

**GEBELİK TANINMASINDA İNTERFERON TAU (IFN τ)
(DERLEME)**

**(İnterferon Tau (Inf τ) on Pregnancy Recognition)
(A Review)**

Dr. Pürhan Barbaros TUNCER¹

¹ Lalahan Hayvancılık Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü

ÖZET

IFN τ ; uterus epitelyumu üzerinde, östrojen ve oksitosin reseptörleri için genlerin kopyalanmasını baskılayarak etkisini gösterir. Bu etki uterusun luteolitik mekanizmasının gelişmesini durdurur. Korpus luteum ile progesteron salgılanmasının devamı garanti altına alınır ve gebelik devam eder. IFN τ 'nin koyunlarda 12-15 nci ve sığır ile keçilerde 14-17 nci günlerde salınması gebeliğin anne tarafından tanınması için önemlidir.

Anahtar Kelimeler : Interferon Tau, Gebelik.

SUMMARY

IFN τ acts on uterine epithelium to suppress transcription of the genes for estrogen receptor and oxytocin receptor. This blocks development of the uterine luteolytic mechanism. Maintenance of progesterone secretion by the corpus luteum ensures establishment and maintenance of pregnancy. Secretion of IFN τ on days 12-15 for sheep and days 14-17 for cows and goats is essential for pregnancy recognition.

Key Words : Interferon Tau, Pregnancy.

GİRİŞ

Ruminantlarda gebeliğin tanınması ve devamlılığında uterus, ovaryum (Corpus luteum= CL) ve embriyo/fötüs arasında yakın bir ilişki vardır. Uterus endometriumundan salgılanan ve luteolitik bir hormon olan $PGF_2\alpha$ 'nın episodik olarak salgılanmasına bir yanıt oluşmuştur ve bu yakın ilişki sonucu CL'un luteolizisi önlenmiş olur. Ruminantlarda gebeliğin oluşmasıyla CL'un fonksiyonel yaşamı devam ettirilmiş olur ve trophoblast'lardan (parakrin tarzı bir rol oynar) luteolizis için gerekli olan $PGF_2\alpha$ 'nın pulsatil salınımını önleyici bir mekanizma ortaya çıkar. Ruminantlarda gebeliğin tanınması için oluşan bu mekanizmaya (sinyale) İnterferon Tau ($IFN\tau$) denir. Örneğin, bu $IFN\tau$, koyunlarda 10-21 nci günler arasında gebeliğin ilk tanınma periyodu süresince, artan miktarlarda salınmaktadır (2, 4, 6).

ÖSTRUS SIKLUSU ve LUTEOLİZİS

1. Östrus Siklusu : CL'dan salgılanan progesteron, östrus davranışlarının baskılanmasına ve diöstrus döneminde ovulasyonun oluşmamasına neden olur. GnRH belirli süre boyunca salgılanmaz. LH ve FSH'nın sirkülasyondaki seviyeleri de baskılanır ve böylece graff foliküllerinden ovulasyonun oluşması engellenmiş olur. Progesteron'un birinci görevi endometrial ortamda fötüsün büyümesini ve gelişmesini sağlamaktır. Başka bir ifadeyle myometrium'un sakin olarak kalmasına yol açarak gebelik devam eder. CL'dan salgılanan progesteron ovulasyonun oluşmasını engeller.

Progesteron'un etkisi proöstrus dönemine kadar sürer ve bu dönemde luteolizis oluşur (2, 11).

2. Luteolizis : Ruminantlarda östrus siklusu uterusu bağlıdır, çünkü endometrium luteolysin yani $PGF_2\alpha$ salgılar. Endometrial $PGF_2\alpha$ üretimi ve luteolizisin başlaması için, östrus siklusunun erken ve orta luteal döneminde sürekli progesteron salınımı olması gerekir. Fosfolipid depolarında progesteronun artması sonucu $PGF_2\alpha$ aktif olarak üretilir ve arachidonic asit 'ten $PGF_2\alpha$ 'ya dönüşüm görülür (9, 12). Kızgınlıktaki koyunlara, endogen progesteron üretiminden önce, metöstrus süresince ekzojen progesteron verilmesi durumunda östrus arası süre kısalmır. Oysa, erken luteal dönem süresince progesteronu bağlayıcı reseptörlere karşıt ilaçlar verildiğinde (Ör: RU 38486) endometrial $PGF_2\alpha$ üretiminin baskılandığı ve luteolizis'in ertelendiği görülür (5, 14). Bununla birlikte, diöstrus süresince endometrium'un 10 - 12 gün boyunca yetersiz progesterona maruz kalması luteolitik etkili $PGF_2\alpha$ 'nın endometriumdan üretimi için gerekli mekanizmaları olumlu yönde etkiler ve gebelik şekillenemez (1).

Koyunda, postöstrus döneminin 15–16 ncı günlerinde uterustan $PGF_2\alpha$ 'nın pulsatil salınımına yanıt olarak CL regrese olur. Eğer koyuna CL'un aktif olarak faaliyette bulunduğu dönemde histerektomi yapılırsa luteolizis şekillenmez ve CL'un yaşamı yaklaşık 5 ay kadar yani normal gebelik periyodu süresince devam eder (9).

GEBELİK TANINMASINDA İNTERFERON TAU (INF τ)

Ruminantlarda uterusun kornuları ile ovaryum venleri arasında bir ilişki vardır. PGF $_2\alpha$ 'nın luteolitik etkisi için uterus venlerinden, ovaryum arterlerine doğru bir geçiş gerçekleşir. CL, PGF $_2\alpha$ 'nın yaklaşık 25 saat boyunca 5 defa pulsatil salınımı ile karşı karşıya kalır ve tamamen luteolizise uğrar (4, 9). Hem kızgınlıktaki ve hem de gebe koyunlarda 13-14 ncü günlerde utero ovarian venler içinde PGF $_2\alpha$ 'nın preluteolitik pulsatil salınımı vardır fakat, östradiol' ün sirkülasyondaki seviyelerinde artış ile birlikte 15-16 ncü günlerde PGF $_2\alpha$ 'nın luteolitik salınımı görülür. Uterustan salgılanan PGF $_2\alpha$, luteal hücrelerin reseptörleri ile bağlanır ve intrasellular olayların başlamasına neden olur ki bunun sonucunda progesteron üretimi durur ve hücre ölümleri başlar (9).

Uterusun endometrial hücreleri üzerinde Oksitosin (OT) ve onun reseptörleri (OTR) için bir cevap oluşması ve 2 nci mesajcı sistem de phosphatidyl – inositol – diacylglycerol - protein kinase C(PKC)'nin aktivasyonunun gerçekleşmesi sonucu ruminantların uterusundan PGF $_2\alpha$ 'nın pulsatil salınımı gerçekleşir (13). OT, CL'daki büyük luteal hücrelerden salgılanır, ayrıca posterior hipofizden de koordineli olarak salınmaktadır. Periluteolitik dönem süresince PGF $_2\alpha$ 'nın salınım ritimlerinin % 95'inden fazlası OT salınım ritimleri ile birlikte dir. Düşük ritimli PGF $_2\alpha$ 'nın salınımı, CL'da büyük luteal hücrelerin uyarılmasıyla OT salınımı başlar, OT'de uterusta PGF $_2\alpha$ salınımını uyarır. 15-17 nci Günler arası devamlı olarak OT ve PGF $_2\alpha$ '

nın pulsatil salınımı, CL'un tamamen gerilemesine kadar devam eder, sonuçta OT depoları azalır veya tamamen biter. Bununla beraber luteolitik etkili PGF $_2\alpha$ 'nın salınımını indükleyen OT, uterustaki endometrial OTR'lerinin varlığına bağlıdır (10, 14). Koyun ve keçilerde oksitosin reseptörlerine (OTR) karşı etkili ilaç uygulanmasından sonra, CL'un yaşam süresinin ve östrus arası sürenin uzadığı tespit edilmiştir (10, 12, 14).

Endometrial epitelyumda 13-14 ncü günler arasında mRNA ile OTR'nin taşınması artar. OTR proteininin düzeyi kızgınlık ve 14 ncü günden sonra hızlı bir şekilde daha da yükselir (4-13 ncü günler arasında seviyesi düşüktür ve saptanamaz). OTR'leri Lumenal (LE) ve superficial glandular epitelyumda (GE) 14 ncü günde görülmeye başlar. Fakat karunkular stroma ve derin GE hücrelerinde 16 ncü günden sonra görülür, bütün endometrial hücre tiplerinde de östrus süresince bol miktarda bulunmaktadır (14). OTR'lerinin oluşumu, özellikle ovaryum hormonlarından (progesteron ve östrogen) etkilenmektedir.

10-12 nci Günler arasında progesteron, endometriumdan OTR'nin sentezlenmesini baskılar, bu “Progesteron Blokajı” diye adlandırılır. Fakat endometrium'un devamlı progesterona maruz kalması sonucu progesteron reseptörlerinde (PR) azalma görülür. Bu olay kısmi olarak endometrial lumenal epitelyumda (LE) oluşur, burada yeterli düzeyde PR yoksa LE'de östrogen reseptörleri (ER) çoğalır, bu da östrogen'e bir yanıtıdır ve sonuçta OTR'lerinin artışı ile

sonuçlanır (1, 14). Progesteron blokajının sonlanmasıyla ER ve OTR'lerinin artışı gerçekleşir. Endometrial epitelyumun, devamlı progesterona maruz kalmasından sonra belki PR'lerinin endometrial boşalımının negatif regülasyonu, progesteronun indükleyici etkisi sonucu oluşur. Bu da östrojen ve oksitosin reseptörlerinin (OTR) artmasına izin verebilir (10, 12). Buna alternatif olarak, OTR'lerinin artarak boşalması, progesteron reseptörlerinin (PR) azalarak kaybolması görülebilir ve böylece östrojenin etkisi bağımsız olmaktadır. Kızgınlıktaki koyunlarda endometrial LE'de PR'leri azalırken, ER'leri ve OTR'leri artmaktadır. Sirkülasyonda progesteronun basal seviyelerde olduğu dönemde, OTR'lerinin hızlı bir şekilde arttığı dikkat çeker ve geç diöstrus, proöstrus, östrus süresince folliküler östrojen seviyesi artar (1, 6, 10, 14).

Östrojen, OTR'lerinin sekresyonunu artan bir şekilde düzenlerken, oksitosin (OT) (OTR'lerle bağlantılı rol oynar) PGF₂α'nın pulsatil olarak salınımını indükler. Ayrıca östrojen, OT ile postreseptör ilişkisini arttırarak, luteolizis için gerekli düzenli sıklıktaki PGF₂α'nın pulsatil salınımını uyarır (10). Ovumda gelişen foliküllerin atresiye olması, yani koyunların östrojenlere karşı immunizasyonu luteolizisi geciktirir. Östrojenin yokluğu veya yeteri düzeyde olmaması durumunda, koyunlarda OT uterusun luteolizis için yeterli miktarda PGF₂α'nın salınmasında gerekli uyarımı yapamaz. Östrus siklusunun 9-12 nci günleri arasında estradiol-17β benzoat enjekte edilen koyunlarda, prematür luteolizis

ve sığırlarda ise, ER'lerinin mRNA yardımıyla artan regülasyonu görülür (5, 10, 12).

İn vivo çalışmaların sonucunda, endometrial LE'de progesteron'un PR'lerinden boşaltılmasının sürekli baskılanması sonucu orta ve geç diöstrus dönemi süresince progesteron seviyesi etkisiz düzeye gerileyene kadar, OTR'lerinin ve ER'lerinin endometrial baskılanmasının devam ettiği görülmüştür. Ayrıca, östrojen OTR'lerin LE ve superficial glandular epitelyumda (GE) içinin boşalmasına neden olur ki bu luteolitik etkili PGF₂α'nın üretiminde ve salınmasındaki en iyi delildir. Koyun endometriumunda ER, PR ve OTR'lerinin oluşmasında özel doku ve hücre tipleri vardır. Östrus siklusu süresince östrojen ve progesteronun seviyelerine bağlı olarak, OTR'lerinin salgılanması regüle edilir. Luteolizis süresince olgunlaşmış ovaryumdaki foliküllerden östrojen salgılanmaya başlar, ayrıca CL'un fonksiyonunu sonlandırmada luteolitik etkili PGF₂α'nın salınımını uyararak OT'in hem CL'dan ve hem de posterior hipofizden salgılanmasını uyarmak için endometriumda östrojen reseptörleri (ER) ve OTR'lerinin içlerinin boşalması bu günlerde gerçekleşir (5, 9, 12). Bunu östrus, çiftleşme ve gebeliğin tanımlanmasındaki diğer olaylar izler.

GEBELİK TANISI SİNYALİ :

İneklerde LH'nin ovulasyonu sağlamak için yaptığı pik seviye ile kızgınlığın görülmesi hemen hemen aynı zamandır (0 nci gün) ve ovulasyon yaklaşık 30 saat sonra

GEBELİK TANINMASINDA İNTERFERON TAU (IFN τ)

oluşur. CL'un olgunlaşmasıyla, diöstrüsün ortalarında (8-14 ncü günlerde) periferel kanda progesteron konsantrasyonu maksimum seviyededir ve kızgınlıktaki dişilerde diöstrusun geç dönemleri (15 - 16 ncü gün) süresince endometrial epitelyumdan PGF $_2\alpha$ 'nın pulsatil salınımıyla luteolisis indüklenir (8, 14). Ruminantlarda yavrunun anne tarafından tanınmasında önemli bir rol oynayan antiluteolitik sinyal, İnterferon Tau (IFN τ)'dur ve embriyonik trophoctoderm'in mononükleer hücrelerinden üretilirler (1, 8, 11). IFN τ parakrin bir etkiye sahiptir ve endometriumda PGF $_2\alpha$ 'nın luteolitik etkili pulsatil salınımını baskılayarak, endometrium düzeyinde etki gösterir. Gebeliğin erken döneminde embriyo/fötüs ve/veya uterustan diğere ürünler de salgılanır, örneğin; prostaglandin E (PGE) ve Plateletactive factor (PAF), sekonder olarak CL'u koruyucu etki gösterirler (1). Koyun, sığır ve keçiler için gebeliğin anne tarafından tanınma mekanizması benzerdir, fakat identik değildir.

IFN τ Gene'lerin Yapısı : IFN τ , 172 aminoasitli omega (w) interferonlarının (IFN) alt sınıfına dahildir. Koyun IFN τ (oIFN τ) başlangıçta Trophoblastin veya Protein X diye adlandırılmış ve daha sonra Koyun Trophoblast Protein-1 (oTP-1) ve Sığır Trophoblast Protein-1 (bTP-1) olduğu saptanmıştır. Çünkü ruminant embriyo/ fötüslerinin trophoctoderm'lerinden implantasyon öncesi salgılanan ilk büyük proteinlerdir. DNA'nın klonlanması ve aminoasit dizilişlerinin belirlenmesinden sonra bu proteinler Tip-1 IFN'lar gibi tanımlanmışlar

ve daha sonra Uluslararası Interferon Birliği tarafından Yunan alfabesinden tau(τ) simgesiyle adlandırılmışlardır. IFN τ 'nın fonksiyonel IFN'lar gibi antiviral, antiproliferatif ve immunomodulator etkilere sahip olduğu belirlenmiştir (1).

IFN τ , interferonların (INF) alt tiplerindedir ve uzun aminoasit sıralaması ile gebeliğin tanımlanmasında önemli bir rol oynarlar. Sığır ve koyunlarda IFN τ multiple mRNA'lardan oluşmuş ve yaklaşık olarak 1 Kb uzunluğundadır. Koyun ve sığır nükleusunun DNA'sının alt bölümünde 4-5 tane IFN τ geni bulunmuştur ve sondaj metodu ile yapılan araştırmalar sonucunda bunların IFN ω (omega) ve IFN τ oldukları anlaşılmıştır. Bazı araştırmacılar (1, 11) aynı metodla inceledikleri IFN τ geninin at, domuz, lama, yunus, fare, tavşan ve insanda aynı olmadıklarını saptamışlardır. Gebeliğin erken tanımlanabilme periyodu süresince IFN τ 'nun etkili üretimi, gebeliğin anne tarafından tanınması için tek ve özel bir mekanizmadır (1, 8, 11).

IFN τ 'nın karışık yüzey profili ve hydrophobicity özelliğine bağlantılı olarak ve 3 boyutlu bakıda α ve tau IFN'ların gebeliğin korunması ve devamında etkili olduğu saptanmıştır. Pontzer ve ark. (1988) oIFN τ 'nın (AA 139 - 172) sentetik peptid bağlantılı yapısının karboksil grubu ile sonlanması sonucunda rekombinant insan interferon alfa (rhIFN α), rekombinant sığır interferon alfa (rbIFN α) ve koyun interferon tau'nun (oIFN τ) antiviral etkisinin engellendiğini; fakat bunun

rbIFN gama için geçerli olmadığını göstermişlerdir. Fakat oIFN τ bir sentetik peptid amino grubu (AA 1-37) ile bağlantılı olarak sonlandırıldığında, sadece oIFN τ 'nın antiviral etkisi blokaj edilir ve IFN α 'nın antiviral etkisi ise etkilenmez (6). Bu sonuçlara göre; Tip 1 IFN lar yaygın olarak karbon (C) ile sonlanmış epitope reseptörlere bağlılarda görülür. Oysa IFN τ 'nın tek ve karakteristik biyolojik aktiviteleri amino grubu ile sonlananlarda görülmektedir. Bu, insan IFN τ 'sunun koyun endometrial reseptörlerinde oIFN τ olarak yer değiştirdiğinin göstergesidir. Ayrıca oIFN τ 'nın amino grubu ile sonlanan peptid gruplarında da antiluteolitik etkiye karşıt bir etkiye sahip olduğunun göstergesidir (1, 8, 11).

Melezleme yapılan türlerde IFN τ 'nın 150 çift aminoasit ile desteklenmesi ilginç bir durumu ortaya çıkarır. Çünkü IFN τ 'nın destekleyici yapısı trophoblast orijinli indüklenmeyen hücrelerde bellidir (JAR ve BeWo), fakat trophoblast olmayan hücrelerde belli değildir (ayrıca diğer Tip-1 INF'ların kopyalanmasında 400 çift aminoasitli oldukları görülmüştür). IFN τ 'nın kopyalanması, böylece çoğalmasının, çoğaltıcı elementlerin distal yolla trophoblast hücrelerinde spesifik faktörlerinin aktivasyonu sonucu olduğu varsayılır. Bunlardan bir tanesi (Klon 010) gebeliğin anne tarafından tanınması dönemi süresince salgılandığını ve oIFN τ (oTP-p7) gibi benzer düzeyde etki yaptığı belirlenmiştir [oTP-p7 geni ile % 95 oranından fazla bu genin desteklendiği bölgede IFN τ 'ya benzer

(175 a.a'e kadar)]. Klon 010 AP-1 regülatör bir elemente sahiptir. GM-CSF (Granulosit Makrofaj koloni uyarıcı faktör) gibi bu faktörler (ör: citokinase'lar) AP-1'in çoğaltıcı aktiviteye sahip olduğu önerilmektedir, böylece belki koyun interferon tau (oIFN τ) geninin boşalmasını ayarlayabilir (8, 11). Erken gebelik süresince koyun endometriyumundan GM-CSF'nin salgılanması da bunların varlığına bir kanıttır, ve GM-CSF'ini koyun embriyo/fötuslarını içeren kültür ortamıyla birlikte antiviral aktivitenin yaklaşık iki katına çıktığı gözlemlenmiştir (oIFN τ 'nın üretiminin göstergesidir). Bu sonuçlar, her ne kadar kanıtlanmamışsa da, erken gebelik süresince uterusu sitokinazların bulunması fötal/placental gelişmeyi ve gebeliğin, anne tarafından tanınmasını etkileyebilir.

Evcil ruminantlardaki oIFN τ 'ların yapısal akrabalıkları ile onların melezlenmiş türlerindeki IFN τ 'ların fonksiyonel akrabalıkları birbirlerini desteklemektedir. Deneysel çalışmalar ışığında, sığırların uterus lumenine koyunlardan alınan trophoblastik veziküller bırakıldığında kızgınlık arası süre uzayabilmektedir. Uterustan PGF $_2\alpha$ 'nın üretimini indükleyen oksitosin (OT) salınması, purifiye rekombinant koyun interferon tau (roIFN τ) tarafından baskılanır ve böylece sığırlarda kızgınlık süresi arası uzar. Keçilerde ise, postöstrusun 14-18 nci günleri arasında, günde iki kez intra uterin 100 mg roIFN τ 'nın enjeksiyonları sonucunda, CL'un fonksiyonu yaklaşık olarak 8 gün süreyle uzamaktadır (1, 8, 11).

Tip - 1 IFN Reseptörleri : Koyun endometrial membranının gebeliğe hazırlandığı dönemde, oIFN τ reseptörleri önemlidir ve molekül ağırlıkları 100 kDa'dır, ayrıca bunlar rekombinant sığır ve insan α_1 IFN'ları ile karşılıklı yer değiştirebilmektedir. Koyun endometriumu IFN τ 'nun bağlanması ile cAMP, cGMP veya IP döngüsünde bir artış görülmez, bununla beraber IFN τ , eğer IFN α ve diğer Tip 1 IFN'lar ile identik değilse de, gebelik sinyalini benzer bir sistemle iletir (1, 11).

Koyun Östrogen Reseptör (ER) Geninin IFN τ İle Baskılanması ve Kopyalanmasını Aktive Eden Mekanizma : ER (östrogen reseptör) geninin kopyalanmasının IFN τ vasıtasıyla baskılanması moleküler mekanizmalarla tanımlanamaz, fakat onlar Tip 1 IFN reseptörlerinin sinyallerini ileten sistemleri içerebilirler ve Tip 1 IFN'ların bir çok üyesi kopyalanmayı uyaran faktörlerdendir. Kopyalanmayı etkileyen Tip 1 IFN faktörleri şunlardır; IFN-uyarıcı gen faktörü-3 (ISGF-3), IFN düzenleyici faktör-1 (IRF-1), IRF-2, IFN bağlanıcı faktör (ICBSP) ve spesifik lenfoid IRF (LSIRF)'dir. ICBSP ve LSIRF lenfoidlere benzer tek tip hücrelerdir. Farklı olarak ISGF-3, IRF-1 ve IRF-2'de kopyalayıcı faktör bilgi ağı olduğu kabul edilir ve birçok hücre tiplerinde IFN uyarıcı genlerin salınımını (boşalmasını) ayarlarlar. Sitoplazmada ayrıştırılan ve normal olarak lokalize olmuş ISGF-3 kopyalayıcı faktör kompleksi 4 proteinden oluşur. Bazı araştırmacıların yaptıkları çalışmada, Tip 1 IFN 'un bağlandığı yer ve

onun reseptörleri, latent tyrosine kinaz'lar ile JAK 1 ve TYK 2'den hızlı bir şekilde aktive olurlar ki STAT 1, STAT 1a ve STAT 2'de fosforilat tyrosine kalıntılarına rastlanır. Bu 3 protein daha sonra 4 ncü DNA bağlayıcı proteine bağlanırlar ve bu multimerik protein kompleks hücre çekirdeğine doğru taşınır. Bu ISGF-3 kopyalayıcı faktör kompleksine bağlanır ve IFN uyarıcı (cevaplayıcı) elemente doğru (ISRE) desteklenme/çoğalma bölgesinde IFN cevaplayıcı genin kopyalanma oranı artar. IFN düzenleyici faktör (IRF)-1, ISRE içerir ve Tip 1 IFN'larla üst düzenleyici olarak görev yapar. IRF-1 pozitif kopyalanma faktörü olarak rol oynar ve IFN düzenleyici faktör elementine (IRF-E) gen kopyalanmasını hızlandırmak için bağlanabilirler. IRF-E içinde çoğunlukla büyük miktarda ISRE bulunmaktadır. Her ne kadar IRF-1 protein, IRF-E içeren ISRE'ye bağlanabilmekte ve kopyalanmayı aktive edebilmekte ise de, ISGF-3 kopyalayıcı faktör kompleksi sadece ISRE'ye bağlanabilmektedir. IRF-2 geninin kopyalanması IRF-1 ile artmaktadır ve IRF-2 daha sonra negatif kopyalayıcı faktör olarak rol oynamakta ve IRF-E'ye bağlanarak gen kopyalanmaktadır. IRF-2, IRF-1 ile bağlanmada yer değiştirebilmekte ve diğer faktörler gibi (ör: Sp-1) kopyalanmayı önleyici etki yapabilmektedir. IRF-1 ve IRF-2 arasındaki ayarlanmayı indükleyici ilişkiye "Yin-Yang" denir ve Tip 1 IFN yanıtlayıcı genlerin salınımını baskı altında tutar (8, 11).

IFN τ 'NUN ANTİLUTEOLİTİK

ETKİSİ : IFN τ 'nun tek biyolojik etkisi onun antiluteolitik aktivitesidir. Gebeliğin anne tarafından tanınma periyodu süresince diğer bir deyimle 10–21 nci günler arasında koyunda yavrunun mononükleer trophoblast hücrelerinden IFN τ salgılanır. oIFN τ 'nun salınımı konseptusun morfolojik olarak değişimiyle yaklaşık 10 uncu günde başlar ve spherical düzeyden (312 ng/ml uterus sıvısı) tubular düzeye kadar (1380 ng/ml) ve 12-13 ncü gündeki filamentöz forma kadar (4455 ng) değişim görülür. Siklustaki koyunlarda, örneğin luteolitik periyottan önceki 48-72 nci saatlerde yapılan başarılı bir embriyo transferi (yaklaşık 12 nci günde) sonucunda 14-16 ncü günlerde IFN τ 'nun salınımı görülür ve PGF $_2\alpha$ 'nın pulsatil salınımı ve luteolizis önlenmiş olur. Koyunlarda siklusun 12-14 ncü günlerinden sonra ya yüksek purifiye oIFN τ veya rekombinant koyun interferon tau'nun (roIFN τ) intrauterin infüzyonları sonucunda CL'un yaşamı uzar ve böylece iki östrus arası süre uzar; bu nedenle ruminantların embriyo/fötuslarıyla, antiluteolitik gebelik tanınma faktörünün üretilmesinde IFN τ 'nun tek başına etkili olduğu kabul edilir. IFN τ uterus venlerinde veya lenflerinde saptanamayabilir; bu nedenle, onun antiluteolitik etkisinin endometrial epitelyum üzerinde lokal etkili olduğu kabul edilir. Kızgınlıktaki koyun, sığır ve keçiler arasında intrauterin olarak roIFN τ 'nun enjeksiyonu, luteolitik mekanizmanın gelişimini engeller. Luteolitik periyod süresince, kızgınlıktaki koyunların endomet-

rial epitelyumunda OTR'lerinin boşalımı artar (1, 8, 11). Vallet ve ark. (1990), östrus siklusunun 15 nci gününde oksitosin reseptörlerinin (OTR) varlığında oIFN τ nun, OTR ile endometriyumda bir rekabet halinde bulunmadığını, OTR'leri için ya endometrial inositol fosfat metabolizmasının oksitosin (OT) uyarımını baskıladığını veya endometrial PGF $_2\alpha$ sekresyonunun, OT ile uyarımını baskıladığını bildirmektedirler. Daha doğrusu, kızgınlıktaki koyunların endometriyumunu 11-12 nci gün ile 14 ncü günler öncesinde IFN τ 'dan korunmasızdır, örneğin kızgınlıktaki koyunların endometrial lümenal epitelyumunda (LE) OTR'leri artmadan 2-3 gün önce, PGF $_2\alpha$ 'nın luteolitik pulsatil salınımları ve inositol fosfolipid metabolizmasının sonucunda OTR ve OT salınımı durdurulur. Erken gebelik süresince, endometrial OTR'leri çok azdır ve OT uterusun PGF $_2\alpha$ 'nın pulsatil salınımını sağlamayabilir. Fakat erken gebelik süresince PGF $_2\alpha$ 'nın basal sekresyonu, siklus süresince salgılanan miktarına göre çok yüksektir (4).

Endometriyumda OTR'leri geninin salgılanması östrojen ve progesteron ile ayarlanır. Gebeliğin tanınması sürecinde, ovaryumlardan bu hormonların salınımı kızgınlıktaki ve gebe koyunlarda farksızdır. Bu nedenle OTR'lerinin baskılanması için IFN τ , ER ve/veya PR'leri genlerinin salgılanmasının ayarlamasını yapmaktadır. Eğer IFN τ 'nun saptanmaya başladığı veya salınımının arttığı dönemde endometrial epitelyumda PR'leri genide salgılanmaktadır ve progesteron ER ve OTR'leri genlerini baskılamaya devam

GEBELİK TANINMASINDA İNTERFERON TAU (IFN τ)

etmektedir. IFN τ keza ER gen salınmasının artışıını bloke etmektedir. Östrojen reseptörleri (ER) geni kızgınlıktaki koyunlarda luteolizis ve OTR formasyonu için gereklidir. IFN τ , ER ve OTR'leri genlerinin kopyalanmasını bloke eder, fakat progesteron reseptörlerinin (PR) salınımına etkili olmadığı son yıllarda saptanmıştır (1, 10, 12).

Endometrial ER ve PR'leri genleri salgılanması doku ve hücrelerin spesifik hareketleriyle düzenlenir, bu hareketler erken gebelik ve östrus siklusu süresince farklıdır. Kızgınlıktaki koyunlarda östrus siklusunun 11-15 nci günleri arasında endometrial ER mRNA seviyesi gebe koyunlara göre fazladır. Erken gebelik süresince koyun endometriumunda LE ve yüzeysel glandular epitelyumda (GE) ER mRNA ve protein seviyeleri düşüktür veya saptanamayabilir. Eksojen OT veya östrojen dozları luteolizisi başlatır. oIFN τ 'nun intrauterin injeksiyonu sonucunda kızgınlıktaki koyunlar ve sığırlar luteolizisi indüklemeyi başaramaz, çünkü ER'leri OTR'leri endometriumda ya yoktur veya çok az seviyededir. Bundan dolayı, oIFN τ direkt veya indirekt olarak ER ve OTR'lerinin salınımını endometrial epitelyumda bloke ederek luteolizisi önler (5, 12).

Hem kızgınlıktaki ve hemde gebe koyunlarda, endometrial epitelyumda PR'lerinin progesteron tarafından negatif olarak salınımı otomatik olarak ayarlanır ve 6-8 nci günden sonra endometrial LE'de PR'leri saptanamayabilir. Böylece gebelik stabilize değildir ve endometriumda PR'leri gen

salınımının üst düzenlenmesi olur (5). Bundan başka, 12 gün boyunca endometriumun sürekli progesteronla etkilenmesi ve roIFN τ 'nun intrauterin injeksiyonları, PR'lerinin azalmasını korumada bir etki yapamamaktadır. Fakat roIFN τ , endometrial ER mRNA, protein ve OTR yoğunluğunun artmasını bloke eder. Bundan dolayı oIFN τ 'nun antiluteolitik etkisi, gebeliğin maternal tanınması süresince endometrial LE'de ER ve OTR leri gen salınımının artmasını baskılar (4, 6, 14).

Kızgınlıktaki koyunlara göre gebe koyunların endometriumunda ER ve OTR'leri genlerinin kopyalanma oranları 2 kez daha düşüktür. Kızgınlıktaki koyunlara 11-14 ncü günler arasında kontrol proteinlerle ve roIFN τ 'ların intrauterin injeksiyonlarında, ki bu dönemde ER ve OTR mRNA ve proteinler yoktur, IFN τ , roIFN τ 'ya göre daha fazla endometrial epitelyumda ER'nin kopyalanmasını baskılar ki, OTR geni salgılanmasındaki artış östrojene bağlıdır. Moleküler mekanizmalar aracılığıyla IFN τ 'nun ER leri genini kopyalaması mekanizması açıklanamamıştır, fakat Tip 1 IFN reseptörünün kopyalanma sistemi sinyaline benzerdir (4, 6).

Koyun endometriumunda IFN τ 'nun kopyalanma sistem sinyalinin, Tip 1 IFN tarafından aktive edildiği kabul edilir. Çünkü oIFN τ üretiminin ve artan miktarları, örneğin IFN α nın indüklenme periyodundan sonradır, IRF-2 yüksek miktarlarda salınımıyla aktive edilir. Koyun ER'ü geni fonksiyonel interferon düzenleyici faktör elementi (IRF-E), interferon düzenleyici faktör 2 (IRF-2) içerir ve ER'ü

geninin latent kopyalanması da IRF-2 / IRF-1 oranına bağlıdır. Koyun endometriumunun superficial GE ve LE'de ER'ü geni kopyalanması latent olarak gerçekleşir. IFN τ , ER'ü ve OTR'ü geni kopyalanmasını bloke ederek luteolitik mekanizmayı iptal eder. Progesteronun CL'dan devamlı salgılanması, stroma ve derin GE'da ER ve OTR'lerinin salgılanmasını baskılayarak, bu hücrelerde antiluteolitik mekanizmanın indüksiyonu sağlanmış olur (1, 8).

Endometrial luteolitik mekanizmanın gelişmeye başlamasından önce IFN τ trophoctoderm 'den üretilmelidir ki, IRF-2, ER ve OTR 'leri geni kopyalanmasını negatif ayarlayabilsin. IFN τ önce IRF-1'in daha sonra da IRF-2'nin kopyalanmasını aktive eder. İnterferon düzenleyici faktör 1 (IRF-1) geni aktivasyonu seri bir şekilde oluşmalıdır ve IRF-2 geni kopyalanması ile yer değiştirerek devam eder, ve bu işlem için 24-48 saat gereklidir. En son bulgular bu hipotez ile uyumludur (1). Koyun endometriumu serum proteinleri (kontrol) ile etkileşmeleri sonucunda IRF-1'in (compact stroma ve midglandular epitelyum) ve IRF-2'nin (midglandular epitelyum) düşük seviyelerde salgılanmasını sağlar, fakat lumenal epitelyum (LE) veya superficial glandular epitelyumdan (GE) salgılanmaz, hatta 11 nci günde yapılan sağıtımdan sonraki 1, 3, 6, 12, 24, 48, 72, 96 veya 120 nci saatlerde de durum benzerdir. Fakat LE ve superficial GE'da post injeksiyondan 12-24 saat sonrasında bile IRF-1 görülmez, rekombinant koyun interferon tau

(roIFN τ) ile endometriumun etkileşmesi sonucu 24-120 saat sonrasında aynı hücrelerde IRF-2 miktarı artar. Bu sonuçlar altında, roIFN τ IRF-1'in geçici olarak salgılanmasını ve dolaylı olarak IRF-2'nin uyarılmasını sağlamış olur. Bundan başka IRF-2, IRF-1'in salgılanmasını aynı östrojen reseptörü (ER) ve oksitosin reseptöründe (OTR) olduğu gibi baskılayabilir. IRF-1'in salgılanmasının uyarılması için uzun bir zamana ihtiyaç vardır ve daha sonra IRF-2 salgılanır. Erken embriyo transferi çalışmaları sonucunda, LE ve superficial GE'da ER ve OTR'lerinin salgılanmasını bloke etmek için luteolitik mekanizmanın görülmesinden 48-72 saat önce uterusu embriyo/fötüs bulunmalıdır (1, 4, 8, 11, 14).

Sığır : Sığır interferon tau'su (bIFN τ), koyun interferon tau'su (oIFN τ) ile immunolojik benzerlik gösterir. oIFN τ 'dan daha fazla aminoasit dizilişine ve kuvvetli antiviral etkiye sahiptir. Gebeliğin 16-19 uncu günleri arasında maksimum bIFN τ sekresyonu görülürse de gebeliğin 12 nci gününden 38 nci gününe kadar tespit edilebilir. CL bulunan ovaryumda, gebeliğin maternal tanınması sürecinde ovaryumda foliküler gelişme baskılanır, fakat diğer ovaryumda foliküler gelişme gözlenir. CL'un bulunduğu ovaryumdaki estradiolün salgılanması foliküler gelişmenin baskılanmasıyla düşük seviyededir ve böylece luteolitik PGF $_{2\alpha}$ 'nın uterus sekresyon mekanizması inaktive edilmiş olur. Luteolitik periyot süresince kızgınlıktaki sığırlarda endometrial OTR'ü gebelere oranla

GEBELİK TANINMASINDA İNTERFERON TAU (IFN τ)

daha yüksektir (563±117 vs 18±5 fmol/mg protein). bIFN τ muhtemelen endometrial ER ve OTR'lerinin sentezini inhibe eder ve uterustan luteolitik etkili PGF $_2\alpha$ 'nın pulsatil salınımını ortadan kaldırır.

Kızgınlıktaki sığırlara 15-21 nci günler arası intrauterin olarak bCSP'nin (cow serum protein) verilmesi ile östrus arası sürenin 23-24 günden 30-39 güne kadar uzamasına neden olur ve PGF $_2\alpha$ 'nın uterustan salınması baskılanır. Sığır endometriumu PG'lerin biosentezini inhibe edici faktörler içerir ki, gebelik ve östrus siklusu süresince bu aktif haldedir. Fakat gebeliğin 16-31 nci günleri arası bu baskılayıcı aktivite en yüksek seviyededir. bCSP'nin endometrial üretimi sonucunda PG'lerin sentezinin inhibe edildiği gösterilmiştir. Koyunda olduğu gibi, prostaglandin E (PGE) sığır embriyo/ fötusundan üretilir ve luteal koruyucu rol oynadığı kabul edilir. Sığır embriyo/fötusları keza sınırlı miktarlarda progesteron, androstenedione ve estradiol ile birlikte 5 β androgenler ve progestinleri üretirler, fakat bunların gebeliğin devamındaki rolleri henüz açıklanamamıştır (1, 8, 11).

Keçi : Gebeliğin anne tarafından tanınması 17 nci gün civarındadır ve keçi embriyo/fötusları keçi interferon tau'yu (cIFN τ) 16-21 nci günler arasında salgırlar. cIFN τ , oIFN τ gibi antiserum özelliğiyle immun sistemi hızlandırıcı etki yapar ve keçide antiluteolitik bir protein olduğu kabul edilir. Kızgınlıktaki keçilere kıyasla 10-12 nci günler arasında veya gebeliğin 20' nci gününde

pulsatil olarak salgılanan oksitosin (OT) ve PGF $_2\alpha$ gebelerde baskılanır ve keçilerdeki antiluteolitik etki de koyun ve sığırlardaki gibidir. roIFN τ 'nun intrauterin injeksiyonu keçilerde östrus arası süreyi 8 günden fazla uzatmaktadır (8).

Endometrial Proteinlerin İndüklenmesi : Ruminant embriyo/fötusları periimplantasyon döneminde histotroph endometrial sekresyonla yıkanmaktadır ki, bu sekresyon embriyo/fötusu besler, büyütür ve destekler. Histotroph sekresyon proteinlerin, karbonhidratların, şekerlerin, yağların ve iyonların bir karışımını içerir. Gebe ve kızgınlıktaki ruminantlarda endometrial protein üretiminin nicelik ve nitelikleri değiştiğinde histotrophların protein yapılarının fonksiyonu ve gebeliğin tanınmasındaki rolleri aydınlanmış olacaktır. IFN'ları uyarıcı proteinler immun cevapla karakterizedir; fakat, IFN uyarıcı proteinler uterusta az miktarlardadır (8).

oIFN τ 'nın etkisi sonucunda in vitro olarak proteinlerin endometriumda sentez ve sekresyonu yani "De Novo" sonucu, 11 proteinin sekresyonu artarken, 6 proteinin sekresyonu azalır. Salgılanan proteinlerin sadece ikisi β_2 mikroglobulin (koyunda) ve ubiquitin crosseactive protein (sığırdada) tanımlanmıştır, fakat bu proteinlerin fonksiyonlarının değişmeden kaldığı tespit edilmiştir. Sığırlarda tanımlanan IFN τ 'yu uyaran endometrial proteinlerin yüksek oranda granulocyte chemokine'lere benzediği saptanmıştır (11).

Sonuç olarak, IFN'lar çok sayıda hücre içi proteinlerin salgılanmasına etki ederler,

ancak bu proteinlerin çok azı gebe ruminant uterusunda bulunmaktadır. Ruminantlarda gebelikte IFN τ 'nın veya 2',5'-oligoadenylate synthetase enziminin (2',5'-A) aktivitesi artar. IFN'un indüklenen antiviral yapısında, adeninin oligomerlerinin üretimini katalizleyen bu enzim, latent olarak endoribonuclease'ı aktive ederek, viral RNA istilasını hücrel RNA ile beraber azaltır. Gebeliğin tanınmasında 2',5'-A enziminin rolü açıklanamamıştır. Gebe ruminant uterusunda IFN'u indükleyici proteine Mx protein denir. Mx proteinler monomeric GTPase'lardır ki antiviral etkiye sahiptirler. Son zamanlarda koyun Mx proteininin klonlanan DNA'sının aminoasit dizilişi bakımından % 80 oranında insan MxA ve % 73 oranında fare Mx1'i ile benzerlik gösterdiği saptanmıştır. Mx salgılanması konseptusun lokal etkisi ile olmaktadır ve gebe koyunlarda gebeliğin olduğu kornuda, diğer kornuya göre Mx mRNA miktarı daha yüksektir. Kızgınlıktaki koyunlara intrauterin olarak ya insan IFN veya IFN τ nun enjeksiyonu sonucunda, endometrial oMx mRNA'nın seviyesinin arttığı tespit edilmiştir (1, 8).

Kızgınlıktaki koyunlarda, Mx mRNA önemli miktarlarda bölgesel olarak endometrial lümenal epitelyumdan (LE) ve yüzeysel glandular epitelyumdan (GE) salgılanırlar. Kızgınlıktaki koyunlarda endometrial Mx mRNA seviyeleri, endometrial PR'leri ve sirkülasyon progesteron seviyeleri maksimum olduğu zaman, en yüksektir. Kızgınlıktaki ve gebe koyun ile sığır uteruslarının immunohisto

kimyasal analizleri sonucunda Mx'in immuno-reaktif varlığı tespit edilmiştir. Koyun (12-17 nci günler) ve sığır (15-21 nci günler) fötüslerinin IFN τ üretiminin maksimum olduğu sürede Mx seviyesi de en yüksek düzeydedir. Koyunda gebelik, Mx salgılanmasının sabit düzeydeki seviyesinin farkedilir miktarda artmasıyla sonuçlanır. Bu yükselme gebeliğin 13 ncü gününde açıkça bellidir ve gebeliğin 17 nci gününde LE de Mx salgılanması, östrus siklusunun her hangi bir dönemine göre daha yüksektir. Mx salgılanması keza yüzeysel ve derin GE'da ve stroma ile myometriumda da yüksek seviyededir. Kızgınlıktaki koyunların uterus dokularında, Mx'in stromal ve myometrial salgılanmasına rastlanmamaktadır. Koyunlarda gebeliğin 25 nci gününe kadar Mx salınımı yüksek düzeyde devam eder, sadece oIFN τ 'un (15-17 nci günler) maksimum üretim peryotunda bu seviye biraz düşüktür. Immunoreaktif IFN'un düşük seviyeleri bu dönem süresince tespit edilir ki bu IFN'ların karakterize bir özelliğidir. Sonuçta, Mx proteininin yarılanma ömrü uzundur, insanda IFN tek salınımdan sonra 2 hafta süreyle saptanabilir. Gebeliğin 25 nci gününde Mx salınımı önce LE ile sınırlanmıştır ve daha sonra yüzeysel GE, stroma ve myometriumda minimal düzeyde salınım görülür (1).

11-15 nci Günlerde rekombinant koyun interferon tau'nun (roIFN τ) intrauterin enjeksiyonu sonucu Mx uyarılır ve endometriumdan myometriumda doğru salınımları gerçekleşir. Oysa koyunlar, koyun serum proteinlerini sadece LE'de zayıf

GEBELİK TANINMASINDA İNTERFERON TAU (IFN τ)

hibridizasyon sinyali ile kaydederler. Sığır ve koyunda tespit edilen bu sonuçlar, Mx indüklenmesinin gebelik için yeterli bir cevap teşkil ettiğini gösterir ve siklus süresince Mx salgılanması progesteronla ayarlanır. Mx'in rolü gebelik belirtilerinin tanınması ve devamında gereklidir, ve uterusu antiviral bir protein gibi hizmet verir ve steroid ve/veya IFN τ regülasyonuna bağlıdır. Kızgınlıktaki ve gebe sığırın endometriumunda 2',5'-A' üzerinde yapılan çalışmalarda benzer sonuçlar elde edilmiştir (1).

Sığırlarda gebelik, endometrial PGF $_{2\alpha}$ sentezi inhibitörünün (EPSI) seviyesinin yükselmesiyle sonuçlanır. Linoleic asit, arachidonic asitle rekabet halindedir ve cyclooxygenase enzimi ile endometrial PG üretimini azaltır. Sığır interferon tau (bIFN τ) vasıtasıyla linoleic asitin endometriumdan artma mekanizması anlaşılamamıştır. Koyun endometriumunda EPSI'ye benzer bir yapı saptanamamıştır ve bu olay kızgınlıktaki koyunlara göre gebelerde basal PGF $_{2\alpha}$ seviyesinin daha yüksek oluşu ile açıklanmaktadır. Erken gebelik döneminde phospholipase A $_2$ (PLA-2) baskılayıcı aktivitesinin fazlalaşması "lipocortin" ve/veya "annexin" familyasından proteinlerin salınımının artmasının oIFN τ 'nun bir cevabı olduğu savunulmaktadır (1, 8, 11, 14).

Sonuç : Ruminantlarda gebeliğin tanınması ve devamlılığında uterus, ovaryum (CL) ve fötüs arasında yakın bir ilişki vardır. İnterferon tau (IFN τ), korpus luteumun devamı için yoğun bir şekilde üretilmesi gerekmektedir

ve böylece embryonun in vivo canlılığını sürdürebilmesi için önemli bir rol oynamaktadır. IFN τ , koyunlarda 12-15 nci günler, sığır ve keçilerde ise 14-17 nci günler arasında gebeliğin anne tarafından ilk tanınma periyodu süresince, artan miktarlarda salgınlmaktadır ve böylece gebeliğin çok erken dönemde saptanması olanağı ortaya çıkar.

KAYNAKLAR

1. **Blazer FW, Spencer TE, Ott TL** (1997) Interferon Tau : A Novel pregnancy recognition signal. *Am.J.Reprod.Immun.* 37 : 412 - 420.
2. **Hansel W, Convey EM** (1983) Physiology of the estrous cycle. *J. Anim. Sci.* ,57: 404 - 424.
3. **McCracken JA, Schramm W, Okulicz WC** (1984) Hormone receptor control of pulsatile secretion of PGF $_{2\alpha}$ from the ovine uterus during luteolysis and its abrogation in early pregnancy. *Anim. Reprod. Sci.*, 7:31-55.
4. **Meyer MD, Hansen PJ, Thatcher WW, Drost M, Badinga L, Roberts RM, Li J, Ott TL, Bazer FW** (1995) Extension of corpus luteum lifespan and reduction of uterine secretion of prostaglandin F $_2$ of cows in response to recombinant interferontau. *J.Dairy Sci.*, 78 : 1921 - 1931.
5. **Morgan GL, Geisert RD, McCann JP, Bazer FW, Ott TL, Mirando MA, Stewart M** (1993) Failure of luteolysis and extension of the interoestrus interval in sheep treated with the progesterone antagonist mifepristone (RU 486). *J.Reprod.Fertil.*, 98 : 451 - 457.
6. **Newton GR, Ott L, Woldesenbe S, Shelton AH, Bazer FW** (1996) Biochemical and immunological properties of related small ruminant trophoblast interferons. *Theriogenology*, 46: 703 - 716.
7. **Pontzer C.H, Torres R.A, Vallet J.L, Bazer F.W and Johnson H.M** (1988) Antiviral activity of the pregnancy recognition hormone ovine trophoblast protein-1. *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, 152 : 801- 807.
8. **Roberts RM, Cross JC, Leaman DW** (1992) Interferons as hormones of pregnancy. *Endocr. Rev.* 13 : 432 - 452.
9. **Silvia WJ, Raw RE** (1993) Regulation of pulsatile secretion of prostaglandin F $_2$ alpha from the ovine uterus by ovarian steroids. *J. Reprod. Fertil.*, 98 : 341 - 347.
10. **Spencer TE, Ing NH, Ott TL, Mayes JS, Becker WC, Watson GH, Mirando MA, Bazer FW**

- (1995) Intrauterine injection of ovine interferon- τ alters oestrogen receptor and oxytocin receptor expression in the endometrium of cyclic ewes. *J.Mol. Endocrinol*, 15 : 203 - 220.
11. **Spencer TE, Ott TL, Bazer FW** (1996) τ – Interferon: Pregnancy recognition signal in ruminants. *Proc.Exp.Biol.Med.*, 213 (3): 215– 29.
12. **Vallet JL, Lamming GE, Batten M** (1990) Control of endometrial oxytocin receptor and uterine response to oxytocin by progesterone and oestradiol in the ewe. *J.Reprod.Fertil.* 90 : 625 - 634.
13. **Wathes DC, Denning Kendall PA** (1992) Control of the synthesis and secretion of ovarian oxytocin in ruminants. *J.Reprod. Fertil.* 45 : 39 - 52.
14. **Wathes DC, Lamming GE** (1995) The oxytocin receptor, luteolysis and the maintenance of pregnancy. *J.Reprod.Fertil.* 49 : 53 - 67.