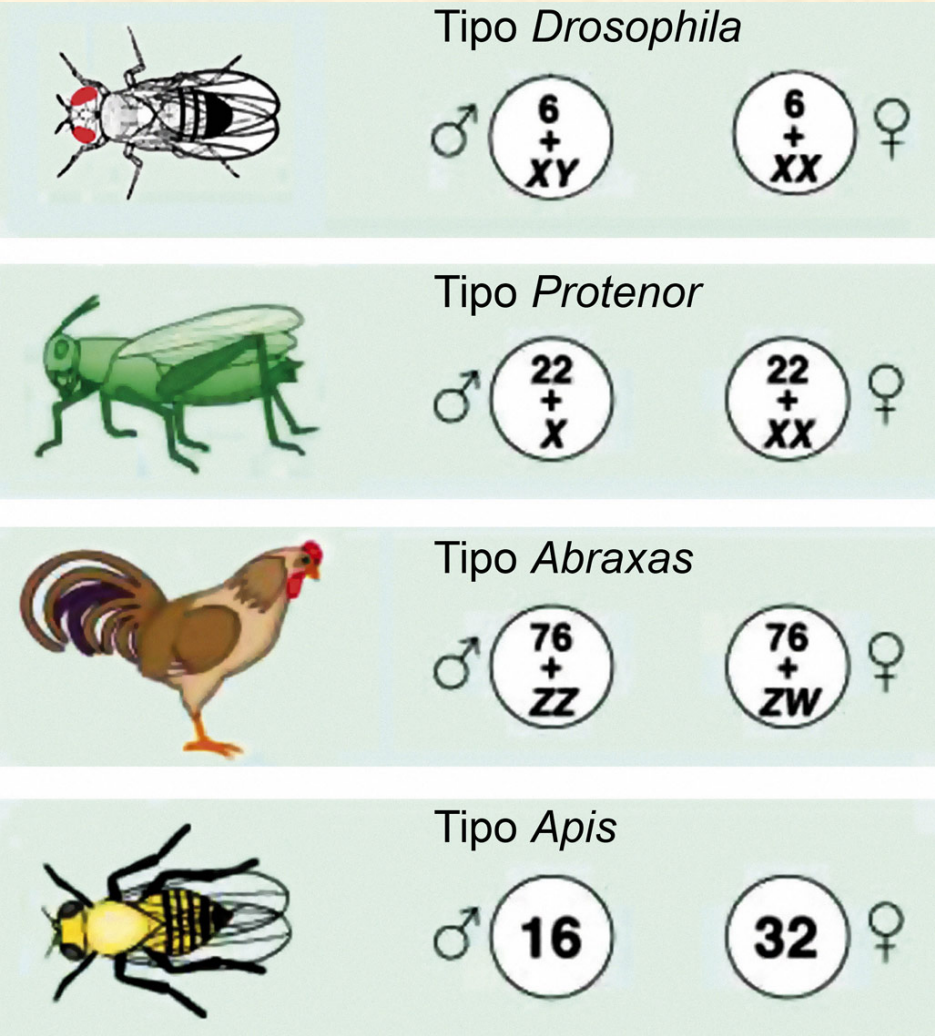


Fig. 12 Unione dei gameti; ripristino del numero diploide di cromosomi e determinazione del sesso.

Il <u>sesso cromosomico</u> viene determinato al momento della fecondazione ma il differenziamento sessuale inizia solo alla 7ª settimana di gestazione.

DETERMINAZIONE CROMOSOMICA DEL SESSO



Abraxas grossulariata 56, ZZ (maschio)
56, ZI (femmina) Eterogametia femminile

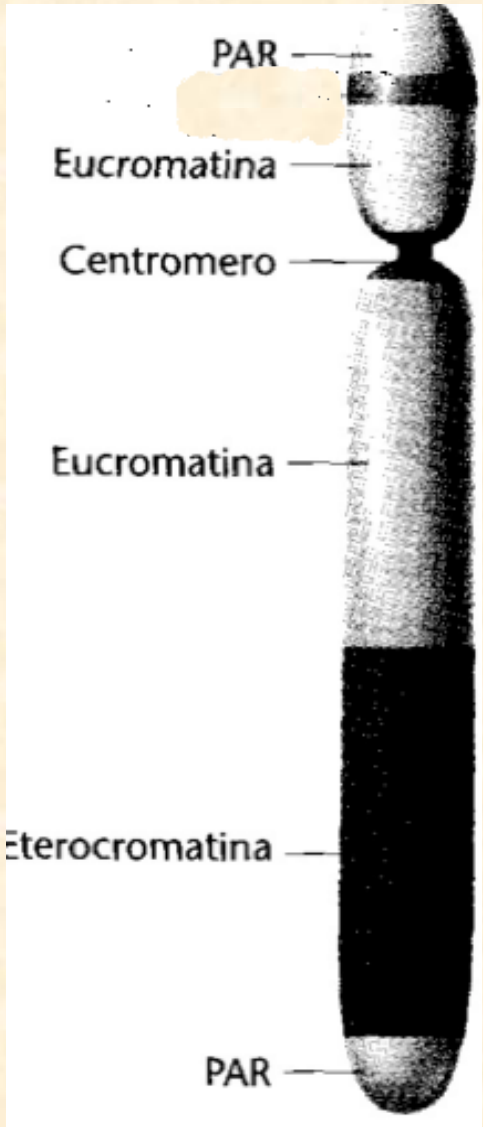
Determinismo cromosomico del sesso di tipo *Drosophila* (femmine XX e maschi XY), tipo *Protenor* (femmine XX e maschi XO eterogemetia maschile)) tipo *Abraxas* (femmine ZW e maschi ZZ). Nelle api (*Apis mellifera*) i maschi sono aploidi (*n*) e le femmine diploidi (2*n*).

CARIOTIPO	SINDROME	FREQUENZA	FENOTIPO
46,XX			femminile normale
46,XY			Maschile normale
45,XO	Turner	1/2500	Femmine con svilupp o sessuale ritardaro, sterili, statura bassa,lieve ritardo mentale
47,XXY	Klinefelter	1/500	Maschi subfertili con genitali ridotti, alta statura
47,XXX	Triplo X	1/700	Femmine normali
46,XX	Sex-reversed	rari	Maschi subfertili
46,XY	Disgenesia gonadica	rari	Femmine sterili

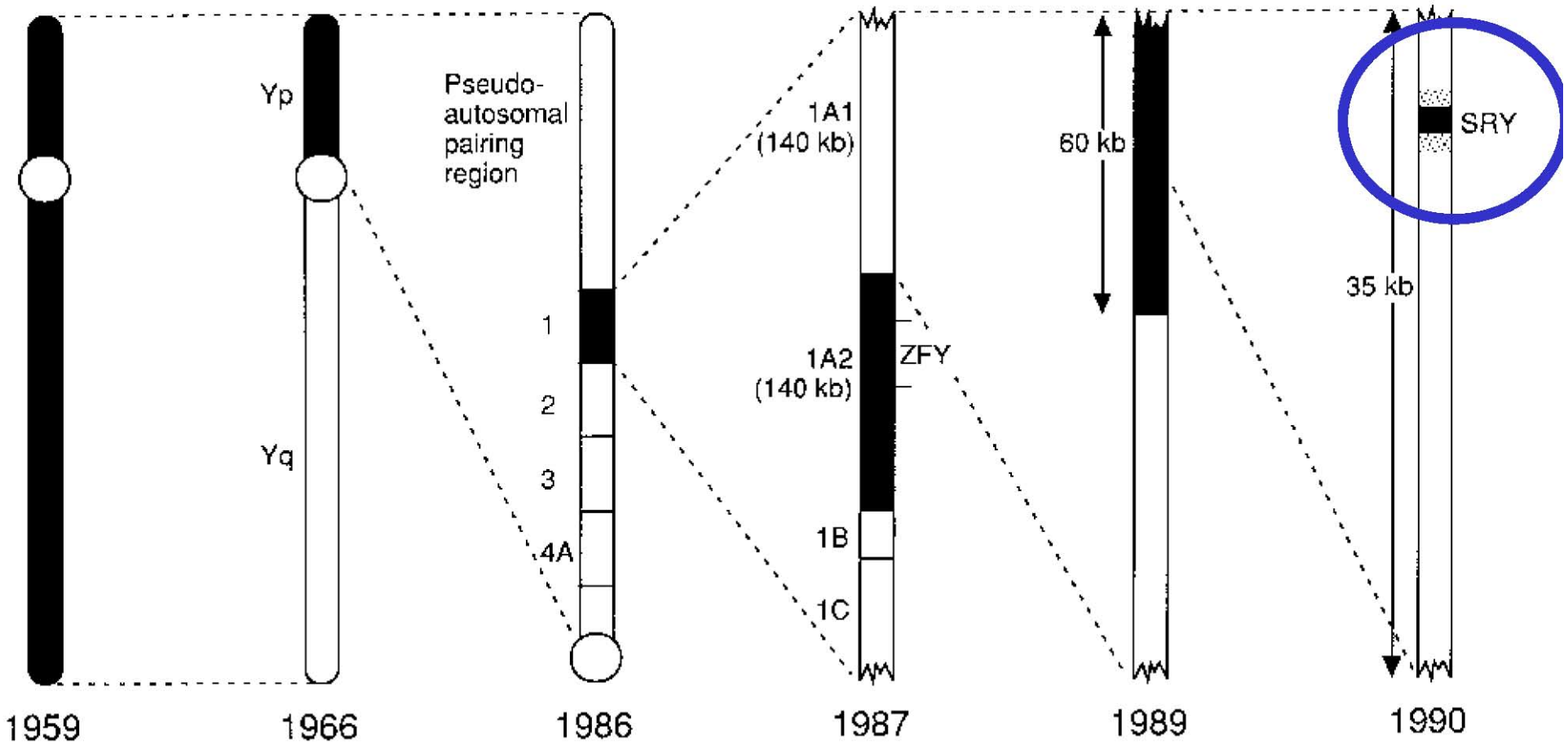
In Drosophila:

XO maschio sterile

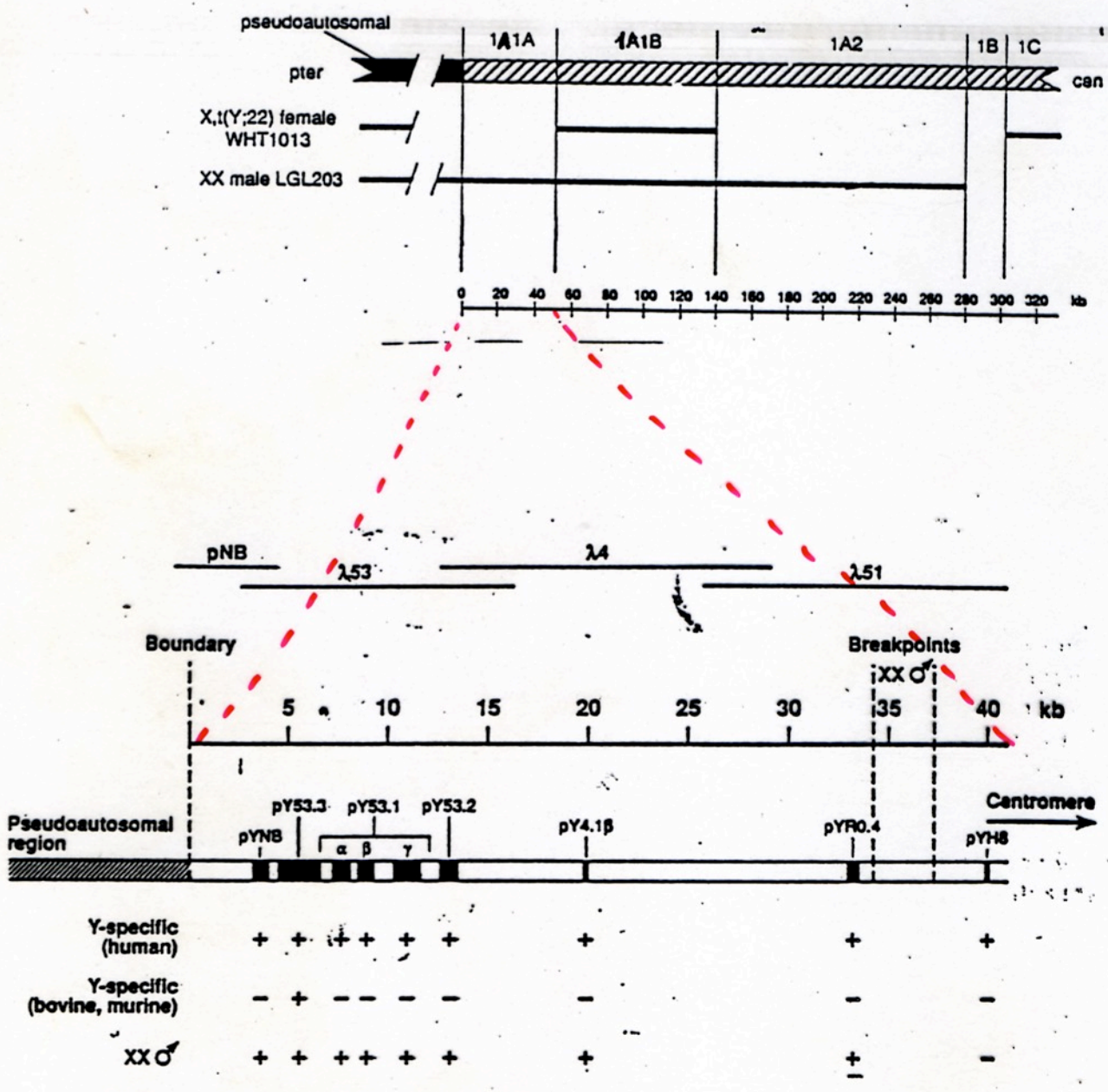
XXY femmina normale

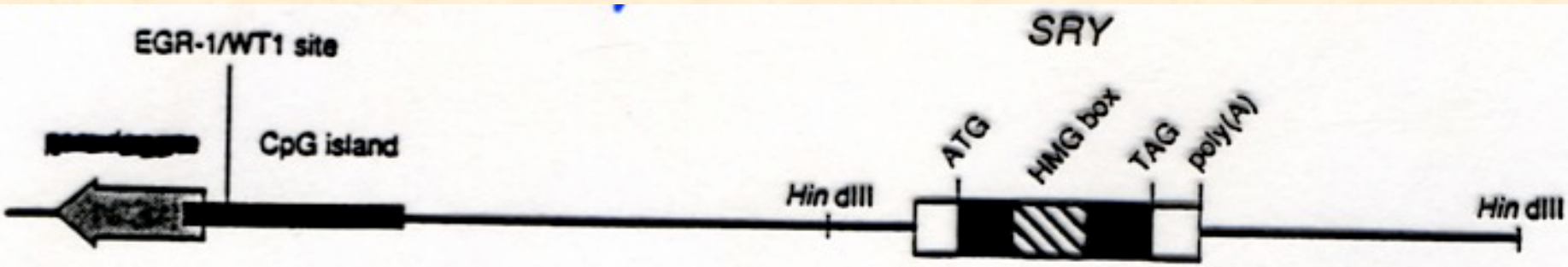

PAR
Eucromatina
Centromero
Eucromatina
Eterocromatina
PAR

SRY



Sex-determining Region of the Y chromosome


pseudoautosomal
pter
1A1A
1A1B
1A2
1B
1C
cen
X,t(Y;22) female
WHT1013
XX male LGL203
0 20 40 60 80 100 120 140 160 180 200 220 240 260 280 300 320 kb
pNB
λ53
λ4
λ51
Boundary
Breakpoints
XX ♂
5 10 15 20 25 30 35 40 kb
Pseudoautosomal region
pYNB
pY53.3
pY53.1
α β γ
pY53.2
pY4.1β
pYR0.4
pYH8
Centromere
Y-specific (human)
Y-specific (bovine, murine)
XX ♂



Gene 3800 bp
mRNA 2100 p
Proteina di 204 aa di 20.4 Kd con dominio HMG box di 80 aa
Sequenza riconosciuta A/TAACAAT/A

Dimostrazione gene SRY = TDF

•**Espressione stadio e tessuto-specifica**:

RT-PCR su estratti di mRNA provenienti da embrioni di topo 12.5 d.p.c. Il gene Sry è espresso solo nelle cellule somatiche delle creste urogenitali precursori delle cellule del Sertoli e non nelle cellule germinali primordiali

Il gene *Sry* mostra un profilo di espressione spazio temporale molto controllato. Nel topo la sua espressione inizia al 10.5 giorno *post concepimento* (dpc) appena compare il ponte genitale, ha il massimo livello di espressione a 11.5 dpc e scompare dopo il 12.5 dpc. Si esprime nelle cellule precursori le cellule del Sertoli.

•**Topi transgenici**

Costrutto di 14 kb in uove fertilizzate XX. Su 158 embrioni ottenuti, 2 avevano cordoni testicolari normali. Di questi 1 diventò adulto e fenotipicamente maschio per peso, dimensioni e comportamento sessuale, presentava genitali interni maschili ma sterile

•**Correlazione genotipo - fenotipo**

REVERSIONI SESSUALI PRIMARIE

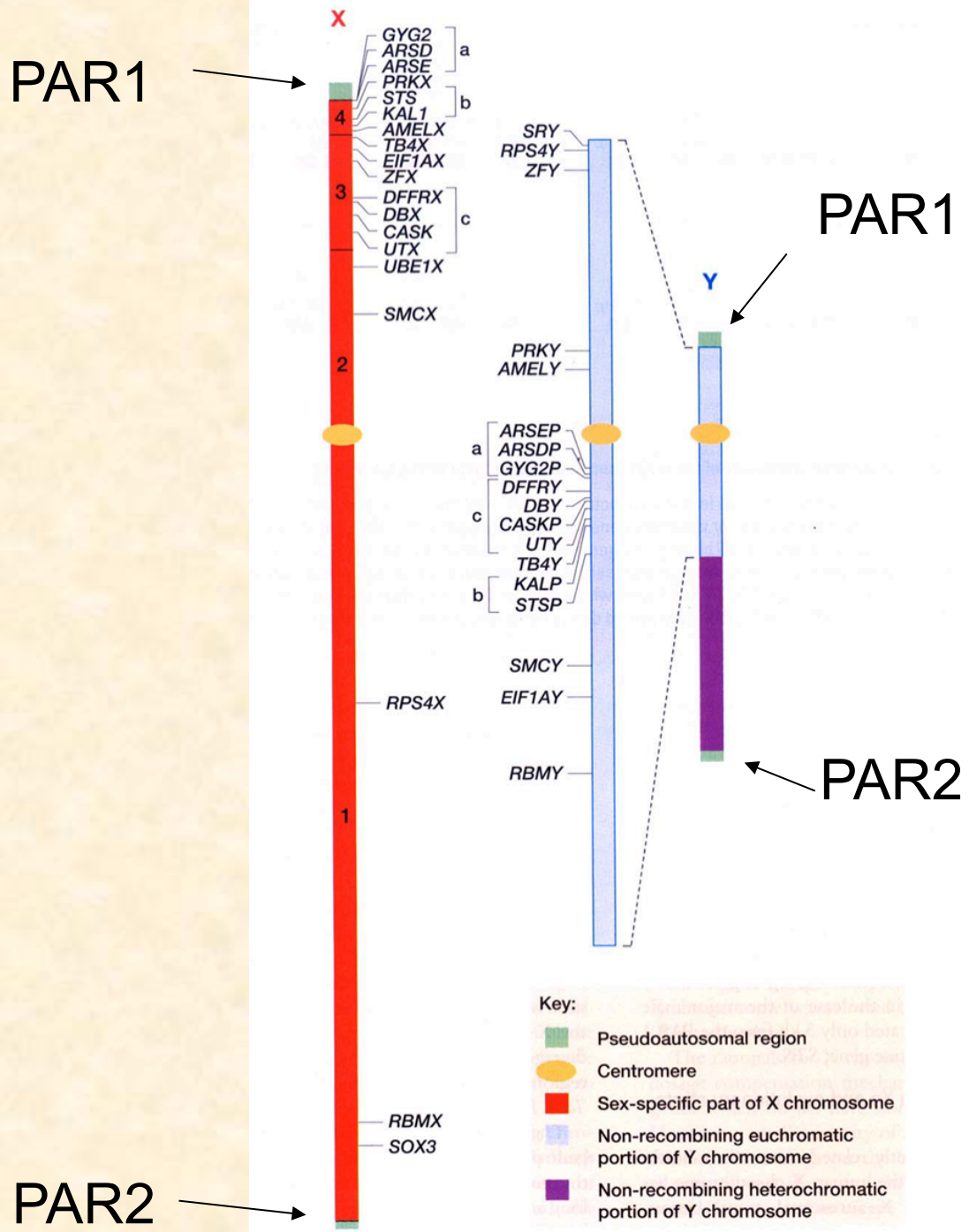
•Reversioni sessuali primarie XX:
maschi più o meno normali ma sterili.

Scambio anomalo tra cromosoma X e Y

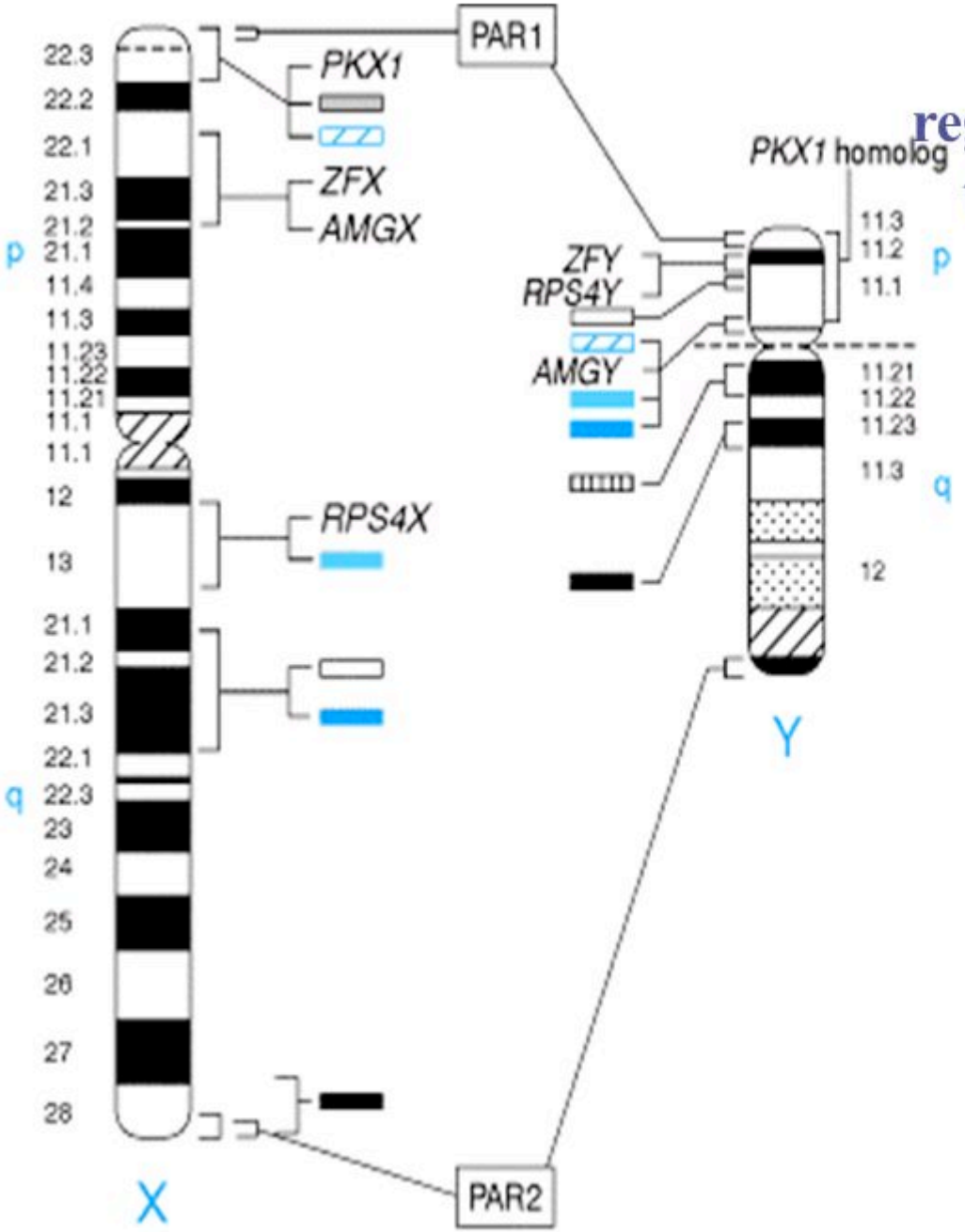
•Reversioni sessuali primarie XY o disgenesia gonadica pura (XYGD):
femmine con gonadi bilaterali indifferenziate, amenorrea primaria, caratteri sessuali secondari non sviluppati, predisposizione a neoplasie gonadiche

20-30% mutazioni nel gene SRY (delezioni o mutazioni puntiformi soprattutto nel dominio HMG)

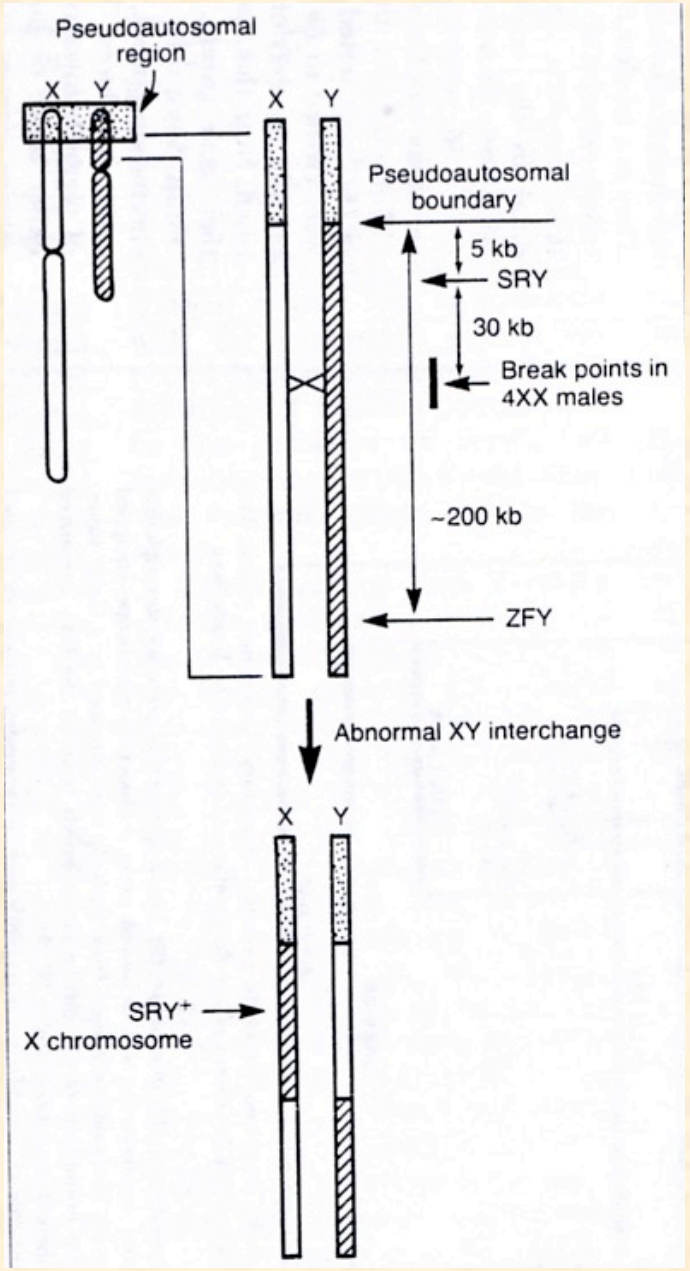
80-70% al di fuori del gene SRY ma associata al cromosoma X o autosomi

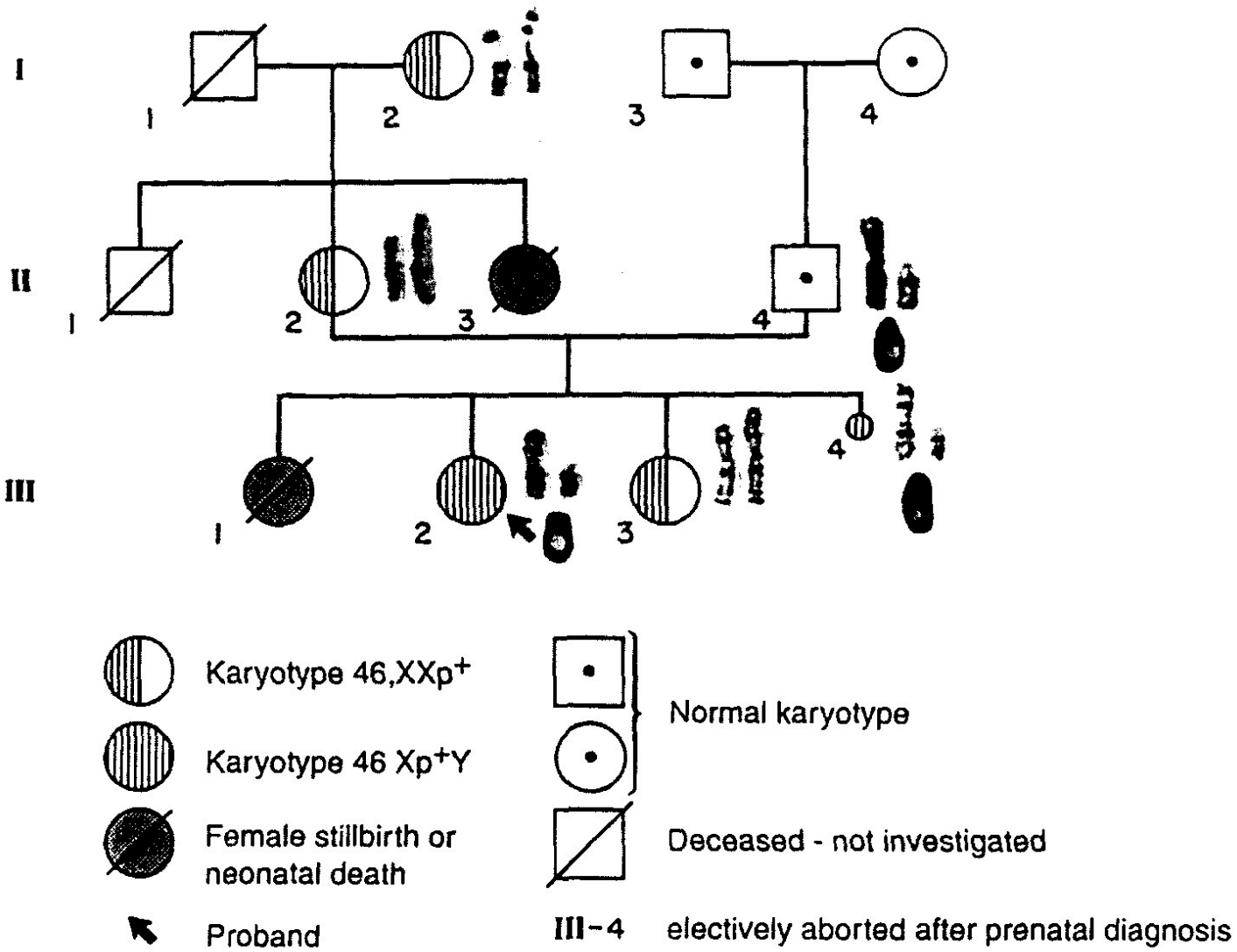

PAR1
PAR2
X
GYG2
ARSD
ARSE
PRKX
STS
KAL1
AMELX
TB4X
EIF1AX
ZFX
DFFRX
DBX
CASK
UTX
UBE1X
SMCX
RPS4X
RBMX
SOX3
a
b
c
4
3
2
1
SRY
RPS4Y
ZFY
PRKY
AMELY
ARSEP
ARSDP
GYG2P
DFFRY
DBY
CASKP
UTY
TB4Y
KALP
STSP
SMCY
EIF1AY
RBMY
Y
PAR1
PAR2
Key:
Pseudoautosomal region
Centromere
Sex-specific part of X chromosome
Non-recombining euchromatic portion of Y chromosome
Non-recombining heterochromatic portion of Y chromosome

The human X and Y chromosomes show several regions of homology in addition to the common pseudoautosomal regions



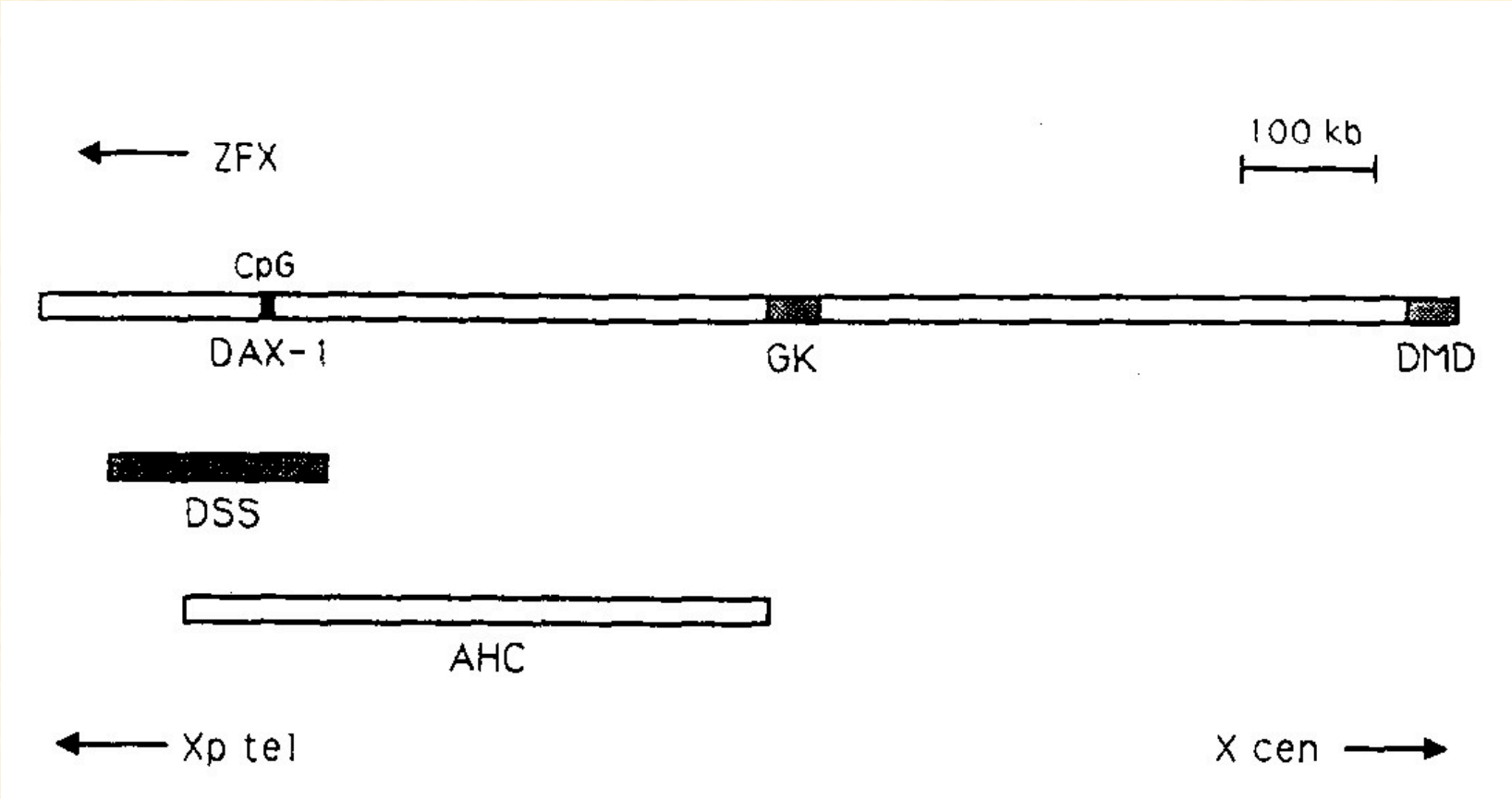
Estremità delle braccia corte dei cromosomi X e Y contengono le regioni pseudoautosomiche (2.6 Mb) che sono altamente omologhe e tra le quali si verificano ampie ricombinazioni durante la meiosi


Pseudoautosomal region
X
Y
X
Y
Pseudoautosomal boundary
5 kb
SRY
30 kb
Break points in 4XX males
~200 kb
ZFY
Abnormal XY interchange
X
Y
SRY+
X chromosome



III1 morto e non indagato
III2 probando morto a 5 anni
III3 femmina normale
III4 amniocentesi rivela un condizione Xp+Y e quindi aborto

Ipoplasia surrenalica congenita X-linked (DAX-1) Xp21.3
con disgenesia gonadica sensibile al dosaggio genico (DSS)



REVERSIONE SESSUALE E LA DISPLASIA CAMPOMELICA

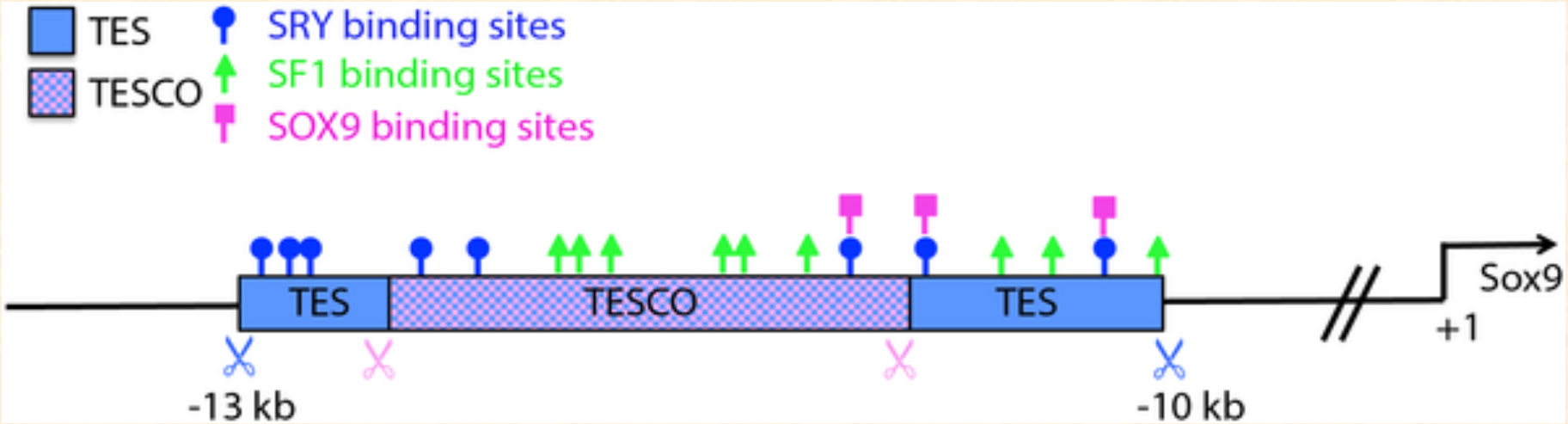
Nell'uomo soggetti eterozigoti per mutazioni nulle che alterano la funzione della proteina SOX9 o per traslocazioni che distruggono l'espressione del gene SOX9 (aploinsuffucienza) portano ad una condizione chiamata diplasia campomelica (CD, OMIM 114290, 17q24), un disordine scheletrico severo con un esito invariabilmente fatale nei primi anni di vita, con difetti non solo a livello dello sviluppo della cartilagine ma anche nello sviluppo di altri organi e tessuti come il CNS, fegato, rene e sistema sensoriale. In più circa il 70% dei soggetti CD XY presentano una reversione male-to-female indicando che il 50% del normale livello di SOX9 è un valore soglia per il differenziamento testicolare nell'uomo

I geni SOX codificano per un importante gruppo di fattori di trascrizione con un ruolo rilevante in molti aspetti dello sviluppo pre- e post- natale. Ci sono 20 geni Sox nei vertebrati che sono classificati in 9 gruppi. Sox8, Sox9 e Sox10 (gruppo SoxE) sono coinvolti nello sviluppo testicolare.

Sindrome Denys-Drash: aploinsufficienza di WT1 (zinc-finger) 11p3

WT1 interagisce con SF1 (9q33)

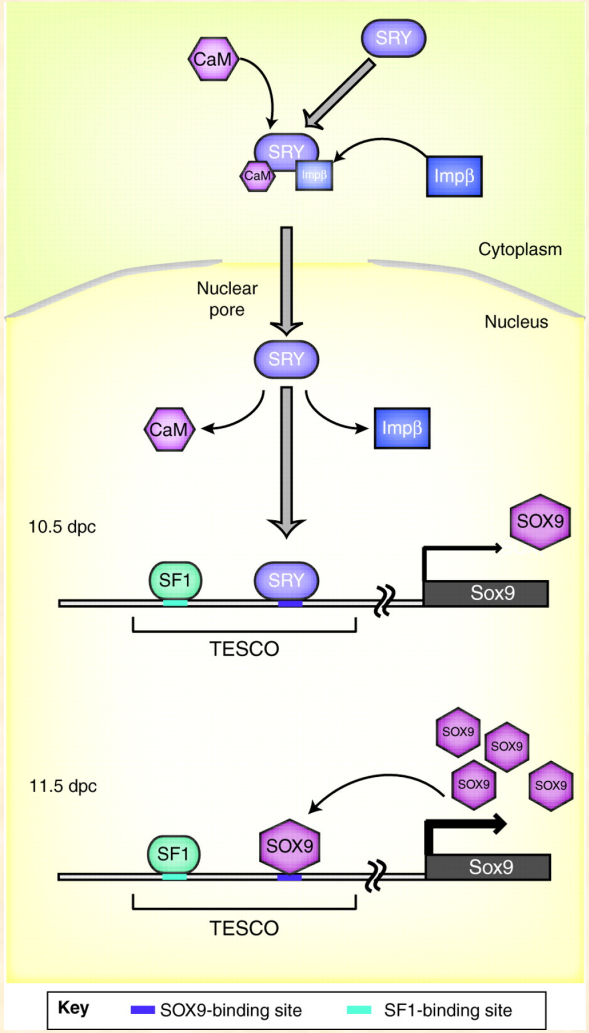
Schematic representation of TES and TESCO.



Allo stadio di determinazione sessuale, 41 dpc nell'uomo e 11.5 dpc nel topo SOX9 diventa down-regolato nell'ovaio e up-regolato nel testicolo. Questo incremento nei livelli di Sox9 coincide con il picco di espressione di SRY nelle cellule pre-Sertoli e implica ch Sox9 è un bersaglio di SRY.

Sry incrementa l'espressione di Sox9 legandosi in associazione con SF1 ad un enhancer testicolo specifico (TES) di 3.2Kb localizzato a circa 10 kb dal gene, che include una regione altamente conservata di 1.4 kb definita TESCO (TES core element).

Cellular mechanism of SRY/SOX9 function.



32 dpf nell'uomo

41 dpf nell'uomo

SOX9 ha tre differenti fasi di espressione durante lo sviluppo gonadico:

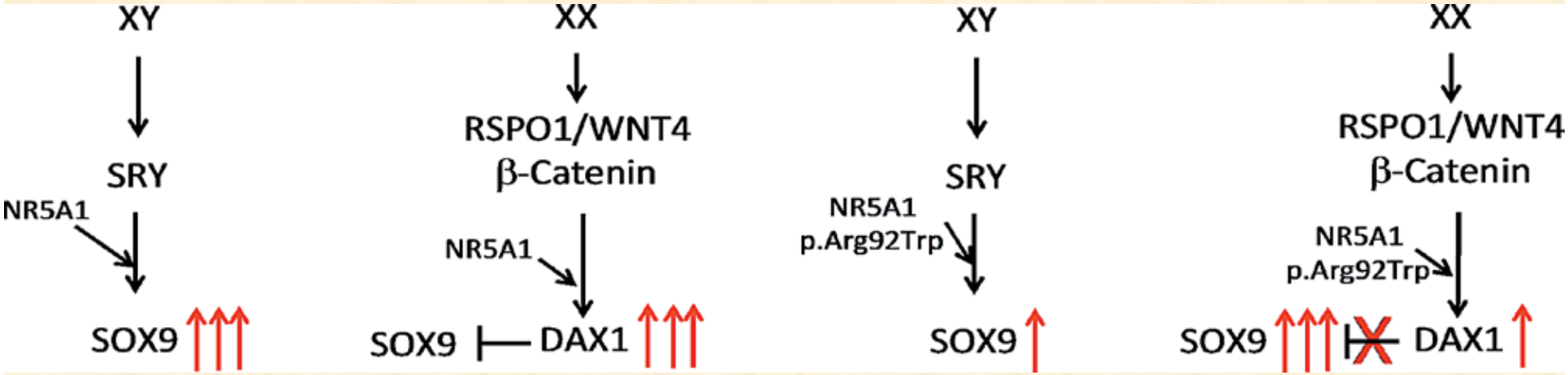
1) bassi livelli di espressione nei precursori delle cellule di supporto

2) aumento di livello di espressione dovuto al diretto effetto di SRY con SF1

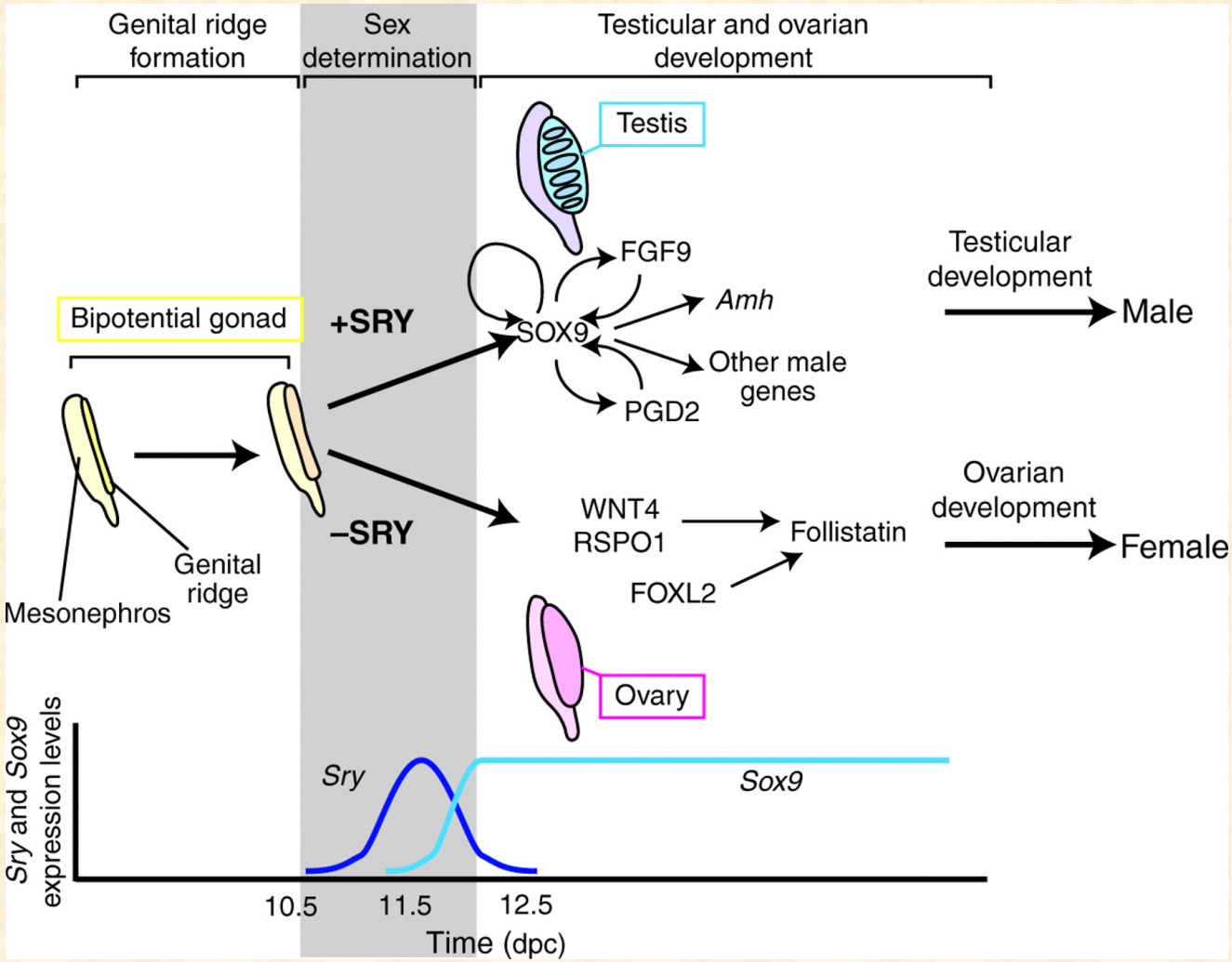
3) ulteriore up regolazione e consolidamento dei livelli di SOX9 che porta al differenziamento delle cellule del Sertoli. A questo stadio i livelli di SOX9 sono mantenuti da diversi loop che includono SOX9 che agisce su se stesso, così come quelli mediati da FGF9 e prostaglandina D2.

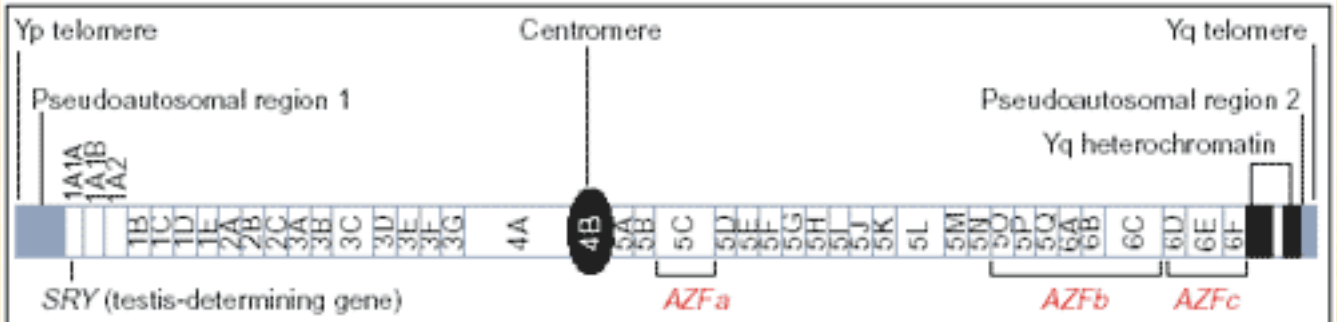
Insufficienza adrenalica: aploinsufficienza di *SF1/NR5A1* (9q33)

SF1 importante co-fattore

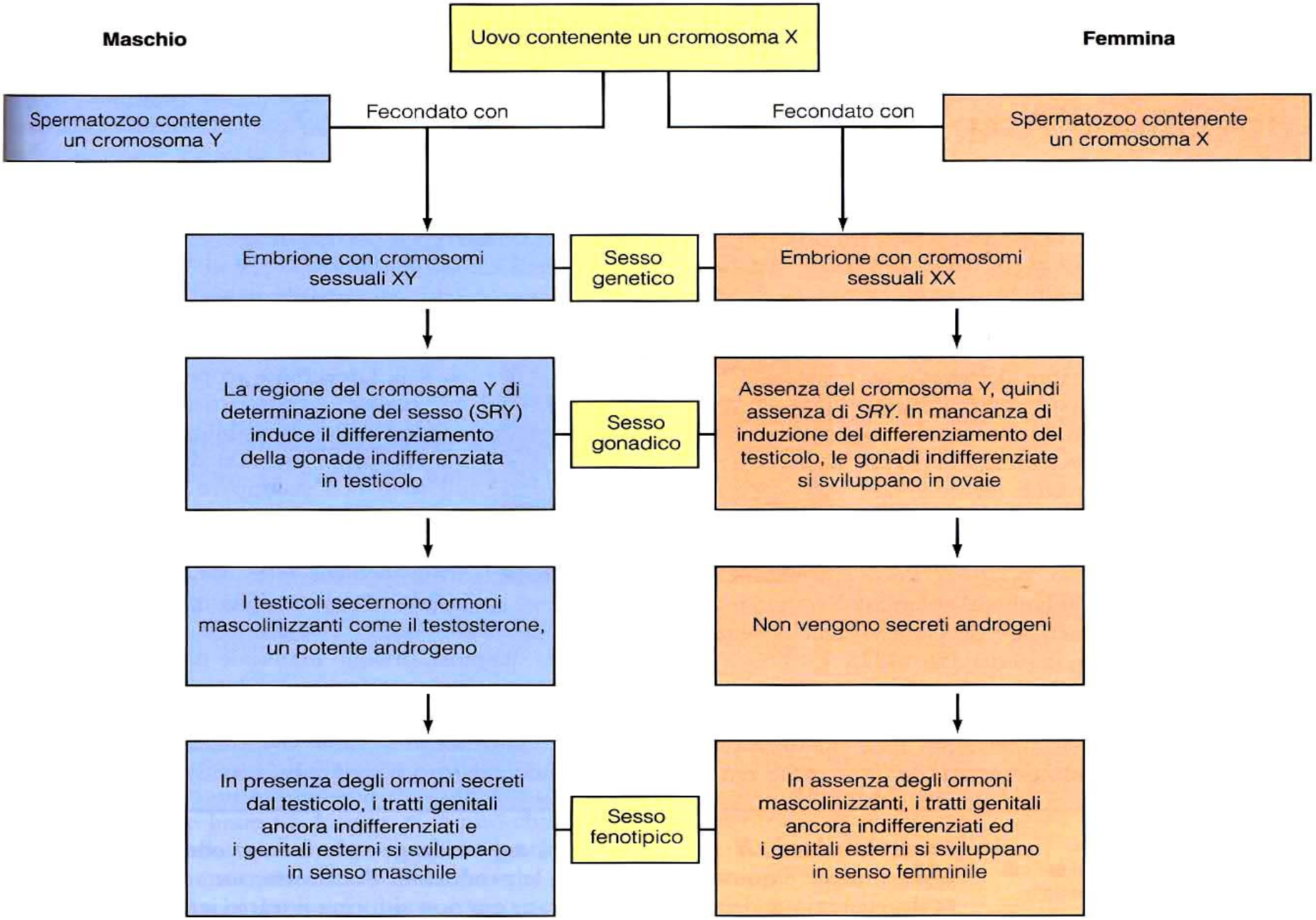


Schema dello sviluppo sessuale





Schematic representation of the euchromatic region of the human Y chromosome showing the intervals that have been defined by deletion mapping



Il processo di differenziamento sessuale e le tappe in cui si definiscono il sesso genetico, gonadico e fenotipico.