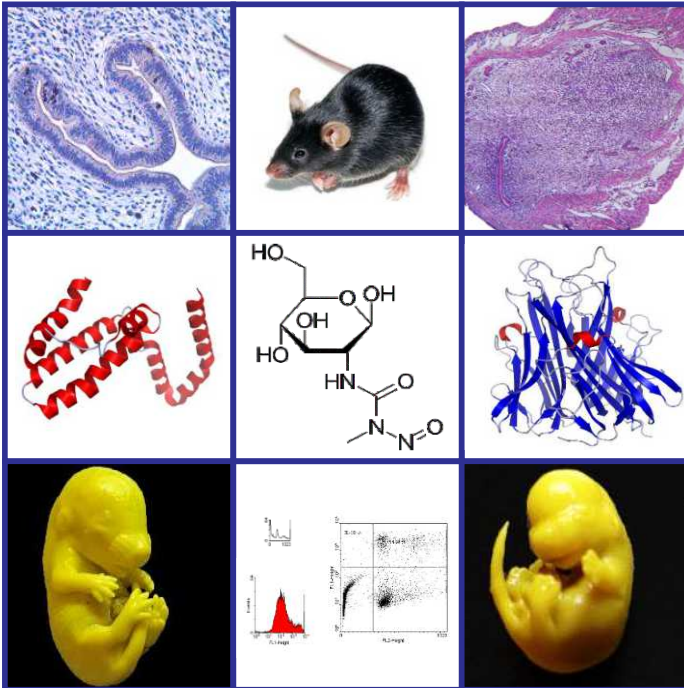


მ. გონგაძე

ნ. გოგია, ც. ათამაშვილი,

ა. სეფაშვილი, მ. იობაძე

დიაბეტით გამოწვეული
განვითარების თანდაყოლილი
მანკები და თვითნებური აბორტები



დიაბეტით გამოწვეული
განვითარების
თანდაყოლილი მანკები და
თვითნებური აბორტები

მაკა გონგაძე,
ნუნუ გოგია, ციციხო ათამაშვილი,
აკაკი სეფაშვილი, მანანა იობაძე

**ღიაბებით გამოწვეული განვითარების
თანდაყოლილი მანკები და
თვითნებური აბორტები**

**ინტერლეიკინ-10-ისა და $TNF\alpha$ -ს როლი
ღიაბებით გამოწვეული სკონტანური
აბორტების პათოგენეზში**

თბილისი

2017

რედაქტორი:

დავით მიქელაძე, აკადემიკოსი, პროფესორი, ილიას
სახელმწიფო უნივერსიტეტი

ქიმიური ბიოლოგიის ინსტიტუტი, დირექტორი

ბიოქიმიის განყოფილების ხელმძღვანელი, ივანე
ბერიტაშვილის ექსპერიმენტული მედიცინის ცენტრი

რეცენზენტები:

ია ფანცულაია, ასოცირებული პროფესორი,
იმუნოლოგიის დეპარტამენტი, თბილისის სახელმწიფო
სამედიცინო უნივერსიტეტი

თსსუ ვლ. ბახუტაშვილის სამედიცინო ბიოტექნოლოგიის
ინსტიტუტი, დირექტორი

ნადეჟდა ჯაფარიძე, პროფესორი, ნიუ ვიუენ
უნივერსიტეტი

უფროსი მეცნიერ თანამშრომელი, ივანე ბერიტაშვილის
ექსპერიმენტული მედიცინის ცენტრი

**წიგნი დაიბეჭდა შოთა რუსთაველის საქართველოს
ეროვნული სამეცნიერო ფონდის მხარდაჭერით**

© 2017, მაკა გონგაძე, ნ. გოგია, ც. ათამაშვილი,

ა. სეფაშვილი, მ. იობაძე

ISBN 978-9941-27-471-8

UDC (უაკ) 616.12-008.1-053.2+616.632.18-053.2

წინასიტყვაობა

წიგნში წარმოდგენილია თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტის ვლ. ბახუტაშვილის სახელობის სამედიცინო ბიოტექნოლოგიის ინსტიტუტში შესრულებული კვლევა (FR-330/7-160/14), რომელიც შოთა რუსთაველის საქართველოს ეროვნული სამეცნიერო ფონდის მხარდაჭერით შესრულდა. ამ კვლევას საფუძველი 2010 წელს ჩაეყარა, როდესაც ჩვენ მიერ ნოკაუტ თავგებზე ჩატარებულ ექსპერიმენტებში, საინტერესო შედეგები იქნა მიღებული. $IL10^{+/+}$ (C57BL/6J) და $IL10^{-/-}$ (B6.129P2-*Il10*^{tm1Cgr/J}) თავგები ამერიკის ჯექსონის ლაბორატორიიდან შევიძინეთ, საქართველოს ეროვნული სამეცნიერო ფონდის მიერ დაფინანსებული პროექტის (№ GNSF/ST08/2-377) ფარგლებში. ამიტომ, მართებულად მივიჩნით წიგნში შეგვეტანა ორივე პროექტის მონაცემები.

აქვე არ შეგვიძლია არ გავიხსენოთ ჩვენი ინსტიტუტის ყოფილი დირექტორი, აწ გარდაცვლილი თეიმურაზ თოფურია, რომლის ხელშეწყობით მოხერხდა ნოკაუტი თავგების შენახვის და გამრავლებისათვის განსაკუთრებული პირობების შექმნა. აგრეთვე გვინდა მადლობა გადავუხადოთ ყველა ადამიანს, ვინც ხელი შეგვიწვეს პროექტის შესრულებაში. თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტის ადმინისტრაციას, ფინანსური რესურსების მართვის და აღრიცხვა-ანგარიშგების დეპარტამენტის თანამშრომლებს და თსსუ ვლ. ბახუტაშვილის სახელობის სამედიცინო ბიოტექნოლოგიის ინსტიტუტის დირექტორს და ყველა ჩვენ კოლეგას.

შესავალი

მსოფლიოში დიაბეტი ერთ-ერთი ყველაზე გავრცელებული ქრონიკული დაავადებაა. რეპროდუქციული ასაკის ქალების, საკმაოდ მაღალი პროცენტია ავად და ამიტომ დიაბეტით მოავადე ქალებში, ორსულობის მიმდინარეობის და გამოსავალის მექანიზმების შესწავლა ძალზედ აქტუალურია. ნაყოფის განვითარების პათოლოგიების და სხვადასხვა გართულებების გამო, არასასურველი გამოსავალის თავიდან აცილება თანამედროვე მედიცინის ერთ-ერთი პრიორიტეტული საკითხია.

დედისეული დიაბეტი არღვევს ემბრიონის განვითარებას და ნაყოფი-პლაცენტა კომპლექსის ჩამოყალიბებას. შედეგად იმატებს სპონტანური აბორტების რაოდენობა, ხშირია ორსულობის შეწყვეტა და განვითარების თანდაყოლილი მანკები. ასევე შესაძლებელია ემბრიოგენეზის ისეთი დარღვევები, რომელიც თავსიხენს მოგვიანებით, ახალშობილის ზდასრულ ასაკში.

დიაბეტის ფონზე მიმდინარე ორსულობის ნეგატიური გამოსავლის ძირითად ეტიოლოგიურ ფაქტორად ითვლება სისხლში გლუკოზის დონის მატება. დღეს, მკვლევართა უმრავლესობა მიიჩნევს, რომ ჰიპერგლიკემია იწვევს ჟანგბადის რეაქტიული ფორმების ჭარბ სინთეზს, რაც

განაპირობებს ანომალური განვითარების და თვითნებური აბორტების რაოდენობის ზრდას. ჟანგბადის რეაქტიული ფორმები უამრავ უჯრედშიდა პროცესში იღებს მონაწილეობას და ამიტომ ძნელია შემდგომი პათოლოგიური პროცესის მექანიზმების ნათლად წარმოდგენა. კლინიკური კვლევები არ იძლევა დიაბეტის ფონზე მიმდინარე ორსულობის ნეგატიური გამოსავალის მექანიზმების სრულ სურათს, აუცილებელია ექსპერიმენტული კვლევა, რომელიც ორსულობის ყველა ეტაპზე მოგვცემს ნათელ წარმოდგენას, თუ რა ხდება საშვილოსნოში, რათა შემუშავდეს მიზანმიმართული მკურნალობა. ამიტომ, ყოველივე ზემოთქმულიდან გამომდინარე, მიზნად დავისახეთ ჩაგვეტარებინა ექსპერიმენტები თავგებზე. ჩვენი კვლევა ორ ნაწილად გაფაერთ: პირველად შევისწავლეთ დიაბეტის ფონზე მიმდინარე ორსულობის მექანიზმები და შემდგომ – ამ მექანიზმების კორექციის შესაძლო ვარიანტები.

თავდაპირველად, ორსულობის ადრეულ ეტაპზე, შევისწავლეთ დიაბეტი-გამოწვეული პერიმპლანტაციური ემბრიონების ლეტალობა, ემბრიონთა პოსტიმპლანტაციური განვითარება და ამ პროცესებში მონაწილე საკვანძო მოლეკულების ექსპრესია. ამ მიზნით გამოვიყენეთ ორი ფუნდამენტური მოდელი: I) სტრეპტოზოტოცინის ინექციით გამოწვეული დიაბეტი $IL10^{-/-}$ და $IL10^{+/+}$ თავგებში და II) ჰიპერგლიკემიის გავლენა $IL10^{-/-}$ და $IL10^{+/+}$ თავგების ტროფობლასტების უჯრედებზე.

დიაბეტით გამოწვეული ნეგატიური გამოსავალის თავიდანაცილების მიზნით, მიღებულ შედეგებზე დაყრდნობით, შევარჩიეთ კლინიკურ პრაქტიკაში აპრობირებული ორი, ფუნქციურად განსხვავებული, ციტოკინი: ინტერლეიკინ-10 (IL-10) და სიმსივნის ნეკროზის ფაქტორი ალფა (TNF α). მეორე ეტაპზე შევისწავლეთ ინტელეიკინ 10 და TNF α -ს საწინააღმდეგო მონოკლონური ანტისხეულების ადმინისტრირების გავლენა დიაბეტით გამოწვეულ პერინატალურ სიკვდილობაზე და თანდაყოლილ სტრუქტურულ ანომალიებზე. ცხოველებში, სტრეპტოზოტოცინით ინდუცირებული დიაბეტის დროს, გამოვიკვლიეთ IL-10-სა და TNF α -ს ზემოქმედების მექანიზმები უჯრედულ და მოლეკულურ დონეზე.

კვლევაში გამოყენებული იყო თანამედროვე მეთოდები: ELISA, FACS TUNEL და IHC.

წინამდებარე კვლევა ერთ-ერთი პირველთაგანია, რომელშიც კომპლექსურადაა შესწავლილი დიაბეტით გამოწვეული ემბრიოპათიების მექანიზმები და მისი კორექციის შესაძლო გზები. ჩვენს მიერ მიღებული შედეგები მნიშვნელოვნად გააღრმავებს ცოდნას დიაბეტით გამოწვეულ სპონტანური აბორტებისა და თანდაყოლილი ანომალიების მექანიზმების შესახებ; შესაძლებელს გახდის საფუძველი ჩაეყაროს ამ პრობლემის პრევენციის და მკურნალობის ახლებურ მიდგომას.

თაზო I

ღიაბეტი და ორსულობა

დღეს, სხვადასხვა მონაცემების მიხედვით, მსოფლიოში დიაბეტით 230 - 347 მილიონი ადამიანია ავად, რაც ზრდასრული მოსახლეობის დაახლოებით 6%-ს შეადგენს. დიაბეტის საერთაშორისო ფედერაციის პროგნოზით, 2025 წლისათვის დიაბეტით მოავადე მოსახლეობის რაოდენობა ორჯერ გაიზრდება. აქვე უნდა აღინიშნოს, რომ ავადობის სიხშირე განვითარებად ქვეყნებში გაცილებით მაღალია, ვიდრე განვითარებულ ქვეყნებში და მსოფლიო მოავადე მოსახლეობის დაახლოებით 70%-ს შეადგენს. დიაბეტი მეოთხე ადგილზეა იმ დაავადებებს შორის, რომელიც ლეტალური გამოსავალის მიზეზია.

არსებობს შაქრიანი დიაბეტის სამი ფორმა:

- **შაქრიანი დიაბეტი ტიპი I** – ხასიათდება კუჭქვეშა ჯირკვლის უჯრედების დესტრუქციით, რაც ინსულინის უკმარისობას იწვევს. ჩვეულებრივ ვითარდება ადრეულ ასაკში.
- **შაქრიანი დიაბეტი ტიპის II** – ხასიათდება უპირატესად ინსულინის მიმართ რეზისტენტობით და ინსულინის ფარდობითი უკმარისობით. ასევე შესაძლებელია სეკრეტორული ფუნქციის უკმარისობა, ინსულინის მიმართ რეზისტენტობით ან მის გარეშე. ჩვეულებრივ ვითარდება 30 წლის ასაკის შემდეგ.

- **შაქრიანი დიაბეტი ტიპი III** - გესტაციური დიაბეტი, უფითარდებთ ქალებს 28-ე კვირის ორსულობის შემდეგ და ხასიათდება გლუკოზის უტილიზაციის ტრანზიტორული დარღვევით.

შაქრიანი დიაბეტით მოავადე ქალების ორსულობის მართვა აქტუალური პრობლემაა მთელ მსოფლიოში. შაქრიანი დიაბეტი ტიპი I მიეკუთვნება ორსულთა ერთ-ერთ ყველაზე საშიშ ქრონიკულ დაავადებებს. კლინიკურ პრაქტიკაში ინსულინის ფართოდ გამოყენებამდე, შაქრიანი დიაბეტი ტიპი I მოავადე ქალებში ორსულობა იყო იშვიათი და ხასიათდებოდა დედათა (44%-მდე) და პერინატალური (60%-მდე) მაღალი სიკვდილობით. დღეს, გინეკოლოგიურ პრაქტიკაში დიაგნოსტიკური საშუალებების და ინსულინოთერაპიის ფართოდ გამოყენების გამო, დედათა სიკვდილობა შემცირდა და არ განსხვავდება ორსულთა საერთო პოპულაციის მაჩვენებლისაგან. ხოლო პერინატალური სიკვდილობა, გართულებული შაქრიანი დიაბეტი ტიპი I მოავადე ორსულ ქალებში, კვლავ მაღალი რჩება და სხვადასხვა ავტორთა მონაცემების მიხედვით 3-დან 15%-ს შეადგენს. გარდა ამისა, მაღალია სპონტანური აბორტებისა და ნაყოფის განვითარების თანდაყოლილი ანომალიების საშიშროება. ორსულებში იმატებს სისხლძარღვოვანი გართულებების პროგრესირების, დიაბეტური კეტოაციდოზის, მიიმე ჰიპოგლიკემიის, ორსულობის მეორე ნახევრის ჰესტოზის, შარდ-სასქესო

გზების ინფექციების, ჭარბწყალიანობის, საკეისრო კვეთის აუცილებლობის და ნაადრევი მშობიარობის რისკები.

დიაბეტი ტიპი I მოავადე ქალებისათვის დგება შთამომავლობის ყოლის მიზანშეწონილობის საკითხი. კლინიკური კვლევების თანახმად, შაქრიანი დიაბეტის სტაბილური კომპენსაცია არა თუ ამცირებს შემდგომი გართულებების განვითარების რისკს, არამედ უმრავლეს შემთხვევაში, იძლევა ნორმალური შთამომავლობის ყოლის შესაძლებლობას. ამიტომ ენდოკრინოლოგებისა და გინეკოლოგების ძირითადი მიზანია ნახშირწყლოვანი ცვლის სტაბილური კომპენსაცია მთელი ორსულობის პერიოდში, ჩასახვიდან -- მშობიარობამდე.

თავი II

დიაბეტის ფონზე მიმდინარე ორსულობის ბამოსავალი

დიაბეტი ტიპი I ღრუს გამოვლენილი ანტენატალური და ნეონატალური პათოლოგიები

ანტენატალურ პათოლოგიებს მიეკუთვნება ჩანასახის და ნაყოფის ყველა სახის გადახრა ნორმალური განვითარებიდან, რომელიც გეხვედება ზიგოტის ფორმირებიდან მშობიარობის დაწყებამდე. ანტენატალური პათოლოგიებს ტიპური გამოვლინებაა განვითარების

თანდაყოლილი მანკები (გთმ) – ორგანოებისა (ან ორგანოთა სისტემების) და ქსოვილების უხეში ანატომიური ცვლილებები, რომელიც არღვევს მათ ფუნქციას. ცოცხლადშობილთა შორის თგმ-ს საშუალო სიხშირე 0,7-1,3 %, პერინატალურ პერიოდში დაღუბულ ბავშვებში – 10-15 % და სპონტანური აბორტების დროს – 70-80 %. ასევე ადგილი აქვს ნაყოფის განვითარების შეფერხებას, შემთხვევების სიხშირე ახალშობილებში 6,5-დან 30%-მდე მერყეობს.

ანტენატალური განვითარების ყველა პათოლოგია არ გამოვლინდება დაბადებისას ან ნეონატალურ პერიოდში. შაქრიანი დიაბეტის დეკომპენსაციის ფონზე, ანტენატალურ პერიოდში მიღებული ტვინის დაზიანება შესაძლოა გამოვლინდეს პირველად სკოლამდელ ან სასკოლო ასაკში IQ –ს დაქვეითების სახით.

დიაბეტის ფონზე მიმდინარე საშვილოსნოსშიდა განვითარების პათოლოგიის ფორმები

შაქრიანი დიაბეტი ტიპი I და ტიპი II მოავადე ქალებისათვის აუცილებელია ორსულობის დაგეგმვა, ვინაიდან ჰიპერგლიკემია იწვევს რეპროდუქციული სისტემის დაზიანებებს, რომელიც შემდგომ ორსულობაზე აისახება. დიაბეტის ფონზე მიმდინარე ორსულობის დროს ცნობილია საშვილოსნოსშიდა განვითარების შემდეგი პათოლოგიები:

დიაბეტური გამეტოპათია – განაყოფიერებამდე, სასქესო უჯრედებში მიმდინარე პათოლოგიური ცვლილებები; იწვევს სპონტანურ აბორტებს, განვითარების თანდაყოლილ მანკებს და მემკვიდრულ დაავადებებს.

დიაბეტური ბლასტოპათია – ზიგოტის დაზიანება, განაყოფიერებიდან პირველი ორი კვირის განმავლობაში, იწვევს ჩანასახის სიკვდილს, საშვილოსნოსგარე ორსულობას, თგმ-ს ჩანასახოვანი ღეროს ფორმირების დარღვევას (სიმეტრიული, ასიმეტრიული და არასრულად დაშორებული ტყუპები, ციკლოპია, სირინგომიელია, თირკმელების აპლაზია და სხვა).

დიაბეტური ემბრიოპათია – ჩანასახის დაზიანება ნიდაციის მომენტიდან (განაყოფიერებიდან მე-7 დღეს) პლაცენტის ფორმირებამდე (გესტაციის 75-ე დღემდე), ვლინდება სხვადასხვა ორგანოებისა და სისტემების თგმ, ტერატომები (ემბრიოციტომები) და სპონტანური აბორტები.

ფეტოპათია – ნაყოფის დაავადებების ზოგადი დასახელება, რომელიც ვითარდება გესტაციის მე-12 კვირიდან, კონკრეტულად 76-ე დღიდან მშობიარობის დაწყებამდე. ფეტოპათიებს მიეკუთვნება: ნაყოფის განვითარების შეფერხება, ემბრიონალური სტრუქტურების პერსისტირების შედეგად განვითარებული გომ (მაგალითად, ნაწლავის ფისტულა, ღია არტერიული სადინარი ან ოვალური ხვრელი, მეტანეფროგენული ბლასტომის კერა ახალშობილის თირკმელში) ან ემბრიონალური ნაპრალები (ტუჩის, მაგარი სასის, ხერხემლის, ურეტრის გახლეჩა),

ორგანოთა თავდაპირველი განლაგების შენარჩუნება (კრიპტოხიზმი), ცალკეული ორგანოებისა და ქსოვილების ჰიპოპლაზია და დისპლაზია (თირკმელების ჰიპოპლასტიური დისპლაზია, ოლიგონეფრონია, ჰიდროცეფალია და სხვა) .

თანდაყოლილი განვითარების მანკები და თვითნებური აბორტები

დიაბეტი ტიპი I მოავადე ქალებში განვითარების თანდაყოლილი მანკები შეადგენს 6-12 %-მდე, რაც 2-5-ჯერ მეტია საერთო პოპულაციასთან შედარებით (2.3%). დიაბეტი ტიპი I მოავადე ქალებში პერინატალური სიკვდილობის მიზეზია გომ-ს კლინიკურად მნიშვნელოვანი დეფექტები და დაახლოებით 40% შეადგენს. დიაბეტი ტიპი I ძირითადად აზიანებს ნაყოფის ცენტრალურ ნერვულ სისტემას, კუჭ-ნაწლავის ტრაქტს, გულ-სისხლძარღვთა, შარდ-სასქესო და საყრდენ-მამოძრავებელ სისტემებს.

მიღსის და თანაავტორების მიერ ნაყოფის ცალკეული ორგანოების მორფოლოგიურმა შესწავლამ აჩვენა, გულის, ნერვული ღეროს და ძვლოვანი სისტემის მანკების განვითარების ტენდენცია შაქრიანი დიაბეტი დაავადებულ ორსულებში. გარდა ამისა მათი მონაცემებით, კაუდალური რეგრესიის სინდრომის განვითარება მჭიდროდაა დაკავშირებული დიაბეტი ტიპი I-თან.

შაქრიანი დიაბეტით მოავადე ორსულებში, საერთო პოპულაციასთან შედარებით, ორჯერ უფრო ხშირია (30-60 %) თვითნებური აბორტები.

ნერვული ღეროს ჩასახვა საშვილოსნოსშიდა განვითარების მე-3-4-ე კვირას ხდება, გულ-სისხლძარღვთა და შარდ-სასქესო სისტემებისა – მე-5 კვირას, მთელი ორგანოგენეზი მე-8 კვირას სრულდება. სპონტანური აბორტების და გთმ-ს განვითარება დამოკიდებულია ნახშირწყლოვანი ცვლის კომპენსაციის ხარისხზე ადრეული (ჩასახვამდე 3-4 კვირით ადრე) პერიოდიდან ორგანოგენეზის ბოლომდე. ამიტომ, განვითარების თანდაყოლილი ანომალიების რისკის მაქსიმალურად შესამცირებლად, აუცილებელია ორსულობა იყოს გეგმიური.

თავი III

დიაბეტის ფონზე მიმდინარე ორსულობის გამოსავლის მექანიზმები უჯრედულ და მოლეკულურ დონეზე

უამრავი კვლევა, როგორც კლინიკური ასევე ექსპერიმენტული, ტარდება პერინატალური სიკვდილობისა (სპონტანური აბორტები) და განვითარების თანდაყოლილი ანომალიების მექანიზმების შესასწავლად. თუმცა, კლინიკური კვლევების შედეგები ნათლად არ ასახავს

პათოლოგიური პროცესების მექანიზმებს, ძნელია თითოეული მარკერის როლის შეფასება. ცხოველებზე ჩატარებული ცდები მეტ შესაძლებლობას გვაძლევს, ზუსტად განვსაზღვროთ მოლეკულის როლი საშიველოსნოში მიმდინარე პროცესში. ამ მიზნით, ექსპერიმენტებში გამოიყენებენ ნოკაუტ ცხოველებს, რომლებსაც გათიშული აქვთ რომელიმე კონკრეტული გენი.

უკანასკნელი ათწლეულის განმავლობაში უამრავი ექსპერიმენტი ჩატარდა ნოკაუტ თაგვებზე და დაგროვდა მონაცემი სხვადასხვა მარკერების შესახებ, ისინი მნიშვნელოვან როლს თამაშობენ და წარმოადგენენ სამიზნე მოლეკულებს ორსულობის გამოსავალსა თუ დიაბეტით გამოწვეულ ემბრიოპათიებში.

ლეიკემიის მაინჰიბირებელი ფაქტორი (LIF) ექსპრესირდება ანთების დროს და საგარაუდოთ მარეგულირებლის ფუნქცია გააჩნია. ამ ციტოკინის ძირითადი როლი თაგვების ემბრიონალურ იმპლანტაციაში, გაირკვა ნოკაუტ თაგვებზე ჩატარებულ ცდებში. ნაჩვენებია იყო, რომ LIF^{-/-} თაგვის საშიველოსნოში ემბრიონთა იმპლანტაცია არ მიმდინარეობს, მაშინ როდესაც LIF^{-/-} ბლასტოციისტები ვითარდება ნორმალურად, ისევე როგორც LIF^{+/+} საკონტროლო ცხოველებში. ეს მონაცემები გვიჩვენებს, რომ LIF-ის ექსპრესიის დისრეგულაციამ საშიველოსნოში, შესაძლოა გამოიწვიოს იმპლანტაციისათვის აუცილებელი მგრძობელობის ტოტალური დაკარგვა.

სტრუქტოზოტოციინით ინდუცირებული დიაბეტის დროს, TNF α ნოკაუტ თაგვებზე ჩატარებული ცდებიდან დადგინდა: 1) დიაბეტიან TNF $\alpha^{+/+}$ თაგვებს ორსულობის სისშირე (თანაფარდობა შეჯვარებულ ორსულ და არაორსულ მდედრებს შორის) გაცილებით დაბალი აქვს ვიდრე დიაბეტიან TNF $\alpha^{-/-}$ მდედრებს და 2) ორსულობის სისშირის შემცირება გამოწვეულია პერიიმპლანტაციური სტადიის ემბრიონების ტოტალური სიკვდილით ორსულობის მე-5-8 დღის შუალედში. პერიიმპლანტაციურ ემბრიონთა სიკვდილი შესაძლოა განპირობებული იყოს საშვილოსნოს მგრძნობელობის და შემდგომი იმპლანტაციისათვის მნიშვნელოვანი მექანიზმების დისფუნქციით ან ბლასტოციტების იმპლანტაციის და შემდგომი განვითარების უნარის დარღვევით.

ნაჩვენებია, იმპლანტაციის დროს, საშვილოსნოში პროანთებითი ციტოკინების ჭარბი სეკრეცია, როგორც ექსპერიმენტული დიაბეტის დროს და ასევე დიაბეტით მოავადე ქალთა პლაცენტაში. საშვილოსნოს ქსოვილში ასევე იზრდება რეაქტიული ჟანგბადის სახეობების, პროსტაგლანდინების, აზოტის ოქსიდისა (NO) და პეროქსინიტრიტის გამოიმუშავება. NO –ს ძალუძს მატრიქს მეტალოპროტეინაზების (MMPs) აქტივობის მოდულირება ნაყოფ-პლაცენტარულ კომპლექსში. პროანთებითი ციტოკინი- TNF α იწვევს ტრანსკრიფციული ფაქტორის NF- κ B –ს აქტივაციას, რომელიც ასტიმულირებს TNF α -ს და

ინდუციბელური NO სინთაზას ექსპრესიას, ხოლო ეს უკანასკნელი თავის მხრივ ასინთეზირებს NO-ს დიდი რაოდენობით. აზოტის ოქსიდი თავად ზრდის ინდუციბელური NO სინთაზას აქტივობას და იწვევს NO-ს გენერაციას დიაბეტიანი ვირთაგვების ნაყოფ-პლაცენტარულ კომპლექსში; ადგილი აქვს პლაცენტისა და ნაყოფის ორგანოების ფორმირებასა და ფუნქციონირებაში მონაწილე მნიშვნელოვანი MMP-ის ოჯახის ფერმენტების დისრეგულაციას.

ადამიანის პლაცენტის ფორმირების დროს, ხდება ნაყოფის ციტოტროფობლასტური ღეროვანი უჯრედების დიფერენცირება, საშვილოსნოს კედელში მათი ინვაზია და სპირალურ არტერიასთან დაკავშირება. ამ პროცესის შედეგად პლაცენტა უკავშირდება საშვილოსნოს და იწვევს ნაყოფის დედის სისხლით მომარაგება. ორსულობის ადრეულ ეტაპზე (დიფერენცირებისა და ინვაზიის დროს), ციტოტროფობლასტური უჯრედები ასინთეზირებენ მატრიქს მეტალოპროტეინაზა 9-ს (MMP-9) დიდი რაოდენობით, რაც იწვევს უჯრედშორის მატრიქსის დეგრადაციას და ზრდის ინვაზიის სიღრმეს. ორსულობის შუა პერიოდში, როდესაც ეს პროცესი დასრულებულია, MMP-9-ს დონე მცირდება. ციტოტროფობლასტური უჯრედები ასინთეზირებენ ადამიანის ინტერლეიკინ-10-ს (hIL-10), რომელიც არის ციტოტროფობლასტების ინვაზიის და MMP-9-ს აქტივობის აუტოკრინული ინჰიბიტორი.

IL- 10 ნოკაუტ (IL10^{-/-}) თაგვებზე ჩატარებულმა კვლევებმა აჩვენა, რომ ეს ციტოკინი არ არის მნიშვნელოვანი ფიზიოლოგიური ორსულობის გამოსავალში. როგორც ჩანს, IL10-ს მნიშვნელოვანი როლი ენიჭება ანთების ფონზე მიმდინარე ორსულობის გამოსავალში. IL10^{-/-} თაგვებში LPS-ის ძალიან მცირე დოზის შეყვანაც კი (რომელიც არ მოქმედებს IL10^{+/+} საკონტროლო თაგვებზე) იწვევს ნაადრევ მშობიარობას. ენდოგენური IL10 არის ორსულობის ფიზიოლოგიური ფაქტორი მიმართული ანთებითი სტრესის საწინააღმდეგოდ.

ადრეულმა კვლევებმა დაადასტურა, რომ ვირთაგვების LPS – ით ან Escherichia coli – ით ინფიცირებისას IL10-ის ადმინისტრირებით მცირდება ნაყოფის სიკვდილიანობა და ზრდის შეფერხება. ეგზოგენური IL10 ასევე ამცირებს ნაყოფთა რეზორბციებს CBA/J x DBA/2 თაგვებში, მაშინ როდესაც IL10-ის საწინააღმდეგო ანტისხეულების შეყვანა იწვევს ნაყოფის სიკვდილიანობასა და ფეტოპათიებს.

ისმის კითხვა:

- რა როლს ასრულებს IL10 საშვილოსნოში დიაბეტიტით გამოწვეული ორსულობის გამოსავალში? ჩვენ ვვარაუდობთ, რომ დიაბეტი ამცირებს IL10 პროდუქციას, შესაბამისად იზრდება TNF α -ს ექსპრესია საშვილოსნოს უჯრედებში, შედეგად მიმდინარეობს საშვილოსნოს მგრძობელობის შექმნისა და წარმატებული იმპლანტაციისათვის მნიშვნელოვანი მოლეკულების (ისეთების როგორიცაა LIF,

MMP-9, NO) დისრეგულაცია და დისფუნქცია. ყოვილივე ამის დასადგენად ჩავატარეთ ცდები და შევისწავლეთ დიაბეტის ფონზე მიმდინარე ორსულობის გამოსავალის მექანიზმები IL10 ნოკაუტ თაგვებში და შესწავლილი მექანიზმების საფუძველზე შევეცადეთ ნეგატიური გამოსავალის კორექციის გზების ძიებას.

თავი IV

დიაბეტის ბავშვნა IL10^{-/-} (B6.129P2-*Il10*^{tm1Cgn}/J) და IL10^{+/+} (C57BL/6J) თაგვებში ორსულობის გამოსავალზე

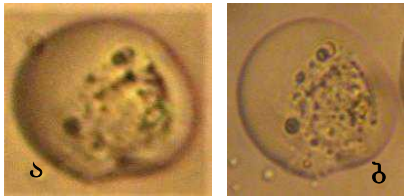
დიაბეტით გამოწვეული სპონტანური აბორტების და თანდაყოლილი ანომალიების მექანიზმების შესასწავლად გამოვიყენეთ *in vivo* და *in vitro* მოდელი. IL-10^{-/-} და IL-10^{+/+} თაგვები შევისყიდეთ ჯექსონის ლაბორატორიაში და გავამრავლეთ (ექსპერიმენტისათვის საჭირო რაოდენობა) ჩვენ ინსტიტუტში არსებულ ვივარიუმში. ექსპერიმენტის სიზუსტისათვის შესაჯავრებლად მდედრებს ვათავსებდით მამრებთან სიბნელის პერიოდში სამი საათით ერთსა და იმავე დროს და ვაგინალური საცობების აღმოჩენას მივიჩნევდით ორსულობის პირველ დღეთ. დიაბეტს ვიწვევდით სტრეპტოზოტოცინის ერთჯერადი ინექციით და

სისხლში გლუკოზის დონის მიხედვით დაყვავით ჯგუფებად. სხვადასხვა გამოკვლევების ჩასატარებლად საშივილონოს ნიმუშებს ვაგროვებდით ორსულობის 3-8 დღის შუალედში. 3-4 დღეს ორსულობას ვადასტურებდით ბლასტოციტების გამოდევნით, ხოლო 5-6 დღეს საშივილონოში ჩიკაგოს ლურჯი ხსნარის შეყვანით. სპონტანური აბორტების რაოდენობის დადგენის მიზნით ორსულობის მე-9 დღეზე ვითვლიდით რეზორბციების და იმპლანტაციის ადგილთა რაოდენობას. პოსტიმპლანტაციური განვითარების შესასწავლად ორსულობის მე-15 დღეს ვიკვლევდით ემბრიონების შინაგან და გარეგან სტრუქტურულ ანომალიებს. *in vitro* ექსპერიმენტებში შევისწავლეთ ჰიპერგლიკემიის გავლენა ორსულობის მე-9 დღეს დიაბეტიანი და არადიაბეტიანი თაგვების პლაცენტიდან მიღებულ და ტროფობლასტების უჯრედებზე.

ორსულობის აღრეულ ეტაპზე დიაბეტი-ბამოწვეულ ემბრიონთა სიკვდილობის შესწავლა

სტრუქტოზოტოცინით გამოწვეული დიაბეტის ფონზე თაგვებში ორსულობის სიხშირე (შეჯვარებული მდედრებს შორის ორსულთა წილი) გაცილებით დაბალია არადიაბეტიან თაგვებთან შედარებით. ამ კვლევებში, შეჯვარებულ, მაგრამ არაორსულ ცხოველთა საშივილონოებში არც იმპლანტაციის ადგილი და არც

რეზორბციები არ იქნა ნაპოვნი. ეს შედეგები მიგვიჩვენებს, რომ პრე- ან პერიიმპლანტაციურ სტადიაზე ემბრიონთა სიკვდილი განაპირობებს დიაბეტის ფონზე წარუმატებელ ორსულობას. ამ საკითხის გასარკვევად, ჩვენ შევაფასეთ ორსულობის სისშირე მეოთხე (პრეიმპლანტაციის პერიოდის დასასრული) და მერვე (იმპლანტაციის პერიოდის დასასრული) დღეზე სტრეპტოზოტოცინის ინექციით გამოწვეულ დიაბეტიან თაგვებში. აღმოჩნდა, რომ ორსულობის მეოთხე დღეს დიაბეტიან და არადიაბეტიან თაგვებში ორსულობის სისშირე იდენტურია, მაგრამ ორსულობის მერვე დღეს - მკვეთრად მცირდება. დიაბეტის სიმძიმის მიუხედავად, ბლასტოციტების განვითარება ორსულობის მეოთხე დღეს იდენტურია ნოკაუტ და საკონტროლო თაგვებში (სურათი 1). აქედან გამომდინარე ჩვენ დავასკვნით, რომ ორსულობის წარუმატებლობა განპირობებულია პერიიმპლანტაციის სტადიაზე ადრეული ემბრიონების (ბლასტოციტების) დაღუპვით.



სურათი 1. IL10^{+/+} (ა) და IL10^{-/-} (ბ) თაგვის ბლასტოციტი ორსულობის მე-4 დღეს

კვლევის შედეგებმა ასევე აჩვენა, რომ სისხლში გლუკოზის დონის მომატებასთან ერთად, ინტერლეიკინ 10 დეფიციტურ (IL 10^{-/-}) თაგვებში, ორსულობის სისშირე მკვეთრად ეცემა და მიიმე ღიაბეტის (გლუკოზა $\geq 19,4$ მმოლ/ლ) ფონზე ეს მაჩვენებელი 4,2%-ია, ხოლო საკონტროლო (IL 10^{+/+}) თაგვების იმავე ჯგუფში - 15,3% შეადგენს (ცხრილი 2). საკონტროლო და ნოკაუტ თაგვებში, რეზორბციების რაოდენობას შორის არ დაფიქსირდა სარწმუნო სხვაობა (ცხრილი 1).

ცხრილი 1

პოსტიმპლანტაციური განვითარება

ინდექსი	ინტაქტური		STZ-ინჟექციონული			
	IL-10 ^{+/+}	IL-10 ^{-/-}	IL-10 ^{+/+}		IL-10 ^{-/-}	
			არადიაბეტისი	დიაბეტისი	არადიაბეტისი	დიაბეტისი
შეგარებული თაგვების რაოდენობა	13	14	27	127(131)	15	188(235)
ორსული თაგვების რაოდენობა	7	8	15	30	9	22
ორსულობის სისშირე	53,8%	57,1%	55,6%	23,6%	60,0%	11,7%
რეზორბციების რიცხვი	8,3%	10,9%	7,1%	18,9%	9,8%	21,3%
ემბრიონების მასა	0,72	0,69	0,73	0,58	0,67	0,49
გამოვლული ემბრიონების რაოდენობა	41	48	77	98	56	114
ანოზალიების სისშირე	1(2,4%)	1(2,1%)	2(2,6%)	8(8,2%)	1(1,8%)	11(9,6%)

ორსულობის მე-4 დღეს საკონტროლო თაგვების საშვილოსნოს მასა გაცილებით (დაახლოებით 2,5-ჯერ) მეტი იყო, ნოკაუტი თაგვების საშვილოსნოს მასასთან შედარებით. ამ ვადაზე, საშვილოსნოს უჯრედებში მიმდინარე პროლიფერაცია და აპოპტოზი არ შეგვისწავლია,

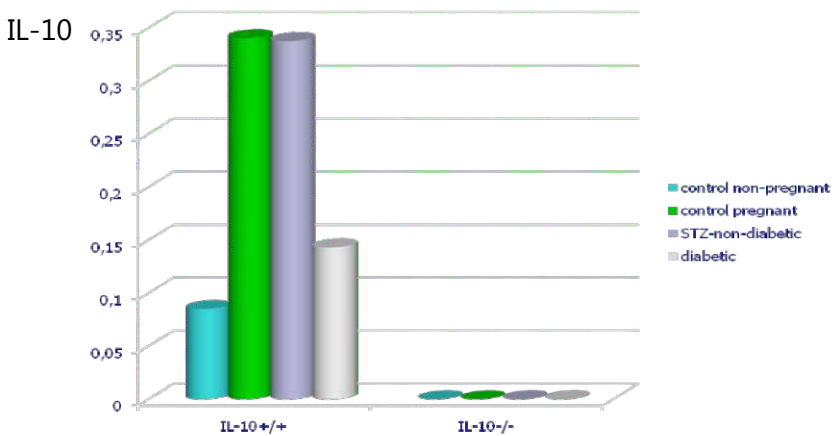
თუმცა საშვილოსნოს მასა ამ პროცესების ინტენსივობაზე მიგვანიშნებს. მიიძე დიაბეტის ფონზე, სავარაუდოდ, დათრგუნულია საშვილოსნოს უჯრედების პროლიფერაცია, ხოლო აპოპტოზის პროცესი ინტენსიურია და ეს დისბალანსი მეტადაა გამოხატული ნოკაუტ თაგვებში.

იმპლანტაციის პროცესში მონაწილე მნიშვნელოვანი მოლეკულეების ექსპრესიის შესწავლა

დიაბეტით გამოწვეული სპონტანური აბორტების პათოგენეზში ინტერლეიკინ-10-ს, სიმსივნის ნეკროზ ფაქტორ ალფას, ლეიკემიის მაინჯიბირებელ ფაქტორს, მატრიქს მეტალოპროტეინაზა 9-ს და აზოტის ოქსიდის როლის გასარკვევად შევისწავლეთ, იმპლანტაციის პერიოდში საშვილოსნოს მიერ ამ მოლეკულების ექსპრესია ნოკაუტ IL 10^{-/-} და IL 10^{+/+} თაგვებში.

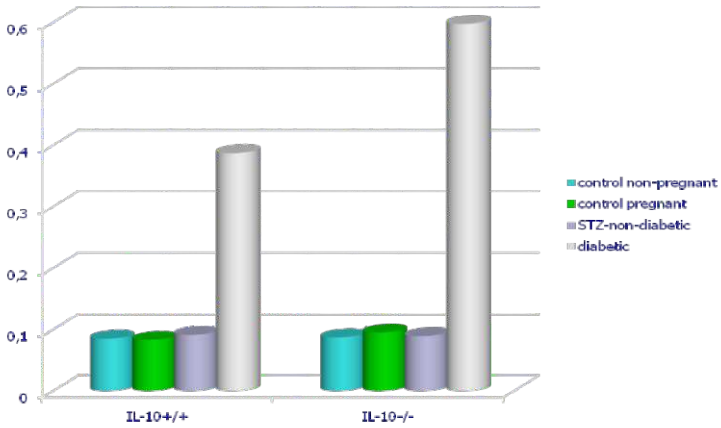
როგორც მიღებული შედეგებიდან ჩანს, საკონტროლო IL 10^{+/+} ცხოველებში IL-10-ს სეკრეცია საშვილოსნოს ღორწოვან გარსში მკვეთრად იმატებს ორსულობის მეოთხე დღეს, იმპლანტაციის პერიოდის დასაწყისში (სურათი 2). ამ ვადაზე TNF α -ს ექსპრესიის დონე თითქმის (არ დაფიქსირდა სარწმუნო განსხვავება) ისეთივეა როგორც არაორსულ საკონტროლო თაგვების ჯგუფში. ხოლო დიაბეტის ფონზე ხდება ანტიანთებითი ციტოკინის IL-10-ს სინთეზის შემცირება და პროანთებითი ციტოკინის TNF α -ს სეკრეციის

მატება (სურათი 3). რაც შეეხება ამ ციტოკინების ექსპრესიის დონეს ნოკაუტ ცხოველებში, IL-10-ს სინთეზი (სურათი 2) არ მიმდინარეობს (რაც ადასტურებს, რომ ამ ცხოველებს გათიშული აქვთ IL 10-ის მაკოდირებელი გენი), ხოლო დიაბეტის ფონზე TNF α -ს ექსპრესიის დონე გაცილებით მაღალია (დაახლოებით 1,5-ჯერ) IL 10^{-/-} დეფიციტურ თაგვებში, საკონტროლო IL 10^{+/+} ცხოველებთან შედარებით (სურათი 3). გარდა ამისა დიაბეტის ფონზე, მკვეთრად იმატებს აზოტის ოქსიდის დონე საშვილოსნოს ლორწოვან გარსში ორივე ხაზის თაგვებში. თუმცა აქაც დაფიქსირდა სარწმუნო სხვაობა, დაახლოებით 1,7 -ჯერ მეტია აზოტის ოქსიდის შემცველობა ნოკაუტი თაგვების ნიმუშებში (სურათი 4).

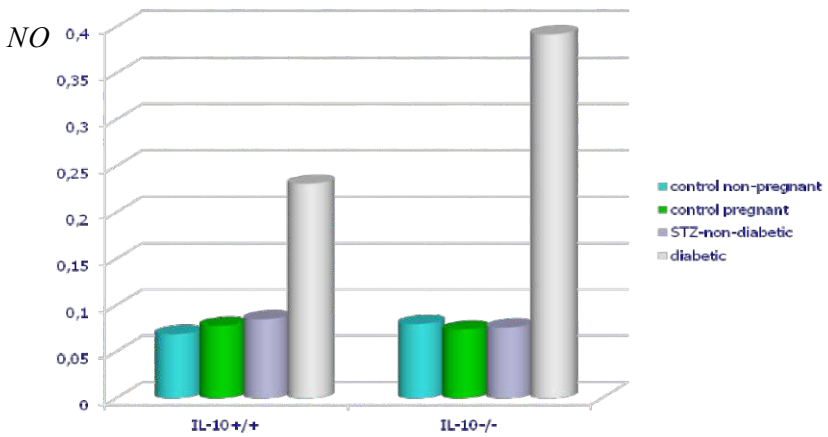


სურათი 2. საშვილოსნოს ლორწოვან გარსში IL10-ს ექსპრესია ორსულობის მე-4 დღეს

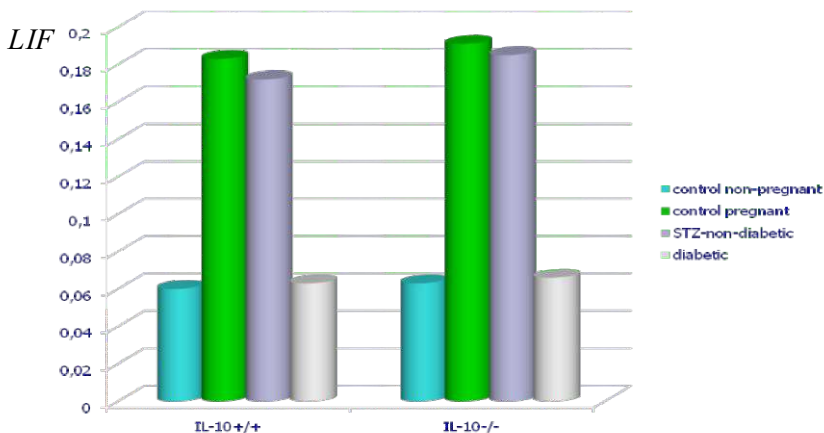
TNF- α



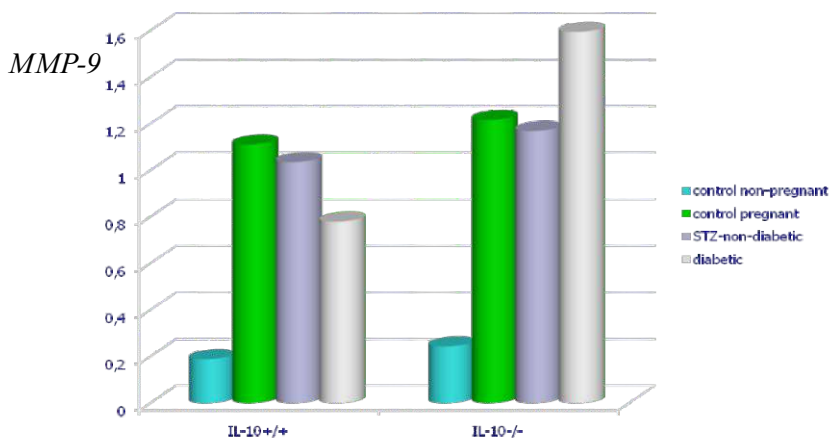
სურათი 3. საშვილოსნოს ღორწოვან გარსში TNF α -ს ექსპრესია ორსულობის მე-4 დღეს



სურათი 4. საშვილოსნოს ღორწოვან გარსში NO-ს სინთეზი ორსულობის მე-4 დღეს



სურათი 5. საშვილოსნოს ღორწოვან გარსში LIF-ს სინთეზი ორსულობის მე-4 დღეს



სურათი 6. საშვილოსნოს ღორწოვან გარსში MMP 9-ს სეკრეცია ორსულობის მე-4 დღეს

რაც შეეხება LIF-სა და MMP-9-ს ექსპრესიას ჯანმრთელ თაგვებში (იგულისხმება ორივე ხაზი), აქ შემდეგი სურათია. ორსულობის მეოთხე დღეს LIF-ს ექსპრესია ორსულ თაგვებში 3-3,5-ჯერ მეტია ვიდრე არაორსულ თაგვებში (სურათი 5), ხოლო MMP-9 –ს სეკრეცია – 5-6-ჯერ (სურათი 6). დიაბეტის ფონზე LIF-ს ექსპრესია მკვეთრად მცირდება ორივე IL 10^{+/+} და IL 10^{-/-} თაგვებში, ხოლო MMP-9 –ს სინთეზი საკონტროლო IL 10^{+/+} თაგვებში მცირდება და ნოკაუტ IL 10^{-/-} თაგვებში იზრდება (სურათი 5,6).

დიაბეტის დროს საშვილოსნოს უჯრედებში TNF α -ს ექსპრესიის ზრდა, საშუალებას გვაძლევს ვივარაუდოთ, რომ ეს ციტოკინი ადრეულ ემბრიონალურ სტადიაზე, დიაბეტით გამოწვეული სიკვდილობის მედიატორია და იწვევს ორსულობის სისშირის მკვეთრ შემცირებას. ასეთი ზემოქმედება სავარაუდოდ დაკავშირებულია მისი მოქმედების შემდეგ მექანიზმებთან: TNF α იწვევს ტრანსკრიფციული ფაქტორის NF- κ B –ს აქტივაციას და იწვევს თავად TNF α -ს და ინდუციბელური NO სინთაზას ექსპრესიას. შესაბამისად შაქრიანი დიაბეტის დროს ირღვევა NO-ს ნორმალური გამომუშავება საშვილოსნოს ქსოვილში და იმატებს აპოპტოზის პროცესის ინტენსივობა. დიაბეტის ფონზე საშვილოსნოში ამ პროანთებითი ციტოკინის ჭარბი სინთეზი ნაწილობრივ ასოცირებულია ანტიანთებითი ციტოკინი - IL-10-ის ექსპრესიის ინჰიბირებასთან საკონტროლო IL 10^{+/+} თაგვებში, ვინაიდან IL-10 TNF α -ს

აუტოკრინული იზიბიტორია. IL-10 -- პლეიოტროპული ციტოკინია, რომელიც მონაწილეობს იმუნური პასუხის რეგულირებაში და დიაბეტის ფონზე ამ ციტოკინის სუპრესიამ შეიძლება გამოიწვიოს იმპლანტაციის უბნების შემცირება. ნოკაუტ თაგვებში ამ ციტოკინის დეფიციტის გამო იმპლანტაციის პროცესი თითქმის სრულადაა დარღვეული.

ლეიკემიის მაინჰიბირებელი ფაქტორის (LIF) ექსპრესიის დისრეგულაცია საშვილოსნოში იწვევს იმპლანტაციისათვის აუცილებელი მგრძობელობის ტოტალურ დაკარგვას. ამიტომ, იმპლანტაციის პროცესში ამ ციტოკინის ჭარბი სეკრეცია აუცილებელი პირობაა, რომ მოხდეს იმპლანტაციის პროცესის ინიცირება. დიაბეტის ფონზე ამ პროანთებითი ციტოკინის ექსპრესია ირღვევა, რაც განაპირობებს იმპლანტაციის პროცესის ნაწილობრივ წარუმატებლობას, როგორც ნოკაუტ IL 10^{-/-} ასევე საკონტროლო IL 10^{+/+} თაგვებში.

მატრიქს მეტალოპროტეინაზა 9-ს (MMP-9), ზემოქმედებით ირღვევა ექსტრაუჯრედული მატრიქსი რაც საშუალებას გვაძლევს ვივარაუდოთ:

- იმპლანტაციის ადრეულ ეტაპზე, MMP-9-ს ექსპრესიის მკვეთრი მატების გამო ბლასტოციტი ვერ ასწრებს მომწიფებას და გამოიდევნება ნოკაუტ IL 10^{-/-} თაგვების საშვილოსნოდან ან შესაძლოა

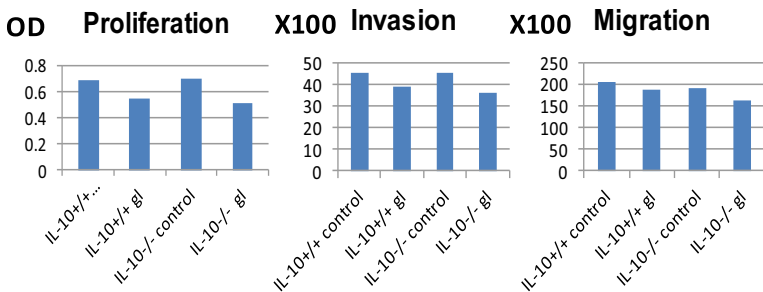
- დაქვეითებულია ამ ფერმენტის აქტივობა და ჭარბი სინთეზი არის ორგანიზმის კომპენსატორული რეაქციის შედეგი.

ჰიპერბლიკემიის ბავლენის უსწავლა ტროფობლასტების უნძციურ აქტივობაზე

ცნობილია, რომ დიაბეტი აფერხებს ემბრიონისა და ნაყოფი-პლაცენტა კომპლექსის ჩამოყალიბებას. რის შედეგადაც იზრდება პლაცენტის დისფუნქცია, რეზორბციების და თანდაყოლილი ანომალიების რიცხვი. უჯრედულ და მოლეკულურ დონეზე საშვილოსნოში მიმდინარე პროცესები იწვევს ენდომეტრიუმის მომზადებას, რათა მოხდეს ბალსტოცისტების წარმატებული იმპლანტაცია. ტროფობლასტების ინვაზია არის დროებითი, ლოკალური პროცესი, რომელიც არეგულირებს იმპლანტაციას და ემბრიონის ჟანგბადით მომარაგებას. პლაცენტაციის პროცესის შესაფასებლად, შევისწავლეთ ტროფობლასტების ფუნქციური აქტივობა ჰიპერგლიკემიის ფონზე.

ნორმოგლიკემიურ გარემოში, საკონტროლო IL 10^{+/+} და ნოკაუტ IL 10^{-/-} თაგვების, ტროფობლასტების პროლიფერაციის, ინვაზიისა და მიგრაციის პროცესი ერთნაირად მიმდინარეობს. ტროფობლასტების უჯრედულ სუსპენზიაში 100 მმოლ/მლ გლუკოზის დამატება მნიშვნელოვნად ამცირებს უჯრედთა პროლიფერაციის უნარს. საკონტროლო IL 10^{+/+} და ნოკაუტ IL 10^{-/-} თაგვების

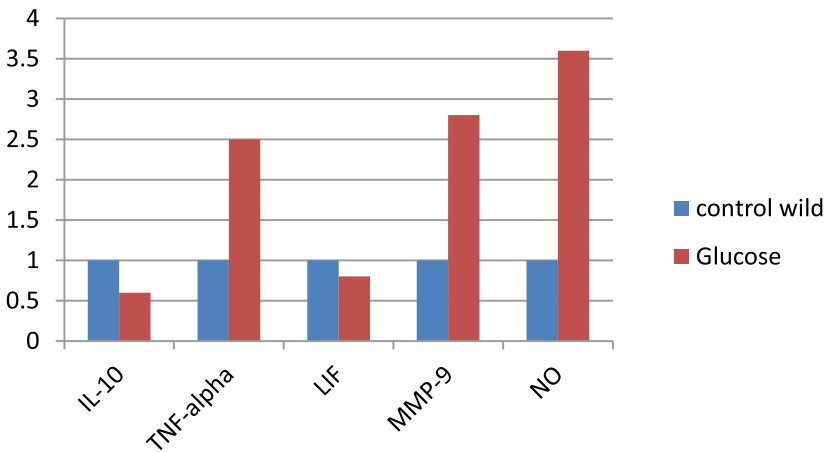
ტროფობლასტების უჯრედების პროლიფერაციული აქტივობა მცირდება – შესაბამისად დაახლოებით 20% და 26%-ით. ჰიპერგლიკემია აგრეთვე მოქმედებს უჯრედების ინვაზიასა და მიგრაციის უნარზე. საკონტროლო თაგვების ტროფობლასტების ინვაზია მცირდება 87%-მდე, ხოლო მიგრაცია 92%-მდე. ნოკაუტი თაგვების ტროფობლასტები გამოირჩევიან მგრძნობელობით გლუკოზის მაღალი შემცველობის მიმართ, ამიტომ ინვაზია 80%-მდე, ხოლო მიგრაცია 85%-მდე არის შემცირებული (სურათი 7). საკონტროლო და ნოკაუტი თაგვების უჯრედებზე ჩატარებულმა ცდებმა საშუალებას მოგვცა ვივარაუდოთ, რომ ტროფობლასტების ფუნქციური აქტივობა მნიშვნელოვანად დამოკიდებულია ინტერლეიკინ 10-ს სეკრეციის უნარზე.



სურათი 7. ჰიპერგლიკემიის გავლენა ტროფობლასტების ფუნქციურ აქტივობაზე

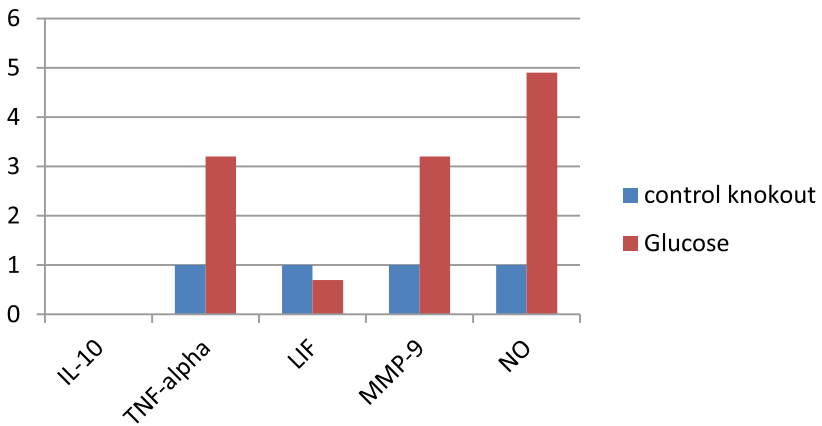
ჰიპერგლიკემიის გავლენის უსწავლა იმპლანტაციისათვის მნიშვნელოვანი მოლეკულების სინთეზაზე

უჯრედული მედიატორები IL10, TNF α , LIF, MMP-9 და NO იმპლანტაციის პროცესის გარდა ასევე მონაწილეობენ პლაცენტაციის პროცესში. პლაცენტის ფორმირებაში მათი როლის დასადგენად ჩატარებული იყო *in vitro* ცდები. ნორმოგლოკემიურ და ჰიპერგლიკემიურ ნიადაგში საკონტროლო IL 10^{+/+} და ნოკაუტ IL 10^{-/-} ტროფობლასტების, ინკუბაციის შემდეგ, სუპერნატანტებში შეფასებული იყო IL-10, TNF-alpha, LIF, MMP-9 და NO-ს კონცენტრაცია.



სურათი 8. ჰიპერგლიკემიის გავლენა IL-10^{+/+} თაგვის ტროფობლასტების უჯრედების მიერ მოლეკულების ექსპრესიაზე

ჰიპერგლიკემიის ფონზე აღინიშნა ამ მოლეკულების დისბალანსი, ორივე – საკონტროლო IL 10^{+/+} და ნოკაუტ IL 10^{-/-} უჯრედებში. საკონტროლო ხაზის ცხოველების უჯრედებში, ჰიპერგლიკემია ამცირებს ინტერლეიკინ 10-ს სეკრეციას (60%-მდე) და ზრდის პროანთებითი ციტოკინის TNF-alpha-ს (2,5-ჯერ) ექსპრესიას, მიმდინარეობს აზოტის ოქსიდის ჭარბი გენერაცია (3,6-ჯერ აღემატება ნორმოგლიკემიურ კონტროლს), მცირდება LIF –ს და იმატებს MMP-9-ს ექსპრესია (20%-ით და 2,8-ჯერ შესაბამისად) (სურათი 8).



სურათი 9. ჰიპერგლიკემიის გავლენა IL-10^{-/-} თავის ტროფობლასტების უჯრედების მიერ მოლეკულების ექსპრესიაზე

ინტერლეიკინ 10 ნოკაუტი თავების ტროფობლასტები გაცილებით მგრძობიარეა ჰიპერგლიკემიური გარემოს მიმართ. TNF- α -ს ექსპრესია 3,2-ჯერ და აზოტის ოქსიდის

გენერაცია 4,9-ჯერ აღემატება ნორმოგლიკემიურ კონტროლს, მაშინ როდესაც LIF –ის სინთეზი 30%-ით მცირდება და MMP-9-ს ექსპრესია 3,2-ჯერ იზრდება (სურათი 9).

ჰიპერგლიკემიური გარემო არღვევს შესწავლილი მოლეკულების სინთეზს და ტროფობლასტების ფუნქციურ აქტივობას. მიღებული მონაცემები ადასტურებს IL10–ს მნიშვნელოვან როლს პლაცენტაციის პროცესში.

ინტერლეიკინ 10-ს უდიდესი როლი ენიჭება დიაბეტის ფონზე მიმდინარე ორსულობის გამოსავალში. IL10 დეფიციტური ორსული თაგვები გაცილებით მგრძობიარენი არიან სტრეპტოზოტოცინით ინდუცირებული დიაბეტის მიმართ. IL10^{-/-} და IL10^{+/+} თაგვებში ფიზიოლოგიური ორსულობა ერთნაირად ვითარდება, მაგრამ ერთნაირი სიმძიმის მქონე დიაბეტის ფონზე გამოსავალი განსხვავდება. IL-10 დეფიციტურ თაგვებში გაცილებით დაბალია ორსულობის სისშირე, ვიდრე საკონტროლო თაგვებში. იმპლანტაციამდე ორივე სახის თაგვებში ბლასტოციტების განვითარება ერთნაირად მიმდინარეობს, მაგრამ დარღვეულია იმპლანტაციის პროცესი. არ ხდება საშვილოსნოს მომზადება იმპლანტაციისათვის. შეფერხებულია ბლასტოციტის ჩანერგვის და შემდგომში ნორმალური განვითარების პროცესი.

იმპლანტაციისათვის აუცილებელია საშვილოსნოს უჯრედების ინტენსიური დიფერენცირება და პროლიფერაცია. LIF-ს და MMP-9–ს მოლეკულების ექსპრესიის ზრდა და NK უჯრედების გააქტიურება. დიაბეტის ფონზე ეს პროცესები

დარღვეულია და განპირობებულია მონაწილე მნიშვნელოვანი მოლეკულების (IL-10-ს, TNF α -ს, LIF-ს, NO-სა და MMP-9-ს) დისფუნქციით. ყველა ეს მოლეკულა მნიშვნელოვანია იმპლანტაციის პროცესში და მათი ურთიერთრეგულაციის დარღვევა იწვევს სავალალო შედეგს – სპონტანურ აბორტებს.

ეგზრონთა პოსტიმპლანტაციური განვითარების უსწავლა

ნაყოფის პოსტიმპლანტაციური განვითარება შევისწავლეთ ორსულობის მე-15 დღეს (ნაცვლად მე-18 დღისა), ვინაიდან სისხლში გლუკოზის დონის მატებასთან ერთად იზრდებოდა ნოკაუტი თავგების სიკვდილიანობა (ცხრილი 2).

ცხრილი 2

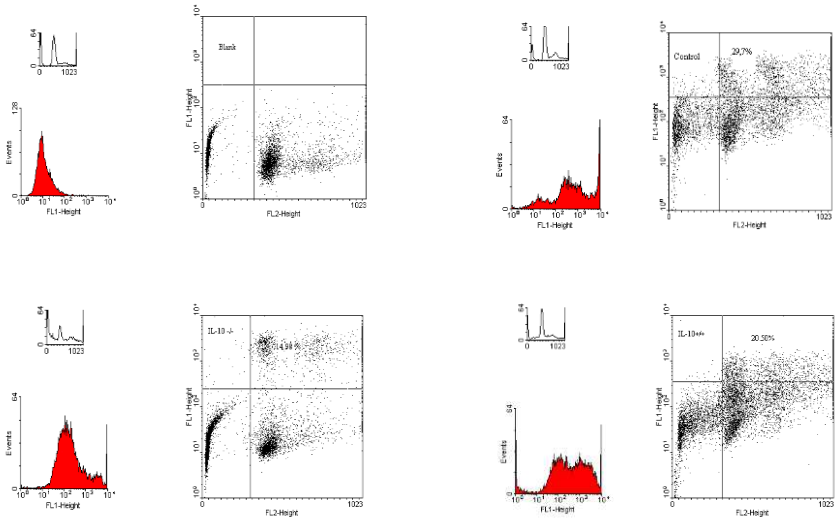
პოსტიმპლანტაციური განვითარება დიაბეტის სიმძიმეზე დამოკიდებულებით

	IL-10 ^{+/+}			IL-10 ^{-/-}		
	ანამალები	ორსულობის სიხშირე	სიკვდილიანობა	ანამალები	ორსულობის სიხშირე	სიკვდილიანობა
მწუხურე სიმძიმის დიაბეტი (10-13,9 mmol/l)	2/56(3,6%)		3%	1/24(4,2%)		20%
საშუალო სიმძიმის დიაბეტი (13,9-19,4 mmol/l)	1/20(5,0%)			1/25(4,0%)		
მაღლე დიაბეტი ($\geq 19,4$ mmol/l)	5/22(22,7%)	15,3%		9/65(13,8)	4.2%	

პოსტიმპლანტაციური განვითარების უჯრედულ დონეზე დასახასიათებლად, ნოკაუტ IL10^{-/-} და საკონტროლო

IL10^{+/+} თაგვების ემბრიონალური უჯრედების პროლიფერაციის უნარი და აპოპტოზის პროცესი, შევისწავლეთ ორსულობის მე-9 დღეს. პროლიფერაციის პროცესი დიაბეტის ფონზე მკვეთრად მცირდება ორივე საკვლევი თაგვის ემბრიონებში (დაახლოებით 30%-ა პროლიფერებადი უჯრედების რაოდენობა ორივე საკონტროლო ემბრიონებში), ხოლო დიაბეტიანი საკონტროლო IL 10^{+/+} თაგვის ემბრიონებში უჯრედების პროლიფერაცია მცირდება 21%-მდე, ხოლო ნოკაუტ IL 10^{-/-} – დაახლოებით 15%-მდე (სურათი 10). ემბრიონალური უჯრედების პროლიფერაციის უნარის დაქვეითება იწვევს ემბრიონების მასის შემცირებას დიაბეტის დროს. დაფიქსირდა ასევე საკონტროლო IL 10^{+/+} და ნოკაუტ IL 10^{-/-} თაგვების ემბრიონების მასებს შორის სხვაობა (0,58 და 0,49 შესაბამისად) (ცხრილი 1).

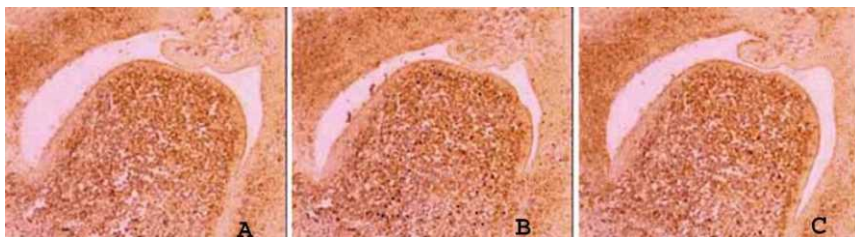
რაც შეეხება აპოპტოზის პროცესს, დიაბეტის ფონზე მატულობს აპოპტოზური უჯრედების რაოდენობა, ორივე IL10^{-/-} და IL10^{+/+} დიაბეტიანი თაგვის ემბრიონის თაგვის ანათალში. მძიმე დიაბეტის დროს, თაგვების ემბრიონების ანათლების შესწავლამ გამოავლინა, რომ საკონტროლო IL10^{+/+} ემბრიონებში დაახლოებით ორჯერ აღემატება აპოპტოზის პროცესის ინტენსივობა IL10^{-/-} თაგვების ემბრიონებთან შედარებით (სურათი 11).



სურათი 10. პოლიფერაციის პროცესის ინტენსივობა ორსულობის მე-9 დღეს IL-10^{+/+} სკონტროლო და IL-10^{-/-} ნოკაუტი თაგვების ემბრიონებში

დიაბეტიან (ჯამურად სამივე ქვეჯგუფის საერთო მაჩვენებლის) IL10^{+/+} და IL10^{-/-} თაგვებში სტრუქტურული ანომალიების განვითარებას შორის სხვაობა არ იყო დაფიქსირებული (ცხრილი 1. 8,2% და 9,6% შესაბამისად). თუმცა, მძიმე დიაბეტის შემთხვევაში IL10^{+/+} თაგვებში გაცილებით მეტია სიმახინჯეების რიცხვი (22,7%), ვიდრე ნოკაუტ IL 10^{-/-} თაგვებში (13,8%) (ცხრილი 2). ეს მონაცემები ემთხვევა იმუნოპისტოქიმიური კვლევის მონაცემებს, სადაც გამოკვლეული იყო მხოლოდ მძიმე დიაბეტიანი თაგვების

ემბრიონები (აპოპტოზური უჯრედები მსუბუქი დიაბეტის დროს არ ფიქსირდება).



სურათი 11. აპოპტოზის პროცესის ინტენსივობა ორსულობის მე-9 დღეს IL-10^{+/+} სკონტროლო და IL-10^{-/-} ნოკაუტი თაგვების ემბრიონების თავის ტვინში. A - IL-10^{-/-} ინტაქტური თაგვის ემბრიონი; B - IL-10^{-/-} დიაბეტიანი თაგვის ემბრიონი; C - IL-10^{+/+} დიაბეტიანი თაგვის ემბრიონი

დიაბეტის ფონზე, ორივე ცხოველებში ემბრიონების იმპლანტაციის შემდგომი განვითარება ერთნაირად მიმდინარეობს. იზრდება რეზორბციების რიცხვი და ანომალიების რაოდენობა, მაგრამ სარწმუნო სხვაობა საკონტროლო IL10^{+/+} და IL10^{-/-} დეფიციტურ თაგვებს შორის არ იყო დაფიქსირებული. აქედან შეიძლება დავასკვნათ, რომ იმპლანტაციის შემდგომი განვითარების პროცესში IL10-ს როლი ნაკლებმნიშვნელოვანია.

მძიმე დიაბეტის დროს IL10^{+/+} თაგვებში ანომალიების რაოდენობა მეტია ვიდრე ნოკაუტ თაგვებში. სავარაუდოთ იმპლანტაციის შემდგომი განვითარებისას ძალზედ მნიშვნელოვანია TNF α – როგორც NF κ -B-ს აქტივატორი. ამ

მოლეკულისათვის IL-10 არის აუტოკრინული ინჰიბიტორი და მისი დეფიციტი ზრდის TNF α -ს ექსპრესიას და შემდგომ NF κ -B-ს აქტივობას. ამიტომ ნოკაუტ თაგვებში TNF α -ს მაღალი დონე განაპირობებს ემბრიონში უმნიშვნელოვანესი ტრანსკრიფციული ფაქტორის აქტივობის შენარჩუნებას, რაც იცავს ემბრიონს დიაბეტის ტერატოგენული ზემოქმედებისაგან.

თავი V

IL 10-ს როლი დიაბეტით გამოწვეული სპონტანური აბორტების კათობენეზში

დიაბეტით გამოწვეული თვითნებური აბორტების ფათოგენეზში ცენტრალური როლი ინტერლეიკინ 10-ს ენიჭება. ეს ციტოკინი დიაბეტის ფონზე მიმდინარე ორსულობის გამოსავალში მარეგულირებლის როლს ასრულებს და მისი დეფიციტი დიაბეტის ფონზე, თვითნებური აბორტების რიცხვს ერთიორად ზრდის. ამიტომ ლოგიკურია კითხვა: - IL10-ს ადმინისტრირება შეამცირებს კი სპონტანური აბორტების შემთხვევებს? ეგზოგენური IL10-ს ზემოქმედებით მცირდება ორსულ ვირთაგვებში ლიპოპოლისაქარიდით (LPS) ინდუცირებული სპონტანური

აბორტების რაოდენობა. ამიტომ, დიაბეტით გამოწვეული თვითნებური აბორტების შემცირების მიზნით, გადავწყვიტეთ IL10-ს გამოყენება. შევისწავლეთ დიაბეტის ფონზე მიმდინარე ორსულობის გამოსავალზე ამ ციტოკინის ეფექტი და მოქმედების მექანიზმები. მიზნის მისაღწევად დავისახეთ შემდეგი ამოცანები:

- IL10-ს ადმინისტრირების გავლენის შესწავლა პერიმპლანტაციის სტადიაზე ემბრიონთა სიკვდილობაზე;
- IL10-ს ადმინისტრირების გავლენის შესწავლა იმპლანტაციის პროცესში საშვილოსნოს მორფოლოგიურ ცვლილებებზე;
- IL10-ს ადმინისტრირების გავლენის შესწავლა იმპლანტაციის პროცესში საშვილოსნოს უჯრედების მიერ მოლეკულების სეკრეციაზე;
- IL10-ს ადმინისტრირების გავლენის შესწავლა პოსტიმპლანტაციურ განვითარებაზე.

პერიმპლანტაციის სტადიაზე ემბრიონების სიკვდილობის შესწავლა

ცდები ჩატარდა FVB/NHanHsd ხაზის თაგვებზე და ექსპერიმენტის დიზაინი ისეთივე იყო, როგორც წინა კვლევებში. ინტერლეიკინ 10 (50მგ/კგ, ი/პ) მდედრებში შეგვყავდა ორსულობის მეოთხე დღეს.

სტრეპტოზოტოცინი (STZ) - როგორც ქიმიური ნაერთი - არ მოქმედებს პერიმპლანტაციის სტადიაზე ემბრიონების სიკვდილობაზე და განვითარების მანკებზე. სპონტანურ აბორტებს იწვევს დიაბეტი, ვინაიდან STZ-ს შეყვანის შემდეგ, თუ დიაბეტი არ ვითარდება ცხოველებში, ორსულობის სისწორე ემთხვევა ინტაქტური ჯგუფის მაჩვენებელს. ამიტომ, მხოლოდ ინტაქტური ცხოველები განიხილებოდა, როგორც საკონტროლო ჯგუფი.

FVB თაგვებში ორსულობის სისწორე მცირდება სისხლში გლუკოზის დონის მომატებასთან ერთად და მძიმე დიაბეტის ($\geq 19,4$ mmol/l) ფონზე ეს მაჩვენებელი 25%-ს შეადგენს. საშუალო სიმძიმის დიაბეტის (13,9-19,4 mmol/l) დროს ორსულობის სისწორე 40%-ია (ცხრილი 3) ხოლო, მსუბუქი დიაბეტის (10-13,9 mmol) შემთხვევაში ორსულობის სისწორე არ იცვლება.

რაც შეეხება, IL10-ს გავლენას დიაბეტის ფონზე მიმდინარე ორსულობის გამოსავალზე, საშუალო და მძიმე დიაბეტის დროს, ორსულობის სისწორე 50%-ს აღწევს. ინტაქტურ თაგვებში, IL10-ს ინექცია, პირიქით, იწვევს

აბორტების რაოდენობის მატებას და 58,8%-ს შეადგენს (ცხრილი 3). მიღებული მონაცემებიდან გამომდინარე შეიძლება ვივარაუდოთ, რომ ინტერლეიკი 10-ს შეყვანა იწვევს იმპლანტაციის პროცესის დარღვევას ფიზიოლოგიური ორსულობის დროს და შესაბამისად იზრდება სპონტანური აბორტების რაოდენობა. ხოლო დიაბეტის დროს, ეს ციტოკინი გვევლინება იმუნური პასუხის მარეგულირებლად, აღადგენს იმპლანტაციის პროცესში მონაწილე მოლეკულების ბალანსს, იზრდება საშვილოსნოს მგრძობელობა და იმპლანტაცია წარმატებულად მიმდინარეობს. ამგვარად მცირდება თვითნებური აბორტების შემთხვევები.

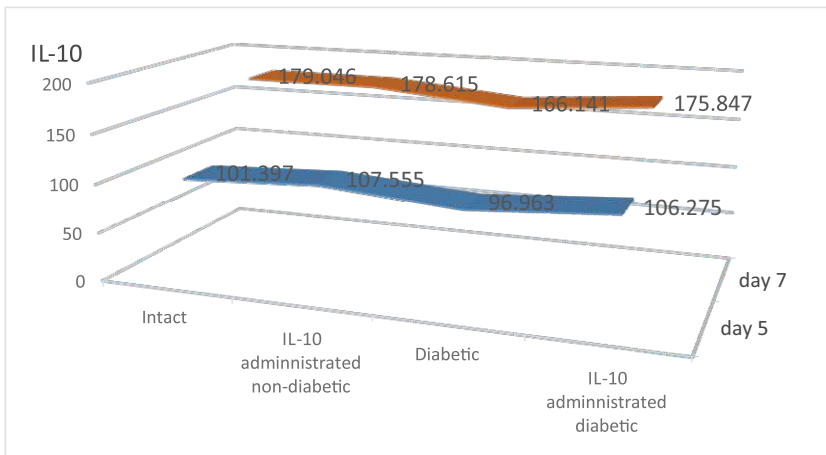
ცხრილი 3

IL10-ის აღმინისტრირების გავლენა პერიიმპლანტაციურ სტადიაზე ურსულობის გამოსავალზე

ინდექსი	არაინჰიბიციანი		დიაბეტიანი STZ-ინჰიბიტორული			
	ინტექტური	IL 10 ინჰიბიტორული	STZ		STZ + IL-10	
			საშუალო სიმძიმის დიაბეტი (13,9-19,4 mmol/l)	მძიმე დიაბეტი (13,9-19,4 mmol/l)	საშუალო სიმძიმის დიაბეტი (13,9-19,4 mmol/l)	მძიმე დიაბეტი (13,9-19,4 mmol/l)
შუგაროვანი თავების რაოდენობა	20	17	15	20	14	12
ორსული თავების რაოდენობა	11	7	6	5	7	6
ორსულობის ხიზნიერე	55,0%	41,2%	40,0%	25,0%	50,0%	50,0%
პერიიმპლანტაციურ სტადიაზე ემბრიონების სიკვდილობა	45,0%	58,8%	60,0%	75,0%	50,0%	50,0%

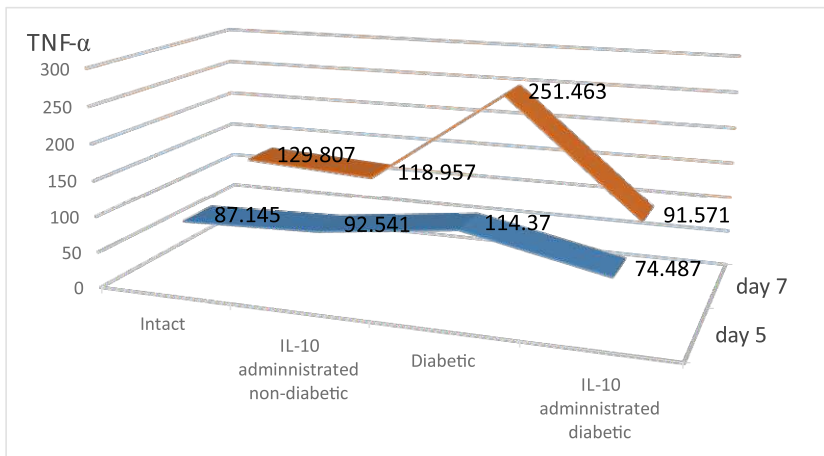
იმპლანტაციის პროცესში, საშვილოსნოს უჯრედების მიერ მოლეკულების -- IL-10-ს, TNF α -ს, LIF-ს, NO-სა და MMP-9-ს -- სეკრეციის შესწავლა

დიაბეტით გამოწვეული სპონტანური აბორტების პათოგენეზში მონაწილე მნიშვნელოვანი მოლეკულების, IL-10-ს, TNF α -ს, LIF-ს, NO-სა და MMP-9-ს სინთეზზე, ინტერლეიკინ 10-ს ზემოქმედების შესწავლის მიზნით, გამოვიკვლიეთ ორსული თაგვების საშვილოსნოს ნიმუშები. შევისწავლეთ, საშვილოსნოში ზემოსენებული მარკერების გამომუშავება იმპლანტაციის საწყისს (მე-5 დღეს) და მოგვიანებით (მე-7 დღეს) ეტაპზე.



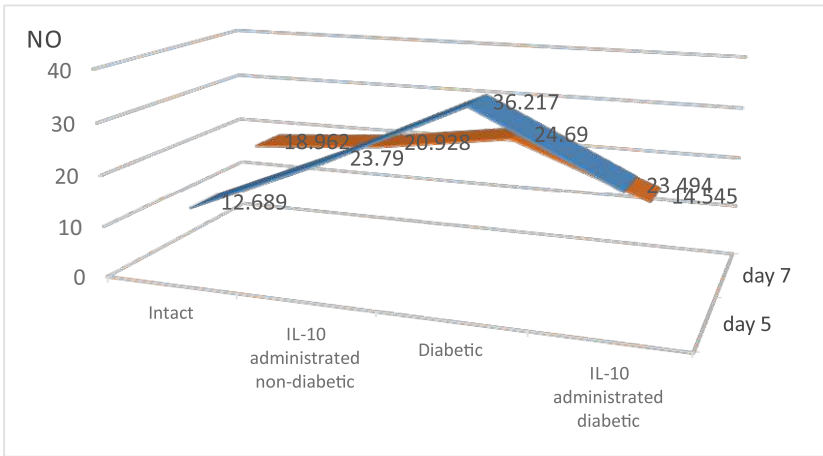
სურათი 12. ინტაქტურ და დიაბეტიან თაგვებში IL-10-ს ადმინისტრირების გავლენა საშვილოსნოს უჯრედების მიერ IL-10 სეკრეციაზე ორსულობის მე-5 და მე-7 დღეს

მიღებული შედეგებიდან ჩანს (სურათი 12-13), რომ საკონტროლო ცხოველებში, IL-10-ს და TNF α -ს სეკრეცია მკვეთრად (1,8 და 1,5-ჯერ შესაბამისად) იზრდება იმპლანტაციის პერიოდში ორსულობის მე-5-დან მე-7-ე დღემდე, ხოლო დიაბეტის ფონზე მცირდება ანტიანთებითი ციტოკინის IL-10-ს სინთეზი და იზრდება პროანთებით ციტოკინის TNF α -ს სეკრეცია. მე-7 დღისათვის TNF α -ს ექსპრესია 2-ჯერ აღემატება ჯანმრთელი თაგვების - მაჩვენებელს. დიაბეტის ფონზე, მკვეთრად იმატებს საშვილოსნოში აზოტის ოქსიდის გამომუშავება, იმპლანტაციის ორივე ვადაზე (სურათი 14).



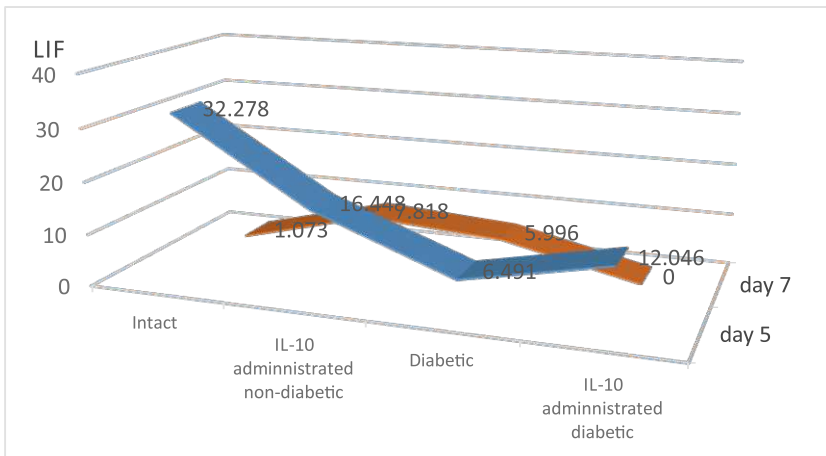
სურათი 13. ინტაქტურ და დიაბეტთან თაგვებში IL-10-ს აღმინისტრირების გავლენა საშვილოსნოს უჯრედების მიერ TNF α სეკრეციაზე ორსულობის მე-5 და მე-7 დღეს

რაც შეეხება IL 10-ს ადმინისტრირების გავლენას საშვილოსნოს მიერ NO, TNF- α და IL-10 მოლეკულების სეკრეციაზე, უნდა აღინიშნოს, რომ დიაბეტის ფონზე ამ ციტოკინის შეყვანა ამცირებს დიაბეტის მიერ გამოწვეულ დისბალანსს, მცირდება აზოტის ოქსიდისა და TNF α -ს ჭარბი წარმოება და მატულობს IL-10-ს დონე (სურათი 12-14). ხოლო არადიაბეტიან/ჯანმრთელ თაგვებში მისი შეყვანა ცვლის ფიზიოლოგიური ექსპრესიის დონეს, ორსულობის მეშვიდე დღისთვის შემცირებულია TNF α -ს სინთეზი და მეხუთე დღეს მომატებულია აზოტის ოქსიდის მაჩვენებელი.



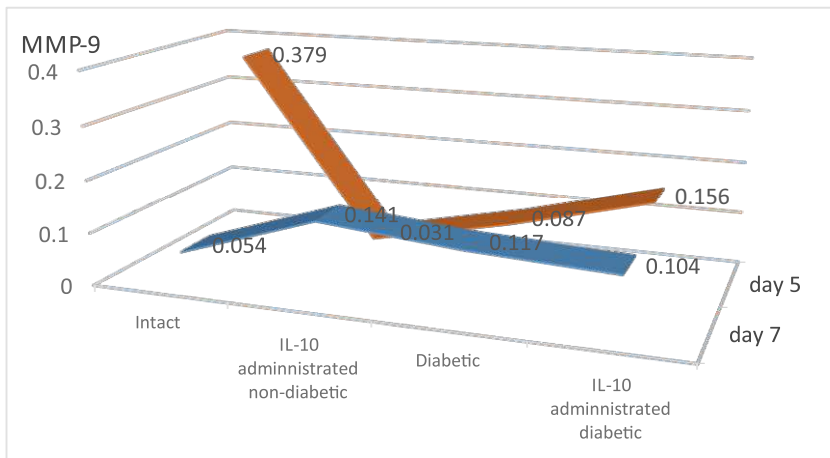
სურათი 14. ინტაქტურ და დიაბეტიან თაგვებში IL-10-ს ადმინისტრირების გავლენა საშვილოსნოს უჯრედების მიერ NO სინთეზზე ორსულობის მე-5 და მე-7 დღეს

ორსულობის მეხუთე დღისათვის LIF-ს კონცენტრაცია შეადგენს 32,3 პკგ/მლ, ხოლო MMP-9-ს – 0,05 ნგ/მლ, ხოლო ორსულობის მეშვიდე დღისათვის LIF-ს ექსპრესია მკვეთრად მცირდება (1,1 პკგ/მლ), ხოლო MMP 9-ს – იზრდება (0,38 ნგ/მლ) (სურათი 15-16). დიაბეტის ფონზე ამ მოლეკულების ექსპრესია მნიშვნელოვნად იცვლება; ორსულობის მეხუთე დღისათვის საშვილოსნოს მიერ LIF-ს სინთეზი დაახლოებით 5-ჯერ მცირდება, მაშინ როდესაც მეშვიდე დღისათვის ეს მონაცემი 5-ჯერ აღემატება საკონტროლო მაჩვენებელს. რაც შეეხება MMP-9-ს, დიაბეტის ფონზე იმპლანტაციის დასაწყისში მატულობს სეკრეცია, ხოლო ინპლანტაციის დასასრულისკენ კლებულობს ამ პროტეინზას სინთეზი (სურათი 15 - 16).



სურათი 15. ინტაქტურ და დიაბეტიან თაგვებში IL-10-ს ადმინისტრირების გავლენა საშვილოსნოს უჯრედების მიერ LIF სეკრეციაზე ორსულობის მე-5 და მე-7 დღეს

IL 10-ს ადმინისტრირებით, მკვეთრად იცვლება ამ მოლეკულების სეკრეცია საშვილოსნოს უჯრედების მიერ. დიაბეტის ფონზე ამ ციტოკინის შეყვანა კვლავ ამცირებს დიაბეტის მიერ გამოწვეულ დისბალანსს, ხოლო არადიაბეტიან/ჯანმრთელ თაგვებში მისი ინექცია არღვევს ფიზიოლოგიური გარემოს, ირღვევა როგორც ფერმენტის პროდუცირება, ასევე LIF-ს სინთეზი, როგორც ორსულობის მეშვიდე ასევე მეხუთე დღეს (სურათი 15-16).



სურათი 16. ინტაქტურ და დიაბეტიან თაგვებში IL-10-ს ადმინისტრირების გავლენა საშვილოსნოს უჯრედების მიერ MMP9 სეკრეციაზე ორსულობის მე-5 და მე-7 დღეს

საკონტროლო თაგვებში პროანთებითი ციტოკინის, $TNF\alpha$ -ს ექსპრესიის მატება იმპლანტაციის პროცესის ბოლოსთვის სავარაუდოდ განპირობებულია მისი როლით, ემბრიონის პოსტიმპლანტაციურ განვითარებაში. $TNF\alpha/NF\kappa$ -

B-ს მნიშვნელოვანი, აქტივატორია; ემბრიონალურ ქსოვილებში ამ ტრანსკრიფციული ფაქტორის აქტივობა აუცილებელია და იგი იცავს ემბრიონებს სხვადასხვა ტერატოგენული ზემოქმედებისაგან.

დიაბეტის დროს საშვილოსნოში TNF α -ს ექსპრესიის პროლონგირებული ზრდა, საშუალებას გვაძლევს ვივარაუდოთ, რომ ეს ციტოკინი ადრეულ ემბრიონალურ სტადიაზე დიაბეტით გამოწვეული სიკვდილობის მედიატორია, იწვევს ორსულობის სისშირის მკვეთრ შემცირებას. დიაბეტის ფონზე საშვილოსნოში ამ პრონათებითი ციტოკინის ჭარბი ექსპრესია ნაწილობრივ ასოცირებულია ანტიანთებითი ციტოკინი - IL-10-ის ექსპრესიის ინჰიბირებასთან, ვინაიდან IL-10 TNF α -ს აუტოკრინული იჰიბიტორია. IL-10 პლეიოტროპული ციტოკინია, რომელიც არეგულირებს იმუნურ პასუხს და ორსულობის საწყის ეტაპზე, ჯანმრთელი თაგვების საშვილოსნოში მისი პერმანენტული მატება ორგანიზმში ხელსუშლის ორსულობის შეწყვეტას. შესაბამისად, დიაბეტის ფონზე ამ ციტოკინის სუპრესია იწვევს იმპლანტაციის ადგილთა რაოდენობის შემცირებას.

იმპლანტაციის პროცესის ინიცირება მოითხოვს LIF-ს სეკრეციის ზრდას. ხოლო იმპლანტაციის დასასრულს, მისი ექსპრესიის აუცილებლობა კლებულობს. დიაბეტის ფონზე ამ პრონათებითი ციტოკინის ექსპრესია ირღვევა, რაც განაპირობებს იმპლანტაციის პროცესის მიმდინარეობის ნაწილობრივ წარუმატებლობას.

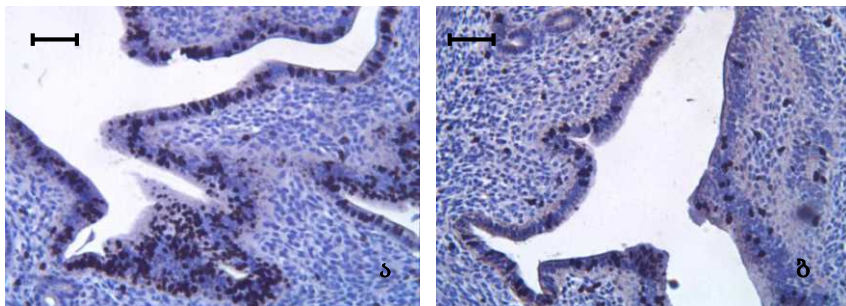
ორსულობის ვადების მიხედვით, დიაბეტი ასევე იწვევს, MMP-9-ს ექსპრესიის დარღვევას. სავარაუდოთ, იმპლანტაციის ადრეულ ეტაპზე, MMP-9-ს ექსპრესიის მკვეთრი მატება იწვევს ბლასტოციტების ჩამორეცხვას (ბლასტოციისტი ვერ ასწრებს მომწიფებას), ხოლო მოგვიანებით, ორსულობის მე-7 დღეს ამ ფერმენტის ექსპრესიის შემცირება, აფერხებს პლაცენტის ნორმალურ ფუნქციონირებას და ხდება ემბრიონის დაღუპვა ან ანომალიების განვითარება (მომატებულია რეზორბციების რიცხვი და სტრუქტურული ანომალიები).

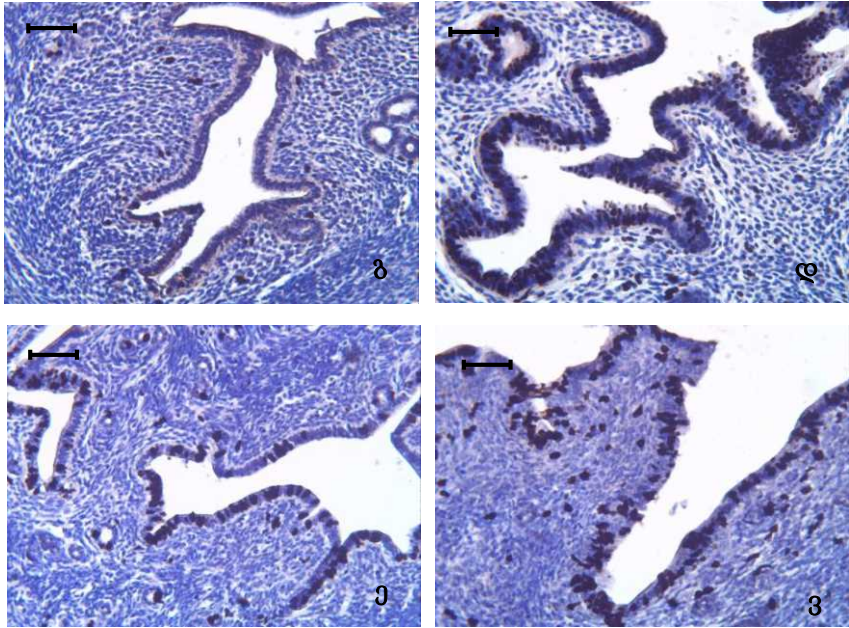
დადგინდა, რომ ყველა ჩვენს მიერ შესწავლილი მოლეკულა ძალზედ მნიშვნელოვანია იმპლანტაციის პროცესში. ასევე დადასტურდა რომ, ამ მოლეკულების კოორდინირებული ექსპრესია და ფუნქციონირება გადამწყვეტია სიცოცხლისუნარიანი ორსულობისთვის და მათი ურთიერთრეგულაციის მოშლა იწვევს სავალალო შედეგს, სპონტანურ აბორტებს. ხოლო დიაბეტიან თაგვებში IL-10-ს შეყვანა, იმპლანტაციის საწყის ეტაპზე, არეგულირებს შესწავლილი მოლეკულების გამომუშავებას და აუნჯობესებს საშვილოსნოში იმპლანტაციის პროცესს. რაც აისახება სპონტანური აბორტების შემცირებულ რაოდენობაზე.

საშვილოსნოს მორფოლოგიური ცვლილებების შესწავლა იმპლანტაციის პროცესში

ორსულობის დასაწყისში თაგვის ორგანიზმი იწყებს მომზადებას იმპლანტაციისათვის. ორსულობის პირველ დღეებში მკვეთრად მატულობს საშვილოსნოს ლუმინარული ეპითელური უჯრედების პროლიფერაციული აქტივობა. დიაბეტის ფონზე ეპითელური უჯრედების გამრავლების უნარი ქვეითდება (სურათი 17), რაც ორსულობის შემდგომ მიმდინარეობაზე აისახება. საშვილოსნო მზად არ არის იმპლანტაციისათვის და ხდება სპონტანური აბორტები.

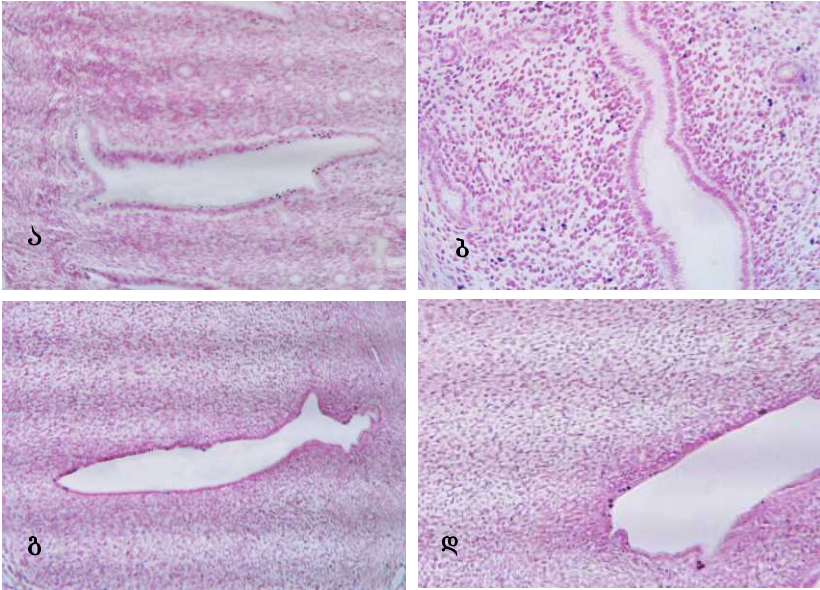
დიაბეტის ფონზე ინტერლეიკინ-10-ს ზემოქმედებით, ლუმინარული ეპითელური უჯრედების პრეოლიფერაცია ინტენსიურად მიმდინარეობს და საკონტროლო მაჩვენებელს უტოლდება. შედეგად შესაბამისია – მცირდება სპონტანური აბორტების რაოდენობა და ორსულობის სისშირე საკონტროლო ჯგუფის მაჩვენებლისგან არ განსხვავდება (ცხრილი 3).





სურათი №17. საშიფლოსნოს ეპითელური უჯრედების (x200) პროლიფერაციული აქტივობა. ა - ინტაქტური ჯანმრთელი თავის საშიფლოსნო, ბ - დიაბეტიანი, გ - ინტაქტური ინტერლეიკინ-10-ს ინექციის შემდეგ, დ - დიაბეტიანი ინტერლეიკინ-10-ს ინექციის შემდეგ, ე - ინტაქტური ანტი-TNF α -ს ანტისხეულების ინექციის ფონზე და ვ - დიაბეტიანი ანტი-TNF α -ს ანტისხეულების ინექციის ფონზე.

საკონტროლო ინტაქტურ თავებში ინტერლეიკინ-10-ს ინექციის გავლენით, მცირდება ეპითელური უჯრედების პროლიფერაციული აქტივობა და ამიტომ კლებულობს ორსულობის სისშირე.



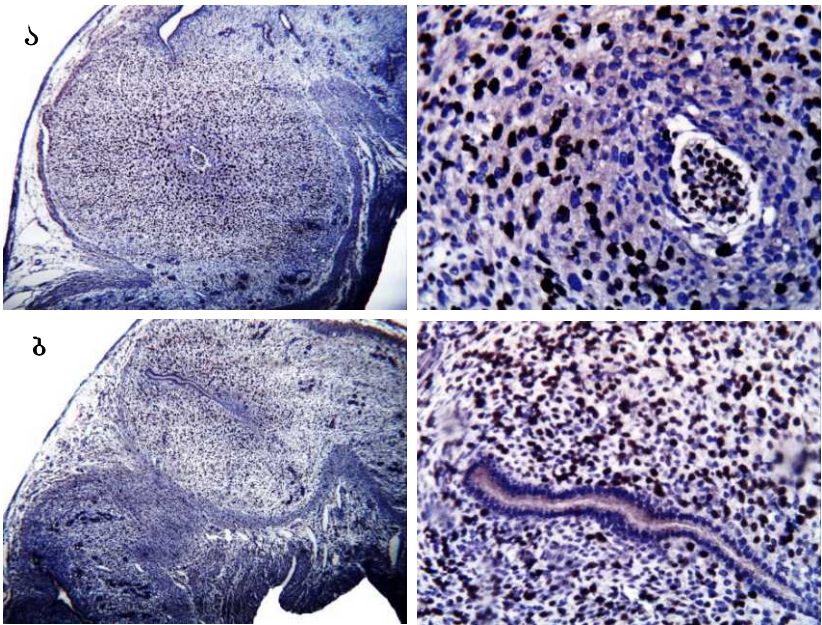
სურათი 18. საშვილოსნოს ლუმინარული ეპითელიური უჯრედების აპოპტოზი. ა- ინტაქტური თაგვის საშვილოსნო, ბ - დიაბეტიანი, გ - დიაბეტიანი ინტერლეიკინ-10-ს ინექციის ფონზე, დ - დიაბეტიანი თაგვის საშვილოსნო ანტი-TNF α -ს ანტისხეულების ინექციის ფონზე.

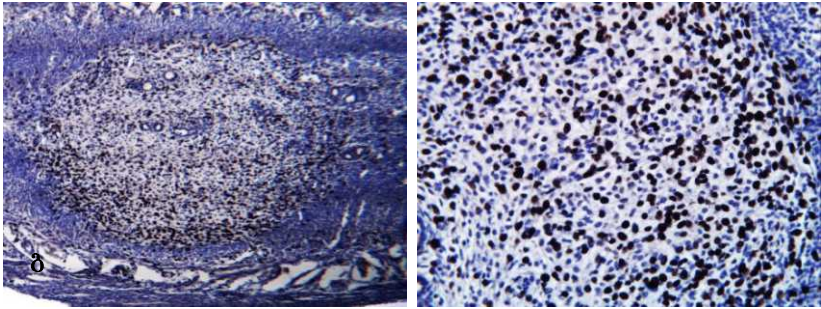
ორსულობის დროს, საშვილოსნოს ლუმინარული ეპითელიუმის მორფოლოგიური ცვლილება მოიცავს აპიკალური ზონის წამწამების რეტრაქციას და მსხვილი აპიკალური წანაზარდების გაჩენას. ორსულობის მეოთხე დღეს იწყება იმპლანტაციის პროცესი. ბლასტოციტის ლუმინარულ ეპითელიუმზე მიმაგრების შემდეგ მნიშვნელოვანია იმპლანტაციის უბანში ეპითელიური უჯრედების აპოპტოზი. აპოპტოზის პროცესი ძლიერდება

ბლასტოციტის ირგვლივ, ხოლო იმპლანტაციის ადგილიდან მოშორებით, ლუმინარული ეპითელიუმი უცვლელი რჩება.

დიაბეტის დროს ეს პროცესი ირღვევა; მიმდინარეობს სტრომული უჯრედების აპოპტოზი, ნაცვლად ეპითელური უჯრედებისა, რაც იწვევს იმპლანტაციის პროცესის შეფერხებას და ხდება ორსულობის შეწყვეტა.

დიაბეტეს ფონზე ინტერლეიკინ 10-ს ზემოქმედებით, მიმდინარეობს მხოლოდ ეპითელური უჯრედების აპოპტოზი, რაც ისევ და ისევ აისახება ორსულობის სისშირეზე (სურათი 18).





სურათი 19 დეციდუალიზაციის პროცესში საშილოსნოს სტრომული უჯრედების პროლიფერაციული აქტივობა ა- ინტაქტური თავის საშილოსნო, ბ - დიაბეტიანი ინტერლეიკინ-10-ს ინექციის შემდეგ, გ - დიაბეტიანი ანტი-TNF α -ს ანტისხეულების ინექციის ფონზე.

ეპითელურ უჯრედებში ბლასტოციტის ინვაზიის შემდეგ, იწყება სტრომული უჯრედების ინტენსიური პროლიფერაცია და დიფერენცირება დეციდუალურ უჯრედებად, ემბრიონის შემდგომი ზრდისა და განვითარებისათვის ხელსაყრელი გარემოს შესაქმნელად. დიაბეტის ფონზე ეს პროცესიც ირღვევა. ითრეუნება სტრომული უჯრედების პროლიფერაციული აქტივობა, ხოლო ინტერლეიკინ 10-ს ზემოქმედებით ეს პროცესი აღდგება (სურათი 19).

ამგვარად, დიაბეტის დროს ინტერლეიკინ 10-ს ინექცია ხელსუწყობს იმპლანტაციის პროცესში საშილოსნოში ისეთ მორფოლოგიურ ცვლილებებს, რომელიც აუცილებელია წარმატებული იმპლანტაციისათვის. რასაც, სავარაუდოდ, იმპლანტაციის პროცესში მონაწილე მნიშვნელოვანი

მოლეკულების რეგულაციის გზით ახდენს. არადიაბეტიან, ჯანმრთელ თავგებში ინტერლეიკინ 10-ს ინექცია არღვევს ბალანს საკვანძო მოლეკულების ექსპრესიას შორის, არ მიმდინარეობს საშვილოსნოში სათანადო დონეზე აპოპტოზის და პროლიფერაციის პროცესები, შედეგად ირღვევა იმპლანტაციისათვის აუცილებელი პირობები და იზრდება სპრონტანური აბორტების რაოდენობა.

პოსტიმპლანტაციური განვითარების უსწავლა

FVB ხაზის თავგების პოსტიმპლანტაციური განვითარების შესაფასებლად ორსულობის მე-15 დღეს ვსწავლობდით საშვილოსნოში რეზორბციების და იმპლანტაციის ადგილების რაოდენობას. ცოცხალ 15 დღიან ემბრიონებს ვაფიქსირებდით ბუენის ხსნარში და ფიქსაციის შემდგომ ვიკვლევდით გარეგანი და შინაგანი სტრუქტურული ანომალიების არსებობას.

პერინატალური სიკვდილობა იზრდება სისხლში გლუკოზის დონის მატებასთან ერთად. რეზორბციების რაოდენობა საშუალო სიმძიმის დიაბეტის დროს 8,57%-ია ხოლო მძიმე დიაბეტის დროს 25% შეადგენს. მე-15 დღეს მკვდარი ემბრიონების რაოდენობა დაახლოებით ერთნაირია და არ განსხვავდება საკონტროლო მაჩვენებლისაგან. ემბრიონების მასა მძიმე დიაბეტის დროს (0.196 ± 0.020 გ.) მცირდება და სარწმუნოდ განსხვავდება საკონტროლო ემბრიონების მასისაგან (0.239 ± 0.023 გ.) (ცხრილი 4).

ცხრილი 4

IL 10-ს ადმინისტრირების გავლენა პოსტიმპლანტაციურ სტადიაზე, ორსულობის განვითარებაზე, დიაბეტის სიმძიმეზე დამოკიდებულებით. * $p < 0,05$

ინდექსი	არადაბეტიანი		დაბეტიანი STZ-ინექციურული			
	ინტექტური	IL-10 ინექციურული	STZ		STZ + IL-10	
			საშუალო სიმძიმის დიაბეტი (13,9-19,4 mmol/l)	მძიმე დიაბეტი (13,9-19,4 mmol/l)	საშუალო სიმძიმის დიაბეტი (13,9-19,4 mmol/l)	მძიმე დიაბეტი (13,9-19,4 mmol/l)
რეზორბციების რიცხვი	3,85%	2,86%	8,57%	25,0%	3,03%	4,0%
მცდარი ენბოიონების რაოდენობა	2,08%	--	3,125%	2,78%	3,125%	--
ენბოიონების მასა	0.239±0.023	0.216±0.019	0.250±0.014	0.196±0.020*	0.230±0.028	0.202±0.047
საშუალო სიმძიმის განვითარების შეფერვა	6,38%	11,76%	16,129%	22,857%	16,129%	25,0%
სტრუქტურული ანომალიები	--	2,94%	6,45%	25,71%	3,226%	--

ასევე მომატებულია საშვილოსნოსშიდა განვითარების შეფერვა, საშუალო სიმძიმის დიაბეტის დროს 16,129% -ია და მძიმე დიაბეტის დროს 22,857%. გაცილებით ღიძია განსხვავება საშუალო და მსუბუქი დიაბეტის დროს სტრუქტურული ანომალიების რაოდენობებს შორის. საშუალო დიაბეტის დროს 6.45%-ია, ხოლო მძიმე დიაბეტის დროს 25,71%. დიაბეტიან თაგვებში IL 10-ის ინექციის ხემოქმედებით მცირდება რეზორბციების რიცხვი და განვითარების სტრუქტურული ანომალიები. მძიმე და საშუალო დიაბეტის დროს, ინტერლეიკინ 10-ის ინექციის ფონზე, რეზორბციების და სტრუქტურული ანომალიების რაოდენობა ნორმის ფარგლებშია და არ განსხვავდება

საკონტროლო თაგვების მაჩვენებლებისაგან (3,03%, 4,0% შედარებით 3,85%; 3,226%, 0 შედარებით 0). დიაბეტიან ცხოველებში ინტერლეიკინ 10-ს ზემოქმედებით არ მცირდება საშვილოსნოსშიდა განვითარების შეფერხებით დაფიქსირებული ემბრიონების რაოდენობა, ჯანმრთელ თაგვებში – აღინიშნება ამ მაჩვენებლის ზრდა 6,38-დან 11,76%-მდე (ცხრილი 4).

IL 10-ს ინექცია ამცირებს საშვილოსნოს უჯრედების მიერ TNF α -ს სეკრეციას, მიუხედავად ამისა – არ იწვევს ემბრიონებში NF- κ B-ს აქტივობის დაქვეითებას, რაც განაპირობებს დიაბეტის ტერატოგენული ზემოქმედების მიმართ ემბრიონების რეზისტენტობას. სავარაუდოდ საშვილოსნოში IL 10-ს ანტი-ანთებითი ზემოქმედება განპირობებულია IL 10/STAT 3 გზით.

თხზო VI

TNF α -ს როლი დიაბეტით გამოწვეული სპონტანური აბორტების კათობენეზში

TNF α ^{-/-} ნოკაუტ თაგვებზე ჩატარებულ კვლევის შედეგებმა აჩვენა, TNF α არის დიაბეტით გამოწვეულ სპონტანურ აბორტების მედიატორი, TNF α ^{+/+} თაგვებში დიაბეტის ფონზე ორსულობის სისშირე გაცილებით დაბალია ვიდრე TNF α ^{-/-} თაგვებში. ამ კვლევებმა ასევე აჩვენა,

რომ პოსტიმპლანტაციური განვითარებაში ეს პროანთებითი ციტოკინი ცენტრალურ როლს თამაშობს, ვინაიდან გაცილებით მეტი ანომალიური განვითარების ემბრიონი იქნა ნაპოვნი $TNF\alpha^{-/-}$, ვიდრე $TNF\alpha^{+/+}$ თაგვებში. ამ მონაცემებზე დაყრდნობით გადავწყვიტეთ დიაბეტით გამოწვეული თვითნებური აბორტების შესამცირებლად გამოგვეყენებინა $TNF\alpha$ -ს ინჰიბიტორი. კლინიკურ პრაქტიკაში, სხვადასხვა დაავადებების სამკურნალოდ (ფსორიაზი, რევმატოიდული ართრიტი და ა.შ.) აპრობირებულია ორი სახის $TNF\alpha$ -ს ინჰიბიტორი, ერთი – $TNF\alpha$ -ს ხსნადი რეცეპტორი და მეორე $TNF\alpha$ -ს საწინააღმდეგო მონოკლონური ანტისხეულები. არჩევანი სპეციფიურ ანტისხეულებზე შევჩერეთ და შევისწავლეთ დიაბეტის ფონზე მიმდინარე ორსულობის გამოსავალზე anti-mouse $TNF\alpha$ (clone: TN3-19.12) ეფექტი და მოქმედების მექანიზმები. მიზნის მისაღწევად დავისახეთ შემდეგი ამოცანები:

- ანტი- $TNF\alpha$ -ს ზეგავლენის შესწავლა პერიიმპლანტაციურ სტადიაზე ემბრიონთა სიკვდილობაზე;
- ანტი- $TNF\alpha$ -ს ზეგავლენის შესწავლა იმპლანტაციის პროცესში საშვილოსნოს მორფოლოგიურ ცვლილებებზე;
- ანტი- $TNF\alpha$ -ს ზეგავლენის შესწავლა იმპლანტაციის პროცესში საშვილოსნოს უჯრედების მიერ მოლეკულების სეკრეციაზე;
- ანტი- $TNF\alpha$ -ს ზეგავლენის შესწავლა პოსტიმპლანტაციურ განვითარებაზე.

პერიმპლანტაციურ სტადიაზე ემბრიონთა სიკვდილობის შესწავლა

ანტი-TNF α -ს ანტისხეულები მდედრებში შეგვეყავდა (5მგ/კგ, ი/პ) ორსულობის მეოთხე დღეს. უნდა აღინიშნოს, რომ აუცილებელი იყო მინიმალური სამუშაო დოზის შერჩევა, რათა გამოგვერიცხა პრეპარატის არასასურველი ეფექტი ორსულობის მიმდინარეობასა და ემბრიონის განვითარებაზე.

დიაბეტის ფონზე, სამიზნე ციტოკინის მონოკლონური ანტისხეულების შეყვანის შედეგად სიკვდილობის მაჩვენებლები მცირდება მძიმე დიაბეტის დროს და 62,5%-ს შეადგენს. ხოლო საშუალო სიმძიმის დიაბეტის დროს, სარწმუნოდ არ განსხვავდება ამავე ჯგუფის დიაბეტიანი ცხოველების მაჩვენებლისგან და 57,1%-ს შეადგენს (ცხრილი 5). ინტაქტურ თავებში ანტი-TNF α -ს ინექცია არ ცვლის სპონტანური აბორტების რაოდენობას. ამგვარად, მძიმე დიაბეტის დროს, როდესაც პროლონგირებული ანთებითი ფონია საშვილოსნოში, TNF α -ს ინჰიბირება/ბლიკირება აქვეითებს პროანთებითი ციტოკინის ზემოქმედებას, საშვილოსნო ემზადება იმპლანტაციისთვის და მიმდინარეობს ბლასტოცისტის ინვაზია. შედეგად მცირდება თვითნებური აბორტების შემთხვევები. სავარაუდოთ, საშუალო სიმძიმის დიაბეტის დროს სპონტანური აბორტების პათოგენეზში სხვა მექანიზმებია ჩართული და ამიტომ TNF α -ს დონის

ცვლილებას ნაკლები მნიშვნელობა აქვს. ჯანმრთელ თაგვებში TNF α -ს ინჰიბირების შედეგად მდგომარეობა არ იცვლება ვინაიდან ფიზიოლოგიურ პირობებში ამ ციტოკინის როლი არ არის გადამწყვეტი.

ცხრილი 5

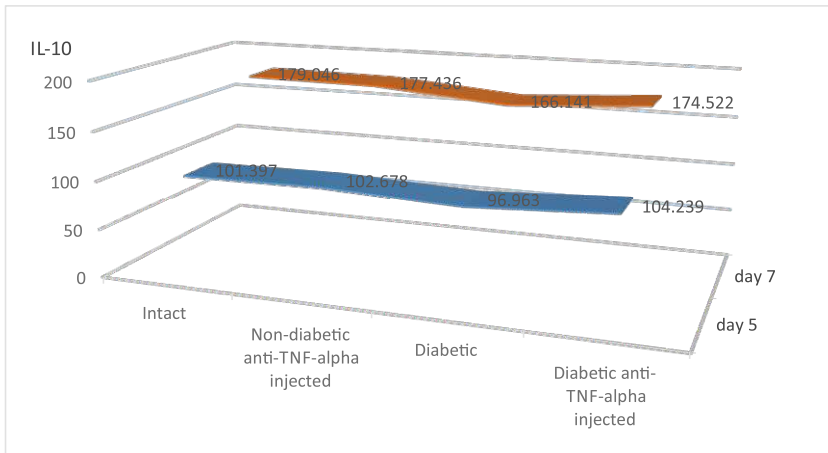
TNF α -ს საწინააღმდეგო მონოკლონური ანტისხეულების აღმინისტრირების გავლენა პერიმპლანტაციურ სტადიაზე ორსულობის გამოსავალზე

ინდექსი	არადაბრუნება		დაბრუნება STZ - ინჰიბირებული			
	ინტაქტური	ანტი-TNF α ინჰიბირებული	STZ		STZ + ანტი-TNF α	
			საშუალო სიმძიმის დაბეჭეტი (13,9-19,4 mmol/l)	მახვი დაბეჭეტი (13,9-19,4 mmol/l)	საშუალო სიმძიმის დაბეჭეტი (13,9-19,4 mmol/l)	მახვი დაბეჭეტი (13,9-19,4 mmol/l)
შეუვარებული თავების რაოდენობა	20	12	15	20	14	24
ორსული თავების რაოდენობა	11	6	6	5	6	9
ორსულობის სიხშირე	55,0%	50,0%	40,0%	25,0%	42,9%	37,5%
პერიმპლანტაციურ სტადიაზე ემბრიონების სიკვდილობა	45,0%	50,0%	60,0%	75,0%	57,1%	62,5%

იმპლანტაციის პროცესში, საშვილოსნოს უჯრედების მიერ მოლეკულების სეკრეციის უმსაზღვრესი

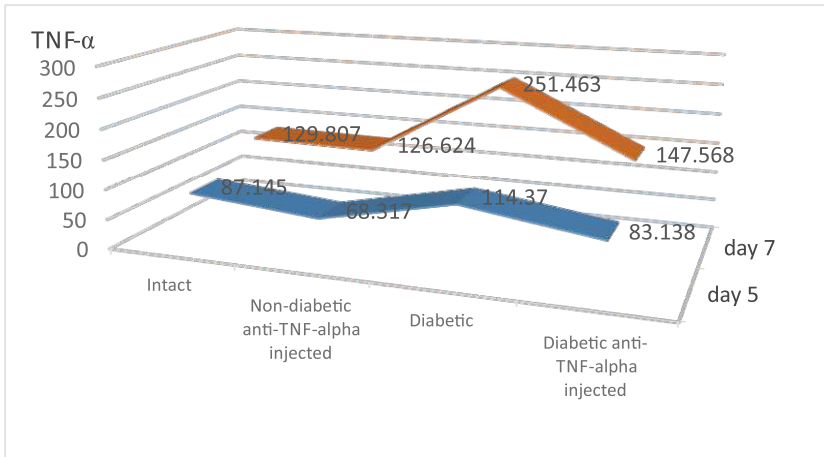
დიაბეტით გამოწვეული სპონტანური აბორტების პათოგენეზში მონაწილე მნიშვნელოვანი IL-10-ს, TNF α -ს, LIF-ს, NO-სა და MMP-9-ს მოლეკულების სინთეზზე ანტი-TNF α -ს

მონოკლონური ანტისხეულების ზემოქმედების შესწავლის მიზნით, გამოვიკვლიეთ ორსული თაგვების საშიფლოსნოს ნიმუშები ორსულობის ორ (მე-5 და მე-7 დღეს) ვადაზე.



სურათი 20. ინტაქტურ და დიაბეტიან თაგვებში anti-TNF α მონოკლონური ანტისხეულების ინექციის გავლენა საშიფლოსნოს უჯრედების მიერ IL 10 სეკრეციაზე ორსულობის მე-5 და მე-7 დღეს

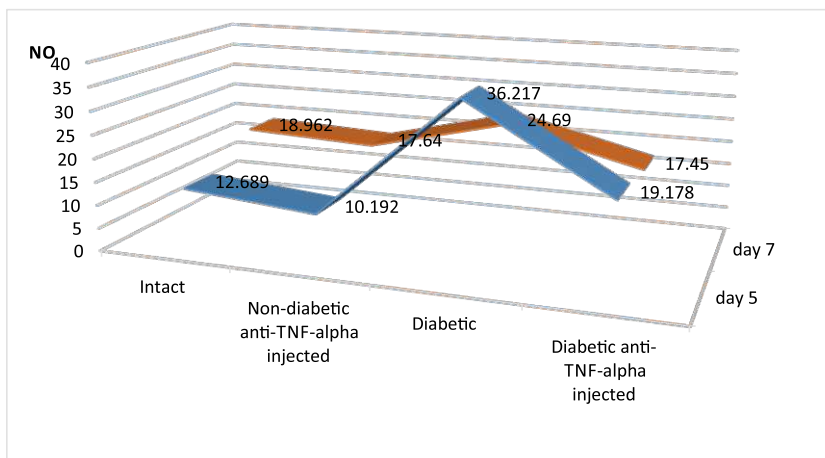
ჯანმრთელ თაგვებში ანტი-TNF α -ს მონოკლონური ანტისხეულების ინექცია არ ახდენს გავლენას IL-10-ს სეკრეციაზე, როგორც ორსულობის მე-5 ასევე მე-7 დღეს (სურათი 20). ხოლო დიაბეტის ფონზე იმატებს ინტელეიკინ 10-ს დონე, მე-7 დღეს 174.522 ± 1.375 და მე-5 დღეს 104.239 ± 0.728 პკგ/ლ შეადგენს.



სურათი 21. ინტაქტურ და დიაბეტიან თაგვებში anti-TNF α მონოკლონური ანტისხეულების ინექციის გაეღენა საშვილოსნოს უჯრედების მიერ TNF α სეკრეციაზე ორსულობის მე-5 და მე-7 დღეს

TNF α -ს კონცენტრაცია ორსულობის მე-5 დღეს (ანტისხეულების შეყვანიდან 16 საათის შემდეგ) არადიაბეტიან თაგვებში შემცირებულია და 68.317 ± 2.452 პკგ/მლ შეადგენს. იგივე მაჩვენებელი მე-7 დღეს თავის საკონტროლო ჯგუფისგან არ განსხვავდება (სურათი 21). დიაბეტის ფონზე ანტი-TNF α -ს ანტისხეულების შეყვანის დროს ორსულობის, როგორც მე-5 ასევე მე-7 დღეს შემცირებულია TNF α -ს შემცველობა. მე-5 დღეს საკონტროლო ინტაქტური ჯგუფის მაჩვენებელს უტოლდება (83.138 ± 4.552 პკგ/მლ), ხოლო მე-7 დღეს სარწმუნოდ

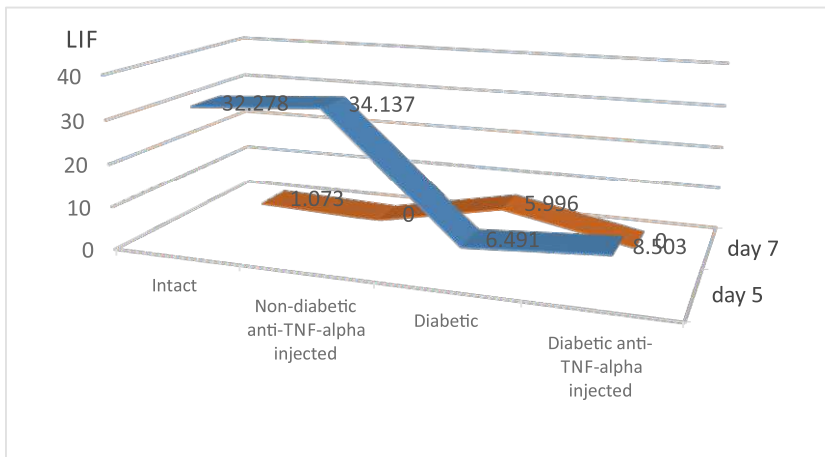
განსხვავდება დიაბეტიანი თაგვების მაჩვენებლისგან და 147.568 ± 11.782 პკგ/მლ შეადგენს (სურათი 21).



სურათი 22. ინტაქტურ და დიაბეტიან თაგვებში anti-TNF α მონოკლონური ანტისხეულების ინექციის გავლენა საშილონოს უჯრედების მიერ NO სეკრეციაზე ორსულობის მე-5 და მე-7 დღეს

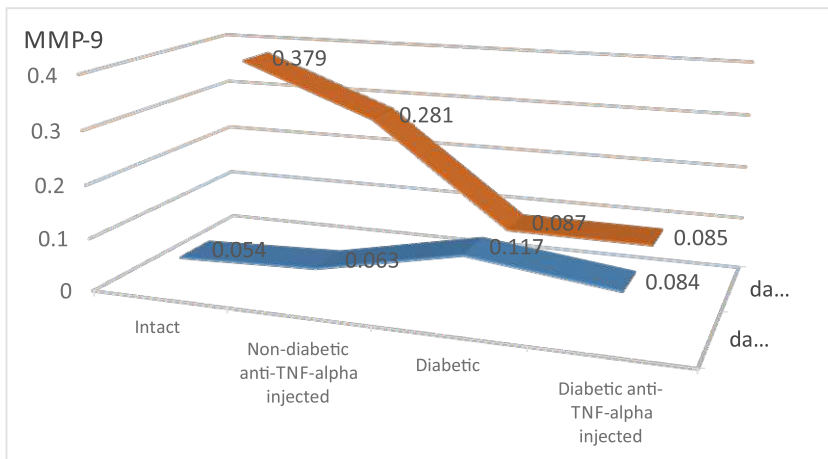
ანტი-TNF α -ს ანტისხეულების ინექცია ამცირებს აზოტის ოქსიდის სინთეზს, როგორც ჯამრთელ, ასევე დიაბეტიანი თაგვებში. დიაბეტიანი თაგვების საშილონოს ნიმუშებში NO-ს კონცენტრაცია მე-5 და მე-7 დღე შესაბამისად 19.178 ± 0.976 და 17.45 ± 1.456 მკმოლ/ლ, ხოლო ჯანმრთელ თაგვებში – 10.192 ± 0.138 და 17.64 ± 0.849 მკმოლ/ლ შეადგენს (სურათი 22).

ანტი-TNF α -ს ანტისხეულების შეყვანის დროს, ორსულობის მე-7 დღეს LIF არ ფიქსირდება როგორც დიაბეტიანი, ასევე ჯანმრთელი თაგვების ნიმუშებში. ორსულობის მე-5 დღეს ჯანმრთელ თაგვებში ანტი-TNF α -ს ანტისხეულების ინექციის ფონზე LIF –ს ექსპრესია 34.137 ± 2.137 პკგ/მლ დ დიაბეტიან თაგვებში – 8.503 ± 0.039 პკგ/მლ შეადგენს (სურათი 23).



სურათი 23. ინტაქტურ და დიაბეტიან თაგვებში anti-TNF α მონოკლონური ანტისხეულების ინექციის გავლენა საშვილოსნოს უჯრედების მიერ LIF სეკრეციაზე ორსულობის მე-5 და მე-7 დღეს

ანტი-TNF α -ს ანტისხეულების ინექციის შემდეგ, ფერმენტ MMP-9-ს ექსპრესია ჯანმრთელ თაგვებში, ორსულობის მე-5 დღეს კონტროლოთან შედარებით არ იცვლება (0.063 ± 0.018 ნგ/მლ), ხოლო მე-7 დღეს მცირდება და 0.281 ± 0.031 ნგ/მლ შეადგენს. TNF α -ს საწინააღმდეგო ანტისხეულების ინექცია დიაბეტის ფონზე MMP-9-ს ექსპრესიას ამცირებს ორსულობის მე-5 დღის ვადაზე (0.084 ± 0.009 ნგ/მლ), ხოლო მე-7 დღეს – არ მოქმედებს (0.085 ± 0.011 ნგ/მლ) (სურათი 24).



სურათი 24. ინტაქტურ და დიაბეტიან თაგვებში anti-TNF α მონოკლონური ანტისხეულების ინექციის გავლენა საშვილოსნოს უჯრედების მიერ MMP 9 სეკრეციაზე ორსულობის მე-5 და მე-7 დღეს

ანტი-TNF α -ს ანტისხეულების ზეგავლენა ნაწილობრივ დაკავშირებულია TNF α /NF- κ B-ს პროაპოპტოზური სიგნალის გადაცემის კასკადთან. კლებულობს აზოტის ოქსიდის სინთეზი – შესაბამისად მცირდება საშვილოსნოს ქსოვილზე ამ თავისუფალი რადიკალის „დამანგრეველი“ ზემოქმედება და, ასევე სავარაუდოდ, არ ხდება MMP-9-ს ინაქტივაცია. შედეგად, ქვეითდება დიაბეტის „მაფნე“ ზეგავლენა ორსულობის გამოსავალზე.

საშვილოსნოს მორფოლოგიური ცვლილებების შესწავლა იმალანტაციის პროცესში

ორსულობის დასაწყისში, ანტი-TNF α -ს ანტისხეულების გავლენით იმატებს დიაბეტიანი თავგების საშვილოსნოს ლუმინარული ეპითელიუმის პროლიფერაციული აქტივობა (სურათი 17). ამ ანტისხეულების ზემოქმედებით, ლუმინარულ ეპითელიუმზე მიმაგრების შემდეგ, ბლასტოციტის ირგვლივ, ადგილი აქვს ეპითელური უჯრედების აპოპტოზს; იზრდება სტრომული უჯრედების პროლიფერაცია და მცირდება ამ უჯრედების დიაბეტით გამოწვეული აპოპტოზი (სურათი 18-19).

ჯანმრთელ თავგებში ანტი-TNF α -ს ანტისხეულების ინექცია არ მოქმედებს საშვილოსნოს მორფოლოგიურ ცვლილებებზე.

ამგვარად, დიაბეტის დროს ანტი-TNF α -ს ანტისხეულები იწვევს იმპლანტაციის პროცესში საშვილოსნოს მორფოლოგიურ ცვლილებებს, რომელიც აუცილებელია წარმატებული იმპლანტაციისათვის. ასეთი მოქმედება ნაწილობრივ, სავარაუდოდ გამოწვეულია აზოტის ოქსიდის შემცირებით, რომელიც აპოპტოზის მედიატორია. ამ თავისუფალი რადიკალის ჭარბი სინთეზი იწვევს აპოპტოზის პროცესის გაძლიერებას და უჯრედების პროლიფერაციის უნარის დათრგუნვას.

პოსტიმპლანტაციური ბანვითარების შესწავლა

მძიმე დიაბეტის ფონზე ანტი-TNF α მონოკლონური ანტისხეულების ადმინისტრირების გავლენით FVB ხაზის თაგვებში რეზორბციების რიცხვი შემცირებულია და 9,88% შეადგენს. საშუალო სიმძიმის დიაბეტის დროს ანტი-TNF α -ს ანტისხეულები ინექცია არ იცავს ემბრიონებს დიაბეტის ზემოქმედებასაგან და რეზორბციების რაოდენობა 8,7%-ს შეადგენს. მძიმე დიაბეტის ფონზე, ანტი-TNF α ანტისხეულების ზეგავლენით იზრდება ემბრიონების მასა ორსულობის მე-15 დღეს (0.208 ± 0.037 g) (ცხრილი 6).

ანტი-TNF α ანტისხეულების ინექციის ფონზე სტრუქტურული ანომალიების რაოდენობა მცირდება საშუალო და მძიმე დიაბეტიან თაგვებში. სტრუქტურული

ანომალიების მქონე ემბრიონები აღმოჩენილი იყო მხოლოდ მძიმე დიაბეტის დროს და მათი რიცხვი 5,55%-ს შეადგენს (ცხრილი 6). საშუალო სიმძიმის დიაბეტის დროს ანტი-TNF α ანტისხეულების ადმინისტრირებით, საშვილოსნოსშიდა განვითარების შეფერხების მაჩვენებელი მცირდება (5%), ხოლო მძიმე დიაბეტის დროს – 22,22% შეადგენს.

ცხრილი 6

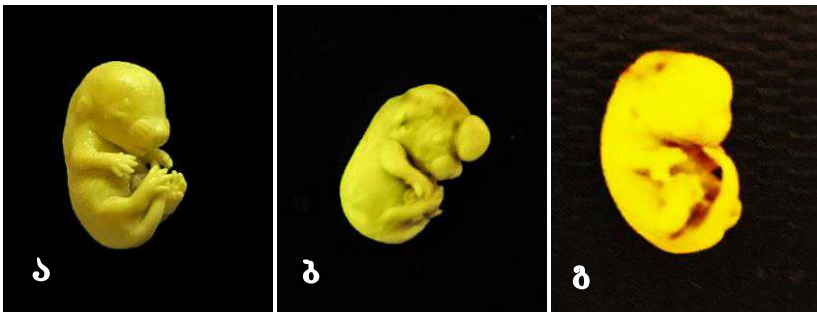
TNF α -ს საწინაარმდეგო მმონოკლონური ანტისხეულების ადმინისტრირების გავლენა პოსტიმპლანტაციურ განვითარებაზე

ინდექსი	არადაბრუნება		დაბრუნება STZ-მედიკაციით			
	ინტექტური	ანტი-TNF α ინექტირებული	STZ		STZ + ანტი-TNF α	
			საშუალო სიმძიმის დიაბეტი (13,9-19,4 mmol/l)	მძიმე დიაბეტი (13,9-19,4 mmol/l)	საშუალო სიმძიმის დიაბეტი (13,9-19,4 mmol/l)	მძიმე დიაბეტი (13,9-19,4 mmol/l)
რეზორბციების რიცხვი	3,85%	5,6%	8,57%	25,0%	8,7%	9,88%
მკვდარი ემბრიონების რაოდენობა	2,08%	--	3,125%	2,78%	--	1,23%
ემბრიონების სსა	0.239 \pm 0.023	0.231 \pm 0.036	0.250 \pm 0.014	0.196 \pm 0.020 ^a	0.240 \pm 0.010	0.208 \pm 0.037 ^{ab}
საშვილოსნოსშიდა განვითარების შეფერხება	6,38%	6,25%	16,129%	22,857%	5,0%	22,22%
სტრუქტურული ანომალიები	--	--	6,45%	25,71%	--	5,55%

ჯანმრთელ თაგვებში ანტი-TNF α ანტისხეულების ინექცია არ მოქმედებს პოსტიმპლანტაციური განვითარების არცერთ მაჩვენებელზე და საკონტროლო ჯგუფის იმავე მაჩვენებლისგან არ განსხვავდება.

ანტი-TNF α ანტისხეულების ზეგავლენით მცირდება განვითარების თანდაყოლილი მანკები. ანომალიური განვითარების ემბრიონები ნაპოვნი იყო მხოლოდ ორი

მდედრის ნაყარში. ცალკეულ ემბრიონებში დაფიქსირდა მრავალჯერადი, მძიმე სტრუქტურული ანომალიები, ისეთები როგორცაა: ეკზენცეფალია, ეკტროდაქტილია, დისმელია, მაგარი სასის გახლეჩა და შუბლის ძვლის აგენეზია (სურათი 25). ანტი-TNF α ანტისხეულების ზეგავლენით მცირდება TNF α -ს კონცენტრაცია, რაც სავარაუდოთ, განაპირობებს NF- κ B-ს აქტივობის დაქვეითებას ემბრიონებში. ხოლო, ამ ტრანსკრიფციული ფაქტორის აქტივობის დათრგუნვა კი, თავის მხრივ, აძლიერებს დიაბეტის ტერატოგენულ გავლენას.



სურათი 25. TNF α -ს საწინააღმდეგო მონოკლონური ანტისხეულების აღმინისტრირების დროს აღმოჩენილი განვითარების თანდაყოლილი ანომალიები. ა – ნორმალური განვითარების ემბრიონი, ბ – ეკზენცეფალია, გ – დისმელია, შუბლის ძვლის აგენეზია და ეკტროდაქტილია

რეზიუმე

მსოფლიოში ერთ-ერთი ყველაზე გავრცელებული ქრონიკული დაავადების – დიაბეტით გამოწვეული ორსულობის შეწყვეტის და ნაყოფის განვითარების პათოლოგიების თავიდან აცილება თანამედროვე მედიცინის ერთ-ერთი პრიორიტეტული საკითხია.

ამიტომ ამ ნაშრომის მიზანს, დიაბეტის ფონზე მიმდინარე ორსულობის ნეგატიური გამოსავალის – განვითარების თანდაყოლილი მანკების და თვითნებური აბორტების შემცირება წარმოადგენდა. შევისწავლეთ დიაბეტის ფონზე მიმდინარე ორსულობის გამოსავალის მექანიზმები. მიღებული შედეგების საფუძველზე შევარჩიეთ სამიზნე მოლექულები და მათზე ზემოქმედებით შევეცადეთ შეგვემცირებინა დიაბეტის ტერატოგენული გავლენა.

დღეს მიზანი მიღწეულია, ნაპოვნია გზები წარმატებული იმპლენტაციისა და ნაყოფის ნორმალური განვითარებისათვის. კვლევა გაგრძელდება ამ მიმართულებით და ვიმედოვნებთ, რომ საფუძველი ჩაეყრება პრობლემის პრევენციის და მკურნალობის ახლებურ მიდგომას.

გამოყენებული ლიტერატურა

1. *Definition, Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus and its Complications. Report of a WHO Consultation; WHO/NCD/NCS/1999.02.*
2. *Reece EA, Hobbins JS. Diabetic embryopathy: pathogenesis, prenatal diagnosis and prevention Obstet Gynecol Surv 1986; 41: 325–35.*
3. *Mills L.J. (1982). Malformations in infants of diabetic mothers. Teratology 25,385-394.*
4. *Smith. D. Recognizable Patterns of Human Malformation: Genetic, Embriologic and Clinical Aspect. Philadelphia, WB.Saunders. 1970.*
5. *Nishimura H, Shiota K. Summary of comparative embriology and teratology. In Handbook of Teratology, VI. 3. New York, Plenum Press, 1977; 119.*
6. *Kitzmilller JI. Macrosomia in infants of diabetic mothers: characteristics, causes, prevention. In: Jovanovic L, Peterson CM, Fuhrmann B. (eds), Diabetes and Pregnancy: Teratology, Toxicology and Treatment. Praeger, New York, 1986; 85–120.*
7. *Yssing M. Long-term prognosis of children born to mothers diabetic when pregnant. In Early Diabetes in Early Life. Camerini-Davalos RM, Cole HS, Eds. New York, Academic 1975; 575–86.*
8. *Anderson C, Rotter J, Rimoin D. Genetics of diabetes mellitus. In Diabetes Mellitus Vol. 5. Rifkin H, Raskin P, Eds. Bowie, MD, Brady, 1981; 79.*

9. *Hiilesmaa V, Suhonen L, Teramo P. Glycaemic control is associated with pre-eclampsia but not with pregnancy-induced hypertension in women with type I diabetes mellitus. Diabetologia – 01-Dec-2000; 43 (12): 1534–9.*
10. *DCCT Research Group. Effects of pregnancy on microvascular complications in the Diabetic Control and Complications Trial. 2000. Diabetes Care 23; 8: 1084–100.*
11. *Concensus Statement. Treatment of hypertension in diabetes. Diabetes Care 1993; 16: 1394–401.*
12. *Platt MJ, Stanistreet M, et al. St Vincent's Declaration 10 years on: outcomes of diabetic pregnancies. Diabet Med. 2002;19:216–220.*
13. *Li R, Thorens B, Loeken MR. Expression of the gene encoding the high-Km glucose transporter 2 by the early postimplantation mouse embryo is essential for neural tube defects associated with diabetic embryopathy. Diabetologia. 2007;50:682–689.*
14. *Loeken MR. Free radicals and birth defects. J Matern Fetal Neonatal Med. 2004;15:6–14.*
15. *Ornoy A. Embryonic oxidative stress as a mechanism of teratogenesis with special emphasis on diabetic embryopathy. Reprod Toxicol. 2007;24:31–41.*
16. *Dennery P. Effects of oxidative stress on embryonic development. Birth Defects Res C Embryo Today. 2007;81:155–162.*
17. *Torchinsky A, Toder V, et al. Immunostimulation increases the resistance of mouse embryos to the teratogenic effect of diabetes mellitus. Diabetologia. 1997;40:635–640.*

18. Machado AF, Zimmerman EF, et al. Diabetic embryopathy in C57BL/6J mice. Altered fetal sex ratio and impact of the splotch allele. *Diabetes*. 2001;50:1193–1199.
19. Rudge MV, Damasceno DC, et al. Effect of Ginkgo biloba on the reproductive outcome and oxidative stress biomarkers of streptozotocin-induced diabetic rats. *Braz J Med Biol Res*. 2007;40(8):1095–1099.
20. Torchinsky A, Gongadze M, et al. TNF-alpha acts to prevent occurrence of malformed fetuses in diabetic mice. *Diabetologia*. 2004;47:132–139.
21. Jawerbaum A, González E: Diabetic pregnancies: the challenge of developing in a pro-inflammatory environment. *Curr Med Chem*. 2006;13(18):2127-38.
22. Pampfer S, Wu YD, et al. Expression of tumor necrosis factor- α (TNF- α) receptors and selective effect of TNF α on the inner cell mass in mouse blastocysts. *Endocrinology* 1994; 134:206–212.
23. Pampfer S, Vanderheyden I, et al. Increased cell death in rat blastocysts exposed to maternal diabetes in utero and to high glucose or tumor necrosis factor- α in vitro. *Development* 1997; 124: 4827–4836.
24. Pampfer S, Cordi S, et al. Activation of nuclear factor kappaB and induction of apoptosis by tumor necrosis factor- α in the mouse uterine epithelial WEG-1 cell line. *Biol Reprod* 2000; 63: 879-886.
25. Pampfer S. Dysregulation of the cytokine network in the uterus of the diabetic rat. *Am J Reprod Immunol*. 2001;45:375–381.

26. Fein A, Kostina E, et al. Expression of tumor necrosis factor- α in the uteroplacental unit of diabetic mice: effect of maternal immunopotential. *Am J Reprod Immunol* 2001; 46: 161-168.
27. Pustovrh MC, Jawerbaum A, et al. The role of nitric oxide on matrix metalloproteinase 2 (MMP2) and MMP9 in placenta and fetus from diabetic rats. *Reproduction* 2007;134(4):605-13.
28. Roth I, Fisher SJ: IL-10 is an autocrine inhibitor of human placental cytotrophoblast MMP-9 production and invasion. *Dev Biol* 1999;205(1):194-204.
29. Clark, D.A.T cells in pregnancy: illusion and reality. *Am. J. Reprod. Immunol* 1999; 41:233–238.
30. Mocellin S, Marincola F, et al. The multifaceted relationship between IL-10 and adaptive immunity: Putting together the pieces of a puzzle. *Cytokine Growth Factor Rev* 2004; 15:61-76.
31. Robertson SA, Care AS, Skinner RJ. Interleukin 10 Regulates Inflammatory Cytokine Synthesis to Protect Against Lipopolysaccharide-Induced Abortion and Fetal Growth Restriction in Mice. *Biology of Reproduction*. 2007; 76:738–748.
32. White CA, Johansson M, et al. Effect of interleukin-10 null mutation on maternal immune response and reproductive outcome in mice. *Biol Reprod* 2004; 70:123–131.
33. Murphy SP, Fast LD, et al. Uterine NK cells mediate inflammation-induced fetal demise in IL10-null mice. *J Immunol* 2005; 175:4084–4090

34. Robertson SA, Skinner RJ, Care AS. Essential role for interleukin-10 in resistance to LPS-induced preterm labour in mice. *J Immunol* 2006; 177:4888–4896.
35. Gongadze M., Sepashvili A., et al. IL-10 in pathogenesis of diabetes-induced pregnancy loss. *Experimental and Clinical Medicine* 2011; 2:9-13.
36. Gongadze M., Sepashvili A., et al. Effects of high glucose level on murine placental trophoblast functionality in vitro. *Experimental and Clinical Medicine* 2011; 1: 8-13.
37. Stewart CL, Kaspar P, et al. Blastocyst implantation depends on maternal expression of leukaemia inhibitory factor. *Nature* 1992; 359: 76–79.
38. Cheng JG, Rodriguez CI, Stewart CL: Control of uterine receptivity and embryo implantation by steroid hormone regulation of LIF production and LIF receptor activity: towards a molecular understanding of "the window of implantation". *Rev Endocr Metab Disord.* 2002; 3: 119- 126.
39. Gongadze M., Sepashvili A., et al. The role of IL-10 in Diabetes-induced pregnancy loss. *J. Experimental and Clinical Medicine,* 2012; 3:47-51

სარჩევი

წინასიტყვაობა - - - - -	3
შესავალი - - - - -	4
თავი I	
დიაბეტი და ორსულობა - - - - -	-7
თავი II	
დიაბეტის ფონზე მიმდინარე ორსულობის გამოსავალი -9	
თავი III	
დიაბეტის ფონზე მიმდინარე ორსულობის გამოსავალის მექანიზმები. რეგულირება უჯრედულ და მოლეკულურ დონეზე - - - - -	13
თავი IV	
დიაბეტის გავლენა IL10 ^{-/-} (B6.129P2- <i>Il10</i> ^{tm1Cgn} /J) და IL10 ^{+/+} (C57BL/6J) თაგვებში ორსულობის გამოსავალზე - - - - -	18
თავი V	
IL 10-ს როლი დიაბეტით გამოწვეული სპონტანური აბორტების პათოგენეზში - - - - -	-37
თავი VI	
TNF α -ს როლი დიაბეტით გამოწვეული სპონტანური აბორტების პათოგენეზში - - - - -	55
რეზიუმე - - - - -	68
გამოყენებული ლიტერატურა - - - - -	69
სარჩევი - - - - -	-74

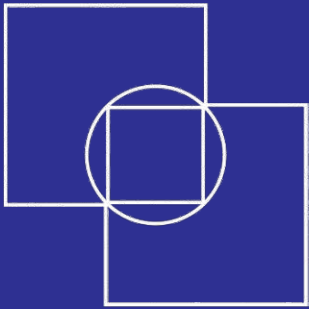
წიგნი დაიბეჭდა შოთა რუსთაველის საქართველოს
ეროვნული სამეცნიერო ფონდის მხარდაჭერით
FR330/7-160/14

თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტი
ვლ. ბახუტაშვილის სახელობის სამედიცინო
ბიოტექნოლოგიის ინსტიტუტი

პ. შოთაძის სახ. თბილისის სამედიცინო აკადემია

გამომცემელი

შპს. “უნივერსალ ედვერთაიზინგ კომპანი”



შოთა რუსთაველის საქართველოს
ეროვნული სამეცნიერო ფონდი

SHOTA RUSTAVELI NATIONAL SCIENCE
FOUNDATION OF GEORGIA