

**ВПЛИВ АКТИВАТОРА SIRT 1 НА ОСОБЛИВОСТІ РОЗПОДІЛУ ОДНОНИТКОВИХ  
РОЗРИВІВ ДНК КЛІТИН ФОЛІКУЛЯРНОГО ОТОЧЕННЯ ООЦИТІВ IN VITRO**

**В. О. Срібна, О. М. Калейнікова, С. І. Українська, Т. Ю. Вознесенська, Т. В. Блашків**

**Інститут фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України (м. Київ, Україна)**

**Вступ.** Відомо, що стійке пошкодження ДНК може провокувати мутації та хромосомні перебудови, а репарація ДНК є необхідним механізмом у збереженні життєздатності клітин [1-6]. Останні дослідження демонструють, що сиртуїни регулюють процеси транскрипції та апоптозу, відіграють важливу роль у реакції організму на стрес [7-11]. Встановлено, що їх експресія відбувається у яєчниках ссавців та ембріонах. Відомо, що найпотужнішим природнім активатором SIRT1 є ресвератрол [12, 13].

**Мета роботи** – дослідити вплив ресвератрола на особливості розподілу однострункових розривів (ОНР) ДНК клітин фолікулярного оточення ооцитів (ФОО) за умов культивування *in vitro*.

**Основна частина.** Дослідження проведено з використанням невагітних самиць білих лабораторних мишей, масою 20-22 г. З яєчників мишей неферментативно (механічно) виділяли клітини ФОО. Клітини ФОО культивували в культуральному середовищі DME з 15 mM HEPES, концентрація  $Ca^{2+}$  1,71 mM, температура 37°C, тривалість 4 год. Для оцінки ОНР використано метод ДНК-комет (лужний). Залежно від ступеня пошкодження ДНК, комети поділяли на 5 класів (0-4). Згідно з протоколом ДНК-комет є необхідний позитивний контроль – інкубовані протягом 4 год клітини ФОО, які після періоду інкубування піддавали впливу  $H_2O_2$  (за температури 4°C, 250mM, 5 хв). Для подальших дослідів як групу контролю вико-

ристовували свіжовиділені клітини. Ресвератрол застосовувався в концентрації 2,0μM. Результати обробляли статистично в програмі Graph Pad Prism version 5.00 for Windows (Graph Pad Software, California USA).

Встановлено, що після 4 год інкубування клітин ФОО відбувається дещо змінюється розподіл ОНР ДНК цих клітин у порівнянні з такими величинами у групі свіжовиділених клітин ФОО. А саме, частка ядер 0/1 класу зменшується до  $53,63 \pm 2,20\%$  ( $p < 0.05$ ,  $n=8$ ), а 2 – зростає до  $26,00 \pm 1,51\%$  ( $p < 0.05$ ,  $n=8$ ) у порівнянні з, відповідно,  $63,50 \pm 2,33\%$  і  $17,25 \pm 1,49\%$  у групі свіжовиділених. Частки ядер 3 і 4 класів залишаються без вірогідних змін і становлять, відповідно,  $14,13 \pm 1,13\%$  і  $6,25 \pm 2,05\%$ .

За умов культивування клітин ФОО з ресвератролом 2,0μM частка клітин з ядрами 0/1 класу зростає до  $60,00 \pm 1,69\%$  ( $p < 0.05$ ,  $n=8$ ), а 2 класу зменшується до  $17,88 \pm 0,99\%$  ( $p < 0.05$ ,  $n=8$ ) у порівнянні з, відповідно,  $53,63 \pm 2,20$  і  $26,00 \pm 1,51$  у групі 4 год культивування і статистично не відрізняється від показників у групі свіжовиділених клітин.

**Висновки.** Показано, що активатор SIRT 1 ресвератрол в умовах *in vitro* призводить до зменшення пошкодження ДНК клітин ФОО, що потребує подальшого вивчення для можливого використання даної речовини для покращення якості культивування клітин.

## Література

1. Hoeijmakers J. DNA damage, aging, and cancer. *N. Engl. J. Med.* 2009;361:1475-1485.
2. Jeppesen DK, Bohr VA, Stevnsner T. DNA repair deficiency in neurodegeneration. *Prog. Neurobiol.* 2011;94:166-200.
3. Kulkarni A, Wilson DM. The involvement of DNA-damage and -repair defects in neurological dysfunction. *Am. J. Hum. Genet.* 2008;82:539-566.
4. McKinnon PJ. DNA repair deficiency and neurological disease. *Nat. Rev. Neurosci.* 2009;10:100-112.
5. Rass U, Ahel I, West S. Defective DNA repair and neurodegenerative disease. *Cell.* 2007;130:991-1004.
6. Wilson DM, Bohr VA. The mechanics of base excision repair and its relationship to aging and disease. *DNA Repair (Amst).* 2007;6:544-559.
7. Wang Y, Mei R, Hao S, Luo P, Wang P, Yaser Almatari Y, et al. Up-regulation of SIRT1 induced by 17β-estradiol promotes autophagy and inhibits apoptosis in osteoblasts. *Aging (Albany NY).* 2021 Oct 28;13(20):23652-23671.
8. Elkhwanky M, Hakkola J. Extranuclear Sirtuins and Metabolic Stress. *Antioxid Redox Signal.* 2018 Mar 10;28(8):662-76.
9. Kapahi P, Kaeberlein M, Hansen M. Dietary restriction and lifespan: Lessons from invertebrate models. *Ageing Res Rev.* 2017 Oct;39:3-14.
10. Winnik S, Stein S, Matter CM. SIRT1 – an anti-inflammatory pathway at the crossroads between metabolic disease and atherosclerosis. *Curr Vasc Pharmacol.* 2012;10:1-3.
11. Haigis M, Sinclair D. Mammalian sirtuins: biological insights and disease relevance. *Annu Rev Pathol.* 2010;5:253-95.
12. Tatone C, Di Emidio G, Vitti M, Di Carlo M, Santini S Jr, D'Alessandro AM, et al. Sirtuin Functions in Female Fertility: Possible Role in Oxidative Stress and Aging. *Oxid Med and Cell Long.* 2015;2015:659687.
13. Takeo S, Sato D, Kimura K, Monji Y, Kuwayama T, Kawahara-Miki R, et al. Resveratrol improves the mitochondrial function and fertilization outcome of bovine oocytes. *J Reprod Dev.* 2014 Apr 24;60(2):92-9.