

**Česká zemědělská univerzita v Praze**

**Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů**

**Katedra veterinárních disciplín**



**Fakulta agrobiologie,  
potravinových a přírodních zdrojů**

**Oogeneze savců a její regulační mechanismy**

**Bakalářská práce**

**Sergei Karlin**

**Chov zájmových zvířat**

**Chov exotických zvířat**

**doc. Ing. Eva Chmelíková, Ph.D.**

**© 2024 ČZU v Praze**

### **Čestné prohlášení**

Prohlašuji, že svou bakalářskou práci „Oogeneze savců a její regulační mechanismy“ jsem vypracoval samostatně pod vedením vedoucího bakalářské práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autor uvedené bakalářské práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušil autorská práva třetích osob.

V Praze dne 24.4.2024 \_\_\_\_\_

## **Poděkování**

Rád bych touto cestou poděkoval doc. Ing. Evě Chmelíkové, PhD. za odborné vedení, užitečné rady a za trpělivost během psaní této bakalářské práce. Také bych rád poděkoval své rodině za jejich podporu během celého studia.

# Oogeneze savců a její regulační mechanismy

## Souhrn

Proces oogeneze představuje tvorbu vajíček, které vznikají z primordiálních zárodečných buněk (PGC) v kůře vaječníků. Z PGC se procesem mnohonásobné mitózy nejprve tvoří oogonie, které se následně mitoticky množí. K oogoniím se přikládají v jedné vrstvě buňky coelomového epitelu, přičemž vznikají tzv. primordiální folikuly. Asi u poloviny oogonií se tato vrstva nevytvoří a buňky hynou řízenou buněčnou smrtí, apoptózou. Z oogonií vznikají mitotickým dělením primární oocyty, které vstupují do meiotického zrání, které se poprvé zastavuje v profázi I, v diplotenním stádiu. Oocyty setrvávají v meiotickém bloku až do hormonální iniciace dalšího zrání. Zrání jednotlivých folikulů pak pokračuje až po pubertě samice vlivem hormonů. Stimulem k pokračování prvního zracího dělení je u některých druhů, jako jsou například obojživelníci, progesteron, u jiných změna hladiny estrogenů a progesteronu v průběhu estrálního cyklu. Prvním meiotickým dělením vzniknou dvě haploidní buňky, jeden sekundární oocyt a jedna buňka rudimentární s odpadem jaderného materiálu, tzv. pólové tělísko. Druhé meiotické dělení je iniciováno po ovulaci, ale ve druhé meiotické metafázi (MII) je podruhé zastaveno v druhém meiotickém bloku a k jeho dokončení dochází až po proniknutí spermie do vajíčka, kdy ze sekundárního oocyty vzniká jedno vajíčko a druhé pólové tělísko. Zároveň první pólové tělísko prochází následnou mitózou, dělí se ve dvě a všechna 3 pólová tělíška záhy zaniknou procesem apoptózy. V oocyty v průběhu růstové fáze probíhá syntéza mRNA, proteinů a různých zásobních látek, přičemž některé mRNA jsou transportovány do cytoplazmy, kde jsou skladovány v inaktivní formě a aktivovány teprve po procesu oplození oocyty. Další zásobní látky, proteiny i RNA všech typů jsou do vajíčka transportovány z okolních kumulárních buněk přes vmezeřené spoje, gap junctions.

Proces oogeneze řídí řada velmi složitých regulačních mechanismů, ve kterých plní funkci například cyklické nukleotidy, vápenaté ionty, kinázy, fosfatázy či plynné molekuly. cAMP udržuje oocyty v meiotickém bloku, pro znovuoobnovení meiotického zrání je nezbytné, aby poklesla hladina cAMP, což se děje tak, že další molekuly cAMP nejsou vpuštěny do oocyty z kumulárních buněk přes gap junctions. Významnou měrou se na regulaci procesu meiotického zrání i oplození podílejí vápenaté ionty, které mimo jiné ovlivňují kortikální reakci a následný proces ztvrdnutí vrstvy zona pellucida, kterým se zabraňuje polyspermii a mění se glykoproteinová struktura světlolomné blánky oocyty. Meiotické zrání v oocyty je regulováno také pomocí fosfatáz, které plní defosforylační funkce a kináz, které mají naopak za úkol fosforylovat buněčné proteiny. Vstup oocytů do metafáze je zajištěn MPF faktorem. Významným způsobem ovlivňují signální dráhy v pohlavních buňkách také plynné molekuly označované jako gasotramittery. Plyny s velmi rychlým biologickým poločasem rozpadu jako je oxid dusnatý, oxid uhelnatý nebo sulfan regulují například proces meiotického zrání či stárnutí oocytů. Funkce gasotramitterů je dána jejich koncentrací v buňkách. Bylo zjištěno, že oxid dusnatý působí na meiotické zrání oocytů v nízké koncentraci stimulačně, zatímco vysoké koncentrace NO meiotické zrání oocytů inhibují. Pro správný průběh oogeneze je

nezbytné, aby všechny regulační mechanismy fungovaly v součinnosti, jinak je buňka směřována do apoptózy.

**Klíčová slova:** oocyt; signální dráhy; množení; růst; meiotické zrání

# Regulatory mechanisms of mammalian oogenesis

## Summary

The process of oogenesis is the formation of ova, which originate from primordial germ cells (PGCs) in the ovarian cortex. The PGCs first form oogonia through a process of multiple mitosis, which then proliferate mitotically. Coelomic epithelial cells attach to the oogonia in a single layer, forming so-called primordial follicles. In about half of the oogonia, this layer does not form and the cells die by controlled cell death, apoptosis. The oogonia give rise to primary oocytes by mitotic division, which enter meiotic maturation, which first stops at prophase I, the diplotene stage. Oocytes remain in meiotic block until hormonal initiation of further maturation. Maturation of individual follicles then continues after puberty of the female under the influence of hormones. The stimulus for the continuation of the first maturation division is progesterone in some species, such as amphibians, and in others, a change in estrogen and progesterone levels during the estrous cycle. The first meiotic division gives rise to two haploid cells, one secondary oocyte and one rudimentary cell with nuclear waste, the so-called pole body. The second meiotic division is initiated after ovulation, but is arrested for a second time in the second meiotic metaphase (MII) and is completed after sperm penetration into the egg, when the secondary oocyte gives rise to one egg and a second pole body. At the same time, the first polar body undergoes subsequent mitosis, divides into two and all 3 polar bodies soon disappear by the process of apoptosis. In the oocyte during the growth phase, mRNA, protein and various storage substances are synthesized, with some mRNAs being transported to the cytoplasm where they are stored in an inactive form and activated only after the fertilization process of the oocyte. Other storage substances, proteins and RNAs of all types are transported into the egg from the surrounding cumulus cells via gap junctions.

The process of oogenesis is controlled by a number of very complex regulatory mechanisms in which cyclic nucleotides, calcium ions, kinases, phosphatases, and gaseous molecules, for example, function. cAMP maintains the oocyte in meiotic block; to resume meiotic maturation, it is necessary for cAMP levels to fall, which happens so that additional cAMP molecules are not allowed into the oocyte from the cumulus cells via gap junctions. Calcium ions play an important role in the regulation of the meiotic maturation and fertilization process, affecting, among other things, the cortical reaction and the subsequent hardening of the zona pellucida layer, which prevents polyspermy and changes the glycoprotein structure of the oocyte's light-sheet. Meiotic maturation in the oocyte is also regulated by phosphatases, which have dephosphorylating functions, and kinases, which in turn are responsible for phosphorylating cellular proteins. Oocyte entry into metaphase is mediated by MPF factor. Gaseous molecules known as gasotransmitters also significantly influence signaling pathways in sex cells. Gases with very fast biological half-lives such as nitric oxide, carbon monoxide or sulphane regulate, for example, the process of meiotic maturation or oocyte aging. The function of gasotransmitters is determined by their concentration in cells. Nitric oxide has been found to stimulate meiotic maturation of oocytes at low concentrations, whereas high concentrations of

NO inhibit meiotic maturation of oocytes. For proper oogenesis to proceed, it is essential that all regulatory mechanisms work in concert, otherwise the cell is directed into apoptosis.

**Keywords:** oocyte; signaling pathways; proliferation; growth; meiotic maturation

## Obsah

1	Úvod .....	9
2	Cíl práce.....	10
3	Literární řešerše .....	11
3.1	Samičí pohlavní ústrojí .....	11
3.1.1	Anatomie samičího pohlavního ústrojí.....	11
3.1.2	Vejcovod (tuba uterina) .....	12
3.2	Oogeneze a folikulogeneze .....	12
3.3	Estrální cyklus.....	13
3.4	Regulační mechanismy oogeneze.....	14
3.4.1	Cyklické nukleotidy .....	14
3.4.2	Vápenaté ionty ( $Ca^{2+}$ ) .....	16
3.4.3	Kinázy a fosfatázy .....	18
3.4.4	Gasotransmitery .....	20
3.4.5	Kostní morfogenetický protein (BMP).....	23
3.4.6	Regulační mechanismy raných fází oogeneze a folikulogeneze .....	25
4	Závěr.....	30
5	Literatura .....	31



# 1 Úvod

V současné době prochází reprodukční biotechnologie rychlým rozvojem, který se projevuje mimo jiné v chovu a šlechtění zvířat. Tento rozvoj se však u různých druhů hospodářských zvířat neprojevuje se stejnou intenzitou. Mezi nejdůležitější složky úspěšného pokroku reprodukčních biotechnologií patří regulace meiotického zrání oocytů. Oocyty jsou pohlavní buňky, které mají haploidní počet chromozomů a po splynutí oocytu a spermie dochází ke vzniku zygoty. Zralé oocyty zaujímají nepostradatelné místo v reprodukčních procesech pro fyziologický průběh oplození, vývoj embryí a dalších základních pohlavních procesech. Pro úspěšné provedení reprodukčních biotechnologií je nezbytná detailní znalost procesů, které regulují jak meiotické zrání, tak i celou oogenezi.

## **2 Cíl práce**

Cílem bakalářské práce bylo popsat proces tvorby savčích oocytů a definovat mechanismy, které tvorbu samičích pohlavních buněk řídí.

## 3 Literární řešerše

### 3.1 Samičí pohlavní ústrojí

#### 3.1.1 Anatomie samičího pohlavního ústrojí

##### *Embryonální vývoj*

Na začátku vývoje jedince mají pohlavní orgány bisexuální potenci, vyvíjejí se z indiferentního základu. Indiferentní základ tvoří dva páry Wolfových a Müllerových vývodů. Směr vývoje se určuje gonadálním pohlavím. Wolfovy a Müllerovy vývody se vyskytují u obou pohlaví (Jelínek et al. 2003).

Gonády vznikají z genitální lišty (*plica genitalis*), která se nachází na dorzální straně břišní stěny (Kudláč et al. 1987). Pohlavní lišta je pokryta zárodečným epitelem, který prolifereje a vchlípením vytváří pohlavní provazce. Poté dochází k diferenciaci, která u samců a samic probíhá s odlišnou rychlostí, u samců diferenciaci probíhá rychleji za působení aktivní sekrece testosteronu fetálními varlaty. U samic proces probíhá pomaleji, protože v samičím organizmu nejsou žádné fetální orgány, které by ovlivnily rychlost diferenciaci pohlaví jako v případě samců. Během vývoje jedince u samic dochází k zániku Wolfových vývodů, u samců naopak k zániku Müllerových vývodů. U samic z Müllerových vývodů vznikají vejcovody, děloha a pochva (Jelínek et al. 2003).

##### *Pohlavní žlázy*

Pohlavní žlázy u samic reprezentují dva vaječníky, které se nachází v kaudální části břišní dutiny hned za ledvinami. U fen a koček se v průběhu vývoje vaječníky výrazně neposouvají a zůstávají spíše hned za ledvinami. U klisny se vaječníky nachází uprostřed mezi ledvinami a vstupem do dutiny pánevní. U prasnic a krav se vaječníky nachází v blízkosti vstupu do dutiny pánevní (Hyttel et al. 2010).

Vaječníky plní několik funkcí, mezi které patří funkce germinativní a hormonální. Germinativní funkce vaječnicků spočívá v produkci samičích pohlavních buněk, funkce hormonální zahrnuje schopnost vaječnicků produkovat pohlavní hormony, mezi které patří primárně estrogeny a progesteron (Jelínek et al. 2003). Forma a vzhled vaječnicků se liší podle druhu zvířete. Ve většině případů se vaječník popisuje jako oválný mírně asymetrický útvar. Tvar je silně proměnlivý vlivem růstu folikulů na vaječnicku (Najbrt 1982). Kráva má vaječník ovoidního tvaru a připomíná tvar švestky, v průměru měří 3-4,5 cm, váží kolem 20 g. Ovce a kozy mají vaječník spíše kulovitý. Vaječník prasnice vzhledově připomíná malinu, protože dochází k větší tvorbě folikulů než u jiných hospodářských zvířat. Klisna má specifický vaječník, protože na rozdíl od ostatních zvířat má jen menší omezenou plochu nekrytou pobřišnicí, kde dochází k ovulaci, u ostatních zvířat tato plocha zaujímá převážně celý povrch vaječnicku (Marvan et al. 2017). Velikost a hmotnost vaječnicků kolísá podle věku zvířete. Vaječníky nejsou stejně velké ani nemají stejný počet vytvářených folikulů. U krávy je typický větší pravý vaječník, u psů naopak levý (Marvan et al. 2017; Hyttel et al. 2010). Vaječníky jsou zavěšené pomocí okruží, konkrétně na závěsném vazu vaječnickovém *mesovariu*, což je duplikatura peritonea, které odstupuje od bederních svalů a upíná se na dorzální okraj vaječnicku

(Kudláč et al. 1987). Vaječník se skládá z kůry (*cortex*) a dřene (*medulla*) a obklopuje ho takzvaný germinalní, neboli zárodečný epitel (Mescher et al. 2021). Běžně používaný termín zárodečný epitel není úplně správný. Používá se z toho důvodu, že jsou od něj odvozené folikulární buňky během embryonálního vývoje vaječníku (Kudláč et al. 1987). Forma povrchového epitelu se mění postupně s věkem jedince. U mladého jedince je epitel cylindrický, později kubický a ke konci reprodukčního života dlaždicový (Marvan et al. 2017). Pod zárodečným epitelem se nachází bělavý obal *tunica albuginea*. Je to průhledná vrstva kolagenního vaziva, která obaluje celý vaječník (Reece 2011). Pod bělavým obalem se nachází kůra vaječníku, která je tvořena velkým množstvím buněčného vaziva, stromou, kde se nachází folikuly v různém stupni vývoje. V kůře dochází k produkci hormonů (Kudláč et al. 1987; Marvan et al. 2017). Dřeň je nepravidelně uspořádaná fibroelastická pojivová tkáň s velkým zastoupením nervů a krevním zásobením. Nervy a cévy se dostávají do dřene a kůry přes *hilus*. V kůře jsou také obsaženy cévy a nervy. V kůře vaječníku se nachází dozrávající folikuly. Podle hormonálních změn v průběhu estrálního cyklu se liší krevní zásobování vaječníku a adaptace organismu k určitým hormonálním změnám (Hafez & Hafez 2013).

### 3.1.2 Vejcovod (*tuba uterina*)

Vejcovod je párový orgán, který vzniká z proximální části Müllerových vývodů (Briceag et al. 2015). Na jednom konci navazuje na vaječník, na druhém se napojuje na děložní roh. Vejcovod se rozděluje na následující části: *infundibulum* se napojuje přímo na vaječník a tvoří nálevku vejcovodu, je opatřena speciálními výběžky (*fimbriae*). Následuje nejdelší úsek vejcovodu *ampulla*, kde probíhá fertilizace (oplození). Nejužší část vejcovodu je *isthmus*, který může měřit pouze milimetr. Poslední část, která prochází přes stěnu děložního rohu, je *pars uterina* (Najbrt 1982; Biga et al. 2019; Mescher et al. 2021). Stěna vejcovodu je tvořena slizniční vrstvou s řasinkovými a sekrečními buňkami, střední vrstvu tvoří svalovina a povrch je kryt serózou (Jelínek et al. 2003). Sekreční a řasinkové buňky jsou zastoupeny nejvíce v nálevce a vytváří vhodné prostředí jak pro vajíčka, tak pro spermie. Směrem k děloze se epitel snižuje. Je důležité podotknout také to, že v průběhu cyklu dochází ke změně výšky epitelu (Mescher et al. 2021; Reece 2011). Krevní zásobování vejcovodu probíhá jak ze strany dělohy, tak ze strany vaječníku (Briceag et al. 2015). Svalová vrstva vejcovodu spolu s řasinkovými buňkami napomáhá posouvání oocyty směrem k děložnímu rohu. Svalovina je složena z vnitřní kruhové a vnější podélné vrstvy a směrem k děloze se zvětšuje (Najbrt 1982). Podle Huntera (2005) bylo zjištěno, že teplota v kaudální části zúženého úseku je o 0,7°C nižší než v ostatních částech vejcovodu, což může ovlivňovat proces fertilizace.

## 3.2 Oogeneze a folikulogeneze

Samičí gametogeneze je proces, kdy z diploidních (2n) buněk vznikají haploidní oocyty (1n) (Waters & Tadi 2022). Na vaječníku vznikají mitózou primordiální zárodečné buňky (primordial germ cells – PGC), ze kterých se následně vyvíjejí oocyty (Sánchez & Smitz 2012). Pro přeměnu oogenie do dalších stádií musí proběhnout meióza, která se však u většiny živočišných druhů dvakrát pozastavuje, nejprve v profázi I a následně v metafázi II. Pro zabezpečení normální fertility biologického organismu schopného pohlavního rozmnožování musí vždy správně proběhnout takové procesy, jako jsou samostatná oogeneze, meiotická

rekombinace chromozomů a ovulace (Greenstein 2005). Oogeneze neboli ovogeneze se rozděluje na tři stádia nebo období.

Prvním je období rozmnožování, ve kterém dochází k dělení oogonií, ze kterých vznikají oocyty prvního řádu a po obklopení epitelových buněk se vytváří primární folikuly. Následuje období růstu, které probíhá po dosažení pohlavní dospělosti samice, se vyznačuje zvýšenou tvorbou cytoplazmy a navýšením počtu folikulárních buněk. Období zrání je posledním stádiem oogeneze, ve kterém probíhají redukční dělení a při všech probíhajících procesech na konci vzniká ovocyt II řádu a pólové tělísko. Pokud nedojde k oplození ovocytu, buňka zaniká (Jelínek et al. 2003).

Meiotické dělení lze rozdělit na dvě fáze – Meióza I a Meióza II. Tyto fáze se dělí na další primární fáze, a sice na Profázi, Metafázi, Anafázi a Telofázi I a II podle fáze meiózy. Mezi meiózou I a II probíhá interfáze, kdy dochází k syntéze DNA (Baker & Franchi 1967). Než začne profáze, v organismu samice je výjimečně velký počet oogonií, může jich být i několik milionů, avšak po proliferaci následuje proces zániku většiny buněk (apoptóza), a tak do fáze meiózy vstoupí podstatně méně početná skupina buněk (Hyttel et al. 2010). Meiotická profáze se rozděluje na preleptoten, leptoten, zygoten, pachyten a diploten, v pozdní fázi diplotenu dochází k pozastavení vývoje oocytů. Jakmile oocyt dosáhne fáze diplotenu, bude již obklopen tenkou vrstvou pregranulozních plochých buněk a neporušenou bazální laminou, což znamená, že je to již primordiální folikul. Vrstva, která obklopuje oocyt, ho v podstatě oddělí od ostatních oocytů, které jsou kolem. Je důležité zdůraznit některé prekursor, které ovlivňují správnou strukturu primordiálních folikulů. Patří mezi ně c-kit a jeho ligand (proteiny, které se na něj vážou), což je receptor, který zaujímá velmi významné postavení při řízení migrace a přežití kmenových buněk v embryonálním vývoji. Na začátku meiózy klesá množství proteinu c-kit a ve fázi diplotenu už je jeho množství zvýšené. Bylo potvrzeno, že c-kit napomáhá vytváření primordiálních folikulů. Při tvorbě primordiálních folikulů má také důležitou roli transformující růstový faktor  $\beta$  (TGF $\beta$ ) či protoonkogen Bcl-2 (Fair 2003). Později se buňky obklopující oocyt začnou transformovat z plochých buněk na buňky kubické, čímž vznikne primární folikul (Eppig 2001). Poté se folikulární buňky začnou aktivně dělit a vytvoří tak další vrstvu kolem oocytu, což z něj udělá sekundární folikul, zároveň se vytvoří světlolomná blanka oocytu, *zona pellucida*, objeví se thekální buňky, ze kterých se později vytvoří *theca folliculi interna* a *theca folliculi externa* (Ebrahimi 2024). Ve folikulu dochází ke vzniku dutiny obsahující tekutinu. Formuje se folikulární antrum a folikul se v tuto chvíli označuje jako terciální, také označovaný, jako Graafův folikul (Reece 2011).

V sekundárních a terciálních folikulech začínají hrát větší roli FSH a LH, což jsou hormony produkované hypofýzou. FSH hormon ovlivňuje expresi genu *Cyp19a1* a produkci estradiolu. LH se podílí na tvorbě androgenů, které se pomocí aromatázy, jejíž syntézu řídí gen *Cyp19a1*, přemění na estrogeny (Richards 2018).

### 3.3 Estrální cyklus

Estrální cyklus je fyziologický proces, kdy dochází k pozorovatelným změnám v chování u všech samic a fyziologickým změnám. Jako jakýkoliv cyklus, probíhá estrální cyklus

s intervaly v závislosti na druhu zvířete. Jeden interval cyklu je možné definovat jako čas od začátku jednoho cyklu do začátku cyklu následujícího (Reece 2011).

Podle frekvence výskytu cyklů v průběhu roku se zvířata rozdělují na monoestrická, diestrická, anebo polyestrická, což znamená, že cyklus proběhne za jeden rok buď jednou, dvakrát, anebo vícekrát. Cyklus některých druhů zvířat je významně ovlivněn fotoperiodou. Fotoperioda je proces, kdy světelná délka dne ovlivňuje řadu procesů v organismu, včetně pohlavního cyklu (Reece 2011). Například u klisny dochází k první říji na začátku jara a u ovcí na podzim (Jelínek et al. 2003).

Estrální cyklus se rozděluje na několik fází, které se nazývají: Proestrus, Estrus, Metestrus, Diestrus, Anestrus (Schatten & Constantinescu 2007).

Proestrus je fáze předcházející samotné říji, estru. Proestrus nastává hned po zániku žlutého tělíska, gonadoliberiny stimulují produkci folikulostimulačního hormonu (FSH), který ovlivňuje růst a zrání folikulů (Schatten & Constantinescu 2007). Žluté tělísko zaniká pod vlivem prostaglandinu F2 $\alpha$  (PGF2 $\alpha$ ) (Jelínek et al. 2003). Zvyšuje se produkce estrogenů, zvláště estradiolu a probíhá růst folikulů (Schatten & Constantinescu 2007).

V následující fázi, estru, jsou samice svolné k páření a probíhá ovulace. Je tomu tak skoro u všech druhů hospodářských zvířat s výjimkou skotu, u kterého dochází k ovulaci s určitým zpožděním (Hyttel et al. 2010).

Metestrus je stádium, kdy se začíná vytvářet nové nebo nová žlutá tělíska a následně dochází k produkci progesteronu žlutým tělískem (*corpus luteum* - CL). Postupně se snižuje epitel děložní sliznice a pohlavní orgány se vrací ke stavu před říjí. Dochází tak k odtoku krve z pohlavních orgánů a snížení tonusu dělohy (Jelínek et al. 2003).

Diestrus je nejdéle trvající stádium estrálního cyklu, kdy buď dále pokračuje produkce progesteronu žlutým tělískem, protože samice zabřezla, anebo pokud k zabřeznutí samice nedošlo, zaniká vlivem prostaglandinu F2 $\alpha$  žluté tělísko (Hyttel et al. 2010). Na místě zániku žlutého tělíska vzniká *corpus albicans* (Schatten & Constantinescu 2007). Na rozdíl od většiny domácích a hospodářských savců dochází u feny k prodlouženému diestru a to z toho důvodu, že se na vaječniku žluté tělísko vyskytuje delší čas, i když fena nezabřezla (Hyttel et al. 2010).

Anestrus je období mezi koncem posledního a začátkem nového cyklu. Je to prodloužené klidové období v reprodukčním cyklu. Délka se liší podle druhu (Hyttel et al. 2010).

## **3.4 Regulační mechanismy oogeneze**

### **3.4.1 Cyklické nukleotidy**

Cyklické molekuly jako je cyklický adenosinmonofosfát (cAMP) a cyklický guanosinmonofosfát (cGMP) významnou měrou regulují meiotické zrání. Cho et al. (1974) zjistili, že dibutyryl cAMP (dbcAMP) udržuje meiotický blok oocytů po jejich vyjmutí z folikulárního prostředí *in vitro*. Pochopení úlohy cAMP komplikovalo zjištění, že vysoká hladina cAMP v oocytech způsobuje meiotický blok, ale během ovulace vysoká hladina cAMP v oocytech vyvolá znovuzahájení meiózy (Dekel et al. 1988).

Cyklický adenosinmonofosfát je produkován z ATP pomocí enzymu adenylátcyklázy (AC). V oocytech hlodavců byla prokázána přítomnost AC3 (Horner et al. 2003). Produkce cAMP v oocytech probíhá po aktivaci receptoru GPR3 (G-protein coupled receptor 3) (Olsiewski & Beers 1983; Mehlmann et al. 2002). Protein kináza A (PKA), která je aktivována cAMP, udržuje oocyt v M-fázi, což napomáhá cAMP udržet meiotický blok (Downs 2010; Conti et al. 2012). cGMP inhibuje zrání oocytu (Hubbard & Terranova 1982). Dostává se do oocytu přes gap junction a inhibuje enzym fosfodiesterázu PDE3A (Phosphodiesterase 3). cGMP napomáhá udržovat hladinu cAMP a tím i meiotický blok (Norris et al. 2009; Vaccari et al. 2009).

LH způsobuje až 200násobné zvýšení hladiny cAMP. Nejvyšší úroveň cAMP dosahuje před procesem rozpadu zárodečného váčku GVBD (Germinal vesicle breakdown), hned po tom dochází k razantnímu poklesu jeho množství. Změny úrovně hladiny cAMP hrají v oocytech důležitou regulační roli (Tsafiriri et al. 1976; Yoshimura et al. 1992; Mattioli et al. 1994; Norris et al. 2009). Aktivace PDE3A a následný pokles hladiny intraoocytárního cAMP vyvolá defosforylaci PKA, aktivaci MPF (Maturation promoting factor) a obnovení meiózy (Hubbard & Terranova 1982). Na znovuzahájení meiózy se podílí i cGMP (Shuhaibar et al. 2015). Je možné, že ke snížení hladiny cAMP dochází v důsledku působení cGMP na PDE3A (Vaccari et al. 2009).

Důležitým regulátorem meiózy jsou i natriuretické peptidy. Rodina natriuretických peptidů má tři hlavní typy, jsou to atriální natriuretický peptid (ANP), mozkový natriuretický peptid (BNP) a natriuretický peptid typu C (CNP). Granulózní buňky produkují CNP a buňky kumulární tvoří receptor natriuretického peptidu 2 (NPR2). Po navázání CNP na receptor NPR2, dochází ke zvýšení hladiny cGMP a nastává meiotický blok (Zhang et al. 2010).

Aktivace CNP NPR2 guanylátcyklázy je hlavním zdrojem pro cGMP ve folikulech (Zhang et al. 2010). LH způsobuje snížení exprese CNP a také množství proteinu CNP ve folikulární tekutině (Kawamura et al. 2011). LH snižuje aktivitu NPR2 guanylátcyklázy, což je způsobeno defosforylací a deaktivací NPR2 v granulóznicích buňkách (Robinson et al. 2012). Lze říci, že LH snižuje hladinu cAMP, CNP a cGMP, proběhlé změny vyvolávají aktivaci PDE3A a MPF, který vyvolá obnovení meiózy (Gilchrist et al. 2016).

Vysoká hladina cAMP v murálních buňkách spouští řadu procesů, které aktivují signální dráhu receptorů epidermálního růstového hormonu (EGFR) a extracelulárním signálem regulovaných kináz ERK1/2. Při produkci cAMP pod vlivem LH dochází k nárůstu množství EGF – like peptidů (EGF-p), mezi které patří amphiregulin, epiregulin a betacellulin, které indukují signalizační dráhu ERK1/2 receptoru a vyvolají tak zrání a ovulaci oocytů (Park et al. 2004; Shimada et al. 2006; Fan et al. 2009).

Standardní metody *in vitro* zrání (IVM) využívají spontánní meiotické zrání vyvolané izolací COC (komplexy kumulárních oocytů) z folikulu (Pincus & Enzmann 1935; Edwards 1965). Po izolaci oocytu dochází k hydrolýze cAMP, poklesu jeho hladin a deaktivaci PKA, což vede k rozpadu zárodečného váčku GVBD (Norris et al. 2009; Li et al. 2012).

Dvoufázové systémy *in vitro* maturace využívají vyšší koncentraci inhibitoru PDE, aby se předešlo spontánnímu rozpadu zárodečného váčku (GVBD) oocytů po jejich vyjmutí z

folikulu (Nogueira et al. 2003; Nogueira et al. 2006; Kawashima et al. 2008). Nejběžněji využívané PDE inhibitory jsou Org9935, milirinone, CNP, cilostamide, IBMX. Po poklesu hladiny inhibitorů PDE klesá množství cAMP a dochází k deaktivaci PKA což spustí meiotické zrání oocytů (Gilchrist et al. 2016; Albuz et al. 2010; Luciano et al. 2011; Li et al. 2012). Metody IVM využívající přímé manipulace a ovlivňování hladin cAMP umožňují zlepšit výsledky meiotického zrání oocytů (Gilchrist et al. 2016).

Farmakologické látky jako dbcAMP účinně zvyšují hladinu cAMP v COC prasat (Funahashi et al. 1997). Obdobně působí i forskolin a invazivní adenylátcykláza (Luciano et al. 1999; Shu et al. 2008). Forskolin například může vyvolávat zvýšení hladiny intraoocytárního cAMP až k hodnotám, které se vyskytují *in vivo* pod vlivem LH (Bernal-Ulloa et al. 2016). Tyto látky jsou obecně účinnější než FSH (Albuz et al. 2010).

### 3.4.2 Vápenaté ionty ( $\text{Ca}^{2+}$ )

Vápník je všudypřítomnou signální molekulou. Hraje důležitou roli při oplození oocytů a zahájení embryonálního vývoje mnoha zvířecích druhů, a dokonce i několika druhů rostlin (Kashir et al. 2013; Dresselhaus et al. 2016; Stein et al. 2020).

$\text{Ca}^{2+}$  se do buněk dostává z extracelulárního prostředí, kde jeho koncentrace dosahuje násobně vyšších hodnot v porovnání s prostředím intracelulárním. Extracelulární vápník vstupuje do buněk prostřednictvím kanálů, které se nacházejí na plazmatické membráně (Venkatachalam et al. 2007; Catterall 2000). Takzvaný store-operated calcium entry neboli SOCE je buněčný mechanismus, který doplňuje vápníkové zásoby z extracelulárního prostředí. Pokud dojde k vyčerpání vápenatých iontů z endoplazmatického retikula (ER), aktivují se STIM (stromal interaction molecule) proteiny, které prostřednictvím ORAI (calcium release-activated calcium channel protein) vápenatých kanálů vyvolají přesun  $\text{Ca}^{2+}$  z vnějšího prostředí do buňky a vyrovnání jeho intracelulární hladiny (Smyth et al. 2006).

Převážná většina intracelulárního  $\text{Ca}^{2+}$  je obsažena v ER, jeho zásoby se však také nacházejí v mitochondriích a endolysosomech (Phillips et al. 2016).  $\text{Ca}^{2+}$  se vylučuje z ER prostřednictvím dvou iontových kanálů, první tvoří inositol-1,4,5-trisfosfátový receptor (IP3R) a druhým je ryanodinový receptor (RyR) (Soboloff et al. 2007).

Během zrání oocytu dochází k postupnému zvyšování sensitivity IP3 receptoru, což bylo poprvé popsáno u mořské hvězdice a později také u hlodavců (Mehlmann et al. 1994). IP3R1 interaguje s řadou kináz, jako je například polo-like kináza 1 (Plk1), MAPK (Mitogen-activated protein kinase), CDK1 (Cyclin – dependent kinase 1), PKA (protein kinase A) a PKC (protein kinase C) (Lee et al. 2006). U savců byly objeveny tři formy IP3 receptorů (IP3R1, IP3R2, IP3R3) s odlišnou afinitou vůči IP3 (Taylor et al. 1999). Kromě IP3R se na regulaci hladin vápníku podílí i proteiny regulující aktivitu G proteinů jako je RGS2 (Regulator of G protein signaling) (Bernhardt et al. 2015).

V průběhu zrání oocytu dochází ke změně stavby a lokalizace organel zapojených do regulace hladin vápenatých iontů jako je ER, Golgiho aparát či mitochondrie, které se podílejí na udržení oscilací vápenatých iontů po oplození (Shiraishi et al. 1995; Mann et al. 2010; Mehlmann et al. 1995; FitzHarris et al. 2007; Wang et al. 2019; Stein et al. 2020).



Inositoltrifosfát (IP3) je hlavním mobilizačním signálem pro  $\text{Ca}^{2+}$ . IP3 vzniká prostřednictvím fosfolipázy C (PLC) z fosfatidylinositol-4,5-bisfosfátu (PIP2). Po navázání IP3 na IP3 receptor dojde k vyplavení vápníku z ER. Převážná většina IP3 receptorů se nachází v cytoplazmě a část v lumen ER (Paknejad et al. 2018). Při nízkých hladinách cytoplazmatického vápníku dochází k otevření kanálů a naopak vysoké koncentrace vápníku vyvolávají jejich uzavření. Mezi významné regulátory IP3 receptorů patří ATP, NADH, reaktivní formy kyslíku a na vápník vázané proteiny jako je třeba kalmodulin. Mezi další procesy, které ovlivňují funkce IP3 receptorů, patří fosforylace, defosforylace a ubikvitinace (Dupont et al. 2004; Vanderheyden et al. 2009).

Během zrání oocytů dochází ke změně množství a uložení IP3 receptorů a probíhající změny mohou ovlivňovat hladiny  $\text{Ca}^{2+}$ . (Boulware et al. 2005). Při zablokování IP3 receptorů v oocytech, nedochází po oplození k fyziologickému vyplavení v  $\text{Ca}^{2+}$  (Miyazaki et al. 1992; Xu et al. 1994).

Důležitou úlohu při regulaci hladin vápníku hraje i sarko/endoplazmatická retikulární  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPáza (SERCA), která se nachází na membráně ER a napomáhá při transportu  $\text{Ca}^{2+}$  proti koncentračnímu gradientu. U savců byly popsány tři geny *Atp2a1-3*, které se podílejí na tvorbě třech izoform SERCA1-3 s odlišnou expresí (Brini et al. 2009; Chen et al. 2020).

Na regulaci hladin vápníku se podílí i kalciová ATPáza plazmatické membrány (PMCA), která napomáhá vyplavování vápníku z buňky ven a podílí se tak na udržování homeostázy. Při zvýšených hladinách intracelulárního vápníku je PMCA inaktivována prostřednictvím kalmodulinu (Brini et al. 2009; Chen et al. 2020; Missiaen et al. 1989).

Zvýšení hladin vápenatých iontů se využívá k partenogenetické aktivaci oocytů při asistované reprodukci u lidí. Pro aktivaci vajíček se nejčastěji používají ionofory jako jsou ionomycin a kalcimycin, které usnadňují transport vápníku přes membránu (Kline & Kline. 1992) a následně spouští buněčný cyklus a vývoj embrya (Stein et al. 2020). K aktivaci oocytů může být také použit 7% ethanol, který způsobuje uvolňování intracelulárního  $\text{Ca}^{2+}$  prostřednictvím IP3 (Rickords et al. 1993; Nakada & Mizuno 1998). Výzkumy ukazují, že aktivace zralých oocytů ethanolem funguje dobře u myši (Rickords et al. 1993), skotu (Nakada & Mizuno 1998) a prasat (Ruddock et al. 2001), ale například u lidí aktivaci nevyvolá (Balakier & Casper 1993).

Oscilace hladin vápníku jsou účinnějším aktivátorem oocytů, než jednorázové zvýšení hladiny (Ducibella et al. 2002). Látky jako stroncium vyvolávají dlouhodobou oscilaci  $\text{Ca}^{2+}$  a aktivaci oocytů prostřednictvím IP3, což bylo prokázáno u hlodavců, skotu, prasat a koní (Fraser 1987; Yamazaki et al. 2005; Che et al. 2007). U lidí se stroncium k aktivaci oocytů nepoužívá, jelikož nespouští oscilaci  $\text{Ca}^{2+}$  (Lu et al. 2018). Další sloučeninou, která je schopná vyvolávat dlouhodobou oscilaci  $\text{Ca}^{2+}$ , je thimerosal (Swann 1991). Thimerosal vyvolává mnohonásobné oscilace, které se podobají fyziologickému působení spermií, ale k aktivaci oocytů se nevyužívá s ohledem na jeho negativní účinky (Cheek et al. 1993; Alexandre et al. 2003).

### 3.4.3 Kinázy a fosfatázy

#### *Zrání podporující faktor (Maturation/M-phase promoting factor, MPF)*

MPF neboli faktor podporující zrání je univerzálním regulačním faktorem meiózy a mitózy a skládá se z kinázy cdc2 (Cell Division Cycle) a regulační podjednotky cyklinu B a Greatwall kinázy. Spojením cyklinu B a cdc2 vzniká pre-MPF. Fosforylace, která je přímo či nepřímo katalyzovaná MPF, působí na strukturu buňky a umožňuje vytvoření dělicího vřeténka. Inaktivace MPF vede k ukončení mitózy. Aktivitu MPF ovlivňují posttranslační mechanismy, jako je fosforylace cdc2, která je zajištěna komplexem kináz Wee1/Myt1 a fosfatázou Cdc25 (Norbury & Nurse 1992; Hoffmann & Karsenti 1994; Morgan 1997; Beckhelling & Ford 1998; Alberts et al. 1998). Cdc2 a cyklin B lze lokalizovat v oblasti centrozomu anebo v perinukleární oblasti (Bailly et al. 1989, 1992). Bylo prokázáno, že akumulace cyklinu B je závislá na mikrotubulech (Raff et al. 1990).

Poprvé byl MPF popsán u obojživelníků v průběhu zrání oocytů (Masui & Market 1971). Na aktivaci komplexu cyklinu B a cdc2 se podílí fosfatáza cdc25 a polo-like kinázy (Hoffmann et al. 1993; Abrieu et al. 1998). První výzkumy prokázaly, že v průběhu zrání oocytu je MPF nejprve aktivován na animálním pólu vajíčka a následně nastává aktivace MPF na vegetativním pólu (Masui 1972). Na vegetativním pólu se hromadí cyklin B, ale nedochází tam k aktivaci MPF, z čehož může vyplývat, že aktivační mechanismy MPF se musí nacházet na animálním pólu. Aktivace MPF během mitózy, stejně jako během zrání vajíčka, probíhá prostřednictvím mechanismu, který zahrnuje cdc25 fosfatázu. Rozložení MPF a cdc25 na animálním a vegetativním pólu oocytů se liší (Beckhelling et al. 2000). MPF ovlivňuje velké množství procesů a je nezbytný pro fyziologický průběh zrání oocytů. Aktivace MPF umožňuje obnovení meiotického cyklu, vyvolává fosforylaci a depolymerizaci laminů a zahájení GVBD.

#### *Mitogeny aktivovaná protein kináza (MAPK)*

MAPK patří do rodiny serin/threonin protein kináz. Podle substrátů se dají rozdělit do čtyřech podrodin: ERK1/2, p38MAPK, JNK a ERK5. ERK1/2 byla objevena jako jedna z prvních a je nejvíce prozkoumána. U savců byla poprvé objevená ERK1 neboli MAPK3 která často působí se svým homologem ERK2 neboli MAPK1, a proto se označují jako celek ERK1/2. Mezi funkce, které plní, patří fosforylace substrátových proteinů, což následně reguluje řadu fyziologických procesů, jako je buněčná diferenciaci a růst (Fan & Sun 2004).

Během zrání oocytu je MAPK aktivována prostřednictvím protein kinázy S6 p90RSK, která se naváže na MYT1 a podporuje tak zrání (Bhatt & Ferrell 1999). MAPK se také podílí na regulaci translace proteinů tím, že aktivuje CPE, neboli cytoplazmatický polyadenylační element (Frodin et al. 1999).

Jak již bylo zmíněno výše, velmi důležitou roli v průběhů mitózy a meiózy zaujímá MPF. Bylo prokázáno, že interakce mezi MPF a MAPK na základě pozitivní zpětné vazby umožňují přechod mezi fázemi buněčného cyklu (Abrieu et al. 2001; Kishimoto 2018). MPF je aktivován těsně před GVBD, což je typickým znakem znovuzahájení buněčného cyklu. Výzkumy u různých druhů savců prokázaly, že k aktivaci MAPK dochází zhruba 2 hodiny poté, co proběhne GVBD (Sun et al. 1999). U myši s knockoutem c-Mos, který je regulátorem

signální dráhy MAPK, jsou oocyty schopné podstoupit GVBD, i když mají abnormálně vytvořené dělicí vřetenko (Araki et al. 1996). Aktivace MAPK začíná během přechodu G2/M fáze buněčného cyklu a nejvyšší intenzity dosahuje v MI. Jelikož GVBD probíhá, i když MAPK není aktivována, je pravděpodobné, že MAPK nehraje při GVBD zásadní roli (Zernicka-Goetz et al. 1997). Po GVBD dochází díky aktivitě MAPK k reorganizaci mikrotubulů a vytváří se dělicí vřetenko (Gotoh et al. 1991; Verlhac et al. 1994). Proteiny ERK1/2 se nachází na dělicím vřetenku a mikrotubuly organizujících centrech (MTOC) (Verlhac et al. 1993). MAPK se váže na MTOC a spolupodílí se tak na organizaci mikrotubulů. Pokud je aktivita MAPK inhibována, meiotické vřetenko se netvoří a dochází k inhibici segregace chromozomů v MII (Lee et al. 2000). Bylo prokázáno, že ERK1/2 může aktivovat RNA proteinu CPEB1 (Cytoplasmic Polyadenylation Element Binding Protein 1) v cytoplasmě, který podporuje vznik proteinů Dazl, Tpx2 a Tpx2. Tpx2 je lokalizován v mikrotubulech a podílí se na aktivaci proteinové kinázy aurory A, která je nedílnou součástí mikrotubulů a vřetenka (Sha et al. 2017).

Bylo prokázáno, že pro spontánní obnovení meiózy *in vitro* není ERK1/2 v oocytech nezbytná, jako je tomu v případě znovuzahájení meiózy vyvolané gonadotropiny (Fan et al. 2009). LH a FSH jsou zásadní pro fyziologický průběh růstu a zrání oocytů a folikulů. MAPK v granulóznicích buňkách napomáhá fyziologickému působení LH při ovulaci, atrézii a vzniku žlutého tělíska. U myši s knockoutem ERK1/2 v granulóznicích buňkách nedochází k obnově meiózy, ovulaci ani vzniku žlutého tělíska (Fan et al. 2009).

ERK1/2 je nezbytná pro reaktivaci MPF během interfáze (Cui et al. 2012). U většiny savců dochází k meiotickému bloku, a právě díky vysoké aktivitě MPF a MAPK. K aktivaci MPF je nutný cyklin B. Cyklin B se v průběhu buněčného cyklu akumuluje a degraduje v proteazómu, pokud je na něm navázán ubikvitin. Nejvyšší hladiny MPF dosahuje v MII, kde je MPF nutný pro udržování meiotického bloku (Kishimoto 2018). V savcích oocytech aktivace komplexu podporujícího anafázi (APC) vyvolává degradaci cyklinu B, což následně sníží aktivitu MPF (Dupre et al. 2011). Cytostatický faktor CSF je jedním z důležitých faktorů, který se podílí na udržování bloku v MII, po oplození dojde k rychlému poklesu CSF (Verlhac et al. 1994). Cytostatický faktor pod vlivem kináz MOS, MEK a MAPK udržuje vysokou aktivitu MPF (Kubiak et al. 1993). Aktivita ERK1/2 je zásadní pro udržení bloku v MII (Zhang et al. 2015). Bylo prokázáno, že u stárnoucích oocytů dochází k degeneraci organel a poklesu MPF a syntézy MOS, což vede k inaktivaci MAPK (Kikuchi et al. 1995). Také bylo zjištěno, že u prasečích oocytů při použití MEK inhibitoru U0126 dochází k inaktivaci MAPK a p90RSK, což následně vyvolá porušení meiotického bloku. Z toho vyplývá, že aktivita MAPK je pro udržení meiotického bloku v MII zásadní (Tatemoto & Muto 2001).

Po oplození oocytu dochází k poklesu MPF a následně po několika hodinách dojde k inaktivaci MAPK (Petrunewich et al. 2009). Inaktivace MAPK probíhá během oscilací vápníku nezávisle na MOS (Gonzalez-Garcia et al. 2014).

### *Protein kináza A*

cAMP je důležitým regulátorem zrání oocytů, cAMP umožňuje otevření iontových kanálů a aktivaci faktorů jako je Epac1 a Epac2 (Exchange protein directly activated by cAMP) (Dremier et al. 2003). Hlavním efektoem cAMP je protein kináza A (PKA). PKA je

holoenzym, který se skládá ze dvou regulačních a dvou katalytických jednotek. K aktivaci PKA dochází po zvýšení hladiny cAMP (Wong & Scott 2004). Vysoká hladina cAMP a aktivace PKA v oocytech způsobuje meiotický blok. PKA může inhibovat MPF, jelikož fosforyluje Wee1B kinázu patřící do rodiny kináz, které inhibují cyklin-dependentní kinázu Cdk (Cyclin-dependent kinase) (Han et al. 2005). Prostřednictvím Gs receptorů na povrchu oocyty dochází k poklesu hladiny cAMP, poklesu aktivity PKA a následně se znovuzahajuje meióza (Mehlmann et al. 2004).

Interakce PKA a AKAP (A-Kinase anchoring protein) hraje důležitou roli nejen v oocytech. Inhibice PKA/AKAP v oocytech vyvolává zrání i při vysokých hladinách cAMP. To naznačuje, že PKA udržuje meiotický blok (Newhall et al. 2006).

### 3.4.4 Gasotransmitery

#### *Oxid dusnatý*

Oxid dusnatý (NO) je velmi nestabilní látka, u které při kontaktu s kyslíkem rychle dochází k oxidaci a následně přeměně NO na NO<sub>2</sub> (oxid dusičitý). NO patří mezi reaktivní formy dusíku (RNS) (Sikka 2012). NO funguje jako molekulární posel a difunduje dovnitř buněk skrz membránu (Francis et al. 2010). NO je nepostradatelnou součástí fyziologicky probíhajících procesů v oocytech. Jeho množství se zvyšuje během folikulogeneze v souvislosti se zvyšováním koncentrace estrogenů (Rosselli et al. 1997). Přítomnost NO byla prokázána v thekálních a granulózních buňkách během folikulárního vývoje, ovulace a během tvorby žlutého tělíska u potkanů (Jablonka-Shariff & Olson 1997), prasat (Takesue et al. 2003) a myši (Jablonka-Shariff & Olson 1998). Oxid dusnatý produkováný endoteliální NO syntázou (eNOS) zvyšuje průtok krve k vaječnům (Van Voorhis et al. 1995). Bylo zjištěno, že inhibitorem eNOS je L-nitro arginin methyl ester (L-NAME) (Shukovski & Tsafiriri 1994). Bylo prokázáno, že izoformy NO syntázy iNOS (indukovatelná NO syntáza) a eNOS jsou nezbytné pro expanzi kumulárních buněk. iNOS má přímý vliv na fyziologické zrání oocytů a eNOS má vliv na interakci gamet (Romero-Aguirregomezcorta et al. 2014).

Oxid dusnatý plní také roli regulátoru. Během zrání oocyty podněcuje vnitrobuněčné signály, které jsou nutné k aktivaci oocytů a zpomaluje tak stárnutí buněk (Kuo et al. 2000; Goud et al. 2005). Zpomalování stárnutí je velmi důležité z hlediska polyspermie, ke které dochází častěji u stárnoucích oocytů (Miao et al. 2009). Bylo prokázáno, že existuje určitá korelace obsahu NO s věkem zvířat, u mladých jedinců je obsah NO podstatně vyšší, než u jedinců starších (Goud et al. 2014). Podle Goud et al. (2005) se NO podílí nejen na zrání oocytů, ale i na procesu oplození.

Výzkumy *in vitro* prokázaly, že NO ovlivňuje oogenezi v závislosti na koncentraci (Lee et al. 2013). Bylo zjištěno, že nízká koncentrace NO chrání před oxidativním stresem, stimuluje meiotické zrání a vytváří optimální podmínky pro oplození a vývoj jedince (Bu et al. 2003; Tao et al. 2005; Goud et al. 2008). Vysoké koncentrace NO však v savcích oocytech meiotické zrání potlačují, vyvolávají apoptózu a oxidativní stres (Tichovská et al. 2011). Inhibice produkce NO způsobuje meiotický blok (Tao et al. 2005).

Při *in vitro* zrání oocytů stejně jako *in vivo* dochází k produkci reaktivních forem kyslíku (ROS) a reaktivních forem dusíku (RNS), které ovlivňují reprodukční pochody, jejichž výsledky se projeví až po dokončení zrání (Pandey et al. 2010; Tang et al. 2013).

### *Sulfan*

O sirovodíku ( $H_2S$ ) neboli sulfanu je v souvislosti s oogenezí známo méně než o NO. V prasečích oocytech byly nalezeny tři enzymy, které jsou zapojeny do syntézy  $H_2S$ : CBS (Cystathionin- $\beta$ -syntáza), CSE (Cystathionin-gamma-lyáza) a 3-MPST (3-merkaptopyruvát sulfurtransferáza). Bylo prokázáno, že  $H_2S$  se podílí na folikulogenezi a zrání oocytů (Nevoral et al. 2015) Sulfan má stejně jako NO pozitivní vliv na zpomalování stárnutí buněk a má také vliv na fyziologický průběh embryonálního vývoje (Liang et al. 2006; Nevoral et al. 2014).

Relativně velké množství studií se zaměřuje na samčí pohlavní systém.  $H_2S$  byl objeven ve varlatech potkanů, kde bylo CBS nalezeno v Leydigových buňkách a CSE pak v Sertoliho buňkách (Sugiura et al. 2005; Oi et al. 2001). Ukázalo se, že se  $H_2S$  podílí na fungování erektilní tkáně (Srilatha et al. 2006). V organismu samic byl  $H_2S$  považován za příčinu potratů (Hemminki & Niemi 1982). Později bylo zjištěno, že CBS, na rozdíl od CSE, je pro plodnost samic naprosto nezbytná (Liang et al. 2006; Yang et al. 2008). Po genovém knockoutu CBS došlo k výraznému poklesu počtu folikulů a potlačení procesu zrání oocytů (Guzmán et al. 2006). CBS byl nalezen v oocytech prasat, kde se podílí na znovuzahájení meiózy (Nevoral et al. 2015), ale například u myši (Liang et al. 2006) nalezen nebyl.

### *Oxid uhelnatý*

Oxid uhelnatý (CO) je znám svým toxickým působením na organismus u většiny živočišných druhů. Má ale také vlastnosti, které za určitých okolností vytváří vhodné podmínky pro fyziologické procesy v buňkách, jako je například jejich ochrana před buněčným stresem. CO ovlivňuje průběh oogeneze, oplodnění i březosti (Němeček et al. 2017).

K produkci CO v organismu dochází po rozpadu hemu, který katalyzuje enzym hemoxygenáza (HO) (Tenhunen 1969). Původně se předpokládalo, že je CO jen odpadním produktem rozpadu. Po objevení vlivu NO na velké množství pochodů v organismu se začala působení CO věnovat větší pozornost (Stewart 1975). Například byla objevena jeho role v synaptickém přenosu (Verma et al. 1993).

Nízké koncentrace gasotransmiteru CO mají velký význam pro fyziologický průběh velkého množství procesů v organismu, kde se CO podílí na ochraně buněk před jejich poškozením oxidativním stresem a nedostatek CO způsobuje poruchy reprodukce (Wu & Wang 2005).

Jsou známy tři izoformy hemoxygenázy, a to HO-1, HO-2 a HO-3. V mnoha ohledech jsou si zmíněné izoformy podobné, liší se pouze enzymovou kinetikou, termostabilitou a imunitní reaktivitou (Maines 1997; Maines et al. 1986). HO-1 se nachází na membráně endoplazmatického retikula (ER), ale při působení stresu se jeho lokalizace může měnit (Yoshida et al. 1978). Nejčastěji lze HO-1 najít ve slezině a kostní dřeni. V ostatních typech tkání, kde nedochází k rozkladu erytrocytů, je hladina HO-1 poměrně nízká, i když se může z důvodu různého typu stresu zvyšovat (Ryter & Choi 2016). Mezi faktory, které ovlivňují

expresi HO-1, patří MAPK a jaderný faktor – kappa B (Kim et al. 2011). Bylo prokázáno, že inaktivní forma HO-1 je schopná potlačovat oxidativní stres (Dennery 2014).

Expres HO-2 hemoxygenázy je nejvyšší v mozku a varlatech. Stejně jako HO-1 se nachází na membráně ER (Maines 1997; Ma et al. 2004). Působením HO-2 dochází k aktivaci glukokortikoidů (Liu et al. 2000). HO-2 je zodpovědná za tvorbu CO a podobně jako HO-1 chrání buňky před oxidačním stresem (Turkseven et al. 2007). Přestože je HO-3 popsanou izoformou, s největší pravděpodobností *in vivo* nevzniká (Hayashi et al. 2004).

Působení gasotransmiterů je provázáno. CO se váže na hemovou skupinu a ovlivňuje iNOS, což následně snižuje tvorbu NO a dochází ke snížení oxidačního stresu (Kim et al. 2008). Na druhou stranu NO ovlivňuje produkci HO, která je nezbytná pro vznik CO (Mottetlini et al. 2002).

Mezi další funkce oxidu uhelnatého patří produkce reaktivních forem kyslíku. ROS ovlivňují řadu procesů v organismu (Taillé et al. 2005). Mimo jiné stimulují proliferaci buněk a biogenezi mitochondrií (Suliman et al. 2007). Zatím nebylo prokázáno přímé působení ROS na reprodukční systém, ale vše nasvědčuje tomu, že tomu tak je. ROS se podílí na procesech, které indukují tvorbu antioxidantních procesů, podílí se na meiotickém cyklu a podporují zrání (Finkel 1998; Combelles et al. 2009).

Přítomnost HO-1 a HO-2 hemoxygenázy byla potvrzena ve vaječnicích (Alexandreau 2003), v děloze (Kreiser et al. 2003) a v placentě (Odrich et al. 1998). Obě izoformy byly lokalizovány ve žlutém tělísku a ve folikulárních buňkách. V ovariálním stroma byla detekována přítomnost pouze izoformy HO-2 (Murphy et al. 1991; Harada et al. 2004).

Výzkumy prokazují, že vliv stresu na buňky vede ke zvýšení hladiny HO-1. Hladina HO koreluje s hladinou pohlavních hormonů, a proto se mění během ovariálního cyklu (Murphy et al. 1991). Expres HO-1 koreluje s produkcí estrogenu a progesteronu, expres HO-2 je spjatá pouze s progesteronem (Cella et al. 2006; Acevedo et al. 1998).

Inhibitorem HO-1 je chromium mesoporfyrin (CrMP). Jeho působením se během ovariálního cyklu razantně snižuje působení HO-1 a dochází ke snížení četnosti pravidelných říjových cyklů (Alexandreau et al. 2002). V děloze dochází ke zvýšení hladiny HO-1 a ke snížení hladiny volného hemu. Lze tedy předpokládat, že ke zvýšení množství HO v děloze dochází z důvodu ochrany plodu před škodlivým působením hemu.

U myší, které netvoří HO-1, dochází ke snižování produkce oocytů. V průběhu ovulace může docházet ke spouštění zánětlivých procesů, jejichž působením se provokuje tvorba volného hemu, který potlačuje růst a vývoj oocytů. Následně dochází k opětovnému zvýšení hladiny HO-1, která deaktivuje hem, chrání oocyty a tím pozitivně ovlivňuje průběh říjového cyklu (Zenclussen et al. 2014; Vinatier et al. 1995).

Bylo prokázáno, že zvýšení exprese HO vede k nárůstu koncentrace CO, který se podílí na ochraně buněk před stresory. Pokud dochází ke snížení hladiny HO, klesá množství CO a zvyšuje se pravděpodobnost apoptózy buněk, protože nejsou chráněny pomocí oxidu uhelnatého (Vreman et al. 1999; Brouard et al. 2000). Pokles hladin HO snižuje schopnost

fertilizace oocytů *in vitro* a zvyšuje pravděpodobnost apoptózy kumulárních buněk (Zenclussen et al. 2012).

Zajímavá je korelace množství HO-1 a HO-2 v granulózních buňkách. Výzkumy prokazují, že u zdravých folikulů je hladina HO-1 nízká, zatímco hladina HO-2 vysoká. Ve folikulech, které se schylují k atrezii, je tomu naopak. Zvýšená hladina HO-1 zvyšuje produkci CO a chrání tak buňky proti oxidačnímu stresu (Harada et al. 2004). Proto lze HO použít jako marker úspěšného oplození oocytů, jelikož při vysoké hladině HO-1 dochází k oxidačnímu stresu, který poškozuje buňky a zhoršuje fertilizaci (Berandi et al. 2014).

Aktivátorem HO je organická sloučenina hemin. Jeho aktivace zvyšuje u myši syntézu estradiolu. Působení inhibitoru HO snižuje syntézu progesteronu a vede ke zkrácování délky říjového cyklu (Alexandrea et al. 2003).

### 3.4.5 Kostní morfogenetický protein (BMP)

BMP patří do rodiny TGF- $\beta$  růstových faktorů. Jedná se o skupinu proteinů, jejichž výskyt byl poprvé popsán v kostní dřeni. Později byl protein BMP lokalizován v savčích vaječnicích a bylo prokázáno, že má velký regulační význam v oogenezi a folikulogenezi (Rossi et al. 2015).

Kostní morfogenetický protein se vyskytuje v několika formách, označovaných BMP-1 až BMP-15 (Ducy & Karsenty 2000). Bylo prokázáno, že některé z těchto proteinů jsou zodpovědné za vývoj primordiálních zárodečných buněk, jiné zas za regulaci primárních folikulů, jejich aktivaci a životaschopnost (Dudley et al. 2010; Celestino et al. 2011). BMP také ovlivňuje růst a vývoj sekundárních a terciárních folikulů (Shimasaki et al. 2004).

BMP patří do TGF- $\beta$  superrodiny proteinů, jejichž struktura obsahuje sedm molekul cysteinů, které dohromady vytváří strukturu nazývanou cysteinový uzel (cystin knot) (Vitt et al. 2001).

Signály, které vytváří TGF- $\beta$ , jsou regulovány na několika úrovních, a to včetně vnitrobuněčných interakcí a ligandů (Bragdon et al. 2011). Skupina proteinů BMP funguje pomocí serine threonine kinázových receptorů, které patří mezi glykoproteiny. Podle strukturních a funkčních rozdílů se BMP receptory rozdělují do dvou podskupin, konkrétně na Typ I a Typ II. Unikátní charakteristikou Typu I je sekvence 30 aminokyselin s velkým zastoupením glycinu a serinu (Wrana et al. 1994).

#### *Exprese BMP receptorů ve vaječnicích*

Kostní morfogenetický protein působí na intraovariální faktory (Artini et al. 2007). Expresi mRNA BMP receptorů byla zjištěna v sekundárních a terciálních folikulech přežvýkavců, s nejvyšší expresí mRNA BMPRII (BMP receptor 2) ve folikulech o velikosti 0,5 mm (Costa et al. 2012). Vysoké exprese mRNA BMP-15 a GDF-9 v terciálním folikulu může naznačovat jejich potenciální interakci (Edwards et al. 2008). Exprese mRNA BMPRII (BMP receptor 1B) byla zaznamenána v oocytech, v thekálních buňkách a ve všech fázích vývoje folikulů u myši a koz (Erickson & Shimasaki 2003).

Ve vaječnicích ovcí byl BMP-1 imunohistochemicky lokalizován ve folikulárních buňkách. BMP-1 patří mezi metaloproteázy a je schopný ovlivňovat formaci extracelulárního matrix během folikulogeneze (Canty-Laird et al. 2010). Extracelulární matrix ovlivňuje vývoj a atrezii ovariálních folikulů (Berkholtz et al. 2006).

Expres mRNA BMP-2 byla prokázána ve folikulech myši a také v thekálních buňkách u skotu (Fatehi et al. 2005). U myši BMP-2 spolupracuje s BMP-4 a ovlivňuje tvorbu primordiálních buněk (Ying & Zhao 2001). BMP-2 zvyšuje produkci estrogenu a inhibinu-A po stimulaci FSH. Působením BMP-2 však dochází k potlačení produkce estradiolu a androstendiolu (Brankin et al. 2005).

BMP-4 mRNA byla detekována v thekálních a folikulárních buňkách a v oocytech (Fatehi et al. 2005). Několik studií prokázalo, že nejdůležitějším regulátorem primordiálních zárodečných buněk (PGC) je BMP-4 (Saitou & Yamaji 2010). BMP-4 se účastní regulačních procesů v gametogenezi během vývoje gonád (Childs et al. 2010). Bylo prokázáno, že BMP-4 zahajuje růst primordiálních folikulů a potlačuje apoptózu ve folikulárních buňkách (Ding et al. 2013).

BMP-4 prostřednictvím FSH zvyšuje syntézu estradiolu a snižuje syntézu progesteronu (Mulsant et al. 2001). BMP-4 interaguje s aktivinem a GnRH, a vyvolává tak sekreci FSH v pohlavních buňkách (Lee et al. 2007) a zvyšuje tak množství estradiolu v granulózních buňkách u potkana. BMP-4 prostřednictvím FSH snižuje množství progesteronu. V potkaních folikulárních buňkách a oocytech BMP-2 a BMP-4 stimulují syntézu p38-mitogeny-aktivované proteinkinázy (p38MAPK) (Inagaki et al. 2009).

BMP-5 mRNA se vyskytuje ve folikulárních buňkách v raných fázích vývoje i v terciálních folikulech (Pierre et al. 2005). BMP-5 se účastní vývoje sekundárních, ale ne primárních folikulů (Shimizu et al. 2004). U myši BMP-5 zvyšuje proliferaci folikulárních buněk v antrálních folikulech (Pierre et al. 2005).

BMP-6 byl detekován ve folikulech myši (Erickson & Shimasaki 2003), ovce (Juengel et al. 2006), skotu (Glister et al. 2004) a kozy (Frota et al. 2013). V primárních a sekundárních folikulech je úroveň mRNA BMP-6 výrazně vyšší, než v primordiálních folikulech. V sekundárních folikulech BMP-6 společně s FSH vyvolává zvětšení průměru folikulů a antra (Frota et al. 2013). BMP-6 ovlivňuje granulózní buňky tím, že zvyšuje jejich proliferaci, životaschopnost a zvyšuje produkci inhibinu-A a aktivinu-A (Glister et al. 2004). BMP-6 také snižuje expresi LH receptorů a syntézu progesteronu. BMP-6 zrychluje růst folikulů, ale zpomaluje jejich diferenciaci (Shimasaki et al. 2004). V době ovulace akumuluje neutrofilů v ovulujícím folikulu, a tak snižuje inhibiční vlivy proteázy (Akiyama et al. 2014).

BMP-7 produkují thekální buňky sekundárních a terciálních folikulů (Shimasaki et al. 2004). Různá vývojová stádia folikulů se liší množstvím BMP-7 mRNA (Frota et al. 2013). BMP-7 podporuje růst primordiálních folikulů a stimuluje expresi FSH receptorů (Lee et al. 2004). Po aplikaci BMP-7 do vaječníku myši se výrazně zvyšuje počet primárních, sekundárních i terciálních folikulů (Lee et al. 2001).

BMP-15 se účastní všech fyziologických procesů probíhajících v pohlavním systému samic (Passos et al. 2013). Expres BMP-15 mRNA byla zjištěna v primordiálních, primárních i sekundárních folikulech (Silva et al. 2005). BMP-15 se nachází rovněž v terciálních folikulech a v oocytech (Juengel & McNatty 2005).



BMP-15 se účastní proliferace granulózních buněk a přeměny primordiálních folikulů ve folikuly primární (Galloway et al. 2000). Podílí se také na vzniku antra antrálních folikulů (Fatehi et al. 2005). BMP-15 stimuluje proliferaci buněk nezávisle na FSH bez vlivu na množství estradiolu. Oocyty z folikulů s vyšším množstvím BMP-15, mají větší pravděpodobnost, že budou oplozeny. Množství BMP-15 pozitivně koreluje s množstvím estradiolu, zatímco s hladinou FSH koreluje negativně (Wu et al. 2012).

Bylo prokázáno, že BMP-15 a GDF-9 společně ovlivňují mitózu, proliferaci buněk, apoptózu a řadu dalších pochodů (Crawford & McNatty 2012). BMP-15 a GDF-9 hrají nejdůležitější roli ve folikulárním vývoji, při ovulaci a oplození (Gilchrist et al. 2008).

### 3.4.6 Regulační mechanismy raných fází oogeneze a folikulogeneze

#### *Regulační mechanismy primordiálních zárodečných buněk a formování folikulů*

Vývoj primordiálních zárodečných buněk je regulován řadou faktorů.

Na proliferaci a migraci primordiálních zárodečných buněk se podílí PR domain-containing protein 14 (*PRDM14*), B lymphocyte-induced maturation protein 1 (*BLIMP1*) a transkripční faktory jako je Octamer-binding transcription factor 4 (OCT4) a NANOG, které jsou nutné udržení pluripotence primordiálních zárodečných buněk (Ohinata et al. 2005; Yamaji et al. 2008). Da Silva et al. (2004) prokázali také úlohu proonkogenu aktivinu a zjistili, že tento protein zvyšuje počet primordiálních zárodečných buněk u člověka. Aktivin se váže na folistatin, který je také označován jako aktivin vázající protein, který je kódován genem FST. Folistatin je znám jako FSH-potlačující (FSP). Primární funkcí folistatinu je vázání a bionutralizace členů TGF- $\beta$  rodiny, s preferencí pro aktivin – parakrinní hormon z TGF- $\beta$  rodiny, který zvyšuje sekreci FSH v předním laloku hypofýzy (Tortoriello et al., 2001).

FIG $\alpha$  napomáhá expresi glykoproteinů vytvářející vrstvu *zona pellucida*. RNA bílkoviny, jako je NANOS3 (Nanos homolog 3) a DND1 (Dead end homolog 1) chrání primordiální zárodečné buňky před apoptózou, obdobně funguje KIT/KIT ligand. Genetické mutace zmíněných bílkovin mohou významně narušit vývoj folikulů (Soyal et al. 2000). Na vzniku primordiálních zárodečných buněk se podílejí také transkripční faktory jako je GATA4, FOXL2, LHX9, WT1 A SF1 (Wilhelm et al. 2002).

#### *Aktivace primordiálních folikulů*

Mezi známé regulační faktory patří PTEN gen a fosfatidylinositol 3-kináza (phosphatidylinositol 3 kinase – PI3K). Mezi procesy, na kterých se zmíněná dvojice podílí, je regulace apoptózy, proliferace buněk a aktivace primordiálních folikulů (Cantley et al. 2002). PI3K byla detekována v oocytech primordiálních a primárních folikulů (Reddy et al. 2005). Aktivace PI3K vyvolává aktivaci AKT, což je kináza, která patří do skupiny serin-threonin protein kináz, které zvyšují buněčnou proliferaci a vitalitu buněk (Cantley et al. 2002). Reddy et al. (2008) prokázali, že zablokování genu pro PTEN zvyšuje množství PI3K a následně se fosforyluje FOXO3a (Reddy et al. 2008). FOXO3a je transkripční faktor, který se účastní apoptózy a pozastavení vývoje buněk. FOXO3a byl detekován v oocytech myši a předpokládá se jeho podíl na inhibici aktivačních mechanismů primordiálních folikulů prostřednictvím

potlačení transkripce genů, které jsou nezbytné pro fyziologický průběh oogeneze a folikulogeneze (Castrillon et al. 2003).

Tuberous sclerosis complex 1 (TSC1) a Mammalian target of rapamycin complex 1 (mTORC1) jsou komplexy, které se podílí na pozastavení vývoje pohlavních buněk. Bylo prokázáno, že u myši TSC1 negativně ovlivňuje mTORC1 a udržuje primordiální folikuly v klidové fázi. Synergické pochody TSC/mTORC1 a PTEN/PI3K jsou nezbytné pro regulaci a aktivaci primordiálních folikulů (Adhikari & Liu 2010).

Interakce mezi KIT ligandem a KIT receptorem má důležité postavení v regulaci oogeneze. Vyvolává expresi v somatických buňkách i oocytech, ovlivňuje zahájení růstu folikulů stimulací proliferace thekálních buněk a stimuluje růst oocytů (Nilsson & Skinner 2004). KIT ligand aktivuje AKT kinázu a potlačuje transkripční faktor FOXO3 a tím reguluje PI3K/AKT dráhu v oocytech (Reddy et al. 2005).

Nervový růstový faktor (NGF) je také důležitou součástí regulačních mechanismů. Účastní se základních procesů rané folikulogeneze, jelikož působí na aktivaci primordiálních folikulů. U myši po NGF genovém knockoutu, byla prokázána snížená proliferace somatických buněk a jen nepatrné množství primárních folikulů (Dissen et al. 2001).

Jeden ze členů TGF –  $\beta$  superrodiny Antimüllerian hormon (AMH) je nutný pro udržování rovnováhy mezi klidovými a již aktivovanými primordiálními folikuly. Bez AMH dochází k rychlému vyčerpání zásoby folikulů. AMH u myši potlačuje aktivaci primordiálních folikulů (Fortune et al. 2003).

Transkripční faktory SOHLH1 a NOBOX vznikající v oocytech se účastní procesu přeměny primordiálních folikulů na folikuly primární. Absence NOBOXu způsobí pozastavení vývoje převážné většiny primordiálních folikulů a degeneraci oocytů dochází k poklesu transkripční aktivity oocytů a poklesu množství transkriptů regulačních faktorů a proteinů jako je OCT4, GDF9 či BMP15. Nedostatek SOHLH1 omezuje funkce NOBOXu a pozastavuje tak folikulogenezi (Pangas et al. 2006).

#### *Regulační mechanismy během přeměny primárních folikulů na folikuly sekundární*

TATA – box binding protein associated factor 4 (TAF4B) je další transkripční faktor, který byl objeven v zárodečných buňkách. TAF4B se vyskytuje v granulózních buňkách, kde se uplatňuje v raných stádiích folikulogeneze a při aktivaci rostoucích folikulů (Voronina et al. 2007).

Bílkoviny aktivin a inhibin ovlivňují růst folikulů. Zvětšení průměru folikulů a diferenciaci granulózních buněk vyvolává snížení aktivity aktivinu a zvýšení exprese inhibinu. Inhibin B má největší expresi v raných stádiích folikulů v době, kdy dochází k proliferaci a výskytu nediferencovaných granulózních buněk. Po vzniku antra dominuje působení inhibinu A. Aktivin a inhibin nejen že zajišťují proliferaci granulózních buněk, ale podílejí se také na jejich diferenciaci a zrání oocytů (Smitz & Cortvrindt 1998; Zhao et al. 2001).

Velice důležitou roli v komunikaci mezi oocyty a granulózními buňkami hrají vmezeřené spoje, gap junction. Gap junctions je typ spojení dvou sousedních buněk v místě,

kde dochází k významnému přiblížení jejich membrán. Spojení je zprostředkováno pomocí membránových kanálků, tzv. konexonů. Konexony jsou tvořeny bílkovinami konexiny 43 a 37 (Cx43 a Cx37). Cx 37 se nachází v oocytech na všech úrovních vývoje a je nezbytný pro vytvoření gap junction, Cx43 je obsažen v granulózních buňkách a vytváří mezi nimi gap junction. Absence Cx37 vyvolává pozastavení vývoje v raném antrálnímu stádiu, při absenci Cx43 dochází k zástavě vývoje folikulů (Carabatsos et al. 2000; Gittens et al. 2003).

V počátečních fázích vývoje jsou folikuly nezávislé na gonadotropinech a tím pádem je vývoj více ovlivňován lokálními mechanizmy. V preantrálním stádiu dochází uvnitř folikulů ke vzniku FSH a LH receptorů a další vývoj folikulů je již řízen gonadotropiny (O'Shaughnessy et al. 1996). Funkce gonadotropinů je závislá na aktivaci LH či FSH receptorů. U myši se po zablokování funkce LH receptoru (LHR) folikuly vyvíjí jen do antrálního stádia a jedinci jsou neplodní (Zhang et al. 2001). Samotný FSH pro dokončení vývoje folikulů nestačí. Z toho vyplývá, že LHR je nezbytný nejen pro ovulaci, ale i pro zrání folikulů před ovulací. U myši, které netvoří FSH, dochází k pozastavení vývoje folikulů, nedochází k ovulaci a jsou tedy neplodné. Následně dochází ke změnám exprese proteinů v granulózních buňkách, k poklesu produkce aromatázy a podjednotek aktivinu a inhibinu (Burns et al. 2001). Buňky folikulů pak nevytváří dostatečné množství LH receptorů. U myši bez FSHR dochází k poklesu produkce estrogenu, což následně vyvolává obezitu a změny ve stavbě kostry (Dierich et al. 1998). Absence FSH ve folikulech vyvolává pozastavení vývoje folikulů, nedochází ke vzniku antrálních dutin a následuje apoptóza. Nízké hladiny FSH vedou k lepší diferenciaci buněk (Sánchez et al. 2012). Působení gonadotropinů vyvolává produkci steroidních hormonů, jako jsou androgeny a estrogény, jejichž vliv přispívá k vývoji folikulovými receptory (Findlay et al. 2000). Androgeny stimulují proliferaci granulózních buněk a zvyšují jejich životaschopnost. U samic se sníženým počtem androgen vázajících receptorů se vyskytuje infertilita, dochází ke snížení počtu antrálních folikulů, ovuluje méně oocytů, zvyšuje se míra apoptózy (Shiina et al. 2006). V granulózních buňkách přeměňuje aromatáza androgeny v estradiol (Richards et al. 1979) pod vlivem FSHR, který je zapojen do aktivace aromatázy (Danilovich et al. 2000). Produkce estradiolu závisí na aktivitě genu Cyp19 (Britt et al. 2000).

U pokusných myši, kterým byly odstraněny estrogenové receptory  $\alpha$ , došlo ke zvýšení množství estradiolu a LH, beze změn množství FSH. Vaječníky pozastavily svůj vývoj v raném stádiu antrálního vývoje a myši byly neplodné. V případě odstranění estrogenových receptorů –  $\beta$  folikuly vývoj dokončí, ale klesá četnost ovulací a snižuje se reakce na hCG (Human Chorionic Gonadotropin) (Emmen & Korach 2003).

#### *Regulace exprese genů a skladování mRNA během oogeneze*

V období aktivní proliferace folikulárních buněk je transkripční aktivita nejvyšší. Na konci růstu folikulů a po dozrání oocytů dochází k útlumu transkripční aktivity a degradaci RNA. Většinu RNA v oocytu tvoří ribozomální RNA (65 %). Heterogenní RNA tvoří kolem 15 % obsahu RNA (Wassarman & Kinloch 1992). Po transkripci následuje proces, kterému se říká polyadenylace, kdy se na 3' konec mRNA připojuje takzvaný poly(A) konec a následuje translace mRNA (de Moor & Richter 2001).

Během přeměny folikulů z primordiálních na primární probíhá aktivní regulace transkripce v oocytech, kdy jsou regulovány geny spojené s proliferací a buněčným cyklem. Při přeměně folikulů primárních na sekundární dochází k aktivaci velkého množství genů, kam patří transkripty zapojené do buněčného cyklu, biosyntézy a metabolismu. Vývoj z folikulu sekundárního do stádia antrálního folikulu probíhá pod taktovkou genů, které jsou zapojené do bazální transkripce polymerázy II (Pan et al. 2005).

miRNA (microRNA), která byla objevena na konci dvacátého století, byla nalezena v granulózních buňkách. Tato rodina miR-224 se vyskytuje v buňkách na různých stupních vývoje a je regulována pomocí aktivinu A a TGF –  $\beta$ 1. Odhaduje se, že cílem miR-224 je SMAD4 (Yao et al. 2010). Důležité postavení siRNA (small interfering RNA) bylo prokázáno pomocí genového knockoutu u myši. Při změně koncentrace Diceru a Dgcr8 dochází k určitým změnám. Dicer je endoribonukleáza, která katalyzuje hydrolytické štěpení RNA, čímž umožňuje vznik molekul o velikosti 20–30 jako je miRNA a siRNA. Dicer se tedy účastní procesu RNA interference. Patří do rodiny RNáz III, které účinkují na dvouvláknové RNA (dsRNA) (Pollard and Earnshaw, 2007). Knockout Diceru způsobuje vyčerpání miRNA v oocytech a dochází k narušení regulace miRNA. miRNA není sice podstatná pro zrání oocytů, ale je důležitá pro vývoj embrya. Ztráta Dgcr8 nezpůsobuje tak významné změny (Murchison et al. 2007).

#### *Zrání oocytů*

Během zrání oocytů se zvyšuje hladina cyklického adenosinmonofosfátu (cAMP), jehož produkce je regulována enzymem adenylátcyklázou (AC), (Downs et al. 1989). cAMP se dostává do oocytů buď přes gap junctions mezi oocyty a kumulárními buňkami nebo může vzniknout v oocytu prostřednictvím receptorů spojených s G proteiny (GPR3 a GPR12) (Vaccari et al. 2008).

Během meiotického zrání se zvyšuje v oocytu také koncentrace cyklického guanosinmonofosfátu (cGMP). cGMP se rovněž do oocytů transportuje přes gap junctions a funkcí cGMP je, že inhibuje enzym PDE3A, která v oocytu odbourává cAMP (Norris et al. 2009). LH v oocytech aktivuje PDE3A, dochází k poklesu cAMP a znovuzahájení meiózy (Richard et al. 2001).

Kumulární buňky pod vlivem LH produkují kyselinu hyaluronovou a dochází tak k rozšiřování jejich vrstvy. Tento proces souvisí s aktivací PKA a je podporován proteiny podobnými epidermálnímu růstovému faktoru (EGF). Následně dochází ke zvýšení transkripce genů v kumulárních buňkách, jako jsou HAS2, PTX3, TNFAIP6 (Ochsner et al. 2003; Ashkenazi et al. 2005). Spuštěná odpověď je způsobena aktivací dráhy ERK  $\frac{1}{2}$ , stimulací PtgS2 mRNA a následnou produkcí prostaglandinu E2 (PGE2) (Ben-Ami et al. 2006). ERK/MAPK a PI3/AKT jsou zapojeny do signálních drah nezbytných pro regulaci meiózy a meiotického bloku oocytů v MII (Cui et al. 2007).

Komunikace mezi oocytem a granulózními buňkami je velmi důležitá jak pro jaderné, tak i cytoplazmatické zrání. Komunikace mezi buňkami probíhá prostřednictvím parakrinních signálů nebo prostřednictvím gap junctions. GV oocyty v antrálním folikulu začínají regulovat funkce, které byly před tím regulovány kumulárními buňkami (Gilchrist et al. 2004). Bez

účinku LH oocyty ovlivňují proliferaci granulózních buněk, jejich diferenciaci a zároveň regulují metabolickou aktivitu kumulárních buněk, jako například příjem aminokyselin, glykolýzu a biosyntézu cholesterolu (Sugiura et al. 2005), jelikož kumulární buňky pro oocyty metabolizují glukózu (Sugiura et al. 2005) či syntetizují cholesterol (Comiskey et al. 2007). Pod vlivem LH oocyty regulují expresi kumulárních genů (Eppig et al. 2005).

Jakmile se začnou vytvářet antrální dutiny, granulózní buňky se rozdělují na dvě skupiny. První jsou kumulární granulózní buňky, které jsou stále blízko oocyty a druhou skupinu tvoří murální buňky ve vnějších vrstvách folikulů. Murální a kumulární buňky uvnitř folikulů jsou pod vlivem FSH regulovány odlišně (Diaz et al. 2007). Oocyty se podílejí na potlačování exprese transkriptů murálních buněk, ale podporují expresi transkriptů buněk kumulárních (Salmon et al. 2004). Vysoké hladiny FSH vyvolávají změny exprese transkriptů kumulárních buněk, zvýšení hladin GDF9 a BMP15 mRNA a tím mohou ovlivňovat oocyty (Sánchez et al. 2010).

Komunikace mezi oocyty a kumulárními buňkami probíhá prostřednictvím gap junctions i přes *zona pellucida* pomocí cytoplazmatických projekcí (TZP), které tvoří kumulární buňky. Projekce penetrují skrz *zona pellucida* a dosahují k membráně oocyty (Albertini et al. 2001).

Přes gap junctions mohou procházet takové molekuly, jako jsou aminokyseliny, pyruvát a další. Gap junctions a exprese proteinů Cx43 a Cx37, které spoje tvoří, jsou pro vývoj oocytů a folikulů zásadní (Gittens et al. 2005).

## 4 Závěr

Proces oogeneze řídí řada velmi složitých regulačních mechanismů, ve kterých plní funkci například cyklické nukleotidy, vápenaté ionty, kinázy a fosfatázy či plynné molekuly. U řady z těchto molekul není jejich fyziologická funkce popsána detailně. Prokázána byla úloha například cyklických molekul, jako je cAMP. cAMP udržuje oocyty v meiotickém bloku, pro znovuoobnovení meiotického zrání je nezbytné, aby poklesla hladina cAMP v oocytu, což se děje tak, že další molekuly cAMP nejsou do oocytu vpuštěny z kumulárních buněk přes vmezeřené spoje, gap junctions. Významnou měrou se na regulaci procesu meiotického zrání i oplození podílejí také vápenaté ionty, které mimo jiné ovlivňují kortikální reakci a následný proces ztvrdnutí vrstvy zona pellucida, kterým se zabraňuje polyspermii. Meiotické zrání v oocytu je regulováno také pomocí fosfatáz, které plní defosforylační funkce a kináz, které mají naopak za úkol fosforylovat buněčné proteiny. Vstup oocytů do metafáze je zajištěn MPF faktorem. Významným způsobem ovlivňují signální dráhy v pohlavních buňkách také plynné molekuly označované jako gasotramittery. Plyny s velmi rychlým biologickým poločasem rozpadu jako je oxid dusnatý, oxid uhelnatý nebo sulfan regulují například proces meiotického zrání či stárnutí oocytů. Funkce gasotransmitterů je dána jejich koncentrací v buňkách. Bylo zjištěno, že oxid dusnatý působí na meiotické zrání oocytů v nízké koncentraci stimulačně, zatímco vysoké koncentrace NO meiotické zrání oocytů inhibují. Také bylo potvrzeno, že sulfan v nízkých koncentracích oddaluje stárnutí savčích oocytů. Pro správný průběh oogeneze je nezbytné, aby všechny regulační mechanismy fungovaly v součinnosti, jinak je buňka směřována do apoptózy. Pro zvýšení efektivity biotechnologických metod je třeba detailně popsat procesy regulující oogenezi, především meiotické zrání oocytů.

## 5 Literatura

- Abrieu A, Brassac T, Galas S, Fisher D, Labbé JC, Dorée M. 1998. The Polo-like kinase Plx1 is a component of the MPF amplification loop at the G2/M-phase transition of the cell cycle in *Xenopus* eggs. *Journal of Cell Science* **111**: 1751–1757. DOI: 10.1242/jcs.111.12.1751
- Abrieu A, Doree M, Fisher D. 2001. The interplay between cyclinB-Cdc2 kinase (MPF) and MAP kinase during maturation of oocytes. *Journal of Cell Science* **114**(Pt 2): 257–267. DOI:10.1242/jcs.114.2.257
- Acevedo CH, Ahmed A. 1998. Hemeoxygenase-1 inhibits human myometrial contractility via carbon monoxide and is upregulated by progesterone during pregnancy. *Journal of Clinical Investigation* **101**:949–955. DOI: 10.1172/JCI927
- Adhikari D, Liu K. 2010. mTOR signaling in the control of activation of primordial follicles. *Cell cycle* **9**(9):1673–1674. DOI:10.4161/cc.9.9.11626
- Akiyama I, Yoshino O, Osuga Y, Shi J, Takamura M, Harada M, Koga K, Hirota Y, Hirata T, Fujii T, Saito S. 2014. The role of bone morphogenetic protein 6 in accumulation and regulation of neutrophils in the human ovary. *Reproductive Sciences* **21**:772–727. DOI: 10.1177/1933719113518988
- Albertini DF, Combelles CM, Benecchi E, Carabatsos MJ. 2001. Cellular basis for paracrine regulation of ovarian follicle development. *Reproduction* **121**(5): 647–653. DOI:10.1530/rep.0.1210647
- Alberts B, Bray D, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K, Walter P. 1998. *Základy buněčné biologie*, Espero Publishing, Ústí nad Labem, ISBN: 80-902906-2-0, 630s.
- Albuz FK, Sasseville M, Lane M, Armstrong DT, Thompson JG, Gilchrist RB. 2010. Simulated physiological oocyte maturation (SPOM): a novel in vitro maturation system that substantially improves embryo yield and pregnancy outcomes. *Human Reproduction* **25**: 2999–3011. DOI:10.1093/humrep/deq246
- Alexandre H, Delsinne V, Goval J-J. 2003. The thiol reagent, thimerosal, irreversibly inhibits meiosis reinitiation in mouse oocyte when applied during a very early and narrow temporal window: a pharmacological analysis. *Molecular Reproduction and Development* **65**: 454–461. DOI:10.1002/mrd.10319
- Alexandreaanu IC, Lawson DM. 2002. Effects of chronic administration of a heme oxygenase substrate or inhibitor on progression of the estrous cycle, pregnancy and lactation of Sprague-Dawley rats. *Life Sciences* **72**:153–162. DOI: 10.1016/s0024-3205(02)02166-5
- Alexandreaanu IC, Lawson DM. 2003. Heme oxygenase in the rat ovary: immunohistochemical localization and possible role in steroidogenesis. *Experimental Biology and Medicine* **228**:59–63. DOI: 10.1177/153537020322800108
- Araki K, Naito K, Haraguchi S, Suzuki R, Yokoyama M, Inoue M, Aizawa S, Toyoda Y, Sato E. 1996. Meiotic abnormalities of c-mos knockout mouse oocytes: activation after first meiosis

- or entrance into third meiotic metaphase. *Biology of Reproduction* **55**(6): 1315–1324. DOI:10.1095/biolreprod55.6.1315
- Artini PG, Monteleone P, Toldin MRP, Matteucci C, Ruggiero M, Cela V, Genazzani AR. 2007. Growth factors and folliculogenesis in polycystic ovary patients. *Expert Review of Endocrinology & Metabolism* **2**:215–217. DOI: 10.1586/17446651.2.2.215
- Bailly E, Pines J, Hunter T, Bornens M. 1992. Cytoplasmic accumulation of cyclin B1 in human cells: association with a detergent-resistant compartment and with the centrosome. *Journal of Cell Science* **101**: 529–545. DOI: 10.1242/jcs.101.3.529
- Bailly, E., Doree, M., Nurse, P., Bornens, M., 1989. p34cdc2 is located in both nucleus and cytoplasm; part is centrosomally associated at G2/M and enters vesicles at anaphase. *The EMBO Journal* **8**: 3985–3995. DOI: 10.1002/j.1460-2075.1989.tb08581.x
- Baker TG, Franchi LL. 1967. The fine structure of oogonia and oocytes in human ovaries. *Journal of cell science* **2**(2): 213–224. DOI:10.1242/jcs.2.2.213
- Balakier H, Casper RF. 1993. Experimentally induced parthenogenetic activation of human oocytes. *Human Reproduction* **8**: 740–743. DOI:10.1093/oxfordjournals.humrep.a138132
- Beckhelling C, Ford C. 1998. Maturation promoting factor activation in early amphibian embryos: Temporal and spatial control. *Biology of the Cell* **90**: 467–476. DOI: 10.1111/j.1768-322x.1998.tb01056.x
- Beckhelling C, Pérez-Mongiovi D, Houliston E. (2000). Localised MPF regulation in eggs. *Biology of the Cell*, **92**(3-4): 245–253. DOI:10.1016/s0248-4900(00)01067-4
- Ben-Ami I, Freimann S, Armon L, Dantes A, Strassburger D, Friedler S, Raziel A, Seger R, Ron-El R, Amsterdam A. 2006. PGE2 up-regulates EGF-like growth factor biosynthesis in human granulosa cells: new insights into the coordination between PGE2 and LH in ovulation. *Molecular human reproduction*, **12**(10): 593–599. DOI:10.1093/molehr/gal068
- Bergandi L, Basso G, Evangelista F, Canosa S, Dalmasso P, Aldieri E, Revelli A, Benedetto C, Ghigo D. 2014. Inducible nitric oxide synthase and heme oxygenase 1 are expressed in human cumulus cells and may be used as biomarkers of oocyte competence. *Reproductive Sciences* **21**:1370–1377. DOI: 10.1177/1933719114525268
- Berkholtz CB, Lai BE, Woodruff TK, Shea LD. 2006. Distribution of extracellular matrix proteins type I collagen, type IV collagen, fibronectin, and laminin in mouse folliculogenesis. *Histochemistry and Cell Biology* **126**: 583–592. DOI: 10.1007/s00418-006-0194-1
- Bernal-Ulloa SM, Heinzmann J, Herrmann D, Haderl KG, Aldag P, Winkler S, Pache D, Baulain U, Lucas-Hahn A, Niemann H. 2016. Cyclic AMP affects oocyte maturation and embryo development in prepubertal and adult cattle. *PLoS ONE* **11**: e0150264. DOI:10.1371/journal.pone.0150264
- Bernhardt ML, Lowther KM, Padilla-Banks E, McDonough CE, Lee KN, Evsikov AV, Uliasz TF, Chidiac P, Williams CJ, Menhmann LM. 2015. Regulator of G-protein signaling 2 (RGS2)



- suppresses premature calcium release in mouse eggs. *Development* **142**: 2633–2640. DOI:10.1242/dev.121707
- Bhatt RR, Ferrell JE Jr. 1999. The protein kinase p90 rsk as an essential mediator of cytostatic factor activity. *Science* **286**(5443): 1362–1365. DOI: 10.1126/science.286.5443.1362
- Biga LM, Bronson S, Dawson S, Harwell A, Hopkins R, Kaufmann J, LeMaster Mike, Matern P, Morrison-Graham K, Oja K, Quick D, Runyeon J. 2019. *Anatomy & Physiology*. Openstax/Oregon state university. Corwallis, Oregon.
- Boulware MJ, Marchant JS. 2005. IP3 receptor activity is differentially regulated in endoplasmic reticulum subdomains during oocyte maturation. *Current Biology* **15**: 765–770. DOI:10.1016/j.cub.2005.02.065
- Bragdon B, Moseychuk O, Saldanha S, King D, Julian J, Nohe A. 2011. Bone morphogenetic proteins: a critical review. *Cellular Signalling* **23**:609–620. DOI: 10.1016/j.cellsig.2010.10.003
- Brankin V, Quinn RL, Webb R, Hunter MG. 2005. BMP-2 and -6 modulate porcine theca cell function alone and co-cultured with granulosa cells. *Domestic Animal Endocrinology* **29**: 593–604. DOI: 10.1016/j.domaniend.2005.04.001
- Briceag I, Costache A, Purcarea VL, Cergan R, Dumitru M, Briceag I, Sajin M, Ispas AT. 2015. Fallopian tubes--literature review of anatomy and etiology in female infertility. *Journal of medicine and life* **8**(2):129-31.
- Brini M, Carafoli E. 2009. Calcium pumps in health and disease. *Physiological Reviews* **89**: 1341–1378. DOI:10.1152/physrev.00032.2008
- Britt KL, Drummond AE, Cox VA, Dyson M, Wreford NG, Jones ME, Simpson ER, Findlay JK. 2000. An age-related ovarian phenotype in mice with targeted disruption of the Cyp 19 (aromatase) gene. *Endocrinology* **141**(7):2614–2623. DOI:10.1210/endo.141.7.7578
- Brouard S, Otterbein LE, Anrather J, Tobiasch E, Bach FH, Choi AK, Soares MP. 2000. Carbon monoxide generated by heme oxygenase 1 suppresses endothelial cell apoptosis. *The Journal of Experimental Medicine* **192**:1015–1026. DOI: 10.1084/jem.192.7.1015
- Bu S, Xia G, Tao Y, Lei L, Zhou B. 2003. Dual effects of nitric oxide on meiotic maturation of mouse cumulus cell-enclosed oocytes in vitro. *Molecular and Cellular Endocrinology* **207**: 21–30. DOI: 10.1016/s0303-7207(03)00213-2
- Burns KH, Yan C, Kumar TR, Matzuk MM. 2001. Analysis of ovarian gene expression in follicle-stimulating hormone beta knockout mice. *Endocrinology* **142**(7): 2742–2751. DOI:10.1210/endo.142.7.8279
- Cantley LC. 2002. The phosphoinositide 3-kinase pathway. *Science* **296**(5573):1655–1657. DOI:10.1126/science.296.5573.1655
- Canty-Laird E, Carré GA, Mandon-Pépin B, Kadler KE, Fabre S. 2010. First evidence of bone morphogenetic protein 1 expression and activity in sheep ovarian follicles. *Biology of Reproduction* **83**:138–146. DOI: 10.1095/biolreprod.109.082115

- Carabatsos MJ, Sellitto C, Goodenough DA, Albertini DF. 2000. Oocyte-granulosa cell heterologous gap junctions are required for the coordination of nuclear and cytoplasmic meiotic competence. *Developmental biology* **226**(2): 167–179. DOI:10.1006/dbio.2000.9863
- Castrillon DH, Miao L, Kollipara R, Horner JW, DePinho RA. 2003. Suppression of ovarian follicle activation in mice by the transcription factor Foxo3a. *Science* **301**(5630):215–218. DOI:10.1126/science.1086336
- Catterall W. 2000. Structure and regulation of voltage-gated Ca<sup>2+</sup> channels. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*. **16**: 555. DOI:10.1146/annurev.cellbio.16.1.521
- Celestino JJH, Lima-Verde IB, Bruno JB, Matos MHT, Chaves RN, Saraiva MVA, Silva CM, Faustino LR, Rossetto R, Lopes CA, Donato MA, Peixoto CA, Campello CC, Silva JR, Figueiredo JR. 2011. Steady state level of bone morphogenetic protein-15 in goat ovaries and its influence on in vitro development and survival of preantral follicles. *Molecular and Cellular Endocrinology* **338**:1–9. DOI: 10.1016/j.mce.2011.02.007
- Cella M, Farina MG, Keller Sarmiento MI, Chianelli M, Rosenstein RE, Franchi AM. 2006. Heme oxygenase-carbon monoxide (HO-CO) system in rat uterus: effect of sexual steroids and prostaglandins. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology* **99**:59–66. DOI: 10.1016/j.jsbmb.2005.11.007
- Combelles CH, Gupta S, Agarwal A. 2009. Could oxidative stress influence the in-vitro maturation of oocytes? *Reproductive BioMedicine Online* **18**:864–880. DOI: 10.1016/s1472-6483(10)60038-7
- Comiskey M, Warner CM. 2007. Spatio-temporal localization of membrane lipid rafts in mouse oocytes and cleaving preimplantation embryos. *Developmental biology* **303**(2):727–739. DOI:10.1016/j.ydbio.2006.12.009
- Conti M, Hsieh M, Zamah AM, Oh JS. 2012. Novel signaling mechanisms in the ovary during oocyte maturation and ovulation. *Molecular and Cellular Endocrinology* **356**: 65–73. DOI:10.1016/j.mce.2011.11.002
- Costa JJN, Passos MJ, Leitao CCF, Vasconcelos GL, Saraiva MVA, Figueiredo JR, van den Hurk R, Silva JR. 2012. Levels of mRNA for bone morphogenetic proteins, their receptors and SMADs in goat ovarian follicles grown in vivo and in vitro. *Reproduction, Fertility and Development* **24**:723–732. DOI: 10.1071/RD11195
- Crawford JL, McNatty KP. 2012. The ratio of growth differentiation factor 9: bone morphogenetic protein 15 mRNA expression is tightly co-regulated and differs between species over a wide range of ovulation rates. *Molecular and Cellular Endocrinology* **348**:339–343. DOI: 10.1016/j.mce.2011.09.033
- Cui W, Zhang J, Lian HY, Wang HL, Miao DQ, Zhang CX, Luo MJ, Tan JH. 2012. Roles of MAPK and spindle assembly checkpoint in spontaneous activation and MIII arrest of rat oocytes. *PLoS One* **7**(2): e32044. DOI:10.1371/journal.pone.0032044

- Cui XS, Li XY, Yin XJ, Kong IK, Kang JJ, Kim NH. 2007. Maternal gene transcription in mouse oocytes: genes implicated in oocyte maturation and fertilization. *The Journal of reproduction and development* **53**(2): 405–418. DOI:10.1262/jrd.18113
- Da Silva SJM, Bayne RAL, Cambray N, Hartley PS, McNeilly AS, Anderson RA. 2004. Expression of activin subunits and receptors in the developing human ovary: activin A promotes germ cell survival and proliferation before primordial follicle formation. *Developmental Biology* **266**(2):334-345. DOI: 10.1016/j.ydbio.2003.10.030
- Danilovich N, Babu PS, Xing W, Gerdes M, Krishnamurthy H, Sairam MR. 2000. Estrogen deficiency, obesity, and skeletal abnormalities in follicle-stimulating hormone receptor knockout (FORKO) female mice. *Endocrinology*, **141**(11): 4295–4308. DOI:10.1210/endo.141.11.7765
- de Moor CH, Richter JD. 2001. Translational control in vertebrate development. *International review of cytology* **203**: 567–608. DOI:10.1016/s0074-7696(01)03017-0
- Dekel N, Galiani D & Sherizly I. 1988. Dissociation between the inhibitory and the stimulatory action of cAMP on maturation of rat oocytes. *Molecular and Cellular Endocrinology* **56**: 115–121. DOI:10.1016/0303-7207(88)90015-9
- Dennery PA. 2014. Signaling function of heme oxygenase proteins. *Antioxidants & Redox Signaling* **20**:1743–1753. DOI: 10.1089/ars.2013.5674
- Diaz FJ, Wigglesworth K, Eppig JJ. 2007. Oocytes are required for the preantral granulosa cell to cumulus cell transition in mice. *Developmental biology* **305**(1):300–311. DOI:10.1016/j.ydbio.2007.02.019
- Dierich A, Sairam MR, Monaco L, Fimia GM, Gansmuller A, LeMeur M, Sassone-Corsi P. 1998. Impairing follicle-stimulating hormone (FSH) signaling in vivo: targeted disruption of the FSH receptor leads to aberrant gametogenesis and hormonal imbalance. *Proceedings of the National Academy of Science* **95**(23): 13612–13617. DOI:10.1073/pnas.95.23.13612
- Ding X, Zhang X, Mu Y, Li Y, Hao J. 2013 Effects of BMP4/SMAD signaling pathway on mouse primordial follicle growth and survival via up-regulation of *Sohlh2* and *c-kit*. *Molecular Reproduction and Development* **80**:70–78. DOI: 10.1002/mrd.22138
- Dissen GA, Romero C, Hirshfield AN, Ojeda SR. 2001. Nerve growth factor is required for early follicular development in the mammalian ovary. *Endocrinology* **142**(5): 2078–2086. DOI:10.1210/endo.142.5.8126
- Downs SM, Daniel SA, Bornslaeger EA, Hoppe PC, Eppig JJ. 1989. Maintenance of meiotic arrest in mouse oocytes by purines: modulation of cAMP levels and cAMP phosphodiesterase activity. *Gamete research* **23**(3):323–334. DOI:10.1002/mrd.1120230309
- Downs SM. 2010. Regulation of the G2/M transition in rodent oocytes. *Molecular Reproduction and Development* **77**: 566–585. DOI:10.1002/mrd.v77:7
- Dremier S, Kopperud R, Doskeland SO, Dumont JE, Maenhaut C. 2003. Search for new cyclic AMP-binding proteins. *FEBS Lett* **546**: 103–107. DOI:10.1016/s0014-5793(03)00561-1

- Dresselhaus T, Sprunck S, Wessel GM. 2016. Fertilization mechanisms in flowering plants. *Current Biology* **26**: 125–139. DOI:10.1016/j.cub.2015.12.032
- Ducibella T, Huneau D, Angelichio E, Xu Z, Schultz RM, Kopf GS, Fissore R, Madoux S, Ozil JP. 2002. Egg-to-embryo transition is driven by differential responses to Ca<sup>2+</sup> oscillation number. *Developmental Biology* **250**: 280–291. DOI:10.1016/S0012-1606(02)90788-8
- Ducy P, Karsenty G. 2000. The family of bone morphogenetic proteins. *Kidney International* **57**: 2207–2214. DOI: 10.1046/j.1523-1755.2000.00081.x
- Dudley B, Palumbo C, Nalepka J, Molyneaux K. 2010. BMP signaling controls formation of a primordial germ cell niche within the early genital ridges. *Developmental Biology* **343**: 84–93. DOI: 10.1016/j.ydbio.2010.04.011
- Dupont G, Dumollard R. 2004. Simulation of calcium waves in ascidian eggs: insights into the origin of the pacemaker sites and the possible nature of the sperm factor. *Journal of Cell Science* **117**: 4313–4323. DOI:10.1242/jcs.01278
- Dupre A, Haccard O, Jesus C. 2011. Mos in the oocyte: how to use MAPK independently of growth factors and transcription to control meiotic divisions. *Journal of Signal Transduction* **2011**: 1-15. DOI:10.1155/2011/350412
- Ebrahimi M, Dattena M, Luciano AM, Succu S, Gadau SD, Mara L, Chessa F, Berlinguer F. 2024. In vitro culture of sheep early-antral follicles: Milestones, challenges and future perspectives. *Theriogenology* **213**:114-123. DOI: 10.1016/j.theriogenology.2023.09.025
- Edwards RG. 1965. Maturation in vitro of mouse, sheep, cow, pig, rhesus monkey and human ovarian oocytes. *Nature* **208**: 349–351. DOI:10.1038/208349a0
- Edwards SJ, Reader KL, Lun S, Western A, Lawrence S, McNatty KP, Juengel JL. 2008. The cooperative effect of growth and differentiation factor-9 and bone morphogenetic protein (BMP)-15 on granulosa cell function is modulated primarily through BMP receptor II. *Endocrinology* **149**:1026–1030. DOI: 10.1210/en.2007-1328
- Emmen JM, Korach KS. 2003. Estrogen receptor knockout mice: phenotypes in the female reproductive tract. *Gynecological endocrinology: the official journal of the International Society of Gynecological Endocrinology* **17**(2):169–176.
- Eppig JJ, Pendola FL, Wigglesworth K, Pendola JK. 2005. Mouse oocytes regulate metabolic cooperativity between granulosa cells and oocytes: amino acid transport. *Biology of reproduction* **73**(2):351–357. DOI:10.1095/biolreprod.105.041798
- Eppig JJ. 2001. Oocyte control of ovarian follicular development and function in mammals. *Reproduction* **122**(6): 829-838. DOI: 10.1530/rep.0.1220829
- Erickson GF, Shimasaki S. 2003. The spatiotemporal expression pattern of the bone morphogenetic protein family in rat ovary cell types during the estrous cycle. *Reproductive Biology and Endocrinology* **1**:1–20. DOI: 10.1186/1477-7827-1-9

- Fair T. 2003. Follicular oocyte growth and acquisition of developmental competence. *Animal Reproduction Science* **78**: 203-216. DOI: 10.1016/S0378-4320(03)00091-5
- Fan HY, Liu Z, Shimada M, Sterneck E, Johnson PF, Hedrick SM, Richards JS. 2009. MAPK3/1 (ERK1/2) in ovarian granulosa cells are essential for female fertility. *Science* **324**: 938–941. DOI:10.1126/ science.1171396
- Fan HY, Sun QY. 2004. Involvement of mitogen-activated protein kinase cascade during oocyte maturation and fertilization in mammals. *Biology of Reproduction* **70**(3): 535–547. DOI: 10.1095/biolreprod.103.022830
- Fatehi AN, van den Hurk R, Colenbrander B, Daemen AJ, van Tol HT, Monteiro RM, Roelen BA, Bevers MM. 2005. Expression of bone morphogenetic protein 2 (BMP-2), 4 (BMP-4) and BMP receptors in the bovine ovary but absence of effects of BMP-2 and BMP-4 during IVM on bovine oocyte nuclear maturation and subsequent embryo development. *Theriogenology* **63**: 872–889. DOI: 10.1016/j.theriogenology.2004.05.013
- Findlay JK, Drummond AE, Britt KL, Dyson M, Wreford NG, Robertson DM, Groome NP, Jones ME, Simpson ER. 2000. The roles of activins, inhibins and estrogen in early committed follicles. *Molecular and cellular endocrinology* **163**(1-2): 81–87. DOI:10.1016/s0303-7207(99)00243-9
- Finkel T. 1998. Oxygen radicals and signaling. *Current Opinion in Cell Biology* **10**:248–253. DOI: 10.1016/s0955-0674(98)80147-6
- FitzHarris G, Marangos P, Carroll J. 2007. Changes in endoplasmic reticulum structure during mouse oocyte maturation are controlled by the cytoskeleton and cytoplasmic dynein. *Developmental Biology* **305**: 133–144. DOI:10.1016/j.ydbio.2007.02.006
- Fortune JE. 2003. The early stages of follicular development: activation of primordial follicles and growth of preantral follicles. *Animal reproduction science* **78**(3-4):135–163. DOI:10.1016/s0378-4320(03)00088-5
- Francis SH, Busch JL, Corbin JD. 2010. cGMP-dependent protein kinases and cGMP phosphodiesterases in nitric oxide and cGMP action. *Pharmacol. Rev.* **62**: 525–563. DOI:10.1124/pr.110.002907
- Fraser LR. 1987. Strontium supports capacitation and the acrosome reaction in mouse sperm and rapidly activates mouse eggs. *Gamete Research* **18**: 363–374. DOI:10.1002/mrd.1120180410
- Frodin M, Gammeltoft S. 1999. Role and regulation of 90 kDa ribosomal S6 kinase (RSK) in signal transduction. *Molecular and Cellular Endocrinology* **151**(1–2): 65–77. DOI:10.1016/s0303-7207(99)00061-1
- Frota IM, Leitão CC, Costa JJ, van den Hurk R, Saraiva MVA, Figueiredo JR, Silva JR. 2013. Levels of BMP-6 mRNA in goat ovarian follicles and in vitro effects of BMP-6 on secondary follicle development. *Zygote* **21**:270–278. DOI: 10.1017/S0967199411000542

- Funahashi H, Cantley TC, Day BN. 1997. Synchronization of meiosis in porcine oocytes by exposure to dibutyryl cyclic adenosine monophosphate improves developmental competence following in vitro fertilization. *Biology of Reproduction* **57**: 49–53. DOI:10.1095/biolreprod57.1.49
- Galloway SM, McNatty KP, Cambridge LM, Laitinen MP, Juengel JL, Jokiranta TS, McLaren RJ, Luro K, Dodds KG, Montgomery GW, Beattie AE, Davis GH, Ritvos O. 2000. Mutations in an oocyte-derived growth factor gene (BMP15) cause increased ovulation rate and infertility in a dosage-sensitive manner. *Nature Genetics* **25**:279–283. DOI: 10.1038/77033
- Gilchrist RB, Lane M, Thompson JG. 2008. Oocyte-secreted factors: regulators of cumulus cell function and oocyte quality. *Human Reproduction Update* **14**:159–177. DOI: 10.1093/humupd/dmm040
- Gilchrist RB, Luciano AM, Richani D, Zeng HT, Wang X, De Vos M, Sugimura S, Smitz J, Richard FJ, Thompson JG. 2016. Oocyte maturation and quality: role of cyclic nucleotides. *Reproduction* **152**: 143-157. DOI: 10.1530/REP-15-0606
- Gilchrist RB, Ritter LJ, Armstrong DT. 2004. Oocyte-somatic cell interactions during follicle development in mammals. *Animal reproduction science* **82-83**:431–446. DOI:10.1016/j.anireprosci.2004.05.017
- Gittens JE, Kidder GM. 2005. Differential contributions of connexin37 and connexin43 to oogenesis revealed in chimeric reaggregated mouse ovaries. *Journal of cell science* **118**(21): 5071–5078. DOI:10.1242/jcs.02624
- Gittens JE, Mhawi AA, Lidington D, Ouellette Y, Kidder GM. 2003. Functional analysis of gap junctions in ovarian granulosa cells: distinct role for connexin43 in early stages of folliculogenesis. *American journal of physiology Cell physiology* **284**(4):C880–C887. DOI:10.1152/ajpcell.00277.2002
- Glister C, Kemp CF, Knight PG. 2004. Bone morphogenetic protein (BMP) ligands and receptors in bovine ovarian follicle cells: actions of BMP-4, -6 and -7 on granulosa cells and differential modulation of Smad-1 phosphorylation by follistatin. *Reproduction* **127**:239–254. DOI: 10.1530/rep.1.00090
- Gonzalez-Garcia JR, Bradley J, Nomikos M, Paul L, Machaty Z, Lai FA, Swann K. 2014. The dynamics of MAPK inactivation at fertilization in mouse eggs. *Journal of Cell Science* **127**(Pt 12): 2749–2760. DOI:10.1242/jcs.145045
- Gotoh Y, Nishida E, Matsuda S, Shiina N, Kosako H, Shiokawa K, Akiyama T, Ohta K, Sakai H. 1991. In vitro effects on microtubule dynamics of purified *Xenopus* M phase-activated MAP kinase. *Nature* **349**(6306): 251–254. DOI:10.1038/349251a0
- Goud AP, Goud PT, Diamond MP, Abu-Soud HM. 2005. Nitric oxide delays oocyte aging. *Biochemistry* **44**: 11361–11368. DOI: 10.1021/bi050711f

- Goud PT, Goud AP, Diamond MP, Gonik B, Abu-Soud HM. 2008. Nitric oxide extends the oocyte temporal window for optimal fertilization. *Free Radical Biology and Medicine* **45**: 453–459. DOI:10.1016/j.freeradbiomed.2008.04.035
- Goud PT, Goud AP, Najafi T, Gonik B, Diamond MP, Saed GM, Zhang X, AbuSoud HM. 2014. Direct real-time measurement of intra-oocyte nitric oxide concentration in vivo. *PLoS One* **9**: e98720. DOI:10.1371/journal.pone.0098720
- Greenstein D. 2005. Control of oocyte meiotic maturation and fertilization. *WormBook*. DOI: 10.1895/wormbook.1.53.1
- Guzmán MA, Navarro MA, Carnicer R, Sarría AJ, Acín S, Arnal C, Muniesa P, Surra JC, Arbonés-Mainar JM, Maeda N, Osada J. 2006. Cystathionine beta-synthase is essential for female reproductive function. *Human Molecular Genetics* **15**(21):3168-3176. DOI: 10.1093/hmg/ddl393
- Hafez ESE, Hafez B. 2000. *Reproduction in farm animals*. Wiley-Blackwell, USA.
- Han SJ, Chen R, Paronetto MP, Conti M. 2005. Wee1B is an oocytespecific kinase involved in the control of meiotic arrest in the mouse. *Current Biology* **15**:1670–1676. DOI: 10.1016/j.cub.2005.07.056
- Harada T, Koi H, Kubota T, Aso T. 2004. Haem oxygenase augments porcine granulosa cell apoptosis in vitro. *Journal of Endocrinology* **181**:191–205. DOI: 10.1677/joe.0.1810191
- Hayashi S, Omata Y, Sakamoto H, Higashimoto Y, Hara T, Sagara Y, Noguchi M. 2004. Characterization of rat heme oxygenase-3 gene. Implication of processed pseudogenes derived from heme oxygenase-2 gene. *Gene* **336**:241–250. DOI: 10.1016/j.gene.2004.04.002
- Hemminki K, Niemi ML. 1982. Community study of spontaneous abortions: Relation to occupation and air pollution by sulfur dioxide, hydrogen sulfide, and carbon disulfide. *International Archives of Occupational and Environmental Health* **51**:55–63. doi: 10.1007/BF00378410
- Hoffmann I, Clarke PR, Marcote MJ, Karsenti E, Draetta G. 1993. Phosphorylation and activation of human cdc25-C by cdc2-cyclin B and its involvement in the self-amplification of MPF at mitosis. *The EMBO Journal* **12**: 53–63. DOI: 10.1002/j.1460-2075.1993.tb05631.x
- Hoffmann I, Karsenti E. 1994. The role of cdc25 in checkpoints and feedback controls in the eukaryotic cell cycle. *Journal of Cell Science* **18**: 75–79. DOI: 10.1242/jcs.1994.supplement\_18.11
- Horner K, Livera G, Hinckley M, Trinh K, Storm D, Conti M. 2003. Rodent oocytes express an active adenylyl cyclase required for meiotic arrest. *Developmental Biology* **258**: 385–396. DOI:10.1016/S0012-1606(03)00134-9
- Hubbard CJ, Terranova PF. 1982. Inhibitory action of cyclic guanosine 5'-phosphoric acid (GMP) on oocyte maturation: dependence on an intact cumulus. *Biology of Reproduction* **26**: 628–632. DOI:10.1095/biolreprod26.4.628

- Hunter RHF. 2005. The Fallopian tubes in domestic mammals: how vital is their physiological activity? *Reproduction Nutrition Development* **45**(3):281-290. DOI:10.1051/rnd:2005020.
- Hyttel P, Sinowatz F, Vejlsted M. 2010. *Essentials of domestic animal embryology*. Saunders Ltd.
- Che L, Lalonde A, Bordignon V. 2007. Chemical activation of parthenogenetic and nuclear transfer porcine oocytes using ionomycin and strontium chloride. *Theriogenology* **67**: 1297–1304. DOI:10.1016/j.theriogenology.2007.02.006
- Cheek TR, McGuinness OM, Vincent C, Moreton RB, Berridge MJ, Johnson MH. 1993. Fertilisation and thimerosal stimulate similar calcium spiking patterns in mouse oocytes but by separate mechanisms. *Development* **119**: 179–189. DOI: 10.1242/dev.119.1.179
- Chen J, Sitsel A, Benoy V, Sepúlveda MR, Vangheluwe P. 2020. Primary active Ca<sup>2+</sup> transport systems in health and disease. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology* **12**: a035113 DOI:10.1101/cshperspect.a035113
- Childs AJ, Kinnell HL, Collins CS, Hogg K, Bayne RA, Green SJ, McNeilly AS, Anderson RA. 2010. BMP signaling in the human fetal ovary is developmentally regulated and promotes primordial germ cell apoptosis. *Stem Cells* **28**:1368–1378. DOI: 10.1002/stem.440
- Cho WK, Stern S, Biggers JD. 1974. Inhibitory effect of dibutyryl cAMP on mouse oocyte maturation in vitro. *Journal of Experimental Zoology* **187**: 383–386. DOI:10.1002/(ISSN)1097-010X
- Inagaki K, Otsuka F, Miyoshi T, Yamashita M, Takahashi M, Goto J, Suzuki J, Makino H. 2009. p38-Mitogenactivated protein kinase stimulated steroidogenesis in granulosa cell-oocyte cocultures: role of bone morphogenetic proteins 2 and 4. *Endocrinology* **150**:1921–1930. DOI: 10.1210/en.2008-0851
- Jablonka-Shariff A, Olson LM. 1997. Hormonal regulation of nitric oxide synthases and their cell-specific expression during follicular development in the rat ovary. *Endocrinology* **138**: 460–468. DOI:10.1210/endo.138.1.4884
- Jablonka-Shariff A, Olson LM. 1998. The role of nitric oxide in oocyte meiotic maturation and ovulation: meiotic abnormalities of endothelial nitric oxide synthase knock-out mouse oocytes. *Endocrinology* **139**: 2944–2954. DOI:10.1210/endo.139.6.6054
- Jelínek P, Koudela K, Doskočil J, Illek J, Jlínek P, Kotrbáček V, Koudela K, Kovářů F, Kroupová V, Kučera M, Kudláč E, Trávníček J, Valent M. 2003. *Fyziologie hospodářských zvířat*. Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, Brno.
- Juengel JL, McNatty KP. 2005. The role of proteins of the transforming growth factor-beta superfamily in the intraovarian regulation of follicular development. *Human Reproduction Update* **11**:143–160. DOI: 10.1093/humupd/dmh061
- Juengel JL, Reader KL, Bibby AH, Lun S, Ross I, Haydon LJ, McNatty KP. 2006. The role of bone morphogenetic proteins 2, 4, 6 and 7 during ovarian follicular development in sheep: contrast to rat. *Reproduction* **131**:501–513. DOI: 10.1530/rep.1.00958



- Kashir J, Deguchi R, Jones C, Coward K, Stricker SA. 2013. Comparative biology of sperm factors and fertilization-induced calcium signals across the animal kingdom. *Molecular Reproduction Development* **80**: 787–815. DOI:10.1002/mrd.22222
- Kawamura K, Cheng Y, Kawamura N, Takae S, Okada A, Kawagoe Y, Mulders S, Terada Y, Hsueh AJ. 2011. Pre-ovulatory LH/hCG surge decreases C-type natriuretic peptide secretion by ovarian granulosa cells to promote meiotic resumption of pre-ovulatory oocytes. *Human Reproduction* **26**: 3094–3101. DOI:10.1093/humrep/der282
- Kawashima I, Okazaki T, Noma N, Nishibori M, Yamashita Y, Shimada M. 2008. Sequential exposure of porcine cumulus cells to FSH and/or LH is critical for appropriate expression of steroidogenic and ovulation-related genes that impact oocyte maturation in vivo and in vitro. *Reproduction* **136**: 9–21. DOI:10.1530/REP-08-0074
- Kikuchi K, Izaike Y, Noguchi J, Furukawa T, Daen FP, Naito K, Toyoda Y. 1995. Decrease of histone H1 kinase activity in relation to parthenogenetic activation of pig follicular oocytes matured and aged in vitro. *Reproduction* **105**(2): 325–330. DOI:10.1530/jrf.0.1050325
- Kim HS, Loughran PA, Billiar TR. 2008. Carbon monoxide decreases the level of iNOS protein and active dimer in IL-1 $\beta$ -stimulated hepatocytes. *Nitric Oxide* **18**:256–265. DOI: 10.1016/j.niox.2008.02.002
- Kim YM, Pae HO, Park JE, Lee YC, Woo JM, Kim NH, Choi YK, Lee BS, Kim SR, Chung HT. 2011. Heme oxygenase in the regulation of vascular biology: from molecular mechanisms to therapeutic opportunities. *Antioxidants & Redox Signaling* **14**:137–167. DOI: 10.1089/ars.2010.3153
- Kishimoto T. 2018. MPF-based meiotic cell cycle control: Half a century of lessons from starfish oocytes. *Proceedings of the Japan Academy, Series B* **94**(4): 180–203. DOI:10.2183/pjab.94.013
- Kline D, Kline JT. 1992. Thapsigargin activates a calcium influx pathway in the unfertilized mouse egg and suppresses repetitive calcium transients in the fertilized egg. *Journal of Biological Chemistry* **267**: 17 624–17 630. DOI: 10.1016/S0021-9258(19)37088-7
- Kreiser D, Kelly DK, Seidman DS, Stevenson DK, Baum M, Dennery PA. 2003. Gestational pattern of heme oxygenase expression in the rat. *Pediatric Research* **54**:172–178. DOI: 10.1203/01.PDR.0000072516.83498.07
- Kubiak JZ, Weber M, de Pennart H, Winston NJ, Maro B. 1993. The metaphase II arrest in mouse oocytes is controlled through microtubule-dependent destruction of cyclin B in the presence of CSF. *The EMBO Journal* **12**(10): 3773–3778. DOI:10.1002/j.1460-2075.1993.tb06055.x
- Kudláč E, Elečko J, Hájovský T, Holý L, Kudělka E, Ševčík A, Vlček Z, Vrtěl M. 1987. *Veterinární porodnictví a gynekologie. Statní zemědělské nakladatelství v Praze, Praha.*

- Kuo RC, Baxter GT, Thompson SH, Stricker SA, Patton C, Bonaventura J, Epel D. 2000. NO is necessary and sufficient for egg activation at fertilization. *Nature* **406**: 633–636. DOI:10.1038/35020577
- Lee B, Vermassen E, Yoon SY, Vanderheyden V, Ito J, Alfandari D, De Smedt H, Parys JB, Fissore RA. 2006. Phosphorylation of IP3R1 and the regulation of  $[Ca^{2+}]_i$  responses at fertilization: a role for the MAP kinase pathway. *Development* **133**: 4355–4365. DOI:10.1242/dev.02624
- Lee J, Miyano T, Moor RM. 2000. Localisation of phosphorylated MAP kinase during the transition from meiosis I to meiosis II in pig oocytes. *Zygote* **8**(2): 119–125. DOI:10.1017/s0967199400000897
- Lee KB, Khivansara V, Santos MM, Lamba P, Yuen T, Sealfon SC, Bernard DJ. 2007. Bone morphogenetic protein 2 and activin A synergistically stimulate folliclestimulating hormone  $\beta$  subunit transcription. *Journal of Molecular Endocrinology* **38**:315–330. DOI: 10.1677/jme.1.02196
- Lee TH, Lee MS, Huang CC, Tsao HM, Lin PM, Ho HN, Shew JY, Yang YS. 2013. Nitric oxide modulates mitochondrial activity and apoptosis through protein S-nitrosylation for preimplantation embryo development. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics* **30**: 1063–1072. DOI:10.1007/s10815-013-0045-7
- Lee WS, Otsuka F, Moore RK, Shimasaki S. 2001. Effect of bone morphogenetic protein-7 on folliculogenesis and ovulation in the rat. *Biology of Reproduction* **65**:994–999. DOI: 10.1095/biolreprod65.4.994
- Lee WS, Yoon SJ, Yoon TK, Cha KY, Lee SK, Shimasaki S, Lee S, Lee KA. (2004). Effects of bone morphogenetic protein-7 (BMP-7) on primordial follicular growth in the mouse ovary. *Molecular Reproduction and Development* **69**:159–163. DOI: 10.1002/mrd.20163
- Li JX, Mao GK, Xia GL. 2012. FSH modulates PKAI and GPR3 activities in mouse oocyte of COC in a gap junctional communication (GJC)- dependent manner to initiate meiotic resumption. *PLoS ONE* **7**: e37835. DOI:10.1371/journal.pone.0037835
- Liang R, Yu WD, Du JB, Yang LJ, Shang M, Guo JZ. 2006. Localization of cystathionine  $\beta$  synthase in mice ovaries and its expression profile during follicular development. *Chinese Medical Journal* **119**(22):1877–1883.
- Liu N, Wang X, McCoubrey WK, Maines MD. 2000. Developmentally regulated expression of two transcripts for heme oxygenase-2 with a first exon unique to rat testis: control by corticosterone of the oxygenase protein expression. *Gene* **241**:175–183. DOI: 10.1016/s0378-1119(99)00439-4
- Lu Y, Reddy R, Ferrer Buitrago M, Vander Jeught M, Neupane J, De Vos WH, Van den Abbeel E, Lierman S, De Sutter P, Heindryckx B. 2018. Strontium fails to induce  $Ca^{2+}$  release and activation in human oocytes despite the presence of functional TRPV3 channels. *Human Reproduction Open* **2018**: 1-11. DOI: 10.1093/hropen/hoy005

- Luciano AM, Franciosi F, Modena SC, Lodde V. 2011. Gap junction-mediated communications regulate chromatin remodeling during bovine oocyte growth and differentiation through cAMP-dependent mechanism(s). *Biology of Reproduction* **85**: 1252–1259. DOI:10.1095/biolreprod.111.092858
- Luciano AM, Pocar P, Milanesi E, Modena S, Rieger D, Lauria A, Gandolfi F. 1999. Effect of different levels of intracellular cAMP on the in vitro maturation of cattle oocytes and their subsequent development following in vitro fertilization. *Molecular Reproduction and Development* **54**: 86–91. DOI: 10.1002/(SICI)1098-2795(199909)54:1<86::AID-MRD13>3.0.CO;2-C
- Ma N, Ding X, Doi M, Izumi N, Semba R. 2004. Cellular and subcellular localization of heme oxygenase-2 in monkey retina. *Journal of Neurocytology* **33**:407–415. DOI: 10.1023/B:NEUR.0000046571.90786.6e
- Maines MD, Trakshel GM, Kutty RK. 1986. Characterization of two constitutive forms of rat liver microsomal heme oxygenase. Only one molecular species of the enzyme is inducible. *Journal of Biological Chemistry* **261**:411–419.
- Maines MD. 1997. The heme oxygenase system: a regulator of second messenger gases. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology* **37**:517–554. DOI: 10.1146/annurev.pharmtox.37.1.517
- Mann JS, Lowther KM, Mehlmann LM. 2010. Reorganization of the endoplasmic reticulum and development of Ca<sup>2+</sup> release mechanisms during meiotic maturation of human oocytes<sup>1</sup>. *Biology of Reproduction* **83**: 578–583. DOI:10.1095/biolreprod.110.085985
- Marvan F, Hampl A, Hložánková E, Kresan J, Massanyi L, Vernerová E. 2017. Morfologie hospodářských zvířat. Česká zemědělská univerzita v Praze v Nakladatelství Brázda, Praha.
- Masui Y, Markert CL. 1971. Cytoplasmic control of nuclear behaviour during meiotic maturation of frog oocytes. *Journal of Experimental Zoology* **117**:129–145. DOI: 10.1002/jez.1401770202
- Masui Y. 1972. Distribution of cytoplasmic activity inducing germinal vesicle breakdown in frog oocytes. *Journal of Experimental Zoology* **179**: 365–377. DOI: 10.1002/jez.1401790308
- Mattioli M, Galeati G, Barboni B, Seren E. 1994. Concentration of cyclic AMP during the maturation of pig oocytes in vivo and in vitro. *Journal of Reproduction and Fertility* **100**: 403–409. DOI:10.1530/jrf.0.1000403
- Mehlmann L, Terasaki M, Jaffe L, Kline D. 1995. Reorganization of the endoplasmic reticulum during meiotic maturation of the mouse oocyte. *Developmental Biology* **170**: 607–615. DOI:10.1006/dbio.1995.1240
- Mehlmann LM, Jones TL, Jaffe LA. 2002. Meiotic arrest in the mouse follicle maintained by a Gs protein in the oocyte. *Science* **297**: 1343–1345. DOI:10.1126/science.1073978

- Mehlmann LM, Kline D. 1994. Regulation of intracellular calcium in the mouse egg: calcium release in response to sperm or inositol trisphosphate is enhanced after meiotic maturation. *Biology of Reproduction* **51**: 1088–1098. DOI: 10.1095/biolreprod51.6.1088
- Mehlmann LM, Saeki Y, Tanaka S, Brennan TJ, Evsikov AV, Pendola FL, Knowles BB, Eppig JJ, Jaffe LA. 2004. The Gs-linked receptor GPR3 maintains meiotic arrest in mammalian oocytes. *Science* **306**: 1947–1950. DOI:10.1126/science.1103974
- Mescher AL. 2021. *Junqueira's Basic Histology*. McGraw-Hill. New York.
- Miao YL, Kikuchi K, Sun QY, Schatten H. 2009. Oocyte aging: cellular and molecular changes, developmental potential and reversal possibility. *Human Reproduction Update* **15**: 573–585. DOI: 10.1093/humupd/dmp014
- Missiaen L, Raeymaekers L, Wuytack F, Vrolix M, De Smedt H, Casteels R. 1989. Phospholipid-protein interactions of the plasma-membrane Ca<sup>2+</sup>-transporting ATPase. *Biochemical Journal* **263**: 687–694. DOI:10.1042/bj2630687
- Miyazaki S, Yuzaki M, Nakada K, Shirakawa H, Nakanishi S, Nakade S, Mikoshiba K. 1992. Block of Ca<sup>2+</sup> wave and Ca<sup>2+</sup> oscillation by antibody to the inositol 1,4,5-trisphosphate receptor in fertilized hamster eggs. *Science* **257**: 251–255. DOI:10.1126/science.1321497
- Morgan DO. 1997. Cyclin-dependent kinases: engines, clocks and microprocessors. *Annual Review of Cell and Developmental Biology* **13**: 261–291. DOI: 10.1146/annurev.cellbio.13.1.261
- Motterlini R, Green CJ, Foresti R. 2002. Regulation of heme oxygenase-1 by redox signals involving nitric oxide. *Antioxidants & Redox Signaling* **4**:615–624. DOI: 10.1089/15230860260220111
- Mulsant P, Lecerf F, Fabre S, Schibler L, Monget P, Lanneluc I, Pisselet C, Riquet J, Monniaux D, Callebaut I, Crihiu E, Thimonier J, Teyssier J, Bodin L, Cognié Y, Chitour N, Elsen JM. 2001. Mutation in bone morphogenetic protein receptor-IB is associated with increased ovulation rate in Booroola Merino ewes. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **98**:5104–5109. DOI: 10.1073/pnas.091577598
- Murchison EP, Stein P, Xuan Z, Pan H, Zhang MQ, Schultz RM, Hannon GJ. 2007. Critical roles for Dicer in the female germline. *Genes & Development* **21**(6): 682–693. DOI:10.1101/gad.1521307
- Murphy BJ, Laderoute KR, Short SM, Sutherland RM. 1991. The identification of heme oxygenase as a major hypoxic stress protein in Chinese hamster ovary cells. *British Journal of Cancer* **64**:69–73. DOI: 10.1038/bjc.1991.241
- Najbrt R, Bednář K, Červený Č, Kaman J, Mikyska E, Štarha O. 1982. *Veterinární anatomie 2. Státní zemědělské nakladatelství. Praha.*
- Nakada K, Mizuno J. 1998. Intracellular calcium responses in bovine oocytes induced by spermatozoa and by reagents. *Theriogenology* **50**: 269–282. DOI:10.1016/s0093-691x(98)00135-6

- Němeček D, Dvořáková M, Semíková M. 2017. Heme oxygenase/carbon monoxide in the female reproductive system: an overlooked signalling pathway. *International Journal of Biochemistry and Molecular Biology* **8**(1):1-12.
- Nevoral J, Petr J, Gelaude A, Bodart JF, Kucerova-Chrpova V, Sedmikova M, Krejцова T, Kolbabova T, Dvorakova M, Vyskocilova A, Weingartova I, Krivohlavkova L, Zalmanova T, Jilek F. 2014. Dual effects of hydrogen sulfide donor on meiosis and cumulus expansion of porcine cumulus-oocyte complexes. *PLoS ONE* **9**(7). DOI: 10.1371/journal.pone.0099613
- Nevoral J, Žalmanová T, Zámostná K, Kott T, Kučerová-Chrpová V, Bodart JF, Gelaude A, Procházka R, Orsák M, Šulc M, Klein P, Dvořáková M, Weingartová I, Víghová A, Hošková K, Krejčová T, Jílek F, Petr J. 2015. Endogenously produced hydrogen sulfide is involved in porcine oocyte maturation in vitro. *Nitric Oxide* **51**:24–35. DOI: 10.1016/j.niox.2015.09.007.
- Newhall KJ, Criniti AR, Cheah CS, Smith KC, Kafer KE, Burkart AD, McKnight GS. 2006. Dynamic anchoring of PKA is essential during oocyte maturation. *Current Biology* **16**: 321–327. DOI:10.1016/j.cub.2005.12.031
- Nilsson EE, Skinner MK. 2004. Kit ligand and basic fibroblast growth factor interactions in the induction of ovarian primordial to primary follicle transition. *Molecular and cellular endocrinology* **214**(1-2):19–25. DOI:10.1016/j.mce.2003.12.001
- Nogueira D, Cortvrindt R, De Matos DG, Vanhoutte L, Smitz J. 2003b. Effect of phosphodiesterase type 3 inhibitor on developmental competence of immature mouse oocytes in vitro. *Biology of Reproduction* **69**: 2045–2052. DOI:10.1095/biolreprod.103.021105
- Nogueira D, Ron-El R, Friedler S, Schachter M, Raziel A, Cortvrindt R, Smitz J. 2006. Meiotic arrest in vitro by phosphodiesterase 3-inhibitor enhances maturation capacity of human oocytes and allows subsequent embryonic development. *Biology of Reproduction* **74**: 177–184. DOI:10.1095/biolreprod.105.040485
- Norbury C, Nurse P. 1992. Animal cell cycles and their control. *Annual Review of Biochemistry* **61**: 441–468. DOI: 10.1146/annurev.bi.61.070192.002301
- Norris RP, Ratzan WJ, Freudzon M, Mehlmann LM, Krall J, Movsesian MA, Wan H, Ke H, Nikolaev VO, Jaffe LA. 2009. Cyclic GMP from the surrounding somatic cells regulates cyclic AMP and meiosis in the mouse oocyte. *Development* **136**: 1869–1878. DOI:10.1242/dev.035238
- Norris RP, Ratzan WJ, Freudzon M, Mehlmann LM, Krall J, Movsesian MA, Wang H, Ke H, Nikolaev VO, Jaffe LA. 2009. Cyclic GMP from the surrounding somatic cells regulates cyclic AMP and meiosis in the mouse oocyte. *Development* **136**(11): 1869–1878. DOI:10.1242/dev.035238
- Odreich MJ, Graham CH, Kimura KA, McLaughlin BE, Marks GS, Nakatsu K, Brien JF. 1998. Heme oxygenase and nitric oxide synthase in the placenta of the guinea-pig during gestation. *Placenta*. **19**:509–516. DOI: 10.1016/s0143-4004(98)91044-x

- Ohinata Y, Payer B, O'Carroll D, Ancelin K, Ono Y, Sano M, Barton SC, Obukhanych T, Nussenzweig M, Tarakhovsky A, Saitou M, Surani MA. 2005. Blimp1 is a critical determinant of the germ cell lineage in mice. *Nature* **436**:207–213. DOI: 10.1038/nature03813
- Oi Y, Imafuku M, Shishido C, Kominato Y, Nishimura S, Iwai K. 2001. Garlic supplementation increases testicular testosterone and decreases plasma corticosterone in rats fed a high protein diet. *The Journal of Nutrition* **131**:2150–2156. DOI: 10.1093/jn/131.8.2150
- Olsiewski PJ, Beers WH. 1983. cAMP synthesis in the rat oocyte. *Developmental Biology* **100**: 287–293. DOI:10.1016/0012-1606(83)90223-3
- O'Shaughnessy PJ, Dudley K, Rajapaksha WR. (1996). Expression of follicle stimulating hormone-receptor mRNA during gonadal development. *Molecular and cellular endocrinology* **125**(1-2): 169–175. DOI:10.1016/s0303-7207(96)03957-3
- Paknejad N, Hite RK. 2018. Structural basis for the regulation of inositol trisphosphate receptors by Ca<sup>2+</sup> and IP<sub>3</sub>. *Nature Structural & Molecular Biology* **25**: 660–668. DOI:10.1038/s41594-018-0089-6
- Pan H, O'brien MJ, Wigglesworth K, Eppig JJ, Schultz RM. 2005. Transcript profiling during mouse oocyte development and the effect of gonadotropin priming and development in vitro. *Developmental biology* **286**(2): 493–506. DOI:10.1016/j.ydbio.2005.08.023
- Pandey AN, Tripathi A, PremKumar KV, Shrivastav TG, Chaube SK. 2010. Reactive oxygen and nitrogen species during meiotic resumption from diplotene arrest in mammalian oocytes. *Journal of Cellular Biochemistry* **111**: 521–528. DOI:10.1002/jcb.22736
- Pangas SA, Choi Y, Ballow DJ, Zhao Y, Westphal H, Matzuk MM, Rajkovic A. 2006. Oogenesis requires germ cell-specific transcriptional regulators *Sohlh1* and *Lhx8*. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **103**(21): 8090–8095. DOI:10.1073/pnas.0601083103
- Park JY, Su YQ, Ariga M, Law E, Jin SL, Conti M. 2004. EGF-like growth factors as mediators of LH action in the ovulatory follicle. *Science* **303**: 682–684. DOI:10.1126/science.1092463
- Passos MJ, Vasconcelos GL, Silva AW, Brito IR, Saraiva MV, Magalhães DM, Costa JJ, Donato MA, Ribeiro RP, Cunha EV, Peixoto CA, Campello CC, Figueiredo JR, van den Hurk R, Silva JR. 2013. Accelerated growth of bovine preantral follicles in vitro after stimulation with both FSH and BMP-15 is accompanied by ultrastructural changes and increased atresia. *Theriogenology* **79**:1269–1277. DOI: 10.1016/j.theriogenology.2013.02.023
- Petrunewich MA, Trimarchi JR, Hanlan AK, Hammer MA, Baltz JM. 2009. Second meiotic spindle integrity requires MEK/ MAP kinase activity in mouse eggs. *Journal of Reproduction and Development* **55**(1): 30–38. DOI: 10.1262/jrd.20096
- Phillips MJ, Voeltz GK. 2016. Structure and function of ER membrane contact sites with other organelles. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. **17**: 69–82. DOI:10.1038/nrm.2015.8
- Pierre A, Pisselet C, Dupont J, Bontoux M, Monget P. 2005. Bone morphogenetic protein 5 expression in the rat ovary: biological effects on granulosa cell proliferation and

- steroidogenesis. *Biology of Reproduction* **73**:1102–1108. DOI: 10.1095/biolreprod.105.043091
- Pincus G, Enzmann E. 1935. The comparative behavior of mammalian eggs in vivo and in vitro. II. The activation of tubal eggs of the rabbit. *Journal of Experimental Medicine* **73**: 195–208. DOI:10.1084/jem.62.5.665
- Pollard TD, Earnshaw WC. 2007 *Cell Biology*. Saunders. ISBN 1416022554
- Raff JW, Whitfield WG, Glover DM. 1990. Two distinct mechanisms localise cyclin B transcripts in syncytial *Drosophila* embryos. *Development* **110**: 1249–1261. DOI: 10.1242/dev.110.4.1249
- Reddy P, Liu L, Adhikari D, Jagarlamudi K, Rajareddy S, Shen Y, Du C, Tang W, Hämäläinen T, Peng SL, Lan ZJ, Cooney AJ, Huhtaniemi I, Liu K. 2008. Oocyte-specific deletion of Pten causes premature activation of the primordial follicle pool. *Science* **319**(5863):611–613. DOI:10.1126/science.1152257
- Reddy P, Shen L, Ren C, Boman K, Lundin E, Ottander U, Lindgren P, Liu YX, Sun QY, Liu K. 2005. Activation of Akt (PKB) and suppression of FKHL1 in mouse and rat oocytes by stem cell factor during follicular activation and development. *Developmental biology* **281**(2): 160–170. DOI:10.1016/j.ydbio.2005.02.013
- Reece WO. 2011. *Fyziologie a funkční anatomie domácích zvířat*. Grada, Praha.
- Rickords LF, White KL. 1993. Electroporation of inositol 1,4,5-triphosphate induces repetitive calcium oscillations in murine oocytes. *Journal of Experimental Zoology* **265**: 178–184. DOI:10.1002/jez.1402650209
- Richard FJ, Tsafirri A, Conti M. 2001. Role of phosphodiesterase type 3A in rat oocyte maturation. *Biology of reproduction* **65**(5): 1444–1451. DOI:10.1095/biolreprod65.5.1444
- Richards JS, Jonassen JA, Rolfes AI, Kersey K, Reichert LE. 1979. Adenosine 3',5'-monophosphate, luteinizing hormone receptor, and progesterone during granulosa cell differentiation: effects of estradiol and follicle-stimulating hormone. *Endocrinology* **104**(3):765–773. DOI:10.1210/endo-104-3-765
- Richards JS. 2018. The ovarian cycle. *Vitamins and Hormones* **107**:1-25. DOI:10.1016/bs.vh.2018.01.009
- Robinson JW, Zhang M, Shuhaibar LC, Norris RP, Geerts A, Wunder F, Eppig JJ, Potter LR, Jaffe LA. 2012. Luteinizing hormone reduces the activity of the NPR2 guanylyl cyclase in mouse ovarian follicles, contributing to the cyclic GMP decrease that promotes resumption of meiosis in oocytes. *Developmental Biology* **366**: 308–316. DOI:10.1016/j.ydbio.2012.04.019
- Romero-Aguirregomezcorta J, Santa AP, García-Vazquez FA, Coy P, Matas C. 2014. Nitric oxide synthase (NOS) inhibition during porcine in vitro maturation modifies oocyte protein S-nitrosylation and in vitro fertilization. *PLoS One* **9**, e115044. DOI:10.1371/journal.pone.0115044

- Rosselli M. 1997. Nitric oxide and reproduction. *Molecular Human Reproduction* **3**: 639–641. DOI:10.1093/molehr/3.8.639
- Rossi RODS, Costa JJN, Silva AWB, Saraiva MVA, Van der Hurk R, Silva JRV. 2016. The bone morphogenetic protein system and the regulation of ovarian follicle development in mammals. *Zygote* **24**(1):1-17. DOI: 10.1017/S096719941400077X
- Ruddock NT, Machaty Z, Cabot RA, Prather RS. 2001. Porcine oocyte activation: differing roles of calcium and pH. *Molecular Reproduction and Development* **59**: 227–234. DOI:10.1002/mrd.1027
- Ryter SW, Choi AK. 2016. Targeting heme oxygenase-1 and carbon monoxide for therapeutic modulation of inflammation. *Translational Research* **167**:7–34. DOI: 10.1016/j.trsl.2015.06.011
- Saitou M, Yamaji M. 2010. Germ cell specification in mice: Signaling, transcription regulation, and epigenetic consequences. *Reproduction* **139**, 931–942. DOI: 10.1530/REP-10-0043
- Salmon NA, Handyside AH, Joyce IM. 2004. Oocyte regulation of anti-Müllerian hormone expression in granulosa cells during ovarian follicle development in mice. *Developmental biology* **266**(1): 201–208. DOI:10.1016/j.ydbio.2003.10.009
- Sánchez F, Adriaenssens T, Romero S, Smitz J. 2010. Different follicle-stimulating hormone exposure regimens during antral follicle growth alter gene expression in the cumulus-oocyte complex in mice. *Biology of reproduction* **83**(4): 514–524. DOI:10.1095/biolreprod.109.083311
- Sánchez F, Romero S, Albuz FK, Smitz J. 2012. In vitro follicle growth under non-attachment conditions and decreased FSH levels reduces Lhcgr expression in cumulus cells and promotes oocyte developmental competence. *Journal of assisted reproduction and genetics* **29**(2): 141–152. DOI:10.1007/s10815-011-9690-x
- Sánchez F, Smitz J. 2012. Molecular control of oogenesis. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease*. **1822**(12) 1896-1912. DOI: 10.1016/j.bbadis.2012.05.013
- Sha QQ, Dai XX, Dang Y, Tang F, Liu J, Zhang YL, Fan HY. 2017. A MAPK cascade couples maternal mRNA translation and degradation to meiotic cell cycle progression in mouse oocytes. *Development* **144**(3): 452–463. DOI:10.1242/dev.144410
- Shiina H, Matsumoto T, Sato T, Igarashi K, Miyamoto J, Takemasa S, Sakari M, Takada I, Nakamura T, Metzger D, Chambon P, Kanno J, Yoshikawa H, Kato S. 2006. Premature ovarian failure in androgen receptor-deficient mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **103**(1): 224–229. DOI:10.1073/pnas.0506736102
- Shimada M, Hernandez-Gonzalez I, Gonzalez-Robayna I, Richards JS. 2006. Paracrine and autocrine regulation of epidermal growth factorlike factors in cumulus oocyte complexes and granulosa cells: key roles for prostaglandin synthase 2 and progesterone receptor. *Molecular Endocrinology* **20**: 1352–1365. DOI:10.1210/me.2005-0504



- Shimasaki S, Moore RK, Otsuka F, Erickson GF. 2004. The bone morphogenetic protein system in mammalian reproduction. *Endocrine Reviews* **25**:72–101. DOI: 10.1210/er.2003-0007
- Shimizu T, Yokoo M, Miyake Y, Sasada H, Sato E. 2004. Differential expression of bone morphogenetic protein 4 – 6 (BMP-4, -5, and -6) and growth differentiation factor9 (GDF-9) during ovarian development in neonatal pigs. *Domestic Animal Endocrinology* **27**:397–405. DOI: 10.1016/j.domaniend.2004.04.001
- Shiraishi K, Okada A, Shirakawa H, Nakanishi S, Mikoshiba K, Miyazaki S. 1995. Developmental changes in the distribution of the endoplasmic reticulum and inositol 1,4,5-trisphosphate receptors and the spatial pattern of Ca<sup>2+</sup> release during maturation of hamster oocytes. *Developmental Biology* **170**: 594–606. DOI:10.1006/dbio.1995.1239
- Shu YM, Zeng HT, Ren Z, Zhuang GL, Liang XY, Shen HW, Yao SZ, Ke PQ, Wang NN. 2008. Effects of cilostamide and forskolin on the meiotic resumption and embryonic development of immature human oocytes. *Human Reproduction* **23**: 504–513. DOI:10.1093/humrep/dem344
- Shuhaibar LC, Egbert JR, Norris RP, Lampe PD, Nikolaev VO, Thunemann M, Wen L, Feil R, Jaffe LA. 2015. Intercellular signaling via cyclic GMP diffusion through gap junctions restarts meiosis in mouse ovarian follicles. *PNAS* **112**: 5527–5532. DOI:10.1073/pnas.1423598112
- Shukovski L, Tsafiriri A. 1994. The involvement of nitric oxide in the ovulatory process in the rat. *Endocrinology* **135**: 2287–2290. DOI:10.1210/endo.135.5.7525265
- Schatten H, Constantinescu GM. 2007. *Comparative reproductive biology*. Wiley. DOI:10.1002/9780470390290
- Sikka S. 2012. Relative impact of oxidative stress on male reproductive function. *Current Medicinal Chemistry* **8**: 851–862. DOI:10.2174/0929867013373039
- Silva JRV, van den Hurk R, van Tol HTA, Roelen BAJ, Figueiredo JR. 2005. Expression of growth differentiation factor-9 (GDF-9), bone morphogenetic protein 15 (BMP-15) and BMP receptors in the ovaries of goats. *Molecular Reproduction and Development* **70**:11–19. DOI: 10.1002/mrd.20127
- Smitz J, Cortvrindt R. 1998. Inhibin A and B secretion in mouse preantral follicle culture. *Human reproduction* **13**(4): 927–935. DOI:10.1093/humrep/13.4.927
- Smyth JT, DeHaven WI, Jones BF, Mercer JC, Trebak M, Vazquez G, Putney JW. 2006. Emerging perspectives in store-operated Ca<sup>2+</sup> entry: roles of Orai, Stim and TRP. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research*. **1763**: 1147–1160. DOI:10.1016/j.bbamcr.2006.08.050
- Soboloff J, Spassova M, Hewavitharana T, He LP, Luncsford P, Xu W, Venkatachalam K, van Rossum D, Patterson RL, Gill DL. 2007. TRPC Channels: Integrators of Multiple Cellular Signals. 575-591. FLOCKERZI, Veit a NILIUS, Bernd (ed.). *Handbook of Experimental*

- Pharmacology. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg. DOI: 10.1007/978-3-540-34891-7\_34
- Soyal SM, Amleh A, Dean J. 2000. FIGalpha, a germ cell-specific transcription factor required for ovarian follicle formation. *Development* **127**(21):4645–4654. DOI:10.1242/dev.127.21.4645
- Srilatha B, Adaikan PG, Moore PK. 2006. Possible role for the novel gasotransmitter hydrogen sulphide in erectile dysfunction—A pilot study. *European Journal of Pharmacology* **535**:280–282. DOI: 10.1016/j.ejphar.2006.02.001
- Stein P, Savy V, Williams AM, Williams CJ. 2020. Modulators of calcium signalling at fertilization. *Open Biology* **10**: 200118. DOI: 10.1098/rsob.200118
- Stewart RD. 1975. The effect of carbon monoxide on humans. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology* **15**:409-423
- Sugiura K, Pendola FL, Eppig JJ. 2005. Oocyte control of metabolic cooperativity between oocytes and companion granulosa cells: energy metabolism. *Developmental biology* **279**(1): 20–30. DOI:10.1016/j.ydbio.2004.11.027
- Sugiura Y, Kashiba M, Maruyama K, Hoshikawa K, Sasaki R, Saito K, Kimura H, Goda N, Suematsu M. 2005. Cadmium exposure alters metabolomics of sulfur-containing amino acids in rat testes. *Antioxidants & Redox Signaling* **7**:781–787. DOI: 10.1089/ars.2005.7.781
- Suliman HB, Carraway MS, Tatro LG, Piantadosi CA. 2007. A new activating role for CO in cardiac mitochondrial biogenesis. *Journal of Cell Science* **120**:299–308. DOI: 10.1242/jcs.03318
- Sun QY, Breitbart H, Schatten H. 1999. Role of the MAPK cascade in mammalian germ cells. *Reproduction, Fertility and Development* **11**: 443–450. DOI:10.1071/rd00014
- Swann K. 1991. Thimerosal causes calcium oscillations and sensitizes calcium-induced calcium release in unfertilized hamster eggs. *FEBS Letters* **278**: 175–178. DOI:10.1016/0014-5793(91)80110-O
- Taillé C, El-Benna J, Lanone S, Boczkowski J, Motterlini R. 2005. Mitochondrial respiratory chain and NAD(P)H oxidase are targets for the antiproliferative effect of carbon monoxide in human airway smooth muscle. *Journal of Biological Chemistry* **280**:25350–25360. DOI: 10.1074/jbc.M503512200
- Takesue K, Tabata S, Sato F, Hattori MA. 2003. Expression of nitric oxide synthase3 in porcine oocytes obtained at different follicular development. *Journal of Reproduction and Development* **49**: 135–140. DOI:10.1262/jrd.49.135
- Tang DW, Fang Y, Liu ZX, Wu Y, Wang XL, Zhao S, Han GC, Zeng SM. 2013. The disturbances of endoplasmic reticulum calcium homeostasis caused by increased intracellular reactive oxygen species contributes to fragmentation in aged porcine oocytes. *Biology of Reproduction* **89**: 124. DOI:10.1095/biolreprod.113.111302

- Tao Y, Xie H, Hong H, Chen X, Jang J, Xia G. 2005. Effects of nitric oxide synthase inhibitors on porcine oocyte meiotic maturation. *Zygote* **13**: 1–9. DOI:10.1017/s0967199404002953
- Tatemoto H, Muto N. 2001. Mitogen-activated protein kinase regulates normal transition from metaphase to interphase following parthenogenetic activation in porcine oocytes. *Zygote* **9**(1): 15–23. DOI:10.1017/s0967199401001034
- Taylor CW, Genazzani AA, Morris SA. 1999. Expression of inositol trisphosphate receptors. *Cell Calcium* **26**: 237–251. DOI:10.1054/ceca.1999.0090
- Tenhunen R, Marver HS, Schmid R. 1969. Microsomal heme oxygenase. Characterization of the enzyme. *Journal of Biological Chemistry* **244**:6388–6394.
- Tichovská H, Petr J, Chmelíková E, Sedmíková M, Tůmová L, Krejčová M, Dörflerová A, Rajmon R. 2011. Nitric oxide and meiotic competence of porcine oocytes. *Animal* **5**: 1398–1405. DOI:10.1017/S1751731111000565
- Tortoriello DV, Sidis Y, Holtzman DA, Holmes WE, Schneyer AL. 2001. Human follistatin-related protein: a structural homologue of follistatin with nuclear localization. *Endocrinology* **142**(8):3426–3434. DOI:10.1210/endo.142.8.8319
- Tsafiriri A, Pomerantz SH, Channing CP. 1976. Inhibition of oocyte maturation by porcine follicular fluid: partial characterization of the inhibitor. *Biology of Reproduction* **14**: 511–516. DOI:10.1095/biolreprod14.5.511
- Turkseven S, Drummond G, Rezzani R, Rodella L, Quan S, Ikehara S, Abraham NG. 2007. Impact of silencing HO-2 on EC-SOD and the mitochondrial signaling pathway. *Journal of Cellular Biochemistry* **100**:815–823. DOI: 10.1002/jcb.21138
- Vaccari S, Horner K, Mehlmann LM, Conti M. 2008. Generation of mouse oocytes defective in cAMP synthesis and degradation: endogenous cyclic AMP is essential for meiotic arrest. *Developmental biology* **316**(1):124–134. DOI:10.1016/j.ydbio.2008.01.018
- Vaccari S, Weeks JL 2nd, Hsieh M, Menniti FS, Conti M. 2009. Cyclic GMP signaling is involved in the luteinizing hormone-dependent meiotic maturation of mouse oocytes. *Biology of Reproduction* **81**: 595–604. DOI:10.1095/biolreprod.109.077768
- Van Voorhis BJ, Moore K, Strijbos PJLM, Nelson S, Baylis SA, Grzybicki D, Weiner CP. 1995. Expression and localization of inducible and endothelial nitric oxide synthase in the rat ovary: effects of gonadotropin stimulation in vivo. *Journal of Clinical Investigation* **96**: 2719–2726. DOI:10.1172/JCI118339
- Vanderheyden V, Devogelaere B, Missiaen L, De Smedt H, Bultynck G, Parys JB. 2009. Regulation of inositol 1,4,5-trisphosphate-induced Ca<sup>2+</sup> release by reversible phosphorylation and dephosphorylation. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research* **1793**: 959–970. DOI: 10.1016/j.bbamcr.2008.12.003
- Venkatachalam K, Montell C. 2007. TRP channels. *Annual Review of Biochemistry*. **76**: 387–417. DOI:10.1146/annurev.biochem.75.103004.142819

- Verlhac MH, de Pennart H, Maro B, Cobb MH, Clarke HJ. 1993. MAP kinase becomes stably activated at metaphase and is associated with microtubule-organizing centers during meiotic maturation of mouse oocytes. *Developmental Biology* **158**(2): 330–340. DOI:10.1006/dbio.1993.1192
- Verlhac MH, Kubiak JZ, Clarke HJ, Maro B. 1994. Microtubule and chromatin behavior follow MAP kinase activity but not MPF activity during meiosis in mouse oocytes. *Development* **120**(4): 1017–1025. DOI:10.1242/dev.120.4.1017
- Verma A, Hirsch DJ, Glatt CE, Ronnett GV, Snyder SH. 1993. Carbon monoxide: a putative neural messenger. *Science* **259**:381–384. DOI: 10.1126/science.7678352
- Vinatier D, Dufour P, Tordjeman-Rizzi N, Prolongeau JF, Depret-Moser S, Monnier JC. 1995. Immunological aspects of ovarian function: role of the cytokines. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology* **63**:155–168. DOI: 10.1016/0301-2115(95)02227-9
- Vitt UA, Hsu SY, Hsueh AJW. 2001. Evolution and classification of cystine knot-containing hormones and related extracellular signaling molecules. *Molecular Endocrinology* **15**: 681–694. DOI: 10.1210/mend.15.5.0639
- Voronina E, Lovasco LA, Gyuris A, Baumgartner RA, Parlow AF, Freiman RN. 2007. Ovarian granulosa cell survival and proliferation requires the gonad-selective TFIID subunit TAF4b. *Developmental biology* **303**(2): 715–726. DOI:10.1016/j.ydbio.2006.12.011
- Vreman HJ, Zentner AR, Wong RJ, Stevenson DK. 1999. Carbon monoxide production and upregulation of heme oxygenase activity in mice after heme administration. *Pediatric Research* **4**:231A–231A. DOI: 10.1203/00006450-199904020-01375
- Wang WA, Agellon LB. 2019. Organellar calcium handling in the cellular reticular network. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology* **11**: 1–20. DOI:10.1101/cshperspect.a038265
- Wassarman PM, Kinloch RA. 1992. Gene expression during oogenesis in mice. *Mutation research* **296**(1-2):3–15. DOI:10.1016/0165-1110(92)90028-8
- Waters M, Tadi P. 2022. *Genetics, Female Gametogenesis*. StatPearls Publishing.
- Wilhelm D, Englert C. 2002. The Wilms tumor suppressor WT1 regulates early gonad development by activation of Sf1. *Genes & Development*, **16**(14):1839–1851. DOI:10.1101/gad.220102
- Wong W, Scott JD. 2004. AKAP signaling complexes: focal points in space and time. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* **5**: 959–970. DOI:10.1038/nrm1527
- Wrana JL, Attisano L, Wieser R, Ventura F, Massagué J. 1994. Mechanism of activation of the TGF- receptor. *Nature* **370**: 341–347. DOI: 10.1038/370341a0
- Wu L, Wang R. 2005. Carbon monoxide: endogenous production, physiological functions, and pharmacological applications. *Pharmacological Reviews* **57**:585–630. DOI: 10.1124/pr.57.4.3

- Wu YT, Wang TT, Chen XJ, Zhu XM, Dong MY, Sheng JZ, Xu CM, Huang HF. 2012. Bone morphogenetic protein-15 in follicle fluid combined with age may differentiate between successful and unsuccessful poor ovarian responders. *Reproductive Biology and Endocrinology* **10**:1–6. DOI: 10.1186/1477-7827-10-116
- Xu Z, Kopf GS, Schultz RM. 1994. Involvement of inositol 1,4,5-trisphosphate-mediated Ca<sup>2+</sup> release in early and late events of mouse egg activation. *Development* **120**: 1851–1859. DOI: 10.1242/dev.120.7.1851
- Yamaji M, Seki Y, Kurimoto K, Yabuta Y, Yuasa M, Shigeta M, Yamanaka K, Ohinata Y, Saitou M. 2008. Critical function of Prdm14 for the establishment of the germ cell lineage in mice. Online. *Nature Genetics* **40**:1016-1022. DOI: 10.1038/ng.186
- Yamazaki W, Ferreira CR, Meo SC, Leal CLV, Meirelles FV, Garcia JM. 2005. Use of strontium in the activation of bovine oocytes reconstructed by somatic cell nuclear transfer. *Zygote* **13**: 295–302. DOI:10.1017/S0967199405003333
- Yang G, Wu L, Jiang B, Yang W, Qi J, Cao K, Meng Q, Mustafa AK, Mu W, Zhang S, Snyder SH, Wang R. 2008. H<sub>2</sub>S as a physiologic vasorelaxant: hypertension in mice with deletion of cystathionine gamma-lyase. *Science* **322**:587-590. DOI: 10.1126/science.1162667
- Yao G, Yin M, Lian J, Tian H, Liu L, Li X, Sun F. 2010. MicroRNA-224 is involved in transforming growth factor-beta-mediated mouse granulosa cell proliferation and granulosa cell function by targeting Smad4. *Molecular endocrinology* **24**(3), 540–551. DOI:10.1210/me.2009-0432
- Ying Y, Zhao GQ. 2001. Cooperation of endoderm-derived BMP2 and extraembryonic ectoderm-derived BMP4 in primordial germ cell generation in the mouse. *Developmental Biology* **232**: 484–492. DOI: 10.1006/dbio.2001.0173
- Yoshida T, Kikuchi G. 1978. Purification and properties of heme oxygenase from pig spleen microsomes. *Journal of Biological Chemistry* **253**:4224–4229.
- Yoshimura Y, Nakamura Y, Oda T, Ubukata Y, Karube M, Koyama N, Yamada H. 1992. Induction of meiotic maturation of follicle-enclosed oocytes of rabbits by a transient increase followed by an abrupt decrease in cyclic AMP concentration. *Journal of Reproduction and Fertility* **95**: 803–812. DOI:10.1530/jrf.0.0950803
- Zenclussen ML, Casalis PA, Jensen F, Woidacki K, Zenclussen AC. 2014. Hormonal fluctuations during the estrous cycle modulate heme oxygenase-1 expression in the uterus. *Frontiers in Endocrinology* **5**:32. DOI: 10.3389/fendo.2014.00032
- Zenclussen ML, Jensen F, Rebelo S, El-Mousleh T, Casalis PA, Zenclussen AC. 2012. Heme oxzgenase-1 expression in the ovary dictates a proper oocyte ovulation, fertilization, and corpora lutea maintenance. *American Journal of Reproductive Immunology* **67**:376–382. DOI: 10.1111/j.1600-0897.2011.01096.x

- Zernicka-Goetz M, Verlhac MH, Geraud G, Kubiak JZ. 1997. Protein phosphatases control MAP kinase activation and microtubule organization during rat oocyte maturation. *European Journal of Cell Biology* **72**(1): 30–38.
- Zhang FP, Poutanen M, Wilbertz J, Huhtaniemi I. 2001. Normal prenatal but arrested postnatal sexual development of luteinizing hormone receptor knockout (LuRKO) mice. *Molecular endocrinology* **15**(1):172–183. DOI:10.1210/mend.15.1.0582
- Zhang M, Su YQ, Sugiura K, Xia G, Eppig JJ. 2010. Granulosa cell ligand NPPC and its receptor NPR2 maintain meiotic arrest in mouse oocytes. *Science* **330**: 366–369. DOI:10.1126/science.1193573
- Zhang YL, Liu XM, Ji SY, Sha QQ, Zhang J, Fan HY. 2015. ERK1/2 activities are dispensable for oocyte growth but are required for meiotic maturation and pronuclear formation in mouse. *Journal of Genetics and Genomics* **42**(9): 477–485. DOI:10.1016/j.jgg.2015.07.004
- Zhao J, Taverne MA, van der Weijden GC, Bevers MM, van den Hurk R. 2001. Effect of activin A on in vitro development of rat preantral follicles and localization of activin A and activin receptor II. *Biology of reproduction*, **65**(3):967–977. DOI:10.1095/biolreprod65.3.967