

Rak jajnika – pośrednie potwierdzenie postnatalnej obecności pierwotnych komórek płciowych w jajnikach dorosłych kobiet

*Leopold Śliwa

Zakład Biologii Rozwoju Człowieka, Wydział Nauk o Zdrowiu, Collegium Medicum,
Uniwersytet Jagielloński, Kraków
Kierownik Zakładu: dr hab. Leopold Śliwa

OVARIAN CANCER – INDIRECT CONFIRMATION OF POSTNATAL PRESENCE OF PRIMORDIAL GERM CELLS IN THE ADULT FEMALE GONAD

S u m m a r y

The establishment of maximum reserve of the oogenetic cells in early fetal life and the lack of possibility of the multiply in postnatal period known and proved in reproductive biology. According to effects of experimental investigation, there are primordial germ cells in the ovarian envelope (tunica albuginea), with are able to undergo the mitotic divisions. Moreover, are postulates that oocyte undergo meiosis and mature in the formed ovarian follicles. This phenomenon was called a neo-oogenesis. The results of the following experimental and clinical research may confirm the neo-oogenesis hypothesis in adult mammals female. There are some evidences in support of germ cells and neo-oogenesis existence in the adult ovary. One of them is the observation of ovarian cancers development, mainly teratoma. The histological structure and course of teratoma disease indicate that this cancer type derives from ovarian germ cells. Nowadays, more precise examinations are needed to explain the model of postnatal oogenesis in mammals.

Key words: ovarian cancer, primordial germ cells, neo-oogenesis

Uzyskanie potomstwa i tym samym przekazanie następnym pokoleniom własnych genów, przez co rozpoznać ich w populacji jest dążeniem każdego żywego organizmu. Chociaż strategie reprodukcyjne istniejące w przyrodzie są rozmaite, to można zaobserwować ich duże podobieństwo w poszczególnych grupach systematycznych. Ssaki, a wśród nich naczelnie i człowiek są żyworodne. Zapłodnienie, czyli połączenie się gamet w zygotę zachodzi w drogach rodnych samicy, a rozwój płodowy odbywa się w sprzyjającym środowisku błon płodowych dzięki funkcjom łożyska zapewniającego kontakt z organizmem rodzicielskim. Płodność, czyli możliwość uzyskania drogą naturalną potomstwa jest w pierwszym rzędzie możliwa w przypadku prawidłowego działania gruczołów rozrodczych, a przede wszystkim przebiegu procesów gametogenezy, czyli zdolności do produkcji gamet: komórek jajowych i plemników. Cecha ta określana jest mianem pierwotnej cechy płodności.

Gametogeneza samic (oogeneza) i samców (spermatogeneza) przebiega odmiennie. Wyróżnicowanie się spośród komórek somatycznych zarodka, linii komórek płciowych i powstanie gonad (gruczołów rozrodczych) zachodzi u obu płci we wczesnych okresach rozwoju zarodkowego i ma podobny, choć różniący się szczegółami przebieg. U samców ostateczne różnicowanie komórek linii płciowej i ich podziały meiotyczne oraz różnicowanie się plemników zachodzą po uzyskaniu dojrzałości płciowej. Proces ten jest ciągły oraz bardzo efektywny, czego wynikiem jest produkcja miliardów plemników. W przypadku samic różnicowanie komórek linii płciowej oraz podziały meiotyczne zachodzą we wczesnym życiu płodowym, a charakterystycznym dla tego procesu jest płodowa determinacja liczby zdolnych do mejozy oocytów będących prekursorami zdolnych do zapłodnienia komórek jajowych, których ostateczne kształtowanie ma miejsce jedynie w okresie aktywności reprodukcyjnej.

Właściwość ta decyduje o ich ograniczonej i znacznie mniejszej liczbie u każdego osobnika. Przykładowo u człowieka szacunkowa liczba owulujących przez cały okres płodności, w cyklach płciowych oocytów II rzędu (komórek biorących bezpośredni udział w procesie zapłodnienia) wynosi jedynie około 400 (1).

Wielokrotnie opisany przez embriologów ssaków i ważny w naukach medycznych, zajmujących się rozrodem i płodnością, proces oogenezy człowieka 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, a jedynie stale obniża w wyniku intensywnych procesów ich apoptotycznej eliminacji (2, 3). Utrata zdolności reprodukcyjnych następująca z przyczyn naturalnych w okresie menopauzy jest wynikiem wyczerpania się zapasu komórek prekursorowych. Moment rozpoczęcia mejozy 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 okresie życia płodowego można doliczyć się w embrionalnych jajnikach aż 9 000 000 profazalnych oocytów I rzędu. Od tej chwili oocyty mogą jedynie zanikać, co prowadzi do redukcji ich liczby do około 1 000 000 w momencie urodzenia. Proces ten jest zależny od genetycznego mechanizmu regulacji apoptozy, m.in. proporcjonalnej aktywności genów Bax i Bcl-2. Na przebieg apoptozy mają również wpływ działające lokalnie na terenie jajnika czynniki wzrostu (4). Wokół oocytów profazalnych w okresie życia płodowego zaczynają formować się pierwotne pęcherzyki jajnikowe, w których po powiększeniu i różnicowaniu podczas cykli płciowych w okresie dojrzałości płciowej, oocyty przechodzą dalsze etapy rozwoju zakończone ich owulacją do bańki jajowodowej. Liczne obserwacje histologiczne prowadzone na wielu gatunkach ssaków i człowieka 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, który powstał w latach 50-tych, a ugruntował się ostatecznie w latach 60-tych XX wieku, wydaje się być jednym z dogmatów biologii rozwoju ssaków (5, 6).

Prowadzone w aspekcie ewolucyjnym i porównawczym badania przebiegu i efektywności oogenezy u samic wielu różnych gatunków ssaków, generalnie potwierdziły założenia dotyczące embrionalnej determinacji rozwojowej linii płciowej i przebiegu kształtowania komórek jajowych, a tym samym regulacji płodności. Jednak w przypadku kilku gatunków ssaków wyniki obserwacji były odmienne. Szczególnie intrygujące są badania dotyczące kilku gatunków małpiatek, u których opisano możliwości wtórnego powstawania i odnawiania się dzięki podziałom mitotycznym pierwotnych komórek płciowych w okresie postnatalnym, a szczególnie w trakcie aktywności reprodukcyjnej. Dzięki temu procesowi u zwierząt tych istnieje możliwość regeneracji i odnawiania się puli pierwotnych pęcherzyków w jajnikach

u dorosłych, dojrzałych płciowo samic. Tą wyjątkową, jak się do niedawna wydawało cechą wtórnego, postnatalnego powstawania pierwotnych pęcherzyków jajnikowych opisano jako naturalny i ważny reprodukcyjnie proces zapewniający wydłużoną płodność, m.in. u samic gatunków: *Loris tardigradus lydekkerianus* i *Nycticebus coucang*. Pierwotne komórki płciowe odkryto i opisano w najbardziej zewnętrznej strefie korowej dojrzałego jajnika. Komórki te spełniały wszystkie kryteria dla typu pierwotnych komórek płciowych (gonocytów) lub oogonii płodowych. Mają przede wszystkim, zachowaną naturalną zdolność do aktywnych podziałów mitotycznych, po których rozpoczynały redukcyjne podziały meiotyczne zachowując się jak typowe oocyty I rzędu, gdyż w trakcie profazy otaczały się komórkami ziarnistymi kory jajnika, różnicującymi się stopniowo i formującymi wokół nich nowe, pierwotne pęcherzyki jajowe. Pęcherzyki te mają zdolność w dojrzałych jajnikach tych zwierząt do wzrostu i dojrzewania, a po owulacji są źródłem komórek rozrodczych (oocytów II rzędu) zdolnych do zapłodnienia. Proces ten jest ważny i efektywnie decydował o zwiększonej płodności samic nawet w starszym wieku. Tak zmodyfikowany przebieg żeńskiej gametogenezy nazwany został neo-oogenezą (7-10).

Jednak, jak wykazały dokładne badania embriologiczne również w przypadku innych gatunków ssaków, jak również człowieka stała obecność pierwotnych komórek płciowych (oogonii) i możliwość odnowy puli pierwotnych komórek płciowych w jajnikach, chociaż szczątkowa jest możliwa. Pierwsze, dobrze udokumentowane argumenty przemawiające za możliwością neo-oogenezy w jajnikach dorosłych samic ssaków opublikowano w 2004 roku w *Nature* w pracy, w której autorzy jednoznacznie wskazującej na obecności podobnych do gonocytów komórek w osłonce białawej (łac. *tunica albuginea*) jajnika gonocytów i odnawiania dzięki nim puli pęcherzyków jajnikowych u dorosłych samic myszy (11). Stosując obok metody podstawowej, histologicznej, kilka nowoczesnych metod, m.in. immunohistochemiczne znakowanie komórek specyficznymi markerami, odwrotną transkrypcję PCR oraz zastosowanie transplantacji komórek zwierząt transgenicznych znakowanych poprzez przeniesienie genu białka zielonej fluorescencji. Autorzy pracy udowodnili występowanie pierwotnych komórek płciowych w nabłonku pokrywającym jajniki. Komórki te miały zdolność do mitoz oraz podziałów meiotycznych, przekształcania się w oocyty i odtwarzania puli pierwotnych pęcherzyków jajnikowych w jajnikach samic wysterylizowanych w wyniku podania busulphanu.

W ostatnich latach przeprowadzono ważne z punktu widzenia klinicznego badania, wskazujące po raz pierwszy na możliwość zachodzenia neo-oogenezy w jajnikach dorosłych kobiet. Stwierdzono, że populacja pęcherzyków pierwotnych i wzrastających jest w jajniku bardzo dynamiczna i obejmuje procesy ich zamierania oraz rozwoju i owulacji. Prenatalne pochodzenie podstawowej puli oocytów i pierwotnych pęcherzyków nie budzi zastrzeżeń, podobnie jak pochodzenie i różnicowanie się komórek pęcherzykowych otaczających oocyty. Jednak obserwacje struktury i funkcjonowania jajników dorosłych kobiet pozwoliły na postawienie hipotezy,

że pierwotne pęcherzyki jajnikowe mogą tworzyć się i odnawiać u kobiet w okresie postnatalnym. Źródłem nowych komórek prąplciowych przekształcających się w oocyty oraz prymitywnych komórek granulanych formujących pęcherzyki pierwotne, z których różnicują się ostatecznie wszystkie warstwy pęcherzyków rosnących i dojrzewających może być osłonka biaława jajnika (łac. *tunica albuginea*) lub nabłonek powierzchniowy jajnika, struktury zawierające wyjściowo multipotentjalne komórki prekursorowe (12, 13).

Prawdopodobnym źródłem pierwotnych komórek płciowych mogą być również prekursorowe komórki macierzyste zlokalizowane u dorosłego osobnika w różnych narządach poza jajnikiem. Przykładem mogą być komórki pienne tkanki siateczkowo-śródbłonkowej szpiku kostnego. Jak wykazano w badaniach modelowych mogą się one namnażać i uwalniać do krwi i wraz z nią przemieszczać się do jajników, gdzie po kolonizacji i rozpoczęciu podziału mejotycznego w warstwie korowej mogą zróżnicować się w funkcjonalne oogonia organizujące wokół siebie warstwy komórek ziarnistych nowych pęcherzyków o charakterze pierwotnych (12, 14).

Weryfikację hipotezy neo-oogenezy sformułowanej wyjściowo na podstawie wyników uzyskanych w trakcie badań na zwierzętach laboratoryjnych prowadzi się obecnie z zastosowaniem różnorodnych metod badawczych również w odniesieniu do jajników człowieka. W przypadku jajników kobiet niedostępne są bezpośrednie badania eksperymentalne, dlatego też stosuje się metody pośredniego uzyskiwania informacji. Porównując ich wyniki ekstrapolując dane uzyskane w badaniach zwierząt laboratoryjnych uzyskuje się wartościowe pogłębiane wiedzy klinicznej dotyczącej (15, 16).

W pierwszym rzędzie prowadzone są badania morfologiczne, umożliwiające identyfikację w jajnikach odpowiednich typów komórek z zastosowaniem technik histologicznych i histochemicznych. Ich uzupełnieniem jest zastosowanie 5-bromo-2-deoxyuridyny (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 (11, 12, 17). W uważanych za gonocyty komórkach osłonki jajnika stwierdzono również obecność markerowego, specyficznego dla mejozy białka SCP3 oraz wysokiej aktywności transkrypcyjnej genów aktywnych w początkowych etapach podziału redukcyjnego komórek prekursorowych gamet (18). O możliwości podziałów mitotycznych w komórkowych prekursorowych świadczy również zdolność do wbudowywania BrdU do replikującego DNA, zwłaszcza w obrębie mitochondriów (mtDNA). Proces ten jest charakterystyczny dla namnażających się komórkach szlaku płciowego w jajnikach embrionalnych, jak również niektórych komórkach osłonki jajnika dorosłych kobiet (3, 19, 20) i w tym przypadku wyniki można interpretować jako ich przygotowanie wybranych komórek do neo-oogenezy (11). 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 (21, 22).

Uzupełnieniem i poszerzeniem tych danych są badania z zastosowaniem hodowli komórkowych *in vitro* w trakcie których analizuje się dynamikę podziałów i możliwości różnicowania komórek pochodzących z osłonki jajnika w struktury podobne do oocytów. W przypadku zwierząt możliwe jest przeszczepianie tak uzyskanych komórek do jajników i badanie dalszych losów w warunkach *in situ* (3, 20, 23).

Ważnych informacji dostarczyły również eksperymenty polegające na sterylizacji dorosłych samic myszy na drodze podawania busulphanu, cytostatyka wywołującego apoptozę dzielących się komórek, a w efekcie rozpad i zanikanie wszystkich stadiów pęcherzyków jajnikowych, co powoduje całkowitą sterylność zwierząt (24, 25). U samic traktowanych cytostatykiem zaobserwowano po kilku miesiącach regenerację warstwy korowej jajnika i obecność pojedynczych pęcherzyków pierwotnych, a nawet dalsze stadia ich rozwoju. Wyniki te są interpretowane jako odnowa i regeneracja pęcherzyków zachodząca w oparciu o komórki podobne do gonocytów, wywodzące się z osłonki jajnika nie podlegające działaniu busulphanu (11, 26).

Neo-oogeneza może również zachodzić w wyniku możliwości odtwarzania się pierwotnych komórek płciowych z niezróżnicowanych, prekursorowych komórek pochodzących z poza jajnika. Jak wykazano, do tego celu nadają się komórki pienne układu krwiotwórczego (27, 28), pobrane ze szpiku kostnego lub lokalizowane w krwi obwodowej. Mogą one przenikać do warstwy korowej jajnika i po kolonizacji różnicować się w zdolne do owulacji oocyty otoczone strukturami funkcjonalnych i zdolnych do owulacji pęcherzyków jajnikowych (14).

Dodatkowymi, pośrednimi argumentami na potwierdzenie hipotezy neo-oogenezy są obserwacje kliniczne dotyczące przyczyn powstawania niektórych form nowotworów jajników u kobiet. Wiele z nich ma pochodzenie endodermalne lub pierwotnej transformacji nowotworowej ulegają komórki wywodzące się z najbardziej korowych stref jajnika, a zwłaszcza z komórek nabłonka *tunica albuginea*. Sugeruje to, że w tych rejonach gruczołu 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 (29-31).

Liczne typy nowotworów gonad, zarówno niedojrzałych, jak i dojrzałych i funkcjonalnych, jąder i jajników powstają, jak się obecnie uważa na drodze transformacji i patogenego różnicowania się i rozwoju pierwotnych

komórek płciowych (łac. *germ cells*). W prawidłowych, normalnych warunkach komórki te namnażają się mitotycznie, a po wyczerpaniu możliwości tego typu podziałów wchodzi w premeiotyczny cykl komórkowy i podziela redukcyjnym na drodze specyficznego różnicowania dają początek gametom, plemnikom i oocytom, traktowanych embriologicznie jak komórki jajowe. Ich drogi rozwojowe określane mianem gametogenezy przebiegają odmiennie w przypadku osobników męskich i żeńskich, co wynika głównie ze stanu ich obecności w gonadach. W przypadku osobników męskich w jądrach pierwotne komórki płciowe mające zdolność do podziałów mitotycznych są obecne w kanalikach nasiennych prawie przez całe życie. Są to pierwotne spermatogonie i jak się wydaje ich transformacja może prowadzić do powstania nowotworów. Kontrowersyjne jest jednak stwierdzenie czy komórki te są przetrwałe i wywodzą się z okresu płodowego czy są zmienionymi komórkami nabłonka plemnikotwórczego kanalików nasiennych funkcjonalnego gruczołu. Obie teorie mogą być prawdziwe, czego dowodem są badania kliniczne i histologiczne dotyczące, m.in. takich ich typów jak nasieniaki (łac. *seminoma*, *gonocytoma*), nowotwory zarodkowe (łac. *carcinoma embrionale*) czy potworniki (łac. *teratoma*). Przeważa jednak hipoteza wskazująca na pierwotne, embrionalne pochodzenie tego typu komórek (32-35).

Bardziej kontrowersyjne jest pochodzenie podobnych typów nowotworów germinalnych, a zwłaszcza potworników rozwijających się w jajnikach. W przypadku gonady żeńskiej pierwotne komórki płciowe są obecne i dzielą się mitotycznie, czyli zachowują charakter pierwotnych jedynie we wczesnym okresie embriogenezy. Po ostatecznym powstaniu jajników mogą być w nich pozostać jedynie w osłonce jajnika, co zakłada koncepcja neo-oogenezy. Dlatego też poznanie możliwości nowotworzenia w obrębie gonady żeńskiej może być dodatkowym argumentem na poparcie tej koncepcji. Już pierwsze, jeszcze XIX-wieczne teorie, próbujące wyjaśnić pochodzenie raka jajnika zakładały, że zmienione struktury wywodzą się z jednowarstwowego nabłonka pokrywającego ten narząd. Zmodyfikowane komórki ulegają zaś dalszej histogenezie pod zróżnicowanym wpływem środowiska gonady i na tej drodze powstają różne typy nowotworów. Koncepcja ta choć przetrwała ponad wiek nie do końca wyjaśniała które z komórek osłonki białawej jajnika są podatne na transformacje ani jaki mają charakter wyjściowy. Przeciwnie zakładała, że są to komórki nabłonkowe, a nie wywodzące się z pierwotnych komórek płciowych embrionalnego jajnika. Jednak poglądy na ten temat ewoluowały i obecnie przyjmowane są nieco inne założenia wskazujące na wiodącą rolę komórek linii płciowej (36).

Problemem dla naukowców, jak również dla lekarzy praktyków w analizie danych dotyczących raka jajnika typu germinalnego, a w szczególności potworników jest bardzo duża ich zmienność, heterogenność. Na podstawie analizy histologicznej wyróżnia się pięć ich typów. Są to nowotwory typu niezróżnicowanego, surowiczego, śluzowego, endometrialnego i jasnokomórkowego. Wydaje się, że etiologia ich powstawania jest odmienna i wywodzą się na drodze transformacji różnych komórek

wyjściowo obecnych w jajnikach. Mogą to być komórki nabłonkowe, zrębu gruczołu oraz formujące pęcherzyki jajnikowe. Przynajmniej niektóre z form, jak stwierdzono w trakcie badań onkologicznych, mogą wywodzić się z przekształconych oocytów obecnych w pęcherzykach jajnikowych, ale również pierwotnych komórek płciowych, które przetrwały w różnych strukturach jajnika od okresu embrionalnego. W tym przypadku obserwuje się rozwój guzów określanymi mianem potworniaków (łac. *teratoma*) (37, 38).

Mechanizm powstawania i rozwoju potworniaków zwłaszcza w dojrzałych jajnikach może wynikać z nieprawidłowego przebiegu pierwszego podziału meiotycznego zarówno pierwszego, a zwłaszcza drugiego lub połączenia z oocytem, wydzielanego w jego trakcie ciała kierunkowego (polocyty). Potworniak może rozwinąć się po zduplikowaniu w wyniku rozpoczęcia podziału bruzdkowania aktywowanego oocytu II rzędu lub spontanicznej fuzji takich dwóch komórek. Stwierdzono również, że przetrwałe oogonia przechodzą nietypowy podział mitotyczny i nie rozpoczynają redukcyjnej mejozy (37, 39). Nie wszystkie mechanizmy zakładane wyjściowo znalazły potwierdzenie w trakcie badań onkologicznych i biologicznych. Obecnie podważana jest możliwość fuzji dojrzałych do owulacji oocytów, a za podstawowe mechanizmy uznawane są zmiany następujące po nieprawidłowościach zachodzących w trakcie ich rozwoju podziałów redukcyjnych chociaż nie wykluczono zaburzeń polegających na całkowitym blokowaniu tego procesu w komórkach linii płciowej (38, 40).

W trakcie badań molekularnych i genetycznych stwierdzono, że innym mechanizmem mogącym prowadzić do powstawania jajnikowych nowotworów są zaburzenia mutacyjne genów supresorowych biorących udział w regulacji cyklu komórkowego lub odpowiedzialnych za transformacje sygnałów w cytoplazmie komórek. Szczególnie interesującym i zachęcającym do dalszych badań jest znaczenie genu supresorowego *PTEN* zlokalizowanego na 10 chromosomie w etiologii potworniaków. Jest on odpowiedzialny za kodowanie białka o równoczesnej aktywności fosfatazy białkowej i fosfatazy lipidowej. Prawidłowo jest on szczególnie aktywny w macierzystych komórkach zarodkowych oraz komórkach linii płciowej, a w przypadku patologii w podlegających transformacji i selekcji klonalnej komórkach nowotworowych w gonadach. Przyjmując, że pierwotną przyczyną potwornika jest zaburzenie w przebiegu cyklu komórkowego niezróżnicowanej komórki szlaku płciowego poprzez mutacje genu *PTEN* można stwierdzić, że tylko w przypadku ich obecności w jajniku istnieje realne niebezpieczeństwo rozwinęcia się choroby nowotworowej (41, 42). Argumenty te stanowią pewne, pośrednie potwierdzenie możliwości zachodzenia w jajnikach dojrzałych samic ssaków i kobiet neo-oogenezy, gdyż wskazują na obecność w ich gonadach, podobnie jak w jądrach samców, przetrwałych z okresu embrionalnego pierwotnych komórek płciowych zdolnych do aktywnego namnażania mitotycznego i podziałów meiotycznych. Jednak ostateczne i być może rozstrzygające argumenty dostarczą dopiero wykonywane w ostatnich latach badania genetyczne i molekularne. □

Písmiennictwo

1. Kloc H, Biliński S: Rola plazmy piciowej w specyfikacji linii piciowej u bezkręgowców i kręgowców. *Postępy Biol Kom* 2002; 29: 301-317.
2. Bielańska-Osuchowska Z: Oogeneza u ssaków. [W:] *Ultrastruktura i funkcja komórki*, T. 6; Warszawa PWN 1994; 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: 915-917.
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. Johnson J, Canning J, Kaneko T et al.: Germline stem cells and follicular renewal in the postnatal mammalian ovary. *Nature* 2004; 428: 145-147.
12. Bukovsky A: Can ovarian infertility be treated with bone marrow- or ovary-derived germ cells. *Biol Reprod Endocrinol* 2005; 3: 36-41.
13. Bukovsky A, Caudle MR, Svetlikova M, Upadhyaya N: Origin of germ cells and formation of new primary follicles in adult human ovaries. *Reprod Biol Endocrinol* 2004; 2: 41-54.
14. Johnson J, Bagley J, Skaznik-Wikiel ML et al.: Oocyte generation in adult mammalian ovaries by putative germ cells in bone marrow and peripheral blood. *Cell* 2005; 122: 303-311.
15. 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.
16. Notarianni E: Reinterpretation of evidence advanced for neo-oogenesis mammals, in terms of a finite oocyte reserve. *J Ovarian Res* 2011; 4: 1-20.
17. Śliwa L: Germline stem cells and possibility of neo-oogenesis in ovary in the adult mice. XXIX Konferencja Embriologiczna. Toruń Ciecchocinek 19-21 maj *Acta Biol Cracov* 52 suppl., 2010; 1: 90.
18. 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.
19. 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.
20. 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.
21. Jansen RP, De Boer K: The bottleneck imperatives in oogenesis and ovarian follicles fate. *Mol Cell Endocrinol* 1998; 145: 81-88.
22. Piko I, Matsumoto I: Number of mitochondrial and some properties of mitochondrial DNA in the mouse egg. *Dev Biol* 1976; 49: 1-10.
23. Hubner K, Furhmann G, Christenson LK et al.: Derivation of oocytes from mouse embryonic stem cells. *Science* 2003; 300: 1251-1256.
24. 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.
25. 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.
26. 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.
27. Eggan K, Jurga S, Gosden R et al.: Ovulated oocytes in adult mice derive from non-circulating germ cells. *Nature* 2006; 441: 1109-1114.
28. Lee HJ, Selesniemi K, Nikura Y et al.: Bone marrow transplantation generates immature oocytes and rescues longterm fertility in a preclinical model of chemotherapy induced premature ovarian failure. *J Clin Oncol* 2007; 25: 3198-3204.
29. Auersperg N, Wong AST, Choi K-C et al.: Ovarian surface epithelium: biology, endocrinology, and pathology. *Endocrine Rev* 2001; 22: 255-263.
30. Wong AST, Auersperg N: Ovarian surface epithelium: family history and early events in ovarian cancer. *Biol Reprod Endocrinol* 2003; 1: 81-95.
31. Vanderhyden B, Shaw TJ, Ethier J-F: Animal models of ovarian cancer. *Reprod Biol Endocrinol* 2003; 1: 67-81.
32. Giwercman A, Von der Maase H, Skakkebaek NE: Epidemiological and clinical aspects of carcinoma in situ of the testis. *Europ Urol* 1993; 23: 104-115.
33. Matin A, Collin G, Varnum D, Nadeau JH: Testicular teratocarcinogenesis in mice – a review. *APMIS* 1998; 106: 174-182.
34. Słowikowska-Hilczner J: Patogeneza zmian nowotworowych z komórek piciowych w aspekcie rozwojowym. *Endokrynol Diabetol I Choroby Przemiany Materii Wieku Rozwojowego*. 2007; 13: 37-42.
35. Ulbright TM: Protocol for the examination of specimens from patients with malignant germ cells and sex cord-stromal tumors of the testis, exclusive of paratesticular malignancies. *Arch Pathol Lab Med* 1999; 123: 14-19.
36. Nowak-Markiewicz E, Spaczyński M: Rak jajnika – nowe spojrzenie na pochodzenie i histogenezę. *Ginekol Pol* 2012; 83: 454-457.
37. Surti U, Deka R, Hoffner L et al.: Human ovarian teratomas: origin and gene mapping using cytogenetic and DNA markers. *Am J Human Genet* 1988; 43: A34.
38. Deka R, Chakravarti A, Surti U et al.: Genetics and biology of human ovarian Teratomas. II Molecular analysis of origin of nondisjunction and gene-centromere mapping of chromosome I markers. *Am J Human Genet* 1990; 47: 644-655.
39. Linder D, Hecht F, McCam BK, Campbell JB: Origin of extragonadal teratoma and endodermal sinus tumors. *Nature* 1975; 254: 597-598.
40. Bał J, Gabryś MS, Jałocha I: Wybrane szlaki molekularne w patogenezie potworniaków jajnika. *Postępy Hig Med Dośw* 2009; 63: 242-249.
41. Cantley LC, Neel BG: New insights into tumor suppression: *PTEN* suppresses tumor formation by restraining the phosphoinositide 3-kinase/AKT pathway. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999; 96: 4240-4245.
42. Kimura T, Suzuki A, Fujita Y et al.: Conditional loss of *PTEN* leads to testicular teratoma and enhance embryonic germ cell production. *Dev Dis* 2003; 130: 1691-1700.

nadesłano: 10.04.2014

zaakceptowano do druku: 12.05.2014

Adres do korespondencji:

*Leopold Śliwa

Zakład Biologii Rozwoju Człowieka UJ-CM

ul. Kopernik 7, 31-034 Kraków

tel.: +48 (12) 422-99-49

e-mail: leosliwa@cm-uj.krakow.pl