



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ**  
**ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ**  
**ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ**



ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΑΝΑΤΟΜΙΑΣ

Διευθυντής: Καθηγητής Δημήτριος Λ. ΑΡΒΑΝΙΤΗΣ

---

*Διδακτορική Διατριβή*

**" ΜΕΛΕΤΗ ΤΟΥ ΓΛΥΚΟΖΥΛΙΩΜΕΝΟΥ ΜΕ  
Ο-N-ΑΚΕΤΥΛΟΓΛΥΚΟΖΑΜΙΝΗ ΕΠΙΤΟΠΟΥ Η ΣΤΑ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΑ,  
ΥΠΕΡΠΛΑΣΤΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΤΑΠΛΑΣΤΙΚΑ ΚΥΤΤΑΡΑ ΤΟΥ ΤΡΑΧΗΛΟΥ  
ΤΗΣ ΜΗΤΡΑΣ"**

Υπό

**ΦΩΤΙΟΥ Ν. ΑΡΑΠΗ**

ΙΑΤΡΟΥ ΜΑΙΕΥΤΗΡΟΣ ΧΕΙΡΟΥΡΓΟΥ ΓΥΝΑΙΚΟΛΟΓΟΥ

Υπεβλήθη για την εκπλήρωση μέρους των

απαιτήσεων για την απόκτηση του

Διδακτορικού Διπλώματος

Λάρισα, 2013

© 2013 ΑΡΑΠΗΣ ΦΩΤΙΟΣ

Η έγκριση της διδακτορικής διατριβής από το Τμήμα Ιατρικής της Σχολής Επιστημών Υγείας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας δεν υποδηλώνει αποδοχή των απόψεων του συγγραφέα (Ν. 5343/32 αρ. 202 παρ. 2).

**Εγκρίθηκε από τα Μέλη της Επταμελούς Εξεταστικής Επιτροπής (1<sup>ο</sup>/21-02-2013 ΓΣΕΣ):**

- 1<sup>ος</sup> Εξεταστής  
(Επιβλέπων)** Δρ. Δημήτριος Λ. **Αρβανίτης**  
Καθηγητής Ανατομίας, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας
- 2<sup>ος</sup> Εξεταστής** Δρ. . Ιωάννης **Φεζουλίδης**  
Καθηγητής Ακτινολογίας, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας
- 3<sup>ος</sup> Εξεταστής** Δρ. Αθανάσιος **Καλλιτσάρης**  
Αναπληρωτής Καθηγητής Μαιευτικής και Γυναικολογίας, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας
- 4<sup>ος</sup> Εξεταστής** Δρ. Μάρκος **Σγάντζος**  
Επίκουρος Καθηγητής Ανατομίας, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας
- 5<sup>ος</sup> Εξεταστής** Δρ. Αικατερίνη **Βάσιου**  
Επίκουρος Καθηγήτρια Ανατομίας, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας
- 6<sup>ος</sup> Εξεταστής** Δρ. Μαρία **Ιωάννου**  
Επίκουρη Καθηγήτρια Παθολογικής Ανατομίας, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας
- 7<sup>ος</sup> Εξεταστής** Δρ. Σωτήριος **Σωτηρίου**  
Λέκτορας Εμβρυολογίας, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

## **ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ**

Ευχαριστώ ιδιαίτερω τον Καθηγητή και Διευθυντή του εργαστηρίου Ανατομίας του Παν/μίου Θεσσαλίας κ. Δημ.Αρβανίτη, ο οποίος ως επιβλέπων της διατριβής μου , με συμβούλευσε και με κατηύθυνε σε όλη την διάρκεια των εργασιών αυτής της διατριβής. Ακόμα θέλω να ευχαριστήσω και τα υπόλοιπα μέλη της τριμελούς επιτροπής, τον Αναπληρωτή Καθηγητή της Μαιευτικής και Γυναικολογίας του Ιατρικού Τμήματος του Παν/μίου Θεσσαλίας κ. Αθανάσιο Καλλιτσάρη και τον επίκουρο καθηγητή Ανατομίας του Ιατρικού Τμήματος Παν/μίου Θεσσαλίας κ. Μάρκο Σγάντζο για τις πολύτιμες συμβουλές τους.

Αράπης Φώτιος

## ΣΥΝΤΟΜΟ ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ

**ΟΝΟΜΑ:** Φώπιος Αράπης

**ΟΝΟΜΑ ΠΑΤΡΟΣ-ΜΗΤΡΟΣ:** Νικόλαος - Δήμητρα

**ΕΙΔΙΚΟΤΗΤΑ:** Μαιευτήρ-Χειρουργός-Γυναικολόγος

**ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ ΓΕΝΝΗΣΕΩΣ:** 5 ΜΑΪΟΥ 1971

**ΤΟΠΟΣ ΓΕΝΝΗΣΕΩΣ:** Αθήνα

**ΥΠΗΚΟΟΤΗΣ:** Ελληνική

**ΟΙΚΟΓ. ΚΑΤΑΣΤΑΣΗ:** Έγγαμος, πατέρας τριών παιδιών, 10, 8 και 2 ετών

**ΔΙΕΥΘΥΝΣΗ ΟΙΚΙΑΣ:** Χρυσ.Σμύρνης 64 Ηλιούπολη-Αθήνα  
Μητρ. Γερμανού 3 Σπάρτη

**ΤΗΛΕΦΩΝΟ:** 6944 68 69 70      Email: fnarapis@gmail.com

**ΠΑΡΟΥΣΑ ΘΕΣΗ:** Επιμελητής Β΄ Μ/Γ Κλινική, Γενικό Νοσοκομείο Σπάρτης

**ΣΤΡΑΤ. ΘΗΤΕΙΑ:** ΠΟΛΕΜΙΚΟ ΝΑΥΤΙΚΟ

Σημαιοφόρος Έφεδρος Αξιωματικός – Ιατρός (07/1998-06/2000)

**ΞΕΝΕΣ ΓΛΩΣΣΕΣ:** Γαλλικά (Sorbonne 1)

Αγγλικά

**ΓΝΩΣΗ Η/Υ:** Microsoft Office (ECDL)

Γεννήθηκα στην Αθήνα το 1971.

Αποφοίτησα από το 2<sup>ο</sup> Γενικό Λύκειο Ηλιουπόλεως με βαθμό «**Αριστα**»

Ενεγράφημ το 1990 στην **Ιατρική Σχολή** του **Ε.Κ.Π.Αθηνών**, μετά από επιτυχή συμμετοχή στις Πανελλαδικές εξετάσεις του ίδιου έτους. Απεφοίτησα το 1996 με βαθμό «**Λίαν Καλώς**».

Ελαβα την άδεια ασκήσεως του ιατρικού επαγγέλματος με την απόφαση 26479/16-02-1996 της Νομαρχίας Αθηνών.

Εν συνεχεία υπηρέτησα επί 16 μήνες (15/01/97 – 28/04/98) στο Κ.Υ. ΚΑΣΤΟΡΕΙΟΥ Λακωνίας ως Αγροτικός Ιατρός (υποχρεωτική υπηρεσία υπαίθρου και τρίμηνη παράταση) όπου και διενεργούσα εφημερίες. Ταυτόχρονα και ελλείπει Διευθυντή εκτελούσα χρέη Διευθυντή του Κέντρου Υγείας (με την Φ/ΤΠ/23/1931-27/02/1997 απόφαση του Προέδρου του Δ.Σ. του ΓΝΝΣπάρτης).

Τον Απρίλιο του 1998 ξεκίνησα την ειδίκευση στη Γενική Χειρουργική στο Γ.Ν.Ν.Σπάρτης (29/04/98-15/07/98), η οποία διεκόπη στις 15/07/1998, λόγω στράτευσης. Κατά το χρονικό αυτό διάστημα συμμετείχα ενεργά στις εφημερίες της κλινικής, καθώς και στο επιστημονικό και εκπαιδευτικό της έργο.

Τον Ιούλιο του 1998 κατετάγημ στο Πολεμικό Ναυτικό. Έλαβα το βαθμό του Εφέδρου Σημαιοφόρου Ιατρού (ΣΕΑ-Ανθυπολοχαγού). Υπηρέτησα επί 17 μήνες στη Διοίκηση Ταχέων Σκαφών, ως Τμηματάρχης Υγειονομικού της Βάσης Ταχέων Σκαφών, υπεύθυνος για την υγειονομική περίθαλψη και φροντίδα του προσωπικού της Βάσης καθώς και όλων των υπαγομένων σε αυτήν πλοίων (συνολικά 25), στις αποστολές και τα ταξίδια των οποίων συμμετείχα ενεργά. Διενεργούσα τακτικές εφημερίες στο Θεραπευτήριο του Κέντρου Εκπαίδευσης «ΠΑΛΑΣΚΑΣ». Στη συνέχεια υπηρέτησα για 4 μήνες στην Α' Χειρ/κή Κλινική του Ναυτικού Νοσοκομείου Αθηνών σε θέση ειδικευόμενου ιατρού. Κατά το χρονικό αυτό διάστημα συμμετείχα ενεργά στις εφημερίες της κλινικής, καθώς και στο επιστημονικό και εκπαιδευτικό της έργο.

Το Σεπτέμβριο του 2000 (26/09/2000) διορίστηκα εκ νέου στη Χειρ/κή Κλινική του Γ.Ν.ΣΠΑΡΤΗΣ για να συνεχίσω την ειδίκευση στη Γενική Χειρουργική, η οποία ολοκληρώθηκε στις 08/07/2001. Συνέχισα κατόπιν στην ίδια κλινική ως υπεράριθμος έμμισθος ειδικευόμενος ιατρός έως την 30/11/2001. Από την 01/12/2001 έως την 16/12/2002 τοποθετήθηκα ως υπεράριθμος έμμισθος ειδικευόμενος ιατρός στη Μαιευτική/Γυναικολογική Κλινική του Γ.Ν.Σπάρτης. Κατά το χρονικό αυτό διάστημα συμμετείχα ενεργά στις εφημερίες των αντιστοίχων κλινικών, καθώς και στο επιστημονι-

κό και εκπαιδευτικό τους έργο. Εκπαιδεύτηκα σε ένα ευρύτατο κομμάτι της ειδικότητας μου,συμμετέχοντας σε ικανότατο αριθμό χειρουργείων, καισαρικών τομών και τοκετών, στα εξωτερικά ιατρεία (τακτικά και επείγοντα), καθώς και σε όλες τις δραστηριότητες της κλινικής. Επίσης συμμετείχα ως μέλος του Δ.Σ. και της Επιστημονικής Επιτροπής του Ιατρικού Συλλόγου Λακωνίας στη διοργάνωση συνεδρίων και ημερίδων, ενώ ως ομιλητής έδωσα διαλέξεις σε ικανό αριθμό σχολείων και κοινωνικών φορέων της περιοχής.

Το Δεκέμβριο του 2002 (19/12/2002) διορίστηκα στο Π.Γ.Μαιευτήριο «Ελενας Βενιζέλου» ως έμμισθος ειδικευόμενος, για να συνεχίσω την ειδίκευσή μου στη Μαιευτική και Γυναικολογία, η οποία ολοκληρώθηκε στις 30/12/2006. Στο διάστημα αυτό εκπαιδεύτηκα σε ένα ευρύτατο κομμάτι της ειδικότητος μου,συμμετέχοντας σε ικανότατο αριθμό χειρουργείων, καισαρικών τομών και τοκετών, στα εξωτερικά ιατρεία (τακτικά και επείγοντα), στα επιμέρους διαγνωστικά, κλινικά και επεμβατικά τμήματα (υπέρηχοι, προγεννητικός έλεγχος, κυήσεις υψηλού κινδύνου,τμήμα υπογονιμότητας και εξωσωματικής γονιμοποίησης, λαπροσκοπήσεων και υστεροσκοπήσεων κ.α.), συμμετείχα στις εφημερίες καθώς και σε όλες τις δραστηριότητες της κλινικής. Επίσης ειδικεύθηκα στα τμήματα της Παθ.Ανατομικής, Κυτταρολογίας και Ενδοκρινολογίας, για το αντίστοιχο χρονικό διάστημα που απαιτείται.

Το Μάρτιο του 2007 έλαβα, μετά από επιτυχή συμμετοχή στις αντίστοιχες εξετάσεις, τον τίτλο ειδικότητος της Μαιευτικής και Γυναικολογίας. (4941/13-03-2007 απόφαση Νομαρχίας Αθηνών).

Τον Ιούνιο του 2007, (25/06/2007), διορίστηκα στη Μαιευτική/Γυναικολογική Κλινική του Γ.Ν.Σπάρτης ως επικουρικός Επιμελητής Β', με ετήσια θητεία, όπου και συνεχίζω να υπηρετώ, ως μόνιμος Επιμελητής Β,' μετά από τέσσερεις διαδοχικές θητείες ως επικουρικός ιατρός (25/06/2007-24/06/2008, 09/07/2008-08/07/2009, 20/07/2009 έως 19/07/2010, 24/12/2010 έως 21/7/2011) και από 22/7/2011 (ως μόνιμος Επιμ. Β'), έως και σήμερα.

Πρόκειται για μια κλινική που εφημερεύει καθημερινά και καλύπτει σχεδόν αποκλειστικά, ολόκληρο το Νομό Λακωνίας, σε μαιευτικά και γυναικολογικά περιστατικά,με δυναμικό τρεις ειδικευμένους ιατρούς και έναν ειδικευόμενο. Το εύρος των ιατρικών πράξεων που τελούνται σε αυτήν, καλύπτει στο σύνολό της σχεδόν τη σύγχρονη άσκηση της Μαιευτικής και Γυναικολογίας (τοκετοί 550/έτος , χειρουργεία 185/έτος , μικροχειρουργικές επεμβάσεις, λαπαροσκοπικές επεμβάσεις 17/έτος , μαιευτικά και γυναικολογικά εξωτερικά ιατρεία 4500/έτος, κολποσκοπήσεις-ανίχνευση HPV, υπερηχογραφήματα μαιευτικά και γυναικολογικά, υπογονιμότητα-καθέξιν αποβολές – κυήσεις υψηλού κινδύνου κλπ.

Από το διορισμό μου στην ανωτέρω κλινική, έχω ορισθεί ως υπεύθυνος για τη λειτουργία των Τακτικών Εξωτερικών Ιατρείων, στα οποία εξετάζονται περί τα 4500 περιστατικά (μαιευτικά και γυναικολογικά) ετησίως. Εκτελώ 11 έως 16 εφημερίες μηνιαίως, ως μοναδικός εφημερεύων για τα επείγοντα μαιευτικά και γυναικολογικά περιστατικά ολόκληρου του νομού, ενώ συχνά καλύπτω έκτακτες ανάγκες της κλινικής, σε ημέρες μη εφημερίας. Ταυτόχρονα έχω πραγματοποιήσει ικανότατο αριθμό τοκετών, καισαρικών τομών, γυναικολογικών χειρουργείων, λαπαροσκοπικών επεμβάσεων και μικροεπεμβάσεων. Στο τμήμα υπερήχων της κλινικής, διενεργώ όλους τους τακτικούς μαιευτικούς υπερηχογραφικούς ελέγχους και τα διαγνωστικά γυναικολογικά υπερηχογραφήματα. Παράλληλα συμμετέχω ενεργά στο επιστημονικό και εκπαιδευτικό έργο της κλινικής, που αφορά την εκπαίδευση ειδικευομένων και αγροτικών ιατρών, μαιών και νοσηλευτικού προσωπικού, με τακτικό πρόγραμμα μαθημάτων, αλλά και με συμμετοχή στο διδακτικό πρόγραμμα της Σχολής Νοσηλευτικής ΑΕΙ του Πανεπιστημίου Πελοποννήσου. (βλ πιστοποιητικό προπτυχιακής, βεβαίωση Διευθυντή Μ/Γκλιν., βεβαίωση Διευθυντή Ιατρικής Υπηρεσίας, βεβαίωση Προέδρου Επιστημονικού Συμβουλίου, βεβαίωση Πανεπιστημίου Πελοποννήσου).

Παράλληλα ως μέλος του Δ.Σ. και της Επιστημονικής Επιτροπής του Ιατρικού Συλλόγου Λακωνίας, αλλά και του Επιστημονικού Συμβουλίου του Νοσοκομείου, συμμετέχω ενεργά στην οργάνωση συνεδρίων και ημερίδων, στην περιοχή ευθύνης του συλλόγου και ως ομιλήτης, έχω πραγματοποιήσει ικανό αριθμό ενημερωτικών διαλέξεων σε φορείς, σχολεία και Μ.Μ.Ε. του νομού. (βλ. βεβαιώσεις Ιατρικού Συλλόγου).

Τέλος, συμμετέχω στην υλοποίηση προγραμμάτων προληπτικής ιατρικής, σε απομακρυσμένα κυρίως σημεία του νομού (προληπτική γυναικολογική εξέταση-λήψη τεστ Παπανικολάου).

Συνοπτικά η προϋπηρεσία μου αναφέρεται στον επόμενο πίνακα.

## **ΙΑΤΡΙΚΗ ΠΡΟΫΠΗΡΕΣΙΑ**

16/02/1996 Άδεια ασκήσεως ιατρικού επαγγέλματος με την απόφαση 26479/16-02-1996 της Νομαρχίας Αθηνών.



15/01/1997 – 28/04/1998 **Κ.Υ. ΚΑΣΤΟΡΕΙΟΥ ΛΑΚΩΝΙΑΣ**

*Αγροτικός Ιατρός*

Υπηρεσία υπαίθρου και 3μηνη παράταση (υπεύθυνος για το Κέντρο Υγείας  
ελλείπει Δ/ντή, με απόφαση του Προέδρου του Δ.Σ. του Γ.Ν.Σπάρτης)

29/04/1998 – 15/07/1998 **ΓΕΝΙΚΟ ΝΟΜΑΡΧΙΑΚΟ ΝΟΣΟΚΟΜΕΙΟ ΣΠΑΡΤΗΣ**

*Ειδικευόμενος Ιατρός Χειρουργικής*

07/1998 – 06/2000

**ΠΟΛΕΜΙΚΟ ΝΑΥΤΙΚΟ**

*Έφεδρος Σημαιοφόρος Ιατρός(ανθυπολοχαγός)*

- 17 μήνες Τμηματάρχης Υγειονομικού της Βάσης Ταχέων Σκαφών
- 4 μήνες στην Α' Χειρ/κή Κλινική του Ναυτικού Νοσοκομείου Αθηνών σε θέση ειδικευόμενου ιατρού.

26/09/2000 – 08/07/2001 **ΓΕΝΙΚΟ ΝΟΜΑΡΧΙΑΚΟ ΝΟΣΟΚΟΜΕΙΟ ΣΠΑΡ-  
ΤΗΣ**

*Ειδικευόμενος Ιατρός Χειρουργικής*

09/07/2001 – 30/11/2001 **ΓΕΝΙΚΟ ΝΟΜΑΡΧΙΑΚΟ ΝΟΣΟΚΟΜΕΙΟ**

**ΣΠΑΡΤΗΣ**

*Υπεράριθμος Ειδικευόμενος Ιατρός Χειρουργικής*

01/12/2001 – 16/12/2002 **ΓΕΝΙΚΟ ΝΟΜΑΡΧΙΑΚΟ ΝΟΣΟΚΟΜΕΙΟ**

**ΣΠΑΡΤΗΣ**

*Υπεράριθμος Ειδικευόμενος Ιατρός Μαιευτικής-Γυναικολογίας*

19/12/2002 – 29/12/2006 **Π.Γ.ΜΑΙΕΥΤΗΡΙΟ « ΕΛΕΝΑΣ ΒΕΝΙΖΕ-**

**ΛΟΥ»**

*Ειδικευόμενος Ιατρός Μαιευτικής-Γυναικολογίας*

25/06/2007 – σήμερα **ΓΕΝΙΚΟ ΝΟΜΑΡΧΙΑΚΟ ΝΟΣΟΚΟΜΕΙΟ**

**ΣΠΑΡΤΗΣ**

25/06/2007 - 24/06/2008 **Επικουρικός Επιμελητής Β΄ Μαιευτικής /Γυναικολογίας**

09/07/2008 - 08/07/2009 **Επικουρικός Επιμελητής Β΄ Μαιευτικής  
/Γυναικολογίας**

20/07/2009 – 19/07/2010 **Επικουρικός Επιμελητής Β΄ Μαιευτικής  
/Γυναικολογίας**

24/12/2010 – 21/7/2011 **Επικουρικός Επιμελητής Β΄ Μαιευτικής  
/Γυναικολογίας**

22/7/2011 έως σήμερα **Επιμελητής Β΄ Μαιευτικής /Γυναικολογίας**

**ΣΗΜΕΙΩΣΗ:** Από τη λήξη της τρίτης θητείας ως επικουρικός ιατρός και μέχρι την ανανέωση αυτής (20/07/2010 – 23/12/2010), συμμετείχα αδιάλειπτα και σε καθημερινή βάση, στις εργασίες της Μ/Γ Κλινικής του Γ.Ν.Σπάρτης, ως άμισθος επιστημονικός συνεργάτης.

**" ΜΕΛΕΤΗ ΤΟΥ ΓΛΥΚΟΖΥΛΙΩΜΕΝΟΥ ΜΕ  
Ο-N-ΑΚΕΤΥΛΟΓΛΥΚΟΖΑΜΙΝΗ ΕΠΙΤΟΠΟΥ Η ΣΤΑ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΑ,  
ΥΠΕΡΠΛΑΣΤΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΤΑΠΛΑΣΤΙΚΑ ΚΥΤΤΑΡΑ ΤΟΥ ΤΡΑΧΗΛΟΥ  
ΤΗΣ ΜΗΤΡΑΣ"**

**ΦΩΤΙΟΣ Ν. ΑΡΑΠΗΣ**

Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Τμήμα Ιατρικής, 2013

**ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ**

1. **Δρ. Δημήτριος Λ. Αρβανίτης**, Καθηγητής Ανατομίας, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας-(*Επιβλέπων*)
2. **Δρ. Αθανάσιος Καλλιτσάρης**, Αναπληρωτής Καθηγητής Μαιευτικής και Γυναικολογίας, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας
3. **Δρ. Μάρκος Σγάντζος**, Επίκουρος Καθηγητής Ανατομίας, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

**Πρόλογος - Περίληψη**

Η Γλυκοζυλίωση των πολυπεπτιδίων με το σάκχαρο N-ακετυλογλυκοζαμίνη αναγνωρίστηκε το 1984 και από τότε ανακαλύπτονται συνεχώς πολυπεπτίδια που φέρουν αυτό το σάκχαρο. Η γλυκοζυλίωση των πολυπεπτιδίων γίνεται στο υδροξύλιο των αμινοξέων σερίνης και θρεονίνης δηλαδή στη θέση που γίνεται και η φωσφορυλίωση. Σύμφωνα με πρωτοπόρους ερευνητές, η γλυκοζυλίωση και η απογλυκοζυλίωση των πολυπεπτιδίων με το σάκχαρο N-ακετυλογλυκοζαμίνη μπορεί να αποδειχθεί πολύ σημαντική για διάφορες βιολογικές εξεργασίες. Μέχρι στιγμής έχει βρεθεί ένας σημαντικός αριθμός πρωτεϊνών που φέρουν στο μόριό τους το σάκχαρο N-ακετυλογλυκοζαμίνη και οι οποίες κατατάσσονται στις ακόλουθες μεγάλες κατηγορίες: 1) μεταγραφικοί παράγοντες, 2) πρωτεΐνες των πυρηνικών πόρων, 3) πρωτεΐνες συνδεδεμένες με RNA, 4) πολυμεράσες, 5) ένζυμα, 6) κυτταροσκελετικές πρωτεΐνες, 7) πρωτεΐνες του θερμικού σοκ. Έξι σημαντικές βιολογικές εξεργασίες επηρεάζονται

από τη γλυκοζυλίωση και απογλυκοζυλίωση των πρωτεϊνών με το σάκχαρο N-ακετυλογλυκοζαμίνη μεταξύ των οποίων συγκαταλέγονται λειτουργίες όπως: η αντιγραφή του DNA, η αποδόμηση των πρωτεϊνών, η απόπτωση, η καρκινογένεση, η αντιμετώπιση καταστάσεων stress, η συνεχής καταγραφή των ενεργειακών αναγκών του κυττάρου και η διατήρηση του σακχάρου του αίματος.

Ο επίτοπος H αναγνωρίζεται από το μονοκλωνικό αντίσωμα H. Το μονοκλωνικό αντίσωμα H είναι της τάξεως IgM και δημιουργήθηκε σε ποντικό μετά από ένεση ολόκληρων σωμάτων ολιγοδενδρογλοιακών κυττάρων προβάτου. Ο επίτοπος H περιλαμβάνει το σάκχαρο N-ακετυλογλυκοζαμίνη αλλά και άλλα στοιχεία τα οποία μπορεί να είναι ή το παρακείμενο τμήμα της πολυπεπτιδικής αλυσού ή ο τρόπος που τοποθετείται το σάκχαρο στο μόριο της πολυπεπτιδικής αλυσού ή ο συνδυασμός και των δύο παραπάνω καταστάσεων. Έτσι το μονοκλωνικό αντίσωμα H δεν αναγνωρίζει όλα τα πολυπεπτιδία που φέρουν το σάκχαρο N-ακετυλογλυκοζαμίνη, αλλά αναγνωρίζει έναν υποπληθυσμό αυτών των πολυπεπτιδίων, που φέρουν το σάκχαρο με τις προϋποθέσεις που απαιτούνται για να δημιουργηθεί ο επίτοπος H. Ένα χαρακτηριστικό παράδειγμα της παραπάνω κατάστασης είναι σύμφωνα με τη μέχρι τώρα βιβλιογραφία ότι το αντίσωμα H αναγνωρίζει την κερατίνη 8, που το μοναδικό σάκχαρό της είναι η N-ακετυλογλυκοζαμίνη, αλλά δεν αναγνωρίζει την κερατίνη 18 που και αυτή έχει ως μοναδικό σάκχαρό της την N-ακετυλογλυκοζαμίνη.

Σε αυτή τη διατριβή μελετήθηκε ανοσοϊστοχημικώς η κατανομή του επίτοπου H στα φυσιολογικά, υπερπλαστικά και μεταπλαστικά κύτταρα του τραχήλου της μήτρας. Το υλικό της παρούσης διατριβής ελήφθη από την Παθολογοανατομική μονάδα του Εργαστηρίου Ανατομίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας.

Ο σκοπός αυτής της διατριβής είναι η μελέτη της έκφρασης του γλυκοζυλιωμένου με O-N-ακετυλογλυκοζαμίνη Επίτοπου H στα φυσιολογικά, υπερπλαστικά και μεταπλαστικά κύτταρα του τραχήλου της μήτρας. Το υλικό αυτής της διατριβής αποτελείται από εξήντα (60) δείγματα ενδοτραχηλικών ξεσμάτων, μέσα στα οποία βρέθηκαν και δεκαπέντε (15) μικροί ενδοτραχηλικοί πολύποδες. Η μέθοδος που χρησιμοποιήθηκε είναι αυτή της έμμεσης ανοσοϊπεροξειδάσης, με τη χρήση του μονοκλωνικού αντισώματος H ποντικού, της τάξης IgM. Η βαθμολογία της έκφρασης του Επίτοπου H έγινε ως εξής: 1) Αρνητική έκφραση, όταν όλα τα κύτταρα είναι αρνητικά. 2) Πολύ χαμηλή έκφραση, όταν λιγότερα από το 5% των κυττάρων είναι θετικά. 3) Χαμηλή έκφραση όταν το 5-30% των κυττάρων είναι θετικά. 4) Μέτρια έκφραση όταν το 31-75% των κυττάρων είναι θετικά. 5) Υψηλή έκφραση όταν περισσότερα από το 75% των κυττάρων είναι θετικά.

Τα αποτελέσματα έχουν ως εξής:

1. Τα βλεννοπαραγωγά εκκριτικά κύτταρα του ενδοτραχηλικού βλεννογόνου παρουσίασαν πολύ χαμηλή έκφραση του Επίτοπου H στο 100% των περιπτώσεων.
2. Τα βλεννοπαραγωγά εκκριτικά κύτταρα των ενδοτραχηλικών πολυπόδων παρουσίασαν χαμηλή έκφραση του Επίτοπου H στο 100% των περιπτώσεων.

3. Τα μη -βλεννοπαραγωγά εκκριτικά κύτταρα παρουσίασαν υψηλή έκφραση του Επίτοπου Η στο 100% των περιπτώσεων.
4. Τα κροσσωτά κύτταρα παρουσίασαν υψηλή έκφραση του Επίτοπου Η στο 100% των περιπτώσεων.
5. Τα φυσιολογικά εφεδρικά κύτταρα παρουσίασαν υψηλή έκφραση του Επίτοπου Η στο 100% των περιπτώσεων.
6. Τα υπερπλαστικά εφεδρικά κύτταρα παρουσίασαν υψηλή έκφραση του Επίτοπου Η στο 100% των περιπτώσεων.
7. Τα κύτταρα της άωρης πλακώδους μεταπλασίας παρουσίασαν υψηλή έκφραση του Επίτοπου Η στο 100% των περιπτώσεων.
8. Τα κύτταρα του ώριμου πλακώδους μη κερατινοποιημένου επιθηλίου παρουσίασαν τις ακόλουθες εκφράσεις του Επίτοπου Η: τα κύτταρα της βασικής στοιβάδας παρουσίασαν πολύ χαμηλή έκφραση, τα κύτταρα της παραβασικής στοιβάδας αρνητική έκφραση και τα κύτταρα της ενδιάμεσης και επιφανειακής στοιβάδας υψηλή έκφραση στο 100% των περιπτώσεων.
9. Τα ενδοθηλιακά κύτταρα του βλεννογόνου και των ενδοτραχηλικών πολυπόδων παρουσίασαν υψηλή έκφραση του Επίτοπου Η στο 100% των περιπτώσεων.
10. Οι ινοβλάστες/ινοκύτταρα του ενδοτραχηλικού βλεννογόνου παρουσίασαν αρνητική έκφραση του Επίτοπου Η στο 100% των περιπτώσεων.
11. Οι ινοβλάστες των ενδοτραχηλικών πολυπόδων παρουσίασαν υψηλή έκφραση του Επίτοπου Η στο 100% των περιπτώσεων.

## ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

Εισαγωγή.....	σελ 3
Βιογραφικό σημείωμα.....	σελ 5
Πρόλογος - περίληψη.....	σελ 12
<b>ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....</b>	<b>σελ 17</b>
Εμβρυολογία.....	σελ 19
Ανατομία.....	σελ 27
Ιστολογία.....	σελ 35
Τράχηλος-φλεγμονές-πολύποδες.....	σελ 51
Σημασία της γλυκοζυλίωσης με το σάκχαρο Ν-ακετυλογλυκοζαμίνη...σελ	55
Κατανομή του επιτόπου Η.....	σελ 73
<b>ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....</b>	<b>σελ 75</b>
Υλικό – μέθοδος.....	σελ 77
Βαθμολόγηση.....	σελ 78
Αποτελέσματα της έκφρασης του επιτόπου Η.....	σελ79
ΕΙΚΟΝΕΣ (ειδικού μέρους).....	σελ 91
<b>ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....</b>	<b>σελ115</b>
<b>ΠΕΡΙΛΗΨΗ ΚΑΙ ΤΕΛΙΚΑ ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....</b>	<b>σελ 123</b>
SUMMARY AND FINAL CONCLUSIONS.....	σελ 125
Βιβλιογραφία.....	σελ 127





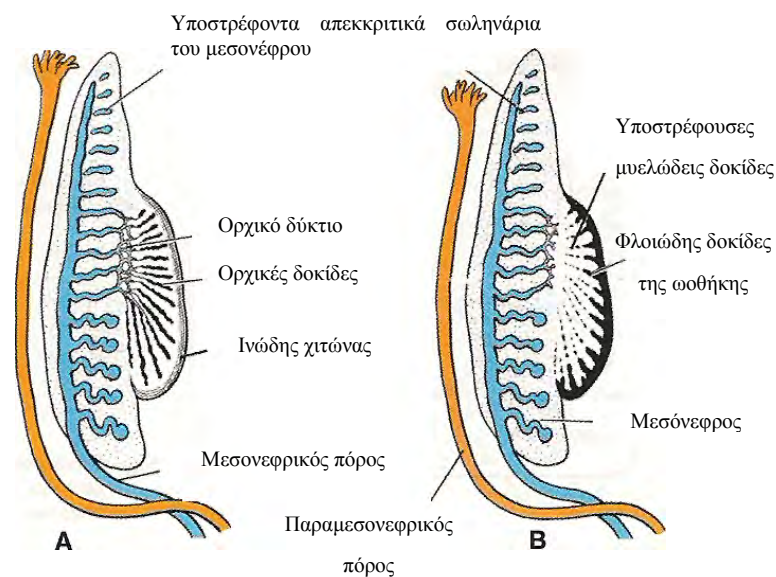
# ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ



# ΕΜΒΡΥΟΛΟΓΙΑ ΓΕΝΝΗΤΙΚΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ

## ΟΙ ΓΕΝΝΗΤΙΚΟΙ ΠΟΡΟΙ Το αδιαφοροποίητο στάδιο

Τόσο το άρρεν όσο και το θήλυ έμβρυο παρουσιάζουν αρχικά δύο ζεύγη γεννητικών πόρων: (α) τους **μεσонеφρικούς πόρους** και (β) τους **παραμεσонеφρικούς πόρους**. Ο παραμεσонеφρικός πόρος εμφανίζεται με τη μορφή επιμήκους εγκόλπωσης του βλαστικού επιθηλίου στην προσθιοπλάγια επιφάνεια του ουρογεννητικού κρημνού . Κεφαλικά ο πόρος εκβάλλει στη σπλανχνική κοιλότητα με χωνοειδές στόμιο. Ουραίως ο πόρος πορεύεται αρχικά στα πλάγια του μεσонеφρικού πόρου, αλλά στη συνέχεια διασταυρώνεται

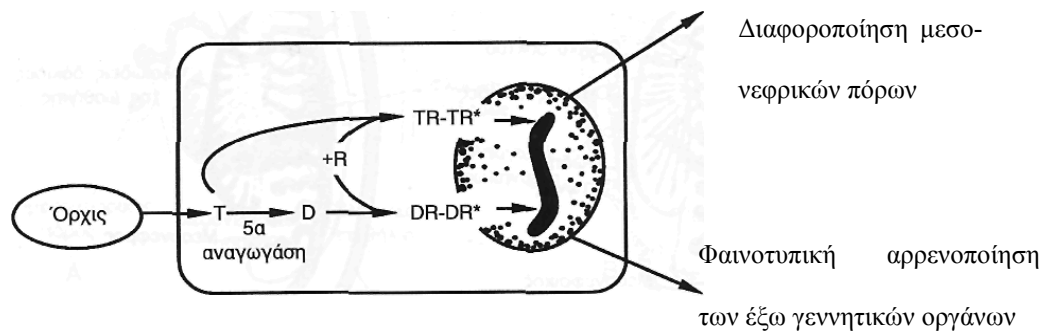


**Εικ. 1.** Σχηματική παράσταση των γεννητικών πόρων την 7η εβδομάδα της ανάπτυξης στο άρρεν (A) και στο θήλυ (B). Ο μεσонеφρικός και ο παραμεσонеφρικός πόρος είναι παρόντες και στα δύο φύλα. Προσέξτε τα απεκκριτικά σωληνάρια του" μεσόνεφρου, καθώς και τη σχέση τους με τις αναπτυσσόμενες γονάδες σε αμφότερα τα φύλα

μαζί του κοιλιακώς για να αναπτυχθεί με πλαγιοουραία κατεύθυνση . Στο επίπεδο της μέσης γραμμής ο παραμεσонеφρικός πόρος έρχεται σε στενή επαφή με τον αντίστοιχο πόρο της άλλης πλευράς. Αρχικά οι δύο πόροι διαχωρίζονται από ένα διάφραγμα, αλλά αργότερα συνενώνονται για να σχηματίσουν το **μητροκολεϊκό σωλήνα** . Το ουραίο άκρο των συνενωμένων πόρων προβάλλει στο οπίσθιο τοίχωμα του ουρογεννητικού κόλπου, όπου προκαλεί μικρό έπαρμα που ονομάζεται **παραμεσонеφρικό Λοφίδιο ή Λοφίδιο του Müller** . Οι μεσонеφρικοί πόροι εκβάλλουν στον ουρογεννητικό κόλπο στα δύο πλάγια του φύματος του **Müller**.

## Η ΔΙΑΦΟΡΟΠΟΙΗΣΗ ΤΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ ΤΩΝ ΠΟΡΩΝ

Η ανάπτυξη του συστήματος των γεννητικών πόρων και των έξω γεννητικών οργάνων επιτελείται υπό την επίδραση ορμονών που κυκλοφορούν στο έμβρυο κατά τη διάρκεια της ενδομήτριας ζωής. Επίσης τα κύτταρα του sertoli των εμβρυϊκών όρχεων παράγουν μη στεροειδή ουσία, τον **παράγοντα υποστροφής των πόρων του Müller (Müllerian inhibiting substance [MIS])**, που προκαλεί υποστρόφη του παραμεσонеφρικού πόρου. Εκτός από αυτόν τον παράγοντα, οι όρχεις εκκρίνουν **τεστοστερόνη** (το κύριο **ανδρογόνο** που παράγεται από τον όρχι), η οποία εισέρχεται στα κύτταρα των ιστών-στόχων. Μέσα σε αυτά τα κύτταρα η τεστοστερόνη μπορεί να μετατραπεί από μια 5α-αναγωγή σε **διυδροτεστοστερόνη**. Η τεστοστερόνη και η διυδροτεστοστερόνη συνδέονται με έναν ειδικό, υψηλής συγγένειας, ενδοκυττάριο πρωτεϊνικό υποδοχέα και τελικά αυτό το σύμπλεγμα ορμόνης-υποδοχέα συνδέεται με το DNA και ρυθμίζει τη μεταγραφή γονιδίων που εκφράζονται



**Εικ. 2.** Σχηματική απεικόνιση της δράσης των ανδρογόνων σε κυτταρικό επίπεδο. Συμπλέγματα υποδοχέα ανδρογόνων με τεστοστερόνη (*T*) και διυδροτεστοστερόνη (*D*) αντιδρούν με το DNA προκειμένου να ελέγξουν τη διαφοροποίηση των μεσонеφρικών πόρων και των έξω γεννητικών οργάνων, αντίστοιχα. *R*, υποδοχέας ανδρογόνων *R\** μετασχηματισμένο σύμπλεγμα υποδοχέα ανδρογόνων-ορμόνης. (Από το άρθρο των George FW, Wilson JD: Sex determination and differentiation στο βιβλίο των Knobil E et al (eds): The Physiology of Reproduction. New York, Raven Press, 1988, pp 3-26).

ιδιαίτερως σε ορισμένους ιστούς καθώς και την παραγωγή πρωτεϊνών τους. Τα συμπλέγματα τεστοστερόνης-υποδοχέα συμβάλλουν στη διαφοροποίηση των μεσонеφρικών πόρων, ενώ τα συμπλέγματα διυδροτεστοστερόνης-υποδοχέα ρυθμίζουν τη φαινοτυπική αρρενοποίηση των έξω γεννητικών οργάνων του άρρενος (Πίνακας 1).

Στο θήλυ το σύστημα των παραμεσонеφρικών πόρων εξελίσσεται σε ωαγωγούς και μήτρα. Οι ρυθμιστικοί παράγοντες της εν λόγω διεργασίας δεν είναι γνωστοί, υπάρχει όμως η πιθανότητα να εμπλέκονται οιστρογόνα που παράγονται από τη μητέρα, τον πλακούντα και τις ωοθήκες του εμβρύου. Δεδομένου ότι απουσιάζει ο παράγοντας που επάγει την αρρενοποίηση, το σύστημα των μεσонеφρικών πόρων υποστρέφει.

## Πίνακας 1. Η επίδραση των γεννητικών αδένων στην περαιτέρω φυλετική διαφοροποίηση



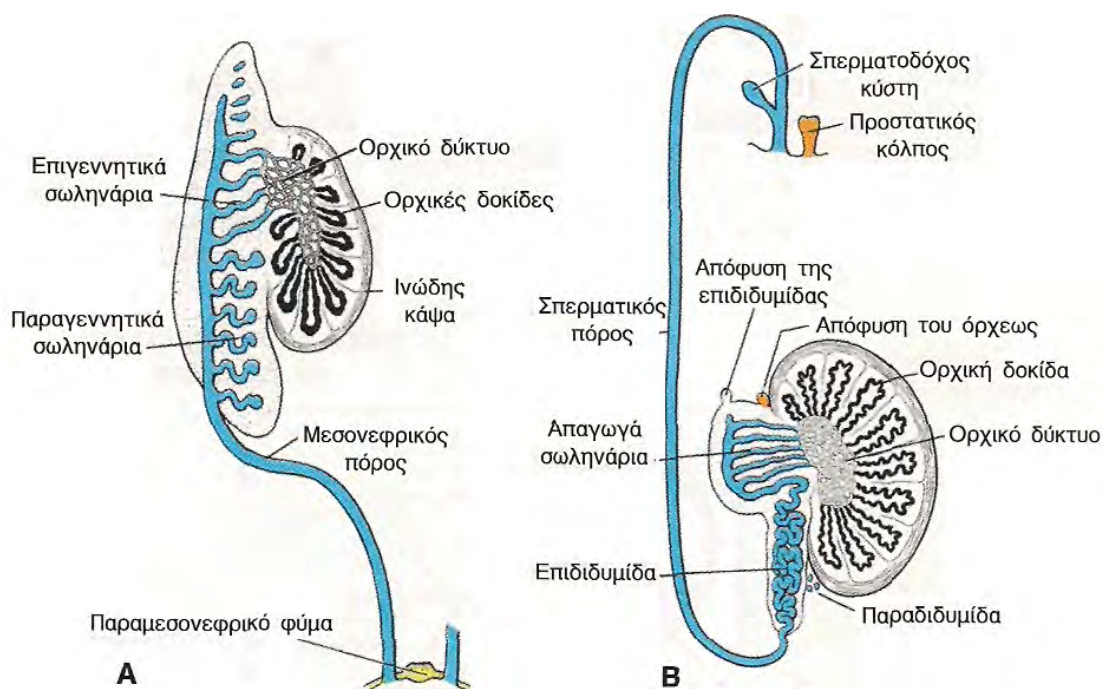
Λόγω έλλειψης ανδρογόνων, τα αδιαφοροποίητα έξω γεννητικά όργανα υπό την επίδραση των οιστρογόνων διαφοροποιούνται σε μεγάλα χείλη, μικρά χείλη, κλειτορίδα και μέρος του κολεού.

### Οι γεννητικοί πόροι του άρρενος

Καθώς ο μεσόνεφρος υποστρέφει, μερικά απεκκριτικά σωληνάρια, τα **επιγεννητικά σωληνάρια**, συνδέονται με τις δοκίδες του ορχικού δικτύου και σχηματίζουν τελικά τα **απαγωγά σωληνάρια** του όρχεως. Τα απεκκριτικά σωληνάρια κατά μήκος του ουραίου πόλου του όρχεως, τα επονομαζόμενα **πα-**

**ραγεννητικά σωληνάρια**, δεν ενώνονται με τις δοκίδες του ορχικού δικτύου . Τα υπολείμματα αυτών των σωληναρίων χαρακτηρίζονται στο σύνολο τους ως **παραδιδυμίδα**.

Ο μεσонеφρικός πόρος παραμένει (εκτός από το πλέον κεφαλικό τμήμα του, την **απόφυση της επιδιδυμίδας**) και σχηματίζει τον κύριο γεννητικό πόρο . Αμέσως κάτω από την εκβολή των απαγωγών σωληναρίων ο πόρος επιμηκύνεται σημαντικά και γίνεται εξαιρετικά πολυέλικτος, για να σχηματίσει με αυτό τον τρόπο την **επιδιδυμίδα**.



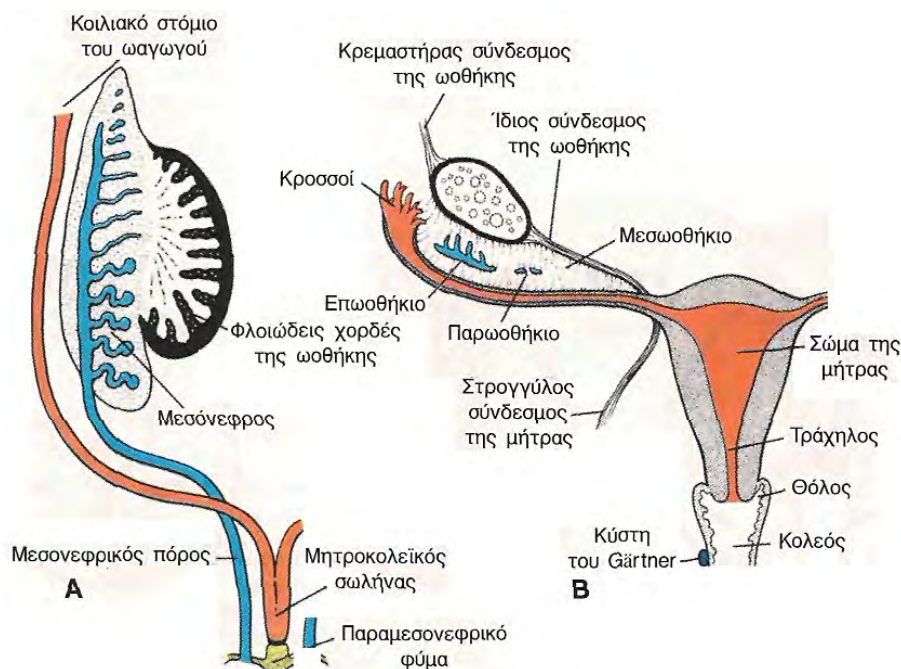
**Εικ. 3.** Α. Σχηματική απεικόνιση των γεννητικών πόρων του άρρενος τον 4ο μήνα της ανάπτυξης. Το κεφαλικό και το ουραίο τμήμα (παραγεννητικά σωληνάρια) του μεσонеφρικού συστήματος υποστρέφουν. Β. Οι γεννητικοί πόροι μετά την κάθοδο του όρχεως. Προσέξτε τις πεταλοειδείς ορχικές δοκίδες, το ορχικό δίκτυο και τα απαγωγά σωληνάρια που εκβάλλουν στο σπέρματικό πόρο. Η παραδιδυμίδα σχηματίζεται από τα υπολείμματα των παραγεννητικών μεσонеφρικών σωληναρίων. Ο παραμεσонеφρικός πόρος έχει εκφυλισθεί εκτός από την απόφυση του όρχεως και τον προστατικό κόλπο.

Από την ουρά της επιδιδυμίδας μέχρι το σημείο εκβολής της **σπέρματοδόχου κύστης**, ο μεσонеφρικός πόρος αποκτά παχύ μυϊκό χιτώνα και χαρακτηρίζεται ως **σπέρματικός πόρος**. Μετά το σημείο εκβολής της σπέρματοδόχου κύστης ο πόρος χαρακτηρίζεται ως **εκσπέρματιστικός πόρος**.

Στο άρρεν ο παραμεσонеφρικός πόρος εκφυλίζεται, εκτός από μικρό τμήμα στο κεφαλικό άκρο του, την **απόφυση του όρχεως**. Η τύχη του ουραίου τμήματος του παραμεσонеφρικού πόρου δεν είναι επακριβώς γνωστή. Σύμφωνα με μερικούς συγγραφείς αυτό το τμήμα εξελίσσεται σε **προστατικό κόλπο**, που αποτελεί μικρό εκκόλπωμα στο τοίχωμα της προστατικής ουρήθρας. Άλλοι όμως ερευνητές πιστεύουν ότι η δομή σχηματίζεται με εκκόλπιση του ουρο-γεννητικού κόλπου .

## Οι γεννητικοί πόροι του θήλεος

Ο παραμεσονεφρικός πόρος εξελίσσεται στον κύριο γεννητικό πόρο του θήλεος. Αρχικά μπορούν να διακριθούν τρία μέρη του: (α) ένα κεφαλικό κατακόρυφο τμήμα,



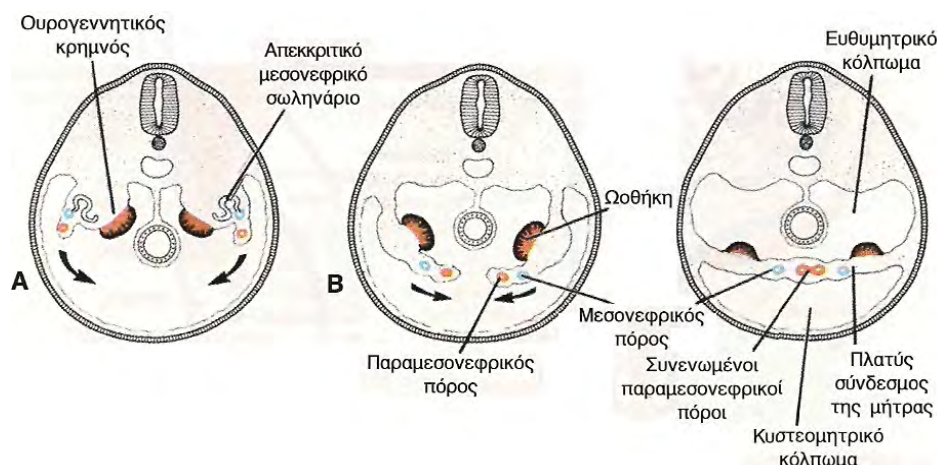
**Εικ. 4.** Α. Σχηματική παράσταση των γεννητικών πόρων του θήλεος στο τέλος του 2ου μήνα της ανάπτυξης. Προσέξτε το παραμεσονεφρικό ή Μυλλέρειο φύμα και το σχηματισμό του μητροκολεϊκού σωλήνα. Β. Οι γεννητικοί πόροι μετά την κάθοδο της ωθήκης. Τα μόνα εναπομένοντα τμήματα του μεσονεφρικού συστήματος είναι το επωθήκιο, το παρωωθήκιο και η κύστη του Gärtner. Προσέξτε τον κρεμαστήρα σύνδεσμο της ωθήκης, τον ίδιο σύνδεσμο της ωθήκης, καθώς και το στρογγυλό σύνδεσμο της μήτρας.

το οποίο εκβάλλει στη σπλαγχνική κοιλότητα, (β) ένα οριζόντιο τμήμα, το οποίο διασταυρώνεται με το μεσονεφρικό πόρο, και (γ) ένα ουραίο κατακόρυφο τμήμα, το οποίο συνενώνεται με το αντίστοιχο του της αντίθετης πλευράς .

Με την κάθοδο της ωθήκης τα δύο πρώτα τμήματα εξελίσσονται στον **αγωγό** , ενώ τα ουραία συνενωμένα τμήματα εξελίσσονται στο **μητροκολεϊκό σωλήνα**. Όταν το δεύτερο τμήμα του παραμεσονεφρικού πόρου ακολουθήσει ουραιο-μέοση κατεύθυνση, οι ουρογεννητικές πτυχές λαμβάνουν σταδιακά θέση σε εγκάρσιο επίπεδο . Μετά τη συνένωση των πόρων στο επίπεδο της μέσης γραμμής σχηματίζεται μια πλατιά εγκάρσια πυελική πτυχή . Αυτή η πτυχή, η οποία εκτείνεται από τα πλάγια των συνενωμένων παραμεσονεφρικών πόρων μέχρι το τοίχωμα της πυέλου, είναι γνωστή ως ο **πλατύς σύνδεσμος της μήτρας**. Στο άνω χείλος αυτού του συνδέσμου βρίσκεται ο αγωγός, ενώ στην οπίσθια επιφάνεια του η ωθήκη . Η μήτρα και οι πλατείς σύνδεσμοι διαιρούν την πυελική κοιλότητα στο **ευθυμητρικό** και στο **κυστεομητρικό κόλπωμα**. Τα συνενωμένα τμήματα των παραμεσονεφρικών πόρων σχηματίζουν το **σώμα** και τον **τράχηλο της μήτρας**. Αυτά τα στοιχεία περιβάλλονται από ένα στρώμα μεσεγγύματος. Με την πάροδο του χρόνου αυτό το μεσέγγυμα



σχηματίζει το μυϊκό χιτώνα της μήτρας, το **μυομήτριο**, ενώ το περιτοναϊκό κάλυμμα του σχηματίζει το **περιμήτριο**.



**Εικ.5.** Εγκάρσιες τομές διαμέσου του ουρογεννητικού κρημνού σε προοδευτικώς χαμηλότερα επίπεδα. Προσέξτε ότι οι παραμεσонеφρικοί πόροι συμπληριάζουν στη μέση γραμμή προκειμένου να συνενωθούν. Λόγω της συνένωσης σχηματίζεται στην πύελο εγκάρσια πτυχή, ο πλατύς σύνδεσμος της μήτρας. Οι γονάδες τελικώς κατασκηώνουν στην οπίσθια πλευρά της εγκάρσιας πτυελικής πτυχής.

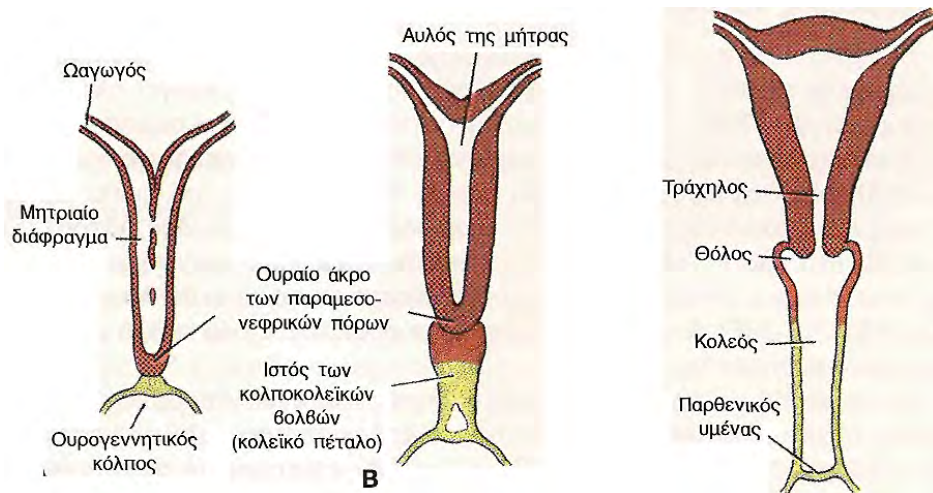
## Ο κολεός

Λίγο μετά την κατάληξη του συμπαγούς άκρου του παραμεσонеφρικού πόρου στον ουρογεννητικό κόλπο, από την πτυελική μοίρα του ουρογεννητικού κόλπου αναπτύσσονται δύο συμπαγείς προσεκβολές. Αυτές οι προσεκβολές, οι κολποκολεϊκοί βολβοί, παρουσιάζουν έντονη ανάπτυξη και σχηματίζουν ένα συμπαγές κολεϊκό πέταλο. Η ανάπτυξη συνεχίζεται στο κεφαλικό άκρο του πετάλου, με αποτέλεσμα την αύξηση της απόστασης μεταξύ της μήτρας και του ουρογεννητικού κόλπου. Τον πέμπτο μήνα η κολεϊκή προσεκβολή αποκτά αυλό. Οι πτερυγοειδείς προσεκβολές του κολεού γύρω από το κάτω άκρο της μήτρας, οι θόλοι του κολεού, έχουν παραμεσонеφρική προέλευση. Επομένως ο κολεός έχει διπλή προέλευση: το ανώτερο τριτημόριό του προέρχεται από το μητροκολεϊκό σωλήνα, ενώ τα κατώτερα δύο τριτημόριά του από τον ουρογεννητικό κόλπο.

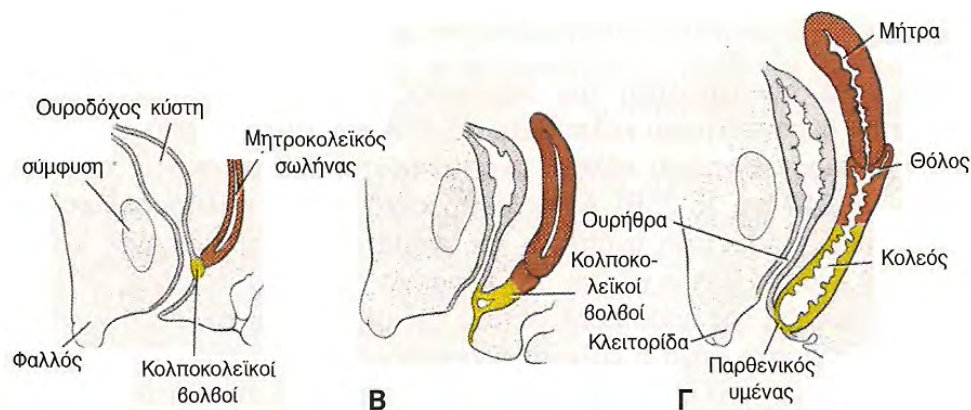
Ο αυλός του κολεού παραμένει χωρισμένος από τον αυλό του ουρογεννητικού κόλπου με ένα λεπτό ιστικό πέταλο που ονομάζεται παρθενικός υμένας. Ο παρθενικός υμένας αποτελείται από την επιθηλιακή επένδυση του ουρογεννητικού κόλπου και μια λεπτή στιβάδα κυττάρων του κολεού. Αυτός ο υμένας αποκτά συνήθως μικρή οπή κατά τη διάρκεια της περιγεννητικής ζωής.

Στο θήλυ μπορεί να ανευρεθούν μερικά υπολείμματα των κεφαλικών και των ουραίων απεκκριτικών σωληναρίων. Αυτά τα υπολείμματα εντοπίζονται στο μεσωοθήκιο, όπου σχηματίζουν το **επωοθήκιο** και το **παρωοθήκιο**, αντίστοιχα. Ο μεσонеφρικός πόρος εξαφανίζεται, εκτός από ένα μικρό κεφαλικό τμήμα του, το οποίο βρίσκεται στο επωοθήκιο, και σπανίως ένα μικρό ουραίο τμήμα του, το οποίο μπορεί να ανευρεθεί στο τοίχωμα της μήτρας ή του κολεού. Σε μεταγενέστερα στάδια της ζωής μπορεί να σχηματίσει εκεί μία κύστη, γνωστή ως κύστη του Gärtner.





**Εικ. 6.** Σχηματική παράσταση που απεικονίζει το σχηματισμό της μήτρας και του κολεού. Α. Την 9η εβδομάδα. Σημειώστε την εξαφάνιση του μητριαίου διαφράγματος. Β. Στο τέλος του 3ου μήνα Προσέξτε τον ιστό των κολποκολεϊκών βολβών. Γ. Νεογνό. Το ανώτερο τμήμα του κολεού και οι θόλοι σχηματίζονται με εκφύλιση του παραμεσονεφρικού ιστού, ενώ το κατώτερο τμήμα του με εκφύλιση των κολποκολεϊκών βολβών



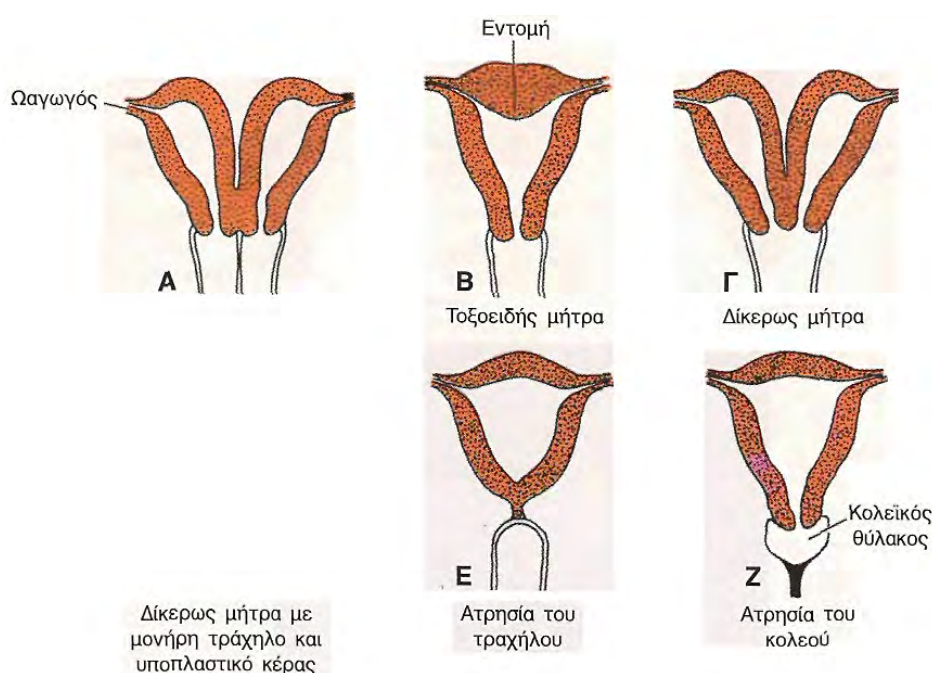
**Εικ. 7.** Σχηματική παράσταση οβελιαίων τομών, οι οποίες απεικονίζουν το σχηματισμό της μήτρας και του κολεού σε διάφορα στάδια της ανάπτυξης.

### Διπλασιασμός και ατρησία του μητροκολεϊκού σωλήνα

Η μερική ή πλήρης αδυναμία συνένωσης των παραμεσονεφρικών πόρων σε εντοπισμένη περιοχή τους ή σε ολόκληρο το μήκος τους εξηγεί όλους τους διαφορετικούς τύπους διπλασιασμού της μήτρας. Στην πλέον ακραία περίπτωση η μήτρα είναι πλήρως διπλασιασμένη (**δίδελφος ή διφυής μήτρα**), ενώ

στη λιγότερο σοβαρή μορφή της η μήτρα παρουσιάζει ελαφρά εντομή στο μέσον του πυθμένα της (**καρδιόμορφη ή τοξοειδής μήτρα**) . Μια από τις πλέον κοινές ανωμαλίες είναι η **δίκερως μήτρα**. Σε αυτή την περίπτωση η μήτρα παρουσιάζει δύο κέρατα τα οποία εκβάλλουν σε κοινό κολεό . Αυτή η κατάσταση είναι φυσιολογική για πολλά από τα μη πρωτεύοντα θηλαστικά.

Σε ασθενείς με πλήρη ή μερική ατρησία του ενός παραμεσονεφρικού πόρου το υποπλαστικό τμήμα αποτελεί απόφυση της καλώς ανεπτυγμένης πλευράς. Καθώς όμως ο αυλός του δεν επικοινωνεί με τον κολεό, συμβαίνουν συχνά επιπλοκές (**δίκερως μήτρα με μονήρη τράχηλο και υποπλαστικό κέρατο**) . Αν η ατρησία καταλαμβάνει μερικώς και τις δύο πλευρές μπορεί να έχει ως αποτέλεσμα **ατρησία του τραχήλου** . Αν οι κολποκολεϊκοί βολβοί δεν κατορθώσουν να συνενωθούν ή δεν αναπτυχθούν καθόλου, προκύπτει **διπλός κολεός ή ατρησία του κολεού**, αντίστοιχα .



**Εικ. 8.** Σχηματική αναπαράσταση των κυρίων ανωμαλιών της μήτρας και του κολεού, οι οποίες προκαλούνται από παραμονή του μητριαίου διαφράγματος ή απόφραξη του αυλού του μητροκολεϊκού σωλήνα.

Στην τελευταία περίπτωση το στόμιο του τραχήλου περιβάλλεται συνήθως από ένα μικρό κολεϊκό θύλακο, ο οποίος προέρχεται από τους παραμεσονεφρικούς πόρους.

## ΑΝΑΤΟΜΙΑ ΤΗΣ ΜΗΤΡΑΣ ΚΑΙ ΟΙ ΣΧΕΣΕΙΣ ΤΗΣ

Η μήτρα είναι ένα κοίλο μυώδες όργανο, η κοιλότητα του οποίου καλύπτεται από βλεννογόνο (ενδομήτριο). Τα παχιά μυϊκά τοιχώματα της μήτρας (μυομήτριο) έχουν τη δυνατότητα, κατά τη διάρκεια της κύησης, να προσαρμόζονται στη μεγέθυνση του εμβρύου και επιπλέον, κατά τον τοκετό, να επιτυγχάνουν με τις συσπάσεις τους την απότξη του εμβρύου. Το ενδομήτριο χρησιμεύει στην εγκατάσταση της βλαστοκύστης και στην ανάπτυξη της σε έμβρυο. Για να επιτελέσει αυτή τη λειτουργία υφίσταται κυκλικές κατά μήνα εναλλαγές, συνέπεια των οποίων είναι η εμφάνιση της έμμηνης ρύσης.

**Θέση:** Η μήτρα βρίσκεται στην ελάσσονα πύελο, ανάμεσα στην ουροδόχο κύστη (εμπρός και κάτω) και το απευθυσμένο (πίσω), ενώ έχει προς τα κάτω τον κολεό με το περίνεο και προς τα άνω εντερικές έλικες.

**Σχήμα και μέγεθος:** Το σχήμα της ακύμονος μήτρας είναι όμοιο με το σχήμα ενός αποπλατυσμένου κώνου (μοιάζει με αχλάδι), που η βάση του στρέφεται ελεύθερη προς τα άνω και πρόσω μέσα στην περιτοναϊκή κοιλότητα και η κορυφή του προς τα κάτω και πίσω όπου συνάπτεται με τον κολεό.

Το μήκος της μήτρας ανέρχεται σε 7-8 εκ., το πλάτος της (στο ύψος του πυθμένα) σε 5 εκ. και το πάχος της σε 2,5-3 εκ., ενώ το βάρος της κυμαίνεται από 40 έως 60 γραμ.

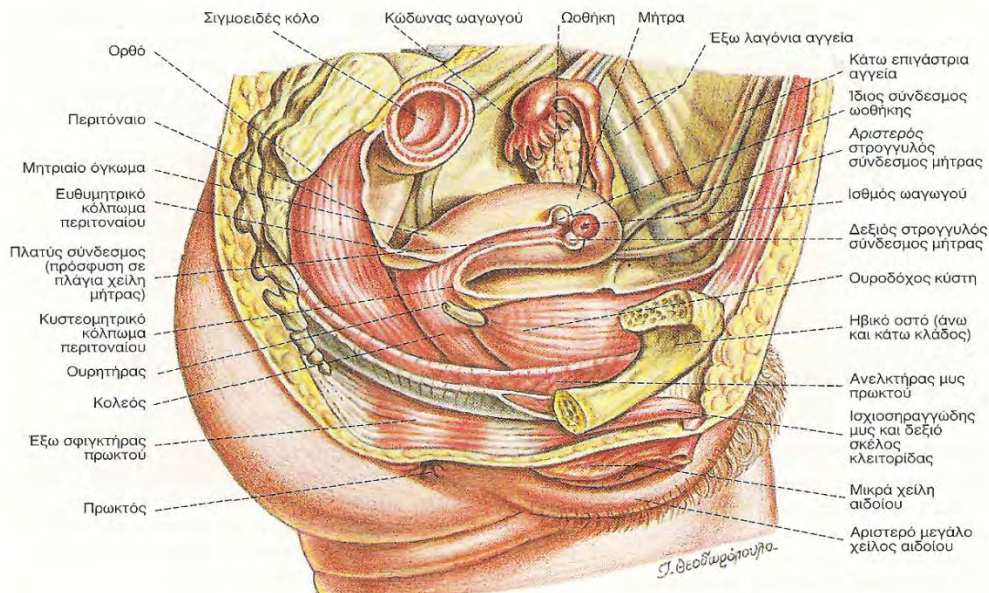
Εξαιτίας του σχήματός της, η μήτρα εμφανίζει δύο επιφάνειες (πρόσθια και οπίσθια) και δύο πλάγια χείλη, ενώ διακρίνονται σ' αυτήν τρία μέρη, ο πυθμένας, το σώμα και ο τράχηλος. Δεν υπάρχει σαφές όριο ανάμεσα στον πυθμένα και στο σώμα χρησιμεύει ως τέτοιο η **μεσοσαλπιγγική γραμμή**, δηλαδή μία νοητή γραμμή που συνδέει τα σημεία είσφρυσης των ωαγωγών στη μήτρα. Αντίθετα, όριο ανάμεσα στο σώμα και τον τράχηλο αποτελεί ο ισθμός.

**Ο πυθμένας της μήτρας** κατά την περίοδο πριν από την εμμηναρχή δεν είναι αναπτυγμένος και προβάλλει ελάχιστα πάνω από τη μεσοσαλπιγγική γραμμή. Αντίθετα, στις πολύτοκες γυναίκες είναι παχύς και προβάλλει προς τα άνω και πρόσω σαν θόλος, του οποίου η κυρτή επιφάνεια σχηματίζει με τα πλάγια χείλη του σώματος τη **σαλπιγγική γωνία**, από την οποία εκπορεύονται ο στρογγυλός σύνδεσμος της μήτρας (μπροστά), ο ωαγωγός (μέσο) και ο ίδιος σύνδεσμος της ωοθήκης (πίσω). Ο πυθμένας, όταν η γυναίκα βρίσκεται σε όρθια θέση, αντιστοιχεί συνήθως σε εγκάρσιο επίπεδο λίγο πιο πάνω από την ηβική σύμφυση.

Το **σώμα της μήτρας** εμφανίζει την **πρόσθια-κάτω ή κυστική επιφάνεια** και την **οπίσθια-άνω ή εντερική επιφάνεια**. Οι επιφάνειες αυτές είναι υπόκυρτες, ιδιαίτερα η οπίσθια, και στο όριο μετάπτωσης της μιας στην άλλη διαμορφώνονται τα δύο πλάγια χείλη του σώματος της μήτρας (αριστερό και δεξιό). Η πρόσθια επιφάνεια έρχεται σε σχέση με την κυστεομητρική πτυχή του περιτοναίου και την άνω επιφάνεια της ουροδόχου κύστης, ενώ η οπίσθια επιφάνεια με έλικες του ειλεού και το σιγμοειδές κόλο. Όταν η θέση της μήτρας είναι οπίσθια είναι δυνατό η πρόσθια επιφάνεια να έρχεται σε σχέση με έλικα του ελικώδους εντέρου.

Στα **πλάγια χείλη** του σώματος της μήτρας προσφύονται οι πλατείς σύνδεσμοι, κατά μήκος τους πορεύονται τα μητριάια αγγεία και από τα πλάγια

χείλη εισδύουν στο σώμα της μήτρας οι κλάδοι των αγγείων και των νεύρων που κατανέμονται σε αυτή.



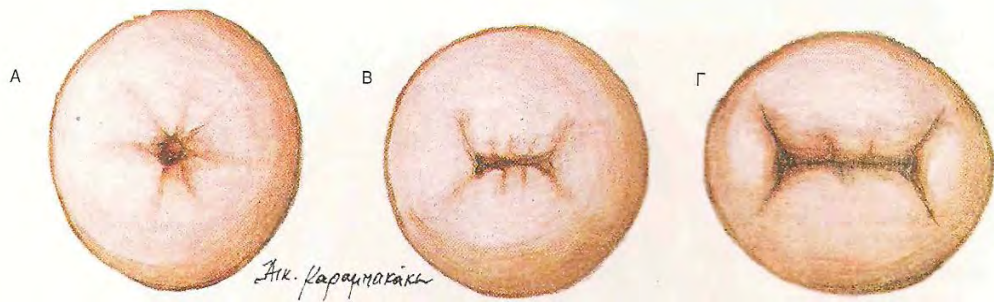
**Εικ. 9.** Οβελιαία τομή της πυέλου αντίστοιχα προς τη δεξιά ιερολαγόνια άρθρωση της ελάσσονος πυέλου. (Όψη πλάγια δεξιά).

**Ο ισθμός της μήτρας** είναι το μήκους 1 εκ. μεταβατικό (ανάμεσα στο σώμα και τον τράχηλο) τμήμα του σώματος της μήτρας, το οποίο αποτελεί και το στενότερο μέρος του. Είναι περισσότερο εκσεσημασμένος στις άτοκες γυναίκες. Αντιστοιχεί εσωτερικά στο έσω στόμιο της μήτρας και εξωτερικά στο ύψος της ανάκαμψης του περιτοναίου μεταξύ κύστης και μήτρας, κατά την κυστεομητρική πτυχή. Ο βλεννογόνος του ισθμού είναι λεπτότερος από τον βλεννογόνο του σώματος, εμφανίζει και αυτός κυκλικές μηνιαίες αλλαγές, σε μικρότερο βέβαια βαθμό, και μετατρέπεται, κατά την κύηση, σε φθαρτό. Ο ισθμός ανήκει στο σώμα και όχι στον τράχηλο, εφόσον το επιθήλιο του βλεννογόνου του, όπως και το επιθήλιο του βλεννογόνου του σώματος, είναι υψηλό κροσσωτό κυλινδρικό.

*Η διάκριση τον ισθμού από το υπόλοιπο σώμα της μήτρας είναι περισσότερο λειτουργική και λιγότερο ανατομική- έτσι, κατά τη διάρκεια της κύησης αποτελεί το, κατά τους μαιευτήρες, "κατώτερο μητρίαίο τμήμα" στο οποίο οι εμβρυϊκοί υμένες δεν συνάπτονται με τον βλεννογόνο της μήτρας· επιπλέον κατά τη διάρκεια του τοκετού συσπάζεται ισχυρότερα από το υπόλοιπο σώμα.*

**Ο τράχηλος της μήτρας** είναι το κατώτερο τριτημόριο της μήτρας (το λεπτό μέρος του αχλαδιού). Το σχήμα του μοιάζει με κύλινδρο, ελαφρώς αποπλατυσμένο από τα πρόσω προς τα πίσω και λίγο διευρυμένο στο μέσο. Το ύψος και η διάμετρος αυτού του κυλίνδρου είναι περίπου 2,5 εκ. Είναι λιγότερο κινητός από το σώμα της μήτρας και έτσι οι άξονες τους σπάνια συμπίπτουν.





**Εικ. 10.** Απεικόνιση του τραχήλου και του τραχηλικού στομίου όπως φαίνεται από τον κόλπο. Α. Ατόκου, Β. Πρωτοτόκου, Γ. Πολυτόκου

Συνήθως σχηματίζεται μία γωνία (φυσιολογική κάμψη της μήτρας) ανάμεσα στο σώμα και τον τράχηλο, της οποίας η κορυφή αντιστοιχεί στο έσω στόμιο της μήτρας.

*Η φυσιολογική κάμψη της μήτρας, κατά πάσα πιθανότητα, είναι το αποτέλεσμα άσκησης επί της μήτρας της ενδοκοιλιακής πίεσης, εξαιτίας της όρθιας στάσης τον ανθρώπου.*

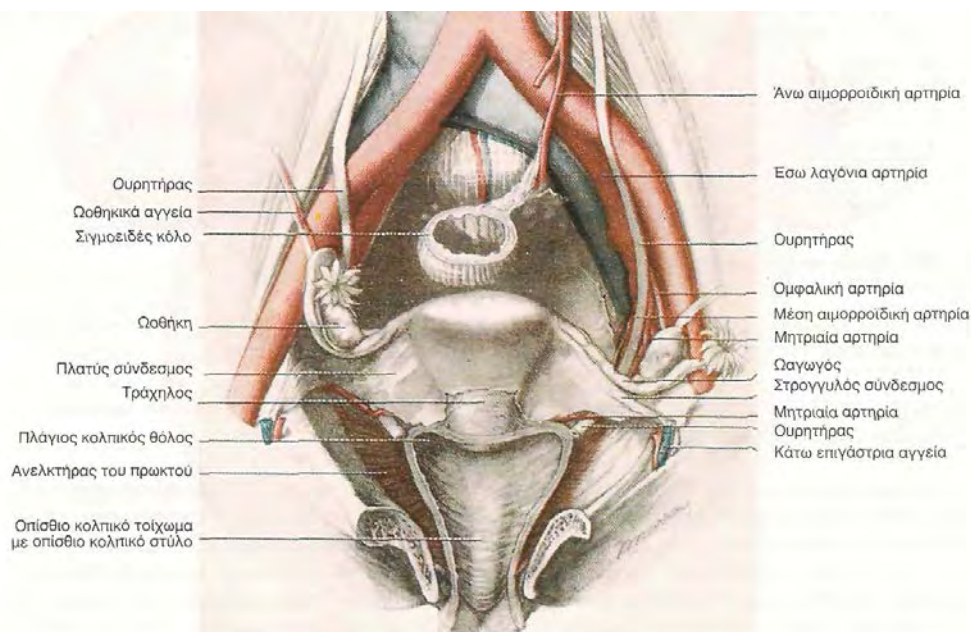
Ο τράχηλος προβάλλει στο πρόσθιο τοίχωμα του κολεού. Το τοίχωμα του κολεού προσφύεται κυκλικά στην παράπλευρη επιφάνεια του κατά τέτοιο τρόπο, ώστε να διαιρεί τον τράχηλο στο υπερκολεϊκό και στο ενδοκολεϊκό μέρος. Το **υπερκολεϊκό μέρος** του τραχήλου εμφανίζει δύο άνισες επιφάνειες, την πρόσθια και την οπίσθια, και δύο πλάγια χείλη. Η οπίσθια επιφάνεια του υπερκολεϊκού μέρους του τραχήλου είναι μικρότερη από την πρόσθια επειδή το οπίσθιο τοίχωμα του κολεού προσφύεται στον τράχηλο υψηλότερα από ό,τι το πρόσθιο. Η πρόσθια επιφάνεια είναι ακάλυπτη από περιτόναιο, βρίσκεται κάτω από την κυστεομητρική πτυχή και έρχεται σε σχέση με την ουροδόχο κύστη πάνω από το κυστικό τρίγωνο. Με την ουροδόχο κύστη συνάπτεται δια της παρεμβολής χαλαρού συνδετικού ιστού που περιέχει διάσπαρτες λείες μυϊκές ίνες. Ο ιστός αυτός περιβάλλει (μπρος, πίσω και πλάγια) το υπερκολεϊκό μέρος του τραχήλου, επεκτείνεται μεταξύ των πετάλων του πλατέος συνδέσμου και λέγεται παραμήτριο. Η οπίσθια επιφάνεια του υπερκολεϊκού μέρους επαλείφεται από το περιτόναιο, το οποίο επεκτείνεται προς τα κάτω έως τον οπίσθιο κοιλιακό θόλο για να ανακάμψει στη συνέχεια προς το απευθυσμένο. Έτσι σχηματίζεται το **ευθυμητρικό κόλπωμα του περιτοναίου**, του οποίου το υπόστρωμα του πρόσθιου τοιχώματος σχηματίζεται από την οπίσθια επιφάνεια του υπερκολεϊκού μέρους του τραχήλου. Διαμέσου του ευθυμητρικού κοιλώματος ο τράχηλος έρχεται σε σχέση με το απευθυσμένο, ενώ μπορεί να περιέχει τις τελικές εντερικές έλικες του ειλεού.

Τα πλάγια χείλη του υπερκολεϊκού μέρους έρχονται σε σχέση με τη βάση του πλατέος συνδέσμου· στο παραμήτριο που βρίσκεται αντίστοιχα προς αυτά πορεύεται η σύστοιχη μητριάα αρτηρία, στο ύψος περίπου του ισθμού, και ο σύστοιχος ουρητήρας.

*Πολλές φορές η θέση του ουρητήρα και της μητριάας αρτηρίας δεν είναι τυπική (σε απόσταση περίπου 2 εκ. από τα πλάγια χείλη). Έτσι είναι δυνατόν ο ένας ουρητήρας να βρίσκεται μπροστά από τον τράχηλο. Επίσης όταν το σώμα της μήτρας δεν βρίσκεται στη μέση γραμμή (κάτι που δεν είναι σπάνιο) αλλά αποκλίνει προς το ένα πλάγιο, τότε ο τράχηλος αποκλίνει προς το αντίθετο πλάγιο*

με αποτέλεσμα από αυτή την πλευρά να βρίσκεται πολύ κοντά στον ουρητήρα. Το γεγονός αυτό έχει μεγάλη σπουδαιότητα στην εγχειρητική της ελάσσονος πυέλου, διότι υπάρχει η πιθανότητα διατομής του ουρητήρα κατά την προσπάθεια απολίνωσης της μητριάιας αρτηρίας.

Το **ενδοκολεϊκό μέρος του τραχήλου** προβάλλει στον κολεό, όπου και είναι δυνατό στη ζώσα γυναίκα είτε να επισκοπηθεί με τη βοήθεια ειδικού οργάνου (του κολεοσκοπίου), είτε να ψηλαφηθεί δίνοντας σκληρή αφή, δίκην χόνδρου.



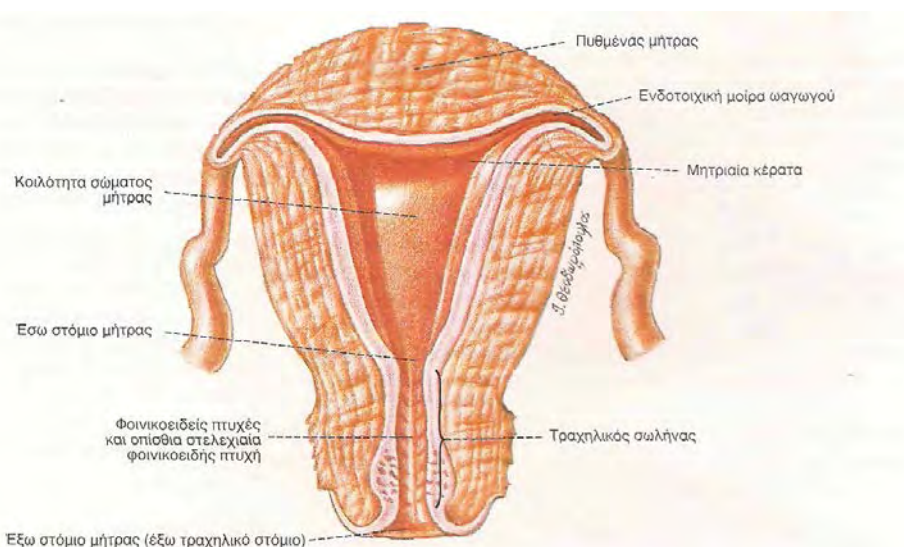
**Εικ. 11.** Σχηματική απεικόνιση των σπλάχνων της ελάσσονος πυέλου γυναίκα. Έχουν αφαιρεθεί η ουροδόχος κύστη και το πρόσθιο κοιλιακό τοίχωμα. Όψη από τα εμπρός και άνω.

Στις άτοκες είναι επιμηκέστερο με σχήμα κόλουρου κώνου, ενώ στις πολύτοκες μάλλον κυλινδρικό και ογκώδες. Κατά τη γεροντική ηλικία ατροφεί και σε ορισμένες περιπτώσεις εξαφανίζεται. Η επιφάνεια του καλύπτεται από βλεννογόνο, ο οποίος αποτελεί τη συνέχεια του κοιλιακού βλεννογόνου και στο ελεύθερο άκρο του εμφανίζει το **έξω στόμιο της μήτρας**. Το στόμιο αυτό φέρεται εγκάρσια, ιδίως στην πολύτοκο και αφορίζεται από δύο χείλη, το πρόσθιο και το οπίσθιο. Στις άτοκες γυναίκες τα χείλη του τραχήλου είναι λεία, ομαλά και ροδόχρωμα, ενώ στις πολύτοκες είναι ρωγμώδη και ίοχρωμα. Το πρόσθιο τραχηλικό χείλος, αν και βραχύτερο και παχύτερο από το οπίσθιο, προβάλλει περισσότερο προς τα κάτω, λόγω της φοράς με την οποία η μήτρα εισέχει στον κολεό.

Η κοιλότητα της μήτρας σε σύγκριση με τον συνολικό όγκο του οργάνου είναι μικρή, κάτι που οφείλεται στα ιδιαίτερος παχιά τοιχώματα της. Διακρίνεται στην κοιλότητα του σώματος και στην κοιλότητα του τραχήλου, οι οποίες έχουν ως όριο μεταξύ τους το **έσω στόμιο της μήτρας (ισθμικός πόρος)**, που εξωτερικά αντιστοιχεί στον ισθμό.

**Η κοιλότητα του σώματος** σε οβελιαίες και εγκάρσιες τομές είναι σχεδόν σχισμοειδής, εφόσον ο βλεννογόνος που καλύπτει το πρόσθιο τοίχωμα βρίσκεται σε επαφή με τον βλεννογόνο που καλύπτει το οπίσθιο τοίχωμα παρεμβάλλεται ανάμεσα τους μόνο ένα λεπτό στρώμα βλέννας. Σε μία σχεδόν μετωπιαία τομή που διενεργείται κατά μήκος των πλάγιων χειλεων του σώματος της μήτρας έχει σχήμα τριγώνου. Η κορυφή του τριγώνου αυτού στρέφεται προς τα κάτω και αντιστοιχεί στο έσω στόμιο της μήτρας, οι πλευρές του είναι

υπόκυρτες, με το κυρτό να στρέφεται προς τα έσω, και η βάση του υπόκυρτη με το κυρτό να στρέφεται προς τα κάτω.



**Εικ. 12.** Η κοιλότητα και τα τοιχώματα της μήτρας όπως φαίνονται σε μια μετωπιαία τομή, αντίστοιχα προς τα πλάγια χείλη της μήτρας. (Πρόσθια όψη).

Έτσι, οι γωνίες της βάσης δίνουν την εικόνα χωνοειδών προσεκβολών που λέγονται **κέρατα** της μήτρας και των οποίων η κορυφή αντιστοιχεί στο μητρίαίο στόμιο των ωαγωγών ενώ η βάση, χωρίς συγκεκριμένο όριο, μεταπίπτει στην κοιλότητα του σώματος.

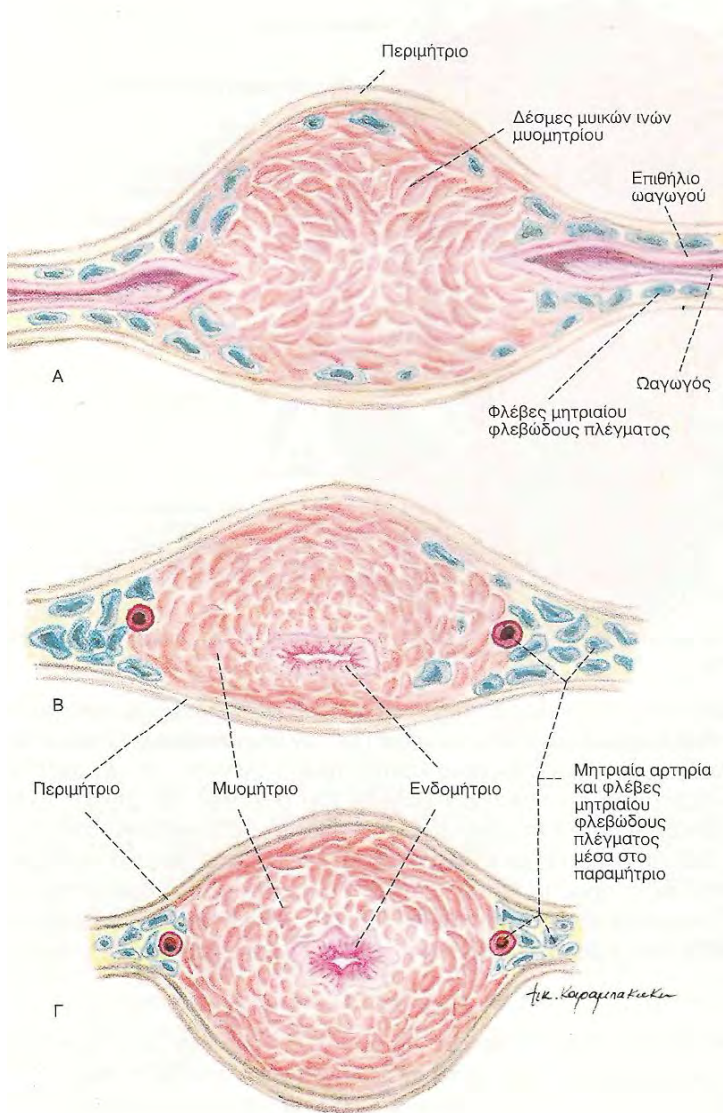
*Η τοξοειδής πορεία των τοιχωμάτων της κοιλότητας της μήτρας και τα κέρατα, που είναι μορφώματα περισσότερο αναπτυγμένα στις άτοκες παρά τις πολύτοκες, οφείλουν τη διαμόρφωσή τους στον τρόπο διάπλασης της μήτρας (διφυής καταβολή). Στο διφυές της εμβρυϊκής καταβολής της μήτρας (προκύπτει από τη συγχώνευση των δύο πόρων του Muller) οφείλουν την ύπαρξη τους επίσης μία επιμήκης ταπεινή ακρολοφία ή ραφή στο μέσο των δύο τοιχωμάτων (πρόσθιου και οπίσθιου) της κοιλότητας, καθώς και ανάλογο μόρφωμα στον πυθμένα της μήτρας. Σε σπάνιες περιπτώσεις τα μορφώματα αυτά έχουν τη μορφή ενός πλήρους διαφράγματος που χωρίζει την κοιλότητα της μήτρας σε δύο ανεξάρτητες κοιλότητες (δίχωρη μήτρα).*

**Η κοιλότητα του τραχήλου (τραχηλικός σωλήνας)** έχει σχήμα ατρακτοειδές, αποπλατυσμένο από εμπρός προς τα πίσω, που επικοινωνεί προς τα άνω διαμέσου του έσω στομίου της μήτρας με την κοιλότητα του σώματος και, προς τα κάτω, διαμέσου του έξω στομίου με τον κολεό. Το έσω στόμιο της μήτρας είναι μια δακτυλιοειδής περίσφιξη που συνιστά το στενότερο τμήμα της κοιλότητας της μήτρας, με διάμετρο περίπου 4 χλστ.

*Δεδομένου ότι η αμφιβρεγματική διάμετρος του εμβρύου ανέρχεται σε 9,5 εκ. περίπου, γίνεται κατανοητό ότι για να επιτευχθεί ο τοκετός θα πρέπει το τραχηλικό στόμιο να διασταλεί μέχρι τα 10 εκ. περίπου.*

Ο βλεννογόνος που καλύπτει το πρόσθιο και το οπίσθιο τοίχωμα αναίρεται κατά τόπους, με αποτέλεσμα να σχηματίζει παράλληλες πτυχές που λέγονται **φοινικοειδείς**. Οι φοινικοειδείς πτυχές φέρονται λοξά συγκλίνοντας προς τη μέση γραμμή, όπου διαμορφώνουν την **πρόσθια** και την **οπίσθια** στελεχιαία **φοινικοειδή πτυχή**.





**Εικ. 13.** Εγκάρσιες τομές από σώμα της μήτρας. Α. Στο ύψος του πυθμένα, αντίστοιχα προς τα σημεία, όπου εκβάλλουν οι ωαγωγοί. Β. Περίπου στο μέσον του σώματος. Γίνεται φανερό ότι η κοιλότητα της μήτρας βρίσκεται περισσότερο κοντά προς την πρόσθια επιφάνεια παρά προς την οπίσθια. Γ. Στο ύψος του ισθμού

τρος σε 2-3 χλστ.

Η περιεκτικότητα της κοιλότητας της μήτρας στις πολύτοκες ανέρχεται σε 5-8 κυβικά εκ. και στις άτοκες σε 2-3 κυβικά εκ.

Οι διαστάσεις της κοιλότητας της μήτρας είναι σπουδαιότερες στην κλινική πράξη (τοποθέτηση ενδομήτριων αντισυλληπτικών συσκευών, διενέργεια υστεροσαλπιγγογραφίας) από τις διαστάσεις της ίδιας της μήτρας.

Οι φοινικοειδείς πτυχές δεν βρίσκονται ακριβώς αντίκρου αλλά εκείνες του ενός τοιχώματος αντεμβαίνουν στις πτυχές του άλλου. Η σχέση των φοινικοειδών πτυχών όπως και αυτή των στελεχιαίων, που έχει ως αποτέλεσμα, σε εγκάρσια τομή, η όψη της κοιλότητας του τραχήλου να μοιάζει με δ που φέρεται εγκάρσια, έχει ως συνέπεια να επιτυγχάνεται καλύτερη σύγκλειση του τραχηλικού σωλήνα.

Μεταξύ των φοινικοειδών πτυχών (ιδιαίτερα τον τραχήλου) διαμορφώνονται αύλακες (κρύπτες) που είναι πολύ χρήσιμες λειτουργικά, επειδή σ' αυτές αποθηκεύονται τα σπερματοζωάρια ώστε η ανοδική πορεία τους προς τη λήκυθο των ωαγωγών να μη γίνεται μαζικά αλλά να αποκτά τη μορφή συνεχούς ροής.

Οι διαστάσεις της κοιλότητας της μήτρας σε πολύτοκη γυναίκα έχουν ως εξής: Το μήκος από τον πυθμένα έως το έξω τραχηλικό στόμιο είναι 65 χλστ. το πλάτος, ως εγκάρσια διάμετρος του σώματος, στη μεσοσαλπιγγική γραμμή 35 χλστ., στον ισθμό 4 χλστ. και στο μέσο της κοιλότητας του τραχήλου σε 8 χλστ. Η οβελιαία διάμετρος 2 χλστ. Στην άτοκη το μήκος ανέρχεται σε 65 χλστ., το πλάτος σε 25 χλστ. και η οβελιαία διάμε-

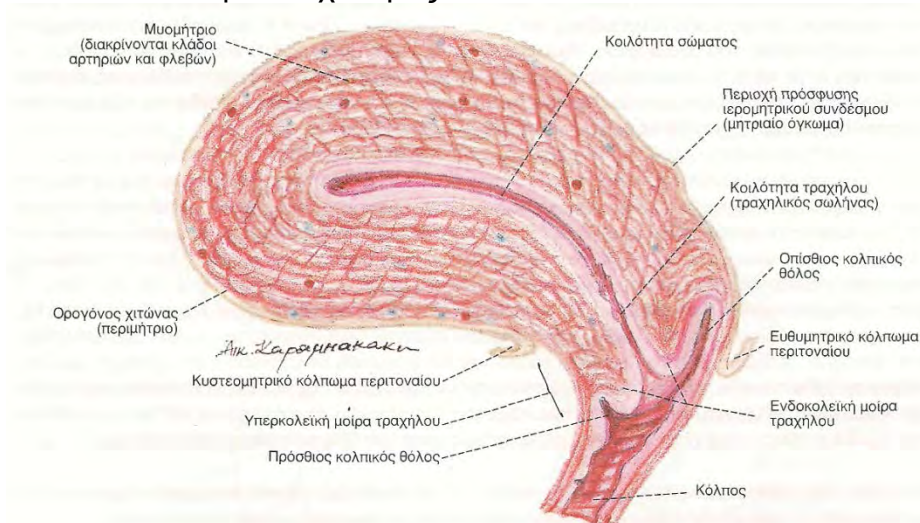


Το τοίχωμα της μήτρας έχει πάχος που κυμαίνεται από 10 έως 20 χλστ. και αποτελείται από τρεις χιτώνες, που από έξω προς τα έσω είναι ο ορογόνος, ο μυϊκός και ο βλεννογόνος. Επιπλέον περιέχει αγγεία και νεύρα.

Ο ορογόνος χιτώνας ή περιμήτριο συνίσταται από το τμήμα του περιτοναίου που καλύπτει το σώμα της μήτρας και την οπίσθια επιφάνεια του υπερκολεϊκού τμήματος του τραχήλου. Το περιμήτριο δεν καλύπτει τα πλάγια χείλη της μήτρας, την πρόσθια επιφάνεια του υπερκολεϊκού και όλο το ενδοκολεϊκό τμήμα του τραχήλου. Συνάπτεται με τον υποκείμενο μυϊκό χιτώνα με την παρεμβολή μιας στιβάδας από χαλαρό συνδετικό ιστό, η οποία είναι ιδιαίτερα παχιά κοντά στα πλάγια χείλη και αμέσως πιο πάνω από τον τράχηλο και μάλιστα στο κάτω τεταρτημόριο της οπίσθιας επιφάνειας.

*Έτσι εξηγείται ότι, ενώ η αποκόλληση του ορογόνου από τον μυϊκό χιτώνα είναι σχεδόν αδύνατη στην περιοχή τον πυθμένα και στο άνω μέρος του σώματος της μήτρας, γίνεται σχετικά εύκολη προς τον τράχηλο καθώς και κοντά στα πλάγια χείλη.*

Ο μυϊκός χιτώνας ή μυομήτριο αποτελεί το μεγαλύτερο μέρος των τοιχωμάτων της μήτρας, έχει πάχος περίπου 1,25 εκ. στον πυθμένα και στη μέση του σώματος, ενώ είναι λεπτότερος προς τα στόμια των σαλπίνγων. Συνίσταται από δέσμες λείων μυϊκών ινών, μεταξύ των οποίων πορεύονται αιμοφόρα και λεμφοφόρα αγγεία, καθώς και νεύρα. Οι προηγούμενες ανατομικές δομές (μυϊκές ίνες, αγγεία, νεύρα) περιβάλλονται και συνάπτονται μεταξύ τους με ινώδη συνδετικό ιστό, πλούσιο σε ελαστικές ίνες. Η σύναψη αυτή είναι τόσο στερεά, ώστε, κατά τις τομές του μυομητρίου δίνεται αίσθηση παρόμοια με την αίσθηση που δίνεται όταν τέμνεται χόνδρος.



**Εικ. 14.** Η κοιλότητα και τα τοιχώματα της μήτρας όπως φαίνονται σε μια μέση οβελιαία τομή. Όψη αριστερή πλάγια

Μολονότι οι λείες μυϊκές ίνες διαπλέκονται προς ποικίλες κατευθύνσεις, διακρίνονται στο μυϊκό χιτώνα της μήτρας η έξω, η μέση και η έσω στιβάδα, οι οποίες βέβαια δεν διαχωρίζονται ξεκάθαρα η μία από την άλλη.

Η έξω στιβάδα συνίσταται από δέσμες μυϊκών ινών, οι οποίες φέρονται κυρίως επιμήκως και κατευθύνονται από τον πυθμένα προς την πρόσθια ή την οπίσθια επιφάνεια. Μερικές από τις δέσμες αυτής της στιβάδας που βρίσκονται επί τα εντός των προηγούμενων, επεκτείνονται προς τον μυϊκό χιτώνα των ωαγωγών καθώς και προς τους στρογγυλούς συνδέσμους της μή-

τρας ή τους ίδιους συνδέσμους της ωοθήκης, ενώ άλλες προς τους πλατείς και τους ιερομητρικούς συνδέσμους.

*Η φορά των μυϊκών ινών της έξω στοιβάδας του μυομητρίου, την καθιστά από άποψη λειτουργίας, εξωθητική κυρίως στιβάδα.*

Η μέση στοιβάδα συνίσταται από μυϊκές δέσμες που δεν εμφανίζουν τυπική φορά, αλλά άλλες φέρονται επιμήκως, άλλες λοξά (ελικοειδώς) και άλλες εγκάρσιως. Είναι η περισσότερο αναπτυγμένη (παχύτερη) στοιβάδα του μυομητρίου, ιδιαίτερα στην περιοχή του πυθμένα και αυτή που αποδίδει το κυριότερο έργο κατά τη διάρκεια του τοκετού. Ανάμεσα στις μυϊκές δεσμίδες της μέσης στοιβάδας, διέρχονται τα μεγάλα αγγειακά στελέχη, γι' αυτό λέγεται και "αγγειώδης στοιβάδα". Οι πυθμένες των αδένων της μήτρας έρχονται σε επαφή με την αγγειώδη στοιβάδα.

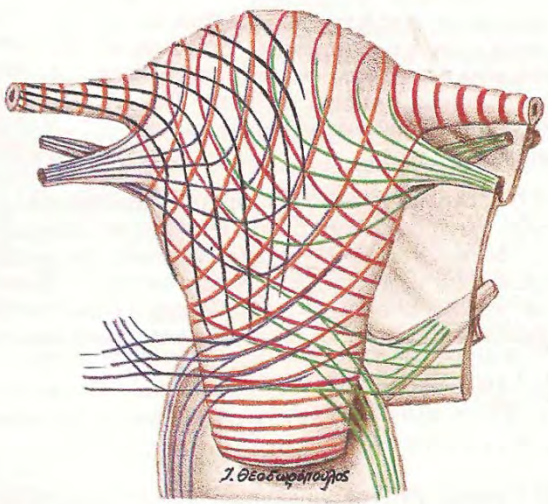
*Η διάταξη των μυϊκών ινών της μέσης στοιβάδας (προς όλες τις κατευθύνσεις) και η σχέση τους με τα αγγειακά στελέχη της μήτρας έχει μεγάλη σπουδαιότητα, δεδομένου ότι η σύσπασση των μυϊκών ινών, επιφέρει στραγγαλισμό των αγγείων (ακτινοειδών αρτηριακών κλάδων) και αναστέλλει την αιμορραγία ύστερα από την έξοδο του κυήματος (υστεροτοκία ή αποβολή). Επίσης διαμορφώνει σφιγκτήρες γύρω από τα σαλπγγικά στόμια, όπως και γύρω από το έσω τραχηλικό στόμιο της μήτρας.*

*Στην περιοχή τον ισθμού πλεονάζουν ίνες της μέσης στοιβάδας που φέρονται εγκάρσιως, γι' αυτό και εύκολα διαχωρίζονται στις εγκάρσιες καισαρικές τομές.*

Η έσω στοιβάδα συνίσταται από δέσμες μυϊκών ινών που φέρονται λοξώς και κυκλοτερώς, και περιορίζεται στα 2/3 του ανώτερου τμήματος του σώματος της μήτρας. Οι μυϊκές ίνες αυτής της στοιβάδας περιβάλλουν τους πυθμένες των αδένων του ενδομητρίου (υποβλεννογόνια μυϊκή στιβάδα).

*Θεωρείται ότι η έσω στοιβάδα δεν προωθεί τον τοκετό, αλλά συμβάλλει κυρίως στην αποκόλληση του πλακούντα μετά τον τοκετό και στην αναστολή της αιμορραγίας με τον στραγγαλισμό των αγγείων*

**Ο μυϊκός χιτώνας του τραχήλου** διαφέρει από αυτόν του σώματος. Η σημαντικότερη διαφορά βρίσκεται στην περιεκτικότητα σε μυϊκό ιστό. Έτσι ο μυϊκός ιστός αντιπροσωπεύει το 28% της μάζας του σώματος, ενώ από το ύψος του ισθμού τα μυϊκά στοιχεία βαθμιαία ελαττώνονται και αυξάνονται τα συνδετικά (κολλαγόνες και ελαστικές ίνες), ώστε στον τράχηλο τα συνδετικά στοιχεία αντιπροσωπεύουν το 90% της μάζας του. Διαφέρει επίσης η δομή και η διάταξη των μυϊκών ινών του.



**Εικ. 15.** Σχηματική απεικόνιση τηςφοράς των μυϊκών ινών του μυομητρίου. Με μωβ και πράσινο χρώμα παρασταίνονται οι ίνες της επιπολής στιβάδας, με κόκκινο και πορτοκαλί της μέσης και

## ΙΣΤΟΛΟΓΙΑ ΤΟΥ ΤΡΑΧΗΛΟΥ ΤΗΣ ΜΗΤΡΑΣ

Ο τράχηλος της μήτρας αποτελείται από μεσεγγυματικά κυτταρικά στοιχεία και από επιθηλιακά κυτταρικά στοιχεία. Τα μεσεγγυματικά στοιχεία σχηματίζουν το μεγαλύτερο πάχος του τοιχώματος του τραχήλου και είναι τα λεία μυϊκά κύτταρα τα οποία συγκριτικά είναι πολύ λιγότερα σε αναλογία σε σχέση με τα λεία μυϊκά κύτταρα του μυομητρίου, οι ινοβλάστες ή ινοκύτταρα, που είναι περισσότερα σε αναλογία σε σύγκριση με το μυομήτριο και τα κύτταρα των αιμοφόρων αγγείων και των λεμφαγγείων. Τα επιθηλιακά κύτταρα του τραχήλου της μήτρας καλύπτουν την εξωτερική επιφάνεια του εξωτραχήλου και την εσωτερική επιφάνεια του ενδοτραχηλικού σωλήνα και των καταδύσεων του ή ενδοτραχηλικών αδένων.

### ΕΠΙΘΗΛΙΑΚΑ ΚΥΤΤΑΡΑ ΤΡΑΧΗΛΟΥ ΜΗΤΡΑΣ

#### Επιθηλιακά κύτταρα εξωτραχήλου

Ο εξωτράχηλος καλύπτεται από πολύστοιβο πλακώδες μη κερατινοποιημένο επιθήλιο το οποίο παρουσιάζει τις ακόλουθες στοιβάδες:

1. Την βασική στοιβάδα
2. Την παραβασική στοιβάδα,
3. Την ενδιάμεση στοιβάδα και
4. Την επιπολής ή επιφανειακή στοιβάδα.

#### Βασική στοιβάδα

Τα κύτταρα της βασικής στοιβάδας σχηματίζουν ένα στοίχο κυττάρων, έχουν 10μ διάμετρο, κυβοειδές σχήμα, ένα ωοειδή πυρήνα προσανατολισμένο κάθετα προς την βασική μεμβράνη και λίγη ποσότητα αμφίφιλου ή βασεόφιλου κυτταροπλάσματος. Τα κύτταρα της βασικής στοιβάδας κάθονται πάνω σε μία συνεχή βασική μεμβράνη που τα ξεχωρίζει από το υποκείμενο συνδετικό υπόστρωμα. Τα κύτταρα της βασικής στοιβάδας συνδέονται με την βασική μεμβράνη μέσω ημιδεσμοσωμάτων. Τα ημιδεσμοσώματα είναι χαρακτηριστικά στοιχεία των κυττάρων της βασικής στοιβάδας γιατί αυτά απαντούν μόνο στα κύτταρα της βασικής στοιβάδας. Τα ημιδεσμοσώματα μοιάζουν με μισά δεσμοσώματα και έχουν ως αποστολή τους την πρόσφυση της κυτταρικής μεμβράνης της βασικής όψευς του κυττάρου στον βασικό υμένα. Στην κυτταροπλασματική όψη της κυτταρικής μεμβράνης υφίστανται **προσφυτικές πλάκες** (attachment plaques) αποτελούμενες από δεσμοπλακίνες και άλλες σχετιζόμενες προς αυτές πρωτεΐνες. Σε αυτές τις πλάκες αγκυροβολούν **τονοϊνίδια κερατίνης** (keratin tonofilaments), σε αντίθεση με εκείνα των δεσμοσωμάτων όπου τα ινίδια εισέρχονται στην πλάκα και εν συνεχεία κάνουν απότομη στροφή και εξέρχονται από αυτήν. Οι κυτταροπλασματικές όψεις των **διαμεμβρανικών συνδετικών πρωτεϊνών** (transmembrane linker proteins) προσφύονται στην πλάκα, ενώ τα εξωκυττάρια τμήματά τους συνδέονται με **λαμινίνη** και **κολλαγόνο τύπου IV** του βασικού υμένα. Οι διαμεμβρανικές συνδετικές πρωτεΐνες των ημιδεσμοσωμάτων είναι ιντεγκρίνες (integrins), μια ομάδα υποδοχέων της εξωκυττάριας ουσίας, ενώ εκείνες των δεσμοσωμάτων ανήκουν στην οικογένεια των καδερινίνων των διακυτταρικών προσφυτικών πρωτεϊνών.

Τα κύτταρα της βασικής στοιβάδας συνδέονται με δεσμοσώματα με τα γειτονικά κύτταρα της βασικής στοιβάδας, και με τα υπερκείμενα κύτταρα της παραβασικής στοιβάδας. Τα κύτταρα της βασικής στοιβάδας έχουν στο κυτταρόπλασμά τους ενδιάμεσα νημάτια κερατίνης, που σχηματίζονται από τον πολυμερισμό μορίων της κερατίνης 6, της κερατίνης 15 και της κερατίνης 16, με την κερατίνη 15 να είναι η πιο σταθερή κερατίνη παρούσα σε όλες τις περιπτώσεις. Χαρακτηριστικά απουσιάζει η κερατίνη 1 από τα κύτταρα της βασικής στοιβάδας.

## Παραβασική στοιβάδα

Η παραβασική στοιβάδα αποτελείται συνήθως από δύο στοιχούς κυττάρων τα οποία είναι στρογγυλά και μεγαλύτερα από τα κύτταρα της βασικής στοιβάδας λόγω του ότι έχουν μεγαλύτερη ποσότητα κυτταροπλάσματος, το οποίο είναι ηωσινόφιλο περιέχοντας και αυτό ενδιάμεσα νηματία κερατίνης που σχηματίζονται από τον πολυμερισμό της κερατίνης 1, της κερατίνης 6, της κερατίνης 15, ενώ η κερατίνη 16 συνήθως απουσιάζει στις περισσότερες περιπτώσεις, αν και είναι παρούσα σε μία μειοψηφία και μάλιστα αρκετά έντονα. Τα κύτταρα της παραβασικής στοιβάδας συνδέονται μεταξύ τους με δεσμοσώματα που έχουν τα ίδια χαρακτηριστικά με τα δεσμοσώματα των πλακωδών κυττάρων όλων των στοιβάδων. Τα κύτταρα της παραβασικής στοιβάδας είναι άφθονα στα επιχρίσματα των κυτταρολογικών λήψεων του εξωτραχήλου των γυναικών μετά την εμμηνόπαυση, λόγω ατροφίας της ενδιάμεσης και της επιπολής στοιβάδας.

## Ενδιάμεση στοιβάδα

Η ενδιάμεση στοιβάδα αποτελείται συνήθως από οκτώ στοιχούς πολυγωνικών κυττάρων με άφθονο κυτταρόπλασμα το οποίο αρχίζει να συγκεντρώνει γλυκογόνο στην περιοχή γύρω από τον πυρήνα δίνοντας μία περιπυρηνική διαυγή χρώση στο κυτταρόπλασμα στις χρώσεις ρουτίνας, ηωσίνης–αιματοξυλίνης, διότι το γλυκογόνο παραμένει άβαφο κατά την χρώση. Το πολυγωνικό σχήμα και η συσσώρευση γλυκογόνου ξεχωρίζουν τα κύτταρα της ενδιάμεσης στοιβάδας από τα στρογγυλά και στερούμενα εμφανούς γλυκογόνου κύτταρα της παραβασικής στοιβάδας τόσο στις ιστολογικές τομές όσο και στα κυτταρολογικά επιχρίσματα.

Ένα άλλο χαρακτηριστικό των κυττάρων της ενδιάμεσης στοιβάδας είναι τα άφθονα δεσμοσώματα τα οποία συνδέουν στέρεα τα κύτταρα με τα γειτονικά τους κύτταρα και εξ αιτίας αυτής της στέρεης σύνδεσης κατά την χρώση των τομών προσδίδεται μία ακανθωτή εμφάνιση στα κύτταρα, γι' αυτό και αυτή η στοιβάδα μερικές φορές και ιδίως στην επιδερμίδα ονομάζεται και ακανθωτή στοιβάδα.

Τα **δεσμοσώματα** (desmosomes) αποτελούν το τρίτο και τελευταίο στοιχείο του συνδετικού συμπλέγματος. Οι εν λόγω κομβιοειδείς συνδέσεις φαίνεται ότι και αυτές έχουν τυχαία κατανομή στις πλάγιες κυτταρικές μεμβράνες των μονοστοίβων επιθηλίων, καθώς και σε ολόκληρη την κυτταρική μεμβράνη των κυττάρων του πολυστοίβου πλακώδους επιθηλίου, ιδιαιτέρως της επιδερμίδας.

Οι δισκοειδείς προσφυτικές πλάκες (attachment plaques - διαστάσεων περίπου 400x250x10nm), εντοπίζονται αντικρουστά η μία στην άλλη στις κυτταροπλασματικές όψεις των κυτταρικών μεμβρανών παρακειμένων επιθηλιακών κυττάρων. Κάθε πλάκα αποτελείται από μία σειρά προσφυτικών πρωτεϊνών, από τις οποίες οι καλύτερα μελετημένες είναι οι δεσμοπλακίνες (desmoplacins) και οι πακοσφαιρίνες (pakoglobins).

Στην πλάκα παρατηρείται η είσοδος ενδιάμεσων νηματίων κυτταροκερατίνης όπου ανακάμπτουν σαν φουρκέτες, επανεισδύοντας στο κυτταρόπλασμα. Τα εν λόγω νηματία πιστεύεται ότι διαχέουν τις παραμορφωτικές δυνάμεις που ασκούνται στο κύτταρο.

Στην περιοχή των αντικρουστών προσφυτικών πλακών, το μεσοκυττάριο διάστημα έχει πλάτος μέχρι 30nm και περιέχει νηματώδη στοιχεία με μία λεπτή, πυκνή, κατακόρυφη γραμμή, εντοπιζόμενη στο μέσον του μεσοκυττάρου χώρου. Η μεγάλων μεγεθύνσεων ηλεκτρονική μικροσκοπία απέδειξε ότι τα νηματώδη στοιχεία αποτελούνται από δεσμογλεΐνη (desmoglein), καθώς επίσης από τα εξωκυττάρια στοιχεία των  $Ca^{2+}$ -εξαρτώμενων διαμεμβρανικών συνδετικών πρωτεϊνών της οικογένειας των καδερινών. Παρουσία  $Ca^{2+}$  συνδέονται με διαμεμβρανικές συνδετικές πρωτεΐνες του παρακειμένου κυττάρου. Παρουσία χηλικού παράγοντος του ασβεστίου, τα δεσμοσώματα χωρίζονται σε δύο ημίσεια και τα κύτταρα αποχωρίζονται. Ως εκ τούτου, για τον σχηματισμό ενός δεσμοσώματος απαιτείται η σύμπραξη δύο κυττάρων. Οι κυτ-

ταροπλασματικές όψεις των διαμεμβρανικών συνδετικών πρωτεϊνών συνδέονται με τις δεσμοπλακίνες και τις πακοσφαιρίνες που αποτελούν την πλάκα.

Τα ενδιάμεσα νημάτια κερατίνης των κυττάρων της ενδιάμεσης στοιβάδας αποτελούνται από τον πολυμερισμό της κερατίνης 1 σε λίγες περιπτώσεις, της κερατίνης 6, της κερατίνης 15 και της κερατίνης 16 σε μία μικρή μειοψηφία. Συνολικά στα επιθηλιακά κύτταρα του πλακώδους επιθηλίου του εξωτραχήλου έχουν ανιχνευθεί οι κερατίνες 1, 4, 5, 6, 13, 14, 15, 16 και 19.

### **Επιπολής ή επιφανειακή στοιβάδα**

Η επιπολής ή επιφανειακή στοιβάδα αποτελείται συνήθως από πέντε ή έξι στοίχους κυττάρων που έχουν χαρακτηριστικά αποπεπλατυσμένο ή πλακώδες σχήμα, γι' αυτό και το όνομα «πολύστοιβο πλακώδες επιθήλιο». Ο επιμήκης άξονας των κυττάρων είναι παράλληλος με την βασική στοιβάδα. Τα κύτταρα έχουν άφθονο κυτταρόπλασμα με μέγιστη διάμετρο 50μ, που περιέχει γλυκογόνο και ενδιάμεσα νημάτια κερατίνης, που προέρχονται από τον πολυμερισμό της κερατίνης 6 κυρίως και λιγότερο της κερατίνης 1. Η κερατίνη 15 και η κερατίνη 16 είναι συνήθως αρνητικές αν και παρούσες σε πολύ λίγες περιπτώσεις, σε πολύ λίγα κύτταρα. Συμπερασματικά, μπορεί να υποστηριχθεί ότι η κερατίνη 6 είναι η κύρια κερατίνη της επιπολής στοιβάδας και η κερατίνη 15 η κύρια κερατίνη της βασικής στοιβάδας.

Οι πυρήνες των κυττάρων της επιπολής στοιβάδας είναι πυκνοχρωματικοί, στρογγυλοί και συγκριτικά μικρότεροι από τους πυρήνες των κυττάρων της ενδιάμεσης στοιβάδας. Στα κυτταρολογικά επιχρίσματα το μικρό, πυκνό και στρογγυλό σχήμα του πυρήνα των επιπολής κυττάρων είναι το κύριο μορφολογικό χαρακτηριστικό που ξεχωρίζει αυτά τα κύτταρα από τα κύτταρα της ενδιάμεσης στοιβάδας, που έχουν μεγαλύτερο και σχετικά αραιοχρωματικότερο πυρήνα.

### **Επιθηλιακά κύτταρα ενδοτραχήλου**

Ο ενδοτραχηλικός σωλήνας και οι ενδοτραχηλικοί αδένες, οι οποίοι δεν είναι πραγματικοί αδένες, αλλά καταδύσεις της επιφάνειας του βλεννογόνου, επενδύονται από ένα στοίχο κυλινδρικών κυττάρων, δηλαδή από μονόστοιβο κυλινδρικό επιθήλιο. Η συντριπτική πλειοψηφία των επιθηλιακών κυττάρων απαρτίζεται από τα **βλεννοπαραγωγά κύτταρα**. Τα βλεννοπαραγωγά κύτταρα είναι ψηλά κυλινδρικά κύτταρα, με ένα πυρήνα στρογγυλό ή ελαφρώς ωοειδή, τοποθετημένο στην βασική μοίρα του κυττάρου με πολύ λίγο, ελάχιστα διακριτό και συνήθως αφανές κυτταρόπλασμα κάτω από τον πυρήνα και με το υπερπυρηνικό κυτταρόπλασμα γεμάτο βλέννη, η οποία στις χρώσεις ρουτίνας λαμβάνει ένα γκριζό σαν σύννεφο χρώμα, ενώ στην χρώση Pas, που βάφει ομάδες σακχάρων, χρωματίζεται έντονα λαμβάνοντας μία χροιά βουσσινί. Τα ενδιάμεσα νημάτια των βλεννοπαραγωγών κυττάρων προέρχονται από τον πολυμερισμό της κερατίνης 7, της κερατίνης 8, της κερατίνης 18, της κερατίνης 19 και της κερατίνης 16. Η κερατίνη 14, 15 και η κερατίνη 20 μπορεί να ανιχνευθεί σε λίγα κύτταρα, σε λίγες περιπτώσεις. Σπάνια μπορεί να ανιχνευθεί σε σπάνια κύτταρα κερατίνη 6, ενώ η κερατίνη 1 απουσιάζει.

Τα κυλινδρικά βλεννοπαραγωγά κύτταρα παρουσιάζουν πολικότητα και εξειδικεύσεις της επιφάνειάς τους. Έτσι το κορυφαίο προς την ελεύθερη επιφάνεια τμήμα της κυτταρικής μεμβράνης παρουσιάζει λίγες μικρολάχνες, που είναι αφανείς ή δυσδιάκριτες με το κοινό μικροσκόπιο και καλά εμφανείς με το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο. Η πλάγια επιφάνεια παρουσιάζει εξειδικεύσεις της κυτταρικής μεμβράνης.

### **ΕΞΕΙΔΙΚΕΥΣΕΙΣ ΤΗΣ ΚΥΤΤΑΡΙΚΗΣ ΜΕΜΒΡΑΝΗΣ ΤΩΝ ΠΛΑΓΙΩΝ ΕΠΙΦΑΝΕΙΩΝ ΤΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ**

Η φωτομικροσκοπική εξέταση αποδεικνύει την ύπαρξη ζωνών, που ονομάζονται τελικές πλάκες (terminal bars), όπου τα επιθηλιακά κύτταρα έρχονται σε επαφή και προφανώς προσφύονται το ένα στο άλλο. Ιδιαιτέρως εμφανείς στην κορυφαία περιοχή του μονόστοιβου κυλινδρικού επιθηλίου που επενδύει το έντερο, οι τελικές πλάκες πιστευόταν ότι αποτελούνταν από άμορφη μεσοκυττάρια ουσία. Οριζόντιες

τομές διαμέσου των τελικών πλακών έδειξαν ότι οι εν λόγω πλάκες περιέτρεχαν ολόκληρη την περίμετρο καθενός κυττάρου, μαρτυρώντας ότι αυτά τα κύτταρα προσφύονταν σε όλα τα παρακείμενα κύτταρα. Με την ηλεκτρονική μικροσκοπία διαπιστώθηκε ότι οι τελικές πλάκες στην πραγματικότητα αποτελούνταν από πολύπλοκα συνενωτικά συμπλέγματα (junctional complexes). Τα εν λόγω συμπλέγματα, τα οποία συγκρατούν μεταξύ τους τα παρακείμενα κύτταρα, διακρίνονται σε τρεις τύπους:

- Στις αποφρακτικές συνδέσεις (occluding junctions), που έχουν ως λειτουργία τους την σύνδεση των κυττάρων, ώστε να σχηματίζουν αδιάβατο φραγμό, μη επιτρέποντας στις ουσίες να ακολουθήσουν μεσοκυττάρια οδό κατά την διέλευσή τους μέσω του επιθηλίου.
- Στις συνδέσεις αγκυροβολίας (anchoring junctions), που έχουν ως λειτουργία τους την διατήρηση της πρόσφυσης του ενός κυττάρου με το άλλο, καθώς και της πρόσφυσης των κυττάρων στον βασικό υμένα τους.
- Στις συνδέσεις επικοινωνίας (communicating junctions), που έχουν ως λειτουργία τους την διευκόλυνση της μετακίνησης ιόντων και σηματοδοτικών μορίων, μεταξύ των κυττάρων, κατ'αυτόν δε τον τρόπο συζευγνύουν παρακείμενα κύτταρα, τόσο από ηλεκτρικής όσο και από μεταβολικής απόψεως.

#### Αποφρακτικές ζώνες

Οι αποφρακτικές ζώνες δεν επιτρέπουν την μετακίνηση μεμβρανικών πρωτεϊνών και έχουν ως λειτουργία τους την αποτροπή της μεσοκυττάριας μετακίνησης υδατοδιαλυτών ουσιών.

Οι αποφρακτικές ζώνες (zonule occludentes), γνωστές επίσης ως στενές ή στεγανές συνδέσεις (tight junctions) εντοπίζονται μεταξύ παρακειμένων κυτταρικών μεμβρανών και αποτελούν την πλέον κορυφαίως κείμενη σύνδεση μεταξύ των κυττάρων των επιθηλίων. Οι εν λόγω συνδέσεις σχηματίζουν μία ζωστηροειδή σύνδεση που περιβάλλει ολόκληρη την περίμετρο του κυττάρου. Στις ηλεκτρονικές μικρογραφίες, οι παρακείμενες μεμβράνες συμπλησιάζουν, τα εξωτερικά πέταλά τους συγχωνεύονται, στην συνέχεια αποκλίνουν, για να συγχωνευτούν επανειλημμένως σε πλάτος 0,1-0,3μm. Στις θέσεις συγχώνευσης συνδέονται μεταξύ τους **κλαουδίνες** (claudins) και **οκκλουδίνες** (occludins), διαμεμβρανικές συνδετικές πρωτεΐνες (transmembrane junctional proteins) των δύο μεμβρανών, σχηματίζοντας κατ'αυτόν τον τρόπο ταινία που αποφράσσει τον μεσοκυττάριο χώρο. Η ανάλυση με κρυόθραυση των κυτταρικών μεμβρανών στις αποφρακτικές ζώνες παρουσιάζει δαντελωτή διάταξη αναστομωμένων ακρολοφιών, γνωστών ως ακρολοφιών των στενών συνδέσεων (tight junction strands), στην Ρ όψη και αντίστοιχου δικτύου αυλάκων στην Ε όψη.

Αν και στον σχηματισμό των αποφρακτικών ζωνών λαμβάνουν μέρος τόσο οι οκκλουδίνες όσο και οι κλαουδίνες, φαίνεται ότι οι κλαουδίνες ασκούν πιο ενεργό ρόλο, επειδή είναι οι πρωτεΐνες που πιθανόν αποφράσσουν το μεσοκυττάριο διάστημα σχηματίζοντας τις προαναφερθείσες ακρολοφίες. Ως μη εξαρτώμενες από το ασβέστιο, οι κλαουδίνες δεν σχηματίζουν ισχυρές συνδέσεις κυττάρων. Ως εκ τούτου, οι επαφές τους χρειάζονται ενίσχυση εκ μέρους καδερινών (cadherins) καθώς και εκ μέρους κυτταροπλασματικών πρωτεϊνών των αποφρακτικών ζωνών, όπως π.χ. οι ZO1, ZO2 και η ZO3.

Οι στενές συνδέσεις λειτουργούν κατά δύο τρόπους:

1. αποτρέπουν την μετακίνηση μεμβρανικών πρωτεϊνών από την κυτταρική μεμβράνη της κορυφαίας επιφάνειας προς την κυτταρική μεμβράνη των πλαγίων επιφανειών του κυττάρου και
2. συνενώνουν τις κυτταρικές μεμβράνες παρακειμένων κυττάρων, αποκλείοντας την διέλευση υδατοδιαλυτών ουσιών μεταξύ των κυττάρων. Αναλόγως με τον αριθμό και τον τρόπο διάταξης των ακρολοφιών στη ζώνη, μερικές



στενές συνδέσεις χαρακτηρίζονται ως «στεγανές», ενώ άλλες ως «διαρρέουσες». Οι εν λόγω όροι αντικατοπτρίζουν την επαρκή διατήρηση, εκ μέρους των κυττάρων, του επιθηλιακού φραγμού μεταξύ δύο παρακειμένων διαμερισμάτων του σώματος.

#### Προσφυτικές Ζώνες

Οι προσφυτικές ζώνες αποτελούν ζωνοειδείς συνδέσεις, οι οποίες βοηθούν την πρόσφυση των παρακειμένων κυττάρων μεταξύ των.

Οι προσφυτικές ή συναπτικές ζώνες των ενωτικών συμπλεγμάτων (zonulae adherentes) εντοπίζονται αμέσως υπό τις αποφρακτικές ζώνες και όπως εκείνες, περιτρέχουν την περίμετρο του κυττάρου. Ο μεσοκυττάριος χώρος, πλάτους 15-20nm, μεταξύ των εξωτερικών πετάλων των δύο παρακειμένων κυτταρικών μεμβρανών, καταλαμβάνεται από τα εξωκυττάρια τμήματα των καδερινών (cadherins).

Οι εν λόγω  $Ca^{+}$  εξαρτώμενες ένθετες πρωτεΐνες της κυτταρικής μεμβράνης αποτελούν διαμεμβρανικές συνδετικές πρωτεΐνες (transmembrane linker proteins). Η ενδοκυτταροπλασματική όψη τους συνδέεται με εξειδικευμένη περιοχή του κυτταρικού πλέγματος και συγκεκριμένως με μία δέσμη ινιδίων ακτίνης, που πορεύονται παράλληλα προς την κυτταροπλασματική όψη της κυτταρικής μεμβράνης. Τα νημάτια της ακτίνης προσφύονται τόσο μεταξύ τους, όσο και στην κυτταρική μεμβράνη με βινκουλίνη (vincoulin) και α-ακτινίνη (α-actinin). Τα εξωκυττάρια τμήματα των καδερινών του ενός κυττάρου σχηματίζουν δεσμούς με τα αντίστοιχά τους των παρακειμένων κυττάρων, συμμετέχοντας στον σχηματισμό των προσφυτικών ζωνών. Ως εκ τούτου η εν λόγω σύνδεση δεν συνδέει μεταξύ τους μόνο τις κυτταρικές μεμβράνες, αλλά και τους κυτταροσκελετούς των δύο κυττάρων μέσω των διαμεμβρανικών συνδετικών πρωτεϊνών.

Η προσφυτική ταινία (fascia adherens) μοιάζει με την προσφυτική ζώνη, με εξαίρεση το γεγονός ότι δεν διατρέχει ολόκληρη την περίμετρο του κυττάρου, αλλά αντί να είναι ζωνοειδής μοιάζει με κορδέλα. Για παράδειγμα, τα καρδιακά μυϊκά κύτταρα προσφύονται το ένα στο άλλο με τα άκρα των επιμήκων πλευρών τους μέσω προσφυτικών ταινιών.

Ο δεύτερος τύπος κυττάρων που απαντάται στο ενδοτραχηλικό επιθήλιο είναι τα **κροσσωτά κύτταρα**. Αυτά τα κύτταρα είναι σπάνια ή πολύ λίγα στο φυσιολογικό ενδοτραχηλικό επιθήλιο. Τα κροσσωτά κύτταρα του ενδοτραχηλικού βλεννογόνου είναι ίδια με τα κροσσωτά κύτταρα του ψευδοπολύστοιβου κυλινδρικού κροσσωτού επιθηλίου της αναπνευστικής οδού καθώς και ίδια με τα κροσσωτά κύτταρα των σαλπγγων ή ωαγωγών. Τα κροσσωτά κύτταρα απαντούν διάσπαρτα ανάμεσα στα βλεννοπαραγωγά κύτταρα, έχουν κυλινδρικό σχήμα με ωοειδείς πυρήνες, τοποθετημένους προς την βασική επιφάνεια του κυττάρου και συνδέονται με τα γειτονικά βλεννοπαραγωγά κύτταρα, με τις εξειδικεύσεις της πλάγιας επιφάνειας, όπως περιγράφηκαν παραπάνω στα βλεννοπαραγωγά κύτταρα, δηλαδή τις ζώνες απόφραξης, τις προσφυτικές ζώνες και τα δεσμοσώματα. Το χαρακτηριστικό γνώρισμα των κροσσωτών κυττάρων είναι η εξειδίκευση της κορυφαίας ή ελεύθερης ή αυλικής επιφάνειάς τους, που χαρακτηρίζεται από την παρουσία κροσσών.

Οι κροσσοί αποτελούν επιμήκεις, κινητές, τριχοειδείς δομές προβάλλουσες από την κορυφαία επιφάνεια του κυττάρου. Ο άξονας τους αποτελείται από πολύπλοκο σύστημα μικροσωληνίσκων, γνωστό ως αξόνημα.

Οι κροσσοί (cillia) είναι κινητές, τριχοειδείς προσεκβολές (πάχους 0,2μm και μήκους 7-10μm), εκφυόμενες από την επιφάνεια ορισμένων επιθηλιακών κυττάρων. Στα κροσσωτά επιθήλια του αναπνευστικού συστήματος (π.χ. της τραχείας και των βρόγχων) και στις σάλπιγγες υπάρχουν εκατοντάδες κροσσοί, διατεταγμένοι σε κανονικούς στοίχους στην ελεύθερη επιφάνεια των κυττάρων. Εν τούτοις, άλλα επιθηλιακά κύτταρα, όπως τα τριχωτά κύτταρα της αιθουσαίας συσκευής του έσω ωτός, παρουσιάζουν έναν μόνο κροσσό, ο οποίος έχει αισθητική λειτουργία. Οι κροσσοί έχουν εξειδικευθεί στην προώθηση της βλέννας και άλλων ουσιών πάνω από την επιφάνεια

του επιθηλίου, με γρήγορες ρυθμικές κινήσεις. Για παράδειγμα, οι κροσσοί του αναπνευστικού δένδρου ωθούν βλέννα και ξένα σωματίδια προς τον στοματοφάρυγγα, όπου μπρούν να καταποθούν ή να αποχρεμφθούν. Οι κροσσοί των σαλπίνγων ωθούν το γονιμοποιημένο ωάριο προς την μήτρα.

Η ηλεκτρονική μικροσκοπία έδειξε ότι οι κροσσοί διαθέτουν ειδική εσωτερική δομή, η οποία έχει διατηρηθεί σταθερή σε όλο το φυσικό και το ζωικό βασίλειο. Ο άξονας του κροσσού περιέχει ένα σύμπλεγμα ομοιόμορφα διατεταγμένων μικροσωληνίσκων που ονομάζεται αξόνημα (axoneme). Το αξόνημα αποτελείται από σταθερό αριθμό επιμήκων μικροσωληνίσκων διατεταγμένων σε σταθερό 9+2 σχηματισμό. Δύο κεντρικώς κείμενοι μικροσωληνίσκοι μονήρεις (singlets), περιβάλλονται από κανονικώς διατεταγμένα εννέα ζεύγη (doublets) μικροσωληνίσκων. Οι δύο μικροσωληνίσκοι που εντοπίζονται στο κέντρο του άξονα είναι χωριστοί μεταξύ τους, καθένας τους δε παρουσιάζει σε εγκάρσια τομή κυκλική όψη, αποτελούμενη από 13 πρωτονημάτια. Καθένα από τα εννέα ζεύγη αποτελείται από δύο υπομονάδες. Σε εγκάρσια τομή η υπομονάδα A (subunit A) παρουσιάζει την όψη μικροσωληνίσκου αποτελούμενου από 13 κυκλικώς διατεταγμένα πρωτονημάτια. Η υπομονάδα B (subunit B) διαθέτει 10 πρωτονημάτια, σε εγκάρσια τομή παρουσιάζει εικόνα ατελούς κύκλου και έχει τρία πρωτονημάτια ίδια με την υπομονάδα A.

Με το αξόνημα συνδέονται μερικά συμπλέγματα ελαστικών πρωτεϊνών. Ακτινωτές άκανθες (radial spokes) προβάλλουν προς τα μέσα από την υπομονάδα A κάθε δυάδας, κατευθυνόμενες προς το κεντρικό έλυτρο (central sheath) που περιβάλλει τους δύο μονήρεις μικροσωληνίσκους. Οι γειτονικές δυάδες συνδέονται μεταξύ τους με νεξίνη (nexin) που εκτείνεται από την υπομονάδα A της μίας δυάδας προς την υπομονάδα B της παρακείμενης δυάδας.

Η συνδεδεμένη με τους μικροσωληνίσκους δυνεΐνη (dydein) η οποία διαθέτει δραστηριότητα ATPάσης, εκτείνεται από την υπομονάδα A της μίας δυάδας προς την κατεύθυνση της υπομονάδας B της γειτονικής δυάδας. Οι εν λόγω βραχίονες της δυνεΐνης απαντούν ανά διαστήματα 24nm κατά μήκος της υπομονάδας A. Η απαιτούμενη ενέργεια για την κάμψη των κροσσών εξασφαλίζεται με υδρόλυση της ATP από την ATPάση της δυνεΐνης. Η κίνηση των κροσσών αρχίζει με την προσωρινή πρόσφυση των βραχιόνων της δυνεΐνης σε ειδικές θέσεις των πρωτονηματίων των παρακειμένων δυάδων, διολισθαίνοντάς τις προς την κορυφή του κροσσού. Εντούτοις, η νεξίνη, μία ελαστική πρωτεΐνη εκτεινόμενη μεταξύ παρακειμένων δυάδων, περιορίζει κάπως αυτήν την δράση, μετατρέποντας την εν λόγω κίνηση σε κάμψη. Καθώς κάμπτεται ο κροσσός, διεργασία που απαιτεί την κατανάλωση ενέργειας, το σύμπλεγμα των ελαστικών πρωτεϊνών διατείνεται. Όταν οι βραχίονες της δυνεΐνης απαγκιστρώνονται από την B υπομονάδα, το σύμπλεγμα των ελαστικών πρωτεϊνών επανακτά το αρχικό μήκος του, επαναφέροντας τον κροσσό στην ευθεία θέση του (διεργασία μη απαιτούσα την κατανάλωση ενέργειας), επιτυγχάνοντας μετακίνηση του υλικού που βρίσκεται στην κορυφή του κροσσού.

Η εντός του αξονήματος 9+2 διάταξη συνεχίζεται καθ'όλο σχεδόν το μήκος του κροσσού, εκτός από την βάση του, όπου αυτός προσφύεται στο βασικό σωματίο (basal body). Η μορφολογία του βασικού σωματίου είναι ίδια με εκείνη του κεντριολίου, ως προς το ότι αποτελείται από εννέα τριάδες και καθόλου μονήρεις μικροσωληνίσκους.

Τα βασικά σωματίδια αναπτύσσονται από προκεντριολικούς οργανωτές (Procentiole organizers). Καθώς προστίθενται διμερή τουμπουλίνης, το προκεντριόλιο επιμηκύνεται και σχηματίζει εννέα τριπλούς μικροσωληνίσκους, χαρακτηριστικούς του βασικού σωματίου. Μετά τον σχηματισμό του, το βασικό σωματίο μεταναστεύει στην κυτταρική μεμβράνη της κορυφής του κυττάρου και σχηματίζει έναν κροσσό. Από τις εννέα τριάδες του βασικού σωματίου αναπτύσσονται εννέα διπλοί μικροσωληνίσκοι, καθώς και ένα ζεύγος μονήρων μικροσωληνίσκων, για να προσδώσουν στον κροσσό την χαρακτηριστική 9+2 διάταξη των μικροσωληνίσκων του.

Ένας άλλος τύπος κυττάρων που απαντούν διάσπαρτα αλλά σε σχετικά πολύ μικρό αριθμό είναι τα **μη κροσσωτά μη βλεννοπαραγωγά εκκριτικά κύτταρα**. Αυ-



τά τα κύτταρα έχουν κυλινδρικό σχήμα, συνήθως ηωσινόφιλο κυτταρόπλασμα και απαντούν σχετικά σε μεγαλύτερους αριθμούς προς το έσω τραχηλικό στόμιο.

Άλλος ένας τύπος κυττάρου που απαντάται στο ενδοτραχηλικό επιθήλιο είναι τα εφεδρικά κύτταρα. Τα **εφεδρικά κύτταρα** είναι σπάνια ή πολύ λίγα κύτταρα, διάσπαρτα στο φυσιολογικό ενδοτραχηλικό επιθήλιο, κάτω από τα κυλινδρικά βλεννοπαραγωγά κύτταρα. Με τις χρώσεις ρουτίνας ηωσίνης-αιματοξυλίνης, είναι δύσκολα διακριτά. Τα εφεδρικά κύτταρα έχουν σχετικά μεγάλους, ως προς το συνολικό μέγεθος του κυττάρου, ομοιόμορφους στρογγυλούς πυρήνες, με αμυδρώς κοκκιώδη χρωματίνη ή λεπτοκοκκιώδη χρωματίνη και περιπτωσιακά συσσωρεύματα χρωματίνης (δηλαδή κέντρα χρωματίνης των εφεδρικών κυττάρων). Τα κυτταροπλασματικά όρια είναι δυσδιάκριτα και ασαφή και τα εφεδρικά κύτταρα έχουν ελάχιστη ποσότητα κυτταροπλάσματος. Παρατηρείται αυξημένος ρυθμός σύνθεσης νουκλεϊνικών οξέων στα εφεδρικά κύτταρα, όταν εξετάζονται με τη μέθοδο της αυτοραδιογραφίας και τα υπερμικροσκοπικά χαρακτηριστικά τους, με την εξέταση του ηλεκτρονικού μικροσκοπίου, είναι παρόμοια με αυτή των κυττάρων της βασικής στοιβάδας του ώριμου πλακώδους επιθηλίου του εξωτραχήλου. Η προέλευση των εφεδρικών κυττάρων που βρίσκονται κάτω από τα κυλινδρικά βλεννοπαραγωγά κύτταρα δεν είναι σαφής. Μερικοί ερευνητές υποστηρίζουν ότι τα εφεδρικά κύτταρα προέρχονται από τα κυλινδρικά βλεννοπαραγωγά κύτταρα, ενώ άλλοι υποστηρίζουν ότι προέρχονται από τα κύτταρα της βασικής στοιβάδας του πλακώδους επιθηλίου του εξωτραχήλου, ή από εμβρυϊκά υπολείμματα κυττάρων ουρογεννητικής προέλευσης ή από κύτταρα του υποκείμενου στρώματος. Πειράματα κυτταροκαλλιιεργειών και πειράματα εμφυτεύσεων *in vitro* και *in vivo* σε συνδυασμό με ανοσοϊστοχημικές μελέτες έδειξαν ότι τα ανθρώπινα ενδοτραχηλικά επιθηλιακά κύτταρα μπορεί να διαφοροποιηθούν προς τα πίσω και να χορηγήσουν αμφότερα και θετικά στην κερατίνη 7 και κερατίνη 18 ενδοτραχηλικά βλεννοπαραγωγά κύτταρα, καθώς και θετικά στην κερατίνη 13 εφεδρικά κύτταρα. Σε αυτά τα πειράματα τα εφεδρικά κύτταρα αποδείχθηκε ότι ήταν η προέλευση των κυττάρων του μεταπλαστικού πλακώδους επιθηλίου. Τα εφεδρικά κύτταρα έχουν ενδιάμεσα νημάτια κερατίνης. Οι κερατίνες που έχουν δειχθεί σε διάφορες εργασίες, ότι περιέχονται στα εφεδρικά κύτταρα είναι οι κερατίνες 5, 13, 14, 17, 18 και 19. Ένας άλλος σπάνιος τύπος κυττάρου που βρίσκεται στα επιθηλιακά ενδοτραχηλικά κύτταρα, είναι τα αργυρόφιλα ή αργενταφινικά νευροενδοκρινικά κύτταρα τα οποία περιέχουν νευροεκκριτικά κοκκία στο κυτταρόπλασμά τους. Αυτά τα κύτταρα είναι θετικά στη χρωμογρανίνη και στην ειδική νευρωνική ενολάση. Ανοσοϊστοχημικώς τα κοκκία αυτά περιέχουν σεροτονίνη. Αυτά τα κύτταρα μπορεί να δώσουν καρκινοειδείς όγκους και μικροκυτταρικά νευροενδοκρινικά καρκινώματα.

#### Αναγέννηση του πολύστοιβου πλακώδους επιθηλίου του εξωτραχήλου.

Η επιθηλιακή αναγέννηση φαίνεται να είναι η κύρια λειτουργία της βασικής και της παραβασικής στοιβάδας του πολύστοιβου πλακώδους επιθηλίου του εξωτραχήλου. Ανάλογα με αυτήν την λειτουργία, υποδοχείς για τον επιδερμικό αυξητικό παράγοντα και υποδοχείς του HER/neu, που είναι ένας υποδοχέας αυξητικού παράγοντα, που σχετίζεται δομικά με τον υποδοχέα του επιδερμικού παράγοντα και επιπλέον υποδοχείς των οιστρογόνων και προγεστερόνης απαντούν κυρίως στα κύτταρα της βασικής και της παραβασικής στοιβάδας (Πίνακας I). Ο αριθμός των υποδοχέων των αυξητικών παραγόντων μειώνεται καθώς τα πλακώδη επιθηλιακά κύτταρα διαφοροποιούνται και μετατοπίζονται μέσα στην ενδιάμεση στοιβάδα. Τα κύτταρα της βασικής στοιβάδας φαίνεται να δρουν σαν αρχέγονα βλαστικά ή εφεδρικά κύτταρα, ενώ τα κύτταρα της παραβασικής στοιβάδας συνιστούν το διαμέρισμα όπου γίνεται ο ενεργός πολλαπλασιασμός των κυττάρων. Αυτήν η άποψη υποστηρίζεται από τα ακόλουθα γεγονότα:

1. Μιτώσεις παρατηρούνται συνήθως στα κύτταρα της παραβασικής και όχι της βασικής στοιβάδας

2. Αυτοραδιογραφικές μελέτες δείχνουν υψηλή πρόσληψη τριτωμένης ( $H_3$ ) θυμιδίνης, ενός από τους καλύτερους δείκτες για τον πολλαπλασιασμό του DNA, στην παραβασική στοιβάδα και όχι στην βασική στοιβάδα των κυττάρων και
3. Άλλοι δείκτες για τα δραστηρίως πολλαπλασιαζόμενα και διαιρούμενα κύτταρα όπως το Ki-67 αντιγόνο, το πυρηνικό αντιγόνο του κυτταρικού πολλαπλασιασμού (PCNA) και άλλες κυκλίνες εντοπίζονται στα παραβασικά κύτταρα (Πίνακας I).
4. Το Ki-67 αντιγόνο είναι ένα πυρηνικό αντιγόνο που εκφράζεται σε όλες τις φάσεις του κυτταρικού κύκλου εκτός από την G<sub>0</sub>, και το PCNA είναι μία κυτταρική πρωτεΐνη που είναι παρούσα στον πυρήνα μόνο των διαιρούμενων κυττάρων και όχι των μη διαιρούμενων ή σε ηρεμία ευρισκομένων κυττάρων. Αυτά τα δύο αντιγόνα είναι άριστοι δείκτες για κύτταρα που βρίσκονται σε ενεργό πολλαπλασιασμό ή κυτταρική διαίρεση. Σε αντίθεση το bcl-2, που είναι μία κυτταρική πρωτεΐνη που δρα ενάντια στην απόπτωση (αντιαποπτωτικός παράγοντας) και η οποία ταυτοποιείται στα αρχέγονα βλαστικά κύτταρα και στα κύτταρα του πολλαπλασιαζομένου διαμερίσματος του αυτοαναγεννώμενου επιθηλίου, βρίσκεται μόνο στα κύτταρα της βασικής στοιβάδας.

**ΠΙΝΑΚΑΣ (1) ΑΝΟΣΟΪΣΤΟΧΗΜΙΚΩΝ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΩΝ ΤΩΝ  
ΤΡΑΧΗΛΙΚΩΝ ΕΠΙΘΗΛΙΑΚΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ**

Αντίσωμα	Κύτταρα πολύστοιβου πλακώδους επιθηλίου				Εφεδρικά/ πλακώδη μεταπλα- στικά	Ενδοτραχηλικά βλεννοπαραγωγά
	Βασικά	Παραβασι- κά	Ενδιάμε- σα	Επιφανει- ακά		
Υποδοχείς αυ- ξητικών παρα- γόντων						
HER 2/ neu	+	+	-	-	+	+
EGF Υποδοχέας	+	+	-	-	+	+
Υποδοχείς οι- στρογόνων	+/-	+	+	-	+	+
Υποδοχείς προ- γεστερό-νης	-	+	-	-	+	+
<b>Πρωτεΐνες κυτ- ταρικού κύκλου</b>						
PCN	-	+	-	-		+
MIB -1	-	+/-	-	-	-	-
(Ki -67)						
bcl-2	+	-	-	-	+	+/-
Cyclin B1	-	+	-	-	+	+/-
Cyclin D1	+	+	-	-	+	+
<b>Άλλες πρωτεΐ- νες</b>						
CD44	+	+	-	-	+	-
CEA	-	-	-	-	-	+

## ΜΕΤΑΒΑΤΙΚΗ ΖΩΝΗ

Η κυλινδροπλακώδης συμβολή του τραχήλου ορίζεται ως το χείλος ή όριο μεταξύ του πολύστοιβου πλακώδους επιθηλίου και του βλεννοπαραγωγού κυλινδρικού επιθηλίου του ενδοτραχήλου. Μορφογενετικώς, υπάρχουν δύο διαφορετικές κυλινδροπλακώδεις συμβολές. Η μία ορίζεται ως η αρχική κυλινδροπλακώδης συμβολή και αποτελεί τη θέση κατά την οποία το αρχικό φυσιολογικό πλακώδες επιθήλιο του εξωτραχήλου έρχεται σε επαφή με το κυλινδρικό επιθήλιο του ενδοτραχήλου, κατά τον χρόνο της γέννησης.

Κατά την γέννηση, θήλα νεογνά έχουν κάποια ποσότητα βλεννοπαραγωγού κυλινδρικού ενδοτραχηλικού επιθηλίου που είναι παρόν πάνω στην επιφάνεια του εξωτραχήλου, που σχηματίζει ένα εκτρόπιο ή εκτοπία του ενδοτραχηλικού επιθηλίου. Η ακριβής εντόπιση της αρχικής κυλινδροπλακώδους συμβολής και επομένως, της έκτασης της ενδοτραχηλικής εκτοπίας, που είναι παρούσα κατά την γέννηση, εξαρτάται από την προς τα έσω επέκταση του πλακώδους επιθηλίου από το κάτω τριτημόριο του κόλπου. Στις γυναίκες που έχουν εκτεθεί σε διαιθυλοστυλβεστρόλη (DES) κατά την ενδομήτριο ζωή, η φυσιολογική επέκταση του πλακώδους επιθηλίου σταματά πρόωρα και η αρχική κυλινδροπλακώδης συμβολή εντοπίζεται στον κόλπο, αντί πάνω στον εξωτράχηλο. Σε αυτές τις γυναίκες που έχουν εκτεθεί στην DES, ολόκληρος ο εξωτράχηλος καλύπτεται με ενδοτραχηλικό κυλινδρικό επιθήλιο.

Στην ηλικία περίπου του ενός έτους, ο τράχηλος αρχίζει να επιμηκύνεται, γεγονός που προκαλεί την μετατόπιση της κυλινδροπλακώδους συμβολής προς το έξω τραχηλικό στόμιο. Αυτή η μετατόπιση είναι συχνά ατελής και μία κολποσκοπική μελέτη των προεφηβικών κοριτσιών μεταξύ των ηλικιών ενός και 13 ετών βρήκε ενδοτραχηλική εκτοπία στο 43% αυτών των κοριτσιών. Ορμονικοί και άλλοι φυσικοί παράγοντες επηρεάζουν το μέγεθος και την κατανομή της ενδοτραχηλικής εκτοπίας, μέσω της μεταβολής του σχήματος και του όγκου των χειλέων του τραχήλου. Κατά τον χρόνο της έναρξης της εμμηνορρυσίας και κατά την εγκυμοσύνη, αμφότερα και το σώμα της μήτρας και ο τράχηλος μεγεθύνονται. Η μεγέθυνση του τραχήλου συνοδεύεται από αλλαγές στο σχήμα του, που έχουν ως αποτέλεσμα μία προς τα έξω επέκταση ή εκτοπία του ενδοτραχηλικού κυλινδρικού επιθηλίου πάνω στον εξωτράχηλο - εκτρόπιο. Ως αποτέλεσμα, στις περισσότερες γυναίκες κατά τα αναπαραγωγικά χρόνια, υπάρχει μία ενδοτραχηλική εκτοπία, το μέγεθος της οποίας είναι πιο εκτεταμένο στις νεότερες γυναίκες, κάτω από την ηλικία των είκοσι ετών και μετά από την πρώτη εγκυμοσύνη. Το εκτρόπιο λαμβάνει χώρα δύο φορές συχνότερα στο πρόσθιο απ' ότι στο οπίσθιο χείλος του τραχήλου, αλλά αμφότερα τα χείλη μπορεί να εμπλακούν συγχρόνως. Οι παράγοντες που επηρεάζουν την έκταση του εκτροπίου, είναι η ηλικία, η οποία σχετίζεται με αυξημένο εκτρόπιο και η χρονική περίοδος κατά την οποία η γυναίκα είναι σεξουαλικά δραστήρια, γεγονός που σχετίζεται με ελαττωμένο εκτρόπιο. Πρόσφατες μελέτες έχουν δείξει ότι ούτε τα από του στόματος αντισυλληπτικά, ούτε τα ενέσιμα προγεστερινούχα σκευάσματα έχουν σχέση με κάποια ελάττωση του εκτροπίου. Όταν παρατηρείται με γυμνούς οφθαλμούς, ο ενδοτραχηλικός βλεννογόνος φαίνεται σαν μία ερυθρά βελουδίνη ζώνη, που ξεχωρίζει από το γειτονικό ρόδινο και διαφανές επιθήλιο του εξωτραχήλου. Εξ' αιτίας της μακροσκοπικής εμφάνισής του, συχνά χρησιμοποιείται ο όρος τραχηλική διάβρωση, από τους κλινικούς, όταν αναφέρονται σ' αυτό το κυλινδρικό επιθήλιο. Αυτός ο όρος όμως, είναι λανθασμένος διότι δεν υπάρχει μία πραγματική διάβρωση, δηλαδή μία απώλεια ή καταστροφή του επιθηλίου, με αποτέλεσμα την επιθηλιακή απογύμνωση του υποκειμένου στρώματος. Αντίθετα, η ερυθρά εμφάνιση, οφείλεται σε θηλώδεις προσεκβολές ποικίλου μεγέθους, που μοιάζουν σαν τσαμπιά σταφυλιών, όταν παρατηρούνται με το κολποσκόπιο. Ιστολογικώς, αυτές είναι στρογγυλεμένες απολήγουσες θηλές, που καλύπτονται από ενδοτραχηλικό κυλινδρικό επιθήλιο, έχοντας υποκείμενο αγγειοϊνώδες στρώμα, που περιέχει πολυάριθμα χρόνια φλεγμονώδη κύτταρα. Το εκτρόπιο του τραχήλου είναι ένα φυσιολογικό εύρημα και δεν πρέπει να θεωρείται σαν μία παθολογική κατάσταση.

Με την πάροδο του χρόνου, το κυλινδρικό βλεννοπαραγωγό επιθήλιο ανανεώνεται και αντικαθίσταται από μεταπλαστικό πολύστοιβο πλακώδες επιθήλιο. Καθώς αυτό συμβαίνει, η κυλινδροπλακώδης συμβολή ονομάζεται φυσιολογική, λειτουργική, ή νέα κυλινδροπλακώδης συμβολή. Η πρωταρχική κυλινδροπλακώδης συμβολή είναι συνήθως εντελώς απότομη, ενώ η συμβολή μεταξύ του κυλινδρικού και πλακώδους επιθηλίου κατά την φυσιολογική ή λειτουργική συμβολή μπορεί να είναι είτε απότομη είτε βαθμιαία. Η περιοχή μεταξύ της πρωταρχικής κυλινδροπλακώδους συμβολής και της μετεφηβικής λειτουργικής κυλινδροπλακώδους συμβολής ονομάζεται **μεταβατική ζώνη**. Η μεταβατική ζώνη χαρακτηρίζεται από την παρουσία μεταπλαστικού - πολύστοιβου πλακώδους επιθηλίου ιστολογικά. Η έννοια της μεταβατικής ζώνης είναι εξαιρετικά σημαντική για την κατανόηση της παθογένειας των πλακωδών καρκινωμάτων του τραχήλου, καθώς και των προκαρκινικών καταστάσεων, επειδή όλη πρακτικά η τραχηλική πλακώδης νεοπλασία αρχίζει στην νέα ή φυσιολογική κυλινδροπλακώδη συμβολή και επειδή η έκταση και τα όρια των προκαρκινικών αλλοιώσεων του τραχήλου συμπίπτουν με την κατανομή της ζώνης μετάπτωσης. Είναι, επίσης, σημαντικό, να ενθυμείται κάποιος ότι κατά την διάρκεια των αναπαραγωγικών ετών της γυναίκας και κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης, σχεδόν σε όλες τις περιπτώσεις, η μεταβατική ζώνη εντοπίζεται στο εκτεθειμένο ορατό τμήμα του εξωτραχήλου. Συνεπώς, οι περισσότερες τραχηλικές νεοπλασίες μπορεί να υποστούν μικρές αφαιρετικές βιοψίες για ιστολογική διάγνωση. Η μεταβατική ζώνη μπορεί να είναι δύσκολο να παρατηρηθεί με γυμνούς οφθαλμούς. Η εντόπιση της, όμως, ενισχύεται σημαντικά, μετά την επάλειψη με 5% διαλύματος οξικού οξέος και με την χρήση του κολποσκοπίου. Κολποσκοπικά, η μεταβατική ζώνη, χαρακτηρίζεται από την παρουσία λείου, διαφανούς, ελαφρώς λευκού ιστού ο οποίος αντιστοιχεί στο μεταπλαστικό πολύστοιβο πλακώδες επιθήλιο, με κυκλοτερή ανοίγματα που αντιστοιχούν στους υποκείμενους αδένες.

Η δημιουργία της μεταβατικής ζώνης γίνεται με δύο μηχανισμούς. Ο ένας είναι η πλακώδης μεταπλασία, η οποία θα περιγραφεί παρακάτω και ο άλλος είναι η πλακώδης επιθηλιοποίηση του ενδοτραχηλικού επιθηλίου, από την κατά συνέχεια επέκταση του πλακώδους επιθηλίου του εξωτραχήλου, όπως θα περιγραφεί παρακάτω. Η προοδευτική πλακώδης μετατροπή του ενδοτραχηλικού επιθηλίου, υποτίθεται ότι εξαρτάται κυρίως από τοπικούς κολπικούς παράγοντες, με το αρχικό ερέθισμα να είναι το χαμηλό όξινο ΡΗ του κόλπου μετά την εφηβεία. Τα τραύματα, ο χρόνιος ερεθισμός, ή η τραχηλική λοίμωξη και φλεγμονή έχουν επίσης ένα ρόλο στην ανάπτυξη και την ωρίμανση της μεταβατικής ζώνης, μέσω του ερεθισμού της επιδιόρθωσης και της επαναδιάταξης και ανανέωσης του επιθηλίου. Τελικά ο εξωτράχηλος καλύπτεται από το προστατευτικό πολύστοιβο πλακώδες μη κερατινοποιημένο επιθήλιο. Η διαδικασία της πλακώδους επιθηλιοποίησης θεωρείται ότι είναι υπεύθυνη για την αντικατάσταση των άπω δύο τρίτων του ενδοτραχηλικού επιθηλίου. Ταχεία πλακώδης επαναεπιθηλιοποίηση του κυλινδρικού επιθηλίου της μεταβατικής ζώνης μπορεί να παραχθεί επίσης ιατρογενώς, μέσω ηλεκτροκαυτηριασμού, κρυοχειρουργικής επέμβασης, ή χειρουργικής επέμβασης με Laser.

## ΥΠΕΡΠΛΑΣΙΕΣ - ΜΕΤΑΠΛΑΣΙΕΣ ΕΠΙΘΗΛΙΟΥ ΤΡΑΧΗΛΟΥ ΜΗΤΡΑΣ

### ΜΕΤΑΠΛΑΣΙΑ ΕΠΙΘΗΛΙΟΥ ΕΞΩΤΡΑΧΗΛΟΥ

#### ΚΕΡΑΤΙΝΟΠΟΙΗΣΗ -ΕΠΙΔΕΡΜΙΔΟΠΟΙΗΣΗ

Η πιο συχνή μεταπλασία του πολύστοιβου πλακώδους μη κερατινοποιημένου επιθηλίου του εξωτραχήλου, είναι η κερατινοποίηση, η οποία σε βαρύτερες καταστάσεις μετατρέπεται σε επιδερμιδοποίηση και τελικά σε δερμοποίηση.

Η συχνότερη αιτία της κερατινοποίησης-επιδερμιδοποίησης είναι η πρόπτωση του τραχήλου της μήτρας, ενώ άλλες λιγότερο συχνές αιτίες, είναι ο χρόνιος ερεθισμός και συνοδές φλεγμονές. Η κερατινοποίηση του πλακώδους μη κερατινοποιημένου πολύστοιβου επιθηλίου του εξωτραχήλου χαρακτηρίζεται από την παρουσία απύρηνων πλακωδών κυττάρων, στην επιφάνεια του φυσιολογικού πολύστοιβου μη κερατινοποιημένου πλακώδους επιθηλίου, δηλαδή προστίθεται μία επιπλέον στοιβάδα κερατίνης στις υπάρχουσες στοιβάδες του φυσιολογικού πλακώδους επιθηλίου του εξωτραχήλου.

#### Η κερατίνη στοιβάδα.

Αν η αιτία που προκάλεσε την κερατινοποίηση είναι έντονη και διαρκεί για περισσότερο χρονικό διάστημα, τότε η κερατινοποίηση μετατρέπεται επεκτεινόμενη σε επιδερμιδοποίηση, με την προσθήκη κάτω από την ήδη σχηματισμένη στοιβάδα της κερατίνης μίας κοκκιώδους στοιβάδας.

**Η κοκκιώδης στοιβάδα** (stratum granulosum), αποτελούμενη από τρία έως πέντε στρώματα αποπεπλατυσμένων κερατινοκυττάρων, είναι η πλέον επιφανειακή στιβάδα της επιδερμίδας, της οποίας τα κύτταρα εξακολουθούν να διαθέτουν πυρήνες. Το κυτταρόπλασμα αυτών των κερατινοκυττάρων περιέχει ευμεγέθη, ακανόνιστου σχήματος, αδρά, βασεόφιλα κοκκία κερατουαλίνης (keratohyalin granules), τα οποία δεν αφορίζονται από μεμβράνη. Μέσω αυτών των κοκκίων διέρχονται νημάτια κερατίνης.

Τα κύτταρα της κοκκιώδους στιβάδας περιέχουν επίσης κοκκία αφοριζόμενα από μεμβράνη. Το περιεχόμενο αυτών των κοκκίων απελευθερώνεται με εξωκυττάρωση στον εξωκυττάριο χώρο, σχηματίζοντας λεπτά στρώματα πλούσιας σε λιπίδια ουσίας, η οποία δρα ως αδιάβροχος φραγμός, που αποτελεί μία από τις λειτουργίες του δέρματος. Η εν λόγω μη διαπερατή στιβάδα δεν επιτρέπει στα κύτταρα που βρίσκονται σε επιφανειακή θέση, ως προς αυτή την περιοχή, να λούζονται στο πλήρες θρεπτικών ουσιών υδατώδες εξωκυττάριο υγρό, επιταχύνοντας κατ'αυτόν τον τρόπο τον θάνατό τους.

Σε περιπτώσεις εντονότερης και ακόμα πιο μακροχρόνιας επίδρασης του αιτίου που προκαλεί την κερατινοποίηση-επιδερμιδοποίηση του φυσιολογικού πλακώδους επιθηλίου του εξωτραχήλου, μπορεί να εμφανιστούν σμηγματογόνοι αδένες συνδεδεμένοι με την υπερκείμενη επιδερμίδα. **Οι σμηγματογόνοι αδένες** είναι λοβωτοί, με αθροίσματα αδενίων εκβαλλόντων σε απλούς βραχείς εκφορητικούς πόρους. Κάθε αδένιο αποτελείται από περιφερικώς κείμενα μικρά βασικά κύτταρα (επικαθήμενα στον βασικό υμένα), τα οποία περιβάλλουν μεγαλύτερα στρογγύλα κύτταρα, τα οποία πληρούν το υπόλοιπο αδένιο. Τα βασικά κύτταρα έχουν σφαιρικό πυρήνα, τραχύ και λείο ενδοπλασματικό δίκτυο (ER), γλυκογόνο και λιπασταγονίδια. Τα εν λόγω κύτταρα υφίστανται κυτταρική διαίρεση, σχηματίζοντας άλλα βασικά κύτταρα και μεγαλύτερα στρογγύλα κύτταρα. Τα μεγαλύτερα κύτταρα διαθέτουν άφθονο λείο ER και κυτταρόπλασμα πληρούμενο με λιπασταγονίδια. Η κεντρική περιοχή του αδενίου πληρούται με κύτταρα ευρισκόμενα σε διάφορα στάδια εκφυλίσεως. Τα εν λόγω αχνώς χρωνύμενα κύτταρα, παρουσιάζουν λίγες ζώνες κυτταροπλάσματος, βαθυχρωματικούς πυκνωτικούς πυρήνες, κατακερματισμένες κυτταρικές μεμβράνες και συρρέοντα λιπασταγονίδια. Η λιποσύνθεση συνεχίζεται για λίγο, ακολουθούμενη από νέκρωση των κυττάρων και την τελική απελευθέρωση των λιπιδίων και των κυτταρικών υπολειμμάτων, που αποτελούν το εκκριτικό προϊόν (ολοκρινής έκκριση). Το εκ-

κριτικό προϊόν διοχετεύεται σε εκφορητικό πόρο, επενδεδυμένο με πολύστοιβο πλακώδες επιθήλιο, το οποίο αποτελεί συνέχεια του πόρου του τριχοθυλακίου.

## **ΟΥΡΟΘΗΛΙΑΚΗ ή ΜΕΤΑΒΑΤΙΚΟΥ ΤΥΠΟΥ ΕΠΙΘΗΛΙΟΥ ΜΕΤΑΠΛΑΣΙΑ ΕΞΩΤΡΑΧΗΛΟΥ - ΜΕΤΑΒΑΤΙΚΗΣ ΖΩΝΗΣ**

Αυτή η μεταπλασία είναι σπάνια και μπορεί να προσβάλλει το πλακώδες επιθήλιο του εξωτραχήλου, της μεταβατικής ζώνης, του κόλπου ή συνδυασμό των παραπάνω αναφερομένων περιοχών στο ίδιο άτομο. Οι γυναίκες που προσβάλλονται είναι κυρίως μετεμμηνοπαυσιακές ή βρίσκονται γύρω από την εμμηνόπαυση. Το εύρημα αυτής της μεταπλασίας είναι τυχαίο. Συνήθως αυτού του τύπου η μεταπλασία προσβάλλει το επιθήλιο της επιφάνειας του τραχήλου ή του κόλπου. Άλλου είδους πρότυπα αυτής της μεταπλασίας είναι η παρουσία μεμονωμένων φωλεών ή ομάδων κυττάρων μέσα στο στρώμα ή εγκολπώσεις του επιθηλίου της επιφάνειας μέσα στο στρώμα. Η τυπική εμφάνιση της μεταβατικού ή ουροθηλιακού τύπου μεταπλασίας συνίσταται στην εμφάνιση ενός υπερπλαστικού επιθηλίου, με απώλεια ωρίμανσης, αποτελούμενου από ατρακτοειδείς πυρήνες, με στενωμένα άκρα και συχνές επιμήκεις πυρηνικές αυλακώσεις. Οι πυρήνες τυπικά προσανατολίζονται κάθετα στις βαθύτερες στοιβάδες και οριζόντια με ένα κυματιστό τρόπο στις επιφανειακές στοιβάδες. Τα κύτταρα είχαν χαμηλό λόγο πυρήνα-κυτταροπλάσματος, με περιπυρηνική διαυγή άλω και απούσες ή σπάνιες μιτώσεις. Σπάνια μπορεί να παρατηρηθεί ελαφρά με μέτρια πυρηνική ατυπία. Πολλές περιπτώσεις μπορεί να εκληφθούν λανθασμένα ως πλακώδης δυσπλασία, εξ αιτίας της απώλειας εμφανούς ωρίμανσης. Αυτή η αλλοίωση που απαντάται σε ηλικιωμένες γυναίκες δεν έχει τύχει της κατάλληλης προσοχής και μπορεί να εκληφθεί λανθασμένα ως πλακώδης δυσπλασία, με επακόλουθο την μη αναγκαία χειρουργική επέμβαση. Αυτή η μεταπλασία μπορεί να αντιπροσωπεύει μία υπερπλασία των κυττάρων της βασικής στοιβάδας ή μία ατροφία του πλακώδους επιθηλίου μετά από θεραπεία με ανδρογόνα. Τα κύτταρα της περιέχουν κερατίνη 13, κερατίνη 17 και κερατίνη 18. Τα κύτταρα της βασικής στοιβάδας μπορεί να περιέχουν καλσιτονίνη και σεροτονίνη.

## **ΥΠΕΡΠΛΑΣΙΑ ΕΦΕΔΡΙΚΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ - ΩΡΗ ΠΛΑΚΩΔΗΣ ΜΕΤΑΠΛΑΣΙΑ - ΩΡΙΜΗ ΠΛΑΚΩΔΗΣ ΜΕΤΑΠΛΑΣΙΑ ΤΟΥ ΕΝΔΟΤΡΑΧΗΛΙΚΟΥ ΕΠΙΘΗΛΙΟΥ**

Όπως προαναφέρθηκε στην ιστολογία του ενδοτραχηλικού επιθηλίου, κάτω από το μονόστοιβο κυλινδρικό βλεννοπαραγωγό επιθήλιο, υπάρχει μικρός αριθμός διάσπαρτων εφεδρικών κυττάρων τα οποία διακρίνονται δύσκολα με τις χρώσεις ρουτίνας ηωσίνης -αιματοξυλίνης. Τα εφεδρικά κύτταρα κάτω από την επίδραση διαφόρων ερεθισμάτων, π.χ. χρονιζουσών φλεγμονών υφίστανται υπερπλασία κατά περιοχές, δημιουργώντας αρχικά μία συνεχόμενη σειρά εφεδρικών κυττάρων, κάτω από το μονόστοιβο κυλινδρικό βλεννοπαραγωγό επιθήλιο και σε περίπτωση εντονότερου ερεθισμού ή πιο μακροχρόνιας επίδρασης δημιουργείται μία δεύτερη προστιθέμενη στοιβάδα εφεδρικών κυττάρων. Η κατάσταση κατά την οποία παρατηρείται περιοχικά μία συνεχής μονή στοιβάδα ή δύο συνεχείς στοιβάδες εφεδρικών κυττάρων, κάτω από την στοιβάδα των βλεννοπαραγωγών κυλινδρικών κυττάρων, ονομάζεται **υπερπλασία των εφεδρικών κυττάρων**. Όταν συνεχίζεται ο ερεθισμός, τα εφεδρικά κύτταρα συνεχίζουν να πολλαπλασιάζονται δημιουργώντας περισσότερες από δύο στοιβάδες. Τώρα ο πολλαπλασιασμός των εφεδρικών κυττάρων μπορεί να είναι ανισότιμος, μέσα σε μία στενή περιοχή, δημιουργώντας ανισότερες αθροίσεις εφεδρικών κυττάρων. Η κατάσταση όπου τα εφεδρικά κύτταρα πολλαπλασιαζόμενα σχηματίζουν περισσότερες από δύο στοιβάδες ονομάζεται **ώρη πλακώδης μεταπλασία**.

Επομένως, μπορεί να λεχθεί, ότι η υπερπλασία των εφεδρικών κυττάρων αποτελεί το πρώτο πρώιμο στάδιο προς την άωρη πλακώδη μεταπλασία. Τα κύτταρα της άωρης πλακώδους μεταπλασίας αρχίζουν να συσσωρεύουν περισσότερο κυτταρόπλασμα σε σχέση με τα εφεδρικά κύτταρα, αλλά το κυτταρόπλασμά τους εξακολουθεί να είναι μικρής ή μέτριας ποσότητας. Τα συνεχώς πολλαπλασιαζόμενα κύτταρα της άωρης πλακώδους μεταπλασίας μπορεί να γεμίσουν πλήρως αδένια του ενδοτραχήλου, τα οποία όπως προαναφέρθηκε δεν είναι πραγματικά αδένια, αλλά είναι καταδύσεις του ενδοτραχηλικού επιθηλίου της επιφάνειας προς το υποκείμενο στρώμα. Η βασική διαφορά των κυττάρων της άωρης πλακώδους μεταπλασίας, από τα κύτταρα της ώριμης πλακώδους μεταπλασίας, η οποία μοιάζει με το πολύστοιβο πλακώδες μη κερατινοποιημένο επιθήλιο του εξωτραχήλου, είναι ότι τα κύτταρα της άωρης πλακώδους μεταπλασίας δεν περιέχουν γλυκογόνο στο κυτταρόπλασμά τους, όπως συμβαίνει με τα κύτταρα της ενδιάμεσης και επιφανειακής στοιβάδας του πολύστοιβου πλακώδους επιθηλίου του εξωτραχήλου. Εξ' αιτίας της έλλειψης γλυκογόνου, η άωρη πλακώδης μεταπλασία στην επιφάνεια του ενδοτραχήλου αντιπροσωπεύεται από ένα πολύστοιβο επιθήλιο ωοειδών ή πολύγωνων κυττάρων, χωρίς την δημιουργία στοιβάδωσης τύπου βασικής, παραβασικής, ενδιάμεσης και επιφανειακής στοιβάδας, ώριμου πολύστοιβου πλακώδους επιθηλίου. Ένα άλλο στοιχείο που βοηθά στην διάκριση της άωρης από τη ώριμη πλακώδη μεταπλασία, είναι το εύρημα ότι αρκετές φορές, αλλά όχι πάντοτε, στην επιφάνεια της άωρης πλακώδους μεταπλασίας μπορεί να υπάρχει μία στοιβάδα κυλινδρικών βλεννοπαραγωγών κυττάρων ή και λίγα διάσπαρτα βλεννοπαραγωγά κύτταρα. Τέτοια διάσπαρτα βλεννοπαραγωγά κύτταρα μπορεί να υπάρχουν στην κεντρική μοίρα των ενδοτραχηλικών αδένων, ο αυλός των οποίων κατά τα άλλα έχει γεμίσει από τα κύτταρα της άωρης πλακώδους μεταπλασίας.

## **ΩΡΙΜΗ ΠΛΑΚΩΔΗΣ ΜΕΤΑΠΛΑΣΙΑ ΤΟΥ ΕΝΔΟΤΡΑΧΗΛΟΥ**

Η παραμονή του ερεθίσματος που προκάλεσε την άωρη πλακώδη μεταπλασία για ακόμη μεγαλύτερο διάστημα έχει ως αποτέλεσμα την μετατροπή της άωρης πλακώδους μεταπλασίας του ενδοτραχήλου σε ώριμη πλακώδη μεταπλασία. Το επιθήλιο της ώριμης πλακώδους μεταπλασίας δεν έχει καμμία μορφολογική διαφορά από το επιθήλιο του εξωτραχήλου, παρουσιάζοντας βασική, παραβασική, ενδιάμεση στοιβάδα με κύτταρα που περιέχουν γλυκογόνο και επιφανειακή στοιβάδα με γλυκογονιωμένα πλακώδη κύτταρα. Πώς μπορεί όμως να γίνει διάκριση μεταξύ του επιθηλίου της ώριμης πλακώδους μεταπλασίας και του επιθηλίου του εξωτραχήλου; Σε πολύ μικρές βιοψίες όπου υπάρχει μόνο επιθήλιο, η διάκριση είναι αδύνατη. Σε μεγαλύτερου μεγέθους βιοψίες κάτω από την ώριμη πλακώδη μεταπλασία υπάρχει στρώμα που περιέχει ενδοτραχηλικούς αδένες. Σε αρκετές περιπτώσεις η ώριμη πλακώδης μεταπλασία μπορεί να κλείσει και να βουλώσει τα στόμια ή τους λαιμούς των ενδοτραχηλικών αδένων, με αποτέλεσμα η εκκρινόμενη βλέννη να συσσωρεύεται στον αυλό του αδένα λόγω μη αποβολής της με αποτέλεσμα την κυστικοποίηση του αδένα. Έτσι δημιουργούνται οι κύστες Naboth, που δεν είναι τίποτε άλλο από φραγμένους από πλακώδες επιθήλιο αδένες, που έχουν διαταθεί, κυστικοποιηθεί και είναι γεμάτοι με βλέννες στον αυλό τους.

## **ΠΛΑΚΩΔΗΣ ΕΠΑΝΑΕΠΙΘΗΛΙΟΠΟΙΗΣΗ ΤΟΥ ΕΝΔΟΤΡΑΧΗΛΙΚΟΥ ΕΠΙΘΗΛΙΟΥ**

Όπως αναφέρθηκε προηγουμένως, τα άπω δύο τρίτα του ενδοτραχηλικού επιθηλίου, αντικαθίστανται από πλακώδες επιθήλιο μέσω του μηχανισμού της πλακώδους επαναεπιθηλιοποίησης. Σύμφωνα με αυτόν τον μηχανισμό κύτταρα από την κατώτερη βλαστική στοιβάδα -βασική, παραβασική- του πολύστοιβου πλακώδους επιθηλίου, του γειτονικού με το ενδοτραχηλικό επιθήλιο, αρχίζουν να πολλαπλασιάζονται και να μεταναστεύουν εγγύτερα κάτω από το μονόστοιβο κυλινδρικό βλεννο-



παραγωγό ενδοτραχηλικό επιθήλιο. Αφού μεταναστεύσουν και εγκατασταθούν κάτω από το κυλινδρικό επιθήλιο, τα πλακώδη κύτταρα συνεχίζουν να πολλαπλασιάζονται, δημιουργώντας πολλές στοιβάδες οι οποίες υποσκάπτουν το υπερκείμενο κυλινδρικό βλεννοπαραγωγό επιθήλιο, το οποίο τελικά αποκολλάται και αποτίπτει, με αποτέλεσμα η επιφάνεια που καλυπτόταν προηγουμένως από κυλινδρικό επιθήλιο, να καλύπτεται τώρα από πλακώδες επιθήλιο, με συνεχή επέκταση της μεταβατικής ζώνης προς το έσω τραχηλικό στόμιο. Το πολύστοιβο πλακώδες επιθήλιο της επαναεπιθηλιοποίησης αρχικά είναι άωρο και στην συνέχεια μετατρέπεται σε ώριμο πολύστοιβο μη κερατινοποιημένο επιθήλιο.

### **ΣΑΛΠΙΓΓΙΚΗ ΟΡΩΔΗΣ ΜΕΤΑΠΛΑΣΙΑ ΤΟΥ ΕΝΔΟΤΡΑΧΗΛΙΚΟΥ ΕΠΙΘΗΛΙΟΥ**

Αυτή η μεταπλασία είναι μία συχνή μεταπλασία, απαντώμενη στο ένα τρίτο των γυναικών, στην άνω μοίρα του ενδοτραχηλικού σωλήνα, συχνά στους εν τω βάθει αδένες. Συχνά παρατηρείται μετά από μία κωνοειδή εκτομή του τραχήλου της μήτρας και μπορεί να αντιπροσωπεύει μία απάντηση σε κάκωση. Μικροσκοπικά η σαλπγγική ορώδης μεταπλασία περιέχει κροσσωτά κύτταρα, που έχουν άφθονους κροσσούς, στην ελεύθερη αυλική επιφάνειά τους και μεγάλους ωοειδείς ποικίλους υπερχρωματικούς πυρήνες. Εκτός από τα κροσσωτά κύτταρα, υπάρχουν ακόμη μη κροσσωτά εκκριτικά κύτταρα, με βαθύχρωμο ηωσινόφιλο ή βασεόφιλο κυτταρόπλασμα, με κορυφαίες προσεκβολές του κυτταροπλάσματός τους, αλλά χωρίς κυστίδια βλέννης. Οι πυρήνες τους κατέχουν βασική θέση. Ακόμη υπάρχουν τα λεγόμενα εμβόλιμα κύτταρα ή κύτταρα σαν ξυλόπροκες, με ελάχιστο κυτταρόπλασμα και λεπτούς και μακρούς πυρήνες, δηλαδή υπάρχουν οι τύποι των κυττάρων που απαντώνται στις σάλπιγγες. Οι αδένες που επενδύονται από αυτά τα κύτταρα έχουν ομαλά περιγράμματα, καθόλου ή ελάχιστη μιτωτική δραστηριότητα, ελαφρά συσσώρευση των κυττάρων ή ατυπία των πυρήνων. Μερικές φορές μπορεί να περιέχουν και κύτταρα που απαντώνται στους ενδομητρικούς αδένες. Συνήθως δεν συνυπάρχει φλεγμονή. Μερικές φορές οι αδένες της ορώδους μεταπλασίας μπορεί να είναι κυστικοί, με αλλοιώσεις του περιαδενικού στρώματος, που να υποδηλώνουν προκαρκινικές καταστάσεις, ή να σχηματίζουν εν τω βάθει αδένες με περιαδενικό οίδημα, που να θέτουν την υπόνοια ενός καλά διαφοροποιημένου αδενοκαρκινώματος. Αλλά τα κύτταρά τους είναι κροσσωτά, χωρίς ατυπία, χωρίς μιτώσεις και χωρίς οριστική δεσμοπλαστική αντίδραση του στρώματος, χαρακτηριστικά που τους ξεχωρίζουν από ένα αδενοκαρκίνωμα.

### **ΕΝΤΕΡΙΚΗ ΜΕΤΑΠΛΑΣΙΑ ΤΟΥ ΕΝΔΟΤΡΑΧΗΛΟΥ**

Είναι πολύ σπάνια και χαρακτηρίζεται από την παρουσία βλεννοπαραγωγών καλυκοειδών κυττάρων. Μπορεί να παρατηρείται σε μερικές περιπτώσεις έκχυση της βλέννης μέσα στο στρώμα. Επιπλέον υπάρχουν απορροφητικά κύτταρα, ίδιου τύπου με αυτά του εντέρου και αργενταφινικά κύτταρα.

### **ΑΤΥΠΗ ΟΞΥΦΙΛΗ ΜΕΤΑΠΛΑΣΙΑ ΤΟΥ ΕΝΔΟΤΡΑΧΗΛΟΥ**

Η άτυπη οξύφιλη μεταπλασία του ενδοτραχήλου είναι πολύ σπάνια. Αυτή αποτελεί ένα τυχαίο εύρημα και έχει καλοήγη συμπεριφορά. Μικροσκοπικώς οι προσβεβλημένοι ενδοτραχηλικοί αδένες επενδύονται από μεγάλα κυβοειδή ή πολυγωνικά επιθηλιακά κύτταρα με πυκνό, ηωσινοφιλικό, εστιακά κενοτοπιώδες κυτταρόπλασμα, με ποικίλου βαθμού πυρηνικής ατυπίας. Οι πυρήνες είναι μεγενθυμένοι, υπερχρωματικοί, και συχνά είναι πολυλοβωτοί ή πολυπύρηνοι. Σπάνιες, κυτταροπλασματικές προσεκβολές μπορεί να παρατηρηθούν. Πολυστοιβάδωση και μιτώσεις δεν πα-

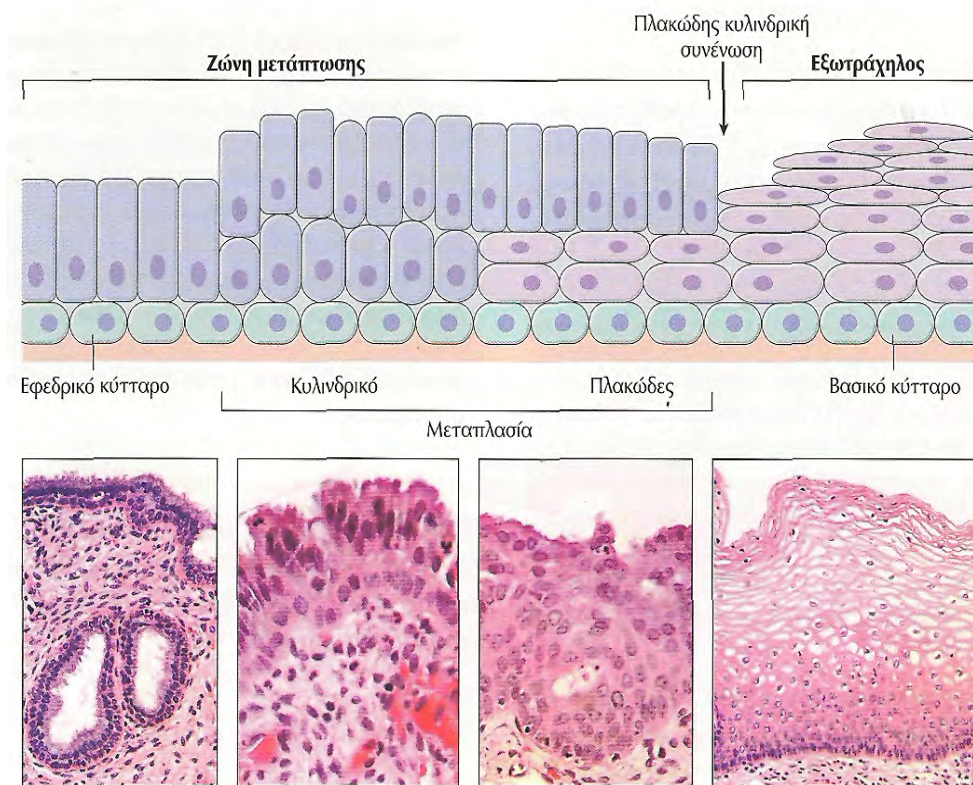
ρατηρούνται. Σπάνια, εστιακή θετικότητα στην Pas (+) και Pas (-) χρώση μπορεί να παρατηρηθεί. Η χρώση musicarmin για βλέννες μπορεί να είναι θετική ή αρνητική. Η άτυπη οξύφιλη μεταπλασία του ενδοτραχηλικού επιθηλίου αντιπροσωπεύει ακόμα μία καλοήγη ενδοτραχηλική αδενική ατυπία, που πρέπει να ξεχωρίζεται από πιο σοβαρές αλλοιώσεις.

## ΤΡΑΧΗΛΟΣ - ΤΡΑΧΗΛΙΤΙΔΕΣ - ΕΝΔΟΤΡΑΧΗΛΙΚΟΙ ΠΟΛΥΠΟΔΕΣ

Ο τράχηλος είναι τόσο ο φρουρός για πιθανά σοβαρές λοιμώξεις του ανώτερου γεννητικού συστήματος, καθώς και ένας στόχος για ιούς και άλλα καρκινογόνα, που μπορεί να οδηγήσουν σε διηθητικό καρκίνωμα. Οι λοιμώξεις αποτελούν μία από τις πιο συνήθεις νοσολογικές οντότητες στην γυναικολογική πρακτική και συχνά ταλαιπωρούν τόσο την ασθενή όσο και τον κλινικό ιατρό. Η πιθανή απειλή καρκίνου, είναι το κέντρο στα προγράμματα προληπτικού ελέγχου του πληθυσμού με το τεστ Παπανικολάου και στην ιστολογική εκτίμηση των βιοψτικών δειγμάτων από τον παθολογοανατόμο. Παγκόσμια, το καρκίνωμα του τραχήλου ευθύνεται για το 5% όλων των θανάτων από καρκίνο στις γυναίκες.

## ΦΛΕΓΜΟΝΕΣ - ΟΞΕΙΑ ΚΑΙ ΧΡΟΝΙΑ ΤΡΑΧΗΛΙΤΙΔΑ

Στην έναρξη της εμμήνου ρύσης, η παραγωγή οιστρογόνων από τις ωθήκες διεγείρει την ωρίμανση (πρόσληψη γλυκογόνου) του τραχηλικού και του κολπικού πλακώδους επιθηλίου. Καθώς αυτά τα κύτταρα αποπίπτουν, το γλυκογόνο παρέχει ένα υπόστρωμα για ενδογενή κολπικά αερόβια και αναερόβια, στρεπτόκοκκους, εντερόκοκκους, σταφυλόκοκκους και *Escherichia coli*. Η βακτηριακή ανάπτυξη προκαλεί μία πτώση στο κολπικό pH. Ο εκτιθέμενος ενδοτράχηλος είναι ευαίσθητος σε αυτές τις αλλαγές στο χημικό περιβάλλον και τη βακτηριακή χλωρίδα και ανταποκρίνεται με το να υφίσταται μια ποικιλία αλλαγών, συμπεριλαμβανομένης της υπερπλασίας των εφεδρικών κυττάρων που οδηγεί σε πλακώδη μεταπλασία. Αυτή η διαδικασία μετάβασης από ένα κυλινδρικό σε πλακώδες επιθήλιο επισπεύδεται από τραύμα και άλλες λοιμώξεις που συμβαίνουν στην αναπαραγωγική ηλικία. Καθώς το πλακώδες επιθήλιο υπερπλάσσεται και εξαλείφει τις επιφανειακές κυλινδρικές θηλές, καλύπτει και αποφράσσει όλα τα στόμια των αδένων, με τη συγκέντρωση της βλέννας σε βαθύτερες κύστεις (αδένες), για να σχηματίσει τις βλεννώδεις κύστεις. Αυτή η διαδικασία σχετίζεται με μια φλεγμονώδη διήθηση που αποτελείται από ένα μείγμα πολυμορφοπυρηνικών λευκοκυττάρων και μονοπύρηνων κυττάρων, και αν η φλεγμονή είναι σοβαρή, μπορεί να σχετίζεται και με την απώλεια της επιθηλιακής κάλυψης (διάβρωση ή εξέλκωση) και την επιθηλιακή αποκατάσταση (επανορθωτική ατυπία ή αναπλασία της επανόρθωσης). Όλα αυτά τα στοιχεία χαρακτηρίζουν, ότι είναι γνωστό ως *χρόνια τραχηλίτιδα* (Εικόνα 16).



**Εικόνα 16** Στο διάγραμμα (άνω) τα εφεδρικά κύτταρα στη ζώνη μετάπτωσης είναι συνεχόμενα με τα βασικά κύτταρα του εξωτραχήλου (δεξιά) και μπορεί να υποστούν κυλινδρική και πλακώδη διαφοροποίηση (μεταπλασία). Μικροφωτογραφίες στη βάση δείχνουν (από αριστερά στα δεξιά) τοπικά υποκυλινδρικά εφεδρικά κύτταρα, εφεδρικά κύτταρα που υφίστανται κυλινδρική διαφοροποίηση (δεύτερα από αριστερά), εφεδρικά κύτταρα που υφίστανται πλακώδη μεταπλασία (δεύτερα από δεξιά) και πλακώδες επιθήλιο του εξωτραχήλου (δεξιά).

Κάποιου βαθμού τραχηλική φλεγμονή μπορεί να βρεθεί σε όλες σχεδόν τις πολύτοκες γυναίκες και σε πολλές άτεκνες ενήλικες γυναίκες και έχει συνήθως μικρή κλινική σημασία. Βασικές ανησυχίες περιλαμβάνουν την πιθανή παρουσία οργανισμών, οι οποίοι είναι κλινικά σημαντικοί. Ειδικές λοιμώξεις από γονόκοκκους, χλαμύδια, μυκοπλάσματα, και έρπητα (κυρίως τύπου 2) μπορεί να προκαλέσουν οξεία ή και χρόνια τραχηλίτιδα και πρέπει να αναγνωρίζονται λόγω της σχέσης τους με νόσους του ανώτερου γεννητικού συστήματος, επιπλοκές κύησης και σεξουαλικά μεταδιδόμενα νοσήματα.

#### ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΑ.

Η παθολογοανατομική συσχέτιση της οξείας με τη χρόνια τραχηλίτιδα περιλαμβάνει την επιθηλιακή σπογγίωση (διακυττάριο οίδημα), το υποβλεννογόνο οίδημα και ένα συνδυασμό επιθηλιακών και στρωματικών αλλαγών.

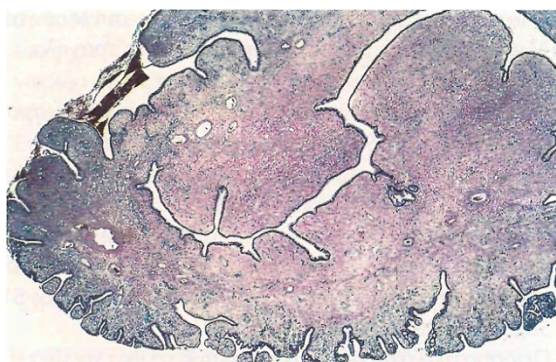
Η οξεία τραχηλίτιδα χαρακτηρίζεται από οξεία φλεγμονώδη κύτταρα, διάβρωση και αντιδραστική ή επανορθωτική επιθηλιακή αλλαγή. Η χρόνια τραχηλίτιδα περιλαμβάνει φλεγμονή, συνήθως με μονοπύρρηνα, λεμφοκύτταρα, μακροφάγα και πλασματοκύτταρα. Νέκρωση και ανάπτυξη κοκκιώδους ιστού μπορεί να συνυπάρχει. Παρότι η φλεγμονή μόνη της δεν είναι ειδική, μερικές μορφές

σχετίζεται με συγκεκριμένους οργανισμούς. Ο HSV σχετίζεται με επιθηλιακά έλκη (συχνά με ενδοπυρηνικά έγκλειστα στα επιθηλιακά κύτταρα) και μία λεμφοκυτταρική διήθηση και τα *Chlamydia trachomatis* σχετίζονται με λεμφοειδή βλαστικά κέντρα και μία προφανή πλασματοκυτταρική διήθηση. Η επιθηλιακή σπογγίωση σχετίζεται με λοίμωξη με *T. vaginalis*.

Όλες οι προαναφερθείσες αλλαγές είναι πιο προφανείς σε ασθενείς με κλινικά συμπτώματα (βλενοπυώδη τραχηλίτιδα) ή σε εκείνες στις οποίες μπορεί να ανιχνευθεί κάποιος ειδικός οργανισμός. Αυτές οι αλλαγές, μπορούν να παρατηρηθούν και σε γυναίκες με αρνητικές καλλιέργειες ή και ασυμπτωματικές, υποσημειώνοντας έτσι τη σημασία της συνδυασμένης καλλιέργειας, την κλινικής εκτίμησης και του τεστ Παπανικολάου. Σοβαρές επανορθωτικές αλλαγές μπορεί να οδηγούν σε απόπτωση ατύπων πλακωδών κυττάρων, που μιμούνται προκαρκινικές βλάβες, επειδή όλα αυτά τα κύτταρα υφίστανται διορθώσεις, χάνουν τη φυσιολογική τους περιεκτικότητα σε γλυκογόνο και μπορεί να έχουν πυρηνική ατυπία.

## ΕΝΔΟΤΡΑΧΗΛΙΚΟΙ ΠΟΛΥΠΟΔΕΣ

Οι ενδοτραχηλικοί πολύποδες είναι σχετικά αβλαβείς, φλεγμονώδεις ογκόμορφες εξεργασίες που συμβαίνουν στο 2-5% των ενηλίκων γυναικών. Ίσως η μεγάλη σημασία αυτών των πολύποδων να έγκειται στο ότι προκαλούν ανώμαλη κολπική απώλεια σταγόνων αίματος ή αιμόρροια, που εγείρει υποψίες για χειρότερες βλάβες. Οι πιο πολλοί πολύποδες εμφανίζονται μέσα στον ενδοτραχηλικό αυλό και ποικίλουν από μικρούς και άμισχους μέχρι μεγάλους 5εκ που μπορεί να προβάλουν από το τραχηλικό στόμιο. Όλοι είναι μαλακοί, σχεδόν βλενώδεις και αποτελούνται από χαλαρό ινομυξωματώδες στρώμα, που έχει διατεταμένους, βλενοεκκριτικούς ενδοτραχηλικούς αδένες, που συχνά συνοδεύονται από φλεγμονή και πλακώδη μεταπλασία (Εικόνα 17). Σε όλες τις περιπτώσεις ένας απλός καυτηριασμός ή χειρουργική εξαίρεση αποτελούν θεραπεία.



**Εικόνα 17.** Ενδοτραχηλικός πολύποδας αποτελούμενος από πυκνό ινώδες στρώμα καλυμμένο με ενδοτραχηλικό κυλινδρικό επιθήλιο.



## ΣΗΜΑΣΙΑ ΤΗΣ ΓΛΥΚΟΖΥΛΙΩΣΗΣ ΤΩΝ ΠΟΛΥΠΕΠΤΙΔΙΩΝ ΜΕ ΤΟ ΣΑΚΧΑΡΟ Ν-ΑΚΕΤΥΛΟΓΛΥΚΟΖΑΜΙΝΗ ΣΤΟ ΥΔΡΟΞΥΛΙΟ ΤΩΝ ΑΜΙΝΟΞΕΩΝ ΣΕΡΙΝΗΣ ΚΑΙ ΘΡΕΟΝΙΝΗΣ (O-GLcNAc)

Πολλά σήματα, συμπεριλαμβανομένων του κυτταρικού stress, της ινσουλίνης, του οξειδίου του αζώτου, των εστέρων φορβόλης, της αδενοσίνης, του IGF-I, TGF-β, IL-1β, TNF-α, της θρομβοποιητίνης, του παράγοντα διέγερσης των μακροφάγων, του παράγοντα βλαστοκυττάρων, της ενεργοποίησης του AMPK και της υπερέκφρασης των πρωτεϊνών θερμικού stress 70, αυξάνουν την πρόσληψη της γλυκόζης στα κύτταρα. Για μία υποομάδα αυτών των σημάτων, η γλυκόζη τροποποιεί την κυτταρική απάντηση κατά τρόπο ανεξάρτητο της διατήρησης των ενεργειακών επιπέδων. Παραδείγματα είναι η μεταβολή της σύνθεσης γλυκοζαμινογλυκανών στην εξωκυττάρια ουσία, η σηματοδότηση της ινσουλίνης, η ενεργοποίηση της κινάσης JNK/MAP, και η ρύθμιση των επιπέδων των HsP79, HsP40 και της πρωτεΐνης MMP-2. Η μεταβολή των εξωκυτταρίων επιπέδων γλυκόζης και γλυκοζαμίνης μπορεί να μεταβάλλει την κυτταρική λειτουργία, κατά τρόπο ανεξάρτητο της γλυκόλυσης, διά της μετατροπής της γλυκοζαμίνης σε UDP-GlcNAc, δια της οδού βιοσύνθεσης των εξοζαμινών HPB. Ίσως το πιο πειστικό παράδειγμα του ρόλου των HPB στην κυτταρική ρύθμιση με τη μεσολάβηση της γλυκόζης/γλυκοζαμίνης να είναι οι μηχανισμοί που διέπουν την αντίσταση στην ινσουλίνη.

Η αύξηση της εξωκυττάριας συγκέντρωσης γλυκόζης και γλυκοζαμίνης, ή η διευκόλυνση της μεταφοράς της γλυκόζης δια της υπερέκφρασης μεταφορέων γλυκόζης (Gluts) οδηγεί σε αντίσταση στην ινσουλίνη, το παθογνωμονικό σημείο του διαβήτη τύπου II. Σε μία σημαντική μελέτη, οι *Marshal et al* απέδειξαν ότι ο αποκλεισμός της GFAT, του ενζύμου περιορισμού στην HBP, είτε μέσω της αζασερίνης είτε μέσω της 6-διαζο-5-οξονολευκίνης, μπορούσε επίσης να αποκλείσει την αντίσταση στην ινσουλίνη, που μεσολαβείται από γλυκόζη. Σε ενίσχυση αυτών των μελετών και άλλοι ερευνητές απέδειξαν ότι η υπερέκφραση της GFAT μιμείται τα αποτελέσματα της θρέψης των κυττάρων/ζώων με γλυκόζη/γλυκοζαμίνη. Συνολικά, αυτά τα δεδομένα δεικνύουν τη συμμετοχή της HBP ως μεσολαβητή στην αντίσταση στην ινσουλίνη και εγείρουν την υποψία, ότι η HBP μπορεί να ρυθμίζει και άλλες οδούς που επηρεάζονται από τη γλυκόζη/γλυκοζαμίνη.

Το τελικό προϊόν της HBP είναι η UDP-GlcNAc, που είναι δότης της κοινής μορφής ενδοκυττάριας γλυκοζυλίωσης του πυρήνα και των πρωτεϊνών κυτταροπλάσματος. Η αύξηση των επιπέδων OGlcNAc στα ποντίκια και στις κυτταρικές καλλιέργειες, είτε γενετικά είτε φαρμακευτικά, οδηγεί σε αντίσταση στην ινσουλίνη και μιμείται τα αποτελέσματα αυξημένης παραγωγής γλυκόζης, σε πολλαπλές οδούς. Αυτά τα δεδομένα δεικνύουν ότι η OGlcNAc είναι

ένας κύριος ρυθμιστικός παράγων της γλυκόζης. Σε αυτή την ανασκόπηση, εξετάζονται οι πολλοί ρόλοι της O-GlcNAc στη ρύθμιση της κυτταρικής λειτουργίας, με έμφαση σε αυτούς που επηρεάζονται περισσότερο από την παραγωγή γλυκόζης, ή από μεταβολές στις εξωκυττάρειες συγκεντρώσεις γλυκόζης.

## **Υπόβαθρο**

Το 1984, οι *Torres & Hart*, περιέγραψαν μία νέα μετα-μεταφραστική τροποποίηση, η οποία υπάρχει σε αφθονία στις κυτταροπλασματικές και πυρηνικές πρωτεΐνες, έναν υδατάνθρακα που πλέον είναι γνωστός ως O-GlcNAc. Η O-GlcNAc θεωρήθηκε καινούρια για δύο λόγους: (1) Η O-GlcNAc δεν είχε επιμηκυνθεί σε μία πιο πολύπλοκη δομή, με την εξαίρεση των πρωτεϊνών των πυρηνικών ποριδίων των φυτών, και (2) είχε μία κατανομή στο κυτταρόπλασμα και τον πυρήνα, ενώ οι κλασσικές γλυκοπρωτεΐνες είχαν εντοπιστεί στην επιφάνεια των κυττάρων, καθώς και στον αυλό των μεμβρανωδών ενδοκυττάρων διαμερισμάτων, όπως το ενδοπλασματικό δίκτυο και το όργανο του Golgi. Από το 1984, έχει αναγνωριστεί ένας μικρός αριθμός κι άλλων ενδοκυττάρων υδατανθράκων, αλλά η O-GlcNAc παραμένει η πιο συχνή και η πιο διεδεδομένη. Η O-GlcNAc έχει απομονωθεί σε όλα τα μετάζωα που έχουν μελετηθεί, καθώς και στα πρωτόζωα και τον προκαρυωτικό οργανισμό *Listeria*. Περιέργως, οι τροποποιημένες πρωτεΐνες O-GlcNAc έχουν αναγνωριστεί και στον ασπέργιλλο, αλλά υπάρχουν λίγες βιοχημικές ή γενετικές αποδείξεις ότι υπάρχουν πρωτεΐνες O-GlcNAc στους μύκητες, στους *Saccharomyces* ή στα *Pombe*.

Η O-GlcNAc έχει κυρίως πυρηνική κατανομή. Η μεγαλύτερη συσσώρευση O-GlcNAc παρατηρείται στο πυρηνικό σύμπλεγμα, και σχετίζεται με τη χρωματίνη. Επίσης η O-GlcNAc έχει ανευρεθεί σε πολλές πρωτεΐνες του κυτταροπλάσματος, των μιτοχονδρίων και της μεμβράνης. Αυτές οι πρωτεΐνες περιλαμβάνουν περισσότερες από 400 σημαντικές κυτταρικές πρωτεΐνες, και ανήκουν σε πολλές λειτουργικές ομάδες .

## **Η βιοσύνθεση του O-GlcNAc**

Η O-GlcNAc είναι μία επαγώγιμη και δυναμικά μεταβαλλόμενη μετα-μεταφραστική τροποποίηση. Τα ένζυμα που εμπλέκονται στην προσθήκη και την αφαίρεση της O-GlcNAc έχουν αναγνωριστεί και κλωνοποιηθεί. Σε αντίθεση με τις πρωτεΐνες φωσφορυλίωσης, όπου περίπου 650 διακριτά γενετικώς ένζυμα ρυθμίζουν την προσθήκη και την αφαίρεση των φωσφορικών, μόνο δύο πολυπεπτίδια δρουν ως καταλύτες στην παραγωγή της O-GlcNAc: ένα ουριδινινοπεπτιδίο διφωσφο-N-ακετυλγλυκοζαμίνης, η β-N-ακετυλογλυκοζαμινυλική τρανσφεράση και η ουδέτερη β-N-



ακετυλογλυκοζαμιनिδάση. Ωστόσο, αυτές οι δύο υπομονάδες είναι μη ομοιοπολικά στοιχεία πολλών διαφορετικών συστατικών των συμπλεγμάτων ολοενζύμων, που φαίνεται να ρυθμίζουν τόσο τη στόχευση όσο και το ρυθμό ανακύκλωσης της OGIcNAc.

## OGT

Το γονίδιο που κωδικοποιεί την OGT έχει κλωνοποιηθεί από πολλούς οργανισμούς και θεωρείται καλά διατηρημένο. Υπάρχει ταύτιση κατά 99% μεταξύ της OGT ανθρώπων και επίμυων και ταύτιση κατά 61% μεταξύ της OGT επίμυων και *Caenorhabditis Elegans*. Στα κύτταρα των θηλαστικών, η OGT κωδικοποιείται από ένα αντίγραφο ενός γονιδίου, ευρισκόμενου στο X χρωμόσωμα, ενώ στα φυτά, υπάρχουν δύο ομόλογα χρωμοσώματα. Αναφέρθηκε πρόσφατα ότι το γονίδιο 4 του συνδρόμου *Bardet-Biedl*, που ευρίσκεται στο 15q22.2-23 έχει ορισμένες ομοιότητες με την OGT. Ωστόσο δεν έχει αναφερθεί κάποια δραστηριότητα αυτού του μεταγραφικού παραγώγου της OGT, μήκους 527 αμινοξέων. Η OGT εκφραζόταν σε όλους τους ιστούς που μελετήθηκαν, αν και φαίνεται να βρίσκεται σε μεγάλο βαθμό στο πάγκρεας, στον εγκέφαλο και στο θύμο.

Η OGT είναι μία μοναδική γλυκοζυλοτρανσφεράση, καθώς είναι μία διαλυτή πρωτεΐνη, παρά μία τύπου II μεμβρανική πρωτεΐνη και έχει μικρή ή καθόλου συγγένεια με της υπόλοιπες γλυκοζυλοτρανσφεράσες. Η OGT περιέχει δύο υπομονάδες, μία αμινοτελική τετρατρικοπεπτιδική υπομονάδα και μια καρβοξυτελική υπομονάδα, που δρα ως καταλύτης. Αυτές οι υπομονάδες χωρίζονται από μία διμερή ακολουθία εντόπισης στον πυρήνα. Η OGT ευρίσκεται κυρίως στον πυρήνα, όπως διαπιστώθηκε από τον ανοσοφθορισμό και την υποκυτταρική διαίρεση. Στα κύτταρα των θηλαστικών, το μάτισμα του mRNA του OGT οδηγεί σε διαφορετικές μεταγραφές, από τις οποίες έχουν αναγνωριστεί δύο, η μιτοχονδριακή OGT και η πυρηνικό-κυτταροπλασματική. Η μιτοχονδριακή OGT έχει 9 επαναλήψεις και ένα διαφορετικό αμινοτελικό άκρο, που περιέχει μία ακολουθία στόχευσης των μιτοχονδρίων. Σε συμφωνία με την παρατήρηση αυτή, ανιχνεύεται OGT και UDP-GlcNAc εντός των μιτοχονδρίων.

Η πυρηνική OGT έχει μελετηθεί πιο επισταμένα ως προς τα διαφορετικά προϊόντα της μετά το μάτισμα. Αυτή η πρωτεΐνη 1037 αμινοξέων (110kDa) αρχικά επιστεύετο ότι βρισκόταν κυρίως ως ομοιοτριμερές, πανομοιότυπων υπομονάδων, ή ως ετεροτριμερές ή όμοιων υπομονάδων συνδεδεμένων με μία τρίτη υπομονάδα. Πρόσφατα, μελέτες της δομής της έδειξαν ότι τεταρτοταγώς, η OGT είναι ένα διμερές, κάτι που δεικνύει ότι τα προηγούμενα συμπεράσματα ήταν εσφαλμένα λόγω της επιμηκυμένης τεταρτοταγούς δομής του μορίου, που οδηγεί σε μεγάλη ακτίνα Stokes.

Η πυρηνική OGT απομονώθηκε αρχικά από την κυτοσόλη ήπατος επίμυων, έχει βέλτιστο pH κοντά στο 6 (ενεργό εύρος pH 6-7,5) και σε αντίθεση με πολλές γλυκοζυλοτρανσφεράσες, δεν εξαρτάται από ετεροπολικά κατιόντα. Η πρωτεΐνη αυτή αναστέλλεται από το NaCl, το UDP, το UMP καθώς και από ένα ανάλογο της ουρακίλης, την αλλοξάνη και την N-αιθυλμαλεϊμίδη. Πρόσφατα, μία νέα μελέτη τόνισε τη χρησιμότητα των 3 αναστολέων που ανταγωνίζονται με την UDP-GlcNAc, αν και η χρησιμότητα αυτών των συμπλόκων, δεν έχει αξιολογηθεί ακόμα *in vivo*.

Η απομονωθείσα από το ήπαρ ncOGT, έχει μία Km 545nM για την UDP-GlcNAc, χρησιμοποιώντας το συνθετικό πεπτιδίο YSDSPSTST. Σε άλλες μελέτες χρησιμοποιήθηκε ανασυνδυασμένη ncOGT και ένα πεπτιδίο με γνωστή τροποποίηση της περιοχής OO-GlcNAc, δείχνοντας ότι η ncOGT συνέχισε να λειτουργεί, αν και με ένα τυχαίο μηχανισμό bi-bi και είχε διάφορες τιμές Km για την UDP-GlcNAc, που κυμαίνονταν από 6 έως 217 μM. Η δραστηριότητα της OGT πιστεύεται ότι βρίσκεται στο καρβοξυτελικό της άκρο, η ακολουθία του οποίου ανήκει στην υπεροικογένεια των φωσφορυλασών του γλυκογόνου, με δύο πτυχές Rossmann και μία θέση δέσμευσης του UDP-GlcNAc. Πρόσφατες μελέτες των μεταλλάξεων της, τόνισαν σημαντικές ρίζες που υπάρχουν, ιδιαίτερα η ρίζα Cys, τύπου Ψ839. Η αντικατάσταση της Cys από ρίζα Ser προκαλεί μείωση της δραστηριότητας κατά 93%.

Η ncOGT των επίμυων έχει 11,5 επαναλήψεις της TPR, που είναι σημαντικές για τις αλληλεπιδράσεις μεταξύ των υπομονάδων, για την αναγνώριση τους, καθώς και για τις αλληλεπιδράσεις μεταξύ των πρωτεϊνών. Η δομή του μορίου TPR της OGT αναγνωρίστηκε πρόσφατα. Αυτή η δομή έχει το σχήμα επιμηκυμένης υπερέλικας, όμοιας με αυτήν της ιμπορτίνης-α. Η κυρτή επιφάνεια της υπερέλικας φαίνεται πως μεσολαβεί στις αλληλεπιδράσεις μεταξύ των υπομονάδων και ειδικότερα οι περιοχές 6, και 7. Σε ανεξάρτητες μελέτες, οι *Kreppel et al* απέδειξαν ότι η διαγραφή του TPR 6-11,5 προκαλούσε μονομερή της OGT.

Η κοίλη επιφάνεια της υπερέλικας έχει μία κλίμακα ασπαραγίνης, όμοια με τις επαναλήψεις ARM της ιμπορτίνης α και β, που είναι ζωτικής σημασίας για τη δέσμευση των πεπτιδίων στόχων στις πρωτεΐνες αυτές. Η διαγραφή των τριών περιοχών TPR δεν επηρεάζει τη δραστηριότητα της ncOGT ως προς τα πεπτιδία, αλλά καταστρέφει την δραστηριότητα της ως προς την CK-2 και την πρωτεΐνη των ποριδίων του πυρήνα p62 (nr62). Η συγγένεια της OGT για την πλήρη πρωτεΐνη nr62 είναι μεγαλύτερη από αυτή που έχει ως προς τα πεπτιδία. Συνολικά, τα δεδομένα αυτά δεικνύουν ποιος είναι ο ρόλος της περιοχής του TPR για την μεσολάβηση στην αναγνώριση και τη δέσμευση των υπομονάδων. Ο ρόλος της περιοχής TPR στην μεσολάβηση της αναγνώρισης των υπομονάδων, συνιστά ένα λόγο γιατί δεν έχει αναγνωριστεί ομόφωνα, ένα πρότυπο για την προσθήκη O-GlcNAc.

Οι μηχανισμοί με τους οποίους μία OGT τροποποιεί ειδικά χιλιάδες πρωτεΐνες, είναι άγνωστοι, αν και φαίνεται πως παίζουν κάποιο ρόλο και η συγκέντρωση UDP-GlcNAc, οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ των πρωτεϊνών, η γλυκοζυλίωση καθώς και η φωσφορυλίωση. Έχουν αναγνωρισθεί πολλές πρωτεΐνες που αλληλεπιδρούν με την OGT και των οποίων οι αλληλεπιδράσεις δεν μεταβάλλουν τη δραστηριότητα της, αν και δρουν ως άγκυρες, και επάγουν την σήμανση των μεταγραφικών προϊόντων. Αυτές οι αλληλεπιδράσεις μπορεί να ρυθμίζουν τη δραστηριότητα της OGT ελέγχοντας την εντόπιση της, ρυθμίζοντας τη δέσμευση πρωτεϊνών, ή στοχεύοντας σε σύμπλοκα όπου ενεργοποιείται από μεταγραφικά γεγονότα. Κυρίως, η OGT είναι τροποποιημένη ως προς το O-GlcNAc, ενώ φέρει και φωσφορυλίωση της τυροσίνης. Τέλος, η Km της OGT ως προς τα διάφορα πεπτιδία, φαίνεται να μεταβάλλεται καθώς αλλάζουν οι συγκεντρώσεις UDP-GlcNAc, κάτι που υποδεικνύει ότι καθώς τα επίπεδα της UDP-GlcNAc μεταβάλλονται εντός του κυττάρου η OGT στοχεύει σε διαφορετικά πεπτιδία. Η ρύθμιση της σύνδεσης των υπομονάδων και η συσχέτιση τους με τα σύμπλοκα στόχους και οι μεταμεταφραστικές τροποποιήσεις, μπορεί να ελέγχουν την OGT κατά τέτοιο τρόπο, που αυτή τροποποιεί διαφορετικές πρωτεΐνες ως απάντηση σε διαφορετικά σήματα, ρυθμίζοντας έτσι με τον κατάλληλο τρόπο την κυτταρική λειτουργία.

### **O-GlcNAc-άση**

Η O-GlcNAc-άση είναι μία διαλυτή β-N-ακετυλογλυκοζαμινιδάση του κυτταροπλάσματος, που εκφράζεται σε όλους τους ιστούς και ιδίως στον εγκέφαλο. Η O-GlcNAc-άση έχει διατηρηθεί στα θηλαστικά με μία ταύτιση της τάξης του 97,8% μεταξύ των ανθρώπινων γονιδίων και αυτών των επίμυων, καθώς και με μία ταύτιση της τάξης του 29% μεταξύ των γονιδίων του ανθρώπου και αυτών του *C.Elegans*. Σε αντίθεση με τις λυσοσωματικές εξοζαμινιδάσες, η O-GlcNAc-άση είναι ειδική για την β-N-ακετυलगλυκοζαμίνη και δεν αναστέλλεται από την N-ακετυλογαλακτοζαμίνη, ενώ λειτουργεί σε ένα pH 5,5-7 (οι λυσοσωματικές εξοζαμινιδάσες λειτουργούν σε ένα pH 3,5-5,5). Η O-GlcNAc-άση επιδρά με ένα σύμπλοκο πρωτεϊνών, κάτι που υποδεικνύει ότι όπως και η OGT, ρυθμίζεται από τις αλληλεπιδράσεις της με άλλες πρωτεΐνες. Επιπλέον, έχει αποδειχθεί ότι η O-GlcNAc-άση φωσφορυλιώνεται, κάτι που συνιστά έναν επιπρόσθετο μηχανισμό ρύθμισης. Η O-GlcNAc-άση αναστέλλεται από την O-(2-ακεταμιδο-2δεοξυ-D-γλυκοκυρανοσυλιδένη) άμινο-N-καρβαμάτη, και πρόσφατες μελέτες έχουν απομονώσει δύο νέους αναστολείς της, οι οποίοι μπορεί να είναι πιο ειδικοί.

Η O-GlcNAc-άση είναι μία πρωτεΐνη 917 αμινοξέων, με δύο δραστικές περιοχές τουλάχιστον και ένα εξοζαμινιδασικό αμινοτελικό άκρο, καθώς και ένα καρβοξυτελικό άκρο ιστονικής ακετυλτρανσφεράσης. Το αμινοτελικό άκρο μοιάζει με αυτό των υαλουρονιδασών και η ακολουθία της O-GlcNAc-άση ταυτοποιήθηκε αρχικά ως ένα αυτοαντιγόνο υαλουρονιδάσης στο μηνιγγίωμα. Ενώ μπορεί να έχει κάποια δραστηριότητα έναντι του υαλουρονικού οξέως, η προτιμώμενη δράση της φαίνεται να είναι η O-GlcNAc με ένα Km 1,1mM για την pNP-GlcNAc και ένα Kcat 1s<sup>-1</sup>. Η O-GlcNAc-άση φαίνεται να χρησιμοποι-

εί μία μορφή κατάλυσης υποβοηθούμενης από τις υπομονάδες της, που περιλαμβάνει δύο ομάδες ακεταμιδίων, όμοιες με τις άλλες γλυκοζυλυδρολάσες της οικογένειας 84. Δύο παραλλαγές της O-GlcNAc-άσης, στις οποίες έχουν διαγραφεί τα αμινοξέα 250-345 και 250-398, δεν έχουν καμία δραστηριότητα, κάτι που υποδηλώνει ότι η δραστηρική περιοχή της O-GlcNAc-άσης βρίσκεται στο αμινοτελικό ήμισυ της πρωτεΐνης. Η φυσιολογική συσχέτιση αυτών των παραλλαγών δεν έχει καθορισθεί, αν και η D250-345 O-GlcNAc-άση βρίσκεται σε μία θέση που σχετίζεται με υψηλή συχνότητα σακχαρώδους διαβήτη τύπου II στους επίμυες.

Το καρβοξυτελικό άκρο της O-GlcNAc-άσης είναι ομόλογο των ριζών HAT στις θέσεις AA 772-899 και έχει φανεί ότι είναι ελεύθερες ιστονών και ιστονικών πρωτεϊνών του πυρηνίου. Η μετάλλαξη των ριζών ασπαρτικού οξέως και φαινυλαλανίνης καταστρέφει τη δραστηριότητα της. Σε συμφωνία με αυτά τα δεδομένα, η δραστηριότητα της HAT χαρτογραφήθηκε στις ρίζες αμινοξέων στις θέσεις 583 -917 της πρωτεΐνης. Η OGT σχετίζεται με τα σύμπλοκα δεακετυλάσης της ιστόνης και προωθεί τη μεταγραφή. Συνολικά, αυτά τα δεδομένα υποδηλώνουν ότι η δυναμική τροποποίηση των μεταφραστικών συμπλόκων από την O-GlcNAc και από την ακετυλίωση των ιστονών παίζουν σημαντικό ρόλο στον έλεγχο της μετάφρασης. Έχει απόδειχθεί ότι η O-GlcNAc-άση διασπάται εκλεκτικά από την κασπάση 3. Ωστόσο, αυτό δεν φαίνεται να τροποποιεί ούτε τη δραστηριότητα της O-GlcNAc-άσης ούτε των περιοχών HAT. Ο ρόλος αυτής της σχισμής είναι άγνωστος, αν και μπορεί να απορρυθμίζει την O-GlcNAc-άση κατά τον προγραμματισμένο κυτταρικό θάνατο.

### **O-GlcNAc, ένας δυναμικός ρυθμιστής των τροποποιήσεων**

Οι αρχικές μελέτες πάνω στην κρυσταλλίνη α και τις κερατίνες 8 και 18, έδειξαν ότι η τροποποίηση των πρωτεϊνών από την O-GlcNAc γινόταν γρηγορότερα απ' ότι από τη βασική πρωτεΐνη. Αυτά τα δεδομένα έδειχναν, ότι η προσθήκη O-GlcNAc, μπορούσε να είναι ένας δυναμικός ρυθμιστής των τροποποιήσεων. Ενισχυτικές αυτής της άποψης ήταν ορισμένες μελέτες, που έδειχναν ότι πολλαπλά σήματα οδηγούν σε δυναμικές αλλαγές στα επίπεδα O-GlcNAc εντός του κυττάρου, όπως (1) η ενεργοποίηση των λεμφοκυττάρων από εστέρες φορβόλης, Con A, ιονομυκίνη, (2) η μετάδοση σημάτων στα ουδετερόφιλα επαγόμενα από αγωνιστές, (3) η ανάπτυξη των ωοκυττάρων του Xenopus, (4) η πρόοδος του κυτταρικού κύκλου των θηλαστικών, (5) η αναστολή ορισμένων κινασών / φωσφατασών, (6) η μεταβολή των εξωκυττάρων συγκεντρώσεων γλυκόζης / γλυκοζαμίνης (7) η μεταβολή των επιπέδων O-GlcNAc στην Stat5a και mTOR α4 φωσφοπρωτεΐνη ως απάντηση στη θεραπεία με προλακτίνη και (8) η επαγωγή κυτταρικού stress με διάφορους παράγοντες.

Οι πλέον πειστικές ενδείξεις ότι η προσθήκη O-GlcNAc είναι ένας δυναμικός μετα-μεταφραστικός της τροποποίησης των πρωτεϊνών, προέρχεται από μελέτες όπου γινόταν αναστολή της ανακύκλωσης του O-GlcNAc. Στις αρχικές μελέτες χρησιμοποιείτο διάλυμα γαλακτοζυλικής τρανσφεράσης, ενός ενζύμου που δεσμεύει την O-GlcNAc με ρίζες γαλακτόζης, που αναστέλλουν την αναγνώριση από της εξοζαμινιδάσες. Τόσο η υπερέκφραση αυτού

του ενζύμου όσο και η μικροέγχυση του στην κυτταροπλασματική μεμβράνη, προκαλούσε αναστολή του κυτταρικού κύκλου και απόπτωση. Πρόσφατα, η τεχνολογία Cre-lox χρησιμοποιήθηκε για τον αποκλεισμό της OGT σε επίμυες. Αυτά τα πειράματα έδειξαν ότι η O-GlcNAc είναι απαραίτητη για την βιωσιμότητα των κυττάρων, τόσο στα κύτταρα ES όσο και στην εμβρυογένεση των επίμυων.

Ο ανασυνδυασμός της lox flanked OGT από την ZP-3 ρεκομπινάση προκαλεί αυτόματη έκτρωση κατά την 4-5 ημέρα λόγω πλακουντικής ανεπάρκειας. Θεωρητικά, η ανεπάρκεια αυτή οφείλεται στην πλακουντική OGTδ που κωδικοποιείται από τα μητρικά χρωμοσώματα. Η διαγραφή της OGT σε επίμυες, χρησιμοποιώντας ειδική για τους ιστούς Cre-ρεκομπινάση, οδήγησε σε παραπλήσια αποτελέσματα. Όταν ο ανασυνδυασμός γίνεται σε νευρικό ιστό, μέσω της Synapsin 1 Cre-ρεκομπινάσης, τα ζώα με απλότυπο OGTδ/ Y είναι παρόντα στο 50% της αναμενόμενης συχνότητας. Τα ζώα με απλότυπο OGTδ/ Y που επιβιώνουν ως τη γέννηση, έχουν μικρότερο μέγεθος από τα υπόλοιπα, δεν κατορθώνουν να αναπτύξουν φυσιολογική δραστηριότητα της κινητικής τους συσκευής, δεν θηλάζουν και δεν επιβιώνουν για περισσότερες από 10 ημέρες. Η μελέτη ιστοτεμαχίων από το νωτιαίο μυελό και τον εγκέφαλο αυτών των επίμυων, φανερώνει αύξηση της έκφρασης Ταυ καθώς και της φωσφορυλίωσης του, ενώ η έκφραση πρωτεϊνών όπως η συναψίνη 1 και η MAP2 δεν επηρεάζεται. Χρησιμοποιώντας Ick-driven Cre ρεκομπινάση, διαγράφηκε εκλεκτικά η OGT από τα CD4+ CD8+ θυμοκύτταρα, καθώς αυτά ωρίμαζαν προς ώριμα T κύτταρα. Υπό αυτές τις συνθήκες, παρατηρείται μείωση κατά 50% στα ώριμα CD4+ CD8+ στο μυελό. Αυτή η μείωση οφείλεται σε απόπτωση των T κυττάρων. Η OGT είναι φυλοσύνδετη, και συνδέεται με το X χρωμόσωμα στις γυναίκες και στα θήλα, ένα X χρωμόσωμα απενεργοποιείται τυχαία, πρώιμα κατά την ανάπτυξη. Στους επίμυες που είναι ετεροζυγότες ως προς την OGTwt/OGTδ, οι ιστοί είναι μωσαϊκό αυτών των αλληλίων. Ωστόσο, δεν παρατηρείται καμία διαφορά στην δραστηριότητα ή στο ποσό της πρωτεΐνης, κάτι που δεικνύει ότι τα κύτταρα απενεργοποιούν εκλεκτικά το X χρωμόσωμα που κωδικοποιεί το OGTδ, ή υφίστανται απόπτωση, πρώιμα κατά την ανάπτυξη. Συνολικά, αυτά τα δεδομένα δεικνύουν ότι η ανάγκη για OGT δεν είναι αμιγώς αναπτυξιακή, αλλά είναι επίσης αναγκαία για την κυτταρική λειτουργία.

### **Η O-GlcNAc ως ρυθμιστής της πρωτεϊνικής λειτουργίας**

Η προσθήκη O-GlcNAc σε πρωτεΐνες σχετίζεται με την ρύθμιση της δράσης των πρωτεϊνών με διάφορους μηχανισμούς, οι οποίοι περιλαμβάνουν (1) τη ρύθμιση της φωσφορυλίωσης των πρωτεϊνών και κατά συνέπεια την πρωτεϊνική λειτουργία, (2) τη μεταβολή του ρυθμού αποδόμησης των πρωτεϊνών, (3) την προσαρμογή της θέσης των πρωτεϊνών, (4) τη ρύθμιση των αλληλεπιδράσεων μεταξύ των πρωτεϊνών, (5) τη διαμεσολάβηση στην μεταγραφή.

### **Διαμεσολάβηση στην φωσφορυλίωση των πρωτεϊνών**

Οι αρχικές μελέτες χαρτογράφησης τόνιζαν τις ομοιότητες μεταξύ των θέσεων τροποποίησης της O-GlcNAc και των θέσεων των επαγόμενων από

την προλίνη κινασών. Σε ορισμένες περιπτώσεις, οι θέσεις προσκόλλησης της O-GlcNAc και του O-φωσφορικού χαρτογραφήθηκαν στην ίδια θέση. Τέτοια δεδομένα οδήγησαν στην υπόθεση ότι η O-GlcNAc και το O-φωσφορικό είναι ανταγωνιστές και ανταγωνίζονται για την ίδια θέση Ser/Thr. Έτσι, αλλάζοντας το πρότυπο διαθέσιμων θέσεων Ser/Thr για την φωσφορυλίωση, η O-GlcNAc θα τροποποιούσε τα πρότυπα φωσφορυλίωσης και την πρωτεϊνική λειτουργία. Ενισχυτικά αυτού του προτύπου, είναι τα αποτελέσματα των μελετών των Wells *et al*, οι οποίοι απέδειξαν ότι η OGT και η πρωτεϊνική φωσφατάση 1 β και γ υπάρχουν ταυτόχρονα σε ένα σύμπλοκο. Επιπρόσθετα στοιχεία ενισχυτικά αυτού του μοντέλου προέρχονται από μελέτες καθορισμού των επιδράσεων των αναστολέων των κινασών και φωσφατασών στα επίπεδα O-GlcNAc ορισμένων πρωτεϊνών. Στις μελέτες αυτές, η ενεργοποίηση της κινάσης PKC και PKA μείωνε τη γλυκοζυλίωση σε ένα αδιάλυτο κλάσμα πρωτεϊνών του κυτταροσκελετού και πρωτεϊνών που σχετίζονται με τον κυτταροσκελετό. Επίσης η αναστολή των PKC και PKA αυξάνει την τροποποίηση των πρωτεϊνών από την O-GlcNAc στο κλάσμα αυτό. Χρησιμοποιώντας το ίδιο πειραματικό μοντέλο, οι Griffith *et al* παρατήρησαν την αναστολή των κινασών, που εξαρτώνται από την κυκλίνη, από την ολομουκίνη της κινάσης S6, από την ραπαμυκίνη, καθώς και τα αυξημένα επίπεδα O-GlcNAc σε ορισμένες πρωτεΐνες. Στα κύτταρα νευροβλαστώματος, Cos-7, HeLa και τα κύτταρα Kelly, ο αναστολέας της φωσφατάσης του οκαδαϊκού οξέος μειώνει την γλυκοζυλίωση, αν και αυτό το φαινόμενο παρατηρείται κυρίως σε πυρηνικές πρωτεΐνες. Τέλος, σε ορισμένες πρωτεΐνες, όταν τα επίπεδα O-GlcNAc μειωθούν, αυξάνονται τα επίπεδα φωσφορυλίωσης. Αυτό ισχύει και για την OGT των Tau, καθώς και για την Tau που απομονώνεται από ασθενείς που πάσχουν από νόσο Alzheimer. Συνολικά αυτές οι μελέτες παρέχουν αποχρώσεις ενδείξεις για την αντίστροφη σχέση μεταξύ της O-GlcNAc και του O-φωσφορικού. Εναλλακτικά, αυτά τα δεδομένα μπορούν να είναι αποτέλεσμα διαφορετικών πρωτεϊνικών δεξαμενών.

Τα δεδομένα από τις *in vitro* μελέτες πάνω στην RNA πολυμεράση II ενισχύουν άμεσα την αντίστροφη σχέση μεταξύ της O-GlcNAc και της φωσφορυλίωσης ορισμένων πρωτεϊνών. Οι Comer *et al* εξέτασαν της ιδιότητες μίας μονήρους θέσης γλυκοζυλίωσης στο καρβοξυτελικό άκρο της RNA πολυμεράσης II. Το καρβοξυτελικό άκρο της RNA πολυμεράσης II αποτελείται από διαδοχικές επαναλήψεις αμινοξέων. Στη μελέτη αυτή, συντέθηκαν 10 αντίγραφα αυτών των επαναλήψεων και υποβλήθηκαν είτε σε *in vitro* φωσφορυλίωση, είτε σε *in vitro* γλυκοζυλίωση. Η ανάλυση του φωσφοπεπτιδίου ή του γλυκοπεπτιδίου που σχηματίστηκε, δεν έδειξε κάποια μεταβολή στην δομή του μορίου. Ωστόσο, σε μία *in vitro* ενζυμική μελέτη, η προσθήκη O-GlcNAc, ανέστειλε την φωσφορυλίωση. Αντίθετα, η προσθήκη φωσφορικής ρίζας, ανέστειλε την τροποποίηση της O-GlcNAc. Η αντίστροφη γλυκοζυλίωση και φωσφορυλίωση της RNA πολυμεράσης II μπορεί να ρυθμίζει την μεταγραφή. Η RNA πολυμεράση II υποφωσφορυλιώνεται όταν συνδέεται με άλλους μεταγραφικούς παράγοντες για το σχηματισμό του σύμπλοκου έναρξης. Κατά συνέπεια, η RNA πολυμεράση II υπερφωσφορυλιώνεται και ξεκινά μεταγραφή. Τα δεδομένα αυτά δεικνύουν ότι η O-GlcNAc προλαμβάνει την πρόωρη έναρξη της μεταγραφής.

## Πρωτεϊνική αποδόμηση.

Η αποδόμηση των πρωτεϊνών παίζει ένα σημαντικό ρόλο στην ρύθμιση της κυτταρικής λειτουργίας, διά της προγραμματισμένης καταστροφής των ρυθμιστών του κυτταρικού κύκλου, των αντι-αποπτωτικών πρωτεϊνών, των μεταγραφικών παραγόντων καθώς και των ογκοκατασταλτικών γονιδίων. Η O-GlcNAc έχει αποδειχθεί ότι μεταβάλλει την πρωτεϊνική αποδόμηση με δύο διαφορετικούς μηχανισμούς. Πρώτον, μεταβάλλει τη στόχευση ορισμένων πρωτεϊνών στο πρωτεόσωμα και δεύτερον, μεταβάλλει την δραστηριότητα του πρωτεοσώματος.

Η τροποποίηση του ευκαρυωτικού παράγοντα ενεργοποίησης  $\alpha$ -p67, Sp1 και του υποδοχέα των οιστρογόνων  $-\beta$  από την O-GlcNAc επιμηκύνει την ημίσεια ζωή αυτών των πρωτεϊνών. Στην περίπτωση του ευκαρυωτικού παράγοντα ενεργοποίησης  $\alpha$ -p67, η τροποποίηση της O-GlcNAc προλαμβάνει την αποδόμηση των πρωτεϊνών με άγνωστο τρόπο. Όταν αποδομείται ο ευκαρυωτικός παράγοντας ενεργοποίησης  $\alpha$ -p67, φωσφορυλιώνεται ο ευκαρυωτικός παράγοντας ενεργοποίησης 2a προκαλώντας αναστολή της μετάφρασης.

Αρκετές θέσεις της O-GlcNAc είναι σε ακολουθίες που έχουν υψηλή βαθμονόμηση κατά PEST. Αυτές οι ακολουθίες αμινοξέων είναι πλούσιες σε Pro, Glu, Ser και Thr και έχει αποδειχθεί ότι μεσολαβούν στην πρωτεϊνική αποδόμηση. Ενώ ορισμένες ακολουθίες PEST είναι συστατικές, ορισμένες απαιτούν ενεργοποίηση μέσω μηχανισμών όπως η φωσφορυλίωση. Μία θεωρία είναι ότι η ER- $\beta$  O-GlcNAc μπορεί να αναστέλλει θέσεις φωσφορυλίωσης που προάγουν την πρωτεϊνική αποδόμηση. Επιπλέον, η μετάλλαξη των κύριων θέσεων γλυκοζυλίωσης της Er- $\beta$ , προκαλεί αύξηση της ημίσειας ζωής της πρωτεΐνης, σε σχέση με την φυσιολογική, ενώ η μεταλλαγμένη, που μιμείται την διαδικασία φωσφορυλίωσης, έχει μικρότερη ημίσεια ζωή.

Ο αποκλεισμός της HBP προκαλεί μεταβολές στη στοιχειομετρία της O-GlcNAc του παράγοντα μεταγραφής Sp1. Η υπογλυκοζυλιωμένη Sp1 αποδομείται ταχέως από μεσολαβούμενα από πρωτεοσώματα βιοχημικά μονοπάτια, κάτι που επιταχύνεται από την προσθήκη εξωκυττάριας γλυκοζαμίνης. Τα δεδομένα αυτά υποδηλώνουν ότι η O-GlcNAc μεταβάλλει τη στόχευση της Sp1 από το πρωτεόσωμα. Ωστόσο, σε ανεξάρτητες μελέτες, η δραστηριότητα των πρωτεοσωμάτων, έχει εμπλακεί στην ρύθμιση των επιπέδων της Sp1. Σε αυτές τις *in vitro* μελέτες, η αποδόμηση του παράγοντα μεταγραφής Sp1 από πυρηνικό εκχύλισμα, μπορεί να ανασταλλεί με τη προσθήκη OGT αλλά όχι από την καταλυτικά ανενεργή μορφή της OGT. Η αποδόμηση της OGT σε αυτό το μοντέλο, ωστόσο, είναι ανεξάρτητη της κατάστασης τροποποίησης της O-GlcNAc σε αυτό τον μεταγραφικό παράγοντα, κάτι που υποδεικνύει ότι υπάρχει μεταβολή είτε στη στόχευση του Sp1 είτε στην δραστηριότητα των πρωτεοσωμάτων. Πρόσφατες μελέτες έχουν δείξει ότι τουλάχιστον πέντε από τις δεκαεννέα πρωτεΐνες του πρωτεοσωμικού υποσυμπλόκου 19S και εννέα από τις δεκατέσσερις πρωτεΐνες του πρωτεοσωμικού υποσυμπλόκου 20S της *Drosophila* και των θηλαστικών, τροποποιούνται από την O-GlcNAc. Η τροποποίηση των πρωτεοσωμάτων από την O-GlcNAc *in vitro*, μειώνει την αποδόμηση μέσω της αναστολής της δραστηριότητας της ATPάσης, ιδίως της

ΑΤΡάσης Ρππ2. Η O-GlcNAc δεν έχει φανεί να αναστέλλει την δραστηριότητα της πεπτιδάσης του πρωτεοσώματος 20S των κονίκλων. Στα θηλαστικά, η κατάσταση γλυκοζυλίωσης των πρωτεοσωμάτων ανταποκρίνεται στην θρεπτική κατάσταση του κυττάρου. Οι συγγραφείς προτείνουν ότι σε περιόδους αστίας, τα πρωτεοσώματα απογλυκοζυλιώνονται και ενεργοποιούνται για να παρέχουν ενέργεια στο κύτταρο.

### Μεσολάβηση στην προσαρμογή της θέσης των πρωτεϊνών

Οι αρχικές μελέτες έδειξαν ότι οι πόροι του πυρήνα είχαν τροποποιηθεί εκτενώς από την O-GlcNAc και για πολλά χρόνια η ειδική για την O-GlcNAc λεκτίνη Wheat Germ Agglutinin χρησιμοποιείτο για την αναστολή της μεταφοράς δια του πυρήνα, κάτι που υποδηλώνει ότι η O-GlcNAc μπορεί να ρυθμίζει την δραστηριότητα των πόρων του πυρήνα. Ωστόσο, χρησιμοποιώντας μελέτες αποκατάστασης των πόρων του πυρήνα, οι *Miller & Hanover*, έδειξαν ότι το έλλειμμα στην μεταφορά στον πυρήνα οφείλετο σε στερεοχημική παρεμπόδιση, παρά ότι ήταν αποτέλεσμα της τροποποίησης της δράσης των πρωτεϊνών του πυρήνα από την O-GlcNAc. Στις μελέτες αυτές, η O-GlcNAc των πυρηνικών πρωτεϊνών είχε ενωθεί με γαλακτόζη, χρησιμοποιώντας την b-D-1-4-γαλακτοζυλτρανσφεράση, πριν επανεισαχθεί στους πυρηνικούς πόρους και αποδειχθεί ότι ήταν πλήρως ενεργή. Πιο πρόσφατα, οι *Hanover et al*, απέδειξαν ότι σε ορότυπους *C. Elegans* με OGTδ, η μεταφορά προς τον πυρήνα πολλών μεταγραφικών παραγόντων είναι φυσιολογική.

Πειράματα σε νευρώνες *Aplysia* έδειξαν ότι αρκετές τροποποιημένες πρωτεΐνες μεταφέρονται γρήγορα από το κυτταρόπλασμα στον πυρήνα. Σε συνδυασμό με τα δεδομένα που δείχνουν ότι η O-GlcNAc είναι κυρίως πυρηνική, φαίνεται ότι η O-GlcNAc είναι μία εναλλακτική πρωτεΐνη της NLS. Οι μελέτες που εξέτασαν την μεταφορά γλυκοσυμπλόκων αλβουμίνης, που είχαν συντεθεί από ορό βοοειδών, η οποία εισήχθη σε κύτταρα με μικροέγχυση, ενισχύουν αυτή τη θέση. Εδώ, η γλυκόζη, η μανόζη, η φουκόζη και η N-ακετυλχιτοβιόζη φάνηκε ότι προάγουν την πρόσληψη BSA από τον πυρήνα. Ενώ η μεταφορά των γλυκοσυμπλόκων BSA ήταν ενεργητική, δεν απαιτούσε τους συνήθεις κυτταροπλασματικούς παράγοντες που απαιτούνται για την μεταφορά στον πυρήνα. Πρόσφατα, οι *Guinez et al*, πρότειναν ότι οι εξαρτώμενες από την GlcNAc μεταβολές, στη θέση των πρωτεϊνών εντός του κυττάρου, μπορεί να μεσολαβούνται από λεκτίνες, που είναι πρωτεΐνες δέσμησης υδατανθράκων όπως η CBP-35, η γαλεκτίνη 3, η CBP-67 και η HSP70, που ως γνωστόν μετακινούνται ελεύθερα από τον πυρήνα στο κυτταρόπλασμα.

Για πρωτεΐνες όπως η c-Myc, Tau, Stat5a, Pax-6, ELF-1, Sp1 και mTOR α4 φωσφοπρωτεΐνη, οι πυρηνικές μορφές τους τροποποιούνται περισσότερο από την O-GlcNAc απ' ότι οι κυτταροπλασματικές τους μορφές. Επιπρόσθετα στοιχεία παρέχονται από την θεραπεία νευρωνικών κυττάρων με οκαδαϊκό οξύ, όπου παρατηρείται αύξηση της φωσφορυλίωσης της Tau και μείωση της εντόπισής της στον πυρήνα. Επιπλέον το siRNA του γονιδίου *ogt* των κυττάρων λεμφώματος προκαλεί επανατοποθέτηση της Sp1 και της mTOR α4 φωσφοπρωτεΐνης στο κυτταρόπλασμα. Ωστόσο, ανεξάρτητες μελέτες της Stat5a δείχνουν ότι η εγκατάσταση στον πυρήνα είναι ανεξάρτητη της



κατάστασης τροποποίησης της O-GlcNAc. Όπως αναφέρεται παραπάνω, στο μοντέλο της OGTΔ C. elegans, η μεταφορά στον πυρήνα αρκετών παραγόντων μεταγραφής φάνηκε να είναι φυσιολογική. Αν η O-GlcNAc παίζει ρόλο στην μεταφορά στον πυρήνα, μπορεί να μην είναι ως σήμα NLS αλλά ως σήμα απομάκρυνσης από τον πυρήνα.

Η πρωτεϊνική κινάση C είναι μία οικογένεια σχετιζόμενων δομικά κινάσων Ser/ Thr, που διαιρούνται σε τρεις κατηγορίες, με συμβατικά ισοένζυμα (α, βI, βII, γ), άτυπα ισοένζυμα (ζ,ι,λ) και νέα ισοένζυμα (δ,ε,η,θ). Η PKC μεταφέρεται από το κυτταρόπλασμα στην μεμβράνη όταν ενεργοποιείται και τελικά αποφωσφορυλιώνεται και αποδομείται. Πολλές μελέτες έχουν δείξει ότι υπάρχει επίδραση υψηλού επιπέδου γλυκόζης και γλυκοζαμίνης στην ενεργοποίηση της μεταφοράς των διαφόρων ισοενζύμων και η αναστολή της HBP, μπορεί να απαλείψει ορισμένα από αυτά τα αποτελέσματα. Πρόσφατα, οι αλλαγές στη δραστηριότητα της PKC έχουν αποδοθεί σε αλλαγές στα επίπεδα της O-GlcNAc σε αστρογλοϊκά κύτταρα. Σε κύτταρα που θεραπεύονται με PUGNAc ή στρεπτοζοτοκίνη, παρατηρείται μία μείωση στη μεμβρανική PKC-α και PKC-ε και αύξηση στην PKC-βII. Η γλυκοζαμίνη οδηγεί σε ταχεία μετακίνηση της PKC-βII στη μεμβράνη. Ωστόσο το ίδιο δε συμβαίνει και με τις PUGNAc και STZ κάτι που υποδηλώνει ότι η μεταβολές στην PKC-βII δε μεσολαβούνται από την O-GlcNAc. Οι μηχανισμοί με τους οποίους η O-GlcNAc μεταβάλλει την σχέση των μεμβρανικών PKC δεν είναι ξεκάθαρη, αλλά φαίνεται ότι η ρύθμιση της θέσης και της δραστηριότητας τροποποιεί την μεταγραφή αρκετών γονιδίων.

### **Αλληλεπιδράσεις μεταξύ των πρωτεϊνών**

Εκτός από την μεταβολή της θέσης των πρωτεϊνών και της ημίσειας ζωής του παράγοντα μεταγραφής SP1, η O-GlcNAc ρυθμίζει επίσης τις αλληλεπιδράσεις μεταξύ των πρωτεϊνών, ελαττώνοντας την μεταγραφή του SP1 σε ορισμένα πειραματικά μοντέλα. Ορισμένες θέσεις τροποποίησης της Sp1 αναγνωρίστηκαν από τους *Roos et al* στην O-GlcNAc, στην πλούσια σε Glu περιοχή της Sp1. Αυτή η περιοχή, που ονομάζεται SpE, είναι σημαντική για τη σύνδεση με τον σχετιζόμενο με την πρωτεΐνη TATA παράγοντα 110. Χρησιμοποιώντας την SpE που εκφράζεται σε E. Coli ή σε *Y. vaccinia*, οι *Roos et al* έδειξαν ότι η γλυκοζυλίωση της SpE ανέστειλε την σύνδεση με το TAF110. Επιπλέον η θέση SPE υπέστη μετάλλαξη για να αφαιρεθούν οι θέσεις γλυκοζυλίωσης, καθώς και τα SpE που εκφράζονται σε κύτταρα θηλαστικών. Ελέγχθηκε και η σύνδεση με την φυσική Sp1, όπου η γλυκοζυλιωμένη πρωτεΐνη SpE συνδεόταν λιγότερο ισχυρά σε σχέση με το μη μεταλλαγμένο πεπτιδίδιο. Με τον ίδιο τρόπο, μπορεί να ρυθμίζονται δύο ακόμα μεταγραφικοί παράγοντες, οι YY1 και ELF-2. Τόσο ο YY1 όσο και ο ELF-2, η δεσμευμένη με την RB μορφή αυτών των πρωτεϊνών, είναι γλυκοζυλιωμένη σε μικρότερο βαθμό από ότι σε άλλες κυτταρικές μορφές. Επιπλέον, στην περίπτωση του YY1, η μεταβολή των εξωκυττάρων επιπέδων γλυκόζης οδηγεί σε αύξηση της τροποποίησης της O-GlcNAc και μείωση της σύνδεσης της με την RB. Ωστόσο, η επίδραση της O-GlcNAc στη σύνδεση της RB με την YY1 και την ELF02 δεν έχει μετρηθεί.

Η O-GlcNAc μπορεί να ρυθμίζει θετικά τις επιδράσεις μεταξύ των πρωτεϊνών. Σε απάντηση στην ινσουλίνη, η Stat5a φωσφορυλιώνεται και τροποποιείται από την O-GlcNAc. Οι μελέτες χαρτογράφησης ταυτοποίησαν την Thr-92 ως μία πιθανή θέση τροποποίησης της O-GlcNAc και η μετάλλαξη της Ala το επιβεβαίωσε. Η Stat5a μπορεί επίσης να τροποποιήσει την ενεργοποίηση των γονιδίων, επιστρατεύοντας ενεργοποιητές. Κατά τη δέσμευση με τον co-repressor της μεταγραφής, η N-CoR δεν επηρεάστηκε από την O-GlcNAc, με τη γλυκοζυλιωμένη μορφή της Stat5a να είναι εκλεκτικά δεσμευμένη από τον μεταγραφικό συνενεργοποιητή CREB.

Πρόσφατα, απομονώθηκε HsP70 ως μία λεκτίνη O-GlcNAc, κάτι που υποδηλώνει ότι πολλές από τις αλληλεπιδράσεις αυτής της πρωτεΐνης ρυθμίζονται από την O-GlcNAc. Ωστόσο, δεν έχουν ανευρεθεί μεσολαβούμενες από την O-GlcNAc αλληλεπιδράσεις της HsP70 in vivo και είναι άγνωστη συννεπως η σημασία αυτών των δεδομένων, αν και φαίνεται ότι μεσολαβείται από την κατάσταση θρέψης των κυττάρων.

## **Βιοχημικά μονοπάτια που ελέγχονται από την O-GlcNAc**

### **O-GlcNAc, μετάδοση σημάτων με την ινσουλίνη και επιπλοκές που σχετίζονται με τον τύπου II ΣΔ.**

Η ινσουλίνη δρα για να μειώσει τη συγκέντρωση της κυκλοφορούσας γλυκόζης, διεγείροντας την είσοδο γλυκόζης στους μύες και το λιπώδη ιστό, ενώ καταστέλλει την παραγωγή γλυκόζης και μεταβάλλει αρκετά ακόμα βιοχημικά μονοπάτια. Στα κύτταρα του λιπώδους ιστού, η ινσουλίνη οδηγεί στη μεταφορά της Glut4 στην κυτταρική μεμβράνη και στην πρόσληψη γλυκόζης, που είναι ανεξάρτητη από την ενεργοποίηση των πρωτεϊνικών υποδοχέων, της PI-3 κινάσης, της AKT και της PKC. Σε μοντέλα ΣΔ τύπου II, η δράση της ινσουλίνης ως προς την πρόσληψη γλυκόζης ελαττώνεται. Η αύξηση των εξοζαμινών μεταβάλλει την πρόσληψη γλυκόζης σε αρκετά μοντέλα και αυτό έχει αποδοθεί στην αυξημένη τροποποίηση της O-GlcNAc. Η αύξηση των επιπέδων O-GlcNAc στα κύτταρα του λιπώδους ιστού και στους γραμμωτούς μύες μέσω της PUGNA οδηγεί σε αντοχή στην ινσουλίνη. Επιπλέον, η υπερέκφραση OGT στο λίπος και τους μύες επίμυων, οδηγεί σε αντίσταση στην ινσουλίνη και υπερλεπτιναιμία. Πολλές πρωτεΐνες στον καταρράκτη σήμανσης της ινσουλίνης, κυρίως οι IRS-1, PI-3, και AKT τροποποιούνται από την O-GlcNAc. Η διέγερση των υποδοχέων ινσουλίνης οδηγεί συνήθως στην ενεργοποίηση αυτών των πρωτεϊνών και σε μεσολαβούμενη από την O-GlcNAc αντίσταση στην ινσουλίνη, ενώ η φωσφορυλίωση της AKT αναστέλλεται είτε έμμεσα, είτε άμεσα από την αναστολή των κινασών. Ο ρόλος της O-GlcNAc στη μεσολάβηση στη μετάδοση του σήματος της ινσουλίνης έχει υποστηριχθεί από την μέτρηση της OGT στην *C. Elegans*. Η διαγραφή της (*ogt-1(ok430)*) οδηγεί σε αύξηση των επιπέδων τρεχαλόζης και γλυκογόνου, σε μείωση της

αποθήκευσης λίπους και σε καταστολή του σχηματισμού dauer επί εδάφους daf-2.

Επιπρόσθετα, η O-GlcNAc έχει βρεθεί ότι διαμεσολαβεί σε πολλές από τις επιπλοκές που σχετίζονται με τον τύπου II ΣΔ. Η υπεργλυκαιμία αναστέλλει τη δραστηριότητα του eNOS (κατά 67%). Το eNOS τροποποιείται από το O-GlcNAc και η κατάσταση γλυκοζυλίωσης του εξαρτάται από τις εξωκυττάρια συγκεντρώσεις γλυκόζης. Η τροποποίησή του μέσω της O-GlcNAc έχει τοποθετηθεί στη θέση Ser-1177 και αυτή προφανώς αποκλείει την επαγόμενη από την ινσουλίνη φωσφορυλίωση αυτού του αμινοξέος, προλαμβάνοντας την ενεργοποίηση αυτού του ενζύμου. Ο χρόνιος αποκλεισμός του eNOS σχετίζεται τόσο με στυτικές δυσλειτουργίες, όσο και με αθηροσκλήρυνση σε διαβητικά μοντέλα. Εξετάζοντας το ρόλο της O-GlcNAc στην αθηροσκλήρυνση, οι *Federici et al* έλεγξαν τα επίπεδα O-GlcNAc σε αθηροσκληρυντικά ενδοθηλιακά κύτταρα. Ενώ η O-GlcNAc ήταν σε πολύ χαμηλά επίπεδα, σε μη αθηροσκληρυντικά κύτταρα, υπήρχε μία εξαπλάσια αύξηση της σε αθηροσκληρυντικές πλάκες στις καρωτίδες. Η O-GlcNAc μπορεί επίσης να μεταβάλλει τη λειτουργία των αγγειακών ιστών, μεταβάλλοντας τα επίπεδα ορισμένων πρωτεϊνών όπως η PAI-1 και ο TGF $\alpha$ ,b.

Ένα παθογνωμονικό γνώρισμα του τύπου II ΣΔ είναι η αυξημένη σύνθεση και αποθήκευση λιπιδίων. Η αύξηση της οδού σύνθεσης εξοζαμινών οδηγεί σε ενεργοποίηση της σύνθεσης γλυκογόνου, καθώς και σε αύξηση των ενζύμων σύνθεσης λιπαρών οξέων, της ακετυλ-CoA-καρβοξυλάσης και της γλυκερολ-3-P δευδρογονάσης. Ωστόσο, δεν είναι ξεκάθαρο αν αυτές οι επιδράσεις είναι το άμεσο αποτέλεσμα της μεταβολής των βιοχημικών οδών από την O-GlcNAc, ή αν πρόκειται για επιπτώσεις της μειωμένης σήμανσης από τις κινάσες AKT/PI3. Αρκετοί ερευνητές έδειξαν ότι η επαγωγή αντίστασης στην ινσουλίνη μέσω της σίτισης με ελεύθερα λιπαρά οξέα, μεταβάλλει τα τελικά προϊόντα των HBP, UDP-GlcNAc. Εν μέρει, οι επιδράσεις αυτές φαίνεται πως μεσολαβούνται από την αναστολή της οξειδωσης της γλυκόζης, αλλά και από την αύξηση στην έκφραση της GFAT. Τα δεδομένα αυτά υποδηλώνουν ότι τα ελεύθερα λιπαρά οξέα αυξάνουν τις επιπτώσεις της υψηλής γλυκόζης στα επίπεδα UDP-GlcNAc στο κύτταρο, οδηγώντας σε αύξηση της O-GlcNAc. Αντίθετα, οι *Choi et al* έδειξαν ότι στους επίμυες τα λιπαρά οξέα, λόγω αντίστασης στην ινσουλίνη, δεν επηρεάζουν τη συγκέντρωση UDP-GlcNAc.

Άλλος ένας μηχανισμός πρόκλησης υπεργλυκαιμίας είναι η αναστολή της GS. Η ενεργοποίηση της βιοχημικής οδού PI3K/AKT οδηγεί σε αναστολή της GSK-3 που προκαλεί διέγερση της πρωτεϊνικής φωσφατάσης 1 και αποφωσφορυλίωση της GS. Η φωσφορυλίωση της GS αναστέλλει τη μετατροπή της γλυκόζης σε γλυκογόνο. Οι *Parker et al* έδειξαν ότι η GS τροποποιείται από την O-GlcNAc και ότι αυτή ήταν αυξημένη επί υπεργλυκαιμικών μοντέλων. Επιπλέον, η τροποποίηση της O-GlcNAc οδηγούσε σε μείωση της GS αναστέλλοντας την ενεργοποίηση της γλυκοζο-6-φωσφάτης.

Η καρδιομυοπάθεια είναι μία μείζων επιπλοκή που σχετίζεται με το διαβήτη και σχετίζεται με κακή καρδιακή διάταση, που σχετίζεται με ανωμαλίες των επιπέδων ασβεστίου. Η σύσπαση ελέγχεται κυρίως από την πρόσληψη και την απελευθέρωση ασβεστίου από και προς το σαρκοπλασματικό δίκτυο.

Η κακή καρδιακή λειτουργία σχετίζεται με μεταβολές στις εξωκυττάρειες συγκεντρώσεις γλυκόζης και γλυκοζαμίνης. Δύο αναφορές έχουν δείξει ότι η μείωση της καρδιακής διαταραχής που οφείλεται σε υπεργλυκαιμία μπορεί να διορθωθεί με τη ρύθμιση των επιπέδων O-GlcNAc. Οι *Clark et al* έδειξαν ότι η υπεργλυκαιμία σχετιζόταν με παρατεταμένα δυναμικά ασβεστίου και μειωμένη έκφραση πρωτεϊνών και mRNA. Η υπερέκφραση της OGT μιμείτο το αποτελέσματα της υπεργλυκαιμίας, ενώ η υπερέκφραση της O-GlcNAcάσης διόρθωνε τα αποτελέσματα της υπεργλυκαιμίας. Κατά συνέπεια φάνηκε ότι σε μοντέλα καρδιάς διαβητικών, τα επίπεδα O-GlcNAc ήταν αυξημένα και πως στα μοντέλα ιστικών καλλιιεργειών, η υπερέκφραση της O-GlcNAcάσης μπορούσε να βελτιώσει την συστολική λειτουργία.

### **Η O-GlcNAc, ένας ρυθμιστής του κυτταρικού κύκλου**

Πολλές πρωτεΐνες τροποποιούνται από την Takenouchi-gyu κατά τρόπο εξαρτώμενο από τον κυτταρικό κύκλο, συμπεριλαμβανόμενων των c-myc, των κερατινών, YY1 και Sec23 και μεταβάλλουν τα εξωκυττάρια επίπεδα γλυκοζαμίνης, ενώ φαίνεται ότι μεταβάλλουν το ρυθμό αύξησης ορισμένων κυττάρων. Διερευνώντας το ρόλο της O-GlcNAc στη ρύθμιση του κυτταρικού κύκλου και κατά συνέπεια της κυτταρικής αύξησης, οι Slawson et al εξέτασαν τα συνολικά επίπεδα O-GlcNAc στα κύτταρα κατά τις διάφορες φάσεις του κυτταρικού κύκλου. Βρέθηκε ότι η O-GlcNAc ρυθμιζόταν συνολικά κατά τρόπο εξαρτώμενο από τον κυτταρικό κύκλο με μέγιστο στις φάσεις G1/S και G2/M. Τα επίπεδα O-GlcNAc ήταν χαμηλότερα κατά τη φάση M και οι πιο μεγάλες μεταβολές παρατηρήθηκαν σε κύτταρα με αναστολή του κύκλου μέσω νοκοδαζόλης. Η μείωση και αύξηση των επιπέδων O-GlcNAc σε κύτταρα HeLa και 3T3-L1 προ-λιποκύτταρα προκάλεσε καθυστέρηση στην εξέλιξη του κυτταρικού κύκλου. Η υπερέκφραση OGT οδήγησε σε ελλείμματα στην κυτταρική κίνηση και πολυπύρηννα κύτταρα. Η OGT φάνηκε να βρίσκεται στην μιτωτική άτρακτο κατά την κυτταρική διαίρεση. Η αύξηση και η μείωση της O-GlcNAc οδήγησε σε μεταβολές στην μιτωτική φωσφορυλίωση, καθώς και στην έκφραση κυκλινών, κάτι που υποδηλώνει πως υπάρχουν αρκετά σημεία στα οποία η O-GlcNAc ρυθμίζει τον κυτταρικό κύκλο. Συνολικά, τα δεδομένα αυτά δείχνουν ότι απαιτείται ανακύκλωση της O-GlcNAc για τις διάφορες πλευρές τις πρωτεϊνικής ρύθμισης κατά τον κυτταρικό κύκλο.

### **Η O-GlcNAc και το κυτταρικό στρες.**

Ως απάντηση σε πολλές μορφές κυτταρικού στρες, τα κύτταρα αυξάνουν την πρόσληψη γλυκόζης. Αρκετές μελέτες έχουν συσχετίσει την αύξηση στην μεταφορά της γλυκόζης με αυξημένη αντοχή στο στρες. Η προστασία του κυττάρου έχει αποδοθεί στη διατήρηση των επιπέδων ATP, του δυναμικού των μιτοχονδριακών μεμβρανών καθώς και στην σταθεροποίηση της αναγωγικής κατάστασης. Η υπογλυκαιμία μπορεί να επάγει τον επαγόμενο από την υποξία παράγοντα, σταθεροποιώντας το p53, οδηγώντας στην ενεργοποίηση της μεσολαβούμενης από το p53 απόπτωσης. Σε ορισμένες περιπτώσεις ο αποκλεισμός της γλυκόλυσης δεν είχε καμία επίδραση στην μεσο-

λαβούμενη από τη γλυκόζη προστασία του κυττάρου, ενώ ο αποκλεισμός της HBP καταστρέφει την μεσολαβούμενη από τη γλυκόζη κυτταρική προστασία.

Σε προ-διαβητικά μοντέλα υπεργλυκαιμίας, ο χειρισμός ασβεστίου από τα καρδιακά μυϊκά κύτταρα μεταβάλλεται κατά τρόπο εξαρτώμενο από το HBP, κάτι που προστατεύει από τις βλάβες επαναιμάτωσης. Ως απάντηση στους αγωνιστές IP<sub>3</sub>, συμπεριλαμβανομένης της φαινυλεφρίνης, της θασιγαργίνης και της αγγειοτασίνης παρατηρείται μειωμένη είσοδος ασβεστίου όταν είναι αυξημένα τα εξωκυτάρια επίπεδα γλυκόζης και γλυκοζαμίνης. Αυτό μπορεί να ανασταλλεί με αναστολείς της HBP. Σε πιο άμεσες μελέτες έχει φανεί ότι η PUGNAc μπορεί επίσης να μειώσει την είσοδο ασβεστίου στα κύτταρα, κάτι που υποδηλώνει πως η O-GlcNAc δεν είναι ρυθμιστής της γλυκόζης σε αυτό το σύστημα.

Πρόσφατα έχει δείχτει ότι σε πολλές μορφές κυτταρικού στρες αυξάνουν ταχέως και δυναμικά τα επίπεδα O-GlcNAc, σε πολλές κυτταρικές σειρές των θηλαστικών. Ιδιαίτερα, η αύξηση των επιπέδων O-GlcNAc, είτε μέσω της αναστολής της O-GlcNAcάσης, είτε μέσω υπερέκφρασης της OGT στα κύτταρα, τα έκανε πιο ανθεκτικά στη θερμότητα. Αντίθετα, η μείωση της O-GlcNAc, μεταβάλλοντας τα επίπεδα OGT ή αποκλείοντας την HBP, προκαλούσε ευαισθητοποίηση των κυττάρων στο στρες. Πρόσφατα, αποδείχθηκε ότι σε μοντέλα ολόκληρης καρδιάς, η θεραπεία με γλυκοζαμίνη προκαλούσε αύξηση των επιπέδων O-GlcNAc και πως η αύξηση αυτή εντατικοποιούσε τις επαγόμενες από το ασβέστιο βλάβες επαναιμάτωσης. Η θεραπεία με έναν μη ειδικό αναστολέα της OGT, την αλλοξάνη, εξαφάνιζε την επίδραση της γλυκοζαμίνης στην είσοδο του ασβεστίου. Τα δεδομένα αυτά δεικνύουν ότι τα αυξημένα επίπεδα O-GlcNAc στους ιστούς είναι προστατευτικά, σε συμφωνία με άλλες παρατηρήσεις. Σε ολόκληρες καρδιές επίμυων, που υποβλήθηκαν σε βλάβες από επαναιμάτωση, τα επίπεδα O-GlcNAc ήταν αυξημένα και πάλι σε συμφωνία με δεδομένα από άλλες κυτταρικές σειρές. Συνολικά τα δεδομένα αυτά δεικνύουν ότι η O-GlcNAc, είναι ένας σημαντικός μετα-μεταφραστικός ρυθμιστής, που χρησιμοποιείται από τα κύτταρα και από ολόκληρο τον οργανισμό, ως μία ταχεία απάντηση στο στρες.

Οι μεταβολές στο O-GlcNAc μπορούν να είναι αποτέλεσμα της μεταβολής στην πρόσληψη γλυκόζης, ωστόσο πολλές παρατηρήσεις δεικνύουν ότι αυτή η σχέση ρυθμίζεται πιο δυναμικά. Αυτές περιλαμβάνουν : (1) τα επίπεδα της OGT είναι αυξημένα σε απάντηση σε ορισμένες μορφές στρες, όπως η ακτινοβολία UV, η αιθανόλη, το χλωριούχο νάτριο και το νατριούχο αρσενικό, (2) ως απάντηση στο θερμικό στρες, υπάρχει μία ταχεία αύξηση της OGT στο τριπλάσιο, (3) το αυξημένο φορτίο ελευθέρων ριζών αυξάνει την δραστηριότητα της GFAT και (4) η αυξημένη παραγωγή γλυκοζο-1-φωσφάτης και φρουκτοζο-6-φωσφάτης, διά της ενεργοποίησης της ανεξάρτητης από το AMP φωσφορυλάσης του γλυκογόνου. Στον ασπέργιλλο και στον *Saccharomyces cerevisiae*, το στρες του κυτταρικού τοιχώματος προκαλεί σύνθεση και ενάπθεση χιτίνης. Στον ασπέργιλλο, αυτό είναι αποτέλεσμα της αύξησης της GFAT και υποδηλώνει ότι οι επαγόμενες από το στρες κυτταρικές αλλαγές στα επίπεδα UDP-GlcNAc, είναι μία βασική απόκριση των οργανισμών, που έχει εξελιχθεί από την ενίσχυση του κυτταρικού τοιχώματος στη ρύθμιση των επιπέδων O-GlcNAc των πρωτεϊνών.

Τα κύτταρα επάγουν την τροποποίηση της O-GlcNAc, ως απάντηση σε πολλές μορφές κυτταρικού στρες και αυτό φαίνεται πως έχει προστατευτική δράση στα κύτταρα. Υπάρχουν αρκετοί πιθανοί μηχανισμοί μεσολαβούμενης από την O-GlcNAc ανοχής στο στρες : (1) Οι *Sohn et al* προτείνουν ότι η τροποποίηση της O-GlcNAc προλαμβάνει το να γίνουν αδιάλυτες οι πρωτεΐνες, ως απάντηση στο θερμικό στρες, (2) η αύξηση και η μείωση των επιπέδων O-GlcNAc φάνηκε πως μεταβάλλει τα επίπεδα HsP40 & HsP70. Η υπερέκφραση πρωτεϊνών θερμικού στρες καθιστά τα κύτταρα ανθεκτικά στο στρες ( πρόσφατα η HsP70 αναγνωρίστηκε ως μία λεκτίνη του O-GlcNAc). Τα δεδομένα αυτά οδηγούν στην ενδιαφέρουσα ιδέα ότι η O-GlcNAc μπορεί να μεσολαβεί στις αλληλεπιδράσεις των μετουσιωμένων πρωτεϊνών με το HsP70 και (3) η O-GlcNAc έχει φανεί πως παίζει σημαντικό ρόλο στη διαχείριση του ασβεστίου. Εδώ η O-GlcNAc μειώνει την είσοδο του ασβεστίου, και κατά συνέπεια ελαττώνει τη πιθανότητα δηλητηρίασης από ασβέστιο εντός του κυττάρου.

Έχουν περάσει τουλάχιστον 22 χρόνια από την ταυτοποίηση της O-GlcNAc και γνωρίζουμε τώρα ότι πρόκειται για μία ρυθμιστική τροποποίηση, πιο ανάλογη στην φωσφορυλίωση των πρωτεϊνών από την πρωτότυπη γλυκοζυλίωση. Αυτή η απλή μετα-μεταφραστική τροποποίηση νευρώνει πολλαπλά σηματοδοτικά μονοπάτια και είναι βασική για τη ζωή. Η ευαισθησία των επιπέδων O-GlcNAc στις εξωκυττάρια συγκεντρώσεις γλυκόζης, συντηρεί ένα μοντέλο στο οποίο η O-GlcNAc παίζει ένα ρόλο θρεπτικού ανιχνευτή, που ρυθμίζει την κυτταρική αύξηση σε σχέση με τα διαθέσιμα θρεπτικά στοιχεία, μεταβάλλοντας την φωσφορυλίωση των πρωτεϊνών, τα πρωτεώματα και τη λειτουργία και τη θέση των πρωτεϊνών. Ενισχυτικές αυτής της θέσης είναι οι μελέτες που δείχνουν πως η μεταβολή των επιπέδων UDP-GlcNAc και η αύξηση των επιπέδων O-GlcNAc διαταράσσουν τον κυτταρικό κύκλο.

Πρόσφατα δεδομένα από πολλές ομάδες έχουν δείξει ότι η O-GlcNAc εμπλέκεται στην κυτταρική απάντηση στο στρες. Τα δεδομένα αυτά προτείνουν ένα πιο πολύπλοκο μοντέλο λειτουργίας του O-GlcNAc στα κύτταρα, όπου η O-GlcNAc είναι ένας αισθητήρας της κατάστασης του κυττάρου. Εδώ τα επίπεδα O-GlcNAc αναπαριστούν έναν αναγνώστη όχι μόνο της διαθεσιμότητας θρεπτικών συστατικών, αλλά και του επιπέδου στρες. Έτσι, μεταβάλλοντας συνολικά τα επίπεδα O-GlcNAc, τα κύτταρα μπορούν να συντονίσουν την απάντηση τους ως προς τα διάφορα εξωκυττάρια σήματα και να τροποποιήσουν την κυτταρική συμπεριφορά κατά καθολικό τρόπο.

(Warren AP et al. 1986) (Vossellerk et al. 2002) (Zachara NE et al. 2004) (Patti ME et al.1999) (Buse MG et al.2002) (Bosch RR et al. 2003) (Arias E.B et al 2004) (Park SY et al.2005) (Zachara NE et al.2004) (Holt GD et al 1986) (Hanover JA et al.1987) (Holt GD et al 1987) (Love CD et al 2003) (Zachara NE et al.2004) (Wells L et al.2002) (Haltiwagner Rs et al.1992) (Haltiwagner RS et al. 1991) (Wells L et al. 2002) (GAOY et al. 2001) (Haltiwagner Rs et al. 1998) (chou CF et al.1992) (chou CF et al.1993) (Kamemurak et al.2002) (Slawson C et al. 2005) (Wells L et al. 2004) (DU XL et al.2001) (Comer FI et al. 2001) (Ray MK et al 1992) (Cheng Xet al.2000) (Cheng X et

al.2001) (Han I et al.1997) (Zhang F et al. 2003) (Snow CM et al. 1987) (Park MK et al 1987) (Guinezc et al. 2005) (Matthews JA et al.2005) (Yang X et al. 2001). (Guinez C et al.2004) (Lefebvre T et al. 2001) (Jackson Sp et al 1988) (Mcclain DA et al. 2002) (Pasternak CA et al.1991) (Sviderskaya EV et al. 1996) (DU XL et al. 2000) (Noyman I et al.2002) (Hsieh TJ et al. 2003) (Kelly W.G et al.1993) (Chou TY et al.1995).





## ΚΥΤΤΑΡΟΛΟΓΙΚΗ ΚΑΙ ΠΟΛΥΠΕΠΤΙΔΙΚΗ ΚΑΤΑΝΟΜΗ ΤΟΥ ΕΠΙΤΟΠΟΥ Η

Ο επίτοπος Η αναγνωρίζεται από το μονοκλωνικό αντίσωμα Η. Το μονοκλωνικό αντίσωμα Η είναι της τάξεως IgM και δημιουργήθηκε σε ποντικό, μετά από ένεση ολόκληρων σωμάτων ολιγοδενδρογλοιακών κυττάρων προβάτου. Ο επίτοπος Η περιλαμβάνει το σάκχαρο N-ακετυλογλυκοζαμίνη, αλλά και άλλα στοιχεία τα οποία μπορεί να είναι ή το παρακείμενο τμήμα της πολυπεπτιδικής αλυσού ή ο τρόπος που τοποθετείται το σάκχαρο στο μόριο της πολυπεπτιδικής αλυσού ή ο συνδυασμός και των δύο παραπάνω καταστάσεων. Έτσι το μονοκλωνικό αντίσωμα Η δεν αναγνωρίζει όλα τα πολυπεπτίδια που φέρουν το σάκχαρο N-ακετυλογλυκοζαμίνη, αλλά αναγνωρίζει έναν υποπληθυσμό αυτών των πολυπεπτιδίων, που φέρουν το σάκχαρο με τις προϋποθέσεις που απαιτούνται για να δημιουργηθεί ο επίτοπος Η. Ένα χαρακτηριστικό παράδειγμα της παραπάνω κατάστασης είναι, σύμφωνα με τη μέχρι τώρα βιβλιογραφία, ότι το αντίσωμα Η αναγνωρίζει την κερατίνη 8, που το μοναδικό σάκχαρό της είναι η N-ακετυλογλυκοζαμίνη, αλλά δεν αναγνωρίζει την κερατίνη 18 που και αυτή έχει ως μοναδικό σάκχαρό της την N-ακετυλογλυκοζαμίνη.

Ο επίτοπος Η απαντάται σε περισσότερα του ενός είδη κυττάρων και σε περισσότερα από ένα πολυπεπτίδια. Η έρευνα έχει δείξει μέχρι τώρα ότι ο επίτοπος Η απαντάται σε μικρό αριθμό ινωδών αστροκυττάρων της λευκής ουσίας του εγκεφάλου του ανθρώπου και του επίμουσ, καθώς και σε αστροκύτταρα της επιφάνειας των εγκεφαλικών ημισφαιρίων (έξω αφοριστικός νευρογλοιακός υμένας).

Ο επίτοπος Η αυξάνεται σημαντικά στα αντιδραστικά αστροκύτταρα, ανεξαρτήτως της αιτίας που προκαλεί την αντίδρασή τους. Σε ομογενοποιημένα καλλιιεργειών αστροκυττάρων, που ελήφθησαν από τον φλοιό των εγκεφαλικών ημισφαιρίων του επίμουσ και επεξεργάστηκαν με την μέθοδο western-blot, immunoblot, βρέθηκε ότι ο επίτοπος Η εντοπίζεται σε δύο πολυπεπτίδια, με μοριακές μάζες 209 KDa και 62 KDa (*Arvanitis DL. et al 2001*).

Έρευνα που έγινε με τη μέθοδο του κολλοειδούς ανοσοχρυσού σε υπερμικροσκοπικό επίπεδο (ηλεκτρονικό μικροσκόπιο), έδειξε ότι ο επίτοπος Η εντοπίζεται στα ακόλουθα κυτταρικά οργανίδια των κυττάρων των ινοαδενωμάτων και των διηθητικών πορογενών καρκινωμάτων του μαστού: σε κυτταροπλασματικά ινίδια, στα μιτοχόνδρια, στο κοκκιώδες ενδοπλασματικό δίκτυο, στα δεσμοσώματα, στην ετεροχρωματίνη, στις μεσο-ετεροχρωματινικές περιοχές, στους πόρους και στο πυρήνιο του πυρήνα, σε κυτταροπλασματικά κυστίδια, στον αυλό των ενδοκυτταρικών πόρων, και σε μόρια της εξωκυτταρικής ουσίας (*Havaki S et al 2003*).

Άλλη έρευνα έχει δείξει, ότι ο επίτοπος Η εκφράζεται περισσότερο στο κυτταρόπλασμα των καλά διαφοροποιημένων ινωδών αστροκυττωμάτων, σε σύγκριση με τα αναπλαστικά αστροκυττώματα και τα πολύμορφα γλοιοβλαστώματα (*Arvanitis DL et al 2005b*).

Άλλη έρευνα έχει δείξει ότι τα φυσιολογικά κύτταρα που έχουν μεγάλο αριθμό μιτοχονδρίων, όπως τα οξύφιλα κύτταρα των παραθυρεοειδών αδένων,

νων, τα κύτταρα των γραμμωτών πόρων της παρωτίδος, τα κύτταρα των ουροφόρων σωληναρίων του νεφρού, τα τοιχωματικά κύτταρα του γαστρικού βλεννογόνου όπως και τα μεταπλαστικά και νεοπλασματικά ογκοκύτταρα, που το κυτταρόπλασμα τους είναι πλημμυρισμένο με μιτοχόνδρια όπως τα οξύφιλα κύτταρα του θυροειδούς στην περίπτωση της θυροειδίτιδας Hashimoto και τα νεοπλασματικά ογκοκύτταρα των όγκων του Warthin της παρωτίδος, των καλοήθων και κακοήθων όγκων Hurthle του θυροειδούς και των ογκοκυττωμάτων του νεφρού, παρουσιάζουν πολύ έντονη έκφραση του επιτόπου H στο κυτταρόπλασμά τους (*Arvanitis DL et al 2005a*).

Άλλη έρευνα έχει δείξει ότι ο επιτόπος H παράγεται έντονα στο κυτταρόπλασμα των στρωματικών κυττάρων του φθαρού και αυξημένα στο κυτταρόπλασμα των προφθαρτικών κυττάρων του στρώματος του ενδομητρίου, κατά την τελευταία φάση του εκκριτικού κύκλου, ενώ στο παραγωγικό ενδομήτριο, στο εκκριτικό ενδομήτριο της αρχικής και μέσης φάσης και στο στρώμα της βασικής στιβάδας του ενδομητρίου, τα στρωματικά κύτταρα ή δεν παράγουν καθόλου επιτόπο H, ή η παραγωγή του παρουσιάζει χαμηλή έκφραση (*Polyzos Th. et al, histol., histopathol, 2006,21:1193-1198*).

Άλλη έρευνα έχει δείξει ότι ο επιτόπος H εκφράζεται στο κυτταρόπλασμα των λείων μυϊκών κυττάρων του μυομητρίου και των λειομυωμάτων και λειομυοσαρκωμάτων της μήτρας, σε διαφορετικές όμως αναλογίες. Επιπροσθέτως ο επιτόπος H εντοπίζεται σε τέσσερα πολυπεπτίδια, που είναι ταυτόσημα στα ομογενοποιημένα του μυομητρίου και των λειομυωμάτων της μήτρας και έχουν μοριακές μάζες 100KDa, 61 KDa, 59 KDa και 54 KDa (*Sgantzos MN et al 2007*).

Άλλη έρευνα με τη μέθοδο του κολλοειδούς ανοσοχρυσού και της παλίνδρομης αφαίρεσης του οξεικού ουρανίου στο επίπεδο του ηλεκτρονικού μικροσκοπίου έδειξε ότι ο επιτόπος H εντοπίζεται περισσότερο στις περιοχές της πυκνής ετεροχρωματινής και λιγότερο στις αθροίσεις των μεσοχρωματινικών κοκκίων και των περιχρωματινικών ινών, των πυρήνων των κυττάρων των διηθητικών πορογενών καρκινωμάτων και των ινοαδενωμάτων του μαστού (*Havaki S et al 2006*).

Άλλη έρευνα έχει δείξει ότι ο επιτόπος H, στην σειρά MCF-7 του αδενοκαρκινώματος του μαστού, απαντάται σε πέντε πολυπεπτίδια, με μοριακά βάρη 232 KD, 67KD, 51KD, 50KD και 37KD και την κερατίνη 8. Από τα πέντε πολυπεπτίδια τα πολυπεπτίδια με μοριακά βάρη 232KD 67KD και 37KD ανήκουν σε κλάσμα που διαλύεται στον Triton X-100, ενώ αυτά με μοριακά βάρη 51KD και 50 KD δεν διαλύονται στον Triton X -100 (*Arvanitis DL et al 1995*).

Άλλη έρευνα έχει δείξει ότι ο επιτόπος H αυξάνεται στα επενδυματικά κύτταρα των εγκεφάλων του ανθρώπου σε περιπτώσεις υποξείκης εγκεφαλοπάθειας (*Arvanitis L.D et al 2010.*)

# ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ



## ΥΛΙΚΟ

Το υλικό της παρούσης διατριβής αποτελείται από 60 περιπτώσεις ξεσμάτων ενδοτραχήλου, μεταξύ των οποίων οι 15, περιελάμβαναν και μικρούς ενδοτραχηλικούς πολύποδες. Το υλικό ελήφθη από την παθολογοανατομική μονάδα του Εργαστηρίου Ανατομίας του τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας.

## ΜΕΘΟΔΟΣ ΑΝΟΣΟΪΣΤΟΧΗΜΕΙΑΣ

Τα δείγματα των ιστών μονιμοποιήθηκαν σε 10% ουδέτερη φορμόλη και σκηνώθηκαν σε κύβους παραφίνης. Από τους κύβους παραφίνης κόπηκαν τομές πάχους 4 μ , αποπαραφινώθηκαν και ενυδατώθηκαν. Για την ανοσοϊστοχημική εντόπιση του επιτόπου Η χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος της έμμεσης ανοσοϋπεροξειδάσης . Μετά την ενυδάτωση, οι τομές τοποθετήθηκαν σε διάλυμα 3 % H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> σε TBS pH 7,6 για την εξουδετέρωση της ενδογενούς υπεροξειδάσης . Μετά οι τομές πλύθηκαν με TBS 3X10 λεπτά . Μετά οι τομές επώασθηκαν σε διάλυμα δέκα τοις εκατό φυσιολογικού ορού κουνελιού σε TBS για 30 λεπτά, για να εξουδετερωθεί η μη ειδική προσκόλληση των αντισωμάτων. Μετά οι τομές επώασθηκαν σε αδιάλυτο υγρό κυτταροκαλλιέργειας, που περιείχε το μονοκλωνικό αντίσωμα Η, για δύο ώρες σε θερμοκρασία δωματίου. Μετά αφού πλύθηκαν οι τομές για 3X10 λεπτά σε TBS , οι τομές επώασθηκαν σε διάλυμα αντισώματος κουνελιού εναντίον ποντικού σε αναλογία 1 : 50 σε TBS, για μια ώρα. Μετά οι τομές πλύθηκαν για 3X10 λεπτά σε TBS και επώασθηκαν σε διάλυμα DAB H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> σε TBS για 8 λεπτά. Μετά πλύθηκαν, βάφθηκαν με αιματοξυλίνη, αφυδατώθηκαν και καλύφθηκαν με καλυπτρίδες. Στους αρνητικούς μάρτυρες δεν τοποθετήθηκαν πρωτογενή αντισώματα . Διαδοχικές τομές βάφθηκαν για την εντόπιση της κερατίνης 8, με την ίδια μέθοδο. Ως πρωτογενές αντίσωμα χρησιμοποιήθηκε μονοκλωνικό αντίσωμα, αγορασμένο από την DAKO, που αναγνωρίζει την πολυπεπτιδική αλυσίδα της κερατίνης 8.

## ΒΑΘΜΟΛΟΓΗΣΗ

### Βαθμολόγηση της έκφρασης του επίτοπου Η.

Αρνητική έκφραση (-). Όταν όλα τα κυτταρικά στοιχεία παραμένουν αρνητικά ή άβαφα για τον επίτοπο Η.

Πολύ χαμηλή έκφραση (

## ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΤΗΣ ΕΚΦΡΑΣΗΣ ΤΟΥ ΕΠΙΤΟΠΟΥ Η ΣΤΑ ΚΥΤΤΑΡΑ ΤΟΥ ΤΡΑΧΗΛΟΥ ΤΗΣ ΜΗΤΡΑΣ

### ΕΚΦΡΑΣΗ ΤΟΥ ΕΠΙΤΟΠΟΥ Η ΣΤΑ ΒΛΕΝΝΟΠΑΡΑΓΩΓΑ ΚΥΤΤΑΡΑ ΤΟΥ ΤΡΑΧΗΛΟΥ ΤΗΣ ΜΗΤΡΑΣ

Η ανοσοϊστοχημική χρώση για τον Επίτοπο Η έδειξε ότι τα βλεννοπαραγωγά κύτταρα του ενδοτραχηλικού επιθηλίου, σε όλες τις περιπτώσεις (100%), έδειξαν πολύ χαμηλή έκφραση, καθ' όσον η συντριπτική πλειοψηφία, παρέμεινε αρνητική (Εικόνες 1, 2, 3, 4) και σε καμία περίπτωση ο αριθμός των θετικών κυττάρων για τον Επίτοπο Η, δεν ξεπέρασε το 5% του συνόλου των βλεννοπαραγωγών κυττάρων (Σχήμα 1). Όσον αφορά την έκφραση του Επίτοπου Η στα βλεννοπαραγωγά κύτταρα των ενδοτραχηλικών πολυπόδων, αυτή ήταν χαμηλή γιατί παρατηρήθηκε μία αύξηση της έκφρασης, δεδομένου ότι τα θετικά για τον Επίτοπο Η βλεννοπαραγωγά κύτταρα των ενδοτραχηλικών πολυπόδων, κυμάνθηκαν σε όλες τις περιπτώσεις (100%) στο 5-30% του συνολικού αριθμού των βλεννοπαραγωγών κυττάρων (σχήμα 13). Τα θετικά για τον Επίτοπο Η βλεννοπαραγωγά κύτταρα εμφάνισαν διάφορα πρότυπα κυτταροπλασματικής χρώσης. Το πιο συχνό πρότυπο κυτταροπλασματικής χρώσης ήταν μία υποπυρηνική κυτταροπλασματική έντονη χρώση, που παρατηρήθηκε κυρίως στα βλεννοπαραγωγά κύτταρα των ενδοτραχηλικών πολυπόδων. Αυτή η υποπυρηνική χρώση ήταν είτε πολύ περιορισμένη, δίνοντας την εντύπωση μιας έντονα βαμμένης κοκκιώδους περιοχής κάτω από τον πυρήνα, λόγω ύπαρξης μιας πολύ περιορισμένης υποπυρηνικής ποσότητας κυτταροπλάσματος, είτε μιας πιο εκτεταμένης υποπυρηνικής έντονης κυτταροπλασματικής ποσότητας (Εικόνες 27, 28, 29, 31, 32, 33, 34). Σε μερικά από τα κύτταρα με υποπυρηνική χρώση, παρατηρήθηκε μία επέκταση της θετικής χρώσης προς τις πλάγιες κυτταροπλασματικές περιοχές, που έφθανε μέχρι την αυλική επιφάνεια των κυττάρων.

Ένα άλλο πρότυπο θετικής χρώσης των βλεννοπαραγωγών κυττάρων συνίστατο σε μία δικτυωτή κατανομή της χρώσης πυκνότερα ή αραιότερα, σε όλο το κυτταροπλάσμα (Εικόνες 7, 8, 9, 10, 26).

Η ανοσοϊστοχημική χρώση διαδοχικών τομών για την κερατίνη 8, έδειξε ότι υπάρχει μερική σύμπτωση της χρώσης της κερατίνης 8 με την χρώση του Επίτοπου Η (Εικόνες 11, 12), με τη διαφορά ότι η χρώση για την κερατίνη 8 ήταν γενικά πιο έντονη και φαινόταν έτσι και πιο εκτεταμένη, σε σύγκριση με την χρώση για τον Επίτοπο Η. Με άλλα λόγια, η κερατίνη 8 ήταν παρούσα στις περιοχές του κυτταροπλάσματος που ήταν θετικό για τον Επίτοπο Η, αλλά σε πολλές περιπτώσεις, μία επιπλέον πιο εκτεταμένη περιοχή του κυτταροπλάσματος ήταν θετική για την κερατίνη 8.

Έτσι η κερατίνη 8, ήταν έντονα θετική στις υποπυρηνικές κυτταροπλασματικές περιοχές, που ήταν έντονα βαμμένες για τον Επίτοπο Η. Σε αυτά τα κύτταρα, με τις θετικά βαμμένες υποπυρηνικές κυτταροπλασματικές περιοχές μια πιο έντονη και πιο εκτεταμένη χρώση της κερατίνης 8 παρατηρήθηκε στις πλάγιες κυτταροπλασματικές επιφάνειες των κυττάρων σε σχέση με την χρώση του Επίτοπου Η. (Εικόνες 30, 35).

Το πρότυπο της δικτυωτής κυτταροπλασματικής χρώσης παρατηρήθηκε και στην χρώση της κερατίνης 8. Έτσι, τα βλεννοπαραγωγά κύτταρα που παρουσίασαν δικτυωτό πρότυπο κυτταροπλασματικής χρώσης για τον Επίτοπο Η, σε διαδοχικές τομές, παρουσίασαν δικτυωτό πρότυπο χρώσης για την κερατίνη 8 (Εικόνα 24).

Αξίζει να σημειωθεί ότι τα βλεννοπαραγωγά κύτταρα που παρουσίαζαν θετική κυτταροπλασματική χρώση για τον Επίτοπο Η, παρουσίασαν πυρήνες που ήταν αρνητικοί για τον Επίτοπο Η.



**Σχήμα 1.** Σχηματική απεικόνιση της έκφρασης του Επίτοπου H στα βλεννοπαραγωγά κύτταρα του τραχήλου της μήτρας (%).



**Σχήμα 13.** Σχηματική απεικόνιση της έκφρασης του Επίτοπου H στα βλεννοπαραγωγά κύτταρα των ενδοτραχηλικών πολυπόδων του τραχήλου της μήτρας (%).





## ΕΚΦΡΑΣΗ ΤΟΥ ΕΠΙΤΟΠΟΥ Η ΣΤΑ ΜΗ-ΒΛΕΝΝΟΠΑΡΑΓΩΓΑ ΕΚΚΡΙΤΙΚΑ ΚΥΤΤΑΡΑ ΤΟΥ ΤΡΑΧΗΛΟΥ ΤΗΣ ΜΗΤΡΑΣ

Μη βλεννοπαραγωγά εκκριτικά κύτταρα παρατηρήθηκαν στις περιοχές της σαλπινγικής μεταπλασίας του ενδοτραχηλικού επιθηλίου, καθώς και στους ενδοτραχηλικούς πολύποδες. Τα μη-βλεννοπαραγωγά εκκριτικά κύτταρα, σε όλες της περιπτώσεις που ήταν παρόντα, παρουσίασαν έντονη διάχυτη κυτταροπλασματική χρώση για τον Επίτοπο Η, με αποτέλεσμα την υψηλή έκφραση του Επίτοπου Η, στο 100% των περιπτώσεων (Σχήμα 2). Τα μη βλεννοπαραγωγά εκκριτικά κύτταρα έχουν είτε κυλινδρικό σχήμα, είτε σχήμα που μοιάζει με μια ανάποδα τοποθετημένη σκούπα με μακρύ χέρι ή με ένα καρφί με μεγάλο κεφάλι ή με ένα ποτήρι σαμπάνιας. Χαρακτηριστικά οι πυρήνες τους καταλαμβάνουν την μεσότητα του κυτταροπλάσματος, γι' αυτό όταν αυτά βρίσκονται μεταξύ των βλεννοπαραγωγών κυττάρων, στους ενδοτραχηλικούς πολύποδες, οι πυρήνες τους καταλαμβάνουν ένα υψηλότερο επίπεδο από αυτό των πυρήνων των βλεννοπαραγωγών κυττάρων, που βρίσκονται στην βασική μοίρα του κυτταροπλάσματος. Έτσι, στους ενδοτραχηλικούς πολύποδες, στη χρώση για τον Επίτοπο Η, φαίνονται τα έντονα και διάχυτα βαμμένα μη-βλεννοπαραγωγά εκκριτικά κύτταρα, να ξεχωρίζουν από τα βλεννοπαραγωγά κύτταρα, με το συνήθως άβαφο υπερπυρηνικό κυτταρόπλασμα τους και να έχουν τους πυρήνες τους τοποθετημένους σε ένα υψηλότερο επίπεδο (Εικόνες 27, 28, 29, 34, 36).

Τα μη-βλεννοπαραγωγά εκκριτικά κύτταρα, όπως προαναφέρθηκε, έχουν συνήθως σχήμα καρφιού με πολύ μεγάλο κεφάλι ή σχήμα ποτηριού σαμπάνιας. Οποιοδήποτε και αν είναι το σχήμα τους, η χρώση για τον Επίτοπο Η, είναι έντονη και διάχυτη στο κυτταρόπλασμα, με αποτέλεσμα να απεικονίζεται άριστα το στενωμένο, σαν το στέλεχος του καρφιού, υποπυρηνικό κυτταρόπλασμά τους (Εικόνες 13, 14). Αρκετά συχνά, τα μη-βλεννοπαραγωγά εκκριτικά κύτταρα παρουσιάζουν δύο πυρήνες και σπανιότερα περισσότερους από δύο πυρήνες (Εικόνες 13, 27, 28). Οι πυρήνες των μη-βλεννοπαραγωγών εκκριτικών κυττάρων παρέμειναν αρνητικοί για τον Επίτοπο Η. Διαδοχικές χρώσεις που βάφηκαν για την κερατίνη 8, έδειξαν ότι τα μη-βλεννοπαραγωγά εκκριτικά κύτταρα παρουσιάζουν έντονη διάχυτη κυτταροπλασματική χρώση για την κερατίνη 8 (Εικόνες 30, 15).



**Σχήμα 2.** Σχηματική απεικόνιση της έκφρασης του Επίτοπου Η στα μη-βλεννοπαραγωγά εκκριτικά κύτταρα του τραχήλου της μήτρας (%).

## ΕΚΦΡΑΣΗ ΤΟΥ ΕΠΙΤΟΠΟΥ Η ΣΤΑ ΚΡΟΣΣΩΤΑ ΚΥΤΤΑΡΑ ΤΟΥ ΤΡΑΧΗΛΟΥ ΤΗΣ ΜΗΤΡΑΣ

Κροσσωτά κύτταρα στον τράχηλο της μήτρας απαντήθηκαν στις περιοχές της ορώδους σαλπγγικής μεταπλασίας του ενδοτραχηλικού βλεννογόνου, καθώς και λίγα διάσπαρτα κροσσωτά κύτταρα στον φυσιολογικό ενδοτραχηλικό βλεννογόνο. Πρακτικά, όλα τα κροσσωτά κύτταρα, σε όλες τις περιπτώσεις, έδειξαν θετική κυτταροπλασματική χρώση για τον Επίτοπο Η (Εικόνες 5, 6, 37) και επιπλέον ένας σημαντικός αριθμός κροσσωτών κυττάρων, επιπρόσθετα της κυτταροπλασματικής χρώσης, έδειξε και πυρηνική χρώση για τον Επίτοπο Η (Εικόνα 6). Τα ευρήματα αυτά δείχνουν ότι η έκφραση του Επίτοπου Η στα κροσσωτά κύτταρα του τραχήλου της μήτρας είναι υψηλή στο 100% των περιπτώσεων (Σχήμα 3). Όσον αφορά στα πρότυπα της χρώσης αυτά συνίστανται:

α) στα περισσότερα κύτταρα παρουσιάστηκε διάχυτη έντονη κυτταροπλασματική χρώση (Εικόνα 6) και

β) σε ένα μικρότερο ποσοστό κυττάρων, το υπερπυρηνικό κυτταρόπλασμα, κάτω από την αυλική επιφάνεια του κυττάρου, παρουσίασε εντονότερη χρώση σε σχέση με το υποπυρηνικό κυτταρόπλασμα, που ήταν λιγότερο έντονα βαμμένο και σε μερικά κύτταρα παρέμεινε και άβαφο (Εικόνα 5), ή οι πλάγιες περιοχές του κυτταροπλάσματος ήταν εντονότερα βαμμένες (Εικόνα 37). Η πυρηνική χρώση ήταν διάχυτη και γενικώς λιγότερο έντονη σε σχέση με την κυτταροπλασματική χρώση (Εικόνα 6).

Διαδοχικές τομές που βάφτηκαν για την κερατίνη 8 έδειξαν τα κροσσωτά κύτταρα να παρουσιάζουν έντονη κυτταροπλασματική χρώση για την κερατίνη 8, της οποίας η κατανομή ήταν ανισότιμη σε μεγάλο αριθμό κροσσωτών κυττάρων (Εικόνα 38).



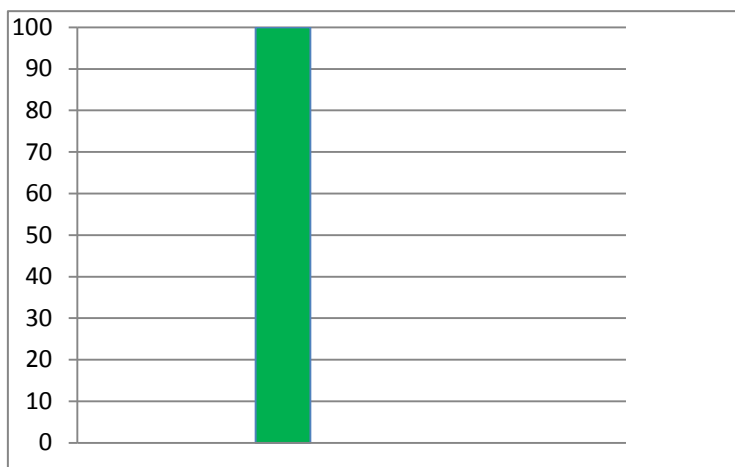
**Σχήμα 3.** Σχηματική απεικόνιση της έκφρασης του Επίτοπου Η στα κροσσωτά κύτταρα του τραχήλου της μήτρας (%).

## ΕΚΦΡΑΣΗ ΤΟΥ ΕΠΙΤΟΠΟΥ Η ΣΤΑ ΕΦΕΔΡΙΚΑ ΚΥΤΤΑΡΑ ΤΟΥ ΤΡΑΧΗΛΟΥ ΤΗΣ ΜΗΤΡΑΣ

Εφεδρικά κύτταρα παρουσιάστηκαν σε όλες τις περιπτώσεις των δειγμάτων του ενδοτραχηλικού βλεννογόνου, είτε ως φυσιολογικά εφεδρικά κύτταρα που ήταν λίγα διάσπαρτα και περιοχικά κατανεμημένα, είτε ως υπερπλαστικά, τα οποία σχημάτιζαν συνεχόμενες μονόστοιβες ή δίστοιβες σειρές, κάτω από το βλεννοπαραγωγό επιθήλιο. Πρακτικά όλα τα εφεδρικά κύτταρα φυσιολογικά (Εικόνες 1,2) ή υπερπλαστικά (Εικόνες 3, 4, 7, 8, 9, 10), παρουσίασαν σε όλες τις περιπτώσεις έντονη διάχυτη κυτταροπλασματική χρώση για τον Επίτοπο Η. Ένας σημαντικός υποπληθυσμός των εφεδρικών κυττάρων, επιπρόσθετα της κυτταροπλασματικής χρώσης, παρουσίασε και διάχυτη πυρηνική χρώση (Εικόνα 3, 4,10). Η πυρηνική χρώση γενικώς, ήταν ασθενέστερη σε σύγκριση με την κυτταροπλασματική χρώση (Εικ. 3,4,10). Τα παραπάνω ευρήματα δείχνουν ότι η έκφραση του Επίτοπου Η στα φυσιολογικά εφεδρικά κύτταρα, στο 100% των περιπτώσεων, είναι υψηλή (Σχήμα 4). Το ίδιο ισχύει για τα υπερπλαστικά εφεδρικά κύτταρα (Σχήμα 5). Διαδοχικές τομές που βάφθηκαν για την κερατίνη 8 έδειξαν ότι υπάρχει παντελής απουσία κερατίνης, σε όλα τα εφεδρικά κύτταρα, σε όλες τις περιπτώσεις (Εικόνες 11, 12, 13)



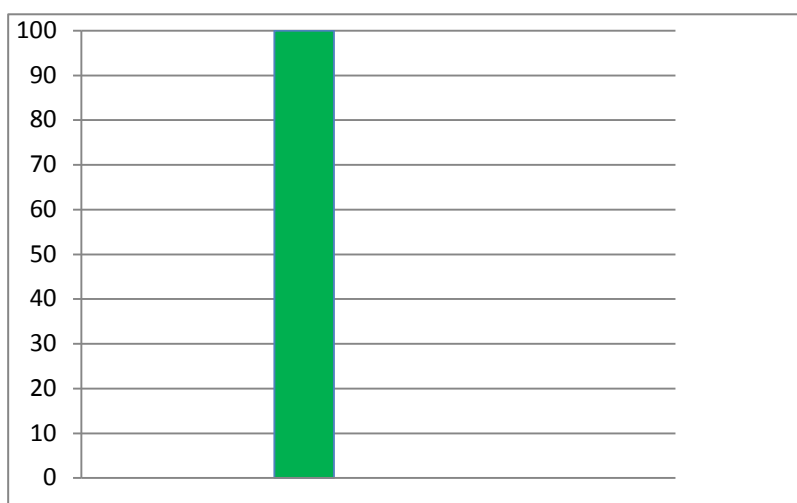
**Σχήμα 4.** Σχηματική απεικόνιση της έκφρασης του Επίτοπου Η στα φυσιολογικά εφεδρικά κύτταρα του τραχήλου της μήτρας (%).



**Σχήμα 5.** Σχηματική απεικόνιση της έκφρασης του Επίτοπου Η στα υπερπλαστικά εφεδρικά κύτταρα του τραχήλου της μήτρας (%).

## ΕΚΦΡΑΣΗ ΤΟΥ ΕΠΙΤΟΠΟΥ Η ΣΤΑ ΚΥΤΤΑΡΑ ΤΗΣ ΑΩΡΗΣ ΠΛΑΚΩΔΟΥΣ ΜΕΤΑΠΛΑΣΙΑΣ ΤΟΥ ΤΡΑΧΗΛΟΥ ΤΗΣ ΜΗΤΡΑΣ

Τα κύτταρα της άωρης πλακώδους μεταπλασίας του ενδοτραχηλικού βλεννογόνου, που χαρακτηρίζονται από την πλακώδη μορφολογία τους και την απουσία γλυκογόνου σε αυτά, σε όλες τις περιπτώσεις που ήταν παρόντα, παρουσίασαν έντονη διάχυτη κυτταροπλασματική χρώση για τον Επίτοπο Η. Σε μία πάρα πολύ μικρή ποσοστιαία αναλογία, τα άωρα πλακώδη κύτταρα παρουσίαζαν επιπρόσθετα και διάχυτη πυρηνική χρώση, η οποία σε γενικές γραμμές ήταν ασθενέστερη από την κυτταροπλασματική χρώση (Εικόνες 16, 17, 18, 26). Τα παραπάνω ευρήματα δείχνουν ότι η έκφραση του Επίτοπου Η στα πλακώδη κύτταρα της άωρης πλακώδους μεταπλασίας του ενδοτραχηλικού επιθηλίου, είναι υψηλή στο 100% των περιπτώσεων (Σχήμα 6). Διαδοχικές τομές που βάφθηκαν για την κερατίνη 8, έδειξαν ότι υπάρχει παντελής απουσία της κερατίνης 8 στα πλακώδη κύτταρα της άωρης πλακώδους μεταπλασίας του ενδοτραχηλικού βλεννογόνου (Εικόνα 23).



**Σχήμα 6.** Σχηματική απεικόνιση της έκφρασης του Επίτοπου Η στα πλακώδη κύτταρα της άωρης πλακώδους μεταπλασίας του τραχήλου της μήτρας (%).



## ΕΚΦΡΑΣΗ ΤΟΥ ΕΠΙΤΟΠΟΥ Η ΣΤΑ ΚΥΤΤΑΡΑ ΤΟΥ ΩΡΙΜΟΥ ΠΛΑΚΩΔΟΥΣ ΕΠΙΘΗΛΙΟΥ ΤΟΥ ΤΡΑΧΗΛΟΥ ΤΗΣ ΜΗΤΡΑΣ

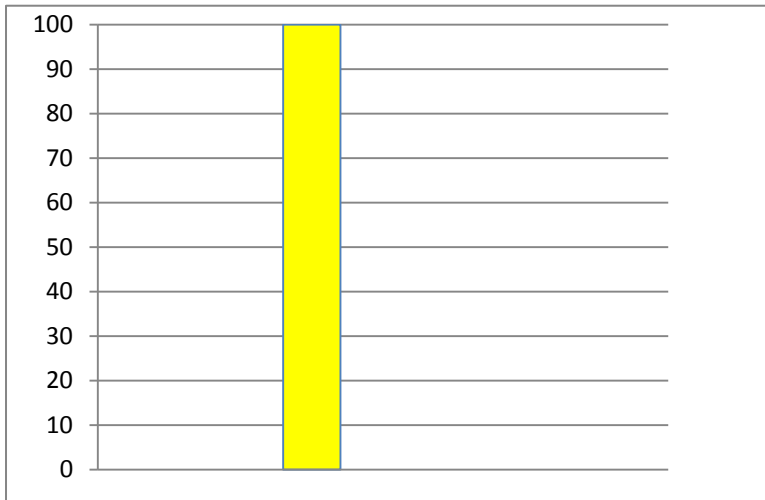
Το ώριμο πλακώδες επιθήλιο, είτε του εξωτραχήλου, είτε του ενδοτραχήλου, που προέρχεται, το τελευταίο, από την πλήρη ωρίμανση του επιθηλίου της άωρης πλακώδους μεταπλασίας, οργανώνεται σε στοιβάδες που είναι η βασική, η παραβασική, η ενδιάμεση και η επιφανειακή ή επιπολής στοιβάδα. Τα κύτταρα της ενδιάμεσης και της επιφανειακής στοιβάδας του ώριμου πλακώδους επιθηλίου περιέχουν σχετικά μεγάλη ποσότητα γλυκογόνου, το οποίο παραμένει άβαφο στην χρώση ρουτίνας ηωσίνης-αιματοξυλίνης, εύρημα που ξεχωρίζει το ώριμο πλακώδες επιθήλιο από το άωρο πλακώδες επιθήλιο, τα κύτταρα του οποίου στερούνται γλυκογόνου.

Η έκφραση του Επιτόπου Η στα κύτταρα του ώριμου πλακώδους επιθηλίου έχει ως ακολούθως:

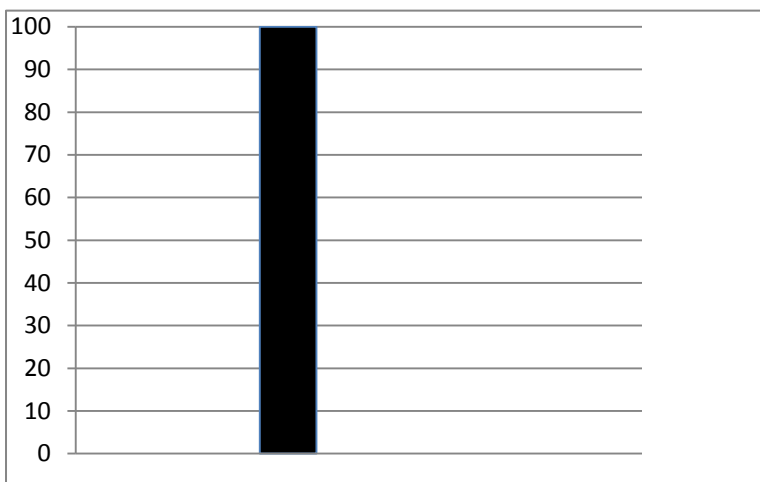
1. Η συντριπτική πλειοψηφία των κυττάρων της βασικής στοιβάδας του ώριμου πλακώδους επιθηλίου, σε όλες τις περιπτώσεις παρέμεινε αρνητική για τον Επίτοπο Η (Εικόνες 19, 20), ενώ ένα ποσοστό κυττάρων παρουσίασε θετική κυτταροπλασματική χρώση (Εικόνες 21, 25). Το ποσοστό των κυττάρων της βασικής στοιβάδας που ήταν θετικό για τον Επίτοπο Η, δεν ξεπέρασε το 5% του συνολικού αριθμού των κυττάρων της βασικής στοιβάδας σε όλες τις περιπτώσεις, με αποτέλεσμα η έκφραση του Επιτόπου Η στα κύτταρα της βασικής στοιβάδας του ώριμου πλακώδους επιθηλίου να είναι πολύ χαμηλή στο 100% των περιπτώσεων (Σχήμα 7). Τα κύτταρα της βασικής στοιβάδας του ώριμου πλακώδους επιθηλίου που ήταν θετικά για τον Επίτοπο Η, έδειξαν τα ακόλουθα πρότυπα κυτταροπλασματικής χρώσης: α) μερικά κύτταρα έδειξαν χρώση μόνο της βασικής μοίρας του κυτταροπλάσματος, στην περιοχή των ημιδεσμοσωμάτων (Εικ. 21) και β) άλλα κύτταρα έδειξαν μία διάχυτη ολική κυτταροπλασματική χρώση (Εικόνες 21, 25). Διαδοχικές τομές που βάφηκαν για την κερατίνη 8, έδειξαν παντελή απουσία της κερατίνης 8, σε όλες τις περιπτώσεις στα κύτταρα της βασικής στοιβάδας του ώριμου πλακώδους επιθηλίου (Εικόνα 22).

2. Τα κύτταρα της παραβασικής στοιβάδας του ώριμου πλακώδους επιθηλίου παρέμειναν αρνητικά για τον Επίτοπο Η, σε όλες τις περιπτώσεις (Εικόνες 19, 20, 21, 25), με αποτέλεσμα η έκφραση του Επιτόπου Η να είναι αρνητική στο 100% των περιπτώσεων για τα κύτταρα της παραβασικής στοιβάδας (Σχήμα 8). Διαδοχικές τομές που βάφηκαν για την κερατίνη 8 έδειξαν ότι υπάρχει παντελής απουσία της κερατίνης 8 στα κύτταρα της παραβασικής στοιβάδας σε όλες τις περιπτώσεις (Εικόνα 22).

3. Πρακτικά όλα τα κύτταρα της ενδιάμεσης και της επιφανειακής στοιβάδας του ώριμου πλακώδους επιθηλίου του τραχήλου της μήτρας, παρουσίασαν θετική κυτταροπλασματική χρώση για τον Επίτοπο Η, με τις περιοχές του γλυκογόνου να παραμένουν αρνητικές (Εικόνες 1, 2, 19, 20, 21, 25). Τα αποτελέσματα αυτά δείχνουν ότι η έκφραση του Επιτόπου Η στα πλακώδη κύτταρα της ενδιάμεσης και της επιφανειακής στοιβάδας του ώριμου πλακώδους επιθηλίου είναι υψηλή στο 100% των περιπτώσεων (Σχήμα 9). Διαδοχικές τομές που βάφηκαν για την κερατίνη 8 έδειξαν ότι υπάρχει παντελής απουσία της κερατίνης 8 στα κύτταρα της ενδιάμεσης και της επιφανειακής στοιβάδας του ώριμου πλακώδους επιθηλίου του τραχήλου της μήτρας (Εικόνα 22).



**Σχήμα 7.** Σχηματική απεικόνιση της έκφρασης του Επίτοπου Η στα κύτταρα της βασικής στοιβάδας του ώριμου πλακώδους επιθηλίου του τραχήλου της μήτρας (%).



**Σχήμα 8.** Σχηματική απεικόνιση της έκφρασης του Επίτοπου Η στα κύτταρα της παραβασικής στοιβάδας του ώριμου πλακώδους επιθηλίου του τραχήλου της μήτρας (%).



**Σχήμα 9.** Σχηματική απεικόνιση της έκφρασης του Επίτοπου Η στα κύτταρα της ενδιάμεσης και επιφανειακής στοιβάδας του ώριμου πλακώδους επιθηλίου του τραχήλου της μήτρας (%).

## ΕΚΦΡΑΣΗ ΤΟΥ ΕΠΙΤΟΠΟΥ Η ΣΤΑ ΣΤΡΩΜΑΤΙΚΑ ΚΥΤΤΑΡΑ ΤΟΥ ΤΡΑΧΗΛΟΥ ΤΗΣ ΜΗΤΡΑΣ

Τα στρωματικά κύτταρα του τραχήλου της μήτρας κατατάσσονται στους ινοβλάστες, στα ινοκύτταρα και στους μυοϊνοβλάστες. Τα λεία μυϊκά κύτταρα παραλείφθηκαν από αυτή την εργασία, γιατί έχει υπάρξει προηγούμενα διδακτορική διατριβή και διεθνής επιστημονική εργασία, που αναφέρει τα ευρήματα του Επίτοπου Η στα λεία μυϊκά κύτταρα του μυομητρίου και των λειομυωμάτων.

Τα ινοκύτταρα του ενδοτραχηλικού βλεννογόνου παρέμειναν αρνητικά για τον Επίτοπο Η, σε όλες τις περιπτώσεις (Εικόνες 5, 7, 8, 9, 10, 17, 18, 12), με αποτέλεσμα η έκφραση του Επίτοπου Η στα ινοκύτταρα, που μπορεί να αναφερθούν και ως ανενεργοί ινοβλάστες, να είναι αρνητική στο 100% των περιπτώσεων (Σχήμα 10).

Τα στρωματικά κύτταρα όλων των ενδοτραχηλικών πολυπόδων, που μπορεί να είναι ινοβλάστες ή μυοϊνοβλάστες, παρουσίασαν έντονη διάχυτη κυτταροπλασματική χρώση για τον Επίτοπο Η (Εικόνες 27, 28, 29, 31, 32, 34). Τα αποτελέσματα αυτά δείχνουν ότι η έκφραση του Επίτοπου Η στα στρωματικά κύτταρα (ινοβλάστες-μυοϊνοβλάστες), όλων των ενδοτραχηλικών πολυπόδων, δηλαδή στο 100% των περιπτώσεων, είναι υψηλή για τον Επίτοπο Η (Σχήμα 11).

Διαδοχικές τομές για την χρώση της κερατίνης 8, έδειξαν ότι υπάρχει παντελής απουσία της κερατίνης 8, σε όλα τα στρωματικά κύτταρα (ινοκύτταρα, ινοβλάστες και μυοϊνοβλάστες) του τραχήλου της μήτρας (Εικόνα 30).



**Σχήμα 10.** Σχηματική απεικόνιση της έκφρασης του Επίτοπου Η στους ανενεργούς ινοβλάστες (ινοκύτταρα) του τραχήλου της μήτρας (%).





**Σχήμα 11.** Σχηματική απεικόνιση της έκφρασης του Επίτοπου Η στους ινοβλάστες των ενδοτραχηλικών πολυτόπων του τραχήλου της μήτρας (%).

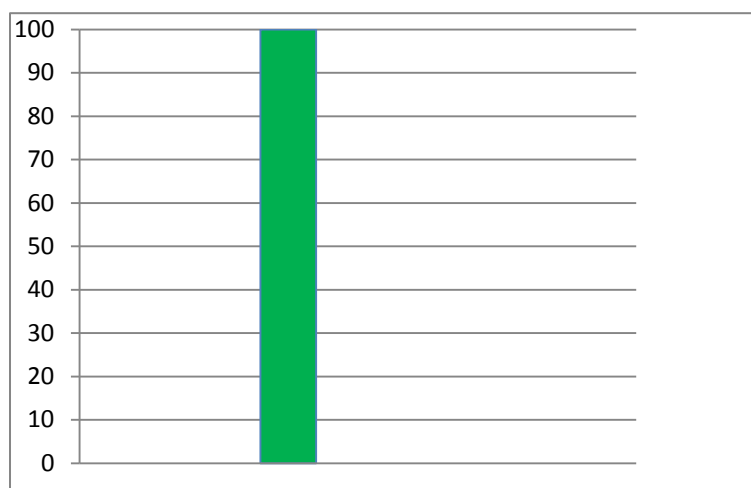




## ΕΚΦΡΑΣΗ ΤΟΥ ΕΠΙΤΟΠΟΥ Η ΣΤΑ ΕΝΔΟΘΗΛΙΑΚΑ ΚΥΤΤΑΡΑ ΤΟΥ ΤΡΑΧΗΛΟΥ ΤΗΣ ΜΗΤΡΑΣ

Τα ενδοθηλιακά κύτταρα του βλεννογόνου του τραχήλου της μήτρας και των ενδοτραχηλικών πολυπόδων, σε όλες τις περιπτώσεις, έδειξαν έντονη διάχυτη κυτταροπλασματική χρώση για τον Επίτοπο Η (Εικόνες 7, 8, 26, 27, 28, 29, 31).

Τα αποτελέσματα αυτά δείχνουν, ότι η έκφραση του Επίτοπου Η στα ενδοθηλιακά κύτταρα, στο 100% των περιπτώσεων, είναι υψηλή για τον Επίτοπο Η (Σχήμα 12). Διαδοχικές τομές που βάφθηκαν για την κερατίνη 8, έδειξαν παντελή απουσία της κερατίνης 8 στα ενδοθηλιακά κύτταρα, τόσο του βλεννογόνου όσο και των ενδοτραχηλικών πολυπόδων (Εικόνες 11, 30).



**Σχήμα 12.** Σχηματική απεικόνιση της έκφρασης του Επίτοπου Η στα ενδοθηλιακά κύτταρα του τραχήλου της μήτρας (%).



**ΠΙΝΑΚΑΣ**

**ΕΥΡΗΜΑΤΑ ΑΝΟΣΟΪΣΤΟΧΗΜΙΚΗΣ ΧΡΩΣΗΣ ΕΠΙΤΟΠΟΥ Η**

**ΣΤΑ ΚΥΤΤΑΡΑ ΤΟΥ ΤΡΑΧΗΛΟΥ ΤΗΣ ΜΗΤΡΑΣ**

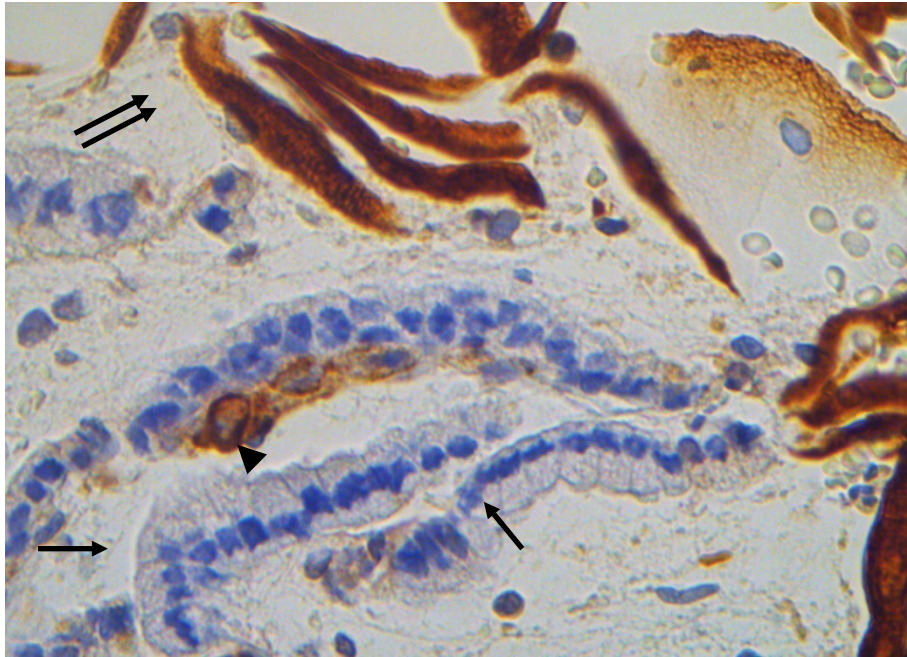
ΤΥΠΟΣ ΚΥΤΤΑΡΟΥ	ΕΚΦΡΑΣΗ	ΚΑΤΑΝΟΜΗ	ΠΟΣΟΣΤΙΑΙΑ ΑΝΑΛΟΓΙΑ
ΒΛΕΝΝΟΕΚΚΡΙΤΙΚΑ ΒΛΕΝΝΟΓΟΝΟΥ	±	K±	100%
ΒΛΕΝΝΟΕΚΚΡΙΤΙΚΑ ΠΟΛΥΠΟΔΩΝ	+	K+	100%
ΜΗ -ΒΛΕΝΝΟΕΚΚΡΙΤΙΚΑ ΕΚΚΡΙΤΙΚΑ	+++	K+++	100%
ΚΡΟΣΣΩΤΑ	+++	K+++, Π+	100%
ΕΦΕΔΡΙΚΑ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΑ	+++	K+++, Π+	100%
ΕΦΕΔΡΙΚΑ ΥΠΕΡΠΛΑΣΤΙΚΑ	+++	K+++, Π+	100%
ΑΩΡΑ ΠΛΑΚΩΔΗ	+++	K+++, Π±	100%
<b>ΚΥΤΤΑΡΑ ΩΡΙΜΟΥ ΕΠΙΘΗΛΙΟΥ</b>			
ΒΑΣΙΚΗΣ ΣΤΟΙΒΑΔΑΣ	±	K±	100%
ΠΑΡΑΒΑΣΙΚΗΣ ΣΤΟΙΒΑΔΑΣ	-		100%
ΕΝΔΙΑΜΕΣΗΣ ΣΤΟΙΒΑΔΑΣ	+++	K+++	100%
ΕΠΙΦΑΝΕΙΑΚΗΣ ΣΤΟΙΒΑΔΑΣ	+++	K+++	100%
<b>ΕΝΔΟΘΗΛΙΑΚΑ</b>	+++	K+++	100%
ΙΝΟΚΥΤΤΑΡΑ/ΙΝΟΒΛΑΣΤΕΣ ΒΛΕΝΝΟΓΟΝΟΥ	-		100%
ΙΝΟΒΛΑΣΤΕΣ ΠΟΛΥΠΟΔΩΝ	+++	K+++	100%

ΕΚΦΡΑΣΗ: αρνητική (-), πολύ χαμηλή (±), χαμηλή (+), μέτρια (++) ,υψηλή (+++)

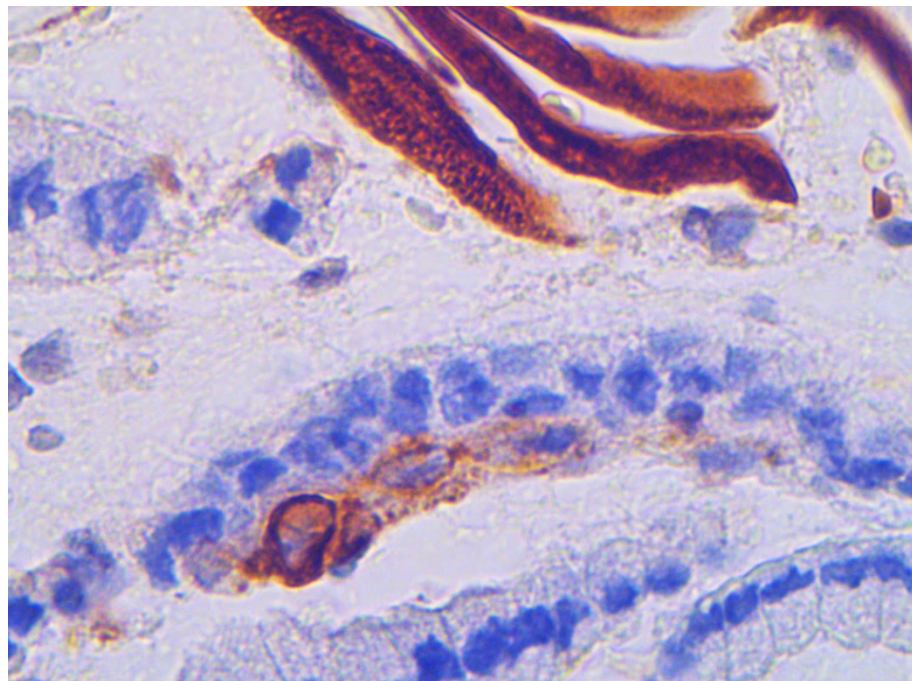
ΚΑΤΑΝΟΜΗ: Κυτταροπλασματική (Κ), Πυρηνική (Π)

# **ΕΙΚΟΝΕΣ**

**( ΕΙΔΙΚΟΥ ΜΕΡΟΥΣ )**



**Εικόνα 1.** Ανοσοχρώση επιτόπου Η. Βλεννοπαραγωγά κύτταρα αρνητικά (βέλη), φυσιολογικά εφεδρικά κύτταρα θετικά με κυτταροπλασματική χρώση (κεφαλή βέλους), αποφολιδωμένα επιφανειακά πλακώδη κύτταρα με έντονη κυτταροπλασματική χρώση (διπλά βέλη). Μεγέθυνση: x400

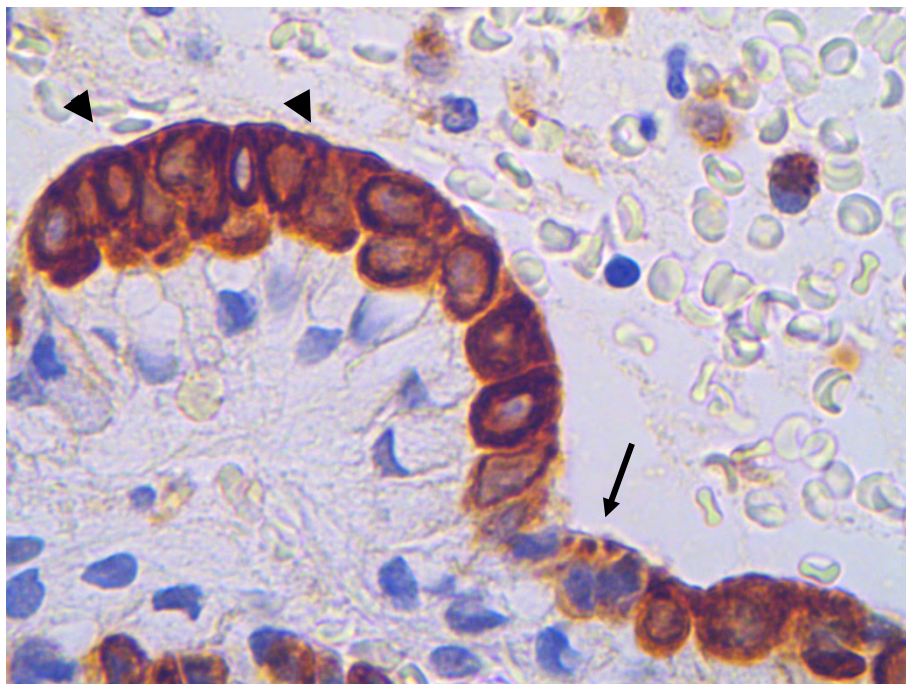


**Εικόνα 2.** Ανοσοχρώση επιτόπου Η. Μεγαλύτερη μεγέθυνση Εικόνας 1. Μεγέθυνση: x630

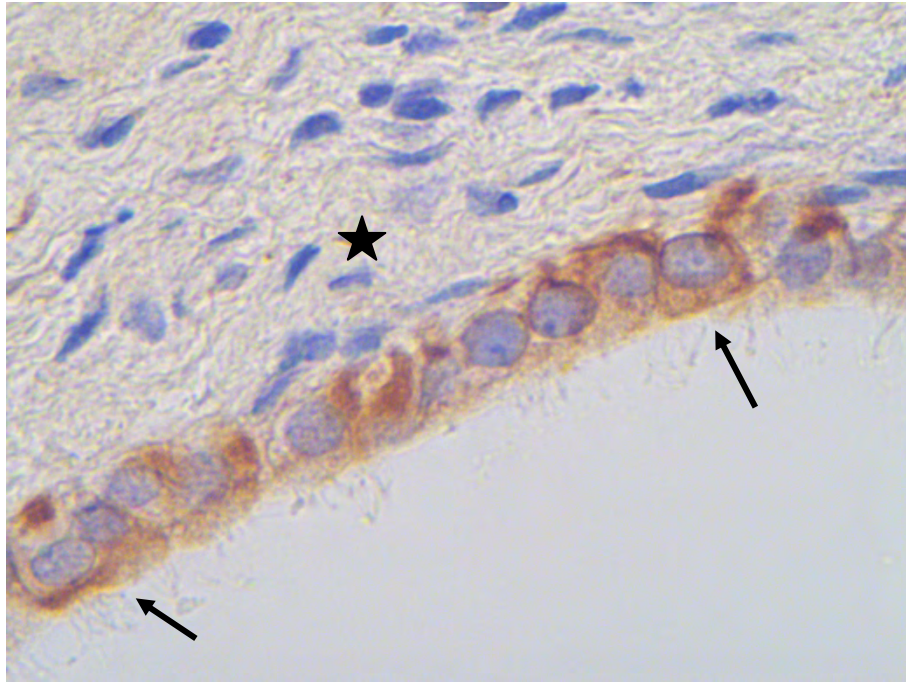




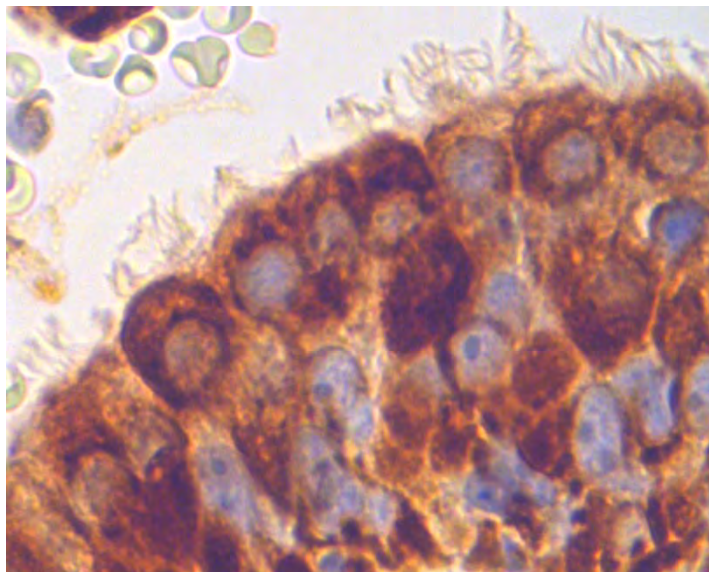
**Εικόνα 3.** Ανοσοχρώση επιτόπου Η. Βλεννοπαραγωγά κύτταρα αρνητικά (βέλος). Υπερπλαστικά εφεδρικά κύτταρα με έντονη κυτταροπλασματική χρώση και λιγότερο έντονη πυρηνική χρώση (κεφαλή βέλους). Μεγέθυνση: x200



**Εικόνα 4.** Ανοσοχρώση επιτόπου Η. Μεγαλύτερη μεγέθυνση της εικόνας 3. Διακρίνεται η κυτταροπλασματική και η πυρηνική χρώση των περισσότερων υπερπλαστικών εφεδρικών κυττάρων (κεφαλές βελών) με λίγα εφεδρικά κύτταρα με αρνητική πυρηνική χρώση (βέλος). Μεγέθυνση: x630

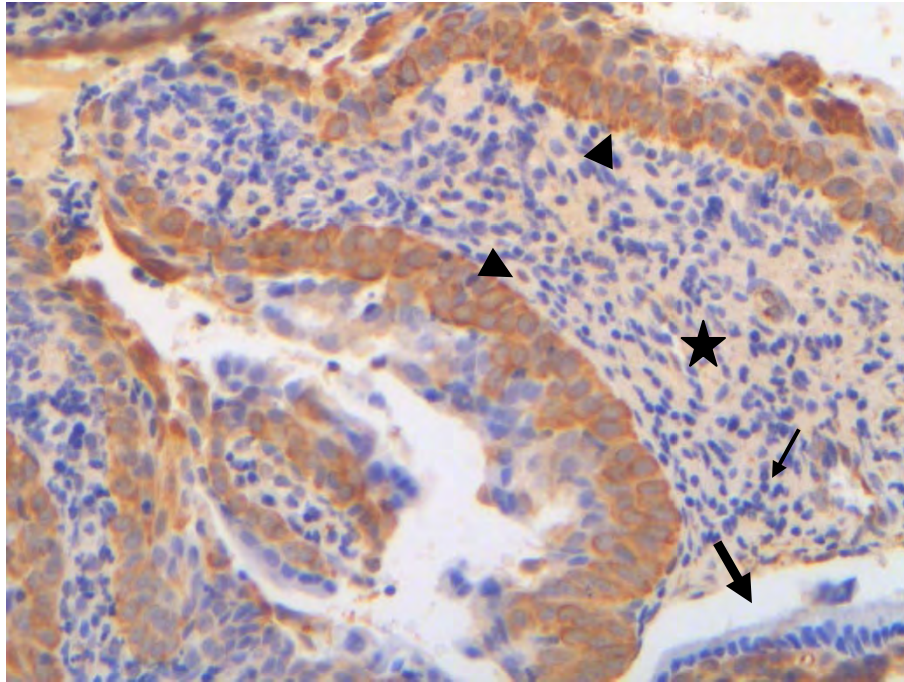


**Εικόνα 5.** Ανοσοχρώση επιτόπου *H. Ορώδης* σαλπγγική μεταπλασία με κροσσωτά κύτταρα να παρουσιάζουν κυτταροπλασματική χρώση. Ανενεργοί ινοβλάστες (ινοκύτταρα) αρνητικοί (αστερίσκος). Μεγέθυνση: x630.

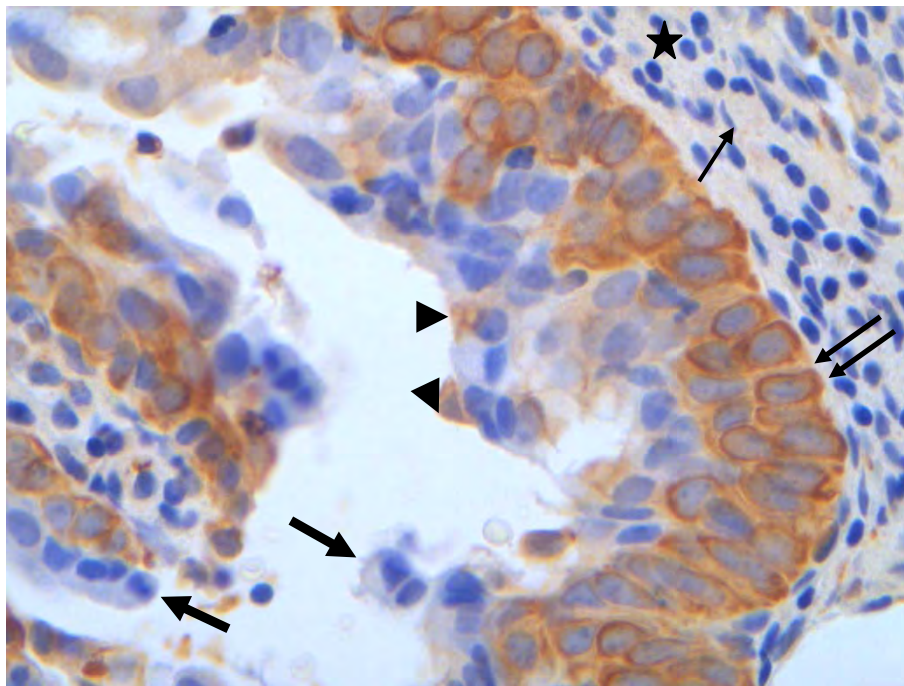


**Εικόνα 6.** Ανοσοχρώση επιτόπου *H. Ορώδης* σαλπγγική μεταπλασία με κροσσωτά κύτταρα να παρουσιάζουν μόνο κυτταροπλασματική χρώση (μπλε πυρήνες) και μερικά επιπλέον και πυρηνική χρώση (καφέ πυρήνες). Μεγέθυνση: x630.



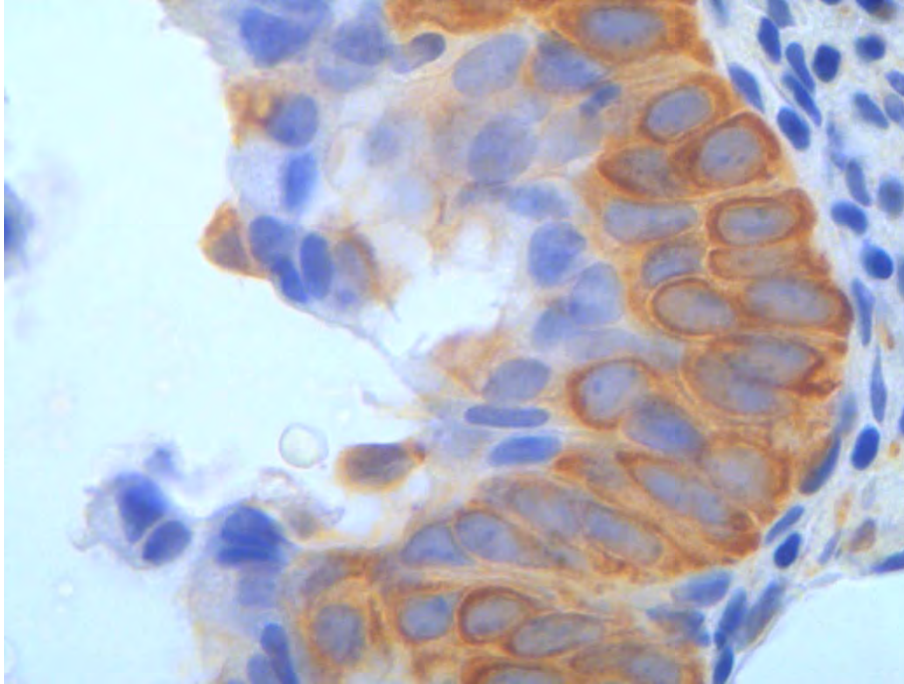


**Εικόνα 7.** Ανοσοχρώση επιτόπου Η. Τα περισσότερα βλεννοπαραγωγά κύτταρα είναι αρνητικά (μεγάλο βέλος), ενώ λίγα παρουσιάζουν κυτταροπλασματική χρώση. Υπερπλαστικά εφεδρικά κύτταρα θετικά (κεφαλές βέλους). Ινοβλάστες αρνητικοί (αστερίσκος), ενδοθηλιακά με θετική κυτταροπλασματική χρώση (μικρό βέλος). Μεγέθυνση: x200.

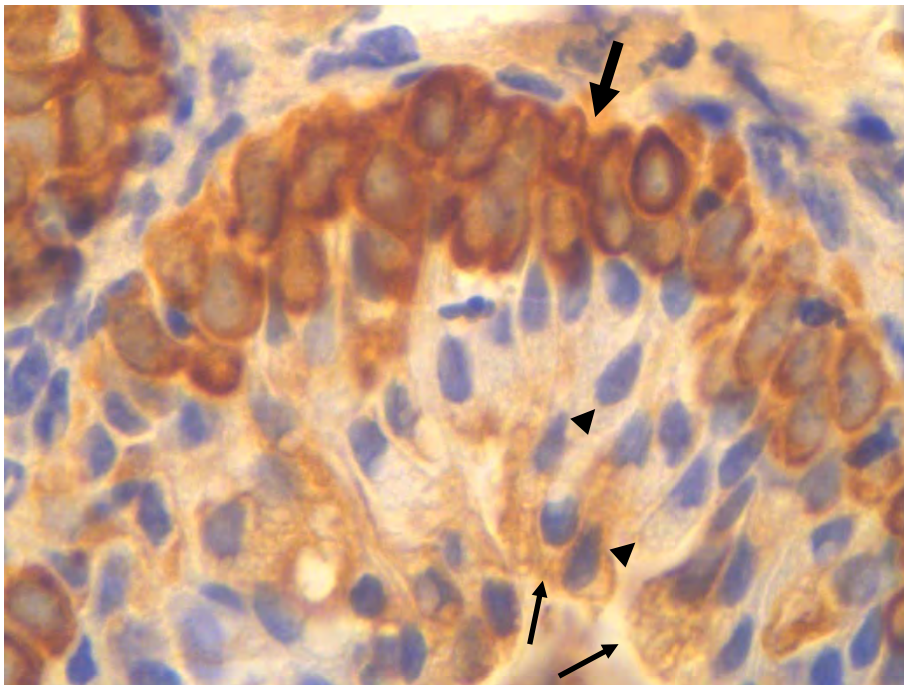


**Εικόνα 8.** Ανοσοχρώση επιτόπου Η. Τα περισσότερα βλεννοπαραγωγά κύτταρα είναι αρνητικά (μεγάλα βέλη), ενώ λίγα παρουσιάζουν κυτταροπλασματική

χρώση (κεφαλές βελών). Υπερπλαστικά εφεδρικά κύτταρα θετικά (διπλό βέλος). Ινοβλάστες αρνητικοί (αστερίσκος), ενδοθηλιακά με θετική κυτταροπλασματική χρώση (μικρό βέλος). Μεγέθυνση: x400.

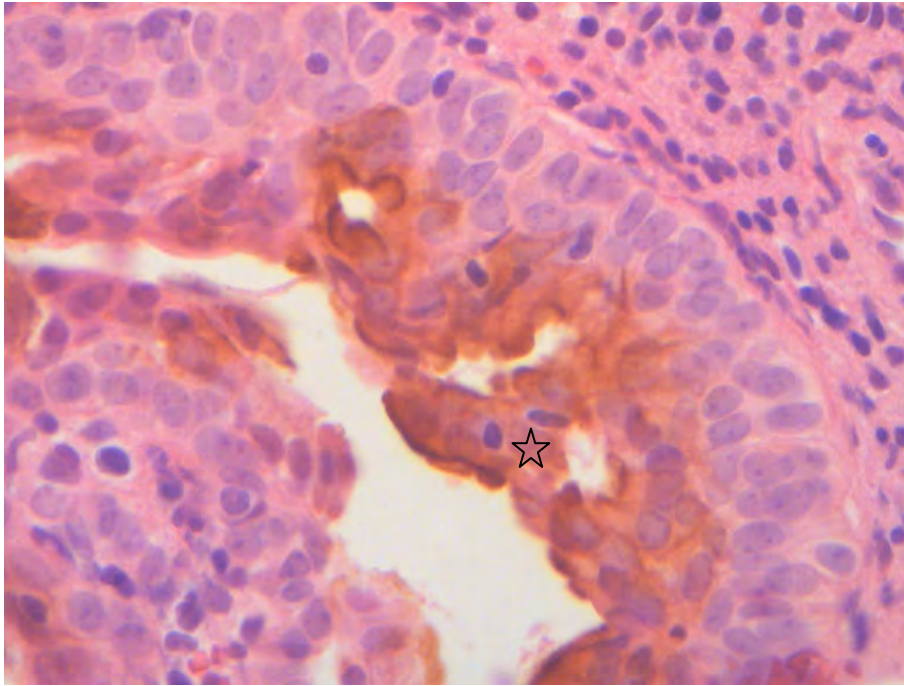


**Εικόνα 9.** Ανοσοχρώση επιτόπου Η. Μεγαλύτερη μεγέθυνση της Εικόνας 8. Μεγέθυνση: x630.

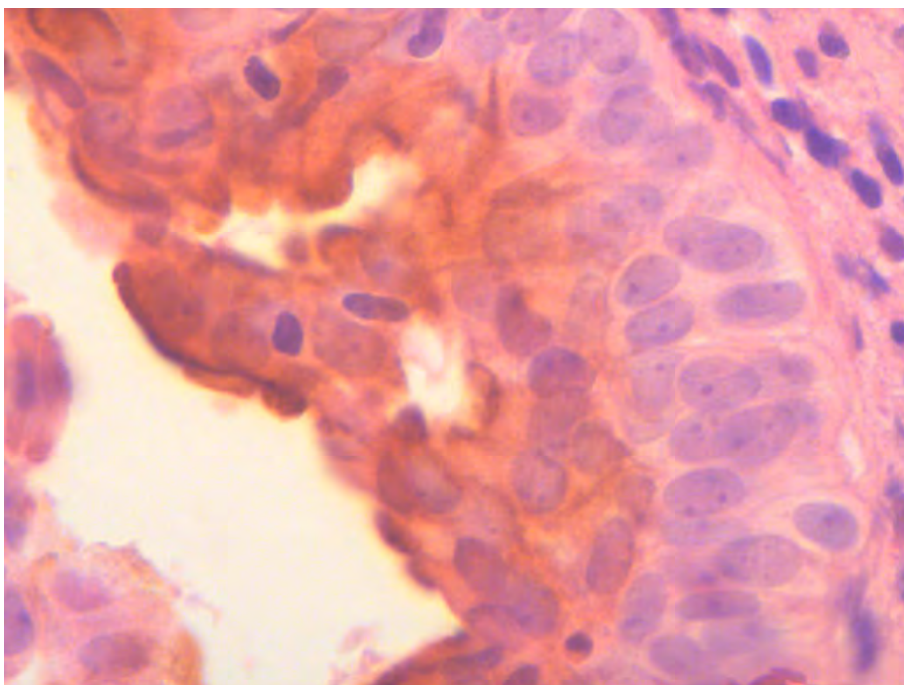


**Εικόνα 10.** Ανοσοχρώση επιτόπου Η. Υπερπλαστικά εφεδρικά κύτταρα θετικά (μεγάλο βέλος). Βλεννοπαραγωγά κύτταρα αρνητικά (κεφαλές βελών) και βλεννοπαραγωγά κύτταρα με θετική δικτυωτή κυτταροπλασματική χρώση (μικρά βέλη). Μεγέθυνση: x630.

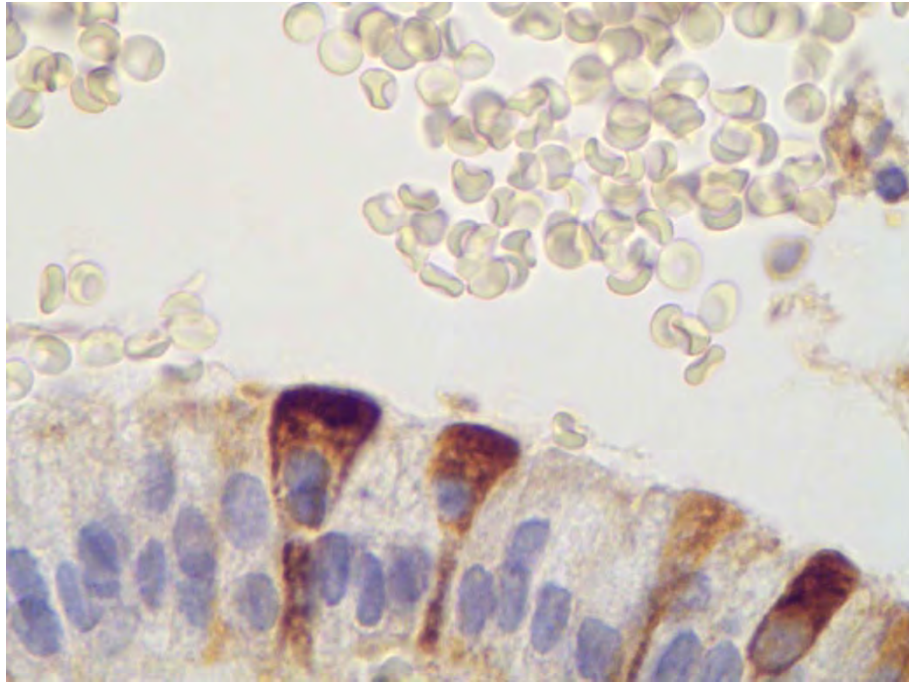




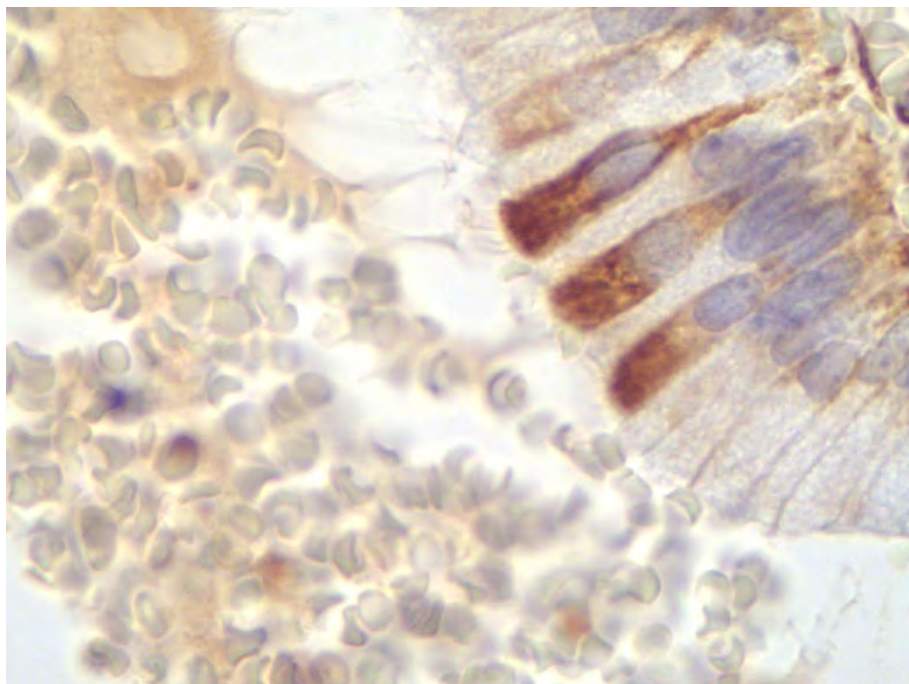
**Εικόνα 11.** Ανοσοχρώση για κερατίνη 8. Διαδοχική τομή της εικόνας 8. Μόνο τα βλεννοπαραγωγά κύτταρα παρουσιάζουν θετική καφέ κυτταροπλασματική χρώση (ανοιχτός αστερίσκος). Συμπληρωματική χρώση: Ηωσίνη/Αιματοξυλίνη. Μεγέθυνση: x400



**Εικόνα 12.** Ανοσοχρώση για κερατίνη 8. Μεγαλύτερη μεγέθυνση εικόνας 11. Συμπληρωματική χρώση: Ηωσίνη/Αιματοξυλίνη. Μεγέθυνση: x630

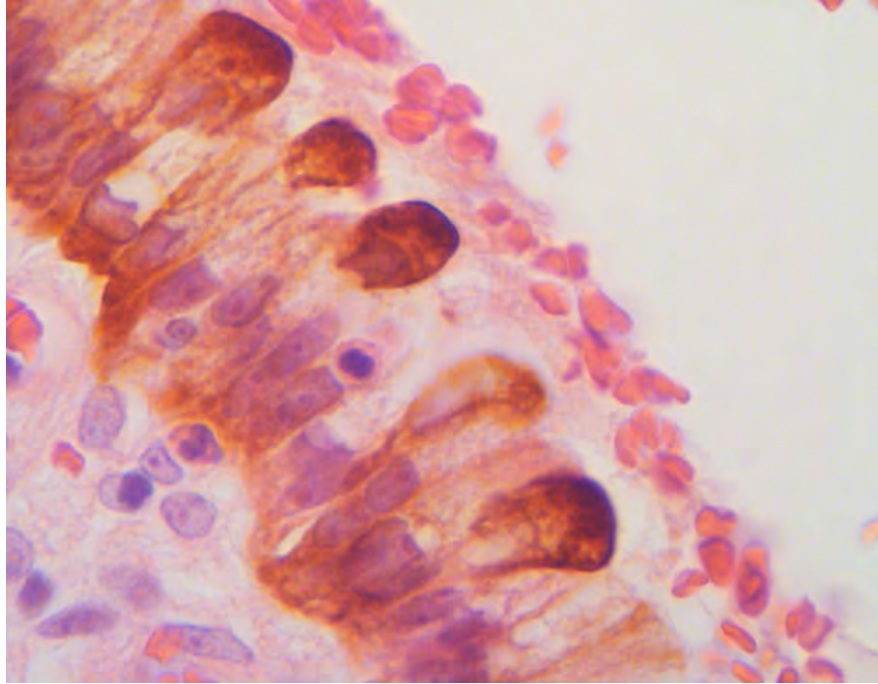


**Εικόνα 13.** Ανοσοχρώση επιτόπου Η. Βλεννοπαραγωγά κύτταρα αρνητικά. Μη βλεννοπαραγωγά εκκριτικά κύτταρα θετικά. Μεγέθυνση: X630.

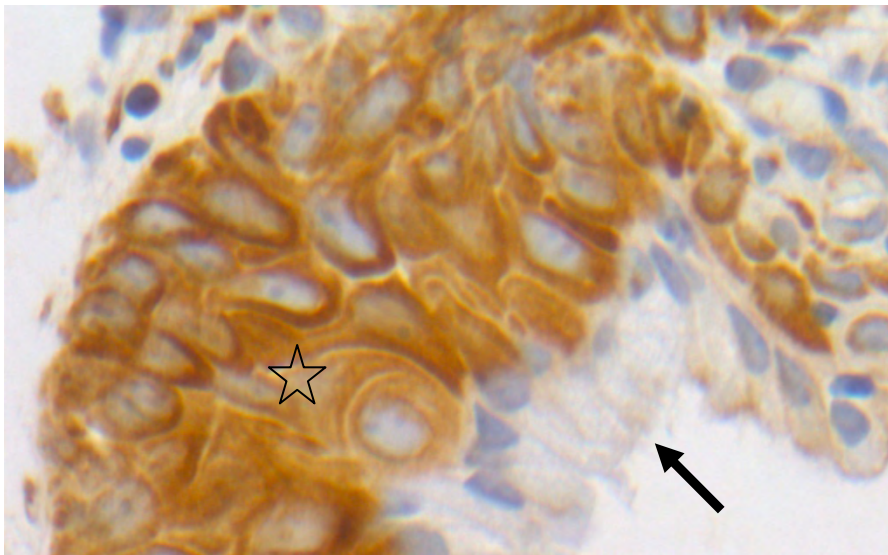


**Εικόνα 14.** Ανοσοχρώση επιτόπου Η. Βλεννοπαραγωγά κύτταρα αρνητικά. Μη βλεννοπαραγωγά εκκριτικά κύτταρα θετικά. Μεγέθυνση: X630.

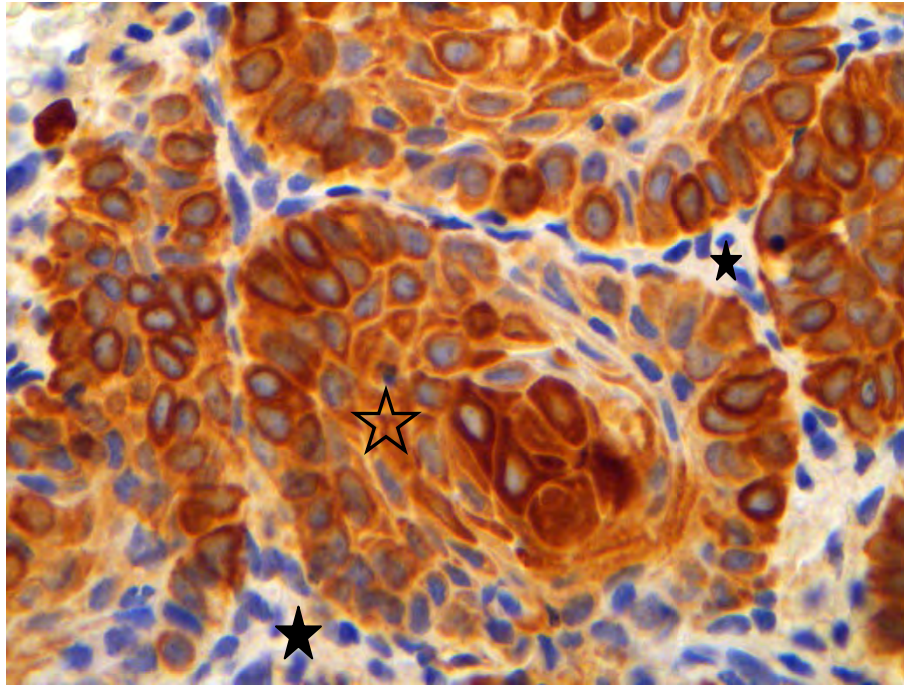




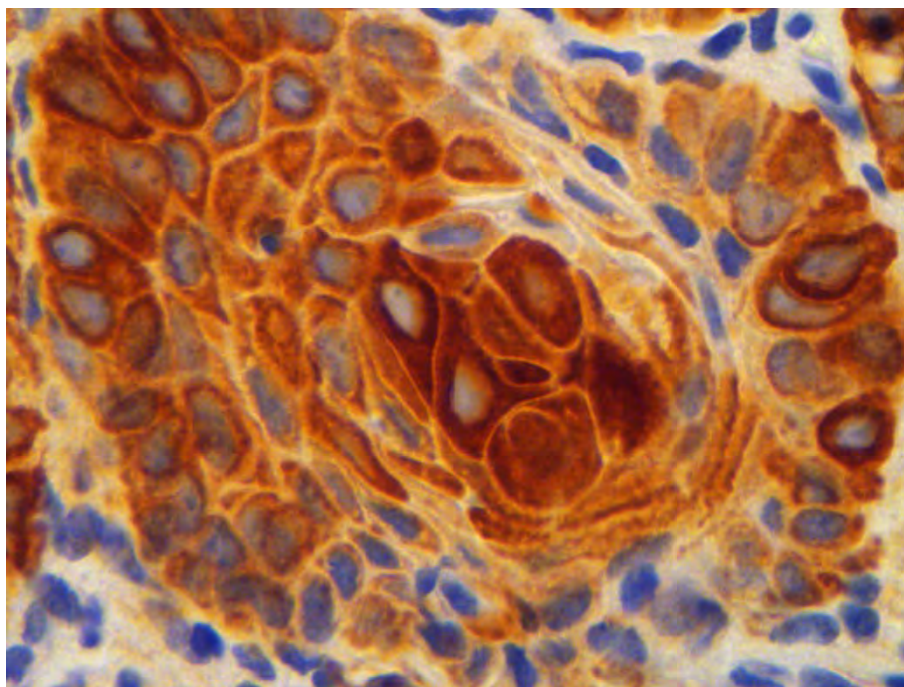
**Εικόνα 15.** Ανοσοχρώση για κερατίνη 8. Βλεννοπαραγωγά κύτταρα με δικτυωτή χρώση. Μη βλεννοπαραγωγά εκκριτικά κύτταρα με έντονη κυτταροπλασματική χρώση. Συμπληρωματική χρώση: Ηωσίνη/Αιματοξυλίνη. Μεγέθυνση: x630



**Εικόνα 16.** Ανοσοχρώση επιτόπου Η. Κύτταρα άωρης πλακώδους μεταπλασίας με έντονη κυτταροπλασματική χρώση (ανοιχτός αστερίσκος), και βλεννοπαραγωγά κύτταρα στην επιφάνεια του επιθηλίου αρνητικά (βέλος). Μεγέθυνση: X630.

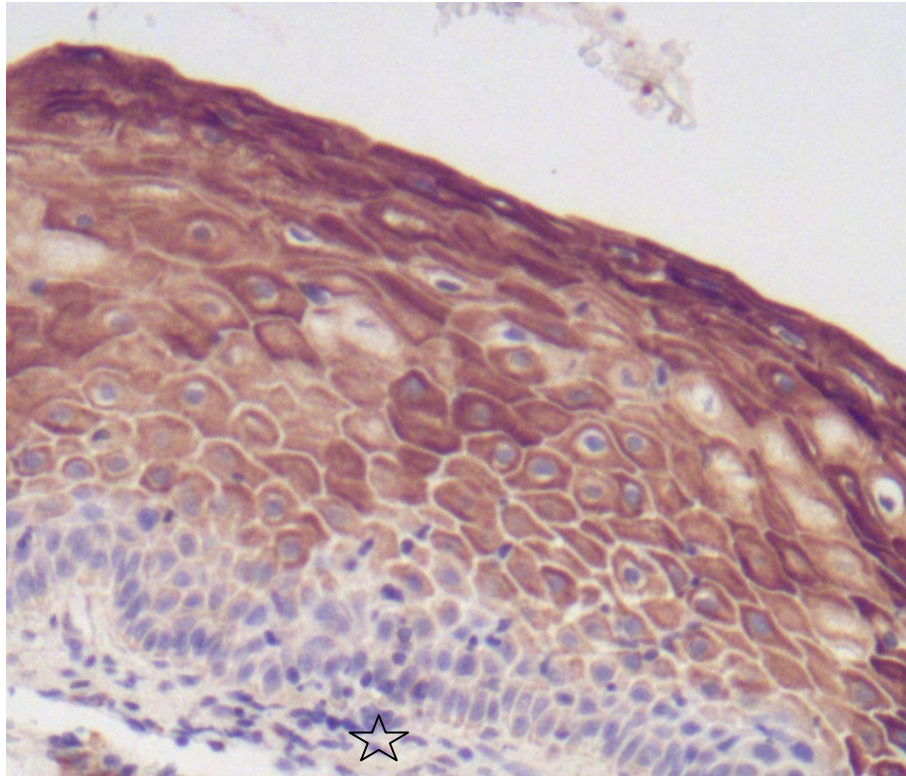


**Εικόνα 17.** Ανοσοχρώση επιτόπου Η. Κύτταρα άωρης πλακώδους μεταπλασίας που γεμίζουν ενδοτραχηλικούς αδένες με έντονη κυτταροπλασματική χρώση (ανοιχτός αστερίσκος), και παρεμβαλλόμενοι ενδιάμεσοι ινοβλάστες αρνητικοί (κλειστοί αστερίσκοι). Μεγέθυνση: x400.

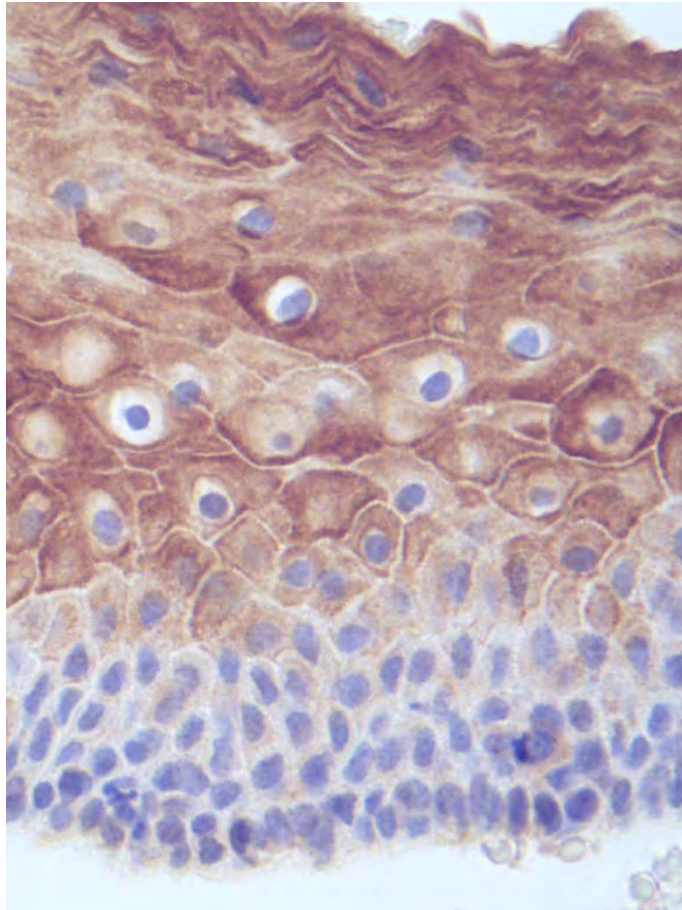


**Εικόνα 18.** Ανοσοχρώση επιτόπου Η. Μεγαλύτερη μεγέθυνση της εικόνας 17. Μεγέθυνση: x630.

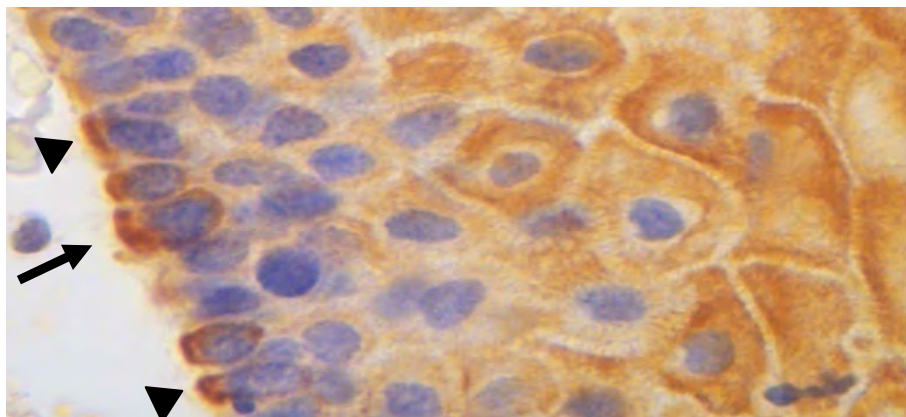




**Εικόνα 19.** Ανοσοχρώση επιτόπου Η. Ωριμο πλακώδες επιθήλιο που παρουσιάζει τα κύτταρα της βασικής και της παραβασικής στοιβάδας να είναι αρνητικά, ενώ τα κύτταρα της ενδιάμεσης και της επιφανειακής στοιβάδας να δείχνουν έντονη κυτταροπλασματική χρώση για τον επίτοπο Η. Οι στρωματικοί ινοβλάστες είναι αρνητικοί (ανοιχτός αστερίσκος). Μεγέθυνση: x200

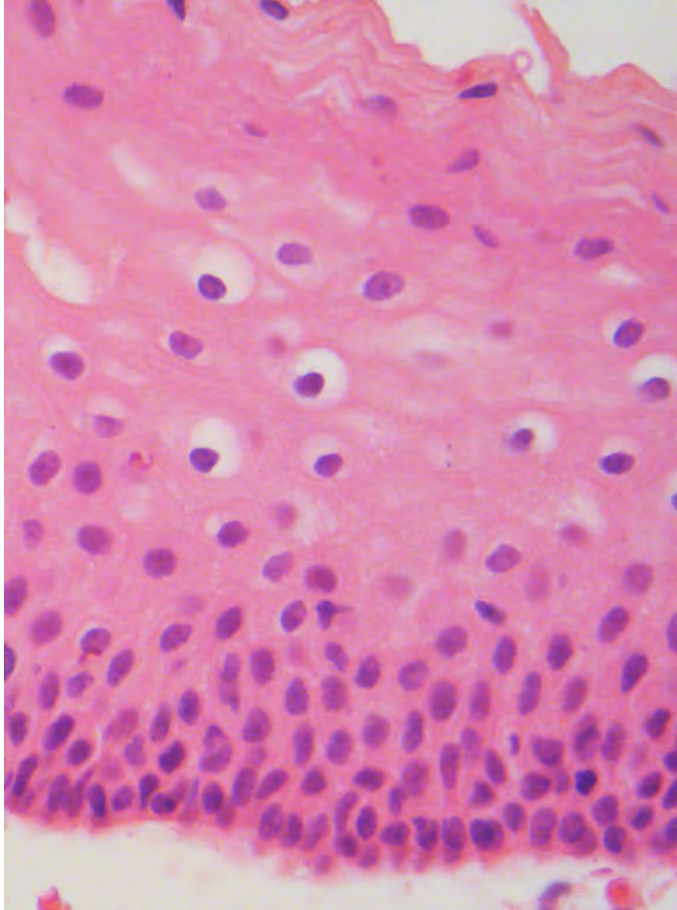


**Εικόνα 20.** Ανοσοχρώση επιτόπου Η. Ωριμο πλακώδες επιθήλιο που παρουσιάζει τα κύτταρα της βασικής και της παραβασικής στοιβάδας να είναι αρνητικά, ενώ τα κύτταρα της ενδιάμεσης και της επιφανειακής στοιβάδας να δείχνουν μέτρια ή έντονη κυτταροπλασματική χρώση για τον επίτοπο Η, με αρνητικές τις διαυγείς περιοχές συγκέντρωσης του γλυκογόνου. Μεγέθυνση: x400



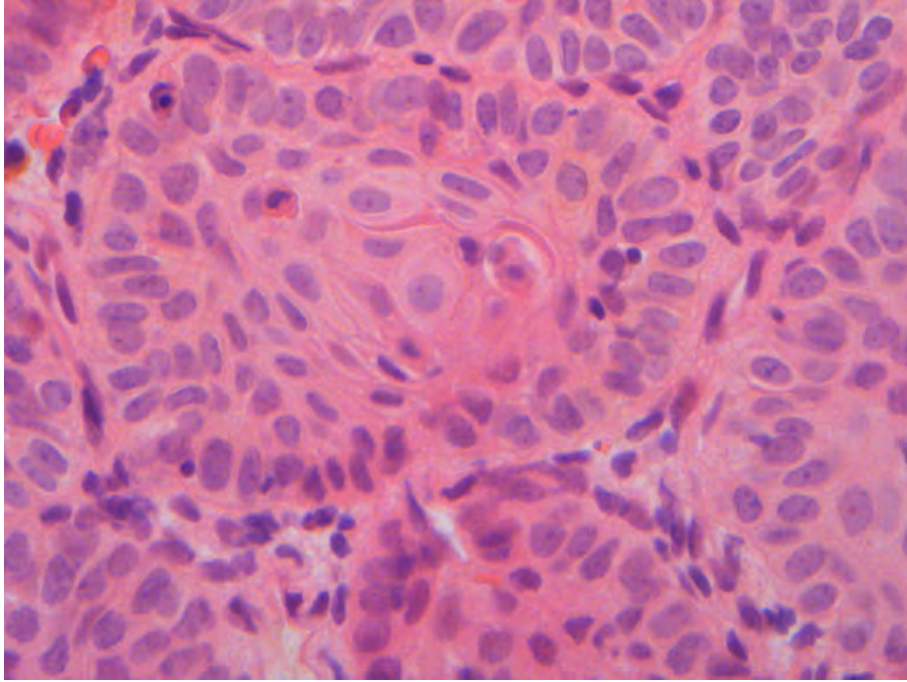
**Εικόνα 21.** Ανοσοχρώση επιτόπου Η. Ωριμο πλακώδες επιθήλιο που παρουσιάζει κύτταρα της βασικής στοιβάδας με κυτταροπλασματική χρώση που είτε συγκεντρώνεται στην περιοχή του ημιδεσμοσώματος (κεφαλές βελών) ή καταλαμβάνει

όλο το κυτταρόπλασμα (βέλος). Παραβασικά κύτταρα αρνητικά. Κύτταρα ενδιάμεσης στοιβάδας με περιφερική κυρίως κυτταροπλασματική χρώση και αρνητικές τις περιοχές συγκέντρωσης γλυκογόνου. Μεγέθυνση: x400

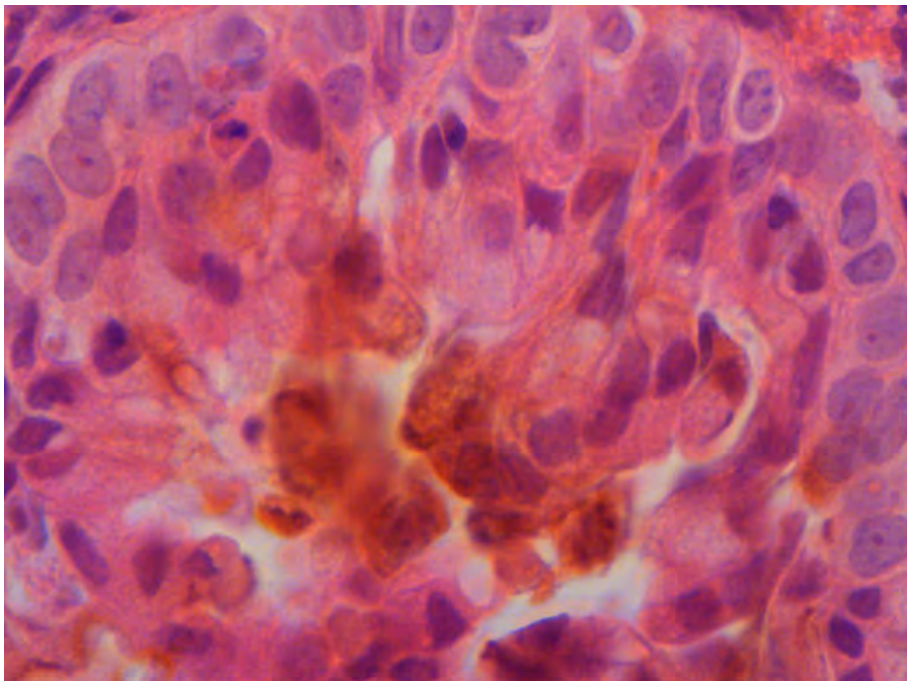


**Εικόνα 22.** Ανοσοχρώση για κερατίνη 8. Ωριμο πλακώδες επιθήλιο που παρουσιάζει όλα τα κύτταρα να είναι αρνητικά. Μεγέθυνση: x 400



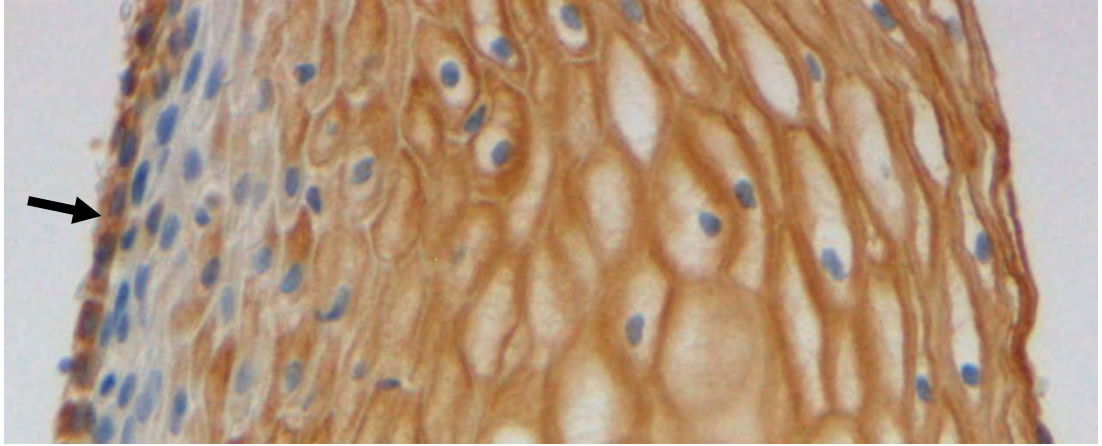


**Εικόνα 23.** Ανοσοχρώση για κερατίνη 8. Διαδοχική τομή εικόνας 17. Κύτταρα άωρης πλακώδους μεταπλασίας που γεμίζουν ενδοτραχηλικούς αδένες και παρεμβολόμενοι ενδιάμεσοι ινοβλάστες. Τα πλακώδη κύτταρα και οι ινοβλάστες είναι αρνητικοί. Μεγέθυνση: x400.

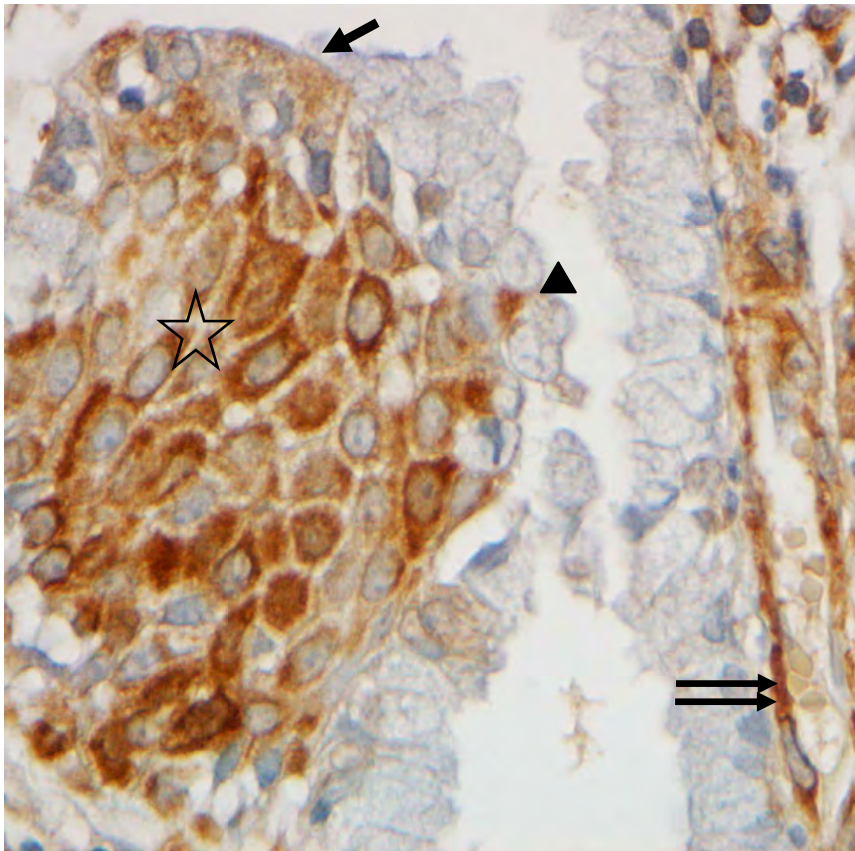


**Εικόνα 24.** Ανοσοχρώση για κερατίνη 8. Διαδοχική τομή εικόνας 10. Ένας υποπληθυσμός των βλεννοπαραγωγών κυττάρων παρουσιάζει θετική κυτταροπλασματική χρώση (καφέ χρώση). Μεγέθυνση: x630.



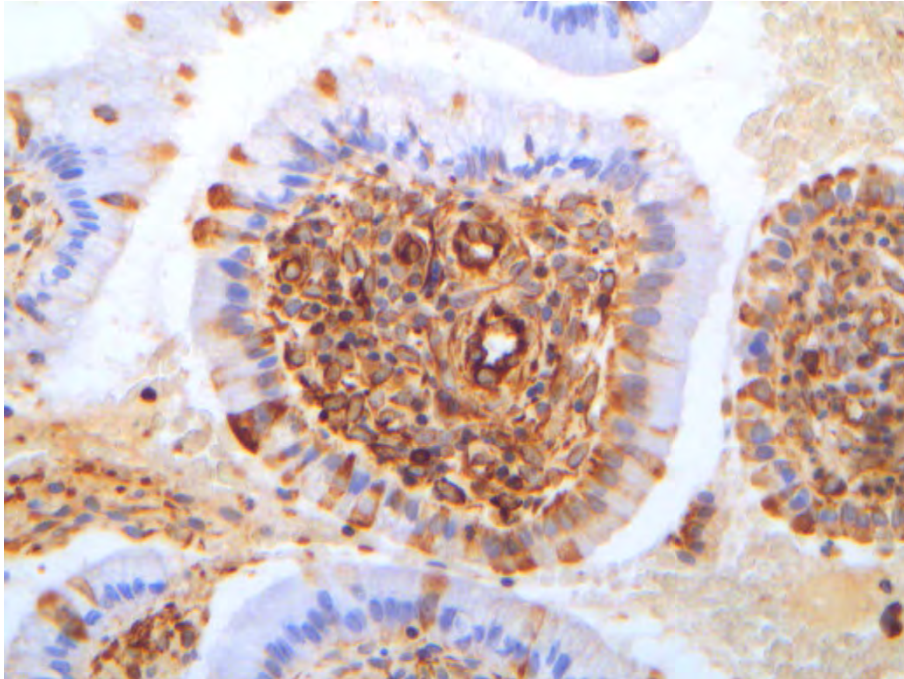


**Εικόνα 25.** Ανοσοχρώση επιτόπου H. Ωριμο πλακώδες επιθήλιο που παρουσιάζει τα κύτταρα της βασικής στοιβάδας με ομοιογενή διάχυτη κυτταροπλασματική χρώση (βέλος). Τα κύτταρα της παραβασικής στοιβάδας είναι αρνητικά, ενώ τα κύτταρα της ενδιάμεσης και της επιφανειακής στοιβάδας δείχνουν μέτρια ή έντονη κυτταροπλασματική χρώση για τον επίτοπο H, με αρνητικές τις διαυγείς περιοχές συγκέντρωσης του γλυκογόνου. Μεγέθυνση: x630.



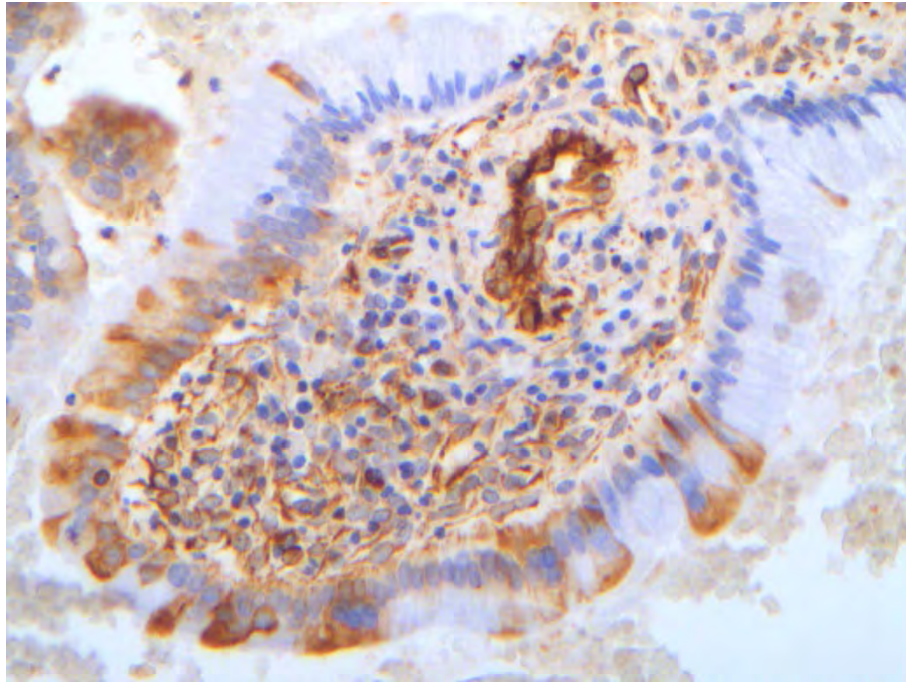
**Εικόνα 26.** Ανοσοχρώση επιτόπου H. Ενδοτραχηλικός βλεννογόνος με τα περισσότερα βλεννοπαραγωγά κύτταρα να είναι αρνητικά και με λίγα από αυτά να δείχνουν είτε εστιακή ομοιογενή χρώση (κεφαλή βέλους) ή πιο εκτεταμένη δικτυωτή

χρώση (βέλος). Περιοχή άωρης πλακώδους μεταπλασίας με κύτταρα που παρουσιάζουν διάχυτη κυτταροπλασματική χρώση (ανοικτός αστερίσκος). Αιμοφόρο τριχοειδές με έντονη διάχυτη κυτταροπλασματική χρώση των ενδοθηλιακών κυττάρων (διπλό βέλος). Μεγέθυνση: x400.

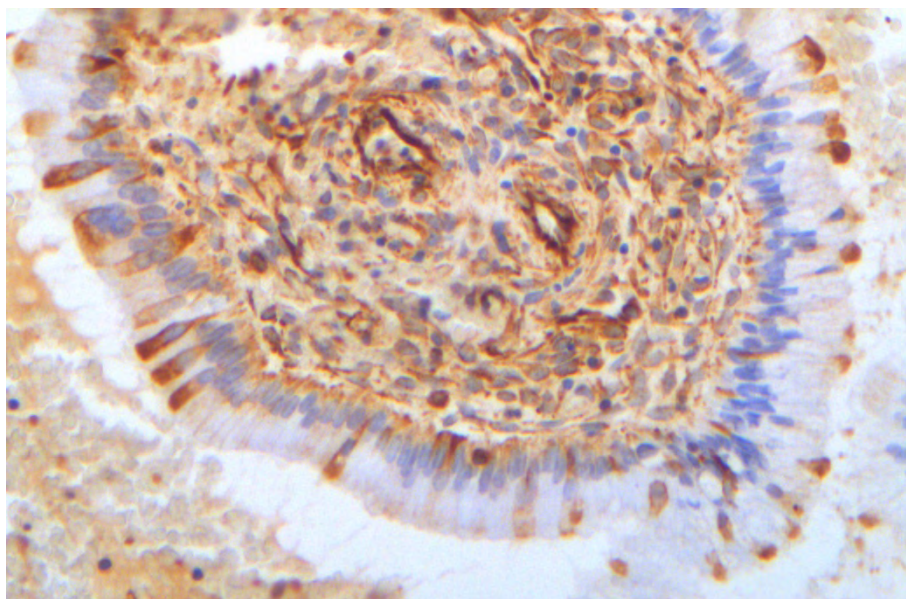


**Εικόνα 27.** Ανοσοχρώση επιτόπου Η. Εγκάρσια τομή μικρών ενδοτραχηλικών πολυπόδων που παρουσιάζουν στρωματικά και ενδοθηλιακά κύτταρα με έντονη κυτταροπλασματική χρώση. Τα βλεννοπαραγωγά κύτταρα είτε είναι αρνητικά, είτε παρουσιάζουν κυρίως υποπυρηνική κυτταροπλασματική χρώση. Τα μη βλεννοπαραγωγά εκκριτικά κύτταρα με πυρήνες που τοποθετούνται σε ένα ψηλότερο επίπεδο από τους πυρήνες των βλεννοπαραγωγών κυττάρων, παρουσιάζουν έντονη κυρίως διάχυτη κυτταροπλασματική χρώση. Μεγέθυνση: X200.



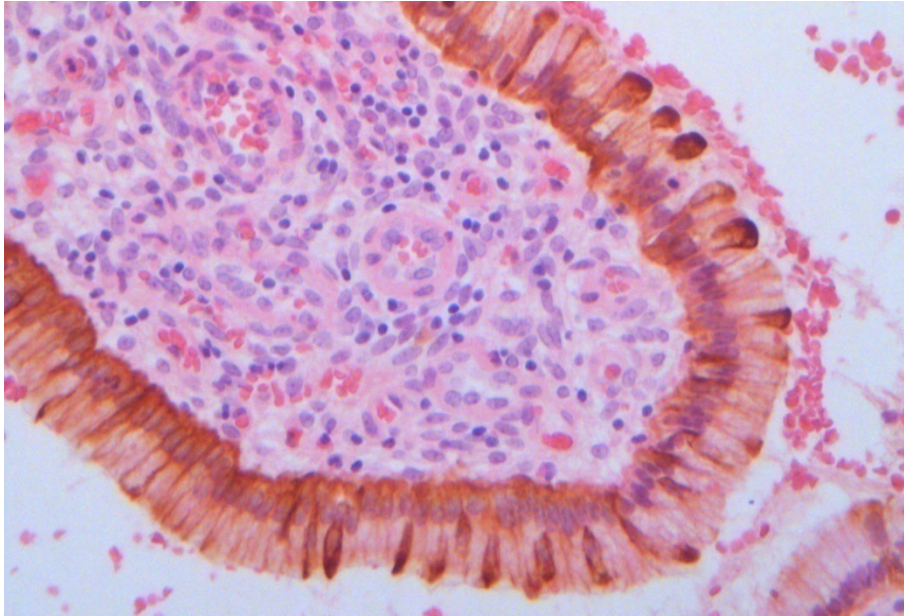


**Εικόνα 28.** Ανοσοχρώση επιτόπου Η. Εγκάρσια τομή ενδοτραχηλικού πολύποδα που παρουσιάζει στρωματικά και ενδοθηλιακά κύτταρα με έντονη κυτταροπλασματική χρώση. Τα βλεννοπαραγωγά κύτταρα είτε είναι αρνητικά, είτε παρουσιάζουν κυρίως υποπυρηνική κυτταροπλασματική χρώση. Τα μη βλεννοπαραγωγά εκκριτικά κύτταρα με πυρήνες που τοποθετούνται σε ένα ψηλότερο επίπεδο από τους πυρήνες των βλεννοπαραγωγών κυττάρων, παρουσιάζουν έντονη κυρίως διάχυτη κυτταροπλασματική χρώση. Μεγέθυνση: X200.



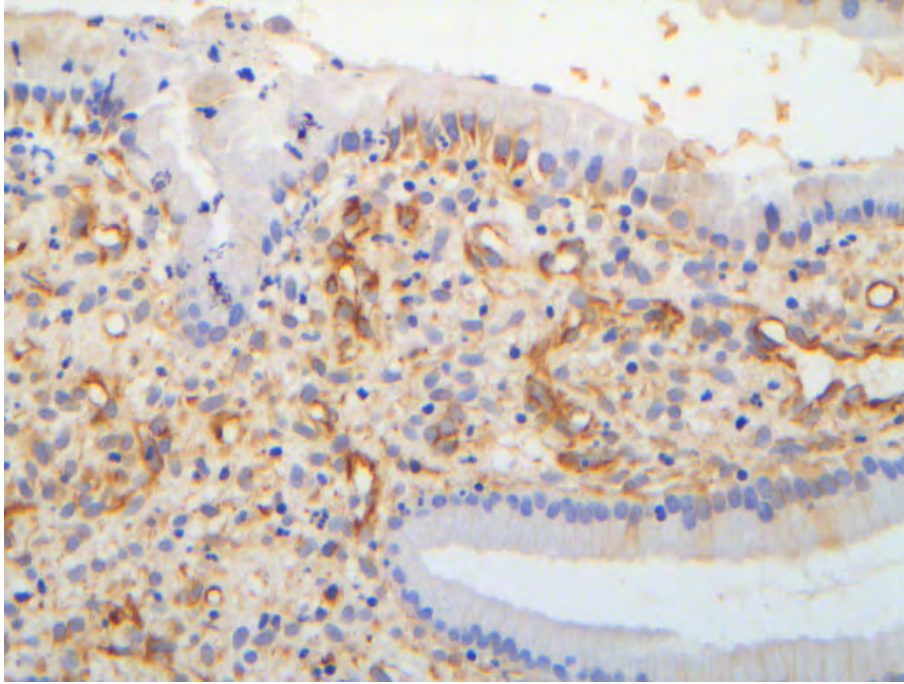
**Εικόνα 29.** Ανοσοχρώση επιτόπου Η. Εγκάρσια τομή ενδοτραχηλικού πολύποδα που παρουσιάζει στρωματικά και ενδοθηλιακά κύτταρα με έντονη κυτταροπλασματική χρώση. Τα βλεννοπαραγωγά κύτταρα είτε είναι αρνητικά, είτε παρουσιάζουν

κυρίως υποπυρηνική κυτταροπλασματική χρώση. Τα μη βλεννοπαραγωγά εκκριτικά κύτταρα με πυρήνες που τοποθετούνται σε ένα ψηλότερο επίπεδο από τους πυρήνες των βλεννοπαραγωγών κυττάρων, παρουσιάζουν έντονη κυρίως διάχυτη κυτταροπλασματική χρώση. Μεγέθυνση: X200.

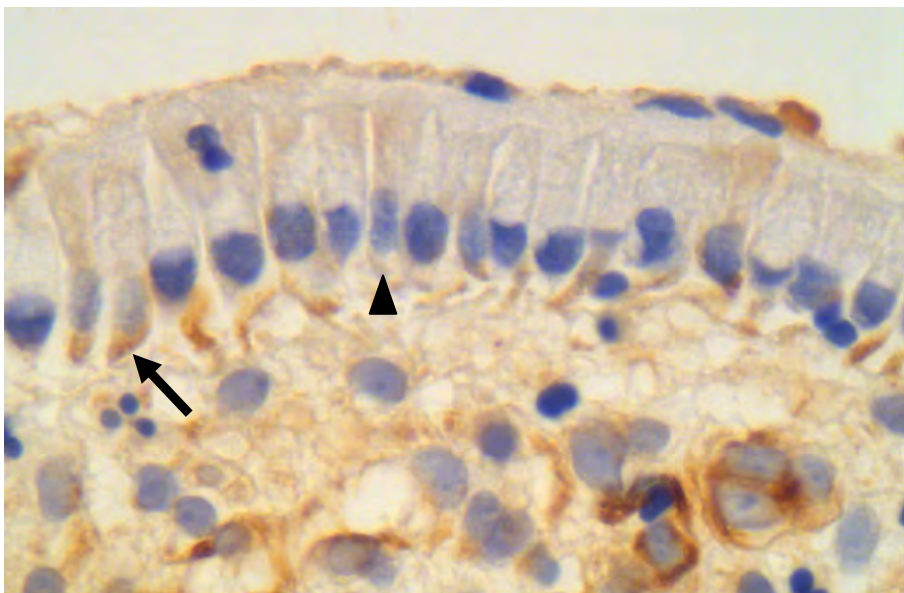


**Εικόνα 30.** Ανοσοχρώση για κερατίνη 8. Διαδοχική τομή εικόνας 29. Εγκάρσια τομή του ενδοτραχηλικού πολύποδα που παρουσιάζει στρωματικά και ενδοθηλιακά κύτταρα με αρνητική κυτταροπλασματική χρώση. Τα βλεννοπαραγωγά κύτταρα παρουσιάζουν κυρίως υποπυρηνική κυτταροπλασματική χρώση και με αυξημένη περιφερική υπομεμβρανική χρώση. Τα μη βλεννοπαραγωγά εκκριτικά κύτταρα με πυρήνες που τοποθετούνται σε ένα ψηλότερο επίπεδο από τους πυρήνες των βλεννοπαραγωγών κυττάρων, παρουσιάζουν έντονη κυρίως διάχυτη κυτταροπλασματική χρώση. Μεγέθυνση: X200.

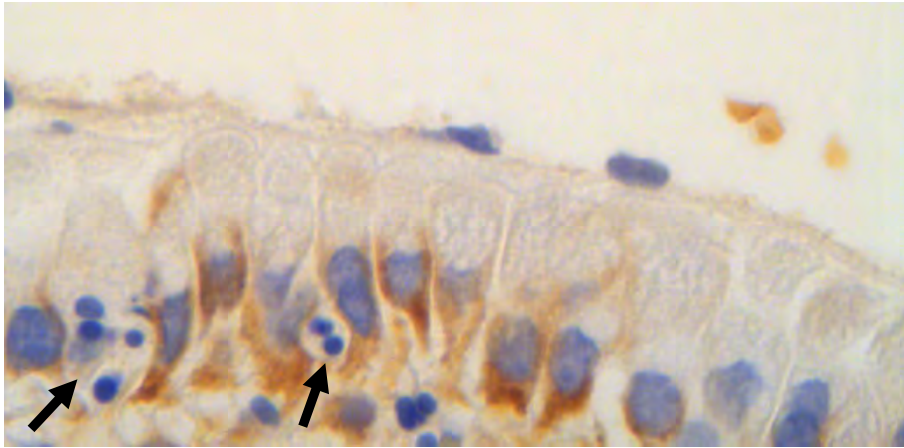




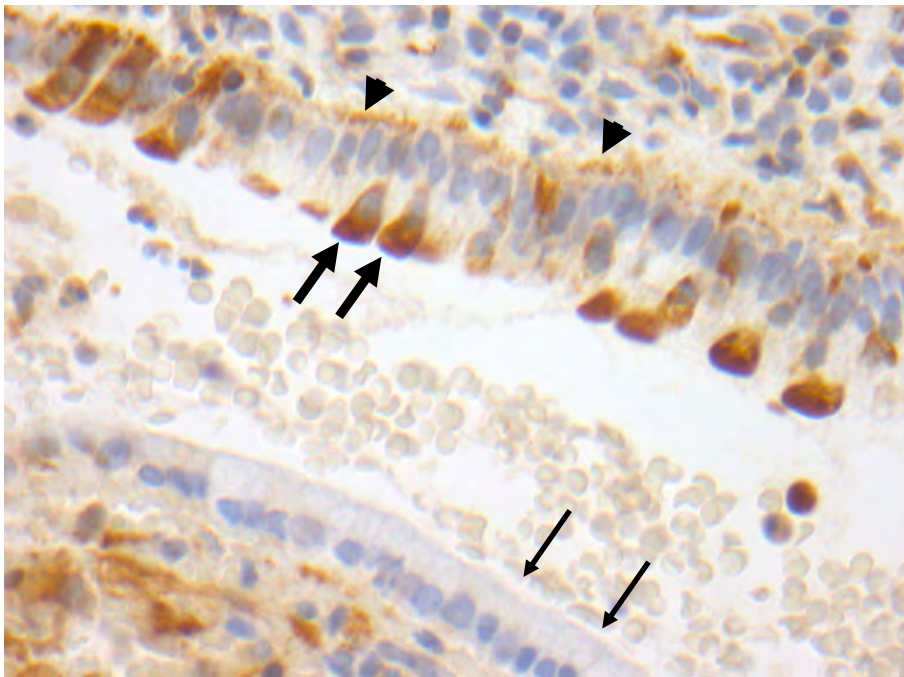
**Εικόνα 31.** Ανοσοχρώση επιτόπου Η. Εγκάρσια τομή ενδοτραχηλικού πολύποδα που παρουσιάζει στρωματικά και ενδοθηλιακά κύτταρα με κυτταροπλασματική χρώση. Τα βλεννοπαραγωγά κύτταρα είτε είναι αρνητικά, είτε παρουσιάζουν κυρίως υποκυρηνική κυτταροπλασματική χρώση. Μεγέθυνση: X200.



**Εικόνα 32.** Ανοσοχρώση επιτόπου Η. Μεγαλύτερη μεγέθυνση περιοχής του πολύποδα της εικόνας 31. Βλεννοπαραγωγά κύτταρα αρνητικά (κεφαλή βέλους) ή με ήπια θετική υποκυρηνική χρώση (βέλος). Στρωματικά κύτταρα με θετική κυτταροπλασματική χρώση. Λεμφοκύτταρα αρνητικά. Μεγέθυνση x630.

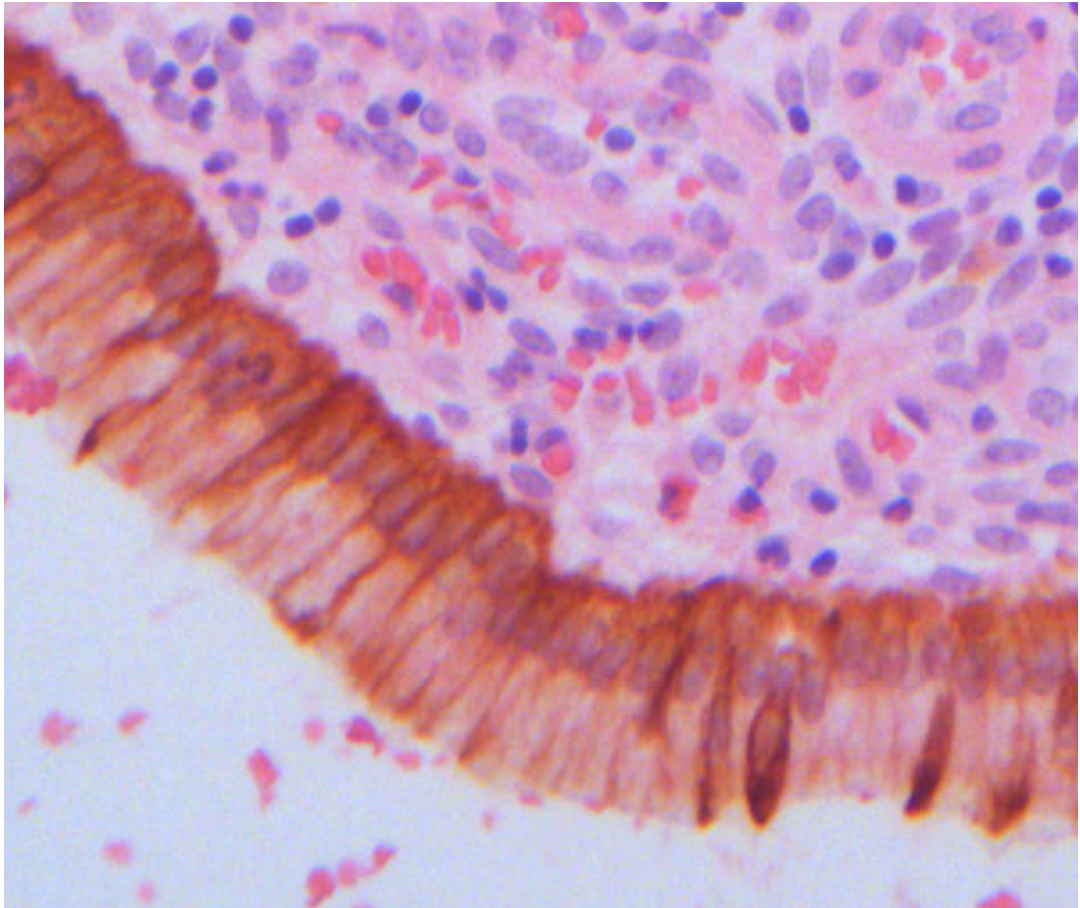


**Εικόνα 33.** Ανοσοχρώση επιτόπου Η. Μεγαλύτερη μεγέθυνση της εικόνας 31. Βλεννοπαραγωγά κύτταρα με έντονη υποπυρηνική κυτταροπλασματική χρώση (βέλος). Αποπτωτικά βλεννοπαραγωγά κύτταρα αρνητικά (βέλη). Μεγέθυνση x630.

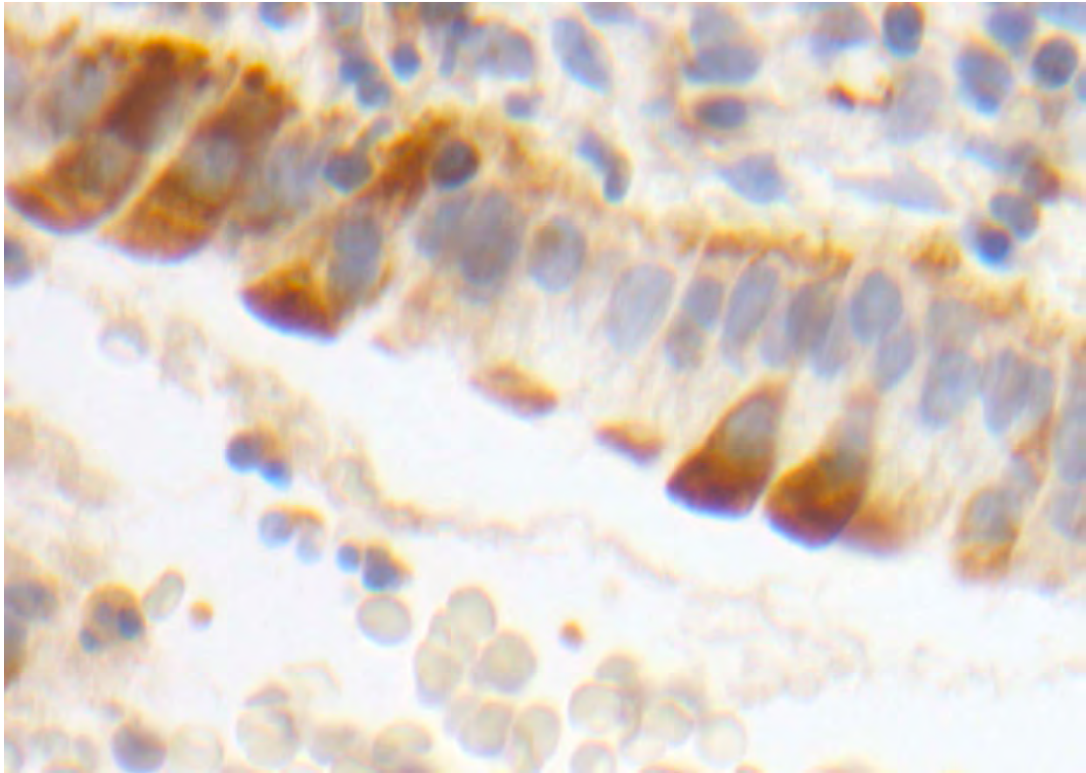


**Εικόνα 34.** Ανοσοχρώση επιτόπου Η. Εγκάρσια τομή δύο μικρών ενδοτραχηλικών πολυπόδων που παρουσιάζουν στρωματικά κύτταρα με κυτταροπλασματική χρώση. Τα λεμφοκύτταρα του στρώματος είναι αρνητικά. Τα βλεννοπαραγωγά κύτταρα είτε είναι αρνητικά (λεπτά βέλη), είτε παρουσιάζουν κυρίως κοκκώδη χρώση στην βασική πλευρά τους (κεφαλές βελών). Τα μη βλεννοπαραγωγά εκκριτικά κύτταρα με πυρήνες που τοποθετούνται σε ένα ψηλότερο επίπεδο από τους πυρήνες των βλεννοπαραγωγών κυττάρων, παρουσιάζουν έντονη κυρίως διάχυτη κυτταροπλασματική χρώση (παχιά βέλη). Μεγέθυνση: X200.

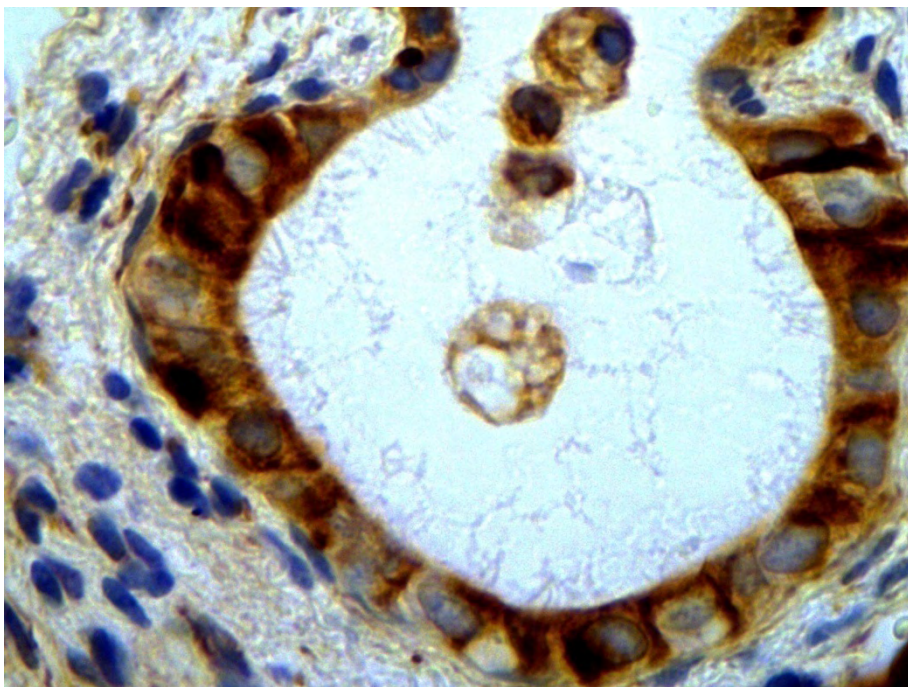




**Εικόνα 35.** Μεγαλύτερη μεγέθυνση Εικόνας 30.

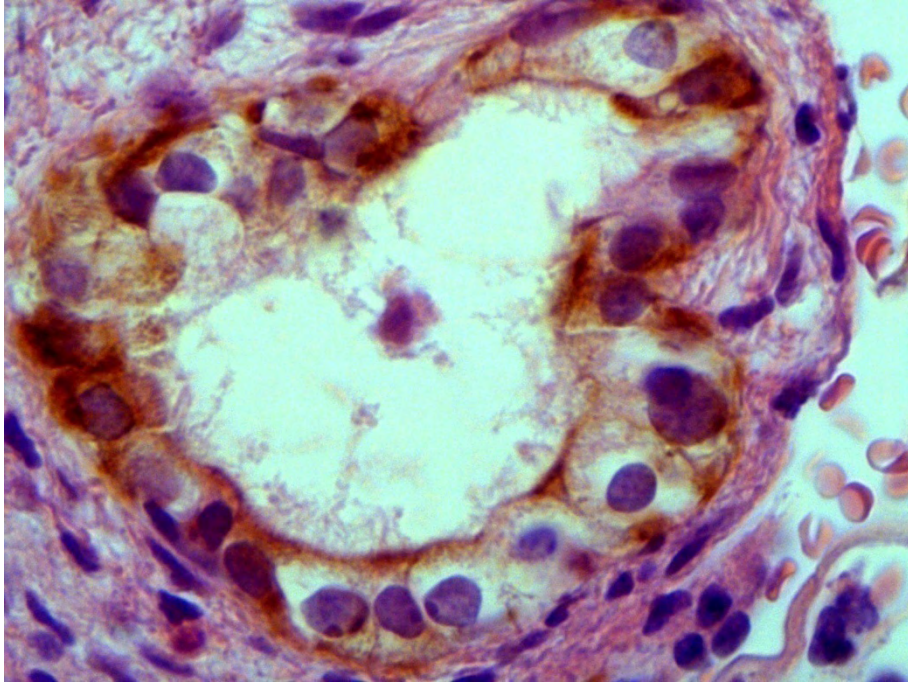


**Εικόνα 36.** Μεγαλύτερη μεγέθυνση Εικόνας 34.



**Εικόνα 37.** Ανοσοχρώση επιτόπου Η. Σαλπγγική ορώδης μεταπλασία που δείχνει κροσσωτά κύτταρα με έντονη κυτταροπλασματική χρώση για τον επίτοπο Η. Μεγέθυνση: X630.





**Εικόνα 38.** Ανοσοχρώση για κερατίνη 8 σε διαδοχική τομή Εικόνας 37. Σαλπινγική ορώδης μεταπλασία που δείχνει κροσσωτά κύτταρα με λιγότερο έντονη κυτταροπλασματική χρώση για κερατίνη 8 σε σχέση με τον επίτοπο Η. Μεγέθυνση : x630.



## ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Ο Επίτοπος Η αναγνωρίζεται από το μονοκλωνικό αντίσωμα Η, που είναι ένα αντίσωμα της τάξης IgM και αναπτύχθηκε σε ποντικό μετά από ένεση ολόκληρων σωμάτων ολιγοδενδρογλοιακών κυττάρων προβάτου. Ο Επίτοπος Η περιέχει το σάκχαρο N-ακετυλογλυκοζαμίνη ενωμένο με το υδροξύλιο ενός αμινοξέος σερίνης ή θρεονίνης, διότι έχει δείχθει ότι η αφαίρεση σακχάρων από τα πολυπεπίδια εξαφανίζει τον Επίτοπο Η και επιπλέον ο Επίτοπος Η απαντάται στην κερατίνη 8 που το μόνο σάκχαρό της είναι η N-ακετυλογλυκοζαμίνη. Όμως, η κερατίνη 18 που και αυτή έχει σαν μοναδικό της σάκχαρο την N-ακετυλογλυκοζαμίνη δεν αναγνωρίζεται από το αντίσωμα Η, γεγονός που δείχνει ότι ο επίτοπος Η, δεν αποτελείται μόνο από το σάκχαρο N-ακετυλογλυκοζαμίνη, αλλά περιέχει ίσως ή ένα παρακείμενο τμήμα της αλύσου των αμινοξέων ή αναγνωρίζει το σάκχαρο N-ακετυλογλυκοζαμίνη μόνο σε μία διαμόρφωση στον χώρο ή αποτελεί συνδυασμό και των δύο ανωτέρων καταστάσεων (D.L. Arvanitis et al, 1995) (D.L. Arvanitis et al, 2001).

Ο Επίτοπος Η απαντάται σε περισσότερα από ένα είδος κυττάρου στον άνθρωπο, αν και το αντίσωμα δημιουργήθηκε εναντίον των ολιγοδενδρογλοιακών κυττάρων του προβάτου, (D.L. Arvanitis et al, 2005a, b), (S. Havaki et al, 2003) (T. Polyzos et al, 2006) (M. Sgantzos et al, 2006).

Η ανάλυση των αποτελεσμάτων αυτής της διατριβής δείχνει τα ακόλουθα:

Η συντριπτική πλειοψηφία των βλεννοπαραγωγών κυττάρων παραμένει αρνητική για τον Επίτοπο Η, ενώ σχετικά ένας πολύ μικρός αριθμός βλεννοπαραγωγών κυττάρων, στον φυσιολογικό ενδοτραχηλικό βλεννογόνο είναι θετικός, με αποτέλεσμα πολύ χαμηλή έκφραση για τον Επίτοπο Η και ένας σχετικά μεγαλύτερος αριθμός βλεννοπαραγωγών κυττάρων, στους ενδοτραχηλικούς πολύποδες, είναι επίσης θετικός, με αποτέλεσμα χαμηλή έκφραση για τον Επίτοπο Η. Πού μπορεί να οφείλεται το γεγονός ότι έστω και ένας μικρός αριθμός βλεννοπαραγωγών κυττάρων είναι θετικός για τον Επίτοπο Η; Εξετάζοντας την ποιότητα και το πρότυπο της κυτταροπλασματικής χρώσης για τον Επίτοπο Η, μπορεί να υποστηριχθούν τα παρακάτω:

1. Η βλέννη των κυττάρων παραμένει αρνητική για τον Επίτοπο Η και δεδομένου ότι το κυτταρόπλασμα κατακλύζεται από κυστίδια βλέννης, παραμένει ελάχιστο ποσό κυτταροπλάσματος μέσα στο οποίο θα μπορούσαν να περικλείονται πολυπεπίδια που περιέχουν τον Επίτοπο Η.
2. Τα βλεννοπαραγωγά κύτταρα, που είναι θετικά για τον Επίτοπο Η, παρουσιάζουν βασικά δύο πρότυπα θετικότητας. Το ένα πρότυπο παρουσιάζει βλεννοπαραγωγά κύτταρα με θετικό υποπυρηνικό κυτταρόπλασμα, η έκταση του οποίου μπορεί να είναι ελάχιστη, δίνοντας την εικόνα ενός θετικού υποπυρηνικού κυτταροπλασματικού κοκκίου ή πιο εκτεταμένη δίνοντας την εικόνα μιας

καλά βαμμένης υποπυρηνικής κυτταροπλασματικής περιοχής. Το άλλο πρότυπο αντιπροσωπεύεται από μία υπό- και μία υπερπυρηνική κυτταροπλασματική χρώση, με την υπερπυρηνική να παρουσιάζει ένα δικτυωτό πρότυπο. Αυτά τα πρότυπα χρώσης μπορεί να εξηγηθούν από το γεγονός ότι η υποπυρηνική μούρα του κυτταροπλάσματος, στα θετικά βαμμένα κύτταρα, δεν περιέχει κυστίδια βλέννης, αλλά ουσία μέσα στην οποία υπάρχουν πολυπεπτίδια, που φέρουν τον Επίτοπο Η. Το ίδιο μπορεί να υποστηριχθεί και για τα θετικά υπερπυρηνικά κυτταροπλασματικά δίκτυα.

Όπως προαναφέρθηκε, η κερατίνη 8 φέρει τον Επίτοπο Η, γι' αυτό διαδοχικές τομές βάφθηκαν με ένα αντίσωμα, που ο Επίτοπός του εντοπίζεται πάνω στην άλυσσο των αμινοξέων της κερατίνης 8, για να συγκριθεί η κατανομή της κερατίνης 8 με την κατανομή του Επίτοπου Η. Τα ευρήματα έδειξαν ότι υπάρχει μερική σύμπτωση της κατανομής της χρώσης της κερατίνης 8, με την κατανομή της χρώσης του Επίτοπου Η. Αναλυτικά, τα βλεννοπαραγωγά κύτταρα, έδειξαν απουσία χρώσης για την κερατίνη 8, στις περιοχές του κυτταροπλάσματος που ήταν πλημμυρισμένες από κυστίδια βλέννης, ενώ οι υποπυρηνικές κυτταροπλασματικές περιοχές ήταν θετικές, καθώς και σε ένα σημαντικό αριθμό κυτάρων παρατηρήθηκε μία δικτυωτή υπερπυρηνική κυτταροπλασματική χρώση του Επίτοπου Η. Τα ευρήματα αυτά δείχνουν ότι, τουλάχιστον κατά ένα ποσοστό, η χρώση του Επίτοπου Η οφείλεται στην παρουσία της κερατίνης 8, μόρια της οποίας είναι γλυκοζυλιωμένα με το σάκχαρο N - ακετυλογλυκοζαμίνη, δηλαδή φέρουν τον Επίτοπο Η. Η κατανομή όμως των χρώσεων του Επίτοπου Η και της κερατίνης 8 δεν είναι πανομοιότυπες. Η κυριότερη διαφορά κατανομής συνίστατο σε μία πιο έντονη και διακριτή χρώση της κερατίνης 8, στις πλάγιες επιφάνειες των βλεννοπαραγωγών κυττάρων. Αυτό μπορεί να εξηγηθεί βάσει του γεγονότος ότι όλα τα μόρια της κερατίνης 8 δεν είναι γλυκοζυλιωμένα και ότι η κερατίνη 8 που κατανέμεται στις πλάγιες επιφάνειες των κυττάρων, δεν είναι γλυκοζυλιωμένη κατά ένα μεγάλο ποσοστό και επομένως δεν φέρει τον Επίτοπο Η. Ένα άλλο στοιχείο της μη ταυτόσημης κατανομής των χρώσεων είναι ότι ο Επίτοπος Η, έχει δείχθει ότι απαντάται σε περισσότερα του ενός πολυπεπτίδια και επομένως η χρώση του Επίτοπου Η, δεν οφείλεται πιθανώς αποκλειστικά μόνο στην παρουσία της γλυκοζυλιωμένης μορφής της κερατίνης 8.

Ένα άλλο εύρημα που πρέπει να αναλυθεί είναι αυτό της αυξημένης έκφρασης του Επίτοπου Η στα βλεννοπαραγωγά κύτταρα των ενδοτραχηλικών πολυπόδων. Προηγούμενες μελέτες (*C.F. Chou et al, 1992*) έχουν δείξει, ότι καταστάσεις στρες αυξάνουν την γλυκοζυλίωση της κερατίνης 8 με την N-ακετυλογλυκοζαμίνη. Είναι γνωστό ότι οι ενδοτραχηλικοί πολύποδες είναι κυρίως αποτέλεσμα χρονίζουσας φλεγμονής του ενδοτραχηλικού βλεννογόνου. Η φλεγμονή, λόγω της συσσώρευσης των φλεγμονωδών κυττάρων και της έκλυσης διαφόρων κυτοκινών, αποτελεί έναν παράγοντα στρες (stress) των ιστών, που είναι δυνατόν να αυξήσει την γλυκοζυλίωση της κερατίνης 8 των βλεννοπαραγωγών κυττάρων, που καλύπτουν το φλεγμαίνον στρώμα των πολυπόδων.

Όσον αφορά στην έκφραση του Επίτοπου Η στα μη -βλεννοπαραγωγά εκκριτικά κύτταρα μπορεί να λεχθούν τα ακόλουθα: τα μη βλεννοπαραγωγά εκκριτικά κύτταρα που απαντήθηκαν στις περιοχές της ορώδους σαλπινγικής μεταπλασίας και διάσπαρτα μέσα στον ενδοτραχηλικό βλεννογόνο, καθώς και σε συγκριτικά μεγαλύτερο αριθμό στο επιθήλιο των ενδοτραχηλικών πολυπόδων παρουσίασαν πρακτικά όλα, έντονη διάχυτη κυτταροπλασματική χρώση για τον Επίτοπο Η. Η χρώση ήταν τόσο έντονη και χαρακτηριστική που μπορούσε να δείξει και σπάνια μονήρη κύτταρα που ήταν μεταξύ πλήθους άβαφων βλεννοπαραγωγών κυττάρων. Η διάχυτη και έντονη κυτταροπλασματική χρώση ανέδειξε άριστα και το σχήμα πολλών μη-βλεννοπαραγωγών εκκριτικών κυττάρων που είναι δύσκολο να αναδειχθεί με την χρώση ρουτίνας ηωσίνης-αιματοξυλίνης. Χαρακτηριστικά τα μη-βλεννοπαραγωγά εκκριτικά κύτταρα διαθέτουν ένα πυρήνα, που είναι τοποθετημένος στην μεσότητα του κυτταροπλάσματος, με αποτέλεσμα όταν τα μη-βλεννοπαραγωγά εκκριτικά κύτταρα βρίσκονται ανάμεσα σε βλεννοπαραγωγά κύτταρα, να έχουν τους πυρήνες τους κατά μία στοιβάδα ψηλότερα από το επίπεδο των πυρήνων των βλεννοπαραγωγών κυττάρων, που καταλαμβάνουν την βασική μοίρα του κυτταροπλάσματος. Η υπερπυρηνική μοίρα του κυτταροπλάσματος έχει είτε ένα τέλειο κυλινδρικό σχήμα, είτε ένα σχήμα ανοικτής βεντάλιας. Η υποπυρηνική μοίρα του κυτταροπλάσματος είναι στενή και μακρά, έχοντας σχήμα μίσχου φύλλου, ο οποίος προσφύεται στην υποκείμενη βασική μεμβράνη του επιθηλίου. Αρκετά μη -βλεννοπαραγωγά εκκριτικά κύτταρα παρουσίαζαν δύο ή και τρεις πυρήνες. Η συγκριτική μελέτη διαδοχικών τομών για την έκφραση της κερατίνης 8, έδειξε ότι τα μη-βλεννοπαραγωγά εκκριτικά κύτταρα διαθέτουν έντονη διάχυτη κυτταροπλασματική χρώση για την κερατίνη 8. Αυτό δηλώνει ότι κατά ένα, ίσως και μεγάλο μέρος, η κυτταροπλασματική χρώση των μη -βλεννοπαραγωγών εκκριτικών κυττάρων οφείλεται στην παρουσία της κερατίνης 8. Αυτό δεν μπορεί να αποκλείσει την πιθανότητα να υπάρχουν και άλλα πολυπεπτίδια στο κυτταρόπλασμα των μη -βλεννοπαραγωγών εκκριτικών κυττάρων που να φέρουν τον Επίτοπο Η. Η ανοσοϊστοχημική χρώση είναι μία ημιποσοτική μέθοδος και βάσει του γεγονότος ότι αμφότερες και η χρώση για τον Επίτοπο Η και η χρώση για την κερατίνη 8 είναι έντονες και διάχυτες στο κυτταρόπλασμα των μη-βλεννοπαραγωγών εκκριτικών κυττάρων, απαιτούνται άλλες μέθοδοι όπως η μέθοδος του ανοσοαποτυπώματος πρωτεϊνών (western-blot immunoblot) για να απαντηθεί εάν και ποια άλλα πολυπεπτίδια φέρουν τον Επίτοπο Η.

Όσον αφορά στην έκφραση του Επίτοπου Η στα κροσσωτά κύτταρα που απαντούν στην ορώδη σαλπινγική μεταπλασία και διάσπαρτα αλλά πολύ λιγότερα ανάμεσα στα βλεννοπαραγωγά κύτταρα του ενδοτραχηλικού βλεννογόνου ισχύουν τα ακόλουθα: πρακτικά όλα τα κροσσωτά κύτταρα παρουσίασαν κυτταροπλασματική χρώση για τον Επίτοπο Η, με αποτέλεσμα υψηλή έκφραση του Επίτοπου Η στα κροσσωτά κύτταρα. Ένας μικρότερος αριθμός κροσσωτών κυττάρων, επιπρόσθετα της κυτταροπλασματικής χρώσης παρουσίασε και πυρηνική χρώση. Η έκφραση του Επίτοπου Η στους πυρήνες των κροσσωτών κυττάρων μπορεί να χαρακτηριστεί ως χαμηλή. Αναλύοντας το πρότυπο της κυτταροπλασματικής χρώσης του Επίτοπου Η στα κροσσωτά κύτταρα, μπορεί να λεχθεί ότι ένας μεγάλος αριθμός κυττάρων παρουσίασε

διάχυτη χρώση, αλλά υπήρχε και ένας σημαντικός αριθμός κροσσωτών κυττάρων με ανισοτιμία και ετερογενή χρώση του κυτταροπλάσματος μέσα στο κάθε κύτταρο. Αυτή η ετερογένεια και ανισοτιμία της χρώσης αντιπροσωπευόταν από περιοχές του κυτταροπλάσματος που είτε παρέμεναν τελείως άβαφες και έδειχναν διαυγείς είτε από μία πιο έντονη περιοχή χρώσης κάτω από την ελεύθερη επιφάνεια του κυττάρου ή από μία εντονότατα βαμμένη περιοχή στην μία πλάγια ή και σε αμφότερες τις πλάγιες επιφάνειες του κυττάρου. Σε μερικά κροσσωτά κύτταρα απαντούσαν όλοι οι παραπάνω συνδυασμοί, ενώ σε άλλα ένας ή περισσότεροι, από τους προαναφερόμενους συνδυασμούς. Όσον αφορά στο πρότυπο της πυρηνικής χρώσης, αυτό συνίστατο σε μία διάχυτη χρώση του πυρήνα, η οποία ήταν λιγότερο έντονη σε σύγκριση με την κυτταροπλασματική χρώση κάθε κυττάρου. Διαδοχικές τομές που βάφθηκαν για την κερατίνη 8, έδειξαν ότι υπήρχε μερική σύμπτωση των χρώσεων κερατίνης 8 και Επίτοπου Η.

Γενικώς όμως η χρώση της κερατίνης 8 ήταν λιγότερο έντονη συγκριτικά με την χρώση του Επίτοπου Η. Αυτά τα ευρήματα δείχνουν ότι ένα μέρος της χρώσης του Επίτοπου Η οφείλεται στην γλυκοζυλιωμένη με την Ν-ακετυλογλυκοζαμίνη κερατίνη 8, αλλά υπάρχουν επιπλέον και άλλα πολυπεπτίδια ή πολυπεπτίδιο που φέρουν τον Επίτοπο Η στα κροσσωτά κύτταρα. Αυτό φαίνεται εμφανώς από την πυρηνική χρώση, δεδομένου ότι τα κροσσωτά κύτταρα δεν παρουσίασαν πυρηνική χρώση για την κερατίνη 8. Τα ευρήματα αυτά δίνουν κίνητρο για περαιτέρω βιοχημικές έρευνες με την μέθοδο ανοσοαποτυπώματος (western-blot immunoblot), για τον καθορισμό των πολυπεπτιδίων που φέρουν τον Επίτοπο Η στα κροσσωτά κύτταρα του τραχήλου της μήτρας.

Όσον αφορά στα φυσιολογικά και τα υπερπλαστικά εφεδρικά κύτταρα, ισχύουν τα ακόλουθα ως προς την έκφραση του Επίτοπου Η: τόσο στα φυσιολογικά εφεδρικά κύτταρα που απαντούν διάσπαρτα κάτω από τα βλεννοπαραγωγά κύτταρα του ενδοτραχηλικού βλεννογόνου, όσο και στα υπερπλαστικά εφεδρικά κύτταρα που απαντούν σε μονήρεις συνεχείς σειρές ή σε δίστοιβες σειρές κάτω από τα βλεννοπαραγωγά κύτταρα του ενδοτραχηλικού βλεννογόνου, η έκφραση του Επίτοπου Η ήταν υψηλή, δεδομένου ότι πρακτικά όλα τα φυσιολογικά και τα υπερπλαστικά εφεδρικά κύτταρα παρουσίασαν θετική κυτταροπλασματική χρώση για τον Επίτοπο Η και σε χαμηλή έκφραση και πυρηνική χρώση. Όσον αφορά στο πρότυπο της κυτταροπλασματικής χρώσης, αυτό συνίστατο σε μία διάχυτη κυτταροπλασματική χρώση, με μία κάπως πιο έντονη περιπυρηνική χρώση σε ένα υποσύνολο κυττάρων. Τα εφεδρικά κύτταρα που παρουσίασαν επιπλέον της κυτταροπλασματικής και πυρηνική χρώση, έδειξαν μία διάχυτη πυρηνική χρώση, που ήταν ηπιότερης έντασης, σε σχέση με την αντίστοιχη κυτταροπλασματική χρώση κάθε κυττάρου. Διαδοχικές τομές που βάφθηκαν για την κερατίνη 8, έδειξαν παντελή απουσία της κερατίνης 8 στα φυσιολογικά και υπερπλαστικά εφεδρικά κύτταρα. Το εύρημα αυτό δείχνει ότι στα φυσιολογικά και υπερπλαστικά εφεδρικά κύτταρα, υπάρχει πολυπεπτίδιο ή υπάρχουν πολυπεπτίδια που φέρουν τον Επίτοπο Η σε μεγάλη συγκέντρωση στο κυτταρόπλασμα και σε μικρότερη συγκέντρωση στον πυρήνα και ότι στα πολυπεπτίδια αυτά δεν περιλαμβάνεται η

κερατίνη 8. Οι κερατίνες που είναι γλυκοζυλιωμένες με το σάκχαρο N-ακετυλογλυκοζαμίνη, είναι οι κερατίνες 8, 13 και 18. Η κερατίνη 18 από προηγούμενες εργασίες είναι γνωστό ότι δεν περιέχει τον Επίτοπο Η. Η κερατίνη 13 έχει αναφερθεί σε προηγούμενες εργασίες, αν και υπάρχουν και αντίθετες απόψεις, ότι είναι παρούσα μερικές φορές στα εφεδρικά κύτταρα. Αυτό μπορεί να την καταστήσει υποψήφια για ένα από τα πολυπεπτίδια που φέρουν τον Επίτοπο Η. Σίγουρα όμως υπάρχουν και άλλα ή άλλο πολυπεπτίδιο, που φέρουν ή φέρει τον Επίτοπο Η στα εφεδρικά κύτταρα, δεδομένου ότι ένα υποσύνολο εφεδρικών κυττάρων παρουσιάζει θετική πυρηνική χρώση για τον Επίτοπο Η. Για την ταυτοποίηση του πολυπεπτιδίου ή των πολυπεπτιδίων που φέρουν τον Επίτοπο Η απαιτείται η χρήση της μεθόδου των ανοσοαποτυπωμάτων (western-blot immunoblot). Η συμβολή αυτής της διατριβής, είναι ότι δείχνει πως όντως τα φυσιολογικά και υπερπλαστικά εφεδρικά κύτταρα διαθέτουν σε υψηλή συγκέντρωση τον Επίτοπο Η, που μπορεί να εντοπίζεται σε ένα ή περισσότερα πολυπεπτίδια.

Όσον αφορά στην έκφραση του Επίτοπου Η στα κύτταρα της άωρης πλακώδους μεταπλασίας μπορεί να αναφερθούν τα ακόλουθα: πρακτικά όλα τα κύτταρα της άωρης πλακώδους μεταπλασίας παρουσίασαν θετική κυτταροπλασματική χρώση για τον Επίτοπο Η και σε μία πολύ μικρή ποσοστιαία αναλογία (κάτω από 5%) επιπρόσθετα και πυρηνική χρώση, με αποτέλεσμα υψηλή κυτταροπλασματική έκφραση του Επίτοπου Η στα κύτταρα της άωρης πλακώδους μεταπλασίας, με επιπρόσθετη πολύ χαμηλή πυρηνική έκφραση. Όσον αφορά στα ποιοτικά χαρακτηριστικά της χρώσης, αυτή είναι μία διάχυτη κυτταροπλασματική χρώση και μια διάχυτη πυρηνική χρώση, με την τελευταία να είναι πολύ ηπιότερη σε ένταση, σε σχέση με την αντίστοιχη κυτταροπλασματική χρώση κάθε κυττάρου. Διαδοχικές τομές που βάφηκαν για την κερατίνη 8, έδειξαν παντελή απουσία της κερατίνης 8 στα κύτταρα της άωρης πλακώδους μεταπλασίας. Το εύρημα αυτό δείχνει ότι στα κύτταρα της άωρης πλακώδους μεταπλασίας, υπάρχει πολυπεπτίδιο ή πολυπεπτίδια που φέρει ή φέρουν τον Επίτοπο Η, σε μεγάλη συγκέντρωση και ότι σε αυτά δεν συγκαταλέγεται η κερατίνη 8. Είναι γνωστό από προηγούμενες μελέτες, ότι η άωρη πλακώδης μεταπλασία αποτελεί εξέλιξη της υπερπλασίας των εφεδρικών κυττάρων. Γι' αυτό ίσως δεν αποτελεί έκπληξη το γεγονός της σχεδόν ταυτόσημης έκφρασης του Επίτοπου Η στα εφεδρικά και στα άωρα πλακώδη κύτταρα της άωρης πλακώδους μεταπλασίας. Θα είναι πολύ ενδιαφέρον να δειχθεί μελλοντικά, με την μέθοδο των ανοσοαποτυπωμάτων, αν αλλάζει ποσοτικά ή ποιοτικά το προφίλ των πολυπεπτιδίων που φέρουν τον Επίτοπο Η από τα εφεδρικά στα άωρα πλακώδη κύτταρα.

Όσον αφορά την έκφραση του Επίτοπου Η στα κύτταρα του ώριμου πλακώδους μη κερατινοποιημένου επιθηλίου μπορεί να συζητηθούν τα ακόλουθα: κατ' αρχάς το ώριμο πλακώδες μη κερατινοποιημένο επιθήλιο διαφέρει από το άωρο πολύστοιβο μη κερατινοποιημένο επιθήλιο σε δύο βασικά χαρακτηριστικά:

1. ως προς την διάταξη των στοιβάδων, δηλαδή το ώριμο πλακώδες επιθήλιο διαθέτει μια σαφή βασική στοιβάδα, μία σαφή παραβασική στοιβάδα, μία ενδιάμεση και μία επιφανειακή ή επιπολής στοιβάδα.

Κάθε μία από τις παραπάνω στοιβάδες, περιέχει κύτταρα με ιδιαίτερα χαρακτηριστικά, που προσδίδουν μια σαφή στοιβαδωτή εικόνα στο ώριμο μη κερατινοποιημένο επιθήλιο, ενώ το άωρο πολύστοιβο πλακώδες επιθήλιο έχει μία ασαφή πολύστοιβη εικόνα πλακωδών πολύγωνων κυττάρων.

2. τα κύτταρα της ενδιάμεσης και της επιφανειακής στοιβάδας του ώριμου πλακώδους μη κερατινοποιημένου επιθηλίου διαθέτουν άφθονο γλυκογόνο στο κυτταρόπλασμά τους, ενώ τα κύτταρα του άωρου πλακώδους επιθηλίου στερούνται γλυκογόνου.

Τα κύτταρα της βασικής στοιβάδας στην συντριπτική τους πλειοψηφία παρέμειναν αρνητικά για τον Επίτοπο Η. Πολύ λίγα κύτταρα παρουσίασαν θετική κυτταροπλασματική χρώση για τον Επίτοπο Η, που ήταν ή διάχυτη κυτταροπλασματική ή ήταν συγκεντρωμένη προς την βασική πλευρά του κυτταροπλάσματος απέναντι από την βασική μεμβράνη. Η τελευταία χρώση μπορεί να οφείλεται στην χρώση πολυπεπτιδίων του ημιδεσμοσώματος, καθ' ότι σε προηγούμενες μελέτες καρκινωμάτων του μαστού, με την βοήθεια κολλοειδούς χρυσού σε επίπεδο ηλεκτρονικού μικροσκοπίου, παρατηρήθηκε εντόπιση του Επίτοπου Η σε στοιχεία ημιδεσμοσωμάτων (S.Havaki et al.2003). Διαδοχικές τομές που βάφηκαν για την κερατίνη 8 έδειξαν ότι τα κύτταρα όλων των στοιβάδων του ώριμου μη κερατινοποιημένου πλακώδους επιθηλίου παρέμειναν αρνητικά για την κερατίνη 8. Έτσι σε καμία περίπτωση δεν μπορεί να αποδοθεί η χρώση του Επίτοπου Η στην παρουσία κερατίνης 8 στο ώριμο πλακώδες επιθήλιο. Τα παραβασικά κύτταρα δηλαδή τα κύτταρα της δεύτερης και τρίτης στοιβάδας πάνω από την βασική στοιβάδα παρέμειναν αρνητικά για τον Επίτοπο Η. Όπως προαναφέρθηκε εκτός της κερατίνης 8 και οι κερατίνες 13 και 18 είναι γλυκοζυλιωμένες, με το σάκχαρο N-ακετυλογλυκοζαμίνη, αλλά είναι γνωστό ότι η κερατίνη 18 δεν σχηματίζει τον Επίτοπο Η. Μελέτες έχουν δείξει ότι τα παραβασικά κύτταρα φέρουν την κερατίνη 13 όπως και τα κύτταρα της ενδιάμεσης και επιφανειακής στοιβάδας του ώριμου πλακώδους επιθηλίου. Η απουσία του Επίτοπου Η στα παραβασικά κύτταρα, δηλώνει ότι η κερατίνη 13 δεν φέρει τον Επίτοπο Η στα παραβασικά κύτταρα. Όπως προαναφέρθηκε, μερικές εργασίες δείχνουν ότι τα εφεδρικά κύτταρα και τα κύτταρα της άωρης πλακώδους μεταπλασίας φέρουν την κερατίνη 13. Με βάση αυτά τα ευρήματα, μπορούμε να υποθέσουμε ότι είτε η χρώση του Επίτοπου Η στα εφεδρικά κύτταρα και στα άωρα πλακώδη κύτταρα δεν οφείλεται στην κερατίνη 13 είτε ότι η κερατίνη 13 φέρει τον Επίτοπο Η στα εφεδρικά και στα άωρα πλακώδη κύτταρα, αλλά όχι στα παραβασικά κύτταρα. Το πιθανότερο σενάριο είναι το πρώτο από τα δύο παραπάνω, αλλά για την πλήρη απάντηση στις δύο παραπάνω δυνατότητες απαιτείται η μελλοντική χρήση της μεθόδου των ανοσοαποτυπωμάτων. Αν λάβουμε όμως υπ' όψιν ότι τα εφεδρικά κύτταρα και τα παραβασικά κύτταρα έχουν παρόμοια μορφολογία, μπορεί η παρουσία του Επίτοπου Η στο κυτταρόπλασμα των εφεδρικών κυττάρων να αποτελέσει έναν δείκτη αναγνωρίσεώς τους και διάκρισής τους από τα παραβασικά κύτταρα του ωρίμου πλακώδους επιθηλίου. Τα κύτταρα της ενδιάμεσης και ε-



πιφανειακής στοιβάδας του ώριμου πλακώδους επιθηλίου παρουσίασαν έντονη κυτταροπλασματική χρώση για τον επίτοπο Η. Οι περιοχές του γλυκογόνου παρέμειναν αρνητικές, με αποτέλεσμα την παρουσία διαυγών περιπυρηνικών περιοχών κυτταροπλάσματος, η έκταση των οποίων ήταν ανάλογη με το ποσό εναπόθεσης του γλυκογόνου. Το τελικό συμπέρασμα είναι ότι ο Επίτοπος Η αποτελεί έναν δείκτη ωρίμανσης του ώριμου πλακώδους επιθηλίου. Όσον αφορά τα μεσεγχυματικά στοιχεία του τραχήλου της μήτρας, τα ενδοθηλιακά κύτταρα τόσο του βλεννογόνου, όσο και των ενδοτραχηλικών πολυπόδων, έδειξαν έντονη κυτταροπλασματική χρώση για τον Επίτοπο Η. Οι ινοβλάστες (ινοκύτταρα) του στρώματος του βλεννογόνου παρέμειναν αρνητικοί για τον Επίτοπο Η, αν και σπάνια στρωματικά κύτταρα παρουσίασαν κάποια θετικότητα, που μπορεί αυτά τα κύτταρα να ήταν στην πραγματικότητα ενδοθηλιακά κύτταρα τριχοειδών, που κόπηκαν λοξά, με αποτέλεσμα να μην φαίνεται ο αυλός τους. Το εύρημα σπανίων θετικών κυττάρων μέσα στο στρώμα του φυσιολογικού βλεννογόνου του τραχήλου, δεν αλλάζει την βασική παρατήρηση ότι η συντριπτική πλειοψηφία των στρωματικών ινοβλαστών ινοκυττάρων παρέμεινε αρνητική για τον Επίτοπο Η. Όσον αφορά τους ινοβλάστες των ενδοτραχηλικών πολυπόδων, αυτοί έδειξαν διάχυτη έντονη κυτταροπλασματική χρώση, εύρημα που σημαίνει ότι γίνεται επαγωγή του Επίτοπου Η στους ινοβλάστες των ενδοτραχηλικών πολυπόδων. Ένας παράγοντας που μπορεί να προκαλεί την επαγωγή του Επίτοπου Η, είναι η παρουσία φλεγμονωδών κυττάρων στους πολύποδες και η έκκριση από αυτά κυτοκινών που επάγουν την παραγωγή ή την γλυκοζυλίωση πολυπεπτιδίου ή πολυπεπτιδίων και την δημιουργία του Επίτοπου Η.



## ΠΕΡΙΛΗΨΗ ΚΑΙ ΤΕΛΙΚΑ ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

### ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗΣ ΔΙΑΤΡΙΒΗΣ ΙΑΤΡΟΥ ΜΑΙΕΥΤΗΡΑ-ΓΥΝΑΙΚΟΛΟΓΟΥ ΦΩΤΙΟΥ ΑΡΑΠΗ

**Μελέτη της έκφρασης του γλυκοζυλιωμένου με O-N-ακετυλογλυκοζαμίνη Επίτοπου Η στα φυσιολογικά, υπερπλαστικά και μεταπλαστικά κύτταρα του τραχήλου της μήτρας.**

Ο σκοπός αυτής της διατριβής είναι η μελέτη της έκφρασης του γλυκοζυλιωμένου με O-N-ακετυλογλυκοζαμίνη Επίτοπου Η στα φυσιολογικά, υπερπλαστικά και μεταπλαστικά κύτταρα του τραχήλου της μήτρας. Το υλικό αυτής της διατριβής αποτελείται από εξήντα (60) δείγματα ενδοτραχηλικών ξεσμάτων, μέσα στα οποία βρέθηκαν και δεκαπέντε (15) μικροί ενδοτραχηλικοί πολύποδες. Η μέθοδος που χρησιμοποιήθηκε είναι αυτή της έμμεσης ανοσοϋπεροξειδάσης, με τη χρήση του μονοκλωνικού αντισώματος Η ποντικού, της τάξης IgM. Η βαθμολογία της έκφρασης του Επίτοπου Η έγινε ως εξής: 1) Αρνητική έκφραση, όταν όλα τα κύτταρα είναι αρνητικά. 2) Πολύ χαμηλή έκφραση, όταν λιγότερα από το 5% των κυττάρων είναι θετικά. 3) Χαμηλή έκφραση όταν το 5-30% των κυττάρων είναι θετικά. 4) Μέτρια έκφραση όταν το 31-75% των κυττάρων είναι θετικά. 5) Υψηλή έκφραση όταν περισσότερα από το 75% των κυττάρων είναι θετικά.

Τα αποτελέσματα έχουν ως εξής:

1. Τα βλεννοπαραγωγά εκκριτικά κύτταρα του ενδοτραχηλικού βλεννογόνου παρουσίασαν πολύ χαμηλή έκφραση του Επίτοπου Η στο 100% των περιπτώσεων.
2. Τα βλεννοπαραγωγά εκκριτικά κύτταρα των ενδοτραχηλικών πολυπόδων παρουσίασαν χαμηλή έκφραση του Επίτοπου Η στο 100% των περιπτώσεων.
3. Τα μη -βλεννοπαραγωγά εκκριτικά κύτταρα παρουσίασαν υψηλή έκφραση του Επίτοπου Η στο 100% των περιπτώσεων.
4. Τα κροσσωτά κύτταρα παρουσίασαν υψηλή έκφραση του Επίτοπου Η στο 100% των περιπτώσεων.
5. Τα φυσιολογικά εφεδρικά κύτταρα παρουσίασαν υψηλή έκφραση του Επίτοπου Η στο 100% των περιπτώσεων.
6. Τα υπερπλαστικά εφεδρικά κύτταρα παρουσίασαν υψηλή έκφραση του Επίτοπου Η στο 100% των περιπτώσεων.
7. Τα κύτταρα της άωρης πλακώδους μεταπλασίας παρουσίασαν υψηλή έκφραση του Επίτοπου Η στο 100% των περιπτώσεων.
8. Τα κύτταρα του ώριμου πλακώδους μη κερατινοποιημένου επιθηλίου παρουσίασαν τις ακόλουθες εκφράσεις του Επίτοπου Η: τα κύτταρα της βασικής στοιβάδας παρουσίασαν πολύ χαμηλή έκφραση, τα κύτταρα της παραβασικής στοιβάδας αρνητική έκφραση και τα κύτταρα της ενδιάμεσης και επιφανειακής στοιβάδας υψηλή έκφραση στο 100% των περιπτώσεων.

9. Τα ενδοθηλιακά κύτταρα του βλεννογόνου και των ενδοτραχηλικών πολυπόδων παρουσίασαν υψηλή έκφραση του Επίτοπου Η στο 100% των περιπτώσεων.
10. Οι ινοβλάστες/ινοκύτταρα του ενδοτραχηλικού βλεννογόνου παρουσίασαν αρνητική έκφραση του Επίτοπου Η στο 100% των περιπτώσεων.
11. Οι ινοβλάστες των ενδοτραχηλικών πολυπόδων παρουσίασαν υψηλή έκφραση του Επίτοπου Η στο 100% των περιπτώσεων.

## SUMMARY AND FINAL CONCLUSIONS

**DOCTORATE THESIS Ph.D, BY OBSTETRICIAN AND GYNECOLOGIST  
FOTIOS ARAPIS,**

TITLE:

**Study of the O-linked N-acetylglucosamine containing epitope H in normal, hyperplastic and metaplastic cells of the human uterine cervix.**

The purpose of this Doctorate Thesis (Ph.D) is the investigation of the expression of the O-linked N -acetylglucosamine containing epitope H, in normal, hyperplastic and metaplastic cells in human uterine cervixes. The materials of this study consisted of sixty (60) specimens of endocervical curettings, fifteen (15) of which contained small endocervical polyps in addition to endocervical mucosa. The indirect immunoperoxidase method was used for the identification of the epitope H in the formaline fixed parafin embedded tissues. The primary mouse IgM monoclonal antibody H was used, which by definition recognises the epitope H. Epitope H contains the sugar residue N-acetylglucosamine in O-linked position with the hydroxyl groups of either serine or threonine aminoacids in a specific conformation and or/environment in the polypeptide chain. This means that the IgM antibody H recognises a sub-population of polypeptides which are glycosylated with O-linked N -acetylglucosamine. The gradation of the expression of the epitope H is as follows: Negative expression, when all cells remained negative for the epitope H. Very low expression when less than 5% of the cells were positive for the epitope H. Low expression when 5-30% of the cells were positive for the epitope H. Moderate expression when 31-75% of the cells were positive for the epitope H and high expression when more than 75% of the cells were positive for the epitope H.

The results are as follows:

1. The mucin secreting cells of the endocervical mucosa showed very low expression of the epitope H, in 100% of the cases.
2. The mucin secreting cells of the endocervical polyps showed low expression of the epitope H, in 100% of the cases.
3. The non -mucin secreting secretory cells showed high expression of the epitope H, in 100% of the cases.
4. The ciliated cells showed high expression of the epitope H, in 100% of the cases.
5. The normal reserve cells showed high expression of the epitope H, in 100% of the cases.

6. The hyperplastic reserve cells showed high expression of the epitope H, in 100% of the cases.
7. The cells of the immature squamous metaplasia showed high expression of the epitope H, in 100% of the cases.
8. The cells of the mature non -keratinizing squamous epithelium showed the following expressions of the epitope H: the cells of the basal layer showed very low expression, the parabasal cells showed negative expression, and the cells of the intermediate and superficial layers showed high expression of the epitope H in 100% of the cases.
9. The endothelial cells of the uterine mucosa and of the endocervical polyps showed high expression of the epitope H, in 100% of the cases.
10. The fibroblasts/fibrocytes cells of the cervical mucosa showed negative expression of the epitope H, in 100% of the cases.
11. The fibroblasts of the endocervical polyps showed high expression of the epitope H, in 100% of the cases.

## BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- ΠΑΘΟΛΟΓΟΑΝΑΤΟΜΙΚΗ ΒΑΣΗ ΤΩΝ ΝΟΣΗΜΑΤΩΝ ΜΕ ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΠΑΘΟΓΕΝΕΙΑΣ Robbins & Cotran
  - ΙΑΤΡΙΚΗ ΕΜΒΡΥΟΛΟΓΙΑ Langman's
  - ΑΝΑΤΟΜΙΑ Α.Αγίου
1. E.B. Arias, J. Kim, G.D. Cartee. Prolonged incubation in PUGNAc results in increased protein O-linked glycosylation and insulin resistance in rat skeletal muscle. *Diabetes* 53 (2004) 921-930.
  2. Arvanitis DL, Kouklis P, Mori de Moro G, Goutas N, Kittas C and Szuchet S (1995). Immunostaining of ductal breast carcinomas with the monoclonal antibody H. *Oncol Rep* 2, 991-995.
  3. Arvanitis DL, Stavridou AL, Mori de Moro G and Szuchet S (2001). Reactive astrocytes upregulate one or more gene products that are recognized by monoclonal antibody H. *Cell Tissue Res* 304, 11-19.
  4. Arvanitis DL, Arvanitis LD, Panourias IG, Kitsoulis P and Kanavaros P (2005a). Mitochondria-rich normal, metaplastic and neoplastic cells show overexpression of the epitope H recognized by the monoclonal antibody H. *Pathol Res Pract* 21, 319 -324.
  5. Arvanitis DL, Arvanitis LD, Panourias IG, Kitsoulis P and Kanavaros P (2005b). The expression of the epitope H recognized by the monoclonal antibody H is higher in astrocytomas compared to anaplastic astrocytomas and glioblastomas. *Histol Histopathol* 20, 1057-1063.
  6. Arvanitis L.D, VassiouK., Kotrotsios A., Sgantzos M., (2010). Hypoxia up-regulates the expression of the o-linked N-acetylglygozamine containing epitope H in human ependimal cells.
  7. A M.G, Buse, K.A. Robinson, B.A. Marshall, R.C. Hresko, MM. Mueckler, Enhanced O-GlcNAc protein modification is associated with insulin resistance in GLUT1-overexpressing muscles, *Am. J. Physiol: Endocrinol. Metab.* 283 (2002) E241-E250.
  8. X. Cheng, R.N. Cole, J. Zaia, G.W. Hart, Alternative O-glycosylation/O-phosphorylation of the murine estrogen receptor beta, *Biochemistry* 39 (2000) 11609-11620.
  9. X. Cheng, G.W. Hart, Alternative O-glycosylation/O-phosphorylation of serine-16 in murine estrogen receptor beta: post-translational regulation of turnover and transactivation activity, *J. Biol. Chem.* 276 (2001) 10570-10575
  10. T.-Y. Chou, G.W. Hart, C.V. Dang, c-Myc is glycosylated at threonine 58, a known phosphorylation site and a mutational hot spot in lymphomas, *J. Biol. Chem.* 270 (32) (1995) 18961-18965.

11. C.-F. Chou, A.J. Smith. M.B. Omary, Characterization and dynamics of O-linked glycosylation of human cytokeratin 8 and 18, *J. Biol. Chem.* 267 (1992) 3901-3906.
12. C.-F. Chou, M.B. Omary, Mitotic arrest-associated enhancement of O-linked glycosylation and phosphorylation of human keratins 8 and 18, *J. Biol. Chem.* 268 (1993) 4465-4472.
13. X.L. Du, D. Edelstein, L. Rossetti, I.G. Fantus, H. Goldberg, F. Ziyadeh, J. Wu, M. Brownlee. Hyperglycemia-induced mitochondrial superoxide overproduction activates the hexosamine pathway and induces plasminogen activator inhibitor-1 expression by increasing Sp1 glycosylation, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 97 (2000) 12222-12226
14. X.L. Du, D. Edenstein, S. Dimmeler, Q. Ju, C. Sui, M. Brownlee, Hyperglycemia inhibits endothelial nitric oxide synthase activity by posttranslational modification at the Akt site, *J. Clin. Invest.* 108 (2001) 1341-1348.
15. Y. Gao, L. Wells, F.I. Comer, G.J. Parker, G.W. Hart, Dynamic O-glycosylation of nuclear and cytosolic proteins: cloning and characterization of a neutral, cytosolic beta-N-acetylglucosaminidase from human brain, *J. Biol. Chem.* 276 (2001) 9838-9845.
16. C. Guinez, J. Lemoine, J.C. Michalski, T. Lefebvre, 70-kDa-heat shock protein presents an adjustable lectinic activity towards O-linked N-acetylglucosamine, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 319 (2004) 21-26.
17. C. Guinez, W. Morelle. J.C. Michalski, T. Lefebvre, O-GlcNAc glycosylation: a signal for the nuclear transport of cytosolic proteins? *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 37 (2005) 765-774.
18. R.S. Haltiwanger, M.A. Blomberg, G.W. Hart, Glycosylation in the cytoplasm and the nucleus: purification and characterization of the O-GlcNAc transferase, *Glycoconjugate J.* 8 (1991) 212 (0).
19. R.S. Haltiwanger, M.A. Blomberg, G.W. Hart, Glycosylation of nuclear and cytoplasmic proteins. Purification and characterization of a uridine diphospho-N-acetylglucosamine: polypeptide beta-N-acetylglucosaminyltransferase, *J. Biol. Chem.* 267 (1992) 9005-9013.
20. R.S. Haltiwanger, K. Grove, G.A. Philipsberg, Modulation of O-linked N-acetylglucosamine levels on nuclear and cytoplasmic proteins in vivo using the peptide O-GlcNAc-beta-N-acetylglucosaminidase inhibitor O - (2 - acetamido - 2 - deoxy - D - gluco-pyranosylidene) amino-N-phenylcarbamate, *J. Biol. Chem.* 273 (1998) 3611-3617.
21. A I. Han, J.E. Kudlow, Reduced O glycosylation of Sp 1 is associated with increased proteasome susceptibility, *Mol. Cell Biol.* 17 (1997) 2550-2558
22. J.A. Hanover, C.K. Cohen, M.C. Willingham, N-acetylglucosamine is attached to proteins of the nuclear pore. Evidence for cytoplasmic and nucleoplasmic glycoproteins, *J. Biol. Chem.* 262 (1987) 9887-9894.



23. Havaki S, Kittas C, Marines E, Dafni U, Sotiropoulou C, Voloudakis-Baltatzis I, -Goutas N, Vassilaros SD, Athanassiou E, and Arvanitis DL (2003). Ultrastructural immunostaining of infiltrating ductal breast carcinomas with the monoclonal antibody H: a comparative study with cytokeratin 8. *Ultrastructural Pathol* 27, 393-407.
24. G.D. Holt, G.W. Hart, The subcellular distribution of terminal *N*-acetylglucosamine moieties. Localization of a novel protein-saccharide linkage, O-linked GlcNAc, *J. Biol. Chem.* 261 (1986) 8049-8057.
25. G.D. Holt C.M. Snow, A. Senior, R.S. Haltiwanger, L, Gerace, G.W. Hart. Nuclear pore complex glycoproteins contain cytoplasmically disposed O-linked N-acetylglucosamine, *J. Cell Biol.* 104 (1987) 1157-1164
26. T..T. Hsieh, P. Fustier, S.L. Zhang, J.G. Filep, S.S. Tang, J.R. Ingelfinger, LG. Fantus, P. Hornet, J.S. Chan, High glucose stimulates angiotensinogen gene expression and cell hypertrophy via activation of the hexosamine biosynthesis pathway in rat kidney proximal tubular cells, *Endocrinology* 144 (2003) 4338-4349
27. S.P. Jackson T R. Tjian, O-glycosylation of eukaryotic transcription factors: implications for mechanisms of transcriptional regulation, *Cell* 55 (1988)125-133.
28. K. Kamemura. B.K. Hayes, F.I. Comer, G.W. Hart, Dynamic interplay between O-glycosylation and O-phosphorylation of nucleocytoplasmic proteins: alternative glycosylation/phosphorylation of THR-58, a known mutation! hot spot of c-Myc in lymphomas, is regulated by mitogens, *J. Biol. Chem.* 277 (2002) 19229-19235.
29. W.G. Kelly, M.E. Dahmus, G.W. Hart, RNA polymerase II is a glycoprotein. Modification of the COOH-terminal domain by O-GlcNAc, *J. Biol. Chem.* 268 (1993) 10416-10424.
30. T. Lefebvre, C. Cieniewski, J. Lemoine, Y. Guerardel, Y. Leroy, J.P. Zanetta, J.C. Michalski, Identification of N-acetyl-D-glucosamine -specific lectins from rat liver cytosolic and nuclear compartments as heat-shock proteins, *Biochem. J.* 360 (2001) 179-188.
31. D.C. Love, J. Kochan, R.L. Cathey, S.H. Shin, J.A. Hanover, Mitochondrial and nucleocytoplasmic targeting of O-linked GlcNAc transferase, *J. Cell Sci.* 116 (2003) 647-654.
32. J.A. Matthews, M. Acevedo-Duncan, R.L. Potter, Selective decrease of membrane-associated PKC-alpha and PKC-epsilon in response to elevated intracellular O-GlcNAc levels in transformed human glial cells, *Biochim Biophys Acta* 1743 (2005) 305-315
33. D.A. McClain, Hexosamines as mediators of nutrient sensing and regulation in diabetes, *J. Diabetes its Complicat.* 16 (2002) 72-80
34. I. Noyman. M. Mankovsky, S. Sasson, A.H. Stark, K. Bemath, R. Seger, Z. Madar. Hyperglycemia reduces nitric oxide synthase and glycogen synthase activity in endothelial cells, *Nitric Oxide* 7 (2002) 187-193.

35. M.K. Park, M. D'Onofrio, M.C. Willingham, J.A. Hanover, A monoclonal antibody against a family of nuclear pore proteins (nucleoporins): O-linked *N*-acetylglucosamine is part of the immunodeterminant, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 84 (1987) 6462-6466.
36. S. Y. Park, J. Ryu, W. Lee, O-GlcNAc modification on IRS-1 and Akt2 by PUGNAc inhibits their phosphorylation and induces insulin resistance in rat primary adipocytes, *Exp. Mol. Med.* 37 (2005) 220-229.
37. C.A. Pasternak, J.E. Aiyathurai, V. Makinde, A. Davies, S.A. Baldwin, E.M. Konieczko, C.C. Widnell, Regulation of glucose uptake by stressed cells, *J. Cell Physiol.* 149 (1991) 324-331.
38. M.E. Patti, A. Virkamaki, E.J. Landaker, C.R. Kahn, H. Yki-Jarvinen, Activation of the hexosamine pathway by glucosamine in vivo induces insulin resistance of early postreceptor insulin signaling events in skeletal muscle, *Diabetes* 48 (1999) 1562-1571.
39. Polyzos P, Arvanitis LD, Charchanti A, Galani V, Havaki S, Kallioras VA, Nakou M, Faros EG, Marines E, Sgantzios MN and Kittas C (2006). Decidualized and pre-decidualized normal endometrial stromal cells produce more O-linked *N*-acetylglucosamine containing epitope H than non-decidualized normal endometrial stromal cells. *Histol Histopathol* 21, 1193-1198
40. M.K. Ray, B. Datta, A. Chakraborty, A. Chattopadhyay, S. Meza-Keuthen, N.K. Gupta, The eukaryotic initiation factor 2-associated 67-kDa polypeptide (p67) plays a critical role in regulation of protein synthesis initiation in animal cells, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 89 (1992) 539-543.
41. Sgantzios MN, Polyzos P, Arvanitis LD, Charchanti A, Galani V, Havaki S, Kallioras VA, Nakou M, Faros EG, Marinos E, Sgantzios MN and Kittas C (2006). Expression of the O-linked *N*-acetylglucosamine containing epitope H in normal myometrium and uterine smooth muscle cell tumors. *Pathol Res Pract* 203, 31-37
42. C. Slawson, N.E. Zachara, K. Vosseller, W.D. Cheung, M.D. Lane, G.W. Hart, Perturbations in O-linked beta-*N*-acetylglucosamine protein modification cause severe defects in mitotic progression and cytokinesis, *J. Biol. Chem.* 280 (2005) 32944-32956
43. C.M. Snow, A. Senior, L. Gerace, Monoclonal antibodies identify a group of nuclear pore complex glycoproteins, *J. Cell Biol.* 104 (1987) 1143-1156
44. K.C. Sohn, K.Y. Lee, J.E. Park, S.I. Do, OGT functions as a catalytic chaperone under heat stress response: a unique defense role of OGT in hyperthermia, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 322 (2004) 1045-1051.
45. E.V. Sviderskaya, E. Jazrawi, S.A. Baldwin, C.C. Widnell, C.A. Pasternak, Cellular stress causes accumulation of the glucose transporter at the surface of cells independently of their insulin sensitivity, *J. Membr. Biol.* 149 (1996) 133-140.

46. A.P. Warren, M.H. James, D.E. Menzies, C.C. Widnell, P.A. Whitaker-Dowling, C.A. Pasternak, Stress induces an increased hexose uptake in cultured cells. *J. Cell. Physiol.* 128 (1986) 383-388.
47. L. Wells, Y. Gao, J.A. Mahoney, K. Vosseller, C. Chen, A. Rosen, G.W. Hart, Dynamic O-glycosylation of nuclear and cytosolic proteins further characterization of the nucleocytoplasmic beta-N-acetylglucosaminidase, *J. Biol. Chem.* 277 (2002) 1755-1761.
48. L. Wells, L.K. Kreppel, F.I. Comer, B.E. Wadzinski, G.W. Hart, O-GlcNAc transferase is in a functional complex with protein phosphatase 1 catalytic subunits, *J. Biol. Chem.* 279 (2004) 38466-38470.
49. K. Vosseller, L. Wells, M.D. Lane, G.W. Hart, Elevated nucleocytoplasmic glycosylation by O-GlcNAc results in insulin resistance associated with defects in Akt activation in 3T3-L1 adipocytes, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 99 (2002) 5313-5318.
50. X. Yang, K. Su, M.D. Roos, Q. Chang, A.J. Paterson, J.E. Kudlow, O-linkage of N-acetylglucosamine to Spl activation domain inhibits its transcriptional capability, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 98 (2001) 6611-6616.
51. N. E. Zachara, N. O'Donnell, W.D. Cheung, J.J. Mercer, J.D. Marth, G.W. Hart, Dynamic O-GlcNAc modification of nucleocytoplasmic proteins in response to stress. A survival response of mammalian cells. *J. Biol. Chem.* 279 (2004) 30133-30142.
52. N. E. Zachara, W.D. Cheung, G.W. Hart, O-GlcNAc, an essential post translational modification of nucleocytoplasmic proteins, *Curr. Org. Chem.* 8 (2004) 369-383.
53. N.E. Zachara. G.W Hart, O-GlcNAc a sensor of cellular state: the role of nucleocytoplasmic glycosylation in modulating cellular function in response to nutrition and stress, *Biochim. Biophys. Acta* 1673 (2004) 13-28.
54. F. Zhang, K. Su, X. Yang, D.B. Bowe, A.J. Paterson, J.E. Kudlow, O-GlcNAc modification is an endogenous inhibitor of the proteasome. *Cell* 15 (2003) 715-725.