

## Молекулярные механизмы оогенеза

Зенкина В.Г.<sup>1</sup>, Солодкова О.А.<sup>1</sup>, Божко Г.Г.<sup>1</sup>, Агибалова А.А.<sup>1</sup>, Зенкин И.С.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Тихоокеанский государственный медицинский университет (ТГМУ)  
Россия, 690950, г. Владивосток, пр. Острякова, 2

<sup>2</sup> Дальневосточный федеральный университет (ДФУ)  
Россия, 690922, г. Владивосток, о. Русский, пос. Аякс, 10

### РЕЗЮМЕ

Обзор литературы посвящен молекулярным механизмам оогенеза и истощения овариального резерва. Одним из аспектов данного процесса является постоянно изменяющаяся среда яичников, как во время внутриутробной закладки, так и постнатальном периоде. Описаны многочисленные механизмы и факторы, влияющие на внутреннюю среду женской гонады, такие как SCF, регулирующий миграцию первичных половых клеток и выживание ранних ооцитов; инсулиноподобный фактор роста I и фактор ингибирования лейкоцитов. Показана возможность эндокринной системы, а именно половых стероидов, которые способны как пополнять количество половых клеток, так и истощать овариальный запас через экспрессию апоптозных маркеров. Апоптоз вызывает дегенерацию большей части образующихся в процессе оогенеза половых клеток. Молекулярные механизмы, факторы, участвующие в данном процессе, многочисленны.

Описаны собственные, опосредованные митохондриями половых клеток и внешние, опосредованные рецепторами клеточной поверхности пути. Установлен посредник между двумя апоптозными путями – белок Bid, активация которого запускает механизм клеточной смерти внутрифолликулярного микроокружения. Определены и некоторые другие факторы, опосредующие запрограммированную гибель половых клеток и, как следствие, приводящие к сокращению овариального резерва: фактор элонгации киназа-2, гены *PUMA* и *NOXA*, отсутствие факторов роста и членов факторов некроза опухоли. Изменения в эпигенетической модификации хроматина в клетках гранулезы и половых клетках, окислительный стресс, снижение репаративной способности ДНК и связанное с этим процессом участие генов репарации *BRAC1*, *RAD51*, *ERCC2* и *H2AX* также могут повлиять на репродуктивное здоровье и фолликулярный запас. Особо следует отметить значительную роль в истощении запаса половых клеток митохондриальной дисфункции клеток гранулезы, что приводит к нарушению компетентности ооцитов, ухудшает качество гамет и истощает овариальный резерв. Следовательно, оогенез зависит от огромного количества факторов и внутренней среды яичников, владение которыми способно сохранить стабильность репродуктивной функции и качество овариального резерва.

**Ключевые слова:** оогенез, молекулярно-генетические механизмы, фолликулогенез, апоптоз, овариальный резерв.

**Конфликт интересов.** Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

**Источник финансирования.** Авторы заявляют об отсутствии финансирования при проведении исследования.

**Для цитирования:** Зенкина В.Г., Солодкова О.А., Божко Г.Г., Агибалова А.А., Зенкин И.С. Молекулярные механизмы оогенеза. *Бюллетень сибирской медицины*. 2021; 20 (2): 139–147. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2021-2-139-147>.

## Molecular mechanisms of oogenesis

Zenkina V.G.<sup>1</sup>, Solodkova O.A.<sup>1</sup>, Bozhko G.G.<sup>1</sup>, Agibalova A.A.<sup>1</sup>, Zenkin I.S.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Pacific State Medical University

2, Ostryakova Av., Vladivostok, 690950, Russian Federation

<sup>2</sup> Far Eastern Federal University

10, Ayaks, Russky Island, Vladivostok, 690922, Russian Federation

### ABSTRACT

This literature review is devoted to the molecular mechanisms of oogenesis and depletion of the ovarian reserve. One of the factors in this process is constantly changing environment of the ovaries, both during intrauterine development and the postnatal period. Numerous mechanisms and factors affecting the internal environment of the female gonad are described, such as stem cell factor (SCF), which regulates migration of primordial germ cells and survival of early oocytes, insulin-like growth factor I (IGF-I), and leukocyte migration inhibitory factor (LMIF). The capabilities of the endocrine system, namely sex steroids, which can both replenish the number of germ cells and deplete the ovarian reserve through the expression of apoptotic markers, were shown. Apoptosis causes degeneration of most of the germ cells formed during oogenesis. The molecular mechanisms and factors involved in this process are numerous.

Pathways mediated by mitochondria of germ cells and external pathways mediated by receptors of the cell surface were described. A mediator between two apoptotic pathways was established – the Bid protein (BH3-interacting domain death agonist), the activation of which triggers the apoptosis mechanism of the intrafollicular microenvironment. Some other factors were identified that mediate programmed germ cell death and result in diminished ovarian reserve: eukaryotic elongation factor 2 kinase (eEF-2 K), *PUMA* and *NOXA* genes, the absence of growth factors and members of tumor necrosis factor (TNF) family. Changes in the epigenetic modification of chromatin in the follicular and germ cells, oxidative stress, decreased DNA repair, and the involvement of the genes *BRAC1*, *RAD51*, *ERCC2*, and *H2AX* associated with this process can also affect reproductive health and the ovarian reserve. A significant role of mitochondrial dysfunction of follicular cells in depletion of the ovarian reserve is of great interest, which leads to impaired oocyte competence, deteriorates the gamete quality, and depletes the ovarian reserve. Therefore, oogenesis depends on a huge number of factors and the internal environment of the ovaries, the knowledge of which can maintain the stability of the reproductive function and preserve the quality of the ovarian reserve.

**Key words:** oogenesis, molecular genetic mechanisms, folliculogenesis, apoptosis, ovarian reserve.

**Conflict of interest.** The authors declare the absence of obvious or potential conflict of interest related to the publication of this article.

**Source of financing.** The authors state that they received no funding for the study.

**For citation:** Zenkina V.G., Solodkova O.A., Bozhko G.G., Agibalova A.A., Zenkin I.S. Molecular mechanisms of oogenesis. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2021; 20 (2): 139–147. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2021-2-139-147>.

## ВВЕДЕНИЕ

Соотношение между размером фолликулярного резерва яичников и репродуктивной продолжительностью жизни женщины подчеркивает важность понимания регуляторных факторов и процессов, которые определяют его создание [1–4]. Исследования, проведенные на мышах, подробно описывают, некоторые на молекулярном уровне, процессы, участвующие в определении числа оогоний и ооцитов, в то время как наше знание этих процессов в организме человека требует гораздо большего изучения [3, 5].

Особо следует отметить степень изменения числа половых клеток на каждом из этапов, ведущих к созданию резерва яичников. Тем не менее у нас прак-

тически нет понимания причин динамики фолликулогенеза и гибели половых клеток, которые могут быть связаны с характером или сроками триггеров для каждого из этапов оогенеза. Мы не понимаем, почему так много ооцитов образуются, а затем утрачиваются из пререпродуктивной стадии резерва яичников. Например, у женщин лишь 1 из 1 тыс. примордиальных фолликулов при рождении будет созреть до овуляции и производить эстрадиол и прогестерон, необходимый для фертильности во время репродуктивного периода жизни [6].

Представляется, что фетальные ооциты млекопитающих сталкиваются с целым рядом проблем, чтобы выжить на протяжении всех этапов оогенеза, особенно в профазе I мейоза до стадии диплономы

и первоначальной сборки фолликула [7]. В зависимости от периода развития и экспериментальных условий эти ооциты могут подвергаться различным формам запрограммированной клеточной гибели. Мы предполагаем, что они требуют постоянной поддержки факторов роста для выполнения мероприятий, необходимых для преодоления апоптотической гибели во время профазы I. Перед образованием примордиальных фолликулов уменьшение количества питательных веществ или факторов роста может активировать защитную аутофагию, но если голодание затягивается, это может закончиться гибелью.

На самом деле выяснение отношений между сигнальными факторами роста (в основном каспазным каскадом), апоптотических и аутофагических белков, которые, вероятно, сосуществуют в фетальных ооцитах, может быть ключом к пониманию причин гибели этих клеток. Однако недавний прогресс в молекулярных маркерах для профазы первого деления мейоза, а также для ооцитов и стволовых клеток очень помог в идентификации и классификации развивающихся гамет [1, 2, 7]. Подобный прогресс в апоптотических маркерах и многих других путях, имеющих отношение к клеточным функциям яичников, в настоящее время оставляет нас в ожидании существенного и быстрого прогресса в понимании оогенеза. Однако важно понять, как накапливаются отдельные сигналы о локальной клеточной смерти, приводящие к изменению репродуктивной функции на уровне всего организма.

## **МЕХАНИЗМЫ, ВЛИЯЮЩИЕ НА ВЫЖИВАНИЕ ООЦИТОВ: ИЗМЕНЯЮЩАЯСЯ СРЕДА ЯИЧНИКОВ**

До настоящего времени неясно, в какой степени баланс индивидуальных решений ооцита продолжать развитие или инициировать клеточную смерть может относиться к локальным эффектам развивающегося соматического клеточного кластера яичников при выживаемости ооцитов (например, эндокринной среде, межклеточной передаче сигналов, внеклеточному матриксу) или к присущим свойствам ооцитов в мейотических преобразованиях (например, ошибки в синапсисе, которые могут задерживать мейотическое прогрессирование или вызывать остановку).

*Паракринные факторы выживания ооцитов.* Ряд паракринных факторов, идентифицированных в яичнике плода человека, может влиять на выживание ооцитов на той или иной стадии [8–10]. Для некоторых паракринных факторов достигнут прогресс в идентификации типа исходных клеток и мест расположения рецепторов. Однако местная среда яич-

ников является сложной и постоянно меняется как в период внутриутробного развития, так и в последующем.

Существует ряд так называемых факторов выживания, без которых погибают клетки зародышевой линии, например фактор стволовых клеток SCF (также известный как kit-лиганд), что является существенным во время миграции первичных половых клеток и для выживания ранних ооцитов [11]. Kit-лиганд был отмечен многочисленными исследованиями в качестве критического регулятора активации первичных фолликулов. Связываясь со своим рецептором, он подает сигналы по нескольким путям, включая активацию ооцитарной фосфотидилинозитол-3-киназы PI3K, которые особенно важны для развития яичников, восстанавливая межкомпарментную связь и уменьшая скорость фолликулярной атрезии.

SCF, а также инсулиноподобный фактор роста I (IGF-1) и фактор ингибирования лейкоцитов поддерживают выживаемость постмигрирующих клеток зародышевой линии. На них накладываются про- и антиапоптотические механизмы и другие пути клеточной смерти, которые функционируют на определенных стадиях [8]. Так, например, у мышей отсутствие сигнализаций комплекса факторов активирует путь смерти Fas в префолликулярных ооцитах [12], а фактор некроза опухоли альфа способствует апоптозу во время образования фолликулов [13, 14].

*Эндокринные факторы выживания ооцитов.* Внутри яйценосных шаров межооцитарная коммуникация опосредуется через цитоплазматические мостики, но после распада данного образования межфолликулярная коммуникация может продолжаться, например, через молекулы, вырабатываемые клетками гранулезы [14]. Развивающийся яичник также находится под влиянием зарождающейся эмбриональной эндокринной системы, а транскрипты некоторых стероидогенных ферментов присутствуют в яичнике, по крайней мере, через 15 нед гестации, тогда как способность метаболизировать андрогены в эстрогены присутствует только в сроке около 12 нед гестации. Эстрогены и прогестерон ингибируют фолликулярную сборку у крыс, возможно, посредством ингибирования апоптоза в ооцитах [15, 16].

Однако прогестерон может быть, по меньшей мере, частично эндокринным, а не местным, поскольку при удалении яичников из окружающей среды *in vivo* был отмечен ускоренный переход от примордиальных к первичным фолликулам при отсутствии прогестерона [14, 17]. Возможные экстрагонадные источники таких стероидов были идентифицированы в эмбриональных тканях человека.

Эксперименты, в которых яичники конкретного генотипа трансплантируются в тяжелых комбинированных иммунодефицитных мышцах, могут быть применены для демонстрации необходимости местного действия гена, так что, например, локальное присутствие гена *Fas* в яичнике необходимо для нормальной элиминации ооцитов в трансплантированных яичниках [9, 15].

*Внутриооцитарные факторы и межклеточные взаимодействия.* На фоне этой сложной локальной среды внутренние факторы ооцита также могут влиять на перспективы выживания. Некоторые исследователи отметили увеличение частоты аномального синапсиса у генетически аномальных плодов, как и ожидалось, а также ассоциировали некоторые хромосомные аномалии с увеличением апоптоза. Однако при исследовании отдельных ооцитов мыши в профазе первого деления мейоза обнаружили только незначительную связь между апоптозными молекулярными маркерами и нормальным или аномальным появлением SCF у мышей [7, 18, 19]. В отличие от относительного отсутствия ассоциации между апоптозными маркерами и мейотическими аномалиями в отдельных ооцитах, отмечали значительные различия в поведении образцов тканей яичников *in vitro* в соответствии с гестационным возрастом [20]. Следовательно, это может повлиять на среду, которая окружает ооциты, входящие в мейоз в разные сроки беременности.

Обнаружено, что культуры овариальных фрагментов от плодов на 14-й нед гестации были склонны к экспансии *in vitro*. Клетки удалялись от исходного фрагмента и в конечном итоге покрывали большую часть мембраны кластерами и агрегатами. Окрасивание на щелочную фосфатазу показало, что зародышевые клетки были в основном сконцентрированы в исходном фрагменте ткани и в кластерах, которые образовались в результате размножения. Любопытная способность ооцитов мигрировать во время внутриутробного развития даже во время первой профазы мейоза уже была отмечена ранее [18].

Например, X. Wu и соавт. (2017) использовали методы культивирования органов, применяемые для взрослых тканей. Они наблюдали выживание и рост фолликулов *in vitro* из ткани 16–22-й и 22–23-й нед гестации соответственно и подтвердили мейотическую инициацию и прогрессию [19]. Оптимизация культуральных методов для плодных яичников станет ценным инструментом для изучения гормонального и паракринного влияний на ключевые аспекты развития яичников человека. Механизм движения клеток зародышевой линии в настоящее время изучается. Эта способность значительно повысилась

благодаря включению факторов роста в культуральную среду (SCF 10 нг/мл и ИФР 15 нг/мл).

Напротив, яичниковая ткань на 15-й нед гестации значительно увеличивалась *in vitro*, и стимулирующий эффект факторов роста уже не был значительным. Также отмечено, что более поздние гестационные возрасты (до 23 нед), культивируемые в сходных условиях, имеют тенденцию округляться *in vitro* и формировать плотный поверхностный эпителий [21].

Хорошо известно, что мышечные первичные половые клетки могут быть успешно культивированы и их число увеличивается в культурах, дополненных факторами роста, включая фактор стволовых клеток SCF [22]. Также известно, что *c-kit* присутствует на человеческих оогониях и ооцитах с 14–21-й нед гестации и распределение *c-kit* (SCF) в человеческой зародышевой линии изменяется в зависимости от статуса [23].

Например, S. Gkoutela и соавт. (2013), используя иммуногистохимию, обнаружили, что первичные половые клетки и оогонии экспрессируют положительно *c-kit*, тогда как свободные ооциты или те, которые заключены в примордиальные фолликулы, окрашиваются слабо или вовсе не экспрессируют данные факторы. *C-kit* снова обнаруживается на поверхности ооцитов в растущих фолликулах [23, 24]. Мы знаем, что клетки-предшественники остаются в плодных яичниках и намного позже 15 нед, поэтому, возможно, они размножаются меньше или подвергаются апоптозу на более поздних стадиях.

*Мейоз как фактор выживания.* Оценить прогрессию мейотических преобразований ооцитов в культивируемых условиях авторы предложили также с использованием факторов роста, таких как SCF. Число ооцитов заметно снизилось в течение первой недели культивирования, вероятно, из-за резкого изменения окружающей среды [24]. После этого оогенез восстанавливался с увеличением числа ооцитов на стадиях лептономы и зигонемы, прогрессируя в течение следующей недели культивирования. Восстановление было более выраженным через 14 нед, чем через 15, и было очевидно с добавлением или без добавления фактора роста до второй недели *in vitro* [16, 21]. После этого культуры с факторами роста с большей вероятностью сохраняли восстановление. Пока неясно, поддерживают ли факторы роста клетки-предшественники, непосредственно ооциты или оказывают косвенное влияние через соматическую среду.

Таким образом, помимо экспрессии многочисленных генов и образования факторов роста, описанных нами в предыдущих работах [2, 3], оогенез зависит и от постоянно меняющейся среды яичников, а именно эндокринных и паракринных факторов,

межоцитарной коммуникации, мейотических преобразований и возможных аномалий деления половых клеток. Дальнейшее исследование потребует применения специфических маркеров для дифференцирования ооцитов и клеток-предшественников на разных стадиях и использования образцов тканей из более широкого диапазона гестационного возраста.

## ИСТОЩЕНИЕ ЗАПАСА ПОЛОВЫХ КЛЕТОК

Апоптоз вызывает элиминацию более 99% половых клеток из когорты яичника через фолликулярную атрезию [2, 25, 26]. Менее 1% зародышевых клеток, которые в результате культивирования ооцитов далее подвергаются апоптозу в течение последних фаз оогенеза и истощают овариальный резерв у большинства видов млекопитающих, включая человека. Максимальное количество половых клеток у мышей определено в момент вступления первичных ооцитов в профазу мейоза (рис.). После этого до двух третей половых клеток гибнет, и к моменту рождения устанавливается тот овариальный резерв, который и остается на последующую жизнь [3, 27, 28]. Пик численности гамет в яичнике человека происходит к 20-й нед беременности, после чего их число резко снижается. Аналогичный процесс наблюдается у

мышей. Степень потери половых клеток в течение этого времени (около 20 нед гестации), в конечном счете, влияет на размер резерва яичников [1, 2, 26, 29]. Молекулярные механизмы, с помощью которых устраняются ооциты, факторы, которые участвуют в данном процессе, в основном остаются загадкой.

По данным авторов, гибель соматических клеток яичника млекопитающих может происходить различными путями: апоптозом, некрозом, аутофагией или некроптозом [29–31]. Разница между этими процессами включает в себя различия в режиме смерти, а также в морфологических, биохимических и молекулярных характеристиках. Хотя в настоящее время нет опубликованных данных, какой из этих путей основной и ответственный за смерть зародышевых клеток до формирования резерва яичников [32, 33]. Некоторые ученые сообщают об уменьшении числа примордиальных фолликулов в препубертате у мышей, не связанным с выраженной экспрессией классических маркеров апоптоза и расщепляющей каспазой-3, что заставляет авторов предложить альтернативный механизм смерти ооцитов [34–36]. Следовательно, множественные перинатальные механизмы влияют на первичный фолликулярный запас.

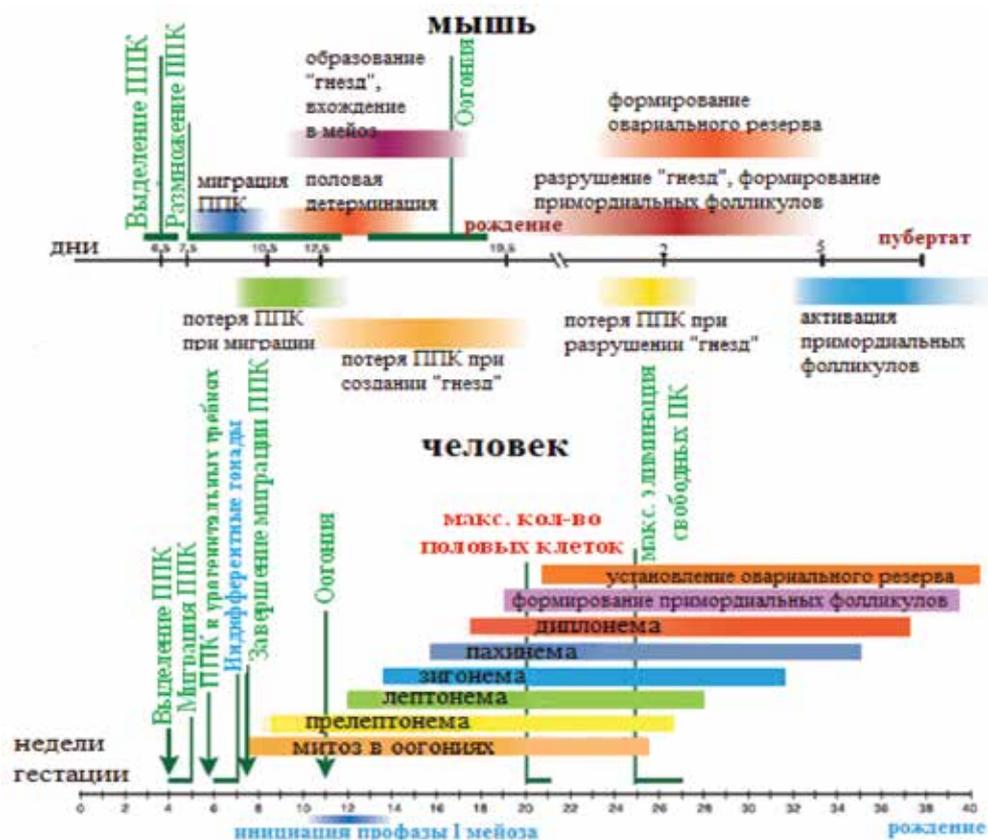


Рисунок. Сравнительная характеристика овариального резерва у мыши (a) и человека (b), количество первичных половых клеток (ППК) на разных сроках гестации

Есть несколько факторов, которые индуцируют апоптоз прямо или опосредованно в ооцитах на различных стадиях клеточного цикла и мейоза. Преждевременное удаление окружающих гранулезных клеток от незрелых ооцитов, снижение уровня аденозинового 3',5'-циклического монофосфата и гуанозина 3',5'-циклического монофосфата, повышение уровня кальция и оксидантов, устойчивый пониженный уровень фактора, способствующего созреванию, истощение факторов выживания, питательных веществ и белков клеточного цикла, снижение мейотической компетентности, повышенного уровня проапоптотических, а также апоптотических факторов приводят к апоптозу ооцитов [27–30].

В запрограммированной гибели половых клеток участвуют как собственные (опосредуемые митохондриями), так и внешние (опосредованные рецепторами клеточной поверхности) пути. Найден посредник между двумя апоптозными путями – белок Bid, присутствующий в неактивной форме в цитозоле. В ответ на стимул внешнего пути апоптоза происходит отщепление N-концевой части белка с образованием активной формы tBid. Активированный белок перемещается к митохондриям и, взаимодействуя с проапоптотическими белками Bak и Bax, осуществляет пермеабиллизацию митохондрий с выбросом апоптогенных факторов, таких как цитохром C [37, 38]. Одна из восьми спиралей – H3 белка Bid содержит домен BH3, который и активирует механизм клеточной смерти внутрифолликулярного микроокружения. Апоптоз ооцитов приводит к истощению овариального резерва, непосредственно влияя на репродуктивный результат различных млекопитающих, включая человека [2, 14, 28].

Роль запрограммированной гибели клеток неплохо изучена в яичниках во время перехода от митоза к мейозу и дегенерации фолликулярных кластеров у мышей [16, 30], когда число зародышевых клеток резко снижается (см. рис.). В человеческом яичнике также продемонстрирована апоптотическая гибель на этой стадии [8, 26]. Вероятно, апоптоз имеет важное биологическое значение для устранения дефектных или «низкого качества» ооцитов с поврежденной ядерной или митохондриальной ДНК [27, 37, 39]. Однако прямых доказательств поддержания качества половых клеток путем апоптоза во время оогенеза нет. Высказано предположение, что фактор элонгации киназа-2 (eEF2K) участвует в данном процессе путем ингибирования антиапоптотических белков в ответ на окислительный стресс, что делает половые клетки более восприимчивыми к апоптозу и элиминации [40, 41].

Существуют доказательства роли некоторых белков, опосредующих апоптоз в соматических клетках и влияющих на количество половых клеток яичника [3, 26, 42]. М. Myers с соавт. (2014) сообщили, что у мышей, генетически дефектных по гену *PUMA*, наблюдается повышенная экспрессия апоптотических факторов и уменьшение вдвое половых клеток, вступающих в мейоз, следовательно, размер овариального резерва значительно снижается [14, 43].

Этот эффект не может быть связан с измененной пролиферативной активностью зародышевых клеток. Данные свидетельствуют о том, что *PUMA* влияет только на клетки гранулезы оогоний до момента образования яйценосных шаров, но не во время последующего уменьшения числа половых клеток при дегенерации последних [44]. И наоборот, антиапоптотический Bcl-2-подобный белок, MCL-1, относительно поздно экспрессируется в ооцитах, как раз перед образованием примордиальных фолликулов, следовательно, может косвенно играть определенную роль в сохранении овариального резерва во время оогенеза и в конце беременности [44]. Инактивация антиапоптотического Bcl-x привела к усилению апоптоза клеток гранулезы эмбриональных фолликулов [36, 39, 40].

Апоптоз требует активации либо внутреннего, либо внешнего пути и триггеров, физиологических или стрессорных, отвечающих за активацию этих путей, которые до настоящего времени не выяснены абсолютно в гранулезных клетках. В соматических клетках [30, 40] и послеродовых ооцитах мыши [43, 45] было показано, что неспособность восстановить повреждение ДНК вызывает апоптотическую гибель через *PUMA* и *NOXA*. Другие факторы, ответственные за апоптоз в соматических клетках, включают отсутствие факторов роста (внутренний путь) и членов факторов некроза опухоли (TNF) (внешний путь). TNF/TNFR1 и FasL/Fas выражены в неонатальных яичниках грызунов [3, 13, 46]. Кроме того, TNF способствует гибели ооцитов в пробирке, и делеция TNF $\alpha$  или Fas у мышей увеличивает изначальное число фолликулов при рождении [9, 47]. Эти данные указывают на критическую роль для сигнализации рецептором смерти в женских зародышевых клетках апоптоза, в частности, во время периода распада яйценосных шаров и образования примордиальных фолликулов.

Мы очень мало знаем о том, как эпигенетические модификации хроматина в клетках гранулезы и половых клетках могут повлиять на репродуктивное здоровье и фолликулярный запас. Эпигенетическая модификация хроматина происходит, главным образом, за счет метилирования ДНК, модификации ги-

стонов или некодирующих РНК, но в какой степени данные процессы влияют на конечное число ооцитов в резерве – неизвестно [34, 36, 48]. Окислительный стресс вызывает апоптоз ооцитов с активацией системы Fas/FasL, а компетентность ооцита более тесно коррелирует с модификацией гистонов, чем с конфигурацией хроматина [36, 40].

Связанное с возрастом снижение репродуктивной функции у женщин неплохо изучено. Апоптоз рассматривается в данном процессе как одна из причин снижения первичного запаса фолликулов. В одной из работ описано снижение репаративной способности ДНК у возрастных крыс и, как следствие, продемонстрировано снижение уровня мРНК генов репарации *BRCA1* и *H2AX* [40, 49]. В данном исследовании идентифицировали 13 дифференциально экспрессируемых белков, участвующих в широком спектре биологических функций, включая апоптоз, репарацию ДНК и иммунную систему. Впервые описаны дифференциально экспрессированные белки FIGNL1, отвечающие за репарацию ДНК и BOK – апоптотический белок, обнаруженные в первичных фолликулах и связанные, по мнению авторов, с некоторыми общими особенностями старения яичников, потерей фолликулярного резерва и целостностью генома [14, 49].

В другом подобном исследовании определяли уровни мРНК генов репарации ДНК у стареющих животных по сравнению с молодыми. Результаты показали значительное снижение уровней мРНК генов *BRAC1*, *RAD51*, *ERCC2* и *H2AX* – генов репарации ДНК и уровней фосфопротеинов BRAC1 и H2AX в примордиальных фолликулах пожилых крыс [49]. Следовательно, нарушение репарации ДНК подтверждается как механизм старения ооцитов.

Все больше исследований посвящено поиску новых методов, идентифицирующих размер овариального резерва. Безусловно, биопсия яичников и гистологическое исследование дают наиболее точное представление о фолликулярном резерве по сравнению с ультразвуковым методом или другими косвенными лабораторными исследованиями. В настоящее время появляется все больше данных о других, неинвазивных, но достоверных способах диагностики овариального запаса. В одном из таких исследований определено, что митохондриальный биогенез в клетках гранулы может быть связан с нарушением компетентности ооцитов у пациенток с уменьшением овариального резерва [38, 50].

Митохондрии, играющие роль в качестве ооцитов, могут участвовать в патогенезе истощения фолликулярного запаса. Изучение клеток гранулы предлагает неинвазивный подход для оценки каче-

ства ооцитов и метаболических процессов, от которых зависит это качество. Если митохондриальная дисфункция участвует в истощении овариального резерва, она, вероятно, окажет влияние на функционирование клеток кумулюса. Содержание митохондрий в ооцитах и кумулюсных клетках оценивали по количественному определению митохондриальной ДНК методом полимеразной цепной реакции и экспрессии 13 генов, участвующих в митохондриальных функциях, таких как апоптоз и антиоксидантная защита [38, 40, 50].

Подводя итог, отметим, что фолликулярные клетки могут регулировать митохондриальный биогенез, создавая адекватный пул митохондрий в ооцитах для дальнейшего развития. Изменение этого процесса у пациентов с истощением овариального резерва может объяснить и ухудшение качества половых клеток. Следовательно, некоторые характеристики митохондрий кумулюсных клеток могут служить индикаторами компетентности ооцитов, и качество половых клеток можно улучшить продуктами, усиливающими митохондриальный биогенез.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Даже после десятилетий изучения оогенез сохраняет много интригующих тайн. Очевидно, что внутренняя среда беременной женщины на ключевых этапах развития яичника плода может напрямую влиять как на плодовитость ее будущей дочери (контролируя размер овариального резерва), так и качество ее ооцитов (путем воздействия на степень отбора и апоптоза). Оогенез является неотъемлемым процессом формирования овариального резерва, а сохранение и истощение последнего зависят от огромного количества факторов внутрияичникового и внеяичникового происхождения, проапоптотических и апоптотических агентов, митохондриальной дисфункции, экспрессии некоторых генов на всех этапах оогенеза и образования фолликулов, эпигенетической модификации хроматина, способности к репарации ДНК, а также еще неизвестных, но, вероятно, многочисленных маркеров.

Изучение фолликулярной динамики набирает обороты за счет использования современных методов, позволяющих определить факторы выживания половых клеток и формирования овариального резерва, а также помочь поиску возможных регуляторов в предотвращении патологической гибели половых клеток.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Денисенко М.В., Курцер М.А., Курило Л.Ф. Динамика формирования фолликулярного резерва яичников.

- Андрология и генитальная хирургия.* 2016; 17: 20–28. DOI: 10.17650/2070-9781-2016-17-2-20-28.
2. Зенкина В.Г. Формирование фолликулярного резерва яичников. *Бюллетень сибирской медицины.* 2018; 17 (3): 197–206. DOI: 10.20538/1682-0363-2018-3-197–206.
  3. Зенкина В.Г., Солодкова О.А. Молекулярно-генетические механизмы организации и развития яичника. *Бюллетень сибирской медицины.* 2018; 17 (2): 133–142. DOI: 10.20538/1682-0363-2018-2-133–142.
  4. Турдыбекова Я.Г. Фолликулогенез и фолликулярный запас яичника в норме и патологии: аспекты (этапы) клинико-морфологического изучения. *Вестник КазНМУ.* 2019; 1: 41–45.
  5. Hsueh A.J.W., Kawamura K., Cheng Y., Fauser B.C.J.M. Intraovarian control of early folliculogenesis. *Endocr. Rev.* 2015; 36 (1): 1–24. DOI: 10.1210/er.2014-1020.
  6. Sato E., Kimura N., Yokoo M., Miyake Y., Ikeda J.E. Morphodynamics of ovarian follicles during oogenesis in mice. *Microsc. Res. and Techn.* 2006; 69 (6): 427–435. DOI: 10.1002/jemt.20302.
  7. Pan B., Li J. The art of oocyte meiotic arrest regulation. *Reprod. Biol. Endocrinol.* 2019; 17 (1): 8. DOI: 10.1186/s12958-018-0445-8.
  8. Fulton N., Martins da Silva S.J., Bayne R.A.L., Anderson R.A. Germ cell proliferation and apoptosis in the developing human ovary. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2005; 90: 4664–4670.
  9. Moniruzaman M., Sakamaki K., Akazawa Y., Miyano T. Oocyte growth and follicular development in KIT-deficient Fas-knockout mice. *Reproduction.* 2007; 133: 117–125. DOI: 10.1530/REP-06-0161.
  10. Hansen K.R., Hodnett G.M., Knowlton N., Craig L.B. Correlation of ovarian reserve tests with histologically determined primordial follicle number. *Fertil Steril.* 2011; 95: 170–175. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2010.04.006.
  11. Thuwanut P., Comizzoli P., Wildt D.E., Keefer C.L., Songsasen N. Stem cell factor promotes in vitro ovarian follicle development in the domestic cat by upregulating c-kit mRNA expression and stimulating the phosphatidylinositol 3-kinase/AKT pathway. *Reprod. Fertil. Dev.* 2017; 29 (7): 1356–1368. DOI: 10.1071/RD16071.
  12. Nilsson E., Detzel C., Skinner M. Platelet-derived growth factor modulates the primordial to primary follicle transition. *Reproduction.* 2006; 6: 1007–1015. DOI: 10.1530/rep.1.00978.
  13. Greenfeld C.R., Roby K.F., Pepling M.E., Babus J.K., Teranova P.F., Flaws J.A. Tumor necrosis factor (TNF) receptor type 2 is an important mediator of TNF alpha function in the mouse ovary. *Biol. Reprod.* 2007; 76: 224–231. DOI: 10.1095/biolreprod.106.055509.
  14. Monget P., Bobe J., Gougeon A., Fabre S., Monniaux D., Dalbies-Tran R. The ovarian reserve in mammals: a functional and evolutionary perspective. *Mol. Cell Endocrinol.* 2012; 356 (1-2): 2–12. DOI: 10.1016/j.mce.2011.07.046.
  15. Rimon-Dahari N., Yerushalmi-Heinemann L., Alyagor L., Dekel N. Ovarian folliculogenesis. *Results Probl. Cell Differ.* 2016; 58: 167–190. DOI: 10.1007/978-3-319-31973-5\_7.
  16. Wear H.M., McPike M.J., Watanabe K.H. From primordial germ cells to primordial follicles: a review and visual representation of early ovarian development in mice. *J. Ovarian Res.* 2016; 9: 36. DOI: 10.1186/s13048-016-0246-7.
  17. Dutta S., Mark-Kappeler C.J., Hoyer P.B., Pepling M.E. The steroid hormone environment during primordial follicle formation in perinatal mouse ovaries. *Biol. Reprod.* 2014; 91 (3): 68. DOI: 10.1095/biolreprod.114.119214.
  18. Ghafari F., Gutierrez C.G., Hartshorne G.M. Apoptosis in mouse fetal and neonatal oocytes during meiotic prophase one. *BMC Dev. Biol.* 2007; 7: 87. DOI: 10.1186/1471-213X-7-87.
  19. Wu X., Fu Y., Sun X., Liu C., Chai M., Chen C., Dai L., Gao Y., Jiang H., Zhang J. The possible FAT1-mediated apoptotic pathways in porcine cumulus cells. *Cell Biol. Int.* 2017; 41 (1): 24–32. DOI: 10.1002/cbin.10695.
  20. Childs A.J., Kinnell H.L., He J., Anderson R.A. LIN28 is selectively expressed by primordial and pre-meiotic germ cells in the human fetal ovary. *Stem Cells Dev.* 2012; 21 (13): 2343–2349. DOI: 10.1089/scd.2011.0730.
  21. Hartshorne G.M., Lyraou S., Hamoda H., Oloto E., Ghafari F. Oogenesis and cell death in human prenatal ovaries: what are the criteria for oocyte selection? *Mol. Hum. Reprod.* 2009; 15 (12): 805–819. DOI: 10.1093/molehr/gap055.
  22. DeFelici M., Lobascio A.M., Klinger F.G. Cell death in fetal oocytes: many players for multiple pathways. *Autophagy.* 2008; 4: 240–242. DOI: 10.4161/auto.5410.
  23. Gkoutela S., Li Z., Vincent J.J., Zhang K.X., Chen A., Pellegrini M., Clark A.T. The ontogeny of cKIT+ human primordial germ cells proves to be a resource for human germ line reprogramming, imprint erasure and in vitro differentiation. *Nat. Cell Biol.* 2013; 15 (1): 113–122. DOI: 10.1038/ncb2638.
  24. Fabbri R., Zamboni C., Vicenti R., Macciocca M., Paradisi R., Seracchioli R. Update on oogenesis *in vitro*. *Minerva Ginecol.* 2018; 70 (5): 588–608. DOI: 10.23736/S0026-4784.18.04273-9.
  25. Зенкина В.Г., Каредина В.С., Солодкова О.А., Слуцкая Т.Н., Юферева А.Л. Морфология яичников андрогенизированных крыс на фоне приема экстракта из кукумарии. *Тихоокеанский медицинский журнал.* 2007; 4: 70–72.
  26. Banerjee S., Banerjee S., Saraswat G., Bandyopadhyay S.A., Kabir S.N. Female reproductive aging is master-planned at the level of ovary. *PLoS One.* 2014; 9 (5): e96210. DOI: 10.1371/journal.pone.0096210.
  27. Зенкина В.Г. Факторы ангиогенеза при развитии физиологических и патологических процессов женской гонады. *Бюллетень сибирской медицины.* 2016; 15 (4): 111–119. DOI: 10.20538/1682-0363-2016-4-111–119.
  28. Tiwari M., Prasad S., Tripathi A., Pandey A.N., Ali I., Singh A.K., Shrivastav T.G., Chaube S.K. Apoptosis in mammalian oocytes: a review. *Apoptosis.* 2015; 20 (8): 1019–1025. DOI: 10.1007/s10495-015-1136-y.
  29. Gartner A., Boag P.R., Blackwell T.K. Germline survival and apoptosis. *WormBook.* 2008; 4: 1–20. DOI: 10.1895/wormbook.1.145.1.
  30. Klinger F.G., Rossi V., De Felici M. Multifaceted programmed cell death in the mammalian fetal ovary. *Int. J. Dev. Biol.* 2015; 59 (1-3): 51–54. DOI: 10.1387/ijdb.150063fk.
  31. Linkermann A., Green D.R. Necroptosis. *N. Engl. J. Med.* 2014; 370 (5): 455–465. DOI: 10.1056/NEJMra1310050.
  32. Rodrigues P., Limback D., McGinnis L.K., Plancha C.E., Albertini D.F. Multiple mechanisms of germ cell loss in the

- perinatal mouse ovary. *Reproduction*. 2009; 137: 709–720. DOI: 10.1530/REP-08-0203.
33. Gawriluk T.R., Hale A.N., Flaws J.A., Dillon C.P., Green D.R., Rucker E.B. Ankophagy is a cell survival program for female germ cells in the murine ovary. *Reproduction*. 2011; 141 (6): 759–765. DOI: 10.1530/REP-10-0489.
  34. Kimura T., Kaga Y., Sekita Y., Fujikawa K., Nakatani T., Odamoto M., Funaki S., Ikawa M., Abe K., Nakano T. Pluripotent stem cells derived from mouse primordial germ cells by small molecule compounds. *Stem Cells*. 2015; 33 (1): 45–55. DOI: 10.1002/stem.1838.
  35. Tingen C., Kim A., Woodruff T.K. The primordial pool of follicles and nest breakdown in mammalian ovaries. *Mol. Hum. Reprod*. 2009; 15 (12): 795–803. DOI: 10.1093/molehr/gap073.
  36. Lin J., Chen F., Sun M.J., Zhu J., Li Y.W., Pan L.Z., Zhang J., Tan J.H. The relationship between apoptosis, chromatin configuration, histone modification and competence of oocytes: A study using the mouse ovary-holding stress model. *Sci. Rep*. 2016; 6: 28347. DOI: 10.1038/srep28347.
  37. Seidler E.A., Moley K.H. Metabolic determinants of mitochondrial function in oocytes. *Semin. Reprod. Med*. 2015; 33 (6): 396–400. DOI: 10.1055/s-0035-1567822.
  38. Boucret L., Chao de la Barca J.M., Morinière C., Desquirit V., Ferré-L'Hôtelier V., Descamps P., Marcaillou C., Reynier P., Procaccio V., May-Panloup P. Relationship between diminished ovarian reserve and mitochondrial biogenesis in cumulus cells. *Hum. Reprod*. 2015; 30 (7): 1653–1664. DOI: 10.1093/humrep/dev114.
  39. Wang C., Zhou B., Xia G. Mechanisms controlling germline cyst breakdown and primordial follicle formation. *Cell Mol. Life Sci*. 2017; 74 (14): 2547–2566. DOI: 10.1007/s00018-017-2480-6.
  40. Zhang J.Q., Gao B.W., Wang J., Ren Q.L., Chen J.F., Ma Q., Zhang Z.J., Xing B.S. Critical role of foxo1 in granulosa cell apoptosis caused by oxidative stress and protective effects of grape seed procyanidin B2. *Oxid. Med. Cell Longev*. 2016; 2016: 6147345. DOI: 10.1155/2016/6147345.
  41. Chu H.P., Liao Y., Novak J.S., Hu Z., Merkin J.J., Shymkiv Y., Braeckman B.P., Dorovkov M.V., Nguyen A., Clifford P.M., Nagele R.G., Harrison D.E., Ellis R.E., Ryazanov A.G. Germline quality control: eFK2K stands guard to eliminate defective oocytes. *Dev. Cell*. 2014; 28: 561–572. DOI: 10.1016/j.devcel.2014.01.027.
  42. Hutt K.J. The role of BH3-only proteins in apoptosis within the ovary. *Reproduction*. 2015; 149 (2): R81–R89. DOI: 10.1530/REP-14-0422.
  43. Myers M., Morgan F.H., Liew S.H., Zerafa N., Gamage T.U., Sarraj M., Cook M., Kapic I., Sutherland A., Scott C.L., Strasser A., Findlay J.K., Kerr J.B., Hutt K.J. PUMA regulates germ cell loss and primordial follicle endowment in mice. *Reproduction*. 2014; 148 (2): 211–219. DOI: 10.1530/REP-13-0666.
  42. Omari S., Waters M., Naranian T., Kim K., Perumalsamy A.L., Chi M., Greenblatt E., Moley K.H., Opferman J.T., Jurisicova A. Mcl-1 is a key regulator of the ovarian reserve. *Cell Death Dis*. 2015; 6 (5): e1755. DOI: 10.1038/cddis.2015.95.
  43. Kerr J.B., Hutt K.J., Michalak E.M., Cook M., Vandenberg C.J., Liew S.H., Bouillet P., Mills A., Scott C.L., Findlay J.K., Strasser A. et al. DNA damage-induced primordial follicle oocyte apoptosis and loss of fertility require Tap63-mediated maturation of Puma and Noxa. *Mol. Cell*. 2012; 48 (3): 343–352. DOI: 10.1016/j.molcel.2012.08.017.
  44. Sui X.X., Luo L.L., Xu J.J., Fu Y.C. Evidence that FOXO3 is involved in oocyte apoptosis in the neonatal rat ovary. *Biochem Cell Biol*. 2010; 88 (4): 621–628. DOI: 10.1139/O10-001.
  45. Cui L.L., Yang G., Pan J., Zhang C. Tumor necrosis factor alpha knockout increases fertility of mice. *Theriogenology*. 2011; 75 (5): 867–876. DOI: 10.1016/j.theriogenology.2010.10.029.
  46. Jung D., Kee K. insights into female germ cell biology: from in vivo development to in vitro derivations. *Asian J. Androl*. 2015; 17 (3): 415–420. DOI: 10.4103/1008-682X.148077.
  47. Govindaraj V., Rao A.J. Comparative proteomic analysis of primordial follicles from ovaries of immature and aged rats. *Syst. Biol. Reprod. Med*. 2015; 61 (6): 367–375. DOI: 10.3109/19396368.
  48. May-Panloup P., Boucret L., Chao de la Barca J.M., Desquirit-Dumas V., Ferré-L'Hôtelier V., Morinière C., Descamps P., Procaccio V., Reynier P. Ovarian ageing: the role of mitochondria in oocytes and follicles. *Hum. Reprod. Update*. 2016; 22 (6): 725–743. DOI: 10.1093/humupd/dmw028.

## Сведения об авторах

**Зенкина Виктория Геннадьевна**, канд. мед. наук, доцент, зав. кафедрой биологии, ботаники и экологии, ТГМУ, г. Владивосток. ORCID 0000-0002-1148-6021.

**Солодкова Оксана Алексеевна**, канд. мед. наук, доцент, кафедра биологии, ботаники и экологии, ТГМУ, г. Владивосток. ORCID 0000-0002-3986-5795.

**Божко Галина Георгиевна**, канд. биол. наук, доцент, кафедра биологии, ботаники и экологии, ТГМУ, г. Владивосток. ORCID 0000-0002-7543-6090.

**Агibalова Анна Алексеевна**, ст. преподаватель, кафедра биологии, ботаники и экологии ТГМУ, г. Владивосток. ORCID 0000-0002-4452-8064.

**Зенкин Игорь Сергеевич**, студент, ДВФУ, г. Владивосток.

(✉) **Зенкина Виктория Геннадьевна**, e-mail: zena-74@mail.ru

Поступила в редакцию 22.05.2020

Подписана в печать 29.09.2020