

OVOGENEES ehk OOGENEES

Marika Masso
marika.mass@ut.ee

ÕPPEMATERJALID

"BIOLOOGIA PRAKTIKUM I" R. Masso, A. Saag, M. Masso

MOODLE / Õppeaine BIOLOOGIA / Arengubioloogia praktikumid / Bioloogia PRAKTIKUM I

ANIMATSIOONID: <https://lepo.it.da.ut.ee/~dyyna/> Ovogenees Ovulatsioon

Online course in embryology for medicine students

developed by the universities of Fribourg, Lausanne and Bern.

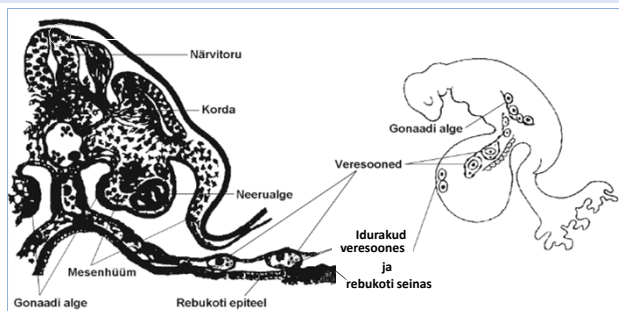
Oogenesis <http://embryology.ch/en/embryogenesis/gametogenesis/oogenesis/>

Naiste viljatus ja ART (abistav reproduktsioonitehnoloogia). Infoleht

https://www.infomaterjalid.ee/content/dam/web/healthcare/biopharma/estonia/pdfs/Naiste%20viljatus_EST.pdf

Pildimaterjali praktiliste tööde juurde - UWMS Histology Atlas (With Thumbnail Images)
<http://lecanabiculteur.free.fr/SITES/UNIV%20WISCONSIN/www.medsch.wisc.edu/anatomy/histo/htm/ttoc.htm>

Inimese primordiaalsed sugurakud ehk **idurakud** **eristuvad epiblastis 2. arengunädalal**; rändavad 3. arengunädalal loote abiorgani rebukoti seina; liiguvad 4.-6. arengunädalal edasi genitaalvalli kus moodustavad gonaadi alge.

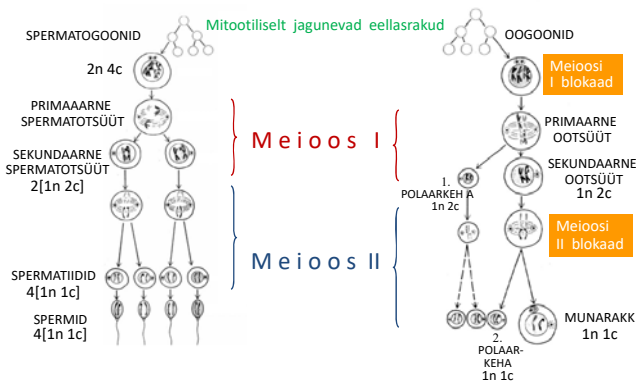


2013 Medrano JV et al. Germ Cell Differentiation from Pluripotent Cells.
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23329632>

Meioos loomses organismis

SPERMATOGENEES

OVOGENEES ehk OOGENEES

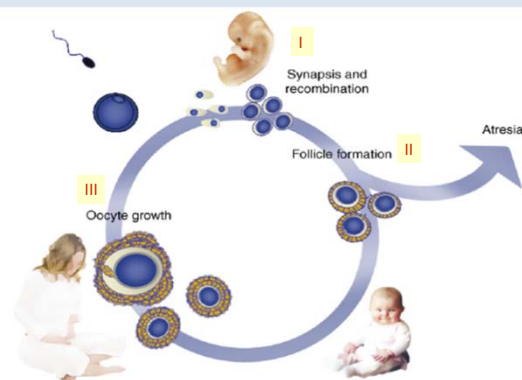


Munaraku ARENG

Munaraku arenemisperioidid jaotatakse üldiselt kolmeks:

- 1 – **jagunemine** (proliferatsioon) - oogoonide kiire mitootiline jagunemine kuni 5. prenataalne elukuu.
- 2 – **kasvamine** - alates puberteedist sisenevad ootsüüdid gruppideks **kasvuperioodi**. Tavaliselt ainult üks neist – see, mis on domineeriva folliikuli koosseisus – areneb valmiduseni siseneda küpsemisperioodi.
- 3 – **küpsemine** - ootsüüdi meiotilised jagunemised, mis toimuvad vahetult enne ovulatsiooni ning pärast viljastumist; vastavalt I profaas kuni II metafaas ning II metafaas kuni meiosis lõpp.

Tundlikud perioodid oogeneesis



2008 Hunt & Hassold Human female meiosis: what makes a good egg go bad?
Täistekst TU võrgus: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18192063>

Meioosi I profaas on meioosi kõige tundlikum periood!

Tekib suurel hulgal vigu, mille tulemusena hävib suur hulk tulevase sugurakke, vastavalt kas spermatogeeni- või ootsüüte.

Oogeneesi I profaas kestab 10-50 aastat, spermatogeneesi 21 päeva.

Oogeneesi rekombinatsioon ~1,6x rohkem kui spermatogeneesi.

Oogeneesi meioosil tekib vigu ~10x sagedamini kui spermatogeneesi.

I profaasi vead oogeneesi (vigane krossingover → kiasmi vigadega teke või mittetekkimine homologiliste kromosoomide vahel) põhjustavad vigu I metafaasil ja kuna just oogeneesi ajal on SAC-kontrollpunkti töö ebaefektiivsem, kui spermatogeneesi ajal ja halveneb veelgi ema vanuse kasvades – siis seetõttu võivad järgneda kromosoomide lahkemishäireid anafaasides.

Ootsüüdi I profaasi vead ongi peamiseks genoommutatsioonide allikaks – annavad aluse/võimaluse ANEUPLOIDSETE ootsüütide ja seeläbi aneuploidsete sügootide tekkeks

ANEUPLOIDIA esineb 1-2% spermatoosidest, 20-30% ootsüütidest ning 25-35% kõigist moodustunud sügootidest.

SAC ehk käävisüsteemi kontrollpunkt (*spindle assembly checkpoint*)

kontrollib metafaaside ajal kääviniite kinnitumist kromosoomide kinetohooridele ja kromosoomide joondumist.

SAC-kontrollpunkt on efektiivne spermatogeneesis, samas aga oogeneesis laseb kergesti läbi kromosoomide mittekinnitumisi ja/või joondumisi.

SAC-kontrollpunkti efektiivsus väheneb vanuse kasvades, eriti oogeneesis.

SAC-kontrollpunkti töö häirumine ongi peamine põhjus ANEUPLOIDSETE e kromosoomide vale arvuga gameetide, järgnevalt sügootide tekkeks.

Raseduse katkemise/loote surma, peamiseks põhjuseks on ootsüütide aneuploidsus.

Esinemissagedus suureneb naise vananedes.

ANEUPLOIDUS on reeglina, s.t enamikul juhtudest letaalne.

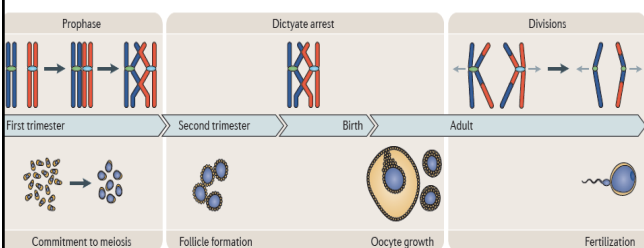
Elussünde esineb peamiselt sugukromosoomide trisoomiate ja 45,X0 monosoomia puhul, harvem autosoomide, peamiselt 21. kr, 13. ja 18. kr trisoomia puhul.

2012 Nagaoka et al.

Human aneuploidy: mechanisms and new insights into an age-old problem.

<https://www.nature.com/articles/nrg3245>

Figure 1. Oogenesis and the female meiotic cycle.

**Vananemise mõju oogeneesile****Munasarjade füsioloogiline vananemine**

-- ovariaalreserv väheneb, ootsüütide kvaliteet halveneb.

Ootsüütides:

- väheneb DNA-kahjustuse kontrollpunkti efektiivsus ja DNA reparatsioonivõime (vastavate ensüümide aktiivsus) I profaasis;
- väheneb rakutsükli regulaatorvalkude töövõime/ efektiivsus;
- kohesiooni kadu homologiliste kromosoomide/ tütarchromatiidide vahel;
- väheneb käävisüsteemi kontrollpunkti (SAC) efektiivsus metafaasides;
- telomeerid lühenevad, tekivad nt vigased käävisüsteemid, aneuploidia. Kui follikulaarepiteeli rakkudes → siis nende talitus halveneb;
- väheneb kaitsevõime oksüdatiivse stressi vastu;
- halveneb mitokondrite kvaliteet, funktsioneerimine.

2023 Charalambous C et al. *Aneuploidy in mammalian oocytes and the impact of maternal ageing.*

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36068367/>

2023 Wang X et al. *Mechanisms of ovarian aging in women: a review.*

<https://ovarianresearch.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13048-023-01151-z>

Reproduktiivbioloogia ehk sigimisbioloogia põhidogmaks on:

primordiaalseid folliikuleid/ uusi munarakke elu jooksul imetajatel juurde ei teki. Sünnihetkel olemasolevad on allikaks arenevatele folliikulitele ja ootsüütidele ning nende arv väheneb vanusega.

See põhiseisukoht pandi kahtluse alla aastal 2004 Jonathan Tilly uurimisgrupi poolt. Nimelt väitsid nad oma katsetulemuste toetudes, et täiskasvanud hiire munasarjades toimub neo-oogenees; et munasarja koore epiteelis, aga ka luuüdis on olemas idurakkude (end gonotsüütide) tüvirakke.

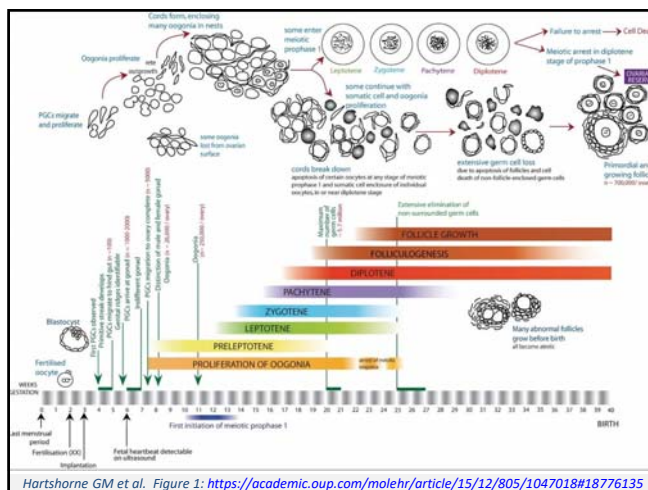
Pärast seda on püütud nende katseid korduvalt korrata, et siis kas tõestada või ümberlükata hüpoteesi, et primordiaalsel folliikulitel on uuenemisvõime.

2020 märtsi artiklis* näidati veelkordset, et imetaja munasarjades tüvirakke ei esine.

*2020 Wagner M et al. *Single-Cell Analysis of Ovarian Cortex Fails to Find Stem Cells.* NATURE. <https://www.nature.com/articles/s41467-020-14936-3>

2019 Martin JJ et al. *Implications and Current Limitations of Oogenesis from Female Germline or Oogonial Stem Cells in Adult Mammalian Ovaries.* <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30696098>

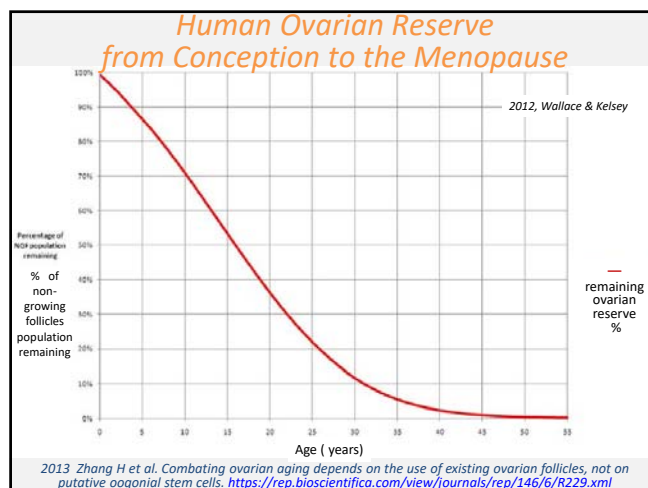
2017 Porras-Gómez TJ, Moreno-Mendoza N. *Neo-oogenesis in mammals. Pro & Contra* <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28780921>



Hartshorne GM et al. Figure 1: <https://academic.oup.com/molehr/article/15/12/805/1047018#18776135>

Tulevaste munarakkude arv

- 1 kuu vanusel embrüol on ~1 700 mitotootilist **iduraku**, mis moodustavad embrüonaalse gonaadi.
- 2 kuu vanusel embrüol ~600 000 mitotootilist **oogooni**
- 5 kuu vanusel lootel 5-7 000 000 mitotootilist **oogooni**
- sünnihetkel 600 000-2 000 000 primaarset **ootsüüti**
- puberteedi alguses ~300 000 primaarset **ootsüüti**
- 30 aastasel naisel ~85 000 primaarset **ootsüüti**
- 51 aastasel naisel ~1000 primaarset **ootsüüti**



Munarakkude reserv, tulevaste munarakkude arv **kahaneb** pidevalt naise elu jooksul

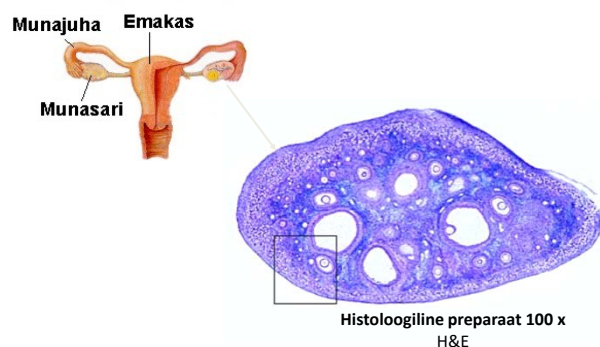
Sünnihetkel ovaarides 600 000 kuni 2 miljonit, puberteedi alguseks ~300 000 primaarset ootsüüti primordiaalses folliikulis.

Tulevased munarakud võivad hukkuda oogeneesi erinevatel perioodidel. Põhjusteks võivad olla:

- meioosi sisenemise ebaõnnestumine
- crossingover'i ebaõnnestumine
- meioosi 1. seisakusse mineku ebaõnnestumine
- folliikuli moodustumise ebaõnnestumine
- ootsüüdi ja folliikulaarepiteeli vaheliste rakukontaktide kadu
- ootsüüdi mitokondrite suur polümorfism jne

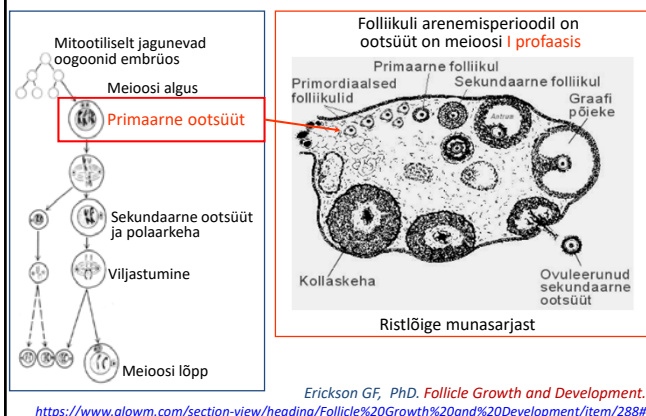
→ ootsüüdi APOPTOOS ja/või folliikuli atreesia

Folliikuli areg munasarjas



<https://histologyguide.com/slideview/MHS-259-ovary/18-slide-1.html>

Oogenees



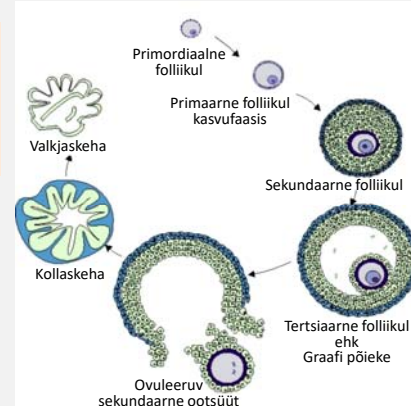
Folliikuli arengu skeem

Folliikul koosneb:

- primaarsest ootsüüdist ja
- teda ümbritsevatest folliikulaarepiteeli rakkudest

Folliikulaarepiteeli rakud toetavad ootsüüdi arengut:

- alimontaarselt
- sünteetivad östrogeeni
- edastavad signaalmolekule



Kasvamise ajal on ootsüüt I profaasis, oogeneesi 1. blokaadis

Folliikulogenees

1. Suikuv ehk PRIMORDIAALNE FOLLIIKUL 1-kihiline lameepiteel 400x

2. PRIMAARNE FOLLIIKUL 1-kihiline kuupepiteel 400x

3. SEKUNDAARNE FOLLIIKUL 2-5 -kihiline kuupepiteel 400x

4. Suurendus: 100x

Primaarne ootsüüt I profaasis

TERTSIAARNE FOLLIIKUL ehk GRAAFI PÕIEKE suurim folliikul; kolloidvedelikuga õõnsus

Oogenees. Kasvuperiood

Kasvuperioodil toimub folliikuli areng ja suurenemine.

Folliikul = ootsüüt + teda ümbritsevad follikulaarepiteeli rakkude kihid.

Folliikuli kasvamine ja mõõdud:

primordiaalne folliikul 25-35 µm	} aeglane kasv (kestab umbes pool aastat)
domineeriv folliikul 200-400 µm	
ovuleeruv Graafi pöieke ~23 mm	

Ultrahelipilt Graafi pöikesest

- 1 – munasarja strooma
- 2 – folliikuliõõs
- 3 – follikulaarepiteeli ehk granuloosa rakud
- 4 – Graafi pöikese läbimõõt ~23 mm

Kasvuperioodil toimub primaarse ootsüüdi areng ja suurenemine

Primordiaalsed folliikulid munasarja koore all

Primaarne ootsüüt

Küps tertsiaarne ehk Graafi folliikul

Ootsüüdi maht suureneb ~40 korda, ootsüüdi diameeter suureneb 30 µm → 120 µm.

Inimese embrüonaalne munasari, oogoonid

Fig. 1: Surface of fetal ovary (15 weeks) showing coelomic epithelium (E) and oogonium (O) surrounded by potential follicle cells (F). D, degenerating cell; L = light cell.

Fig. 2: Oogonium with a central nucleus, containing a reticulated nucleolus, surrounded by potential follicle cells (F). Note sparse cytoplasm with mitochondria (M) and two centrioles (arrowhead) associated with a Golgi complex (G).

Selvaraj, Sathananthan, 2003

Inimese primaarne ootsüüt kasvufaasis

Fig. Aspirated growing oocyte from a small antral follicle. Note reticulated nucleolus in nucleus and CGs separated from oolemma beset with numerous microvilli. G, Golgi complex; M, mitochondria; Z, zona.

Sathananthan, 2006

Ootsüüdi valmistumine ovulatsiooniks.

Meioosi I blokaadi lõpp ja meioosi jätkumine

Primaarne OOTSÜÜT

Luteiniseeriv hormoon (LH) annab signaali

Sekundaarne OOTSÜÜT

PROFAAS I

METAFAS II

24-38 tundi enne ovulatsiooni lõpeb ootsüüdis meioosi I blokaad, ootsüüt siseneb KÜPSEMISPERIOODI, s.t meioos kulgeb edasi I profaasist kuni II metafaasini.

Toimub GVBD (Germinal Vesicle Breakdown), s.t I profaasis ootsüüdi tuumaümbrise lagunemine, ootsüüt läheb I metafaasi ning meioos kulgeb edasi kuni II metafaasini, s.t oogeneesi II blokaadini.

I metafaas ja II metafaas inimese ootsüütides. Käävi orientatsioon ootsüüdis

Fig. 16: Metaphase I oocyte showing spindle with chromosomes. The CGs (C) are aligned close to oolemma. M, mitochondria; S, SER; Z, zona.
Fig. 17: Metaphase II oocyte with characteristic, barrel-shaped spindle with chromosomes at the equator. There are neither centrioles nor dense centrosomal material at the poles. Note several CGs (C) above spindle zone. M, mitochondria; S, SER; Z, zona.

Sathananthan, 1985, 1988

Imetajate (v.a hiirte) ootsüütides "kaovad" pärast meioosi I profaasi tsentrioolid - ootsüüdi tsentrosoomid on **atsentriolaarsed**.

2015 Avidor-Reiss T et al. Atypical centrioles during sexual reproduction.
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4381714/>

ANIMATSIOONID

<https://lepo.it.da.ut.ee/~dyvna/>

- Ovogenees: a) ovariaaltsükkel; b) hormonaalne kontroll
- Ovulatsioon (Nucleus Medical Media animatsioon, 2012)
- Hormoonid ja ovulatsioon (Nucleus Medical Media animatsioon, 2011)

FILMIÕHTUKS

NUCLEUS Medical ANIMATIONS 3D

Ovulatsioon <https://catalog.nucleusmedicalmedia.com/view-item?itemID=67312>

Oogenees Hormonaalne regulatsioon Viljastumine <https://catalog.nucleusmedicalmedia.com/hormones-and-ovulation/view-item?itemID=72547>

Hormonaaltsüklid ja ootsüüdi areng

Peamine roll on hüpotaalamusel ja tema neuroendokriinsel regulatsioonil, mis kontrollib hüpofüüsi eessagara hormoonide, gonadotropiinide, eritumist:

- LH - luteiniseeriv hormoon
- FSH - follikuleid stimuleeriv hormoon

Menstruaaltsüklid ja ootsüüdi areng

0 5 14 28 PÄEVAD

Menses Proliferatsioon Sekretsioon

LISALUGEMIST: [Interactions and effects of the hormones with and on the follicle.](http://embryology.ch/en/embryogenesis/fertilization/popup/mf/follikel.html)
<http://embryology.ch/en/embryogenesis/fertilization/popup/mf/follikel.html>

Kasvuperiood

Kasvuperioodil toimub follikuli ja ootsüüdi areng ning suurenemine. Aeglase kasvu periood kulgeb gonadotropiinidest sõltumatult. Kiire kasv toimub seotult gonadotropiinide sünteesiga.

Primordiaalne → antraalne follikul – aeglane kasv – kestab u 6 kuud: 25-35 µm → 200-400 µm
Domineeriv → preovulatoorne follikul – kiire kasv – umbes 2 nädalat: 200-400 µm → 20-25mm

Gonadotropin-independent growth Preantral

Gonadotropin-dependent growth Antral

Ovulation ↑ FSH, LH ↓ Blood flow, Oxygen

Oogenees, kokkuvõttev tabel

Oogeneesi perioodid	Pre-ovulatoorne periood	Oogenees ehk OVOGENEES	Post-ovulatoorne periood
Primordiaalne periood	Primordiaalne periood	Migraatsioon ja mitootiline paljunemine	Primordiaalne periood
Primordiaalne periood	Primordiaalne periood	Vimane INTERFAAS	Primordiaalne periood
Primordiaalne periood	Primordiaalne periood	MEIOOSI algus	Primordiaalne periood
Primordiaalne periood	Primordiaalne periood	Meioosi I BLOKAAD I profaasi	Primordiaalne periood
Primordiaalne periood	Primordiaalne periood	KASVU-PERIOOD	Primordiaalne periood
Primordiaalne periood	Primordiaalne periood	Meioosi II BLOKAAD II metafaasi	Primordiaalne periood
Primordiaalne periood	Primordiaalne periood	OVULATSIOON	Primordiaalne periood
Primordiaalne periood	Primordiaalne periood	VILJASTUMINE	Primordiaalne periood
Primordiaalne periood	Primordiaalne periood	MEIOOSI lõpp	Primordiaalne periood
Primordiaalne periood	Primordiaalne periood	SÖGGOODE LÕPUSUMINE	Primordiaalne periood

Naiste infertiilsus

Viljatuse peamisi põhjusi naistel:

- geneetilised põhjused ~10%
- oogeneesi puudulikkus s.h meioosi I profaasi häired
- ovulatsiooni häired kuni 27% - peamiselt hormonaalsetel põhjustel
- anatomilised probleemid kuni 22%
- infektsioonid, põletikud kuni 60% tagajärg: munajuhade sulgumine, emaka limaskestast kahjustumine jm
- endometriosis kuni 30%
- emakamüoom
- immunoloogilised probleemid
- keskonna kahjustav mõju toksiinid (bisfenool A, ftalaadid, etanool, ravimid) kiirgus, eluviis
- naise ema eluviisid nt toitumine, hormonaalsete kontratseptiivide kasutamine

Naise VIJAKUSE hindamine

- Munarakkude varu ehk ovariaalreservi hindamine, **hormooni taseme mõõtmise testid**, nt:
FSH ja LH taseme määramine
 või
Anti-Mülleri hormooni taseme määramine
 Munasarjade funktsionaalse reservi ja selle kaudu naise viljakuse hindamine
 Lisaanalüüs enneaegse ovariaalpuudulikkuse avastamiseks
- Menopausi alguse aja hindamine - **geenitestid**
 - nt Fertility Test HIND: 195.-

Keskmiselt algab menopaus 50-51-aastaselt.

Üks naine kahekümnest kogeb varast menopausi (enne 45. eluaastat).

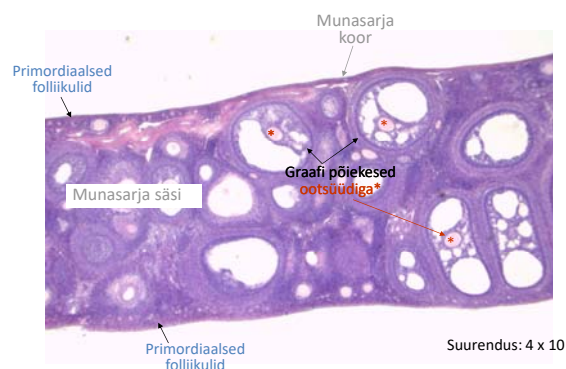
Ühel naisel sajast algab menopaus enneaegselt (enne 40. eluaastat).

Varane ja enneaegne menopaus on seotud suurema vanusest tingitud viljatuse riskiga.

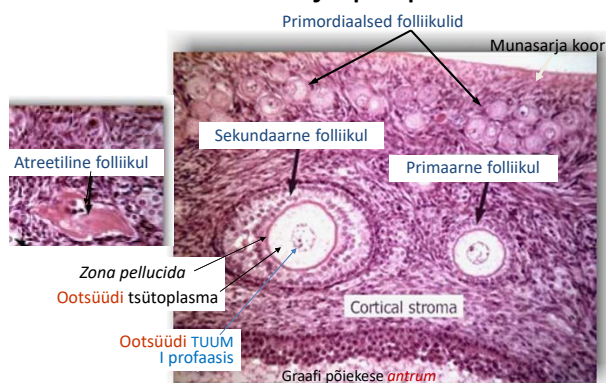
<https://novaator.err.ee/259320/tartu-teadlased-tootasid-valja-ainulaadse-geenitesti-naise-viljakuse-ennustamiseks>

Praktiline töö 16. Imetaja munasari.

Pikilõik kassi munasarjast, püsipreparaat

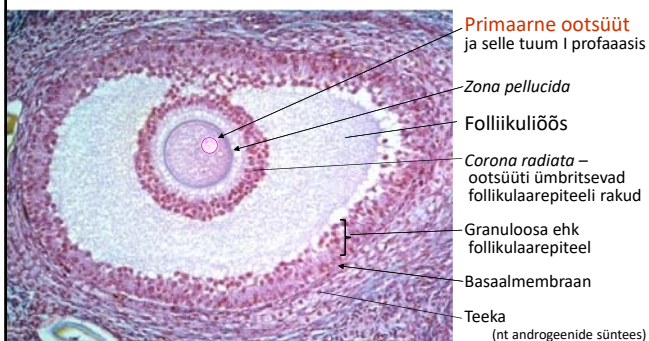


Sektor kassi munasarja preparaadist

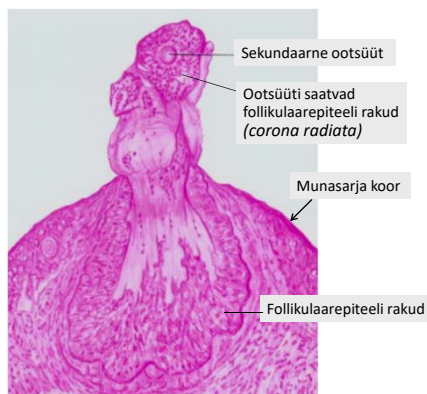


Sekundaarses folliikulis saavutab ootsüüt saavutab oma maksimaalse suuruse (inimesel ~120 µm). Meioos sel ajal veel seisab – on I blokaad ja I profaas).

Küps Graafi põieke ehk pre-ovulatoorne folliikul



Sekundaarne ootsüüt II metafaasis ovulatsiooni hetkel



Kollaskeha ja Graafi põieke. Preparaat

