

İmplantasyon ve moleküler etkileşimler

*Alpaslan Gökçimen, **Safiye Temel

*Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embiyoloji AD, Isparta

**Süleyman Demirel Üniversitesi Isparta Sağlık Yüksekokulu, Isparta

Özet

İmplantasyon genetik olarak farklı olan embriyonik ve maternal dokular arasında gelişen başarılı bir kaynaşmadır. Gelişen embriyodaki trofoblast hücreleri, anneden fetüse oksijen ve besinlerin taşınması yanında, implantasyon süreci esnasında blastokistin endometriyuma tutunmasından başlayarak gebeliğin başından sonuna kadar diğer işlevlerin yerine getirilmesinde de görevli hücrelerdir. Gebeliğin devamını sağlayan bu işlevler; uterus dokusuna düzenli invazyon, çoğalma, farklılaşma ve immuno-endokrin fonksiyonlardır. Bu makalede, implantasyon başlamadan önce endometriyum ile blastokist arasındaki sinyalleşme olayları ve blastokistin endometriyuma tutunma ve invazyonunda rol oynayan adezyon moleküllerinden bahsedeceğiz. İmplantasyondaki bazı olaylar inflamatuvar, bazıları da tümör invazyonundaki olaylara benzerlik göstermektedir. Fakat bunların tersine implantasyon tamamen kontrollü ve çeşitli faktörlerle düzenlenen bir dizi olayları içermektedir. İmplantasyon döneminde uterus endometriyum hücrelerinde apoptozis tespit edilmiştir. İmplantasyon penceresi döneminde gerçekleşen apoptozisin hem embriyonun endometriyum içine invazyonunda, hem de embriyoya maternal kan akımının sağlanmasında gerekli olduğu tespit edilmiştir. Hem implantasyonu, hem de apoptozisi düzenleyen faktörlere baktığımızda, bu faktörlerin her iki olayda da ortak olması nedeniyle, her iki olayda etkili oldukları ve iyi bir embriyo gelişimini kontrollü bir şekilde sağladıkları görülmektedir.

Anahtar Kelimeler: İmplantasyon, adezyon molekülleri, blastosist, apoptozis.

Abstract

Implantation and Molecular Interactions

Implantation is a successful fusion between embryonic and maternal tissues which are genetically different. Trophoblast cells of the developing embryo are employed not only for transporting oxygen and nutrients from the mother to the fetus but also for their array of other functions throughout the pregnancy beginning from the attachment of the blastocyst to the endometrium during the process of implantation. The functions which subsequently maintain the pregnancy are; regular invasion to the uterine tissue, proliferation, differentiation and immuno-endocrine functions. In this article, we mention about the signalling events between endometrium and blastocyst before the beginning of implantation and the adhesion molecules which have a role in the attachment and invasion of blastocyst to the endometrium. Whereas some of the events in implantation are similar with inflamatuvar, some of them are similar with events in tumour invasion. However, contrary to these events, implantation contains a serial of completely controlled events which are regulated by various factors. Apoptosis was found on uterine epithelial cells in implantation period. It is determined that apoptosis which take place in implantation window space is required both in invasion of embryo into the endometrium and in maternal blood flow to embryo. When we have a look at the factors which regulate both implantation and apoptosis, due to the fact that these factors are common in both events, it is seen that they have an influence in both events and they ensure a good embryo development in a controlled way.

Keywords: Implantation, adhesion molecules, blastocyst, apoptosis.

Giriş

Memelilerde üreme, dişi üreme organında dölleme ve üreme bölgesi içerisinde geçen erken embriyonik gelişme ile karakterize edilmektedir. Bunu konseptusun uterus duvarındaki implantasyonu izlemektedir. İmplantasyon, blastokist dış tabakası trofoektoderm (TE)'inin, uterusun luminal epitel (LE)'i ile etkileşime girdiği genel bir birliktelik safhasını gerektirmektedir (1-3). Çeşitli deneysel çalışmalarda, endometriyumun

implantasyon için hazırlandığı gösterilmiş ve bu dönem implantasyonun pencere dönemi olarak isimlendirilmiştir. Endometriyumda çeşitli yapısal, hücrel ve moleküler olaylar implantasyon penceresi ile kontrol edilir ve böylece endometriyal kabul edişi sağlayan gerekli elemanlar ortaya çıkabilir. Bunlar, adezyon molekülleri, sitokinler, pinopodların oluşumu ve diğer endometriyal proteinlerin miktarlarında değişikliklerdir (2-5). İmplantasyonu takiben, plasentasyon olarak da isimlendirilen evrede, plasenta oluşumu ile implantasyon olayı tamamlanır ve gebelik döneminin sonuna kadar embriyonu destekleyecek olan yapı kurulmuş olur (4).

Yazışma Adresi:

Doç. Dr. Alpaslan GÖKÇİMEN
SDÜ Tıp Fakültesi Histoloji ve Embiyoloji A.D, Isparta
Tel: (0246) 211 32 90
E-posta: gokcimen@med.sdu.edu.tr

İmplantasyonun düzenli hücrel ve moleküler olaylarını açıklayabilmek için çeşitli dönemler tanımlanmıştır:

Dönem 1: Metafaz II oosit'in fertilizasyonu ile başlar.

Dönem 2: Zigotun bölünme evresinin başlangıcını gösterir.

Dönem 3: Morula, uterus boşluğuna girer ve kısa zaman sonra blastokist oluşur. Bu nedenle bu dönem blastokist implantasyonunda Faz I olarak isimlendirilir. Blastokist endometriyal kavite içinde serbesttir ve henüz yüzey epiteli ile temas etmemiştir. İnsanlarda morulanın uterusu ulaşması ovulasyon/fertilizasyondan yaklaşık 72-96 saat (3-4. gün) sonra olmaktadır. Zona pellisuda 5. günde (yaklaşık ovulasyon/fertilizasyondan 110-120 saat sonra) erimeye başlar.

Dönem 4: Blastokist yüzey epiteline yapışır ve daha sonra epitele ve hemen ardından stromaya penetre olur. Bu dönem blastokist implantasyonunda Faz II olarak isimlendirilir.

Dönem 5-9: İmplantasyonun en belirgin özelliği olan plasentasyon olur. Bu dönem Faz III olarak isimlendirilir (4).

1.1. FAZ 1: BLASTOSİSTİN KAVİTE İÇİNDE SERBEST OLDUĞU DÖNEMDİR.

İmplantasyon, blastokist ile endometriyumun birbirini etkilemesi sonucunda olduğundan, bu olay embriyo ile endometriyum arasında olan ilişkinin hemen arkasından başlamaktadır. Blastokist olgunlaşır ve zona pellisuda'sını kaybeder. Bu dönem, ovulasyondan sonraki 5. günde, penetrasyondan 1-2 gün önce olaylanır (Resim 1). Zona pellisudanın kaybindan sonra, iç hücre kütesinin dışındaki trofoblast hücreleri yüzey çıkıntıları oluşturur, bunlar da birleşerek sinsityal trofoblastları oluşturur. Endometriyum boşluğunda sıvı yokluğu nedeniyle serbest blastokist olasılıkla endometriyum yüzey epiteli ile temas etmektedir (4).

1.1.1. İlk implantasyon için gerekenler:

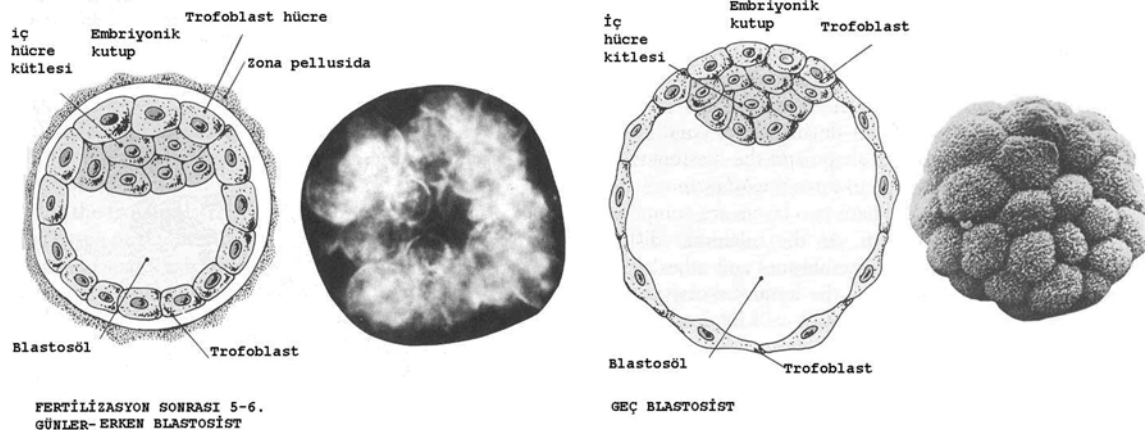
Başarılı bir implantasyon, hem uterusun ovaryum steroidlerince kontrol edilen bir dizi özgün farklılaşması, hem de blastokistin kesin bir aktivasyon evresine erişmiş olmasını gerektirir (1). Kemirici blastokistin TE'yi aktif hale gelerek bir değişim sürecinden geçer. Metabolik oranı artar, LE ile etkileşme kapasitesini geliştirir, epitelyal-mesenşimal transisyonu gerçekleştirir (1, 5).

TE ve LE'nin adeziv etkileşim ve blastosistin stroma içine penetrasyonu için gerekli olan moleküler olayları aynı anda ortaya çıkarması gerekmektedir. Blastokistler, sadece implantasyonun pencere döneminde LE ile implantasyon etkileşimine girebilirler (1). Bunu belirleyen ise, korpus luteumdan salgılanan progesteron'un endometriyumdaki etkileri ve bunları takip eden gebeliğin 4'üncü günündeki ufak bir östrojen pikidir (7, 8). İnsanlarda uterusun implantasyona elverişli olduğu dönem, büyük olasılıkla standart bir menstrual devrenin 19- 24. günleri arasındadır (7).

Fare blastokistin aktif hale gelmesi için bir metabolit estradiol 4-hidroksiestradiol -17 (katekolestrogen) gerekirken, uterusun implantasyona hazırlanması için nükleer reseptörlü estradiol-17 (E2)'nin etkileşimi gerekmektedir. Anne adayları sıçanlara günlük olarak progesteron (P4) enjekte edildiği takdirde, blastokistler uterus içerisinde uyku halinde muhafaza edilebilmişlerdir ve uykudaki embriyonlar 16 saate kadar implante olabilmişlerdir. Bu noktadan hareketle E2 için "blastokisti aktif hale getiren unsur" teorisi ileri sürülmüştür (1, 7).

1.1.2. İmplantasyonun Başlangıcındaki Sinyalleşme Olayları

Blastokist ve LE arasındaki sinyalleşme, hücrelerden salınan eriyebilir moleküller yoluyla ortaya çıkabileceği gibi, zara bağlı sinyal molekülleri yoluyla da ortaya çıkabilir. 1994'te yapılan bir çalışmada, heparin bağlayan epidermal büyüme faktörü (Heparin



Resim 1 : İmplantasyonun erken ve geç dönemlerinde blastosist ve zona pellisuda (6).

Binding-Epidermal Growth Factor; HB-EGF)'nün blastokistin yüzey epiteline bağlanmasından önce salgılandığı fare endometriyumunun yüzey epiteline gösterilmiştir. HB-EGF, östrojen kontrolü altındaki fare endometriyal epiteli ve progesteronun kontrol ettiği stroma tarafından eksprese edilir. HB-EGF, östrojenin hücre çoğalmasındaki etkilerine aracılık eder. Gebeliğin 2. ve 3. günlerinde LE'de HB-EGF mRNA bulunmaz. Fakat, olasılıkla blastokist bağlanma zamanından 6 ila 7 saat önce, LE'in apikal yüzeyinde blastokiste komşu bölgede eksprese edilir (1, 9, 10).

Çözünabilir HB-EGF, insan embriyolarının blastokist aşamasına ulaşma ve yerleşme yüzdesini artırmaktadır. İlâveten, insan endometriyumu HB-EGF mRNA'sında menstrual devreden bağımsız değişiklikler gözlenir. Bu madde, sekretuar evrede artmakta, implantasyon aralığının açılmasından hemen önce en yüksek olmakta ve ardından düşmektedir. Protein ise stromanın çoğalma safhasında görülmekte, fakat midsekretuar safhasında (beklenen alıcılık safhası) LE'nin apikal yüzeyinde açığa çıkmaktadır. Sonuç olarak, insan HB-EGF'sinin implantasyondaki rolünün, farelerdekine benzemesi olasıdır (1, 9, 10). Prostaglandin ve prostasiklin (PGI-2) sentezinde kilit bir enzim olan siklooksijenaz 2 (Cox-2) erken implantasyon mekanizmaları için gereken bir dizi sinyalleşme yolunun merkezi olarak görünmektedir. Cox-2 olmayan dişilerde, ovulasyon ve dölleme hataları ve implantasyonu destekleme yetersizliklerini de içine alan çoklu üreme başarısızlıklarına rastlanmaktadır (11). Cox-2 den yoksun dişilere, PGI-2 eklenmesi, desidual tepkinin ve implantasyonun meydana gelmesinde çok etkili olmuştur. Bu durumda PGI-2'nin; önemli bir Cox-2 ürünü olup implantasyon için gerekli uterin stromal değişikliklerin meydana gelmesinden sorumlu olduğu ileri sürülebilir. PGI-2, desidual tepkimenin bir özelliği olarak artmış vasküler geçirgenliği sağladığı için, bu onun implantasyondaki esas rolü olabilir (9). Prostaglandin düzeyleri menstrual siklusun luteal safhasında yükselir (5, 12). Luteal safhanın ortasında Cox-2 proteinin daha çok perivasküler hücrelerde ve LE'de bulunduğu kaydedilirken, luteal safhanın sonlarında glandlarda Cox-2 proteini artar. Kısacası, LE Cox-2'si, insan uterusunun implantasyona hazırlanmasında da bir rol oynayabilir (9, 11).

1.1.3. İmplantasyon Hazırlığında Uterusun Bağlayıcı Epiteli (LE)'de Meydana Gelen Değişiklikler: İmplantasyon öncesinde LE'de bir takım değişiklikler meydana gelir. İmplantasyon anında LE hücrelerinin apikal bazal polaritesi, apikal membrandaki laterobazal belirteçlerin ortaya çıkması ile belirginliğini

kaybeder, daha sıklık hale gelir. Hücreler artık daha yassılaştır ve mikrovili sayısı azalır. Birçok türde mikrovililerin yerini pinopodlar alır. Bazal membran kalınlığı dikkat çekecek derecede azalır (13). Hücre yüzeyi moleküllerinin apikolateral dağılımında değişiklikler ortaya çıkar. Örneğin, sekretuar evresinde 6 integrinin'in dağılımı, bazaldan hem bazal hem de laterale doğru değişir. Bu durum, implantasyon anında LE'nin hücrelerarası etkileşimdeki değişimine işaret eder. Desmozomal proteinler, fare LE'sindeki lateral hücre yüzeyleri boyunca tekrar dağıtılır ve regüle edilirler. İnsan ve fare LE'sinde implantasyon zamanı desmozom yoğunluğu azalır (14). Bu zaman içerisinde insan da dahil bazı türlerde lateral membrandaki sıkı bağlantı (tight junction) dağılımı ve kompleksitesi de değişir (15). Buna ek olarak, özgün gap junctionlar, implantasyonun olduğu epitelde açığa çıkar ve ovaryum steroidlerince sıkı bir şekilde düzenlenirler (1).

İnsanlarda endometriyal epitelin yeniden organizasyonu diğer memelilerdekine paralel ilave unsurları içerir. LE hücrelerindeki düzenli mikrovililer ovulasyondan yaklaşık 6 gün sonra yerlerini pinopodlar'a bırakırlar. Tekrarlayan biyopsileri içeren çalışmalar, bu pinopodların kadınlarda 48 saatten daha az bir ömre sahip olduklarını ortaya koymuştur. Pinopodlar menstrual siklusun 20 ve 22. günleri arası değişmekte ve her bireyin kendine özgü olmaktadır. Bu durum, insanın beklenen alıcılık penceresi ile uyum göstermektedir. Bunun yanında, pinopodları taşıyan hücre kümelerinin hücre katmanında buldukları yere tutunarak yerleştikleri kaydedilmiştir. Bu yüzden bu tür pinopodlar insan embriyoları için önemli tutunma alanları olabilir (1, 13). İnsan uterus epitel hücre serilerinin embriyonun tutunmasını destekleyebilmesi için, E-kadherin, 6, 1 ve 4 integrin gibi bazı bazolateral hücre adezyon moleküllerinin apikal ekspresyonları gerekmektedir (5). Muc-1 gibi bazı anti-adeziv faktörlerin azaltılması, bu hücre serilerinin yapışkanlıklarına katkıda bulunabilir (1).

1.1.4. İntegrinler

İntegrinler; endometriyal, desidual ve ekstravillöz sitotrophoblast (EVCT) hücrelerinde bulunan adezyon molekülleridir. Bunlar, hücre-hücre dışı matriks (bazal lamina) bileşenleri arasındaki adezyonda olduğu kadar, hücre-hücre arası adezyonda da yer alırlar (16).

Epitelyal integrinlerin luteal safhanın ortasında implantasyon penceresini çevreledikleri ve desidual integrinler oluşur oluşmaz bir üst regülasyondan geçtikleri görülmüştür (17). ve integrin alt üniteleri siklusun luteal safhası esnasında (: 15 günden 28 güne, : 14 günden 24 güne kadar) endometriyal epi-

telde eksprese edilmektedir. subuniti siklusun 20. gününde ortaya çıkmakta ve embriyon implante olduğunda (20-24. günler) ve subunitleri ile bir arada var olmaktadır. Bu açıdan implantasyon penceresi için mükemmel bir belirteçtir. v ve 1 subunitleri de mevcut olup ve heterodimer topluluğunu harekete geçirmektedirler. v integrini, RGD serilerine bağlanmakta ve trofoblastı uterus epiteline tutturmak için hücre-hücre etkileşimlerini başlatmaktadır. v dimeri aynı zamanda hem uterus epitelinde, hem de trofoblastta bulunmaktadır. Zincirleme etkileşimler, bu şekilde embriyonun sabitleşmesini mümkün kılmaktadır. Trofoblastik v , endometriyal osteopontini tanıır, trofoblast tarafından eksprese edilen vitronektin ve fibronektin ise endometriyal v ile etkileşime girer (18). v ekspresyonu bir takım büyüme faktörlerine bağlıdır (16): Dönüştürücü Büyüme Faktörü- (Transforming Growth Factor-TGF) v 'ü azaltır, Interlökin-1 ve 6(IL-1 ve 6) ve Tümör Nekroz Faktör- (TNF) v 'ü yükseltir. Epidermal Büyüme Faktörü (Epidermal Growth Factor-EGF), TGF- ve TGF- ekspresyonunu artırmaktadır (5).

Desidual stromal hücreler (DCM) tarafından salgılanan TGF- , metalloproteinaz doku inhibitörünü (TIMP-1) arttırarak trofoblastın total jelatinolitik aktivitesini inhibe etmektedir. Bu nedenle trofoblast invazyonunda düzenleyici bir rol oynadığı tahmin edilmektedir (5, 19).

IL-1 ve IL-6, trofoblast hücreleri tarafından sentezlenen laminin ve kollajen reseptörleri olan ?1 ve ?2 ekspresyonunu uyarır. Bu iki sitokini trophoblast hücreleri kendileri için de sentezlerler ve kendi ekspresyonlarını indüklemek için otokrin/parakrin bir tarzda hareket ederler. IL-1 ve IL-2 ekspresyonunda, östrojen, progesteron ve HCG gibi hormonlar genel bir negatif modülasyon sergiler. Bu faktörler, trofoblast hücrelerinin çoğalma, invazyon ve farklılaşmasında rol aldıklarından trofoblast fonksiyonlarına katılan kilit faktörlerden olabilirler (5, 8, 20).

Embriyonun endometriyuma tutunduğu safhada, endometriyumdaki bir dizi yeni integrin subuniti (ve), blastokistin implante olabilecek kapasiteye kavuşmuş olduğunu gösterir. Laminine bağlanan ve integrinleri, implantasyon aralığı esnasında endometriyal epitelin bazal membranında bulunmaktadırlar. Aynı şekilde de endometriyumda eksprese edilmekte ve trofoblastik fibronektine bağlanmaktadır (16, 18).

1.2. FAZ 2: YAPIŞMA VE ZORLA İÇERİ GİRME DÖNEMİDİR.

Bu dönem blastokistin yüzey epiteline tutunması (apozisyon fazı) ve bunu izleyen penetrasyonunu

(penetrasyon fazı) içermektedir (Şekil 1). Endometriyum yüzey epiteli ve trofoblastlar arasındaki başlangıç teması, yüzey epitel hücrelerinin apikal plazma membranları ile trofoblastların plazma membranlarının yaklaşması ile olur. Bu hücreler birbirlerine paralel olurlar ve aralarında 20 nm'lik bir mesafe kalır. Membran altındaki özgün filamentöz ağ, bu hücreler arasındaki hücre-hücre bağlantıları ile durağan halde desteklenir. Apozisyon fazı olarak da bilinen trofoblast-endometriyal etkileşimi yüzey epiteline penetrasyon takip eder (4).

İnsan blastokistleri intrusiv (zorla içeri giren) tip epitelyal penetrasyon sergilerler Bu tip invazyon yüzey epitel hücreleri ile sinsityotrofoblastların uzantıları arasındaki penetrasyonu içerir. Bu durum, komşu epitel hücreleri arasındaki bağlantıların kaybına ve trofoblastlar ile epitel hücreleri arasında bağlantıların oluşmasına yol açar. Böylece, trofoblastlar kendilerini epitel hücreleri arasına sokmuş olur ve daha sonra yüzey epiteli altında yer alan bazal membrana doğru penetre olurlar (4).

1.2.1. Endometriyal Epitel ve Trofoektodermin Karbohidrat Epitoplari

Zarın içinden geçen ve hücre yüzeyine ulaşan proteinlerin çoğu ve birçok lipit oligosakkarit zinciriyle döşelidir. Bunlar, hücre dışı aralığa kadar yayılabilirler. Böylece LE yüzeyine yaklaşan bir embriyo, olasılıkla ilk olarak yüzey moleküllerinin karbohidrat zincirleri ile temas edecektir. Bunlardan özellikle bazıları, üreme siklusu esnasında veya gebeliğin preimplantasyon periyodunda düzenlenir (1, 22, 23). Endometriyal epitelde düzenlenen bir terminal yapı da H-tip-1 antijen'idir. İn vitro olarak fare blastokistin LE'ye bağlanması, H-tip-1 antijeni tarafından gerçekleştirilmektedir. Çünkü H-tip-1 antijeni LE'nin apikal görüntüsünde, gebeliğin 4. gününe kadar aynı tarzda eksprese edilmekte ve TE ile etkileşime girebilmektedir. H-tip-1 antijeninin ekspresyonu luteal safhada, folliküler safhadakinden daha yüksektir. H-tip-1 antijeni, progesteron ekspresyonunu harekete geçirici, uyarıcı bir etkiye sahiptir. Farelerde LE ile ilk temasa geçen kısım TE'nin abembriyonik bölgesidir (1, 22, 23).

Farelerde, Le-y karbohidrat antijeni, blastokist yüzeyinde ve LE üzerinde bulunmaktadır. Endometriyal Le-y glikolipidi, H-tip-1 ve -2 zinciri glikolipidlerine bağlanırken, blastokistteki Le-y, LE apikal yüzeyindeki H-tip-1 ile etkileşebilmektedir. Bu şekilde, Le-y antijeni, fare blastokistin LE'ye bağlanmasına katkıda bulunabilmektedir. İnsanlarda ise bu antijen, kan grubuna bağlı olarak, endometriyal epitelde açığa çıkmaktadır (1, 22, 23).

1.2.1.1. Endometriyal Cevap ve Trofoblastik Hücre İnvazyonunda İntegrinlerin Rolü:

Trofoblast hücreleri invaziv fenotip sergilemeye başladıkları zaman kollajenler aktif hale gelirler ve ECM'yi bozarlar. HLA-G antijeni ortaya çıkar ve yeni hormonlar sentezlenir (16).

Aplin; 'ün villöz sitotrofoblast ve sinsityotrofoblast arasındaki ortak yüzeyde yapıldığını tespit etmiştir ve bu tespit 'ün hücre-hücre adezyonunda işleve sahip olduğunu ortaya koymaktadır. subuniti en geniş etki alanına sahip olan subunittir ve bu yüzden hücrelerin sabitlenmesine en iyi imkan veren integrindir (sitoskeletal proteinlerle doğrudan etkileşimler nedeniyle) (16, 21).

İnterstisyel ekstravillöz sitotrofoblast, distal uçtaki hücreler bazal membran ile teması kaybedip, desidua tarafından salgılanan olası hücre dışı matriks bileşenleri ile temasa geçtikçe, integrini kaybolmakta, V integrini (fibronektin reseptörü) halen korunmakta ve 1 (laminin ve tipI/tipII kollajenleri için reseptörler) ve V (vitronektin reseptörleri) ekspresyonu başlatılmaktadır. Bu olay, 'integrin switch (integrin kilitlenmesi)' olarak nitelendirilmektedir (16, 24). İnterstisyel trofoblastta; (fibronektin ligandı), ve 1 (laminine bağlanan bazal membran için gerekli bir bileşen) subunitlerine rastlanmıştır. Benzer şekilde, invaziv hücreler de ve V (fibronektin), V (vitronektin), V (trombospondin), V (tenaskin reseptörü) gibi integrin etkileşimli hücre dışı matriks bileşenleri eksprese etmektedirler (16).

1.2.1.2. Heparan sülfat proteoglikan:

Heparan sülfat proteoglikan (HSPG), blastokistin LE'ye tutunmasına karışan bir diğer olgudur. HSPG'nin bir bazal membran formu olan perlecan, inkübasyondan sonra blastosistin etrafını çevrelemekte ve mRNA ve proteininin ekspresyonu blastokistin bağlanma yeterliliğini kazanması ile uyum göstermektedir. Böylece HSPG, TE'yi LE'ye bağlayan bir destekleme ligandı olarak işlevini yerine getirmektedir. Fare embriyoları HSPG bağlı proteinlere tutunabilmektedirler (1, 25).

Bir HSPG bağlı protein olan heparin bağımlı sülfat proteoglikan (HIP) proteini, üreme devresinin başından sonuna kadar insan ve fare endometriyal epiteli de dahil olmak üzere olası insan hücre seri ve dokularında açığa çıkmaktadır. HIP'in dış membran ile yaptığı kovalent olmayan birleşim, onu trofoblastı HSPG'ye bağlayabilecek duruma getirmektedir. Ayrıca HIP perlecan'a da bağlandığından dolayı insan TE bağlanması için HIP-perlecan-HS etkileşimi öne sürülebilir. HIP, aynı zamanda insan koryonik villuslarının ilk üç aylık sitotrofoblast invazyonunun başladığı yer olan villüs bağlanma noktalarında yoğunlaşmakta olup burada yüksek düzeyde perlecan

da mevcuttur. HIP ayrıca maternal kan damarlarının duvarlarına nüfuz eden sitotrofoblast ile desteklenmektedir. Bütün bunlar HIP'in trofoblast invazyonunda rolü olduğunu ortaya koymaktadır. Antikorların HIP'e olan etkisi de bunu desteklemektedir (1, 26).

1.2.1.3. Trofinin-Tastin-Bystin Kompleksi

Trofinin; esas olarak membran proteindir. İnsan trofoblast hücre hattı ile endometriyal hücre hattı arasındaki hemofilik hücre adezyonuna aracılık eder. Trofinin, adezyonda işlev görebilmek için, orta seviyedeki bir protein olan bystin vasıtasıyla sitoplazmik bir protein olan tastine bağlanarak bir kompleks oluşturur. Trofinin ve tastin, insan endometriyal epitelinin erken sekretuar safhasında, apikal yüzeyde açığa çıkmaktadırlar. Sekretuar periyodunun ortasında da hızla gözden kaybolurlar. İmplantasyon bölgesinde, trofininin, TE ve LE'nin karşıt apikal yüzeylerinde açığa çıktığı gözlenmektedir (1).

1.2.1.4. İnvazyon Sırasında Diğer Adezyon Moleküllerinin Rolü

Fare ve insanda uterus dokusunu istila etmeye başlayan trofoblast, LE ile de sıkı bir etkileşim sergiler. Trofoblast invazyon derecesinin türler arasında çok farklı olmasına rağmen, bunun düzenlenme tarzında benzerlikler vardır (1). Desidualizasyon, endometriyal stromal hücrelerin desidual hücrelere dönüşmesi, hücre dışı matriksin yeniden şekillendirilmesi ve integrin ekspresyonunu kapsamaktadır. Gebelik söz konusu değilken, endometriyal stroma ECM'i; I, III, V ve VI kollajenleri, fibronektin ve periglandular tenaskin birikintilerini içermektedir (16, 27). Desidualizasyon sırasında hücre, kollajen IV, heparan sülfat proteoglikan ve laminin 2 ve 4 içeren bir ECM üretir. Laminin ve kollajen IV, trofoblast LE bazal membranından bazal LE hücre yüzeyine ulaşmadan önce gözden kaybolduğundan, bunlar muhtemelen trofoblastların substratlarıdır. Stromal farklılaşma veya desidualizasyon ECM'deki değişiklikler ile karakterizedir (1, 16, 27). Farede bu değişiklikler implante olan blastokist ile tetiklenmektedir. Kadında desidual farklılaşma, siklusun progesteron hakim olan luteal fazında ortaya çıkmaktadır. ECM, insanlar ve farelerdeki perisellüler matriks katmanı içine tekrar organize olmuştur. Burada bulunan ekstra sellüler matriks bileşenleri trofoblastların adezyon ve migrasyonu için uygun olanlarıdır. Trofoblast invazyonunda ekstra sellüler matriksin rolü olduğu kesinlik kazanmıştır. Bu, LE ile adeziv etkileşim ve stroma içine invazyon sırasında blastokist aktivasyonunun en erken görülen olaylarından kolayca anlaşılabilir (1, 27).

1.2.1.5. Blastokist İçin Adeziv Ligandların

Maskelenmesi

LE, normal doku homeostazisini sürdürmenin yanı sıra, mikrobiyal enfeksiyonun önünde bir engel olarak da görev yapmaktadır (1, 5).

Muc-1 gibi bol glikozilatlı musinler LE'de maskeleme işlevini yerine getirirler. LE'deki Muc-1'in standartların altındaki blastokistlerin yapışmasını önleyen seçici bir engel olduğu ileri sürülmüştür (28, 29). Sıçanlarda diğer bir musin olan Muc-4, implantasyon zamanında gözden kaybolmaktadır. Muc-4 prereceptiv LE'deki bağlanmayı önlemeye yönelik bariyer işlevine benzer bir işleve sahiptir. Muc-1 ve Muc-4'ün her ikisi de overiyar steroidlerin kontrolü altında açığa çıkmaktadırlar (1, 28, 29).

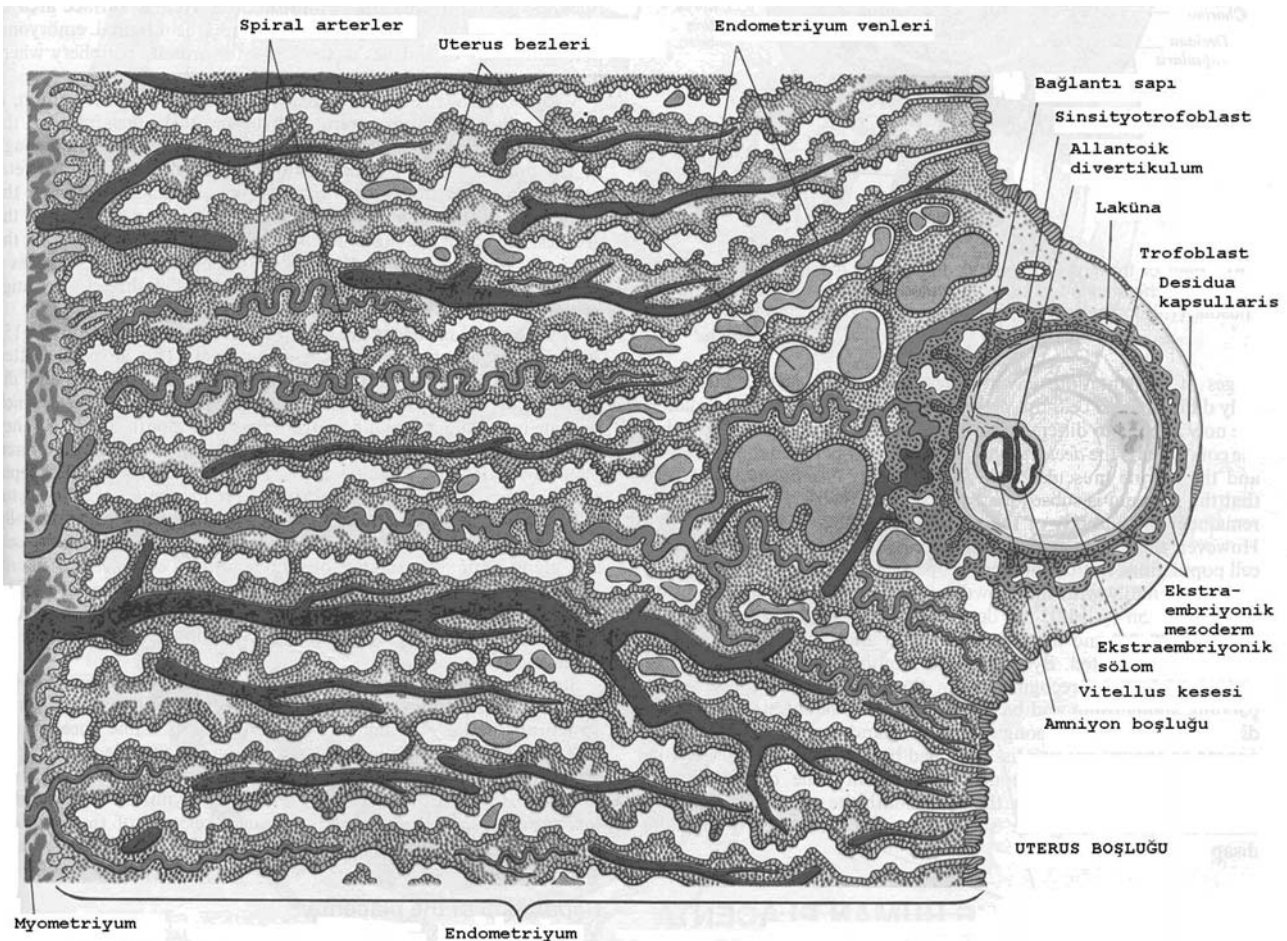
Kadınlarda, keratan sülfat gibi karbohidrat yapıları, implantasyonun başarısı ile ilişkilidir ve Muc-1 bağlantılıdır. İnsan embriyolarının perimplantasyonunda CD 44 izoformları mevcuttur. Bu izoformlar, Muc-1'dekiler de dahil olmak üzere insan Le'si apikal yüzeyinde bol miktarda bulunan sialilatlı ve sülfatlı karbohidratlar ile etkileşerek bağlayıcı molekülleri oluşturmaktadır (31). Blastokistlerin incelenmesiyle, ICAM-1'in, insan embriyolarında bulunduğu ve Muc-1'e yapıştığı kaydedilmiştir. İnsan Muc-1'i, karbohidrat epitoplari vasıtasıyla bir adezyon

molekülüne dönüşme özelliğine sahiptir. Bunlar TE şeker bağlı moleküller ile etkileşerek embriyoları bağlayabilir ve onları apikal LE'deki CAM'lar ile temas ettirebilir. Aynı zamanda bu standardın altındaki blastokistlerin, diğer CAM'lar ile etkileşmelerine de engel olabilir. Sözü edilen engelleme işlevine ek olarak, Muc-1'in hücre yüzeyinden kalkması ile adezyon artar. İnsan blastokistinin endometriyal epitel ile kokültürü; hücre yüzeyine bağlanan blastokistin bitişiğinde Muc-1'in lokal olarak kaybolduğunu gösterir (1).

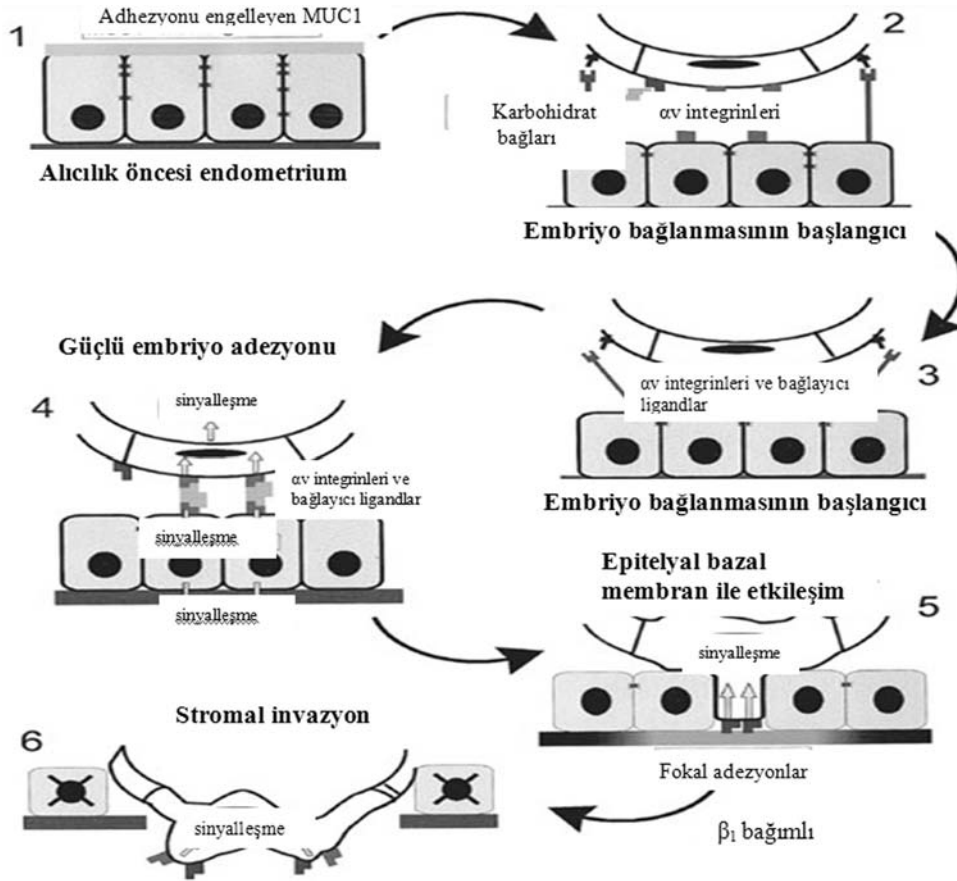
1.3. FAZ 3: PLASENTASYON DÖNEMİDİR.

İmplantasyonun bu fazında plasenta oluşur ve tersiyer villusların oluşmasıyla sona erer (4).

Dönem 5. Ovulasyondan sonraki 7-13. günler arasında görülür. Primer villusların gelişmesi ile sona erer. Dönem 5a'da insanda implantasyon alanındaki trofoblastlar, hem sitotrofoblast hem de sinsityotrofoblast kütle halinde genişler (Resim 2). Dönem 5b ve 5c'de trofoblastlar damar duvarlarına uzanır ve onların duvarlarının bir parçasını oluştururlar. Bu maternal damarlardan, trofoblastlar arasında oluşturulan ve lakuna olarak adlandırılan boşluğa kan akar (4).



Resim 2 : Plasantasyon dönemi. Sinsityotrofoblastlar, spiral arterler ile temas halindedir (6).



Şekil 1 : Embriyonun tutunma ve invazyonu (1).

Dönem 6. Bu dönemde sekonder plasental villuslar ve vitellus kesesi gelişir (4).

Dönem 7. Villusların dallanması ve endometriuma sıkıca tutunması, implantasyonun bu döneminde görülmektedir (4).

Dönem 8-9. Bu dönemde tersiyer villuslar gelişir (4).

II. İMPLANTASYON VE APOPTOZİS

Omurgalılarda dokuların şekillenmesinde, gastrulasyon ve nörolasyon fazlarında, interdigital perdelerin regresyonu sonucu parmakların şekillenmesinde, tümör gelişiminin patogenezinde ve ayrıca preimplantasyon dönemindeki embriyonda ilk boşlukların oluşmasında apoptozisin yeri olduğu ispatlanmıştır (4, 32).

Son yıllarda yapılan çalışmalar, sitokinler ve bazı büyüme hormonlarının hücreye ölme veya yaşama sinyalini göndererek apoptozisi kontrol ettiklerini ortaya çıkarmıştır. Lökemia inhibitör faktör (LIF) (4, 5, 33), beyinde gelişen nörotropik faktör (brain derived neutrophic factor-BDNF) (4), siliar nörotropik faktör (ciliary neutrophic factor-CNTF) (4), fibroblast büyüme faktörü (FGF) (4), somatostatin (4), tümör nekrozis faktör- (TNF-) (4, 17), dönüştürücü büyüme faktörü (TGF) (4, 17-19) ve

insülin benzeri büyüme faktörü (IGF) (4, 34) gibi faktörlerin fizyolojik etmenler olduğu tartışılmakla birlikte apoptozisin devreye girdiği olaylar üzerine etkileri kesinlik kazanmıştır.

Örneğin; IGF-1, IGF-2 ve İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü Bağlayan Protein (IGFBP), menstrual siklus esnasındaki endometriyal gelişme ve implantasyon sürecinde önemli rol oynamaktadır (5, 34).

Lökemia İnhibitör Factor (LIF), fare endometriyumunda implantasyon anında üretilmektedir. LIF'in salgılanması bu türlerde implantasyon için bir ön koşuldur. Endometriyal LIF'in, laminin reseptörleri olan $\alpha 6$ ve $\alpha 4$ integrinlerini eksprese eden sitotroblastın jelatinolitik aktivitesini inhibe ederek trofoblast invazyonunu kontrol ettiği tahmin edilmektedir (5, 8, 33).

Blastokist dönemindeki embriyo, gelişimi sırasında birçok dejenerasyon gösterir. İlk etapta iç hücre kütlelerinde görülür ve bu hücrelerin %10'u komşu hücreler veya trofoblast hücreleri tarafından fagosite edilir. Embriyonik hayatta apoptozisin görüldüğü diğer bir alan ise uterus epiteleridir. Uterus hücrelerinde menstrual siklus (özellikle luteal fazda), blastokist implantasyonu ve desidualizasyon sırasında apoptozis etkili olur. Menstrual siklus sırasında salgılanan östro-

jen ve progesteron, luminal ve glandular epitel hücrelerinin proliferasyonu ve farklılaşmasının yanısıra apoptozise de neden olur. (4, 35).

Apoptozis, implantasyon penceresi döneminde uterus glandular hücrelerinde gözlenmekte ve böylece endometriyal dezidualizasyonun oluşumuna katkı yapmaktadır. Bu dönemdeki apoptozisin, bax geninin artışı ve bcl-2 geninin azalması ile gerçekleştiği ve bu iki genin salınımı ile kontrol edildiği gösterilmiştir. Yine aynı çalışmada bax geninin apoptozis oluşumundan çok önce salgılandığı ve böylece bcl-2 yani hücre için hayatta kalış sinyali verecek olan genin salınımının inhibe edilerek endometriyal hücrelerde apoptozisin gerçekleştiği gösterilmiştir (4, 32).

Hem implantasyon hem de apoptozisi düzenleyen faktörlerin ortak olması, aynı faktörlerin her iki olayda da etkili olduklarını ve iyi bir embriyo gelişimini kontrollü bir şekilde sağladıklarını göstermektedir (4, 35).

Yapmış olduğumuz araştırma sonucu doğrultusunda, implantasyonda rol oynayan faktörlerin primer kaynakları ve en çok etkili oldukları implantasyon dönemleri Tablo 1'de özetlenmiştir.

Kaynaklar

1. Susan JK, Ph. D. Molecular Interactions at the Maternal-Embryonic Interface During the Early Phase of Implantation. *Sem Reproductive Med* 2000; 18 (3): 237-253.
2. Paria BC, Huet-Hudson Ym, Dey SK. Blastocyst's state of activity determines the 'window' of implantation in the receptive mouse uterus. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90: 10159-10162.
3. Sarani SA, Ghaffari-Novin M, Warren MA, Dockery P, Cooke ID. Morphological evidence for the 'implantation window' in human luminal endometrium. *Hum Reprod* 1999; 14: 3101-3106.
4. Parr EL, Parr MB. Epithelial cell death during rodent embryo implantation. In: Yoshinago K, ed. *Blastocyst Implantation*. Boston: Sero Symposia USA Adams Publishing Group; 1989: 105-115.
5. Duc-Goiran P, Mignot TM, Bourgeois C, Ferre F. Embryo-Maternal Interactions at the Implantation Site: A Delicate Equilibrium. *Gynecology and Reproductive Biology* 1999; 83 (1): 85-100.
6. Moore KL, Persaud TVN. İnsan Embriyolojisi. In: Yıldırım M, Okar İ, Dalçık H, ed. *Blastosist Oluşumu*. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri. 2002: 40-42, 130-135.
7. Paria BC, Lim H, Wang X-N, Liehr J, Das SK, Dey SK. Coordination of different effects of primary estrogen and catecholestrogen on two distinct targets mediates embryo implantation in the mouse. *Endocrinology* 1998; 139: 5235-5246.
8. Sunder S, Lenton E. Endocrinology of the Peri-Implantation Period. *Clinical Obstetrics and Gynaecology*

Tablo 1: İmplantasyonda rol oynayan faktörlerin primer kaynakları ve en etkili oldukları (+) implantasyon dönemleri.

Faktör	Kaynak	Dönem I	Dönem II	Dönem III
Progesteron	Korpus luteum	+		
Östrojen	Korpus luteum	+		
HB-EGF	Endometriyum	+		
PGI-2	Endometriyum	+		
İntegrinler	Endometriyum	+		
Dezmozomal proteinler	Endometriyum	+	+	
Muc-1	Endometriyum	+		
Muc-4	Endometriyum		+	
H tip 1 antijeni	Endometriyum		+	
Le-y karbohidrat antijeni	Endometriyum Blastokist		+	
HSPG	Endometriyum		+	
Trofinin				
Tastin	Endometriyum		+	
Bystin				
Kollajen IV	Endometriyum		+	
Laminin 2	Endometriyum		+	
Laminin 4				
CD44 izoformları	Endometriyum		+	
TGF- ?1	Endometriyum	+		
IL-1	Endometriyum	+		
IL-6				
IGF-1				
IGF-2	Endometriyum	+	+	
IGFBP				
LIF	Endometriyum		+	

- 2000; 14 (5): 789-800.
9. Paria BC, Lim H, Das SK, Reese J, Dey SK. Molecular signalling in uterine receptivity for implantation. *Semin Cell Dev Biol* 2000; 11: 67-76.
 10. Raab G, Klagsbrun M. Heparin-binding EGF-like growth factor. *Biochim Biophys Acta* 1997; 1333: 179-199.
 11. 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. *J Mol Endocrinol* 1996; 16: 107-122.
 12. Novaro V, Rettori V, Gonzalez ET, Jawerbaum A, Faletti A, Canteros G, Gimeno MAF. Interaction Between Uterine PGE and PGF2a Production and the Nitridergic System During Embryonic Implantation in the Rat. *Prostaglandins* 1996; 51 (6): 363-376.
 13. Bentin-Ley U, Sjögren A, Nilsson L, Hamberger L, Larsen JF, Horn T. Presence of uterine pinopodes at the embryo-endometrial interface during human implantation in vitro. *Hum Reprod* 1999; 14: 515-520.
 14. Illingworth IM, Kiska I, Bagley S, Ireland GW, Garrod DW, Kimber SJ. Desmosomes are reduced in the mouse uterine luminal epithelium during the pre-implantation period of pregnancy: a mechanism for facilitating implantation. *Biol Reprod* 2000; 63: 1764-1773.
 15. Murphy CR, Rogers PAW, Hosie MJ, Leeton J, Beaton L. Tight junctions of human uterine epithelial cells change during the menstrual cycle: a morphometric study. *Acta Anat* 1992; 144: 36-38.
 16. Merviel P, Challier JC, Carbillon L, Foidart JM, Uzan S. The Role of Integrins in Human Embryo Implantation. *Fetal Diagn Ther* 2001; 16: 364-371.
 17. Grosskinsky CM, Yowell CW, Sun J, Parise LV, Lessey BA. Modulation of Integrin Expression in Endometrial Stromal Cells In Vitro. *Journal of the Society for Gynecologic Investigation* 1995; 2 (2): 198.
 18. Tabibzadeh S. Patterns of expression of integrin molecules in human endometrium throughout the menstrual cycle. *Hum Reprod* 1992; 7: 876-882.
 19. Bischof P, Meisser A, Campana A. Involvement of Trophoblast in Embryo Implantation: Regulation by Paracrine Factors. *Journal of the Reproductive Immunology* 1998; 39 (1-2): 167-177.
 20. Das C, Kumar VS, Gupta S, Kumar S. Network of Cytokines, Integrins and Hormones in Human Trophoblast Cells. *Journal of Reproductive Immunology* 2002; 53 (1-2): 257-268.
 21. Lessey BA, Damjanovich L, Coutifaris C, Castelbaum A, Albeda SM, Buck CA. Integrin adhesion molecules in the human endometrium: correlation with the normal and abnormal menstrual cycle. *J Clin Invest* 1992; 90: 188-195.
 22. Poirier F, Kimber SJ. Cell surface carbohydrates and lectins in early development. *Mol Hum Reprod* 1997; 3: 907-918.
 23. Kimber SJ, Brown DG, Pahlsson P, Nilsson B. Carbohydrate antigen expression in murine embryonic stem cells and embryos. *Histochem J* 1993; 25: 628-641.
 24. Damsky CH, Librach C, Lim KH. Integrin switching regulates normal trophoblast invasion. *Development* 1994; 120: 3657-3666.
 25. Carson DD, Tang JP, Julian J. Heparan sulfate proteoglycan (perlecan) expression by mouse embryos during acquisition of attachment competence. *Dev Biol* 1993; 155: 97-106.
 26. Rohde LH, Julian J, Babikania A, Carson DD. Cell surface expression of HIP, a novel heparin/heparan sulfate binding protein of human uterine epithelial cells and cell lines. *J Biol Chem* 1996; 271: 11824-11830.
 27. Guillomot M. Changes in Extracellular Matrix Components and Cytokeratins in the Endometrium During Goat Implantation. *Plasenta* 1999; 20 (4): 339-345.
 28. Chervenak JL, Illsley NP. Episialin acts as an antiadhesive factor in an in vitro model of human endometrial-blastocyst attachment. *Biol Reprod* 2000; 63: 294-300.
 29. Meseguer M, Pellicer A, Simon C. MUC1 and endometrial receptivity. *Mol Hum Reprod* 1998; 4: 1089-1098.
 30. Idris N, Carraway KL. Sialomucin complex (Muc4) expression in the rat female reproductive tract. *Biol Reprod* 1999; 61: 1431-1438.
 31. Campbell S, Swann HR, Aplin JD, Seif MW, Kimber SJ, Elstein M. CD44 is expressed throughout pre-implantation human embryo development. *Hum Reprod* 1995; 10: 425-430.
 32. Kamijo T, Rajabi MR, Mizunuma H, Ibuki Y. Biochemical evidence for autocrine/paracrine regulation of apoptosis in cultured uterine epithelial cells during mouse embryo implantation in vitro. *Mol Hum Reprod* 1998; 4: 990-998.
 33. Bischof P, Campana A. Effect of Leukemia Inhibitory Factor on Human Cytotrophoblast Differentiation along the Invasive Pathway. *Journal of the Society for Gynecologic Investigation* 1995; 2 (2): 198.
 34. Giudice LC, Mark SP, Irwin JC. Paracrine Actions of Insulin-Like Growth Factors and IGF Binding Protein-1 in Non-Pregnant Human Endometrium and at the Decidual Trophoblast Interface. *Journal of Reproductive Immunology* 1998; 39 (1-2): 133-148.
 35. Galan A, O'Connor E, Valbuena D. The human blastocyst regulates endometrial epithelial apoptosis in embryonic adhesion. *Biol Reprod* 2000; 63: 430-439.