

# Biologia starzenia się jajników

## *Biology of ovarian aging*

Magdalena Agata Lemm, Piotr Skatba

Klinika Endokrynologii Ginekologicznej, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach;  
kierownik Kliniki: prof. dr hab. n. med. Piotr Skatba

Przeгляд Menopauzalny 2013; 3: 231–234

### Streszczenie

Układ rozrodczy kobiety wykazuje znacznie szybsze tempo starzenia niż inne układy w organizmie. Menopauza jest ostatnim krokiem w procesie starzenia się jajników. Badania nad możliwością zatrzymania zegara biologicznego coraz częściej przykuwają uwagę wielu badaczy. Ma to związek ze wzrostem długości życia, ale przede wszystkim coraz późniejszym podejmowaniem decyzji o macierzyństwie oraz coraz większą ilością niepłodnych par.

Czynniki neuroendokrynne oraz maciczne mają swój znaczny udział w zmniejszaniu się płodności wraz z wiekiem, ale to jajnik jest głównym organem odpowiadającym za to zjawisko. Uważa się, że starzenie się jajnika zdominowane jest przez stopniowe zmniejszanie się liczby pęcherzyków, a liczba i jakość pęcherzyków, czyli rezerwa jajnikowa, związana jest z wiekiem kobiety. Badania pomocne w oznaczaniu rezerwy jajnikowej to pomiar liczby pęcherzyków antralnych podczas przezpochwowego badania ultrasonograficznego, a także oznaczenie we krwi stężeń: folikulotropiny między 2. a 4. dniem cyklu, inhibiny B, estradiolu oraz hormonu anti-Müllerowskiego.

Jako terapie przyszłości w leczeniu niepłodności kobiet proponuje się strategię oparte na użyciu komórek macierzystych celem regeneracji jajnika. Mimo ostatnich doniesień wskazujących na możliwość ich użycia brakuje nadal dowodów popierających skuteczność ich użycia.

W niniejszym artykule przedstawiono czynniki wpływające na starzenie się jajników oraz zmiany, jakie towarzyszą temu zjawisku.

**Słowa kluczowe:** starzenie się jajników, płodność.

### Summary

The woman's reproductive system ages much faster than other systems of the body. Menopause is the last step in the process of ovarian aging. Studies on the biological clock stops more and more often attract the attention of many researchers. This is related to the increase in life expectancy, but also increasingly making decisions about motherhood later on and the increasing number of infertile couples.

Neuroendocrine and uterine factors are contributing to a reduction in fertility with age, the ovary is the main authority responsible for this phenomenon. Aging of the ovary is dominated by a progressive reduction in the number of follicles. And the number and quality of follicle – ovarian reserve – are linked to the age of the woman. Research helpful in the determination of the ovarian reserve involves the measurement of the number of antral follicles during transvaginal ultrasound and blood levels of follicle-stimulating hormone between the 2<sup>nd</sup> and 4<sup>th</sup> day of the cycle, inhibin B, estradiol and anti-Müllerian hormone.

A strategy based on the use of stem cells to regenerate the ovary is proposed as future therapies for the treatment of female infertility. In this article, we report factors affecting aging of the ovaries and changes accompanying this phenomenon.

**Key words:** ovarian aging, fertility.

Adres do korespondencji:

Magdalena Agata Lemm, Klinika Endokrynologii Ginekologicznej SUM, SP CSK SUM w Katowicach, ul. Medyków 14, 40-752 Katowice,  
e-mail: magdalena.lemm@gmail.com

Układ rozrodczy kobiety wykazuje znacznie szybsze tempo starzenia niż inne układy w organizmie [1]. Stopniowy spadek płodności związany ze stałym zmniejszaniem się rezerwy jajnikowej przyspiesza nagle w wieku ok. 37 lat. Menopauza jest ostatnim krokiem w procesie ustania funkcji rozrodczych jajników. Badania nad możliwością zatrzymania zegara biologicznego przykuwają uwagę wielu naukowców. Ma to związek z coraz późniejszym podejmowaniem decyzji o macierzyństwie oraz coraz większą liczbą nieplodnych par.

Mimo że czynniki neuroendokrynne oraz maciczne mają swój udział w zmniejszaniu się płodności wraz z wiekiem, to jajnik jest głównym organem odpowiadającym za to zjawisko [2].

Uważa się, że starzenie się jajnika zdominowane jest przez stopniowe zmniejszanie się liczby pęcherzyków. Liczba i jakość pęcherzyków, czyli rezerwa jajnikowa, związana jest zaś z wiekiem kobiety [1]. Mniejsza ich ilość jest odpowiedzialna za spadek płodności oraz wzrostu liczby poronień.

Podczas życia płodowego, komórki rozrodcze powstają w szybkim tempie – osiągając maksymalnie 7 milionów oocytów do 16.–20. tygodnia ciąży [1]. Pierwotne pęcherzyki powstają w jajnikach płodu pod koniec drugiego trymestru. Oocyty zatrzymane w profazie pierwszego podziału mejotycznego, otoczone przez jedną warstwę komórek ziarnistych stanowią pulę, która służy jako źródło pęcherzyków rozwijających się [3]. W takiej formie pęcherzyki mogą pozostawać w puli nawet przez 40 lat. Przez tak długi okres narażone są na szereg czynników uszkodzających ich zdolność do reprodukcji.

Każdego miesiąca kilka pęcherzyków z tej puli jest aktywowanych, przechodzi kolejne etapy folikulogenezy. Ostatecznie tylko jeden pęcherzyk (dominujący) osiągnie fazę preowulacyjną, podczas gdy inne ulegną atrezji na różnych etapach swojego rozwoju.

Przy porodzie liczba pęcherzyków w jajnikach żeńskiego noworodka liczy ok. 1 mln [1]. W sposób nieunikniony liczba oocytów stale się zmniejsza, osiągając na początku pokwitania liczbę 300 000–500 000 pęcherzyków [1, 4].

Podczas okresu rozrodczego liczba pęcherzyków premordialnych (zarodkowych) spada w tempie średnio ok. 1000 pęcherzyków na miesiąc. Ponad 99,9% pęcherzyków premordialnych ulega atrezji, a tylko 400–500 pęcherzyków (poniżej 1%) dochodzi do stadium owulacji.

Podstawowym mechanizmem prowadzącym do zmniejszenia puli pęcherzyków, a tym samym rezerwy jajnikowej, jest apoptoza [5, 6]. Pojawia się szereg zmian morfologicznych w oocytach i komórkach ziarnistych. Dochodzi do zwiększonej wakuolizacji w oocytach, zwiększa się frakcja mitochondrialna, co związane jest z większą gęstością macierzy, zmianami w retikulum endoplazmatycznym oraz aparacie Golgiego. W komórkach ziarnistych jajnika dochodzi do zmniejszenia liczby mitochondriów [1].

Wraz z wiekiem jajnika obniża się jakość oocytów i zwiększa się częstość aberracji chromosomalnych i poronień [7]. Procesy te nasilają się zazwyczaj po 35. roku życia. Indywidualna szybkość starzenia się jajników jest różna u poszczególnych kobiet – u jednych następuje nagły spadek w wieku ok. 38. roku życia, u innych ma miejsce stały stopniowy spadek w ciągu całego okresu rozrodczego. Około 31. roku życia płodność zaczyna stopniowo maleć, liczba pęcherzyków może spaść poniżej 25 000 w wieku 37,5 roku, wskazując na początek starzenia się jajników. Spadek puli pęcherzyków jajnika sygnalizują takie objawy, jak nieregularne miesiączki i obniżenie płodności. Okres reprodukcyjny kończy menopauza, która pojawia się średnio w 51. roku życia [8]. W tym czasie tylko ok. 1000 pęcherzyków znajduje się w jajnikach. Jest to liczba niewystarczająca do produkcji hormonów steroidowych i tym samym podtrzymania miesiączkowania [4].

Badania pomocne w oznaczaniu rezerwy jajnikowej to pomiar liczby pęcherzyków antralnych (AFC) podczas przezpochwowego badania ultrasonograficznego (USG), oznaczenie we krwi stężeń: folikulotropiny (*follicle-stimulating hormone* – FSH) między 2. a 4. dniem cyklu, inhibiny B, estradiolu oraz hormonu anty-Müllerskiego (*anti-Müllerian hormone* – AMH). Ocena AFC i oznaczanie stężenia AMH stanowią obecnie najlepsze markery rezerwy jajnikowej [1, 9]. Stężenie AMH w surowicy spada na rok o 4,2–8,6%. Średnia AFC obniża się o 3,2–5,8% na rok [10]. Zwiększenie stężenia FSH spowodowane jest zmniejszeniem stężeń inhibiny B i AMH, które są negatywnymi regulatorami wydzielania FSH. Głównymi źródłami inhibiny B i AMH są komórki ziarniste pęcherzyków preantralnych i małych pęcherzyków antralnych. Wyczerpywanie puli pęcherzyków prowadzi do zmniejszania się stężeń inhibiny B i AMH, jednocześnie prowadząc do wzrostu wydzielania FSH i estradiolu. W efekcie może dojść do skrócenia fazy folikularnej, a tym samym całego cyklu miesiączkowego. Podstawowym objawem starzenia się jest skrócenie cyklu miesiączkowego o 2–3 dni. Oznaczenie wyłączenie stężenia estradiolu nie jest dobrym markerem starzenia się jajników.

Według Soto i wsp. [11] poziomy AMH i inhibiny B są niższe u kobiet z cukrzycą typu pierwszego (*diabetes mellitus type 1* – DM 1) w odpowiednich grupach wiekowych po 33. roku życia. W rezultacie u tych kobiet wcześniej dochodzi do obniżenia rezerwy jajnikowej. W grupie kobiet z DM 1 obserwuje się wcześniejsze występowanie menopauzy. Wczesna menopauza u kobiet z DM 1 ma najprawdopodobniej podstawy autoimmunologiczne. Celem zróżnicowania autoimmunologicznego przedwczesnego wygasania czynności jajników od fizjologicznej menopauzy wg Tsigkou i wsp. [12] należy oznaczać stężenie inhibiny B w surowicy. Małe stężenie inhibiny B wiąże się ze zmniejszoną rezerwą jajnikową pochodzenia nieimmunologicznego [12].

Rola czynników genetycznych wpływających na wiek menopauzy przyciąga coraz większą uwagę w ostatnich latach. Ma to znaczenie nie tylko ze względu na wzrost długości życia, lecz także na coraz później rozpoczynające się starania macierzyńskie. Czynniki genetyczne mają znaczny wpływ na wiek pojawienia się ostatniej miesiączki [13]. Dziedziczenie w tym zakresie szacuje się w przedziale 31–87% [14, 15]. Badania genetyczne wykazały, że to odpowiednie rejony chromosomów 8, 9, X, 11, 16 są odpowiedzialne za wiek wystąpienia menopauzy. Badania potwierdzają obserwacje wieku menopauzy w relacjach matka – córka – rodzeństwo.

Przedwczesne wygasanie czynności jajników (*premature ovarian failure* – POF) polega na wyczerpywaniu się puli pęcherzyków primordialnych przed 40. rokiem życia, co może służyć jako unikatowy model wpływu genetycznych mechanizmów starzenia się jajników. Badania kobiet z POF wytypowały wiele genów kandydatów. Mikrodelecje tych genów powodują przedwczesne starzenie się gonad. Zestawienie genów kandydackich przedstawiono w publikacji Ewy Szejser i Anny Marczakiewicz [13].

Niedawno, na podstawie skanowania genomu rodzeństw siostrzanych wykazano związek dwóch regionów chromosomowych 9q21.3 i Xp21.3 z pojawieniem się POF. Poza tym istotny związek z wiekiem menopauzy wykazano w przypadku polimorfizmu pojedynczych nukleotydów w regionach chromosomów 5, 6, 13, 19 i 20 [13].

Uważa się, że obniżenie jakości oocytów pojawia się z powodu wzrostu nondysjunkcji chromosomów podczas mejozy I lub II (co prowadzi do częstszego występowania aneuploidii). Wraz wiekiem u kobiet zaobserwowano przedwczesne oddzielanie się chromatyd podczas mejozy, co również ostatecznie prowadzi do aneuploidii.

Za starzenie się jajników odpowiedzialne są także mutacje mitochondrialnego DNA (mtDNA). Mitochondria odgrywają kluczową rolę w produkcji energii, proliferacji komórek i apoptozie – tym samym utrzymują prawidłową funkcję jajników, wpływając na płodność. Ich własny materiał genetyczny (mtDNA) jest dziedziczony po matce [16]. Zbadano, że nieprawidłowości w zakresie mtDNA mogą być usunięte przez mikroiniekcje cytoplazmy od młodszych oocytów [17].

Starzenie jajników tłumaczone jest również teorią telomerową. Jest to teoria, która również uwzględnia niszczenie materiału genetycznego poprzez spadek aktywności telomerazy. Telomeraza w warunkach fizjologicznych odpowiedzialna jest za replikację telomerów (końcowych fragmentów chromosomów). Funkcją telomerazy jest utrzymanie prawidłowej długości telomerów i tym samym zapewnienie stabilności genomu. Dochodzi do skracania telomerów i destabilizacji chromosomu. Wykazano korelację między długością telomerazy a płodnością. Spadek aktywności telomerazy

wraz z wiekiem w połączeniu z wieloletnim narażeniem na reaktywne związki tlenu może prowadzić do szybkiego skracania telomerów, co wpływa w efekcie na płodność. Ponieważ aktywność telomerazy ma związek z wyczerpywaniem puli pęcherzyków primordialnych, może ona stanowić marker starzenia się jajników [18].

W warunkach prawidłowych w organizmie zapewniona jest równowaga między reaktywnymi formami tlenu i antyoksydantami. Reaktywne formy tlenu (*reactive oxygen species* – ROS) i azotu reaktywnego nazywane są wolnymi rodnikami [19]. Zaburzenie równowagi prowadzące do nadmiaru ROS skutkuje stresem oksydacyjnym. Przeciwutleniacze konwertują reaktywne formy tlenu do cząsteczek wody [20]. Wśród antyoksydantów wyróżnia się przeciwutleniacze enzymatyczne i nieenzymatyczne. Przeciwutleniacze enzymatyczne nazywane są inaczej naturalnymi antyoksydantami. Zalicza się do nich dysmutazę ponadtlenkową, katalazę, peroksydazę glutationową oraz reduktazę glutationową [21]. Do grupy drugiej należą witaminy C i E, selen, cynk, tauryna, hipotauryna, glutation,  $\beta$ -karoten oraz karoten [22]. Reaktywne formy tlenu pełnią funkcję cząsteczek sygnałowych w wielu procesach fizjologicznych w organizmie. Produkowane w nadmiarze mogą prowadzić do wadliwego tworzenia zasad purynowych i pirymidynowych, co w efekcie skutkuje przerwaniem nici DNA [20]. Zwiększone ich powstawanie może spowodować rozległe uszkodzenia oksydacyjne, które następnie indukują cytochrom C oraz czynniki prozapalne, ostatecznie prowadząc do śmierci komórek. Reaktywne formy tlenu mają wpływ na dojrzewanie oocytów, folikulogenezę oraz steroidogenezę w jajnikach. Powstające formy azotu reaktywnego prowadzą do uszkodzeń białek, węglowodanów, nukleotydów i lipidów, co w efekcie powoduje uszkodzenia komórek i tkanek [20].

Starzenie jajników powodowane jest przez produkty glikacji, która stanowi nieodwracalny proces przyspieszający starzenie komórek. Nagromadzone produkty glikacji przyczyniają się do powstawania miażdżycy i rozwoju cukrzycy [23].

Obniżona zawartość tlenu, czynników odżywczych, hormonalnych cząsteczek sygnałowych i innych, związana z gorszym unaczynieniem jest przyczyną starzenia się jajników. Z kolei prawidłowemu unaczynieniu i bogatej zawartości tlenu towarzyszy większa płodność.

Starzenie się jajników jest rezultatem sumy czynników wrodzonych oraz czynników środowiskowych. Badania epidemiologiczne wykazały, że na funkcję jajników mają wpływ czynniki środowiskowe, tj. poziom wykształcenia, zawód i stosowana antykoncepcja [8]. Długotrwałe narażenie na dym tytoniowy ma również niekorzystny związek z płodnością kobiet w późniejszych latach życia. Jednak dokładny mechanizm leżący u podstaw tego zjawiska jest jeszcze nieznan. Starzenie się jajników jest również związane z narażeniem na promieniowanie, metale ciężkie, pestycydy i środki

chemiczne Ponadto niewłaściwa dieta, prowadząca do przewlekłej hiperglikemii, może również powodować przedwczesne starzenie się jajników [24].

Jako terapie przyszłości w leczeniu niepłodności kobiet proponuje się strategię opartą na użyciu komórek macierzystych celem regeneracji jajnika [25].

Podstawowym dogmatem rozrodu człowieka jest fakt, że oogeneza kończy się po urodzeniu. Tego dogmatu nie zdołali podważyć wyniki doświadczeń wskazujące na możliwość neo-oogenezy, które nadal uznaje się za nieprzekonujące. Badania dotyczące tych ważnych zjawisk nadal trwają [26].

Hosni i wsp. stworzyli hipotetyczny model starzenia się komórek macierzystych jajników. Zakłada on, że pojawienie się menopauzy i spadek płodności spowodowane jest obniżeniem działania jajnikowych komórek macierzystych, a nie wyczerpaniem się nieodnawialnej rezerwy pęcherzyków. Zrozumienie, jak komórki macierzyste jajnika oddziałują z otoczeniem, może przenieść nas o krok bliżej do sterowania zegarem biologicznym kobiety [27].

Pomimo ostatnich doniesień wskazujących na możliwość użycia komórek macierzystych w celu przywrócenia pierwotnego pęcherzyka. Brakuje nadal dowodów popierających skuteczność ich użycia [28].

Obiecujące wydają się badania doświadczalne nad wpływem melatoniny na starzenie jajników u szczurów. Podawanie melatoniny samicom szczura ma korzystny wpływ w postaci wydłużenia funkcji reprodukcyjnej jajników [29].

Podsumowując – należy podkreślić, że proces starzenia się jajników jest naturalnym zjawiskiem biologicznym zaprogramowanym genetycznie. Poznanie mechanizmów kierujących tym procesem jest dużym wyzwaniem dla współczesnej medycyny rozrodu. Należy mieć nadzieję, iż wysiłki naukowców działających na tym polu zaowocują zmniejszeniem tempa starzenia się jajników i przedłużeniem okresu rozrodczości kobiety.

## Piśmiennictwo

- Tatone C, Amicarelli F, Carbone MC, et al. Cellular and molecular aspects of ovarian follicle ageing. *Hum Reprod* 2008; 14: 131-42.
- te Velde ER, Pearson PL. The variability of female reproductive ageing. *Hum Reprod Update* 2002; 8: 141-54.
- Pepling ME. From primordial germ cell to primordial follicle: mammalian female germ cell development. *Genesis* 2006; 44: 622-32.
- Faddy MJ, Gosden RG, Gougeon A, et al. Accelerated disappearance of ovarian follicles in mid-life: implications for forecasting menopause. *Hum Reprod* 1992; 7: 1342-6.
- Tilly JL. Commuting the death sentence: how oocytes strive to survive. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2001; 2: 838-48.
- Sugino N, Takiguchi S, Ono M, et al. Nitric oxide concentrations in the follicular fluid and apoptosis of granulosa cells in human follicles. *Hum Reprod* 1996; 11: 2484-7.
- Tarín JJ, Pérez-Albalá S, Cano A. Consequences on offspring of abnormal function in ageing gametes. *Hum Reprod Update* 2000; 6: 532-49.
- Kaczmarek M. The timing of natural menopause in Poland and associated factors. *Maturitas* 2007; 57: 139-53.
- Skałba P, Cygal A, Dabkowska-Huć A. The influence of anti-Mullerian hormone on folliculogenesis. *Ginekol Pol* 2008; 79: 137-40.
- Bentzen JG, Forman JL, Larsen EC. Maternal menopause as a predictor of anti-Mullerian hormone level and antral follicle count in daughters during reproductive age. *Hum Reprod* 2013; 28: 247-550.
- Soto N, Iníguez G, López P, et al. Anti-Mullerian hormone and inhibin B levels as markers of premature ovarian aging and transition to menopause in type 1 diabetes mellitus. *Hum Reprod* 2009; 24: 2838-44.
- Tsigkou A, Marzotti S, Borges L, et al. High serum inhibin concentration discriminates autoimmune oophoritis from other forms of primary ovarian insufficiency. *J Clin Endocrinol Metab* 2008; 93:1263-9.
- Szwejser E, Marczakiewicz A. Badania genetycznych predyktorów wieku menopauzy naturalnej. *Przegląd piśmiennictwa. Prz Menopauz* 2012; 16: 495-500.
- Treloar SA, Do KA, Martin NG. Genetic influences on the age at menopause. *Lancet* 1998; 352: 1084-5.
- de Bruin JP, Bovenhuis H, van Noord PA, et al. The role of genetic factors in age at natural menopause. *Hum Reprod* 2001; 16: 2014-8.
- Bonomi M, Somigliana E, Cacciatore C, et al.; Italian Network for the study of Ovarian Dysfunctions. Blood cell mitochondrial DNA content and premature ovarian aging. *PLoS One* 2012; 7: e42423.
- Klein J, Sauer MV. Assessing fertility in women of advanced reproductive age. *Am J Obstet Gynecol* 2001; 185: 758-70.
- Kinugawa C, Murakami T, Okamura K, Yajima A. Telomerase activity in normal ovaries and premature ovarian failure. *Tohoku J Exp Med* 2000; 190: 231-8.
- Harman D. Free radical theory of aging: an update: increasing the functional life span. *Ann N Y Acad Sci* 2006; 1067: 10-21.
- Agarwal A, Gupta S, Sharma RK. Role of oxidative stress in female reproduction. *Reprod Biol Endocrinol* 2005; 3: 28.
- Szczepańska M, Koźlik J, Skrzypczak J, Mikołajczyk M. Oxidative stress may be a piece in the endometriosis puzzle. *Fertil Steril* 2003; 79: 1288-93.
- Van Langendonck A, Casanas-Roux F, Donnez J. Oxidative stress and peritoneal endometriosis. *Fertil Steril* 2002; 77: 861-70.
- Tatone C, Amicarelli F. The aging ovary – the poor granulosa cells. *Fertil Steril* 2013; 99: 12-7.
- Goldin A, Beckman JA, Schmidt AM, Creager MA. Advanced glycation end products: sparking the development of diabetic vascular injury. *Circulation*, 2006, 114: 597-605
- Woods DC, Tilly JL. The next (re)generation of ovarian biology and fertility in women: is current science tomorrow's practice? *Fertil Steril* 2012; 98: 3-10.
- Virant-Klun I, Stimpfel M, Skutella T. Stem cells in adult human ovaries: from female fertility to ovarian cancer. *Curr Pharm Des* 2012; 18: 283-92.
- Hosni W, Bastu E. Ovarian stem cells and aging. *Climacteric* 2012; 15: 125-32.
- Nelson SM, Telfer EE, Anderson RA. The ageing ovary and uterus: new biological insights. *Hum Reprod* 2013; 19: 67-83.
- Alvarez BE, Rodríguez ED, Alvarez CF, et al. Ovarian aging: melatonin regulation of the cytometric and endocrine evolutive pattern. *Curr Aging Sci* 2012; [Epub ahead of print].