

STARZENIE POOWULACYJNE I JEGO WPŁYW NA MITOCHONDRIA

POSTOVULATORY AGING AND ITS EFFECTS ON MITOCHONDRIA

Patrycja STRĄCZYŃSKA^{1,2}

¹Gyncentrum Klinika Leczenia Niepłodności, Katowice

²Oddział Kliniczny Ginekologii, Położnictwa i Ginekologii Onkologicznej, Bytom

Streszczenie: Starzenie poowulacyjne u ssaków definiujemy jako okres od owulacji do zapłodnienia oocytu. Podczas starzenia poowulacyjnego dochodzi do stopniowych zmian, które wpływają niekorzystnie na zapłodnienie oraz przyszły rozwój zarodka. Wydłużanie czasu starzenia oocytu wpływa między innymi na przedwczesną egzocytozę ziaren korowych czy stwardnienie osłonki przejrzystej co uniemożliwia wniknięcie plemnika do wnętrza oocytu podczas procesu zapłodnienia. Ponadto, obniża funkcjonalność cytoszkieletu komórkowego powodując dysfunkcję kompleksu aktynowo-miozynowego prowadzącą do nieprawidłowego przemieszczania się wrzeciona podziałowego oraz zaburzeń segregacji chromosomów. Jednym z głównych mechanizmów wpływających na starzenie poowulacyjne jest nieprawidłowa agregacja mitochondriów oraz zmniejszony poziom wydzielanego adenozy-5'-trifosforanu (ATP). Obniżenie poziomu ATP doprowadza do zaburzeń wydajności energetycznej, co w konsekwencji prowadzi do nieprawidłowych oscylacji wapniowych podczas zapłodnienia. Mechanizm tego zaburzenia nie jest w pełni poznany, jednak może być spowodowany stresem oksydacyjnym zależnym od starzenia poowulacyjnego. Reaktywne formy tlenu uczestniczą w modulacji całego spektrum funkcji podczas rozrodu. Mechanizmy obronne chroniące przed działaniem stresu oksydacyjnego w oocytach zapobiegają formowaniu reaktywnych form tlenu oraz inaktywują je poprzez działanie antyoksydantów.

Słowa kluczowe: starzenie poowulacyjne, ROS, mitochondrium

Summary: Post-ovulatory aging in mammals is defined as the period from ovulation to fertilization of the oocyte. During postovulatory aging, gradual changes occur that adversely affect fertilization and the future development of the embryo. Extending the aging time of the oocyte affects, among other things, premature exocytosis of cortical grains and hardening of zona pellucida preventing the sperm from penetrating the oocyte during the fertilization process. Moreover, it lowers the functionality of the cellular cytoskeleton, causing dysfunction of the actin-myosin complex, leading to abnormal spindle movement and disturbed chromosome segregation. One of the major mechanisms influencing

post-ovulatory aging is abnormal aggregation of mitochondria and decreased levels of adenosine triphosphate (ATP). Lowering the ATP level leads to disturbances in energy efficiency, which in turn leads to an abnormal pattern of calcium oscillations during fertilization. The mechanism of this disorder is not fully understood, but it may be caused by oxidative stress related to postovulatory aging. Reactive oxygen species are involved in modulating the entire spectrum of functions during reproduction. Defense mechanisms protecting against oxidative stress in oocytes prevent the formation of reactive oxygen species and inactivate them through the action of antioxidants.

Keywords: postovulatory aging, ROS, mitochondrion

STARZENIE POOWULACYJNE OOCYTÓW

Starzenie poowulacyjne w oocytach ssaków obejmuje okres pomiędzy owulacją oocyty, a jego zapłodnieniem. Związane jest przede wszystkim z obniżeniem jakości oocytów oraz przyspieszonym obumieraniem komórek w mechanizmie apoptozy. Zmiany molekularne wywołane starzeniem dotyczą również komórek warstwy ziarnistej otaczającej oocyty. Wraz z wydłużaniem się okresu starzenia, zmniejsza się liczba komórek warstwy ziarnistej. Pojawiają się nieprawidłowości w ich mitochondrialnym DNA (ang. *mitochondrial DNA*, mtDNA), obniża się ich zdolność do produkcji hormonów oraz zmniejsza ekspresja enzymów antyoksydacyjnych [1]. Jednak większość niepowodzeń rozrodu spowodowanych jest głównie obniżoną jakością oocyty. Zakres nieprawidłowości zależy od czasu trwania starzenia poowulacyjnego oraz genetyki komórki [2]. Starzenie poowulacyjne może wystąpić zarówno w organizmie kobiety – *in vivo*, jak również pozaustrojowo- *in vitro*. W starzejącym się oocycie dochodzi do szeregu stopniowych zmian wpływających niekorzystnie na zapłodnienie oraz późniejszy prawidłowy rozwój zarodka. Wydłużanie się czasu starzenia oocyty wpływa między innymi na przedwczesną egzocytotzę ziaren korowych oraz stwardnienie osłonki przejrzystej, co w konsekwencji doprowadza do zmniejszenia zdolności wniknięcia plemnika do wnętrza oocyty i utrudnia proces zapłodnienia [3]. Warto zauważyć, że rozmieszczenie ziaren korowych jest zwykle uważane za jeden z najważniejszych wskaźników dojrzenia cytoplazmatycznego oocyty [4]. Dodatkowo, starzenie wpływa na funkcjonalność cytoszkieletu komórkowego powodując dysfunkcję kompleksu aktynowo-miozynowego, prowadzącą do nieprawidłowego przemieszczania się wrzeciona podziałowego podczas podziału komórki oraz zaburzonej segregacji chromosomów [5]. Skutkuje obniżeniem stężenia zgromadzonych w oocycie wolnych jonów wapnia oraz zmianami w mechanizmie regulującym generowanie wyrzutów Ca^{2+} wywołanych zapłodnieniem (np. zmniejszoną amplitudą wolnych jonów wapnia oraz zwiększoną częstotliwością wyrzutów Ca^{2+}) [6]. Oscylacje Ca^{2+} są procesem niezbędnym do aktywacji rozwoju zarodka m. in. dlatego, że wspierają proces zakończenia mejozy, odpowiadają za wyzwolenie bloku przeciw polispermii [7]. Ponadto,

bardzo ważną funkcją oscylacji Ca^{2+} jest regulacja pracy mitochondriów. Podczas zapłodnienia prawidłowo działające mitochondria są niezbędne w szlaku sygnalizacji wapniowej, gdyż regulują poziom wapnia w komórce i magazynują energię w postaci trifosforanu adenozy (ATP). Zaburzenia potencjału błony mitochondrialnej w mitochondriach oocytów prowadzi do obniżenia stężenia ATP oraz spadku potencjału rozwojowego oocytów [8].

MITOCHONDRIMUM A STARZENIE POOWULACYJNE

Mitochondria pełnią ważną rolę w wielu procesach komórkowych, włączając w to regulację poziomu wapnia, metabolizm energetyczny (produkcję i magazynowanie energii w postaci trifosforanu adenozy (ATP)), homeostazę oraz programowaną śmierć komórki (apoptozę) [9]. To właśnie metaboliczny i biologiczny stan mitochondriów odpowiada za jakość oocytu, a także warunkuje prawidłowe podziały komórkowe. Dlatego też mitochondria odgrywają bardzo ważną rolę w biologii rozrodu. Badania doświadczalne udowodniły, że uszkodzenie mitochondriów w prawidłowych, świeżo owulowanych oocytach doprowadziło do zahamowania procesów podziału pęcherzyka zarodkowego oocytów pierwszorzędowych, uniemożliwiło prawidłowe tworzenie wrzeciona podziałowego oraz segregację chromosomów. Natomiast, w oocytach podanych starzeniu poowulacyjnemu możemy zaobserwować dodatkowo nieprawidłową syntezę białek związanych z funkcjonowaniem mitochondriów oraz stresem oksydacyjnym, jak również zaburzenia metabolizmu energetycznego, ekspresji genów regulujących cykl komórkowy oraz nieprawidłową strukturę cytoszkieletu [10]. Badania na modelach zwierzęcych wykazały, że wstrzyknięcie mitochondriów lub cytoplazmy z młodych oocytów do starzejących się oocytów zwiększa ich kompetencje rozwojowe, wpływa pozytywnie na jakość zarodków, co bezpośrednio przekłada się na udaną ich implantację [9]. Mitochondria w oocytach różnią się od mitochondriów w komórkach somatycznych. Posiadają okrągły lub owalny kształt, a ich macierz mitochondrialna jest gęsta i zawiera niewielką liczbę grzebieni mitochondrialnych, co wskazuje na ich małą aktywność, która rekompensowana jest większą ich liczbą w oocycie. W każdym mitochondrium obecnych jest od 1 do 15 cząsteczek mitochondrialnego DNA (ang. *deoxyribonucleic acid*, DNA). Genom mitochondrialny, który zawiera około 16 tysięcy par zasad, koduje kompleksy niezbędne do prowadzenia procesu oddychania komórkowego, takie jak syntaza ATP, oksydaza cytochromu c i cytochromu b [10]. Produkcja mitochondrialnego ATP wymaga działania łańcucha transportu elektronów zlokalizowanego w wewnętrznej błonie mitochondrialnej. Podczas prawidłowej pracy łańcucha oddechowego elektrony, które pochodzą z utlenienia substratów oddechowych, są transportowane przez łańcuch oddechowy na tlen. A wraz z kolejnymi kom-

pleksami łańcucha oddechowego wzrasta potencjał oksydoredukcyjny. Podczas reakcji redoks uwalniana jest energia, która jest wykorzystywana do przenoszenia protonów przez błonę mitochondrialną do przestrzeni międzybłonowej. To powoduje powstanie różnicy stężeń z dwóch stron wewnętrznej błony mitochondrialnej i ustalenia potencjału błonowego [11].

W warunkach wywołanych starzeniem poowulacyjnym, w którym stężenie reaktywnych form tlenu (ang. *Reactive Oxygen Species*, ROS) jest zwiększone w macierzy mitochondrialnej w wyniku upośledzenia ochrony antyoksydacyjnej lub gwałtownego wzrostu stężenia jonów Ca^{2+} może dojść do nieodwracalnego uszkodzenia mitochondrialnego DNA, peroksydacji dwuwarstwy lipidowej [11,12]. Starzenie poowulacyjne doprowadza do stopniowych zaburzeń wydajności energetycznej (obniżenia poziomu ATP) po zapłodnieniu, co w konsekwencji prowadzi do nieprawidłowego wzoru oscylacji wapniowych. Można to zaobserwować w oocytach podanych starzeniu poowulacyjnemu *in vitro*, które skutkuje obniżeniem stężenia wolnych jonów Ca^{2+} wewnątrz siateczki śródplazmatycznej [6]. Oscylacje jonów wapnia stymulują aktywność mitochondriów w oocycie [13]. Podczas zapłodnienia to właśnie oscylacje jonów wapnia wzmagają redukcję NAD^+ oraz flawoprotein w mitochondriach. Pod wpływem oscylacji zwiększa się również zużycie ATP. Zwiększenie poziomu ATP jest niezbędne, aby sprostać zapotrzebowaniu energetycznemu zarodka, doprowadzić do aktywacji wielu szlaków sygnałowych, podtrzymać oscylacje wapniowe oraz prawidłowy metabolizm komórki [-6]. Nie bez przyczyny mitochondria nazywane są centrum metabolicznym komórki, zatem wszelkie zaburzenia ich funkcjonalności mogą spowodować spadek produkcji ATP, co w konsekwencji zaburza procesy metaboliczne w oocytach.

STARZENIE POOWULACYJNE, A STRES OKSYDACYJNY

Jedną z najlepiej poznanych reakcji biologicznych związanych ze starzeniem się komórki jest stres oksydacyjny, który indukuje powstawanie reaktywnych form tlenu. W prawidłowych warunkach pomiędzy powstawaniem ROS, a ich usunięciem zachodzi stan równowagi. Jeśli jednak procesy prooksydacyjne uzyskają przewagę to zostaje wywołany stan stresu oksydacyjnego. Długo utrzymujący się stres oksydacyjny może prowadzić do trwałych zmian w strukturze makrocząstek m.in. DNA, białek, cukrów. Te zmiany będą miały bezpośredni wpływ na zaburzenia funkcji biologicznych i nieprawidłowości w metabolizmie komórkowym [14].

Głównym miejscem powstawania wolnych rodników w komórce jest mitochondrialny łańcuch oddechowy. To właśnie on odpowiada za dostarczanie ponad 90% adenozyntrifosforanu (ATP), źródła energii komórki, jednocześnie będąc podstawowym źródłem ROS. Reaktywne formy tlenu definiujemy jako związki

tlenu wykazujące większą reaktywność niż tlen cząsteczkowy w stanie podstawowym. ROS na powłoce walencyjnej posiadają zazwyczaj jeden niesparowany elektron, który powoduje ich wysoką reaktywność oraz zagraża prawidłowemu funkcjonowaniu komórki. ROS działają uszkadzająco na żywe komórki doprowadzając do peroksydacji błon komórkowych, uszkodzeń DNA oraz innych niekorzystnych procesów [11]. Do grupy ROS zaliczamy: rodnik wodorotlenowy ($\cdot\text{OH}$), nadtlenuk wodoru (H_2O_2), rodnik nadtlenkowy ($\text{O}_2\cdot$), anionorodnik ponadtlenkowy (O_2^-), rodnik ozonowy (O_3), jak również nadtlenuk azotu ($\text{ONOO}\cdot$) [15]. Reaktywne formy tlenu są pośrednimi produktami kolejnych etapów redukcji tlenu cząsteczkowego podczas stopniowego procesu podzielonego na jednoelektronowe etapy. Tlen cząsteczkowy pełni funkcję akceptora elektronów dla mitochondrialnej oksydazy cytochromowej, która jest enzymatycznym kompleksem kończącym łańcuch transportowy elektronów w mitochondrium oraz katalizującej reakcję redukcji O_2 do H_2O [16]. Wiele procesów fizjologicznych zachodzących w komórce powoduje wytwarzanie wolnych rodników. Jednakże należy pamiętać, że wolne rodniki pośredniczą również w istotnych funkcjach komórki takich jak: wzrost, proliferacja, różnicowanie, przekazywanie sygnałów komórkowych czy apoptoza. Przyczyniają się również do prawidłowego dojrzewania oocytów, steroidogenezy i wspierają proces zapłodnienia oraz wczesnego rozwoju zarodka i łożyska. Wszystkie powyżej wymienione procesy w prawidłowych warunkach znajdują się pod kontrolą enzymatycznych i nieenzymatycznych mechanizmów obronnych [17].

Mechanizmy obronne chroniące przed działaniem stresu oksydacyjnego mają trójstopniowe działanie. Pierwszą linią obrony jest niedopuszczenie do powstawania reaktywnych form tlenu oraz wchodzenia ich w reakcje ze związkami biologicznymi. W tej obronie główną rolę pełnią białka wiążące jony metali przejściowych, głównie żelaza i miedzi. Drugą linią obrony tworzą enzymy antyoksydacyjne oraz endo- i egzogenne niskocząsteczkowe antyoksydanty. Neutralizują nadmiar reaktywnych form tlenu w cytoplazmie i mitochondriach. Trzecią linią obrony przed ROS są enzymy naprawiające uszkodzone DNA, Dzieje się tak jeśli działanie enzymatycznych i nieenzymatycznych systemów antyoksydacyjnych nie przyniosło oczekiwanego skutku. Wtedy dochodzi do aktywacji enzymów odpowiedzialnych za naprawę uszkodzeń jądrowych i mitochondrialnych (np. glikozydazy odcinające uszkodzone zasady azotowe lub ligazy naprawiające pęknięcia nici DNA) [16, 17]. Jak zostało wspomniane wcześniej wyróżniamy dwa rodzaje systemu antyoksydacyjnego: enzymatyczny i nieenzymatyczny. Głównymi enzymami wchodzącymi w skład enzymatycznego systemu antyoksydacyjnego są: dysmutaza ponadtlenkowa, katalaza i peroksydaza glutationowa. Natomiast nieenzymatyczne antyutleniacze to między innymi N-acetylocysteina (NAC), witamina A, E, jak również kwas askorbinowy [18].

Wzrost aktywności mitochondrialnej w oocyty jest powiązany ze wzrostem wytwarzania reaktywnych form tlenu (ROS). Wraz z wiekiem samicy w starzejących się jajnikach rośnie poziom stresu oksydacyjnego, co skutkuje wzrostem uszkodzeń oksydacyjnych białek, DNA oraz lipidów. Dodatkowo, wraz z wiekiem matki zmniejsza się liczba kopii mitochondrialnego DNA, co wpływa na kompetencje rozwojowe oocytów i ogranicza poziom ATP, niezbędnego do funkcjonowania wszystkich procesów komórki [1]. Reaktywne formy tlenu są jedną z przyczyn powstawania mutacji i uszkodzeń w genomie mitochondrialnym oraz jądrowym. Mitochondrialne DNA zawiera wiele genów odpowiadających za prawidłowy przebieg procesu fosforylacji oksydacyjnej. Utrzymanie prawidłowego działania procesu fosforylacji oksydacyjnej zapewnia odpowiedni poziom ATP, niezbędny do podziałów komórki, formowania wrzeciona kariokinetycznego czy wcześniej wspomnianego już procesu zapłodnienia [20]. Jednocześnie proces wytwarzania ATP wymaga utrzymania aktywności mitochondriów na takim poziomie, który nie przekracza zdolności usuwania przez mitochondrialne enzymy antyoksydacyjne oraz białka naprawcze mtDNA rodników oraz uszkodzeń mtDNA [21].

WPŁYW STRESU OKSYDACYJNEGO SPOWODOWANEGO STARZENIEM POOWULACYJNYM I JEGO KLINICZNE KONSEKWENCJE

Zaburzona równowaga oksydacyjna wpływa negatywnie na wszystkie etapy reprodukcji. Rozpoczynając od gametogenezy, owulacji czy zapłodnienia, poprzez wczesny rozwój zarodka oraz implantację. Badania sugerują, że wysokie stężenie wolnych rodników w płynie pęcherzykowym wpływa na przyspieszony proces starzenia jajnika. U starszych kobiet zaobserwowano zaburzenia równowagi oksydacyjnej w płynie pęcherzykowym w którym stężenie enzymów antyoksydacyjnych (transferazy glutationowej, katalazy) było niższe niż u kobiet młodych [10].

W ostatnich latach stres oksydacyjny jest uznawanym czynnikiem patomechanizmu wielu chorób. Dane literaturowe wskazują, że ROS są niezbędne do prawidłowego funkcjonowania żeńskiego i męskiego układu rozrodczego [22]. Jednak mechanizmy kontrolujące te procesy nadal pozostają słabo poznane. Stres oksydacyjny wywołany starzeniem poowulacyjnym jest silnie powiązany ze zmniejszonymi wskaźnikami zapłodnienia, słabą jakością zarodków i nieprawidłowym rozwojem płodu [6]. Coraz więcej dowodów wskazuje, że enzymy antyoksydacyjne tj. dysmutaza nadtlenkowa Mn (Mn-Sod), katalaza i peroksydaza glutationowa redukują ROS podczas starzenia poowulacyjnego oraz starzenia spowodowanego wiekiem matki [18]. Dodatkowo, stres oksydacyjny jest silnie powiązany z obniżoną jakością oocytów, gdyż mitochondrialne DNA nie jest chronione przez histo-

ny i starzejące się oocyty są bardzo podatne na stres oksydacyjny oraz uszkodzenia mtDNA. Chociaż oocyt zapewnia sobie wewnątrzkomórkową ochronę przed stresem oksydacyjnym w postaci przeciwutleniającego glutationu, zasoby te są wyczerpywane wraz z wiekiem matki. Co w konsekwencji postępującego wzrostu produkcji ROS i jednoczesnego osłabienia ochrony antyoksydacyjnej oocytu skutkuje wspomnianym już wcześniej spadkiem krytycznych czynników cyklu komórkowego, dysfunkcją mitochondriów, apoptozą oocytu, upośledzona homeostazą oscylacji wapniowych, obniżonym tempem zapłodnienia, słabą jakością zarodka i nieprawidłowym rozwojem płodu [6, 22].

PODSUMOWANIE

Starzenie poowulacyjne w oocytach ssaków jest jedną z głównych przyczyn obniżenia jakości oocytu oraz jego przyspieszonej apoptozy. Może wystąpić zarówno w organizmie kobiety, kiedy to owulowany oocyt starzeje się w jajowodzie, jak również pozaustrojowo w przeprowadzanej hodowli *in vitro*. Zakres nieprawidłowości zależy od czasu trwania starzenia oraz genetyki komórki. Starzenie poowulacyjne oocytów może powodować m. in. przedwczesną egzocytozę ziaren korowych, wpływając na stwardnienie osłonki przejrzystej i utrudniając wniknięcie plemnika do wnętrza oocytu podczas procesu zapłodnienia. Ponadto, wpływa na funkcjonalność cytoszkieletu komórkowego. Powodując dysfunkcję kompleksu aktynowo-miozynowego, co w konsekwencji prowadzi do nieprawidłowego przemieszczania się wrzeciona podziałowego podczas podziału komórki i zaburzonej segregacji chromosomów. Skutkuje obniżeniem stężenia zgromadzonych w oocycie wolnych jonów wapnia oraz zmianami w mechanizmie regulującym generowanie wyrzutów Ca^{2+} , wpływając na pracę mitochondriów. Mitochondria pełnią ważną rolę w wielu procesach komórkowych, regulują poziom wapnia, metabolizm energetyczny, homeostazę oraz programowaną śmierć komórki (apoptozę). Podczas starzenia poowulacyjnego w wyniku upośledzenia ochrony antyoksydacyjnej oraz gwałtownego wzrostu stężenia Ca^{2+} zwiększa się stężenie reaktywnych form tlenu w macierzy mitochondrialnej. Pomimo tego, że reaktywne formy tlenu są niezbędne do prawidłowego funkcjonowania żeńskiego układu rozrodczego. To stres oksydacyjny wywołany starzeniem poowulacyjnym jest silnie powiązany ze zmniejszonym wskaźnikiem zapłodnienia, słabą jakością zarodków oraz nieprawidłowym rozwojem płodu. Dlatego tak ważnym tematem jest opracowywanie nowych metod łagodzenia stresu oksydacyjnego za pomocą suplementacji antyoksydantami, które mogą stanowić bezpieczną i skuteczną metodę opóźniania starzenia poowulacyjnego zarówno poprzez doustną suplementację kobiety jak również suplementacje pożywki hodowlanej w warunkach *in vitro*.

LITERATURA

- [1] Hang D, Keilty D, Zhang Z.F, Chian R.C. Mitochondria in oocyte aging: current understanding. *Facts Views Vis Obgyn.* 2017; **9**:29-38.
- [2] Zhang T, Zhou Y, Li L, Wang HH, Ma XS, Qian WP, Shen W, Schatten H, Sun Q. Y. . SIRT1, 2, 3 protect mouse oocytes from postovulatory aging. *Aging (Albany NY).* 2016; **8**: 685-694.
- [3] Wang T, Gao YY, Chen L, Nie ZW, Cheng W, Liu X, Schatten H, Zhang X, Miao Y.L. Melatonin prevents postovulatory oocyte aging and promotes subsequent embryonic development in the pig. *Aging.* 2017; **9**: 1552-1564
- [4] Yamada M, Egli D. Genome Transfer Prevents Fragmentation and Restores Developmental Potential of Developmentally Compromised Postovulatory Aged Mouse Oocytes. *Stem Cell Reports.* 2017; **8**: 576-588.
- [5] Mackenzie AC, Kyle DD, McGinnis LA, Lee HJ, Aldana N, Robinson DN, Evans JE. Cortical mechanics and myosin-II abnormalities associated with post-ovulatory aging: implications for functional defects in aged eggs, *Molecular Human Reproduction.* 2016; **6**:397-409.ay-Panloup P, Boucret L, Chao de la Barca J.M, Desquiret-Dumas V, Ferré-L'Hotellier V, Morinière C, Descamps P, Procaccio V, Reynier P. Ovarian ageing: the role of mitochondria in oocytes and follicles. *Hum Reprod Update.* 2016; **22**: 725-743.
- [6] Szpila M, Walewska A, Sabat-Pośpiech D, Strączyńska P, Ishikawa T, Milewski R, Szczepańska K, Ajduk A. Postovulatory ageing modifies sperm-induced Ca²⁺ oscillations in mouse oocytes through a conditions-dependent, multi-pathway mechanism. *Sci Rep.* 2019; **14**: 9(1):11859.
- [7] Sanders, JR, Swann K-. Molecular triggers of egg activation at fertilization in mammals. *Reproduction.*2016; **152**: 41-50.
- [8] Igarashi H, Takahashi T, Abe H, Nakano H, Nakajima O, Nagase S. Poor embryo development in post-ovulatory in vivo-aged mouse oocytes is associated with mitochondrial dysfunction, but mitochondrial transfer from somatic cells is not sufficient for rejuvenation. *Hum Reprod.* 2016; **31**(10): 2331-8.
- [9] Chernodudskiy, AL, Zito E. Regulation of Calcium Homeostasis by ER Redox: A Close-Up of the ER/ Mitochondria Connection. *J. Mol. Biol.* 2017; **429** 620-632.
- [10] Moghadam A, Moghadam, M T, Hemadi, M, Saki G.Oocyte quality and aging. *JBRA assisted reproduction* 2022;**26**(1):105-122.
- [11] Zhang D, Keilty D, Zhang ZF, Chian RC.. Mitochondria in oocyte aging: current understanding. *Facts Views Vis Obgyn.* 2017; **9**: 29-38.
- [12] Ben-Meir A, Burstein E, Borrego-Alvarez A, Chong J, Wong E, Yavorska T, Naranian T, Chi M, Wang Y, Bentov Y, Alexs J, Meriano J, Sung H.K, Gasser D.L, Moley K.H, Hekimi S, Casper R.F, Jurisicova A, 2015. Coenzyme Q10 restores oocyte mitochondrial function and fertility during reproductive aging. *Aging Cell.* 2015; **14**: 887-895.
- [13] Bernhardt ML, Stein P, Carvacho I, Krapp C, Ardestani G, Mehregan A, Umbach DM, Bartolomei MS, Fissore RA, Williams CJ. TRPM7 and Ca_v3.2 channels mediate Ca²⁺ influx required for egg activation at fertilization. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2018; **30**;115(44):E10370-E10378
- [14] Elfawy HA, Das B. Crosstalk between mitochondrial dysfunction, oxidative stress, and age related neurodegenerative disease: Etiologies and therapeutic strategies. *Life Sci.* 2019; **218**: 165-184.
- [15] Rimessi A, Previati M, Nigro F, Wieckowski M.R, Pinton P, 2016. Mitochondrial reactive oxygen species and inflammation: molecular mechanisms, diseases and promising therapies. *Int J Biochem Cell Biol.* 2016; **81**: 281-293.
- [16] Winterbourn CC. Hydrogen peroxide reactivity and specificity in thiol-based cell signalling. *Biochem. Soc. Trans.* 2020; **48**: 745-754.
- [17] Sies H. Oxidative stress: a concept in redox biology and medicine. *Redox Biol.* 2015; **4**:180-3.
- [18] Oyewole AO, Birch-Machin MA. Mitochondria-targeted antioxidants. *FASEB J.* 2015; **29**(12);:4766-71.

- [19] Prasad S, Tiwari M, Koch B, Chaube SK. Morphological, cellular and molecular changes during post-ovulatory egg aging in mammals. *J. Biomed. Sci.* 2015; **22**: 36.
- [20] Tanabe M, Tamura H, Taketani T, Okada M, Lee L, Tamura I, Maekawa R, Asada H, Yamagata Y, Sugino N. Melatonin protects the integrity of granulosa cells by reducing oxidative stress in nuclei, mitochondria, and plasma membranes in mice. *J. Reprod. Dev.* 2015; **61**: 35-41.
- [21] Kawagishi H, Finkel T. Unraveling the truth about antioxidants: ROS and disease: finding the right balance. *Nat Med.* 2014; **20**: 711-3.
- [22] Lord T, Aitken RJ. Oxidative stress and ageing of the post-ovulatory oocyte. *Reproduction* 2013; **146**: R217-27.

Redaktor prowadzący - Maciej Zabel

Otrzymano: 10.05.2022

Przyjęto: 02.06.22

Patrycja Straczyńska

Gyncentrum Klinika Leczenia Niepłodności,

Żelazna 1, 40-851 Katowice

e-mail: straczynska.patrycja@gmail.com

tel.: 730396524

