

# Determinacja płci u ssaków<sup>\*</sup>)

IWONA SZATKOWSKA, SŁAWOMIR ZYCH, HANNA KULIG

Katedra Genetyki i Ogólnej Hodowli Zwierząt Wydziału Biotechnologii i Hodowli Zwierząt AR,  
ul. Doktora Judyma 6, 71-460 Szczecin

Szatkowska I., Zych S., Kulig H.  
**Sex determination in mammals**

## Summary

Sex in mammals is determined at the moment of fertilization, at which time a set of sex chromosomes is established. This is the so-called chromosomal sex, which may be modified by a number of factors. These factors may impede or entirely alter the process of determination and differentiation of sex. Therefore an attempt to define sex in biological terms is not an easy task. This study describes the genetic elements involved in this complex process recognized to date, i.e. the genes: SRY, WT1, SF1, LIM1, SOX9, SOX3, DAX1, WNT4, DMRT1 and DMRT2, as well as possible dependencies and interactions between them. Moreover, the most recent hypotheses that attempt to explain the process of sex formation have been presented.

**Keywords:** mammals, sex determination

Czym jest płeć? Jednoznaczna odpowiedź na to pozornie proste pytanie nie zawsze jest możliwa, bowiem kształtowanie płci u ssaków jest procesem obejmującym szereg przemian, gdzie jeden etap inicjuje następny, tworząc swoistą kaskadę zdarzeń, w których przebiegu ostatecznie bycie samcem bądź samicą nie wyczerpuje wszystkich fenotypowych możliwości. Kształtowanie płci może podlegać działaniu wielu czynników w trakcie wczesnego rozwoju ontogenetycznego, mogących modyfikować, hamować, lub zupełnie zmieniać przebieg tego skomplikowanego procesu, w wyniku czego mogą pojawiać się osobniki, których płeć nie jest możliwa do jednoznacznego zdefiniowania. Poszukiwanie tych czynników nie zostało jeszcze zakończone. W niniejszym opracowaniu zostaną omówione najważniejsze z nich.

W procesie formowania płci można wyróżnić zasadniczo dwa etapy: determinację i różnicowanie płci. O ile ten drugi proces jest już stosunkowo dobrze poznany, o tyle determinacja płci, pomimo znacznego postępu nowych technik badawczych, pozostaje wciąż niejasna.

Genetyczna płeć osobnika (tzw. płeć chromosomowa) znana jest już w chwili zapłodnienia, kiedy ustala się odpowiedni dla określonej płci zestaw chromosomów XX (samica) bądź XY (samiec). Czy jednak moment ten można uznać za ostateczny? W przeważającej większości przypadków tak, ale nie zawsze. Zanim jednak będzie możliwe zrozumienie tego braku jednoznaczności, należy zastanowić się, co dzieje

się w rozwijającym zarodku, bez względu na otrzymany w chwili zapłodnienia zestaw chromosomów płci.

Pierwszym, dającym się zaobserwować sygnałem w procesie kształtowania płci jest pojawienie się pierwotnych komórek płciowych w endodermie pęcherzyka żółtkowego, tuż przy zawiązku omocznia (22). Stąd komórki te czynnie wędrują przez kreskę jelitową w kierunku pranerczy, a ostatecznym ich celem jest grzebień płciowy tworzący się z komórek mezenchymatycznych, wywędrowujących z pranercza i nabłonka mezodermalnego, pokrywającego pranercze (29). Po ich wniknięciu nabłonek intensywnie proliferuje i wrasta do środka grzebienia płciowego, tworząc dookoła pierwotnych komórek płciowych tzw. sznury płciowe. Jednocześnie komórki płciowe intensywnie dzielą się mitotycznie, a grzebień płciowy stopniowo oddziela się od pranercza, stając się zawiązkiem pierwotnej gonady, przy czym jest to twór nadal bipotencjalny, podobnie jak pierwotne komórki płciowe, które na tym etapie embriogenezy mają potencjał rozwoju zarówno w gamety żeńskie, jak i w gamety męskie, bez względu na obecny jeden z chromosomów płci. Różnicowanie w oogonia czy spermatogonia odbywa się pod wpływem somatycznych komórek pierwotnych gonad (29) i to właśnie ich molekularne przemiany decydują o przyszłej płci (tzw. płci gonadalnej), przy czym proces ten przebiega pod wpływem wielu czynników genetycznych, których omówienie jest przedmiotem niniejszego opracowania.

Wiele lat zajęły poszukiwania właściwego genu, odpowiedzialnego za determinację pierwotnej, bipo-

<sup>\*</sup>) Opracowanie wykonane w ramach grantu KBN nr 6 PO6D 003 21.

tencjalnej gonady w jądra. Temu hipotetycznemu genowi nadano miano (TDF) Testis Determining Factor (26). Punktem wyjścia w tych poszukiwaniach była analiza osobników z aberracjami chromosomowymi, których skutkiem fenotypowym było wykształcenie płci żeńskiej przy kariotypie XY lub płci męskiej przy braku chromosomu Y. Przy takim podejściu metodycznym słusznie zakładano, iż w translokowanym czy delecyjnym regionie znajduje się czynnik warunkujący determinację jądrową. W 1990 r. został ostatecznie opisany hipotetyczny TDF u ssaków, któremu nadano nazwę (SRY) – Sex Region of the Y (17).

### SRY

SRY jest małym, jednoeksonowym genem, kodującym białko wielkości około 220 aminokwasów, przy czym białko to składa się z trzech regionów, wśród których najbardziej istotne znaczenie w aspekcie pełnionej funkcji biologicznych posiada centralnie położona domena HMG (high mobility group), charakterystyczna dla czynników transkrypcyjnych (13). Trzeciorderowa struktura domeny HMG jest trójhelikarna i przybiera kształt litery L, przy czym ramię krótkie formowane jest przez helisy 1 i 2, natomiast ramię długie, N-końcowe, przez helisę 3. Wklęsła powierzchnia L-kształtu wchodzi w interakcje z mniejszym rowkiem DNA, co umożliwia wiązanie i załamywanie DNA w obszarach regulatorowych genów docelowych (13) przy największym powinowactwie do sekwencji AACAAAG i AACAAAT. Dla ludzkiej i mysiej domeny HMG wykazano, iż jest ona zdolna do wiązania z DNA pod kątem 60°-85°. Pozwoliło to na bardziej precyzyjne określenie jej funkcji jako „architektonicznego” czynnika transkrypcyjnego, którego działanie sprowadza się do wpływu na strukturę chromatyny w regionach regulatorowych docelowych genów, co ostatecznie pozwala na montowanie kompleksu regulatorowego (30). Region HMG wykazuje daleko posunięty konserwatyzm genetyczny, natomiast pozostałe dwa regiony, położone przy N- i C-końcach, charakteryzują się znaczną zmiennością międzygatunkową, przy czym funkcja tych sekwencji nie została, jak dotąd, jednoznacznie określona.

Model ekspresji SRY wydaje się specyficzny gatunkowo, przy czym konsekwencje biologiczne działalności SRY są raczej zbieżne u wszystkich poznanych pod tym względem gatunków ssaków (21).

U myszy transkrypt SRY pojawia się w komórkach somatycznych grzebienia płciowego, z którego wywodzą się komórki Sertoliego, między 10,5. a 12,5. dniem po zapłodnieniu ze szczytem w 11,5. dniu i utrzymuje się tylko do momentu pojawienia się pierwszych sygnałów morfologicznego ukierunkowania pierwotnej gonady w płodowe jądra (10, 28). Z kolei u ludzi mRNA SRY zaczyna pojawiać się w 41. dniu po owulacji, ze szczytem w 44. dniu i utrzymuje się, ale już w mniejszych ilościach, przez cały okres rozwoju embrionalnego i dłużej. Przy użyciu przeciwciał mono-

klonalnych wykazano obecność białka SRY w komórkach Sertoliego w 26 tygodniowych zarodkach, u chłopców w wieku 1 miesiąca, a także u dorosłego mężczyzny w wieku 32 lat (32). Podobnie u kangurów, świń i przeżuwaczy transkrypcja SRY zbiega się w czasie z okresem determinacji jądrowej i jest zauważalna nie tylko w płodowych jądrach (na poziomie nieco niższym niż u myszy), ale również w gonadach dorosłych osobników płci męskiej (18). Nasuwa się zatem pytanie, skąd takie różnice we wzorze ekspresyjnym SRY? Należy w tym miejscu podkreślić, że mysz nie jest gatunkiem typowym, aczkolwiek w licznych badaniach uznawana jest za zwierzę modelowe. Zważywszy na wzór ekspresji u ludzi, torbaczki i przeżuwaczy można by postawić hipotezę, iż SRY pełni, poza inicjacją determinacji jądrowej, także inną rolę, niż tylko różnicowanie grzebienia płciowego lub że jego ekspresja poza grzebieniem płciowym nie ogranicza jego funkcji tylko do tego kluczowego momentu. Jeśli jednak takie wytłumaczenie szerokiej ekspresji byłoby prawdziwe, działanie białka SRY w już wykształconych jądrach stałoby się nieuchwytne, bowiem mutacje znoszące jego aktywność biologiczną oddziałują tylko na nieprawidłowy rozwój jąder i konsekwentnie na procesy związane z ich aktywnością steroidogenną. Przypuszcza się również, że potencjalny, wieloetapowy model ekspresji SRY u gatunków innych niż myszy jest zbyteczny i że jedynie myszy zachowują minimalną ekspresję, niezbędną wyłącznie do inicjacji determinacji jądrowej. W powyższym kontekście interesujące spostrzeżenie opisał Koopman (18) wykazując, iż w tkankach dorosłych osobników syntetyzowany jest kołowy transkrypt SRY, który nie ulega translacji i jako taki wydaje się zbędny, w przeciwieństwie do funkcjonalnego produktu genu SRY, jaki powstaje w grzebieniu płciowym. W ten właśnie sposób można wytłumaczyć odmienny wzór ekspresji SRY dla myszy i innych gatunków ssaków. Można zatem przyjąć, iż SRY inicjuje proces formowania jąder, przy czym działanie tego białka nie jest konieczne do utrzymania zachodzących w nich w dalszych etapach procesów morfologicznych (29).

### SF1

Czynnik steroidogeny SF1 (8) jest jądrowym receptorem hormonalnym z rodziny orfanów, będącym produktem genu FTZ-F1 (nazewnictwo ma związek ze znaczną homologią z genem fushi-tarazu u muszki owocowej). Produkty omawianego genu są niezbędne we wczesnych etapach gonadogenezy w grzebieniu płciowym, a także w pierwotnych tkankach steroidogennych, takich jak: kora nadnerczy, komórki Leydiga, jajnikowe ciała lutealne, komórki osłonki i komórki ziarniste (24). Jego ekspresja w grzebieniu płciowym poprzedza u samców pojawienie się pierwszych produktów genu SRY i przypada, podobnie jak u samic, na 9. dzień po zapłodnieniu (8). W dalszych etapach rozwojowych, po 12,5. dniu po zapłodnieniu,

FTZ-F1 ulega ekspresji w sposób płciowo-dymorficzny ze znaczną ekspresją tylko w jądrach. Funkcja SF1 nie jest do końca wyjaśniona, wiadomo jednak, iż jego ekspresja wymagana jest w trzech różnych okresach podczas rozwoju jąder. Pierwszy z nich to moment, kiedy w grzebieniu płciowym ustala się odpowiednie środowisko umożliwiające ekspresję SRY, następnie w komórkach Sertoliego jako niezbędny czynnik regulujący ekspresję genu AMH kodującego hormon odpowiedzialny u samców za regresję przewodów Müllera i ostatni, trzeci moment, to regulacja steroidogenezy w komórkach Leydiga (15). U homozygotycznych myszy, pozbawionych genu FTZ-F1 obserwuje się agenezję gonad, nadnerczy i podwzgórza (8).

### WT1

Analiza molekularna pacjentów z syndromem Denysa-Drasha i Frasiera umożliwiła identyfikację kolejnego genu zaangażowanego w proces determinacji płci. Udowodniono bowiem, iż za obie jednostki chorobowe, którym towarzyszy dysgeneza gonad, odpowiedzialne są mutacje w genie WT1 (Wilms tumor), zmapowanym u ludzi w chromosomie 11, w regionie 11p13 (12). Udział genu WT1 w rozwoju gonad potwierdziły również badania na myszach z nieczynną jego kopią, u których stwierdzono agenezję gonad i nerek.

Pierwsze transkrypty WT1 pojawiają się u myszy w grzebieniu płciowym w 9. dniu po zapłodnieniu i – podobnie jak SF1 – są niezbędne do jego rozwoju. Ponadto wykazano ekspresję WT1 w rozwijających się nerkach, mezotelium i pierwotnych gonadach (6). Gen WT1 zawiera kilka miejsc splicingowych, czego konsekwencją jest, w zależności od docelowych funkcji, powstawanie czterech różnych izoform białka WT1 (2). Wspólną ich cechą jest występowanie motywu palców cynkowych typowych dla czynników transkrypcyjnych.

Region promotorowy genu SRY posiada miejsca konsensusowe dla wiązania WT1, wobec czego przyjmuje się, iż gen WT1 spełnia kluczową rolę w determinacji jądrowej jako czynnik stwarzający odpowiednie środowisko dla ekspresji SRY oraz bezpośrednio reguluje poziom tej ekspresji (6).

### LIM1

LIM1 u człowieka, z homologiem LIM1 u myszy, należy do licznej grupy genów HOMEO-box, które na poziomie molekularnym regulują organogenezę u wielu gatunków ssaków. Utrata, w wyniku mutacji, biologicznej aktywności LIM1 u myszy jest przyczyną braku zawiązków głowy, co czyni tę mutację – w bardzo jeszcze wczesnych etapach rozwojowych – letalną (1, 25). Niemniej jednak zarodki, które mimo to utrzymały się przy życiu, nie posiadały nerek i gonad. Przypuszcza się, że LIM1, podobnie jak SF1 i WT1, jest zaangażowany w dojrzewanie grzebienia płciowego, chociaż jego precyzyjna rola w indukcji rozwoju go-

nad nie jest do końca wyjaśniona, co w znacznej mierze związane jest z faktem letalności mutantów LIM1.

### SOX9

Gen SOX9 jest genem autosomalnym, należącym do licznej rodziny genów SOX (SRY-related HMG box), które kodują białka zawierające domeny HMG, podobne do tych, jakie zidentyfikowano w białku SRY. Przyjmuje się, że przynależność do tej rodziny uzależniona jest od stopnia homologii z białkiem SRY na poziomie pierwszorzędowej struktury, która powinna wynosić przynajmniej 60% (19). W ten sposób opisano grupę liczącą ponad 20 genów. Spośród nich jedynie dwa pełnią prawdopodobnie znaczącą funkcję w procesie determinacji płci. Jednym z nich jest właśnie gen SOX9.

Struktura SOX9 jest typowa dla czynników transkrypcyjnych, posiadających funkcjonalną domenę transaktywującą i wiążącą się z DNA, ze szczególnym powinowactwem do sekwencji AACAAAT i AACAAAG, a więc typowych także dla białka SRY. Liczne badania wskazują, że w białku SOX9, poza domeną HMG kodowaną częściowo przez ekson 1 i 2, bardzo istotne znaczenie funkcjonalne przypisuje się C-terminalnemu regionowi kodowanemu przez ostatni, trzeci ekson genu SOX9 (7). U ludzi w obszarze tym leży domena bogata w reszty PQS (reszty 386-509), czyli prolinę, serynę i glutaminę, zaś poprzedza ją domena PQA (reszty 339-379), bogata w prolinę, serynę i alaninę, przy czym obie domeny są niezbędne do optymalnej aktywności transkrypcyjnej tego białka (20).

U myszy SOX9 ulega ekspresji we wczesnych etapach rozwoju zarodkowego w tkance mezenchymatycznej, w miejscach jej przekształcania się w chrząstkę oraz w prekursorowej linii komórek Sertoliego grzebienia płciowego (4). Pierwsze transkrypty pojawiają się w nim 10,5. dnia po zapłodnieniu, zaś szczyt ekspresji notowany jest na 11,5. dzień, a więc w tym samym czasie, kiedy przypada szczyt ekspresji SRY. W 13,5. dniu po zapłodnieniu ekspresję SOX9 można obserwować w rozwijającej się korze jądra oraz w dalszym ciągu w komórkach Sertoliego, gdzie utrzymuje się przez cały okres życia płodowego i pozapłodowego. Poziom ekspresji SOX9 zwiększa się w grzebieniu płciowym osobników płci męskiej, podczas gdy w grzebieniu płciowym samicy, będącej na tym samym etapie rozwojowym, ekspresja SOX9 odnotowana jest jako marginalna (4).

Precyzyjna funkcja genu SOX9 w procesie determinacji płci nie została jeszcze jasno zdefiniowana, wiadomo jednak, że w szczególnych przypadkach może on inicjować rozwój jąder u genetycznych samiec XX. Przypadki takie opisano u ludzi z mikroduplikacją regionu z *locus* SOX9 (14), która powodowała jego nadekspresję, a także u transgenicznych myszy z indukowaną mutacją insercyjno/delecyjną regionu, zlokalizowanego około 1 miliona pb powyżej otwartej ramki odczytu dla SOX9. Osobniki XX (tzw. Ods/+),

u których występowała w opisanym wyżej regionie delecja 150 tys. pz, rozwijały się jako sterylne samce, przy braku kopii SRY (4).

### SOX3

Interesującym genem z hipotetyczną rolą w procesie determinacji płci u ssaków jest gen SOX3, należący do tej samej grupy czynników regulatorowych, co SOX9, ale z *locus* w chromosomie X (9). Chociaż potencjalne efekty działania omawianego genu nie zostały jeszcze dokładnie sprecyzowane, to wiadomo, iż u myszy, którym eksperymentalnie wprowadzono dodatkową kopię SOX3, występująca nadekspresja powoduje rewersję płci osobników XY (9). Nie to jednak spowodowało, iż gen ten znalazł się w niniejszym opracowaniu, ale przewrotna, z punktu determinacji jądrowej, hipoteza Graves (9). Otóż w oparciu o analizę porównawczą sekwencji SRY i SOX3, a także porównanie map genetycznych, wspomniana autorka stwierdziła, iż ten pierwszy jest tylko zdegradowaną wersją SOX3. Co więcej, SRY, który nabył cech męskiego determinanta, nie pełni kluczowej roli w rozwoju płci, bowiem może być zastępowany. Chociaż wspomniana hipoteza może budzić kontrowersje, to jednak fakt rozwoju płci męskiej u osobników XX bez kopii SRY może sugerować, że tak jest w istocie.

### DAX1

Kolejnym kandydatem do roli genetycznego czynnika biorącego udział w procesie determinacji płci jest gen DAX1, zmapowany w ludzkim chromosomie X, w rejonie Xp21 (3), który – jeśli zostanie zduplikowany – powoduje rozwój płci żeńskiej u pacjentek 46,XY z czynną funkcjonalnie kopią SRY. Efektem fenotypowym owej duplikacji jest zatem całkowita rewersja płci, będąca efektem podwojonej dawki genu, toteż syndrom ten określono jako DSS (dosage sensitive sex reversal). Interesujący w powyższej analizie jest fakt, iż *locus* DSS, wielkości ok. 160 kb, pokrywał się częściowo z *locus* odpowiedzialnym za inną jednostkę chorobową, a mianowicie AHC (adrenal hypoplasia congenita). Wewnątrz wspólnej części DSS i AHC wyróżniono ostatecznie gen DAX1 (DSS – AHC critical region on the X, gene 1), warunkujący zarówno rewersję płci u samców, jak i wrodzony niedorozwój nadnerczy.

DAX1 jest genem dwueksonowym, kodującym białko wielkości 470 aminokwasów, zaliczane do nadrodziny jądrowych receptorów hormonalnych. C-końcowa część DAX1 wykazuje znaczną homologię z domenami wiążącymi ligand innych hormonalnych receptorów jądrowych, natomiast N-terminalna część białka DAX1 zawiera domenę wiążącą się z DNA, złożoną z czterech niepełnych powtórzeń wielkości 65-67 aminokwasów bogatych w glicynę i cysteinę (11). Region promotorowy DAX1 zawiera elementy specyficznej odpowiedzi, które mają zdolność wiązania z SF1 w formie monomeru, co jest nietypowe dla jąd-

rowych receptorów (11). Jednakże tę specyfikę wykazano w warunkach *in vitro*, kiedy to ekspresja DAX1 była regulowana przez SF1, ale nie udało się takiej właściwości wykazać na myszach z ukierunkowaną dysfunkcją (tzw. myszy knockout) genu FTZ-F1 (-/-).

U myszy gen DAX1 ulega ekspresji w somatycznej części grzebienia płciowego w 10,5. dniu po zapłodnieniu u obu płci, po czym następuje zróżnicowanie modelu ekspresyjnego: obniżenie i całkowite zahamowanie (ok. 12,5. dnia po zapłodnieniu) u samców, a kontynuacja – u samic (3). Ponadto stwierdzono ekspresję DAX1 w zawiązku płodowych, jak i w morfologicznie zróżnicowanych już komórkach nadnerczy, a także w rozwijających się podwzgórzu i przysadce.

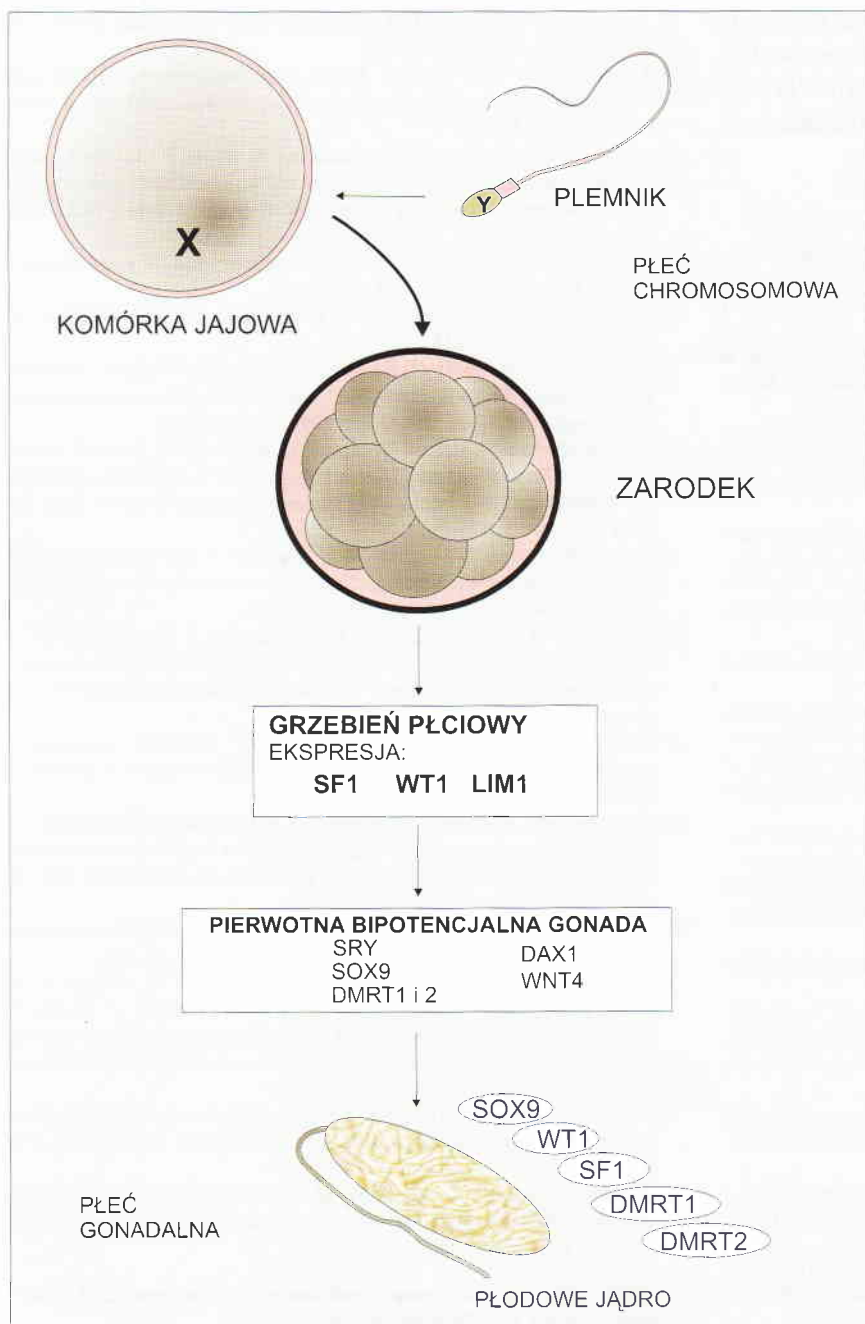
W początkowym okresie badań nad rolą DAX1 w determinacji płci sugerowano, iż może on promować determinację jajników, na co wskazywała głównie jego ekspresja w rozwijających się jajnikach, a jej zahamowanie – w jądrach po pojawieniu się pierwszych transkryptów SRY. Nie potwierdza tego jednak molekularna analiza przypadków kobiet z zespołem ACH, u których rozwój jajników jest kontynuowany, chociaż są nosicielkami mutacji w genie DAX1 w formie homozygotycznej (11). Można zatem przyjąć, że DAX1 działa antagonistycznie wobec SRY, a nie jako czynnik niezbędny do rozwoju jajników.

### WNT4

WNT4 jest genem autosomalnym, zmapowanym u ludzi w krótkim ramieniu chromosomu 1, w rejonie 1p35 (27). Koduje on glikoproteinę o miejscowej aktywności, należącą do licznej rodziny glikoproteinowych cząsteczek sygnałowych, mianowicie rodziny WNT.

Ekspresja WNT4 zbiega się w czasie z ekspresją genu DAX1 u obu płci, ale utrzymuje się tylko w rozwijających się jajnikach, podczas gdy w płodowych jądrach jest hamowana przez produkty genu SRY. Ponadto odnotowano ekspresję WNT4 w mezenchymie, z której w życiu płodowym u obu płci formowane są przewody Müllera (27).

Rolę genu WNT4 najlepiej ilustrują badania na myszach z dysfunkcją WNT4 (-/-) (31). Otóż u samic ukierunkowana dysfunkcja genu WNT4 prowadzi do maskulinizacji wewnętrznych narządów płciowych (brak struktur wywodzących się z przewodów Müllera przy utrwalonych strukturach wywodzących się z przewodów Wolffa), natomiast u samców przebieg procesu formowania płci pozostaje niezakłócony. Ponadto przypuszcza się, że gen WNT4 zapobiega różnicowaniu interstycjalnych komórek jajnika w komórki Leydiga oraz jest niezbędny do zapoczątkowania i prawidłowego rozwoju przewodów Müllera poprzez oddziaływanie sygnałowe na szlaku nabłonek-mezenchyma. Ponadto istnieją sugestie, iż WNT4 transaktywuje ekspresję DAX1 i, podobnie jak on, utożsamiany jest z czynnikiem antyjądrowym, a więc niezbędnym w prawidłowym rozwoju płci żeńskiej (16).



Ryc. 1. Schemat ekspresji genów zaangażowanych w proces determinacji płci u ssaków

## DMRT1 I DMRT2

Udział powyższych genów w procesie determinacji płci jest najbardziej hipotetyczny, niemniej jednak wskazują na to przypadki rewersji płci u kobiet o kariotypie 46,XY z delecją dystalnego odcinka ramion krótkich chromosomów pary 9. Analiza molekularna utraconego regionu ujawniła w nim obecność dwóch potencjalnych genów, kandydujących do roli czynników determinujących płć i jej rewersję – DMRT1 i DMRT2 (23). Ich nazwa jest interesująca o tyle, iż nawiązuje do częściowej homologii z genami kodującymi regulatorowe białka zaangażowane w kontrolę procesu kształtowania płci u bezkręgowców: dsx (*Drosophila melanogaster*) i mab-3 (*Caenorhabditis elegans*) – dsx mab-3 related transcription factor 1, 2, czyli

DMRT1 i DMRT2, których wspólną cechą jest obecność domeny DM. To właśnie ta domena stała się kluczem do poszukiwań analogicznych genów u ludzi. Chociaż poszukiwania te przyniosły oczekiwane rezultaty, to jednak rola DMRT1 i DMRT2 w procesie determinacji płci jest co najmniej dwuznaczna. Z jednej strony wykazano bowiem, że delecja DMRT1 i DMRT2 może być przyczyną rewersji płci, z drugiej zaś – opisano przypadki tejże rewersji u pacjentów z delecją 9p, u których DMRT1 i DMRT2 zmapowano poza delecyjnym regionem (5).

Zaprezentowany w opracowaniu przegląd poznanych dotąd czynników, zaangażowanych w proces determinacji płci nieprzypadkowo rozpoczęto od genu SRY, ponieważ zlokalizowany jest w tym obszarze genomu (chromosom Y), który jest kwintesencją męskości. Nie bez powodu więc w piśmiennictwie angielskojęzycznym jest określany mianem „tiger” (w dosłownym przekładzie „cyngiel”), który uruchamia całą kaskadę zdarzeń, prowadzących ostatecznie do rozwoju jąder. Zdarzenia te, rozumiane jako ekspresja opisanych już genów, są precyzyjnie zdefiniowane w czasie, przy jednocześnie słabo poznanych funkcjach na poziomie komórkowym i molekularnym (ryc. 1). Uwagę zwraca jednak fakt, iż gen SRY nie zapoczątkowuje procesu determinacji płci męskiej. Wiadomo bowiem, że ekspresja genów WT1, FTZ-F1 i LIM1 jest niezbędna dla zapewnienia właściwego środowiska w pierwotnych gonadach i ekspresji SRY, natomiast ich dysfunkcja może prowadzić nawet do braku gonad, bez względu na obecność czy brak genu SRY.

Szczególnie warto podkreślić w tym miejscu są przypadki, kiedy gen SOX9 może inicjować proces determinacji jądrowej (myszy odsex) u genetycznych samic XX, a więc przy nieobecności SRY. W związku z powyższymi faktami nasuwa się pytanie: Jaką faktycznie rolę w determinacji jąder odgrywa gen SRY? Czy jest transkrypcyjnym aktywatorem, ukierunkowującym i determinującym płć męską poprzez aktywację genów zaangażowanych w ten złożony proces i wtedy jego obecność byłaby niezbędna (18, 32)? Czy może jest transkrypcyjnym represorem, hamującym działanie genów bezpośrednio odpowiedzialnych za rozwój określonej płci i wtedy jego aktywność byłaby w szczególnych przypadkach zbędna (9)? Jeśli na powyższe wątpliwości nałożymy te, które związane są

z niejasnym mechanizmem działania genów niezbędnych w dalszych etapach determinacji i różnicowania płci, to można postawić stwierdzenie, iż definicja płci formułowana w oparciu o jej molekularny mechanizm jeszcze długo będzie zagadką dla biologów.

### Piśmiennictwo

- Ahmed S. F., Hughes I. A.: The genetics of male undermasculinization. *Clin. Endocrinol.* 2002, 56, 1-18.
- Barbabaux X., Niaudet P., Gubler M.-C.: Donor splice-site mutations in WT1 are responsible for Frasier syndrome. *Nat. Genet.* 1997, 17, 467-470.
- Bardoni B., Zanaria E., Guioli S., Florida G.: A dosage sensitive locus at chromosome Xp21 is involved in male to female sex reversal. *Nat. Genet.* 1994, 7, 497-501.
- Bishop C. E., Whitworth D. J., Qin Y., Agoulnik A. I., Agoulnik I. U., Harrison W. R., Behringer R. R., Overbeek P. A.: A transgenic insertion upstream of SOX9 is associated with dominant XX sex reversal in the mouse. *Nat. Genet.* 2000, 26, 490-494.
- Calvari V., Bertini V., De Grandi A., Peverali G.: A new submicroscopic deletion that refines the 9p region for sex reversal. *Genomics* 2000, 65, 203-212.
- Du X., Hublitz P., Günther T., Wilhelm D., Englert C., Schüle R.: The LIM-only coactivator FHL2 modulates WT1 transcriptional activity during gonadal differentiation. *Bioch. Biophys. Acta.* 2002, 1577, 1, 93-101.
- Giordano J., Prior H. M., Bamforth J. S.: Genetic study of SOX9 in a case of campomelic dysplasia. *Am. J. Med. Genet.* 2001, 98, 176-181.
- Guioli R. J., Shen W.-H., Ingraham H. A.: The nuclear receptor SF-1 mediates sexually dimorphic expression of Mullerian. *Develop.* 1997, 124, 1799-1807.
- Graves J. A.: From brain determination to testis determination: evolution of the mammalian sex-determining gene. *Reprod. Fertil. Dev.* 2001, 13, 7-8, 665-672.
- Hacker A., Capel B., Goodfellow P., Lowell-Badge R.: Expression of SRY, the mouse sex determining gene. *Development* 1995, 121, 1603-1614.
- Hanley N. A., Hagan D. M., Clement-Jones M.: SRY, SOX9, and DAX1 expression patterns during human sex determination and gonadal development. *Mech. Develop.* 2000, 91, 403-407.
- Hastie N. D.: The genetics of Wilms tumour – a case of disrupted development. *An. Rev. Genet.* 1994, 28, 523-528.
- Hawkins J. R.: The SRY gene. *Trends Endocrinol. Metab.* 1993, 4, 328-332.
- Huang B., Wang S., Ning Y., Lamb A. N., Bartley J.: Autosomal XX sex reversal caused by duplication of SOX9. *Am. J. Med. Genet.* 1999, 87, 349-353.
- Ikeda Y., Luo X., Abbud R., Nilson J. H.: The nuclear receptor steroidogenic factor 1 is essential for the formation of the ventromedial hypothalamic nucleus. *Mol. Endocrinol.* 1995, 8, 478-486.
- Jordan B. K., Mohammed M., Ching S. T., Delot E.: Up-regulation of WNT-4 signaling and dosage-sensitive sex reversal in humans. *Am. J. Hum. Genet.* 2001, 68, 1102-1109.
- Koopman P., Munsterberg A., Capel B., Vivian N.: Expression of a candidate sex determining gene during mouse testis differentiation. *Nature*, 1990, 348, 450-452.
- Koopman P.: SRY and SOX9: mammalian testis-determining genes. *Cell. Mol. Life Sci.* 1999, 55, 839-856.
- Kwok C., Weller P. A., Guioli S., Foster J. M.: Mutations in SOX9 the gene responsible for campomelic dysplasia and sex reversal. 1995. *Am. J. Hum. Genet.* 57, 1028-1036.
- McDowall S., Argentaro A., Ranganathan S., Weller P., Mertin S., Mansour S., Tolmie J., Harley V.: Functional and structural studies of wild type SOX9 and mutations causing campomelic dysplasia. *J. Biol. Chem.* 1999, 274, 34, 24023-24030.
- Morrish B. C., Sinclair A. H.: Vertebrate sex determination: many means to an end. *Reproduction* 2002, 124, 4, 447-457.
- Ostter H.: Sex determination: lessons from families and embryos. *Clin. Genet.* 2001, 59, 4, 207-215.
- Raymond C. S., Parker E. D., Kettlewell J. R.: A region of human chromosome 9p required for testis development contains two genes related to known sexual regulators. *Hum. Mol. Genet.* 1999, 8, 6, 989-996.
- de Santa Barbara P., Mejean C., Moniot B., Malcles M.-H., Berta P., Boizet-Bonhoure B.: Steroidogenic factor-1 contributes to the cyclic-adenosine monophosphate down-regulation of human SRY gene expression. *Biol. Reprod.* 2001, 64, 3, 775-783.
- Shawlot W., Wakamiya M., Kwan K. M., Kania A.: LIM1 is required in both primitive streak-derived tissues and visceral endoderm for head formation in the mouse. *Develop.* 1999, 126, 22, 4925-4932.
- Sinclair A. H., Berta P., Palmer M. S., Hawkins J. R., Griffiths B. L., Smith M. J., Foster J. W., Frischauf A. M.: A gene from the human sex determining region encodes a protein with homology to a conserved DNA-binding motif. *Nature* 1990, 346, 240-244.
- Stark K., Väinö S., Vassileva G., McMahon A. P.: Epithelial transformation of metanephric mesenchyme in the developing kidney regulated by WNT4. *Nature* 1994, 372, 679-683.
- Tevosian S. G., Albrecht K. H., Crispino J. D.: Gonadal differentiation, sex determination and normal SRY expression in mice require direct interaction between transcription partners GATA4 and FOG2. *Develop.* 2002, 129, 19, 4627-4634.
- Tilmann C., Capel B.: Cellular and molecular pathways regulating mammalian sex determination. *Recent. Prog. Horm. Res.* 2002, 57, 1-18.
- Ukijama E., Jansco-Radek A., Li B., Milos L., Zhang W., Phillips N. B., Morikawa N., King C.-Y., Chang G., Hagg C. M., Radek J. T., Poulat F., Donahoe P. K., Weiss M. A.: SRY and architectural gene regulation: the kinetic stability of a bent protein-DNA complex can regulate its transcriptional potency. *Mol. Endocrinol.* 2001, 15, 363-377.
- Väinö S., Heikkilä M., Kispert A., Chin N., McMahon A. P.: Female development in mammals is regulated by WNT4 signalling. *Nature*, 1999, 379, 405-409.
- Veitia R. A., Salas-Cortes L., Ottolenghi Ch., Pailhoux E., Cotinot C., Fellous M.: Testis determination in mammals: more questions than answers. *Mol. Cell. Endocrinol.* 2001, 179, 1-2, 3-16.

Adres autora: dr hab. Iwona Szatkowska, ul. Miodowa 125/5, 71-497 Szczecin; e-mail: I.Szatkowska@biot.ar.szczecin.pl

## STAN ZAKAŻNYCH CHOROBY ZWIERZĄT W POLSCE,

według danych Głównego Inspektoratu Weterynarii w lipcu 2003 r.\*)

- Wścieklizna zwierząt domowych** – wystąpiła w 2 województwach: pomorskim (1-1) i wielkopolskim (1-1). Stwierdzono ją u 1 kota i 1 szt. bydła.
- Wścieklizna zwierząt dzikich** – wystąpiła w 3 województwach: lubelskim (4-5), warmińsko-mazurskim (3-5) i wielkopolskim (9-10). Zanotowano ją u 14 lisów, 3 jenotów, 2 borsuków i 1 kuny.
- Zgnilec amerykański pszczoł** – wystąpił w 5 województwach: dolnośląskim (5-2), małopolskim (1-1), mazowieckim (1-1), podlaskim (1-1) i warmińsko-mazurskim (1-1).

\* W nawiasach podano liczbę powiatów i miejscowości, w których choroba została stwierdzona w okresie sprawozdawczym.