

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ

ΜΑΙΕΥΤΙΚΗ ΚΑΙ ΓΥΝΑΙΚΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΒΙΟΛΟΓΙΑΣ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΚΥΤΤΑΡΟΓΕΝΕΤΙΚΗΣ ΚΑΙ ΜΟΡΙΑΚΗΣ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ

ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
«ΒΙΟΛΟΓΙΑ ΤΗΣ ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΗΣ»

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

ΩΟΘΗΚΙΚΗ ΡΥΘΜΙΣΗ
ΤΗΣ ΕΚΚΡΙΣΗΣ ΤΩΝ ΓΟΝΑΔΟΤΡΟΦΙΝΩΝ

ΙΩΑΝΝΑ Δ. ΒΟΥΛΓΑΡΙΔΗ
ΙΑΤΡΟΣ

ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΟΣ ΥΠΕΥΘΥΝΟΣ ΤΟΥ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑΤΟΣ
ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΙΩΑΝΝΗΣ Ε. ΜΕΣΣΗΝΗΣ

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

Επιβλέπων: Καθηγητής κ. ΙΩΑΝΝΗΣ Ε. ΜΕΣΣΗΝΗΣ

Μέλη: Κ.ΝΤΑΦΟΠΟΥΛΟΣ
Η. ΖΙΝΤΖΑΡΑΣ

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΡΟΛΟΓΟΣ.....	5
ΕΙΣΑΓΩΓΗ	6
ΑΡΝΗΤΙΚΟΣ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΣ ΠΑΛΙΝΔΡΟΜΗΣ ΑΛΛΗΛΟΥΘΜΙΣΗΣ.....	10
ΩΟΘΥΛΑΚΙΚΗ ΦΑΣΗ	11
ΣΤΕΡΟΕΙΔΕΙΣ ΟΡΜΟΝΕΣ	
-ΟΙΣΤΡΑΔΙΟΛΗ ΚΑΙ ΠΡΟΓΕΣΤΕΡΟΝΗ	11
ΜΗ ΣΤΕΡΟΕΙΔΗΣ ΟΡΜΟΝΕΣ	
-ΑΝΑΣΤΑΛΤΙΝΗ (INHIBIN).....	15
-ΑΚΤΙΒΙΝΗ (ACTIVIN)	18
-ΦΟΛΛΙΣΤΑΤΙΝΗ (FOLLISTATIN).....	19
-ΑΜΗ.....	21
ΩΧΡΙΝΙΚΗ ΦΑΣΗ.....	21
ΔΙΑΚΥΚΛΙΚΗ ΑΥΞΗΣΗ FSH	24
ΘΕΤΙΚΟΣ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΣ ΠΑΛΙΝΔΡΟΜΗΣ ΑΛΛΗΛΟΥΘΜΙΣΗΣ	27
Η ΥΠΟΘΑΛΑΜΙΚΗ ΟΡΜΟΝΗ GnRH.....	28
ΕΝΑΡΞΗ ΚΥΜΑΤΟΣ LH.....	33
ΔΙΑΡΚΕΙΑ ΚΑΙ ΛΗΞΗ ΚΥΜΑΤΟΣ LH	35
GnSAF	36
ΕΜΜΗΝΟΠΑΥΣΗ.....	42
ΔΙΑΤΑΡΑΧΗ ΜΗΧΑΝΙΣΜΩΝ ΠΑΛΙΝΔΡΟΜΗΣ ΑΛΛΗΛΟΥΘΜΙΣΗΣ.....	46
ΚΛΙΝΙΚΕΣ ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ.....	49
ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	50
ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	54
ABSTRACT.....	56
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	58

*στη μητέρα μου,
που με υπομονή είναι πάντα δίπλα μου ...*

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η παρούσα διπλωματική εργασία εκπονήθηκε στα πλαίσια του Προγράμματος Μεταπτυχιακών Σπουδών του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας με τίτλο «Βιολογία της Αναπαραγωγής» με επιστημονικό υπεύθυνο τον Καθηγητή Μαιευτική-Γυναικολογίας κ.Ι.Ε.Μεσσίνη κατά το ακαδημαϊκό έτος 2009-2010.

Αισθάνομαι την ανάγκη να ευχαριστήσω τον καθηγητή Μαιευτικής-Γυναικολογίας κ.Ι.Ε.Μεσσίνη, ο οποίος είναι ο επιβλέπων καθηγητής της εργασίας μου, για το ενδιαφέρον και το χρόνο που μου αφιέρωσε για επισημάνσεις και συμβουλές κατά τη συγγραφή του κειμένου αυτού.

Επίσης ευχαριστώ θερμά τον επίκουρο καθηγητή κ. Κ.Νταφόπουλο για τις πολύ χρήσιμες συμβουλές του. Ένα μεγάλο ευχαριστώ και στη γραμματειακή υποστήριξη του μεταπτυχιακού προγράμματος, Σοφία Καρυώτου και Γεωργία Κόκκα, για την πάντα πρόθυμη συνεργασία και προσφορά πολύτιμης βοήθειας.

Η συγγραφή της παρούσας διπλωματικής θα ήταν αδύνατη αν δεν είχα την απόλυτη κατανόηση και ανοχή της Διευθύντριας του Μικροβιολογικού Εργαστηρίου Γ.Ν.Γιαννιτών κ.Ρ.Ζηλίδου-Μανσουρί καθώς και όλων των γιατρών του τμήματος.

Κλείνοντας θα ήθελα να ευχαριστήσω τους γονείς μου, οι οποίοι υπήρξαν πάντα υποστηρικτές σε κάθε μου επιλογή και σημαντικό στήριγμα σε κάθε δυσκολία, τον Θάνο Παπακώστα και την οικογένεια του για την ηθική υποστήριξη και την κατανόηση τους, καθώς και όλους τους πολύ καλούς μου φίλους που με υπέμειναν και με βοήθησαν σ'αυτή τη προσπάθεια.

Λάρισα, Σεπτέμβριος 2010

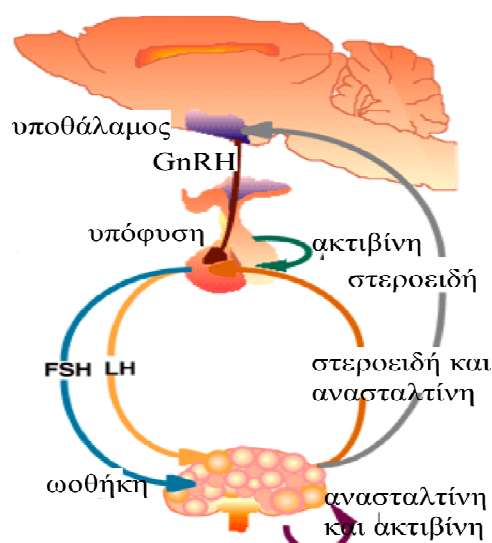
Ιωάννα Δ. Βουλγαρίδη

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Το γυναικείο αναπαραγωγικό σύστημα έχει ως κύριο σκοπό την εξυπηρέτηση της αναπαραγωγής μέσω της έκκρισης ορμονών και της παραγωγής ώριμων ωοκυττάρων ικανών για γονιμοποίηση. Η ωθήκη παρουσιάζει κυκλική δραστηριότητα, ώστε ένα ωοκύτταρο να ωριμάζει και να απελευθερώνεται κάθε φορά ανά εμμηνορυσιακό κύκλο, σε αντίθεση με το ανδρικό γεννητικό σύστημα που παρουσιάζει σταθερή δραστηριότητα των όρχεων και παραγωγή όχι ενός αλλά εκατομμυρίων σπερματοζωαρίων.

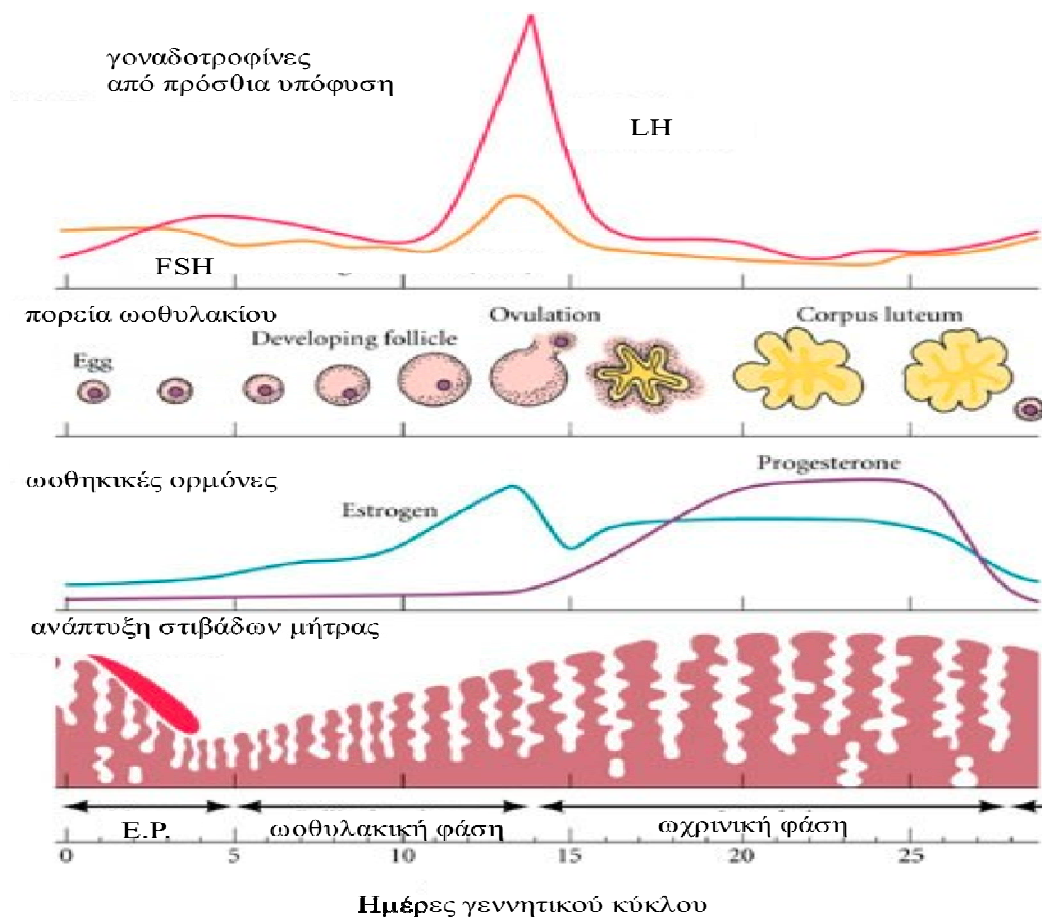
Η κυκλικά περιοδική λειτουργία του αναπαραγωγικού συστήματος βασίζεται σε αλλαγές στην παραγωγή των ορμονών που συμμετέχουν στον γεννητικό κύκλο. Μια πολύπλοκη διαδικασία στην οποία απαιτείται ωρίμανση, σωστή λειτουργία και αλληλεπίδραση των γονάδων, του αναπαραγωγικού συστήματος, της υπόφυσεως, του υποθαλάμου και όλων των ενδοκρino-νευρολογικών μηχανισμών που ελέγχουν την έκκριση γοναδοτροφινών και ωοθυλακικών ορμονών (Gurta, 1977). Ο υποθάλαμος, η υπόφυση και οι ωθήκες αποτελούν σύστημα αλληλορρύθμισης, γνωστό ως άξονας (εικ 1). Η παραγωγή ορμονών από τα όργανα αυτά, η οποία ποικίλει ανάλογα με τη φάση του εμμηνορυσιακού κύκλου, μέσω θετικής και αρνητικής παλίνδρομης αλληλορρύθμισης καθορίζει το ορμονικό προφίλ ενός φυσιολογικού γεννητικού κύκλου.

Έτσι λοιπόν ο υποθάλαμος εκκρίνει από συγκεκριμένους νευρώνες ανασταλτικούς και διεγερτικούς παράγοντες οι οποίοι δρουν στην υπόφυση. Αυτή με τη σειρά της εκκρίνει ορμόνες, τις γοναδοτροπίνες, που δρουν τόσο στον υποθάλαμο όσο και στις ωθήκες, ενώ τα προϊόντα των ωοθηκών, στεροειδή και μη, δρουν σε υπόφυση και υποθάλαμο.



εικ 1: Άξονας υποθαλάμου-υπόφυσης-ωοθηκών (προσαρμοσμένο από <http://groups.molbiosci.northwestern.edu/mayo/lab>)

Έτσι μέσω των μηχανισμών παλίνδρομης αλληλορρύθμισης, είτε θετικών είτε αρνητικών, επιτυγχάνεται η ποσότητα και η αναλογία εκείνη των ορμονών που είναι απαραίτητες για τη φυσιολογική διαδοχή των γεγονότων στους γεννητικούς κύκλους και την επαναληψιμότητα αυτών. Συνοπτικά λοιπόν, ένας γεννητικός κύκλος, η πρώτη μέρα του οποίου ορίζεται ως η πρώτη της εμμήνου ρύσεως (Ε.Ρ.) και έχει διάρκεια φυσιολογικά από 22 έως 35 μέρες, διαιρείται στην ωοθυλακική φάση και στην ωχρινική με διαχωριστικό σημείο μεταξύ τους την ωοθυλακιόρρηξη. Καθόλη τη διάρκεια του κύκλου, με σειρά, έχουμε την εμφάνιση Ε.Ρ., την στρατολόγηση ωοθυλακίων, την επιλογή και την ωρίμανση του κυρίαρχου ωοθυλακίου, την ωοθυλακιόρρηξη, το σχηματισμό του ωχρού σωματίου και την ωχρινόλυση (εικ 2). Τα γεγονότα αυτά, εκτός διαταραχής, αλληλοδιαδέχονται και επαναλαμβάνονται με την ίδια σειρά.



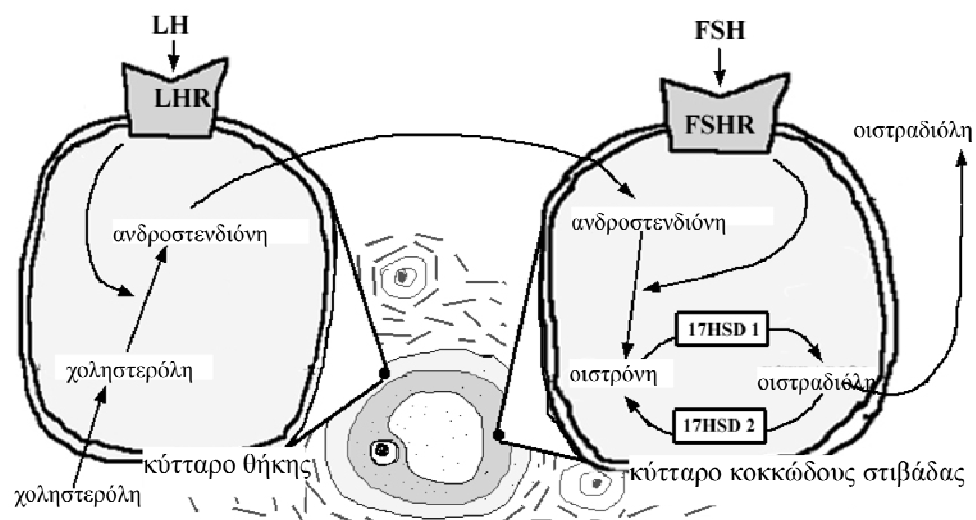
εικ 2: Αλλαγές κατά τη διάρκεια ενός γεννητικού κύκλου (προσαρμοσμένο από <https://courses.stu.qmul.ac.uk>)

Η υποθαλαμική ορμόνη η οποία παρουσιάζει βασική σημασία για την αναπαραγωγική λειτουργία είναι η GnRH (Μεσσήνης 2005, σελ 15), η οποία συντίθεται σε νευρώνες, οι άξονες των οποίων καταλήγουν στο πυλαίο φλεβικό δίκτυο της μέσης προεξοχής και στο μίσχο της υπόφυσης. Από εκεί η GnRH μεταφέρεται στα γοναδοτρόφα

κύτταρα της πρόσθιας υπόφυσεως και μέσω G υποδοχέων ασκεί τη δράση της. Συντίθεται ως μεγάλη προ-ορμόνη 92 αμινοξέων εκ των οποίων μόνο τα 10 αποτελούν τελικά την ορμόνη σε μορφή 2β στροφής. Στους ενήλικες η έκκριση της γίνεται με παλμικό τρόπο με 1 ώση ανά 90 λεπτά περίπου στην πρώιμη ωοθυλακική φάση κατά την Ε.Ρ. και ανά 4 περίπου ώρες στην ωχρινική, ενώ σε νήπια και έφηβες πραγματοποιείται με διαφορετικό ρυθμό. Η δράση της αφορά τη ρύθμιση της σύνθεσης και έκκρισης γοναδοτροφινών από την υπόφυση ανάλογα με το μοτίβο (πλάτος και συχνότητα) των ώσεων.

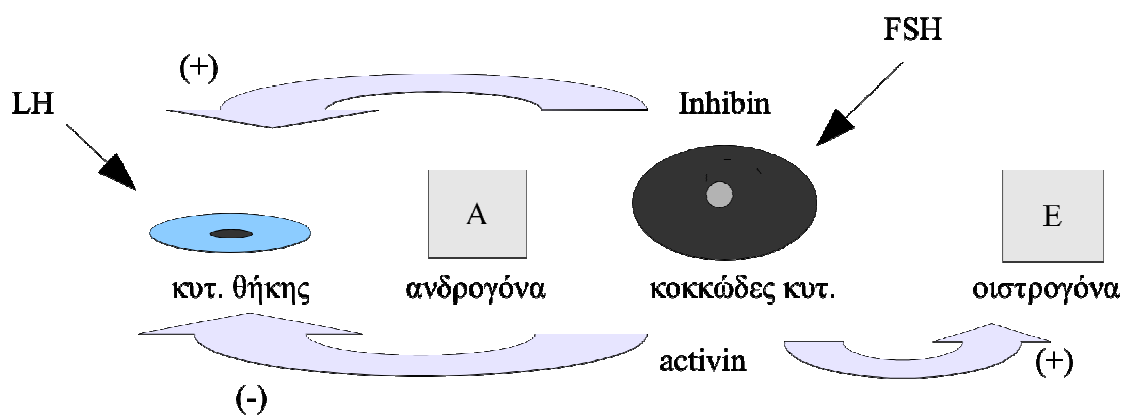
Οι γοναδοτροφίνες αποτελούνται από α και β υπομονάδες με την α να είναι κοινή σε FSH, LH, HCG και TSH ενώ η β παρουσιάζει λειτουργική ειδικότητα. Η FSH και LH ελέγχουν την παραγωγή αρρένων και θήλεων γαμετών και ωοθηκικών ορμονών, στεροειδών και μη.

Η στεροειδογένεση πραγματοποιείται στις ωθήκες οι οποίες λειτουργούν ως αδένες παράγοντας οιστρογόνα και προγεστερόνη και βασίζεται στη θεωρία των “2 κυττάρων - 2 ορμονών” (εικ 3). Έτσι λοιπόν απαιτείται η συνεργασία των κυττάρων της έσω θήκης και της κοκκώδους στιβάδας. Τα μεν πρώτα διαθέτουν υποδοχείς LH μέσω της δράσης της οποίας, με πρώτη ύλη τη χοληστερόλη της κυκλοφορίας, διεγείρεται η παραγωγή ανδρογόνων τα οποία μεταφέρονται στα κοκκώδη κύτταρα. Αυτά διαθέτουν υποδοχείς FSH υπό την επίδραση της οποίας και με τη δράση του ενζύμου αρωματάση τα ανδρογόνα αρωματοποιούνται σε οιστρογόνα. Τα κύρια οιστρογόνα της ωθήκης είναι η οιστραδιόλη (E_2) και η οιστρόνη (E_1), ενώ η οιστριόλη αποτελεί μεταβολικό προϊόν των άλλων δύο. Η ημερήσια παραγωγή E_2 ανέρχεται σε 100-300 μg . Η προγεστερόνη (Prg) παράγεται κυρίως από το ωχρό σωματίο και η ημερήσια παραγωγή της είναι πολύ μικρή στην ωοθυλακική φάση (<1 mg).



εικ 3: Η στεροειδογένεση και η θεωρία των δυο κυττάρων - δύο γοναδοτροφινών, όπου FSHR: υποδοχέας FSH και LH: υποδοχέας LH. (προσαρμοσμένο από <http://hercules.oulu.fi>)

και μεγάλη στην ωχρινική (20-30 mg). Επιπλέον οι ωθήκες παράγουν και μη στεροειδείς ορμόνες πρωτεϊνικής φύσεως όπως η ανασταλτίνη (inhibin), η ακτιβίνη (activin), η φολλιστατίνη (follistatin), κ.α. (Μεσσήνης 2005, σελ 31-32). Οι ορμόνες αυτές είναι απαραίτητες για τη σωστή ρύθμιση της έκκρισης των γοναδοτροφινών μέσω του μηχανισμού παλίνδρομης αλληλορρύθμισης αλλά επιπλέον ασκούν και παρακρινική δράση στην ίδια την ωθήκη προς την προαγωγή της ωρίμανσης του ωθυλακίου (Μεσσήνης 2005, σελ 32-33). Για παράδειγμα η ανασταλτίνη προάγει την παραγωγή των ανδρογόνων από τα κύτταρα της θήκης ενώ η ακτιβίνη την αρωματοποίηση τους σε οιστρογόνα. Με τη δράση τους προστατεύουν το ωθυλάκιο από την ατρησία (εικ 4).



εικ 4: Παρακρινική δράση της ανασταλτίνης και της ακτιβίνης. Οι ορμόνες αυτές παράγονται από τα κύτταρα της κοκκώδους στιβάδας και δρουν σ'αυτά της έσω θήκης.

Η ορμονική σταθερότητα και η κυκλική επαναληψιμότητα του γεννητικού κύκλου σε μια γυναίκα επέρχεται μετά την είσοδο της στην αναπαραγωγική ηλικία και μακριά από την εμμηναρχή ή την εμμηνόπαυση. Σημαντικές αλλαγές στην ορμονική έκκριση πραγματοποιούνται από την παιδική ηλικία ως την ενηλικίωση. Πριν την εφηβεία η υποθαλαμική έκκριση της GnRH βρίσκεται υπό έντονη καταστολή. Με την έναρξη της εφηβείας γίνεται σταδιακά άρση της καταστολής και παρατηρείται αύξηση του εύρους ώσεων της GnRH οπότε αρχίζουν σταδιακά να αυξάνονται και οι γοναδοτροφίνες διεγείρωντας την ωρίμανση των ωθυλακίων και την παραγωγή οιστρογόνων από τις ωθήκες (Winter and Faiman, 1973; Messinis, 2006a; Delemarre et al., 2008).

ΑΡΝΗΤΙΚΟΣ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΣ ΠΑΛΙΝΔΡΟΜΗΣ ΑΛΛΗΛΟΡΥΘΜΙΣΗΣ

Η καταστολή του υποθαλάμου στην παιδική ηλικία βρίσκεται υπό ωθητική ρύθμιση, η οποία καλείται αρνητικός μηχανισμός παλίνδρομης αλληλορρύθμισης (feedback), και είναι ο μοναδικός που βρίσκεται εν ισχύ προ της εφηβείας (Messinis, 2006a). Σε αυτή την περίοδο ο υποθάλαμος ουσιαστικά είναι υπερβολικά ευαίσθητος στην κατασταλτική δράση των πολύ χαμηλών επιπέδων κυκλοφορούντων οιστρογόνων. Έτσι δεν παρατηρείται καμία ιδιαίτερη ορμονική δραστηριότητα, με τις γοναδοτροφίνες να περιορίζονται σε πολύ χαμηλές συγκεντρώσεις στην κυκλοφορία και έτσι να είναι αδύνατο να διεγείρουν τις γονάδες (Winter and Faiman, 1973).

Σταδιακά η ευαισθησία ελαττώνεται καθώς πλησιάζουμε στην εφηβεία οπότε το εύρος των GnRH ώσεων αρχίζει να αυξάνεται με επακόλουθη αύξηση του ποσοστού έκκρισης των FSH και LH, που με τη σειρά τους διεγείρουν τις ωθήκες προς ανάπτυξη ωοθυλακίων και παραγωγή ορμονών. Τα επίπεδα στον ορό των οιστρογόνων είναι χαμηλά κατά την παιδική ηλικία αλλά αυξάνονται σε επίπεδα ενηλίκων περίπου όταν εμφανίζονται και τα δευτερογενή χαρακτηριστικά του φύλου. Η προγεστερόνη διατηρείται σε χαμηλά επίπεδα ως την εμμηναρχή (Winter and Faiman, 1973).

Διάφορες θεωρίες έχουν προταθεί για να εξηγήσουν αυτή την αλλαγή στην έκκριση GnRH κατά τη μετάβαση από την παιδική και εφηβική στην ώριμη αναπαραγωγική ηλικία. Η μια υποστηρίζει ότι υπάρχει εγγενής ωρίμανση των νευρώνων που την συνθέτουν και εκκρίνουν. Ένας άλλος λόγος είναι ότι η έκκριση μελατονίνης από τη επίφυση μειώνεται κατά την εφηβεία και, ως εκ τούτου, υπάρχει λιγότερη αναστολή της έκκρισης της GnRH από την παρούσα ορμόνη. Μια τρίτη θεωρία είναι η επίτευξη επαρκούς σωματικού λίπους που μπορεί να είναι ένας σημαντικός καθοριστικός παράγων της εφηβείας. Τέλος η πρόωρη εφηβεία αυξάνει την έκκριση δεϋδροεπιανδροστερόνης (DHEA) από τον φλοιό των επινεφριδίων και έτσι ενισχύεται η ωρίμανση των νευρώνων (Nussey and Whitehead, 2001).

Με τη διέγερση των γονάδων και την παραγωγή στεροειδών και μη ορμονών, οι οποίες διαμεσολαβούν στην επίδραση της ωθήκης στο σύστημα υποθαλάμου-υποφύσεως, οδηγούμαστε προς τα τέλη της εφηβείας. Τότε, η ανάπτυξη ώριμης αλληλεξάρτησης των ορμονών του άξονα οδηγεί σε τακτικές διακυμάνσεις ωθητικής έκκρισης οιστραδιόλης οι οποίες σιγά σιγά θα καταστούν επαρκούς μεγέθους και διάρκειας ώστε να ενεργοποιήσουν τον θετικό μηχανισμό feedback που θα οδηγήσει σε κύμα LH

και ωορρηξία. Τότε εγκαθίσταται και η φυσιολογική κυκλικότητα του εμμηνορυσιακού κύκλου (Messinis, 2006a).

Από εκεί και πέρα οι μηχανισμοί feedback ελέγχουν την διατήρηση της σωστής λειτουργίας του γυναικείου αναπαραγωγικού συστήματος σε κάθε φάση του γεννητικού κύκλου μέσω της δράσης των ορμονών στον άξονα υπόφυσης-υποθάλαμος-ωοθήκες.

ΩΟΘΥΛΑΚΙΚΗ ΦΑΣΗ ΚΥΚΛΟΥ

ΣΤΕΡΟΕΙΔΕΙΣ ΟΡΜΟΝΕΣ

ΟΙΣΤΡΟΓΟΝΑ ΚΑΙ ΠΡΟΓΕΣΤΕΡΟΝΗ

Τα οιστρογόνα είναι πλέον αποδεδειγμένο ότι ανάλογα με τη φάση του εμμηνορυσιακού κύκλου και τα επίπεδα τους στον ορό ασκούν και τον ανάλογο, θετικό ή αρνητικό, ρόλο στην έκκριση γοναδοτροφινών. Η δράση τους στους διάφορους ιστούς γίνεται μέσω υποδοχέων τους. Για την οιστραδιόλη υπάρχουν δύο τύποι υποδοχέων, οι α και β, οι οποίοι βρίσκονται στον πυρήνα των κυττάρων.

Για το μεγαλύτερο διάστημα ενός φυσιολογικού εμμηνορυσιακού κύκλου η βασική δράση των οιστρογόνων στην υπόφυση, όπου και είναι το κυρίως όργανο στόχος τους, είναι η αρνητική (Nakai et al., 1978; Kelner and Peck, 1984) χωρίς όμως να αποκλείεται και η δράση τους στον υποθάλαμο. Μελέτη σε πιθήκους (Richardson et al., 1992) είχε ως σκοπό τη διερεύνηση της συγκέντρωσης των οιστρογόνων, στην μεση ωοθυλακική φάση, που ευαισθητοποιεί την υποφυσιακή απάντηση στη GnRH παρουσία συνεχούς ερεθίσματος της. Το αξιοσημείωτο αυτής της μελέτης ήταν ότι η καταστολή στην έκκριση της LH στη φάση αυτή επιτεύχθηκε όταν χορηγήθηκε μόνη της E₂ αλλά τα επίπεδα της επέστρεψαν στα φυσιολογικά μόνο όταν χορηγήθηκε μαζί και GnRH. Αυτό δείχνει ότι η οιστρογονική αρνητική παλίνδρομη αλληλορρύθμιση μπορεί να καταστείλει την ενδογενή δράση της GnRH. Το συμπέρασμα της μελέτης είναι ότι η δράση της E₂ στον υποθάλαμο υπάρχει χωρίς όμως να παίζει σημαντικό ρόλο. Ο κύριος στόχος δράσης των οιστρογόνων παραμένει η υπόφυση (Shaw et al., 2010). Αυτό διερευνήθηκε και επιβεβαιώθηκε από μελέτες είτε μέσω εξωγενούς χορήγησης οιστρογόνων είτε μέσω μελέτης της ενδοκρινούς έκκριση τους.

Στην πρώτη περίπτωση η χορήγηση οιστρογόνων οδήγησε στην καταστολή των βα-

σικών επιπέδων των γοναδοτροφινών στην ωοθυλακική φάση. Από παλαιότερες ακόμη μελέτες είχε ήδη διαπιστωθεί η κατασταλτική δράση των οιστρογόνων (Tsai and Yen, 1971) όπου κατά τη διάρκεια χορήγησης E_2 παρατηρήθηκε πτώση των επιπέδων των γοναδοτροφινών. Το ίδιο συνέβει και σε μελέτη γυναικών με φυσιολογικό εμμηνορυσιακό κύκλο που μελετήθηκαν κατά την πρώιμη ωοθυλακική φάση, λόγω των μειωμένων επιπέδων στεροειδών κατά το διάστημα αυτό (Messinis and Templeton, 1990a). Σε αυτές χορηγήθηκαν σε τρεις διαφορετικούς κύκλους είτε μόνον οιστρογόνα, σε αυξανόμενες δόσεις ώστε να φτάσουν το προωθυλακιόρρηκτικό επίπεδο, είτε οιστρογόνα και χαμηλή δόση προγεστερόνης, είτε οιστρογόνα και υψηλή δόση προγεστερόνης. Αυτό που παρατηρήθηκε και στους τρεις κύκλους ήταν αρχικά μια πτώση στη βασική έκκριση των γοναδοτροφινών που, αν και για την LH ήταν ταχύτερη τις πρώτες 12 ώρες από τη χορήγηση της θεραπείας, σε γενικές γραμμές το ποσοστό ήταν όμοιο και για τις δύο ορμόνες. Επιβεβαιώνεται λοιπόν ο καίριος ρόλος των οιστρογόνων ως διαμεσολαβητής του αρνητικού παλίνδρομου μηχανισμού αλληλορρύθμισης για την έκκριση των LH και FSH κατά την πρώιμη ωοθυλακική φάση.

Το ίδιο προκύπτει και από μελέτες της ενδογενούς έκκρισης E_2 . Σε μια από αυτές (Messinis and Templeton, 1989) μελετήθηκε στην όψιμη ωοθυλακική φάση η υποφυσιακή απάντηση σε εξωγενή LHRH. Χορηγήθηκε σε ομάδα γυναικών είτε κιτρική κλομιφαίνη (CC) είτε FSH και τα αποτελέσματα συγκρίθηκαν με τυχαίο κύκλο ως control. Η υποφυσιακή απάντηση μελετήθηκε με χορήγηση ώσεων LHRH. Στον κύκλο χορήγησης FSH (225 IU/μέρα) ενώ η αύξηση της FSH οφείλεται αποκλειστικά στην εξωγενή χορήγηση της, καθώς λόγω αυτής η ενδογενής έκκριση έχει σχεδόν καταργηθεί, η συγκέντρωση της E_2 αυξήθηκε ενώ αντίθετα η συγκέντρωση της LH ελαττώθηκε κατά πολύ.

Σε άλλη μελέτη (Messinis et al, 1994) η χορήγηση 450IU FSH i.m. σε μια δόση κατά τη δεύτερη μέρα φυσιολογικού τυχαίου κύκλου γυναικών οδήγησε σε μείωση των βασικών επιπέδων της LH η οποία αποδίδεται στην ταχεία μεγάλη αύξηση της E_2 .

Σε όλες τις προηγούμενες έρευνες μελετήθηκε η E_2 σε σχέση μόνο με την LH καθώς λόγω εξωγενούς χορήγησης FSH δεν ήταν δυνατό να αξιολογηθεί η ενδογενής έκκριση της. Έτσι λοιπόν, μελέτη γυναικών μετά ωθηκεκτομή μπορεί να μας δώσει πληροφορίες για το ρόλο των ενδογενών οιστρογόνων στη βασική έκκριση και των δυο γοναδοτροφινών. Η ωθηκεκτομή άμφω οδηγεί σε εξάλειψη της οιστρογονικής δράσης στην υπόφυση οπότε παρατηρείται αύξηση της LH και της FSH (Alexandris et al, 1997).

Στο ίδιο συμπέρασμα καταλήγει και παλαιότερη έρευνα (Bassett and Zeleznik,

1990) σε πιθήκους όπου μετά από ωθηεκτομή, και χωρίς άλλη θεραπεία υποκατάστασης των ωθηκικών στεροειδών, η FSH και η LH αυξήθηκαν ενώ μείωση τους παρατηρήθηκε μόνο μετά την εξωγενή χορήγηση οιστρογόνων. Η καταστολή της FSH διατηρήθηκε σταθερή καθόλη τη διάρκεια της θεραπείας με στεροειδή ενώ η LH αρχικά παρουσίασε ελάττωση, στη συνέχεια οδηγήθηκε σε μικρής διάρκειας αύξηση αλλά και πάλι την διαδέχθηκε ύφεση. Η διακύμανση αυτή μάλλον υπόκειται στα πλαίσια του μεσοκύκλιου κύματος της LH.

Έτσι λοιπόν συμπεραίνουμε ότι η E_2 είναι ο βασικός, αν και όχι ο μοναδικός, συντονιστής του ωθηκικού μηχανισμού ελέγχου της έκκρισης γοναδοτροφινών. Σ' αυτόν συμμετέχουν, όπως θα δούμε παρακάτω, η προγεστερόνη καθώς και μη στεροειδείς ορμόνες της ωθήκης. Επιπλέον, φαίνεται να μην ισχύει η αρχική υπόθεση ότι η κατασταλτική δράση των ωθηκικών στεροειδών, ως προς τη σύνθεση και έκκριση των LH και FSH, είναι όμοια (Messinis and Templeton, 1990a). Βάση αυτής της έρευνας, όπως ήδη έχει αναφερθεί, βρέθηκε ότι η χορήγηση εξωγενούς E_2 οδήγησε σε πτώση της βασικής έκκρισης LH και FSH σε ποσοστό σχεδόν όμοιο σε 48 και 60 ώρες μετά την χορήγηση της και προτάθηκε ότι η ορμόνη αυτή στην πρώιμη ωοθυλακική φάση αποτελεί τον διαμεσολαβητή της αρνητικής παλίνδρομης αλληλορρύθμισης όμοια και για τις δυο γοναδοτροφίνες.

Τελικά υποστηρίζεται από μελέτες ότι η LH και η FSH ελέγχονται διαφορετικά. Για παράδειγμα, σε ανθρώπους και ζώα (Shaw et al., 2010), εκτός από την απευθείας δράση της οιστραδιόλης στην υπόφυση μέσω του αρνητικού μηχανισμού παλίνδρομης αλληλορρύθμισης, βρέθηκε ότι η επίδραση του οιστρογόνου στην FSH απάντηση στην GnRH είναι μεγαλύτερη από αυτή της LH και εξασθενεί με την ηλικία.

Το ίδιο επιβεβαιώνεται και από παλαιότερη μελέτη (Messinis and Templeton, 1988) όπου σε υπογόνιμες γυναίκες με φυσιολογικούς ωθηκικούς κύκλους χορηγήθηκε κιτρική κλομιφαίνη σε έναν κύκλο για 5 και σε άλλον για 15 μέρες. Η ανισότητα των επιπέδων έκκρισης μεταξύ FSH και LH στον κύκλο θεραπείας των 15 ημερών υποστηρίζει τη θεωρία ότι η έκκριση των δυο ορμονών ρυθμίζεται από διαφορετικούς μηχανισμούς. Στο ίδιο συμπέρασμα οι συγγραφείς είχαν οδηγηθεί και ένα χρόνο πριν σε μελέτη γυναικών υπό θεραπεία με γοναδοτροφίνες για πρόκληση πολλαπλής ωοθυλακικής διέγερσης (Messinis and Templeton, 1987a).

Σε πιο πρόσφατη μελέτη (Daforoulos et al., 2004a) σε μετεμμηνοπαυσικές γυναίκες η χορήγηση οιστραδιόλης και προγεστερόνης οδήγησε στη τεχνητή δημιουργία τριών διαδοχικών φάσεων εμ-μηνορυσιακού κύκλου : ωοθυλακική φάση 1 -> ωχρική φάση -> ωοθυλακική φάση 2. Έτσι τα αρχικώς υψηλά, λόγω εμμηνόπαυσης, επίπεδα FSH

και LH ελαττώθηκαν. Όμως ενώ στο τέλος της ωχρινικής περιόδου τα επίπεδα της LH μειώθηκαν σε προεμμηνοπαυσιακό επίπεδο, η FSH, στην πρώιμη ωοθυλακική φάση, παρά την ελάττωση της διατήρησε επίπεδα υψηλότερα από τα αντίστοιχα ενός τυχαίου φυσιολογικού κύκλου, πιθανώς λόγω της ανυπαρξίας της ανασταλτίνης από τις απύουσες ωothήκες.

Επίσης στην ίδια έρευνα, κατά την δεύτερη ωοθυλακική φάση, η ενίσχυση της έκκρισης LH, παρά τα αυξημένα επίπεδα E_2 , δεν συνοδεύτηκε από όμοια αύξηση της FSH, η οποία παρέμεινε σε χαμηλά επίπεδα. Αυτό υποδεικνύει ότι η έκκριση των FSH και LH βρίσκεται υπό διαφορετική ρύθμιση από την οιστραδιόλη και ότι, ανάλογα με τη φάση του εμμηνορρυσιακού κύκλου, επιπλέον ωοθηκικοί παράγοντες συμμετέχουν στην έκκριση των γοναδοτροφινών.

Ένας από αυτούς είναι και η προγεστερόνη, στην έκκριση και τη δράση της οποίας θα αναφερθούμε αρχικά για το διάστημα της ωοθυλακικής φάσης. Παράγεται, όπως γνωρίζουμε, κυρίως από τα ωχρινοποιημένα κοκκώδη κύτταρα και το ωχρό σωματίο, γι' αυτό και η δράση της είναι κυρίως μελετημένη στην δεύτερη φάση του κύκλου, την ωχρινική. Όμως η παρουσία της και κατά την ωοθυλακική φάση διεγείρει ερωτήματα ως προς την προέλευση της κατά το διάστημα αυτό. Και ενώ έχει προταθεί ότι η προέλευση της είναι επινεφριδιακή (Judd et al., 1992; De Geyter et al., 2002), νεότερη μελέτη (Alexandris et al., 1997) έδειξε ότι μετά από ωοθηκεκτομή, η οποία πραγματοποιήθηκε είτε κατά την μέση προς όψιμη ωοθυλακική φάση είτε κατά την ωχρινική, τα επίπεδα της προγεστερόνης έπεσαν σε σχεδόν μη ανιχνεύσιμες τιμές. Άρα οι ωοthήκες παράγουν προγεστερόνη σε διαφορετικό ποσοστό και στις δύο φάσεις του κύκλου.

Έχει ήδη αναφερθεί από μελέτες η αδυναμία των οιστρογόνων να διατηρήσουν, σε μη λειτουργικές ωοthήκες, χαμηλά επίπεδα γοναδοτροφινών στην κυκλοφορία. Δηλαδή δεν αποτελούν μόνα τους τον αρνητικό μηχανισμό παλίνδρομης αλληλορρύθμισης αλλά χρειάζονται την συνεισφορά και άλλων παραγόντων για να το πετύχουν.

Η σύγχρονη χορήγηση προγεστερόνης στη μελέτη μετεμμηνοπαυσιακών γυναικών, που ήδη έχει αναφερθεί (Dafopoulos et al., 2004a) λειτούργησε συνεργικά, αν και όχι στο μέγιστο των δυνατοτήτων της καθώς τα επίπεδα της προγεστερόνης στη συγκεκριμένη μελέτη ήταν κάτω από αυτά που συναντούμε σε τυχαίο φυσιολογικό κύκλο.

Δεν υπάρχουν αρκετές μελέτες για την προγεστερόνη και τη δράση της στην ωοθυλακική φάση. Σε μία μόνο μελέτη η χορήγηση αντιπρογεσταγόνου μιφεπριστόνης (100 mg/ημέρα) όδηγησε στην καταστολή της έκκρισης της LH ως απάντηση στην κατά ώσεις χορήγηση της GnRH. Αυτό παρατηρήθηκε και για τις δύο δόσεις GnRH που χορηγήθηκαν με διαφορά δυο ωρών. Ενώ, αντίθετα, για την FSH εξασθένιση παρατηρή-

θηκε μόνο κατά τη δεύτερη δόση. Άρα η μιφεπριστόνη επηρεάζει και τις δυο δεξαμενές της LH στην υπόφυση. Επιπλέον υπήρξε μια αύξηση της βασικής έκκρισης της LH. Συμπεραίνεται λοιπόν ότι εφόσον η μιφεπριστόνη είναι ισχυρό αντιπρογεσταγόνο άρα, αν και σε χαμηλά επίπεδα στην ωοθυλακική φάση, η προγεστερόνη ενδεχομένως να ασκεί κάποια δράση στη ρύθμιση της GnRH-επαγόμενης έκκρισης της LH και στο αυτο-επαγωγικό φαινόμενο της υπόφυσης. (Kazem et al., 1996).

ΜΗ ΣΤΕΡΟΕΙΔΕΙΣ ΟΡΜΟΝΕΣ

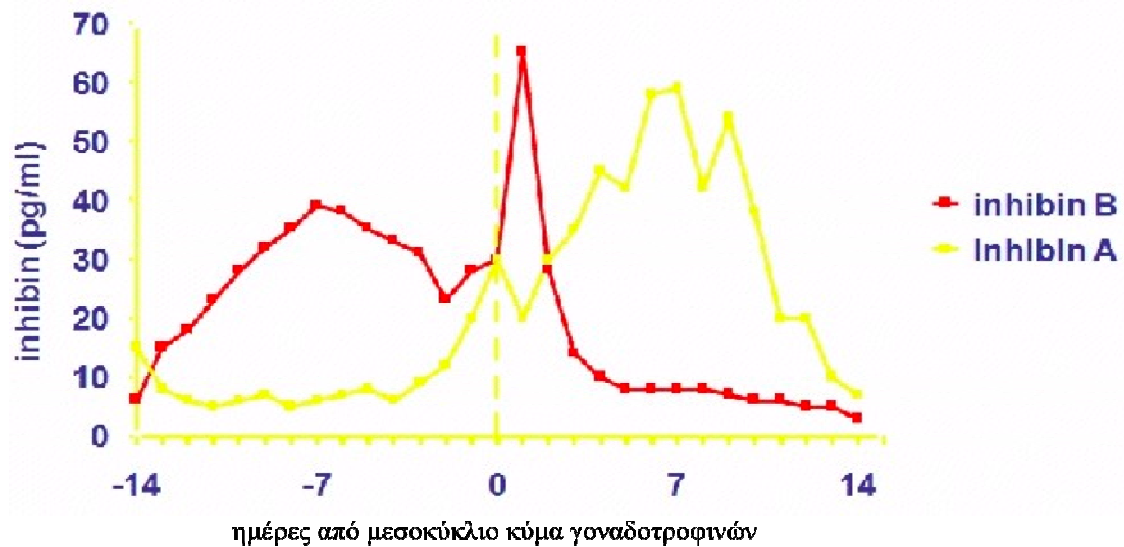
Οι ωοθήκες, εκτός από τα στεροειδή, παράγουν και μη στεροειδείς ορμόνες πρωτεϊνικής φύσεως. Τέτοιες ορμόνες είναι η ανασταλτίνη (inhibin), η ακτιβίνη (activin), η φολλιστατίνη (follistatin), ο παράγων άμβλυνσεως του κύματος των γοναδοτροφινών (GnSAF) και η αντιμυλλεριανή ορμόνη (AMH).

ΑΝΑΣΤΑΛΤΙΝΗ (INHIBIN)

Η ανασταλτίνη παράγεται από τα κοκκώδη κύτταρα της ωοθήκης και έχει απομονωθεί από το ωοθυλακικό υγρό ζώων και ανθρώπων. Η ωοθηκική προέλευση της επαληθεύεται και από την μείωση των κυκλοφορούντων επιπέδων της, όπως και της E_2 και της προγεστερόνης, μετά την αφαίρεση των ωοθηκών σε φυσιολογικές προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες (Alexandris et al., 1997; Muttukrishna et al., 2002).

Υπάρχουν δύο ισομορφές της ανασταλτίνης, η Α και η Β, με δυο υπομονάδες, την α και την β. Η β υπομονάδα έχει δυο τύπους, βΑ και βΒ, και έτσι προκύπτουν οι inh Α (α-βΑ) και inh Β (α-βΒ). Έχει γίνει προσπάθεια προσδιορισμού, με ανοσολογικές μεθόδους, των επιπέδων των inh Α και inh Β στην κυκλοφορία. Μόλις πρόσφατα αναπτύχθηκε δυνατότητα μέτρησης των διμερών της ανασταλτίνης οπότε και μετρήθηκαν τα επίπεδα της κατά τη διάρκεια του φυσιολογικού εμμηνορρυσιακού κύκλου. Βρέθηκε λοιπόν ότι τα επίπεδα της inh Α είναι χαμηλά στην πρώιμη ωοθυλακική φάση με μια μικρή αύξηση στην όψιμη. Αυτό υποδεικνύει ότι παράγεται κυρίως από το ωχρό σωματίο (Groome et al., 1994) αλλά και σε μικρότερο ποσοστό από το προωρρηκτικό ωοθυλάκιο. Σε άλλη μελέτη, ο συνδυασμός μονοκλωνικών αντισωμάτων για την βΒ και για την α υπομονάδα, οδήγησε σε ένα διπλό ένζυμο-αντίσωμα και στην μέτρηση των επιπέδων της ανασταλτίνης Β, η οποία βρέθηκε ότι, αντίθετα από την Α, αυξάνεται από την πρώιμη ως τη μέση ωοθυλακική φάση και μειώνεται προοδευτικά στο υπόλοιπο της ίδιας περιόδου. Παρουσιάζει μια μικρή αύξηση δυο ημέρες μετά το κύμα της LH αλλά κατέρχεται σύντομα στα προηγούμενα χαμηλά επίπεδα για το υπόλοιπο του

κύκλου (Groome et al., 1996) όπως φαίνεται και στην εικόνα 5. Αυτό υποδεικνύει ότι η παραγωγή της inh B γίνεται από τα προκοιλοτικά ωοθυλάκια κατά την ωρίμανση τους και κυρίως από το κυρίαρχο προωρρηκτικό ωοθυλάκιο (de Kretser et al., 2002).



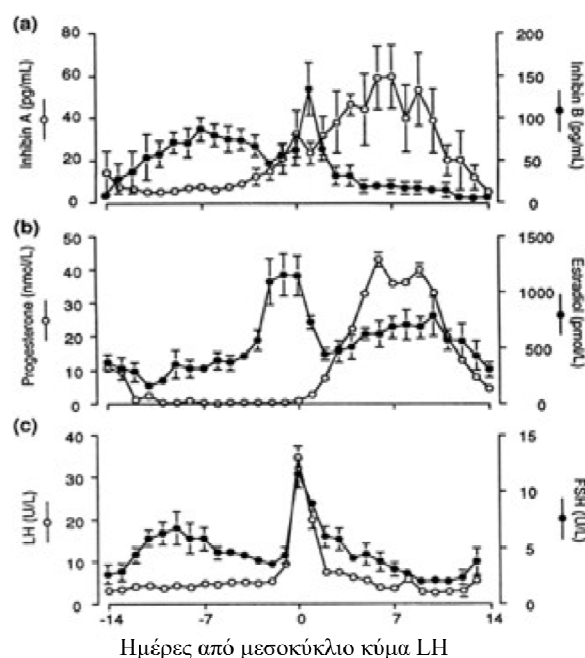
εικ 5: Επίπεδα Inh A και Inh B κατά τον εμμηνορυσιακό κύκλο με ορόσημο την εκδήλωση του κύματος της LH

(προσαρμοσμένο από www.motherhood.org.uk)

Η διαφορετική προέλευση των δύο ισομορφών της ανασταλτίνης επιβεβαιώνεται και από μελέτη σε φυσιολογικές γυναίκες μετά ωοθηκεκτομή είτε στην ωοθυλακική είτε στην ωχρινική φάση του κύκλου (Muttukrishna et al., 2002). Στην πρώτη περίπτωση τα επίπεδα και των δύο ισομορφών ελαττώθηκαν ενώ στη δεύτερη μειώθηκαν μόνο τα επίπεδα της ανασταλτίνης A. Επιπλέον, η σύγκριση μεταξύ γυναικών περιεμμηνοπαυσιακής ηλικίας, και κατ'επέκταση με αυξημένα επίπεδα FSH αλλά με φυσιολογικό εμμηνορυσιακό κύκλο, με νεώτερες γυναίκες έδειξε ελάττωση των επιπέδων της ανασταλτίνης B αλλά καμία διαφορά για την A (Klein et al., 1996; Burger et al., 1998; Klein et al., 2004). Αυτό αντικατοπτρίζει και επιβεβαιώνει την προκοιλοτική ωοθυλακική προέλευση της ανασταλτίνης B, καθώς οι γυναίκες μεγαλύτερης ηλικίας έχουν μειωμένα ωοθηκικά αποθέματα οπότε όλο και λιγότερα ωοθυλάκια στρατολογούνται ανά κύκλο και αναπτύσσονται σε προκοιλοτικά. Τα διαφορετικά επίπεδα στις συγκεκριμένες ηλικιακές ομάδες των InhA και InhB κατά τη διάρκεια του εμμηνορυσιακού κύκλου δείχνουν ότι αυτές οι δύο ισομορφές πιθανόν να έχουν διαφορετικούς ρόλους.

Η δράση της ανασταλτίνης είναι, όπως τουλάχιστον έχει αποδειχθεί in vitro, η μείωση της σύνθεσης και της έκκρισης γοναδοτροφινών και κυρίως της FSH. Η ανταπόκριση της υπόφυσης στην ανασταλτική δράση της ορμόνης πραγματοποιείται νωρίς

μετά τη γέννηση αλλά η μέγιστη ευαισθησία της παρατηρείται κατά την εφηβεία (Tilbrook et al., 1999). Αφού και οι δύο ισομορφές της ανασταλτίνης, A και B, έχουν την ικανότητα καταστολής της έκκρισης της FSH άρα ο συνδιασμός της δράσης τους με την οιστραδιόλη είναι υπεύθυνος για την αρνητική παλίνδρομη ρύθμιση της έκκρισης της γοναδοτροφίνης από την υπόφυση. Επειδή τα επίπεδα της ανασταλτίνης A και της οιστραδιόλης κυμαίνονται περίπου με τον ίδιο τρόπο (εικ 6) είναι δύσκολο να καθοριστεί ακριβώς ο ειδικός ρόλος του καθενός κατά το τελευταίο μέρος της ωοθυλακικής φάσης. Αντίθετα η αύξηση της ανασταλτίνης B στην πρώιμη έως μέση ωοθυλακική φάση πιθανόν να είναι υπεύθυνη για την μείωση της FSH που ακολουθεί (Robertson et al., 1996).



εικ 6: Διακύμανση των τιμών της ανασταλτίνης A και B σε σχέση με τις οιστραδιόλη, προγεστερόνη και FSH κατά τη διάρκεια ενός φυσιολογικού εμμηνορυσιακού κύκλου με σημείο 0 την ημέρα εκδήλωσης του κύματος της LH (Groome et al., 1996).

Έρευνες, *in vitro* και *in vivo*, έχουν γίνει κυρίως σε ζώα για το ρόλο της ανασταλτίνης στην έκκριση γοναδοτροφινών. Ειδικότερα σε καλλιέργειες κυττάρων υπόφυσης προβάτων η χορήγηση ανασυνδιασμένης ανασταλτίνης A ελάττωσε την έκκριση FSH με δόσοεξαρτώμενο τρόπο και διπλασίασε τον αριθμό των υποδοχέων της GnRH. Επίσης προκάλεσε μια, άνευ προηγουμένου, μέτρια μείωση στην έκκριση της LH (Gregg et al., 1991). Ομοίως σε ποντικούς παρατηρήθηκε επίσης μείωση της FSH χωρίς όμως να επηρεαστούν τα επίπεδα της LH (Rivier et al., 1991; Tilbrook et al., 1993). Επίσης η χορήγηση inh A σε πιθήκους στην πρώιμη ωοθυλακική φάση οδήγησε σε μείωση των επιπέδων της FSH (Stouffer et al., 1994; Molskness et al., 1996) ενώ η χορήγηση αντιορού ανασταλτίνης σε ποντικούς οδήγησε σε κατάρ-

γηση της δράσης της και σε αύξηση της έκφρασης του mRNA της β υπομονάδας του FSH (Attardi et al., 1992)

Τα δεδομένα για ανθρώπους μόνο έμμεσα οδηγούν στο συμπέρασμα ότι υπάρχει ωοθηκικός παράγων, η ανασταλτίνη, που συμμετέχει στη ρύθμιση έκκρισης της FSH.

Έτσι λοιπόν, όπως ήδη έχει αναφερθεί, σε πρόσφατη έρευνα (Daforoulou et al., 2004a) σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες, όπου η χορήγηση οιστραδιόλης και προγεστερόνης δημιούργησε προσομοίωση ωοθυλακικής και ωχρινικής φάσης εμμηνορυσιακού κύκλου, ενώ τα αυξημένα επίπεδα της FSH οδηγήθηκαν σε πτώση παρ'όλα αυτά δεν κατάφεραν να φτάσουν ποτέ στα φυσιολογικά πρόεμμηνοπαυσιακά, πιθανόν λόγω της έλλειψης του ωοθηκικού παράγοντα της ανασταλτίνης. Ενώ από παλαιότερη έρευνα (Messinis and Templeton, 1988) προκύπτει η ύπαρξη μη οιστρογονικού παράγοντα για τον έλεγχο έκκρισης της FSH, αφού η χορήγηση σε φυσιολογικές γυναίκες αντιοιστρογόνου κιτρικής κλομιφαίνης για 15 μέρες οδήγησε σε αύξηση των επιπέδων της LH αλλά αντίθετα, παρά την αρχική αύξηση της, σε πτώση της FSH προφανώς λόγω της δράσης κάποιου άλλου παράγοντα από τη λειτουργική ωοθήκη.

Η έκκριση της ανασταλτίνης ελέγχεται κυρίως από την FSH. Αυτό φαίνεται από μελέτη (Welt et al., 1997) όπου γυναίκες με έλλειψη έλαβαν κατά ώσεις GnRH. Έτσι λοιπόν όταν οι ώσεις από κάθε τέσσερις ώρες, όπως στην ωχρινική φάση, χορηγήθηκαν κάθε 90 λεπτά, όπως στην πρώιμη ωοθυλακική, τότε παρατηρήθηκε η σημαντικότερη αύξηση της FSH όπως και της LH . Επίσης, οι ίδιοι συγγραφείς, χορηγώντας GnRH ανταγωνιστή στην πρώιμη ωοθυλακική φάση διέκοψαν την έκκριση της γοναδοτροφίνης και παρατήρησαν μείωση και των δυο ισομορφών της ανασταλτίνης (Welt et al., 1999). Επιπλέον σε μελέτη γυναικών που έλαβαν είτε κιτρική κλομιφαίνη είτε γοναδοτροφίνες (HMG ή FSH) παρατηρήθηκε αύξηση των επιπέδων της ανασταλτίνης στην ομάδα των γυναικών υπό FSH που συγκλίνει με το συμπέρασμα ευωδοτικής δράσης της ορμόνης αυτής στην παραγωγή της ανασταλτίνης (Tsonis et al., 1988).

ΑΚΤΙΒΙΝΗ (ACTIVIN)

Η ολοκληρωτική κατανόηση του ελέγχου της έκκρισης της FSH είναι δύσκολη καθώς η απομόνωση από το ωοθυλακικό υγρό τριών πρωτεϊνών, activin A, B και AB, τις εμπλέκει στην διέγερση της. Οι ακτιβίνες είναι διμερή παράγωγα της β υπομονάδας της ανασταλτίνης, οπότε υπάρχει η A ($\beta\text{A}-\beta\text{A}$), η B ($\beta\text{B}-\beta\text{B}$) και η AB ($\beta\text{A}-\beta\text{B}$). Πρόσφατα ανευρέθησαν και άλλοι τύποι της β υπομονάδας οπότε υπάρχει πλέον και activin C, D, E και AC (Oda et al., 1995; Fang et al., 1996) χωρίς όμως ο ρόλος τους να έ-

χει εξακριβωθεί.

Ενώ η ανασταλτίνη παράγεται κυρίως από τα κοκκώδη κύτταρα του ωοθυλακίου, η ακτιβίνη φαίνεται να έχει μεγαλύτερο εύρος πηγών προέλευσης. Διότι όταν πραγματοποιήθηκε γοναδεκτομή ενώ παρατηρήθηκε μεγάλη πτώση των επιπέδων της ανασταλτίνης δεν συνέβει το ίδιο και για την ακτιβίνη και φολλιστατίνη όπου η πτώση των επιπέδων τους δεν ήταν τόσο δραματική (Sakai et al., 1992; Klein et al., 1993; Phillips et al., 1996).

Σε γυναίκες έχει μετρηθεί στην κυκλοφορία μόνο η Activin A με διακυμάνσεις στον κύκλο και διαφασική ανύψωση τιμών, με τις υψηλότερες να συναντώνται στον μέσον του κύκλου και στην όψιμη ωχρινική έως πρώιμη ωοθυλακική φάση. Από τις μετρήσεις βρέθηκε ότι όλα το ποσοστό ανιχνεύσιμης ακτιβίνης A ήταν 70-200 kD άρα λίγη ελεύθερη ακτιβίνη (25kD) είναι παρούσα. Έρευνες για τη μέτρηση της στα βιολογικά υγρά έχουν γίνει με τη χρήση ανοσολογικών μεθόδων και διαχωριστικών παραγόντων από τη φολλιστατίνη (McFarlane et al., 1996). Όμως αφού η ακτιβίνη A είναι δεσμευμένη, ερωτήματα δημιουργούνται για τη δράση της σε περιφερικά κύτταρα στόχους (Muttukrishna et al., 1996).

Η δράση της ακτιβίνης είναι ισχυρά διεγερτική ως προς την έκκριση της FSH, *in vivo* και *in vitro*, και την έκφραση του mRNA της β υπομονάδας της γοναδοτροφίνης (Corrigan et al., 1991). Η χορήγηση ανασυνδιασμένης ακτιβίνης σε πιθήκους οδήγησε σε αύξηση της FSH και της LH απάντησης στη GnRH καθώς και σε αύξηση της βασικής FSH (McLachlan et al., 1989) και έχει αναφερθεί ως πιθανός ρυθμιστής της ωοθυλακικής ανάπτυξης (Stouffer et al., 1993). Επιπλέον σε μελέτη αναζητάται και η ύπαρξη αυτοκρινούς δράσεως της τοπικά παραγώμενης ακτιβίνης από τα γοναδοτρόφα κύτταρα στη ρύθμιση έκκρισης και έκφρασης της FSH (Corrigan et al., 1991).

Υποδοχείς ακτιβίνης συναντούμε σε πολλούς ιστούς άρα η δράση της ασκείται και εκτός του άξονα υποθάλαμος-υπόφυση-ωοθήκες. Στην εγκυμοσύνη, για παράδειγμα, ρυθμίζει τη λειτουργία του πλακούντα και ως μέλη της οικογένειας των TGF-β λειτουργεί υπέρ της ανάπτυξης και λειτουργικής ακεραιότητας πολλών ιστών. Στις ωοθήκες των σπονδυλωτών οι υποδοχείς εκφράζονται κυρίως στο ωοθυλακικό στρώμα του ωαρίου και ρυθμίζουν την ωοθυλακιογένεση, την παραγωγή στεροειδών ορμονών και την ωρίμανση των ωαρίων (Peng and Mukai, 2000).

ΦΟΛΛΙΣΤΑΤΙΝΗ (FOLLISTATIN)

Επιπλέον μελέτες των πρωτεϊνών του ωοθυλακικού υγρού οδήγησαν στην απομό-

νωση της φολλιστατίνης που φάνηκε να έχει κατασταλτική δράση για την FSH. Η πρωτεΐνη αυτή δεν παρουσιάζει καμία συγγένεια με τις υπομονάδες της ακτιβίνης και της ανασταλτίνης. Είναι μια μονή αλυσίδα γλυκοπρωτεϊνών με εύρος μοριακού βάρους από 31 έως 49 kDa. Η δράση της *in vivo* και *in vitro* είναι η καταστολή της έκκρισης της FSH (de Kretser, et al., 2002). Ο μηχανισμός δράσης της προκύπτει από την ικανότητα να δεσμεύει την β υπομονάδα, άρα την ακτιβίνη αλλά και την ινχιμπίνη, με υψηλού βαθμού συγγένεια. Αυτή η δέσμευση εξουδετερώνει τη δράση των ανωτέρω ορμονών (Nakamura et al., 1990). Είναι ασαφές κατά πόσον η φολλιστατίνη έχει δράση ανεξάρτητη από την ικανότητα της να δεσμεύει και να εξουδετερώνει έτσι τη δράση της ακτιβίνης (de Kretser et al., 2002).

Σε μελέτη, όπου αναπτύχθηκε μέθοδος μέτρησης της ελεύθερης φολλιστατίνης με δοκιμασία ανοσοχημειοφωταύγειας, βρέθηκε ότι οι κυκλοφορούσες συγκεντρώσεις της ήταν ίσες ή κάτω από το όριο ανίχνευσης της μεθόδου σε όλη τη διάρκεια του κύκλου. Στη σύγκριση της ολικής και ελεύθερης φολλιστατίνης στην κυκλοφορία γυναικών με φυσιολογικό κύκλο, αλλά και μετεμμηνοπαυσιακές, βρέθηκε ότι τουλάχιστον το 90% της ορμόνης είναι δεσμευμένη με ακτιβίνη. Αντίθετα μετρήσιμες ποσότητες ελεύθερης φολλιστατίνης βρέθηκαν σε ωοθυλακικό υγρό και εκχύλισμα της υπόφυσης (McConnell et al., 1998). Τα επίπεδα της φολλιστατίνης δεν παρουσιάζουν ιδιαίτερες αλλαγές κατά τη διάρκεια του κύκλου (Evans et al., 1998; McConnell et al., 1998), όπως φαίνεται και από μελέτη (Kettel et al., 1996) με στόχο τον προσδιορισμό των μεταβολών των επιπέδων της ορμόνης κατά την διάρκεια των διαφόρων σταδίων της αναπαραγωγικής ηλικίας της γυναίκας. Τα ανοσοδραστικά επίπεδα της φολλιστατίνης κατά τη διάρκεια του εμμηνορυσιακού κύκλου παρέμειναν σταθερά. Βέβαια από την ίδια μελέτη προκύπτει ότι η ωοθήκη μάλλον δεν είναι η μοναδική πηγή προέλευσης της.

Όπως αναφέρθηκε ο ρόλος της ινχιμπίνης, ακτιβίνης αλλά και της φολλιστατίνης, ως προς την έκκριση της FSH, μπορεί να είναι τοπικός στην υπόφυση. Η άποψη αυτή, της αυτοκρινικής και παρακρινικής δράσης των ορμονών αυτών, υποστηρίζεται από την έκκριση ακτιβίνης A και B και φολλιστατίνης από κύτταρα της υπόφυσης (Bilezikjian et al., 2001; Messinis, 2006b). Βέβαια ενδεχομένως να ασκούν και τοπικές δράσεις στην ωοθυλακιογένεση (de Kretser et al., 2002). Επιπλέον έρευνες απαιτούνται για να αποσαφηνιστεί ακριβώς ο ρόλος αυτών των ουσιών στη διάρκεια του φυσιολογικού εμμηνορυσιακού κύκλου.

ΑΝΤΙΜΥΛΛΕΡΙΑΝΗ ΟΡΜΟΝΗ (ΑΜΗ)

Η ωοθήκη παράγει επίσης έναν ακόμη μη στεροειδή παράγοντα, την αντιμυλλεριανή ορμόνη (ΑΜΗ) ο ρόλος της οποίας δεν είναι ακόμη γνωστός. Στις γυναίκες παράγεται από τα κοκκώδη κύτταρα των μικρών ωοθυλακίων με μέγεθος 4-6 mm. Τα επίπεδα της ορμόνης αυτής αντικατοπτρίζουν το απόθεμα των ωοθηκών σε ωοκύτταρα. Δεν υπάρχουν σαφή στοιχεία για τον ενδοκρινικό ρόλο της ΑΜΗ στη ρύθμιση έκκρισης γοναδοτροφινών. Παρ'όλα αυτά σε πρόσφατη μελέτη (Robertson et al., 2009) διαπιστώθηκε ότι η ΑΜΗ αποτελεί αρνητικό παράγοντα στα αρχικά στάδια της ωοθυλακιογένεσης σε ποντίκια. Η ΑΜΗ παραγόμενη είτε από τα πρωτογενή είτε από τα δευτερογενή προκοιλιακά ωοθυλάκια αναστέλλει την όποια θετική δράση της FSH στην ωρίμανση των ωοθυλακίων ή στη μετατροπή των προκοιλιακών σε κοιλιακά ωοθυλάκια καθώς επίσης αναστέλλει και την αρχική στρατολόγηση των ωοθυλακίων προς πρωτογενή (Visser and Themmen, 2005; Visser et al., 2006). Μελέτη έδειξε παρόμοια δράση και στον άνθρωπο in vitro (Carlsson et al., 2006). Υπάρχει λοιπόν αρνητική συσχέτιση μεταξύ ΑΜΗ και FSH. Το ίδιο παρατηρήθηκε και όταν συνυπολογίστηκαν όλοι οι γνωστοί ρυθμιστές της FSH (E2, inh A και B, προγεστερόνη). Επιβεβαίωση υπάρχει και από μελέτες τόσο σε νεαρές γυναίκες αλλά και σε γυναίκες υπό θεραπεία για IVF (van Rooij et al., 2002; Wunder et al., 2008).

Βέβαια δεν υπάρχουν στοιχεία για ρυθμιστικό μηχανισμό παλίνδρομης αλληλορύθμισης μεταξύ ΑΜΗ και FSH. Περαιτέρω έρευνα απαιτείται για να δοθούν απαντήσεις για την αρνητική συσχέτιση μεταξύ των δύο ορμονών και τον ακριβή ρόλο της ΑΜΗ.

ΩΧΡΙΝΙΚΗ ΦΑΣΗ

Η ωχρινική φάση ακολουθεί την ωοθυλακιόρρηξη. Υπό την επίδραση της LH ωχρινοποιούνται τα κύτταρα του ραγέντως ωοθυλακίου και μαζί με τα κύτταρα της έσω θήκης σχηματίζουν το ωχρο σωματίο. Αρκετές μορφολογικές και βιοχημικές αλλαγές της ωχρινοποίησης πραγματοποιούνται υπό την επίδραση του κύματος της LH πριν τη ρήξη του ωοθυλακίου. Από εκεί και πέρα η συνεχιζόμενη δράση της LH ολοκληρώνει την ωχρινοποίηση. Υποδοχείς της ορμόνης βρίσκονται στη κυτταροπλασματική μεμβράνη των κοκκωδών κυττάρων από το τέλος της ωρίμανσης του ωοθυλακίου και αυξάνονται συνεχώς. Αυτή η αύξηση της ευαισθησίας στην LH του προωρρηκτικού ω-

οθυλακίου είναι απαραίτητη για την ωχρινοποίηση του (Messinis, 1997).

Η βασική λειτουργία του ωχρού σωματίου είναι η παραγωγή προγεστερόνης με μεγιστη τιμή στο πρώτο μισό της ωχρινικής φάσης. Η δράση της είναι απαραίτητη για την προετοιμασία του ενδομητρίου ώστε να είναι ικανό να υποστηρίξει εγκυμοσύνη που μπορεί να προκύψει (Messinis, 1997). Η οιστραδιόλη παρουσιάζει παρόμοια πορεία έκκρισης με την Prg κατά την ωχρινική φάση (Μεσσήνης 2005, σελ 40-41).

Το ωχρό σωματίο έχει διάρκεια ζωής 14 μέρες περίπου και διατηρεί τη λειτουργία του υπό τη δράση της ωχρινοποιητικής LH παρόλο που τα επίπεδα της είναι χαμηλά στη φάση αυτή. Οι ώσεις εκκρίσεως της είναι πολύ αραιές, 1 ανά 4 ώρες, έχουν όμως μεγαλύτερο εύρος. Η αιτία μείωσης της συχνότητας των ώσεων της GnRH, οπότε και της LH, φαίνεται να είναι τα υψηλά επίπεδα προγεστερόνης (Soules et al., 1984; Filicory et al., 1986) αν και ενδέχεται να συμμετέχει σε αυτό και η οιστραδιόλη (Nippoldt et al., 1989). Αν δεν προκύψει κύηση, ήδη από την 7^η-8^η μέρα, αρχίζει η εκφύλιση του.

Η παραγωγή ορμονών γίνεται από τα ωχρινοποιημένα κοκκώδη κύτταρα που έχουν μορφολογία κυττάρων παραγωγής στεροειδών ορμονών με πλούσιο λείο ενδοπλασματικό δίκτυο, μιτοχόνδρια και λιπώδη έγκλειστα εστέρων χοληστερόλης (Messinis, 1997). Εκτός από προγεστερόνη και οιστραδιόλη, το ωχρό σωματίο παράγει και μη στεροειδείς ορμόνες, την ισομορφή A της ανασταλτίνης, όπως επίσης και ρηλαξίνη, της οποίας ο ρόλος δεν είναι γνωστός (Μεσσήνης 2005, σελ 40-41).

Ο αρνητικός μηχανισμός παλίνδρομης αλληλορρύθμισης παίζει και στην ωχρινική φάση σπουδαίο ρόλο για την ρύθμιση έκκρισης των γοναδοτροφινών, οι οποίες διατηρούνται σε χαμηλά επίπεδα κυρίως λόγω της δράσης της προγεστερόνης και της οιστραδιόλης. Αυτό προκύπτει και από μελέτες γυναικών όπου μετά από ωθηκεκτομή στη μέση ωχρινική φάση παρατηρήθηκε σταδιακή αύξηση των επιπέδων των γοναδοτροφινών ενώ αντίθετα οι συγκεντρώσεις προγεστερόνης και οιστραδιόλης ελαττώθηκαν σημαντικά και ταχύτατα, εντός 24 ωρών από την επέμβαση (Alexandris et al., 1997).

Αν και ο αναφερόμενος ρόλος της οιστραδιόλης και προγεστερόνης είναι αποδεδειγμένος, δεν υπάρχουν παρόλα αυτά αρκετές μελέτες που να τον επιβεβαιώνουν. Σε μία πρόσφατη μελέτη (Messinis et al., 2002) μελετήθηκαν γυναίκες με φυσιολογικό κύκλο μετά από υστερεκτομή συν ωθηκεκτομή. Δημιουργήθηκαν τρεις ομάδες όπου μετά την εγχείρηση είτε δεν έλαβαν καμία θεραπεία, είτε έλαβαν οιστραδιόλη, είτε οιστραδιόλη και προγεστερόνη, σε δόσεις τέτοιες ώστε τα επίπεδα των ορμονών να φτάσουν αυτά της ωχρινικής φάσης. Στην πρώτη ομάδα παρατηρήθηκε μεγάλη αύξηση των γοναδοτροφινών ενώ στη δεύτερη η αύξηση αναβλήθηκε για λίγες μέρες και στη τρίτη

καταργήθηκε για τουλάχιστον μία εβδομάδα. Άρα και στην ωχρινική φάση η οιστραδιόλη παίζει σημαντικό ρόλο αλλά χρειάζεται και την δράση της προγεστερόνης για την καταστολή έκκρισης των γοναδοτροφινών. Το ερώτημα που εγείρεται είναι αν η προγεστερόνη μπορεί μόνη της να ασκήσει αρνητική ρύθμιση. Από πειράματα οι πληροφορίες είναι ελάχιστες και φαίνεται η δράση της να είναι δυνατή μόνο παρουσία οιστραδιόλης (Soules et al., 1984; Nippoldt et al., 1989).

Η δράση της ανασταλτίνης, που παράγεται από το ωχρό σωματίο, δεν έχει κανένα ρόλο στη ρύθμιση της LH αλλά όσο αφορά την FSH φαίνεται να συμμετέχει στην αρνητική ρύθμιση έκκρισης της. Η δράση αυτή έχει μελετηθεί σε ζώα και ανθρώπους. Ήδη έχει αναφερθεί η μελέτη (Muttukrishna et al., 2002) όπου γυναίκες μετά από ωοθηκεκτομή κατά την ωχρινική φάση βρέθηκε να έχουν μειωμένα επίπεδα ανασταλτίνης A και αυξημένα FSH. Βέβαια λόγω ταυτόχρονης μείωσης και της κυκλοφορούσας οιστραδιόλης και προγεστερόνης δεν είναι σαφές το ποσοστό σπουδαιότητας συμμετοχής της ανασταλτίνης στον αρνητικό μηχανισμό παλίνδρομης αλληλορρύθμισης της FSH. Από μελέτη σε πιθήκους (Stouffer et al., 1994) η έγχυση ανασταλτίνης A κατά τη μέση ωχρινική φάση οδήγησε σε πτώση των επιπέδων της FSH. Ο ρόλος της ακτιβίνης και της φολλιστατίνης δεν είναι, και σε αυτή τη φάση του κυκλου, ακριβώς γνωστός. Ενώ τα επίπεδα φολλιστατίνης δεν παρουσιάζουν και πάλι σημαντικές διακυμάνσεις (Kettel et al., 1996; Evans et al., 1998).

Αν δεν συμβεί σύλληψη τότε το ωχρό σωματίο οδηγείται σε λύση, ωχρινόλυση, η οποία είναι φυσιολογική αποπτωτική διαδικασία. Σε περίπτωση σύλληψης η χοριακή γοναδοτροφίνη που εκκρίνεται μετά την εμφύτευση μπορεί να διασώσει το ωχρό σωματίο και να αυξήσει το χρόνο ζωής του.

Σε κύκλους με πρόκληση πολλαπλής ωοθυλακιορρηξίας, για θεραπεία υπογονιμότητας, ο αρνητικός μηχανισμός παλίνδρομης αλληλορρύθμισης των ωοθηκικών στεροειδών στην υπόφυση είναι ενισχυμένος οπότε έχουμε καταστολή της ενδογενούς έκκρισης της LH καθόλη τη διάρκεια του κύκλου. Αυτή η έντονη καταστολή της LH διαταράσσει τη λειτουργία του ωχρού σωματίου ανεξάρτητα από το θεραπευτικό σχήμα που ακολουθήθηκε (FSH, HMG ή κιτρική κλομιφαίνη) για την πρόκληση της πολλαπλής ωοθυλακιορρηξίας (Messinis and Templeton 1987b; Messinis et al., 1987).

Με την ωχρινόλυση οδηγούμαστε σε μείωση παραγωγής προγεστερόνης, οιστραδιόλης και ανασταλτίνης A οπότε έχουμε αύξηση των ώσεων της GnRH και των συγκεντρώσεων των FSH και LH. Έτσι οδηγούμαστε στη διακυκλική αύξηση της FSH με σκοπό την στρατολόγηση νέων ωοθυλακίων και την έναρξη του επόμενου εμμηνορυσιακού κύκλου (Messinis, 1997).

ΔΙΑΚΥΚΛΙΚΗ ΑΥΞΗΣΗ FSH

Κατά τη διάρκεια ενός φυσιολογικού γεννητικού κύκλου οι συγκεντρώσεις FSH στο αίμα παρουσιάζουν μια μικρή αύξηση (<8-10 IU/L) περίπου 2 με 3 ημέρες πριν από την αναμενόμενη έμμηνο ρύση. Σε μελέτη έχει βρεθεί ότι η έναρξη της αύξησης της FSH είναι 4 ημέρες προ της E.P. και δεν επηρεάζεται από την αναπαραγωγική ηλικία της γυναίκας (Miro and Aspinall, 2005). Η αυξημένη συγκέντρωση FSH συνεχίζεται και τις πρώτες 5 με 6 ημέρες της ωοθυλακικής φάσης του επόμενου κύκλου. Αυτή η αύξηση ονομάζεται «διακυκλική» ή «παράθυρο» της FSH. Παράλληλα, την ίδια περίοδο, η LH παρουσιάζει αύξηση, αλλά μικρότερη σε σχέση με την FSH, η οποία παρατηρείται στην πρώιμη ωοθυλακική φάση και όχι από την ωχρινική (Mais et al., 1987; et al., Messinis et al., 1993a).

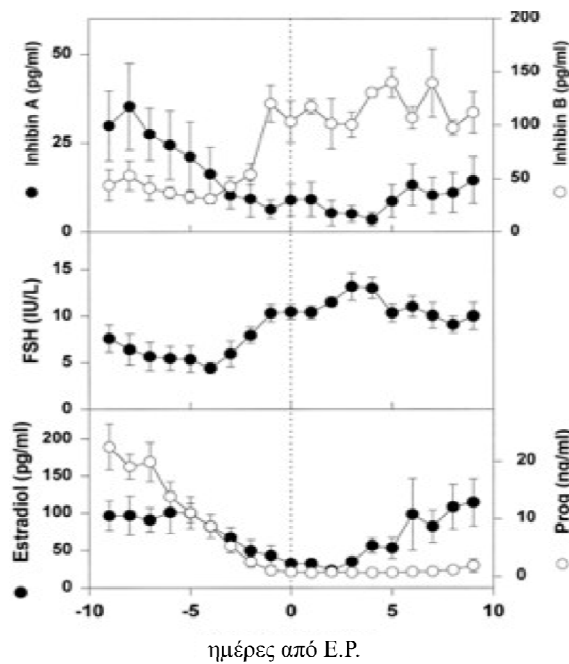
Η μείωση, στη συνέχεια, οφείλεται στην σταδιακή αύξηση των, παραγόμενων από τα αναπτυσσόμενα ωοθυλάκια, οιστρογόνων που ασκούν αρνητική παλίνδρομη αλληλορρύθμιση στις γοναδοτροφίνες. Τα χαμηλά βασικά επίπεδα τους διατηρούνται σε όλη την υπόλοιπη διάρκεια της πρώτης φάσης του ωοθυλακικού κύκλου (Μεσσήνης 2005, σελ 35-36). Η διαφορά στη βασική έκκριση μεταξύ των δύο ορμονών και σε αυτή τη φάση του κύκλου επαληθεύει τη θεωρία ότι ρυθμίζονται από διαφορετικούς μηχανισμούς.

Στην έναρξη της μεσοκύκλιας αύξησης FSH φαίνεται να συμμετέχει και η ελάττωση της Inhibin A στο τέλος και η αύξηση της Activin A στη μέση ωχρινική φάση ενώ στη λήξη της η αύξηση της Inhibin B στην ωοθυλακική φάση, 1 ή 2 ημέρες από την εκδήλωση της διακυκλικής αύξησης, όταν η οιστραδιόλη δεν παρουσιάζει ιδιαίτερη αύξηση ώστε να επιδρά σημαντικά στην FSH (εικ 7). Αυτό αποδεικνύεται και από μετρήσεις, με ανοσολογικές μεθόδους, των διμερών της ανασταλτίνης (Groome et al., 1994; Groome et al., 1996).

Από τα παραπάνω φαίνεται ότι και οι ανασταλτίνες πιθανόν να έχουν ενεργό ρόλο στη ρύθμιση της έκκρισης της FSH, με την inhibin A να “ανοίγει” και την inhibin B να “κλείνει” το παράθυρο της FSH (εικ 8) αν και δεν είναι οι βασικοί ρυθμιστές της (Le Nestour et al., 1993).

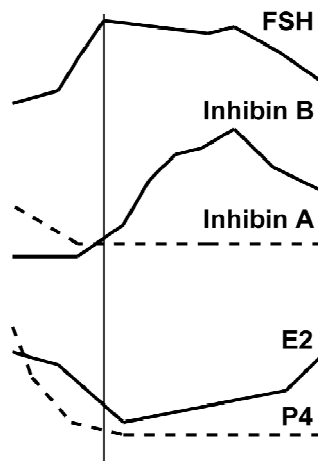
Το ερώτημα είναι όμως πως εξηγούνται αυτές οι ορμονικές αλλαγές κατά τη μετάβαση από την ωχρινική φάση ενός κύκλου στην ωοθυλακική του επόμενου. Φαίνεται να ελέγχονται από τις ωοθηκικές ουσίες που προαναφέρθηκαν λόγω φυσιολογικών μεταβολών τους κατά τη διάρκεια του κύκλου. Η οιστραδιόλη, η προγεστερόνη και η

ανασταλτίνη A, λόγω ωχρινόλυσης, στο τέλος της ωχρινικής φάσης ελαττώνονται (Roseff et al., 1989; Groome et al., 1996; Muttukrishna et al., 1996) οπότε έχουμε



εικ 7: Διακύμανση τιμών των FSH, E₂, Inh A και B κατά την διακυκλική περίοδο με σημείο 0 την ημέρα της Ε.Ρ (Welt et al., 1997).

άρση της αρνητικής επίδρασης τους στις γοναδοτροφίνες και κατα συνέπεια την αύξηση της FSH και σε μικρότερο βαθμό της LH. Αυτή η διακυκλική αύξηση της FSH είναι υπεύθυνη για την κυκλική στρατολόγηση αρκετών ωοθυλακίων 2 έως 5 mm



εικ 8: Σχηματική αναπαράσταση των μεταβολών των ορμονών κατά τη διακυκλική περίοδο (Messinis., 2006b)

και την επιλογή του ενός επικρα-τούντος κυρίαρχου. Η FSH προάγει τόσο τη δράση της αρωματάσης για τη σύνθεση οιστρογόνων από ανδρογόνα αλλά και την αύξηση των υποδοχέων FSH στα κοκκώδη κύτταρα των στρατολογημένων ωοθυλακίων. Οπότε αυτό που θα αποκτήσει τον μεγαλύτερο αριθμό υποδοχέων, δηλαδή το περισ-

σότερο “ευαίσθητο” στην FSH, θα αρωματοποιήσει πρώτο τα ανδρογόνα σε οιστρογόνα, τα οποία θα διοχετεύσει στην κυκλοφορία, και θα είναι το ωοθυλάκιο που θα επικρατήσει. Ακόμη και πριν την επιλογή του ενός, τα ωοθυλάκια που στρατολογούνται έχουν τη δυνατότητα, εφόσον διαθέτουν υποδοχείς της FSH, στεροειδογένεσης. Έτσι ξεκινά μια αύξηση της οιστραδιόλης, και την ίδια περίοδο και της ανασταλτίνης B, (Groome et al., 1996; Welt et al., 1997) που αυξάνεται όσο αναπτύσσονται και ωριμάζουν τα ωοθυλάκια καθώς προχωράμε στην ωοθυλακική φάση προς την επιλογή του ενός. Αυτή οδηγεί σε διακοπή της διακυκλικής αύξησης της FSH και σε σταδιακή μείωση των επιπέδων της στα βασικά επίπεδα. Οπότε με την απώλεια της δράσης της FSH δεν υπάρχει δυνατότητα επιλογής και δεύτερου ωοθυλακίου.

Την πτώση της FSH στη βασική έκκριση ακολουθεί και η LH. Ενώ τα ωοθυλάκια που δεν επελέγησαν οδηγούνται σε ατρησία και εξαφανίζονται στο στρώμα της ωοθήκης (Μεσσήνης 2005, σελ 37-39).

Η οιστραδιόλη φαίνεται να είναι ο σημαντικότερος παράγων ρύθμισης της έκκρισης γοναδοτροφινών και στη διακυκλική περίοδο (Welt et al., 2003). Ο ρόλος της προγεστερόνης είναι και πάλι όχι απόλυτα ξεκάθαρος. Από παλαιότερη μελέτη φαίνεται να έχει τόσο θετική όσο και αρνητική επίδραση στην έκκριση των γοναδοτροφινών. Έτσι ασκεί ρυθμιστική επιρροή στα αποτελέσματα δράσεως της οιστραδιόλης, η οποία περιλαμβάνει την ενίσχυση του επαγόμενου από την E_2 κύματος των γοναδοτροφινών και πιθανώς και στην έναρξη του μεσοκύκλιου κύματος της FSH (Mahesh, 1985). Η προγεστερόνη μπορεί να συμμετέχει μέσω επίδρασης της στον υποθάλαμο και στην έκκριση της GnRH. Φαίνεται να αυξάνει το εύρος και να ελαττώνει τη συχνότητα των ώσεων της GnRH στην ωχρινική φάση (Soules et al., 1984; Nippoldt et al., 1989) οπότε εφόσον προς το τέλος του κύκλου η προγεστερόνη ελαττώνεται άρα αυξάνεται η συχνότητα των ώσεων οπότε διεγείρεται και η έκκριση των γοναδοτροφινών (Hall et al., 1992).

Όσον αφορά την ακτιβίνη A παρουσιάζει αύξηση από τη μέση ωχρινική περίοδο ως τη μέση ωοθυλακική του επόμενου κύκλου (Muttukrishna et al., 1996). Το γεγονός ότι η αύξηση της προηγείται αυτή της FSH υποδεικνύει ότι μπορεί να συμμετέχει στη δημιουργία του παραθύρου της γοναδοτροφίνης στη διακυκλική περίοδο άρα και στην επιλογή του κυρίαρχου ωοθυλακίου. Χρειάζεται όμως περισσότερη έρευνα για τη δράση της ακτιβίνης A, για τη βιοδραστικότητα των μετρούμενων επιπέδων της καθώς και για τους άλλους τύπους της (Messinis, 2000).

Η φολλιστατίνη δεν δείχνει ιδιαίτερες διακυμάνσεις ούτε σ' αυτή τη φάση του εμμηνορυσιακού κύκλου (Kettel et al., 1996).

Συνοψίζοντας σχηματικά όσα προαναφέρθηκαν για τις ωοθηκικές ορμόνες, το ρόλο τους στον αρνητικό μηχανισμό παλίνδρομης αλληλορρύθμισης και στην έκκριση των γοναδοτροφινών ανάλογα με τη φάση του κύκλου προκύπτει ο εξής πίνακας:

ΩΟΘΥΛΑΚΙΚΗ ΦΑΣΗ		ΩΧΡΙΝΙΚΗ ΦΑΣΗ		ΔΙΑΚΥΚΛΙΚΗ ΦΑΣΗ	
				<u>Έναρξη</u>	<u>Λήξη</u>
FSH	LH	FSH	LH	Άρση αρνητικής δράσης:	
	οιστραδιόλη	οιστραδιόλη	οιστραδιόλη	-οιστραδιόλης	οιστραδιόλη
		προγεστερόνη		-ανασταλίνη A	
ανασταλίνη B	προγεστερόνη	ανασταλίνη A	προγεστερόνη	Θετική δράση:	ανασταλίνη B
				-ακτιβίνη A	

πίνακας 1: Συγκεντρωτικός πίνακας ωοθηκικών ορμονών που διαμεσολαβούν στην αρνητική παλίνδρομη αλληλορρύθμιση της έκκρισης των γοναδοτροφινών, κατά τη διάρκεια του γεννητικού κύκλου (προσαρμοσμένος από Messinis, 2006b).

ΘΕΤΙΚΟΣ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΣ ΠΑΛΙΝΔΡΟΜΗΣ ΑΛΛΗΛΟΡΥΘΜΙΣΗΣ

Μετά το τέλος της διακυκλικής αύξησης της FSH η έκκριση οιστραδιόλης από το ωριμάζων ωοθυλάκιο συνεχίζεται αυξανόμενη, αρχικά βραδέως ενώ προς το τέλος της ωοθυλακικής φάσης ταχύτατα, ως μια μέγιστη τιμή αιχμής της. Αυτό παρατηρείται δύο περίπου ημέρες πριν την ωοθυλακιορρηξία και στη συνέχεια ακολουθεί μεγάλη πτώση της E₂. Η συνεχιζόμενη αύξηση της στάθμης της οιστραδιόλης, παρά τη μείωση της FSH, οφείλεται κυρίως στην από τα οιστρογόνα προκαλούμενη αύξηση της ευαισθησίας του ωοθυλακίου στην FSH, μέσω αύξησης των υποδοχέων της στα κύτταρα της κοκκώδους στιβάδας και της σύμπραξης διαφόρων αυξητικών παραγόντων (Μεσσίνης 2005, σελ 39).

Η υψηλή στάθμη της οιστραδιόλης, όταν αγγίζει τη μέγιστη τιμή στο τέλος της ωοθυλακικής φάσης, για 24 με 36 ώρες, συνοδεύεται από εκκριτική αιχμή της LH και μικρότερη της FSH η οποία προηγείται και απαιτείται για να συμβεί ωοθυλακιορρηξία. Φαίνεται λοιπόν ότι η οιστραδιόλη ασκεί σ'αυτή τη φάση του κύκλου ευοδωτική δράση

και αποτελεί βασικό στοιχείο του θετικού μηχανισμού παλίνδρομης αλληλορρύθμισης. Η δράση της ασκείται μέσω ευαισθητοποίησης της υποφύσεως στη GnRH και ενίσχυσης του αυτοεπαγωγικού φαινομένου. Μέσω αυτών προκύπτει το μεσοκύκλιο κύμα γοναδοτροφινών. Η μικρή αύξηση της προγεστερόνης κατά την έναρξη της αιχμής των γοναδοτροφινών πιθανόν να ενισχύει την θετική επίδραση των οιστρογόνων. Η ωοθυλακιόρρηξια που ακολουθεί συμβαίνει τουλάχιστον 36 ώρες μετά την έναρξη της εκκριτικής αιχμής της LH και ο μηχανισμός της δεν είναι απόλυτα γνωστός. Πιθανόν να συμμετέχουν πρωτεολυτικά ένζυμα.

Η ΥΠΟΘΑΛΑΜΙΚΗ ΟΡΜΟΝΗ GnRH

Η έκκριση των γοναδοτροφινών γίνεται από τον πρόσθιο λοβό της υπόφυσης υπό τη δράση της GnRH. Η δράση της υποθαλαμικής ορμόνης τροποποιείται ανάλογα με τη στάθμη των κυκλοφορούντων ωοθηκικών στεροειδών οπότε διαφορές προκύπτουν ανάλογα με την αναπαραγωγική ηλικία της γυναίκας. Και ενώ ο αρνητικός μηχανισμός παλίνδρομης αλληλορρύθμισης κυριαρχεί έως την ήβη, προς το τέλος αυτής της περιόδου ενεργοποιείται και ο θετικός παλίνδρομος μηχανισμός των ωοθηκικών στεροειδών.

Υπάρχουν τρεις τύποι έκκρισης των γοναδοτροφινών:

- η τονική ή βασική έκκριση, η οποία είναι συνεχής και ρυθμίζεται από τον αρνητικό παλίνδρομο μηχανισμό
- η κυκλική έκκριση, που είναι υπεύθυνη για τη μεσοκύκλια αιχμή των γοναδοτροφινών λόγω της θετικής δράσης των οιστρογόνων και
- η κατα ώσεις έκκριση, ανεξάρτητη από τις άλλες δύο και είναι αποτέλεσμα των αντιστοιχών ώσεων GnRH. Ο τύπος των ώσεων επηρεάζεται από την έκκριση των ωοθηκικών στεροειδών (Μεσσήνης 2005, σελ 20-21). Η κατα ώσεις έκκριση απαιτείται για τη φυσιολογική έκκριση των γοναδοτροφινών και μάλιστα οι ώσεις πρέπει να έχουν συγκεκριμένη διακύμανση τιμών συχνότητας και εύρους.

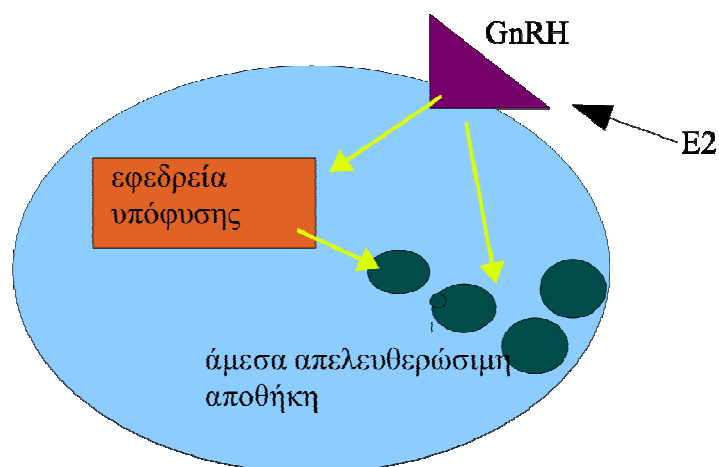
Όπως αναφέρθηκε αρχικά, η GnRH ασκεί τη δράση της μέσω κυτταροπλασματικών υποδοχέων συνδεδεμένων με G πρωτείνες και μέσω ενός μηχανισμού ενεργοποίησης της πρωτεϊνικής κινάσης C πραγματοποιείται η έκκριση των γοναδοτροφινών (Ortmann et al., 1999). Σήμερα είναι γνωστό ότι τα ιόντα ασβεστίου είναι ο κύριος ενδοκυττάριος αγγελιοφόρος για την αγωγή του σήματος της GnRH εντός του γοναδοτρόφου κυττάρου. Η πρωτεΐνη G ενεργοποιεί τη φωσφολιπάση C η οποία καταλύει

την υδρόλυση της διφωσφορικής φωσφατιδυλο-ινοσιτόλης (PI2) σε διασυλγλυκερόλη (DAG) και 1,4,5 τριφωσφορική ινοσιτόλη (IP3). Η DAG ενεργοποιεί την πρωτεϊνική κινάση C (PKC) η οποία φωσφορυλιώνει πρωτεΐνες απαραίτητες για την έκκριση των γοναδοτροφινών. Η IP3 ενεργοποιεί την κινητοποίηση των ενδοκυττάριων αποθηκών Ca^{2+} και ταυτόχρονα πραγματοποιείται και εισροή του ιόντος μέσω ειδικών διαύλων. Όσο αυξάνεται το Ca^{2+} αυξάνεται και η ενεργοποίηση της PKC οπότε τελικά οδηγούμαστε σε εξωκυττάρωση των γοναδοτροφινών.

Αρκετές μελέτες σε πειραματόζωα και ανθρώπους οδήγησαν στη διαφοροποίηση δύο λειτουργικών δεξαμενών έκκρισης γοναδοτροφινών στα γοναδοτρόφα κύτταρα της υπόφυσης. Υπάρχει λοιπόν :

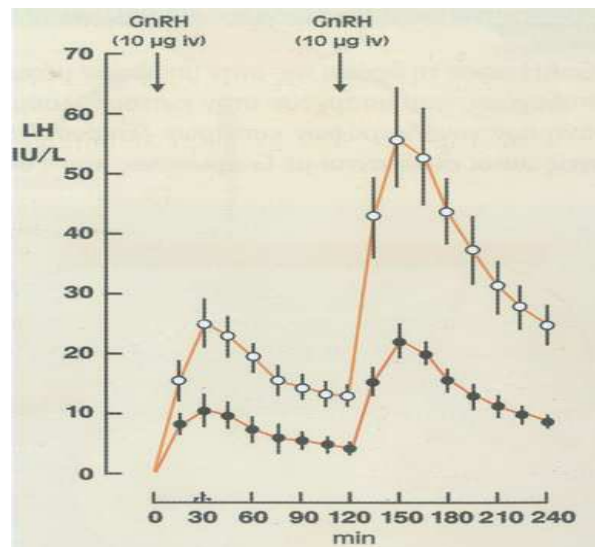
- η πρώτη ή άμεση δεξαμενή απελευθέρωσης όπου οδηγεί σε έκκριση αμέσως μετά τη διέγερση και αποτελεί την ευαισθησία την υπόφυσης και
- η δεύτερη που αντιπροσωπεύει τη σύνθεση de novo νέων ορμονών και απαιτεί μακρύτερη χρονικά δράση της GnRH για την έναρξη απελευθέρωσης του περιεχομένου της . Η δεύτερη αποθήκη αποτελεί τις εφεδρείες της υπόφυσης και τα προϊόντα της μετατρέπονται στην πορεία τους σε άμεσα απελευθερώσιμα (εικ 9).

Η διάκριση των δυο δεξαμενών μπορεί να διαπιστωθεί εάν σε φυσιολογικές γυναίκες χορηγηθεί GnRH είτε με συνεχή ενδοφλέβια έγχυση (iv) είτε ως μικρές εφ'άπαξ ενδοφλέβιες δόσεις. Στην δεύτερη περίπτωση, χορηγήθηκαν δυο δόσεις των 10 μg με διαφορά 2 ωρών. Η απάντηση στην πρώτη οδήγησε στη μέγιστη απάντηση της υπόφυσης στα 30 λεπτά και η οποία αντιπροσωπεύει την υποθαλαμική ευαισθησία ενώ ολόκληρη η περιοχή κάτω από την καμπύλη, με διάρκεια 240 λεπτά, αντιπροσωπεύει τις εφεδρείες. Η απάντηση στην δεύτερη ώση βρέθηκε μεγαλύτερη (Lasley et al., 1975; Messinis 2006b) (εικ 10).



εικ 9: Οι δυο υποφυσιακές αποθήκες των γοναδοτροφινών

Η διαπίστωση της καταώσεων έκκρισης της GnRH έγινε και σε μελέτη με ωθηκτομηθέντες πιθήκους στους οποίους είχε καταστραφεί ο μέσος βασικός υποθάλαμος. Η συνεχής χορήγηση GnRH επέφερε μια παροδική μόνο έκκριση της FSH και της LH, ενώ η χορήγηση της με ρυθμό 1 ώση ανά ώρα επανέφερε την έκκριση της FSH και LH στη μορφή που θα εμφανίζονταν εάν ο υποθάλαμος ήταν άθικτος (Belchetz et al., 1978). Επιπλέον η αύξηση της συχνότητας χορήγησης της GnRH από μία σε 5, 3 ή ακόμη και 2 ώσεις ανά ώρα είχε ως αποτέλεσμα την πτώση των FSH και LH σε μη ανιχνεύσιμα επίπεδα.



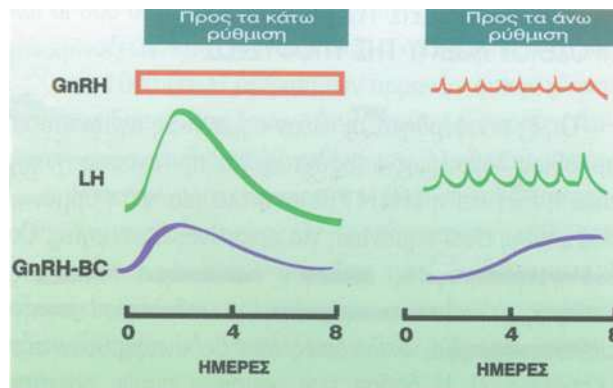
εικ 10: Απάντηση της υπόφυσης σε δύο δόσεις 10µg GnRH με διαφορά 2 ωρών. Η απάντηση στη 2^η δόση είναι μεγαλύτερη από την πρώτη αντιπροσωπεύοντας τις εφεδρείες ενώ η απάντηση στην πρώτη δόση είναι η ευαισθησία της υπόφυσης (από Μεσσήνης, 2005 σελ 22).

Αυτό που έχει σημασία λοιπόν είναι η συχνότητα των ώσεων. Σε αύξηση της συχνότητας ή σε συνεχή χορήγηση της GnRH έχουμε κατάληψη σχεδόν όλων των υποδοχέων της ορμόνης με αποτέλεσμα την απευαισθητοποίηση της υπόφυσης και την μείωση των ώσεων των γοναδοτροφινών. Δηλαδή προκαλείται ένα είδος αντίστασης της υπόφυσης. Σε μείωση της συχνότητας χορήγησης της GnRH παρατηρείται αύξηση της συγκέντρωσης της FSH και πτώση της LH, διότι ο χρόνος ημίσειας ζωής της FSH είναι μεγαλύτερος οπότε ευνοείται από τα μεγαλύτερα μεσοδιαστήματα διότι καταφέρνει να συσσωρευθεί ενώ η LH αποικοδομείται και απομακρύνεται νωρίτερα από την κυκλοφορία.

Ενώ όσον αφορά το εύρος των εκκριτικών ώσεων της GnRH έχει βρεθεί ότι είναι απαραίτητο οι δόσεις της χορηγούμενης GnRH να κυμαίνονται μεταξύ συγκεκριμένων τιμών ώστε να είναι αποτελεσματική η έκκριση των γοναδοτροφινών και η προς τα ά-

νω ρύθμιση των υποδοχέων της GnRH.

Η φυσιολογική κατά ώσεις έκκριση της GnRH μπορεί να αυξήσει τους υποδοχείς της ορμόνης αυτής στην υπόφυση. Το φαινόμενο αυτό ονομάζεται «προς τα άνω ρύθμιση» των υποδοχέων (up-regulation). Η αύξηση αυτή εκδηλώνεται όταν η τιμή των οιστρογόνων αυξηθεί αρκετά και έτσι επιτυγχάνεται διέγερση του γοναδοτρόφου κυττάρου από την GnRH.



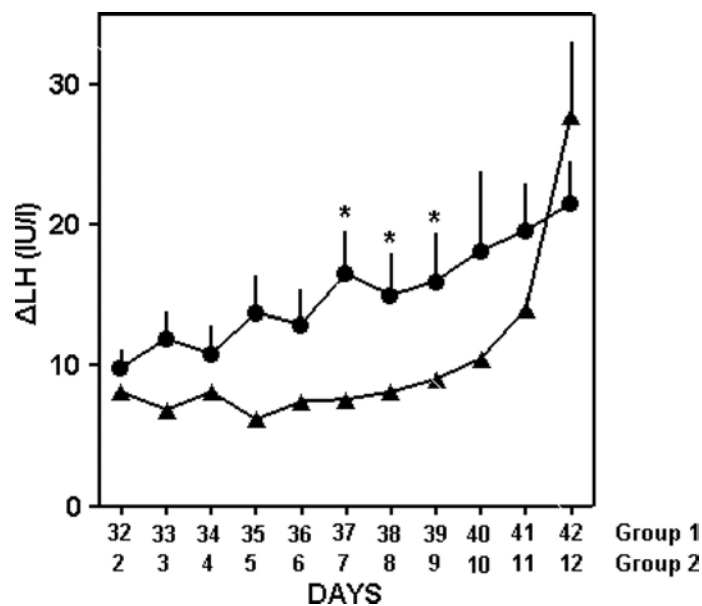
εικ 11: Η ρύθμιση των υποδοχέων της GnRH (GnRH-BC) στο επίπεδο της υποφύσεως από την ίδια την GnRH (προσαρμοσμένο από Μεσσίνη 2005, σελ 23).

Η ικανότητα της GnRH να ευαισθητοποιεί την υπόφυση στον εαυτό της ονομάζεται αυτοεπαγωγικό φαινόμενο ή self-priming effect και είναι σημαντικό για την εκδήλωση του θετικού μηχανισμού παλίνδρομης αλληλορρύθμισης (Μεσσίνη 2005, σελ 22-23).

Έχει βρεθεί ότι η ευαισθησία της υπόφυσης στη GnRH αυξάνεται σημαντικά μόνο στην όψιμη ωοθυλακική φάση, παρά την αύξηση της οιστραδιόλης και στις προηγούμενες φάσεις του κύκλου (Messinis et al., 1994; Messinis et al., 1998). Δηλαδή, ενώ στην πρώιμη και μέση ωοθυλακική φάση η ευαισθητοποίηση της υπόφυσης συναντά εμπόδιο αντίθετα στην όψιμη ωοθυλακική φάση γίνεται άρση αυτής της αντίστασης. Όπως θα αναφερθεί σε επόμενη ενότητα οι ωοθήκες φαίνεται να παράγουν ουσία η οποία ανταγωνίζεται την ευαισθητοποίηση δράση της E_2 στα υποφυσιακά κύτταρα στα πρώτα στάδια του κύκλου.

Αυτό υποστηρίζεται και από πρόσφατη μελέτη (Daforoulou et al., 2004a) σε υγιείς μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες χωρίς θεραπεία υποκατάστασης. Με την εξωγενή χορήγηση οιστραδιόλης και προγεστερόνης επιτεύχθηκε η προσομοίωση ωοθυλακικής, ωχρινικής και δευτέρας ωοθυλακικής φάσης. Αμέσως μετά το τέλος της δημιουργηθείσας ωχρινικής φάσης, η απάντηση της LH στην GnRH (δηλαδή στα 30 λεπτά από την πρώτη δόση i.v 10 µg GnRH) ήταν παρόμοια με αυτή στην πρώιμη ωοθυλακική φάση

ενός φυσιολογικού κύκλου. Ωστόσο στη συνέχεια σημειώθηκε μια συνεχιζόμενη αύξηση της ευαισθησίας της υπόφυσης στη GnRH που δεν έμοιαζε με την αντίστοιχη φάση ενός φυσιολογικού ωοθυλακικού κύκλου (εικ 12). Αυτό επιβεβαιώνει πως σε φυσιολογικό κύκλο οι υγιείς ωοθήκες παράγουν ουσία(-ες) που αντιτίθεται στην αύξηση της ευαισθησίας της υπόφυσης στα αρχικά στάδια του ωοθυλακικού κύκλου και έτσι τη διατηρεί σε κατάσταση χαμηλής διεγερσιμότητας ως προς την GnRH. Με τον τρόπο αυτό επιτυγχάνεται διατήρηση χαμηλών επιπέδων της ορμόνης LH πριν το μεσοκύκλιο κύμα της ώστε να αποφεύγεται η πρόωγη ωρίμανση των ωοθυλακίων και κατ'επέκταση η ωοθυλακιόρρηξη.



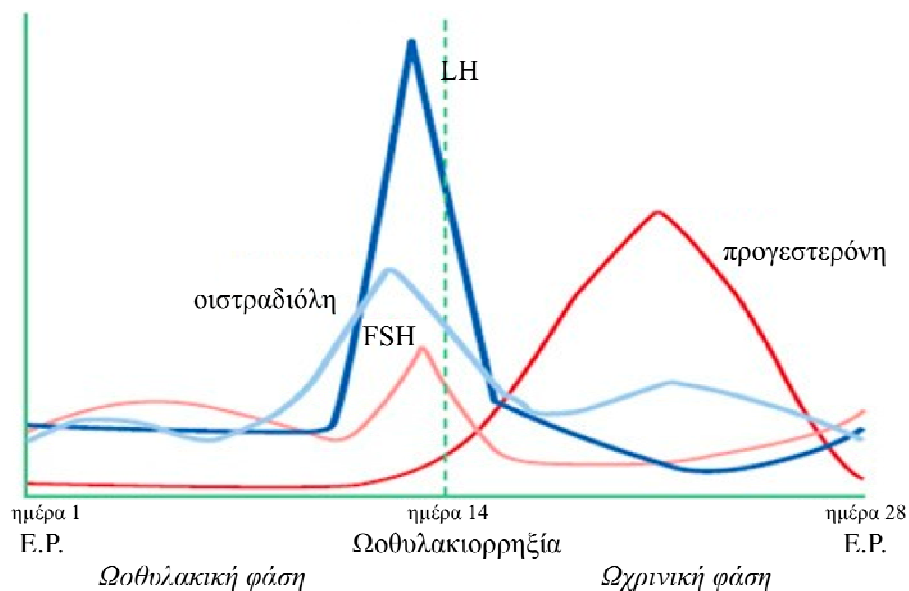
εικ 12: Σύγκριση απάντησης LH στη GnRH σε φυσιολογική (•) και διεγερμένη (♦) ωοθυλακική φάση (Messinis, 2006b)

Η έκκριση της GnRH ρυθμίζεται από αλληλεπιδράσεις μεταξύ αυτής και νευροορμονών, γοναδοτροφινών και ωοθηκικών παραγώγων. Ο τρόπος αλληλεπίδρασης τους γίνεται με μηχανισμούς παλίνδρομης αλληλορύθμισης, τόσο θετικούς όσο και ανασταλτικούς. Οι μηχανισμοί αυτοί είναι οι ακόλουθοι :

- η μακρά αγκύλη feedback που αναφέρεται στην επίδραση των κυκλοφορούντων ορμονών από τους αδένες-στόχους, και αφορά τόσο τον υποθάλαμο όσο και την υπόφυση
- η βραχεία feedback αγκύλη που υποδηλώνει την αρνητική ρύθμιση των υποφυσιακών ορμονών πάνω στην έκκριση τους και
- η υπερβραχεία feedback που αναφέρεται στην αναστολή της σύνθεσης της

ΕΝΑΡΞΗ ΚΥΜΑΤΟΣ LH

Μια περίπου ημέρα μετά την αιχμή της οιστραδιόλης, εμφανίζεται απότομη αύξηση (αιχμή) της LH. Η FSH εμφανίζει αντίστοιχα αύξηση αλλά πολύ μικρότερου μεγέθους (εικ 13). Η εκκριτική αυτή αιχμή, λίγο πριν το μέσον του κύκλου, ονομάζεται μεσοκύκλιο κύμα της LH και η διάρκεια του είναι 48 με 72 ώρες. Στη συνέχεια η συγκέντρωση και των δυο γοναδοτροφινών ελαττώνεται και διατηρείται σε χαμηλά επίπεδα καθ'όλη τη διάρκεια της δεύτερης φάσης του κύκλου.



εικ 13: Μεταβολές των ορμονών κατά τη διάρκεια ενός γεννητικού κύκλου με σημείο αναφοράς την ωοθυλακιορρηξία

Φαίνεται δηλαδή πως η οιστραδιόλη είναι ο κυρίαρχος παράγοντας για την έναρξη του μεσοκύκλιου κύματος των γοναδοτροφινών, η οποία εγκαταλείπει την αρνητική επίδραση και αποκτά αντίθετα ευωδοτική δράση ως προς την έκκριση των γοναδοτροφινών. Αυτό επιτυγχάνεται όταν η E_2 ξεπεράσει μια τιμή-ουδό για ένα χρονικό διάστημα. Το όριο βρέθηκε ότι είναι περίπου 200 pg/ml και η περίοδος υποφυσιακής έκθεσης σε αυτό το λιγότερο 48 ώρες. (Keye and Jaffe., 1975; Young and Jaffe., 1976; March et al., 1979; Liu and Yen., 1983; Karande et al., 1990). Η επίτευξη κύματος γοναδοτροφινών μπορεί να πραγματοποιηθεί και με εξωγενή χορήγηση E_2 , επιβεβαιώ-

νοντας όσα αναφέρθηκαν πιο πάνω (Messinis et al., 1992).

Μελέτες σε αρουραίους έδειξαν απευθείας δράση της οιστραδιόλης στην υπόφυση (Yin et al., 2002), κάτι που είναι απαραίτητο για την εκδήλωση του θετικού μηχανισμού feedback. Η θέση δράσης της οιστραδιόλης φαίνεται να είναι, εκτός από την υπόφυση η οποία ευαισθητοποιείται προς έκκριση LH και ενίσχυση του αυτοεπαγωγικού φαινομένου, και ο υποθάλαμος (Xia et al., 1992) αν και υπάρχουν αντικρουόμενες έρευνες ως προς αυτό. Για παράδειγμα, προωρρηκτικό κύμα GnRH σε φάλαινες (Moenter et al., 1991) αλλά και LH κύμα σε πιθήκους (Ferin et al., 1979) πραγματοποιήθηκε χωρίς την παραγωγή GnRH αλλά μόνο υπό τη δράση της οιστραδιόλης.

Σε γυναίκες υπάρχουν ελλιπή στοιχεία με μια μελέτη (Miyake et al., 1982) να παρουσιάζει αύξηση της GnRH, μετά από χορήγηση οιστρογόνων, η οποία προηγείται της αύξησης της LH και της FSH. Φαίνεται η υπόφυση να αποτελεί την πρωταρχική θέση δράσης του θετικού μηχανισμού feedback με τον υποθάλαμο να έχει συνεργικό ρόλο (Knobil, 1988). Δηλαδή η αλληλεπίδραση της οιστραδιόλης με τη GnRH κρίνεται σημαντική για την εκδήλωση του κύματος των γοναδοτροφινών (Hoff et al., 1977) μέσω ενίσχυσης του αυτοεπαγωγικού φαινομένου της υπόφυσης.

Η συμμετοχή των υπολοίπων ωοθηκικών παραγώγων στον θετικό μηχανισμό παλίνδρομης αλληλορύθμισης είναι λιγότερο σαφής. Η θετική επίδραση της προγεστερόνης, όπως και στον αρνητικό μηχανισμό feedback, φαίνεται να παρατηρείται μόνο παρουσία οιστρογόνων, η δράση των οποίων έχει αρχίσει νωρίτερα (Μεσσήνης 2005, σελ 19). Η προγεστερόνη παράγεται κυρίως από το ωχρό σωματίο αλλά παραγωγή της έχει παρατηρηθεί και στην όψιμη ωοθυλακική φάση. Έχει βρεθεί ότι η έκκριση της ξεκινά πριν την έναρξη του μεσοκύκλιου κύματος της LH. Δείγματα αίματος ελήφθησαν ανά δύο ώρες για πέντε ημέρες από φυσιολογικές γυναίκες στην προωοθυλακιορρηκτική περίοδο και βρέθηκε αύξηση των συγκεντρώσεων της προ του κύματος (Hoff et al., 1983). Άρα υπάρχει η πιθανότητα η προγεστερόνη να συμμετέχει στην έναρξη του μεσοκύκλιου κύματος. Αυτό φαίνεται και μετά τη χορήγηση της σε γυναίκες η οποία ευνοησε την έναρξη του επαγόμενου από την οιστραδιόλη κύματος (Chang and Jaffe, 1978; Messinis and Templeton, 1990a).

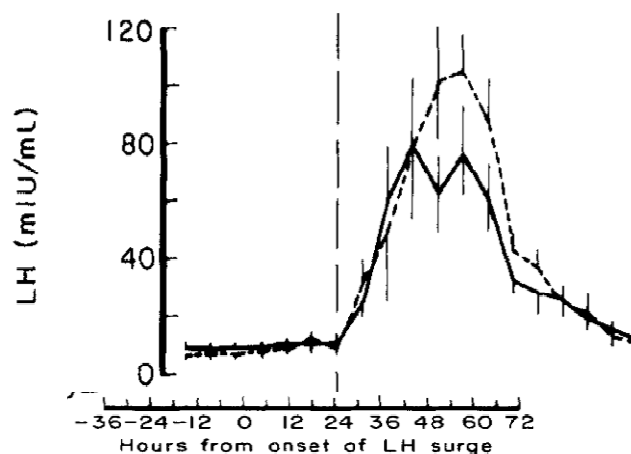
Η προγεστερόνη αυξάνει την ευαισθησία της υπόφυσης στη GnRH και αυξάνει το εύρος του επαγόμενου από την οιστραδιόλη κύματος των γοναδοτροφινών. Δηλαδή ενισχύει το θετικό μηχανισμό παλίνδρομης αλληλορύθμισης (Rithards and Midgley, 1976).

ΔΙΑΡΚΕΙΑ ΚΑΙ ΛΗΞΗ ΚΥΜΑΤΟΣ LH

Η διάρκεια του κύματος των γοναδοτροφινών σε φυσιολογικό κύκλο είναι 48 με 72 ώρες. Και οι δύο γοναδοτροφίνες, μετά τη μεσοκύκλια αιχμή τους, ελαττώνονται και διατηρούνται σε χαμηλά επίπεδα σε όλη σχεδόν τη διάρκεια της δεύτερης φάσης του κύκλου (Μεσσήνης 2005, σελ 36).

Οι παράγοντες τερματισμού του κύματος δεν έχουν πλήρως διευκρινιστεί. Φαίνεται να είναι ωθητικής προελεύσεως. Από μελέτη γυναικών (Daforoulos et al., 2006) σε δύο κύκλους, έναν τυχαίο ως αναφορά και έναν δεύτερο όπου την τρίτη ημέρα έγινε ωθηκεκτομή, με ίδια εξωγενή χορήγηση E_2 παρατηρήθηκε ότι στην δεύτερη περίπτωση τα επίπεδα των γοναδοτροφινών μετά την εμφάνιση του μεσοκύκλιου κύματος δεν ελαττώθηκαν αλλά παρέμειναν περίπου στο επίπεδο της αιχμής τους. Η διαφορά μεταξύ των δύο κύκλων αποδόθηκε στην έλλειψη ωθητικών παραγόντων μετά από την ωθηκεκτομή, οι οποίοι δρουν προς την κατεύθυνση τερματισμού του κύματος,. Έτσι αποκλείστηκε η θεωρία ότι η λήξη του κύματος οφείλεται σε εξάντληση των υποφυσιικών αποθεμάτων σε LH.

Η προγεστερόνη είναι ένας από τους ωθητικούς παράγοντες που πιθανολογείται ότι συμμετέχει στο τερματισμό του κύματος της LH. Τα επίπεδα της σε φυσιολογικό κύκλο αυξάνουν λίγο πριν την έναρξη του κύματος και συνεχίζουν αυξανόμενα ως την ωχρινική φάση (Hoff et al., 1983). Έτσι λοιπόν τα υψηλά επίπεδα προγεστερόνης ενδεχομένως να ασκούν αρνητική ρυθμιστική δράση στην υπόφυση. Η άποψη αυτή ενισχύεται και από την προαναφερόμενη μελέτη γυναικών οι οποίες υπεβλήθησαν κατά τη διάρκεια του κύκλου (3^η μέρα) σε ωθηκεκτομή και στις οποίες έγινε πρόκληση του μεσοκύκλιου κύματος των γοναδοτροφινών με την εξωγενή χορήγηση οιστραδιόλης. Στην περίπτωση αυτή και ενώ το κύμα της LH πραγματοποιήθηκε κανονικά δεν επιτεύχθηκε ο τερματισμός του και αυτό αποδόθηκε στην έλλειψη της προγεστερόνης λόγω ωθηκεκτομής καθώς και στα πολύ χαμηλά επίπεδα της ορμόνης αυτής, σε σχέση με έναν τυχαίο φυσιολογικό κύκλο, και πριν την ωθυλακιορρηξία (Daforoulos et al., 2006). Η πτώση των επιπέδων των γοναδοτροφινών, μετά τον τερματισμό του κύματος, δεν κατάφερε να φτάσει σε φυσιολογικές τιμές παρά μόνο με την συγχρήγηση προγεστερόνης (Messinis and Templeton., 1990a). Η δράση της προγεστερόνης μπορεί να ασκείται και μέσω μείωσης της συχνότητας των GnRH ώσεων που παρατηρείται κατά τη τελευταία φάση του μεσοκύκλιου κύματος (Adams et al., 1994).



εικ 14: Η διάρκεια ενός κύματος LH είναι περίπου 50 ώρες κατά μέσο όρο και αποτελείται από τρεις φάσεις, μια ανοδική και μια επί-πεδη φάση αιχμής με ίδια περίπου διάρκεια και μια μεγαλύτερη καθοδική φάση. Το παρόν διάγραμμα αφορά γυναίκες σε τυχαίο κύ-κλο (ενιαία γραμμή) και γυναίκες υπό χορήγηση υψηλών δόσεων οιστρογόνων (διακεκομμένη γραμμή), (Messinis and Templeton, 1987c)

Ο ρόλος της οιστραδιόλης στη λήξη του κύματος δεν είναι επίσης ξεκάθαρος. Η συγκέντρωση της ελαττώνεται κατακόρυφα μετά το κύμα της LH οπότε είναι δύσκολο να αποτελεί ισχυρό αρνητικό μηχανισμό feedback. Και επιπλέον έχει βρεθεί ότι ακόμα και τα επίπεδα της να διατηρηθούν υψηλά θα συμβεί τερματισμός του κύματος (Liu and Yen, 1983) ενώ στα ζώα έχει βρεθεί ότι ενώ η οιστραδιόλη είναι απαραίτητη για την ενεργοποίηση του κύματος δεν απαιτείται η παρουσία της μετά την έναρξη αυτού (Evans et al., 1997). Ακόμη και σε περίπτωση υπερβολικά μεγάλης συγκέντρωσης E_2 (εικ 14), αυτή δεν επηρεάζει τα χαρακτηριστικά του ενδογενούς κύματος της LH (Messinis and Templeton, 1987c).

GnSAF

Τα αυξανόμενα επίπεδα E_2 ευαισθητοποιούν την υπόφυση στη GnRH αυξάνοντας τους υποδοχείς της στα γοναδοτρόφα κύτταρα οπότε ενισχύεται η έκκριση των γοναδοτροφινών. Αυτό συμβαίνει στα πλαίσια του θετικού μηχανισμού παλίνδρομης αλληλορύθμισης, δηλαδή μόνο όταν η οιστραδιόλη ξεπεράσει τον ουδό της και αντιστρέψει τον αρνητικό προς θετικό μηχανισμό feedback. Την τελευταία κυρίως δεκαετία ερευνάται η υπόθεση ύπαρξης ενός μη στεροειδούς ωοθηκικού παράγοντα που μειώνει την έκκριση της LH ως απάντηση στη GnRH και κατ'επέκταση εμποδίζει αυτή τη θετική δράση της οιστραδιόλης. Οι μελέτες που πρώτες υπέδειξαν την ύπαρξη ανασταλτικού παράγοντα από την ωοθήκη, εκτός της ανασταλτίνης, ήταν σε πιθήκους. Σε μια μελέτη

με χορήγηση FSH σε φυσιολογικούς πιθήκους προκλήθηκε πολλαπλή ωοθυλακική ανάπτυξη και σημαντική αύξηση της οιστραδιόλης. Παρ'όλα αυτά όμως δεν πραγματοποιήθηκε κύμα LH και επιπλέον η επίδραση της GnRH στην έκκριση της LH παρατηρήθηκε εξασθενημένη. Άρα λοιπόν όταν στην όψιμη ωοθυλακική φάση χορηγηθεί FSH προκαλείται η έκκριση ενός ωοθυλακικού παράγοντα που κατάστέλει το κύμα LH (GnSIF-Gonadotrophin surge inhibin factor) (Schenken and Hodgen, 1983).

Όμοιες παρατηρήσεις έγιναν και σε έρευνες γυναικών υπό θεραπεία για πρόκληση πολλαπλής ωοθυλακικής ανάπτυξης. Όμως υπήρξε μια βασική διαφορά σε σχέση με τους πιθήκους. Το κύμα LH δεν καταργήθηκε αλλά εμφανίστηκε εξασθενημένο σε σχέση με φυσιολογικό μη διεγερμένο κύκλο.

Ο παράγων που πιθανολογείται ότι υπάρχει στις γυναίκες είναι ο GnSAF (Gonadotrophin surge attenuating factor)(Messinis and Templeton, 1989). Υποθέσεις για την ύπαρξη του διατυπώνονται σε αρκετές μελέτες. Έτσι η πρώτη εκδήλωση ενός εξασθενημένου LH κύματος παρατηρήθηκε σε γυναίκες υπό θεραπεία με κιτρική κλομιφαίνη και HMG (human menopause gonadotrophin) για IVF (Messinis et al., 1985). Επίσης σε άλλη μελέτη με υπογόνιμες γυναίκες υπό θεραπεία με FSH το κύμα της LH δεν επιτεύχθηκε σε όλες τις συμμετέχουσες στην έρευνα παρόλο που η οιστραδιόλη αυξήθηκε σημαντικά. Τα επίπεδα της LH ελαττώθηκαν ενώ το μέγεθος και ο αριθμός των ωοθυλακίων αυξήθηκαν σημαντικά στους κύκλους που δεν επιτεύχθηκε κύμα. Η LH σε αυτούς τους κύκλους αυξήθηκε μόνο όταν σταμάτησε η θεραπεία με FSH. Αυτό οδηγεί στο συμπέρασμα ότι ο μεγάλος αριθμός των μικρών ωοθυλακίων μπορεί να είναι η πηγή του παράγοντα που ασκεί αυτή τη κατασταλτική δράση στη έκκριση των γοναδοτροφινών. Ενισχύεται έτσι η υπόθεση ότι ο GnSAF παράγεται από τα μικρά ωοθυλάκια στην ωοθήκη (Messinis and Templeton, 1987a). Και αντίθετα με τους πιθήκους δεν έχουμε παράγοντα καταστολής του κύματος (GnSIF) αλλά αμβλύνσεως του. Ενώ είναι πιθανόν το κύμα που εμφανίζεται να είναι πρόωρο αν υπάρχουν λίγα μικρού μεγέθους ωοθυλάκια. Άρα λοιπόν το κύμα της LH, που είναι απαραίτητο για την τελική ωρίμανση των ωοθυλακίων και τη πρόκληση ωοθυλακιόρρηξης, σε γυναίκες υπό θεραπεία για πρόκληση πολλαπλής ωοθυλακικής ανάπτυξης είναι αποτέλεσμα μιας ισορροπίας μεταξύ της παραγόμενης οιστραδιόλης και των ωοθηκικών παραγόντων από τα μικρά και μεσαία ωοθυλάκια. Σε πρόσφατη μελέτη των ίδιων συγγραφέων μελετήθηκαν φυσιολογικές γυναίκες που έλαβαν σε τρεις διαφορετικούς κύκλους είτε καμία θεραπεία, είτε κιτρική κλομιφαίνη, είτε FSH. Στους κύκλους υπό φαρμακευτική αγωγή οι γυναίκες παρουσίασαν σημαντική παρόμοια ελάττωση της απάντησης της υπόφυσης στην GnRH σε σχέση με τον φυσιολογικό κύκλο. Αυτό οδηγεί στην ήδη

γνωστή υπόθεση της ύπαρξης ενός ωοθηκικού ανασταλτικού παράγοντα που εξασθενεί την απάντηση και των δυο γοναδοτροφινών σε ε-ξωγενή χορήγηση LHRH και πιθανόν και το ενδογενές LH κύμα σε υπερδιεγερμένους κύκλους (Messinis and Templeton, 1989).

Η απομόνωση του παράγοντα έχει γίνει από ποικίλες πηγές και έγινε προσπάθεια για την ταυτοποίηση του. Πρόσφατα απομονώθηκε και από ανθρώπινο ωοθυλακικό υγρό (Pappa et al., 1999). Βάση αυτής της μελέτης ο GnSAF καθορίστηκε σαν πρωτεϊνική αλυσίδα 12.5 kDa. Μετά από ανάλυση με μικροσυστοιχίες DNA βρέθηκε ότι αντιστοιχεί στο καρβοξυ-τελικό άκρο της ανθρώπινης αλβουμίνης ορού (HSA) και αυτό δεν είναι απίθανο διότι πρωτεϊνικά τμήματα φαίνεται να έχουν τη δυνατότητα να ασκούν διαφορετικές βιολογικές δραστηριότητες σε σχέση με την ολόκληρη ανέπαφη πρωτεΐνη (Messinis, 2003).

Πρόσφατα και με τη χρήση της real time PCR σε κοκκώδη κύτταρα γυναικών υπό θεραπεία για IVF βρέθηκε η έκφραση mRNA της HSA. Στον πυρήνα τους βρέθηκαν όλα τα θραύσματα της εν λόγω πρωτεΐνης αλλά στο κυτταρόπλασμα μόνο το αμινοτελικό και καρβοξυ-τελικό άκρο της. Αυτό ενίσχυσε την υπόθεση ότι ο παράγων GnSAF παράγεται από τα κοκκώδη κύτταρα και μπορεί να είναι το καρβοξυλικό άκρο της HSA (Karigioutou et al., 2006).

Για να αποσαφηνιστεί πλήρως η διαφορά μεταξύ ανασταλτίνης και GnSAF έγιναν διάφορες μελέτες και πλέον είναι σαφές ότι η ανασταλτίνη δεν είναι αυτός ο παράγων που ασκεί την προς συζήτηση ανασταλτική δράση. Διότι ο GnSAF ασκεί δράση κυρίως στην LH παρά στην FSH σε αντίθεση με την ανασταλτίνη (Pappa et al., 1999). Επιπλέον κατά τη διαδικασία απομόνωσης του παράγοντα η ανασταλτίνη είχε αφαιρεθεί από το ωοθυλακικό υγρό (Pappa et al., 1999; Fowler et al., 2002) και τέλος γιατί παρά τη χορήγηση in vitro αντισωμάτων έναντι της ανασταλτίνης ο GnSAF διατήρησε τη βιοδραστικότητα του (Balen et al., 1995; Byrne et al., 1995).

Η βιοδραστικότητα του GnSAF έχει μελετηθεί in vivo σε αρκετές έρευνες γυναικών υπο πρόκληση πολλαπλής ωοθυλακιορρηξίας με χορήγηση FSH (Messinis and Templeton, 1990b). Σε φυσιολογικές γυναίκες στην όψιμη ωοθυλακική φάση μελετήθηκε ο μηχανισμός δράσης του παράγοντα GnSAF όσον αφορά την απάντηση της υπόφυσης στη GnRH, με δυο ώσεις των 10μg χορηγούμενες με δύο ώρες διαφορά. Οι γυναίκες μελετήθηκαν σε τυχαίο και υπό FSH κύκλο. Η απάντηση και στις δυο ώσεις, που αντιπροσωπεύει την ευαισθησία αλλά και τις εφεδρείες της υπόφυσης, ήταν εξασθενημένη στον FSH κύκλο. Ομοίως εξασθενημένο ήταν και το αυτοεπαγωγικό φαινόμενο της υπόφυσης. Δηλαδή προκύπτει ότι ο GnSAF εξασθενεί και την GnRH επαγώ-

μενη έκκριση της LH και το αυτοεπαγωγικό φαινόμενο του GnRH στην υπόφυση (Messinis and Templeton, 1991).

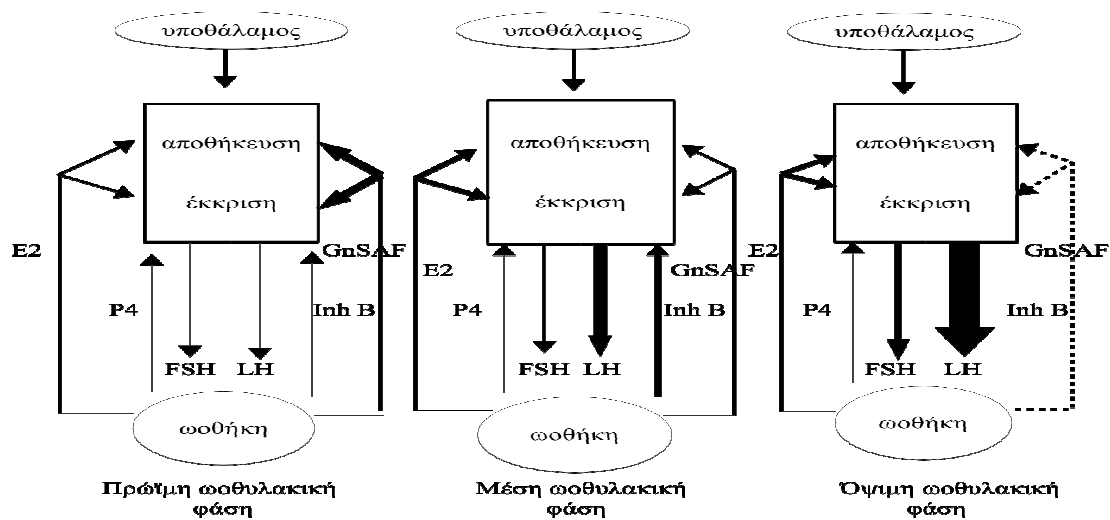
Φαίνεται μάλιστα ότι η δράση του επέρχεται πάρα πολύ σύντομα από την στιγμή έναρξης της θεραπείας με FSH στην πρώιμη ωοθυλακική φάση, οπότε η συγκέντρωση της γοναδοτροφίνης αυτής είναι ισχυρός παράγων διέγερσης παραγωγής του GnSAF (Messinis et al., 1991) και μάλιστα με δόσοεξαρτώμενο τρόπο (Messinis et al., 1993b) άσχετο με τη συγκεντρωση της ανασταλτίνης και της οιστραδιόλης.

Μελέτη που αφορά τη χορήγηση FSH κατά την ωχρινική φάση υποδεικνύει και πάλι τα μικρά ωοθυλάκια ως πηγή του GnSAF και όχι το ωχρό σωμάτιο και φαίνεται ότι η FSH είναι ο παράγων διέγερσης της έκκρισης του (Messinis et al., 1996). Δίότι, η χορήγηση FSH στη συγκεκριμένη μελέτη οδήγησε σε σημαντική πτώση της LH πριν την αύξηση της οιστραδιόλης ή της ανασταλτίνης και χωρίς να υπάρχουν αλλαγές στα επίπεδα προγεστερόνης. Άρα άλλος παράγων «ενεργοποιήθη-κε» από την χορήγηση της FSH. Επιπλέον φαίνεται ο παράγων αυτός να έχει μικρό χρόνο ημιζωής στη κυκλοφορία άρα και σύντομο χρονικό διάστημα δράσης.

Ενδιαφέρον θέμα μελέτης αποτελεί ο ρόλος του GnSAF σε φυσιολογικό κύκλο και κατα πόσο επηρεάζει την έκκριση των γοναδοτροφινών. Η μελέτη της απάντησης της LH στη GnRH κατά τη δι-άρκεια ολόκληρης της ωοθυλακικής φάσης του κύκλου σε γυναίκες υπό θεραπεία με FSH δείχνει δράση του GnSAF σε σχέση με την έκκριση της LH και φαίνεται ότι η γοναδοτροφίνη έχει διφασική μορφή έκκρισης με πτώση στην πρώιμη ωοθυλακική φάση όπου κυριαρχεί η δράση του GnSAF (οπότε διατηρεί την υπόφυση σε κατάσταση χαμηλής απάντησης στη GnRH) και άνοδο με αυξητική τάση στη μέση ωοθυλακική φάση όπου κυριαρχεί η οιστραδιόλη (λόγω ελάττωσης των μιρών ωοθυλακίων προ της ωοθυλακιορρηξίας οπότε υπάρχει και ελάττωση στην παραγωγή του GnSAF έτσι έχουμε εκδήλωση μέγιστης απάντησης της υπόφυσης με αποτέλεσμα το κύμα της LH) (εικ 15 και 16). Στο τέλος της όψιμης ωοθυλακικής περιόδου, μετά το κύμα της LH, δεν συμβαίνουν σημαντικές αλλαγές διότι ο GnSAF αντισταθμίζει τη δράση της μειούμενης πλέον οιστραδιόλης.

Δηλαδή προκύπτει ότι ακόμα και σε διεγερμένο κύκλο η οιστραδιόλη ενισχύει την υποφυσιακή ευαισθησία σε GnRH ενώ ο GnSAF ασκεί ανταγωνιστική δράση (Messinis et al., 1998). Στην ίδια έρευνα και σε τυχαίο κύκλο, αντίθετα, η απάντηση της LH στη GnRH δεν άλλαξε σημαντικά από την πρώιμη στη μέση ωοθυλακική περίοδο και μόνο στην προωοθυλακιορρηκτική φάση αυξήθηκε σημαντικά πριν το κύμα της LH. Άρα είναι προφανές ότι στην πρώιμη προς μέση ωοθυλακική φάση ενός φυσιολογικού κύκλου οι ωοθήκες μέσω παραγωγής του GnSAF από τα αναπτυσσόμενα ωοθυλάκια,

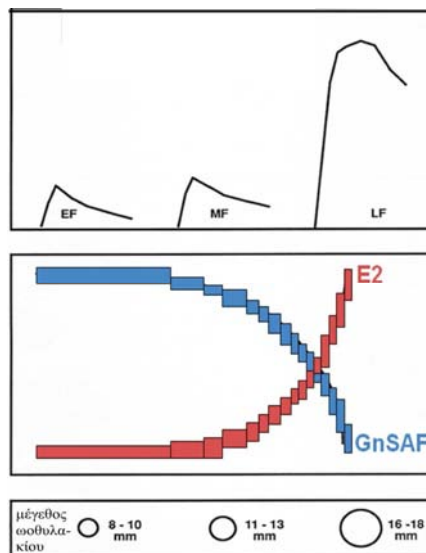
υπό τη διέγερση της προηγούμενης διακυκλικής αύξησης της FSH, επηρεάζουν τη δράση της οιστραδιόλης, ενώ η δραστηριότητα του GnSAF δείχνει να ελαττώνεται βαθμιαία καθώς προχωρά η ωοθυλακική φάση του κύκλου με αποτέλεσμα να διευκολύνεται έτσι η αυξημένη γοναδοτροφική απάντηση στα αυξημένα επίπεδα οιστραδιόλης στην πρωθυλακιορρηκτική φάση.



εικ 15: Ο ρόλος του GnSAF κατά τη διάρκεια ενός φυσιολογικού εμμηνορυσιακού κύκλου. Λόγω της παραγωγής του από τα μικρά αναπτυσσόμενα ωοθυλάκια κατά την πρώιμη και μέση ωοθυλακική φάση η έκκριση του είναι αυξημένη ενώ στην όψιμη ελαττώνεται (προσαρμοσμένο από Messinis 2006b).

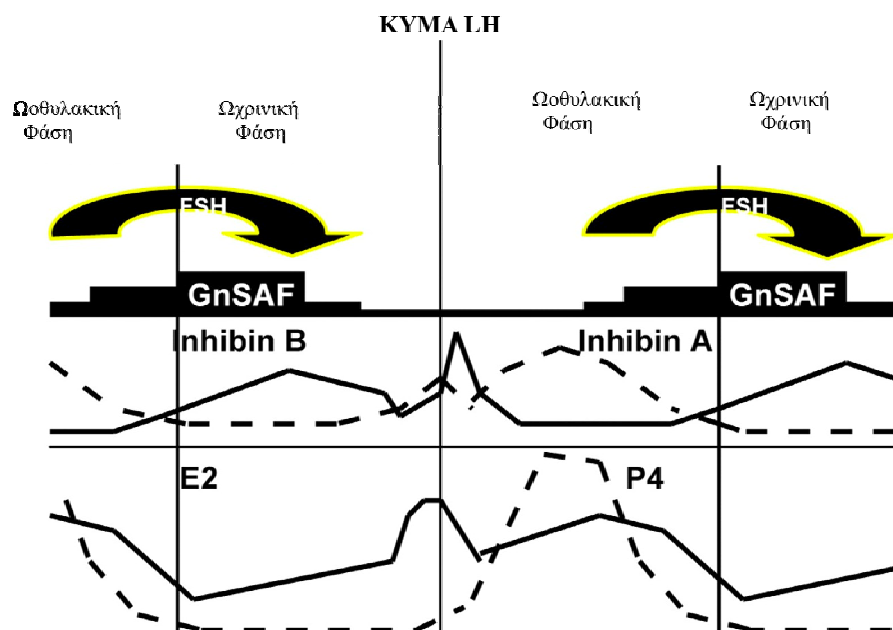
Συμπεραίνουμε λοιπόν ότι ο GnSAF δεν εμποδίζει την θετική δράση της οιστραδιόλης, άρα δεν ελέγχει το χρόνο έναρξης του μεσοκύκλιου κύματος, αλλά μέσω αρνητικής αντίθετης δράσης επηρεάζει μόνο το εύρος της απόκρισης της υπόφυσης και έτσι ρυθμίζει το μέγεθος του κύματος της LH. Στην πραγματικότητα, κύμα LH μπορεί να συμβεί οποτεδήποτε η οιστραδιόλη ξεπεράσει για συγκεκριμένο χρονικό διάστημα την τιμή-ουδό που είναι απαραίτητη για τη μεταστροφή του αρνητικού σε θετικό μηχανισμό feedback (Messinis IE., 2006b).

Έτσι λοιπόν, συνοπτικά, για την τελική ωρίμανση των ωοθυλακίων και την ωοθυλακιορρηξία είναι απαραίτητο το μεσοκύκλιο κύμα της LH αλλά και η διατήρηση σε χαμηλά επίπεδα της ορμόνης αυτής σε όλο το προηγούμενο διάστημα. Σε αυτό φαίνεται να μην συμμετέχει μόνο η οιστραδιόλη και η προγεστερόνη αλλά και ο παράγων αμβλύνσεως του κύματος των γοναδοτροφινών (GnSAF). Στην έναρξη ενός φυσιολογικού κύκλου και υπό τη δράση του παραθύρου της FSH πραγματοποιείται η στρατολόγηση και η ανάπτυξη των ωοθυλακίων που παράγουν σε αυτό το στάδιο υψηλές ποσότητες GnSAF. Όμως η επιλογή ενός ως κυρίαρχου ωοθυλακίου οδηγεί στην α-



εικ 16: Ο GnSAF ασκεί αντίθετη δράση ως προς την οιστραδιόλη εξασθενώντας την θετική επίδραση της στην έκφραση του κύματος της LH στα αρχικά στάδια της ωοθυλακική φάσης του γεννητικού κύκλου ενώ καθώς τα ωοθυλάκια αναπτύσσονται και αυξάνεται κατακόρυφα η παραγωγή οιστραδιόλης ελαττώνεται παράλληλα η παραγωγή του GnSAF και η δράση του εξασθενεί.

τηρησία των υπολοίπων οπότε και σε πτώση των επιπέδων του GnSAF ενώ ταυτόχρονα παρατηρείται ταχύτατη αύξηση της οιστραδιόλης και της ανασταλτίνης B. Έτσι το ορμονικό προφίλ αλλάζει και έχουμε την παρουσία του θετικού μηχανισμού παλίνδρομης αλληλορρύθμισης που οδηγεί στην εμφάνιση του πρωοθυλακιορρηκτικού κύματος της LH. Η αύξηση της οιστραδιόλης πάνω από την τιμή-ουδό και η παράλληλη πτώση του GnSAF πρωορρηκτικά επιτρέπουν την πλήρη έκφραση του κύματος της LH (εικ 17).

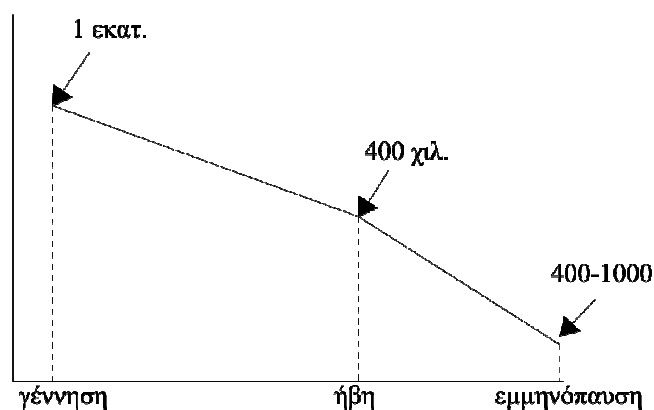


εικ 17: Σχηματική αναπαράσταση των ορμονών που συμμετέχουν στην έκφραση του μεσοκύκλιου κύματος της LH στις διάφορες φάσεις του γεννητικού κύκλου (Messinis 2006b).

ΕΜΜΗΝΟΠΑΥΣΗ

Όπως η ήβη έτσι και η εμμηνόπαυση αποτελεί «ακραία» ηλικία της αναπαραγωγικής ζωής της γυναίκας, όπου συμβαίνουν δραματικές αλλαγές στις ωθήκες και στο ορμονικό προφίλ των γυναικών.

Είναι γνωστό ότι το θήλυ έμβρυο κατά την ανάπτυξη του φτάνει να έχει εκατομύρια ωοθυλάκια στις γονάδες του που μειώνονται στο ένα εκατομύριο κατά τη γέννηση και μόλις στις 400.000 κατά την ήβη. Η μηνιαία κυκλική στρατολόγηση και η απώλεια ωοθυλακίων μέσω ατρησίας εξαντλούν τα ωοθηκικά αποθέματα οδηγώντας τα στο ελάχιστο ποσό των περίπου 400 -1000 ωοθυλακίων κατά την εμμηνόπαυση (εικ 15) τα οποία αδυνατούν να ανταποκριθούν στη δράση των υποφυσιακών ορμονών (Μεσσήνης 2005, σελ 572). Αποτέλεσμα της έκπτωσης της λειτουργίας των ωοθηκών είναι η εμμηνόπαυση, δηλαδή η τελευταία έμμηνος ρύση. Μια αναπόφευκτη και μη αναστρέψιμη αλλά φυσιολογική κατάσταση. Η εμμηνόπαυση είναι το αποτέλεσμα της οριστικής παύσης της ωοθηκικής λειτουργίας, η οποία όμως ξεκινά σταδιακά και προοδευτικά. Το διάστημα πριν από αυτή και ονομάζεται κλιμακτήριος και κατά το οποίο η γυναίκα μεταβαίνει από την αναπαραγωγική στη μη αναπαραγωγική ζωή. Η διάρκεια της κλιμακτηρίου ποικίλει από 1 έως 20 χρόνια. Η χρονική περίοδος που πλησιάζει



εικ 16: αριθμός ωοθυλακίων σε σχέση με αναπαραγωγική ηλικία γυναίκας

την εμμηνόπαυση, και λίγο μετά από αυτή, λέγεται περιεμμηνο-παυσιακή. Η ηλικία έθλευσης της εμμηνόπαυσης για τις περισσότερες γυναίκες είναι μεταξύ 45 έως 55 ετών και είναι ανεξάρτητη από την προηγούμενη φυσιολογικότητα ή μη των γεννητικών κύκλων και των χαρακτηριστικών τους. Όταν η εμμηνόπαυση εμφανιστεί πριν την ηλικία των 40 ετών τότε ονομάζεται πρώιμη εμμηνόπαυση ή, πιο έγκυρα, πρώιμη ωοθηκική ανεπάρκεια και αφορά το 1 % των γυναικών (Μεσσήνης 2005, σελ 571).

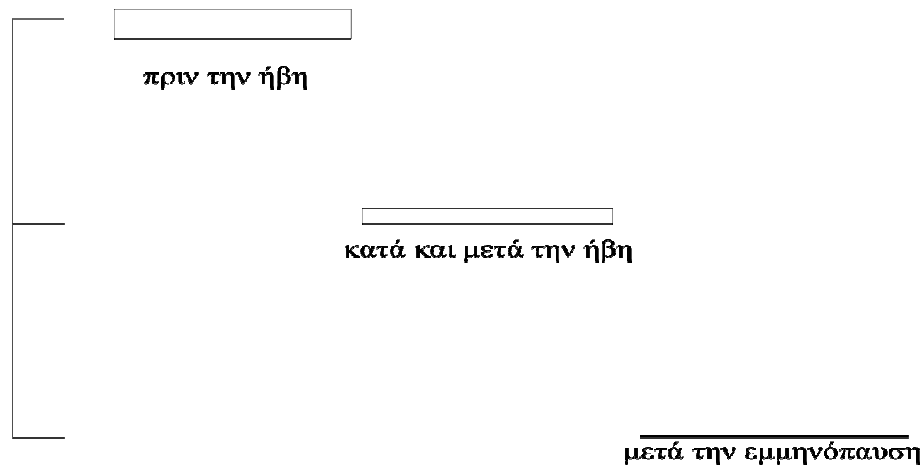
Η περίοδος μετάβασης στην εμμηνόπαυση σχετίζεται με τη μείωση των ωοθυλακίων και τη διαταραχή της ωοθυλακιόρρηξης οπότε και με την μείωση των ωοθηκικών ορμονών. Κατά το διάστημα αυτό υπάρχουν συμπτώματα όπως διαταραχές της κυκλικότητας της Ε.Ρ., ολιγομηνόρροια, μητροραγγίες, κ.α. που προμηνύουν την έλευση της εμμηνόπαυσης και αντικατοπτρίζουν τις ορμονικές αλλαγές.

Οι ωοθηκικές ορμόνες οιστραδιόλη και η προγεστερόνη, εκτός από τη ρύθμιση των μηχανισμών feedback, έχουν και δράση εκτός αναπαραγωγικού συστήματος. Συμβάλουν στις διαδικασίες της μνήμης, της γνώσης, της διάθεσης, της συμπεριφοράς, κ.α. Οπότε συναντούμε και τέτοιας προελεύσεως προεμμηνοπαυσιακά συμπτώματα (Chakraborty and Gore, 2004).

Η μείωση των ωοθηκικών ορμονών οδηγεί σε αλλαγές των επιπέδων των γοναδοτροφινών, και ιδιαίτερα της FSH, οι οποίες παρατηρούνται κυρίως προς το τέλος της κλιμακτηρίου πριν την ωοθηκική ανεπάρκεια και αρκετά πριν εμφανιστούν οι διαταραχές του γεννητικού κύκλου. Έχουμε λοιπόν αύξηση της FSH και πτώση αρχικά της inhibin B, που οφείλεται στην μείωση των ωοθηκικών εφεδρειών και φαίνεται να προηγείται της αύξησης της γοναδοτροφίνης, ενώ η κυκλικότητα διατηρείται (Klein et al., 1996; Soules et al., 1998). Παρουσιάζουν δηλαδή ανεπαρκή μηχανισμό παλίνδρομης αλληλορρύθμισης ήδη από αυτή τη περίοδο που τελικά σχεδόν διακόπτεται πλήρως μετά την εμμηνόπαυση (εικ 16).

Συχνά προς το τέλος της περιεμμηνοπαυσιακής περιόδου συμβαίνουν ανωοθυλακιόρρηκτικοί κύκλοι οπότε παρουσιάζεται και ωχρινική ανεπάρκεια με ελαττωμένα επίπεδα οιστραδιόλης και προγεστερόνης ενώ οι γυναίκες της περιόδου αυτής αν και διατηρούν την βασική έκκριση της LH σε φυσιολογικά επίπεδα παρουσιάζουν ελλιπή θετικό μηχανισμό feedback με αποτέλεσμα τη διαταραχή του κύματος της LH (Weiss, 2001). Δηλαδή ενώ υπάρχει κυκλικότητα η ελαττωμένη οιστρογονική διέγερση προκαλεί αδυναμία κύματος. Έτσι ενισχύεται η υπόθεση της σχετικής αναισθησίας του άξονα υποθάλαμος-υπόφυση στην οιστραδιόλη κατά την περίοδο αυτή (Weiss et al., 2004). Η απώλεια του αρνητικού μηχανισμού παλίνδρομης αλληλορρύθμισης επαληθεύεται και από μελέτη (Dafopoulos et al., 2004b) όπου σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες πραγματοποιήθηκε ωοθηκεκτομή και δεν παρατηρήθηκε αλλαγή στα επίπεδα των γοναδοτροφινών και της οιστραδιόλης άρα οι ωοθήκες δεν επηρεάζουν τη λειτουργία του υποθαλαμο-υποφυσιακού άξονα κατά την εμμηνόπαυση.

Η μόνη πτώση που παρατηρήθηκε ήταν στα επίπεδα τεστοστερόνης επιβεβαιώνοντας ότι η ορμόνη αυτή ίσως είναι το μοναδικό ανδρογόνο που η παραγωγή του συνεχίζεται από τις ωοθήκες κατά ένα μέρος και μετά την εμμηνόπαυση (Μεσσήνης 2005,



εικ 17: Ένταση αρνητικού μηχανισμού παλίνδρομης αλληλορρύθμισης στα διάφορα στάδια της αναπαραγωγικής ζωής της γυναίκας (Μεσσήνης., 2005-σελ 21).

σελ 572). Ο αρνητικός μηχανισμός παλίνδρομης αλληλορρύθμισης καθώς και το κύμα της LH μπορούν να επανεμφανιστούν στις μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες μετά τη χορήγηση εξωγενών στεροειδών ορμονών (Tsai ad Yen, 1971; Lind et al., 1978; Lutjen et al., 1987).

Οι προαναφερθείσες ορμονικές αλλαγές δεν είναι ο πρώτος δείκτης εκδήλωσης της προεμμηνοπαυσιακής περιόδου. Η ωθητική γήρανση οδηγεί στη μείωση της ποσότητας αλλά και της ποιότητας των ωοθυλακίων άρα και των ωοθυλακίων με άντρο που παράγουν AMH, η ελάττωση της οποίας είναι η πρώτη που συμβαίνει (Broekmans et al., 2009). Στη συνέχεια ακολουθεί η πτώση της inhibin, αρχικά της B και στη συνέχεια και της A. Η ελάττωση της inhibin B είναι ο πρωϊμότερος δείκτης μείωσης αριθμού ωοθυλακίων μετά την, δύσκολα μετρούμενη, AMH και οδηγεί σε σταδιακή εξασθένηση του αρνητικού μηχανισμού feedback με αποτέλεσμα την μονότροπη αύξηση της σταθμής της FSH στο αίμα (Klein et al., 1996; Soules et al., 1998). Τότε εμφανίζονται σιγά σιγά οι ασυνεπείς ωοθυλακιορρηξίες (Hall, 2007). Ενώ η οιστραδιόλη φαίνεται να ελαττώνεται στο τέλος της μεταβατικής περιόδου. Οι αλλαγές στην οιστραδιόλη και τα επίπεδα γοναδοτροφινών είναι υπεύθυνες για τις διαταραχές του κύκλου ενώ η αλλαγές στο θετικό μηχανισμό feedback μπορεί να οδηγήσουν στη διακοπή της κυκλικότητας (Hall, 2007). Δεν υπάρχει ισχυρός δείκτης για να υπολογίσουμε ακριβώς τη διάρκεια της μεταβατικής περιόδου (Su and Freeman, 2009).

Οι γυναίκες πριν την εμμηνόπαυση με υπερηχογραφικό έλεγχο έχουν μικρότερο αριθμό μικρού μεγέθους ωοθυλακίων την τρίτη ημέρα και ποικιλία μεγέθους κατά την ανάπτυξη τους. Επίσης έχουν μείωση της διάρκειας του κύκλου και την τάση η ωοθυλακιορρηξία να συμβαίνει σε σχετικά μικρότερο μέγεθος ωοθυλακίων και νωρίτερα. Η

φθορά της ποιότητας των ωαρίων οδηγεί σε μείωση της γονιμότητας έως τη φυσιολογική στειρότητα μετά την εμμηνόπαυση. Η δυνατότητα σύλληψης δεν αποκλείεται όμως στην προεμμηνοπαυσιακή περίοδο διότι παρά τις διάφορες διαταραχές συμβαίνει ωοθυλακιόρρηξία σε αρκετούς κύκλους (Klein and Soules, 1998). Οι δείκτες εφεδρείας των ωοθηκών που χρησιμοποιούνται είναι η μέτρηση της FSH τη 2^η-3^η μέρα, η AMH, η inhibin B, η οιστραδιόλη, ο αριθμός των ωοθυλακίων, ο όγκος των ωοθηκών, η αιμάτωση των ωοθηκών, το τεστ της κιτρικής κλομιφαίνης, το EFORT (FSH ovarian reserve test) τεστ και το τεστ GAST (GnRH agonist stimulation test). Σκοπός του ελέγχου των ωοθηκικών εφεδρειών σε γυναίκες μεγάλης ηλικίας είναι η ανακάληψη ενδεχόμενης ικανοποιητικής απάντησης σε διέγερση κατά τη θεραπεία για IVF.

Σε νέες και περιεμμηνοπαυσιακές γυναίκες δόθηκε οιστραδιόλη στην ωοθυλακική φάση σε δόσεις τέτοιες ώστε να δημιουργήσει προϋποθέσεις για δημιουργία κύματος LH. Στις περιεμμηνοπαυσιακές γυναίκες κύμα επιτεύχθηκε μόνο σε μία, υποδεικνύοντας έτσι ότι εκτός από τις διαταραχές στη λειτουργία των ωοθηκών πιθανόν να υπάρχουν και άλλες αλλαγές, νευροενδοκρινικές (Weiss, 2001), που αφορούν την έκκριση των γοναδοτροφινών και κυρίως στο επίπεδο του υποθαλάμου. Η ηλικία επηρεάζει το νευρο-ενδοκρινικό σύστημα (Rossmanith, 1995). Η υποθαλαμο-υποφυσιακή απάντηση στον θετικό και αρνητικό μηχανισμό feedback επηρεάζεται από τις διαταραχές στις κυκλοφορούσες ορμόνες λόγω μείωσης της ωοθηκικής λειτουργίας που οδηγούν σε μεταβολές στο μηχανισμό παλίνδρομης αλληλορρύθμισης (Weiss et al., 2004).

Υποστηρίζεται ότι αλλαγές συμβαίνουν και σε επίπεδο υποδοχέων των ωοθηκικών στεροειδών αν και δεν είναι ξεκάθαρο εάν οφείλονται στις διαταραχές σε επίπεδο ορμονών ή πραγματοποιούνται ανεξάρτητα λόγω ηλικίας (Chakraborty and Gore, 2004).

Σε πρόσφατη έρευνα (Gore et al., 2004) βρέθηκε σε πιθήκους ηλικιακά εξαρτώμενη αύξηση των ώσεων της GnRH. Αντίστοιχη έρευνα σε γυναίκες, με απώλεια ωοθηκικής ρύθμισης, για τη επίδραση της ηλικίας στη συχνότητα των GnRH ώσεων βρέθηκε ελάττωση τους (Hall et al., 2000) και παρά το γεγονός ότι το συνολικό ποσό της GnRH ήταν αυξημένο η ελάττωση της συχνότητας των ώσεων της ένα χρόνο αργότερα βρέθηκε να είναι της τάξεως του 30% σε σχέση με την ηλικία (Hall and Gill, 2001). Η χορήγηση GnRH ανταγωνιστών οδήγησε στην αύξηση της έκκρισης της ορμόνης με την αύξηση της ηλικίας παρά τη μείωση στη συχνότητα των ώσεων της. Ενώ η αντίστοιχη έκκριση της ελαττώθηκε ως απάντηση στη χορήγηση στεροειδών. Δηλαδή η ηλικία δεν αποδυναμώνει την ικανότητα απάντησης της υπόφυσης στους μηχανισμούς feedback (Gill et al., 2002).

Συμπερασματικά λοιπόν, η αναπαραγωγική ηλικία απαιτεί τη ρύθμιση και τη συνερ-

γασία του άξονα υποθάλαμος-υπόφυση-ωοθήκες. Αλλαγές υφίστανται με την αύξηση της ηλικίας, άλλες ανεξάρτητες και άλλες ως απάντηση στις υπόλοιπες μεταβολές. Η αλλαγή στην έκκριση της υποθαλαμικής GnRH θα έχει ως συνέπεια την αλλαγή της υποφυσιακής έκκρισης άρα και της λειτουργίας των γονάδων και το αντίστροφο, η απώλεια των ωοθυλακίων όσο πλησιάζει η εμμηνόπαυση οδηγεί σε μείωση των κυκλοφορούντων οιστρογόνων και καταστολή των μηχανισμών παλίνδρομης αλληλορύθμισης (Chakraborty and Gore, 2004).

ΔΙΑΤΑΡΑΧΗ ΜΗΧΑΝΙΣΜΩΝ ΠΑΛΙΝΔΡΟΜΗΣ ΑΛΛΗΛΟΡΥΘΜΙΣΗΣ

Ένας γεννητικός κύκλος χαρακτηρίζεται ως φυσιολογικός όταν συμβαίνει μια σειρά από κυκλικές ορμονικές μεταβολές που αφορούν τις γοναδοτροφίνες και τις ωοθηκικές ορμόνες. Το ορμονικό προφίλ μιας γυναίκας καθορίζεται από τον άξονα υποθάλαμος-υπόφυση-ωοθήκες και τους μηχανισμούς παλίνδρομης αλληλορρύθμισης, αρνητικό και θετικό, που δρουν σε αυτόν. Διαταραχές της λειτουργίας του οδηγούν σε συμπτώματα όπως αραιομηνόρροια, αμηνόρροια, συχνομηνόρροια, κ.α και ιδιαίτερα στην περίοδο της εμμηναρχής όπου ένα μεγάλο ποσοστό των κύκλων είναι ανωοθυλακιόρρηκτο (Mansfield and Emans, 1984).

Παθολογικές καταστάσεις που διαταράσσουν τη λειτουργική συνοχή του άξονα αφορούν είτε τις ωοθήκες, είτε τα ανώτερα όργανα υποθάλαμο και υπόφυση αλλά ακόμα και παθήσεις των επινεφριδίων και του θυρεοειδούς.

Σε επίπεδο ωοθηκών οποιαδήποτε διαταραχή αντικατοπτρίζεται στην έκκριση των ορμονών τους και στη δυσλειτουργία των μηχανισμών feedback. Έτσι λοιπόν κατάστασεις που οδηγούν σε ελαττωμένη έκκριση οιστρογόνων έχουν ως αποτέλεσμα την καταστολή του αρνητικού μηχανισμού feedback. Τέτοιες είναι :

- η πρώιμη ωοθηκική ανεπάρκεια που αφορά το 1% των γυναικών που εμφανίζουν εμμηνόπαυση και είναι κάτω των 40 ετών. Χαρακτηρίζεται από αμηνόρροια, στειρότητα και υπεργοναδοτροφικό υπογοναδισμό με αυξημένη FSH και ελαττωμένη οιστραδιόλη (Kalantaridou et al., 1998). Αρχικά θεωρήθηκε ως μη αναστρέψιμη κατάσταση αλλά τελικά βρέθηκε διαλλείπουσα λειτουργία των ωοθηκών στο 50% με $E2 > 183\text{pmol/L}$ μετά από κατα μέσον όρο τετράμηνη παρακολούθηση γυναικών-ασθενών (Nelson et al., 1994). Οι γυναίκες αυτές έχουν πιθανότητα αυτόματη σύλληψης και κύησης (Kalantaridou et al., 1998). Το ίδιο μπορεί να συμβεί και σε περιπτώσεις ελάτ-

τωσης των γοναδοτροφινών μετά από εξωγενή χορήγηση E2 οπότε η κυκλικότητα αποκαθίσταται χωρίς όμως τα ποσοστά ωρίμανσης και ωοθυλακιορρηξίας να είναι υψηλά (Taylor et al., 1996). Άρα λοιπόν αυτό που κυριαρχεί στη συγκεκριμένη κατάσταση είναι η ανεπαρκής παραγωγή στεροειδών ορμονών από τις ωοθήκες που ασκούν ασθενή αρνητικό μηχανισμό παλίνδρομης αλληλορρύθμισης και έτσι τα επίπεδα των γοναδοτροφινών είναι υψηλά. Επιπλέον τα επίπεδα της ανασταλίνης είναι ελαττωμένα (Welt et al., 2005).

- αφαίρεση ή καταστροφή των ωοθηκών από ιατρογενή αίτια ή υποκείμενη παθολογία όπου δεν παράγονται στεροειδείς και μη ορμόνες και παρατηρείται πλήρης κατάργηση του αρνητικού μηχανισμού feedback.
- το σύνδρομο Turner και το σύνδρομο των αδρανών ωοθηκών, στα οποία έχουμε χαμηλή στάθμη κυκλοφορούντων οιστρογόνων και αυξημένη των γοναδοτροφινών και αποτελούν αιτίες πρωτοπαθούς αμηνόρροιας (Μεσσήνης 2005, σελ 556).

Αντίστοιχες καταστάσεις που να οδηγούν σε ενίσχυση του αρνητικού μηχανισμού feedback λόγω διαταραχής ωοθηκών δεν έχει αναφερθεί.

Μια άλλη παθολογική κατάσταση όπου φαίνεται να έχει ως αιτία την ενισχυμένη δράση του αρνητικού μηχανισμού είναι το σύνδρομο πολυκυστικών ωοθηκών (PCOS) που ορίζεται ως σύνδρομο ωοθηκικής δυσλειτουργίας με κύρια χαρακτηριστικά την υπερανδρογοναιμία και την πολυκυστική μορφολογία των ωοθηκών και κλινικές εκδηλώσεις τις διαταραχές της εμμηνορυσίας, τα σημεία υπερανδρογοναιμίας και την παχυσαρκία (Rotterdam, 2003). Αφορά το 5% των γυναικών αναπαραγωγικής ηλικίας. Στο σύνδρομο αυτό παρατηρούνται υπερηχογραφικά πολλαπλά μικρά ωοθυλάκια με διάμετρο 9 mm το οποία αδυνατούν να ωριμάσουν. Υπάρχει επίσης αυξημένο ωοθηκικό στρώμα το οποίο υπερπαράγει ανδρογόνα. Η αύξηση της βασικής τιμής LH που συνήθως παρατηρείται ενισχύει την ωοθηκική παραγωγή ανδρογόνων (Μεσσήνης 2005, σελ 564). Από την άλλη, η FSH φαίνεται να επηρεάζεται αρνητικά με τα επίπεδα της να κυμαίνονται σε χαμηλότερες τιμές οι οποίες είναι αδύνατο να οδηγήσουν σε επιλογή επικρατούντος ωοθυλακίου με αποτέλεσμα την διαταραχή της ωοθυλακιορρηξίας. Αυτή η καταστολή της διακυκλικής FSH μπορεί να οφείλεται σε αυξημένα επίπεδα ανασταλίνης που ασκούν έντονο αρνητικό feedback (Μεσσήνης 2005, σελ 564).

Στα αίτια διαταραχής της έκκρισης των γοναδοτροφινών συγκαταλέγονται και αυτά της υποθαλαμικής και υποφυσιακής προέλευσης όπως όγκοι του ΚΝΣ, φλεγμονώδεις και διηθητικές επεξεργασίες υποθαλάμου, τραυματισμοί κεφαλής ή ακτινοβολήση της, λειτουργικές διαταραχές, αδενώματα, υπερπρολακτιναιμία κ.α. Ενώ παθήσεις των επι-

νεφριδίων και του θυροειδούς όπως το σύνδρομο Cushing, ο υπερθυρεοειδισμός και ο υποθυρεοειδισμός λόγω κυρίως εξωαδενικής παραγωγής οιστρογόνων διαταράσσουν τον μηχανισμό παλίνδρομης αλληλορρύθμισης (Μεσσήνης 2005, σελ 558).

Υπάρχουν καταστάσεις όπως η υπερπρολακτιναιμία, όπου οφείλεται σε αδένωμα της υποφύσεως και λόγω καταστροφής του παρεγχύματος επηρεάζεται η έκκριση των υπολοίπων ορμονών της, το PCOS, με αδυναμία επιλογής ωοθυλακίου, και ο υπογοναδοτροφικός υπογοναδισμός, με έλλειψη παραγωγής και έκκρισης LH, όπου αντίθετα με τους φυσιολογικούς κύκλους υπάρχει αδυναμία του θετικού μηχανισμού παλίνδρομης αλληλορρύθμισης προς τη πραγματοποίησης μεσοκύκλιου κύματος LH και ωοθυλακιόρρηξιας.

Εκτός από τις παθολογικές καταστάσεις αλλαγές στους μηχανισμούς παλίνδρομης αλληλορρύθμισης μπορεί να προκαλέσει και η χορήγηση φαρμακευτικής αγωγής και μάλιστα η δράση αυτή να είναι και η επιθυμητή όπως στις περιπτώσεις θεραπείας IVF ή στην αντισύλληψη.

Στην πρώτη περίπτωση, όπως έχει αναφερθεί ήδη, η χορήγηση FSH για πρόκληση πολλαπλής ωοθυλακικής διέγερσης οδηγεί σε αυξημένη παραγωγή της οιστραδιόλης η οποία μέσω του αρνητικού μηχανισμού feedback προκαλεί την καταστολή της βασικής έκκρισης των γοναδοτροφινών (Messinis and Templeton, 1989; Messinis et al., 1994). Επιπλέον έχει βρεθεί ότι στην περίπτωση θεραπείας με γοναδοτροφίνες υπάρχει αύξηση της ανασταλτίνης (Tsonis et al., 1988). Τα παραπάνω συντελούν στην μείωση της βασικής έκκρισης της LH και της FSH. Στις περιπτώσεις ωοθυλακικής διέγερσης ο παράγων GnSAF βρίσκεται αυξημένος (Messinis and Templeton, 1989) οπότε η εξασθένιση του μεσοκύκλιου κύματος της LH που έχει παρατηρηθεί αποδίδεται σε αυτόν. Στα φαρμακευτικά πρωτόκολλα της IVF σκοπός είναι να επιτύχουμε μεγάλη «συγκομιδή» σε ωοθυλάκια τα οποία όμως δεν πρέπει να οδηγηθούν λόγω των αυξημένων επιπέδων οιστραδιόλης, πριν την ωοληψία, σε ρήξη. Έτσι λοιπόν χρησιμοποιούνται GnRH ανταγωνιστές. Αυτοί δεσμεύουν τους υποδοχείς GnRH και χωρίς απευαισθητοποίηση της υπόφυσης οδηγούν εξ'αρχής σε ελάττωση των επιπέδων της LH παρεμποδίζοντας την δράση του θετικού μηχανισμού παλίνδρομης αλληλορρύθμισης της E_2 που οδηγεί στο κύμα της LH και την ωοθυλακιόρρηξια.

Μια άλλη ουσία που παρεμβαίνει στη δράση του μηχανισμού feedback είναι η κιτρική κλομιφαίνη. Η αντιοιστρογόνος αυτή ουσία δεσμεύει τους υποδοχείς της οιστραδιόλης στην υπόφυση καθιστώντας αδύνατη τη δράση του αρνητικού μηχανισμού feedback οπότε παρά τη συνεχώς αυξανόμενη συγκέντρωση οιστραδιόλης, αυξάνονται κατακόρυφα και οι γοναδοτροφίνες (Messinis and Templeton, 1988).

Τέλος, η λήψη φαρμακευτικών σκευασμάτων για αντισύλληψη έχει ως επιθυμητό αποτέλεσμα την διατάραξη του αρνητικού μηχανισμού feedback. Μέσω λήψης των δισκίων, που περιέχουν οιστρογόνα και προγεσταγόνο, επιτυγχάνεται η ενίσχυση του μηχανισμού feedback και η καταστολή της έκκρισης των γοναδοτροφινών σε επίπεδα τέτοια όπου είναι αδύνατη η επιλογή και ωρίμανση ωοθυλακίου αλλά και η ωοθυλακιορρηξία.

ΚΛΙΝΙΚΕΣ ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ

Η απομόνωση του παράγοντα GnSAF και ο πλήρης χαρακτηρισμός του μορίου του θα μπορούσε να οδηγήσει στην αξιοποίηση του σε πλήθος κλινικών εφαρμογών.

Πρόσφατη μελέτη (Martinez et al., 2002) σε δύο ομάδες γυναικών υπό θεραπεία με FSH, για πρόκληση πολλαπλής ωοθυλακικής διέγερσης, οδήγησε στο συμπέρασμα ότι η ομάδα των γυναικών που παρουσίασε καλή ανταπόκριση στη θεραπεία είχε μεγαλύτερη παραγωγή GnSAF σε σχέση με την δεύτερη ομάδα που αφορούσε γυναίκες με φτωχή ανταπόκριση. Στις ίδιες ομάδες γυναικών και σε τυχαίους κύκλους χωρίς θεραπεία, παρατηρήθηκε αντίστοιχη ανίχνευση του GnSAF στην πρώτη ομάδα και απουσία του στη δεύτερη. Από τα παραπάνω δηλαδή συμπεραίνουμε ότι οι γυναίκες με ανεπαρκή ανταπόκριση στη θεραπεία για IVF παρουσιάζουν πολύ χαμηλά επίπεδα παραγωγής του GnSAF ενώ αντίστοιχα η παρουσία του παράγοντα έχει συσχετισθεί με καλή ανταπόκριση στην πρόκληση πολλαπλής ωοθυλακικής διέγερσης.

Έτσι λοιπόν η απομόνωση του παράγοντα και η ταυτοποίηση του μορίου του θα έδινε τη δυνατότητα κατασκευής ενός μονοκλωνικού αντισώματος ειδικού για τον GnSAF που θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί σε ανοσοενζυμική μέθοδο ELIZA, η οποία θα έδινε τη δυνατότητα προσδιορισμού και ποσοτικοποίησης του παράγοντα. Έτσι θα ήταν δυνατόν η μέθοδος αυτή να συμπεριληφθεί ως μέρος του ελέγχου των υπογόνιμων γυναικών που γίνεται στις μονάδες υποβοηθούμενης αναπαραγωγής πριν την IVF ώστε να αναγνωρίζονται οι γυναίκες με ανεπαρκή ανταπόκριση στη πρόκληση πολλαπλής ωοθυλακικής διέγερσης και να αντιμετωπίζονται ανάλογα.

Επιπλέον θα υπήρχε η δυνατότητα επιδημιολογικών μελετών σε διάφορες ομάδες γυναικών με διαφορετικές ηλικίες, υγιείς ή με υποκείμενη παθολογία, με πρόβλημα γονιμότητας ή όχι, ώστε να μελετηθούν όλοι οι παράγοντες ως προς την παραγωγή και έκκριση του GnSAF.

Μια άλλη πιθανή εφαρμογή, που προϋποθέτει την απομόνωση του παράγοντα, θα μπορούσε να είναι η χορήγηση του ως εναλλακτική θεραπεία, αντί των GnRH αναλόγων, για την ελάττωση της έκκρισης της LH από την υπόφυση σε γυναίκες που λαμβάνουν FSH στα πλαίσια της πρόκλησης πολλαπλής ωοθυλακικής διέγερσης ώστε προλαμβάνεται το κύμα της LH και η πρόκληση ωοθυλακιορρηξίας πριν την ωοληψία.

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Το γυναικείο αναπαραγωγικό σύστημα έχει ως σκοπό την εξυπηρέτηση της αναπαραγωγής μέσω της έκκρισης ορμονών και της παραγωγής ώριμων ωαρίων έτοιμων προς γονιμοποίηση. Παρουσιάζει κυκλικά περιοδική λειτουργία η οποία οφείλεται σε αλλαγές του ορμονικού προφίλ ανάλογα με τη φάση του γεννητικού κύκλου λόγω της θετικής ή αρνητικής, δράσης των ορμονών στα όργανα του αναπαραγωγικού άξονα μέσω των μηχανισμών παλίνδρομης αλληλορρύθμισης. Ο αναπαραγωγικός άξονας αποτελείται από τα ορμονοπαραγωγά όργανα υποθάλαμο, υπόφυση και ωοθήκες τα οποία αποτελούν σύστημα αλληλορρύθμισης. Οι ορμόνες που εκκρίνονται είναι η υποθαλαμική GnRH, υπεύθυνη για την έκκριση των γοναδοτροφινών, οι υποφυσιακές γοναδοτροφίνες FSH και LH, υπεύθυνες για την παραγωγή γαμετών και την στεροειδογένεση, και οι ωοθηκικές ορμονες στεροειδείς και μη.

Η στεροειδογένεση βασίζεται στη θεωρία των “δυο κυττάρων-δύο γοναδοτροφινών” κατά την οποία απαιτείται η συνεργασία των κυττάρων της έσω θήκης και των κυττάρων της κοκκώδους στιβάδας. Τα κυριότερα οιστρογόνα που παράγονται είναι η οιστραδιόλη (E2) και η οιστρόνη (E1) (Μεσσήνης., 2005). Η προγεστερόνη παράγεται κυρίως από το ωχρό σωματίο αν και μελέτη απόδεικνύει την ωοθηκική της προέλευση και κατά την ωοθυλακική φάση (Alexandris et al., 1997).

Ο αρνητικός μηχανισμός παλίνδρομης αλληλορρύθμισης είναι υπεύθυνος για την καταστολή της βασικής έκκρισης των γοναδοτροφινών. Η βασική ορμονη του μηχανισμού κατά την ωοθυλακική φάση είναι η οιστραδιόλη, η οποία δρα μέσω πυρηνικών υποδοχέων στα γοναδοτρόφα κύτταρα της υποφύσεως. Η οιστραδιόλη δεν είναι ο μοναδικός ρυθμιστής του ωοθηκικού μηχανισμού ελέγχου της έκκρισης των γοναδοτροφινών. Σ'αυτόν συμμετέχουν η προγεστερόνη αλλά και οι μη στεροειδείς ορμόνες της ωοθήκης. Η προγεστερόνη συμμετέχει στον αρνητικό μηχανισμό παλίνδρομης αλληλορρύθμισης αλλά η αρνητική της επίδραση εκδηλώνεται μόνο παρουσία των οι-

στρογόνων (Daforoulos et al., 2004a; Μεσσήνης., 2005).

Οι μη στεροειδείς ορμόνες της ωοθήκης είναι πρωτεϊνικής φύσεως και συμμετέχουν στη ρύθμιση της έκκρισης των γοναδοτροφινών. Η ανασταλτίνη (inhibin) έχει δύο ισομορφές την Α, η οποία παράγεται κυρίως από το ωχρό σωμάτιο οπότε είναι ελαττωμένη κατά την ωοθυλακική φάση, και τη Β, με προέλευση από τα προαντρικά ωοθυλάκια άρα και αυξημένη συγκέντρωση κατά την πρώιμη έως μέση ωοθυλακική φάση. Η δράση της είναι η μείωση της σύνθεσης και της έκκρισης των γοναδοτροφινών μέσω του μηχανισμού της αρνητικής παλίνδρομης αλληλορύθμισης. Η ακτιβίνη (activin) της οποίας μόνο η ισομορφή Α έχει απομονωθεί παρουσιάζει αύξηση στο μέσον του κύκλου και στην όψιμη ωχρινική φάση και η δράση της είναι διεγερτική ως προς την έκκριση της FSH. Η φολλιστατίνη είναι μια μονή αλυσίδα γλυκοπρωτεϊνών που δρα καταστολικά ως προς την έκκριση της FSH μέσω μηχανισμού που προκύπτει από την ικανότητα της να δεσμεύει την β υπομονάδα της ακτιβίνης και έτσι να εξουδετερώνει τη δράση της ορμόνης αυτής. Τέλος η αντιμυλλεριανή ορμόνη (AMH) η οποία παράγεται από τα κοκκώδη κύτταρα αλλά ο ρόλος της στο μηχανισμό παλίνδρομης αλληλορύθμισης των γοναδοτροφινών παραμένει άγνωστος.

Η ωχρινική φάση ακολουθεί την ωοθυλακιορρηξία. Υπό την επίδραση της LH ωχρινοποιούνται τα κοκκώδη και τα κύτταρα της θήκης και σχηματίζουν έτσι το ωχρό σωμάτιο το οποίο παράγει προγεστερόνη, οιστραδιόλη σε μικρότερες ποσότητες, ανασταλτίνη Α και ρηλαξίνη, με άγνωστο προς το παρόν ρόλο. Τα επίπεδα των γοναδοτροφινών στη φάση αυτή διατηρούνται χαμηλά μέσω της δράσης του αρνητικού μηχανισμού παλίνδρομης αλληλορύθμισης που ασκείται από τις ορμονες του ωχρού σωματίου. Εάν όμως δεν επιτευχθεί κύηση τότε επέρχεται ωχρινόλυση και άρση του κατασταλτικού μηχανισμού λόγω μείωσης των ωχρινικών ορμονών με αποτέλεσμα την αύξηση της έκκρισης των γοναδοτροφινών που οδηγεί στη διακυκλική αύξηση της FSH. Αυτή η αύξηση, που ονομάζεται και «παράθυρο» FSH, είναι υπεύθυνη για την κυκλική στρατολόγηση αρκετών ωοθυλακίων και την επιλογή του ενός επικρατούντος. Η διακυκλική αύξηση της FSH διαρκεί έως την 5^η-6^η ημέρα της ωοθυλακικής φάσης του γεννητικού κύκλου και η λήξη της επέρχεται μέσω του αρνητικού μηχανισμού παλίνδρομης αλληλορύθμισης από τη δράση των παραγόμενων από τα αναπτυσσόμενα ωοθυλάκια ορμονών, οιστραδιόλη και ανασταλτίνης Β. Στη δημιουργία του «παράθυρου» της FSH πιθανόν να συμμετέχει και η ακτιβίνη Α (Messinis., 2006b).

Η στρατολόγηση και ανάπτυξη των ωοθυλακίων και η επιλογή του κυρίαρχου οδηγεί σε συνεχιζόμενη αύξηση της στάθμης της οιστραδιόλης η οποία δύο μέρες περίπου πριν την ωοθυλακιορρηξία ξεπερνά μια μέγιστη τιμή ουδό η οποία ευαισθητοποιεί την

υπόφυση στη GnRH και ενισχύει το αυτοεπαγωγικό της φαινόμενο με αποτέλεσμα την ενεργοποίηση του μηχανισμού θετικής παλίνδρομης αλληλορρύθμισης που οδηγεί σε εκκριτική αιχμή των γοναδοτροφινών και κυρίως της LH, γνωστή ως μεσοκύκλιο κύμα, που απαιτείται για την ωοθυλακιορρηξία. Το μεσοκύκλιο κύμα εμφανίζεται μια ημέρα περίπου μετά την αιχμή της οιστραδιόλης η οποία πρέπει να ξεπερνά τα 200 pg/ml και η διάρκεια της να είναι τουλάχιστον 48 ώρες. Η προγεστρόνη ασκεί τη θετικής της επίδραση και πάλι μόνο παρουσία οιστρογόνων. Η διάρκεια του κύματος είναι περίπου 48-72 ώρες και ο τερματισμός του αποδίδεται σε ωθητικούς παράγοντες και κυρίως στην κατασταλτική δράση που ασκεί η αυξανόμενη συγκέντρωση της προγεστερόνης (Messinis and Templeton., 1990; Dafopoulos et al., 2006).

Ο GnSAF είναι ένας μη στεροειδής ωθητικός παράγοντας η ύπαρξη του οποίου μελετήθηκε αρχικά σε γυναίκες υπό θεραπεία για πρόκληση πολλαπλής ωοθυλακικής διέγερσης και στις οποίες το μεσοκύκλιο κύμα της LH εμφανίστηκε εξασθενημένο (Messinis et al., 1985; Messinis and Templeton., 1989). Η πηγή του παράγοντα βρέθηκε ότι είναι τα μικρά αναπτυσσόμενα ωθυλάκια (Messinis and Templeton., 1987). Έτσι λοιπόν προκύπτει ότι το κύμα της LH είναι αποτέλεσμα της ισορροπίας μεταξύ της δράσης της οιστραδιόλης και του GnSAF. Έτσι στην πρώιμη ωοθυλακική φάση κυριαρχεί ο GnSAF οπότε καταστέλλεται η έκκριση των γοναδοτροφινών ενώ από την μέση και ως το τέλος της ωοθυλακικής φάσης η επιλογή του κυρίαρχου ωοθυλακίου οδηγεί σε ατρησία των υπολοίπων και μείωση του GnSAF ενώ αντίθετα η οιστραδιόλη αυξάνεται ως την τιμή αιχμής της και ενεργοποιεί το θετικό μηχανισμό παλίνδρομης αλληλορρύθμισης και έτσι αυξάνεται η έκκριση της LH. Η απομόνωση του παράγοντα από ανθρώπινο ωοθυλακικό υγρό έδειξε ότι πρόκειται για πρωτεϊνική αλυσίδα 12.5 kDa που αντιστοιχεί στο καρβοξυλικό άκρο της ανθρώπινης αλβουμίνης ορού (Pappa et al., 1999; Messinis., 2003). Η δράση της λοιπόν είναι αντίθετη από αυτή της οιστραδιόλης προκαλώντας μείωση της έκκρισης της LH ως απάντηση στη GnRH (Messinis et al., 1998) όμως δεν ελέγχει το χρόνο έναρξης του κύματος της LH αλλά μόνον το εύρος του.

Η εμμηνόπαυση αποτελεί αναπόφευκτη και μη αναστρέψιμη φυσιολογική κατάληξη που οφείλεται στην εξάντληση των ωθητικών αποθεμάτων σε ωθυλάκια τα οποία αδυνατούν να ανταποκριθούν στην επίδραση των υποφυσιακών ορμονών. Έτσι λοιπόν ο μηχανισμός αρνητικής παλίνδρομης αλληλορρύθμισης ανεπαρκεί ενώ τελικά η δράση του διακόπτεται πλήρως οδηγώντας σε αύξηση των επιπέδων των γοναδοτροφινών (Μεσσίνης., 2005).

Διαταραχές της ορμονικής αλληλορρύθμισης μπορεί να προκύψουν από παθο-

λογικές καταστάσεις ωθηκικής προέλευσης όπως είναι η καταστολή του αρνητικού μηχανισμού, μέσω της μείωσης της έκκρισης των οιστρογόνων, ή η ενίσχυση της δράσης του καθώς και η αδυναμία του θετικού μηχανισμού παλίνδρομης αλληλορύθμισης που συναντάται σε καταστάσεις όπως η υπερπρολακτιναιμία, το σύνδρομο πολυκυστικών ωθηκών και ο υπογοναδοτροφικός υπογοναδισμός. Άλλες παθολογικές καταστάσεις μπορεί να είναι υποθαλαμικής ή υποφυσιακής προέλευσης αλλά και παθήσεις των επινεφριδίων και του θυρεοειδούς λόγω εξωαδενικής παραγωγής οιστρογόνων (Μεσσίνης., 2005). Επιπλέον αλλαγές στους μηχανισμούς παλίνδρομης αλληλορρύθμισης μπορεί να προκαλέσει και η χορήγηση φαρμακευτικής αγωγής και μάλιστα η δράση αυτή να είναι και η επιθυμητή όπως στις περιπτώσεις θεραπείας IVF ή στην αντισύλληψη (Messinis and Templeton., 1988; Messinis and Templeton., 1989; Messinis et al., 1994).

Έτσι συνοπτικά καταληγούμε στο συμπέρασμα ότι η λειτουργία του γυναικείου αναπαραγωγικού συστήματος βασίζεται στη συνεργασία των οργάνων του αναπαραγωγικού άξονα. Η έκκριση των γοναδοτροφινών βρίσκεται υπό ωθητικό έλεγχο μέσω μηχανισμού είτε θετικής είτε αρνητικής παλίνδρομης αλληλορρύθμισης με βασική ρυθμιστική ορμόνη την οιστραδιόλη ενώ συμμετέχουν και η προγεστερόνη καθώς και οι μη στεροειδείς ορμόνες της ωοθήκης. Ο αρνητικός μηχανισμός είναι υπεύθυνος για την καταστολή της βασικής έκκρισης των γοναδοτροφινών και για την διακυκλική αύξηση της FSH ενώ ο θετικός μηχανισμός είναι υπεύθυνος για το μεσοκύκλιο κύμα της LH. Ο παράγων GnSAF είναι μη στεροειδής, ωθηκικής προέλευσης και ελαττώνει την έκκριση της LH από την υπόφυση. Η απομόνωση και ταυτοποίηση του παράγοντα GnSAF θα μπορούσε να έχει πολλές κλινικές εφαρμογές όπως για παράδειγμα η χορήγηση του ως εναλλακτική θεραπεία σε γυναίκες που υποβάλλονται σε θεραπεία εξωσωματικής γονιμοποίησης για την πρόληψη του κύματος της LH και της ωοθυλακιορρηξίας και επιπλέον, μιας και η παρουσία του παράγοντα έχει συσχετισθεί με την καλή ανταπόκριση στη θεραπεία για πρόκληση πολλαπλής ωοθυλακικής διέγερσης η ανάπτυξη ανοσοενζυμικής μεθόδου για την ανίχνευση και τη μέτρηση του στα πλαίσια της αρχικής διερεύνησης των υπογόνιμων γυναικών θα έδινε χρήσιμες πληροφορίες για την περαιτέρω αντιμετώπιση τους.

«ΩΟΘΗΚΙΚΗ ΡΥΘΜΙΣΗ ΤΗΣ ΕΚΚΡΙΣΗΣ ΤΩΝ ΓΟΝΑΔΟΤΡΟΦΙΝΩΝ»

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η διατήρηση της φυσιολογικής λειτουργίας του γυναικείου αναπαραγωγικού συστήματος βασίζεται στην παραγωγή ορμονών που προκύπτει από τη σωστή συνεργασία των οργάνων του άξονα υποθάλαμος-υπόφυση-ωοθήκες μέσω των μηχανισμών, θετικής ή αρνητικής, παλίνδρομης αλληλορρύθμισης. Έτσι διατηρείται η κυκλικότητα του γεννητικού κύκλου και το ορμονικό του προφίλ και λαμβάνουν χώρα επιτυχώς όλα τα γεγονότα που περιλαμβάνει. Οι ορμόνες της αναπαραγωγής είναι η GnRH η οποία παράγεται από τον υποθάλαμο και δρα στην υπόφυση, οι γοναδοτροφίνες που ρυθμίζουν την στεροειδογένεση στις ωοθήκες και οι ορμόνες των ωοθηκών, στεροειδείς και μη. Η έκκριση των γοναδοτροφινών βρίσκεται υπό τον έλεγχο των μηχανισμών θετικής ή αρνητικής παλίνδρομης αλληλορρύθμισης μέσω των ωοθηκικών ορμονών, βασικότερη εκ των οποίων είναι η οιστραδιόλη. Επιπλέον οι ωοθήκες παράγουν προγεστερόνη αλλά και πλήθος μη στεροειδών ορμονών, την ανασταλτίνη, την ακτιβίνη, την φολλιστατίνη, τον παράγοντα αμβλύνσεως του κύματος των γοναδοτροφινών και την αντιμυλλεριανή ορμόνη AMH, που συμμετέχουν και αυτοί ανασταλτικά ή μη στη ρύθμιση έκκρισης των γοναδοτροφινών. Ο αρνητικός μηχανισμός παλίνδρομης αλληλορρύθμισης είναι υπεύθυνος για τη ρύθμιση της βασικής έκκρισης των γοναδοτροφινών. Κατά την ωοθυλακική φάση βασικός ρυθμιστής της έκκρισης των FSH και LH είναι η οιστραδιόλη απαιτώντας όμως και τη συνεργική δράση των χαμηλών κυκλοφορούντων επιπέδων της προγεστερόνης αλλά και της ανασταλτίνης B. Κατά την ωχρινική φάση η ορμόνη που κυριαρχεί είναι η προγεστερόνη που παράγεται από το ωχρό σωματίο με σκοπό την προετοιμασία του ενδομητρίου για πιθανή κύηση. Και σε αυτή τη φάση όμως η οιστραδιόλη αποτελεί τον βασικό ρυθμιστή της έκκρισης των γοναδοτροφινών με την προγεστερόνη να υποστηρίζει τη δράση αυτή. Επιπλέον η ανασταλτίνη A που εκκρίνεται από το ωχρό σωματίο φαίνεται να συμμετέχει στην ρύθμιση της έκκρισης της FSH. Η μείωση της οιστραδιόλης, της προγεστερόνης και της ανασταλτίνης A που παρατηρούνται κατά την ωχρινόλυση οδηγούν σε άρση του αρ-

νητικού μηχανισμού παλίνδρομης αλληλορρύθμισης και στην διακυκλική αύξηση της έκκρισης κυρίως της FSH αλλά και της LH. Το «παράθυρο» της FSH που οδηγεί σε στρατολόγηση και ανάπτυξη νέων ωοθυλακίων με σκοπό την επιλογή του ενός κυρίαρχου οδηγεί σε νέα ωοθυλακική φάση με την έκκριση των γοναδοτροφινών να υπόκειται κυρίως στην αρνητική δράση της παραγόμενης από τα αναπτυσσόμενα ωοθυλάκια οιστραδιόλης. Η επιλογή του κυρίαρχου ωοθυλακίου συνοδεύεται από παραγωγή και έκκριση μεγάλων ποσοτήτων οιστραδιόλης στο τέλος της ωοθυλακικής φάσης οι οποίες ευθύνονται για την εμφάνιση του θετικού μηχανισμού παλίνδρομης αλληλορρύθμισης που οδηγεί στην εκδήλωση του κύματος των γοναδοτροφινών στο μέσον του κύκλου. Τη δράση της οιστραδιόλης σ' αυτή τη φάση φαίνεται να ανταγωνίζεται ο ωοθηκικός παράγων αμβλύνσεως του κύματος των γοναδοτροφινών (GnSAF) ο οποίος ρυθμίζει έτσι το εύρος του κύματος της LH. Παθολογικές καταστάσεις που διαταράσσουν τη λειτουργική συνοχή του αναπαραγωγικού άξονα και αφορούν είτε τις ωοθήκες είτε τον υποθάλαμο και την υπόφυση αλλά και παθήσεις των επινεφριδίων και του θυρεοειδούς οδηγούν σε διαταραχή των μηχανισμών παλίνδρομης αλληλορρύθμισης. Τέτοιου είδους διαταραχές μπορεί να προκληθούν και από τη χορήγηση φαρμακευτικών ουσιών. Η απομόνωση και ταυτοποίηση του παράγοντα GnSAF θα μπορούσε να έχει πολλές κλινικές εφαρμογές όπως για παράδειγμα η χορήγηση του ως εναλλακτική θεραπεία σε γυναίκες που υποβάλλονται σε εξωσωματική γονιμοποίηση για την πρόληψη του κύματος της LH και της ωοθυλακιόρρηξιας. Επιπλέον, μιας και η παρουσία του παράγοντα έχει συσχετισθεί με την καλή ανταπόκριση στη θεραπεία για πρόκληση πολλαπλής ωοθυλακικής διέγερσης η μέτρηση του στα πλαίσια της αρχικής διερεύνησης των υπογόνιμων γυναικών θα έδινε χρήσιμες πληροφορίες για την περαιτέρω αντιμετώπιση τους.

IOANNA D. VOULGARIDI

“OVARIAN REGULATION
OF GONADOTROPHIN SECRETION”

ABSTRACT

The normal function of the female reproductive system is based in hormone production, which results from the good cooperation of the organs of the hypothalamo-pituitary-ovarian axis through the mechanisms of positive or negative feedback regulation. The cyclicity as well as the normal hormone profile are thus maintained. The reproductive hormones are GnRH, which is produced by the hypothalamus and acts at the pituitary and the two gonadotrophins that regulate steroidogenesis in the ovaries. Gonadotropin secretion is controlled by the positive and the negative feedback mechanism via the ovarian hormones, the most prominent of which is oestradiol. Moreover, the ovaries produce progesterone and non steroid hormones, such as inhibin, activin, follistatin, gonadotropin surge attenuating factor (GnSAF), and AMH, which contribute to the regulation of gonadotropin secretion. The negative feedback mechanism is responsible for the regulation of basal gonadotropin secretion. During the follicular phase the primary regulator of FSH and LH secretion is oestradiol with the contribution of the low levels of progesterone and possibly inhibin B. During the luteal phase the principal hormone regulating FSH and LH secretion is progesterone which is produced by the corpus luteum. At that stage, oestradiol and inhibin A, secreted by the corpus luteum, seem to participate. The reduction of oestradiol, progesterone and inhibin A levels towards the end of the luteum phase results in the increase in FSH and LH. The “window” of FSH is responsible for the recruitment and selection of the dominant follicle. The selection of the dominant follicle is accompanied by the production and secretion of high amounts of estradiol, which are responsible for the expression of the positive feedback effect that leads to the surge of gonadotrophins in the middle of the menstrual cycle. During the follicular phase of the cycle the action of estradiol seems to be antagonized by the GnSAF, which regulates the LH surge. Disturbances in the functional coherence of the reproductive axis that have to do either with the ovaries or the hypothalamus and

the pituitary as well as diseases of the thyroid gland and the adrenal glands can lead to disorders in the feedback mechanisms. The isolation of GnSAF could have a lot of clinical applications. For example it can be prescribed as an alternative treatment to women undergoing in vitro fertilization in order to prevent the LH surge and the ovulation. Another potential application might be the evaluation of ovarian reserves, although this needs to be investigated.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Adams JM, Taylor AE, Schoenfeld DA, Crowley WF, Hall JE (1994), The midcycle gonadotropin surge in normal women occurs in the face of an unchanging gonadotropin-releasing hormone pulse frequency. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 79(3):858-64.
- Alexandris E, Milingos S, Kollios G, Seferiadis K, Lolis D and Messinis IE (1997), Changes in gonadotrophin response to gonado-trophin releasing hormone in normal women following bilateral ovariectomy. *Clin. Endocrinology* 47:721-726.
- Attardi B, Vaughan J, Vale W (1992), Regulation of FSH beta messenger ribonucleic acid levels in the rat by endogenous inhibin. *Endocrinology* 130(1):557-9.
- Balen AH, Er J, Rafferty B and Rose M (1995), In vitro bioactivity of gonadotrophin surge attenuating factor is not affected by an antibody to human inhibin. *J. Reproduc. Fertil.* 104:285-289.
- Bassett SG and Zeleznik AJ (1990), Acute suppression of FSH secretion by oestradiol in the ovariectomized rhesus monkey. *J. Reprod. Fert.* 88:441-446.
- Belchetz PE, Plant TM, Nakai Y, Keogh EJ, Knobil E (1978), Hypophysial responses to continuous and intermittent delivery of hypothalamic gonadotrophin-releasing hormone. *Science* 202(4368):631-3.
- Bilezikjian LM, Blount AL, Corrigan AZ, Leal A, Chen Y, Vale WW (2001), Actions of activins, inhibins and follistatins: implications in anterior pituitary function. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* 28(3):244-8.
- Broekmans FJ, Soules MR and Fauser BC (2009), Ovarian aging: mechanisms and clinical consequences. *Endocr. Rev.* 30:465-493.
- Byrne B, Fowler PA, Fraser M, Culler MD and Templeton AA (1995), Gonadotropin surge-attenuating factor bioactivity in serum from superovulated women is not blocked by inhibin antibody. *Biology of Reproduc.* 52:88-95.
- Burger HG, Cahir N, Robertson DM, Groome NP, Dudley E, Green A, Dennerstein L (1998), Serum inhibins A and B fall differentially as FSH rises in perimenopausal women. *Clin. Endocrinol. (Oxf)* 48(6):809-13.
- Carlsson IB, Scott JE, Visser JA, Ritvos O, Themmen APN and Hovatta O (2006), Anti-Mullerian hormone inhibits initiation of growth of human primordial ovarian follicles in vitro. *Human Reproduction* 21(9):2223-2227.
- Chakraborty TR and Gore AC (2004), Aging related changes in ovarian hormones, their receptors and neuroendocrine function. *Exp. Biol. Med.* 229(10):977-87.
- Chang RJ, Jaffe RB (1978), Progesterone effects on gonadotropin release in women pretreated with estradiol. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 47(1):119-25.
- Corrigan AZ, Bilezikjian LM, Carroll RS, Bald LN, Schmelzer CH, Frendly BM, Mason AJ, Chin WW, Schwall RH, Vale W (1991), Evidence for an autocrine role of activin B within rat anterior pituitary cultures. *Endocrinology* 128(3):1682-4.

- Dafopoulos K, Kotsovassilis CG, Milingos S, Kallitsaris A, Galazios G, Zintzaras E, Sotiros P and Messinis IE (2004a), Changes in pituitary sensitivity to GnRH in estrogen-treated post-menopausal women: evidence that gonadotrophin surge attenuating factor plays a physiological role. *Human Reproduction* 19(9):1985-1992.
- Dafopoulos K, Kotsovassilis PC, Milingos SD, Kallitsaris AT, Georgiadakis GS, Sotiros PG and Messinis IE (2004b), FSH and LH responses to GnRH after ovariectomy in postmenopausal women. *Clin. Endocrinol.* 60:120-124.
- Dafopoulos K, Mademtzis I, Vanakara P, Kallitsaris A, Stamatiou G, Kotsovassilis C and Messinis IE (2006), Evidence that termination of the estradiol induced luteinizing hormone surge in women is regulated by ovarian factors. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 91(2):641-645.
- De Geyter C, De Geyter M, Huber PR, Nieschlag E and Holzgreve W (2002), Progesterone serum levels during the follicular phase of the menstrual cycle originate from the crosstalk between the ovaries and the adrenal cortex. *17(4):933-939.*
- De Kretser DM, Hedger MP, Loveland KL and Phillips DJ (2002), Inhibins, activins and follistatin in reproduction. *Human Reproduction* 8(6):529-541.
- Delemarre EM, Felius B and Delemarre-van de Waal HA (2008), Inducing Puberty. *European Journal of Endocrinology* 159:9-15.
- Evans LW, Muttukrishna S, Groome NP (1998), Development, validation and application of an ultra sensitive two site enzyme immunoassay for human follistatin. *J. Endocrinol.* 156(2):275-82.
- Evans NP, Dahl GE, Padmanabhan V, Thrun LA and Karsch FJ (1997), Estradiol Requirements for Induction and Maintenance of the Gonadotropin-Releasing Hormone Surge: Implications for Neuroendocrine Processing of the Estradiol Signal. *Endocrinology* 138:5408-5414.
- Fang J, Yin W, Smiley E, Wang SQ, Bonalio J (1996), Molecular cloning of the mouse activin beta E subunit gene. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 21;228(3):669-74.
- Ferin M, Rosenblatt H, Carmel PW, Antunes JL, Vande Wiele RL (1979), Estrogen-induced gonadotropin surges in female rhesus monkeys after pituitary stalk section. *Endocrinology* 104(1):50-2.
- Filicori M, Santoro N, Merriam GR, Crowley WF Jr (1986), Characterization of the physiological pattern of episodic gonadotrophin secretion throughout the human menstrual cycle. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 62(6):1136-44.
- Fowler PA, Sorsa-Leslie T, Cash P, Dunbar B, Melvin W, Wilson Y, Mason HD and Harris W (2002), A 60-66 kDa protein with gonadotrophin surge attenuating factor bioactivity is produced by human ovarian granulosa cells. *Molec. Hum. Reproduc.* 8(9):823-832.
- Gill S, Sharpless JL, Rado K and Hall JE (2002), Evidence that GnRH decreases with gonadal steroid feedback but increases with age in postmenopausal women. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 87:2290-2296.
- Gore AC, Windsor-Engnell BM and Terasawa E (2004), Menopausal increases in pulsatile gonadotropin-releasing hormone release in a nonhuman primate (macaca mulatta). *Endocrinology* 145:4653-4659.

Gregg DW, Schwall RH and Nett TM (1991), Regulation of gonadotrophin secretion and number of gonadotrophin releasing hormone receptors by inhibin, activin-A and estradiol. *Biol. Reproduction* 44:725-732.

Groome NP, Illingworth PJ, O'Brien M, Cooke I, Ganesan TS, Baird DT, McNeilly AS (1994), Detection of dimeric inhibin throughout the human menstrual cycle by two-site enzyme immunoassay. *Clin Endocrinology (Oxf)* 40(6):717-23.

Groome NP, Illingworth PJ, O'Brien M, Pai R, Rodger FE, Mather JP, McNeilly AS (1996), Measurement of dimeric inhibin B throughout the human menstrual cycle. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 81(4):1401-5.

Gupta D (1977), Hypothalamic control of the mammalian sexual maturation. *Pediatr. Padol. Suppl.* 5:83-102.

Hall JE (2007), Neuroendocrine changes with reproductive aging in women. *Semin. Reprod. Med.* 25(5):344-51.

Hall JE, Schoenfield DA, Martin KA, Crowley WF Jr (1992), Hypothalamic gonadotropin-releasing hormone secretion and follicle stimulating hormone dynamics during the luteal-follicular transition. *J. Clin. Endocrinol. Metabol.* 74(3):600-7.

Hall JE, Lavoie HB, Marsh EE and Martin KA (2000), Decrease in Gonadotropin-Releasing Hormone (GnRH) Pulse Frequency with Aging in Postmenopausal Women, *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 85:1794-1800.

Hall JE, Gill S (2001), Neuroendocrine aspects of aging in women. *Endocrinol. Metab. Clin. North Am.* 30(3):631-46.

Hoff JD, Lasley BL, Wang CF, Yen SS (1977), The two pools of pituitary gonadotropin: regulation during the menstrual cycle. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 44(2):302-12.

Hoff JD, Quigley ME, Yen SS (1983), Hormonal dynamics at midcycle: a reevaluation. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 57(4):792-6.

Judd S, Terry A, Petruccio M, White G (1992), The source of pulsatile secretion of progesterone during the human follicular phase. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 74(2):299-305.

Kalantaridou SN, Davis SR, Nelson LM (1998), Premature ovarian failure. *Endocrinol. Metab. Clin. North Am.* 27(4):989-1006.

Karande VC, Scott RT, Archer DF (1990), The relationship between serum estradiol-17 beta concentrations and induced pituitary luteinizing hormone surges in postmenopausal women. *Fertil. Steril.* 54(2):217-21.

Karligiotou E, Kollia P, Kallitsaris A and Messinis IE (2006), Expression of human serum albumin (HSA) mRNA in human granulosa cells: potential correlation of the 95 amino acid long carboxyl terminal of HSA to gonadotrophin surge attenuating factor. *Hum. Reproduc.* 21(3):645-650.

Kazem R, Messinis IE, Fowler P, Groome NP, Knight PG and Templeton AA (1996), Effect of mifepristone (RU486) on the pituitary response to gonadotrophin releasing hormone in women. *Human Reproduction* 11(12):2585-2590.

Kelner KL and Peck EJ Jr (1984), Differential sensitivity of estrogen target tissues: implications for estrogen regulation of serum luteinizing hormone. *J. Neurosci. Res.* 11:79-89.

- Keye WR Jr, Jaffe RB (1975), Strength-duration characteristics of estrogen effects on gonadotropin response to gonadotropin-releasing hormone in women. I. Effects of varying duration of estradiol administration. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 41(06):1003-8.
- Kettel LM, De Paolo LV, Morales AJ, Apter D, Ling N, Yen SS (1996), Circulating levels of follistatin from puberty to menopause. *Fertil. Sterilit.* 65(3):472-6.
- Klein NA, Illingworth PJ, Groome NP, McNeilly AS, Battaglia DE, Soules MR (1996), Decreased inhibin B secretion is associated with the monotropic FSH rise in older, ovulatory women: a study of serum and follicular fluid levels of dimeric inhibin A and inhibin B in spontaneous menstrual cycles. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 81(7):2742-5.
- Klein NA, Soules MR (1998), Endocrine changes of the perimenopause. *Clin. Obstet. Gynecol.* 41(4):912-20.
- Klein NA, Houmard BS, Hansen KR, Woodruff TK, Sluss PM, Bremner WJ and Soules MR (2004), Age-related analysis of inhibin A, inhibin B, and activin A relative to the intercycle monotropic follicle stimulating hormone rise in normal ovulatory women. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 89(6):2977-2981.
- Klein R, Findlay JK, Clarke IJ, de Kretser DM, Robertson DM (1993), Radioimmunoassay of FSH suppressing protein in the ewe: concentrations during the oestrous cycle following ovariectomy. *J. Endocrinology* 137(3):433-43.
- Knobil IE (1988), The neuroendocrine control of ovulation. *Hum. Reprod.* 3(4):469-72.
- Lasley BL, Wang CF, Yen SS (1975), The effect of estrogen and progesterone on the functional capacity of the gonadotrophs. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 41(5):820-826.
- Le Nestour E, Marraoui J, Lahlou N, Roger M, de Ziegler D, Bouchard P (1993), Role of estradiol in the rise in follicle-stimulating hormone levels during the luteal-follicular transition. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 77(2):439-42.
- Lind T, Cameron EH, Hunter WM (1978), Serum prolactin, gonadotrophin and oestrogen levels in women receiving hormone replacement therapy. *Br. J. Obstet. Gynaecol.* 85(2):138-41.
- Liu JH, Yen SS (1983), Induction of midcycle gonadotropin surge by ovarian steroids in women: a critical evaluation. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 57(4):797-802.
- Lutjen PJ, Findlay JK, Trounson AO, Leeton JF, Chan LK (1986), Effect on plasma gonadotropins of cyclic steroid replacement in women with premature ovarian failure. *J. Clin. Endocr. Metabol.* 62(2):419-23.
- Mahesh VB (1985), The dynamic interaction between steroids and gonadotropins in the mammalian ovulatory cycle. *Neurosci Biobehav. Rev.* 9(2):245-260.
- Mais V, Cetel NS, Muse KN, Quingley ME, Reid RL, Yen SS (1987), Hormonal dynamics during luteal-follicular transition. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 64(6):1109-14.
- Mansfield MJ, Emans SJ (1984), Adolescent menstrual irregularity. *J. Reprod. Med.* 29(6):399-410.
- March CM, Goebelsmann U, Nakamura RM, Michell DR Jr (1979), Roles of estradiol and progesterone in eliciting

the midcycle luteinizing hormone and follicle stimulating hormone surges. J. Clin. Endocrinol. Metab. 49(4):507-513.

Martinez F, Barry NP, Coroleu B, Tur R, Sorsa-Leslie T, Harris WJ, Groome NP, Knight PG, Fowler PA (2002), Women with poor response to IVF have lowered circulating gonadotrophin surge attenuating factor (GnSAF) bioactivity during spontaneous and stimulated cycles. Hum. Reproduc. 17(3):634-40

McConnell DS, Wang Q, Sluss PM, Bolf N, Khoury RH, Schneyer AL, Midgley AR, Reame NE, Crowley WF, Padmanabhan V (1998), A two-site chemiluminescent assay for activin-free follistatin reveals that most follistatin circulating in men and normal cycling women is in an activin-bound state.

McFarlane JR, Foulds LM, Pisciotto A, Robertson DM, de Kretser DM (1996), Measurement of activin in biological fluids by radioimmunoassay utilizing dissociating agents to remove the interference of follistatin. Eur. J. Endocrinol. 134(4):481-9.

McLachlan RI, Dahl KD, Bremmer WJ, Schwall R, Schmelzer CH, Mason AJ, Steiner RA (1989), Recombinant human activin A stimulates basal FSH and GnRH stimulated FSH and LH release in the adult male macaque, *Macaca fascicularis*. Endocrinology 125(5):2787-9.

Messinis IE (1997), Luteal Function-Luteolysis, Ann. NY. Acad. Sci. 17(816):151-7.

Messinis IE (2000), Ovarian Regulators of gonadotrophin secretion. Ann. NY. Acad. Sci. 900:10-5.

Messinis IE (2003), Modulatory effect of the ovary on LH secretion. Ann. NY. Acad. Sci. 997:35-41.

Μεσσήνης IE (2005), Επιτομή: Μαιευτική και Γυναικολογία. MD Communications. Αθήνα.

Messinis IE (2006a), From menarch to regular menstruation : endocrinological backound. Ann. N.Y. Acad. Sci. 1092:49-56.

Messinis IE (2006b), Ovarian feedback, mechanism of action and possible clinical implication. Human Reprod. Update 12(5):557-71.

Messinis IE and Templeton AA (1987a), Endocrine and follicle characteristics of cycles with and without endogenous luteinizing hormone surges during superovulation induction with pulsatile follicle-stimulating hormone. Hum. Reprod. 2(1):11-6.

Messinis IE and Templeton AA (1987b), Disparate effects of endogenous and exogenous oestradiol on luteal phase function in women. J. Reprod. Fert. 79:549-554.

Messinis IE and Templeton AA (1987c), Effect of high dose exogenous oestrogen on midcycle luteinizing hormone surge in human spontaneous cycle. Clin. Endocrinol. 27(4):453-9.

Messinis IE and Templeton AA (1988), Blockage of the positive feedback effect of oestradiol during prolonged administration of clomiphene citrate to normal women. Clin. Endocrinology 29:509-516.

Messinis IE and Templeton AA (1989), Pituitary response to exogenous LHRH in superovulated women. J. Reprod. Fert. 87:633-639.

- Messinis IE and Templeton AA (1990a), Effects of supraphysiological concentrations of progesterone on the characteristics of the oestradiol-induced gonadotrophin surge in women. *J. Reprod. Fert.* 88:513-519.
- Messinis IE and Templeton AA (1990b), In vivo bioactivity of gonadotrophin surge attenuating factor (GnSAF). *Clin. Endocrinol.* 33:213-218.
- Messinis IE and Templeton AA (1991), Attenuation of gonadotrophin release and reserve in superovulated women by gonadotrophin surge attenuating factor (GnSAF). *Clin. Endocrinol.* 34:259-263.
- Messinis IE, Templeton AA, Baird DT (1985), Endogenous hormone surge during superovulation induction with sequential use of clomiphene citrate and pulsatile human menopausal gonadotropin. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 61(6):1076-80.
- Messinis IE, Templeton AA, Baird DT (1987), Luteal phase after ovarian hyperstimulation. *Br. J. Obstet. Gynaecol.* 94(4):345-50.
- Messinis IE, Hirsch P and Templeton AA (1991), Follicle stimulating hormone stimulates the production of gonadotrophin surge attenuating factor (GnSAF) in vivo. *Clin. Endocrinol.* 35:403-407.
- Messinis IE, Mademtzis I, Zikopoulos K, Tsahalina E, Seferiadis K, Tsolas O, Templeton AA (1992), Positive feedback effect of oestradiol in superovulated women. *Hum. Reprod.* 7(4):469-74.
- Messinis IE, Koutsoyiannis D, Milingos S, Tsahalina E, Seferiadis K, Lolis D and Templeton AA (1993a), Changes in pituitary response to GnRH during the luteal-follicular transition of the human menstrual cycle. *Clin. Endocrin.* 34:159-163.
- Messinis IE, Lolis D, Papadopoulos L, Tsahalina T, Papanikolaou, Seferiadis K and Templeton AA (1993b), Effect of varying concentrations of follicle stimulating hormone on the production of gonadotrophin surge attenuating factor (GnSAF) in women. *Clin. Endocrinol.* 39:45-50.
- Messinis IE, Lolis D, Zikopoulos K, Tsahalina E, Seferiadis K and Templeton AA (1994), Effect of an increase in FSH on the production of gonadotrophin-surge-attenuating factor in women. *J. Reprod. Fert.* 101:689-695.
- Messinis IE, Lolis D, Zikopoulos K, Milingos S, Kolios G, Seferiadis K and Templeton AA (1996), Effect of follicle stimulating hormone or human chorionic gonadotrophin treatment on the production of gonadotrophin surge attenuating factor (GnSAF) during the luteal phase of the human menstrual cycle. *Clin. Endocrinol.* 44:169-175.
- Messinis IE, Milingos S, Zikopoulos K, Hasiotis, Seferiadis K and Lolis D (1998), Luteinizing hormone response to gonadotrophin-releasing hormone in normal women undergoing ovulation induction with urinary or recombinant follicle stimulating hormone. *Human Reproduction* 13(9):2415-2420.
- Messinis IE, Milingos S, Alexandris E, Mademtzis I, Kollios G and Seferiadis K (2002), Evidence of differential control of FSH and LH responses to GnRH by ovarian steroids in the luteal phase of the cycle. *Human Reproduction* 17(2):299-303.
- Miro F and Aspinall LJ (2005), The onset of the initial rise in follicle stimulating hormone during the human menstrual cycle. *Human Reproduction* 20(1):96-100.

- Miyake A, Tasaka K, Kawamura Y, Sakumoto T, Aono T (1982), Progesterone facilitates the LRH releasing action of oestrogen. *Acta. Endocrinol. (Copenh)* 101(3):321-4.
- Moenter SM, Caraty A, Locatelli A, Karsch FJ (1991), Pattern of gonadotropin-releasing hormone (GnRH) secretion leading up to ovulation in the ewe: existence of a preovulatory GnRH surge. *Endocrinology* 129(3):1175-82.
- Molskness TA, Woodruff TK, Hess DL, Dahl KD, Stouffer RL (1996), Recombinant human inhibin A administered early in the menstrual cycle alters concurrent pituitary and follicular, plus subsequent luteal, function in rhesus monkeys. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 81(11):4002-6.
- Muttukrishna S, Fowler PA, George L, Groome NP, Knight PG (1996), Changes in peripheral serum levels of total activin A during the human menstrual cycle and pregnancy. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 81(9):3328-34.
- Muttukrishna S, Sharma S, Barlow DH, Ledger W, Groome N and Sathanandan M (2002), Serum inhibins, estradiol, progesterone and FSH in surgical menopause: a demonstration of ovarian pituitary feedback loop in women. *Human Reproduction* 17(10):2535-2539.
- Nakai Y, Plant TM, Hess DL, Keogh EJ and Knobil E (1978), On the sides of the negative negative and positive feedback actions of estradiol in the control of gonadotropin secretion in the rhesus monkey. *Endocrinology* 102:1008-1014.
- Nakamura T, Takio K, Eto Y, Shibai H, Titani K, Sugino H (1990), Activin-binding protein from rat ovary is follistatin. *Science.* 16;247(4944):836-8.
- Nelson LM, Anasti JN, Kimzey LM, Defensor RA, Lipetz KJ, White BJ, Shawker TH, Merino MJ (1994), Development of luteinized graafian follicles in patients with karyotypically normal spontaneous premature ovarian failure. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 79(5):1470-5.
- Nippoldt TB, Reame NE, Kelch RP, Marshall JC (1989), The roles of estradiol and progesterone in decreasing luteinizing hormone pulse frequency in the luteal phase of the menstrual cycle. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 69(1):67-76.
- Nussey SS and Whitehead SA (2001), *Endocrinology: An integrated approach*. Oxford: BIOS Scientific Publishers, www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20821847.
- Oda S, Nishimatsu S, Murakami K, Ueno N (1995), Molecular cloning and functional analysis of a new activin beta subunit: a dorsal mesoderm-inducing activity in xenopus. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 16;210(2):581-8.
- Ortmann O, Asmus W, Diedrich K, Schulz KD and Emos G (1999), Interactions of ovarian steroids with pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide and GnRH in anterior pituitary cells. *European Journal of endocrinology* 140:207-214.
- Pappa A, Seferiadis K, Fotsis T, Shevchenko A, Marselos M, Tsolas O and Messinis IE (1999), Purification of a candidate gonadotrophin surge attenuating factor from human follicular fluid. *Hum. Reproduct.* 14(6):1449-1456.
- Peng C, Mukai ST (2000), Activins and their receptors in female reproduction. *Biochem. Cell Biol.* 78(3):261-79.

Phillips DJ, Hedger MP, McFarlane JR, Klein R, Clarke IJ, Tilbrook AJ, Nash AD, de Kretser DM (1996), Follistatin concentrations in male sheep increase following sham castration/castration or injection of interleukin-1 beta. *J. Endocrinol.* 151(1):119-24.

Richards JS and Midgley AR Jr (1976), Protein Hormone action: a key to understanding ovarian follicular and luteal cell development. *Biology of reproduction* 14:82-94.

Richardson DW, Gordon K, Billiar RB and Little AB (1992), Chronic hyperestrogenemia: lack of positive feedback action on gonado-tropin-releasing hormone-induced luteinizing hormone release and dual site of negative feedback action. *Endocrinology* 130,1090-1096.

Rivier C, Schwall R, Mason A, Burton L, Vaughan J, Vale W (1991), Effect of recombinant inhibin on luteinizing hormone and follicle stimulating hormone secretion in the rat. *Endocrinology* 128(3):1548-54.

Robertson D, Burger HG, Sullivan J, Cahir N, Groome N, Poncelet E, Franchimont P, Woodruff T, Mather JP (1996), Biological and immunological characterization of inhibin forms in human plasma. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 81(2):669-76.

Robertson DM, Hale GE, Jolley D, Fraser IS, Hughes CL, Burger HG (2009), Interrelationships between ovarian and pituitary hormones in ovulatory menstrual cycle across reproductive age. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 94(1):138-44.

Roseff SJ, Bangah ML, Kettel LM, Vale W, Rivier J, Burger HG, Yen SS (1989), Dynamic changes in circulating inhibin levels during the luteal-follicular transition of the human menstrual cycle. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 69(5):1033-9.

Rossmannith WG (1995), Gonadotropin secretion during aging in women review article. *Experimental Gerontology* 30:369-381.

Sakai R, Shiozaki M, Tabuchi M, Eto Y (1992), The measurement of activin/EDF in mouse serum: evidence for extragonadal production. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 30;180(2):921-926.

Schenken RS, Hodgen GD (1983), Follicle-stimulating hormone induced ovarian hyperstimulation in monkeys: blockade of the luteinizing hormone surge. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 57(1):50-5.

Shaw ND, Histed SN, Srouji SS, Yang J, Lee H, Hall JE (2010), Estrogen negative feedback on gonadotrophin secretion: evidence for a direct pituitary effect in women. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 95(4):1955-1961.

Soules MR, Steiner RA, Clifton DK, Cohen NL, Aksel S, Bremner WJ (1984), Progesterone modulation of pulsatile luteinizing hormone secretion in women. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 58(2):378-83.

Soules MR, Battaglia DE, Klein NA (1998), Inhibin and reproductive aging in women. *Maturitas.* 30(2):193-204.

Stouffer RL, Woodruff TK, Dahl KD, Hess DL, Mather JP, Molskness TA (1993), Human recombinant activin A alters pituitary luteinizing hormone and follicle stimulating hormone secretion, follicular development, and steroidogenesis, during the menstrual cycle in rhesus monkeys. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 77(1):241-8.

Stouffer RL, Dahl KD, Hess DL, Woodruff TK, Mather JP, Molskness TA (1994), Systemic and intraluteal infusion of inhibin A or activin A in rhesus monkeys during the luteal phase of the menstrual cycle. *Biol. Reproduction*

Su H, Freeman EW (2009), Hormone changes associated with the menopause transition. *Minerva Ginecol.* 61(6):483-9.

Taylor AE, Adams JM, Mulder JE, Martin KA, Sluss PM, Crowley WF Jr (1996), A randomized, controlled trial of estradiol replacement therapy in women with hypergonadotropic amenorrhea. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 81(10):3615-21.

Tilbrook AJ, de Kretser DM and Clarke IJ (1993), Human recombinant inhibin A suppresses plasma follicle stimulating hormone to intact levels but has no effect on luteinizing hormone in castrated rats. *Biol. Reproduction.* 49:779-788.

Tilbrook AJ, de Kretser DM and Clarke IJ (1999), Changes in the suppressive effects of recombinant inhibin A on FSH secretion in ram lambs during sexual maturation: evidence for alterations in the clearance rate of inhibin. *J. Endocrinol.* 161:219-229.

Tsai CC and Yen SSC (1971), The effect of ethinyl estradiol administration during early follicular phase of the cycle on the gonadotropin levels and ovarian function. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 33(6):917-923.

Tsonis CG, Messinis IE, Templeton AA, McNeilly AS, Baird DT (1988), Gonadotropin stimulation of inhibin secretion by the human ovary during the follicular and early luteal phase cycle. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 66(5):915-21.

Van Rooij IAJ, Broekmans FJM, te Velde ER, Fauser BCJM, Bansci LFJMM, de Jong FH and Themmen APN (2002), Serum anti-müllerian hormone levels: a novel of ovarian reserve. *Human Reproduction* 17(12):3065-3071.

Visser JA, Themmen AP (2005), Anti-Müllerian hormone and folliculogenesis. *Mol. Cell Endocrinol.* 29:234(1-2):81-6.

Visser JA, De Hong FH, Laven JSE and Themmen APN (2006), Anti-Müllerian hormone: a new marker for ovarian function. *Reproduction* 131:1-9.

Weiss G (2001), Menstrual irregularities and the perimenopause. *J. Soc. Gynecol. Investig.* 8(1):S56-6.

Weiss G, Skurnick JH, Goldsmith L., et al (2004), Menopause and hypothalamic-pituitary sensitivity to estrogen. *JAMA* 292(24):2991-2996.

Welt CK, Martin KA, Taylor AE, Lambert-Messerlian GM, Crowley WF, Smith JA, Schoenfeld DA and Hall JE (1997), Frequency modulation of follicle stimulating hormone (FSH) during the luteal follicular transition: Evidence for FSH control of inhibin B in normal women. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 82(8):2645-2652.

Welt CK, Adams JM, Sluss PM and Hall JE (1999), Inhibin A and Inhibin B Responses to Gonadotropin Withdrawal Depends on Stage of Follicle development. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 84:2163-2169

Welt CK, Pagan YL, Smith PC, Rado KB and Hall JE (2003), Control of Follicle-Stimulating Hormone by Estradiol and the Inhibins: Critical Role of Estradiol at the Hypothalamus during the Luteal-Follicular Transition. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 88:1766-1771.

Welt CK, Hall JE, Adams JM and Taylor AE (2005), Relationship of estradiol and inhibin to the follicle stimulating hormone variability in hypergonadotropic hypogonadism or premature ovarian failure. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 90:826-830.

Winter JSD and Faiman C (1973), Pituitary-Gonadal relations in female children and adolescents. *Pediatric Research.* 7(12):948-953.

Wunter DM, Bersinger NA, Yared M, Kretschmer R, Birkhauser MH (2008), Statistically significant changes of antimüllerian hormone and inhibin levels during the physiologic menstrual cycle in reproductive age women. *Fertil. Steril.* 89(4):927-33.

Xia L, Van Vugt A, Alston EJ, Luckhaus J, Ferin M (1992), A surge of gonadotropin releasing hormone accompanies the estradiol induced gonadotropin surge in the rhesus monkey. *Endocrinology.* 131(6):2812-20.

Yin P, Kawashima K, Arita J (2002), Direct actions of estradiol on the anterior pituitary gland are required for hypothalamus-dependent lactotrope proliferation and secretory surges of luteinizing hormone but not of prolactin in female rats. *Neuroendocrinology* 75(6):392-401.

Young JR, Jaffe RB (1976), Strength-duration characteristics of estrogen effects on gonadotropin response to gonadotropin releasing hormone in women. II. Effects of varying concentrations of estradiol. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 42(3):432-42.