

Коригуючий вплив цитрату германію на репродуктивну функцію самиць зрілих мишей

О.А. Кондрацька, Н.Г. Грушка, С.І. Павлович, Р.І. Янчій

Інститут фізіології ім. О.О. Богомольця Національної академії наук України, Київ;
e-mail: grunay@i.ua

З віком фертильність жінок знижується, що в першу чергу пов'язано з погіршенням якості і зменшенням кількості ооцитів. Окисний стрес є найбільш імовірним фактором, який впливає на зниження компетентності ооцитів. Дослідження впливу препаратів із антиоксидантними властивостями може створити вдалу стратегію профілактики для покращення репродуктивного потенціалу жінок. Метою нашої роботи було оцінити вплив цитрату германію, отриманого методом електроімпульсної нанотехнології, на життєздатність клітин фолікулярного оточення ооцитів, стан про- та антиоксидантної системи та функціонально-метаболичну активність клітин-ефекторів запалення у самиць зрілих мишей. Дослідження проводили на статевозрілих самицях мишей лінії Альбіно (молоді – віком 6–8 тиж, масою 20–22 г; зрілі – віком 8-9 міс і масою 30–34 г). Результати показали, що у самиць зрілих мишей відбувається зниження життєздатності та посилення некротичної та апоптотичної загибелі гранулярних клітин (ГК) яєчників. Виявлено підвищення вмісту реактивних продуктів 2-тіобарбітурової кислоти у тканині печінки. З боку антиоксидантного захисту спостерігалось зменшення вмісту церулоплазміну у сироватці крові, однак вміст відновленого глутатіону в гомогенаті печінки був дещо збільшений. Також підвищувалася метаболична активність нейтрофілів. Застосування цитрату германію чинило цитопротективний вплив на життєздатність ГК, знижуючи їх некротичну та апоптотичну загибель. Крім того, значно зменшувалось перекисне окиснення ліпідів, покращувалася регуляція антиоксидантного захисту та знижувалася функціональна активність клітин-ефекторів запалення, що підтверджувалось зменшенням активації киснезалежного та кисненезалежного метаболізму нейтрофілів периферичної крові зрілих мишей. Таким чином, показано позитивний вплив цитрату германію, спрямований на попередження розвитку оксидативного стресу у самиць зрілих мишей, який вважається основним механізмом, що лежить в основі старіння яєчників.

Ключові слова: репродуктивне старіння; цитрат германію; життєздатність гранулярних клітин; ТБК-реактивні продукти; відновлений глутатіону; церулоплазмін.

ВСТУП

Репродуктивне старіння самиць ссавців є незворотним процесом, пов'язаним із зниженням як кількості, так і якості ооцитів, що, в свою чергу, може призводити до зниження фертильності і розвитку безпліддя [1]. Хоча загально визнано, що старіння є результатом як вроджених, так й екологічних факторів, поступове накопичення ушкоджень внаслідок окисного стресу (ОС) та його взаємодія з дикарбонільним стресом вважається основним механізмом, що лежить в основі згасання

функції яєчників [2]. Ооцити в яєчниках формуються під час внутрішньоутробного розвитку людини, де вони утворюють кінцевий пул, який не піддається самооновленню. Таким чином, вони дуже сприйнятливі до вікової дисфункції [1]. Дійсно, довга тривалість життя мейотично затриманого ооциту піддає цю клітину підвищеному ризику окисних ушкоджень, які зазвичай проявляються у порушенні регуляції білкового гомеостазу. Хоча ооцити здатні пом'якшувати таку загрозу внаслідок мобілізації складної мережі шляхів спостереження, репарації та протеолізу, ці

захисні механізми власними силами схильні до вікових дефектів, знижуючи їх здатність усувати окиснювально пошкоджені білки [3].

У нормі утворення вільних радикалів та недоокиснених продуктів метаболізму під час біохімічних реакцій організму відбувається безперервно у всіх клітинах. Баланс підтримується антиоксидантними ферментами, здатними нейтралізувати молекули з високим окисним потенціалом [4]. Однак, коли баланс порушується у бік надмірного надлишку вільних радикалів, виникає ОС [5], що спричиняє масову загибель клітин [4]. З віком накопичення вільних радикалів призводить до фізіологічних та клінічних змін [6]. ОС впливає на функціонування жіночої репродуктивної системи. Активні форми кисню (АФК), з одного боку, слугують ключовими сигнальними молекулами у фізіологічних процесах (від дозрівання ооцитів до запліднення, розвитку ембріонів та вагітності), але з іншого – ОС модулює вікове зниження фертильності, відіграє роль у патофізіології безпліддя та може призводити до негативних наслідків при застосуванні допоміжних репродуктивних технологій [5]. Накопичення АФК в яєчнику послаблює взаємодію ооцитів і гранулярних клітин (ГК) та викликає апоптоз ГК, впливає на дозрівання ооцитів перед овуляцією та знижує їх якість [4]. Мітохондрії є вразливою мішенню для АФК. Надлишок вільних кисневих радикалів може зашкодити мітохондріальній ДНК ооцитів і потім призвести до втрати їх внутрішньої мітохондріальної функції, яка має важливе значення для контролю репродуктивного старіння [4]. Таким чином, зниження інтенсивності ОС в яєчниках є важливою умовою для уповільнення їх старіння і збереження репродуктивного здоров'я. Актуальним є пошук речовин, яким властивий антиоксидантний потенціал, для попередження подальшого окиснювального пошкодження, пов'язаного із накопиченням АФК з віком. Для дослідження був використаний вітчизняний препарат – цитрат германію, отриманий

методом електроімпульсної нанотехнології [7], що виявляє антиоксидантні властивості, які сприяють покращенню імунобіологічних показників та фертильності, а також характеризується екологічною безпекою, високою чистотою та біодоступністю [8–10].

Метою нашої роботи було оцінити вплив цитрату германію на життєздатність клітин фолікулярного оточення ооцитів, стан про- та антиоксидантної системи та функціонально-метаболичну активність клітин-ефекторів запалення у самиць зрілих мишей.

МЕТОДИКА

Дослідження проводили на статевозрілих самицях мишей лінії Альбіно (молоді – віком 6–8 тиж і масою 20–22 г; зрілі – віком 8–9 міс і масою 30–34 г). При роботі дотримувалися Міжнародних принципів Європейської конвенції про захист хребетних тварин Ради Європи (Страсбург, 1986). Водний розчин цитрату германію (ТОВ "Нанотехнології і наноматеріали", Київ, Україна), доводили до необхідного об'єму фізіологічним розчином (0,4 мл/20 г маси миші) і застосовували внутрішньоочеревинно в дозі 100 мг/кг, двічі: за 48 та 24 год до початку експерименту.

Шляхи загибелі клітин оцінювали безпосередньо після їх виділення методом прижиттєвого подвійного забарвлення флуоресцентними барвниками нуклеїнових кислот Хехст 33342 і йодид пропідіуму («Sigma-Aldrich», США) [11]. Використовували відеосистему передачі зображення на комп'ютер з люмінесцентного мікроскопа «Люам І-1» (імерсійний об'єктив збільшення у 90 разів), аналізували не менше ніж 100 клітин.

Інтенсивність процесів пероксидації ліпідів (ПОЛ) оцінювали за концентрацією в печінці кінцевих продуктів ПОЛ (малонового діальдегіду та інших альдегідів), що базується на їхній здатності взаємодіяти з 2-тіобарбітуровою кислотою (ТБК). Гомогенат печінки для проведення реакції отримували розтиранням 500 мг тканини в порцеляновій

ступці на льоду в 5 мл фосфатно-сольового буфера та центрифугували при 4°C протягом 7 хв при 12000g. Вміст реактивних продуктів 2-тіобарбітурувої кислоти (ТБК-РП) у отриманих супернатантах визначали колориметричним методом [12] і виражали в наномолях МДА на 1 г тканини, використовуючи коефіцієнт молярного поглинання, який дорівнює $1,56 \times 10^5 \text{ моль}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$. Вміст відновленого глутатіону (ВГл) у супернатантах гомогенізованої печінки визначали стандартним спектрофотометричним методом із використанням реактиву Елмана [13]. Вміст церулоплазміну в сироватці крові оцінювали колориметричним методом Равіна [14] за допомогою тест-набору (ПрАТ «Реагент», Україна) згідно з інструкцією виробника та виражали в міліграмах на 1 л.

Киснезалежний метаболізм нейтрофільних гранулоцитів вивчали у тесті з нітросинім тетразолієм (НСТ) [15]. Функціональний стан нейтрофілів оцінювали також за даними напівкількісного лізосомально-катіонного тесту (ЛКТ) із розрахунком середнього цитохімічного коефіцієнта (СЦК) [16].

Результати обробляли в програмі GraphPad Prism version 5.00 for Windows (GraphPad Software, США). Після перевірки на нормальність розподілу за критерієм Колмогорова-Смирнова статистичний аналіз проводили з використанням one-way ANOVA з подальшим множинним порівнянням за тестом Ньюмана-Кеулса. У разі відсутності нормального розподілу результатів для статистичного аналізу застосовували непараметричний тест Манна-Уїтні. Відмінності вважали статистично значущими при $P < 0,05$. Результати виражали як $M \pm m$ (середнє \pm стандартна похибка).

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Дослідження впливу цитрату германію на життєздатність ГК яєчників самиць зрілих мишей. Встановлено зменшення відсотка живих ГК у самиць зрілих мишей порівняно

з молодими: $39,44 \pm 1,8$ щодо $69,33 \pm 0,8\%$ ($P < 0,05$). Водночас посилювалася клітинна загибель: зокрема, некроз $6,56 \pm 0,5$ щодо $2,0 \pm 0,4\%$ ($P < 0,05$); апоптоз $54,0 \pm 1,3$ щодо $28,67 \pm 0,6\%$ ($P < 0,05$) відповідно. Застосування цитрату германію суттєво покращувало життєздатність ГК: значно зростав відсоток живих клітин та зменшувалась їх загибель як за некротичним шляхом, так і за апоптотичним (рис. 1).

Дослідження впливу цитрату германію на стан про- та антиоксидантної системи самиць зрілих мишей. При дослідженні стану ПОЛ у печінці зрілих мишей виявлено зростання вмісту ТБК-РП удвічі порівняно із контрольним значенням у молодих мишей ($P < 0,05$; рис. 2). Введення цитрату германію знизило цей показник в 1,5 раза у тканині печінки ($P < 0,05$).

Було досліджено функціональний стан системи антиоксидантного захисту у самиць зрілих мишей. Результати показали, що вміст ВГл у гомогенаті тканини печінки був дещо збільшеним ($P < 0,05$). При цьому введення цитрату германію не викликало вірогідних змін цього показника у зрілих мишей (рис. 3).

Вміст іншого важливого компоненту антиоксидантної системи, церулоплазміну, в сироватці крові був зниженим ($P < 0,05$). За допомогою цитрату германію вдалося збіль-

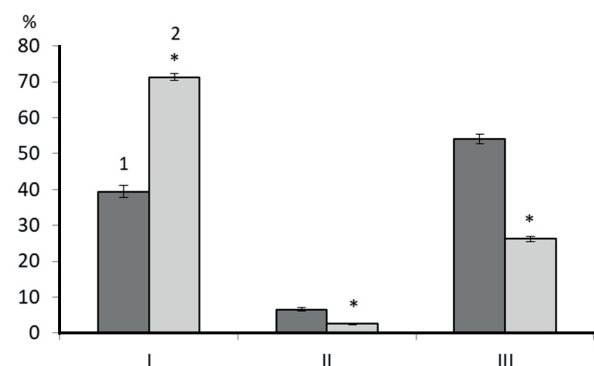


Рис 1. Вплив цитрату германію на життєздатність гранулярних клітин самиць зрілих мишей: I – контроль, 2 – цитрат германію; I – живі, II – некроз, III – апоптоз. * $P < 0,05$ відносно контролю

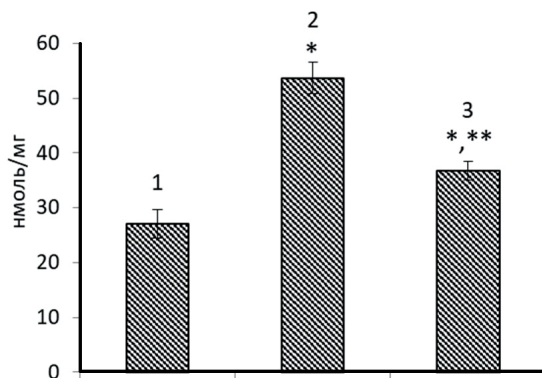


Рис 2. Вплив цитрату германію на вміст ТБК-реактивних продуктів у печінці мишей: 1 – молоді миші (контроль), 2 – зрілі миші, 3 – введення цитрату германію зрілим мишам. *P < 0,05 відносно контролю; **P < 0,05 відносно значень у зрілих мишей

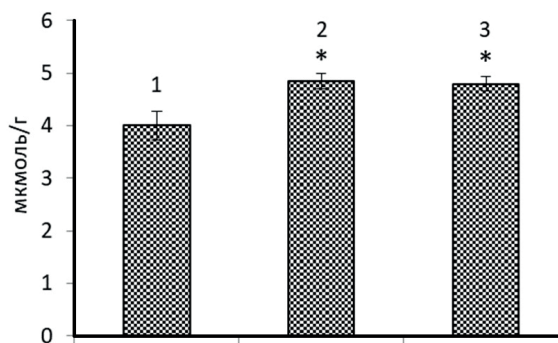


Рис 3. Вплив цитрату германію на вміст відновленого глутатіону в печінці мишей: 1 – молоді миші (контроль), 2 – зрілі миші, 3 – введення цитрату германію зрілим мишам. *P < 0,05 відносно контролю

шити його концентрацію близько до значень, виявлених у молодих мишей (рис. 4).

Дослідження впливу цитрату германію на функціонально-метаболічну активність клітин-ефекторів запалення у самиць зрілих мишей. За допомогою НСТ-тесту визначали інтенсивність утворення АФК. Виявлено посилення функціонально-метаболічної активності клітин-ефекторів запалення у зрілих мишей, про що свідчило підвищення відсотка формазан-позитивних клітин до $43,33 \pm 3,59\%$ порівняно з $23,83 \pm 4,04\%$ у молодих мишей. Застосування цитрату германію змен-

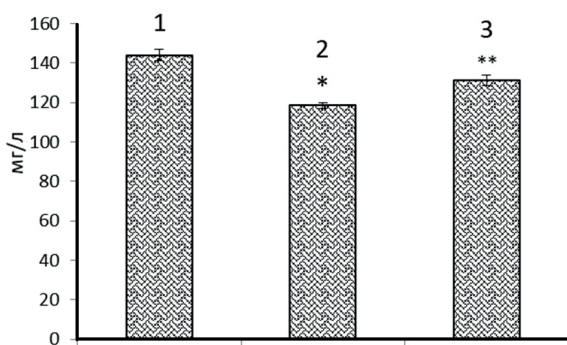


Рис 4. Вплив цитрату германію на вміст церулоплазміну в сироватці крові мишей: 1 – молоді миші (контроль), 2 – зрілі миші, 3 – введення цитрату германію зрілим мишам. *P < 0,05 відносно контролю; **P < 0,05 відносно значень у зрілих мишей

шувало генерування АФК у нейтрофілах, і цей показник знижувався до $30,67 \pm 2,80\%$. При цьому був знижений ЦХП до $0,39 \pm 0,02\%$ (порівняно з $0,31 \pm 0,05\%$ у молодих та $0,70 \pm 0,08\%$ у зрілих мишей).

За даними лізосомально-катіонного тесту у зрілих мишей також виявлено активацію синтезу лізосомальних факторів. Введення цитрату германію призводило до його пригнічення: знижувався ЦХП реакції на вміст катіонних білків – медіаторів запалення – з $0,19 \pm 0,02$ (у зрілих мишей) до $0,09 \pm 0,01$ (при введенні цитрату германію), у молодих цей показник становив $0,05 \pm 0,01$. Таким чином, застосування цитрату германію значно зменшувало функціонально-метаболічну активність нейтрофілів периферичної крові, що, на наш погляд, є результатом прояву його антиоксидантних властивостей. Виявлено зниження життєздатності ГК самиць зрілих мишей, що характеризуються зменшенням кількості живих та збільшенням некротичних та апоптотичних ГК. Крім того, наші результати показали, що у зрілих мишей відбувається надлишкове утворення вторинних продуктів ПОЛ: ТБК-РП, переважно більшість яких становить МДА. Саме останній вважають маркером ОС і ушкодження клітин. Він є мутагеном і має виражену цитотоксичність, яка спричиняє зміни в структурі клі-

тинної мембрани і здатна призводити до її розриву [17]. Отже, зростання концентрації МДА може бути однією з причин посилення некротичної загибелі ГК яєчників, яку було виявлено у зрілих мишей. Надлишкова генерація кінцевих продуктів ПОЛ супроводжувалася порушенням антиоксидантної функції, зокрема, зниженням вмісту церулоплазміну. Можна припустити, що підвищене використання церулоплазміну під час видалення вільних радикалів призвело до виснаження його продукції. Водночас дослідження вмісту ВГл, який є не менш важливим фактором антиоксидантної системи [18], навпаки, показало незначне, але вірогідне підвищення його концентрації в тканині печінки (яка є основним органом продукції цієї сполуки). Літературні дані щодо вікової динаміки окремих показників глутатіонової антиоксидантної системи досить суперечливі [6, 19–21]. Порушення окисно-відновлювального балансу може бути однією з вагомих причин посилення апоптозу ГК, яке було виявлено у зрілих мишей. Наше припущення підтверджується дослідженнями інших авторів [4, 19]. Вважають, що рівень апоптозу ГК є одним із показників життєздатності фолікулів та якості ооцитів і пов'язаний з результатами лікування безпліддя [19].

Нами встановлено також підвищений рівень функціонально-метаболічної активності клітин-ефекторів запалення. Однак у деяких працях, навпаки, вказано, що фагоцитоз нейтрофілів і продукція супероксида з віком знижується [22]. Підвищення метаболічної активності нейтрофілів є одним із проявів їх активації у відповідь на медіатори запалення [23]. Причому джерело вивільнення запальних факторів під час старіння вважається багатофакторним [24]. Виявлена нами активація нейтрофілів може бути пов'язана з наявністю хронічного запалення, ймовірність якого з віком зростає [25, 26], а також утворенням аутоантитіл, які розпізнають внутрішньоклітинні компоненти нейтрофілів. У такому разі активація нейтрофілів чинить

імунорегуляторний ефект, спрямований на зниження активації і проліферації Т-клітин, що є важливим для попередження розвитку аутоімунних захворювань та контролю інтенсивності запального процесу [25]. Таким чином, підсумовуючи отримані результати можна констатувати, що підвищення продукції АФК нейтрофілами разом з надлишковим утворенням продуктів ПОЛ та порушенням антиоксидантного захисту може спричинити пролонгацію та ускладнення запального процесу, посилення ОС, що негативно впливає на функціонально-морфологічний стан ГК яєчників зрілих мишей.

У пошуках шляхів корекції вікових змін, які призводять до зниження репродуктивного потенціалу жінки, нами був використаний цитрат германію. Проведені дослідження засвідчують цитопротективний його вплив на життєздатність ГК, а також підтверджують антиоксидантні властивості. Останні проявляються у зменшенні продукції ПОЛ (за вмістом МДА – кінцевого продукту ПОЛ), певною мірою нормалізації вмісту ендогенних антиоксидантів та зниженні функціонально-метаболічної активності клітин-ефекторів запалення. Зменшення некротичної загибелі ГК може бути одним із механізмів, який перериває одну із ланок «замкнутого» кола, яке підтримує запальний процес у яєчниках, і, таким чином, сприяє його послабленню. Покращення життєздатності ГК є важливим фактором, пов'язаним із функціональним станом фолікулів та якістю ооцитів, зважаючи на двобічний взаємозв'язок ооцитів та його фолікулярного оточення.

ВИСНОВКИ

Встановлено, що у самиць зрілих мишей знижується життєздатність та посилюється некротична та апоптотична загибель ГК яєчників. Підвищувався вміст ТБК-РП у тканині печінки та зменшувався церулоплазмін у сироватці крові, що вказує на порушення з віком рівноваги між процесами ліпопе-

роксидації та антиоксидантного захисту. Отримані результати показали позитивний вплив цитрату германію, спрямований на підвищення життєздатності ГК та попередження розвитку ОС у зрілих мишей, який вважається основним механізмом, що лежить в основі старіння яєчників. Результати свідчать про перспективність застосування цього препарату для корекції вікових змін в яєчниках зрілих мишей та збереження репродуктивного здоров'я.

The authors of this study confirm that the research and publication of the results were not associated with any conflicts regarding commercial or financial relations, relations with organizations and/or individuals who may have been related to the study, and interrelations of co-authors of the article.

O.A. Kondratska, N.G. Grushka, S.I. Pavlovich, R.I. Yanchii

CORRECTIVE EFFECT OF GERMANIUM CITRATE ON THE REPRODUCTIVE FUNCTION OF FEMALE OLD MICE

O.O. Bogomoletz Institute of Physiology National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv; e-mail: grunay@i.ua

Fertility decreases with a woman's age, which is primarily associated with a deterioration in the quality and a decrease in the number of oocytes. Oxidative stress is the most likely factor influencing the decline in oocyte competence. The study of the effect of drugs with antioxidant properties can be a successful strategy for preventive intervention to improve the reproductive potential of women, which is of great medical and social importance. The aim of this work was to evaluate the effect of Ge citrate, obtained by electropulse nanotechnology, on the viability of ovarian granulosa cells, the state of the pro- and antioxidant systems, and the metabolic activity of neutrophils in female old mice. The studies were carried out on mature females of the Albino line (young - at the age of 6-8 weeks, weighing 20-22 g; old - at the age of 8-9 months, weighing 30-34 g). The results showed that in female aged mice, there was a decrease in viability and an increase in necrotic and apoptotic death of ovarian granulosa cells (GC). An increase in the content of the reactive products of 2-thiobarbituric acid in the liver tissue was revealed. With regard to antioxidant protection, a decrease in the level of ceruloplasmin in the blood serum was observed, however, the level of reduced glutathione in the liver homogenate was slightly increased. There was also an increase in the metabolic activity of neutrophils. The use of

Ge citrate had a cytoprotective effect on the viability of GC, reducing their necrotic and apoptotic death. In addition, the effect of Ge citrate was accompanied by a significant decrease in lipid peroxidation, regulation of antioxidant protection, and a decrease in the functional activity of inflammatory effector cells, which was confirmed by a decrease in the activation of acid-independent and acid-dependent metabolism of neutrophils in the peripheral blood of old mice. In addition, the effect of Ge citrate was accompanied by a significant decrease in lipid peroxidation, the regulation of antioxidant protection, and a decrease in the functional activity of inflammatory effector cells, which was confirmed by a decrease in the activation of oxygen-independent and oxygen-dependent metabolism of peripheral blood neutrophils in old mice. Thus, the results obtained in old female mice showed a positive effect of Ge citrate in preventing the development of oxidative stress, which is considered the main mechanism underlying ovarian aging.
Key words: reproductive aging; germanium citrate; granulosa cell viability; TBA-reactive products; reduced glutathione; ceruloplasmin.

REFERENCES

1. Bertoldo MJ, Listijono DR, Ho WJ, Riepsamen AH, Goss DM, Richani D, et al. NAD⁺ Repletion rescues female fertility during reproductive aging. *Cell Rep.* 2020;30(6):1670-81.
2. Tatone C, Di Emidio G, Vitti M, Di Carlo M, Santini S Jr, D'Alessandro AM, et al. Sirtuin functions in female fertility: possible role in oxidative stress and aging. *Oxid Med Cell Long.* 2015;2015:659687.
3. Peters AE, Mihalas BP, Bromfield EG, Roman SD, Nixon B, et al. Autophagy in female fertility: a role in oxidative stress and aging. *Antioxid Redox Signal.* 2020;32(8):550-68.
4. Yong W, Ma H, Na M, Gao T, Zhang Y, Hao L, et al. Roles of melatonin in the field of reproductive medicine. *Biomed Pharmacother.* 2021;144:112001.
5. Agarwal A, Gupta S, Sharma RK. Role of oxidative stress in female reproduction. *Reprod Biol Endocrinol.* 2005;3:28.
6. Akila VP, Harishchandra H, D'souza V, D'souza B. Age related changes in lipid peroxidation and antioxidants in elderly people. *Ind J Clin Biochem.* 2007;22(1):131-4.
7. Kosinov MV, Kaplunenko VH. [Pat. of Ukraine No. 38391. 2009. IPC (2006): C07C 51/41, C07F 5/00, C07F 15/00, C07C 53/126 (2008.01), C07C 53/10 (2008.01), A23L 1/00, B82B 3/00. Method for metal carboxylates obtaining «Nanotechnology of obtaining metal carboxylates»]. Publ. 12.01.2009;Bull. N 1:5. [Ukrainian].
8. Dolaychuk OP, Fedoruk RS, Kropyvka SJ. Physiological reactivity and antioxidant defense system of the animal organism induced by germanium, chromium, and selenium "Nanoaquacitrates". *Agricult Sci Pract.* 2015;2:50-5.

9. Fedoruk RS, Khrabko MI, Tsap MM, Martsynko OE. Growth, development and reproductive function of female rats and their offspring viability at the conditions of the watering of different doses of citrate germanium. *Biol Tvarin*. 2016;18(3):97-106.
10. Fedoruk RS, Tesarivska UI, Khrabko MI, Tsap MM, Dolaychuk OP, Kropyvka SI. Haematological and biochemical parameters of the F2 rats organism in a period of prolonged watering of nano-Ge citrate. *Biol Tvarin*. 2017;19(3):115-21.
11. Wrede CE, Dickson LM, Lingohr MK, Briaud I, Rhodes CJ. Protein kinase B/Akt prevents fatty acid-induced apoptosis in pancreatic β -cells (INS-1). *J Biol Chem*. 2002;277:49676-84.
12. Devasagayam TP, Bloor KK, Ramasarma T. Methods for estimating lipid peroxidation: an analysis of merits and demerits. *Ind J Biochem Biophys*. 2003;40(5):300-8.
13. Giustarini D, Fanti P, Matteucci E, Rossi R. Micro-method for the determination of glutathione in human blood. *J Chromatogr B: Analyt Technol Biomed Life Sci*. 2014;964:191-4.
14. Ravin HA. An improved colorimetric enzymatic assay of ceruloplasmin. *J Lab Clin Med*. 1961;58:161-8.
15. Metcalf JA, Gallin JI, Nauseef WM, Root RK. Laboratory manual of neutrophil function. Raven Press. 1985;100.
16. Nagalievskaya M, Sabadashka M, Hachkova H, Sybirna N. Galega officinalis extract regulate the diabetes mellitus related violations of proliferation, functions and apoptosis of leukocytes. *BMC Complement Altern Med*. 2018;18(1):4.
17. Reznikov OH, Polumbryk OM, Balion YH, Polumbryk MO. Pro- and antioxidant systems and pathological processes in humans. *Visn Nat Akad Nauk Ukrainy*. 2014;10:17-29 [Ukrainian].
18. Gonchar OO, Karaban IM, Karasevich NV, Bratus LV, Mankovska IM. Cerebrolysin administration counteracts elevated oxidative stress in blood of patients with Parkinson's disease. *Fiziol Zh*. 2022;68(4):20-7.
19. Babayev E, Duncan FE. Age-associated changes in cumulus cells and follicular fluid: the local oocyte microenvironment as a determinant of gamete quality. *Biol Reprod*. 2022;106(2):351-65.
20. Debbbarh H, Louanjli N, Aboulmaouahib S, Jamil M, Ahbbas L, Kaarouch I, et al. Antioxidant activities and lipid peroxidation status in human follicular fluid: age-dependent change. *Zygote*. 2021;29(6):490-94.
21. Ghoneum M, Abdulmalek S, Pan D. Reversal of age-associated oxidative stress in mice by PFT, a novel kefir product. *Int J Immunopathol Pharmacol*. 2020;34:2058738420950149.
22. Sapey E, Greenwood H, Walton G, Mann E, Love A, Aaronson N, et al. Phosphoinositide 3-kinase inhibition restores neutrophil accuracy in the elderly: toward targeted treatments for immunosenescence. *Blood*. 2014;123(2):239-48.
23. Messerer DAC, Schmidt H, Frick M, Huber-Lang M. Ion and water transport in neutrophil granulocytes and its impairment during sepsis. *Int J Mol Sci*. 2021;22(4):1699.
24. De Maeyer RPH, Chambers ES. The impact of ageing on monocytes and macrophages. *Immunol Lett*. 2021 Feb;230:1-10.
25. Kramer PA, Prichard L, Chacko B, Ravi S, Overton ET, Heath SL, et al. Inhibition of the lymphocyte metabolic switch by the oxidative burst of human neutrophils. *Clin Sci (Lond)*. 2015;129(6):489-504.
26. Teissier T, Boulanger E, Cox LS. Interconnections between inflammation and immunosenescence during ageing. *Cells*. 2022;11(3):359.

*Матеріал надійшов
до редакції 31.01.2023*