

Neo-oogeneza – dodatkowy czynnik biologiczny różnicowania wieku naturalnej menopauzy

*Leopold Śliwa

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

NEO-OOGENESIS – SUPPLEMENTARY BIOLOGICAL ELEMENT DIFFERENTIATING OF AGE AT NATURAL MENOPAUSE

Summary

The human natural menopause is a unique condition in mammals world, because the specimens live longer, than their reproductive abilities last. The biological and sociological-behavioristic theories explain the mechanism of this phenomenon. The loss of reproductive function and hormonal activity of ovaries justify the biological theory. It is caused by oogenesis pattern, which consists in prenatal determination of primordial germ cells number, and in consequence, determination of primordial ovarian vesicles number. According to the preliminary reports, there is a possibility to presence the primordial ovarian vesicles in adult ovaries and regeneration the vesicles in atrophy stage. The aim of this work was to show a connection between this discovery and the wide age range of the loss reproductive ability and the entrance to menopausal stage in individual specimens.

Key words: menopause, age at menopause, oogenesis, neo-oogenesis, primordial germ cells

WSTĘP

Strategia reprodukcji człowieka jest, z punktu widzenia biologicznego, ewolucyjnym wyjątkiem w świecie zwierząt. Kobiety, w odróżnieniu od samic pozostałych gatunków ssaków, żyją i funkcjonują w dobrej kondycji oraz zdrowiu wiele lat po utracie możliwości zachodzenia w ciążę i rodzenia potomstwa. Zjawisko takie występuje jedynie u kilku ssaków: kilku gatunków wielorybów oraz, być może, naczelnych – zostało opisane u szympanów, ale jedynie tych przebywających w niewoli w ogrodach zoologicznych. W odniesieniu do pozostałych gatunków zwierząt żyjących na wolności doniesienia na ten temat są sprzeczne. Wynika to z ekologicznego faktu znacznego skrócenia życia starszych osobników w warunkach naturalnych ekosystemów przyrodniczych. Przyczyny ewolucyjnego wykształcenia się stanu fizjologicznej i związanej z wiekiem niepłodności kobiet, określanego jako menopauza, nie są jednoznacznie wyjaśnione.

Powstało kilka teorii tłumaczących ten powolny, związany z wiekiem zanik możliwości reprodukcyjnych kobiet. Najważniejsze, a zarazem najlepiej udokumentowane są teorie: socjologiczno-behawioralna oraz biologiczna.

Teoria socjologiczno-behawioralna wskazuje na rolę w ewolucji tego zjawiska potrzeby opieki niepełnych kobiet nad potomstwem osobników młodszych, głównie

swoich córek. Potrzeba ta wykształciła się w prymitywnych społeczeństwach pierwotnych ludzi. Działania takie mają zapewnić, zgodnie z koncepcją pokrewieństwa genetycznego, bardziej efektywne promowanie własnych genów w genowej puli populacji.

Teoria biologiczna wskazuje na związek nietypowego przebiegu oogenezy i determinacji w embriogenezie liczby oocytów mogących w okresie pokwitania stać się owulującymi, zdolnymi do zapłodnienia komórkami ze znacznym wydłużeniem życia kobiet. Synchronizacja ta ma decydować o prawidłowej funkcji jajników – nie tylko reprodukcyjnej, ale i hormonalnej. Wyczerpanie się prenatalnego zapasu oocytów i niezdolność do formowania pęcherzyków jajnikowych podczas okresu płodności prowadzą do zaburzeń jej rytmu, a zmiany hormonalne wpływają na cały organizm, co wywołuje objawy przekwitania, aż w końcu definitywnie blokuje cykle płciowe i fizjologiczne bezpłodności (menopauza).

Punktem wspólnym obu tych wiodących teorii jest wynikający ze zmian trybu życia, rozwoju intelektualnego i społeczno-ekonomicznego, a tym samym mechanizmów selekcji człowieka, wzrost długości życia i aktywności starszych ludzi. Zjawisko to, nieobserwowane w populacjach innych gatunków ssaków, w naszym przypadku doprowadziło do zmian w postaci przyspieszonej ewolucji (1).

W naukach medycznych badających procesy reprodukcji na pierwszy plan wysuwa się teoria biologiczna. Badania nad menopauzą ułatwiła i ujedynoliciła definicją zaproponowaną przez WHO w 1996 roku, według której naturalna menopauza jest to ostatnie krwawienie miesięczne, po którym przez 12 miesięcy miesiączka już nie występuje i jednocześnie nie stwierdza się patologicznych podstaw jej zaniku. Nie wszystkie aspekty menopauzy są jednak poznane i dobrze udokumentowane. Dla przykładu, nie udało się wytłumaczyć faktu dużej, wiekowej zmienności osobniczej początku menopauzy. Dlaczego kobiety wchodzą w ten okres swojego życia w różnym wieku? Średni wiek menopauzalny kobiet z populacji krajów europejskich, amerykańskich i azjatyckich o najdłuższej przeżywalności to około 50. roku życia. Przykładowo kobiety w USA rozpoczynają menopauzę około 51,3 r.ż., a w Polsce – 50,8 r.ż. (2, 3). Jednak moment ten cechuje się dużą rozpiętością. Za fizjologiczną normę naturalnego początku menopauzy i utraty zdolności reprodukcyjnych uznaje się okres pomiędzy 40. a 60. rokiem życia. Aby wytłumaczyć taki stan rzeczy, należy zapoznać się z przebiegiem nietypowej oogenezy, formowaniem i losami komórek prąpcyjnych i uzyskiwaniem potencjalnej zdolności oraz przebiegiem procesów reprodukcyjnych u kobiet.

OOGENEZA U CZŁOWIEKA – MODEL KLASYCZNY

U człowieka wyodrębnienie się z somatycznych komórek linii płciowej ma miejsce około trzeciego tygodnia życia płodowego, w momencie gdy zarodek jest dwuwarstwową, słabo zróżnicowaną tarczą. W tym okresie w komórkach zarodka nie udało się zaobserwować żadnych strukturalnych determinantów rozwojowych, a proces, jak się wydaje, zależy od chemicznego, apokrynowego wysyłania i odbierania sygnałowych czynników regulacyjnych, induktorów i czynników wzrost, modyfikujących wzór aktywności genetycznej. Miejsce w zarodku, gdzie postulowane jest wyodrębnianie się pierwszych pierwotnych komórek płciowych, to rejon w zewnętrznej warstwie tarczki zarodkowej (epiblaście) położony dogłównie w stosunku do smugi pierwotnej i opasujący jej przednią część, zakończoną w tym okresie węzłem pierwotnym. Jednak bezspornie pierwotne komórki płciowe zlokalizowano w zarodku dopiero po powstaniu listków zarodkowych, w endodermie rozwijającego się woreczka żółtkowego, w okolicy jego przejścia w omocznik. To stadium rozwojowe człowieka przypada na okres około 15 somitarny (4, 5).

Markerem molekularnym pozwalającymi na wyróżnienie komórek prąpcyjnych od somatycznych jest ich wyjątkowa aktywność genetyczna, prowadząca do akumulacji w cytoplazmie białek będących czynnikami transkrypcyjnymi, m.in. OCT-4, MESP-1 c-kit (6-9). Ukształtowane komórki płciowe z woreczka żółtkowego szybko przemieszczają się w okolice pranercza do pasmowatego uwypuklenia mezodermy, nazywanego grzebieniem płciowym lub listwą płciową. W tym czasie dzielą się mitotycznie. Ich ruch jest kierowany chemotaktycznie przez substancje wytwarzane i dyfundujące z komórek mezodermy grzebienia (10-12).

W grzebieniu płciowym pierwotnie lokuja się one w zewnętrznym, mezotelialnym nabłonku i wchodzą w kontakt z komórkami somatycznymi, przez co podlegają ich modyfikującemu wpływowi. Oddziaływania te są uwarunkowane genetycznie i w przypadku kobiety decydują o ich przedłużonym stanie niezróżnicowania. Szybko jednak uzyskują one predyspozycje do podziałów meiotycznych, a nie tylko namnażania w wyniku licznych mitoz. W rozwijającym się jajniku, ostatecznie kolonizują one obszar korowy tkanki gruczołu, co w tym okresie rozwoju zarodka zależy od aktywności kilku czynników transkrypcyjnych, takich jak: WT-1, SF-1, SOX-9 i GATA-4. O dalszych przekształceniach i specjalizacji zdaje się decydować czynnik GATA (jedno z białek z domenami palców cynkowych). Komórki szlaku płciowego, nazywane od tego momentu oogoniami, są łatwe do odróżnienia od somatycznych ze względu na inną wielkość i aktywność fosfatazy zasadowej. Tracą również zdolność do podziałów mitotycznych, w wyniku czego ich maksymalna liczba może ostatecznie wzrosnąć jedynie do kilku milionów (4, 13).

Okres zakończenia podziałów mitotycznych, mający miejsce w końcu trzeciego miesiąca życia płodowego, nazywa się krytycznym dla mejozy, gdyż oogonie szybko wzrastają, powiększają objętość i po replikacji DNA rozpoczynają profazę pierwszego podziału meiotycznego, stając się oocytami I rzędu. Profaza I przebiega do okresu okołourodzeniowego i zatrzymuje się w stadium diakinezy. W życiu młodego osobnika nie obserwuje się dalszych przemian podziałowych. Dopiero po uzyskaniu dojrzałości płciowej u kobiety może sukcesywnie dochodzić do dokończenia mejozy i powstania oocytów II rzędu, a u niektórych gatunków ssaków – właściwych komórek jajowych. Odblokowanie podziału meiotycznego zależy od oddziaływania na oocyty I komórek somatycznych jajnika. Jest on kierowany nieznanymi czynnikami, np. substancją indukującą mejozę (MIS), i wydaje się niezależny od wpływu hormonów płciowych. Alternatywna hipoteza zakłada istnienie w oocytach swobodnego zegara genetycznego programującego losy tych komórek niezależnie od wpływu innych, somatycznych komórek jajnika (14, 15).

Moment rozpoczęcia mejozy jest, jak się wydaje, okresem występowania w jajnikach największej możliwej liczby komórek prekursorowych dla gamet żeńskich. W tym momencie można doliczyć się w płodowych jajnikach około 9 milionów profazowych oocytów I rzędu. Od tej chwili oocyty mogą jedynie zanikać w wyniku procesów apoptotycznych, co prowadzi do redukcji ich liczby do około 1 miliona w momencie urodzenia. Śmiertelność komórek zależy od genetycznego mechanizmu regulacji apoptozy, m.in. proporcjonalnej aktywności genów *Bax* i *Bcl-2*. Na jej przebieg mają również wpływ działające lokalnie na terenie jajnika czynniki wzrostu IGF-1 i TGF (16).

Wokół oocytów zaczynają formować się pierwotne pęcherzyki jajnikowe. Prowadzone liczne obserwacje histologiczne wskazują na fakt, że liczba pęcherzyków jajnikowych, a tym samym oocytów zdolnych do owulacji, jest zdeterminowana prenatalnie i nie jest możliwe ich powstawanie i uzupełnianie liczby w okresie dojrzałości płciowej kobiety.

Po uzyskaniu dojrzałości płciowej pęcherzyki cyklicznie rosną i dojrzewają, a komórki w trakcie zachodzącego II podziału mejotycznego owulują do jajowodów jako mające szansę na zapłodnienie metafazalne oocyty II rzędu. W jednym cyklu płciowym rozwój rozpoczyna kilkadziesiąt pęcherzyków pierwotnych, a po selekcji najczęściej tylko jeden staje się dojrzałym pęcherzykiem Graafa. Dochodzi do około 400 takich cykli w życiu kobiety. W ich wyniku pod koniec okresu reprodukcyjnego w jajniku zmniejsza się pula pęcherzyków pierwotnych, aż do ich całkowitego zaniku.

Zdaniem embriologów i lekarzy ten właśnie moment jest przyczyną przekwitania i ostatecznie menopauzy. Pogląd ten powstał w latach 50., a ugruntował się ostatecznie w latach 60. XX wieku i wydaje się jednym z dogmatów biologii rozwoju człowieka i innych ssaków (17, 18). Czy jest on jednak pewnikiem?

MOŻLIWOŚĆ NEO-OOGENEZY W JAJNIKACH DOROSŁYCH KOBIET

Badania porównawcze, którymi objęto liczne gatunki ssaków, przyniosły wyniki potwierdzające przyjęty model prenatalnego przebiegu oogenezy i determinacji liczby komórek prekursorowych dla gamet. Jednak w przypadku niektórych gatunków małpiatek opisano możliwość odnawiania się, dzięki podziałom mitotycznym, jajnikowej puli pierwotnych komórek płciowych i dzięki temu regeneracji pierwotnych pęcherzyków jajnikowych w okresie dojrzałości płciowej. Możliwość wtórnego, postnatalnego powstawania pierwotnych pęcherzyków jajnikowych opisano jako naturalny, ważny reprodukcyjnie proces, zapewniający wydłużoną płodność u *Loris tardigradus lydekkerianus* i *Nycticebus coucang*. Pierwotne komórki płciowe, zdolne do stałych podziałów mitotycznych, odkryto w najbardziej zewnętrznej strefie korowej dojrzałego jajnika. Komórki te spełniały wszystkie kryteria dla tego typu komórek – przede wszystkim przechodziły liczne podziały mitotyczne i mogły rozpoczynać mejozy, a w trakcie ich profaz różnicowały się wokół nich nowe, pierwotne pęcherzyki jajnikowe (19-22).

W przypadku innych ssaków, w tym człowieka, do chwili obecnej sugeruje się możliwość postnatalnej obecności pierwotnych komórek prapłciowych lub gonocytów i dzięki temu pewną możliwość odnowy puli pierwotnych pęcherzyków w okresie dojrzałości płciowej. Pośrednią przesłanką tej tezy są m.in. obserwacje kliniczne przyczyn powstawania wielu form nowotworów jajników u kobiet. Zdecydowana większość wywodzi się z najbardziej korowych stref jajnika, a zwłaszcza z komórek nabłonka (*tunica albuginea*) 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 (23-25).

Przełomem w pracach nad poznaniem zjawiska neo-oogenezy było opublikowanie w 2004 roku w „Nature” pracy, która jednoznacznie wskazuje na obecność gonocytów i odnawianie puli pęcherzyków jajnikowych u dorosłych samic myszy (26). Stosując, obok podstawowej

metody histologicznej, kilka nowoczesnych technik laboratoryjnych, udowodniono występowanie pierwotnych komórek płciowych w nabłonku pokrywającym jajniki. Komórki te nie tylko tkwiły w nabłonku, ale również miały zdolność do mitoz oraz rozpoczynania podziałów mejotycznych, przekształcając się w oocyty. Nie udało się jednak stwierdzić, czy procesy regeneracyjne zachodzą w naturalnych cyklach estralnych myszy, czy są wywoływane w drodze manipulacji doświadczalnych.

Opublikowane w latach 2004 i 2005 wyniki badań przemawiają za możliwością stałej 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 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 prapłciowych oraz prymitywnych komórek granulacyjnych, z których różnicują się warstwy pęcherzykowe, mogą być osłonka biaława jajnika (*tunica albuginea*) lub nabłonek powierzchniowy jajnika – struktury, które według autorów zawierają biopotencjalne komórki prekursorowe (27, 28).

W tym samym czasie stwierdzono, że komórki prapłciowe 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 (27, 29, 30).

Jednak brak możliwości przeprowadzenia eksperymentu embriologicznego na jajnikach kobiet i konieczność badań jedynie materiału sekcyjnego lub kultur komórkowych uniemożliwiają jednoznaczne zweryfikowanie postawionej hipotezy, według której 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 płciowe. 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 (29).

Gromadzenie informacji naukowych, które potwierdzają możliwości postnatalnego powstawania oocytów i regeneracji puli pęcherzyków jajnikowych u samic większości ssaków, a przede wszystkim człowieka, oraz weryfikują hipotezę prenatalnej determinacji liczby pierwotnych pęcherzyków jajnikowych, jest obecnie prowadzone przy zastosowaniu wielu nowoczesnych metod badawczych, a uzyskiwane wyniki poszerzają wiedzę na ten temat (31-33).

CZY NEO-OOGENEZA MOŻE MIEĆ WPŁYW NA MENOPAUZĘ?

Uzyskane do chwili obecnej wyniki badań prowadzonych w kierunku poznawania procesu neo-oogenezy u ssaków i człowieka są najczęściej pionierskie, unikatowe, nie zawsze jednoznacznie potwierdzone przez innych autorów, a często mają charakter jedynie wstępny. Akceptacja lub odrzucenie hipotezy o możliwości formowania komórek szlaku płciowego u ssaków w okresie postnatalnym w jajnikach dorosłych samic wymagają jeszcze wielu badań uzupełniających, a zwłaszcza potwierdzających dotychczasowe osiągnięcia, jak również rozległej i wnikliwej konfrontacji wyników z doniesieniami z pokrewnych dziedzin oraz starannej interpretacji, a nawet reinterpretacji wyników. Dopiero te działania mogą doprowadzić do lepszego, a może pełnego poznania przebiegu procesu oogenezy oraz poszukiwania możliwości medycznego wykorzystania efektów fizjologicznych tego procesu.

Pobudzenie naturalnej regeneracji pęcherzyków jajnikowych w efekcie skutkowałoby przedłużeniem dokrewnej funkcji jajników, a tym samym zachowaniem prawidłowej, decydującej o zdrowiu homeostazy hormonalnej.

Takie osiągnięcie być może pozwoliłoby ograniczyć stosowanie podstawowej metody walki z niekorzystnymi objawami menopauzy, jaką jest hormonalna terapia zastępcza, lub nawet z niej zrezygnować. Terapia taka, jak wiadomo, niesie ze sobą liczne skutki uboczne niekorzystne dla zdrowia kobiety, przez co jest niezbyt chętnie przez nie stosowana. W środowisku medycznym jej stosowanie jest dyskutowane.

Nowatorską metodą opóźniania menopauzy poprzez przywracanie biologicznych funkcji jajników jest eksperymentalny, autologiczny przeszczep tkanki jajnika, pobranej w młodym wieku i kriokonserwowanej. Tego typu zabieg przywraca czynności hormonalne i reprodukcyjne (34). Jednak jego potencjalne przeprowadzenie wymaga długofalowego planowania, jak również nie zawsze jest zakończony sukcesem. W związku z tym wydaje się, że badanie neo-oogenezy i sposobów jej intensyfikacji jest lepszym rozwiązaniem z punktu widzenia medycznego i praktycznego.

Piśmiennictwo

1. Skalba P: Endokrynologia ginekologiczna. Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa 1998. 2. Flint M: Menopause. The global aspect. [In:] Berg G, Hammar M (eds.): The modern management of the menopause. New York, London 1994. 3. Kaczmarek M: Określenie wieku menopauzy naturalnej w populacji polskich kobiet. Przegląd Menopauzalny 2007; 2: 77-82. 4. Bielanska-Osuchowska Z: Zarys organogenezy. Różnicowanie się komórek w narządach. Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa 2004. 5. Byskov AG: Differentiation of mammalian embryonic gonad. *Physiol Rev* 2005; 66: 71-93. 6. Ginsburg M, Snow MH, McLaren A: Primordial germ cells in the mouse embryo during gastrulation. *Development* 1990; 110: 521-542. 7. McLaren A: Primordial germ cells in the mouse.

Develop Biol 2003; 262: 1-23. 8. Readhead C, Muller-Tidow C: Genes associated with the development of the male germ line. *Reprod Biomed Online* 2002; 4: 52-58. 9. Sutto KA: Molecular mechanisms involved in the differentiation of spermatogenic stem cells. *Rev Reprod* 2000; 5: 93-112. 10. Donovan PJ, Stott D, Cairns LA et al.: Migratory and postmigratory mouse primordial germ cells before differently in culture. *Cell* 1986; 44: 831-837. 11. Durcova-Hills G, Ainscough J, McLaren A: Pluripotent stem cells derived from migrating primordial germ cells. *Differentiation* 2001; 68: 220-233. 12. Peters H: Migration of gonocytes into the mammalian gonad and their differentiation. *Philos Trans R Soc London B Biol Sci* 1970; 259: 91-109. 13. Bielańska-Osuchowska Z: Oogeneza u ssaków. [W:] Biliński S, Bielańska-Osuchowska Z, Kawiak J, Przełęcka A (red.): Ultrastruktura i funkcja komórki. Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa 1994; t. 6: 153-175. 14. Byskov AG: Regulation of meiosis in mammals. *Ann Anim BiochemBiophys* 1978; 19: 1251-1267. 15. Siracusa G, DeFelici M, Saustri A: The proliferation and meiotic history of mammalian germ cells. *Biol Fertil* 1985; 1: 253-272. 16. Bukovsky A, Svetlikova M, Caudle MR: Oogenesis in cultures derived from adult ovaries. *Biol Reprod Endocrinol* 2005; 3: 17-27. 17. Peters H, Levy E, Crone M: DNA synthesis in oocytes of mouse embryos. *Nature* 1962; 95: 915-917. 18. Zuckerman S: The number of oocytes in the mature ovary. *Recent Prog Horm Res* 1951; 227: 187-204. 19. Butler H, Juma MB: Oogenesis in an adult prosimians. *Nature* 1978; 226: 552-556. 20. David GF, Amand Kumar TC, Baker TG: Uptake of tritiatedthymidine by primordial germinal cells in the ovaries of the adult slender loris. *J Reprod Fert* 1974; 41: 447-456. 21. Duke KL: Oogenetic activity of the fetal-type in the ovary of the adult slow loris, *Nycticebuscoucang*. *Folia Primatol* 1967; 7: 150-159. 22. Telfer EE: Germline stem cells in the postnatal mammalian ovary: A phenomenon of prosimians primates and mice? *Reprod Biol Endocrinol* 2004; 2: 24-33. 23. Auersperg N, Wong AST, Choi K-C et al.: Ovarian surface epithelium: biology, endocrinology, and pathology. *Endocrine Rev* 2001; 22: 255-263. 24. Vanderhyden B, Shaw TJ, Ethier J-F: Animal models of ovarian Cancer. *Reprod Biol Endocrinol* 2003; 1: 67-81. 25. Wong AST, Auersperg N: Ovarian surface epithelium: family history and early events in ovarian cancer. *Biol Reprod Endocrinol* 2003; 1: 70-95. 26. Johnson J, Canning J, Kaneko T et al.: Germline stem cells and follicular renewal in the postnatal mammalian ovary. *Nature* 2004; 428: 145-147. 27. Bukovsky A: Can ovarian infertility be treated with bone marrow- or ovary-derived germ cells. *Biol Reprod Endocrinol* 2005; 3: 36-41. 28. Bukovsky A, Caudle MR, Svetlikova M et al.: Origin of germ cells and formation of new primary follicles in adult human ovaries. *Reprod Biol Endocrinol* 2004; 2: 41-49. 29. Byskov AG, Faddy MJ, Lemmen JG et al.: Eggs forever? Differentiation 2005; 73: 438-440. 30. 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. 31. 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. 32. 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; 52 (suppl. 1): 90. 33. Notarianni E: Reinterpretation of evidence advanced for neo-oogenesis mammals, in terms of a finite oocyte reserve. *J Ovarian Res* 2011; 4: 1-20. 34. Silber SJ: Ovary cryopreservation and transplantation for fertility preservation. *Molec Human Reprod* 2012; 18: 59-67.

nadesłano: 03.11.2014

zaakceptowano do druku: 28.11.2014

Adres do korespondencji:

*Leopold Śliwa

Zakład Biologii Rozwoju Człowieka UJ-CM

ul. Kopernika 7, 31-034 Kraków

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

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