

Н.В. Макогон, Т.М. Бризгіна, Т.Ю. Вознесенська, Н.Г. Грушка, В.С. Сухіна, І.М. Алексєєва

Протективна дія модуляторів клітинної загибелі на оогенез при імунному ушкодженні яєчників у мишей

Інститут фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України, відділ імунології і цитотоксичних сироваток, м. Київ

Ключевые слова: апоптоз • некроз • мейотичне дозрівання

Загибель фолікулярних клітин відіграє важливу роль у функціонуванні яєчника, зокрема при атрезії фолікулів. Однак значні зміни клітинної загибелі, як її надмірне посилення, так і зменшення, можуть призводити до порушення оогенезу. Шлях клітинної загибелі (апоптоз чи некроз) впливає на розвиток запальних процесів в яєчнику. В наших попередніх дослідженнях було показано, що імунне ушкодження яєчників мишей призводило до порушення оогенезу і супроводжувалося посиленням апоптозу і некрозу фолікулярних клітин. Представляє інтерес вивчити можливу протективну дію на ушкодженні яєчників засобів, які здатні впливати на інтенсивність загибелі клітин яєчника, призводячи її до фізіологічно необхідного рівня, а також спрямовувати шлях загибелі в бік апоптозу, який не посилює запалення. В даній роботі використовували наступні речовини: 1) мелатонін, який зменшує загибель клітин за рахунок прямого інгібування утворення мітохондріальних пор, а також має антиоксидантні властивості; 2) донор оксиду азоту (NO) молсидомін, оскільки за конкретних умов патології NO може посилювати або пригнічувати клітинну загибель; 3) інгібітор синтезу фактора некрозу пухлин (ФНП- α) талідомід, оскільки показана роль ФНП- α – опосередкованої загибелі клітин яєчника і імунокомпетентних клітин як в фізіологічних, так і патологічних умовах. Ці речовини здатні за різними механізмами впливати на клітинну загибель, що було показано на деяких типах клітин [Guha M. et al, 2007; Kim Y. et al, 2000; Lu K. et al, 2003], але їх вплив на фолікулярні клітини при імунному ушкодженні яєчника не було вивчено.

Мета дослідження – вивчити дію вищезазначених модуляторів клітинної загибелі на апоптоз та некроз фолікулярних клітин та встановити можливі протективні властивості цих засобів на оогенез за умов його імунного ушкодження.

Матеріали і методи. Відтворювали 2 моделі імунного ушкодження яєчника мишей: 1) антитільного генезу за допомогою трьохкратного щоденного введення ксеногенних антиваріальних антитіл; 2) клітинно-антитільного генезу за допомогою імунізації мишей антигеном алогенного яєчника чотирикратно протягом 21 доби. Мелатонін (5 мг/кг), молсидомін (10 мг/кг) або талідомід (100 мг/кг) вводили трикратно щоденно (модель 1) або семикратно через 2 доби на третю (модель 2). Оогенез оцінювали за мейотичним дозріванням ооцитів в складі кумулюсно-ооцитарних комплексів *in vitro*. Визначали відсоток ооцитів в метафазі I (розчинення зародкового пухирця) і в метафазі II (формування полярного тільця).

Загибель фолікулярних клітин з визначенням відсотка апоптотичних і некротичних клітин вивчали за допомогою прижиттєвого подвійного забарвлення барвниками Хехст 33342 та пропідіум йодид. Статистичну обробку результатів проведено за допомогою ANOVA з наступним порівнянням різних груп за LSD- критерієм Фішера.

Результати та їх обговорення. Експериментальне імунне ушкодження яєчників у мишей, викликане як введенням антиваріальних антитіл, так і імунізацією антигеном алогенного яєчника, проявлялось в порушенні мейотичного дозрівання ооцитів на стадіях метафазі I і II та збільшенні кількості ооцитів з атипичною морфологією. Встановлено посилення апоптозу фолікулярних клітин. За умов імунізації спостерігалось також посилення некротичної загибелі зазначених клітин, що супроводжувалося розвитком запальних процесів. Ми показали, що мелатонін зменшував апоптоз фолікулярних клітин за умов дії антиваріальних антитіл, однак не впливав на клітинну загибель за умов імунізації. На відміну від мелатоніну, донор NO молсидомін і інгібітор утворення ФНП- α талідомід призводили до зменшення апоптотичної загибелі фолікулярних клітин за умов ушкодження яєчників при імунізації. Крім того, при дії молсидоміну і талідоміду було встановлено зменшення некротичної загибелі фолікулярних клітин, посиленої при імунізації, що супроводжувалося послабленням запальних процесів. Таким чином застосовані речовини були здатні модулювати клітинну загибель за умов імунного ушкодження яєчника. Дослідження впливу зазначених засобів на функціональний стан яєчників показало, що мелатонін проявляв протективну дію на відновлення мейозу при введенні антитіл, однак не впливав на цей показник при ушкодженні яєчників імунізацією. В той же час молсидомін і талідомід зменшували ушкодження яєчника за показниками відновлення мейозу і за умов імунізації. Таким чином, в даному дослідженні встановлено паралелізм впливу застосованих чинників на оогенез і клітинну загибель фолікулярних клітин, як за апоптотичним, так і за некротичним шляхами.

Висновок. Засоби, що здатні зменшувати апоптотичну і некротичну загибель фолікулярних клітин, незалежно від конкретного механізму їх дії, спричиняють протективний ефект на оогенез за умов експериментального імунного ушкодження яєчника у мишей, що може бути підґрунтям для розробки терапевтичних заходів при даній патології.

Робота виконана за підтримки програми НАН України "Новітні медико-біологічні проблеми та оточуюче середовище людини".