

Т.В. Блашків, Т.Ю. Вознесенська, Р.І. Янчій

## Роль мітохондрій в ооцитах і ембріонах

*В обзоре собраны данные литературы об распределении, структуре и метаболической активности митохондрий; их переносчиках, полярности и участии в регуляции внутриклеточного свободного  $Ca^{2+}$  в ооцитах и эмбрионах млекопитающих.*

Відомо, що мітохондріальний геном людини – дволанцюгова ДНК (16 560 КДа), що кодує 13 білків дихального ланцюга, 22 унікальних транспортних РНК, 2 рибосомальні РНК [13] – успадковується за материнською лінією [63]. Вважають, що структурні відхилення, виявлені в ооцитах і ембріонах, можуть бути пов'язані з мітохондріальними дисфункціями [11, 12, 14, 35, 38, 41, 42, 56].

Метою нашої роботи був пошук і систематизація різних даних літератури про мітохондрії в ооцитах та ембріонах ссавців стосовно: 1) розподілу, структури та метаболітичної активності мітохондрій; 2) мітохондріальних переносників, полярності мітохондрій (потенціалу внутрішньої мембрани мітохондрій ( $\psi_M$ )) та їх участі у регулюванні внутрішньоклітинного вільного  $Ca^{2+}$ .

Розподіл мітохондрій. Вважають, що одній мітохондрії в ооциті відповідає один геном (mtДНК) [15]. Традиційні, з використанням світлової електронної мікроскопії, оцінки кількості мітохондрій в ооцитах базуються на вибіркових секціях, які визначає морфометричний алгоритм для кількісного аналізу. Цей підхід здатний запропонувати точні величини, які свідчать, що мітохондрії відносно однорідно розподілені в цитоплазмі. За оцінкою таким методом від 120 000 до 350 000 мітохондрій наявні в ооцитах людини після мейотичного дозрівання [15, 32]. Однак, якщо кількість копій mtДНК визначається відповідно до методу

полімеразної ланцюгової реакції, то число мітохондрій в метафазі II ооцитів людини, як повідомляють, складатиме від 20 000 до більш ніж 800 000 [7, 47, 60]. Саме невеликою кількістю мітохондрій (20 000–60 000) й низькою метаболітичною активністю пояснюють припинення мейотичного дозрівання ооцита та розвитку ембріона після запліднення *in vitro* [47].

Установлено, що в процесі дозрівання ооцита миші *in vitro* мітохондрії перерозподіляються навколо ядра [64, 66–68]. А після запліднення ооцита вони формують конденсовану сукупність, яка оточує пронуклеуси у миші [67], хом'яка [8] і людини [70]. Подібне перинуклеарне нагромадження мітохондрій відбувається в кожному бластомері протягом ранніх стадій дроблення.

Доведено, що успадкування мітохондріальних патологій починається вже на ранніх стадіях ембріогенезу [70, 72]. Наслідки несиметричного розподілу мітохондрій проявляються від припинення поділу клітини до значного збільшення бластомера (“роздування”) що, як припускають дослідники, пов'язане з кількістю мітохондрій і їх здатністю до вироблення АТФ [70, 72]. Є дані, які свідчать що розподіл мітохондрій опосередковується відповідним розподілом мікротрубочок [26, 62, 72].

Таким чином, у ссавців у процесі дозрівання ооцита й ранньому ембріогенезі

відбувається перерозподіл мітохондрій. Припускають, що їх просторовий перерозподіл дає змогу отримувати високий вміст АТФ у певних ділянках цитоплазми [6, 67]. Поки що не досліджено, як саме створюються різні форми перинуклеарного розподілу мітохондрій.

Структура та метаболічна активність мітохондрій. Мітохондрії в зрілому ооциті людини є численними органелами сферичної форми з діаметром близько 0,5 мкм [21]. Як правило, такі мітохондрії містять декілька коротких крист. Цей фенотип зберігається протягом усього дроблення і пізніше на стадії морули ембріогенезу людини *in vitro*, з переходом до подовженої форми з матриксом низької та помірної електронної щільності. Збільшена кількість лускоподібних крист, які повністю перетинають внутрішній мітохондріальний матрикс, характерна для мітохондрій, які активно синтезують АТФ. Це і є переважна форма мітохондрій більшості ссавців на стадії бластоцисти. Послідовний секційний аналіз передімплантаційного ембріона людини *in vitro*, засвідчив, що на стадії бластоцисти клітини містять (хоча й у різних пропорціях) як несформовані, так і повністю сформовані мітохондрії [69].

Морфологічні дані про незрілість мітохондрій ооцита й раннього ембріона традиційно інтерпретуються як пояснення їх низької дихальної активності. Зміни метаболізму ооцита можуть відбуватися під час росту фолікула, оскільки заповнена рідиною порожнина формується й приплив крові до фолікула значно посилюється, що може збільшити внутрішньофолікулярну концентрацію вільного кисню, доступного для ооцита протягом преовуляторного періоду [61, 72]. Вважають, що у недорозвинених мітохондріях ооцита й раннього ембріона миші вироблення вільних радикалів знаходиться нижче від рівнів, на яких напруження кисню загрожує мітохондріальній функції [20] або ініціює апоптоз [29, 36].

А збільшене вироблення АТФ мітохондріями призводить до підвищення вмісту вільних радикалів і викликає незворотні ушкодження в ядерній і мітохондріальній ДНК, руйнування мітохондрій, а в остаточному підсумку – до загибелі клітин через дегенеративні або апоптотичні процеси [36].

Вважають, що активність мітохондрій у процесі раннього розвитку пов'язана з їх розташуванням у межах цитоплазми, а синтез і споживання АТФ збалансовані як в ооциті на стадії метафази II, так і у щойно заплідненій яйцеклітині миші [20]. Є також дані про те, що потреби ооцита в енергії можуть бути тривалий час мінімальні або поповнюватися АТФ за допомогою гліколізу й надходження з примикаючих фолікулярних клітин [40]. Встановлено, що цитоплазматичний вміст АТФ у різних незапліднених ооцитах одного забору в метафазі II, які отримували від жінок, що проходили процедуру екстракорпорального запліднення (IVF) відрізняється на порядок [71].

Таким чином, якщо виходити з тези, що синтез і споживання АТФ збалансовані, то не зовсім ясно як здійснюється регуляція активності мітохондрій на різних стадіях дозрівання ооцита та розвитку ембріона з врахуванням: 1) обов'язкової зміни в їх кількості й розподілі у межах цитоплазми і 2) фолікулярного оточення, а саме кумулюсних клітин, що може становити специфічний інтерес у клінічному IVF і потребує подальшого з'ясування.

Мітохондріальні переносники. Відомо, що мітохондріальні переносники – родина транспортних білків, які за невеликим винятком, виявлені у внутрішніх мембранах мітохондрій, переносять метаболіти, нуклеотиди та кофактори через ці мембрани, тим самим регулюючи функції цитоплазми й матриксу [24]. Дослідникам вдалося ідентифікувати функції декількох мітохондріальних переносників [24, 25, 31, 39]. Нині інтенсивно вивчають аспартат-глутаматні й малат-аспартатні мітохондріальні перенос-

ники [10, 49, 51, 53].

Внутрішня мембрана мітохондрій – це важливий селективний бар'єр, який регулює зв'язок центральних енергетичних дихальних шляхів – циклу лимонної кислоти й окисного фосфорилування – з вуглеводами, жирами та метаболізмом амінокислот. Ідентифіковані транспортні системи, гліцеролфосфатні й малат-аспартатні переносники, що з'єднують проміжних “учасників” циклу лимонної кислоти (НАДН/ФАДН<sub>2</sub>) і пари енергетичного стану клітини (АДФ/АТФ) з електронно-транспортним ланцюгом [22, 23]. Електрони переносяться у мітохондрію у формі малату. Цитоплазматична малатдегідрогеназа відновлює оксалоацетат до малату, водночас окиснюючи НАДН до НАД<sup>+</sup>. Малат переноситься в мітохондрію, де зворотна реакція виконується мітохондріальною малатдегідрогеназою. Переміщення мітохондріального оксалоацетату в цитоплазму в цьому циклі вимагає його трансамінування до аспартату з аміногрупою, наданою глутаматом. Далі аспартат залишає мітохондрію й переноситься в цитоплазму. Деамінування глутамату генерує β-кетоглутарат, який з мітохондрій переноситься в цитоплазму [24, 25, 28, 34, 44, 50, 54, 55].

Ми досліджували вплив інгібіторів аспартат-глутаматних, глутаматних і аспартатних переносників на здатність до мейотичного дозрівання ооцитів без кумулюсних клітин і у складі кумулюсно-ооцитарних клітинних комплексів з “малих”, “середніх” і “великих” фолікулів, а також вплив кумулюсних клітин з “малих” і “великих” фолікулів на здатність до мейотичного дозрівання ооцитів мишей різного віку в умовах дії інгібітора аспартатних та аспартат-глутаматних переносників [2, 76]. Показано, що інгібітори мітохондріальних переносників пригнічують здатність до мейотичного дозрівання ооцитів із всіх досліджуваних груп фолікулів (менше ооцитів досягає метафази II – стадії формування

першого полярного тільця, більше – затримується в метафазі I – стадії розчинення зародкового пухирця) [2]. Точний аналіз участі мітохондріальних переносників у регуляції мейотичного дозрівання ооцитів вимагає подальшого ретельного вивчення.

Раніше ми встановили, що безпосередні контакти між кумулюсними клітинами й ооцитом необхідні для запуску продукції мейозактивуючих факторів відновлення мейозу у мишей [1]. Наші дані свідчать, що наявність кумулюсних клітин впливає на здатність ооцитів досягати метафази II у середовищі з інгібітором аспартат-глутаматних мітохондріальних переносників. Ми припускаємо, що активність мітохондріальних переносників кумулюсних клітин пов'язана з фолікулярним розвитком і регулюється, хоча б частково, самим ооцитом, а у разі його видалення функції переносників змінюються, а секретовані ооцитом речовини залучені у взаємодію з іншими фолікулярними факторами й спільно регулюють активність мітохондріальних переносників кумулюсних і гранулярних клітин. Отримані нами дані про вплив інгібіторів аспартатних мітохондріальних переносників на мейотичне дозрівання ооцитів мишей різного віку дають підстави для твердження, що функції мітохондріальних переносників як ооцитів, так і фолікулярних клітин змінюються з віком [2, 76]. Ми вважаємо, що така зміна впливає на якість ооцитів, запліднення й розвиток ембріона.

Полярність мітохондрій. Добре відомо, що мітохондріальне дихання перекачує протони назовні через внутрішню мембрану органели й створює протонний градієнт, що призводить до перетворення АДФ в АТФ. Значення потенціалу внутрішньої мембрани мітохондрій ( $\Psi_M$ ) пов'язують з рівнем дихання та здатністю цих органел брати участь у регулюванні кальцієвого гомеостазу [5, 18, 27, 30, 45, 48]. Є дані, що саме активні мітохондрії, які синтезують АТФ, характеризуються низьким середнім значенням  $\Psi_M$  [17].

Зв'язок між  $\psi_M$  і окисним метаболізмом вивчали на соматичних клітинах з використанням  $\psi_M$ -чутливих флуоресцентних проб, наприклад 5,5'6,6'-тетра-хлор-1,1,3,3'-тетра-етил-бензimidазол-карбоціанін йодиду (J) [46]. Показано, що цілком реально виявити ділянки високої та низької полярності в межах єдиної мітохондрії [57]. Відомо, що найвища інтенсивність J-флуоресценції реєструється в перикортикальній ділянці цитоплазми метафази II ооцитів миші й ембріонів людини. В усіх ооцитах реєструється флуоресценція J-нагромаджень [3, 33, 72]. Вважають, що відмінності у значеннях  $\psi_M$  серед метафази II ооцитів людини – це фактор, який проявляється вже після переносу ембріона, що особливо важливо для пояснення високої частоти імплантаційних невдач [33].

Установлено, що розташування біля плазматичної мембрани культивованих клітинних ліній високо- або низькополяризованих мітохондрій супроводжувалося наявністю або відсутністю міжклітинних контактів [17]. Описано подібні феномени для ооцитів та ембріонів на стадії дроблення у миші та людини [72]. Так, у перикортикальних ділянках експериментальних ооцитів з кумулюсними клітинами, флуоресценція J-нагромаджень не реєструвалася, але розвивалася й ставала яскравішою після відділення цих клітин. Низькополяризовані мітохондрії переважали в ділянках міжклітинних контактів ембріонів миші на стадії дроблення. J-негативні кортикальні ділянки ставали J-позитивними при повторному дослідженні ембріонів, роз'єднаних на індивідуальні бластомери, і навпаки. У тій самій праці автори повідомляють, що внутрішньоклітинна маса бластоцистів миші й людини містить низькополяризовані мітохондрії [72]. Є дані, отримані на ооцитах та ембріонах людини, що відмінності у співвідношенні високо- або низькополяризованих мітохондрій відображають відхилення мітохондріального

розподілу в ооциті й метаболічні дефекти в ембріоні, які можуть призвести до помилок при сегрегації хромосом та їх загибелі [73, 74, 75].

Показано, що після кріоконсервації позитивні результати можуть бути отримані на метафазі II ооцитів людини, у яких мітохондрії кіркової ділянки залишалися після кріоконсервації гіперполяризованими [33]. Втрату гіперполяризації двоклітинними ембріонами миші зв'язують зі змінами в пластичності мембрани клітин й цілісністю субплазмолемальних актинових мікротубул [3]. Було встановлено, що кріоконсервація метафази II ооцитів людини супроводжується втратою гіперполяризації мітохондрій перикортикальної ділянки, характерної для свіжовиділеного ооцита [33].

Таким чином, є підстави стверджувати, що значення  $\psi_M$  пов'язане зі здатністю клітин до розвитку. Не встановлено ролі мітохондріальних переносників і фолікулярного оточення ооцитів, а саме кумулюсних клітин, у поляризації та дихальній активності мітохондрій в ооцитах і ембріонах.

Мітохондрії й регулювання вмісту внутрішньоклітинного вільного  $Ca^{2+}$ . Відомо, що мітохондрії соматичних клітин залучаються до регулювання вмісту внутрішньоклітинного вільного  $Ca^{2+}$  [45], здатні поглинати й вивільняти цей катіон у відповідь на електричні струми [30], на дію  $Ca^{2+}$  (кальційіндуковане кальцієве вивільнення (СІСВ)) [18] і на молекулярні сигнали, пов'язані з активацією апоптозу [9]. Сигнал для СІСВ може надходити з кальцієвого депо – саркоендоплазматичного ретикулума (СЕР), спеціалізованих гранул або від  $Ca^{2+}$ , який вивільняють інші мітохондрії [5, 18, 27, 48]. З'явилася велика кількість доказів того, що мітохондрії в ооцитах і ембріонах піддаються тим самим регулювальним факторам, як і мітохондрії соматичних клітин [52], а саме щодо  $Ca^{2+}$  і його депо [19, 20, 37, 58, 59, 65, 72].

Є дані, що викликані спермієм кальцієві

осциляції передаються до мітохондрій і стимулюють мітохондріальне дихання [19, 20]. Експериментальне зниження вмісту внутрішньоклітинного вільного  $\text{Ca}^{2+}$  до значень, нижчих від таких, які встановлюються при активації ооцита, мало летальні наслідки для ембріонів у період імплантації [43].

Аналіз ооцитів людини метафази II з використанням світлової електронної мікроскопії демонструє, що мітохондрії розташовуються поблизу і в межах СЕР. Використання СЕР-специфічних флуоресцентних проб показало, що лазерна мікроскопія дає змогу відображення одиничного комплексу СЕР, а також визначення відносної щільності та розподілу СЕР в ооплазмі. Так, виявлені сферичні комплекси СЕР (15 мкм) зрілих ооцитів мають те саме розташування й розподіл як і в ідентифікованих зображеннях з використанням електронної мікроскопії [72].

Розчинення зародкового пухирця та формування першого й другого полярних тілець ооцитів, розвиток і рух пронуклеосів можуть задіювати регіональні СЕР-мітохондріальні комплекси [4]. Досліджували зв'язок мітохондріального дихання зі вмістом внутрішньоклітинного вільного  $\text{Ca}^{2+}$  в ооцитах метафази II. Показано, що в період активації ооцитів миші мітохондрії і СЕР розташовані в одній ділянці. Мітохондрії задіяні в поглинанні  $\text{Ca}^{2+}$ , який вивільнюється СЕР, і у такий спосіб стають посередниками кальцієвих осциляцій [37].

Виявлення мітохондрій у безпосередній близькості до СЕР допускає їх участь у внутрішньоклітинній кальцієвій сигналізації. А існування мітохондріальних переносників, в регуляції функціонування яких задіяні іони кальцію [16], дає можливість припускати, що такі транспортні білки, які не є переносниками, беруть участь у регуляції кальцієвого транспорту мітохондрій. Яким саме шляхом транспортується  $\text{Ca}^{2+}$  в мітохондрії і чи працюють при цьому відомі мітохондріальні переносники в зворотному напрямку

і за яких умов – залишається нез'ясованим.

Таким чином, дані літератури разом з власними дослідженнями дають нам підстави говорити про важливість мітохондрій у розвитку ооцитів та ембріонів, проте їх роль точно не встановлено. Подальше з'ясування того, як зв'язані мітохондріальний потенціал, дихання та регулювання вмісту внутрішньоклітинного  $\text{Ca}^{2+}$ , можуть представити нові дані щодо здійснення нормального розвитку ооцитів і ембріонів. Роль фолікулярного оточення ооцитів, а саме кумулюсних клітин, а також можливих механізмів регуляції мітохондріями ооцито- і фолікулогенезу ще недостатньо вивчена. Для клінічного IVF (наприклад, перенесення цитоплазми) передбачена в циклі лікування, важливе з'ясування того, які внутрішньо-фолікулярні фактори або умови можуть впливати на мітохондрії ооцитів і визначати їх функціональний стан.

**T.V. Blashkiv, T.Yu. Voznesenskaya, R.I. Yanchiy**

#### **MITOCHONDRIA IN OOCYTES AND EMBRYOS**

The review considers such factors as mitochondrial distribution, fine structure, mitochondrial carriers and metabolic activity, as well as polarity of mitochondria and their participation in free intracellular  $\text{Ca}^{2+}$  regulation in mammalian oocytes and embryos.

*O.O. Bogomoletz Institute of Physiology, National Academy of Science of Ukraine*

#### **СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ**

1. Вознесенская Т., Блашків Т., Портниченко А. Влияние кумулюсных и гранулярных клеток на возобновление мейоза ооцитами мышей *in vitro* // Цитология. – 2001. – **43**, №3. – С. 250 - 253.
2. Вознесенская Т.Ю. Влияние ингибиторов митохондриальных переносчиков на мейотическое созревание ооцитов мышей / Тезы докл. 4-й Всерос. конф. с междунар. участием (4–6 окт. 2005 г., Санкт-Петербург). – СПб, 2005. – С. 58.
3. Ahn H., Sohn I., Kwon H. et al. Characteristics of the cell membrane fluidity, actin fibers, and mitochondrial dysfunctions of frozenthawed two-cell mouse embryos // *Mol. Reprod. and Develop.* – 2002. – **61**. – P. 466–476.
4. Aw T. Intracellular compartmentalization of organelles

- and gradients of low molecular weight species // *Int. Review Cytol.* – 2000. – **192**. – P. 223–253.
5. Babcock D., Herrington J., Goodwin P. et al. Mitochondrial participation in the intracellular  $\text{Ca}^{2+}$  network // *J. Cell Biol.* – 1997. – **136**. – P. 833–844.
  6. Barnett D., Kimura J., Bavister B. Translocation of active mitochondria during hamster preimplantation embryo development studied by confocal laser scanning microscopy // *Develop. Dynamics.* – 1996. – **205**. – P. 64–72.
  7. Barrit J., Kokot M., Cohen J., Brenner C. Quantification of human ooplasmic mitochondria // *Reprod. Biomed. Online.* – 2002. – **4**. – P. 243–247.
  8. Bavister B., Squirrell J. Mitochondrial distribution and function in oocytes and early embryos // *Hum. Reprod.* – 2000. – **15**, №2. – P. 189–198.
  9. Berridge M., Bootman M., Lipp P. Calcium – a life and death signal // *Nature.* – 1998. – **395**. – P. 645–648.
  10. Cavero S., Vozza A., del Arco A. et al. Identification and metabolic role of the mitochondrial aspartate-glutamate transporter in *Saccharomyces cerevisiae* // *Mol. Microbiol.* – 2003. – **50**, №4. – P. 1257–1269.
  11. Chinnery P. New approaches to the treatment of mitochondrial disorders // *Reprod. Biomed. Online.* – 2004. – **8**. – P. 16–23.
  12. Christodoulou J. Genetic defects causing human mitochondrial respiratory chain disorders and disease // *Hum. Reprod.* – 2000. – **15**, №2. – P. 28–43.
  13. Clayton D. Transcription and replication of mitochondrial DNA // *Ibid.* – 2000. – **15**, №2. – P. 11–17.
  14. Crimi M., O’Hearn S., Wallace D., Comi G. Molecular research technologies in mitochondrial diseases: the microarray approach // *IUBMB Life.* – 2005. – **57**, №12. – P. 811–818.
  15. Cummins J. The role of maternal mitochondria during oogenesis, fertilization and embryogenesis // *Reprod. Biomed. Online.* – 2002. – **4**. – P. 176–182.
  16. del Arco A., Satrustegui J. Characterization of a second member of the subfamily of calcium-binding mitochondrial carriers expressed in human non-excitable tissues // *Biochem. J.* – 2000. – **345**, №3. – P. 725–732.
  17. Diaz G., Setzu M., Zucca A. et al. Subcellular heterogeneity of mitochondrial membrane potential: relationship with organelle distribution and intercellular contacts in normal, hypoxic and apoptotic cells // *J. Cell Science.* – 1999. – **112**. – P. 1077–1084.
  18. Duchen M. Mitochondria and calcium: from cell signaling to cell death // *J. Physiol.* – 2000. – **529**. – P. 57–68.
  19. Dumollard R., Hammar K., Porterfield M. et al. Mitochondrial respiration and  $\text{Ca}^{2+}$ -waves are linked during fertilisation and meiosis completion // *Development.* – 2003. – **130**. – P. 683–692.
  20. Dumollard R., Marangos P., Fitzharris G. et al. Sperm-triggered  $[\text{Ca}^{2+}]$  oscillations and  $\text{Ca}^{2+}$  homeostasis in the mouse egg have an absolute requirement for mitochondrial ATP production // *Ibid.* – 2004. – **131**. – P. 3057–3067.
  21. Dvorak M., Travník P., Hanzelka Z. et al. Ultrastructural and morphometric analysis of cytoplasmic structures in human oocytes obtained from tertiary ovarian follicles // *Scripta Medica.* – 1987. – **60**. – P. 131–140.
  22. Eto K., Suga S., Wakui M., et al. NADH shuttle system regulates  $\text{K}(\text{ATP})$  channel-dependent pathway and steps distal to cytosolic  $\text{Ca}^{2+}$  concentration elevation in glucose-induced insulin secretion // *J. Biol. Chem.* – 1999. – **274**, №36. – P. 25386–25392.
  23. Eto K., Tsubamoto Y., Terauchi Y. et al. Role of NADH shuttle system in glucose-induced activation of mitochondrial metabolism and insulin secretion // *Science.* – 1999. – **283**, № 5404. – P. 981–985.
  24. Fiermonte G., De Leonardis F., Todisco S. et al. Identification of the mitochondrial ATP-Mg/Pi transporter. Bacterial expression, reconstitution, functional characterization, and tissue distribution // *J. Biol. Chem.* – 2004. – **279**, №29. – P. 30722–30730.
  25. Fiermonte G., Palmieri L., Todisco S. et al. Identification of the mitochondrial glutamate transporter. Bacterial expression, reconstitution, functional characterization, and tissue distribution of two human isoforms // *Ibid.* – 2002. – **277**, №22. – P. 19289–19294.
  26. Gauden M. Maternal age effect: the enigma of Down syndrome and other trisomic conditions // *Mutation Res.* – 1992. – **296**. – P. 69–88.
  27. Hajnoczky G., Gyorgy C., Muniswamy M., Pacher P. The machinery of local calcium signalling between sarco-endoplasmic reticulum and mitochondria // *J. Physiol.* – 2000. – **529**. – P. 69–81.
  28. Hoek J., Coll K., Williamson J. Kinetics of glutamate efflux in rat liver mitochondria // *J. Biol. Chem.* – 1983. – **258**, № 1. – P. 54–58.
  29. Hussein M. Apoptosis in the ovary: molecular mechanisms // *Hum. Reprod. Update.* – 2005. – **11**, № 2. – P. 162–177.
  30. Ichas F., Jouaville L., Mazat J. Mitochondria are excitable organelles capable of generating and conveying electrical and calcium signals // *Cell.* – 1997. – **89**. – P. 1145–1153.
  31. Indiveri C., Abruzzo G., Stipani I., Palmieri F. Identification and purification of the reconstitutively active glutamine carrier from rat kidney mitochondria // *Biochem. J.* – 1998. – **333**, № 2. – P. 285–290.
  32. Jansen R. Germline passage of mitochondria: quantitative considerations and possible embryological sequelae // *Hum. Reprod.* – 2000. – **15**, № 2. – P. 112–128.
  33. Jones A., Van Blerkom J., Davis P., Toledo A. Cryopreservation of metaphase II human oocytes affects mitochondrial inner membrane potential: implications for developmental competence // *Ibid.* – 2004. – **19**. – P. 1861–1866.
  34. LaNoue K., Schoolwerth A. Metabolite transport in mitochondria // *Annu. Rev. Biochem.* – 1979. – **48**. – P. 871–922.
  35. Leonard J., Schapira A. Mitochondrial respiratory chain disorders. Mitochondrial DNA defects // *Lancet.* – 2000. –

355. – P. 299–304.
36. Liu H., Keefe D. Cytoplasm mediates both developmental and oxidation-induced apoptotic cell death in mouse zygotes // *Biol. Reprod.* – 2000. – **62**. – P. 1828–1834.
37. Liu L., Hammar K., Smith P. et al. Mitochondrial modulation of calcium signaling at the initiation of development // *Cell Calcium.* – 2001. – **30**. – P. 423–433.
38. Menezo Y. Paternal and maternal factors in preimplantation embryogenesis: interaction with the biochemical environment // *Reprod. Biomed. Online.* – 2006. – **12**, №5. – P. 616–621.
39. Mengual R., El Abida K., Mouaffak N. et al. Pyruvate shuttle in muscle cells: high-affinity pyruvate transport sites insensitive to trans-lactate efflux // *Amer. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* – 2003. – **285**, № 6. – P. 1196–1204.
40. Motta P., Nottola S., Familiari G. et al. Morphodynamics of the follicular–luteal complex during early ovarian development and reproductive life // *Intern. Rev. Cytol.* – 2003. – **223**. – P. 177– 88.
41. Motta P., Nottola S., Makabe S., Heyn R Mitochondrial morphology in human fetal and adult female germ cells // *Hum. Reprod.* – 2000. – **15**, №2. – P. 129–147.
42. Muller-Hocker J., Schafer S., Weis S. et al. Morphological, cytochemical and molecular genetic analyses of mitochondria in isolated human oocytes in the reproductive age // *Mol. Hum. Reprod.* – 1996. – **2**. – P. 951–958.
43. Ozil J., Huneau D. Activation of rabbit oocytes: the impact of the  $Ca^{2+}$  signal regime on development // *Development.* – 2001. – **128**. – P. 917–928.
44. Palmieri F., Stipani I., Iacobazzi V. The transport of L-cysteinesulfinate in rat liver mitochondria // *Biochim. Biophys. Acta.* – 1979. – **555**, №3. – P. 531–546.
45. Pozzan T., Magalhaes P., Rizzuto R. The comeback of mitochondria to calcium signalling // *Cell Calcium.* – 2000. – **28**. – P. 279–283.
46. Reers M., Smith T., Chen L. J-aggregate formation of a carboyanine as a quantitative fluorescent indicator of membrane potential // *Biochemistry.* – 199. – **130**. – P. 4480–4486.
47. Reynier P., May-Panloup P., Chretien M. et al. Mitochondrial DNA content effects the fertilizability of human oocytes // *Mol. Hum. Reproduction.* – 2001. – **7**. – P. 425–429.
48. Rizzuto R., Bastianutto M., Brini M. et al. Mitochondrial  $Ca^{2+}$  homeostasis in intact cells // *J. Cell Biol.* – 1994. – **126**. – P. 1183–1194.
49. Roesch K., Hynds P., Varga R. et al. The calcium-binding aspartate/glutamate carriers, citrin and aralar1, are new substrates for the DDP1/TIMM8a-TIMM13 complex // *Hum. Mol. Genet.* – 2004. – **13**, № 18. – P. 2101–2111.
50. Rubi B., del Arco A., Bartley C. et al. The malate-aspartate NADH shuttle member Aralar1 determines glucose metabolic fate, mitochondrial activity, and insulin secretion in beta cells // *J. Biol. Chem.* – 2004. – **279**, №53. – P. 55659–55666.
51. Rupert B., Segar J., Schutte B., Scholz T. Metabolic adaptation of the hypertrophied heart: role of the malate/aspartate and alpha-glycerophosphate shuttles // *J. Mol. Cell Cardiol.* – 2000. – **32**, № 12. – P. 2287–2297.
52. Rutter G., Rizzuto R. Regulation of mitochondrial metabolism by ER  $Ca^{2+}$  release: an intimate connection // *TIBS.* – 2000. – **25**. – P. 215–220.
53. Scholz T., Koppenhafer S. ten Eyck C., Schutte B. Ontogeny of malate-aspartate shuttle capacity and gene expression in cardiac mitochondria // *Amer. J. Physiol.* – 1998. – **274**, № 3. – P. C780–C788.
54. Schoolwerth A., LaNoue K. The role of microcompartmentation in the regulation of glutamate metabolism by rat kidney mitochondria // *J. Biol. Chem.* – 1980. – **55**, №8. – P. 3403–3411.
55. Schoolwerth A., Nazar B., LaNoue K. Glutamate dehydrogenase activation and ammonia formation by rat kidney mitochondria // *Ibid.* – 1978. – **253**, № 17. – P. 6177–6183.
56. Schwartz M., Vissing J. New patterns of inheritance in mitochondrial disease // *Biochem. and Biophys. Res. Commun.* – 2003. – **310**. – P. 247–251.
57. Smiley S., Reers M., Mottloa-Hartshorn C. et al. Intracellular heterogeneity in mitochondrial membrane potentials revealed by H-aggregate-forming lipophilic cation JC-1 // *PNAS.* – 1991. – **88**. – P. 3671–3675.
58. Sotelo J., Porter K. An electron microscopic study of the rat ovum // *J. Biophys. and Biochem. Cytol.* – 1959. – **5**. – P. 327–342.
59. Sousa M., Barros A., Tesarik J. Developmental changes in calcium dynamics, protein kinase C distribution and endoplasmic reticulum organization in human preimplantation stage embryos // *Mol. Hum. Reprod.* – 1996. – **2**. – P. 967–977.
60. Steuerwald N., Barrit J., Adler R. et al. Quantification of mtDNA in single oocytes, polar bodies and subcellular components by real-time rapid cycle fluorescence monitored PCR // *Zygote.* – 2000. – **9**. – P. 209–215.
61. Sugiura K., Pendola F., Eppig J. Oocyte control of metabolic cooperativity between oocytes and companion granulosa cells: energy metabolism // *Dev. Biol.* – 2005. – **279**, № 1. – P. 20–30.
62. Sun Q., Schatten H. Regulation of dynamic events by microfilaments during oocyte maturation and fertilization // *Reproduction.* – 2006. – **131**, № 2. – P. 193–205.
63. Sutovsky P. Degradation of paternal mitochondria after fertilization: implications for heteroplasmy, assisted reproductive technologies and mtDNA inheritance // *Reprod. Biomed. Online.* – 2004. – **8**. – P. 24–33.
64. Tarazona A., Rodriguez J., Restrepo L., Olivera-Angel M. Mitochondrial activity, distribution and segregation in bovine oocytes and in embryos produced in vitro // *Reprod. Domest. Anim.* – 2006. – **41**, № 1. – P. 5–11.
65. Tesarik J. Calcium signalling in human oocytes and embryos: two-store model revival // *Hum. Reprod.* –

2002. – **17**. – P. 2948–2949.
66. Tokura T., Noda Y., Goto Y., Mori T. Sequential observations of mitochondrial distributions in mouse oocytes and embryos // *J. Assis. Reprod. and Genetics*. – 1993. – **10**. – P. 417–426.
67. Van Blerkom J., Runner M. Mitochondrial reorganization during resumption of arrested meiosis in the mouse oocyte // *Amer. J. Anat.* – 1984. – **171**. – P. 335–355.
68. Van Blerkom J. Microtubule mediation of cytoplasmic and nuclear maturation during the early stages of resumed meiosis in cultured mouse oocytes // *PNAS*. – 1991. – **88**. – P. 5031–5035.
69. Van Blerkom J. Development of human embryos to the hatched blastocyst stage in the presence or absence of a monolayer of Vero cells // *Hum. Reprod.* – 1993. – **8**. – P. 1525–1539.
70. Van Blerkom J., Davis P., Alexander S. Differential mitochondrial inheritance between blastomeres in cleavage stage human embryos: determination at the pronuclear stage and relationship to microtubular organization, ATP content and developmental competence // *Ibid.* – 2000. – **15**. – P. 2621–2633.
71. Van Blerkom J., Davis P., Lee J. ATP content of human oocytes and developmental potential and outcome after in vitro fertilization and embryo transfer // *Ibid.* – 1995. – **10**. – P. 415–424.
72. Van Blerkom J., Davis P., Mathwig V., Alexander S. Domains of high-polarized and low-polarized mitochondria may occur in mouse and human oocytes and early embryos // *Ibid.* – 2002. – **17**. – P. 393–406.
73. Wilding M., Dale B., Marino M. et al. Mitochondrial aggregation patterns and activity in human oocytes and preimplantation embryos // *Ibid.* – 2001. – **16**. – P. 909–917.
74. Wilding M., De Placido G., De Matteo L. et al. Chaotic mosaicism in human preimplantation embryos is correlated with a low mitochondrial membrane potential // *Fertil. and Steril.* – 2003. – **79**. – P. 340–346.
75. Wilding M., Fiorentino A., De Simone M. et al. Energy substrates, mitochondrial membrane potential and human preimplantation embryo division // *Reprod. Biomed. Online*. – 2002. – **5**. – P. 39–42.
76. Zjubina A., Blashkiv T., Voznesenskaya T., Yanchiy R. The influence of the mitochondrial carriers inhibitors on murine oocyte meiotic maturation in the cumulus-oocyte-cellular complexes // 36. тез II міжнар. наук. конф. студентів та аспірантів (21–24 бер. 2006 р., Львів). – Львів, 2006. – С. 451–452.

*Ин-т фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України,  
Київ*

*Матеріал надійшов до  
редакції 25.09.2006*