

Argumenty potwierdzające możliwość neo-oogenezy w jajnikach dorosłych samic

*Leopold Śliwa

Zakład Biologii Rozwoju Człowieka, Instytut Pielęgniarstwa i Położnictwa, Wydział Nauk o Zdrowiu Uniwersytetu Jagiellońskiego – Collegium Medicum w Krakowie
Kierownik Zakładu: dr hab. Leopold Śliwa

ARGUMENTS FOR POSSIBILITY OF NEO-OOGENESIS IN ADULT FEMALE OVARY

Summary

The establishment of maximum reserve of the oogenetic cells in early fetal life and the lack of possibility of the multiply in post-natal period are widely known and proved in female mammalian reproductive biology. However, this statement was questioned by Johnson et al. (2004). According to Johnson, there are primordial germ cells in the ovarian envelope (*tunica albuginea*), which are able to undergo the mitotic divisions. Moreover, he postulates that oocytes undergo meiosis and mature in the formed ovarian follicles. This phenomenon was called a neo-oogenesis. The Johnson's publication was the beginning of research on possibilities and efficiency of this process.

Currently there is a lot of scientific evidence for and against the possibilities of the postnatal oocytes formation and the ovarian follicles regeneration in the mammals and, what is more important, in the human. The results of the following research may confirm the neo-oogenesis hypothesis:

1. The morphological tests, in which the histological and histochemical methods as well as the genetic modified primordial germ cells are used.
2. 5-bromo-2-deoxyuridine (BrdU) incorporation and detection in mtDNA anti-BrdU antibody in germ cells located in the ovarian surface epithelium (OSE), which indicates on division activity of examined cells.
3. Cultured of cells derived from OSE gives rise to oocyte-like cells, genetics analysis and transplantation to adult female.

Busulphan-induced depletion of the follicle reserve and regeneration de novo of ovarian follicle.

Identification of germ cells and oocytes derived from bone marrow and peripheral blood macrophage and follicle regeneration.

The further research, proper interpretation of the results, wide discussion and extensive knowledge of the oogenesis course and control in the mammals and human are required to elucidate this problem.

Key words: neo-oogenesis, adult ovary, fertilization ability

Jedną z podstawowych, a zarazem najważniejszą, cechą każdego żywego organizmu jest zdolność do reprodukcji, czyli pozostawiania po sobie potomstwa. Strategie reprodukcyjne reprezentowane w przyrodzie są rozmaite. W przypadku ssaków, a tym samym człowieka, jest nią żyworodność, czyli możliwość wewnętrznego zapłodnienia i rozwoju zarodka oraz płodu wewnątrz organizmu matki w trakcie procesu zwanego ciążą. Ta najbardziej wyrafinowana forma opieki wymaga od samicy dużego poświęcenia embriologicznego i ekologicznego. Możliwość płodzenia potomstwa jest możliwa jedynie, gdy u osobnika prawidłowo zachodzą procesy gametogenezy, czyli powstawania i dojrzewania zdolnych do zapłodnienia gamet. Fakt ten określany jest pierwotną cechą płodności. W drodze ewolucji, i jako cechy przystosowawcze, samce i samice ssaków reprezentują inne, różne pod wieloma względami, strategie przebiegu

i regulacji spermatogenezy i owogenezy. Choć u obu płci wyróżnicowanie się linii komórek płciowych i powstanie gonad zachodzi we wczesnych okresach rozwoju zarodkowego to dalszy przebieg jest u samców możliwy po osiągnięciu dojrzałości płciowej, natomiast u samic oogeneza przebiega zupełnie odmiennie (1).

Podstawowym dogmatem w embriologii ssaków, ważnym w naukach medycznych zajmujących się rozrodem i płodnością człowieka, jest stwierdzenie, że proces oogenezy rozpoczyna się w życiu płodowym i zatrzymuje w momencie urodzenia. Tym samym liczba potencjalnych komórek szlaku płciowego mogących w okresie życia kobiety przekształcić się w zdolne do zapłodnienia komórki jajowe jest wcześniej determinowana i nie powiększa się (2, 3). Utrata zdolności reprodukcyjnych, następująca z przyczyn naturalnych w okresie menopauzy, jest wynikiem wyczerpania się zapasu komórek

prekursorowych. Moment rozpoczęcia mejoz w okresie prenatalnego rozwoju jajników jest, jak się wydaje, okresem występowania największej możliwej liczby komórek prekursorowych dla gamet żeńskich, u człowieka przypada on na około 5. miesiąc życia płodowego. W tym momencie można doliczyć się w płodowych jajnikach aż 9 000 000 profazowych oocytów I rzędu. Od tej chwili oocyty mogą jedynie zanikać w wyniku procesów apoptotycznych, co prowadzi do redukcji ich liczby do około 1 000 000 w momencie urodzenia. Jest ona zależna od genetycznego mechanizmu regulacji apoptozy, między innymi proporcjonalnej aktywności genów Bax i Bcl-2. Na jej przebieg mają również wpływ działające lokalnie na terenie jajnika czynniki wzrostu IGF-1 i TGF β (4). Wokół oocytów profazalnych w okresie życia płodowego zaczynają formować się pierwotne pęcherzyki jajnikowe, w których oocyty przechodzą dalsze etapy rozwoju zakończone owulacją do bańki jajowodu. Liczne obserwacje histologiczne prowadzone na wielu gatunkach ssaków i człowieku wskazują na fakt, że liczba pęcherzyków jajnikowych, a tym samym oocytów jest zdeterminowana prenatalnie i nie jest możliwe ich powstawanie i uzupełnianie liczby w okresie dorosłego życia samic. Pogląd ten, powstały w latach 50., a ugruntowany ostatecznie w latach 60. XX wieku, wydaje się jednym z dogmatów biologii rozwoju ssaków (5, 6).

Czy jest on jednak niezachwianym pewnikiem?

Badania mające na celu wyjaśnienie problemu przebiegu i mechanizmów kierujących powstawaniem komórek jajowych u ssaków przeprowadzono również w aspekcie porównawczym. Objęto nimi wiele gatunków, a uzyskane wyniki potwierdziły ogólnie przyjęty model wczesnej oogenezy jako procesu zachodzącego w okresie embrionalnym. Jednak w przypadku małpiatek udało się stwierdzić wyjątkowość tych procesów. Opisanie możliwości powstawania i odnawiania się dzięki podziałom mitotycznym pierwotnych komórek płciowych i, dzięki temu, regeneracji puli pierwotnych pęcherzyków w jajnikach u dorosłych, dojrzałych płciowo samic. Tę wyjątkową możliwość wtórnego, postnatalnego powstawania pierwotnych pęcherzyków jajnikowych opisano jako naturalny i ważny reprodukcyjnie proces, zapewniający wydłużoną płodność u małpiatek, między innymi gatunków: *Loristardigraduslydekkerianus* i *Nycticebuscoucang*. Pierwotne komórki płciowe, zdolne do stałych podziałów mitotycznych, odkryto u nich w najbardziej zewnętrznej strefie korowej dojrzałego jajnika. Komórki te spełniały wszystkie kryteria dla tego typu komórek, a przede wszystkim przechodziły liczne podziały mitotyczne i mogły rozpocząć mejozy, a w trakcie ich profaz różnicowały się wokół nich nowe, pierwotne pęcherzyki jajowe. Wzrastały one i były źródłem owulujących komórek rozrodczych (oocytów II rzędu) zdolnych do zapłodnienia i efektywnie decydujących o płodności osobników nawet w starszym wieku (7-10).

Jednak również w przypadku innych ssaków, jak również człowieka, stała obecność i możliwość odnowy puli pierwotnych komórek płciowych w jajnikach jest możliwa. Jedną z pośrednich przesłanek, uzasadniających możliwość występowania w dorosłych jajnikach komórek prekursorowych dla oocytów, są obserwacje kliniczne przyczyn powstawania wielu form nowotworów jajników

u kobiet. Zdecydowana większość form tych nowotworów ma pochodzenie endodermalne lub wywodzi się z najbardziej korowych stref jajnika, a zwłaszcza z komórek nabłonka (*tunicalabuginea*) pokrywającego ten narząd. Sugeruje to, że w tych rejonach mogą znajdować się niewyspecjalizowane, pierwotne komórki, które po zaburzeniach genetycznych lub dysfunkcji molekularnych systemów regulacyjnych mogą wznowić proliferację i namnażając się klonalnie dać początek nowotworowej tkance guza. Podobne do powstających z zewnętrznych komórek jajnika histologiczne typy nowotworów rozpoznano w przypadku ich pochodzenia z pęcherzyków jajnikowych, zarówno pierwotnych, jak i rozwijających się. W tym przypadku, obok mutacji w genomach komórek linii płciowej lub somatycznych, przyczyną nowotworzenia były zaburzenia w parakrynowym oddziaływaniu między komórkami, szczególnie w proporcjach czynników wzrostu: IGF, EGF i TGF oraz obecności lub braku ich receptorów komórkowych (11-13).

Przełomowym momentem w badaniach nad procesami neo-oogenezy u ssaków, od którego wzrosło zainteresowanie problemem, było opublikowanie w 2004 roku w *Nature* pracy, zdaniem autorów, jednoznacznie wskazującej na obecności gonocytów i odnawiania puli pęcherzyków jajnikowych u dorosłych samic myszy (14). Stosując, obok podstawowej metody histologicznej, kilka nowoczesnych metod, między innymi immunohistochemiczne znakowanie komórek specyficznymi markerami, odwrotną transkrypcję PCR oraz transplantację komórek zwierząt transgenicznych znakowanych poprzez przeniesienie genu białka zielonej fluorescencji, autorzy pracy udowodnili występowanie pierwotnych komórek płciowych w nabłonku pokrywającym jajniki. Komórki te nie tylko tkwiły w nabłonku, ale również miały zdolność do mitoz oraz rozpoczynania podziałów mejozycznych, przekształcania się w oocyty i odtwarzania puli pierwotnych pęcherzyków jajnikowych w jajnikach samic wysterlizowanych w wyniku podania busulphanu. Nie udało się jednak określić, jaki jest mechanizm tych procesów i czy mają one miejsce w nieuszkodzonych jajnikach i zachodzą w naturalnych procesach cykli estralnych myszy. Praca ta wskazuje jednak na możliwość regeneracji liczby oocytów w postnatalnym okresie oogenezy również innych samic ssaków.

Naturalnym rozwinięciem kierunku badań jest stwierdzenie neo-oogenezy u człowieka, jak również implikacje zdrowotne i znalezienie zastosowań klinicznych tego procesu.

Opublikowane w latach 2004 i 2005 wyniki badań przemawiają za możliwością obecności i aktywności pierwotnych komórek płciowych, jak również zdolności jajników do formowania pierwotnych pęcherzyków jajnikowych nie tylko w okresie płodowym, ale również u dorosłych, dojrzałych płciowo kobiet. Autorzy potwierdzają tezę, że populacja pęcherzyków jest w jajniku bardzo dynamiczna i obejmuje procesy ich zamierania oraz rozwoju i owulacji. Prenatalne pochodzenie podstawowej puli oocytów i pierwotnych pęcherzyków nie budzi u nich żadnych zastrzeżeń, podobnie jak pochodzenie i różnicowanie się komórek pęcherzykowych otaczających oocyty. Jednak obserwacje struktury i funkcjonowania jajników dorosłych kobiet pozwoliły autorom na postawienie hipotezy, że

pierwotne pęcherzyki jajnikowe mogą tworzyć się i odnawiać w okresie postnatalnym. Źródłem nowych komórek prątkiowych oraz prymitywnych komórek granulanych, z których różnicują się warstwy pęcherzykowe, może być osłonka biaława jajnika (*tunica albuginea*) lub nabłonek powierzchniowy jajnika – struktury zawierające, według autorów pracy, bipotencjalne komórki prekursorowe (15, 16).

W tym samym czasie stwierdzono, że pierwotne komórki prekursorowe dla piciowych w organizmie ssaka mogą przetrwać okres prenatalny i występować u dorosłego osobnika w innych tkankach i narządach niż jajniki. Takim miejscem może być tkanka siateczkowo-śródbłonkowa szpiku kostnego, z którego naturalnym sposobem mogą po namnożeniu przedostawać się i krążyć w krwi obwodowej, mając zdolność do kolonizacji jajników (15, 17). Jednak brak możliwości przeprowadzenia eksperymentu embriologicznego na jajnikach kobiet, a konieczność badań jedynie materiału sekcyjnego lub kultur komórkowych, uniemożliwia jednoznaczne zweryfikowanie postawionej hipotezy mówiącej, że ostateczna liczba oocytów u człowieka determinowana jest w okresie prenatalnym, a w jajnikach, w odróżnieniu od jąder, poza ten okres nie są magazynowane zdolne do mitotycznego mnożenia pierwotne komórki piciowe. Problem pozostał jednak otwarty, a jego rozwiązanie wymaga udoskonalenia technik badawczych lub zmiany filozoficznego podejścia do ewolucyjnych mechanizmów kształtujących swoistość przebiegu procesów i przystosowań reprodukcyjnych u różnych gatunków ssaków, w tym i człowieka (3).

Gromadzenie informacji naukowych, które potwierdzają możliwość postnatalnego powstawania oocytów i regeneracji puli pęcherzyków jajnikowych u samic większości ssaków, a przede wszystkim człowieka, ale również weryfikują tę hipotezę, odbywa się z zastosowaniem kilku metod badawczych (18, 19).

Pierwsza grupa to badania morfologiczne, umożliwiające identyfikację w jajnikach odpowiednich typów komórek z zastosowaniem technik histologicznych i histochemicznych. Ich uzupełnieniem jest zastosowanie 5-bromo-2-deoksyurydyny (BrdU), włączającej się do mitochondrialnego DNA komórek, połączone z wykrywaniem w komórkach osłonki jajnika przeciwciał anty-BrdU, co wskazujące na aktywność podziałową analizowanych komórek, a tym samym ich znaczenie w procesie odnowy gonocytów. W zdolnych do neo-oogenezy, wyróżniających się wielkością wśród nabłonkowych komórkach osłonki jajnika wykazano aktywność markerowego enzymu fosfatazy alkalicznej. Reakcja taka jest charakterystyczna w gonocytach formujących się w okresie prenatalnym (14, 15, 20), jak również obecność markerowego, specyficznego dla mejozy białka SCP3 (21) oraz wysokiej aktywności transkrypcyjnej genów aktywnych w początkowych etapach podziału redukcyjnego komórek prekursorowych gamet (22). O zdolności do podziałów komórkowych poprzedzających zmiany i różnicowanie komórek świadczy również zdolność do wbudowywania BrdU do replikującego DNA, zwłaszcza w obrębie mitochondriów (mtDNA). Proces ten obserwowany w dzielących się mitotycznie komórkach szlaku piciowego gonad, jak również wchodzących w mejozę oocytach,

ma miejsce również w komórkach osłonki jajnika (3, 23, 24) i jest interpretowany jako ich przygotowanie do przekształcenia się w neo-oocytne gonocyty (14). Badania te mogą być uzupełniane obserwacjami przeprowadzonymi z zastosowaniem i możliwością detekcji przeciwciał anty-BrdU. Wskazują one na fakt, że replikacji ulega nie tylko mtDNA, ale również DNA jądrowy, co jest warunkiem koniecznym dla prawidłowych podziałów komórkowych (25, 26).

Nowoczesne techniki hodowli komórkowych w warunkach *in vitro* pozwalają na analizowanie podziałów, zachowania i predyspozycji do różnicowania się w podobne do oocytów formy komórek pochodzących z osłonki jajnika, jak również ich genetyczną analizę oraz przeszczepianie do jajników dorosłych samic i śledzenie dalszych losów w jego tkance (3, 23). Uzyskane komórki zostały określone przez autorów mianem komórek podobnych do oocytów (*oocyte-like*), czego wyrazem było tworzenie struktur podobnych do osłonki przejrzystej (*zona pellucida*) oraz obecność białkowych antygenów charakterystycznych dla tej błony jajowej. Dodatkowym argumentem były obserwacje zachowania się jąder komórkowych przypominające zmiany zachodzące w normalnych oocytach, określane jako rozpad pęcherzyka zarodkowego (*germinal vesicle breakdown*). Uzyskane wyniki nie są jednak całkowicie zgodne z procesami mającymi miejsce u myszy, w oocytach uzyskiwanych w wyniku hodowli i różnicowania *in vitro* z embrionalnych komórek macierzystych (27).

Odmiernym modelem badawczym były eksperymenty polegające na blokowaniu funkcji jajników dorosłych samic myszy i obserwowanie cofania się wywołanych chemicznie zaburzeń. Czynnikiem użytym był w tym przypadku busulphan, cytostatyk wywołujący apoptozę komórek podziałowych, co w obrębie jajników powoduje rozpad i eliminację pęcherzyków jajnikowych prowadzącą do sterility zwierząt (28, 29). Wysterylizowane z zastosowaniem tego środka myszy, jak wykazała analiza histologiczna, nie miały w jajnikach pęcherzyków, apoptoza dotknęła zwłaszcza leżące w najbardziej zewnętrznych warstwach kory jajnika pęcherzyki pierwotne. Pozostawienie zwierząt w hodowli przez kilka miesięcy prowadziło do poprawy funkcji jajników. Pod osłonką jajnika pojawiały się pojedyncze pęcherzyki pierwotne, a nawet udało się zaobserwować dalsze stadia ich rozwoju. Wyniki te były interpretowane jako odnowa i regeneracja pęcherzyków zachodząca w oparciu o komórki podobne do gonocytów, wywodzące się z osłonki jajnika. Nie wiadomo jednak, czy w tym przypadku samice odzyskiwały przynajmniej potencjalną płodność, gdyż nie śledzono dalszych losów odnowionej populacji pęcherzyków (14, 30).

Jak widać neo-oogeneza może zostać zapoczątkowana również dzięki możliwości różnicowania się gonocytów z niezróżnicowanych komórek prekursorowych pochodzących spoza jajnika. Mogą to być różnego typu pierwotne komórki biorące normalnie udział w procesach regeneracji lub fizjologicznego funkcjonowania narządów (31). Szczególną uwagę zwrócono na pochodzące z układu krwiotwórczego, czerwonego szpiku kostnego (32, 33) lub będące składnikami i krążące w krwi (17). Stwierdzono możliwość przemieszczania się komórek

wraz z krwią do jajników, przenikania przez ściany naczyń i kolonizacji ich warstwy korowej, w obrębie której mogą mieć miejsce procesy ich różnicowania w komórki gonialne, co ostatecznie prowadzi do powstawania funkcjonalnych i zdolnych do owulacji pęcherzyków jajnikowych, zawierających prawidłowe, w pełni ukształtowane i zdolne do owulacji oocyty. Bardziej obiecujące wyniki uzyskano w trakcie badań nad przeszczepianiem komórek szpiku kostnego, co, jak sugerują autorzy, może być nawet w przyszłości zastosowane jako metoda leczenia niepłodności wywołanej uszkodzającym działaniem na jajniki czynników zewnętrznych lub chemioterapii.

Uzyskane do chwili obecnej wyniki badań w kierunku poznawania procesu neo-oogenezy są najczęściej pionierskie, niepotwierdzone, a nawet mają charakter wstępny. Akceptacja lub odrzucenie hipotezy o możliwości formowania komórek szlaku płciowego u ssaków w okresie postnatalnym (dorosłych samic) wymaga jeszcze wielu badań uzupełniających, a zwłaszcza potwierdzających dotychczasowe osiągnięcia, jak również rozległej i wnikliwej konfrontacji wyników z innymi doniesieniami z pokrewnych dziedzin oraz starannej interpretacji, a nawet reinterpretacji wyników. Dopiero te działania mogą doprowadzić do lepszego poznania procesu oogenezy, a nawet, jak sugerują niektórzy autorzy, zastosowania wyników w praktyce klinicznej, np. przy leczeniu niektórych form niepłodności u ludzi. □

Piśmiennictwo

1. Kloc H, Biliński S: Rola plazmy płciowej w specyfikacji linii płciowej u bezkręgowców i kręgowców. *Postępy Biol Kom* 2002; 29: 301-317. 2. Bielańska-Osuchowska Z: Oogeneza u ssaków. [W:] Kawiak J, Osuchowska Z, Przełęcka A. *Ultrastruktura i funkcja komórki*. PWN, Warszawa 1994; t. 6: 153-175. 3. Bukovsky A, Svetlikova M, Caudle MR: Oogenesis in cultures derived from adult ovaries. *Biol Reprod Endocrinol* 2005; 3: 17-27. 4. Byskov AG: Regulation of meiosis in mammals. *Ann Anim Bioch Biophys* 1978; 19: 1251-1267. 5. Peters H, Levy E, Crone M: DNA synthesis in oocytes of mouse embryos. *Nature* 1962; 95: 915-517. 6. Zuckerman S: The number of oocytes in the mature ovary. *Recent Prog Horm Res* 1951; 227: 187-204. 7. Butler H, Juma MB: Oogenesis in an adult prosimians. *Nature* 1978; 226: 552-556. 8. David GF, Amand Kumar TC, Baker TG: Uptake of tritiated thymidine by primordial germinal cells in the ovaries of the adult slender loris. *J Reprod Fert* 1974; 41: 447-456. 9. Duke KL: Oogenetic activity of the fetal-type in the ovary of the adult slow loris, *Nycticebus coucang*. *Folia Primatol* 1967; 7: 150-159. 10. Telfer EE: Germline stem cells in the postnatal mammalian ovary: A phenomenon of prosimians primates and mice? *Reprod Biol Endocrinol* 2004; 2: 24-33. 11. Auersperg N, Wong AST, Choi K-C et al.: Ovarian surface epithelium: biology, endocrinology, and pathology. *Endocrine Rev* 2001; 22: 255-263. 12. Vanderhyden B, Shaw TJ, Ethier J-F: Animal models of

ovarian cancer. *Reprod Biol Endocrinol* 2003; 1: 67-81. 13. Wong AST, Auersperg N: Ovarian surface epithelium: family history and early events in ovarian cancer. *Biol Reprod Endocrinol* 2003; 1: 70-95. 14. Johnson J, Canning J, Kaneko Tet al.: Germline stem cells and follicular renewal in the postnatal mammalian ovary. *Nature* 2004; 428: 145-147. 15. Bukovsky A: Can ovarian infertility be treated with bone marrow- or ovary-derived germ cells. *Biol Reprod Endocrinol* 2005; 3: 36-41. 16. Bukovsky A, Caudle MR, Svetlikova M, Upadhyaya NB: Origin of germ cells and formation of new primary follicles in adult human ovaries. *Reprod Biol Endocrinol* 2004; 2: 41-54. 17. Johnson J, Bagley J, Skaznik-Wikiel M et al.: Oocyte generation in adult mammalian ovaries by putative germ cells in bone marrow and peripheral blood. *Cell* 2005; 122: 303-311. 18. De Felici M: Germ stem cells in the mammalian adult ovary: considerations by a fan of the primordial germ cells. *Molec Human Reprod* 2010; 16: 632-636. 19. Notarianni E: Reinterpretation of evidence advanced for neo-oogenesis in mammals, in terms of a finite oocyte reserve. *J Ovarian Res* 2011; 4: 1-20. 20. Śliwa L: Germline stem cells and possibility of neo-oogenesis in ovary in the adult mice. *XXIX Konferencja Embriologiczna*. Toruń, Ciecchocinek, 19-21 maja. *Acta Biol Cracov* 2010; 1 (Suppl 52): 90. 21. Bukovsky A, Caudle MR, Gupta SK et al.: Mammalian neo-oogenesis and expression of meiosis-specific protein SCP3 in adult human and monkey ovaries. *Cell Cycle* 2008; 7: 693-686. 22. Liu Y, Wu C, Lyu Q et al.: Germline stem cells and neo-oogenesis in the adult human ovary. *Develop Biol* 2007; 306: 112-120. 23. Virant-Klun I, Rožman P, Cveticanin B et al.: Parthenogenetic embryo-like structures in the human ovarian surface epithelium cell culture in postmenopausal women with no naturally present follicles and oocytes. *Stem Cells Dev* 2009; 18: 137-149. 24. Pachciarotti J, Maki C, Ramos T et al.: Differentiation potential of germ line stem cells derives from postnatal mouse ovary. *Differentiation* 2010; 79: 159-170. 25. Jansen P, De Boer K: The bottleneck imperatives in oogenesis and ovarian follicles fate. *Mol Cell Endocrinol* 1998; 145: 81-88. 26. Piko I, Matsumoto I: Number of mitochondrial and some properties of mitochondrial DNA in the mouse egg. *Dev Biol* 1976; 49: 1-10. 27. Hubner K, Fuhmann G, Christenson LK et al.: Derivation of oocytes from mouse embryonic stem cells. *Science* 2003; 300: 1251-1256. 28. Pelloux MC, Picon R, Gangerau MN, Darmoul D: Effects of busulphan on ovarian folliculogenesis, steroidogenesis and anti-Mullerian activity of rat neonates. *Acta Endocrinol* 1988; 118: 218-226. 29. Choi Y-J, Ok D-W, Kwon D-N et al.: Murine male germ cells apoptosis induced by busulphan treatment correlates with loss of c-kit-expression in a Fas/Fast – and P53 independent manner. *FEBS Lett* 2004; 575: 41-51. 30. Tilly JL, Nikura Y, Rueder BR: The current studies of evidence for and against postnatal oogenesis in mammals: a case of ovarian optimism versus pessimism? *Biol Reprod* 2009; 80: 2-12. 31. Abban G, Johnson J: Stem cell support of oogenesis in the human. *Human Reprod* 2009; 24: 2974-2978. 32. Eggen K, Jurga S, Gosden R et al.: Ovulated oocytes in adult mice derive from non-circulating germ cells. *Nature* 2006; 441: 1109-1114. 33. Lee HJ, Selesniemi K, Nikura Y et al.: Bonemarrow transplantation generates immature oocytes and rescues longterm fertility in a preclinical model of chemotherapy induced premature ovarian failure. *J Clin Onco* 2007; 25: 3198-3204.

otrzymano/received: 08.05.2012
zaakceptowano/accepted: 25.05.2012

Adres do korespondencji:
*Leopold Śliwa
Zakład Biologii Rozwoju Człowieka UJ-CM
ul. Kopernika 7, 31-034 Kraków
tel.: +48 (12) 422-99-49
e-mail: leosliwa@cm-uj.krakow.pl