

Ovarian Follikül Gelişiminin Moleküler Temelleri

*Arş.Gör. İrem MATUR**
*Prof.Dr. Suna SOLMAZ**

Follikül, ovaryumun temel fonksiyonel birimidir. Follikül yapısı, bir oosit ve onu çevreleyen granüloza ve teka hücrelerinden oluşmaktadır. Normal follikülogenez sırasında, her bir follikül içerisinde oositin büyümesi ve olgunlaşması; granüloza ve teka hücrelerinin proliferasyon ve gelişmeleri oldukça koordineli bir şekilde gerçekleşir. Bu koordinasyon ovüle olan oositin fertilizasyona ve sonraki embriyonik gelişime hazır olduğunu gösterir. Follikülün gelişmesi ve sonuçta bu gelişimsel programın başarılı bir şekilde tamamlanması için, follikül yapısı içinde bazı morfolojik ve moleküler değişiklikler meydana gelmektedir¹.

İmmatür oositin mayoz bölünmesini tamamlaması, büyüme ve gelişmesi için granüloza hücrelerine; granüloza hücrelerinin de proliferasyon, differensiyasyon ve fonksiyon görmeleri için oosite ihtiyaçları vardır. Bu çift yönlü etkileşim, gelişim süresince devam etmektedir. Ovariyan folliküllerin gelişimini düzenleyen kompleks hücre-hücre etkileşimleri, endokrin, otokrin, parakrin regülatörler ve oluklu bağlantı tipi hücrelerarası bağlantılar ile olmaktadır. İki folliküler kısım için de esasi olan bu etkileşimde gelişim oranını belirleyen asıl faktörün hangisi olduğunu tanımlamak amacıyla yapılan bir çalışmada Eppig ve ark. sekonder follikülden izole ettikleri orta büyüklükteki bir oositi, folliküler gelişimin ilk basamağı olan primordial folliküle transfer etmiş ve bu transferin folliküler gelişimi ve somatik hücre differensiyasyonunu ikiye katladığını görmüşler; sonuçta memeli folliküllerinin gelişimini düzenleyen asıl faktörü oosit olarak tanımlamışlardır².

* Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, ADANA

1. Oluklu Bağlantılar

İnorganik iyonlar, ikinci mesajcılar, metabolitler gibi follikül gelişimi için gerekli moleküllerin oosit-granüloza hücreleri ya da iki granüloza hücresi arasındaki geçişi, oluklu bağlantıların varlığı ile gerçekleşmektedir. Bu bağlantılardan, iyonlar, metabolitler, amino asitler gibi oosit büyümesi için gerekli moleküller; cAMP gibi nükleer maturasyon için gerekli regülatör moleküller veya lokal ve endokrin uyarılar geçmektedir. Oluklu tip bağlantıların temel birimi konneksionlardır. İki komşu hücrenin membranındaki silindirik şekilli konneksionların uç uca eşleşmesi ile bir hücrelerarası kanal meydana gelmekte ve moleküller bu kanallardan geçmektedir. Konneksionlar, konneksin alt ünitelerinden oluşan heksamer yapılardır. Oosit ve granüloza hücreleri arasındaki oluklu bağlantılarda konneksin-37; granüloza hücreleri arasındaki bağlantılarda ise konneksin-43 alt ünitelerinin varlığı tanımlanmıştır³. Konneksin-37 eksikliği olan farelerde, oositin mayotik maturasyonunun tamamlanmadığı⁴; konneksin-43 eksikliğinde ise granüloza hücrelerindeki reseptörlere hormonların ve parakrin faktörlerin bağlanması ile aktive olan ikinci mesajcılar hücreler arasında paylaşılabilmesi nedeniyle hücrelerin bölünmediği ve dolayısıyla çok katlı tabakanın oluşmadığı fark edilmiştir³.

2. Primordial Germ Hücreleri

İnsan ovaryumunun gelişimi, implantasyondan 3-4 hafta sonra başlar. Germ hücre migrasyonu, gonadal cinsiyet differensiyasyonu, germ hücrelerinin mitotik bölünmeleri ve atrezileri ve folliküler formasyon gibi önemli olaylar fetal hayatta başlar ve tamamlanır. Germ hücrelerinde mayoz ve folliküler büyüme ve atrezi gibi puberte öncesi ve üreme hayatı boyunca süren olaylar da fetal hayatta başlar⁵. Gametlerle ilişkili hücre hattı olan germ hücre hattı, ilk olarak yolk kesesi duvarında farklılaşan, gelişimin 4. haftasında belirginleşen hücrelerdir. Bu hücreler aktif olarak ileride erkekte spermatogonia ve dişide oogonia adlı gamet prekürsörlerine farklılaşacakları ve gonadları oluşturacakları embriyonun arka duvarına göç etmektedirler⁶.

Gestasyonun başında, bu primordial germ hücreleri (PGH), migrasyon ile yolk kesesi duvarından bağırsak yolu ile genital çıkıntılara giderler. Bu migrasyonu insanlarda hangi faktörlerin sağladığı bilinmiyor olsa da kemotatik faktörler ve hücre adhezyon faktörleri ile ilişkilendirilmektedir. Farede, KIT reseptörü ve kit ligand genlerindeki bir mutasyonun migrasyonu bloke ettiği ve infertiliteye sebep olduğu, ancak yine de cinsiyet ayrımının olduğu gösterilmiştir^{5,7}. Tirozin kinaz reseptörü, c-kit, W (white spotting) bölgesi tarafından kodlanır ve germ hücre yüzeyinden eksprese edilir. Ligandı, kit ligand, Sl (Steel) bölgesinde kodlanır ve germ hücre migrasyon yolundaki hücrelerce eksprese edilir. C-kit'in ligandı ile bağlanması sonucu proliferasyon, migrasyon ve germ hücrelerinin yaşamlarına devam etmeleri sağlanır¹.

Primordial germ hücreleri, genital çıkıntılara ulaştıktan sonra, mitoz bölünmeler ile sayılarını arttırmaya başlarlar. Farede, bu hücreler dönüştürücü büyüme faktörü β (TGF β) süperailisi üyeleri etkisiyle hızla bölünürler⁷. Fetal hayatın 20. haftasında germ hücrelerinin sayısı yaklaşık 7 milyona ulaşır. 3. ve 5. aylar arasında, ilk mayoz bölünmesine başlayan oogonia, hemen sonra 1. mayozun diploten evresinde duraklamaya girer ve puberte sonrasına kadar bu şekilde beklerler. Ancak aralarından bazıları apoptoza uğrar. Oosit ve etrafını çevreleyen yassı şekilli somatik hücrelerin oluşturduğu primordial folliküllerin sayıları doğum zamanı 2 milyona kadar inmektedir. Pubertede ise yaklaşık 300.000 adet follikül varlığı tanımlanmaktadır. Her iki cinsiyette de prenatal ve postnatal hayatta germ hücrelerinin yaşamları için anti-apoptotik BCL2 ailesi üyeleri (BCL2, BCL6, BCLX ve BCLW) ve pro-apoptotik BAX proteininin dengede olması önemlidir. Bu dengedeki bir bozulma, patolojik sonuçlar doğurmaktadır. Örneğin; farede BCLX yokluğu, her iki cinste de germ hücrelerinin tamamen kaybına; BCLW yokluğu, dişide PGH'lerinde kısmi azalmaya sebep olmakta; BCL2 yokluğu ise postnatal olarak oosit sayısının azalması ile sonuçlanmaktadır. Buna karşın, dişi farede BAX yokluğunda uzun bir üreme hayatı görülmektedir⁷.

3. Folliküler Formasyon ve Seleksiyon

Folliküler formasyonun moleküler mekanizması ve diğer folliküller dinlenme evresinde beklerken bazı folliküllerin gelişimini indükleyen sinyaller hala tam anlamıyla çözülememiş olsa da bu konuda çalışmalar devam etmektedir⁸.

Fareler ile yapılan bir çalışmada, "Factor in the germline alpha" (FIG α) adlı germ hücresine spesifik transkripsiyon faktörünün, yokluğunda sterilite geliştiği gösterilerek, folliküler formasyondan sorumlu olduğu belirtilmiştir. Nokta mutasyonunda, gonadlar gelişmiş ancak primordial follikül oluşumu olmamıştır⁸. Bir başka çalışmada, c-kit'in primordial follikül dahil her aşamada bulunması nedeniyle follikülogenezin başlamasından sorumlu olabileceği savunulmaktadır^{1,5}. Koyunlar ile yapılan bir çalışmada ise, folliküler formasyon sırasında kit ligand kök hücre faktör (SCF) proteininin, c-kit proteininin ve mRNA'sının ve de büyüme ve farklılaşma faktör-9 (GDF-9) mRNA'sının oositlerde varlığı sebebiyle, bu yapıların formasyon ile ilişkili olabileceği söylenmektedir⁵. Kemik morfogenetik protein -4 (BMP-4) ve BMP-8b eksikliği olan knockout fare modellerinde ve hücrelerarası sinyal iletim molekülleri olan SMAD1, SMAD5 proteinlerinin etkilerinin azalması durumlarında PGH'lerinin gelişimlerinde defekt saptanmıştır. Bilinen birkaç insan mutasyonu PGH veya folliküler havuzda azalma ile sonuçlanmaktadır. Turner sendromlu kızlarda oosit içermeyen kalıntı şeklinde gonadlar bulunmakta, bu sendromdan sorumlu olabilecek genler ZFX, BMP15, UBE1, USP9X olarak tanımlanmaktadır⁷.

Gelişen follikül havuzunda bazı folliküllerin gelişmesi, bunun yanında diğer folliküllerin gelişimlerinin durması anti-müllerian hormon (AMH) ile ilişkilendirilmektedir. AMH'nin primordial folliküllerde eksprese edilmediği fakat primer folliküllerin %74'ünde, granüloza hücrelerinin en azından zayıf boyanma gösterdiği rapor edilmektedir. En çok boyanma preantral ve küçük antral folliküllerde olup 5 mm'den büyük folliküllerde ise boyanma olmamaktadır. Bu sonuçlar göz önünde bulundurularak, AMH'nin gelişen folliküllerden üretildiği ve bu üretilen AMH'nin komşu primordial folliküller

üzerindeki negatif parakrin etkisi ile onların gelişimini inhibe ettiği düşünülmektedir⁹.

4. Primer Follikül Oluşumu

Duraklama aşamasındaki oositin nükleusu, kısmen kondanse profaz kromozomlara sahiptir ve oldukça büyümüştür. Germinal vezikül adını alan bu yapı, DNA'yı uzun süre koruyabilmektedir⁶. Follikülogenezin başlangıç aşamalarında, oositin dinlenme fazından çıkarak büyümesini, granüloza hücrelerinin kübik hale gelmelerini ve sonuçta primer follikül oluşumunu uyararak preantral follikül gelişimini başlatan faktörler hala tam olarak tanımlanmamış olsa da, bu konuda rolü olduğu düşünülen adaylar retinoblastoma proteini ve c-kit'tir. Hücre differensiyasyonunu düzenleyen retinoblastoma proteininin ekspresyonu, büyüme fazındaki preantral folliküle en fazladır. Bir tirozin kinaz reseptörü olan c-kit, oositte eksprese edilmektedir. C-kit'in ligandı olan kök hücre faktörü (SCF) ise granüloza hücrelerinden eksprese edilmektedir. C-kit ve ligandının etkileşimi sonucu uyarılan yolağın eksikliği durumunda, fare oositleri primordial aşamadan ileri gelişim gösterememiştir. Bu nedenle, c-kit'in, primer follikül gelişimde rolü olduğu düşünülmektedir¹⁰.

Follikülogenezde oositin büyümesi, oositte eksprese edilen kit reseptörüne karşılık granüloza hücrelerinden salınan kit ligand sinyalizasyonu ile düzenlenmektedir. Büyüyen oositin preantral granüloza hücreleri ile kültürü, granüloza hücrelerinden kit ligand ekspresyonunu uyarmakta, bununla birlikte tamamen büyümüş oositler ise ekspresyonu baskılamaktadır¹¹. TGF β süperailisi üyelerinden GDF-9 yokluğu, sonuçta oositin boyutunda belirgin şekilde artışa neden olan kit ligand seviyesindeki yükselme ile sonuçlanmaktadır. Dolayısıyla rekombinant GDF-9, kit ligand mRNA seviyesini düşürme yolu ile kit ligand ekspresyonunu kontrol etmektedir. GDF-9 eksikliği olan farelerde, primer follikül aşamasında iken gelişimin durduğu rapor edilmiştir^{2,3,11,12}.

TGF β süperailisi, hücre proliferasyonu, differensiyasyonu ve matriks

sekresyonu gibi birçok gelişimsel olayı düzenleyen ekstraselüler sinyal proteinlerinin en geniş ailesidir⁵. Bu ailenin üyelerinden GDF-9 ve BMP-15, oositlerde preproproteinler olarak sentezlenmektedirler. Soylara göre farklılık göstermekle birlikte, mutasyonları sterilite ile sonuçlanmaktadır. BMP-15 eksikliği olan fareler fertil iken, koyunlarda GDF-9 ve BMP-15'in her ikisi de fertilité için gereklidir. Aynı şekilde insanlarda da iki faktör de fertilité için gerekli olmakla birlikte, GDF-9 mutasyonu sonucu polikistik over, prematür ovarian hata geliştiği rapor edilmiştir¹¹. GDF-9, kümülüs genişlemesi ve oosit için optimal mikroçevre oluşumu için gerekli granüloza hücre enzimlerinin düzenlenmesinde görev alan oositin salgılanan parakrin faktördür¹³.

Primer follikül aşamasında, oosit ve granüloza hücreleri arasında glikoprotein yapıda bir matriks olan zona pellusida (ZP) salgılanır. ZP'nin ZP1, ZP2 ve ZP3 adlı üç glikoproteininin ekspresyonu için de FIG α transkripsiyon faktörü gerekliliği gösterilmiştir⁸. ZP'nin major komponentlerinden olan ZP3 yokluğunda, farelerde, follikülogenezin devam ettiği ancak ovüle olduktan sonra oositlerin oviduktlara yapışması nedeniyle bu farelerin infertil olduğu görülmüştür¹.

5. Preantral Follikül ve Teka Hücreleri

Folliküler gelişimin başlaması ile follikül içerisinde; oositin büyümesi, çok tabakalı yapının oluşması ile bağlantılı olarak granüloza hücre proliferasyonu ve follikül etrafında bazal membranın dışında bir tekal tabaka oluşması gibi birtakım morfolojik olaylar gerçekleşir. Bu olaylardan erken antral follikül aşamasına kadar olanlar gonadotropinlerden bağımsızdır; intraovarian ve intrafolliküler mekanizmalar ile düzenlenmektedir^{1,14}. FSH β knockout fare modellerinde ya da hipogonadal farelerde, preantral follikül gelişimi normal bir şekilde devam etmektedir¹. Bununla birlikte, follikülde preantral aşama, erken antral aşamaya geçmeden önceki son gonadotropinlerden bağımsız aşama olarak değerlendirilmektedir. Preantral follikülden erken antral follikül aşamasına geçiş, gonadotropinlere bağımlılık ve follikülün gelişimine devam etmesi ya da atreziye uğraması ile sonuçlanan kaderinin belirlenmesi

olaylarıyla ilgili olarak oldukça önemli bir evredir. Bu nedenle, folliküler gelişim 3 evreye ayrılabilir: **(1)** primordial ve primer follikül aşamaları (gonadotropinlerden bağımsız evre), **(2)** preantral evreden erken antral evreye geçiş (gonadotropinlere duyarlı evre), ve **(3)** erken antral evreden sonra devam eden gelişim aşamaları (gonadotropinlere bağımlı evre). Geçiş evresinde follikülün büyümesi esas olarak intraovariyan regülatörler (büyüme faktörleri, sitokinler ve gonadal steroidler) tarafından düzenlenir ve gonadotropinlere ihtiyaç yoktur ancak büyüme FSH varlığı ile de uyarılabilmektedir¹⁴.

Preantral follikülde yavaş yavaş oluşumu görülmeye başlansa da, teka hücre tabakası oluşumu, erken antral folliküle geçişte gerçekleşir ve bu olay follikülün kaderinin belirlenmesi açısından kilit rol oynamaktadır. Teke hücre tabakasının düzenlenmesi ile eş zamanlı olarak gonadotropinlere karşı steroidojenik cevapların artışı, tekal tabakanın oluşumu ile yapısal ve ovarian regülatörleri içeren kan akımı desteğinin artması ve granüloza hücrelerinde östrojen biyosentezi için androjen üretilmesi gibi erken folliküler gelişim için önemli fizyolojik olaylar bu tabakanın oluşması ile gerçekleşir. Sığır ko-kültür modelleri kullanılarak yapılan bir çalışmada, teka hücre tabakası oluşumu için, granüloza hücrelerinin, kortikal stromal hücrelerin differensiyasyonunu uyardığı belirlenmiştir¹⁴. Tekal hücreler, follikül yakınındaki kortikal stromal fibroblast-benzeri prekürsörlerden farklıdır. Tekal, interstisyel hücrelerin kültür çalışmalarında, 3-5 tabaka granüloza hücreleri içeren sıçan preantral folliküllerinden salınan bir faktörün teka differensiyasyonunu gonadotropinler olmadan uyarabildiğini göstermiştir. İki ya da daha çok granüloza tabakası içeren preantral follikülden salgılanan parakrin uyarıcı sinyaller teka gelişimi için gereklidir^{1,14}. Huang ve ark. yaptığı bir çalışmada, granüloza hücreleri kaynaklı iki peptid olan insülin-benzeri büyüme faktörü-I (IGF-I) ve kit ligand (KL) kombinasyonunun, sıçan teka-interstisyel hücrelerde androjenik faktörlerin gen ekspresyonlarını ve androjen üretimini arttırdığı gösterilmiştir. Teke hücre tabakası oluşumu lüteinizan hormonların (LH) etkisi olmaksızın gerçekleşir çünkü teka hücrelerine farklılaşacak stromal hücrelerde LH

reseptörü bulunmamaktadır. Etrafını saracağı follikülün granüloza hücreleri iki ya da daha fazla tabakalı olduktan sonra, bu hücrelerden salınan teka differensiyasyon faktörleri (TDF), teka prekürsör hücrelerinin LH reseptörlerinin ve androjen biyosentezi için gereken steroidojenik enzimlerin (CYP11A, 3 β -HSD ve CYP17) mRNA'larının ekspresyonunu uyarmaktadırlar¹⁵. Preantral follikülde teka hücre tabakasının oluşumu, folliküler gelişim için çok önemli bir fizyolojik olaydır. Teka hücre tabakası düzenlenmesi ile gonadotropinlere karşı steroidojenik cevap artışı olmaktadır. Ayrıca, follikülün gelişimi için ovarian regülatörler, teka hücre tabakasından kan akımı desteği ile sağlanır. Östrojen biyosentezi için aromatize olabilen androjen üretimi teka hücre tabakasında gerçekleşir¹⁴.

6. Granüloza Hücre Differensiyasyonu

Preantral follikül aşamasında iken oositler, henüz farklanmamış granüloza hücreleri ile sarılırlar. Antrum denilen içi sıvı dolu boşluk oluşumu ile birlikte, granüloza hücreleri, anatomik ve fonksiyonel olarak farklı iki tip hücre hattına ayrılırlar. Mural granüloza hücreleri (MGH), follikül duvarı boyunca yerleşir ve steroidojenik aktiviteye sahiptir; kümülüs hücreleri (KH) ise, oosit ile oluklu tip bağlantılar ile ilişkide olan ve transzonal uzantılara sahip, kümülüs-oosit kompleksi (KOK) yapısını oluşturan hücrelerdir. GDF-9 ve BMP-15 faktörleri, MGH / KH differensiyasyonunda merkezi regülatörlerdir. Oogenezi regüle eden, granüloza hücrelerinin differensiyasyonu ve kritik fonksiyonlarını kontrol eden, ovulasyon oranı ve dolayısıyla üretkenliği belirleyen asıl faktör olan oosit, aynı zamanda, MGH ve KH'lerinin DNA sentezi ve hücresel proliferasyonunun da stimülatörü olup gelişimi ilerletirken, kümülüs hücrelerinin ölümünü engellemektedirler. Follikül içerisinde oosit çıkarılması sonucu kümülüs hücrelerinde apoptoz artışı görülmüş ve bu durum, bu hücrelerin oositten salgılanan faktörlere maruz bırakıldığında geri döndürülebilmiştir¹¹.

Oosit ve kümülüs hücreleri arasındaki sinyalizasyonda TGF β süperailisi ve SMAD intraselüler kaskad aktivasyonu merkezi rol oynamaktadır.

Granüloza ve kümülüs hücreleri, TGF β süperailisi reseptörleri ve hücrelerarası sinyal iletim molekülleri (SMAD) eksprese ederler. Ligand tarafından uyarılan gen transkripsiyonu, reseptör aracılığıyla uyarılan SMAD'lar ve reseptörden bağımsız co-SMAD olan SMAD4'ün heterodimerik kompleksi ile düzenlenmektedir. Oositten salgılanan faktörler ile uyumlu BMP-II reseptörü (BMPIIR) ve aktivin reseptör-benzeri kinaz 5 (ALK5)'e GDF-9'un bağlanması sonucu ALK5 aktivasyonu olmakta ve sonuçta SMAD2/3 fosforilasyonu gerçekleşmektedir. SMAD2/3 ve SMAD4 kompleksi, nükleusa giderek hedef genlerin ekspresyonunu sağlamaktadırlar. Bu sayede preantral follikülün büyümesi, kümülüs genişlemesi ve progesteron üretilmesinin baskılanması uyarılmaktadır. BMP-15 ve BMP-6'nın BMPIIR ve ALK6'ya bağlanması sonucu ise ALK6 aktivasyonu ve SMAD1/5/8 fosforilasyonu gerçekleşmektedir. SMAD1/5/8 ve SMAD4 kompleksinin nükleusta hedef genlerin ekspresyonuna katılması sonucu granüloza hücrelerinde mitoz bölünme artışı, preantral follikül büyümesinin ve glikolizin uyarılması gerçekleşir. Oksijen artışı sağlayarak hipoksiyi engelleyen antrum sayesinde granüloza hücreleri glukozu glikoliz yolu ile metabolize etmektedirler¹¹.

7. Kümülüs Genişlemesi

Kümülüs genişlemesinin başlaması iki sinyalizasyona bağlıdır. Bunlardan ilki, gonadotropinler veya epidermal büyüme faktörü (EGF)-benzeri peptidler ile uyarım; diğeri ise oositten salgılanan parakrin faktörlerdir. Oositten salgılanarak kümülüs ekspansiyonunu uyarın faktörler, kümülüs hücrelerinin gonadotropin / EGF sinyallere cevap vererek ekstraselüler matriks moleküllerini sentezlemelerini sağlarlar¹¹. Follikül oluşumu ve olgunlaşması için yapısal desteklik sağlamanın yanında ovaryum içinde parakrin ve endokrin sinyaller için bir depo olan ekstraselüler matriks, bu sinyallerin hücrelere giriş çıkışının düzenlenmesinde rol oynamaktadır. Ayrıca granüloza hücrelerinin yaşamları ve proliferasyonu için önemlidir. Bu sayede follikülün büyümesi, olgunlaşması ve fonksiyon görmesi için gereken hücrelerarası sinyalizasyonu sağlama yolu ile follikülün kaderine etki etmektedir¹⁶. LH etkisi

ile musifikasyon ve ekspansiyon, ovulasyon ve sonuçta fertilité için gereklidir ve bu komponentlerin sentezindeki hata sterilite ile sonuçlanmaktadır¹¹.

8. Nüklear Maturasyon

Büyüyen follükülün follüküler sıvısı incelendiğinde, steroidler ve büyüme faktörleri (estradiol ve insülin-benzeri büyüme faktörü-I) içerdiği görülmektedir. İnsan oositleri östrojen reseptör, insülin-benzeri büyüme faktörü-I (IGF-I), IGF-II ve IGF-I reseptör mRNA içermekle birlikte gelişimin preantral aşamasındaki oositlerin epidermal büyüme faktörü (EGF) ve EGF reseptörü eksprese ettiği de görülmektedir. Oosit-kümüls komplekslerinin EGF ve IGF-I varlığında kültürü sonucunda, immatür oositlerin nüklear maturasyonun arttığı rapor edilmiştir¹⁰.

Granüloza hücreleri tarafından üretilen ve oluklu bağlantılar aracılığı ile oosite iletilen ikinci mesajcı siklik adenozin monofosfat (cAMP)'ın, oositin mayotik duraklamada beklemesinde rolü olduğu ve bu etkiyi nüklear maturasyonun başlamasından sorumlu regülatör protein M-faz ilerletici faktör (MPF)'nin fosforilasyonu ile sağladığı düşünülmektedir. cAMP konsantrasyonunun yüksek olması, mayozun devam etmesini inhibe etmektedir. Bir regülatör komponent olan siklin B ve katalitik bir alt ünite olan p34^{cdc2}, MPF'nin iki alt ünitesidir ve MPF, cAMP'nin p34^{cdc2}'yi fosforile etmesi nedeni ile inaktif durumdadır. Ovulasyon öncesinde LH uyarısı, oosit ve etrafındaki kümülüs hücreleri arasındaki oluklu bağlantıların yapısında değişikliğe neden olmakta ve bu sebeple oosit içindeki cAMP seviyesi düşmektedir. cAMP düşüşü ve cdc25-fozfatazin defosforilasyonunu ve MPF'nin aktivasyonunu düzenlemesi ile MPF aktivitesi hızla artmaya başlar ki bu sayede nüklear kılıfın yıkımı ve kromozom kondansasyonu gerçekleşmektedir. Ayrıca, MPF aktivitesinin düzenlenmesinde c-mos'un da etkisinin olduğu kabul edilmektedir. Ovulasyondan önce oosit, son olgunlaşma aşamalarına girerek birinci mayoz bölünmesini tamamlar ve birinci polar cisimciğini atar. İkinci mayoz bölünme başlar ancak metafazda duraklar. Ve oosit sperm tarafından fertilize olana dek bu aşamada kalır¹⁴. MPF,

kromozomların mayotik iğ üzerinde ekvatoriyal düzlemde dizildiği evre olan 1. mayozun metafazı süresince yüksek kalır. Anafaz ve telofazda yeniden düşer, ancak 2. mayozun metafazında tekrar artar¹⁰.

9. Antral Follikül ve Lüteinizasyon

Folliküler gelişimde antrum oluşması, intrafolliküler regülasyondan ekstraovariyan regülasyona geçişi işaret etmektedir. Gonadotropinlere duyarlı preantral aşamadan erken antral evreye geçişi, gonadotropinlere bağımlı erken antral evreden itibaren olan folliküler gelişim aşamaları takip etmektedir. Erken antral evreye geçiş aynı zamanda follikülün apoptozise uğrayıp uğramayacağını yani follikülün kaderinin belirlendiği aşamadır. GDF-9, bu aşamada granüloza hücrelerinin apoptozunu ve folliküler atreziyi önlemekte, ayrıca desteklediği teka hücrelerinden salgılanan tekal faktörler de, granüloza hücrelerinin apoptozunu baskılamaktadır. Apoptoz, folliküler gelişimin her aşamasında olabilir ancak insanlarda atreatojenik sinyallere en duyarlı evre geçiş evresi olarak kabul edilmektedir^{1,14}.

Kadınlarda hipotalamustan üretilip salgılanan gonadotropin salgılatıcı hormon (GnRH), hipofizden follikül stimüle edici hormon (FSH) ve lüteinizan hormon (LH) adlı heterodimerik glikoprotein hormonların salınımını uyarmaktadır. FSH, lokal olarak üretilen östrodiol ile birlikte folliküler maturasyonu uyarmaktadır. FSH'ın, granüloza hücreleri tarafından eksprese edilen G-protein eşlikli FSH reseptörü ile bağlanması sonucu adenilil siklaz aktive olmakta ve bu olay, cAMP artışı ve protein kinaz A aktivasyonu ile sonuçlanmaktadır. FSH uyarısı ve östrodiol birlikte, sitokrom P450 aromataz, inhibinin α ve β alt üniteleri ve LH reseptör ekspresyonlarını aktive etmektedir. Tonik LH konsantrasyonları, teka hücrelerinden maksimum androjen üretimini uyandır. Aktivin ve inhibin peptid hormonları ise, hipofizde FSH üretimi ve salınımını uyaran ve inhibe eden geri bildirim mekanizmalarını oluşturmaktadır⁹. Oositler, granüloza hücrelerinin inhibin-aktivin-follistatin sisteminin regülasyonunda da görevlidir. Mural granüloza hücrelerinin oositler ile kültürü sonucu inhibin B artmaktadır. Ayrıca FSH ve IGF ile uyarılmış

inhibin A, aktivin A ve follistatinin üretimini ise antagonize etmektedir. Bunlar, oosit seleksiyonu ve büyümesinde görevlidir¹¹.

Preovulatuvar follikül, hipofizden salgılanan LH'a cevap olarak oositi ovüle eder ve geriye kalan yapıda fonksiyonel ve morfolojik birtakım olaylar gerçekleşir. Granüloza hücreleri, plasenta gelişimine kadar gebeliği sürdürmek için gerekli progesteron üreten luteal hücelere farklılaşmaktadırlar. Ovulasyondan önce ise oosit, folliküler lüteinizasyonu engellemektedir. Kümüls hücreleri, aynı folliküldeki MGH'lere göre çok düşük oranda steroidojenik aktiviteye (progesteron üretimi) sahiptir. Kümüls-oosit kompleksi içerisinde oositin çıkarılması sonrasında kümülüs hücelerinde progesteron üretiminin belirgin şekilde arttığı gözlenmiştir^{11,16}.

Nitrik oksit (NO), ovaryum, uterus, ovidukt, plasenta, serviks, vajina ve beynin üreme ile ilgili bölümlerinde sentezlenmektedir. NO molekülü, üremenin hormonal düzenlenmesi, gebeliğin şekillenmesi ve devamı, doğumun gerçekleşmesi ve ovaryum fonksiyonlarının yerine getirilmesinde fizyolojik role sahiptir. Ovaryumda NO/nitrik oksit sentaz (NOS) enzimleri sistemi, follikülogenez, ovulasyon, oosit maturasyonu ve steroid sentezi gibi ovaryum fonksiyonlarının gerçekleşmesinde rol oynamaktadır¹⁷.

Kaynaklar

1. Elvin JA, Matzuk MM. Mouse models of ovarian failure. *Reviews of Reproduction*. 1998; 3: 183-195.
2. Eppig JJ, Wigglesworth, Pendola FL. The mammalian oocyte orchestrates the rate of ovarian follicular development. *PNAS*. 2002; 99(5): 2890- 2894.
3. Ackert CL, Gittens JEI, O'Brein MJ et al. Intercellular communication via connexin43 gap junctions is required for ovarian folliculogenesis in the mouse. *Developmental Biology*. 2001; 233: 258-270.
4. Simon AM, Goodenough DA, Li E et al. Female fertility in mice lacking connexin 37. *Nature*. 1997; 385: 525-529.
5. McNatty KP, Fidler AE, Juengel JL et al. Growth and paracrine factors regulating follicular formation and cellular function. *Molecular and Cellular Endocrinology*. 2000; 163: 11-20.
6. Larsen WJ. *Human Embrology*. Singapur: Churchill Livingstone Inc; 1993.

7. Matzuk MM, Lamb DJ. Genetic dissection of mammalian fertility pathways. *Nature Medicine*. 2002; 8(S1): 33-40.
8. Soyal SM, Amleh A, Dean J. FIG α , a germ cell-specific transcription factor required for ovarian follicle formation. *Development*. 2000; 127: 4645-4654.
9. Carlsson IB, Scott JE, Visser JA et al. Anti-Müllerian hormone inhibits initiation of growth of human primordial ovarian follicles in vitro. *Human Reproduction*. 2006; 21(9): 2223-2227.
10. Heikinheimo O, Gibbons WE. The molecular mechanisms of oocyte maturation and early embryonic development are unveiling new insights into reproductive medicine. *Molecular Human Reproduction*. 1998; 4(8): 745-756.
11. Gilchrist RB, Lane M, Thompson JG. Oocyte-secreted factors: regulators of cumulus cell function and oocyte quality. *Human Reproduction Update*. 2008; 14(2): 1559-177.
12. Yan C, Wang P, DeMayo J et al. Synergistic roles of bone morphogenetic protein 15 and growth differentiation factor 9 in ovarian function. *Molecular Endocrinology*. 2009; 15(6): 854-866.
13. Elvin JA, Yan C, Matzuk MM. Oocyte-expressed TGF- β superfamily members in female fertility. *Molecular and Cellular Endocrinology*. 2000; 159: 1-5.
14. Orisaka M, Tajima K, Tsang BK et al. Oocyte-granulosa-theca cell interactions during preantral follicular development. *Journal of Ovarian Research*. 2009; 2:9.
15. Huang CTF, Weitsman SR, Dykes BN et al. Stem cell factor and insulin-like growth factor-I stimulate luteinizing hormone-independent differentiation of rat ovarian theca cells. *Biology Of Reproduction*. 2001; 64: 451-456.
16. Woodruff TK, Shea LD. The role of the extracellular matrix in ovarian follicle development. *Reproductive Sciences*. 2007; 14(8S): 6-10.
17. Çelik HA, Bülbül A. Nirtik oksitin dişi üreme sistemi üzerine etkileri. *Erciyes Üniv. Vet. Fak. Derg* 1. 2004; 2: 155-160.

Yazışma Adresi

Arş. Gör. İrem MATUR
Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi
Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı
Balcalı / ADANA

Tel: 0 322 338 60 60 / 3493 – 0 533 311 93 53
E-mail: iremmatur@gmail.com