

УДК 618.111-007.1:618.177-089.88.11

<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2018-3-197-206>

Для цитирования: Зенкина В.Г. Формирование фолликулярного резерва яичников. *Бюллетень сибирской медицины*. 2018; 17 (3): 197–206.

## Формирование фолликулярного резерва яичников

Зенкина В.Г.

*Тихоокеанский государственный медицинский университет (ТГМУ)  
Россия, 690950, г. Владивосток, пр. Острякова, 2*

### РЕЗЮМЕ

Обзор литературы посвящен современным данным формирования овариального резерва женской половой железы. Соотношение между размером резерва яичников и репродуктивной продолжительностью жизни подчеркивает важность понимания регуляторных факторов и процессов, которые определяют его создание. Описаны маркеры и регуляторы овариального резерва, такие как ооцитарная фосфоти-дилинозитол-3-киназа, фактор стволовых клеток (kit-лиганд), способствующие выживанию фолликулов во время неонатального развития, синаптонемальный комплекс (SCP3), являющийся маркером первого деления мейоза, а также гены *DMC1* и *PTEN*, причастные к мейотическим преобразованиям и рекрутированию примордиальных фолликулов.

Изменения в экспрессии некоторых генов и факторов в плодных яичниках человека во время первичной сборки фолликулов в настоящее время дают представление о путях, контролирующих ранний фолликулогенез. Аберрантная продукция этих факторов может быть причиной дисфункции, развития овариальных расстройств и неполноценного фолликулярного резерва. Особо следует отметить степень изменения числа половых клеток на каждом из этапов, ведущих к созданию резерва яичников. Это изменение может повлиять на конечный размер фолликулярного запаса, а следовательно, репродуктивную продолжительность жизни человека и здоровье в пострепродуктивном периоде. В частности, количество первичных фолликулов в период полового созревания положительно коррелирует с количеством растущих фолликулов и их реакцией на лечение гонадотропином. Размер овариального резерва зависит от генов, участвующих в пролиферации и дифференцировке зародышевых клеток, сексуальной дифференциации, мейозе, дегенерации зародышевых клеток, образовании первичных фолликулов и потенциальном механизме самообновления зародышевых стволовых клеток.

Установлен возможный молекулярный механизм, приводящий к мейотическому процессу в ооцитах с участием вышеуказанных генов и факторов, а также апоптических и антиапоптических сигналов: *Wax*, *Bcl-2*, *p53*, *CDK1*, *Lsd1*, *Notch*, *Stra8*, *Dazl*, *Dmc1*, *Rec8*, *XIAP*, *PUMA*. Следовательно, понимание всех тонкостей и молекулярных механизмов на каждом этапе закладки и развития яичников, половых клеток и их окружения, гибели гамет, может помочь поиску возможных регуляторов и предотвращению патологического истощения фолликулярного запаса.

**Ключевые слова:** фолликулогенез, репродуктивная продолжительность жизни, молекулярно-генетические механизмы.

✉ Зенкина Виктория Геннадьевна, e-mail: zena-74@mail.ru.

## ВВЕДЕНИЕ

Проблема фолликулогенеза и расходования фолликулярного запаса в течение репродуктивной жизни женщины интересует исследователей многие десятилетия. Овариальный резерв – показатель, отражающий величину фолликулярного пула яичников и качество содержащихся в нем ооцитов, снижающийся с возрастом и определяющий состояние репродуктивной функции женщины. Это функциональный резерв яичников, который детерминирует способность к развитию здорового фолликула в полноценную яйцеклетку. Проблема преждевременного истощения овариального резерва, а также возможность возобновления запаса герминогенных клеток в постнатальном периоде является актуальной в настоящее время, поскольку многие женщины откладывают рождение ребенка на поздний репродуктивный период и сталкиваются с ситуацией невозможности зачатия.

Симптомы, связанные с менопаузой, обусловлены изменениями в яичнике, из которых наиболее заметным является резкое сокращение числа фолликулов. На клеточном уровне репродуктивное старение характеризуется снижением специфических функций ооцитов и зернистых клеток в связи с обобщенной клеточной дисфункцией, в том числе снижением активности митохондрий и недостаточности энергии, а также увеличением экспрессии генов и белков клеточной гибели. Степени клеточного сокращения, которое происходит с возрастом, достаточно, чтобы увеличить восприимчивость фолликулов в яичниках, ооцитов и зернистых клеток к апоптозу, а именно гранулезно-клеточному апоптозу, что вызывает дальнейшую фолликулярную атрезию [1–4]. Таким образом, апоптоз является главной движущей силой потери фолликулов во время старения, вызывая связанное с возрастом снижение функции ооцитов и зернистых клеток.

Процесс фолликулогенеза идет непрерывно, он начинается в антенатальном периоде и заканчивается в постменопаузе. Основная масса фолликулов редуцируется путем атрезии, которая может начаться на любой стадии развития фолликула. Только очень небольшая часть фолликулов проходит полный цикл развития – от примордиального до преовуляторного – и участвует в процессе овуляции. Современные данные о роли апоптоза в функционировании яичников не только в норме, но и при развитии различного рода патологических процессов играют огромную роль в достижении глобальной цели: предотвращения и возможности профилактики целого

ряда заболеваний репродуктивной системы [5–7]. Осуществляются попытки регуляции апоптоза в фолликулах яичников с использованием различных ингибиторов. Однако имеющиеся в литературе сведения немногочисленны, выполнены на разных видах животных и нередко носят противоречивый характер.

В яичниках млекопитающих более 99% растущих фолликулов подвергаются атрезии во время фолликулярного роста и развития. Недавние исследования показали, что апоптоз и аутофагия участвуют в регуляции смерти клеток гранулезы во время фолликулярного развития и атрезии. Кроме того, многочисленные исследования утверждают, что аутофагия может быть вызвана различными стимулами, которые индуцируют апоптоз, в частности окислительным стрессом, нехваткой факторов роста и избытком факторов смерти [8, 9]. Изучение фолликулярной динамики набирает обороты в последние два десятилетия из-за использования современных методов, позволяющих определить факторы выживания половых клеток и формирования овариального резерва. Поскольку апоптоз весьма регламентированный процесс, в котором клетки активируют сигнальные пути, приводящие к гибели клеток, то и понимание всех тонкостей и молекулярных механизмов на каждом этапе гибели может помочь поиску возможных регуляторов и предотвращению патологической гибели половых клеток.

## МАРКЕРЫ И РЕГУЛЯТОРЫ ОБРАЗОВАНИЯ ОВАРИАЛЬНОГО РЕЗЕРВА

Пренатальный оогенез производит сотни тысяч ооцитов, большинство из которых элиминируется путем апоптоза до рождения (рис. 1). Несмотря на этот широкомасштабный отбор, выжившие не составляют идеальной популяции, и факторы на клеточном уровне, которые приводят к апоптозу или выживанию любого отдельного ооцита, в основном неизвестны. Каковы же критерии отбора, определяющие размер и качество овариального резерва у женщин? Этот обзор фокусируется на новых данных клеточного уровня, на человеческом пренатальном оогенезе, предлагая новые версии о важности времени входа в мейотическую профазу I, связывая стадии и прогресс с присутствием или отсутствием апоптотических маркеров. Обсуждаются характеристики и чувствительность культивируемой ткани яичника плода человека в разные периоды гестации с добавлением факторов роста и влиянием мейотических аномалий на апоптотические маркеры.

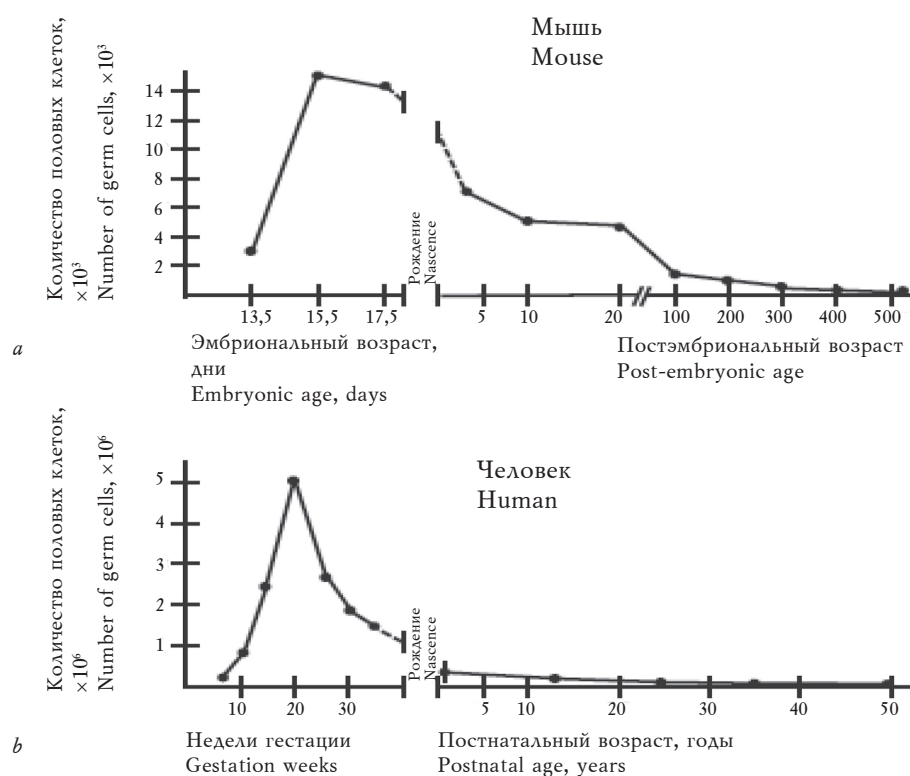


Рисунок. Сравнительная динамика овариального резерва в пренатальном и постнатальном онтогенезе: *a* – мыши и *b* – человека  
 Figure. Comparative changes in the ovarian reserve in prenatal and postnatal ontogenesis: *a* – mouse and *b* – human

Размер фолликулярного резерва яичников зависит от вида, а также различается в широких пределах между особями одного вида. Эта изменчивость коррелирует с продолжительностью жизни, а также со временем наступления менопаузы у женщин [10, 11]. W.H. Wallace и T.W. Kelsey, используя математическое моделирование, пришли к выводу, что при рождении девочки имеют в среднем 295 000 примордиальных фолликулов с чрезвычайно большим диапазоном 34 800–2 508 000 [12]. Учитывая средний показатель овариального резерва и скорость последующего снижения количества половых клеток [13, 14], их модель оценивает средний возраст менопаузы 49,6 лет, с прогнозируемым интервалом 38,7–60,0 лет (см. рис.). Это указывает на очень широкую вариабельность между отдельными женщинами как в количестве примордиальных фолликулов, рожденных детей, так и, вероятно, связанного с этими показателями возраста периода менопаузы.

На основе концепции связей между овариальным резервом и рождаемостью, лежащих в основе сокращения репродуктивного периода, невынашивания беременности, снижения количества детей в семьях, а затем и раннего наступления менопаузы [10, 15], количественной оценки и прогнозирования возможных исходов, необходимо озвучивание этой важной информации женщинам, откладывающим беременность до поздней

го репродуктивного периода [3]. В связи с этим появляются необходимость и большой интерес к определению биомаркеров данного процесса [2, 7, 14, 16]. Кроме того, число здоровых примордиальных фолликулов в овариальном резерве при лечении злокачественных опухолей у молодых женщин химио- и лучевой терапией может предсказать возраст угасания функции яичников и, следовательно, продолжительность репродуктивного периода [17]. Таким образом, число примордиальных фолликулов в резерве яичников является важным фактором, определяющим продолжительность жизни человека [11, 18]. Увеличение продолжительности жизни яичников также означает преодоление таких последствий истощения резерва с последующей гипоэстрогенией, как остеопороз, заболевания сердечно-сосудистой системы, а также когнитивных проблем здоровья и общей смертности [19]. С учетом математических соотношений, приведенных выше, важно знать, как количество примордиальных фолликулов устанавливается в эмбриональном яичнике. Это число, вероятно, будет зависеть от количества первичных половых клеток, первоначально образованных, степени их пролиферации и гибели во время и после миграции, оогенеза и в момент образования яйценосных шаров.

В одном из исследований определяли эффекты активации ооцитарной фосфотидаино-

зитол-3-киназы (PI3K) на фолликулогенез путем создания трансгенных мышей, в которых ооцит-специфическая рекомбиназа индуцирует экспрессию конститутивно активного мутанта PI3K в процессе формирования первичных фолликулов. Яичники неонатальных трансгенных мышей показали значительное снижение апоптоза в фолликулах, что привело к избыточному количеству последних. Таким образом, повышение уровня фосфотидилинозитол-3-киназы в ядрах ооцитов способствует выживанию фолликулов во время неонатального развития. Несмотря на это, первичные фолликулы у новорожденных трансгенных мышей оставались бездействующими, демонстрируя ядерное накопление продукта гена *PTEN*, опухолевого супрессора. Эти примордиальные фолликулы, содержащие высокий уровень ядерного *PTEN*, сохранялись у постпубертатных самок, указывая на то, что *PTEN* является доминирующим фактором в поддержании женской репродуктивной продолжительности жизни за счет регуляции рекрутирования примордиальных фолликулов. Хотя ооцитарная активность PI3K и уровни *PTEN* были повышены, активация первичных фолликулов и последующее накопление антральных фолликулов с развитием компетентных ооцитов развивались нормально у препубертатных трансгенных мышей, но зрелые трансгенные мыши самки были ановуляторными. Данное исследование выявило критическую роль ооцитарной активности PI3K в фолликулярной функции, а также наличие опосредованного *PTEN* механизма в предотвращении активации незрелых фолликулов [20].

Клеточная гибель количественно является важнейшей особенностью пренатальных ооцитов, особенно в середине беременности. Это контрастирует с предшествующей стадией активного расширения зародышевой линии, где первичные зародышевые клетки мигрируют в яичник и реплицируются с образованием диплоидных оогоний, которые продолжают митоз. Апоптотическая гибель клеток происходит в первичных половых клетках и оогониях, особенно через механизмы, которые реагируют на присутствие факторов выживания, таких как фактор стволовых клеток (*SCF*) (известный как *kit*-лиганд) [21] и, возможно, окислительный стресс. Но общий результат *in vivo* – это увеличение популяции клеток-предшественников (см. рис.) [22, 23]. Лиганд *kit* был отмечен многочисленными исследованиями в качестве критического регулятора активации первичных фолликулов. Связываясь со своим рецептором, он подает сигналы по не-

скольким путям, включая PI3K, которые особенно важны для развития яичников, восстанавливая межкомpartmentную связь и уменьшая скорость фолликулярной атрезии [24].

## ФАКТОРЫ, ВЛИЯЮЩИЕ НА АПОПТОЗ ВО ВРЕМЯ ПРОФАЗЫ I МЕЙОЗА

Оогонии, образовавшиеся в период размножения и пройдя период роста, входят в профазу первого деления мейоза, называясь ооцитами. Проходя через ряд стадий профазы I (лептонема, зигонему, пахинему, диплонема), совершая ряд сложнейших преобразований, останавливают свое развитие. Обширный апоптоз происходит по мере продвижения ооцитов через стадии профазы I, что приводит к потере многих из них. У людей мейоз не является синхронным, и даже у таких видов, как мышь, где наблюдается более высокая синхронизация в отношении мейотической прогрессии, по-прежнему существует разница между соседними ооцитами. Местные сигналы, контролирующие выживаемость оогоний и ооцитов в раннюю профазу, неясны, хотя был достигнут значительный прогресс в понимании женской зародышевой линии у мышей [21, 22]. Установлен возможный молекулярный механизм, приводящий к мейотическому процессу в ооцитах. Исследования в данной области еще не завершены, однако известно, что у человека в фетальных яичниках экспрессируются так называемый синаптомембральный комплекс 3 (*SCP3*), являющийся маркером первого деления мейоза, а также ген *DMC1*, причастный к мейотическим преобразованиям [25, 26].

Ооциты, входящие в мейоз, обычно находятся в так называемых гнездах. Считается, что эти кластеризованные ооциты, как правило, лишены тесно связанных с ними клеток предгранулезы, возникают из группы дочерних клеток, полученных из тех же делящихся оогоний. Ооциты внутри гнезда сообщаются через межклеточные мостики, а также имеют тенденцию сохранять большую синхронизацию внутри по сравнению с междоузлиями [27]. Факторы, которые определяют, какие ооциты из гнезда выбраны для выживания, неясны, но могут представлять собой один уровень координации, который в конечном итоге может привести к резерву яичников соответствующего размера.

Ооциты, продолжающие мейотическое деление для завершения стадии диплономы, могут рекрутировать соматические прегранулезные клетки, окружить ими себя, образуя приморди-

альные фолликулы [28]. *Vax* и *bcl-2* активны в яичниках плода человека [29], но многие из потенциальных эффекторов, идентифицированных у мышей, еще не изучены у людей. Сообщалось о первичных фолликулах уже на 13-й нед гестации у человека, но, как правило, считается, что они изобилуют примерно на 16–20-й нед беременности [29]. Изменения в экспрессии генов в плодных яичниках человека во время первичной сборки фолликулов в настоящее время дают представление о путях, контролируемых ранний фолликулогенез. Если полученные примордиальные фолликулы участвуют в репродуктивной жизни, они должны оставаться в первоначальной стадии в течение нескольких лет, по крайней мере, до половой зрелости. В состоянии покоя ооциты остаются на стадии диплономы профазы I, а окружающие гранулезные клетки поддерживают метаболические и сигнальные потребности ооцита [30].

Однако часть ооцитов и фолликулов либо не останавливают мейоз, либо инициируют рост во время беременности или препубертатном периоде жизни. Эти растущие фолликулы являются последовательной особенностью яичников в детстве [31]. Они всегда становятся атрезированными из-за преобладающей незрелости гипоталамо-гипофизарной регуляции. Их функция неясна, однако существенным последствием этого роста является сокращение резерва яичников примерно с 700 тыс. при рождении до 300 тыс. в период полового созревания [31]. Критическую роль фракции соматических клеток почти не понимают на этой ранней стадии, но они должны иметь серьезные последствия. Наиболее очевидно, что клетки прегранулезы тесно взаимодействуют с ооцитом во время фолликулогенеза, их цитоплазматические мостики образуют слияния с ооцитом. Фолликулы, инициирующие рост в зрелом возрасте, могут быть способны давать зрелый оплодотворяемый ооцит в зависимости от эндокринной среды во время их роста. Процесс отбора овулирующего фолликула является конкурентным, а апоптотические процессы во взрослом яичнике широко обсуждаются [32, 33].

У людей оценка доли оогоний, входящих в мейоз, широко варьирует по данным разных авторов: 50% (T.G. Baker, 1963), 90% (F.L. Kurilo, 1981). Используя данные A. McLaren (2003), у мышей CD-1 этот переход происходит не более чем у 80% оогоний [34]. Генетические мутантные мыши, у которых отсутствует *vax*, проапоптотный ген, имеют чрезмерное количество ооцитов, входящих в мейоз, что свидетельствует о вовлечении этого

гена в селекцию оогоний. Оогонии, которые не входят в мейоз, удаляются либо апоптозом, либо путем «ареста» в метафазоподобной конформации, связанной с необычной формой гибели клеток [29]. Ретиноевая кислота может быть критическим фактором, присутствие которого вызывает мейоз у самок, но относительное отсутствие которого защищает от преждевременного мейоза [35]. Оогоний, расположенный в краниальной части гонады человека первой, входит в профазу мейоза раньше, инициируя формирование и рост фолликулов [36].

У мышей и других изученных видов мейоз начинается в той части гонады, которая находится в непосредственной близости от мезонефроса [35]. Вполне вероятно, что сроки и географическая организация входа в мейоз отражают местонахождение и происхождение ретиноевой кислоты – небольшой диффундирующей молекулы, градиент которой может играть жизненно важную роль в организации и выборе времени начала мейотической профазы I на уровне яичников [35]. Ретиноевая кислота еще не изучалась в яичниках плода человека, где можно ожидать аналогичную роль. Предполагается, что сроки входа в мейоз являются одним из возможных механизмов, с помощью которых может возникнуть связанное с возрастом увеличение хромосомных аномалий у детей. Другие гипотезы основаны на представлениях о накопленном окислительном повреждении, функции теломер и, совсем недавно, овариальном мозаицизме [21]. Однако происхождение эффекта материнского возраста является загадкой, которая может быть выяснена только благодаря лучшему пониманию гестационных событий в оогенезе.

Вход в мейоз требует наличия клеток-предшественников. В первичных эксплантатах яичников плода человека вступление в мейоз определяют путем окрашивания на щелочную фосфатазу клеток, вручную распределенных на предметных стеклах. Щелочная фосфатаза присутствует в первичных половых клетках и оогониях, но уменьшается и в конечном итоге исчезает, поскольку ооциты вступают в мейоз. У людей резко позитивные клетки-предшественники были очевидны, по крайней мере, в 19 нед беременности, задолго до того, как начинается профазу мейоза во многих клетках. «Арест» оставшихся оогоний в метафазоподобном состоянии, вероятно, происходит у людей примерно на 23–26-й нед, поэтому некоторые из устойчивых оогоний могут быть способны сделать поздний, но успешный переход в профазу I. Используя маркер, специфичный

для мейоза, белок синаптомемального комплекса (SCP3), обнаружили, что ооциты зиготеновой стадии были очевидны с 14-й нед, а ооциты пахитеновой стадии – с 15-й нед гестации. Однако многие ооциты на этих ранних стадиях профазы I мейоза присутствовали до 19-й нед гестации [22, 37].

Для того чтобы проверить ооциты, входящие в профазу I мейоза раньше или позже положенного срока, имеющие повышенную вероятность гибели, использовали TUNEL в качестве маркера разрывов ДНК в ооцитах. Он не является специфическим маркером апоптоза, но может давать представление о состоянии ДНК. D.N. Modi и соавт. (2003) обнаружили, что 3–7% ооцитов были апоптотическими между 13–23-й нед в нормальных яичниках и более 50% – в яичниках плодов с синдромом Шерешевского – Тернера (45XO), где происходит обширная внутриутробная потеря ооцитов [38]. M.S. Albamonte и соавт. (2008) наблюдали низкие уровни ( $\leq 10\%$ ) TUNEL-положительных зародышевых клеток на протяжении всего II триместра в нормальных яичниках, но они обнаружили более высокую частоту ( $\sim 20\%$ ) через 18–20 нед, что совпало с изменением баланса *bcl-2* / *bax* с преобладанием *bax*, так как *bcl-2*, ингибирующий апоптоз, стал неопределяемым на этой стадии [29]. Однако R. Abig и соавт. (2002) сообщали о противоречивых результатах, отмечая чрезмерное выражение *bcl-2* во всех образцах в любом возрасте, при этом положительность TUNEL не определялась до 23-й нед [22, 39].

У человека профазы I мейоза начинается примерно через 13 нед гестации, и вход в мейоз продолжается примерно до 19-й нед гестации, причем ооциты на разных стадиях профазы I мейоза присутствуют одновременно. Многие исследователи предположили, что гибель ооцитов во время профазы I мейоза специфична для стадии пахитены и связана с тем, что ооциты, которые не могут завершить стадию пахитены, останавливаются и подвергаются гибели. Гистологические методы идентификации клеток на разных стадиях профазы I мейоза и выделения их из соматических и дегенерирующих клеток чреваты трудностями, связанными с вопросами о сопоставимости и интерпретации ранних исследований, которые вызывают много противоречивых данных. Работа на мышах подтвердила, что апоптоз происходит на всех стадиях развития ооцитов [40].

Также показано, что отсутствие гена *p53* у мышей связано с измененным профилем прогрессирования профазы первого мейотического деления на 15,5 и 16-х сут развития. Поэтому ген, ко-

торый глубоко вовлечен в контроль генетической целостности клеток и регуляцию апоптоза, влияет как на скорость мейотической прогрессии, так и на качество получающихся ооцитов. Продукт гена *p53* был обнаружен в половине оогоний яичников человека на 8-й нед гестации и у всех на 10–12-й нед гестации, следовательно, он увеличивается с продолжительностью культивирования *in vitro* [41].

Еще одна проблема, связанная с анализом ооцитов человека, заключается в генетическом разнообразии доноров. Влияние генетического фона на аспекты оогенеза было отмечено несколькими авторами [42, 43]. Для людей, где запасы ткани относительно ограничены, межличностная изменчивость может быть приспособлена контролируемыми экспериментами, использующими репликации культуры ткани. Поэтому большая часть нашей будущей работы нацелена на характеристику тканевых ответов *in vitro* и моделирование пренатального оогенеза способом, который облегчает функциональный анализ.

Ооциты млекопитающих останавливают свое развитие в профазе I, а в пубертатном периоде гормональные сигналы индуцируют возобновление мейоза I и прогрессию к мейозу II. Данная мейотическая прогрессия контролируется активностью гена *CDK1* и сопровождается динамическими эпигенетическими изменениями. Хотя сигнальные пути, регулирующие активность *CDK1*, определены, функциональное значение эпигенетических изменений остается в значительной степени неизвестным. Показано, что LSD1, лизин-деметилаза, регулирует диметилирование гистона H3-лизина 4 (H3K4me2) в ооцитах мыши и является существенной для мейотической прогрессии. Условная делеция *Lsd1* в растущих ооцитах при досрочном возобновлении мейоза приводит к нарушениям образования веретена деления и последующим хромосомным аномалиям [20]. Еще несколько генов, регулирующих мейотические преобразования, описаны в научном исследовании: *Notch*, *Stra8*, *Dazl*, *Dmc1* и *Rec8* [44]. Результаты работы продемонстрировали, что экспрессия гена *Stra8*, одного из главных генов мейоза ооцитов, зависит от передачи сигналов геном *Notch*, который заметно подавляет экспрессию других мейотических генов и участвует в последующей сборке примордиальных фолликулов [44].

У многих видов млекопитающих более половины первоначальной популяции ооцитов элиминируется в неонатальной жизни, что ограничивает их резерв. Причина или механизм этой значительной

потери ооцитов остается недостаточно изученной. В одном из исследований показано, что инициаторная каспаза-9 и эффекторная каспаза-7 конститутивно активируются почти во всех ооцитах в плодных яичниках независимо от их генотипов. Активация каспазы-9 имела место, но не приводила сразу к гибели половых клеток. Обнаружено, что XIAP, эндогенный ингибитор апоптоза, также был в избытке в ооцитах во время мейотической прогрессии профазы. Однако расщепленная форма белка *PARP1* – мишени эффекторных каспаз – была локализована в ядрах ограниченного числа ооцитов, а частота расщепленных *PARP1*-положительных ядер ооцитов значительно повышалась до полной элиминации последних. Следовательно, апоптотический митохондриальный путь, опосредуемый каспазой-9, конститутивно активируется в ооцитах и делает возможным удаление ооцитов с мейотическими ошибками, которые показывают расщепление 1 белка *PARP* [45]. Уже доказано, что совместное культивирование незрелых ооцитов с клетками гранулезы снижает долю апоптотических половых клеток и благотворно влияет на их рост и созревание.

Существуют доказательства роли некоторых белков и иных мессенджеров, опосредующих апоптоз в соматических клетках и влияющих на количество половых клеток яичника [24, 46–48]. М. Myers и соавт. (2014) сообщили, что у мышей, генетически дефектных по гену *PUMA*, наблюдаются повышенная экспрессия апоптотических факторов и уменьшение вдвое половых клеток, вступающих в мейоз, следовательно, размер овариального резерва значительно снижается [21, 49]. Этот эффект не может быть связан с измененной пролиферативной активностью зародышевых клеток. Данные свидетельствуют о том, что *PUMA* влияет только на клетки гранулезы оогоний до момента образования яйценосных шаров, но не во время последующего уменьшения числа половых клеток при дегенерации последних [50]. И, наоборот, антиапоптотический Bcl-2-подобный белок, MCL-1, относительно поздно экспрессируется в ооцитах, как раз перед образованием примордиальных фолликулов, следовательно, может косвенно играть определенную роль в сохранении овариального резерва во время оогенеза [50].

Таким образом, мы предлагаем некоторые дополнительные доказательства того, что на судьбу ооцитов и размер овариального резерва могут влиять время их вступления в мейоз, а также ряд факторов и белков, способствующих данному процессу. Время перехода через стадии профазы

I мейоза может в некоторой степени отражать компетентность развития ооцита, и необходимы дальнейшие исследования для отслеживания отдельных ооцитов *in vitro* и получения подробных сведений о принятии апоптотических решений на клеточном уровне. Хотя вопрос об апоптотических механизмах *in vitro* еще не рассматривался для ооцитов плода человека, прогресс был достигнут у мышей с использованием кратковременных культур. Важно отметить, что ингибиторы каспаз, ферменты которые опосредуют каскад, приводящий к разрушению ДНК, только частично эффективны в ингибировании апоптоза ооцитов, указывая на то, что механизмы, независимые от каспазного пути, имеют место быть. Они подтверждают, что фрагментация ДНК в ооцитах человека, идентифицированная TUNEL, не всегда связана с апоптозом. В настоящее время взаимодействие многих возможных путей гибели клеток, участвующих в пренатальном отборе ооцитов, не изучено. Их дальнейшее изучение окажется жизненно важным для понимания различных критериев отбора, применяемых к ооцитам на клеточном уровне.

#### КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Автор декларирует отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

#### ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Авторы заявляют об отсутствии финансирования при проведении исследования.

#### ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Волкова О.В., Бичерова И.А., Демяшкин Г.А. Факторы роста и их значение в процессах репродукции. *Фундаментальные исследования*. 2006; 5: 82–83. [Volkova O.V., Bicherova I.A., Demyashkin G.A. *Growth factors and their importance in the reproduction processes. Fundamental'nye issledovaniya – Fundamental Studies*. 2006; 5: 82–83 (in Russ.).]
2. Зенкина В.Г. Значение апоптоза в яичниках при развитии некоторых заболеваний репродуктивной системы. *Фундаментальные исследования*. 2011; 6: 227–230. [Zenkina V.G. The importance of apoptosis in the ovaries in the development of certain diseases of the reproductive system. *Fundamental'nye issledovaniya – Fundamental Research*. 2011; 6: 227–230 (in Russ.).]
3. Зенкина В.Г., Солодкова О.А. Овариальный резерв женщин г. Владивостока в позднем репродуктивном периоде. *Фундаментальные исследования*. 2014; 4–1: 76–80. [Zenkina V.G., Solodkova O.A. Ovarian reserve of women in Vladivostok in the late reproductive period.

- Fundamental' nye issledovaniya – Fundamental Research.* 2014; 4: 76–80 (in Russ.).
4. Зенкина В.Г. Факторы ангиогенеза при развитии физиологических и патологических процессов женской гонады. *Бюллетень сибирской медицины.* 2016; 15 (4): 111–119. [Zenkina V.G. Factors of angiogenesis in the development of the physiological and pathological processes of the female gonad. *Byulleten' sibirskoy meditsiny – Bulletin of Siberian Medicine.* 2016; 15 (4): 111–119 (in Russ.).]
  5. Зенкина В.Г., Каредина В.С., Солодкова О.А., Слуцкая Т.Н., Юферева А.Л. Морфология яичников андрогенизированных крыс на фоне приема экстракта из кукумарии. *Тихоокеанский медицинский журнал.* 2007; 4: 70–72. [Zenkina V.G., Karedina V.S., Solodkova O.A., Slutskaia T.N., Yufereva A.L. Morphology of ovarian androgenized rats on the background of the extract from Cucumaria. *Tikhookeanskiy meditsinskiy zhurnal – Pacific Medical Journal.* 2007; 4: 70–72 (in Russ.).]
  6. Боровая Т.Г., Шевлягина Н.В., Диденко Л.В. Интраовариальные регуляторы фолликулогенеза. *Успехи физиологических наук.* 2010; 41 (1): 58–74. [Borovaya T.G., Shevlyagina N.V., Didenko L.V. Intraovarian regulators of folliculogenesis. *Uspekhi fiziologicheskikh nauk – Uspekhi Fiziologicheskikh Nauk.* 2010; 41 (1): 58–74 (in Russ.).]
  7. Зенкина В.Г., Солодкова О.А., Погукай О.Н., Каредина В.С. Современные представления об интраорганный регуляции фолликулогенеза в яичнике. *Современные проблемы науки и образования.* 2012; 2: 41. URL: [www.science-education.ru](http://www.science-education.ru). [Zenkina V.G., Solodkova O.A., Pogukay O.N., Karedina V.S. Modern concepts of intra-organic regulation of folliculogenesis in the ovary. *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya – Modern Problems of Science and Education.* 2012; 2: Access mode: [www.science-education.ru](http://www.science-education.ru) (in Russ.).]
  8. Denton D., Xu T., Kumar S. Autophagy as a pro-death pathway. *Immunology and Cell Biology.* 2015; 93 (1): 35–42. DOI: 10.1038/icb.2014.85.
  9. Dubey P.K., Sharma G.T. Nitric oxide and ovarian folliculogenesis: a possible role in follicular atresia. *Asian-Australas J. Anim. Sci.* 2016; <http://dx.doi.org/10.5713/ajas.15.0831>. DOI: 10.5713/ajas.15.0831.
  10. Tatone C., Carbone M.C., Gallo R., Delle Monache S., Di Cola M., Alesse E., Amicarelli F. Age-associated changes in mouse oocytes during postovulatory in vitro culture: possible role for meiotic kinases and survival factor BCL2. *Biol. Reprod.* 2006; 74 (2): 395–402.
  11. Depmann M., Faddy M.J., van der Schouw Y.T., Peeters P.H., Broer S.L., Kelsey T.W., Nelson S.M., Broekmans F.J. The relation between variation in size of the primordial follicle pool and age at natural menopause. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2015; 100 (6): e845–851. DOI: 10.1210/jc.2015-1298.
  12. Wallace W.H., Kelsey T.W. Human ovarian reserve from conception to menopause. *PLoS One.* 2010; 5 (1): e8772. DOI: 10.1371/journal.pone.0008772.
  13. Gartner A., Boag P.R., Blackwell T.K. Germline survival and apoptosis. *WormBook.* 2008; 4: 1–20. DOI: 10.1895/wormbook.1.145.1.
  14. Findlay J.K., Hutt K.J., Hickey M., Anderson R.A. How Is the Number of Primordial Follicles in the Ovarian Reserve Established? *Biol. Reprod.* 2015; 93 (5): 111. DOI: 10.1095/biolreprod.115.133652.
  15. Broekmans F.J., Soules M.R., Fauser B.C. Ovarian aging: mechanisms and clinical consequences. *Endocr. Rev.* 2009; 30: 465–493. DOI: 10.1210/er.2009-0006.
  16. Tehrani F.R., Solaymani-Dodaran M., Tohidi M., Gohari M.R., Azizi F. Modelling age at menopause using serum concentration of anti-mullerian hormone. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2013; 98 (2): 729–735. DOI: 10.1210/jc.2012-3176.
  17. Anderson R.A., Mitchell R.T., Kelsey T.W., Spears N., Telfer E.E., Wallace W.H. Cancer treatment and gonadal function: experimental and established strategies for fertility preservation in children and young adults. *Lancet Diabetes Endocrinol.* 2015; 3 (7): 556–567. DOI: 10.1016/S2213-8587(15)00039-X.
  18. Киروشка В.В., Тищенко Ю.О. Динамика фолликулогенеза половозрелой и неонатальной овариальной ткани в условиях длительной гетеротопической трансплантации. *Журнал эволюционной биохимии и физиологии.* 2012; 48 (2): 160–168. [Kiroshka V.V., Tishchenko Yu.O. Changes in folliculogenesis of sexually mature and neonatal ovarian tissue in conditions of prolonged heterotopic transplantation. *Zhurnal evolyutsionnoy biokhimii i fiziologii – Journal of Biochemistry Evolutions and Physioles.* 2012; 48 (2): 160–168 (in Russ.).]
  19. Shuster L.T., Rhodes D.J., Gostout B.S., Grossardt B.R., Rocca W.A. Premature menopause or early menopause: long-term health consequences. *Maturitas.* 2010; 65 (2): 161–166. DOI: 10.1016/j.maturitas.2009.08.003.
  20. Kim J., Singh A.K., Takata Y., Lin K., Shen J., Lu Y., Kerényi M.A., Orkin S.H., Chen T. LSD1 is essential for oocyte meiotic progression by regulating CDC25B expression in mice. *Nat. Commun.* 2015; 6: 10116. DOI: 10.1038/ncomms10116.
  21. Monget P., Bobe J., Gougeon A., Fabre S., Monniaux D., Dalbies-Tran R. The ovarian reserve in mammals: a functional and evolutionary perspective. *Mol. Cell Endocrinol.* 2012; 356 (1–2): 2–12. DOI: 10.1016/j.mce.2011.07.046.
  22. Hartshorne G.M., Lyraou S., Hamoda H., Oloto E., Ghafari F. Oogenesis and cell death in human prenatal ovaries: what are the criteria for oocyte selection? *Mol. Hum. Reprod.* 2009; 15 (12): 805–819. DOI: 10.1093/molehr/gap055.
  23. Agarwal A., Aponte-Mellado A., Premkumar B.J., Shaman A., Gupta S. The effects of oxidative stress on female reproduction: a review. *Reproductive Biology and Endocrinology.* 2012; 10: 49. DOI: 10.1186/1477-7827-10-49.



24. Banerjee S., Saraswat G., Bandyopadhyay S.A., Kabir S.N. Female reproductive aging is master-planned at the level of ovary. *PLoS One*. 2014; 9 (5): e96210. DOI: 10.1371/journal.pone.0096210.
25. Tian N., Zhang L., Zheng J.H., Lv D.Y., Li Y., Ma W.Y. Three-dimensional quantitative analysis of chromosomes in the oocytes of aging mice during meiosis I *in vitro*. *Theriogenology*. 2013; 79 (2): 249–256. DOI: 10.1016/j.theriogenology.2012.08.010.
26. Liu Y.X. Advanced studies on ovary physiology in China in the past 30 years. *Sheng Li Xue Bao*. 2016; 68 (4): 366–384.
27. Pepling M.E. From primordial germ cell to primordial follicle: mammalian female germ cell development. *Genesis*. 2006; 44 (12): 622–632.
28. Yang Y., Fang L.H., Wang X.F. Effect of Foxo3a gene over-expression on the development of rat ovarian granulosa cells and in prevention of cisplatin-induced ovarian damage in rats. *Nan Fang Yi Ke Da Xue Xue Bao*. 2016; 36 (6): 796–801.
29. Albamonte M.S., Willis M.A., Albamonte M.I., Jensen F., Espinosa M.B., Vitullo A.D. The developing human ovary: immunohistochemical analysis of germ-cell-specific VASA protein, BCL-2/BAX expression balance and apoptosis. *Hum. Reprod.* 2008; 23 (8): 1895–1901. DOI: 10.1093/humrep/den197.
30. Gilchrist R.B., Lane M., Thompson J.G. Oocyte-secreted factors: regulators of cumulus cell function and oocyte quality. *Hum. Reprod. Update*. 2008; 14 (2): 159–177. DOI: 10.1093/humupd/dmm040.
31. Перетятко Л.П., Кузида Л.В., Проценко Е.В. Морфология плодов и новорожденных с экстремально низкой массой тела. Иваново: ОАО «Изд. «Иваново», 2005: 384. [Peretyatko L.P., Kuzida L.V., Protsenko E.V. Morphology of fetuses and newborns with extremely low body weight. Ivanovo: ОАО «Izd. «Ivanovo» Publ., 2005: 384 (in Russ.)].
32. Hussein M.R. Apoptosis in the ovary: molecular mechanisms. *Human Reproduction Update*. 2005; 11 (2): 162–177.
33. Зенкина В.Г., Каредина В.С., Солодкова О.А., Михайлов А.О. Регуляторы апоптоза и механизм их действия в женской гонаде. *Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований*. 2010; 7: 7–14. [Zenkina V.G., Karedina V.S., Solodkova O.A., Mikhaylov A.O. Regulators of apoptosis and the mechanism of their action in the female gonad. *Mezhdunarodnyy zhurnal prikladnykh i fundamental'nykh issledovaniy – International Journal of Applied and Fundamental Research*. 2010; 7: 7–14 (in Russ.)].
34. McLaren A. Primordial germ cells in the mouse. *Dev. Biol.* 2003; 262: 1–15.
35. Bowles J., Koopman P. Sex determination in mammalian germ cells: extrinsic versus intrinsic factors. *Reproduction*. 2010; 139: 943–958. DOI: 10.1530/REP-10-0075.
36. Bendsen E., Byskov A.G., Andersen C.Y., Westergaard L.G. Number of germ cells and somatic cells in human fetal ovaries during the first weeks after sex differentiation. *Hum. Reprod.* 2006; 21 (1): 30–35.
37. Kurilo F.L. Oogenesis in antenatal development in man. *Hum. Genet.* 1981; 57: 86–92.
38. Modi D.N., Sane S., Bhartiya D. Accelerated germ cell apoptosis in sex chromosome aneuploid fetal human gonads. *Mol. Hum. Reprod.* 2003; 9 (4): 219–225.
39. Abir R., Orvieto R., Dicker D., Zukerman Z., Barnett M., Fisch B. Preliminary studies on apoptosis in human fetal ovaries. *Fertil Steril.* 2002; 78 (2): 259–264.
40. Ghafari F., Gutierrez C.G., Hartshorne G.M. Apoptosis in mouse fetal and neonatal oocytes during meiotic prophase one. *BMC Dev. Biol.* 2007; 7: 87.
41. Wu Y., Zhang Z., Liao X., Wang Z. High fat diet triggers cell cycle arrest and excessive apoptosis of granulosa cells during the follicular development. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2015; 466 (3): 599–605. DOI: 10.1016/j.bbrc.2015.09.096.
42. Coccia M.E., Rizzello F. Ovarian reserve. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 2008; 1127: 27–30. DOI: 10.1196/annals.1434.011.
43. Choi J., Jo M., Lee E., Choi D. Induction of apoptotic cell death via accumulation of autophagosomes in rat granulosa cells. *Fertility and Sterility*. 2011; 95 (4): 1482–1486. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2010.06.006.
44. Feng Y.M., Liang G.J., Pan B., Qin X.S., Zhang X.F., Chen C.L., Li L., Cheng S.F., De Felici M., Shen W. Notch pathway regulates female germ cell meiosis progression and early oogenesis events in fetal mouse. *Cell Cycle*. 2014; 13 (5): 782–791. DOI: 10.4161/cc.27708.
45. Ene A.C., Park S., Edelmann W., Taketo T. Caspase 9 is constitutively activated in mouse oocytes and plays a key role in oocyte elimination during meiotic prophase progression. *Dev. Biol.* 2013; 377 (1): 213–223. DOI: 10.1016/j.ydbio.2013.01.027.
46. Hotchkiss R.S., Strasser A., McDunn J.E., Swanson P.E. Cell death. *N. Engl. J. Med.* 2009; 361 (16): 1570–1583. DOI: 10.1056/NEJMr0901217.
47. Зенкина В.Г., Солодкова О.А. Участие оксида азота в овариальном цикле. *Современные проблемы науки и образования*. 2015; 6: 10. [Zenkina V.G., Solodkova O.A. The participation of nitric oxide in the ovarian cycle. *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya – Modern Problems of Science and Education*. 2015; 6: Access mode: www.sience-education.ru (in Russ.)].
48. Hutt K.J. The role of BH3-only proteins in apoptosis within the ovary. *Reproduction*. 2015; 149: R81–R89.
49. Myers M., Morgan F.H., Liew S.H., Zerafa N., Gamage T.U., Sarraj M., Cook M., Kapic I., Sutherland A., Scott C.L., Strasser A., Findlay J.K., Kerr J.B., Hutt K.J. PUMA regulates germ cell loss and primordial follicle endowment in mice. *Reproduction*. 2014; 148 (2): 211–219. DOI: 10.1530/REP-13-0666.
50. Omari S., Waters M., Naranian T., Kim K., Perumalsamy A.L., Chi M., Greenblatt E., Moley K.H., Opferman J.T., Jurisicova A. Mcl-1 is a key regulator of the ovarian reserve. *Cell Death Dis.* 2015; 6: e1755. DOI: 10.1038/cddis.2015.95.

Поступила в редакцию 28.12.2017

Подписана в печать 15.05.2018

Зенкина Виктория Геннадьевна, канд. мед. наук, доцент, зав. кафедрой биологии, ботаники и экологии, ТГМУ, г. Владивосток.

(✉) Зенкина Виктория Геннадьевна, e-mail: zena-74@mail.ru.

УДК 616.853:615.015.46

<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2018-3-197-206>For citation: Zenkina V.G. Formation of follicular reserve of ovarians. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2018; 17 (3): 197–206.

## Formation of ovarian reserve

**Zenkina V.G.***Pacific State Medical University**2, Ostryukova Str., 690950, Vladivostok, Russian Federation*

### ABSTRACT

The review of the literature is devoted to modern data on the formation of the ovarian reserve of the female sexual organ. The relationship between the size of the ovarian reserve and length of reproductive capacity emphasizes the importance of understanding the regulatory factors and processes that determine its creation. We described ovarian reserve markers and regulators such as oocyte phosphatidylinositol-3-kinase, a stem-cell factor (kit ligand) that promote the survival of follicles during neonatal development, synaptonemal complex (SCP3), which is the marker of the first division of meiosis, as well as genes DMC1 and PTEN, involved in meiotic transformations and recruitment of primordial follicles. Changes in the expression of some genes and factors in the human fetal ovaries during primary follicular assembly now give an idea of the ways controlling early folliculogenesis. Aberrant production of these factors can cause dysfunction, the development of ovarian disorders and a defective follicular reserve. In particular, the degree of change in the number of germ cells at each of the stages leading to the creation of an ovarian reserve should be noted. This change can affect the final size of the follicular stock, and, consequently, the reproductive longevity of a person and health in the post-productive period. In particular, the number of primary follicles during puberty is positively correlated with the number of growing follicles and their response to gonadotropin treatment. The size of the ovarian reserve depends on the genes involved in proliferation and differentiation of germ cells, sexual differentiation, meiosis, germ cell degeneration, the formation of primary follicles, and the potential mechanism for self-renewal of embryonic stem cells. For example, a possible molecular mechanism has been established leading to a meiotic process in oocytes involving the above genes and factors, as well as apoptotic and antiapoptical signals: Bax, Bcl-2, p53, CDK1, Lsd1, Notch, Stra8, Dazl, Dmc1, Rec8, XIAP, PUMA. Therefore, understanding all the subtleties and molecular mechanisms at each stage of laying down and developing the ovaries, sex cells and their environment, and the death of gametes, can help to search for possible regulators and prevent pathological depletion of the follicular stock.

**Key words:** follicular reserve, ovary, molecular genetic mechanisms.

### CONFLICT OF INTEREST

The authors declare the absence of obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

### SOURCE OF FINANCING

The authors state that there is no funding for the study.

Received 28.12.2017

Accepted 15.05.2018

Zenkina Viktoriya G., PhD, Associate Professor, Head of the Department of Biology, Botany and Ecology, Pacific State Medical University, Vladivostok, Russian Federation.

(✉) Zenkina Viktoriya G., e-mail: zena-74@mail.ru.