

REVIEW ARTICLE / DERLEME

EMBRYO İMPLANTASYONUNUN MOLEKÜLER MEKANİZMASI
MOLECULAR MECHANISM OF EMBRIONIC IMPLANTATION

Embriyo İmplantasyonunun Moleküler Mekanizması Molecular Mechanism Of
Embrionic Implantation

Miyase Erdoğan¹, Elvan Şahin¹, Seher Dinçel²

¹Sakarya Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Sakarya
² Sakarya Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı,
Sakarya

Corresponding Author: Miyase ERDOĞAN Sakarya Üniversitesi, Tıp Fakültesi Dekanlık
Binası, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Korucuk Kampüs 54290
Adapazarı/SAKARYA Tel: +905535751185 Email: miyasee@sakarya.edu.tr

ORCID

Miyase Erdoğan, <https://orcid.org/0000-0002-3864-6830>

Elvan Şahin, <https://orcid.org/0000-0001-8585-9903>

Seher Dinçel <https://orcid.org/0000-0001-8799-5204>

Geliş Tarihi / Received: 5.8.2019

Kabul Tarihi / Accepted: 27.10.2019

ÖZET: İnsan embriyosunun uterus duvarına implantasyonu, blastosist ve reseptif endometriyum arasındaki karşılıklı etkileşim sonucu gerçekleşir. Fertilizasyondan yaklaşık 6-7 gün sonra implantasyon başlar. İmplantasyonun meydana gelebileceği uygun olgunluk düzeyine ulaşmak için, hem blastosist hem de uterus birbirine paralel olarak farklılaşmalıdır. Trofoektoderm (TE) ile uterus yüzeyini kaplayan lüminal epitel (LE) arasındaki etkileşim, implantasyonu başlatır. TE ve LE arasındaki ilk bağlantıda bir dizi hücre-yüzey

molekülü rol alır. Bu bileşenlerin rolüne dair kanıtlar tartışmalıdır. Biz de çalışmamızda implantasyon olayının tüm aşamalarında hangi sinyalizasyon ağlarının rol aldığını ve implantasyon esnasında meydana gelen olayların mekanizmalarını moleküler düzeyde literatür bilgisi ışığında derlemeyi amaçladık.

Anahtar kelimeler: Embriyonik implantasyon, uterus reseptivitesi, hücre yüzey molekülleri, endometriyal sitokinler

ABSTRACT: The implantation of the human embryo into the uterine wall results from the interaction between the blastocyst and the receptive endometrium. Approximately 6-7 days after fertilization, implantation begins. Both the blastocyst and the uterus must be differentiated in parallel to achieve the proper maturity at which implantation can occur. The interaction between trophoecdothem (TE) and the luminal epithelium (LE) covering the uterine surface initiates implantation. A number of cell-surface molecules

are involved in the initial connection between TE and LE. Evidence of the role of these components is controversial. In this study, we aimed to review which signaling networks are involved in all stages of implantation and the mechanisms of events occurring during implantation in the light of the literature.

Key words: Embryonic implantation, uterine receptivity, cell surface molecules, endometrial cytokines

GİRİŞ

Sağlıklı gebelik oluşumunda oosit, sperm ve embriyo kalitesi yanı sıra, endometriyal yatağın uygunluğu en önemli unsurlardandır. Endometriyumun sağlıklı embriyo gelişimine paralel senkronizasyonu ve implantasyona duyarlılaşması, gebeliğin gelişimi ve devam ettirilmesindeki en önemli konulardandır.¹ Bu duyarlılaşma ve senkronizasyon için de çeşitli moleküller tanımlanmıştır ve bunların ahenk içinde çalışmaları sinyal yolları sayesinde gerçekleşir. Bu ahenkli çalışma implantasyonun oluşması ve normal embriyonik gelişim için şarttır.²

Fertilizasyon sonrası embriyonik gelişimin birinci haftası

Fertilizasyon, ovulasyonla overden atılan sekonder oositin (23 kromozom, 2c veya 2n) Fallop tüpü içine alınmasından sonra burada haploid sayıda kromozom (23 kromozom, 1n) içeren sperm ile birleşmesi olayıdır. Spermin ooplazmaya penetrasyonunu takiben, oosit derhal 2. mayoz bölünmeyi tamamlayarak genetik materyalini yarıya (23 kromozom, 1n) indirir ve bunu, dişi ve erkek pronukleusların oluşumu izler. Bu şekilde oluşan zigotta, iki pronukleusun membranlarının erimesiyle kromozomlar birbiri arasına girer ve her kromozomun kendini replike etmesiyle “46, 4n” içeriğine ulaşılır. Böylece zigot mitoz bölünmeye hazır hale gelir.^{3,4}



Genellikle zigotun ilk mitotik bölünmesi fertilizasyondan sonraki 30.-33. saatlerde gerçekleşir. Zigotun mitoz bölünmelerine segmentasyon (cleavage) adı verilir. Mitoz bölünmeyle oluşan yeni hücrelere blastomer denir. Döllenmeden sonraki 3. günde çok sayıda blastomer içeren ve görüntü olarak duta benzetilen hücre topu morula olarak adlandırılır. Bu aşamaya kadar mitozla çoğalan hücrelerin sayısı arttığı halde hacimleri giderek küçülür. Böylece hücre topunun toplam hacmi sabit tutulur, en dıştan zona pellusida ile çevrelenmektedir. Fallop tüpündeki morula 3,5-4. günde uterus kavitesine ulaşır. Uterus boşluğundaki sıvı zona pellusidayı geçerek morulanın iç kısmındaki hücrelerin arasında birikmeye başlar ve iç hücre kitlesinin bir tarafa doğru yığılmasına yol açar. Bu şekliyle hücre topu; içerde blastosöl adı verilen bir boşluk, bir tarafa kümelenmiş iç hücre kitlesi ve bunları dıştan saran tek tabakalı dış hücre kitlesinden oluşan blastosist adı verilen yapıya dönüşmüş olur. Blastosist içinde biriken sıvı giderek artarken zona pellusidada incelme ortaya çıkar. Beşinci günde zona pellusidanın tamamen ortadan kalkmasıyla *hatching* olaylanır. Fertilizasyondan sonraki 6. günde uterus boşluğundaki blastosist, implantasyon için endometrium yüzeyine tutanmaya başlar. Eğer *hatching* gerçekleşemezse blastosist implante olamaz.³⁻⁷

Endometrium ve menstrüel siklus

Endometrium, uterusun lümenine bakan taraftaki mukoza tabakasıdır ve iki alt tabakadan oluşur. Bunlar; miyometrium (kas tabakası) üzerinde uzanan bazal tabaka (endometrium bazalis) ve uterus lümenine bakan fonksiyonel tabaka (endometrium fonksiyonalis)'dir. Doğurganlık sürecinde ortalama 28 günde bir tekrarlanan menstrüel siklus boyunca bazal tabakada belirgin bir değişiklik olmazken, fonksiyonel tabaka her defasında kalınlaşıp menstrüel kanamayla döküldükten sonra tekrar rejenere olur. Proliferatif faz, sekresyon fazı ve menstrüasyon fazı şeklinde gerçekleşen her siklusun sekresyon fazında, endometrium fonksiyonaliste belirgin iki tabakalanma görülür. Uterus lümenine açılan endometrial bezlerin ağzlarını ve bunların arasını dolduran yoğun stromal dokuyu içeren ince yüzeyel tabaka stratum kompaktumdur. Bunun altında ise çok sayıda kıvrıntılı bezleri ve bezlerin arasını dolduran interstisyel dokuyu içeren stratum spongiosum bulunur.³⁻⁷



Menstrüasyondan sonra endometrium, yalnızca 1-2 mm kalınlığındadır. Fonksiyonel tabakadaki glandüler ve stromal hücreler östrojenin etkisi altında, menstrüasyondan sonra hızla çoğalmaya başlar. Proliferatif faz olarak adlandırılan bu hızlı büyüme dönemi, overlerdeki folikül faza karşılık gelir. Bu faz ilerledikçe, bezler daha kıvrımlı hale gelir. Bezlerin lümenini döşeyen glandüler hücrelerde sitoplazmik glikojen birikimi gözlenir. Stroma daha yoğundur. Endometrium kalınlığı, lüteinleştirici hormon (LH) piki sırasında yaklaşık 12 mm'ye ulaşır ve bundan sonra belirgin bir artış göstermez.³⁻⁷

Endometrium, menstrüel siklusun ortasında gerçekleşen ovulasyondan sonra bir sekretuar dokuya dönüşür. Bu dönem, endometriyumun sekresyon fazı olarak tanımlanır ve overlerdeki lüteal faza denk gelir. Uterusun glandüler hücrelerinin bazal (subnükleer) kısmı, zengin glikojen içeriğinden dolayı rutin boyalarla boyanmadığından boşluklu (vakuoler) görünüm sergiler. Glikojen miktarı, progesteron uyarısına bağlı olarak artar ve tüm sitoplazmayı doldurulur, daha sonra da buradan bez lümenine verilir. Lüteal faz boyunca uterus bezleri giderek daha kıvrımlı ve stroma daha ödemli hale gelir. Ayrıca endometriyum besleyen spiral arterlerin sayısı ve kıvrımları da artar. Fertilizasyon olmazsa ya da blastosist implantasyonu gerçekleşmezse, trofoblastik hCG tarafından korpus luteum desteklenmez, progesteron düzeyi azalır ve endometrial dokuda iskemik nekroz başlar.³⁻⁷

Uterus reseptifitesi ve implantasyon penceresi

Embriyoların uterus duvarına implantasyonu üremenin temel basamaklarından biridir. İmplantasyonun amacı gelişecek olan canlının her türlü ihtiyacının anne kanından difüzyonla karşılanmasıdır. Uterusa yapışan blastosist başlangıçta uterus salgısı ile bir süre beslenir, buna histopoietik (ilkel uteroplasental) beslenme adı verilir. Daha sonra ise embriyo ile anne arasında oluşacak olan plasenta beslenme işini üstlenir, buna da hemopoietik beslenme adı verilir.^{4,6}

Blastosistin uterusu tutunması daima embriyonal kutuptan olur. Çünkü embriyoyu kuşatan trofoblastlar (polar trofoblast) farklılaşarak içte sitotroblast, dışta sinsityotroblast adı verilen iki tabakalı hale dönüşür. Sinsityotroblast tabakasından salgılanan proteolitik enzimlerle uterus mukozası eritilerek blastosistin gömülmesi (nidasyon) gerçekleşir. Uterus



endometriyumu, sadece “implantasyon penceresi” olarak bilinen kısa bir süre içinde blastosistin implantasyonu için reseptiftir. Bu süre zarfında endometriyumda, epitelyal hücrelerde pinopodların oluşmasının yanı sıra, adheziv moleküllerde ve sitokinlerdeki değişikliklerle birlikte seyreden, moleküler ve morfolojik düzeyde birçok karakteristik değişiklikler gözlenir.¹

İmplantasyon penceresi progesteron ve östrojenin endometriyum üzerinde programlanmış etkisinin sonucudur. İnsanda implantasyon penceresi LH’ın ani artışından 6 gün sonra başlar ve 10. günde tamamlanır.⁸ Bu dönem 28 günlük normal menstrüel siklusun 20 ile 24. günleri arasına denk gelen dönemdir. Uterusun embriyoyu kabul etme ve içine alma yeteneği (endometrial reseptivite); damarlı ve ödemli stromaya, salgı yapan endometrial bezlere, endometriyum yüzeyini döşeyen epitel hücrelerinin apikal yüzünde bulunan mikro çıkıntılara yani pinopodlara bağlıdır.^{4,9}

İmplantasyon penceresinin belirlenmesi önemlidir. Çünkü yalnızca bu süre boyunca eksprese edilen faktörler, uterus reseptivitesinin varsayılan belirleyicileri ya da fonksiyonel araçları olarak kabul edilmektedir. Birçok araştırmacı, uterus reseptivitesi ile endometriyumun yapısal özellikleri ve biyokimyasal belirteçler arasındaki olası ilişkiyi araştırmıştır. Endometriyal epitelde hem mikrovilluslu hem de silli hücreler bulunur. Endometrial matürasyon, yüzeydeki mikrovillus ve silyalı hücrelerin kaybının yanı sıra, endometriyumun apikal yüzeyinde pinopod olarak adlandırılan hücresel çıkıntılarının gelişimiyle ilişkilidir. Pinopodlar uterodromlar olarak da adlandırılır ve doğal menstrüel siklusun 19-21. günleri arasında oluşan endometriyal epitel hücrelerinin membranlarındaki mikro çıkıntıları olarak bilinirler. Pinopodların gelişiminde lüteal fazın dominant hormonu olan progesteron ve HOXA-10 gen transkripsiyonu sorumludur.¹² Pinopodlar insan embriyoları için önemli tutunma alanlarıdır. Özellikle pinopodların varlığı, peri-implantasyon endometriyumun önemli bir morfolojik işareti olarak düşünülmektedir. İmplantasyon penceresi döneminde uterodromlar, epitel hücrelerinin apikal yüzeylerinde büyür ve mikrovilluslar daha az düzenli ve kısa boylu görünüm alır.⁸



İmplantasyon sürecinde ovaryan steroidlere yanıt olarak gelişen uterusun duyarlılık; prereseptif, reseptif ve nonreseptif şeklinde 3 fazda programlanır. Blastosist, endometriyumun benzersiz morfolojik ve moleküler değişimiyle karakterize olan reseptif fazda implante olur.¹¹

Endometriyumda östrojen ve progesteron reseptörleri, menstrüel siklus boyunca programlı bir şekilde düzenlenir. Steroid reseptör sayısındaki bu düzenlenme, endometrial gelişim ve fonksiyondaki steroid etkisini kontrol etmek için ek mekanizma sağlar. Östrojen reseptörleri, epitel, stroma ve miyometriyum hücrelerinin nükleuslarında ekspresyon edilir ve proliferatif fazda en yüksek konsantrasyonda görülür. Ancak lüteal faz sırasında yükselen progesteron düzeyleri, östrojen reseptör ekspresyonunu azaltır. Endometriyum progesteron reseptörleri, artan östrojen düzeylerine yanıt olarak siklusun ortasında pik yapar. Ekspresyon stromal kompartmanda midlüteal faza kadar güçlü olsa da, endometriyumda progesteron reseptör ekspresyonu neredeyse yoktur.¹¹

Uterus epitelinin çoğalması ve farklılaşması östrojen, progesteron ve çeşitli büyüme faktörlerinin kontrolü altındadır. Östrojen etkisini, doğrudan östrojen reseptörleriyle etkileşerek ve insülin benzeri büyüme faktörü (IGF-I), TGF- α ve epidermal büyüme faktörü (EGF) gibi çeşitli büyüme faktörlerini indükleyerek oluşturur. Progesteronun endometrial büyüme etkisi, endometrial tabakalarda birbirinden farklıdır. Progesteron, endometriyal fonksiyonel tabakanın proliferatif fazdan sekretuar faza dönüşümü için oldukça önemlidir. Ayrıca progesteron, endometriyumun bazal tabakasında hücre çoğalmasını artırmaktadır.⁸

İmplantasyon penceresi boyunca endometriyumun hazırlanması tamamen maternal kaynaklıdır. Yetersiz uterusun reseptivite, implantasyon başarısızlığının yaklaşık üçte ikisinden sorumludur.¹²

İmplantasyonun aşamaları ve bu süreçte etkili olan moleküler faktörler

İmplantasyon süreci üç aşamada gerçekleşir. Bunlar; apozisyon, adezyon ve invazyondur.¹³ İnsan blastosisti yaklaşık 1-3 gün boyunca uterusun kavitede sekresyon içerisinde kalmaktadır. Uterusta implantasyon alanı genellikle midsagittal planda üst-arka duvardır. İmplantasyon, çoğunlukla morulanın uterusun kaviteye girişini takip eden 2-4 gün sonra, blastosistin uterusun



epitele pozisyon alması ile başlamaktadır. Blastosist endometriyumda implante olacağı alana doğru yönelir. Apozisyon, blastosistin embriyonik kutbuyla endometriyuma temas etmesidir.¹⁴

Ovulasyondan 6-7 gün sonra meydana gelen adezyon (yapışma) fazı, endometriyumda “implantasyon penceresi” olarak adlandırılan döneme denk gelir. Blastosistin trofoektodermi ile endometriyumun yüzey epiteli arasında doğrudan temas meydana gelir. Adezyon, blastosistin endometriyuma yapışma sürecidir.¹⁵

İstila (gömülme) fazı anlamına gelen invazyon fazında ise; embriyonik trofoblastlar, endometriyum epitelinin bazal membranını aşar ve alttaki stromaya geçerek uterus damarlarına ulaşır.¹⁷ Blastosist, gelişimin 11-12. gününde endometriyuma tamamen gömülmüş ve implantasyon bölgesindeki hasar, yüzey epiteli ile örtülmüş durumdadır.¹³ Plasenta oluşumu ile implantasyon tamamlanmış olur.¹⁵

İnsanda implantasyon süreci, oosit matürasyonunun erken dönemlerinde başlayan, embriyo ve endometriyum arasındaki kompleks bir ilişki ile kontrol edilmektedir. İmplantasyonda bazı olaylar inflamatuvar, bazıları da tümör invazyonundaki olaylara benzerlik gösterir. Ancak bunların aksine, implantasyon tamamen kontrollü ve çeşitli faktörlerle düzenlenen bir dizi olayları içermektedir.^{15,16}

İnsanlar ve fareler üzerinde yapılan moleküler düzeydeki çeşitli anatomik ve deneysel çalışmaların verileri sonucunda, imlantasyon sürecinde rol alabilecek birkaç adezyon molekülü tanımlanmıştır. Bunlar; alfa V ailesi, trofin, CD44, cad-11, H tipi I ve Lewis y oligosakaritleri ve heparan sülfattır.¹⁷

Endometriyum fonksiyonunda önemli rolü olan hücre adezyon molekülleri dört sınıfa ayrılır: integrinler, kaderinler (cadherins), selektin ve immunoglobulin süper ailesinin üyeleri. Herbiri, endometrial rejenerasyon ve embriyo implantasyonunu etkiler.^{16,17}

İntegrinler, ekstrasellüler matrikse hücre bağlanması, migrasyon, hücre bölünmesi ve apoptoz inhibisyonu olaylarında aracılık yapan, heterodimerik yapıda transmembran proteinleridir.¹⁸ Bir integrin molekülü, alfa ve beta olarak adlandırılan iki adet non-kovalent transmembran glikoprotein alt birimlerinden oluşur. İnsan integrin heterodimerleri 9 tip β alt birim ve 24 tip



α alt birimden oluşur. Kollajenler, fibronektin ve lamininler de dahil olmak üzere, çoğu hücre dışı matriks proteinini bağlamada rol alan başlıca reseptörler integrinlerdir. Bu yapılar hücre-matriks adezyon reseptör ailesini oluşturur. İntegrinler, hücrelerin ekstrasellüler matrikse olduğu gibi diğer hücrelere de bağlanmasına yardımcı olan hücre-hücre yapışma molekülleri görevi görür.¹⁹

İntegrinlerin adezyonundaki aksaklıklar, implantasyon başarısızlığına ve infertiliteye sebep olmaktadır. $\alpha\beta 3$ ve $\alpha 4\beta 1$ integrinler implantasyon penceresi sırasında endometriyumun lüminal epitelinde birlikte eksprese olurlar. Bu integrinlerin embriyo implantasyonunda rol aldıkları düşünülmektedir. $\alpha\beta 3$ integrinin yokluğu veya azlığı infertilite ile ilişkilidir. Birçok çalışmada integrinin uterus reseptivitesi ile ilişkili olduğu vurgulanmıştır. Fare ve tavşanlarda yapılan çalışmalarda $\alpha\beta 3$ integrinin blokajı sonucu implantasyon oranlarında önemli bir azalma olduğu gösterilmiştir.²⁰ Beta 1 integrinleri daha sonraki implantasyon ve yerleştirme aşamalarında önemlidir.¹⁷

Kaderinler ise hücrelerin çevreleriyle etkileşime girmelerini sağlayan diğer bir hücre adezyon molekülüdür. Kaderinler kalsiyum bağımlı olup, hücrelerin tümör metastazı, yara iyileşmesi ve doku lokalizasyonunda diğer hücrelerle iletişim kurmasına yardımcı olur. N-kaderin, P-kaderin, T-kaderin, V-kaderin ve E-kaderin olmak üzere 5 çeşit kaderin vardır.²¹ Hamileliğin erken döneminde intermediyer trofoblast tabakası, bazal plakaya sızar ve maternal-fetal dolaşımın kurulması için gereken fizyolojik bir işlem olan spiral arterlerin infiltrasyonunu gerçekleştirir. İmmun boyama çalışmaları, trofoblastın spiral arterleri infiltre etmesinin, E-kaderin ekspresyonunun down-regülasyonu ile ilişkili olduğunu göstermiştir.²²

Selektinler dolaşımdaki lökositler ile endotel arasındaki ilk etkileşime aracılık eden kalsiyum bağımlı Tip I transmembran glikoproteinleridir. Selektinler endotel hücrelerinde, lökositlerde ve trombositlerde bulunurlar ve karbonhidrat bağlayıcı moleküllerdir. Selektin ailesinin L-selektin, E-selektin ve P-selektin olarak tanımlanmış üç üyesi vardır. Bu üyeler benzer bir yapıya sahiptir.²³ İn vivo ve in vitro veriler, L-selektinin ve bağlayıcı ligandlarının başarılı bir implantasyonun ilk aşamasında rol aldığını göstermiştir. Ayrıca bu çalışmalar, uterin kavitede yüzen blastosistin endometriyuma adezyonunda ve sitotrofoblastların invazyonunda önemli rol oynadığını ortaya çıkarmıştır. P-selektin ve E-selektin ve ligandları arasındaki etkileşim,



trofoblastların spiral arteriyollere göçü için önemlidir. Klinik veriler, selektin ve ligandlarının değiştirilmiş ekspresyonunun anormal gebeliklere ve infertiliteye yol açtığını göstermiştir. Açıklanamayan infertilitesi olan kadınlarda sıkça kullanılan letrozol ve klomifen sitrat içeren ilaçların, L-selektinin ve diğer endometrial reseptivite markırlarının epitelyal ve stromal ekspresyonunu arttırabildiği gösterilmiştir.²⁴

Ig süper ailesinin üyeleri ise morfogenez sırasında birçok hücre tanıma olaylarını yönetir.²⁵ Ig süper ailesi üyelerinden ICAM-1 (hücreler arası yapışma molekülü-1) $\beta 2$ integrinleri için bir ligand olarak görev alır.²⁶ C-CAM, N-CAM, CD-146, ALCAM (CD166) ve basigin ise Ig süper ailesinin diğer üyeleridir.²⁷

Koryonik Gonadotropin (CG), embriyo tarafından salgılandığı bilinen en eski embriyonik ürünlerden biridir. CG / LH reseptörü (CG / LH-R) de endometriyumda ifade edilir. CG'nin, ana trofoblasttan kaynaklanan sinyal olarak, korpus luteumun progesteron salgılamaya devam etmesini sağlamanın yanı sıra, implantasyon penceresi sırasında uterus ortamını modüle ettiği bildirilmektedir. CG, tiroid stimüle edici hormonla (TSH) ve gonadotropinlerle (FSH, LH) aynı aileye ait bir glikoprotein hormonudur. CG endometriyumda ve trofoblast dokusunda peri-implantasyon döneminde önemli etkiler yapar. CG'nin farklılaşma, endokrin fonksiyonlar ve trofoblasttaki invaziv aktivitenin düzenlenmesinde rol oynadığı gösterilmiştir. CG infüzyonu, glandüler epitelde transkripsiyonel ve translasyon sonrası glikodelin modülasyonunda belirgin bir artışa neden olur. CG'nin stromal fibroblastlar üzerindeki birincil etkisi, alfa-düz kas aktin (α SMA) indüksiyonudur. Stromal hücre membranlarında bulunan ve ekstrasellüler matriks (ECM) proteinlerine bağlanmayı sağlayan integrinlerin, fibroblastlarda α SMA'nın indüksiyonunu sağladığı düşünülmektedir. İntegrinler ile ECM arasındaki etkileşim, glandüler epitelde hücre transformasyonu ve yüzey epitelinde pinopodların ortaya çıkmasına yol açan sinyal transdüksiyonu için kritik olan hücre iskeletindeki aktin değişikliklerini indükler.²⁸

Sinyalleşme, hücrelerden salınan eriyebilir moleküller yoluyla ortaya çıkabileceği gibi, membrana bağlı sinyal molekülleri yoluyla da gerçekleşebilir. Heparin bağlayıcı epidermal büyüme faktörü (HB-EGF), epidermal büyüme faktörü ailesinin üyelerinden biridir. Embriyo ile endometrium arasındaki adezyon sürecinde blastosisti saran heparan sülfata bağlanmış



olan HB-EGF, endometriyum yüzey epitelindeki kendi reseptörüne (HB-EGF R) bağlanır. HB-EGF foliküler gelişim, ovulasyon, implantasyon ve embriyo gelişiminde rol oynar. HG-EGF, blastosiste bağlanma zamanından 6-7 saat önce endometriyum epitelinin apikal yüzeyinde blastosiste komşu bölgede eksprese edilir.²⁹

Endometrial hücre yüzeyi moleküllerinden sorumlu MUC1 gen ekspresyonu luminal östrojen reseptörü(ERa) ve progesteron reseptörü(PR) sayılarıyla ilişkili bulunmuştur. MUC1 düzeyinde düşüşle lüminal ve glandüler epitelde düz kas miyozin II (SMMII) ekspresyonu ile yüzey epitelindeki pinopod benzeri yapıların görünümünde bir artış vardır.²⁸ İnfertilite olgularında MUC1 gibi anti-adeziv faktörlerin azaltılması, pinopodların yapışkanlıklarına katkı sağlayabilir.²⁹

Prostaglandinler (PG) implantasyon döneminde gözlemlenen karar verme ve lokalize endometriyal vasküler geçirgenliğin devamında rol oynayan biyoaktif lipit bileşimidir.³⁰ PG'ler vazoaaktif, mitojenik ve farklılaştırıcı özelliklere sahip olup, dişi üreme fonksiyonlarında rol oynamaktadır. COX-1 ve COX-2 şeklinde iki izoformda bulunan siklooksijenaz (COX) enzimi PG'lerin biyosentezinde hız sınırlayıcı olarak rol oynar.³¹ COX-2 erken implantasyon mekanizmaları için bir dizi sinyalleşme yolunun merkezindedir; PG ve prostasiklin (PGI-2) sentezinde görevlidir. PG sentezi için gerekli COX-2 ve fosfolipaz A2 enzimlerin yokluğu farelerde implantasyon başarısızlığına neden olur. COX-2 endometriyum yüzey epitelinde ve altta yatan stromal hücrelerde yalnızca blastosist bağlanma bölgesinde eksprese edilir.³⁰ İnsanlarda gebelik sırasında kullanılan non-steroid anti-enflamatuar ilaçlar, PG sentezini bloke ettiğinden düşük riskini önemli ölçüde arttırmaktadır. Ayrıca IVF çalışmalarında art arda implantasyon başarısızlığı olan kadınlarda bozulmuş endometrial PG sentezi gözlenmiştir. COX-2 aracılığıyla üretilen prostaglandin E2 (PGE2), implantasyon kararını başlatmak için gerekli olan en önemli PG'lerden biridir. COX-2 olmayan dişilerde, ovulasyon ve dölleme hataları ve implantasyonu destekleme yetersizliklerini de içine alan çoklu üreme başarısızlıklarına rastlanmaktadır.^{28,32}

Lösemi inhibitör faktör (LIF) embriyo implantasyon sürecinde görev alan bir glikoproteindir.³³ İnsan endometriyumu, LIF'i menstrüel döngüye bağlı bir şekilde eksprese (ifade) eder. En fazla ifade, döngünün 19 ile 25. günleri arasında, implantasyon zamanına



denk gelen dönemde gözlenir. Çeşitli sitokinler ve büyüme faktörleri, in vitro endometrial LIF ekspresyonunu indükler. İnsan blastosistlerinde LIF reseptörü, menstrüel döngü boyunca endometriyal dokunun evresine bağlı bir şekilde eksprese edilir. LIF trofoblast farklılaşma sürecini adeziv fenotipe doğru etkiler. LIF aynı zamanda Fallop tüpünün epitel hücreleri tarafından da ifade edilir ve salgılanır. LIF'in Fallop tüpü stromal hücre kültürlerinde enflamatuar sitokinler tarafından arttırılmış ekspresyonu, salpenjit ile Fallop tüpündeki ektopik implantasyonlar arasında bir bağlantı olduğunu göstermektedir. Ovulasyon boyunca foliküler sıvıda yükselen LIF seviyesi, LIF'in ovulasyon sürecinde, erken embriyonik gelişimde ve implantasyonda rol oynayabileceğini gösterir.³⁴

Ekspresyon ve gen hedefleme çalışmaları, IL-6 ailesinin bir sitokini olan LIF'in ve abdominal B benzeri bir homeobox geninin (Hoxa-10) farelerde implantasyon ve desidualizasyonda çok önemli olduğunu göstermiştir. Mutant LIF'i olan uterusda implantasyon başarısızlığı gösterilmiştir. LIF proteini uterus Msx1 ekspresyonu ile ilişkilidir. Uterusta bozulmuş Msx1 ekspresyonu, LIF proteininde aksaklığa neden olduğu için infertiliteye neden olur.³⁵

İnfertil kadınların çoğunda, endometriyal döngünün hem proliferatif hem de sekresyon aşamalarında LIF üretiminin düzensizliği gözlenir. Bu şekilde LIF sekresyonunun deregülasyonu, açıklanamayan infertilitenin ve tekrarlayan implantasyon başarısızlıklarının olası bir nedenidir.³⁶ Rekombinant insan LIF'i uygulaması, açıklanamayan infertilitesi olan kadınlarda implantasyon oranını iyileştirmeye yardımcı olabilir.³³

Hamilelik sırasında uterus epitelinden salgılanan heparan bağlayan epitelyal büyüme faktörü (HB-EGF) ve siklooksijenaz-2 (COX-2), plasenta oluşumu ve fetal gelişim için gerekli olan uterusdaki bir dizi morfolojik değişiklik sürecinde rol alır. Lipid mediatörü lizofosfatidik asit (LPA), uterus epitelindeki G-protein-bağlantılı reseptör (LPA3) boyunca etki gösterir ve desidualizasyonda rol oynar. LPA3'ün devreden çıkarılması veya gebe farelerde LPA üreten enzim olan ototaksin (ATX) inhibisyonu, embriyoların yakınında HB-EGF ve COX-2'nin down-regülasyonuna yol açar ve desidual reaksiyonları azaltır. Buna karşılık, LPA3'ün seçici farmakolojik aktivasyonu, HB-EGF ve COX-2'nin up-regülasyonuna neden olarak desidualizasyonu indükler. Embriyo-epitelyal sınırdaki ATX-LPA-LPA3 sinyali standart HB-EGF ve COX-2 yolları üzerinden desidualizasyonu indükler.³⁷ Bu nedenle,

kadınların bir LPA3 agonisti ile tedavisi, endometrial hücre büyümesini teşvik ederek ve endometriyum kalınlığını arttırarak gebelik oranını arttırabilir.³⁸

Platelet aktive edici faktör (PAF), erken embriyo için hayatta kalma faktörü olarak rol oynayan otokrin etki eden bir moleküldür. PAF sentezi fertilizasyondan hemen sonra başlar ve preimplantasyon aşaması boyunca devam eder. Embriyodan salınan PAF; trombosit aktivasyonu, oviduktal, endometriyal ve maternal immün fonksiyonlardaki değişiklikler dahil olmak üzere maternal fizyolojide bir dizi değişikliğe neden olur. PAF, bugüne kadar incelenen tüm memeli türlerinin embriyoları tarafından üretilir ve salınır. Yardımcı üreme teknikleri, bazı embriyoların PAF üretimini tehlikeye atar ve PAF reseptörünün ekspresyonunu geciktirir.³⁹ Nishi ve ark. yaptıkları bir çalışmada PAF'ın ve bir PAF antagonisti olan CV6209 molekülünün embriyo implantasyonundaki rolünü araştırmışlardır. Bu çalışmada fare embriyoları için endometriyum yokluğunda bir in vitro embriyo kültür sistemi kullanılmıştır. İki hücreli evredeki kültüre PAF'ın eklenmesi, in vitro embriyo implantasyon oranlarını arttırmıştır. Aynı şekilde, 4-8 hücreli ve morula aşamasındaki embriyo kültürlerine PAF ilavesi de implantasyon oranlarını arttırmıştır.⁴⁰ İn vitro kültür ortamının PAF ile takviyesi, embriyo gelişimini iyileştirir.³⁹ Buna karşılık, CV6209'un kültüre eklenmesi in vitro embriyo implantasyonu oranlarını azaltmıştır. CV6209'un ayrıca blastosist oluşum hızını da azalttığı kaydedilmiştir.⁴⁰ Roudebush ve ark. ise embriyo kültürlerinde PAF seviyelerinin ölçülerek gebelik olasılığının tahmin edilebileceğini ileri sürerek, Yardımla Üreme Teknikleri (YÜT) uygulamalarında transfer için en iyi embriyoları seçmek amacıyla PAF'ın etkinliğini belirlemek için PAF ölçümü yapabilen bir ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay) sistemi üzerine çalışma yapmaktadırlar ve böylece, bunu klinik çalışmalara entegre edip hangi embriyonun transfer edileceği konusunda embriyologlara yol göstermeyi amaçlamaktadırlar.⁴¹ Başka bir çalışmada ise dişi farelere PAF uygulamasının döllenme, in vitro gelişim ve implantasyon potansiyeli yüksek olan oositlerin üretilmesini sağladığı gösterilmiştir.⁴²

KAYNAKLAR

1. Ercan C. M., Ceyhan S.T. Endometriyal Reseptivitede Güncel Durum. TSRM Üreme sağlığı ve infertilite derneği. [Internet] Available from:

<https://www.tsrn.org.tr/pro/egitim/tsrm-derlemeler/endometriyal-reseptivitede-guncel-durum>

2. Lessey BA, Killam AP, Metzger DA, Haney AF, Greene GL, McCarty KS Jr. Immunohistochemical analysis of

- human uterine estrogen and progesterone receptors throughout the menstrual cycle. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 1988;67(2): 334-340.
3. Gedikli S, Özbek E, Demirci T. Fertilizasyonun Moleküler Temeli. *Van Tıp Dergisi*. 2013;20(4): 294-301.
 4. Sadler TW. *Langman's Medical Embryology*. 12th ed., Lippincott Williams & Wilkins. 2012, p. 235-259.
 5. Günalp S, Tuncer S. *Kadın Hastalıkları ve Doğum Tanı ve Tedavi*. Pelikan Yayınları. 2004.
 6. Hoffman BL, Schorge JO, Schaffer JI, Halvorson LM, Bradshaw K, Cunningham FG. *Williams Jinekoloji*. Çeviri editörleri: Gökhan Yıldırım, Gonca Yetkin Yıldırım, İbrahim Polat. 2. Baskı. Nobel Tıp Kitabevleri. 2015.
 7. Atasü T, Şahmay S. *Jinekoloji/Kadın hastalıkları*. Ünlü Dil Hizmetleri Yayıncılık. 1996;235-500.
 8. Ross MH, Pawlina W. *Histoloji Konu Anlatımı ve Atlas*. Çeviri editörü: Barış Baykal. 6. baskı. Palme yayıncılık. 2013; sayfa: 484-984.
 9. Kierszenbaum A.L. *Histoloji ve Hücre Biyolojisi-Patolojiye Giriş*. Palme Yayıncılık. 2006; 232-605.
 10. Kimber SJ. Molecular interactions at the maternal-embryonic interface during the early phase of implantation. *Seminars Reproduction Medicine*. 2000;18(3): 237-53.
 11. Emiliani S, Delbaero A, Devreker F, Englert Y. Embryo-maternal interactive factors regulating the implantation process: implications in assisted reproductive. *Reproductive biomedicine online*. 2005;10(4): 527-540.
 12. De Los Santos MJ, Mercader A, Galán A, Albert C, Romero JL, Pellicer A. Implantation rates after two, three or five days of embryo culture. *Placenta*. 2003;24: 13-19.
 13. Sharma A, Kumar P. Understanding implantation window, a crucial phenomenon. *Journal of Human Reproductive Sciences*. 2012;5(1): 2-6.
 14. Çolgar U. *Reproduktif Endokrinoloji ve İnfertilite*. İstanbul Medikal Yayıncılık, 2006;28-36.
 15. Gardner DK, Weissman A, Howles CM, Shoham Z. *Yardımla Üreme Teknikleri Temel Kitabı*. Nobel Tıp Kitabevleri, 2010;413-443.
 16. Aplin JD, Ruane PT. Embryo-epithelium interactions during implantation at a glance. *Journal of Cell Science*. 2017;130(1): 15-22.
 17. Aplin JD. Adhesion molecules in implantation. *Reviews of Reproduction*. 1997;2(2): 84-93.
 18. Clemmons, DR, Maile LA. Interaction between insulin-like growth factor-I receptor and $\alpha\beta 3$ integrin linked signaling pathways: cellular responses to changes in multiple signaling inputs. *Molecular Endocrinology*. 2005;19(1): 1-11.
 19. Alberts B, Johnson A, Lewis J, et al. *Molecular Biology of the Cell*. 4th edition. New York. Garland Science. 2002.
 20. Mangale SS, Reddy KVR. Expression pattern of integrins and their ligands in mouse fetomaternal tissues during pregnancy. *Reproduction, Fertility and Development*. 2007;19(3), 452-460.
 21. Cruse JM, Lewis RE, Wang H. *Molecules, cells and tissues of immunity*. Immunology Guidebook. Elsevier Academic Press, 1st ed, 2004.
 22. Shih IeM, Hsu MY, Oldt RJ 3rd, Herlyn M, Gearhart JD, Kurman RJ. The Role of E-cadherin in the Motility and Invasion of Implantation Site Intermediate Trophoblast. *Placenta*. 2002;23(10): 706-715.
 23. Ley K. The role of selectins in inflammation and disease. *Trends in Molecular Medicine*. 2003;9(6): 263-268.
 24. Ganesh A, Chauhan N, Das S, Chakravarty B, Chaudhury K. Endometrial receptivity markers in

- infertile women stimulated with letrozole compared with clomiphene citrate and natural cycles. *System Biology Reproductive Medicine* . 2015;60(2): 105–111.
25. Cook-Miles JM. VCAM-1 signals during lymphocyte migration: Role of reactive oxygen species. *Molecular Immunology*. 2002; 39: 499-508.
26. Stolpe A, Saag PT. Intercellular adhesion molecule-1. *Journal of Molecular Medicine*. 1996;74:13–33.
27. Singh H, Aplin JD. Adhesion molecules in endometrial epithelium: tissue integrity and embryo implantation. *Journal of Anatomy*. 2009; 215(1): 3–13.
28. Cameo P, Srisuparp S, Strakova Z, Fazlaeabas A. Chorionic gonadotropin and uterine dialogue in the primate. *Reproductive Biology and Endocrinology*. 2004;2(50).
29. Fritz MA, Speroff L. *Klinik Jinekolojik Endokrinoloji ve İnfertilite*. Güneş Tıp Kitabevleri. 8. baskı. 2013.
30. Chakraborty I, Das SK, Wang J, Dey SK. Developmental expression of the cyclo-oxygenase-1 and cyclo-oxygenase-2 genes in the peri-implantation mouse uterus and their differential regulation by the blastocyst and ovarian steroids. *Journal of Molecular Endocrinology*. 1996;16(2): 107-122.
31. Smith WL, Dewitt DL. Prostaglandin endoperoxide H synthases-1 and -2. *Advances in Immunology*. 1996;62: 167–215.
32. Paulesu L, Letta F, Petraglia F. Feto-maternal biology and ethics of human society. *Reproductive Biology and Endocrinology*. 2005;3(55).
33. Aghajanova L. Leukemia inhibitory factor and human embryo implantation. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2004;1034: 176-183.
34. Şentürk LM, Arıcı A. Leukemia inhibitory factor in human reproduction. *American Journal of Reproductive Immunology*. 1998;39(2): 144-151.
35. Daikoku T, Song H, Guo Y, Riesewijk A, Mosselman S, Das SK, et al.. Uterine Msx-1 and Wnt4 Signaling Becomes Aberrant in Mice with the Loss of Leukemia Inhibitory Factor or Hoxa-10: Evidence for a Novel Cytokine-Homeobox-Wnt Signaling in Implantation. *Molecular Endocrinology*. 2004;18(5): 1238-1250.
36. Hambartsoumian E. Endometrial leukemia inhibitory factor (LIF) as a possible cause of unexplained infertility and multiple failures of implantation. *American Journal of Reproductive Immunology*. 1998;39(2):137-143.
37. Aikawa S, Kano K, Inoue A, Wang J, Saigusa D, Nagamatsu T, et al. Autotaxin-lysophosphatidic acid-LPA₃ signaling at the embryo-epithelial boundary controls decidualization pathways. *The EMBO Journal*. 2017;36(14):2146-2160.
38. Hama K, Aoki J, Bandoh K, Inoue A, Endo T, Amano T, et al. Lysophosphatidic receptor, LPA₃, is positively and negatively regulated by progesterone and estrogen in the mouse uterus. *Life Sciences*. 2006;79: 1736–1740.
39. O’Neill C. The role of paf in embryo physiology. *Human Reproduction Update*. 2005;11(3): 215–228.
40. Nishi O, Tominaga T, Goto Y, Hayashi K, Mori T. Effects of Platelet Activating Factor on Mouse Embryo Implantation in Vitro. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*, Vol. 12, No. 5, 1995;12(5): 330-334.
41. Roudebush WE, Wininger JD, Jones AE, Wright G, Toledo AA, Kort HI, et al. Embryonic platelet-activating factor: an indicator of embryo viability. *Human Reproduction*. 2002;17(5): 1306-1310.
42. Fukuda AI, Breuel KF. Effect of platelet activating factor on embryonic development and implantation in the



Mouse. Human Reproduction.
1996;11(12): 2746-2749.