

## ДИСКУСІЇ

© Т. Ю. Вознесенська, О. А. Шепель, Т. В. Блашків

УДК 576. 8. 097. 5, 591. 465. 1, 615. 27

**Т. Ю. Вознесенська, О. А. Шепель, Т. В. Блашків**

## ОВАРІАЛЬНА ФУНКЦІЯ: РЕГУЛЯЦІЯ ЕКСПРЕСІЇ КЛЮЧОВИХ ГЕНІВ ВІДДІЛ ІМУНОЛОГІЇ І ЦИТОТОКСИЧНИХ СИРОВАТОК

Інститут фізіології ім. О. О. Богомольця НАН України (м. Київ)

Гонадотропіни забезпечують преантральний ріст фолікулів і визначають функціональні характеристики текальних клітин (через антральну, преовуляторну, овуляційну фази і фазу жовтого тіла). Досліджено та описано генні мутації [2], що впливають на синтез гонадотропінів і можуть викликати порушення оваріальної функції у людини. Підходи до з'ясування ролі окремих генів, що беруть участь в репродукції людини включають в себе використання методів: полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР – PCR), ПЛР в реальному часі (real-time PCR), флуоресценції при *in situ* гібридизації (FISH, fluorescence *in situ* hybridization), одно-нуклеотидні поліморфізми (SNP, single-nucleotide polymorphisms), масив SNP (array SNPs), порівняльна геномна гібридизація (CGH, comparative genomic hybridization), масив CGH (aCGH, array CGH), геномний аналіз зчеплення (genome-wide linkage analysis), дослідження генів-кандидатів (candidate gene-association studies), дослідження геномних асоціацій (GWAS, genome-wide association studies), а також використання трансгенних моделей тварин (transgenic animal models).

На даний час з літератури відома інформація про більш ніж 3100 генів експресованих в яєчнику. Тому актуальним стає аналіз даних літератури стосовно регуляції експресії ключових генів, які задіяні в оваріальній функції.

*Транскрипційні фактори SOHLH 1 і SOHLH 2 та протеїн LHX8.* На сьогодні як основні, представлені два транскрипційні фактори: SOHLH 1 і SOHLH 2 [11], а також протеїн LHX8 [6]. Вони експресуються в ембріональних і у новонароджених яєчниках. Показано, що нокаутні тварини втрачають первинні фолікули і далі стають стерильними. Вважають, що SOHLH 1 і SOHLH 2 є регуляторами інших транскрипційних факторів [11].

*Ген, що кодує NOBOX (newborn ovary homeobox – гомеобокс яєчника новонародженого).* Показано, що розвиток премордальних фолікулів до первинних кодує гомеобокс (homeobox-encoding gene), що включає новонароджений яєчниковий гомеобокс (newborn ovary homeobox) [1].

*Транскрипційний фактор FIGLA та протеїн OCT4.* Транскрипційний фактор зародкової лінії альфа (FIGLA, factor in the germline alpha) ідентифікований в 1997 [3] бере участь у формуванні первинного фолікула. Цей транскрипційний фактор має важливе значення для репродукції, так як нокаутні по FIGLA миші є безплідними. Також було встановлено відсутність протеїна OCT4 (primordial germ cell survival protein), який необхідний для виживання первинних зародкових клітин, у яєчниках мишей нокаутних по FIGLA [8, 10].

*Ростові фактори (GDF9 і BMP15) і гени прозорості зони (ZP1, ZP2, ZP3).* GDF9 і BMP15 входять до складу  $\beta$  родини трансформуючих факторів росту, яка є однією з найбільших у ссавців. Вони регулюють численні фізіологічні процеси та впливають на процес розвитку [5]. Показано, що при порушенні експресії SOHLH 1, пригнічується експресія FIGLA і NOBOX генів, а їх цілі це ZP1, ZP2, ZP3 і OCT4 [9]. Експресія ростового фактора GDF9 та протеїну LHX8 пригнічується NOBOX [1, 6]. Є дані, що FIGLA також бере участь у регуляції генів прозорості зони (ZP). Аналіз яєчників у новонароджених виявив багато ооцитарних генів, експресія яких знижена у нокаутних мишей по FIGLA [3]. GDF9, експресований ооцитами, є важливим для проліферації і диференціювання гранулярних клітин в період переходу від одно- до двох-шарового фолікулярного епітелію [5]. Вважають, що першочергова роль GDF9 в цьому переході залежить від пригнічення інгібіну- $\alpha$  і стимуляції при формуванні стероїдопродукуючої функціональної теки [5, 7].

*«Проти заплідний» ген, GPR149.* Рецептор G-білка 149 (GPR149) названий як «проти заплідний» ген, експресований в яєчниках і ооцитах. Виявлені гени були згруповані по онтології як G протеїн рецептори, три з яких були визначені як потенційно важливі: GPR3, GPR149 і GPR175 [2]. Унікальні особливості рецептора GPR149 включають довгий карбокси-кінцевий хвіст з 360 амінокислот. Філогенетичний аналіз GPR149 припускає, що такий ген широко представлений у хребетних [2]. Показано, що миші нокаутні по GPR149 виявляються життєздатними і

## ДИСКУСІЇ

плодовитими [2]. Такі самки є підвищено фертильні. Вважають, що підвищена плодовитість/народжуваність є наслідком нижчої атрезії фолікулів і більшої кількості антральних фолікулів. Важливо відзначити, що кількість антральних фолікулів не була зниженою, що свідчить про те, що яєчники не піддаються передчасному старінню [2]. Також показано, що у GPR149 нокаутних самок збільшена експресія гена рецептора фолікул-стимулюючого гормону (FSHR) і GDF9. Підвищені рівні FSHR збільшують рівні цикліну

D2 в гранулярних клітинах і стимулюють проліферацію клітин [2]. Якщо виявиться, що GPR149 мають аналогічні функції в організмі людини, то антагоністи GPR149 можуть бути задіяні при лікуванні безпліддя [4, 12].

Таким чином, можна припускати, що в основі регуляції експресії ключових генів яєчника є SOHLH 1 та SOHLH 2. На сьогодні також широко досліджуються ключові транскрипційні фактори ооцита – GDF9, OCT4 і ZP1-3.

## Література

1. A reporter promoter assay confirmed the role of a distal promoter NOBOX binding element in enhancing expression of GDF9 gene in buffalo oocytes / B. Roy, S. Rajput, S. Raghav [et al.] // *Anim. Reprod. Sci.* – 2012. – Vol. 135(1-4). – P. 18-24.
2. Edson M. The mammalian ovary from genesis to revelation / M. Edson, A. Nagaraja, M. Matzuk // *Endocr. Rev.* – 2009. – Vol. 30. – P. 624-712.
3. FIGLA, a basic helix-loop-helix transcription factor, balances sexually dimorphic gene expression in postnatal oocytes / W. Hu, L. Gauthier, B. Baibakov [et al.] // *Mol. Cell. Biol.* – 2010. – Vol. 30(14). – P. 3661-3671.
4. Granulosa cell-expressed BMPR1A and BMPR1B have unique functions in regulating fertility but act redundantly to suppress ovarian tumor development / M. Edson, R. Nalam, C. Clementi [et al.] // *Mol. Endocrinol.* – 2010. – Vol. 24(6). – P. 1251-1266.
5. Growth differentiation factor 9: bone morphogenetic protein 15 heterodimers are potent regulators of ovarian functions / J. Peng, Q. Li, K. Wigglesworth [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2013. – Vol. 110(8). – P. 776-785.
6. Lim homeobox gene, *lhx8*, is essential for mouse oocyte differentiation and survival / Y. Choi, D. Ballow, Y. Xin, A. Rajkovic // *Biol. Reprod.* – 2008. – Vol. 79. – P. 442-449.
7. Mottershead D. Signalling pathways mediating specific synergistic interactions between GDF9 and BMP15 / D. Mottershead, L. Ritter, R. Gilchrist // *Mol. Hum. Reprod.* – 2012. – Vol. 18(3). – P. 121-128.
8. Oct4 is required for primordial germ cell survival / J. Kehler, E. Tolkunova, B. Koschorz [et al.] // *EMBO. Rep.* – 2004. – Vol. 5(11). – P. 1078-1083.
9. Oogenesis requires germ cell-specific transcriptional regulators *Sohlh1* and *Lhx8* / S. Pangas, Y. Choi, D. Ballow [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2006. – Vol. 103. – P. 8090-8095.
10. Ovarian gene expression in the absence of FIGLA, an oocyte-specific transcription factor / S. Joshi, H. Davies, L. Sims [et al.] // *BMC. Dev. Biol.* – 2007. – Vol. 7. – P. 67-72.
11. *Sohlh2* affects differentiation of KIT positive oocytes and spermatogonia / S. Toyoda, T. Miyazaki, S. Miyazaki [et al.] // *Dev. Biol.* – 2009. – Vol. 325. – P. 238-248.
12. Transforming growth factor  $\beta$  receptor type 1 is essential for female reproductive tract integrity and function / Q. Li, J. Agno, M. Edson [et al.] // *PLoS. Genet.* – 2011. – Vol. 7(10). – P. 2320-23-27.

УДК 576. 8. 097. 5, 591. 465. 1, 615. 27

### ОВАРІАЛЬНА ФУНКЦІЯ: РЕГУЛЯЦІЯ ЕКСПРЕСІЇ КЛЮЧОВИХ ГЕНІВ

Вознесенська Т. Ю., Шепель О. А., Блашків Т. В.

**Резюме.** За даними літератури є інформація про більш ніж 3100 генів експресованих в яєчнику. Тому за недавнього стрімкого розширення наявних знань і розробок у цій галузі, актуальним стає аналіз даних літератури стосовно регуляції експресії ключових генів в яєчнику.

**Ключові слова:** оваріальна функція, експресія генів.

УДК 576. 8. 097. 5, 591. 465. 1, 615. 27

### ОВАРИАЛЬНАЯ ФУНКЦИЯ: РЕГУЛЯЦИЯ ЭКСПРЕССИИ КЛЮЧЕВЫХ ГЕНОВ

Вознесенская Т. Ю., Шепель Е. А., Блашків Т. В.

**Резюме.** В настоящее время по данным литературы в яичнике экспрессируется более чем 3100 генов. В связи со стремительным расширением разработок в этой области, актуальным становится анализ данных литературы относительно регуляции экспрессии ключевых генов в яичнике.

**Ключевые слова:** овариальная функция, экспрессия генов.

UDC 576. 8. 097. 5, 591. 465. 1, 615. 27

### Ovarian Function: Regulation of the Expression of Key Genes

Voznesenskaya T., Shepel E., Blashkiv T.

**Abstract.** Currently online database contains information on more than 3,100 genes expressed in the ovary. Therefore, the recent rapid expansion of existing knowledge and developments in this area becomes an analysis of literature data about key genes expressed in the ovary.

Today presented as key transcription factors: SOHLH 1 and SOHLH 2 (spermatogenesis, oogenesis-helix-loop-helix) (SOHLH 1) and (SOHLH 2) and LHX8 (Lim-homeobox protein 8). They are expressed in embryonic and neonatal ovaries and knockout models lose their primary follicles and are sterile. Premordial follicle development

## ДИСКУСІЇ

---

---

codes homeobox (homeobox-encoding gene), including newborn ovarian homeobox (NOBOX newborn ovary homeobox)). Transcriptional helix-loop-helix (HLH) factor in the germline alpha (FIGLA, factor in the germline alpha), involved in the formation of primary follicles is essential for reproduction, as FIGLA-knockout mice are infertile. Protein OCT4 (primordial germ cell survival protein) is essential for the survival of primary germ cells in the FIGLA mice ovaries. GDF9 and BMP15 (bone morphogenetic protein 15), are part of  $\beta$  transforming growth factors family, which is one of the largest families of growth factors in mammals that function in numerous physiological processes and development.

It is shown that the SOHLH 1 violation inhibits FIGLA and NOBOX gene expressions and their targets: ZP1, ZP2, ZP3 and OCT4, growth factor 9 (GDF9, growth differentiation factor) and LHX8 and increases gene expression stimulated by retinoic acid 8 (STRA8, retinoic acid gene 8), directly or indirectly suppressed NOBOX and LHX8. Oocyte GDF9 is essential for proliferation and differentiation of granular cells during the transition from one- to two-layer of follicular epithelium. G-protein receptor 149 (GPR149) named as "contraceptive" gene expressed in the ovaries and oocytes. Discovered by searching online databases of gene expression patterns similar to GDF9. GPR149-deficient females are increased fertile (large size, high frequency and long in oestrus). In GPR149-knockout mice females increased gene expression of the receptor follicle-stimulating hormone (FSHR) and GDF9.

Currently, the regulation of the ovary key genes expression can be described as follows: a set SOHLH 1/SOHLH 2 – regulator of other transcription factors, today is the key transcriptional targets of oocyte (GDF9, OCT4 and ZP1-3).

**Key words:** ovarian function, ovarian expression of genes.

*Рецензент – проф. Олійник С. А.*

*Стаття надійшла 5. 12. 2013 р.*