

Ωοθηκική ρύθμιση της έκκρισης των γοναδοτροφινών

Κωνσταντίνος Χ. Νταφόπουλος, Αθανάσιος Καλλιτσάκης, Ιωάννης Ε. Μεσσήνης

Μαιευτική και Γυναικολογική Κλινική Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, Πανεπιστημιακό Γενικό Νοσοκομείο Λάρισας, Λάρισα

Αλληλογραφία: Κωνσταντίνος Χ. Νταφόπουλος,
Μαιευτική και Γυναικολογική Κλινική Πανεπιστημίου Θεσσαλίας,
Πανεπιστημιακό Γενικό Νοσοκομείο Λάρισας, 41110 Λάρισα,
Τηλ.: 2410 682795, Fax: 2410 670096,
E-mail: kdafop@med.uth.gr

Περίληψη

Ο υποθάλαμος είναι ο κύριος ρυθμιστής της αναπαραγωγικής λειτουργίας, ο οποίος απαντά τόσο σε περιφερικά μηνύματα όσο και σε μηνύματα προερχόμενα από το κεντρικό νευρικό σύστημα και ασκεί την επίδρασή του μέσω νευρομεταβιβαστών, οι οποίοι φθάνουν στον πρόσθιο λοβό της υπόφυσης. Στην επιτυχή λειτουργία του αναπαραγωγικού συστήματος διαδραματίζουν επίσης ουσιαστικό ρόλο οι στεροειδείς και μη στεροειδείς ορμόνες της ωοθήκης. Κατά τη διάρκεια της ωοθυλακικής φάσης του φυσιολογικού γεννητικού κύκλου, η οιστραδιόλη (E2) είναι ο μεσολαβητής του ωοθηκικού μηχανισμού που ελέγχει τη βασική έκκριση των γοναδοτροφινών, ενώ στο μέσο του κύκλου λαμβάνει χώρα ο θετικός μηχανισμός παλίνδρομης αλληλορύθμισης και το ενδογενές κύμα της LH. Κατά τη διάρκεια του φυσιολογικού γεννητικού κύκλου, η E2 ευαισθητοποιεί την υπόφυση στη GnRH, μία δράση την οποία κατά την πρόωμη και μέση ωοθυλακική φάση ανταγωνίζεται ο GnSAF. Κατά την όψιμη ωοθυλακική φάση, η ευαισθητοποιός επίδραση της E2 διευκολύνεται από τη μείωση της παραγωγής του GnSAF και από τη συνεργική δράση της E2 και της προγεστερόνης. Με αυτές τις ορμονικές αλληλεπιδράσεις, η έκκριση της LH μέχρι και τη μέση ωοθυλακική φάση διατηρείται σε χαμηλό επίπεδο και ενισχύεται εκσεσημασμένα μόνο κατά το μέσο του κύκλου όταν υψηλές ποσότητες αυτής της ορμόνης απαιτούνται για τα γεγονότα της ωοθυλακιορρηξίας. Οι ανασταλτίνες και οι ακτιβίνες πιθανόν διαδραματίζουν κάποιο ρόλο στη ρύθμιση του "παραθύρου της FSH" και συνεπώς της στρατολόγησης των ωοθυλακίων και την επιλογή του κυρίαρχου ωοθυλακίου.

Λέξεις κλειδιά: γοναδοτροφίνες, στεροειδείς ορμόνες της ωοθήκης, GnSAF, ανασταλτίνες, ακτιβίνες

Εισαγωγή

Εκτός από τις περίπλοκες επιδράσεις του κεντρικού νευρικού συστήματος και του υποθαλάμου στην έκκριση των γοναδοτροφινών από την υπόφυση, οι

ωοθήκες διαδραματίζουν επίσης ουσιαστικό ενδοκρινικό ρόλο κατά την αναπαραγωγική ηλικία. Οι γοναδοτροφίνες ελέγχουν την παραγωγή των αρρέ-

νων και θηλέων γαμετών καθώς και των στεροειδών του φύλου. Περιλαμβάνουν τις υποφυσιακές ορμόνες FSH και LH και την πλακουντιακή ορμόνη χοριακή γοναδοτροφίνη (chorionic gonadotrophin-CG) στα πρώιμα, η οποία παρουσιάζει ομοιότητες με την LH. Στην παρούσα ανασκόπηση θα αναφερθούμε στις υποφυσιακές γοναδοτροφίνες της γυναίκας και κυρίως στην ωθητική ρύθμιση της έκκρισής τους.

Οι δεξαμενές αποθήκευσης των γοναδοτροφινών

Η επίδραση της GnRH στα γοναδοτρόφα κύτταρα έχει ως αποτέλεσμα τη μετανάστευση των εκκριτικών κοκκίων στην περιφέρεια του κυττάρου και ακολούθως την εξωκυττάρωση. Μελέτες τόσο σε πειραματόζωα (Blake, 1978; Pickering and Fink, 1979) όσο και στον άνθρωπο (Lasley et al., 1975; Wang et al., 1976), έδειξαν ότι η χορήγηση της GnRH για αρκετές ώρες προκαλεί ένα διφασικό χρονικά τύπο έκκρισης των γοναδοτροφινών. Η αρχική εκκριτική αιχμή στα 30 min ακολουθείται από μία πτώση ή plateau μεταξύ των 45 και 90 min και αργότερα μία παρατεταμένη αύξηση της έκκρισης στα 220 με 240 min. Από αυτές τις αρχικές μελέτες προέκυψε η θεωρία της ύπαρξης δύο λειτουργικών δεξαμενών των γοναδοτρόφων κυττάρων. Έχει θεωρηθεί λοιπόν ότι η πρώτη φάση έκκρισης αντιπροσωπεύει μία άμεσα διαθέσιμη μορφή της LH, η οποία μπορεί να εκκριθεί άμεσα κατά τη διέγερση με την GnRH και αντιπροσωπεύει την ευαισθησία του γοναδοτρόφου στη GnRH (πρώτη ή λειτουργικά άμεσα εκκρινόμενη δεξαμενή, first-releasable pool) και ότι η δεύτερη φάση αντιπροσωπεύει μία μορφή αποθήκευσης της LH, η οποία απαιτεί περαιτέρω επεξεργασία πριν γίνει προσιτή για έκκριση (λειτουργικά εφεδρική δεξαμενή των γοναδοτροφινών, second-reserve pool). Η εκτίμηση των δύο δεξαμενών των γοναδοτροφινών μπορεί να γίνει σε φυσιολογικές γυναίκες με την i.v. χορήγηση δύο μικρών (submaximal) δόσεων της GnRH με χρονική διαφορά 2 ωρών μεταξύ τους (Wang et al., 1976). Το χρονικό σημείο των 30 min της απάντησης μετά την πρώτη ένεση αντιπροσωπεύει την πρώτη δεξαμενή, ενώ όλη η περιοχή υπό την καμπύλη διέγερσης αντιπροσωπεύει τη δεύτερη δεξαμενή. Το φαινόμενο της αυξημένης δεύτερης απάντησης της LH στη GnRH σε σύγκριση με την πρώτη ονομάζεται αυτοπριμοδότηση της GnRH (GnRH self-priming) και αντιπροσωπεύει τη μετατροπή της δεύτερης στην πρώτη δεξαμενή. Κλινικά

το φαινόμενο αυτό μπορεί να ανιχνευθεί με τη χορήγηση πολλαπλών ώσεων GnRH, ως μία ενισχυμένη απάντηση της LH στη δεύτερη ώση της GnRH που χορηγείται 2 ώρες μετά την πρώτη ώση (Lasley et al., 1975; Wang et al., 1976).

Κυτταρικοί μηχανισμοί της από τη GnRH προκαλούμενης έκκρισης των γοναδοτροφινών

Υπάρχει μια χρονική συσχέτιση μεταξύ της από τη GnRH προκαλούμενης ενδοκυττάριας απελευθέρωσης ασβεστίου και της έκκρισης της LH, και τα δύο αυτά φαινόμενα χαρακτηρίζονται από μια αρχική αιχμή που ακολουθείται από μία δευτερογενή παρατεταμένη φάση plateau. Οι Leong and Thorner (1991) πρότειναν ότι αυτές οι απαντήσεις συνιστούν ένα δυαδικό ενδοκυττάριο σήμα για την έκκριση της LH. Στη μελέτη τους, η διφασική απάντηση του ασβεστίου που προκλήθηκε από χορήγηση υψηλής δόσης GnRH σχετιζόταν με απελευθέρωση LH, ενώ οι περιοδικές μεταβολές (oscillations) του ασβεστίου που προκλήθηκαν από χαμηλή δόση GnRH σχετιζόταν με αυξημένη έκφραση του γονιδίου της LHβ υπομονάδας και αυξημένο αριθμό υποδοχέων GnRH αλλά όχι με εξωκυττάρωση. Αντιθέτως, οι ταυτόχρονες μετρήσεις της συγκέντρωσης των Ca^{++} και της εξωκυττάρωσης σε απομονωμένα γοναδοτρόφα κύτταρα έδειξαν ότι ορισμένες διακριτές περιοδικές μεταβολές του ασβεστίου από μία ακολουθία προκαλούμενων από τη GnRH συνέλιπταν με την εξωκυττάρωση (Tse et al., 1993). Αν και η διφασική απάντηση του ασβεστίου φαίνεται να αντιπροσωπεύει έναν αποτελεσματικό μηχανισμό ελέγχου της εξωκυττάρωσης της LH, οι περιοδικές μεταβολές του ασβεστίου έχουν το πλεονέκτημα της μειωμένης κυτταρικής τοξικότητας. Οσον αφορά στο ρόλο της ενεργοποίησης της πρωτεϊνικής κινάσης C (PKC) στη μεσολάβηση της από τη GnRH προκαλούμενης εξωκυττάρωσης, φαίνεται ότι αυτή εμπλέκεται στην ενίσχυση παρά στην έναρξη της εξωκυττάρωσης (Anderson, 1996).

Όπως αναφέρθηκε και παραπάνω, το φαινόμενο της αυτοπριμοδότησης της GnRH αποτελεί την από τη GnRH προκαλούμενη ευαισθητοποίηση των γοναδοτρόφων κυττάρων σε επόμενη διέγερση με GnRH (Fink, 1995). Σειρές πειραματικών μελετών υποδεικνύουν ότι οι δυνητικοί υποκείμενοι μηχανισμοί περιλαμβάνουν μεταβολές στον αριθμό των υποδοχέων της GnRH, στην έκφραση γονιδίων που κωδικοποιούν τους υποδοχείς αυτούς και τις γονα-

δοτροφίνες καθώς και αναδιαμόρφωση του κυτταροσκελετού παρέχοντας τη δυνατότητα στα εκκριτικά κοκκία να μετακινηθούν από το κυτταρόπλασμα στην κυτταρική μεμβράνη. Το φαινόμενο αυτό *in vitro* σχετίζεται με τη μετανάστευση και την επακόλουθη τοποθέτηση των εκκριτικών κοκκίων σε περιοχές υπό την κυτταρική μεμβράνη σε ολόκληρο το γοναδοτρόφο (Fink, 1995). Παρομοίως, πειράματα στο πρόβατο *in vivo* δείχνουν ότι μία μόνο ομάδα εκκριτικών κοκκίων μεταναστεύει και ακολούθως τοποθετείται σε περιοχές της κυτταρικής μεμβράνης που είναι πλησίον στο αγγειακό σύστημα και η μετανάστευση αυτή διεγείρεται από την οιστραδιόλη (E2) (Currie and McNeilly, 1995). Επιπρόσθετα, έχουν παρατηρηθεί από τη GnRH προκαλούμενες επιμηκύνσεις και μεταβολές στον προσανατολισμό των κυτταρικών μικροϊνιδίων (Lewis et al., 1985). Τέτοιες κυτταροσκελετικές μεταβολές μπορεί να περιλαμβάνουν την από τη GnRH προκαλούμενη διέγερση της δραστηριότητας της PKC και της MAP κινάσης, καθώς η φωσφορυλίωση των κυτταροσκελετικών πρωτεϊνών και από τις δύο κινάσες έχει συσχετισθεί με την αναδιαμόρφωση του κυτταροσκελετού (Hartwig et al., 1992).

Η αυξημένη ευαισθησία της υπόφυσης στη GnRH έχει επίσης συσχετισθεί με μεταβολές στον αριθμό των υποδοχέων της GnRH σε κρίσιμους χρόνους κατά τη διάρκεια του κύκλου στον επίμυ (Savoy-Moore et al., 1980). Η προς τα άνω ρύθμιση (up-regulation) των υποδοχέων της GnRH κατά το χρόνο του προωοθυλακιορρηκτικού κύματος της LH αντικατοπτρίζει παράλληλες μεταβολές στην έκφραση του γονιδίου τους (Brooks and McNeilly, 1994). Η ενισχυμένη γονιδιακή έκφραση σχετίζεται με επιδράσεις της E2 που ασκούνται άμεσα στα γοναδοτρόφα κύτταρα ή έμμεσα μέσω της υποθαλαμικής οδού, πιθανόν επηρεάζοντας την έκκριση της GnRH (Bauer-Dantoin et al., 1995). Ο αυξημένος αριθμός των υποδοχέων της GnRH κατά το χρόνο του προωοθυλακιορρηκτικού κύματος της LH θα μπορούσε να ενισχύσει την ευαισθησία του γοναδοτρόφου στη GnRH, προκαλώντας έτσι την έναρξη μίας διφασικής, παρά μίας απάντησης με περιοδικές μεταβολές του ασβεστίου, ικανής για απελευθέρωση της LH από τα προετοιμασμένα κοκκία στην κυτταρική μεμβράνη. Επιπρόσθετα, η GnRH διεγείρει και αναστέλλει την έκφραση του γονιδίου της γοναδοτροφίνης τόσο *in vivo* όσο και *in vitro*. Η κατά ώσεις επίδραση της GnRH μπορεί να προκαλέσει έκφραση των γονιδίων των LHβ και FSHβ υπομονάδων. Αντιθέτως, η χρόνια έκθεση στη GnRH προκαλεί προς τα κάτω ρύθμιση (down-

regulation) της έκφρασης των γονιδίων των LHβ και FSHβ και εμποδίζει την αύξηση του mRNA που κωδικοποιεί την α υπομονάδα και την LHβ μετά τη γοναδεκτομία. Παράλληλες διεγερτικές και ανασταλτικές επιδράσεις στις κυκλοφορούσες και στις υποφυσιακές συγκεντρώσεις της LH και της FSH έχουν επίσης παρατηρηθεί. Δεδομένου ότι λειτουργικά τμήματα που απαντούν στο cAMP υπάρχουν στο γονίδιο της α υπομονάδας, οι από τη GnRH προκαλούμενες αυξήσεις στο cAMP μπορεί να τροποποιούν την έκφραση του γονιδίου της α υπομονάδας. Οι μηχανισμοί που εμπλέκονται στη διέγερση της έκφρασης της β υπομονάδας είναι λιγότερο ξεκάθαροι, αλλά μπορεί να περιλαμβάνουν τη διέγερση της PKC (Anderson, 1996).

Η E2 έχει πολλαπλές επιδράσεις στην έκκριση της LH. Η αρχική έκθεση στην E2 προκαλεί καταστολή της έκκρισης της LH, η οποία ακολουθείται από σύντομη αλλά εκσεσημασμένη διέγερση. Η χρόνια καταστολή παρατηρείται επί συνεχούς παρουσίας της E2 (Karsch, 1987). Η E2 ευαισθητοποιεί την υπόφυση στη GnRH πιθανόν μέσω αύξησης των υποδοχέων της GnRH (Laws et al., 1990), με αποτέλεσμα την ενίσχυση της πρώτης και της δεύτερης δεξαμενής των γοναδοτρόφων κυττάρων. Όσον αφορά στην FSH, η E2 μειώνει την έκκρισή της κυρίως μειώνοντας τη σύνθεσή της (Marshall et al., 1983).

Η ενίσχυση της ευαισθησίας της υπόφυσης στη GnRH από την προγεστερόνη απαιτεί την προηγούμενη έκθεση στα οιστρογόνα. Έχει θεωρηθεί ότι η ενδοκυττάρια επικοινωνία (cross-talk) μεταξύ των υποδοχέων GnRH και των υποδοχέων προγεστερόνης προάγει την ανεξάρτητη από την προγεστερόνη ενεργοποίηση (transactivation) του υποδοχέα της προγεστερόνης (Turgeon and Waring, 1992, 1994). Ενδοκυττάρια οδοί μετάδοσης του σήματος που περιλαμβάνουν είτε την PKC είτε την πρωτεϊνική κινάση A (PKA) (Turgeon and Waring, 1994), οι οποίες φωσφορυλιώνουν ενδιάμεσες πρωτεΐνες ή μεταγραφικούς παράγοντες, μπορεί να μεσολαβούν για αυτή την ενεργοποίηση του υποδοχέα. Η προγεστερόνη, επίσης, μεταβάλλει τη μορφή και το μέγεθος των από τη GnRH προκαλούμενων σημάτων του ασβεστίου στα γοναδοτρόφα κύτταρα (Ortmann et al., 1994). Η χορήγηση προγεστερόνης μετατρέπει τις από τη GnRH προκαλούμενες περιοδικές μεταβολές του ασβεστίου σε διφασικό σήμα ασβεστίου και στην κυτταρική σειρά T3-1 το εύρος και των δύο φάσεων της διφασικής απάντησης του ασβεστίου είναι αυξημένο. Στο τέλος του κύματος της LH, η προγεστερόνη ή δεν έχει

καμία επίδραση (Yasin et al., 1995) ή μειώνει την ποσότητα του mRNA (Bauer-Dantoin et al., 1995). Η FSH διαδραματίζει έναν κρίσιμο ρόλο στην ωοθυλακική ανάπτυξη και πιθανόν αρκετοί και εφεδρικοί μηχανισμοί εκτός της GnRH εξασφαλίζουν την παραγωγή και έκκρισή της. Τα γοναδοτρόφα κύτταρα ακόμη και στερημένα από την επίδραση της GnRH συνεχίζουν να εκκρίνουν FSH (Farnworth, 1995). Επιπλέον παράγοντες όπως η ακτιβίνη, η ανασταλίνη και η φολλιστατίνη εμπλέκονται στη ρύθμιση της έκκρισης της FSH. Τόσο η αποθηκευμένη όσο και η εκκρινόμενη FSH αυξάνουν με την επίδραση της ακτιβίνης (Schwall et al., 1988; Carroll et al., 1989), ενώ η ανασταλίνη εκλεκτικά μειώνει το mRNA που κωδικοποιεί την FSHβ (Carroll et al., 1989) και η φολλιστατίνη συνδέεται με την ακτιβίνη με υψηλή συγγένεια (Kogawa et al., 1991). Είναι γνωστό ότι η οιστραδιόλη και η ανασταλίνη είναι οι κύριοι κατασταλτικοί παράγοντες της έκκρισης της FSH. Σήμερα υπάρχουν αρκετές νευροανατομικές, βιοχημικές και φυσιολογικές ενδείξεις που υποστηρίζουν την ύπαρξη ενός εκλυτικού της έκκρισης της FSH παράγοντα (FSH releasing factor) αν και ακόμη δεν έχει καταστεί δυνατή η απομόνωσή του (Padmanabhan and McNeilly, 2001).

Η κατά ώσεις έκκριση των γοναδοτροφινών

Υπάρχουν πολλά δεδομένα που δείχνουν ότι η έκκριση των γοναδοτροφινών γίνεται κατά ώσεις, οι οποίες αντικατοπτρίζουν τη συχνότητα των ώσεων του GnRH βηματοδότη, ενώ το εύρος τους καθορίζεται από την ποσότητα της GnRH που φθάνει στα γοναδοτρόφα κύτταρα και την ευαισθησία αυτών των κυττάρων. Η ευαισθησία των γοναδοτρόφων ρυθμίζεται τόσο από το νευρικό σήμα όσο και από το ορμονικό περιβάλλον που προκύπτει από την εκκριτική δραστηριότητα των γονάδων.

Η μελέτη των ώσεων των γοναδοτροφινών δεν είναι απλή και τα αποτελέσματα των διαφόρων βιομαθηματικών τεχνικών ανίχνευσης των ώσεων εξαρτώνται από τα μεσοδιαστήματα των αιμοληψιών, καθώς για παράδειγμα απαιτούνται πιο συχνές αιμοληψίες για την ανίχνευση των υψηλότερης συχνότητας ώσεων των γοναδοτροφινών κατά την όψιμη ωοθυλακική φάση, το χρόνο του μεσοκύκλιου κύματος της LH και μετά την εμμηνόπαυση (Adams et al., 1994; Hall et al., 2000). Επίσης οι τεχνικές αυτές είναι πιο αξιόπιστες όταν δεν μελετούν μόνο τις διακυμάνσεις της συγκέντρωσης της γοναδοτροφίνης στην κυκλοφορία σε συνάρτηση με το χρόνο

(conventional pulse analysis), αλλά συνυπολογίζουν και τη μεταβολική κάθαρση της ορμόνης (όμως απαιτούν ως σταθερή παράμετρο την εκ των προτέρων γνώση του χρόνου ημιζωής), οπότε τελικά εκτιμούν με μεγαλύτερη ακρίβεια τα χαρακτηριστικά της έκκρισής της (deconvolution pulse analysis). Επιπλέον, υπάρχουν και άλλες μαθηματικές τεχνικές που επιτρέπουν την ταυτόχρονη εκτίμηση και του χρόνου ημιζωής της ορμόνης ως συγχυτικού παράγοντα της ανάλυσης των ώσεων. Μία μελέτη (Sollenberger et al., 1990a) όπου χρησιμοποιήθηκε μία τέτοια μέθοδος ανίχνευσης ώσεων, ανεξάρτητης δηλαδή από το χρόνο ημιζωής της ορμόνης (multiple parameter deconvolution) και σε συμφωνία με μία προηγούμενη μελέτη συμβατικής μεθόδου ανίχνευσης των ώσεων (McIntosh and McIntosh, 1985), ο αριθμός των εκκριτικών ώσεων της LH βρέθηκε να είναι ο μέγιστος κατά την όψιμη ωοθυλακική φάση, ο ελάχιστος κατά τη μέση ωοθυλακική φάση και ενδιάμεσος κατά την πρώιμη ωοθυλακική φάση του γεννητικού κύκλου. Επίσης, η διάρκεια του εκκριτικού επεισοδίου μεταβάλλονταν μέσα στο γεννητικό κύκλο, με τα πιο σύντομα επεισόδια να συμβαίνουν κατά την όψιμη ωοθυλακική φάση και τα πιο παρατεταμένα κατά τη μέση ωοθυλακική φάση, ενώ ενδιάμεσης διάρκειας επεισόδια παρατηρούνταν κατά την πρώιμη ωοθυλακική φάση. Η συνολική έκκριση 24ωρου της LH δεν μεταβάλλονταν σημαντικά μέσα στον κύκλο, αλλά ήταν μάλλον σταθερή. Επιπρόσθετα, η έκκριση της LH ερμηνεύονταν με την ύπαρξη των εκκριτικών επεισοδίων, χωρίς να είναι απαραίτητη η τονική έκκριση σημαντικής ποσότητάς της εκτός των επεισοδίων αυτών (McIntosh and McIntosh, 1985; Sollenberger et al., 1990a) και επίσης διαπιστώθηκε μια τάση, αν και όχι σε στατιστικώς σημαντικό βαθμό, για κυκλοφορία στο αίμα ισομορφών γοναδοτροφινών με μικρότερο χρόνο ημιζωής κατά τη μέση ωοθυλακική φάση του γεννητικού κύκλου. Μία άλλη μελέτη (deconvolution analysis) (Genazzani et al., 1990) που όμως απαιτούσε στο σχεδιασμό της ως σταθερή παράμετρο την από πριν γνώση του χρόνου ημιζωής της ορμόνης, αφενός έδειξε ότι περισσότερα εκκριτικά επεισόδια συμβαίνουν στην πρώιμη ωοθυλακική σε σχέση με την ωοθυλακική φάση, αφετέρου δε σε ασυμφωνία με τη μελέτη των Sollenberger et al. (1990a), έδειξε ότι η διάρκεια των επεισοδίων αυτών δεν μεταβάλλονταν μέσα στον κύκλο. Από τα παραπάνω είναι σαφές ότι τα αποτελέσματα των διαφόρων μελετών των ώσεων των γοναδοτροφινών εξαρτώνται και από τις μεθόδους που χρησιμοποιούνται για την ανίχνευσή τους.

Ως γνωστό, οι συγκεντρώσεις της LH όπως μετρούνται με τις ανοσολογικές μεθόδους δεν είναι πάντοτε ανάλογες με αυτές που προκύπτουν από τη μέτρηση της βιολογικά δραστικής ορμόνης. Όταν λοιπόν γίνεται παράλληλη εκτίμηση και με τις δύο μεθόδους των συγκεντρώσεών της, το πηλίκο B/I (bioassay-to-immunoassay ratio, B/I ratio) είναι υψηλότερο στον ορό μετά την εμμηνόπαυση σε σχέση με την πρόιμη ωοθυλακική φάση του κύκλου (Dufau and Veldhuis, 1987). Με διάφορες τεχνικές ανίχνευσης των ώσεων, η συχνότητα των ώσεων της *in vitro* βιολογικά δραστικής LH φάνηκε ότι ήταν μεγαλύτερη στην όψιμη ωοθυλακική, ελάχιστη στην ωχρινική και ενδιάμεση στην πρόιμη ωοθυλακική φάση του γεννητικού κύκλου (Veldhuis et al., 1984). Επομένως, υπάρχει συμφωνία ως προς τα χαρακτηριστικά της παλμικής έκκρισης της LH κατά το γεννητικό κύκλο, είτε αυτή μετράται με ανοσολογική είτε με βιολογική μέθοδο. Ακόμη, με τις βιολογικές μεθόδους μέτρησης όπως έχει φανεί και με τις ανοσολογικές, ο χρόνος ημιζωής της ορμόνης που εκκρίνεται κατά τη διάρκεια της μέσης ωχρινικής φάσης του κύκλου είναι σημαντικά μικρότερος από αυτόν της ορμόνης που εκκρίνεται κατά τις ωοθυλακικές φάσεις.

Η ωοθηκική ρύθμιση της έκκρισης των γοναδοτροφινών

Διάφορες αρχικές μελέτες έδειξαν ότι ανεξάρτητα από τη χορήγηση της GnRH με σταθερό ή κατά ώσεις τρόπο, η ποσότητα της LH που εκκρίνονταν σε απάντηση στη GnRH εξαρτιόταν ουσιαστικά από τη φάση του κύκλου στην οποία γινόταν η εξωγενής χορήγηση (Wang et al., 1976; Hoff et al., 1977). Έτσι, τόσο η ευαισθησία όσο και η εφεδρική δεξαμενή των γοναδοτρόφων κυττάρων έχουν βρεθεί να είναι ελάχιστες κατά την πρόιμη ωοθυλακική φάση, μεγαλύτερες κατά την όψιμη ωοθυλακική φάση, μέγιστες κατά το μέσο του κύκλου και κάπως μικρότερες (αν και ακόμη αυξημένες) κατά την ωχρινική φάση του κύκλου. Αυτά τα δεδομένα υποδηλώνουν ότι τα ωοθηκικά στεροειδή και κυρίως η E2 πράγματι μεταβάλλουν την ικανότητα των γοναδοτρόφων να απαντούν στο σήμα της GnRH (Messinis, 2000). Με βάση αυτό το μοντέλο, έχει βρεθεί ότι η εφεδρική δεξαμενή της LH αυξάνει (κυρίως κάτω από τον έλεγχο των οιστρογόνων) κατά την ωοθυλακική φάση του κύκλου. Η αύξηση τόσο της ευαισθησίας όσο και της εφεδρικής δεξαμενής των γοναδοτρόφων είναι σημαντικές για την εκδήλωση του ενδογενούς κύματος της LH

(Messinis, 2000) χωρίς να απαιτούνται μεγάλες μεταβολές της υποθαλαμικής έκκρισης της GnRH. Όσον αφορά στο φαινόμενο της αυτοπριμοδότησης της GnRH, η απάντηση στη δεύτερη ώση είναι μεγαλύτερη σε σχέση με αυτή στην αρχική ώση σε όλες τις φάσεις του κύκλου, αν και η σχετική αύξηση είναι σημαντικά μεγαλύτερη κατά την όψιμη ωοθυλακική και τη μέση ωχρινική φάση, γεγονός που υποδηλώνει ότι είναι και αυτό εξαρτώμενο από τις ωοθηκικές ορμόνες (Hoff et al., 1977; Sollenberger et al., 1990b).

Στη συνέχεια παρουσιάζονται οι ωοθηκικοί παράγοντες που εμπλέκονται στη ρύθμιση της έκκρισης των γοναδοτροφινών:

α) Τα στεροειδή των ωοθηκών

Στα θήλαα, η έκκριση των γοναδοτροφινών ρυθμίζεται από θετικούς και αρνητικούς μηχανισμούς παλίνδρομης αλληλορύθμισης των ωοθηκικών ορμονών, κυρίως της E2 και της προγεστερόνης.

Οι Messinis and Templeton (1990) έδειξαν την ικανότητα των εξωγενών οιστρογόνων να καταστέλλουν τις ενδογενείς γοναδοτροφίνες και επιπλέον φάνηκε ότι και οι δύο γοναδοτροφίνες είναι στον ίδιο βαθμό ευαίσθητες στον αρνητικό μηχανισμό παλίνδρομης αλληλορύθμισης της E2. Ωστόσο, μία πρόσφατη μελέτη (Dafopoulos et al., 2004a) έδειξε ότι η χορήγηση εξωγενών οιστρογόνων για μερικές ημέρες σε μετεμμηνόπαυσιακές γυναίκες είναι ικανή να μειώσει σε προεμμηνόπαυσιακά επίπεδα τις τιμές της LH και λιγότερο της FSH πιθανόν λόγω της απουσίας της ανασταλτίνης (Groome et al., 1996). Αφετέρου, και τα ενδογενή οιστρογόνα είναι ικανά να επιδρούν στην έκκριση των γοναδοτροφινών και αυτό είναι έκδηλο υπό συνθήκες πολλαπλής ωοθυλακικής ωρίμασης με εξωγενή χορήγηση γοναδοτροφινών (Messinis and Templeton, 1989), αλλά και όταν οι συγκεντρώσεις της E2 στην κυκλοφορία αυξηθούν για μία μόνο συγκεκριμένη χρονική περίοδο, οι τιμές της LH μειώνονται σημαντικά και η μείωση διαρκεί τόσο όσο η αύξηση της E2 (Messinis et al., 1994). Επομένως, η αύξηση της ενδογενούς E2 κατά την ωοθυλακική φάση του κύκλου μπορεί να καταστείλει την έκκριση της LH από την υπόφυση. Στη συνέχεια, διερευνώντας περαιτέρω τη σημασία των ενδογενών οιστρογόνων πάνω στη ρύθμιση της βασικής έκκρισης των γοναδοτροφινών, μελετήθηκε η επίδραση της μείωσης των επιπέδων της E2 στην κυκλοφορία με το μοντέλο της αμφοτερόπλευρης ωοθηκεκτομίας σε γυναίκες. Με τον τρόπο αυτό φάνηκε ότι η ωοθηκεκτομία εκτελούμενη είτε στην ωοθυλακική είτε στην

ωχρινική φάση του κύκλου συνοδεύεται από μία βαθμιαία αύξηση των βασικών επιπέδων των FSH και LH (Alexandris et al., 1997). Με την παραπάνω σειρά μελετών έχειδειχθεί ότι η E2 είναι το κύριο στοιχείο του μηχανισμού με τον οποίο οι ωθηκές ελέγχουν τη βασική έκκριση των γοναδοτροφινών κατά τη διάρκεια της ωοθυλακικής φάσης του κύκλου (Messinis, 2000).

Στην όψιμη ωοθυλακική φάση στα περισσότερα είδη, τα επίπεδα της E2 στην κυκλοφορία υπερβαίνουν τον ουδό του θετικού μηχανισμού παλίνδρομης αλληλορύθμισης οπότε και εκδηλώνεται το μεσοκύκλιο κύμα της LH (Plant, 1986). Η βραχυπρόθεσμη (<12 ώρες) έκθεση των καλλιεργημένων υποφυσιακών κυττάρων στην E2 αυξάνει τον αριθμό των υποδοχέων της GnRH (Gregg et al., 1990) και την από τη GnRH προκαλούμενη έκκριση της LH (Huang and Miller, 1980). Η μακροπρόθεσμη (24-48 ώρες) in vitro έκθεση των γοναδοτρόφων του επίμουσ (Speight and Fink, 1981b) ή του προβάτου (Fowler et al., 1992, 1993) στην E2 έχει μικρή επίδραση στην από τη GnRH προκαλούμενη έκκριση της LH, αν και η συνεχής έκθεση στην E2 κατά τη διάρκεια μίας πρόκλησης με GnRH ενισχύει την από τη GnRH προκαλούμενη σύνθεση και έκκριση της LH (Ramey et al., 1987). Είναι σήμερα γνωστό ότι στο μέσο του φυσιολογικού γυναικείου γεννητικού κύκλου, με τον κρίσιμο ρόλο της E2 και της GnRH, λαμβάνει χώρα ο θετικός μηχανισμός παλίνδρομης αλληλορύθμισης (Messinis and Templeton, 1988).

Η χορήγηση της προγεστερόνης μαζί με την GnRH ενισχύει την απελευθέρωση της LH από υποφύσεις επίμουσ, κάνοντας αποτελεσματική την ενδοκυττάρια επικοινωνία μεταξύ των υποδοχέων προγεστερόνης και GnRH (Turgeon and Waring, 1992). Η μακροπρόθεσμη χορήγηση της προγεστερόνης έχει μικρή επίδραση στην από τη GnRH προκαλούμενη έκκριση της LH από υποφύσεις προβάτου (Fowler et al., 1992, 1993) αν και μπορεί να μειώσει τον αριθμό των υποδοχέων της GnRH (Laws et al., 1990). Η σημασία της αρνητικής επίδρασης της προγεστερόνης στη βασική έκκριση των γοναδοτροφινών κατά την ωχρινική φάση έχει επίσης διερευνηθεί (Alexandris et al., 1997). Επιπλέον, η ίδια ερευνητική ομάδα (Dafopoulos et al., 2004a) έδειξε ότι κατά τη διάρκεια της φυσιολογικής ωοθυλακικής φάσης, η προγεστερόνη ακόμη και σε χαμηλά επίπεδα πιθανόν συμμετέχει στην ωθητική κατασταλτική επίδραση της ωθητικής πάνω στη βασική έκκριση της LH, τονίζοντας το διαφορετικό έλεγχο της FSH και της LH από τα ωθητικά στεροειδή

όπως είχε προταθεί και προγενέστερα (Messinis et al., 2002).

Όσον αφορά στον κύριο τόπο δράσης των οιστρογόνων για την εκδήλωση του αρνητικού μηχανισμού παλίνδρομης αλληλορύθμισης, στα διάφορα πειραματόζωα αυτός είναι ο υποθάλαμος και μάλιστα η αρνητική αυτή επίδραση σχετίζεται με τη μείωση του εύρους και όχι της συχνότητας των ώσεων της GnRH (Evans et al., 1994). Η χρήση μίας ημιποσοτικής μεθόδου εκτίμησης της ποσότητας της ενδογενούς GnRH με τη χορήγηση μικρής δόσης GnRH ανταγωνιστή, έδειξε ότι στις μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες η ποσότητα της κατά ώσεις εκκρινόμενης GnRH μειώθηκε σε απάντηση στον αρνητικό μηχανισμό παλίνδρομης αλληλορύθμισης των οιστρογόνων (Gill et al., 2002a), ενώ η συχνότητα των ώσεων παραμένει αμετάβλητη (Gill et al., 2002b), υποδηλώνοντας ότι τα οιστρογόνα μειώνουν την ποσότητα της GnRH που εκκρίνεται σε κάθε ώση (εύρος των ώσεων).

Η προσθήκη προγεστερόνης σταθερά καταστέλλει τη συχνότητα των ώσεων της GnRH (Gill et al., 2002b) υποδηλώνοντας ότι το κύριο σημείο άσκησης του αρνητικού μηχανισμού παλίνδρομης αλληλορύθμισης της προγεστερόνης είναι ο υποθάλαμος. Επίσης, σε προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες η προγεστερόνη προκαλεί μείωση της συχνότητας των ώσεων της GnRH, αλλά αυτή της η επίδραση δεν εκδηλώνεται επί απουσίας οιστρογόνων, καθώς η προεπίδρασή τους είναι ουσιαστική για την προς τα άνω ρύθμιση (up-regulation) των υποδοχέων της προγεστερόνης (Nippoldt et al., 1989; Scott et al., 2000).

β) Οι μη στεροειδικές ορμόνες των ωθηκών

Όπως είναι γνωστό, οι ανασταλτίνες και οι ακτιβίνες είναι γλυκοπρωτεΐνες αποτελούμενες από δύο πολυπεπτιδικές αλυσίδες, ενώ η φολλιστατίνη αποτελείται από μία γλυκοζυλιωμένη πολυπεπτιδική αλυσίδα (Burger, 1992).

Διάφορες μελέτες υποδηλώνουν ότι οι ανασταλτίνες και οι ακτιβίνες μπορεί να συμμετέχουν στη ρύθμιση της έκκρισης των γοναδοτροφινών in vivo, ωστόσο ακόμη δεν έχει διευκρινισθεί ο ακριβής ρόλος που παίζουν αυτές οι ορμόνες κατά τη διάρκεια του φυσιολογικού γεννητικού κύκλου (Messinis, 2000).

Πιο συγκεκριμένα, τα επίπεδα της ανασταλτίνης A είναι χαμηλά κατά τη διάρκεια της ωοθυλακικής φάσης και σημαντικά υψηλά κατά την ωχρινική φάση του φυσιολογικού γυναικείου γεννητικού κύκλου, υποδηλώνοντας την παραγωγή της από το

ωχρό σωματίο (Groome et al., 1994). Αντιθέτως, η ανασταλτίνη Β αυξάνει βαθμιαία από την πρώιμη μέχρι τη μέση ωοθυλακική φάση και στη συνέχεια μειώνεται, παρουσιάζει μία αιχμή μία ημέρα μετά το μεσοκύκλιο κύμα της LH και τα επίπεδά της είναι πολύ χαμηλά κατά την ωχρινική φάση (Groome et al., 1996), υποδηλώνοντας έτσι ότι αυτή παράγεται κυρίως από τα μικρά ωοθυλάκια (Roberts et al., 1993; Groome et al., 1996). Η γνωστή αύξηση της FSH κατά τη μετάπτωση από την ωχρινική στην ωοθυλακική φάση (Roseff et al., 1989; Messinis et al., 1993), το λεγόμενο "παραθύρο της FSH", του οποίου η έναρξη τοποθετείται 2-3 μέρες πριν την εμφάνιση της εμμήνου ρύσεως και συνεχίζεται κατά την πρώιμη ωοθυλακική φάση και θεωρείται υπεύθυνο για τη στρατολόγηση των ωοθυλακίων και την επιλογή του κυρίαρχου, φαίνεται ότι ρυθμίζεται από τις ανασταλτίνες. Η μείωση της ανασταλτίνης Α στον ορό από τη μέση στην όψιμη ωχρινική φάση προηγείται της έναρξης του "παραθύρου της FSH" (Groome et al., 1994), ενώ η ανασταλτίνη Β αρχίζει να αυξάνει μία ή δύο ημέρες μετά από την έναρξη του "παραθύρου" και καθώς τα επίπεδά της αυξάνουν παρατηρείται μία βαθμιαία μείωση των επιπέδων της FSH, χωρίς όμως σημαντικές μεταβολές κατά το διάστημα αυτό στα επίπεδα της E2 (Groome et al., 1996). Αυτά τα αποτελέσματα υποδηλώνουν ότι η ανασταλτίνη Α συμμετέχει στην έναρξη και η ανασταλτίνη Β στον τερματισμό του "παραθύρου της FSH", προοδίδοντας τους έτσι ένα ρόλο στην επιλογή του κυρίαρχου ωοθυλακίου κατά το γεννητικό κύκλο (Messinis, 2000). Επιπλέον, φαίνεται ότι η FSH είναι ο κύριος διεγερτικός παράγοντας της έκκρισης της ανασταλτίνης Β (Groome et al., 1996). Είναι σαφές ότι οι συγκεντρώσεις στην κυκλοφορία της ανασταλτίνης Α και της ανασταλτίνης Β ελέγχονται με διαφορετικούς μηχανισμούς.

Διάφορες μελέτες σε πειραματόζωα έχουν διερευνήσει την επίδραση της ανασταλτίνης στην έκκριση της LH με διαφορετικά αποτελέσματα μεταξύ των διαφόρων ειδών και ασαφή ρόλο πάνω στην από τη GnRH προκαλούμενη έκκριση της LH *in vivo*.

Όσον αφορά στην ακτιβίνη Α, πιθανολογείται ότι η αύξηση των συγκεντρώσεών της από τη μέση ωχρινική μέχρι τη μέση ωοθυλακική φάση του επόμενου γυναικείου γεννητικού κύκλου (Muttukrishna et al., 1996) μπορεί να διαδραματίζει κάποιο ρόλο στην ανάπτυξη του "παραθύρου της FSH" και επομένως να συμμετέχει στην επιλογή του κυρίαρχου ωοθυλακίου (Messinis, 2000). Για την ακτιβίνη Β τα δεδομένα είναι πολύ περιορισμένα, ενώ αναφορικά με τη

φολλιστατίνη δεν παρατηρούνται σημαντικές μεταβολές στις συγκεντρώσεις της κατά τη διάρκεια του γεννητικού κύκλου, υποδηλώνοντας ότι αυτή δεν ασκεί κάποια συγκεκριμένη βιολογική επίδραση *in vivo* (Kettel et al., 1996), αλλά είναι πιθανό να χρησιμεύει σαν πρωτεΐνη-φορέας για τις ακτιβίνες στην κυκλοφορία, προκαλώντας την αδρανοποίησή τους και υποβοηθώντας τη δράση τους σε επίπεδο ιστού (Messinis, 2000).

Τα τελευταία 15 χρόνια έχουν προκύψει ενδείξεις (Fowler and Templeton, 1996; Messinis, 2000; Fowler et al., 2003) ότι μία ωοθηκική μη στεροειδής ουσία, η οποία ονομάζεται παράγοντας αμβλύνσεως του κύματος των γοναδοτροφινών (gonadotrophin surge attenuating factor - GnSAF) (Messinis and Templeton, 1989) εμπλέκεται στον αρνητικό μηχανισμό παλίνδρομης αλληλορύθμισης της ρύθμισης της λειτουργίας της υπόφυσης και επηρεάζει το εύρος του μεσοκύκλιου κύματος της LH. Οι ωοθήκες που υποβάλλονται σε πρόκληση ωοθυλακιορρηξίας παράγουν τον GnSAF, δηλαδή η FSH διεγείρει την έκκρισή του και ο παράγοντας αυτός αμβλύνει το ενδογενές κύμα της LH μέσω μείωσης της απάντησης της υπόφυσης στη GnRH (Messinis and Templeton, 1989, 1991). Στη διάρκεια της φυσιολογικής ωοθυλακικής φάσης αν και θα ήταν αναμενόμενο η ενίσχυση της ευαισθησίας της υπόφυσης στη GnRH να είναι μία συνεχής διαδικασία, είναι γνωστό ότι μία σημαντική αύξηση στην ευαισθησία της υπόφυσης λαμβάνει χώρα μόνο κατά την όψιμη ωοθυλακική φάση, δηλαδή κατά την προ-ωοθυλακιορρηκτική περίοδο (Messinis et al., 1994, 1998). Είναι λογικό λοιπόν να υποθέσουμε ότι κατά το μεγαλύτερο τμήμα της ωοθυλακικής φάσης κάποιος παράγοντας ανταγωνίζεται την ευαισθητοποιούσα επίδραση της E2 στην υπόφυση. Υπάρχουν ενδείξεις ότι ο παράγοντας αυτός είναι ο GnSAF και ότι εμπλέκεται στον έλεγχο του φυσιολογικού μεσοκύκλιου κύματος της LH. Η υψηλότερη βιοδραστικότητα του GnSAF έχει ανιχνευθεί σε μικρά αναπτυσσόμενα ωοθυλάκια παρά σε προωοθυλακιορρηκτικά ωοθυλάκια (Fowler et al., 2001) καθώς και στην κυκλοφορία γυναικών κατά την πρώιμη και μέση ωοθυλακική φάση του φυσιολογικού γεννητικού κύκλου (Martinez et al., 2002). Τα αποτελέσματα μίας πρόσφατης μελέτης (Dafopoulos et al., 2004a) ενισχύουν την υπόθεση ότι κατά τη διάρκεια της πρώιμης και μέσης ωοθυλακικής φάσης οι ωοθήκες παράγουν GnSAF, ο οποίος ανταγωνίζεται την ευαισθητοποιούσα επίδραση της E2 στην υπόφυση όσον αφορά την απάντησή της στη GnRH. Επίσης πρόσφατα έχει δείχθει ότι μετά την εμμηνόπαυση οι ωοθήκες

δεν διαδραματίζουν κανένα κύριο ρόλο στη ρύθμιση της λειτουργίας του υποθαλαμο-υποφυσιακού άξονα και φυσικά δεν εκκρίνουν GnSAF (Daforoulos et al., 2004b). Μέχρι σήμερα ο παράγοντας αυτός δεν έχει πλήρως χαρακτηριστεί και υπάρχουν μερικές ασυμφωνίες σχετικά με την αλληλουχία των αμινοξέων του NH₂-τελικού άκρου και το μοριακό βάρος του (Pappa et al., 1999; Fowler et al., 2002) αν και έχει δειχθεί ότι συνθετικά παραγόμενα τμήματα της ανθρώπινης αλβουμίνης έχουν δραστηριότητα GnSAF in vitro (Tavoulari et al., 2004). Αναμένεται στο εγγύς μέλλον ο καθορισμός της πλήρους αλληλουχίας των αμινοξέων του και του γονιδίου που ελέγχει την παραγωγή του.

Η ρύθμιση του κύματος της LH

Ως γνωστό, η διάρκεια του μεσοκύκλιου κύματος της LH είναι περίπου 50 ώρες. Η έναρξή του λαμβάνει χώρα απότομα και χαρακτηρίζεται από 3 φάσεις: μία ταχεία ανοδική φάση διάρκειας περίπου 14 ωρών, μία επίπεδη φάση αιχμής επίσης διάρκειας περίπου 14 ωρών και μία μεγαλύτερη καθοδική φάση 20 ωρών. Η κλίση του κύματος της LH είναι πιο απότομη από αυτή του κύματος της FSH (Shoham et al., 1995).

Είναι γενικά αποδεκτό ότι η E2 και η GnRH είναι σημαντικές για την έκφραση του θετικού μηχανισμού παλίνδρομης αλληλορύθμισης και την εκδήλωση του ενδογενούς κύματος της LH (Hoff et al., 1977; Liu and Yen, 1983; Messinis and Templeton, 1988). Κατά την περιοθυλακιορρηκτική περίοδο, η E2 αυξάνει απότομα πριν την έναρξη του κύματος της LH και η προγεστερόνη κατά την έναρξη αυτού. Πιο συγκεκριμένα, τα επίπεδα της E2 στον ορό παρουσιάζουν την αιχμή τους περίπου κατά την έναρξη της ταχείας ανοδικής φάσης του κύματος της LH, ενώ τα επίπεδα της προγεστερόνης αυξάνουν περίπου 12 ώρες πριν την έναρξη του κύματος και συνεχίζουν σε plateau μέχρι περίπου 36 ώρες μετά την αιχμή του κύματος (Hoff et al., 1983). Επιπρόσθετα, η E2 καταστέλλει το μεταβολισμό της GnRH στην υπόφυση σε επίμνες και πιθήκους (Danforth et al., 1990), αυξάνοντας έτσι την αποτελεσματικότητά της. Στο πειραματικό μοντέλο των χρονίως ωθηκεκτομηθέντων πιθήκων, μετά την επίτευξη σταθερών επιπέδων E2 (με υποδόρια εμφυτεύματα) αντίστοιχων της μέσης ωθυλακικής φάσης, η οξεία χορήγηση βενζοϊκής E2 προκαλούσε απότομη αύξηση στα επίπεδα της LH, η οποία όμως ήταν μικρότερη σε μέγεθος από ό,τι το φυσιο-

λογικό κύμα της LH και δεν προκαλούσε ένα παράλληλο κύμα της FSH (Liu and Yen, 1983). Μία αύξηση της προγεστερόνης μπορεί να ανιχνευθεί στο φλεβικό αίμα της ωθήκης που φέρει το προωθυλακιορρηκτικό ωθυλάκιο από την ημέρα 10 του κύκλου (Chikazawa et al., 1986), αλλά μία σημαντική αύξησή της στον ορό ανιχνεύεται περίπου 12 ώρες πριν την έναρξη του κύματος της LH (Hoff et al., 1983). Αυτή η μικρή αύξηση της προγεστερόνης που εμφανίζεται μετά από 48 με 60 ώρες από την προεπίδραση των οιστρογόνων, υποβοηθά τόσο την εμφάνιση ενός ικανοποιητικού κύματος της LH όσο και της FSH, ενώ εάν χορηγηθεί πριν από την προεπίδραση των οιστρογόνων ή σε υψηλές δόσεις > 6.36 nmol/l τότε η προγεστερόνη μπορεί να εμποδίσει το μεσοκύκλιο κύμα της LH (Shoham et al., 1995). Η E2 και η προγεστερόνη είναι γνωστό ότι ασκούν διεγερτικές επιδράσεις στο φαινόμενο της αυτοπριμοδότησης της GnRH (Hoff et al., 1977; Liu and Yen, 1983; Sollenberger et al., 1990b).

Στο μηχανισμό τερματισμού του κύματος της LH μπορεί να εμπλέκεται η προοδευτική αύξηση της προγεστερόνης, όπως περιγράφηκε παραπάνω, καθώς οι υψηλές συγκεντρώσεις της εκδηλώνουν αρνητική παλίνδρομη αλληλορύθμιση πάνω στην υπόφυση. Η πτώση της E2 καθώς η LH αυξάνει μπορεί επίσης να έχει κάποιο ρόλο στην επακόλουθη πτώση της LH, πιθανόν μέσω μίας απότομης προς τα κάτω ρύθμισης (down-regulation) των υποδοχέων της GnRH (Shoham et al., 1995). Έχει επίσης δειχθεί η ύπαρξη βραχείας αγκύλης (short loop) ρύθμισης της LH πάνω στην έκκριση της GnRH (Kesner et al., 1986). Ακόμη, έχει διατυπωθεί και η άποψη, χωρίς όμως να έχει αποδειχτεί, ότι η LH έχει υπερβραχεία αγκύλη (ultrashort-loop) παλίνδρομης αλληλορύθμισης πάνω στην ίδια της την έκκριση και αυτό αποτελεί έναν άλλο πιθανό μηχανισμό για τον τερματισμό του κύματος. Αποτελεί τέλος μία πιθανότητα ο τερματισμός του κύματος της LH να οφείλεται απλά στην εξάντληση των αποθηκών της στην υπόφυση (Shoham et al., 1995).

Συμπέρασμα

Οι υποκείμενοι κυτταρικοί μηχανισμοί της έκκρισης των γοναδοτροφινών αλλά κυρίως της ρύθμισής της αν και ευρέως μελετημένοι μέχρι σήμερα δεν έχουν ακόμη πλήρως αποσαφηνισθεί. Αναφορικά με την ωθηκική λειτουργία κατά τη διάρκεια του φυσιολογικού γεννητικού κύκλου, η πλήρης έκφραση του μεσοκύκλιου κύματος της LH απαιτεί κρίσιμες μεταβολές των συγκεντρώσεων στην κυ-

κλοφορία τόσο της E2 όσο και του GnSAF με τη συμμετοχή και της προγεστερόνης. Οι ανασταλτικές και οι ακτιβίνες είναι πιθανόν να διαδραματίζουν κάποιο ρόλο στην επιλογή του κυρίαρχου ωοθυλακίου.

Ovarian regulation of gonadotrophin secretion

K.C. Dafopoulos, A. Kallitsaris and I.E. Messinis

Department of Obstetrics and Gynaecology, University of Thessalia, Larissa, Greece

Correspondence: Konstantinos C. Dafopoulos,
Department of Obstetrics and Gynaecology,
University of Thessalia,
University General Hospital of Larissa,
41110 Larissa, Greece
Tel.: 2410 682795, Fax: 2410 670096,
E-mail: kdafop@med.uth.gr

Summary

Hypothalamus is the main regulator of reproductive function, responding to both peripheral and central nervous system messages and exerting its influence by means of neurotransmitters transported to the pituitary. Steroidal and non steroidal ovarian hormones also play a substantial role in the normal reproductive function. During the follicular phase of the normal menstrual cycle, oestradiol (E2) mediates the ovarian mechanism that controls basal gonadotrophin secretion, while at midcycle a positive effect is expressed and the endogenous LH surge occurs. During the normal menstrual cycle, E2 sensitizes the pituitary to GnRH, an action that in the early to midfollicular phase is counteracted by GnSAF. In the late follicular phase, the sensitizing effect of E2 is facilitated both by a decrease in the production of GnSAF and by the synergistic action of E2 and progesterone. With these hormonal interactions, the secretion of LH up to the midfollicular phase is maintained at a low level and is only markedly enhanced at midcycle when high amounts of this hormone are required for the ovulatory events. Inhibins and activins may play a role in regulating the "FSH window" and therefore the recruitment and selection of the dominant follicle.

Key words: gonadotrophins, ovarian steroids, GnSAF, Inhibins, Activins

Βιβλιογραφία

- Adams, J.M., Taylor, A.E., Schoenfeld, D.A. et al. (1994) The midcycle gonadotropin surge in normal women occurs in the face of an unchanging gonadotropin-releasing hormone pulse frequency. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 79,858-864.
- Alexandris, E., Milingos, S., Kollios, G. et al. (1997) Changes in gonadotrophin response to gonadotrophin releasing hormone in normal women following bilateral ovariectomy. *Clin. Endocrinol. (Oxf)* 47,721-726.
- Anderson, L. (1996) Intracellular mechanisms triggering gonadotrophin secretion. *Rev. Reprod.* 1,193-202.
- Bauer-Dantoin, A.C., Weiss, J. and Jameson, J.L. (1995) Roles of estrogen, progesterone, and gonadotropin-releasing hormone (GnRH) in the control of pituitary GnRH receptor gene expression at the time of the preovulatory gonadotropin surges. *Endocrinology*, 136,1014-1019.
- Blake, C.A. (1978) Changes in plasma luteinizing hormone-releasing hormone and gonadotropin concentrations during constant rate intravenous infusion of luteinizing hormone-releasing hormone in cyclic rats. *Endocrinology*, 102,1043-1052.
- Brooks, J. and McNeilly, A.S. (1994) Regulation of gonadotrophin-releasing hormone receptor mRNA expression in the sheep. *J. Endocrinol.* 143,175-182.
- Burger, H.G. (1992) Inhibin. *Reprod. Med. Rev.* 1,1-20.
- Carroll, R.S., Corrigan, A.Z., Gharib, S.D. et al. (1989) Inhibin, activin and follistatin: regulation of follicle-stimulating hormone messenger ribonucleic acid levels. *Mol. Endocrinol.* 3,1969-1976.
- Chikazawa, K., Araki, S. and Tamada, T. (1986) Morphological and endocrinological studies on follicular development during the human menstrual cycle. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 62,305-313.
- Currie, R.J.W. and McNeilly, A.S. (1995) Mobilization of LH secretory granules in gonadotrophs in relation to gene expression, synthesis and secretion of LH during the preovulatory phase of the sheep oestrous cycle. *J. Endocrinol.* 147,1-11.
- Dafopoulos, K., Kotsovassilis, C., Milingos, S. et al. (2004a) Changes in pituitary sensitivity to GnRH in estrogen-treated post-menopausal women: evidence that gonadotrophin surge attenuating factor plays a physiological role. *Hum. Reprod.* 19,1985-1992.
- Dafopoulos, K.C., Kotsovassilis, C.P., Milingos, S.D. et al. (2004b) FSH and LH responses to GnRH after

- ovariectomy in postmenopausal women. Clin. Endocrinol. 60,120-124.
- Danforth, D.R., Elkind-Hirsch, K. and Hodgen, G.D. (1990) In vivo and in vitro modulation of gonadotrophin-releasing hormone metabolism by estradiol and progesterone. Endocrinology, 127,319-324.
- Dufau, M.L. and Veldhuis, J.D. (1987) Pathophysiological relationships between the biological and immunological activities of luteinizing hormone. In: Burger. H.G. (ed) Balliere's Clinical Endocrinology and Metabolism. Philadelphia, Saunders, pp. 153-176.
- Evans, N.P., Dahl, G.E., Glover, B.H. and Karsch, F.J. (1994) Central regulation of pulsatile gonadotropin-releasing hormone (GnRH) secretion by estradiol during the period leading up to the preovulatory GnRH surge in the ewe. Endocrinology, 134,1806-1811.
- Farnworth, P.G. (1995) Gonadotrophin secretion revisited. How many ways can FSH leave a gonadotroph? J. Endocrinol. 145,387-395.
- Fink, G. (1995) The self-priming effect of LHRH: a unique servomechanism and possible cellular model for memory. Front. Neuroendocrinol. 16,183-190.
- Fowler, P.A., Townsend, C., Messinis, I.E. et al. (1992) Gonadotrophin surge-attenuating factor attenuates in-vitro LH secretion induced by gonadotrophin-releasing hormone from cultured ovine pituitary cells only during the breeding season. J. Endocrinol. 135,221-227.
- Fowler, P.A., Messinis, I.E., Cunningham, P. et al. (1993) Effects of gonadotrophin surge attenuating factor on the two pools of GnRH-induced LH secretion. Hum. Reprod. 8,822-828.
- Fowler, P.A. and Templeton, A.A. (1996) The nature and function of putative gonadotropin surge-attenuating/inhibiting factor (GnSAF/IF). Endocrinol. Rev. 17,103-120.
- Fowler, P.A., Sorsa, T., Harris, W.J. et al. (2001) Relationship between follicle size and gonadotrophin surge attenuating factor (GnSAF) bioactivity during spontaneous cycles in women. Hum. Reprod. 16,1353-1358.
- Fowler, P.A., Sorsa-Leslie, T., Cash, P. et al. (2002) A 60-66 kDa protein with gonadotrophin surge attenuating factor bioactivity is produced by human ovarian granulosa cells. Mol. Hum. Reprod. 8,823-832.
- Fowler, P., Sorsa-Leslie, T., Harris, W. and Mason, H. (2003) Ovarian gonadotrophin surge-attenuating factor (GnSAF): where are we after 20 years of research? Reproduction, 126,689-699.
- Genazzani, A.D., Rodbard, D., Forti, G. et al. (1990) Estimation of instantaneous secretory rate of luteinizing hormone in women during the menstrual cycle and in men. Clin. Endocrinol. 32,573-581.
- Gill, S., Sharpless, J.L., Rado, K. and Hall, J.E. (2002a) Evidence that GnRH decreases with gonadal steroid ?παλίνδρομης αλληλορύθμισης? but increases with age in postmenopausal women. J. Clin. Endocrinol. Metab. 87,2290-2296.
- Gill, S., Lavoie, H.B., Bo-Abbas, Y. and Hall, J.E. (2002b) Negative παλίνδρομης αλληλορύθμισης effects of gonadal steroids are preserved with aging in postmenopausal women. J. Clin. Endocrinol. Metab. 87,2297-2302.
- Gregg, D.W., Allen, M.C. and Nett, T.M. (1990) Estradiol-induced increase in number of gonadotropin-releasing hormone receptors in cultured ovine pituitary cells. Biol. Reprod. 43,1032-1036.
- Groome, N.P., Illingworth, P.J., O'Brien, M. et al. (1994) Detection of dimeric inhibin throughout the human menstrual cycle by two-site enzyme immunoassay. Clin. Endocrinol. 40,717-723.
- Groome, N.P., Illingworth, P.J., O'Brien, M., et al. (1996) Measurement of dimeric inhibin B throughout the human menstrual cycle. J. Clin. Endocrinol. Metab. 81,1401-1405.
- Hall, J.E., Lavoie, H.B., Marsh, E.E. and Martin, K.A. (2000) Decrease in gonadotropin-releasing hormone (GnRH) pulse frequency with aging in postmenopausal women. J. Clin. Endocrinol. Metab. 85,1794-1800.
- Hartwig, J.H., Theien, M., Rosen, A. et al. (1992) A MARCKS is an actin filament crosslinking protein regulated by protein kinase C and calcium-calmodulin. Nature, 356,618-622.
- Hoff, J.D., Lasley, C.L., Wang, C.F. and Yen, S.S.C. (1977) The two pools of the pituitary gonadotropin: regulation during the menstrual cycle. J. Clin. Endocrinol. Metab. 44,302-313.
- Hoff, J.D., Quigley, M.E. and Yen, S.S.C. (1983) Hormonal dynamics at midcycle: a reevaluation. J. Clin. Endocrinol. Metab. 57,792-796.
- Huang, E.S. and Miller, W.L. (1980) Effects of estradiol-17 β on basal and luteinising hormone releasing hormone-induced secretion of luteinising hormone and follicle stimulating hormone by ovine pituitary cell culture. Biol. Reprod. 23,124-134.
- Karsch, F.J. (1987) Central actions of ovarian steroids in the παλίνδρομης αλληλορύθμισης regulation of pulsatile secretion of luteinizing hormone. Ann. Rev. Physiol. 49,365-382.
- Kesner, J.S., Kaufman, J.M., Wilson, R.C. et al. (1986) On the short loop παλίνδρομης αλληλορύθμισης regulation of the hypothalamic luteinizing hormone releasing hormone "pulse generator" in the rhesus monkey. Neuroendocrinology, 42,109-111.

- Kettel, L.M., DePaolo, L.V., Morales, A.J. et al. (1996) Circulating levels of follistatin from puberty to menopause. *Fertil. Steril.* 65,472-476.
- Kogawa, K., Nakamura, T., Sugino, K. et al. (1991) Activin binding protein is present in the pituitary. *Endocrinology*, 128,1434-1440.
- Lasley, B.L., Wang, C.F. and Yen, S.S. (1975) The effects of estrogen and progesterone on the functional capacity of the gonadotrophs. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 41,820-826.
- Laws, S.C., Begg, M.J., Webster, J.C. and Miller, W.L. (1990) Inhibin increases and progesterone decreases receptors for gonadotrophin-releasing hormone in ovine pituitary culture. *Endocrinology*, 127,373-380.
- Leong, D. and Thorner, M.D. (1991) A potential code of LHRH-induced calcium ion responses in the regulation of luteinizing hormone secretion among individual gonadotrophs. *J. Biol. Chem.* 266,9016-9022.
- Lewis, C.E., Morris, J.F. and Fink, G. (1985) The role of microfilaments in the priming effect of LH-releasing hormone: an ultrastructural study using cytochalasin B. *J. Endocrinol.* 106,211-218.
- Liu, J.H. and Yen, S.S.C. (1983) Induction of midcycle gonadotropin surge by ovarian steroids in women : a critical evaluation. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 57,797-802.
- Marshall, J.C., Case, G.D. and Valk, T.W. (1983) Selective inhibition of follicle stimulating hormone secretion by estradiol – a mechanism for modulating gonadotropin responses to low dose pulses of gonadotropin releasing hormone. *J. Clin. Invest.* 71,248-257.
- Martinez, F., Barri, P.N., Coroleu, B. et al. (2002) Women with poor response to IVF have lowered circulating gonadotrophin surge-attenuating factor (GnSAF) bioactivity during spontaneous and stimulated cycles. *Hum. Reprod.* 17, 634–640.
- McIntosh, R.P. and McIntosh, J.E. (1985) Amplitude of episodic release of LH as a measure of pituitary function analyzed from the time-course of hormone levels in the blood: comparison of 4 menstrual cycles in an individual. *J. Endocrinol.* 107,231-239.
- Messinis, I.E. and Templeton, A.A. (1988) The endocrine consequences of multiple folliculogenesis. *J. Reprod. Fertil.* 36,(Suppl.)27-37.
- Messinis, I.E. and Templeton, A.A. (1989) Pituitary response to exogenous LHRH in superovulated women. *J. Reprod. Fertil.* 87,633-639.
- Messinis, I.E. and Templeton, A.A. (1990) Effects of supraphysiological concentrations of progesterone on the characteristics of the oestradiol-induced gonadotrophin surge in women. *J. Reprod. Fertil.* 88,513–519.
- Messinis, I.E. and Templeton, A.A. (1991) Evidence that gonadotrophin surge-attenuation factor exists in man. *J. Reprod. Fertil.* 92,217-223.
- Messinis, I.E., Koutsoyiannis, D., Milingos, S. et al. (1993) Changes in pituitary response to GnRH during the luteal-follicular transition of the human menstrual cycle. *Clin. Endocrinol. (Oxf)* 38,159-163.
- Messinis, I.E., Lolis, D., Zikopoulos, K. et al. (1994) Effect of an increase in FSH on the production of gonadotrophin-surge-attenuating factor in women. *J. Reprod. Fertil.* 101,689-695.
- Messinis, I.E., Milingos, S., Zikopoulos, K. et al. (1998) Luteinizing hormone response to gonadotrophin-releasing hormone in normal women undergoing ovulation induction with urinary or recombinant follicle stimulating hormone. *Hum. Reprod.* 13,2415-2420.
- Messinis, I.E. (2000) Ovarian regulators of gonadotropin secretion. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 900,10-15.
- Messinis, I.E., Milingos, S., Alexandris, E. et al. (2002) Evidence of differential control of FSH and LH responses to GnRH by ovarian steroids in the luteal phase of the cycle. *Hum. Reprod.* 17,299-303.
- Muttukrishna, S., Fowler, P.A., George, L. et al. (1996) Changes in peripheral serum levels of total activin A during the human menstrual cycle and pregnancy. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 81,3328-3334.
- Nippoldt, B., Reame, N.E., Kelch, R.P. and Marshall, J.C. (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.* 69,67-76.
- Ortmann, O., Merelli, F., Stojilkovic, S. et al. (1994) Modulation of calcium signalling and LH secretion by progesterone in pituitary gonadotropes and clonal pituitary cells. *J. Ster. Biochem. Mol. Biol.* 48,47–54.
- Padmanabhan, V. and McNeilly, A.S. (2001) Is there an FSH-releasing factor? *Reproduction*, 121,21-30.
- Pappa, A., Seferiadiis, K., Fotsis, T. et al. (1999) Purification of a candidate gonadotrophin surge attenuating factor from human follicular fluid. *Hum. Reprod.* 14,1449-1456.
- Pickering, A.J.-M.C. and Fink, G. (1979) Variation in size of the "readily releasable pool" of luteinizing hormone during the oestrous cycle of the rat. *J. Endocrinol.* 83,53-59.
- Plant, T.M. (1986) Gonadal regulation of hypothalamic gonadotrophin-releasing hormone release in primates. *Endocrinol. Rev.* 7,75-88.
- Ramey, J.W., Highsmith, R.F., Wilfinger, W.W. and Baldwin, D.M. (1987) The effects of gonadotropin-releasing hormone and estradiol on luteinizing hormone biosynthesis in cultured rat anterior pituitary

- cells. *Endocrinology*, 120,1503-1513.
- Roberts, V.J., Barth, S., el-Roeiy, A. and Yen, S.S. (1993) Expression of inhibin/activin subunits and follistatin messenger ribonucleic acids and proteins in ovarian follicles and the corpus luteum during the human menstrual cycle. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 77,1402-1410.
- Roseff, S.J., Bangah, M.L., Kettel, L.M. et al. (1989) Dynamic changes in circulating inhibin levels during the luteal-follicular transition of the human menstrual cycle. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 69,1033-1039.
- Savoy-Moore, R.T., Schwartz, N.B., Duncan, J.A. and Marshall, J.C. (1980) Pituitary gonadotropin-releasing hormone receptors during the estrous cycle. *Science*, 209,942-944.
- Schwall, R.H., Nikolics, K., Szonyi, E. et al. (1988) Recombinant expression and characterization of human activin A. *Mol. Endocrinol.* 2,1237-1242.
- Scott, C.J., Tilbrook, A.J., Rawson, J.A. and Clarke, I.J. (2000) Gonadal steroid receptors in the regulation of GnRH secretion in farm animals. *Anim. Reprod. Sci.* 60-61,313-326.
- Shoham, Z., Schachter, M., Loumaye, E. et al. (1995) The luteinizing hormone surge-the final stage in ovulation induction: modern aspects of ovulation triggering. *Fertil. Steril.* 64,237-251.
- Sollenberger, M.J., Carlsen, E.C., Johnson, M.L., et al. (1990a) Specific physiological regulation of LH secretory events throughout the human menstrual cycle: new insights into the pulsatile mode of gonadotropin release. *J. Neuroendocrinol.* 2,845-852.
- Sollenberger, M.J., Carlsen, E.C., Booth, R.A. et al. (1990b) Nature of gonadotropin-releasing hormone self-priming of luteinizing hormone secretion during the normal menstrual cycle. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 163,1529-1534.
- Speight, A. and Fink, G. (1981b) Comparison of steroid and LH-RH effects on the responsiveness of hemipituitary glands and dispersed pituitary cells. *Mol. Cell. Endocrinol.* 24,267-281.
- Tavoulari, S., Frilingos, S., Karatza, P. et al. (2004) The recombinant subdomain IIIB of human serum albumin displays activity of gonadotrophin surge-attenuating factor. *Hum. Reprod.* 19,849-858.
- Tse, A., Tse, F.W., Almers, W. and Hille, B. (1993) Rhythmic exocytosis stimulated by GnRH-induced calcium oscillations in rat gonadotropes. *Science*, 260,82-84.
- Turgeon, J.L. and Waring, D.W. (1992) Functional cross-talk between receptors for peptide and steroid hormones. *Trends Endocrinol. Metab.* 3,360-365.
- Turgeon, J.L. and Waring, D.W. (1994) Activation of the progesterone receptor by the gonadotropin-releasing hormone self-priming signaling pathway. *Mol. Endocrinol.* 8,860-869.
- Velghuis, J.D., Beitins, I.Z., Johnson, M.L. et al. (1984) Biologically active luteinizing hormone is secreted in episodic pulsations that vary in relation to stage of the menstrual cycle. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 58,1050-1058.
- Wang, C.F., Lasley, B.L., Lein, A. and Yen, S.S.C. (1976) The functional changes of the pituitary gonadotrophs during the menstrual cycle. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 42,718-728.
- Yasin, M., Dalkin, A.C., Haisenleder, D.J. et al. (1995) Gonadotropin-releasing hormone (GnRH) pulse pattern regulates GnRH receptor gene expression: augmentation by estradiol. *Endocrinology*, 136,1559-1564.