

В.Г. Зенкина

ФОЛЛИКУЛОГЕНЕЗ И АПОПТОЗ В ЯИЧНИКАХ



Владивосток
Медицина ДВ
2019



Издательство «Медицина ДВ»
690950 г. Владивосток, пр-т Острякова, 4
Тел.: (423) 245-56-49. E-mail: medicinaDV@mail.ru

Министерство здравоохранения Российской Федерации
Тихоокеанский государственный медицинский университет

В.Г. Зенкина

ФОЛЛИКУЛОГЕНЕЗ И АПОПТОЗ В ЯИЧНИКАХ



Владивосток
Медицина ДВ
2019

УДК 611.651.15.013.16/17:616-091.818
ББК 28.864.12
3-563

*Издано по рекомендации редакционно-издательского совета
Тихоокеанского государственного медицинского университета*

Рецензенты:

Ю.В. Максимова – д. м. н., профессор,
заведующий кафедрой медицинской генетики и биологии
медико-профилактического факультета
Новосибирского государственного медицинского университета
Министерства здравоохранения Российской Федерации

Е.Ю. Животова – д. м. н., доцент,
заведующая кафедрой нормальной и топографической анатомии
с курсом оперативной хирургии
Дальневосточного государственного медицинского университета
Министерства здравоохранения Российской Федерации

Зенкина, В.Г.

3-563 Фолликулогенез и апоптоз в яичниках / В.Г. Зенкина. – Владивосток: «Медицина ДВ», 2019. – 172 с. : 15 илл.
ISBN 978-5-98301-176-2

В монографии представлены данные о морфологии и гистохимии генеративных элементов яичника, становления женской гонады в эмбриональном периоде и ее формирования в постнатальном онтогенезе.

Рассмотрены молекулярные механизмы фолликулогенеза и запрограммированной гибели клеток – апоптоза как самих половых клеток, так и их микроокружения, участие в данном процессе различных факторов и белков. Проанализированы структурные механизмы возникновения патологий репродуктивной системы, истощения овариального запаса, связанных с дефектами апоптоза. Обсуждаются вопросы участия газотрансмиттеров в гибели половых и соматических клеток яичников.

Книга представляет интерес для морфологов, физиологов и клиницистов, работающих в области репродуктивной биологии.

УДК 611.651.1
ББК 57.156

ISBN 978-5-98301-176-2

© Зенкина В.Г., 2019
© «Медицина ДВ», 2019

ВВЕДЕНИЕ

Проблема фолликулогенеза и расходования фолликулярного запаса в течение репродуктивной жизни женщины интересует исследователей многие десятилетия. Стабильность циклической деятельности женской половой системы (яичников, в первую очередь) обеспечивается сложным механизмом прямых и обратных связей с центральной нервной системой, периферическими эндокринными железами, органами иммуногенеза. Вместе с тем практически все регуляторные сигналы, воздействующие на гонады со стороны нейро-иммунно-эндокринной системы, реализуются в функциональные ответы яичников с участием многочисленного семейства интраовариальных паракринных и аутокринных модуляторов.

Подобный механизм интраорганный контроль центральной регуляции овариальных функций сложен и включает множество биологически активных веществ, синтезируемых соматическими и половыми клетками яичников. Эти вещества имеют свойства модуляторов и способны инициировать разные ответы в одних и тех же клетках-мишенях, потенцировать или ослаблять эффекты других (в том числе центральных) сигналов. Важен синтез в гонадах регуляторных соединений-дублеров, способных заменять действие друг друга.

Такая система регуляции может обеспечить наиболее высокие компенсаторные и адаптивные возможности яичника и восстановление (или частичную реабилитацию) его нарушенных функций даже в экстремальных условиях. Подробно изучить данную систему и ис-

пользовать ее уникальный механизм для профилактики и коррекции дисфункциональных состояний женской репродуктивной системы – одна из важнейших задач биологии репродукции и медицины.

Гибель клеток имеет большое значение в процессе эмбрионального развития, так как активно включается в формирование морфофункциональных систем организма. Апоптозу принадлежит ведущая роль в ремоделировании тканей в процессе эмбриогенеза, при котором клеток, как известно, образуется намного больше, чем требуется. Установлены ингибиторы и индукторы апоптоза. Однако кроме них, практически любые воздействия способны вызвать гибель клетки. Внутриклеточная передача и реализация сигнала представляют собой сложный процесс, и одни и те же сигналы в разных клетках и различные индукторы в одних и тех же клетках вызывают разные последствия [Варга, Рябков, 2006; Дубровина, 2006; Bauer, 2007; Зенкина и др., 2010, 2012; Matsuda et al., 2012].

Физиологическая гибель клеток происходит в тканях всего организма, в т.ч. и в органах женской репродуктивной системы, проявляясь, в частности, в процессах циклического отторжения эндометрия и атрезии фолликулов. Процесс фолликулогенеза идет непрерывно, он начинается в антенатальном периоде и заканчивается в постменопаузе. Основная масса фолликулов редуцируется путем атрезии, которая может начаться на любой стадии развития фолликула. Только очень небольшая часть фолликулов проходит полный цикл развития от примордиального до преовуляторного и участвует в процессе овуляции. Современные данные о роли апоптоза в функционировании яичников не только в норме, но и при развитии различного рода патологических процессов играют огромную роль в достижении глобальной цели: предотвращения и возможности профилактики целого ряда заболеваний репродуктивной системы [Зенкина и др., 2007, 2010, 2011, 2012, 2015; Боровая и др., 2010]. Осуществляются попытки регуляции апоптоза в фолликулах яичников с использованием различных ингибиторов. Однако в источниках литературы сведения немногочисленны, выполнены на разных видах животных и нередко носят противоречивый характер.

Овариальный резерв – показатель, отражающий величину фолликулярного пула яичников и качество содержащихся в них ооцитов, снижающийся с возрастом и определяющий состояние репродуктивной функции женщины. Это функциональный резерв яичников,

который определяет способность к развитию здорового фолликула с полноценной яйцеклеткой. Проблема преждевременного истощения овариального резерва, а также возможность возобновления запаса герминогенных клеток в постнатальном периоде является актуальной в настоящее время в связи с тем, что многие женщины откладывают рождение ребенка на поздний репродуктивный период и сталкиваются с ситуацией невозможности зачатия. Симптомы, связанные с менопаузой обусловлены изменениями в яичнике, из которых наиболее заметным является резкое сокращение числа фолликулов.

На клеточном уровне репродуктивное старение характеризуется снижением специфических функций ооцитов и зернистых клеток в связи с обобщенной клеточной дисфункцией, в том числе снижением активности митохондрий и недостаточности энергии, а также увеличением экспрессии генов и белков «клеточной гибели». Степени клеточного сокращения, которое происходит с возрастом, достаточно, чтобы увеличить восприимчивость фолликулов в яичниках, ооцитов и зернистых клеток к апоптозу, а именно – гранулезо-клеточному апоптозу, что вызывает дальнейшую фолликулярную атрезию [Волкова и др., 2006; Зенкина, 2011, 2014, 2016, 2018]. Таким образом, апоптоз – главная движущая сила потери фолликулов во время старения, вызывая связанное с возрастом снижение функции ооцитов и зернистых клеток.

В яичниках млекопитающих более 99% растущих фолликулов подвергаются атрезии во время фолликулярного роста и развития. Недавние исследования показали, что апоптоз и аутофагия участвуют в регуляции смерти клеток гранулезы во время фолликулярного развития и атрезии. Кроме того, многочисленные исследования утверждают, что аутофагия может быть вызвана различными стимулами, которые индуцируют апоптоз, в частности, окислительным стрессом, нехваткой факторов роста и избытком факторов смерти [Denton et al., 2015; Dubey, Sharma et al., 2016]. Изучение фолликулярной динамики набирает обороты в последние два десятилетия за счет использования современных методов, позволяющих определить факторы выживания половых клеток и формирования овариального резерва. Поскольку апоптоз – весьма регламентированный процесс, в котором клетки активируют сигнальные пути, приводящие к их гибели, то и понимание всех тонкостей и молекулярных механизмов на каждом этапе смерти может помочь поиску возможных регуляторов и предотвращению патологической гибели половых клеток.

ГЛАВА 1

ОРГАНИЗАЦИЯ И РАЗВИТИЕ ЯИЧНИКА

Репродуктивное здоровье женщины определяется в значительной мере становлением важнейшего органа половой системы – яичника и зависит от многих факторов. Закладка желточного мешка, миграция первичных половых клеток в гонады, формирование фолликулов и последующие этапы дифференцировки женских половых желез, в большей мере, происходят внутриутробно. В связи с этим, количество и свойства данных важнейших структур в репродуктивном периоде в значительной степени предопределяется тем, в каких условиях протекал эмбриональный органогенез.

Среди причин, вызывающих отклонения в половом развитии девушек-подростков, определенную роль играют изменения морфологии и функции яичников, являющиеся следствием происходящих в организме патологических процессов, в том числе и тех, которые имели место во внутриутробном периоде.

В настоящее время считается, что причины и важные этапы патогенеза таких заболеваний, как синдром поликистозных яичников, синдром истощения яичников и других, связанных со снижением репродуктивной функции, определяются нарушением развития половых желез девочки в пренатальном периоде [Sato et al., 2006; Айдагулова, 2007; Зенкина и др., 2007; Рыжавская, 2008; Киروشка и др., 2012]. Эти положения делают высоко значимыми данные, характеризующие состояние яичников на различных этапах онтогенеза.

Число примордиальных фолликулов – овариальный резерв – важ-

ный фактор, определяющий продолжительность жизни яичников, и, следовательно, репродуктивный период. Этот резерв содержит все ооциты потенциально доступные для оплодотворения в течение фертильного периода жизни. Максимальное число половых клеток устанавливается во время беременности или сразу после родов у большинства видов млекопитающих. В настоящее время нет данных, поддерживающих неофолликулогенез в постнатальном периоде, хотя эта точка зрения все чаще пересматривается. В физиологических условиях эта цифра будет зависеть от числа первичных половых клеток, первоначально определившихся в эпибласте развивающегося эмбриона, их пролиферации во время и после миграции в развивающиеся гонады и их гибели во время оогенеза и формирования примордиальных фолликулов. Смерть зародышевых клеток во время создания резерва яичников происходит, главным образом, путем аутофагии или апоптоза, хотя триггеры, которые инициируют этот процесс, остаются неуловимыми.

Последние эксперименты показывают, что зародышевые стволовые клетки не вносят новых ооцитов в резерв яичников у взрослых мышей при нормальных физиологических или патологических состояниях [Кирошка и др., 2012; Lei, Spradling, 2013; Zhang et al., 2014].

Тем не менее стволовые зародышевые клетки были выделены из постнатальных яичников нескольких видов, включая мышь, крысу, корову и человека, с последующим инкубированием и пролиферацией *in vitro* и имплантацией обратно в яичник. В результате определена способность данных клеток образовывать фолликулы и зрелые ооциты, а также, у грызунов, привели к живорождению [Tatone et al., 2008; Zou et al., 2009; White et al., 2012; Dunlop et al., 2014]. Физиологическая роль этих клеток, если таковые имеются, в настоящее время неизвестна.

Молекулярно-генетические механизмы развития яичников

Развитие женской гонады начинается на медиальной стороне первичной почки с образования гребневидных утолщений, называемых половыми валиками – будущие гонады. Составными элементами развивающихся яичников являются: 1) специальные клетки, дающие начало половым клеткам – оогониям; 2) производные целомиче-

ского эпителия – будущие эпителиальные элементы половых желез; 3) мезенхимная ткань – будущие соединительнотканнные и мышечные элементы.

Появление этих структур, их трансформация и взаимоотношения чрезвычайно сложны [Петренко, 2003; Tatone et al., 2008]. В последние годы механизмы данного процесса были значительно дополнены молекулярно-биологическими исследованиями [Боярский, 2004; Allegrucci et al., 2005; Tatone et al., 2008; Bowles, Koopman, 2010; Monget et al., 2012; Monniaux et al., 2016]. Из-за трудностей в изучении этих процессов в яичнике плода человека, существует сравнительно мало данных. В отличие от этого, есть полный набор данных для мыши, который мы будем использовать в качестве приемлемой модели, чередуя с человеческими данными, если таковые имеются.

В образовании уrogenитальных гребешков (предшественников гонад) важнейшую роль играет экспрессия генов *Wtl* (ген опухоли Вильямса) *Stl* (ген фактора стероидогенеза) (рис. 1) [Liu, 2016]. При отсутствии экспрессии этих генов формирования гонад не происходит на стадии уrogenитальных гребешков. Другим важнейшим процессом является дифференцировка гонад по женскому типу, зависящая от экспрессии гена *SRY* в фетальных клетках Сертоли примерно с 9-й недели развития, который расположен на Y-хромосоме. Женский фенотип возникает только при отсутствии экспрессии этого гена [Bowles, Koopman, 2010].

Однако существует мнение, что есть неизвестный ген *Z*, который служит антагонистом гена *SRY*, экспрессия его вызывает развитие гонад по женскому пути у лиц с генотипом XY. Повышенная экспрессия еще одного гена *Dax* определяет развитие мышинных эмбрионов с кариотипом XY по женскому типу, в то время как блокирование экспрессии гена *Wnt4* ведет к маскулинизации эмбрионов с генотипом XX [Bowles, Koopman, 2010; Liu, 2016]. Также было выяснено, что *Wnt4* необходим для поддержания деления линии женских первичных половых клеток и для супрессии дифференцировки предшественников клеток Лейдига [Bowles, Koopman, 2010].

При участии коннексина 43, отвечающего за образование щелевых межклеточных контактов, вышеописанные факторы несут ответственность за морфогенез женской гонады [Banerjee et al., 2014]. Коннексин регламентирует образование межклеточных контактов между клетками гранулезы и ооцитом, а также имеет место быть в процессах

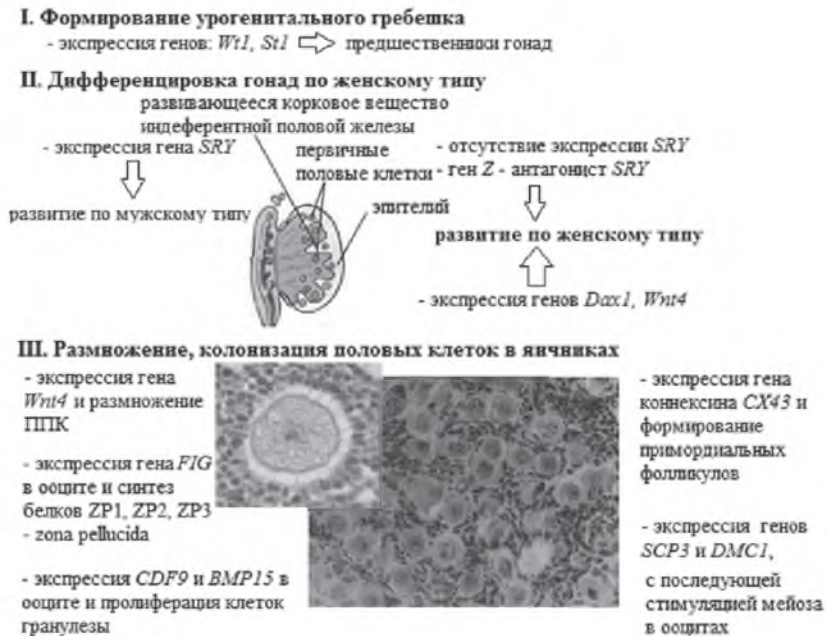


Рис. 1. Экспрессия различных генов, участвующих в формировании женской гонады, дифференцировке по женскому типу и образованию фолликулярного резерва.

атрезии фолликулов. Так, у мышей, мутантных по гену коннексина *CX43*, имеются серьезные нарушения в образовании примордиальных фолликулов [Yang et al., 2015; Liu, 2016]. После миграции и начала колонизации первичных половых клеток недифференцированных гонад развитие последних зависит от экспрессии факторов, специфичных для соматических клеток урогенитальных гребешков. К ним относятся факторы транскрипции *Lhx1* и *Lhx9*, *Wtl*, *Sfl*, *DAX-1*, *Star*. Экспрессия этих генов наблюдается в разные периоды формирования гонад и необходима для половой дифференцировки и синтеза стероидов [Tatone et al., 2008].

В агрегации клеток при колонизации урогенитальных гребешков играют важную роль *E-кадгерин* и *P-кадгерин*, которые экспрессируются в предшественниках клеток Сертоли (рис. 1) [Schlichting et al., 2006].