Европейски съюз

ЕВРОПЕЙСКИ СОЦИАЛЕН ФОНД 2007 – 2013
МИНИСТЕРСТВО НА ОБРАЗОВАНИЕТО И НАУКАТА
ОПЕРАТИВНА ПРОГРАМА „РАЗВИТИЕ НА ЧОВЕШКИТЕ РЕСУРСИ"
BG051PO001-3.3.06 -0059

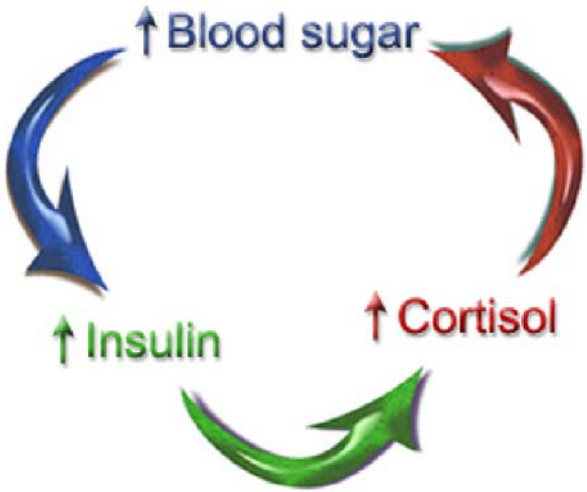
ЕСФ България
Европейски социален фонд

Механизми на нарушена овариална стероидогенеза при диабет 2, стрес и хронични възпаления - изследвания ин-витро

гл. ас. Георги Георгиев, PhD
секция "Имуноневроендокринология"
ИБИР - БАН

- в нарушения на репродуктивните възможности при жената участват ендокринни, метаболитни и имунологични фактори
- етиологията на редица репродуктивни смущения в неясна
- небалансираната хомеостаза на паракринните и ендокринните взаимодействия в женския яйчник може да бъде причина за състояния на “порочен кръг на обратни връзки” поради загубата на чувствителност към инхибиторен контрол.

В-клетките на панкреаса се опитват да “компенсират” чрез секреция на повече инсулин



Подтиска усвояването на глюкозата в клетките чрез инихбиране транслокацията на глюкозните транспортери (особено GLUT4) към клетъчната мембрана, стимулиране на чернодробната глюконеогенеза

Инсулинът повишава базалната и АСТН-стимулираната стероидогенеза в адренокортикални клетки

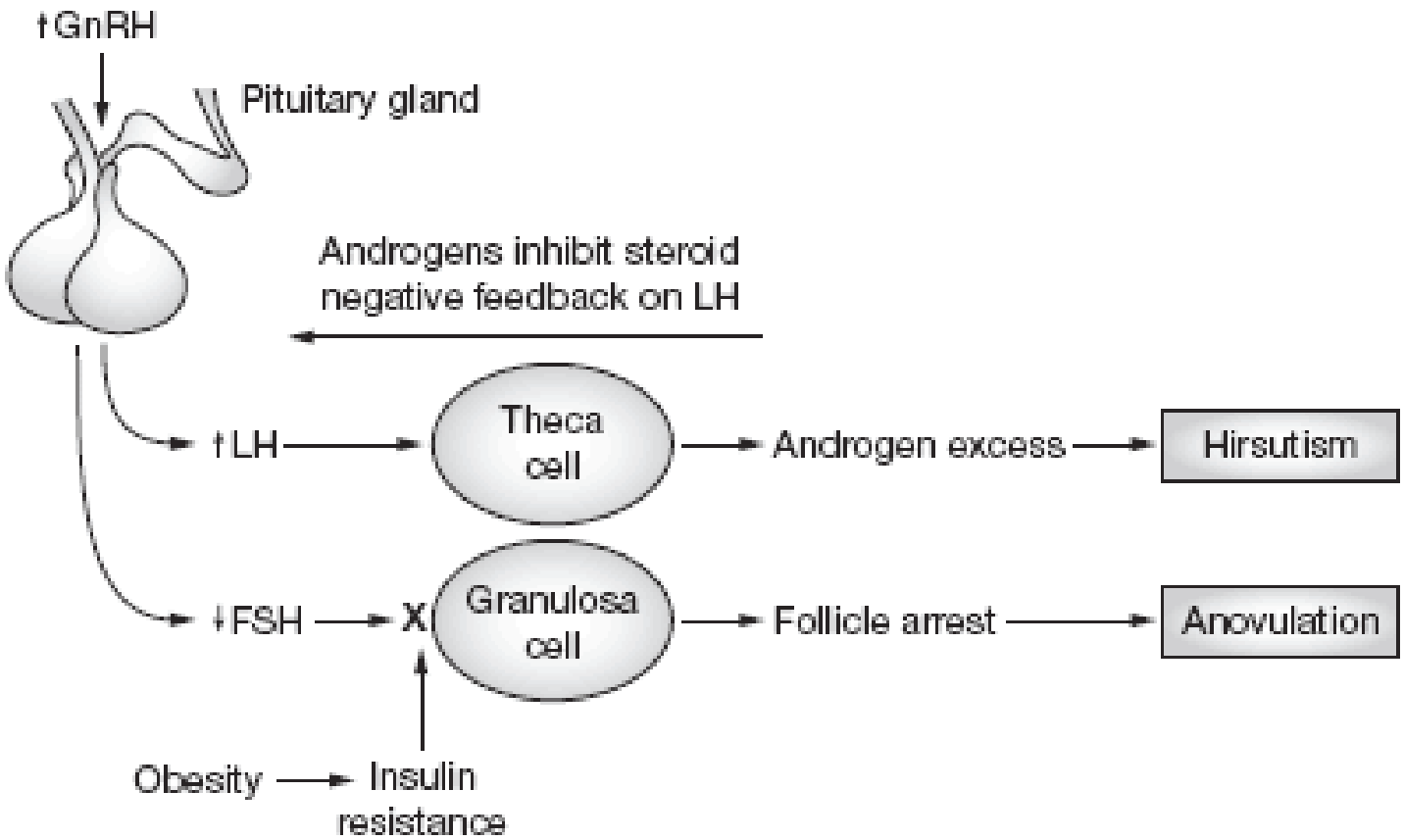
Инсулин - таргети

- Мускулна тъкан
- Мастна тъкан
- Черен дроб
- Яйчник

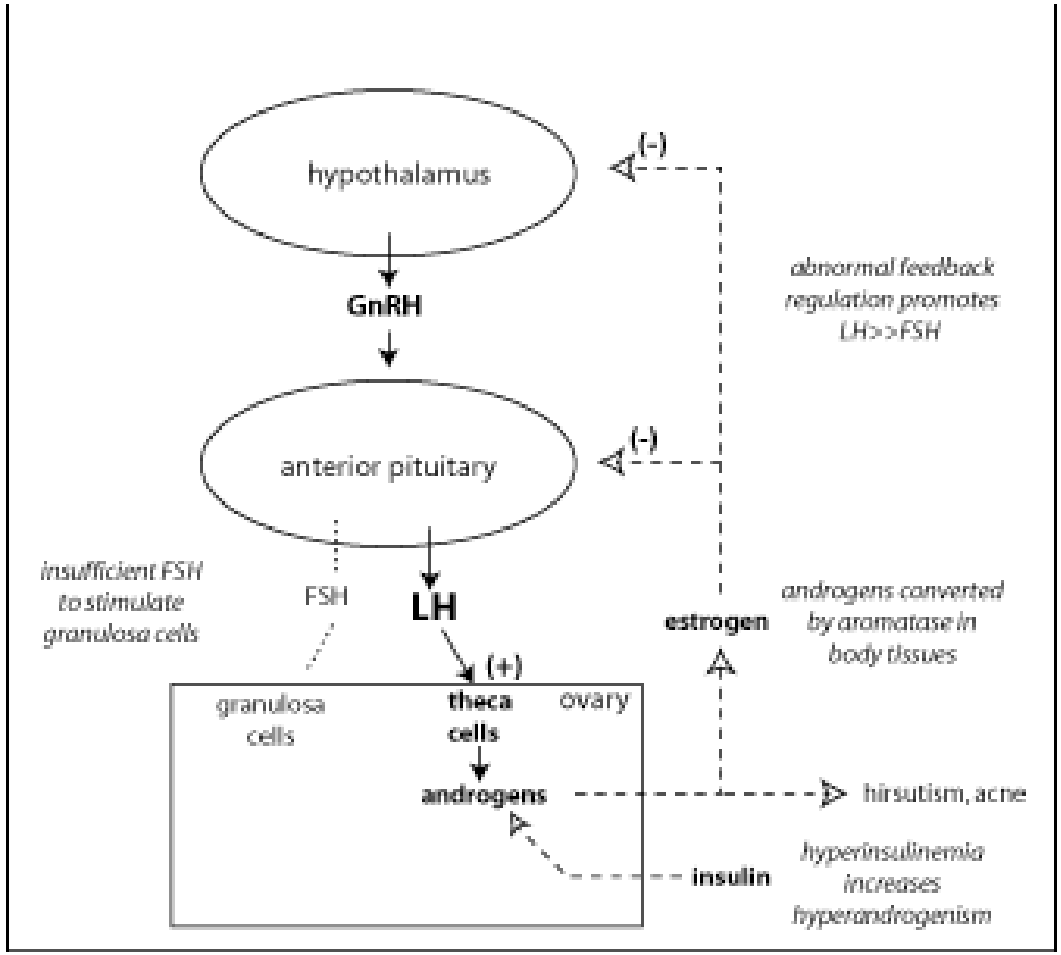
- **Системна нечувствителност** към глюкозния метаболизъм (хиперинсулинемия)
- **Овариална чувствителност** към инсулин-индуцираните стероидогенни ефекти (хиперандрогенизъм)

Инсулин в яйчник:

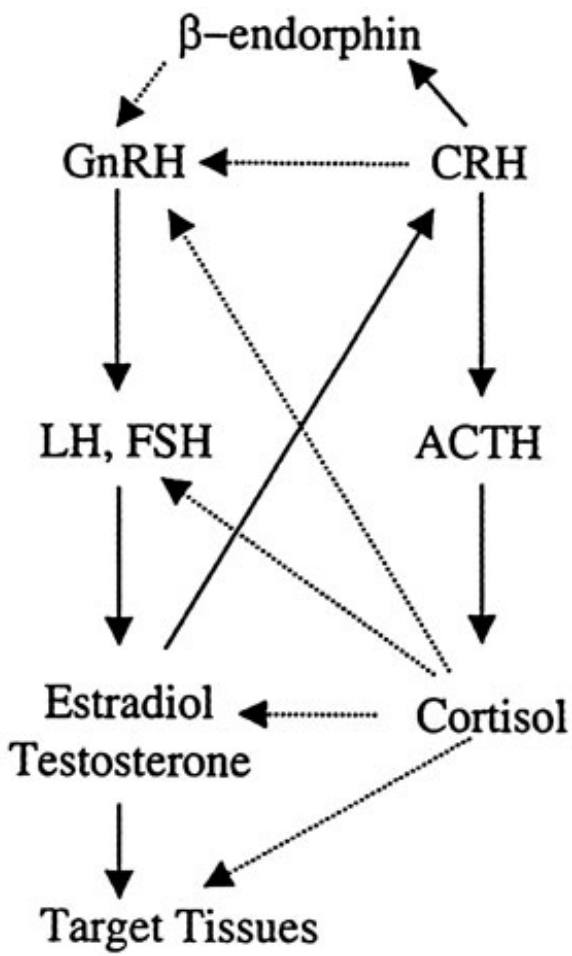
- Стимумулира директно стероидогенезата(гранулозни и тека клетки)
- Синергично действие с LH и FSH върху стероидогенезата (гранулозни и тека клетки)
- Стимулира експресията на рецептори за LH (гранулозни клетки)
- Стимулира 17α-хидроксилазата (продукция на андрогени) (тека клетки)
- Стимулира експресията на P450 ароматаза (гранулозни клетки)



Source: Nat Clin Prac Endocrinol © 2007 Nature Publishing Group


hypothalamus
(-)
GnRH
abnormal feedback
regulation promotes
LH>>FSH
anterior pituitary
(-)
insufficient FSH
to stimulate
granulosa cells
FSH
LH
estrogen
androgens converted
by aromatase in
body tissues
(+)
granulosa
cells
theca
cells
ovary
androgens
hirsutism, acne
insulin
hyperinsulinemia
increases
hyperandrogenism

Ефекти на кортизол в овариалния цикъл



- Стрес-индуцираното повишение на плазмения кортизол подтиска преовулаторното увеличение на естрадиола и пика на LH
- Кортизолът може също да подтисне естрадиоловата синтеза чрез намаляване чувствителността на яйчника към гонадотропни хормони.

Кортизол – имуносупресивни ефекти

- Основната функция на кортизола в имунната система е да отслаби активността й, така че организмът да може да се справи с предизвикателството.
- Хроничен стрес води до резистентност на GR, което от своя страна компрометира подтискането на инфламаторния отговор.
- Без адекватна глюкокортикоидна регулация, продължителността и/или интензитета на инфламаторния отговор нарастват – повишена секреция на локални проинфламаторни цитокини (IL-1β, TNFα, IL-6…)
- IL-1β вероятно има ефект върху продукцията на естрадиол-17β. Доказано е in vitro в човешки гранулозни клетки, че IL-1β подтиска синтезата на естрадиол-17β. Най-вероятно, IL-1β инхибира активността на ароматаза P450.
- GC(и инсулин) упражняват анти-инфламаторните си ефекти чрез инхибиране на NF-kB сигналния път

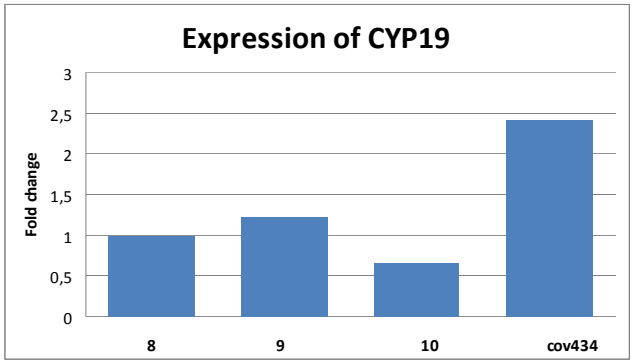
Цел

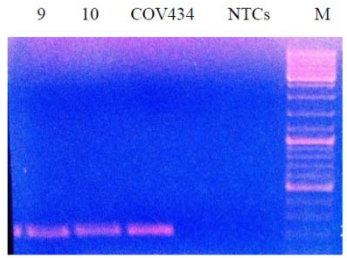
Да се изясни взаимодействието между ендокринните и паракринните механизми в регулация на стероидната секреция в човешки яйчник, използвайки ин витро модели на нарушена инсулинова и глюкокортикоидна сигнализация в клетъчни линии от гранулозни клетки и овариални култури. В моделите ще бъде изследван ефекта на глюкокортикоиди, инсулин и проинфламаторния цитокин IL-1β върху нивата на NF-kB с оглед модулиране на стероидогенезата чрез действие върху ключовия ензим за синтезата на естрадиол – цитохром P450 ароматаза.

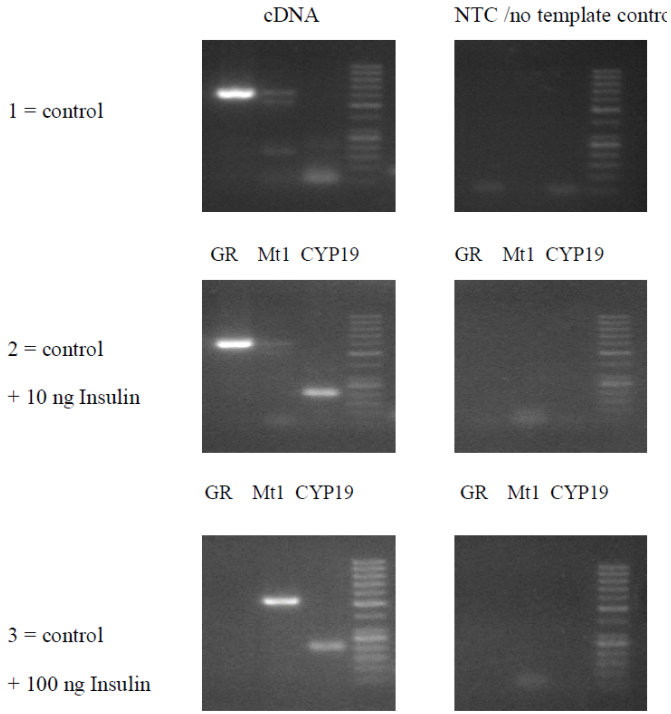
Задача I

Култивиране и характеризиране на клетъчна линия COV434

- Установяване на стероидогенния капацитет на клетките в отговор на FSH – естрадиол, ароматаза P450, рецептор за FSH;
- Установяване експресията на компонентите на IL-1 системата и GR;







Методи:

Култивиране, SDS-PAGE и Western blotting, имуноцитохимия

Задача II

Разработване на in vitro модел за проучване ефектите на резистентност на глюкокортикоидния рецептор в клетъчна линия COV434

- Разработка на модел на резистентност на GR в COV434 и валидиране чрез дексаметазонов тест

и

- Оценка на секреторния профил на COV434 клетки в разработения модел – E2, ароматаза P450, нива на NF-kB;

Методи:

Култивиране и фамакологични третирания, SDS-PAGE и Western blotting, PCR, RT-PCR

Задача III

Ефекти на инсулин и IL-1β в COV434 гранулозни клетки в условия на резистентност към GC

- Ефекти на инсулин и IL-1β върху експресията на CYP19A1 и сиснтезата на E2;
- Ефекти на инсулин и IL-1β върху NF-kB в COV434 при базални условия и в модел на GC резистентност

Методи:

Култивиране, SDS-PAGE и Western blotting, PCR, RT-PCR

Задача IV

- Установено е, че гранулозните клетки експресират глюкокортикоидни рецептори, както и мембранен рецептор за мелатонин
- Мелатонин се съдържа във фоликулна течност
- Мелатонин и глюкокортикоиди имат взаимно противоположен циркаден ритъм и се свързват към специфични промотори на CYP19A1 (ArPI.4 и ArPII)
- Мелатонинът има доказано значение като хомеостатичен анти-глюкокортикоиден и стрес-протективен фактор

Проучване ролята на мелатонин като модулатор на глюкокортикоидни въздействия върху стероидогенезата в разработения модел

Очаквани резултати

Очакваните резултати от проекта са да бъдат установени взаимовръзките между хронично повишените нива на GC и инсулин, от една страна, и проинфламаторния цитокин IL-1β, от друга, и ролята им в регулацията на естрадиоловата секреция в яйчник.

Резултатите биха предоставили цялостен поглед върху възможните причини за нарушена яйчникова функция при жени със синдром на инсулинова резистентност – основна характеристика на диабет 2 тип, метаболитен синдром, синдром на поликистозни яйчници и др. В перспектива, данните, получени в хода на проекта, биха дали основа за търсене на нови таргети при третирането на ановулаторни и субфертилни състояния при жената.

it's friday!

cheers!!