

DOI: <http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.7456363>

Derleme Makalesi / Review Article

Koyunlarda Gebeliğin Maternal Kabulü ve İmplantasyon Süreci

Ali Ekber TEKDAL^{1*} (Orcid ID: 0000-0003-0802-5483)

¹Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Diyarbakır,

*Sorumlu yazar (Corresponding author): aetekdal@gmail.com

Geliş Tarihi (Received): 05.11.2022

Kabul Tarihi (Accepted): 08.12.2022

Özet

Koyunlarda embriyonal dönem, blastogenezisin sonundan 34. güne kadar olan süredir. Koyun embriyoları, fertilizasyon sonrasında 3-4. günlerde uterusu girer. Erkek ve dişi pronükleuslarının birleşmesiyle oluşan zigot mitotik bölünmelere uğrar. İlk olarak iki blastomerli embriyo halini alır. Çiftleşme sonrası 14. günde filamantöz konseptus uterus lümeninde hareketsiz hale gelir. Uzayan blastosist endometrial epitelle yakın temasını sürdürür. Bütün memelilerde endometrial uterus bezleri, histotrof olarak adlandırılan proteinler ve değişik besin unsurları içeren kompleks bir sıvı salgırlar. Bu salgı ürünü içerisinde; enzimler, büyüme faktörleri, sitokinler, lenfokinler, hormonlar, transport proteinler vb. bulunur. Histiyotrof beslenmede, uterus bezleri tarafından üretilen proteinler ve diğer besleyici moleküller embriyonun canlılığını devam ettirmesini sağlar. Embriyo, bu histotrof sıvısının içinde yüzer. Gebe olmayan koyunlarda, siklusun 16-17. günlerinde endometriyumdan Prostaglandin (PGF₂α) salınımı artarak korpus luteumun regresyonuna neden olmaktadır. Bu nedenle gebeliğin kabulünde endometrial PGF₂α'nın salgılanmasının engellenmesi esastır. Koyunlarda, uterus içerisinde serbest dolaşan blastosist, sipesifik proteinler üretir. Bu protein, ovine trofoblastik protein-1 (oTP-1) olarak adlandırılmakta ve interferon tau olarak bilinmektedir. Blastosistin trofoektoderminde üretilen interferon tau, endometrial östradiol reseptörlerini baskılayarak oksitosin reseptörlerinin sentezini önlemesi ve böylece PGF₂α'nın salgılanmasını engellemesi şeklinde açıklanmaktadır. İnterferon tau, koyunlarda gebeliğin 10-21. günlerinde üretilmekte olup maksimum düzeye 15. günde ulaşmaktadır. Dolaşımdaki progesteron hormonu konsantrasyonu, erken gebelik döneminde blastosistin hayatta kalmasını ve gelişmesini sağlamaktadır.

Anahtar Kelimeler: Embriyo, küçük ruminant, interferon, endometriyum

Maternal Acceptance of Pregnancy and Implantation Process in Sheep

Abstract

The embryonal period in sheep is the period from the end of blastogenesis to day 34. Sheep embryos, 3-4 days after fertilization enters the uterus. The zygote formed by the union of male and female pronuclei undergoes mitotic divisions. First, it becomes an embryo with two blastomeres. On the 14th day after mating, the filamentous conceptus is immobilized in the uterine lumen. The elongated blastocyst maintains close contact with the endometrial epithelium. In all mammals, the endometrial uterine glands secrete a complex fluid containing proteins called histotrophs and various nutrients. In this secretion product; enzymes, growth factors, cytokines, lymphokines, hormones, transport proteins etc. is found. In histotrophic nutrition, proteins and other nutrient molecules produced by the uterine glands ensure the survival of the embryo. The embryo floats in this histotrophic fluid. In non-pregnant sheep, 16-17 days of the cycle. The release of Prostaglandin (PGF₂α) from the endometrium increases and causes regression of the corpus luteum. Therefore, inhibition of the secretion of endometrial PGF₂α is essential in the acceptance of pregnancy. In sheep, the free-floating blastocyst produces specific proteins in the uterus. This protein is called ovine trophoblastic protein-1 (oTP-1) and is known as interferon tau. Interferon tau produced in the trophoctoderm of the blastocyst is explained as inhibiting the synthesis of oxytocin receptors by suppressing endometrial estradiol receptors and thus inhibiting the secretion of PGF₂α. Interferon tau, 10-21 days of pregnancy in sheep. It is produced on the 15th day and reaches its maximum level on the 15th day. The circulating concentration of progesterone hormone ensures survival and development of the blastocyst during early pregnancy.

Keywords: Embryo, small ruminant, interferon, endometrium

Embriyonik gelişim dönemi

Ovidukt (Yumurta kanalı), ovaryumu uterusu bağlar ve dört anatomik bölgeden oluşur. Bunlar; infundibulum, ampulla, isthmus ve utero-tubal kavşaktır. Ovidukt, sperm rezervuarı oluşumuna, son gamet olgunlaşmasına ve taşınmasına, dölleme ve erken embriyo gelişimine katılarak üreme olaylarında önemli roller oynar. Ayrıca bu organ, ilk anne-embriyo diyaloğunun başladığı yerdir (Hunter ve ark., 1998; Perez ve ark., 2018). İmplantasyondan önce embriyo, türe bağlı olarak yumurta kanalında 1 ila 10 gün geçirir. Bu günlerde ilk mitotik bölünme ve embriyonik genom aktivasyonu gibi önemli morfolojik, moleküler ve metabolik değişiklikler meydana gelir (Duranthon ve ark., 2008; Salilew ve ark., 2018). Dölleme sonrasında gelişen embriyo, 4. günde yaklaşık 16 hücreli evreye ulaşana kadar siliyer hareketler ve kas kasılmaları yoluyla isthmusun içinden geçer (Ellington, 1991). Oviduktal sıvı (OF) plazmadan yumurta kanalı lümenine transudasyon yoluyla salgı hücreleri tarafından sentezlenen maddelerin salgılanmasıyla üretilir (Menezo ve Guerin, 1997). OF bileşimi çok karmaşık olup basit ve karmaşık karbonhidratlar, iyonlar, lipidler, fosfolipidler ve proteinler içerir (Leese ve ark., 2001). OF'de bulunan salgılar, gamet

etkileşiminde yer alan glikodelinler ve laktoferrin gibi proteinlerle (Ghersevich ve ark., 2015) ve oviduktin, osteopontinler ve tamamlayıcı protein vasıtasıyla oosit ve sperm fonksiyonunu (Killian, 2011; Mondejar ve ark., 2013) etkiler. Koyunlarda embriyonal dönem, blastogenezin sonundan 34. güne kadar olan süredir. Bu dönem; gebeliğin maternal kabulünden sonra embriyonun uterus duvarına tutunarak ekstra embriyonik membranların oluşması ile organ ve dokuların gelişmesine kadar geçen dönem olarak da tanımlanabilmektedir (Sarıbay ve Erdem, 2015). Erkek ve dişi pronükleuslarının birleşmesiyle meydana gelen zigot mitotik bölünmelere uğrar. İlk olarak iki blastomerli embriyo halini alır. Sonraki süreçte embriyo; 24 saatte 2 hücreli, 1-3 günde 4 hücreli ve 3-5 günde 8 hücreli bir şekil alır (Çizelge 1). Blastomerler sıkı bir zar olan zona pelusida (ZP) içerisinde bölünmeler geçirdiğinden dolayı hacimce artış oluşmamaktadır. Hücrelerin sayısı artarken hacimleri azalmaktadır. Embriyo uterusu ulaştığında 8-16 hücreli aşamadır ve ardından blastosist aşamasına geçer. Blastosist aşamasında, zona pelusida yırtıldıktan sonra embriyo zona pelusidadan çıkarak (hatching) uzar ve ipliksi bir şekil alır (11-16. günler) (Sarıbay ve Erdem, 2015).

Çizelge 1. Koyunlarda embriyonal hücre bölünme evreleri ve zaman aralıkları (Senger ve Pullman, 1999)

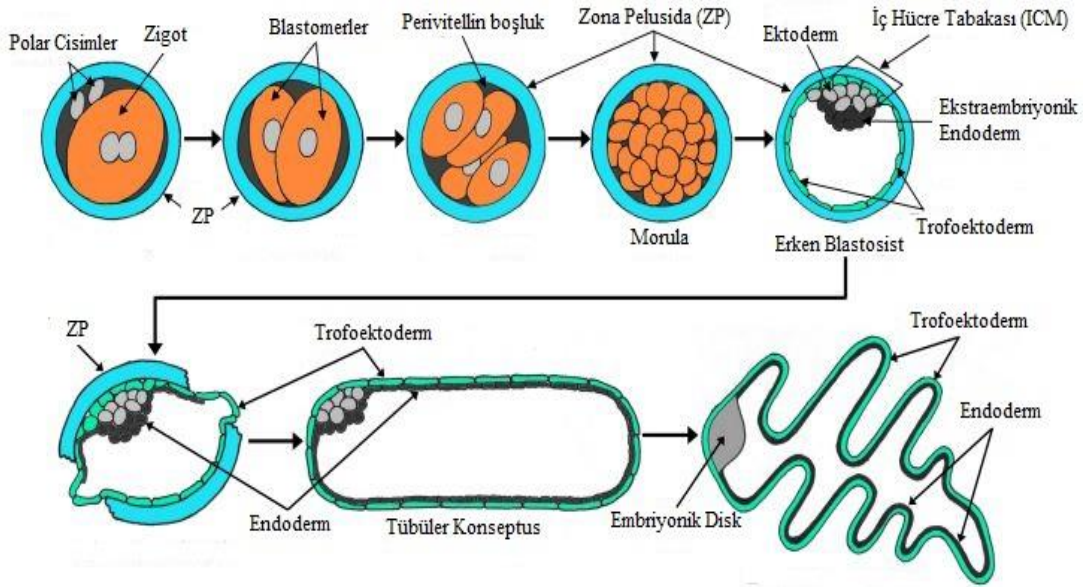
Embriyonik Bölünme Evreleri	Süre
2 hücre	24 saat
4 hücre	1-3 gün
Morula	3-5 gün
Blastosist	4-7 gün
Hatching	7-8 gün

Trofoektoderm, blastosisti çevreleyen tek hücreli tabakadır. Gelişmekte olan embriyo blastosisti oluşturduktan sonra

pluripotent blastomerler, sonunda embriyo/fetus'e uygun olacak hücre soylarını başlatmak için iç hücre kütleli

(ICM) ve trofoektoderm olarak farklılaşmaya başlar (ilkel ektoderm, mezoderm ve endoderm). Trofoektoderm, endometriyal epitelyum ile implantasyonla sonuçlanan etkileşimler kurar. Blastosist zona pellucidadan 8. ve 9. günler arasında (200 µm çapında ve yaklaşık 300 hücre içerir) çıkar ve uzama adı verilen hızlı bir morfolojik geçişten önce boyut olarak artar (400-900 µm çapında ve yaklaşık 400-900 hücre içerir) (Bazer ve ark., 2005). Zona pelusidadan çıkış; blastosistin büyümesi, uterus veya embriyodan kaynaklı proteaz salgıları aracılığıyla enzimatik erime ve hatching sırasındaki yırtılma ile başarılıdır. Çiftleşme sonrası 14. günde filamentöz konseptus uterus lümeninde hareketsiz hale gelir. Uzayan blastosist endometrial

epitelle yakın temasını sürdürür. Koyun konseptuslarında (konseptus - embriyo/fetüs ve ilişkili ekstra embriyonal keseler) 13-15. günler arasında bu ilk karşılaşma ve temas safhasında trofoektodermi kaplayan apikal yüzey mikrovillüslerinde bir azalma oluşur (Guillomot ve ark., 1993). Endometriyal mukoza tek veya yalancı çok katlı epitelyumla örtülü olup bir bazal lamina ile bağ dokudan ayrılır. Stroma oldukça vaskülarize olup uterus lümenine açılan dallı bezler içerir. Endometriyal yüzey epiteli mikrovillüslü ve silyalı sekretör hücrelerden oluşur. Bu hücreler daha sonraki süreçte endometriyal bezlerin açılma yerlerinde yoğunlaşmaktadırlar (Spencer ve ark., 2004).



Şekil 1. Blastosist ve konseptusun oluşum süreci (Greg ve ark., 2018)

Koyun embriyoları, fertilizasyon sonrasında 3-4. günlerde uterus girer. Embriyonal dönemde koyun embriyosu 1-10. günler arasında küre formunda iken, 12-14. günlerde uzayarak filamentöz forma dönüşür. 12. günde 12

santimetre (cm) uzunlukta iken 14. güne kadar 25 cm uzunluğa ulaşır. Blastosistin uzaması, interferon tau'nun üretilmesi ve implantasyon için gereklidir (Guillomot ve ark., 1990; Gray ve ark., 2002). Çoğu türün embriyoları, yumurta kanalına

ulaşsa da erken blastosist aşamasının ötesinde gelişmez ve bunun uterus tarafından sağlanan embriyonik gelişim için gerekli kritik faktörlerin yokluğundan kaynaklandığı tahmin edilmektedir. Yumurta kanalına özgü glikoprotein (OVGP1), birçok türde yüksek oranda korunmuş bir biçimde tanımlanan OF'nin bir bileşenidir. OF'de en çok çalışılan proteinlerden biridir. OVP1 sentezi ve salgılanması dinamikdir ve östrojen (Buhi, 2002; Killian, 2004) ve progesteron uyarımı (Sun ve ark., 1997) ile ilişkilidir. OVGP1, oositin ve erken embriyonun zona pellucida'sına bağlanır ve bu, erken embriyo gelişiminde bir rol olduğunu düşündürür (Buhi, 2002). Ruminantlarda, embriyo tarafından üretilen başlıca gebelik tanıma sinyali, 10. günden 21-25. güne kadar trofoblast tarafından salgılanan interferon-tau'dur (Spencer ve Bazer, 2004). Memelilerde, melatonin MT1 ve MT2 reseptörleri aracılığıyla çeşitli fizyolojik mekanizmalarda aktif rol almaktadır (Dubocovich ve Markowska, 2005). Dişi gamette, MT1 ve MT2 reseptörleri koyun oositlerinde, kümülüs hücrelerinde ve granüloza hücrelerinde salgılanmaktadır (Tian ve ark., 2017). Melatonin, oosit kalitesi ve gelişimi üzerinde doğrudan bir etkiye sahiptir (Fu ve ark., 2014). Eksojen melatonin tedavisi, bu genç oositlerden türetilen blastokistlerin kalitesi üzerinde olumlu bir etkiye sahiptir. Granüloza hücrelerinde melatonin reseptörlerinin varlığı, melatoninin in vivo oosit olgunlaşmasında rol oynayabileceğini düşündürür, çünkü granüloza hücreleri, folikülün oluştuğu andan yumurtlama sırasında oositin salınmasına kadar oosit ile yakından etkileşime giren tek somatik hücrelerdir (Tamura ve ark., 2009). Melatonin, yumurtalıkta steroidojenik gen ekspresyonunu module eder (Maganhin ve ark., 2014; Lima ve ark.,

2015) ve MT1 reseptörü aracılığıyla LH ve luteinizasyona yanıtı düzenler (He ve ark., 2016). Hücre büyümesi, özellikle konseptus hücrelerinde, uygun besin maddeleri ve büyüme faktörleriyle düzenlenir. MTOR (The Mechanistic Mammalian Target of Rapamycin) hücre sinyal yolu, hücre ve organların biyolojik ve fizyolojik tepkilerini etkilemek için büyüme faktörlerine ve beslenme durumuna yanıt olarak hücre büyümesi ve metabolizmasının düzenlenmesinde önemli rol oynar. MTOR yolu, blastosist/konseptus gelişimini desteklemek için osteopontin (OPN) olarak da adlandırılan Salgılanmış Fosfoprotein 1 (SPP1), heksoz şekerleri, glikoz, fruktoz ve arginine dahil olmak üzere seçilmiş aminoasitleri içeren moleküller tarafından uyarılan bir besin algılama sistemidir (Nielsen ve ark., 1995; Martin ve Sutherland, 2001; Kim ve ark., 2010). MTOR hücre sinyal yolu, koyunlarda peri-implantasyon rahim içi ortamının önemli bir bileşenidir (Bazer ve ark., 2012b). SPP1, koyunlarda gebelik sırasında uterus ortamının önemli bir bileşenidir (Johnson ve ark., 2014). Arginin, koyunlarda hamilelik sırasında rahim ortamının önemli bir bileşenidir ve hücre hattında çoğalma, göç ve protein sentezi için oldukça uyarıcıdır (Kim ve ark., 2011a, 2011b). Bütün memelilerde endometriyal uterus bezleri, histiyotrof olarak adlandırılan proteinler ve değişik besin unsurları içeren kompleks bir sıvı salgırlar. Bu salgı ürünü içerisinde değişik enzimler, büyüme faktörleri, sitokinler, lenfokinler, hormonlar, transport proteinler vb. bulunur (Spencer ve Bazer, 2004). Histiyotrof beslenmede, uterus bezleri tarafından üretilen proteinler ve diğer besleyici moleküller embriyonun canlılığını devam ettirmesini sağlar. Embriyo, bu histotrof sıvının içinde yüzer. Besin maddeleri taşınması, trofoektoderm tarafından

pinositoz yoluyla gerçekleşir. Endometriyal bezlerin azalması veya histiyotrof besin üretimindeki yetersizlikler koyunlarda 14. günden sonra gebeliğin sonlanmasına ve tekrar östrüs göstermelerine neden olmaktadır. Konseptus (embriyo/fetüs ve ekstra-embriyonik membranlar) ve endometriyal epitelyum arasındaki temastan sonra konseptus hareketsizleşir ve trofoektoderm hücreleri sitoplazmik uzantılar ile endometriyal mikrovillilere bağlanır. (Bazer, 2012). Koyunlarda gebeliğin 5-15. günleri arasında uterus epitelyumunda östradiol salgılanması düşük veya tespit edilemeyecek kadar azdır fakat gebeliğin 15-20. günleri arasında hafif düzeyde artabilmektedir. Progesteron salgılanması gebe koyunlarda endometriyumun luminal epitelyum hücrelerinde 11-13. günlerden sonra kesilir. Ancak uterusun stromal hücreleri gebelik boyunca progesteron salgılamaya devam eder (Bazer, 2012).

Gebeliğin maternal kabulü

Gebe olmayan koyunlarda, siklusun 16-17. günlerinde endometriyumdan $PGF_{2\alpha}$ salınımı artarak korpus luteumun regresyonuna neden olmaktadır. Bu nedenle gebeliğin kabulünde endometriyal $PGF_{2\alpha}$ 'nın salgılanmasının engellenmesi esastır (Asselin ve ark., 1997). Koyunlarda, uterus içerisinde serbest dolaşan blastosist sipesifik proteinler üretir. Bu protein, ovine trofoblastik protein-1 (oTP-1) olarak adlandırılmakta ve interferon tau olarak bilinmektedir (Senger ve Pullman, 1999). Blastosistin trofoektodermde üretilen interferon tau, 172 aminoasitli bir glikoprotein olup güçlü antiviral, anti proliferatif ve immünomodülatör etkiye sahiptir. Etki mekanizması, endometriyal östradiol reseptörlerini baskılayarak oksitosin reseptörlerinin sentezini önlemesi ve böylece $PGF_{2\alpha}$ 'nın salgılanmasını engellemesi şeklinde açıklanmaktadır.

İnterferon tau, koyunlarda gebeliğin 10-21. günlerinde üretilmekte olup maksimum düzeye 15. Günde ulaşmaktadır (Ealy ve ark., 2004; Spencer ve ark., 2007a). Dolaşımdaki progesteron hormon konsantrasyonu, erken gebelik döneminde blastosistin hayatta kalmasını ve gelişmesini sağlamaktadır (Mann ve ark., 2006). Gebeliğin tanınması dönemi boyunca progesteron, endometriyal lümen epiteli (LE) ve glandüler epitelde (GE) progesteron reseptörlerinin ekspresyonunu azaltır. Bu epiteller tarafından progesteron reseptör ekspresyonunun kaybı histotrof maddelerin, hormonların, büyüme faktörlerinin ve konseptusun gelişmesi ve implantasyon için gerekli diğer maddelerin bir karışımının üretimini ve salgılanmasını uyarması için ön koşul gibi görünmektedir (Bazer ve ark., 2012a). Konseptus bağlanması ilk önce endometriyal LE'nin glikokaliksinden büyük münlerin çıkarılmasını gerektirir, aksi takdirde adezyonu inhibe eder (Aplin ve ark., 2001). Bu münlerin çıkarılması, karşıt endometrial LE ve konseptus trofektoderm hücrelerinin apikal yüzeylerinde karbonhidratlar ve lektinler arasındaki doğrudan fiziksel etkileşimlere izin verir (Kimber ve ark., 1995). İnterferon tau ve progesteron birlikte koyun uterusunda hücre sipesifik olarak genlerin üretilmesini düzenler. İnterferon tau uterusu germinal epitelyum ve stromal hücreleri uyarak klasik interferona duyarlı genlerin üretilmesini sağlar. Bu genler; Signal Transducer and Activator of Transcription 1 ve 2 (STAT 1-2), İnterferon Regulatory Factor 1 ve 9 (IRF 1-9), İnterferon-Stimulated Gene 15 (ISG15), Myxovirus Resistance 1 (MX1), 2',5'-Oligoadenylate Synthase 1 (OAS) ve Radical S-Adenosyl Methionine Domain-containing protein 2 (RSAD2)'dir. Ancak bu klasik genler

uterus luminal veya germinal hücreleri tarafından salgılanmaz. Çünkü interferon tau, güçlü bir transkripsiyonel baskılayıcı olan IRF2' nin üretilmesini uyarır (Spencer ve ark., 2007b). Bu yüzden, uterus luminal veya germinal hücreleri implantasyon ve gebeliğin oluşabilmesi için kritik olan progesteron ve STAT1-bağımsız genler yoluyla daha yeni progesterona duyarlı ve interferonla uyarılan genleri üretir. Koyun uterusunda luminal epitelyumda interferon tau tarafından uyarılan alternatif hücre yolları ise mitogen-activated protein kinase (MAPK) ve fosfatidylinositol 3-kinase (PIK3)'tür. Bu mekanizma, konseptus gelişimi için kritik olan yeni genlerin üretilmesi için uterus luminal epitelyumu ile konseptus trofoektoderminin direk temasına izin verir (Platanias, 2005; Kim ve ark, 2003).

İmplantasyon süreci

Ekstraembriyonik keselerin endometriyuma bağlanmasına implantasyon denir. Bu bağlanma olayı, embriyonik trofoblast ve maternal endometriyum epiteli arasında hatched blastosist aşamasında oluşur. İmplantasyon süresince beslenme, histiyotrof öncelikli olmak üzere uterus bezlerinden sağlanır. Yüzeysel implantasyon ve plasantasyon gebeliğin 15-16. günlerinde başlar ve 50-60. günlere kadar tamamlanır (İgwebuik, 2009). Blastosistin implantasyonu ve uterusu tutunması beş aşamalı bir seyir izler. İlk olarak embriyonun zona pelusidadan dışarı çıkar. İkinci aşamada blastosist ile endometriyum arasında bir karşılaşma olur ve uygun tutunma pozisyonuna geçilir. Üçüncü aşamada trofoektoderm endometriyum üzerine geniş bir şekilde temas eder. Dördüncü aşamada iki yapı birbirine tam olarak yapışır ve karşılıklı uzantılarla sabitlenerek hareketsizleşirler ve beşinci

safhada ise endometriyal füzyonla implantasyon tamamlanır (Bazer, 2012). Ruminantlarda 15-18. günlerde trofoblast hücreleri uterus bezlerinin yüzeysel kanallarına papillar tarzda tutunur (Guillomot ve ark., 1981; Wooding ve ark., 1982). Kısa süreli var olan ve 20. günden sonra kaybolan bu mikrovilluslar ve papillar uzantılar, uterus bezlerinden histiyotrof besin maddelerini absorbe etmeyi sağlayarak embriyonun implantasyon öncesi yaşamını sürdürmesini sağlamaktadır. 16. günde trofoblast endometriyal lümen epiteline sıkıca bağlanmaya başlar ve 22. günden sonra bu bağlanma tamamlanır. İmplantasyon süresince endometriyal epitelle hücrel temas kuran mononükleer trofoektoderm bölgelerinde interferon tau'nun üretimi durur (Guillomot ve ark., 1993). Blastosist endometriyumun luminal epitelyumuna yaklaştıkça, epitelin apikal yüzeyinde müsinler ve büyük transmembran glikoproteinlerini ihtiva eden glikokaliksle karşılaşır. Glikokaliksin bileşenlerinden biri olan mucin1 (MUC1); geniş ve reproduktif sistem epitelinin apikal yüzünde üretilen glikoprotein yapısında bir transmembran müsinidir (Brayman ve ark., 2004). MUC1 özellikle endometriyal lümen epitelinin apikal yüzeyinde bulunan silya ve mikrovillusların üzerlerinde bol miktarda bulunmaktadır. Hücre dışı MUC1 alanı çok fazla miktarda glikan içerir (Aplin ve Hey, 1995). Lümen epiteli üzerindeki MUC1 ve MUC4 glikoproteinlerinin salgılanması, implantasyonun başlangıç safhalarından olan trofoektoderm integrin reseptörlerinin kendi ligandlarına erişmesi safhasını engelleyebilir. Koyunlarda gebeliğin 15. gününden sonra lümen epitelinden bu MUC1 salgısının ortadan kaldırılması, trofoblast ve lümen epiteli arasındaki yapışmada diğer glikoproteinlerinde

ortadan kalkması açısından gerekli olabilir (Burghardt ve ark., 2002; Carson ve ark., 2000). İntegrinler hücrel farklılaşma, motilite ve tutunmayı sağlayan transmembran glikoprotein reseptörlerin bir ailesidir (Giancotti ve Ruoslahti, 1999). Gebe koyunlarda implantasyon öncesi dönemde integrinler hem trofoektoderm hem de luminal epitelin apikal yüzeylerinde sürekli olarak salgılanmaktadır. İntegrinlerin tutunma safhasındaki esas rolü; çeşitli hücre sinyalleri yoluyla hücrelerin farklılaşmasını, göçünü ve çoğalmalarını sağlamak, hücre dışı matrikse bağlanarak hücre iskeletinin yeniden yapılanmasını uyarmak ve dengeli tutunmayı sağlamaktır (Burghardt ve ark., 2002; Johnson ve ark., 2001). Osteopontin (OPN), integrin reseptörlerine bağlanır. OPN implantasyon ve plasentasyon için gerekli olan trofoblast ve lümen epiteli arasındaki tutunmayı sağlayan bir çift fonksiyonlu köprü bağı olarak işlev gördüğü kabul edilmektedir (Johnson ve ark., 2003). İntegrinler; hücrel farklılaşma, motilite ve tutunmayı sağlayan transmembran glikoprotein reseptörlerinin üyeleridirler (Giancotti ve Ruoslahti, 1999). Trofoblast ve luminal epitelde hücrel sinyallerle, ekstrasellüler matriksle olan etkileşimlerde dominant bir role sahiptirler. Secreted phosphoprotein 1 (SPP1) protein, uterus lümeninde çiftleşme sonrası 15. günden sonra bulunmaktadır ve gebelik boyunca trofoektoderm ile endometriyal epitel yüzeyleri arasında kalır. Bu durum; SPP1 proteinlerinin, integrin reseptörler aracılığıyla trofoektoderm, luminal epitele tutunması aşamasında anahtar bir rol oynadığını göstermektedir (Johnson ve ark., 2001). Hem normal siklustaki koyunlarda hem de gebe koyunlarda 10-12. günlerde endometriyal luminal epitelyumda progesteron tarafından

uyarılan CTSL ve CST3 daha sonraki süreçte gebe koyunlarda interferon tau etkisiyle artmaya devam etmektedir (Song ve ark., 2005, 2006). Katepsinler bazı memelilerde trofoblast invazyonu ve implantasyon için uterusun embriyoyu kabulünü sağlamak amacıyla prohormon süreçlerini, intrasellüler proteinlerin yıkılımını ve intrasellüler matriksin indirgenmesini sağlayan peptidazlar olarak işlev görürler (Afonso ve ark., 1997). CST3, CTSL'nin bir inhibitörüdür. Proteazlar ve onların inhibitörleri arasındaki bir denge, implantasyonun karşılaşma ve yapışma fazları boyunca trofoektoderm ve endometriyal lümen epiteli üzerinde glikokaliks yapısının değiştirilmesi için gereklidir (Carson ve ark., 2000). Galektinler, korunmuş bir karbonhidrat tanıma alanına sahip proteinlerdir. Bazı galectin çeşitleri ise implantasyon sürecinde immun yanıtların hem başlangıcında hem de embriyoya karşı adapte olmasında, embriyonun maternal kabulünü derinden etkileyen immun sistem hücrelerinin aktivasyonu ve farklılaşmasında rol oynamaktadırlar (Spencer ve ark., 2007a). Endometriyumdaki progesteron reseptörleri ve germinal epitelyum, gebeliğin 13. gününden sonra özellikle konseptusun implantasyonu ve gelişimi için kritik öneme sahip olan genlerin (Glycosylation-dependent Cell Adhesion Molecule-1 (GlyCAM-1), galectin-15 (LGALS15), integrinlerin ve Secreted Phosphoprotein 1 (SPP1/osteopontin) enzimlerinin salgılanmaya başlamasını, MUC1 ve transmembrane enziminin sonlandırılması düzenlerler. Gebeliğin 15. gününde blastosist kornu uteriye temas eder. 16-20. günler arasında ise karşı kornu uteriye doğru uzanır. 14-16. günler arasında, trofoektodermdeki iki çekirdekli hücreler farklılaşmaya başlar ve endometrial epitelyum hücreleriyle füzyon

oluşturarak sinsityayı oluşturur. 9-14. günler arasında konseptus ektodermi ile endometriyal luminal epitelyumu karşılaşır ve bu ilk temas sonrası trofoektodermin stoplazmik uzantıları ve luminal epitelyumun mikrovilluslarının sıkıca bağlanması olayı hem karüküler hem de interkarunkuler bölgelerde gebeliğin 16. gününe kadar gerçekleşir. Bu bölgede trofoektoderm ile endometriyumun bazal laminası arasında 25. gün civarında tam birleşme meydana gelecek ve daha sonrasında bu bölge plasentasyonun gerçekleştiği yer olacaktır (Bazer, 2012). Koyunlar, endometriyal LE ile konseptus trofektoderminin füzyonuyla meydana gelen sinepitheliochorial plasentasyon sergilerler. Ruminantların trofektoderminde morfolojik ve işlevsel olarak farklı iki hücre tipine sahip tek çekirdekli trofektoderm hücreleri (MNC) ve iki çekirdekli trofoblast dev hücreleri (BNC) bulunur. Tek çekirdekli hücreler, trofektoderm hücrelerinin çoğunluğunu oluşturur. BNC'yi oluşturan olay; MNC'lerde stoplazma ayrılması olmaksızın gerçekleşen çekirdek bölünmesidir. BNC'ler ilk olarak koyun konseptuslarında gebeliğin 14-16. günleri arasında ortaya çıkar ve implantasyonun apozisyon ve bağlanma aşamalarında trofektodermin %15-20'sini oluşturur. BNC'nin iki temel işlevi vardır. Bunlar; başarılı bir implantasyon için feto-maternal sinsityaları oluşturmak ve steroid hormonlar (CSH1/ Plasental Laktojen, Progesteron) ile proteinlerin (Pregnancy Associated Glycoproteins (PAGs)) sentezlenmesini ve salgılanmasını sağlamaktadır. 16-20. günler arasında devam eden BNC göçü ve füzyonu ile sinsityal plaklar oluşturmak üzere genişler (Wooding ve Burton, 2008). İmplantasyonun gerçekleşmesinin ardından plasentasyon safhası ile süreç devam edecektir.

KAYNAKLAR

- Afonso, S., Romagnano, L., Babiarz, B. 1997. The expression and function of cystatin C and cathepsin B and cathepsin L during mouse embryo implantation and placentation. *Development* 124: 3415–3425.
- Aplin, J.D., Hey, N.A. 1995. MUC1, endometrium and embryo implantation. *Biochemical Society Transactions*, 23: 826–831.
- Aplin, J.D., Meseguer, M., Simon, C., Ortiz, M.E., Croxatto, H., Jones, C.J. 2001. MUC1, glycans and the cell-surface barrier to embryo implantation. *Biochem Soc Trans*, 29: 153-156.
- Asselin, E., Bazer, F.W., Fortier, M.A. 1997. Recombinant ovine and bovine interferons tau regulate prostaglandin production and oxytocin response in cultured bovine endometrial cells. *Biol Reprod*; 56: 402-408.
- Bazer, F.W. 2012. Uterine biology in pigs and sheep. *Journal of Anim Sci and Biotech*. 3: 23.
- Bazer, F.W., Johnson, G.A., Song, G., Wu, G. 2012a. Pregnancy recognition signaling, fetal-placental development and prenatal fetal programming. In: Astiz Blanco S, Bonzalez Buines A (Ed.). *Animal Reproduction in Livestock*. Oxford, UK: Eolss Publishers. (Encyclopedia of Life Support Systems – Eolss).
- Bazer, F.W., Johnson, G.A., Spencer, TE. 2005. Growth and development: pre-implantation embryo. In: Pond WG, Bell AW (Ed.). *Encyclopedia of Animal Science*. New York, NY: Marcel Dekker, 1:1-3.

- Bazer, F.W., Song, G., Kim, J., Erikson, D.W., Johnson, G.A., Burghardt, R.C., Gao, H., Satterfield, M.C., Spencer, T.E., Gao, W. 2012b. Mechanistic mammalian target of rapamycin (MTOR) cell signaling: effects of select nutrients and secreted phosphoprotein 1 on development of mammalian conceptuses. *Mol Cell Endocrinol*, 354: 22-33.
- Brayman, M., Thathiah, A., Carson, D.D. 2004. MUC1: A multifunctional cell surface component of reproductive tissue epithelia. *Reprod. Biol. Endocrinol.* 2, 4.
- Buhi, W.C. 2002. Characterization and biological roles of oviduct-specific, oestrogen-dependent glycoprotein. *Reproduction*, 123:355-362.
- Burghardt, R.C., Johnson, G.A., Jaeger, L.A., Ka, H., Garlow, J.E., Spencer, T.E., Bazer, F.W. 2002. Integrins and extracellular matrix proteins at the maternal–fetal interface in domestic animals. *Cells Tissues Organs* 172: 202–217.
- Carson, D.D., Bagchi, I., Dey, S.K., Enders, A.C., Fazleabas, A.T., Lessey, B.A., Yoshinaga, K. 2000. Embryo implantation. *Dev. Biol.* 223: 217–237.
- Dubocovich, M.L., Markowska, M. 2005. Functional MT1 and MT2 melatonin receptors in mammals. *Endocrine* 27: 101–110.
- Duranthon, V., Watson, A.J., Lonergan, P. 2008. Preimplantation Embryo Programming: Transcription, Epigenetics, and Culture Environment. *Reproduction*, 135: 141–150.
- Ealy, A.D., Wagner, S.K., Sheils, A.E., Whitley, N.C., Kiesling, D.O., Johnson, S.E., Berbato, G.F. 2004. Identification of interferon- τ isoforms expressed by the peri-implantation goat (*Capra hircus*) conceptus. *Dom Anim Endoc*, 27: 39-49.
- Ellington, J.E. 1991. The bovine oviduct and its role in reproduction: a review of the literature. *Cornell Vet*, 81: 313-328.
- Fu, Y., He, C.J., Ji, P.Y., Zhuo, Z.Y., Tian, X.Z., Wang, F., Tan, D.X., Liu, G.S. 2014. Effects of melatonin on the proliferation and apoptosis of sheep granulosa cells under thermal stress. *Int. J. Mol. Sci.* 15: 21090–21104.
- Ghersevich, S., Massa, E., Zumoffen, C. 2015. Oviductal secretion and gamete interaction. *Reproduction*, 149:r1-r14.
- Giancotti, F.G., Ruoslahti, E. 1999. Integrin signaling. *Science* 285: 1028–1032.
- Gray, C.A., Burghardt, R.C., Johnson, G.A., Bazer, F.W., Spencer, T.E. 2002. Evidence that absence of endometrial gland secretions in uterine gland knockout ewes compromises conceptus survival and elongation. *Reproduction* 124: 289–300.
- Greg, A., Johnson, G.A., Bazer, F.W., Burghardt, R.C., Guoyao, W., Kramer, B.A. 2018. Cellular events during ovine implantation and impact for gestation. *Anim. Reprod*, 15(1): 843-855.
- Guillomot, M., Flechon, J.E., Leroy, F. 1993. Blastocyst development and implantation. In *Reproduction in Mammals and Man*, pp 387–411. Eds. C Thibault, MC Levasseur & RHF Hunter. Paris: Ellipses.

- Guillomot, M., Flechon, J.E., Wintenberger-Torres, S. 1981. Conceptus attachment in the ewe: an ultrastructural study. *Placenta* 2: 169–182.
- Guillomot, M., Michel, C., Gaye, P., Charlier, N., Trojan, J., Martal, J. 1990. Cellular localization of an embryonic interferon, ovine trophoblastin and its mRNA in sheep embryos during early pregnancy. *Biol. Cell.* 68, 205–211.
- He, C., Ma, T., Shi, J.M., Zhang, Z.Z., Wang, J., Zhu, K.F., Li, Y., Yang, M.H., Song, Y.K., Liu, G.S. 2016. Melatonin and its receptor MT1 are involved in the downstream reaction to luteinizing hormone and participate in the regulation of luteinization in different species. *J. Pineal Res.* 61: 279–290.
- Hunter, R.H.F. 1998. Have the Falopian Tubes a Vital Role in Promoting Fertility? *Acta Obs. Gynecol. Scand.* 77: 475–486.
- İgwebuike, U.M. 2009. A review of uterine structural modifications that influence conceptus implantation and development in sheep and goats. *Anim Reprod Sci* 112: 1-7.
- Johnson, G.A., Bazer, F.W., Jaeger, L.A., Ka, H., Garlow, J.E., Pfarrer, C., Spencer, T.E., Burghardt, R.C. 2001. Muc-1, integrin, and osteopontin expression during the implantation cascade in sheep. *Biol. Reprod.* 65: 820–828.
- Johnson, G.A., Burghardt, R.C., Bazer, F.W. 2014. Osteopontin: a leading candidate adhesion molecule for implantation in pigs and sheep. *J Anim Sci Biotechnol*, 5: 56-70.
- Johnson, G.A., Burghardt, R.C., Bazer, F.W., Spencer, T.E. 2003. Osteopontin: roles in implantation and placentation. *Biology of Reproduction*, 69: 1458–1471.
- Killian, G. 2004. Evidence for the role of oviduct secretions in sperm function, fertilization and embryo development. *Anim Reprod Sci*, 82/83:141-153.
- Killian, G. 2011. Physiology and endocrinology symposium: evidence that oviduct secretions influence sperm function: a retrospective view for livestock. *J Anim Sci*, 89: 1315-1322.
- Kim, J., Burghardt, R.C., Wu, G., Johnson, G.A., Spencer, T.E., Bazer, F.W. 2011a. Select Nutrients in the ovine uterine lumen: VII. Effects of arginine, leucine, glutamine and glucose on trophoctodem cell signaling, proliferation and migration. *Biol Reprod*, 84: 70-78.
- Kim, J., Burghardt, R.C., Wu, G., Johnson, G.A., Spencer, T.E., Bazer, F.W. 2011b. Select Nutrients in the ovine uterine lumen: VIII. Arginine stimulates proliferation of ovine trophoctoderm cells through mTOR-RPS6K-RPS6 signaling cascade and synthesis of nitric oxide and polyamines. *Biol Reprod*, 84: 62-69.
- Kim, J., Choi, S., Bazer, F.W., Spencer, TE. 2003. Identification of genes in the ovine endometrium regulated by interferon tau independent of signal transducer and activator of transcription one. *Endocrinology*, 144(12):5203–5214.

- Kim, J., Erikson, D.W., Burghardt, R.C., Spencer, T.E., Wu, G., Bayless, K.J., Johnson, G.A., Bazer, F.W. 2010. Secreted phosphoprotein 1 binds integrins to initiate multiple cell signaling pathways, including FRAP1/mTOR, to support attachment and force-generated migration of trophoctoderm cells. *Matrix Biol*, 29: 369-382.
- Kimber, S.J., Illingworth, I.M., Glasser, SR. 1995. Expression of carbohydrate antigens in the rat uterus during early pregnancy and after ovariectomy and steroid replacement. *J Reprod Fertil*, 103: 75-87.
- Leese, H.J., Tay, J.I., Reischl, J., Downing, SJ. 2001. Formation of Fallopian tubal fluid: role of a neglected epithelium. *Reproduction*, 121:339-346.
- Lima, G.N., Maganhin, C.C., Simoes, R.S., Baracat, M.C.P., da Silva Sasso, G.R., Fuchs, L.F.P., de Jesus Simoes, M., Baracat, E.C., Junior, J.M.S. 2015. Steroidogenesis-related gene expression in the rat ovary exposed to melatonin supplementation. *Clinics* 70: 144–151.
- Maganhin, C.C., Simoes, R.S., Fuchs, L.F.P., Sasso, G.R.S., Simoes, M.J., Baracat, E.C., Soares, J.M. 2014. Melatonin influences on steroidogenic gene expression in the ovary of pinealectomized rats. *Fertil. Steril.* 102, 291–298.
- Mann, G.E., Fray, M.D., Lamming, G.E. 2006. Effects of time of progesterone supplementation on embryo development and interferon-tau production in the cow. *Vet. J.* 171: 500–503.
- Martin, P.M., Sutherland, A.E. 2001. Exogenous amino acids regulate trophoctoderm differentiation in the mouse blastocyst through an mTOR-dependent pathway. *Develop Biol* 240:182-193.
- Menezo, Y., Guerin, P. 1997. The mammalian oviduct: biochemistry and physiology. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 73: 99-104.
- Mondejar, I., Martinez, I., Aviles, M., Coy, P. 2013. Identification of potential oviductal factors responsible for zona pellucida hardening and monospermy during fertilization in mammals. *Biol Reprod*, 89: 1-8.
- Nielsen, F.C., Ostergaard, L., Nielsen, J., Christiansen, J. 1995. Growth-dependent translation of IGF-II mRNA by a rapamycin-sensitive pathway. *Nature*, 377: 358-362.
- Perez-Cerezales, S., Ramos-Ibeas, P., Acuña, O.S., Avilés, M., Coy, P., Rizo, D., Gutiérrez-Adán, A. 2018. The Oviduct: From Sperm Selection to the Epigenetic Landscape of the embryo. *Biol. Reprod.* 98: 262–276.
- Platanias, L.C. 2005. Mechanisms of type-I- and type-II-interferon-mediated signalling. *Nat Rev Immunol*, 5(5): 375–386.
- Salilew-Wondim, D., Saeed-Zidane, M., Hoelker, M., Gebremedhn, S., Poirier, M., Pandey, HO., Tholen, E., Neuho, C., Held, E., Besenfelder, U. 2018. Genome-Wide DNA Methylation Patterns of Bovine Blastocysts Derived from in Vivo Embryos Subjected to in Vitro Culture Before, During or After Embryonic Genome Activation. *BMC Genom.* 19: 1–19.

- Sarıbay, M.K., Erdem, H. 2015. Gebelik ve tanı yöntemleri (Ed: Semacan, A Kaymaz, M Fındık, M Rişvanlı, A Köker, A), Çiftlik Hayvanlarında Doğum ve Jinekoloji, Medipres Yayınevi, Ankara, s. 507-511.
- Satterfield, M.C., Bazer, F., Spencer, T.E. 2006. Progesterone regulation of pre-implantation conceptus growth and galectin 15 (LGALS15) in the ovine uterus. *Biol. Reprod.* 75: 289–296.
- Satterfield, M.C., Hayashi, K., Song, G., Black, S.G., Bazer, F.W., Spencer, TE. 2008. Progesterone regulates FGF10, MET, IGFBP1, and IGFBP3 in the endometrium of the ovine uterus. *Biol Reprod.* 79(6):1226–1236.
- Senger, P.L., Pullman, W.A. 1999. *Pathways to Pregnancy and Parturition*. 1st Edition, Ephrata: The Mack Printing Group Science Press.
- Song, G., Spencer, T.E., Bazer, F.W. 2005. Cathepsins in the ovine uterus: regulation by pregnancy, progesterone and interferon tau. *Endocrinology* 146: 4825–4833.
- Song, G., Spencer, T.E., Bazer, F.W. 2006. Progesterone and interferon tau regulate cystatin C (CST3) in the endometrium. *Endocrinology* 147: 3478–3483.
- Spencer, T.E., Bazer, F.W. 2004. Conceptus signals for establishment and maintenance of pregnancy. *Reprod Biol Endocrinol*, 2: 49.
- Spencer, T.E., Bazer, F.W., Burghardt, R.C., Palmarini, M. 2007a. Pregnancy recognition and conceptus implantation in domestic ruminants: Roles of progesterone, interferons and endogenous retroviruses. *Reproduction Fertility and Development*.
- Spencer, T.E., Gray, A., Johnson, G.A., Taylor, K.M., Gertler, A., Gootwine, E., Ott, T.L., Bazer, F.W. 1999. Effects of recombinant ovine interferon tau, placental lactogen, and growth hormone on the ovine uterus. *Biology of Reproduction*, 61: 1409–1418.
- Spencer, T.E., Johnson, G.A., Bazer, F.W., Burghardt, R.C. 2007b. Fetal-maternal interactions during the establishment of pregnancy in ruminants. *Soc Reprod Fertil Suppl* 64: 379–396.
- Sun, T., Lei, Z.M., Rao, C.V. 1997. A novel regulation of the oviductal glycoprotein gene expression by luteinizing hormone in bovine tubal epithelial cells. *Mol Cell Endocrinol*, 131: 97-108.
- Tamura, H., Nakamura, Y., Korkmaz, A., Manchester, L.C., Tan, D.X., Sugino, N., Reiter, R.J. 2009. Melatonin and the ovary: physiological and pathophysiological implications. *Fertil. Steril.* 92: 328–343.
- Tian, X., Wang, F., Zhang, L., He, C., Ji, P., Wang, J., Zhang, ZL., Abulizi, W., Wang, X., Lian, Z., Liu, G. 2017. Beneficial effects of melatonin on the in vitro maturation of sheep oocytes and its relation to melatonin receptors. *Int. J. Mol. Sci.* 18: 834–849.
- Wooding, F.B., Burton, G.J. 2008. Synepitheliochorial placentation: ruminants (ewe and cow). In: Wooding FB, Burton GJ. *Comparative Placentation: Structure, Function and Evolution*. Heidelberg: Springer-Verlag, 133-144.

Wooding, F.B., Staples, L.D., Peacock,
M.A. 1982. Structure of
trophoblast papillae on the sheep

conceptus at implantation.
Journal of Anatomy, 134: 507–
516.