

# Komórkowe mechanizmy zapewniające jakość żeńskich komórek rozrodczych ssaków

## STRESZCZENIE

Gamety są skrajnie zróżnicowanymi komórkami, które uczestnicząc w zapłodnieniu dają początek nowemu organizmowi. Rolą w pełni funkcjonalnej gamety, oprócz umożliwienia zapłodnienia, jest także zapewnienie pełnego niezakłóconego rozwoju osobnika. Celem niniejszego artykułu jest przybliżenie funkcjonujących podczas oogenezy ssaków mechanizmów, które zapewniają właściwy przebieg procesów rozwojowych po zapłodnieniu oraz jakość przekazanego potomstwu materiału dziedzicznego.

## WPROWADZENIE

We wczesnym zarodku ssaków (u myszy w siódmym dniu rozwoju) można wyróżnić grupę komórek ulokowanych u nasady omocznicy. Są to pierwotne komórki płciowe (zwane też komórkami prapłciowymi), linia komórkowa, która w wyniku proliferacji i różnicowania rozwija się w komórki płciowe – gamety. Zarówno gamety żeńskie – oocyty, jak i gamety męskie – plemniki są krańcowo wyspecjalizowane, posiadając specyficzną morfologię, w tym szereg unikatowych struktur zapewniających prawidłowy przebieg zapłodnienia. Jednakże, myśląc o funkcjonalnej gamecie, nie należy zaważać problemu jedynie do kwestii mechaniki zapłodnienia. Obecnie wiadomo, że problem ograniczonych kompetencji gamety do uczestniczenia w zapłodnieniu można w wielu przypadkach rozwiązać poprzez zastosowanie procedur wspomaganej rozrodo. W tym przypadku wydaje się, że głównym problemem klinik wspomaganej rozrodo nie jest samo uzyskanie prawidłowo wyglądających zygot, lecz uzyskanie satysfakcjonującej wydajności ich rozwoju. Samo zapłodnienie bowiem nie jest jeszcze równoznaczne z prawidłowym rozwojem zarodka. Dlatego o jakości gamet na równi decyduje zarówno ich zdolność do prawidłowego uczestniczenia w zapłodnieniu, jak i ich zdolność do przeprowadzenia już uzyskanej zygoty przez pełen, niezakłócony proces rozwojowy. Innymi słowy, funkcjonalna gameta to taka, która zapewnia i zapłodnienie, i prawidłowy rozwój. Celem niniejszego artykułu będzie rozważenie jakości gamety żeńskiej w kontekście tych mechanizmów zachodzących podczas oogenezy, które zapewniają, że zapłodniony oocyt uzyskał pełne kompetencje rozwojowe.

## INFORMACJA MATCZYNA

Oocyty są komórkami o dużych rozmiarach uzyskiwanych podczas tak zwanej fazy wzrostu. Na tym etapie oogenezy oocyty znajdują się już w jajniku zablokowane w profazie pierwszego cyklu mejotycznego (diploten profazy I). Faza wzrostu jest rozciągnięta w czasie (u myszy trwa około 17–18 dni) i charakteryzuje się wysoką aktywnością metaboliczną skierowaną na produkowanie białek, cząsteczek RNA (transkryptów) oraz lipidów [1,2]. Szacuje się, że tempo syntezy białek wzrasta podczas fazy wzrostu czterdziestokrotnie [3] (przy czym oprócz białek gromadzonych w cytoplazmie oocytu znaczący udział ma tu także produkcja białek wchodzących w skład tak zwanej osłonki przejrzystej – struktury otaczającej oocyt o wielorakiej funkcji – od regulowania przestrzennej organizacji pęcherzyka jajnikowego, poprzez mechanizm zapłodnienia i na regulacji procesu implantacji skończywszy [3]). Osłonka przejrzysta nie jest jednak tematem tego artykułu a bliższe informacje na jej temat zainteresowany czytelnik może znaleźć w artykułach przeglądowych [3,4]). Całość metabolitów zgromadzonych w cytoplazmie oocytu podczas fazy wzrostu określamy jako informację matczyną i jest to kluczowa pula składników, która pokieruje rozwojem zarodka bezpośrednio po zapłodnieniu. Jakość tej informacji jest zatem składową jakości oocytu [5].

Znaczenie informacji matczynej jest bezpośrednio związane z pierwszą fazą rozwoju, który odbywa się przy wyłączonyj transkrypcji [6]. Bezpośrednio po

Prof. dr hab. Zbigniew Polański<sup>1</sup>✉,

Dr Łukasz Gąsior<sup>2</sup>✉

<sup>1</sup>Pracownia Genetyki i Ewolucjonizmu, Instytut Zoologii i Badań Biomedycznych Uniwersytetu Jagiellońskiego, Kraków

<sup>2</sup>Zakład Neurobiologii, Instytut Farmakologii im. Jerzego Maja Polskiej Akademii Nauk, Kraków

[https://doi.org/10.18388/pb.2021\\_421](https://doi.org/10.18388/pb.2021_421)

✉autor korespondujący: zbigniew.polanski@uj.edu.pl, gasior@if-pan.krakow.pl

**Słowa kluczowe:** jakość oocytu, informacja matczyzna, segregacja chromosomów, uszkodzenia DNA, mitochondria, epigenetyczne reprogramowanie chromatyny

**Wykaz skrótów:** APC – kompleks promujący anafazę, ATM – kinaza ataxia telangiectasia mutated, ATR – kinaza ataxia telangiectasia and Rad3-related protein, DSB – dwuniciowe pęknięcia DNA, HR – naprawy przez homologiczną rekombinację, NHEJ – naprawy przez niehomologiczne łączenie wolnych końców, SAC – punkt kontrolny wrzeciona

**Tabela 1.** Stadia rozwojowe, w których dochodzi do głównej fali aktywacji genów zarodka u różnych gatunków kręgowców (zaadoptowane z 104.).

Gatunek	Główna aktywacja genów zarodka
Człowiek	Po dwóch podziałach zarodka; 4-komórkowy zarodek
Mysz ( <i>Mus musculus</i> )	Po pierwszym podziale zarodka; 2-komórkowy zarodek
Żaba ( <i>Xenopus levis</i> )	Po 12 podziałach zarodka; stadium blastuli
Danio pręgowane ( <i>Danio rerio</i> )	Po 10 podziałach zarodka; stadium blastuli

zapłodnieniu transkrypcja, z wyjątkiem nielicznej frakcji genów, jest zablokowana i do czasu jej aktywacji rozwój odbywa się w oparciu o składniki zgromadzone w oocytyce właśnie jako informacja matczyzna [6]. U ssaków główna fala aktywacji genów zarodka zachodzi stosunkowo wcześnie - u myszy w stadium 2 komórek, u ludzi w stadium 4–8 komórek, a więc stosunkowo wcześnie w porównaniu np. do płazów, czy owadów (Tabela 1). Wydaje się, że jest to jeden z powodów, dla których rozmiary ssaczych oocytów są wyraźnie mniejsze niż rozmiary oocytów wielu innych taksonów, które ze względu na dłuższy czas rozwoju zachodzący przy zablokowanej transkrypcji wymagają zgromadzenia znacznie większej ilości informacji matczynej.

Znaczenie wielkości komórki jajowej u ssaków (a więc ilości zgromadzonej informacji matczynej) potwierdza także jej specyficzny, asymetryczny podział [7]. Zarówno podczas pierwszego, jak i podczas drugiego podziału mejozytycznego wynikiem cytokinezy jest oocyt oraz ciało kierunkowe. Asymetryczną cytokinezę umożliwia specyficzny mechanizm kontroli położenia wrzeciona komórkowego, które podczas pierwszego cyklu mejozytycznego wędruje z pozycji centralnej pod powierzchnię oocytu [8]. Niewielkie rozmiary ciałek kierunkowych zapewniają, że informacja matczyzna gromadzona przy olbrzymich nakładach energii podczas fazy wzrostu nie zostanie czterokrotnie zredukowana, co miałyby miejsce gdyby cytokineza obydwu podziałów mejozytycznych zachodziła symetrycznie. Ciała kierunkowe należy więc rozpatrywać jako minimalny pakunek, w którym oocyt może usunąć nadmiar materiału genetycznego, tak aby finalnie jego ilość wynosiła  $1n1C$ .

## MECHANIZMY ZAPOBIEGAJĄCE ANEUPLOIDII

Redukcja ilości materiału genetycznego do  $1n1C$  podczas oogenezy wymaga precyzyjnego rozdziału chromosomów tak aby w następstwie podziałów mejozytycznych każdy chromosom reprezentowany był tylko przez jedną chromatydę. Każda inna sytuacja, a więc obecność większej liczby chromatyd dowolnego chromosomu lub brak chromatyd dowolnego chromosomu skutkuje po zapłodnieniu przez plemnik aneuploidią zarodka – zwykle trisomią lub monosomią tego chromosomu, którego segregacja podczas mejozy była zaburzona. W przeciwieństwie do aneuploidii komórek somatycznych, która najczęściej inicjuje mechanizmy eliminujące taką komórkę w procesie apoptozy, aneuploidia w komórkach zarodka skutkuje najczęściej jego poronieniem [9,10] i tylko w nielicznych przypadkach urodzeniem potomka o nieprawidłowej liczbie chromosomów obciążonego określonymi anomaliami fenotypowymi. Jest powszechnie wiadome, że u ssaków ryzyko nieprawidłowego rozdziału chromosomów podczas mejozy oocytów wzrasta znacząco wraz z wiekiem samicy.

Szereg czynników odpowiada za prawidłowy rozdział materiału genetycznego podczas mejozy. Jednym z nich jest utrzymanie kohezji pomiędzy chromosomami homologicznymi (podczas pierwszego cyklu mejozytycznego) oraz chromatydami siostrzanymi (podczas drugiego cyklu mejozytycznego) do momentu kiedy aparat podziałowy jest skonfigurowany w sposób zapewniający ich rozdział do komórek potomnych. Oocyty ssaków rozpoczynają mejozę jeszcze w okresie płodowym i w tej też fazie rozwoju dochodzi do ustanowienia kohezji pomiędzy chromatydami i chromosomami homologicznymi [11]. Badania na myszach pokazały, że z upływem czasu kohezyny podlegają zużyciu, co prowadzi do przedwczesnego rozłączania się chromosomów homologicznych i chromatyd przez co niemożliwe staje się uzyskanie odpowiedniej konfiguracji we wrzecionie podziałowym, co generuje błędy segregacji [12–14]. Drugim znaczącym czynnikiem potęgującym ryzyko błędów segregacji chromosomów podczas mejozy ssaczych oocytów są anomalie w budowie wrzeciona podziałowego, które szczególnie często występują u starszych samic [15].

Szczególną cechą rozdziału materiału dziedzicznego podczas pierwszego podziału mejozytycznego jest segregowanie do komórek potomnych całych chromosomów homologicznych. Aby zapobiec rozdzieleniu się w tej fazie mejozy pojedynczych chromatyd (co w większości przypadków skutkuje aneuploidią gamet) konieczne jest uzyskanie szczególnej orientacji bivalentów oraz ich prawidłowe podpięcie do mikrotubul wrzeciona. Krytycznym procesem jest tutaj złączenie się kinetochorów obu chromatyd chromosomu homologicznego, które w ten sposób tworzą pojedynczą jednostkę funkcjonalną, do której przyłączają się mikrotubule biegnące od biegunów wrzeciona [16]. Kolejnym warunkiem prawidłowej segregacji jest uzyskanie połączenia przez każdy z chromosomów homologicznych bivalentu do przeciwległego bieguna, co zapewni, że po degradacji kohezyn chromosomy homologiczne zostaną od siebie odciążone przez związane z mikrotubulami białka motoryczne [17]. Każda anomalia w połączeniu kinetochorów bivalentu z mikrotubulami wrzeciona odbiegająca od schematu zaprezentowanego powyżej niesie ogromne ryzyko nieprawidłowej segregacji chromosomów.

W przypadku oocytów złożoność procesów, które pozwolą spełnić powyższe wymogi, skutkuje znacznym wydłużeniem fazy M pierwszego cyklu mejozytycznego, która w oocytach myszy trwa 6–10 godzin [18], a u większości ssaków nawet jeszcze dłużej. W istocie, badania z wykorzystaniem obrazowania dynamiki ruchów chromosomów podczas formowania wrzeciona podziałowego w pierwszej profazie mejozytycznej oocytów myszy wykazały, że uzyskanie właściwej konfiguracji chromosomów jest rozciągniętym w czasie procesem zachodzącym na zasadzie „prób i błę-

dów”, podczas którego połączenie między poszczególnymi bivalentami a mikrotubulami wrzeciona jest wielokrotnie nawiązywane, a następnie korygowane, zanim uzyskana zostanie prawidłowa konfiguracja [17].

Z powyższych rozważań wynika, że aby zapobiec aneuploidii, inicjacja anafazy nie powinna mieć miejsca przed właściwym podłączeniem chromosomów do mikrotubul wrzeciona. Rzeczywiście, taka synchronizacja istnieje, a istotą jej funkcjonowania jest wysyłanie do cytoplazmy przez niepodłączone (lub nieprawidłowo podłączone) kinetochory sygnału blokującego rozpoczęcie anafazy. Na poziomie molekularnym zapewnia to współdziałanie dwóch elementów: kompleksu promującego anafazę APC (APC, ang. *Anaphase Promoting Complex*) i punktu kontrolnego wrzeciona SAC (SAC, ang. *Spindle Assembly Checkpoint*). APC jest kompleksem białkowym, którego zadaniem jest inicjacja degradacji kohezyn – białek zapewniających zarówno przyleganie do siebie siostrzanych chromatyd, jak i (w przypadku pierwszego podziału mejotycznego) utrzymanie połączeń między chromosomami homologicznymi w bivalentach [19]. Kluczowym elementem łączącym aktywację APC z uzyskaniem prawidłowych połączeń między kinetochorami a mikrotubulami jest SAC [19]. Białka z rodziny Mad i Bub należące do ścieżki SAC wchodzi w interakcje z kinetochorami, ale tylko tymi, które jeszcze nie uzyskały połączenia z mikrotubulami. W wyniku tych interakcji dochodzi do zmian konformacji Bub i Mad, dzięki którym wiążą się z APC blokując jego aktywność. Uzyskiwanie prawidłowych podłączeń przez kolejne kinetochory podczas prometafazy powoduje spadek liczby wolnych kinetochorów. Tym samym dochodzi do spadku poziomu białek Mad i Bub o konformacji umożliwiającej wiązanie APC co skutkuje jego aktywacją, a w konsekwencji degradacją kohezyn i rozpoczęciem anafazy [17,20].

Podczas gdy w mitozie współdziałanie wszystkich tych elementów znacząco obniża ryzyko nieprawidłowej segregacji, w przypadku dwóch kolejnych podziałów mejotycznych konieczne jest jeszcze odpowiednie stopniowanie degradacji kohezyn. Podczas pierwszej anafazy mejotycznej degradacji powinny ulegać jedynie te kohezyny, które utrzymują połączenie chromosomów homologicznych, gdyż rozłączenie chromatyd w tej fazie mejozy skutkowałoby aneuploidią. Rolę strażnika wypełnia specyficznie dla pierwszego podziału mejotycznego białko shugoshin (w języku japońskim strażnik) chroniące przed degradacją w tej fazie mejozy te kohezyny, które zapewniają przyleganie chromatyd siostrzanych [21].

W tej złożonej układance do roli elementu kontrolnego obniżającego ryzyko aneuploidii urasta SAC, gdyż to on „decyduje” kiedy system jest gotowy do prawidłowej segregacji chromosomów aktywując w stosownym momencie APC. Co ciekawe, ze względu na to, że u ssaków błędna segregacja chromosomów zachodzi z częstością kilkukrotnie wyższą w mejozie żeńskiej niż w męskiej [22], funkcjonowanie SAC w oocytach było przez pewien czas kwestionowane zanim ostatecznie udowodniono, że kontroluje on segregację chromosomów w oocytach ssaków zarówno podczas pierwszego, jak i drugiego podziału mejotycznego [23,24].

Efektywność działania SAC u ssaków wydaje się jednak wyraźnie obniżona w oocytach w porównaniu z innymi rodzajami komórek. Jednym z powodów mogą być ich bardzo duże rozmiary. W przypadku komórek tak dużych jak oocyty, elementy ścieżek sygnałowych kontrolujących rozmaite procesy występują w większym „rozcieńczeniu” ze względu na dużą objętość cytoplazmy. Z tego powodu mogą działać mniej efektywnie niż w komórkach o mniejszych rozmiarach. Eksperymentalne zredukowanie objętości oocytu myszy rzeczywiście skutkowało zarówno mniejszą częstością defektów formowania wrzeciona podziałowego, jak i podniesieniem efektywności SAC [25]. Kolejną przyczyną obniżenia wydajności działania SAC w oocytach może być spadek ekspresji białek tej ścieżki zaobserwowany u starszych samic [26,27], co mogłoby prowadzić do postępującego wraz z wiekiem obniżenia efektywności SAC w oocytach.

Podsumowując, oocyty ssaków posiadają zatem mechanizmy zabezpieczające prawidłową segregację materiału dziedzicznego razem ze współdziałającym z nimi systemem kontroli jakości aparatu podziałowego (SAC). Jednocześnie specyfika tych komórek (np. duże rozmiary, długi okres upływający do wejścia w fazę podziałową) powoduje, że są narażone na stosunkowo wysokie ryzyko błędów segregacji, przy czym istotnym elementem tego ryzyka jest zaawansowany wiek samic.

#### MECHANIZMY ODPOWIEDZIALNE ZA INTEGRALNOŚĆ MATERIAŁU GENETYCZNEGO OOCYTÓW

Obecnie wyróżnia się cały szereg typów uszkodzeń DNA, od pęknięć nici DNA, poprzez modyfikacje zasad azotowych, aż do zaburzeń przestrzennej struktury helisy DNA. Spośród nich szczególnie niebezpieczną kategorię stanowią dwuniciowe pęknięcia DNA (DSBs, ang. *Double Strand Breaks*) ze względu na dewastujące szkody jakie powodują [28]. Przyczyny powstawania DSBs są wielorakie, a pośród nich na szczególne wyróżnienie zasługuje stres oksydacyjny i związany z nim podwyższony poziom reaktywnych form tlenu (RFT). Podniesiony ponad fizjologiczną normę poziom RFT w komórkach jest wyznacznikiem naszych czasów i wynika z najprzeróżniejszych czynników, głównie społecznych i środowiskowych, począwszy od stresu psychicznego [29], poprzez zanieczyszczenie środowiska [30], na nadmiernym stosowaniu substancji psychotropowych skończywszy [31].

RFT w przeważającej mierze powodują powstawanie uszkodzeń zasad azotowych lub powstawanie pojedynczych pęknięć DNA (SSBs, ang. *Single Strand Breaks*). SSBs same w sobie nie stanowią jeszcze dużego zagrożenia dla integralności genomu, ale w wyniku replikacji nici niosącej SSB, bądź też pojawienia się dużej liczby SSBs w bezpośrednim sąsiedztwie, może dojść do ich konwersji do bardziej niebezpiecznej formy pęknięcia obejmującej obie nici w podwójnej helisie, czyli DSB [32]. Ponieważ oocyty ssaków są zatrzymane w jajniku w profazie pierwszego podziału mejotycznego (trwającą u ludzi nawet ponad 40 lat), mogą w tym czasie gromadzić potencjalnie dużą liczbę uszkodzeń



DNA. Brak odpowiednich systemów naprawczych doprowadziłby więc, w bardzo krótkim czasie, do całkowitej fragmentacji genomu oocyty. Należy także zwrócić uwagę na coraz powszechniej stosowane procedury wspomaganego rozrodu, w których oocyty, ze względu na bezpośrednie wystawienie na działanie środowiska zewnętrznego, są szczególnie narażone na stres oksydacyjny [31].

W przypadku pojawienia się DSBs i innych uszkodzeń DNA dochodzi do uruchomieniem szeregu mechanizmów ochrony integralności genomu, koordynowanych w ramach kompleksowej odpowiedzi komórki na powstałe uszkodzenia, określanej jako DDR (DDR, ang. *DNA Damage Response*). Do głównych procesów koordynowanych przez DDR należą: uruchomienie napraw DNA, aktywacja punktów kontrolnych blokujących cykl komórkowy oraz eliminowanie komórek z nienaprawionymi uszkodzeniami drogą apoptozy.

DSBs naprawiane są poprzez dwa alternatywne mechanizmy: homologiczną rekombinację (HR, ang. *Homologous Recombination*) lub niehomologiczne łączenie wolnych końców (NHEJ, ang. *Non-Homologous End Joining*) [33]. Angażują one szereg białek naprawczych, z których wiele kluczowych, jak BRCA1, Rad51, MRE11 lub ATM ulega obniżonej ekspresji w oocytach starszych samic, co może skutkować obniżeniem zdolności naprawczych oocyty. Istotnie, nowe dane wskazują na spadek efektywności napraw DNA wraz z wiekiem samic ssaków oraz związaną z tym akumulacją nienaprawionych defektów w genomie oocytów, co prowadzi do utraty rezerwy jajnikowej i przedwczesnej menopauzy albo do punktowych mutacji i aneuploidii w genomie potomstwa takich matek [34,35]. Jednocześnie następuje wzrost tolerancji na uszkodzenia i obniżenie zdolności oocytów do apoptozy w odpowiedzi na zgromadzone uszkodzenia [34,35].

Regulacja cyklu komórkowego podczas mejozy oocytów różni się znacznie od regulacji w komórkach mitotycznych [20,36]. Jednak, pomimo tych różnic, punkty kontrolne cyklu komórkowego, które blokują proliferację w komórkach zagrożonych utratą funkcji i integralności genomowej, również w oocytach występują. Pierwszy punkt kontrolny kontroluje wznowienie mejozy, która zablokowana została w profazie pierwszej jeszcze w jajniku płodowym [37]. Mimo że ten punkt kontrolny działa już w oocytach profazowych (a nie pomiędzy fazą G2 i M), to uznaje się, iż jest on odpowiednikiem punktu kontrolnego regulującego wyjście komórek z fazy G2 cyklu komórkowego do fazy M (punkt G2/M) w komórkach mitotycznych [38]. W odniesieniu do uszkodzeń genomu punkt G2/M jest głównym mechanizmem zabezpieczającym przed wejściem w fazę podziałową komórek z uszkodzonym DNA [39].

Mimo podobnej funkcji do swojego mitotycznego odpowiednika, profazowy punkt kontrolny G2/M w oocytach wykazuje nieznaczne różnice w mechanizmie działania. W mitozie, przejście G2/M jest kontrolowane przez dwa szlaki fosforylacji, w których kinazy ATR (ATR, ang. *Ataxia Telangiectasia and Rad3-related protein*) i ATM (ATM, ang. *Ataxia Telangiectasia Mutated*) w odpowiedzi na szerokie spektrum defektów DNA fosforylują, odpowiednio, kinazy Chk1 i

Chk2 [37,40]. Te, z kolei, przekazują sygnał o występowaniu defektów genomu poprzez fosforylację białek z rodziny fosfataz Cdc25 – głównie fosfatazy Cdc25C. Prowadzi to do zahamowania aktywności fosfatazy Cdc25C, która nie jest teraz w stanie zdefosforylować kluczowego dla wejścia w fazę M kompleksu Cdk1/cykлина B, co powstrzymuje postęp cyklu komórkowego [41]. W profazowym punkcie G2/M oocyty, w odpowiedzi na uszkodzenia DNA, dochodzi do fosforylacji tylko Cdc25B [42], zaś sama aktywacja punktu odbywa się przez ATM/Chk1, a nie ATM/Chk2, jak to się dzieje w mitozie [38,43]. Chociaż rola kinazy Chk2 w sygnalizacji uszkodzeń DNA w oocycie również została wykazana [38,43] to dokładny mechanizm jej aktywacji pozostaje nieznan. W porównaniu do komórek mitotycznych kolejną różnicą w funkcjonowaniu punktu kontrolnego G2/M w oocytach jest brak zaangażowania kinazy ATR [44,45].

Co ciekawe, wyniki uzyskane na oocytach z nokautem genu p53/-/ sugerują, że kodowane przez niego białko, zwane strażnikiem genomu, nie jest istotnym elementem odpowiedzi na uszkodzenia DNA w żeńskiej linii płciowej [46]. Rolę tę pełnią inne białka rodziny p53 kierujące komórki z nadmierną ilością uszkodzeń na drogę apoptozy, wśród których najważniejszym strażnikiem genomu oocyty wydaje się być p63 (TAp63, ang. *Trans-Activating, p63*) [46–48]. Wykazano, że TAp63 jest niezbędnym czynnikiem transkrypcyjnym aktywującym ekspresję białek proapoptotycznych w oocytach [48]. Ekspresja TAp63 ulega jednak dramatycznemu spadkowi, gdy oocyt wchodzi w fazę wzrostu, dlatego mechanizm apoptozy w późnym etapie rozwoju oocyty przestaje zależeć od TAp63 i pozostaje na razie nieznan [47,49].

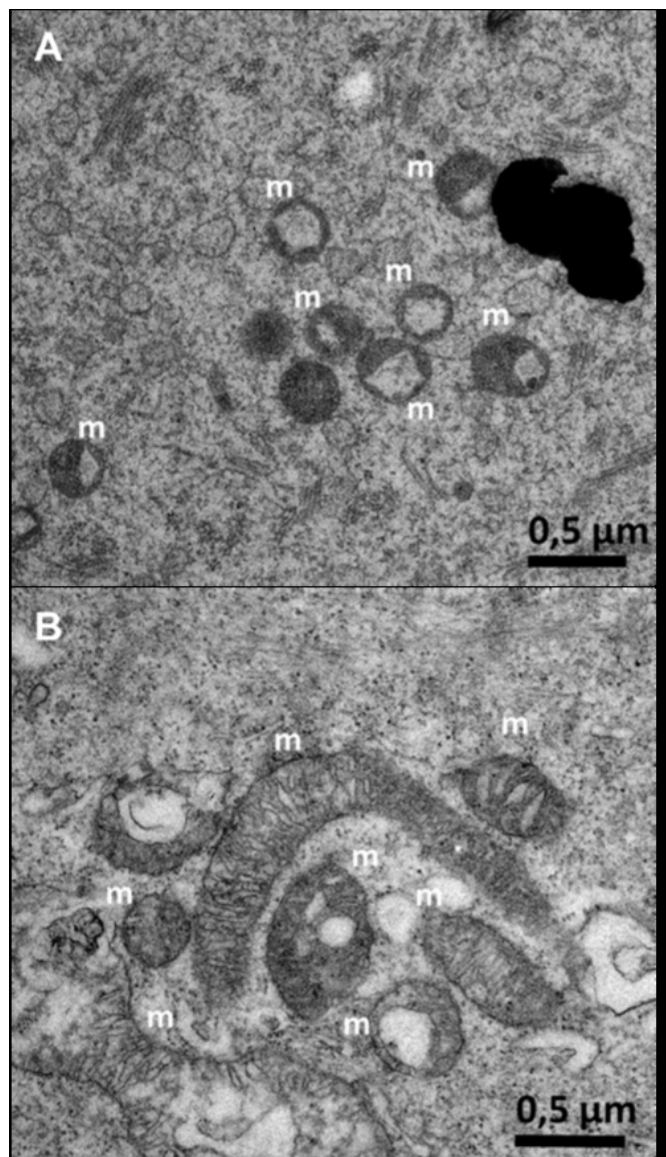
Wejście w fazę M pociąga za sobą rozpoczęcie kondensacji chromosomów i tworzenie wrzeciona podziałowego. Jest to jednocześnie faza, w której funkcjonuje kolejny punkt kontrolny cyklu komórkowego – znany nam już SAC. Kanonicznie, jak już opisano powyżej, roli SAC przypisywano nadzór nad właściwym formowaniem się wrzeciona podziałowego poprzez monitorowanie interakcji między mikrotubulami a kinetochorami. Badania ostatnich lat wykazały, jednakże, że kluczowe białka składowe tego punktu kontrolnego, Mad i Bub, są zaangażowane w blokowanie oocyty w metafazie I także w obecności pęknięć DNA [50,51]. W tym przypadku aktywacja SAC nie wydaje się występować w miejscach uszkodzenia DNA, lecz bezpośrednio na kinetochorze, a więc często w dużej odległości od powstałego uszkodzenia [50,52]. Biorąc pod uwagę, że komórki somatyczne nie posiadają mechanizmów wykrywania defektów DNA w fazie M cyklu komórkowego [53–56], zdolność SAC do wykrywania uszkodzeń DNA w oocytach zaskakuje. Choć odpowiedzialny za nią mechanizm pozostaje mało poznany, wiadomo, że nie angażuje on kinaz ATM i ATR, które zwykle są integralnymi elementami sygnalizacji uszkodzeń genomu [57]. Przedstawione powyżej dowody na zaskakujący udział SAC w sygnalizacji uszkodzeń DNA w oocytach uzyskano w badaniach na myszach. Ostatnie doniesienie wskazujące, że oocyty ludzkie nie posiadają zdolności odpowiedzi na uszkodzenia DNA [58], z pewnością nie ułatwiają zrozumienia tego procesu.

## ZNACZENIE MITOCHONDRIOW

Podziały mejotyczne oocyty, podobnie jak pierwsze podziały mitotyczne zarodka, w istotny sposób zależą od statusu energetycznego dzielących się komórek oraz kondycji samych mitochondriów [59]. Nie jest więc zaskoczeniem, że oocyty o wyższym poziomie ATP charakteryzują się wyższymi zdolnościami do zapłodnienia i lepszymi kompetencjami rozwojowymi [60,61]. Jądrowy czynnik oddechowy 1 (NRF1, ang. *Nuclear Respiratory Factor1*), oraz mitochondrialny czynnik transkrypcyjny (TFAM, ang. *Mitochondrial Transcription Factor A*) regulują wspólnie biogenezę mitochondriów [62], która jest prowadzona przez specyficzną dla mtDNA polimerazę Polg (polimeraza- $\gamma$ ) [63]. Oocyty o niskiej ekspresji TFAM i NRF1 posiadają niskie kompetencje rozwojowe [64]. Ekspresja polimerazy Polg oraz *Tfam* rośnie podczas wzrostu oocyty i w tym samym okresie gwałtownie rośnie liczba mitochondriów, potencjał ich błony mitochondrialnej, a także produkcja ATP [61,65,66]. Wiele badań wskazuje, że większa liczba mitochondriów oznacza lepsze kompetencje rozwojowe, a oocyty, które ulegają zapłodnieniu, posiadają znacznie większą liczbę mitochondriów, niż oocyty niezapłodnione [60,67]. W oocytach, które ukończyły fazę wzrostu, liczba kopii mtDNA nierzadko przekracza 200 000 u myszy, czy nawet 700 000 u ludzi. [68,69]. Wydaje się, że od tego momentu liczba kopii mtDNA w oocycie nie rośnie [70]. Tak więc uważa się, że zakończeniu fazy wzrostu oocyty towarzyszy zatrzymanie replikacji mtDNA, a ponowna replikacja zostaje uruchomiona dopiero po implantacji, kiedy zarodek zaczyna rosnąć [69].

Oprócz ilości mitochondriów niezwykle istotne znaczenie ma ich jakość, gdyż wszelkie zaburzenia stanu mitochondriów w oocycie mogą nie tylko poważnie ograniczać płodność, lecz także skutkować chorobami metabolicznymi, neurodegeneracyjnymi, i nowotworzeniem w rozwoju postnatalnym [59]. Wiadomo, że większość mutacji gromadzi się w komórkach wprost proporcjonalnie do wieku [71]. Stwierdzono, że wraz z wiekiem kobiet rośnie poziom stresu oksydacyjnego w oocytach, co powoduje wzrost liczby uszkodzeń oraz mutacji w mitochondrialnym DNA [72,73], które są przyczyną wielu ludzkich chorób. Z reguły choroby mitochondrialne obejmują zaburzenia neurologiczne, miopatie, cukrzycę i wiele endokrynopatii [74] i szacuje się, że jedna osoba na 5 000 [75] dotknięta jest jedną z 270 mutacji skutkujących chorobą mitochondrialną [76]. Choroby o takim podłożu zwykle są wielonarządowe, a ich leczenie opiera się, niestety, głównie na łagodzeniu objawów [77]. Ponieważ cały genom mitochondrialny jest przekazywany potomstwu przez oocyt, z tej perspektywy staje się jasnym, jak istotne znaczenie ma przekazanie go w możliwie nienaruszonym stanie.

Badania mysich oocytów przyniosły odkrycie niezwykle interesującego mechanizmu, który poprzez zaangażowanie białek motorycznych, kinezyn i dynein, ogranicza ilość mitochondriów trafiających do ciała kierunkowego podczas pierwszego podziału mejotycznego [78]. Pozwala to zachować wysoką liczbę mitochondriów w oocycie, co jak już opisano powyżej, wydaje się być dobrym prognostykiem jakości oocyty. W tym kontekście zaskakującym jest fakt, iż u myszy krytyczny próg, niezbędny dla właściwego rozwoju



Rycina 1. Zgrupowanie mitochondriów zobrazowane z wykorzystaniem transmisyjnego mikroskopu elektronowego A - w mysim oocycie i B - w trofoblastie mysiej blastocysty. Literą „m” oznaczono pojedyncze mitochondria. (Zdjęcia Ł. Gąsior).

postimplantacyjnego, został określony na 40 000–50 000 kopii mtDNA [79]. Oznacza to, że liczba kopii mtDNA zawarta w typowym oocycie kilkakrotnie przekracza progowe wartości konieczne dla rozwoju! Nasuwa się zatem pytanie: dlaczego w oocycie funkcjonuje tak wiele mitochondriów? Morfologia mitochondriów w oocytach różni się znacząco od tej obserwowanej w komórkach somatycznych - w porównaniu z nimi zachowują one swój pierwotny i niezróżnicowany charakter, co przejawia się w kulistym kształcie, niewielkiej liczbie grzebieni mitochondrialnych, dużej gęstości matrix mitochondrialnej i mniejszej konsumpcji tlenu [80,81] (Ryc. 1A). Mitochondria oocytów pozostają transkrypcyjnie i bioenergetycznie wyciszone, a stan takiego funkcjonowania wydaje się ewolucyjnie konserwatywny [82–84]. Można sądzić, że tak duża liczba mitochondriów umożliwia pokrycie zapotrzebowania oocyty na energię przy jednoczesnym zachowaniu stosunkowo niskiej aktywności każdego z nich [83]. Obniża to poziom reaktywnych



form tlenu, których produkcja jest nierozzerwalnie związana z aktywnością mitochondrialną [85], redukując ryzyko powstawania mutacji i tym samym zapewniając odziedziczalność nienaruszonej matrycy mitochondrialnego DNA [86].

W czasie rozwoju przedimplantacyjnego dochodzi do przywrócenia aktywności mitochondriów i przybrania bardziej zróżnicowanego charakteru typowego dla komórek somatycznych [87]. Przykład pokazujący skalę zmian morfologicznych, jakie dokonują się w mitochondriach przedstawiono na fotografii 1, gdzie zestawiono uzyskany z mikroskopu elektronowego obraz mysiego oocytu i blastocysty.

## EPIGENETYCZNE REPROGRAMOWANIE CHROMATYNY W TOKU OOGENEZY

Zapłodniona komórka jajowa, zygota, powinna posiadać pełen potencjał rozwojowy, czyli zdolność do stopniowego, skoordynowanego w czasie i przestrzeni, różnicowania się w komórki wszystkich tkanek przyszłego osobnika, jak i w tkanki pozazarodkowe, kreowane przejściowo tylko na czas rozwoju i niezbędne do jego podtrzymania. Osiąganie potencjału rozwojowego zachodzi stopniowo w trakcie gametogenezy i obecnie panuje powszechny pogląd, że jego istotą są epigenetyczne modyfikacje chromatyny [88]. Składają się na nie metylacja DNA, potranslacyjne modyfikacje histonów (np. metylacja, acetylacja, fosforylacja), czy też zastępowanie kanonicznych form histonów przez ich niekanoniczne odpowiedniki [89]. Wszystkie te zmiany mogą zachodzić w skali globalnej, czyli generalnie dotyczyć całej chromatyny, oraz w skali lokalnej, czyli ograniczać się na przykład do sekwencji konkretnych promotorów. Tak nałożone podczas gametogenezy znaczniki epigenetyczne będą później, podczas rozwoju, odpowiednio interpretowane przez mechanizmy odczytujące informację epigenetyczną skutkując aktywacją/wyciszeniem transkrypcji określonych genów odpowiedzialnych za konkretne procesy rozwojowe [88].

Ulokowanie prawidłowej informacji epigenetycznej w chromatynie komórek linii płciowej wymaga najpierw wymazania informacji epigenetycznej wprowadzonej do zygoty przez gamety. Metylacja DNA usuwana jest w dwóch falach, z których pierwsza zachodzi podczas migracji komórek prąpcyjnych do związków gamet i odbywa się głównie na drodze demetylacji pasywnej [90,91], czyli przez zablokowanie procesu odtwarzania metylacji DNA w kolejnych generacjach dzielących się komórek. Normalnie w każdym cyklu komórkowym po replikacji genomu nowopowstała nić DNA ulega metylacji w taki sposób, że odtworzony zostaje wzorzec metylacji, występujący w nici matrycowej co zapewnia, że komórki potomne odziedziczą wzór metylacji DNA występujący w komórce matczynej. Wyłączenie tego mechanizmu podczas pierwszej fali demetylacji powoduje zatem, że w aktywnie proliferujących komórkach linii płciowej poziom metylacji znacząco się obniża.

Druga fala demetylacji zachodzi wraz z zasiedlaniem przez komórki płciowe gonad płodowych [90]. W przeciwieństwie do pierwszej fali dominującym mechanizmem jest tutaj aktywna demetylacja, czyli zastępowanie zmety-

lowanych cytozyn przez niezmetylowane. W dużej mierze obejmuje ona sekwencje, które podczas pierwszej fali podlegały ochronie, między innymi geny podlegające rodzicielskiemu piętnowaniu genomowemu [90]. Uważa się, że w tej fazie rozwoju komórki linii płciowej uzyskują najniższy poziom metylacji w cyklu życiowym osobnika [90].

Nowy, niezbędny dla uzyskania pełnego potencjału rozwojowego, wzór metylacji DNA nakładany jest według wzoru specyficznego dla płci. Wydaje się, że w komórkach linii żeńskiej (gdyż to one są przedmiotem tego artykułu) proces ten rozpoczyna się wraz z podjęciem przez oocyty fazy wzrostu [92]. Metylacja DNA zwiększa się stopniowo przez cały okres wzrastania oocytu i obejmuje zarówno geny podlegające, jak i niepodlegające rodzicielskiemu piętnowaniu genomowemu [93,94].

Dopełnieniem reprogramowania chromatyny oocytu w fazie wzrostu są modyfikacje białek histonowych, które, podobnie jak metylacja DNA, mogą regulować ekspresję genów [89,95]. Lista opisanych modyfikacji histonów zachodzących w tej fazie rozwoju oocytów jest już niezwykle długa i obejmuje zarówno modyfikacje potranslacyjne określonych aminokwasów w ogonach histonowych [96,97], jak i lokalne zastępowanie kanonicznych form histonów przez ich niekanoniczne odpowiedniki takie jak np. histon H3.3 [96]. Istnieją dane, które wskazują, iż przynajmniej część z tych modyfikacji, jakim lokalnie podlegają histony, podczas fazy wzrostu jest konieczna, aby w tych regionach chromatyny mogło dojść do nałożenia metylacji DNA [98]. Wydaje się, że jako całość, uwzględniając zarówno zmiany metylacji DNA, jak i modyfikacje histonów, proces reprogramowania przebiega z różną dynamiką w indywidualnych, rosnących oocytach. Doświadczenia, w których analizowano rozwój zarodków uzyskanych po transplantacji jąder rosnących oocytów do wyjądrzonych komórek jajowych, wskazują, że u myszy chromatyna niektórych oocytów osiąga pełen potencjał rozwojowy jeszcze przed zakończeniem wzrostu [99].

Końcowy etap fazy wzrostu charakteryzuje się stopniowym wyciszeniem transkrypcji, aż do jej wygaszenia w oocytach, które osiągnęły pełne rozmiary [100]. Jak już wspomniano w pierwszym rozdziale, wyciszenie transkrypcji w końcowej fazie gametogenezy i jej ponowne uruchomienie we wczesnym zarodku jest cechą charakterystyczną rozwoju zwierząt. Także temu procesowi towarzyszą modyfikacje histonów oraz gruntowne przemodelowanie konformacji chromatyny, która przyjmuje bardziej skondensowaną postać [101]. Uważa się, że podłożem zarówno wygaszenia transkrypcji, jak i zmian konformacyjnych chromatyny są zjawiska epigenetyczne [101]. Za epigenetycznym charakterem wyciszenia transkrypcji w oocytach ssaków przemawia między innymi to, że ponowne odblokowanie transkrypcji podczas aktywacji genomu zarodkowego zachodzi wraz z głębokimi potranslacyjnymi modyfikacjami histonów [102,103].

## PIŚMIENNICTWO

1. Pirino G, Wesco MP, Donovan PJ (2009) Protein kinase A regulates resumption of meiosis by phosphorylation of Cdc25B in mammalian oocytes. *Cell Cycle* 8: 665-670

2. Wang JJ, Ge W, Liu JC, Klinger FG, Dyce PW, De Felici M, Shen W (2017) Complete *in vitro* oogenesis: Retrospects and prospects. *Cell Death Differ* 24: 1845–1852
3. Wassarman PM (2008) Zona pellucida glycoproteins. *J Biol Chem* 283: 24285–24289
4. Moros-Nicolás C, Chevret P, Jiménez-Movilla M, Algarra B, Cots-Rodríguez P, González-Brusi L, Avilés M, Izquierdo-Rico MJ (2021) New Insights into the Mammalian Egg Zona Pellucida. *Int J Mol Sci* 22: 3276
5. Zhang K, Smith GW (2015) Maternal control of early embryogenesis in mammals. *Reprod Fertil Dev* 27: 880–896
6. Schulz KN, Harrison MM (2019) Mechanisms regulating zygotic genome activation. *Nat Rev Genet* 20: 221–234
7. Reader KL, Stanton JAL, Juengel JL (2017) The role of oocyte organelles in determining developmental competence. *Biology (Basel)* 6:
8. Sun S-C, Kim N-H (2013) Molecular Mechanisms of Asymmetric Division in Oocytes. *Microsc Microanal* 19: 883–897
9. Macklon NS, Geraedts JPM, Fauser BCJM (2002) Conception to ongoing pregnancy: The “black box” of early pregnancy loss. *Hum Reprod Update* 8: 333–343
10. Rubio C, Rodrigo L, Mercader A, Mateu E, Buendía P, Pehlivan T, Vitoria T, De Los Santos MJ, Simón C, Remohí J, Pellicer A (2007) Impact of chromosomal abnormalities on preimplantation embryo development. *Prenat Diagn* 27: 748–756
11. Burkhardt S, Borsos M, Szydłowska A, Godwin J, Williams SA, Cohen PE, Hirota T, Saitou M, Tachibana-Konwalski K (2016) Chromosome Cohesion Established by Rec8-Cohesin in Fetal Oocytes is Maintained without Detectable Turnover in Oocytes Arrested for Months in Mice. *Curr Biol* 26: 678–685
12. Lister LM, Kouznetsova A, Hyslop LA, Kalleas D, Pace SL, Barel JC, Nathan A, Floros V, Adelfalk C, Watanabe Y, Jessberger R, Kirkwood TB, Höög C, Herbert M (2010) Age-related meiotic segregation errors in mammalian oocytes are preceded by depletion of cohesin and Sgo2. *Curr Biol* 20: 1511–1521
13. Murdoch B, Owen N, Stevense M, Smith H, Nagaoka S, Hassold T, McKay M, Xu H, Fu J, Revenkova E, Jessberger R, Hunt P (2013) Altered Cohesin Gene Dosage Affects Mammalian Meiotic Chromosome Structure and Behavior. *PLoS Genet* 9: e1003241
14. Sakakibara Y, Hashimoto S, Nakaoka Y, Kouznetsova A, Höög C, Kitajima TS (2015) Bivalent separation into univalents precedes age-related meiosis I errors in oocytes. *Nat Commun* 6: 1–8
15. Lodge C, Herbert M (2020) Oocyte aneuploidy—more tools to tackle an old problem. *Proc Natl Acad Sci U S A* 117: 11850–11852
16. Rabitsch KP, Petronczki M, Javerzat JP, Genier S, Chwalla B, Schleiffer A, Tanaka TU, Nasmyth K (2003) Kinetochore recruitment of two nucleolar proteins is required for homolog segregation in meiosis I. *Dev Cell* 4: 535–548
17. Kitajima TS (2018) Mechanisms of kinetochore-microtubule attachment errors in mammalian oocytes. *Dev Growth Differ* 60: 33–43
18. Polański Z (1997) Genetic background of the differences in timing of meiotic maturation in mouse oocytes: A study using recombinant inbred strains. *J Reprod Fertil* 109: 109–114
19. Marston AL, Wassmann K (2017) Multiple duties for spindle assembly checkpoint kinases in meiosis. *Front Cell Dev Biol* 5: 109
20. Polański Z (2013) Spindle assembly checkpoint regulation of chromosome segregation in mammalian oocytes. *Reprod Fertil Dev* 25: 472–83
21. Kitajima TS, Kawashima SA, Watanabe Y (2004) The conserved kinetochore protein shugoshin protects centromeric cohesion during meiosis. *Nature* 427: 510–517
22. Nagaoka SI, Hassold TJ, Hunt PA (2012) Human aneuploidy: Mechanisms and new insights into an age-old problem. *Nat Rev Genet* 13: 493–504
23. Tsurumi C, Hoffmann S, Geley S, Graeser R, Polański Z (2004) The spindle assembly checkpoint is not essential for CSF arrest of mouse oocytes. *J Cell Biol* 167: 1037–50
24. Homer HA, McDougall A, Levasseur M, Murdoch AP, Herbert M (2005) Mad2 is required for inhibiting securin and cyclin B degradation following spindle depolymerisation in meiosis I mouse oocytes. *Reproduction* 130: 829–43
25. Kyogoku H, Kitajima TS (2017) Large Cytoplasm Is Linked to the Error-Prone Nature of Oocytes. *Dev Cell* 41: 287–298.e4
26. Craven L, Elson JL, Irving L, Tuppen HA, Lister LM, Greggains GD, Byerley S, Murdoch AP, Herbert M, Turnbull D (2011) Mitochondrial DNA disease: new options for prevention. *Hum Mol Genet* 20: R168–74
27. Steuerwald N, Cohen J, Herrera RJ, Sandalinas M (2001) Association between spindle assembly checkpoint expression and maternal age in human oocytes. *Mol Hum Reprod* 7: 49–55
28. Nickoloff JA, Sharma N, Taylor L (2020) Clustered DNA double-strand breaks: Biological effects and relevance to cancer radiotherapy. *Genes (Basel)* 11: 99
29. Prasad S, Tiwari M, Pandey AN, Shrivastav TG, Chaube SK (2016) Impact of stress on oocyte quality and reproductive outcome. *J Biomed Sci* 23:
30. Susiarjo M, Hassold TJ, Freeman E, Hunt PA (2007) Bisphenol A exposure in utero disrupts early oogenesis in the mouse. *PLoS Genet* 3: e5
31. Agarwal A, Aponte-Mellado A, Premkumar BJ, Shaman A, Gupta S (2012) The effects of oxidative stress on female reproduction: A review. *Reprod Biol Endocrinol* 10: 49
32. Lindahl T (1993) Instability and decay of the primary structure of DNA. *Nature* 362: 709–715
33. Brandsma I, Gerds DC (2012) Pathway choice in DNA double strand break repair: observations of a balancing act. *Genome Integr* 3: 9
34. Govindaraj V, Keralapura Basavaraju R, Rao AJ (2015) Changes in the expression of DNA double strand break repair genes in primordial follicles from immature and aged rats. *Reprod Biomed Online* 30: 303–310
35. Titus S, Li F, Stobezki R, Akula K, Unsal E, Jeong K, Dickler M, Robson M, Moy F, Goswami S, Oktay K (2013) Impairment of BRCA1-related DNA double-strand break repair leads to ovarian aging in mice and humans. *Sci Transl Med* 5: 172ra21
36. Kubiak JZ, Ciemerych MA, Hupalowska A, Sikora-Polaczek M, Polanski Z (2008) On the transition from the meiotic to mitotic cell cycle during early mouse development. *Int J Dev Biol* 52: 201–217
37. Reinhardt HC, Yaffe MB (2009) Kinases that control the cell cycle in response to DNA damage: Chk1, Chk2, and MK2. *Curr Opin Cell Biol* 21: 245–55
38. Bolcun-Filas E, Rinaldi VD, White ME, Schimenti JC (2014) Reversal of female infertility by Chk2 ablation reveals the oocyte DNA damage checkpoint pathway. *Science* 343: 533–6
39. Stark GR, Taylor WR (2004) Analyzing the G2/M checkpoint. *Methods Mol Biol* 280: 51–82
40. Mu XF, Jin XL, Farnham MMJ, Li Y, O’Neill C (2011) DNA Damage-Sensing Kinases Mediate the Mouse 2-Cell Embryo’s Response to Genotoxic Stress. *Biol Reprod* 85: 524–535
41. Donzelli M, Draetta GF (2003) Regulating mammalian checkpoints through Cdc25 inactivation. *EMBO Rep* 4: 671–7
42. Marangos P, Carroll J (2012) Oocytes progress beyond prophase in the presence of DNA damage. *Curr Biol* 22: 989–94
43. Dai X-X, Duan X, Liu H-L, Cui X-S, Kim N-H, Sun S-C (2014) Chk2 regulates cell cycle progression during mouse oocyte maturation and early embryo development. *Mol Cells* 37: 126–32
44. Ho GPH, Margossian S, Taniguchi T, D’Andrea AD (2006) Phosphorylation of FANCD2 on two novel sites is required for mitomycin C resistance. *Mol Cell Biol* 26: 7005–15
45. Pacheco S, Garcia-Caldés M, Roig I (2018) ATR function is indispensable to allow proper mammalian follicle development. *BioRxiv* 128: 489–500
46. Suh E-K, Yang A, Kettenbach A, Bamberger C, Michaelis AH, Zhu Z, Elvin JA, Bronson RT, Crum CP, McKeon F (2006) p63 protects the female germ line during meiotic arrest. *Nature* 444: 624–8

47. Livera G, Petre-Lazar B, Guerin M-J, Trautmann E, Coffigny H, Habert R (2008) P63 Null Mutation Protects Mouse Oocytes From Radio-Induced Apoptosis. *Reproduction* 135: 3–12
48. Kerr JB, Hutt KJ, Michalak EM, Cook M, Vandenberg CJ, Liew SH, Bouillet P, Mills A, Scott CL, Findlay JK, Strasser A (2012) DNA Damage-Induced Primordial Follicle Oocyte Apoptosis and Loss of Fertility Require TAp63-Mediated Induction of Puma and Noxa. *Mol Cell* 48: 343–352
49. Carroll J, Marangos P (2013) The DNA damage response in mammalian oocytes. *Front Genet* 4: 117
50. Collins JK, Lane SIR, Merriman JA, Jones KT (2015) DNA damage induces a meiotic arrest in mouse oocytes mediated by the spindle assembly checkpoint. *Nat Commun* 6: 8553
51. Marangos P, Stevense M, Niaka K, Lagoudaki M, Nabti I, Jessberger R, Carroll J (2015) DNA damage-induced mitosis arrest is mediated by the spindle assembly checkpoint and maternal age. *Nat Commun* 6: 8706
52. Dumollard R, Marangos P, Fitzharris G, Swann K, Duchen M, Carroll J (2004) Sperm-triggered Ca<sup>2+</sup> oscillations and Ca<sup>2+</sup> homeostasis in the mouse egg have an absolute requirement for mitochondrial ATP production. *Development* 131: 3057–67
53. Bakhom SF, Kabeche L, Murnane JP, Zaki BI, Compton DA (2014) DNA-damage response during mitosis induces whole-chromosome missegregation. *Cancer Discov* 4: 1281–1289
54. Cesare AJ (2014) Mitosis, double strand break repair, and telomeres: A view from the end. *BioEssays* 36: 1054–1061
55. Orthwein A, Fradet-Turcotte A, Noordermeer SM, Canny MD, Brun CM, Strecker J, Escribano-Diaz C, Durocher D (2014) Mitosis inhibits DNA double-strand break repair to guard against telomere fusions. *Science* 344: 189–193
56. Terasawa M, Shinohara A, Shinohara M (2014) Canonical Non-Homologous End Joining in Mitosis Induces Genome Instability and Is Suppressed by M-phase-Specific Phosphorylation of XRCC4. *PLoS Genet* 10: e1004563
57. Maréchal A, Zou L (2013) DNA Damage Sensing by the ATM and ATR Kinases. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 5: a012716
58. Rémillard-Labrosse G, Dean NL, Allais A, Mihajlović AI, Jin SG, Son WY, Chung JT, Pansera M, Henderson S, Mahfoudh A, Steiner N, Agapitou K, Marangos P, Buckett W, Ligeti-Ruiter J, FitzHarris G (2020) Human oocytes harboring damaged DNA can complete meiosis I. *Fertil Steril* 113: 1080–1089
59. Gaşior Ł, Daszkiewicz R, Ogórek M, Polański Z (2017) Mitochondrial functionality in female reproduction. *Postepy Hig Med Dosw* 71: 690–702
60. Stojkovic M, Machado SA, Stojkovic P, Zakhartchenko V, Hutzler P, Gonçalves PB, Wolf E (2001) Mitochondrial distribution and adenosine triphosphate content of bovine oocytes before and after in vitro maturation: correlation with morphological criteria and developmental capacity after in vitro fertilization and culture. *Biol Reprod* 64: 904–9
61. Nagano M, Katagiri S, Takahashi Y (2006) Relationship between bovine oocyte morphology and in vitro developmental potential. *Zygote* 14: 53–61
62. Cam H, Balciunaite E, Blais A, Spektor A, Scarpulla RC, Young R, Kluger Y, Dynlacht BD (2004) A common set of gene regulatory networks links metabolism and growth inhibition. *Mol Cell* 16: 399–411
63. Bratic I, Hench J, Henriksson J, Antebi A, Bürglin TR, Trifunovic A (2009) Mitochondrial DNA level, but not active replicase, is essential for *Caenorhabditis elegans* development. *Nucleic Acids Res* 37: 1817–28
64. Opiela J, Lipiński D, Słomski R, Katska-Ksiazkiewicz L (2010) Transcript expression of mitochondria related genes is correlated with bovine oocyte selection by BCB test. *Anim Reprod Sci* 118: 188–93
65. Van Blerkom J, Davis P (2007) Mitochondrial signaling and fertilization. *Mol Hum Reprod* 13: 759–70
66. Duran HE, Simsek-Duran F, Oehninger SC, Jones HW, Castora FJ (2011) The association of reproductive senescence with mitochondrial quantity, function, and DNA integrity in human oocytes at different stages of maturation. *Fertil Steril* 96: 384–8
67. Santos TA, El Shourbagy S, St John JC (2006) Mitochondrial content reflects oocyte variability and fertilization outcome. *Fertil Steril* 85: 584–91
68. Luo S-M, Ge Z-J, Wang Z-W, Jiang Z-Z, Wang Z-B, Ouyang Y-C, Hou Y, Schatten H, Sun Q-Y (2013) Unique insights into maternal mitochondrial inheritance in mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 110: 13038–43
69. St.John JC, Facucho-Oliveira J, Jiang Y, Kelly R, Salah R, StJohn JC, Facucho-Oliveira J, Jiang Y, Kelly R, Salah R, StJohn JC, Facucho-Oliveira J, Jiang Y, Kelly R, et al. (2010) Mitochondrial DNA transmission, replication and inheritance: A journey from the gamete through the embryo and into offspring and embryonic stem cells. *Hum Reprod Update* 16: 488–509
70. Mahrous E, Yang Q, Clarke HJ (2012) Regulation of mitochondrial DNA accumulation during oocyte growth and meiotic maturation in the mouse. *Reproduction* 144: 177–185
71. Moskalev AA, Shaposhnikov MV, Plyusnina EN, Zhavoronkov A, Budovsky A, Yanai H, Fraifeld VE (2013) The role of DNA damage and repair in aging through the prism of Koch-like criteria. *Ageing Res Rev* 12: 661–684
72. Jacobs L, Gerards M, Chinnery P, Dumoulin J, de Coo I, Geraedts J, Smeets H (2007) mtDNA point mutations are present at various levels of heteroplasmy in human oocytes. *Mol Hum Reprod* 13: 149–54
73. Agarwal A, Gupta S, Sharma RK (2005) Role of oxidative stress in female reproduction. *Reprod Biol Endocrinol* 3: 28
74. Zeviani M, Di Donato S (2004) Mitochondrial disorders. *Brain* 127: 2153–2172
75. Ng YS, Turnbull DM (2016) Mitochondrial disease: genetics and management. *J Neurol* 263: 179–191
76. Schlieben LD, Prokisch H (2020) The Dimensions of Primary Mitochondrial Disorders. *Front Cell Dev Biol* 8: 1441
77. Liufu T, Wang Z (2021) Treatment for mitochondrial diseases. *Rev Neurosci* 32: 35–47
78. Dalton CM, Carroll J (2013) Biased inheritance of mitochondria during asymmetric cell division in the mouse oocyte. *J Cell Sci* 126: 2955–2964
79. Wai T, Ao A, Zhang X, Cyr D, Dufort D, Shoubridge EA (2010) The role of mitochondrial DNA copy number in mammalian fertility. *Biol Reprod* 83: 52–62
80. Motta PM, Nottola SA, Makabe S, Heyn R (2000) Mitochondrial morphology in human fetal and adult female germ cells. *Hum Reprod* 15 Suppl 2: 129–47
81. Dvořák M, Tesářík J, Pilka L, Trávník P (1982) Fine structure of human two-cell ova fertilized and cleaved in vitro. *Fertil Steril* 37: 661–7
82. Allen JF, De Paula WBM (2013) Mitochondrial genome function and maternal inheritance. *Biochem Soc Trans* 41: 1298–1304
83. De Paula WBM, Agip A-NNA, Missirlis F, Ashworth R, Vizcay-Barrena G, Lucas CH, Allen JF (2013) Female and male gamete mitochondria are distinct and complementary in transcription, structure, and genome function. *Genome Biol Evol* 5: 1969–1977
84. Bentov Y, Yavorska T, Esfandiari N, Jurisicova A, Casper RF (2011) The contribution of mitochondrial function to reproductive aging. *J Assist Reprod Genet* 28: 773–83
85. Zhao RZ, Jiang S, Zhang L, Yu Z Bin (2019) Mitochondrial electron transport chain, ROS generation and uncoupling (Review). *Int J Mol Med* 44: 3–15
86. De Paula WBM, Lucas CH, Agip A-NA, Vizcay-Barrena G, Allen JF (2013) Energy, ageing, fidelity and sex: oocyte mitochondrial DNA as a protected genetic template. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 368: 20120263
87. Tilly JL, Sinclair DA (2013) Germline energetics, aging, and female infertility. *Cell Metab* 17: 838–850
88. Hajkova P (2011) Epigenetic reprogramming in the germline: Towards the ground state of the epigenome. *Philos Trans R Soc B Biol Sci* 366: 2266–2273



89. Peixoto P, Cartron PF, Serandour AA, Hervouet E (2020) From 1957 to nowadays: A brief history of epigenetics. *Int J Mol Sci* 21: 1–18
90. Messerschmidt DM, Knowles BB, Solter D (2014) DNA methylation dynamics during epigenetic reprogramming in the germline and pre-implantation embryos. *Genes Dev* 28: 812–828
91. Zeng Y, Chen T (2019) DNA methylation reprogramming during mammalian development. *Genes (Basel)* 10: 257
92. Kota SK, Feil R (2010) Epigenetic Transitions in Germ Cell Development and Meiosis. *Dev Cell* 19: 675–686
93. Hiura H, Obata Y, Komiyama J, Shirai M, Kono T (2006) Oocyte growth-dependent progression of maternal imprinting in mice. *Genes to Cells* 11: 353–361
94. Obata Y, Kono T (2002) Maternal primary imprinting is established at a specific time for each gene throughout oocyte growth. *J Biol Chem* 277: 5285–5289
95. Strahl BD, Allis CD (2000) The language of covalent histone modifications. *Nature* 403: 41–45
96. Hoffmann S, Tomasik G, Polanski Z (2012) DNA methylation, histone modifications and behaviour of AKAP95 during mouse oocyte growth and upon nuclear transfer of foreign chromatin into fully grown prophase oocytes. *Folia Biol (Czech Republic)* 60: 163–170
97. Kageyama SI, Liu H, Kaneko N, Ooga M, Nagata M, Aoki F (2007) Alterations in epigenetic modifications during oocyte growth in mice. *Reproduction* 133: 85–94
98. Stewart KR, Veselovska L, Kim J, Huang J, Saadeh H, Tomizawa SI, Smallwood SA, Chen T, Kelsey G (2015) Dynamic changes in histone modifications precede de novo DNA methylation in oocytes. *Genes Dev* 29: 2449–2462
99. Bao S, Obata Y, Ono Y, Futatsumata N, Niimura S, Kono T (2002) Nuclear competence for maturation and pronuclear formation in mouse oocytes. *Hum Reprod* 17: 1311–1316
100. De La Fuente R, Eppig JJ (2001) Transcriptional activity of the mouse oocyte genome: companion granulosa cells modulate transcription and chromatin remodeling. *Dev Biol* 229: 224–36
101. Gasiór L, Daszkiewicz R (2014) Przydatność oceny konfiguracji chromatyny oocytów ssaczych, jako markera kompetencji mejotycznych i rozwojowych. *Postępy Biol Komórki* 41: 637–649
102. Svoboda P (2018) Mammalian zygotic genome activation. *Semin Cell Dev Biol* 84: 118–126
103. Wu J, Xu J, Liu B, Yao G, Wang P, Lin Z, Huang B, Wang X, Li T, Shi S, Zhang N, Duan F, Ming J, Zhang X, Niu W, Song W, Jin H, Guo Y, Dai S, et al. (2018) Chromatin analysis in human early development reveals epigenetic transition during ZGA. *Nature* 557: 256–260
104. Jukam D, Shariati SAM, Skotheim JM (2017) Zygotic Genome Activation in Vertebrates. *Dev Cell* 42: 316–332

# Cellular mechanisms ensuring the mammalian female germ cells quality

Zbigniew Polański<sup>1</sup>✉ and Łukasz Gąsior<sup>2</sup>✉

<sup>1</sup> Laboratory of Genetics and Evolution, Institute of Zoology and Biomedical Research, Jagiellonian University, Kraków

<sup>2</sup> Department of Neurobiology, Maj Institute of Pharmacology Polish Academy of Sciences, Kraków

✉corresponding author: zbigniew.polanski@uj.edu.pl, gasior@if-pan.krakow.pl

**Keywords:** oocyte, maternal information, chromosome segregation, DNA quality, mitochondria, chromatin reprogramming

## SUMMARY

Gametes are extremely differentiated cells participating in the fertilization to give the beginning of a new life. Except enabling fertilization, however, the fully functional gamete, should also guarantee full and undisturbed development of the whole individual. The aim of this article is to approximate the mechanisms which occur during mammalian oogenesis which are crucial for ensuring the proper course of development as well as the quality of the genetic material transmitted to the progeny.

