УДК: 577.1:577.22:612.122

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ РЕГУЛЯЦИИ ФУНКЦИИ ЯИЧНИКОВ: РОЛЬ ЦАМФ И АДЕНИЛАТЦИКЛАЗЫ

Азимова Б.Ж.

TUXUMDON FUNKSIYASINI REGULYATSIYA QILISHNING MOLEKULYAR MEXANIZMLARI: SAMF VA ADENILATSIKLAZANING ROLI

Azimova B. J.

MOLECULAR MECHANISMS OF OVARIAN FUNCTION REGULATION: THE ROLE OF CAMP AND ADENYLATE CYCLASE

Azimova B. J.

Ташкентский фармацевтический институт

Siklik adenozin monofosfat va adenilat siklaza gonadotropinlardan tashqi signallarni birlashtiruvchi va tuxumdonlardagi fiziologik jarayonlarni tartibga soluvchi muhim molekulyar komponentlardir. Ularning ta'sir mexanizmlarini tushunish reproduktiv tibbiyotda yangi terapevtik strategiyalarni, jumladan, tuxumdonlar zaxirasi buzilishlarini va erta tuxumdon yetishmovchiligini davolashni ishlab chiqish uchun istiqbollarni ochadi.

Kalit so'zlar: *siklik adenozin monofosfat, adenilat siklaza, follikulogenez, oosit meiozi, granuloza hujayralari, steroidogenez.*

Cyclic adenosine monophosphate and adenylate cyclase are critical molecular components that integrate external signals from gonadotropins and regulate physiological processes in the ovaries. Understanding their mechanisms of action opens up prospects for the development of new therapeutic strategies in reproductive medicine, including the treatment of ovarian reserve disorders and premature ovarian failure.

Key words: *cyclic adenosine monophosphate, adenylate cyclase, folliculogenesis, oocyte meiosis, granulosa cells, steroidogenesis.*

Роль циклического аденозинмонофосфата (цАМФ) в регуляции функции яичников. Рецепторы клеточной поверхности способны распознавать сигнальные молекулы извне клетки (так называемые первичные мессенджеры) и преобразовывать их во внутриклеточные сигналы. Ключевые молекулы, участвующие в этом процессе преобразования, называются вторичными мессенджерами [27]. Поскольку внеклеточные химические сигнальные молекулы (т. е. первичные мессенджеры) не могут напрямую пересекать клеточную мембрану и проникать в клетку, они связываются со специфическими рецепторами на поверхности клетки, инициируя каскад реакций, который в конечном итоге преобразует физические и химические сигналы в два важных внутриклеточных вторичных мессенджера: циклический аденозинмонофосфат и циклический гуанозинмонофосфат (цГМФ).

Кроме того, в клетке существуют и другие типы вторичных мессенджеров, включая нуклеотиды, липиды и другие малые молекулы [5]. Когда эти вторичные мессенджеры распознают и взаимодействуют со своими соответствующими внеклеточными рецепторами, запускается серия биохимических каскадных реакций, которые в совокупности опосредуют различные физиологические эффекты. Вторичные мессенджеры осуществляют трансдукцию и амплификацию внеклеточных сигналов, активируя протеинкиназы, выполняющие физиологические функции, либо воздействуя на внутриклеточные лиганд-управляемые каналы, изменяя мембранный потенциал. Деградация вторичных мессенджеров приводит к завершению сигнала.

Установлено, что многие пути передачи сигнала активируются вторичными мессенджерами, включая цАМФ, диацилглицерол, инозитолтрифосфат (IP3), цГМФ и Ca^{2+}. Образование цАМФ инициирует активацию протеинкиназы А (PKA). Впоследствии PKA фосфорилирует множество белков, включая белок, связывающий элемент ответа на цАМФ (CREB), который является ключевым фактором транскрипции многих генов [8,18]. Кроме того, цАМФ может непосредственно связываться с белками, активируемыми цАМФ (EPAC). EPAC, выступая в роли фактора обмена гуаниновых нуклеотидов (GEF), способствует активации белков суперсемейства Ras, тем самым повторно активируя несколько сигнальных путей [2].

Хорионический гонадотропин человека (ХГЧ) поддерживает существование жёлтого тела на ранних сроках беременности и играет ключевую роль в развитии плода [2]. Оба гонадотропина гипофиза – ФСГ и ЛГ – осуществляют свои функции на всех стадиях менструального цикла, начиная с рекрутирования фолликулов, затем их роста и созревания и заканчивая овуляцией граафовых фолликулов [20]. Развитие фолликулов начинается ещё в фетальный период. Этот процесс зависит от сложного механизма взаимодействий и скоординированной экспрессии множества генов [3]. ФСГ и ЛГ активируют внутриклеточные сигнальные каскады, связываясь со своими соответствующими мембранными рецепторами, а их эффекты варьируют в зависимости от стадии и микроокружения, в целом способствуя развитию фолликулов [21].После связывания гонадотропинов с рецепторами инициируется один из хорошо изученных сигнальных каскадов цАМФ/PKA, который тесно связан со стероидогенезом и клеточной пролиферацией. Активация как ЛГ-, так и ФСГ-опосредованной сигнализации приводит к повышению внутриклеточной концентрации цАМФ и активации протеинкиназы А (PKA). Связывание цАМФ с регуляторной (R) субъединицей PKA позволяет активной каталитической (C) субъединице фосфорилировать субстраты PKA в цитоплазме и ядре [9]. Сигнальный путь цАМФ/PKA, активируемый ФСГ, индуцирует продукцию стероидных гормонов в

яичниках и дифференцировку гранулёзных клеток. Однако путь Gαs/цАМФ/PKA не является единственным механизмом трансдукции сигнала, запускаемым рецептором ФСГ (FSHR). ФСГ также участвует в активации ERK1/2, что имеет решающее значение для регуляции пролиферации гранулёзных клеток и стероидогенеза [1].

цАМФ является вторичным мессенджером, играющим ключевую роль в клетках. Он участвует в регуляции различных биологических процессов, реагируя на внеклеточные сигналы за счёт изменения своей внутриклеточной концентрации и, таким образом, модулируя пути внутриклеточной передачи сигнала. Это приводит к изменению таких физиологических процессов, как клеточная пролиферация, миграция и апоптоз, включая оогенез [29,11]. У млекопитающих концентрация цАМФ в ооцитах играет жизненно важную роль в регуляции мейотического процесса в яичниках взрослых особей, особенно в поддержании мейотической паузы и её возобновлении [30]. В частности, высокие уровни цАМФ, продуцируемые ооцитом и окружающими его кумулюсными клетками, поддерживают незрелый ооцит в состоянии мейотического ареста. При снижении концентрации цАМФ в ооците инициируется возобновление мейоза [4].

Недавно было установлено, что по мере вступления ооцита в ранние стадии мейоза концентрация цАМФ в яичнике повышается, что оказывает выраженное влияние на формирование пула примордиальных фолликулов у мышей [26]. Несмотря на то что роль цАМФ в регуляции поздних мейотических стадий активированных ооцитов была подробно изучена, до настоящего времени остаётся неясным, участвует ли цАМФ также в ранних этапах мейотического процесса ооцитов, влияет ли он на них и каковы лежащие в основе этого механизмы.

Аденилатциклаза: структура и изоформы аденилатциклазы. Аденилатциклаза (АС, номер фермента ЕС 4.6.1.1) представляет собой семейство ферментов, основной функцией которых является синтез цАМФ. На сегодняшний день у млекопитающих идентифицировано девять мембрансвязанных изоформ аденилатциклазы. Эти девять изоформ, обозначаемые ACI-IX (с соответствующими названиями генов ADCY1-ADCY9), кодируются отдельными генами. Аденилатциклазы относятся к классу крупных гликопротеинов с молекулярной массой от 119 до 175 кДа.

Все девять изоформ обладают сходными структурными особенностями, а именно: вариабельным цитоплазматическим NH_2-концом, за которым следуют два повторяющихся структурных модуля, каждый из которых включает трансмембранный домен (M1 или M2) и цитоплазматический домен (C1 или C2) (рисунок) [17]. Последовательность и длина NH_2-конца различаются между изоформами. Домены C1 и C2, в свою очередь, подразделяются на два субдомена – a и b. При этом домены C1a и C2a располагаются по принципу «голова к хвосту» и совместно образуют каталитический центр фермента [22,24]. Эти два домена высоко консервативны среди различных подтипов аденилатциклазы и обладают гомологией друг к другу в пределах одной молекулы фермента (сходство составляет около 60%).

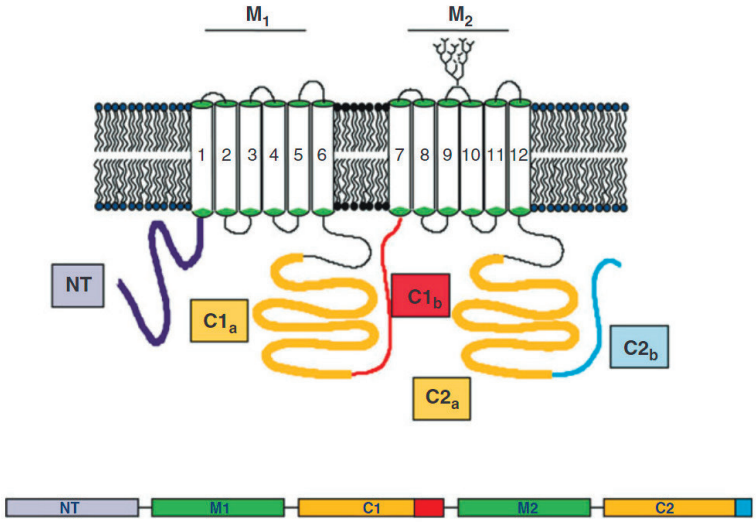


Рисунок. Топология мембраносвязанных АЦ. Примечание. Схематическая диаграмма, демонстрирующая гипотетическую топологию изоформ аденилатциклазы (АС). На диаграмме показано положение основных цитоплазматических доменов C1 и C2 относительно всей молекулы. M1 и M2 обозначают области молекулы аденилатциклазы, каждая из которых пронизывает мембрану шесть раз. АС:аденилатциклаза.

Каждый трансмембранный домен содержит шесть трансмембранных α-спиралей, однако аминокислотные последовательности этих спиралей не консервативны между различными подтипами аденилатциклазы. Помимо функции мембранной локализации, домены M1 и M2 могут также участвовать в регуляции активности аденилатциклазы [23]. У млекопитающих аденилатциклаза является основным эффектором сигнального пути, опосредованного рецепторами, сопряжёнными с G-белками. Следовательно, её активность регулируется не только субъединицами G-белков, но и может косвенно

модифицироваться за счёт взаимодействий с другими сигнальными путями.

Субъединицы Gsα и Giα, а также форсколин, аденозин и их аналоги являются общими регуляторами активности аденилатциклазы. Кроме того, βγ-субъединицы G-белков, ионы Ca^{2+} (в свободной форме или в комплексе с кальмодулином) и протеинкиназы (такие как протеинкиназа С и протеинкиназа А) могут выступать в роли стимуляторов или ингибиторов отдельных подтипов аденилатциклазы, проявляя типоспецифические регуляторные эффекты.

На основании сходства аминокислотных последовательностей и общих закономерностей регуляции девять изоформ аденилатциклазы подразделяются на четыре группы [10]. Группы ADCY1, ADCY3 и ADCY8 характеризуются способностью активироваться комплексом Ca^{2+}-кальмодулин. Изоформы ADCY2, ADCY4 и ADCY7 могут активироваться βγ-субъединицами G-белков, но не реагируют на Ca^{2+}. ADCY5 и ADCY6 ингибируются при наличии низких концентраций Ca^{2+} и нечувствительны к регуляции βγ-субъединицами. ADCY9, являясь уникальным подтипом, специфически ингибируется комплексом Ca^{2}-кальциневрин. Эти подтипы обладают специфическими регуляторными свойствами и тканеспецифичными профилями экспрессии, что позволяет клеткам точно модулировать внешние сигналы и, таким образом, тонко регулировать внутриклеточный уровень цАМФ [6].

Физиологические эффекты аденилатциклазы. Различные изоформы аденилатциклазы играют важнейшую роль в поддержании здоровья человека, а их сверхэкспрессия или нокаут могут оказывать существенное влияние на функции организма. Растворимая изоформа аденилатциклазы (sAC) играет ключевую роль в морфогенезе сперматозоидов и мужских гамет, а также, вероятно, участвует в регуляции метаболических процессов, особенно митохондриальных путей, контролирующих митохондриальное дыхание и активацию апоптоза [14].

В последние годы с помощью современных технологий, таких как генный нокаут, РНК-интерференция и трансгенная сверхэкспрессия, были подробно изучены физиологические функции различных изоформ аденилатциклазы и их сложные взаимосвязи с состоянием здоровья и развитием заболеваний у человека. Изоформы AC1 и AC8, преимущественно локализованные в центральной нервной системе, оказывают значительное влияние на процессы обучения, памяти, восприятие боли и развитие головного мозга [25]. AC3 является важным компонентом сигнального пути обоняния; мутации в соответствующем гене могут приводить к нарушению экспрессии обонятельных генов и оказывать влияние на поддержание энергетического гомеостаза [33]. Кроме того, имеются данные о возможной связи AC3 с возникновением и прогрессированием опухолевых процессов [12].

Повышенная экспрессия AC2 ассоциирована с развитием некоторых злокачественных новообразований, включая нейроэндокринные опухоли поджелудочной железы и тонкого кишечника, тогда как исследования, посвящённые изоформе AC4, в настоящее время относительно ограничены [19]. AC7 характеризуется высокой экспрессией в лимфоцитах и макрофагах и участвует в регуляции врождённого и адаптивного иммунного ответа [15].

Изоформы AC5 и AC6 являются ключевыми факторами, участвующими в регуляции продолжительности жизни и устойчивости к стрессу. Нокаут гена AC5 у экспериментальных животных приводил к увеличению продолжительности жизни, а также к уменьшению выраженности таких патологических проявлений, как потеря костной массы и кардиомиопатия, ассоциированная со старением. AC6 является одной из основных изоформ, опосредующих сигналы β-адренергических рецепторов в сердце млекопитающих. Различные варианты AC6 по-разному реагируют на неблагоприятные стрессовые воздействия, при этом сверхэкспрессия или активация AC6 в миокарде способствует улучшению функции сердца при ряде сердечно-сосудистых заболеваний [13].

Нокаут гена AC9 оказывает влияние на функционирование иммунной системы. Снижение или подавление уровня его экспрессии может стимулировать пролиферацию Т-лимфоцитов и клеток рака шейки матки, а также снижать уровень клеточного апоптоза [28]. Полученные данные не только углубляют понимание биологических функций различных изоформ аденилатциклазы, но и открывают новые перспективы и стратегии для диагностики и терапии соответствующих заболеваний.

Роль аденилатциклазы в яичниках. Экспрессия AC3, обнаруженна у млекопитающих, выявляется в репродуктивной системе как самцов, так и самок мышей [16]. Более того, сигнальный путь AC3-цАМФ является доминирующим в яичниках новорождённых мышей [32]. Известно, что цАМФ тесно связан с поддержанием мейотического ареста ооцитов у грызунов и человека. Экспериментальные данные показали, что у самок мышей с дефицитом AC3 наблюдаются нарушения мейотического ареста и ускоренное созревание ооцитов [7]. Однако с учётом одновременного существования и взаимодополняющего действия нескольких изоформ аденилатциклазы в ооцитах остаётся в значительной степени неясным, играет ли AC3 роль в процессах возрастного старения яичников у самок и каковы молекулярные механизмы, посредством которых AC3 регулирует функцию яичников.

У мышей с нокаутом гена AC3 отмечаются прогрессирующее истощение фолликулярного резерва и ускоренное старение ооцитов – фенотип, сходный с типичной для человека преждевременной недостаточностью яичников (premature ovarian failure, POF). Дальнейшие исследования показали, что данный фенотип сопровождается митохондриальной дисфункцией, повышенным уровнем окислительного стресса и усилением апоптоза ооцитов. В то же время у новорождённых самок мышей на 2-е сутки после рождения выявлялся нормальный резерв

примордиальных фолликулов, что согласуется с данными о том, что в перинатальном периоде в яичнике преобладает изоформа AC2 [16]. Однако при нокауте AC3, начиная с периода полового созревания, наблюдалось быстрое истощение резерва примордиальных фолликулов. К моменту полового созревания пул примордиальных фолликулов был практически исчерпан, а количество фолликулов на всех стадиях развития значительно уменьшалось.

Кроме того, у мышей с нокаутом AC3, в отличие от контрольных самок, отмечалось значительное увеличение количества атретических и апоптотических фолликулов. Эти изменения в значительной степени способствовали ускоренному старению яичников и снижению фертильности. Таким образом, AC3 является основной изоформой аденилатциклазы в яичниках подростковых и взрослых мышей и, вероятно, взаимодействует с AC2, обеспечивая специфическую регуляцию нормального развития яичников. Учитывая, что белки AC3 у мышей и человека обладают более чем 80% гомологией, предполагается, что человеческая AC3 может выполнять сходную регуляторную функцию в развитии яичников человека [31].

Заключение

Циклический аденозинмонофосфат и аденилатциклаза играют центральную роль в регуляции внутриклеточной сигнализации в яичниках, обеспечивая координированное развитие фолликулов, дифференцировку гранулёзных клеток и поддержание мейотического ареста ооцитов. цАМФ выступает ключевым вторичным мессенджером, активирующим протеинкиназу А (PKA) и белки, активируемые цАМФ (EPAC), что приводит к транскрипционной регуляции генов и запуску биохимических каскадов, ответственных за клеточную пролиферацию, апоптоз и стероидогенез.

Аденилатциклаза, особенно её изоформы AC3 и AC2, является основным источником цАМФ в ооцитах и фолликулах, обеспечивая специфическую и тканеспецифическую регуляцию сигнальных путей. Нарушение активности аденилатциклазы или изменения концентрации цАМФ приводят к ускоренному старению фолликулов, истощению фолликулярного резерва и снижению репродуктивного потенциала, что подтверждается экспериментальными моделями на мышах. цАМФ является универсальным вторичным мессенджером, регулирующим клеточную пролиферацию, апоптоз, миграцию и стероидогенез в яичниках. Активация сигнального пути цАМФ/PKA играет ключевую роль в регуляции функции гранулёзных клеток, дифференцировки ооцитов и поддержании мейотического ареста.

Нарушение активности аденилатциклазы или концентрации цАМФ приводит к ускоренному старению фолликулов и снижению фертильности, что подтверждается данными на моделях нокаута AC3 у мышей.

Таким образом, цАМФ и аденилатциклаза представляют собой критические молекулярные элементы, интегрирующие внешние сигналы, поступающие от гонадотропинов, и регулирующие физиологические процессы в яичниках. Понимание их механизмов действия открывает перспективы для разработки новых терапевтических стратегий в области репродуктивной медицины, включая лечение нарушений овариального резерва и преждевременной недостаточности яичников.

Понимание механизмов цАМФ-зависимой сигнализации и роли аденилатциклазы открывает перспективы для разработки стратегий терапии репродуктивных нарушений и преждевременной недостаточности яичников.

Со списком литературы можно ознакомиться в редакции

обзоры

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ РЕГУЛЯЦИИ ФУНКЦИИ ЯИЧНИКОВ: РОЛЬ ЦАМФ И АДЕНИЛАТЦИКЛАЗЫ

Азимова Б.Ж.

Циклический аденозинмонофосфат и аденилатциклаза представляют собой критические молекулярные элементы, интегрирующие внешние сигналы, поступающие от гонадотропинов, и регулирующие физиологические процессы в яичниках. Понимание их механизмов действия открывает перспективы для разработки новых терапевтических стратегий в области репродуктивной медицины, включая лечение нарушений овариального резерва и преждевременной недостаточности яичников.

Ключевые слова: *циклический аденозинмонофосфат, аденилатциклаза, фолликулогенез, мейоз ооцитов, гранулёзные клетки, стероидогенез.*

Сведения об авторе

Азимова Бахтигул Жовли кизи, канд. биол. наук, доц., зав. каф. неорганической, физической и коллоидной химии ТашФармИ. Тел: +998997206277, e-mail: baxt_gulim@rocketmail.com, https://orcid.org/0000-0002-0132-1741