



İmplantasyon Sürecinde Embriyo, Endometriyum Farklanması ve Moleküler Yolaklar

Embryo, Endometrium Differentiation and Molecular Pathways During Implantation

 Filiz YILMAZ^a,
 Işıl TEKMEK^a

^aHistoloji ve Embriyoloji AD,
Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi,
İzmir, TÜRKİYE

Received: 07.11.2018
Received in revised form: 13.02.2019
Accepted: 01.03.2019
Available online: 06.03.2019

Correspondence:
Filiz YILMAZ
Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi,
Histoloji ve Embriyoloji AD, İzmir,
TÜRKİYE/TURKEY
drfilizyilmaz@gmail.com

ÖZET İmplantasyon süreci, menstrual siklusun 20-24. günleri arasında blastokist ile endometriyumun karşılıklı etkileşimini içerir. Bu süreçte blastokist endometriyum yüzeyine yaklaşır, sıkıca bağlanır ve endometriyuma invaze olur. Başarılı implantasyon için; üç önemli bileşen varlığı gereklidir. Birincisi; moleküler olarak programlanmış hücre büyümesi ve differansiyasyona sahip kaliteli embriyo, ikincisi; implantasyona izin veren değişkenlik potansiyeline sahip endometriyum (endometrial reseptivite) ve üçüncüsü; cross-talk diye adlandırılan embriyo ile endometriyum arasındaki bilgi alışverişidir. Bu etkileşime, hormonlar, sitokinler, prostaglandinler ve adezyon molekülleri dâhil olmak üzere birçok faktör aracılık eder. Bu faktörlerden bir veya birkaçının eksikliği implantasyonun gerçekleşmemesine dolayısıyla infertiliteye sebep olur. Bu nedenle implantasyon sürecinde yer alan moleküler yolakları iyi bilmek, yardımcı üreme tedavilerine başvuran hastalar için etyolojinin araştırılmasına ve tedavi sürecine katkı sağlamaktadır. Bu derlemede; güncel bir yaklaşım olarak implantasyonun üç önemli komponenti olan embriyo, endometriyumun farklanması ve cross-talk olaylarındaki moleküler yolaklar ayrıntılandırılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Blastokist; implantasyon; VEGF; MUC-1; HB-EGF; MMP-9; endometriyum

ABSTRACT The implantation process involves mutual interaction between the blastocyst and the endometrium, which should result in a short window period. In this process, the blastocyst approaches to the surface of the endometrium, tightly connects and invades the endometrium. For successful implantation; three important components are required. First; a good quality of embryo who is programmed and has got cell growth and differentiation, the second; endometrium (endometrial receptivity) has potential for variability that allows implantation and the third; it is the exchange of information between the endometrium and the embryo, called cross-talk. Several factors, including hormones, cytokines, prostaglandins and adhesion molecules, are involved in this interaction. The lack of one or more of these factors leads to the implantation failure and thus to infertility. Therefore, knowing the molecular pathways involved in the implantation process will contribute to the research of the etiology and the treatment process for those applying for assisted reproductive techniques. In this review; the molecular pathways in the differentiation of embryo and endometrium and cross-talk in the implantation process will be elaborated.

Keywords: Blastocyst; implantation; VEGF; MUC-1; HB-EGF; MMP-9; endometrium

İMPLANTASYON

İmplantasyon, gebeliğin gerçekleşmesinde en önemli aşamalardan biridir. Birbirinden immünolojik ve genetik olarak tamamen farklı olan blastokist ile endometriyumun aktif olarak eş zamanlı katıldığı ve implantasyon penceresi adı verilen kısa bir dönemde sonuçlanan dinamik bir süreçtir. Başarılı implantasyon için üç önemli bileşen şarttır; 1) fertilizasyon sonucu oluşan zigotun blastokist aşamasına kadar başarılı bir şekilde geliş-

mini tamamlaması ve embriyonun aktivasyonu, 2) endometriyumun blastokist invazyonuna izin vermesi yani reseptivite kazanması ve 3) embriyo ile endometriyum arasında cross-talk olarak adlandırılan bilgi alışverişinde yer alan otokrin, parakrin ve jukstrakrin etkileri olan moleküllerdir.¹⁻⁴ Yazımızda sırasıyla bu bileşenler açıklanmaktadır.

EMBRIYO

Embriyo Gelişimi

Fertilizasyon sonucu oluşan zigot, art arda mitoz bölünmeler geçirerek hücre sayısını artırır. Bu olaya zigotun yarıklanması denir ve fertilizasyondan yaklaşık 30 saat sonra başlar. Yarıklanma sonucu oluşan her bir hücre "blastomer" olarak adlandırılır. 3. yarıklanmadan sonra blastomer şeklini değiştirir ve birbirine sıkıca bağlı bir hücre topu oluşur.^{5,6} Bu olaya kompaksiyon denir. Kompaksiyonda 3 mekanizma önemli rol oynar; hücre adezyonu (e-kadherin), filopodia ve kortikal gerilim (aktomyozin). Hücre adezyonunun önemli bir komponenti olan e-kadherin, kompaksiyondan önce 8 hücreli embriyodaki blastomerlerin tüm yüzeylerinde homojen şekilde yer almakta iken, kompaksiyondan sonra e-kadherin ekspresyonunun sadece bazolateral yüzeyde lokalize olduğu gösterilmiştir.⁷ Filopodia, embriyo yüzeyi boyunca gerginliği korumak ve komşu hücre yüzeylerin düzleştirilmesini desteklemek için bir çekme kuvveti oluşturur.⁸ Kortikal gerilim ise hücre membranının hemen altında yer alan hücre iskeleti elemanı olan aktomyozinlerin kasılması ile oluşur.^{9,10} Kompaksiyon ile hücreler arası etkileşim artmaktadır. Blastomer sayısı 12-32 olduğunda gelişen yapıya artık morula denir. Yuvarlak şekilli morula fertilizasyondan 3 gün sonra oluşur ve tuba uterinadan uterusu gider. Morula uterusu ulaştıktan kısa bir süre sonra (fertilizasyondan yaklaşık 4 gün sonra) içinde blastokist boşluğu (blastosel) denilen sıvı dolu bir boşluk "blastokist" ile çevrelenir. Uterus kaynaklı salgılar zona pellusidayı aşarak blastoseli doldurur. Blastokist içinde sıvı arttıkça blastomerlerde birincil hücre soy farklanması izlenir. Birincil hücre soy farklanmasında; hippo sinyal yolağı aktive olarak hücre soyuna özgü transkripsiyon

faktörleri eksprese olur ve hücre soy kararı verilir.¹¹ Cdx2 ekspresyonu ile trofoblast denilen dış hücre kitlesi (plasentanın embriyonik kısmı), Oct4 ve Nanog ekspresyonu ile de embriyoblast denilen iç hücre kitlesi (embriyonun başlangıcı) şekillenir. İç hücre kitlesi, artık blastokist boşluğuna doğru uzanır, trofoblastlar da blastokistin duvarını oluşturur. Blastokist yaklaşık 2 gün uterin salgılar içinde yüzdükten sonra zona pellusida yavaşça deneyere olur ve kaybolur (5. gün). Zona pellusidanın ayrılması, blastokistin boyutlarının hızla büyümesine neden olur. Blastokist uterus içinde serbestçe yüzerken, uterin bezlerin salgıları ile beslenir. Fertilizasyondan yaklaşık 6 gün sonra (menstrual siklusun 20. günü) blastokist iç hücre kitlesine yakın bölgeden (embriyonik kutup) endometrial epitele yaklaşır ve implantasyon başlar.

Embriyonun Aktivasyonu

Başarılı bir implantasyon için embriyonun yukarıda tarif edilen tüm gelişim basamaklarını başarılı bir şekilde tamamlaması ve embriyonun aktivasyonu gerekmektedir. Blastokist uterusu ulaştığında inaktif, metabolik olarak uyku halinde ve uterusu bağlanma yeteneği bulunmamaktadır. Dormant (uyku halinde) blastokistlerdeki trofoblastların ultrastrüktürel incelemesinde ribozomların monozom halinde, ER daha az girintili ve golgi cisimciği iyi gelişmemiş durumda olduğu, metabolizma hızının düşük, otofajinin yüksek olduğu gözlenmiştir. Aktif blastokistlerde ise, mitokondri enerji metabolizmasında ve endozom-lizozom fonksiyonunda artışa bağlı olarak, trofoblast sitoplazmasında multiveziküler cisimcik artışı, biriken glikojen granülleri ve daha fazla mikrovillus içeren düzensiz yüzey özellikleri gözlenmiştir.^{3,12,13}

Blastokist aktivasyonunda 3 sinyal yolağı rol oynar; bunlar steroid sinyalleri, kanabinoid sinyal ve Wnt sinyal yollarıdır.

Östrojen implantasyon için blastokist aktivasyonunu tetikler, fareler üzerinde yapılan çalışmada endojen östrojenin bir katekol metaboliti olan 4-hidroksi östradiol (4-OH-E2)'ün, prostaglandin sentezini stimüle ederek blastokist aktivasyonunu başlatmada etkili olduğu, ancak uterusun implantasyon için hazırlanmasında ise nükleer reseptörlü

östradiol -17 (E2)'nin etkileşiminin gerektiği gösterilmiştir.^{14,15}

Endokanabinoid sinyalizasyonu preimplantasyon embriyo gelişiminde ve embriyoların uterusu zamanında yönlendirilmesinde önemli lipit aracılı bir yoldur. Preimplantasyon sürecinde uterusu endojen kanabinoid ligandlarından anandamid ve 2-anasidonol gliserol bulunurken; embriyoda ise CB-1 ve CB-2 kanabinoid reseptörleri ekspres edilir. Nonreseptif uterus ve dormant blastokistte CB1 ve ligandı yüksek düzeyde görülürken, uterus reseptif ve blastokist aktive iken seviyeleri düşmektedir. Başarılı gebelik için implantasyon sırasında anandamid seviyelerinin düşük olması gerekir.¹⁶

Kanonik Wnt sinyalizasyonu, implantasyon sırasında blastokist yetkinliğinde rol oynar. Wnt-3a; trofoektoderm hücrelerde beta katenin nükleer translokasyonu, hücre içi birikimi ve prostasiklin için nükleer reseptör olan PPAR gama (peroxisome-proliferator-activated receptor-gama)'nın ekspresyonunu indükler. Kanonik Wnt sinyalizasyonu prostaglandin ile sinerji oluşturarak blastokistte implantasyon yetkinliği kazandırır.¹⁷

Embriyo tarafından salınan bazı moleküller de blastokist aktivasyonu destekler. HB-EGF (Heparin Binding EGF-like Growth Factor)'nin, dormant (inaktif) blastokistlere kıyasla, blastokist aktivasyonu sırasında önemli derecede arttığı gözlenmiştir. Ayrıca, aktive blastokistlerde HB-EGF'in bağlandığı reseptörleri olan ErbB1 ve ErbB4 ekspresyonunda ve ligand bağlama aktivitesinde artış saptanmıştır.¹⁸

ENDOMETRİYUM

Endometriyumun İmplantasyona Hazırlanması

Ovulasyondan yaklaşık 7-8 gün sonra endometriyumun implantasyona hazırlanması ovaryan steroidler aracılığıyla gerçekleşir. Proliferatif fazın dominant hormonu östrojen (E2) iken, sekretuar faz sırasında endometriyumda belirleyici hormon progesteron (P4)'dur. E2; endometriyum luminal ve glandular epitel ve stromada mitotik aktiviteyi artırır, implantasyona hazırlık amaçlı fonksiyonel tabakayı kalınlaştırmaktadır. E2'nin uyardığı 3 önemli sinyal yolağı vardır. Bunlar; Ras/MAPK, PI3K/Akt ve Wnt/beta katenin yolağıdır. P4 etki-

siyle endometrial bez ve arterler uzayarak kıvrımlı hal alır, endometrial stroma vasküler ve ödemli olup desidualizasyon gerçekleşir. Desidualizasyon; endometrial stromal hücrelerinin desidual hücrelere farklılaşmasıdır. Bu hücrelerin görevi; embriyo invazyonunu düzenlemek, embriyo gelişimini desteklemek, immün yanıtı modüle etmek ve anjiogenezi desteklemek için büyüme faktörleri ve sitokin kaynağı sağlamaktır. P4, 2 reseptör ve 2 farklı sinyal yolağına sahiptir. Epitelyal hücrelerde PRB (Progesteron Reseptör B)'i ekspres ederken, stromal hücrelerde baskın olan PRA (Progesteron Reseptör A)'dır. PRA; FGF (fibroblast büyüme faktörleri)ni üretir, epitelyal hücrelerde çoğalmayı sağlarken, PRB ise; Ras/Raf1/MAPK yolunu aktive ederek desidualizasyonu uyarır.

İmplantasyon öncesi luminal epitelde önemli değişiklikler meydana gelir. Epitel hücreleri apikal-bazal polaritesi belirginliğini kaybeder, özgün gap junctionlar oluşur, desmozom ve sıkı bağlantılar azalır, hücreler yassılaştır, mikrovilluslarını kaybeder ve yerini pinopodlar alır, progesteron artışıyla müsin tabaka kalkar, e-kadherin, integrin 4, 6, 1 apikal yüzeyde ekspres olur.^{19,20}

Bazal ve lateral plazma membranda da önemli değişiklikler izlenir; sıkı bağlantılar luminal epitelde daha aşağı seviyeye geçer, klaudin 1, 4, 5 proteinleri lateral hücre sınırlarının alt kısımlarında konsantre olur, desmozomlar azalır, bazal lamina kalınlığı artar, terminal ağ kaybolur.²¹

Endometriyumun reseptivite kazanması; P4 ve E2'nin koordineli bir şekilde artışı ile gerçekleşir.²² E2, luteal faz boyunca P4 yanıtı için gereklidir, çünkü PR ekspresyonu, endometrial hücrelerde ER alfa aracılığı ile uyarılır. Tersine, ER alfa ekspresyonu, nükleer PR'ler aracılığıyla P4 tarafından inhibe edilir. E2 ve P4'ün karşılıklı etkisi sonucu, implantasyon bölgesinde endometrial damar geçirgenliğinde artış izlenir ve endometrial dokuda "implantasyon penceresi" denilen değişiklikler ortaya çıkar.²³⁻²⁵

Endometriyum Reseptivitesi

İmplantasyon penceresi, uterusun embriyoyu kabul etme yeteneği (reseptivitesi) kazandığı, 28 günlük menstrual siklusun 20-24. günlerine denk

gelen dönem (LH pikinden 5-10 gün sonra) veya ovulasyondan 6-8 gün sonraki 4 günlük dönem şeklinde tanımlanmaktadır. Bu dönem, blastokist implantasyonu için endometriyumun en uygun gelişmiş fazıdır. Bu dönemin dışında implantasyon olanaksızdır. Uterus reseptivitesi, vaskülaritesi artmış stromaya, endometriyum bezlerine ve endometriyumun lümenini döşeyen epitel hücrelerinin apikal yüzeylerinde bulunan mikro çıkıntılara yani pinopodlara bağlıdır.²⁶

Ovaryan steroidlerin etkisi ile implantasyona olan uterin sensitivite değişimi 3 fazda incelenebilir: a) Prereseptif dönem, b) Reseptif dönem (İmplantasyon dönemi) c) Non-reseptif dönem.^{19,27}

Prereseptif dönem; ovaryan steroidleri tarafından kontrol edilen endometriyumda epitelyal farklılaşma izlenir. Endometrial stromada “ön desidualizasyon” diye adlandırılan progesteron bağımlı morfolojik değişiklikler gözlenir. Östrojeninin küçük piki ile endometriyum, embriyo ile adezyon yeteneği kazanarak reseptif faza girer. Blastokist, endometriyuma bağlanma yeteneği yani “blastokist aktivasyon”u kazanır. Luminal epitel hücrelerinin plazma membranlarındaki mikrovilluslar kaybolur ve pinopod (endometriyum reseptivite belirteci) denilen geniş membran uzantıları gelişir, uterus blastokist adezyonu ile blastokisti çevreleyen stromal hücreler “desidualizasyon” olarak adlandırılan poliploid şekle sahip stromal hücrelere farklanır. Uterusun reseptif fazı geçicidir ve blastokist adezyonu gerçekleşmezse; endometriyum, non-reseptif faza girer. Bu nedenle, endometriyum sonuçta “implantasyon penceresi” denilen kısıtlı süre blastokist adezyonuna izin verir. Bu olay dizisi, implantasyonu başlatmak için kritik öneme sahiptir.²⁸

Endometriyum reseptivitesinin morfolojik belirteci; pinopodlardır. İmplantasyonda epitelyal hücreler mikrovilluslarını kaybeder, onun yerine geniş ve düz membran uzantıları gelişir, implantasyon penceresini lokalize eder.²⁹ Ekspresyonları; implantasyon penceresi döneminde kısa süreli maksimum seviyede izlenir. Pinopodların üzerinde blastokist adezyonunda rol alan reseptörler bulunur. Pinopodlar P4 hormonuna bağımlıdır, menstrual siklusun mid-luteal fazda progesteron seviyesinin yükselmesi ile pinopodların ilk ortaya

çıkışı arasındaki ilişki gözlenmiştir.³⁰ Ayrıca endometrial reseptivite için ekspresyonu gereken homeobox geni HOXA-10, pinopod gelişiminde önemli role sahiptir.³¹

İnfertilite nedeniyle kliniğe başvuran hastalarda endometriyum reseptivitenin değerlendirilmesi oldukça önemlidir. Reseptivitenin biyokimyasal belirteçleri olarak HB-EGF, $\alpha 5$ - $\beta 3$ integrin, Lösemi inhibitör faktörü (LIF), İnsülin benzeri büyüme faktörü II (IGF-II), kalsitonin, HOXA-10 transkripsiyon faktörü, L-selektin ve L-selektin ligandı kullanılmaktadır.³²

Endometrial reseptivitenin tanımlanmasında ayrıca klasik patoloji (Noyes kriterleri), immünohistokimya (BCL-6, integrin, p27, siklin E), ERA (Endometrial Receptivity Analysis) yöntemleri de kullanılabilir.³³

EMBRİYO VE ENDOMETRİYUM ETKİLEŞİMİ (CROSS-TALK)

İmplantasyon; embriyo ve endometriyumun aktif olarak eş zamanlı katıldığı dinamik bir hazırlık ve karşılaşma süreci sonunda embriyonun uterus duvarına tutunup gömülme işleminin tamamlanması olayıdır. Temel olarak 3 evrede gerçekleşir (Şekil 1);

1) Apozisyon; blastokist zona pellusidasından ayrılır, uterusa ulaşması ve implantasyonun gerçekleşeceği uygun yeri seçmesi, stabil olmayan tutunmasıdır.

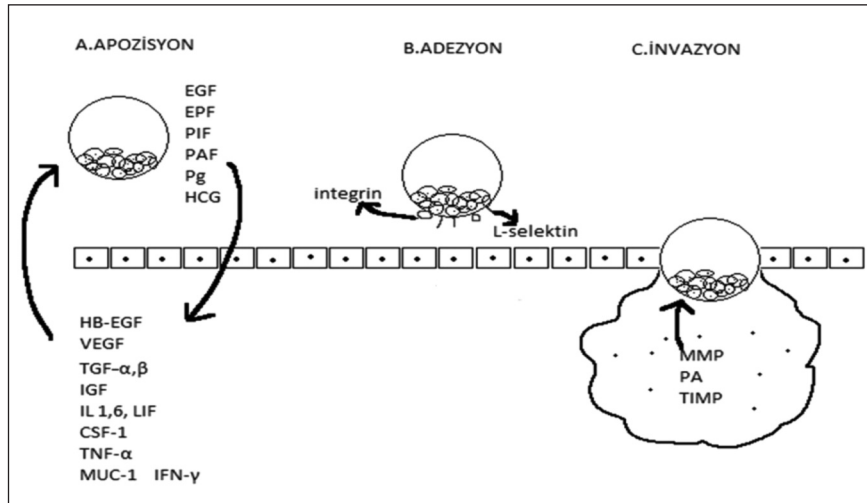
2) Adezyon; ovulasyondan 7-8 gün sonra zonasından ayrılmış blastokistin endometrial epitel yüzeyine bağlanması, stabil tutunmasıdır.

3) İnvazyon; embriyonik trofoblastın endometriyuma penetre olması, bazal membranı yok ederek stromaya invazyonudur.³⁴

Apozisyon

Fertilizasyondan yaklaşık 6 gün sonra blastokist implantasyonun gerçekleşeceği uygun yeri seçer ve implantasyonun gerçekleşeceği bölgeye doğru yakınlaşmaya başlar. Blastokist ile endometrial lümen epiteli yakın temasını devam ettirir.

Apozisyon döneminde endometriyumdan ve embriyodan eş zamanlı olarak çok sayıda mediatör salgınır. Bu sinyaller uterusun non-reseptif aşamadan reseptif aşamaya geçişini sağlayarak, implan-



ŞEKİL 1: İmplantasyonun moleküler mekanizmasını özetleyen kavram haritası.

tasyon mekanizmasının gerçekleşmesine yardımcı olmaktadır. Bu mediatörler endometriyumdaki ve embriyodan salınanlar olmak üzere iki bölümde incelenebilir (Şekil 1).

Endometriyumdaki salınan moleküller; Epidermal büyüme faktörü (Epidermal Growth Factor, EGF) ailesi; HB-EGF, Dönüştürücü Büyüme Faktörü- α (Transforming Growth Factor- α , TGF- α), Dönüştürücü Büyüme Faktörü- β (Transforming Growth Factor- β , TGF- β), İnsulin-benzeri Büyüme Faktörü (Insulin-like Growth Factor, IGF), Sitokinler (IL-1, IL-6, Lösemi İnhibitör Faktör (Leukemia Inhibitory Factor, LIF), Koloni Stimule Edici Faktör-1 (Colony Stimulating Factor-1, CSF-1), Tümör Nekroz Faktörü- α (Tumour Necrosis Factor- α , TNF- α), Müsin-1 (MUC-1), İnterferon gama (INF- γ)

Embriyodan salınan moleküller; Erken gebelik faktörü (Early Pregnancy Factor, EPF), Preimplantasyon faktörü (Preimplantation Factor, PIF), Trombosit aktivite edici faktör (Platelet Activating Factor, PAF), Büyüme faktörleri, Prostaglandin (PG), ve insan koryonik gonadotropin (HCG).³⁵

HB-EGF (Heparin Bağımlı EGF Benzeri Büyüme Faktörü)

HB-EGF'nin, implantasyon sırasında embriyo-uterus etkileşimlerinin erken döneminde aracı olduğu gösterilmiştir. İnsanlarda, ratlarda ve farelerde; HB-EGF'in uterus reseptivitesi boyunca geçici olarak eksprese edildiği birçok çalışmayla gösterilmiştir.³⁶ HB-EGF gen mutant fareler üzerinde yapılan çalış-

malar, HB-EGF yokluğunun implantasyon başarısızlığına ve gebeliğin gerçekleşmemesine yol açtığı gösterilmiştir.³⁷

HB-EGF, transmembran formunun proteolitik olarak parçalanması ile çözünür formu üretilir. Her iki HB-EGF formu, EGF reseptör ailesinden olan ErbB ve heparan sülfat proteoglikan (HSPG) moleküllerinin hücre yüzey proteinleri ile etkileşebilir, böylece hem blastokist hem de uterusu ErbB1 ve ErbB4 fosforilasyonunu indükler. HB-EGF'nin ErbB1 ile etkileşimi, hücre-hücre adezyonunda ve komşu hücreler arasındaki sinyal iletiminde önemli rol oynar.³⁸

VEGF (Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü)

Özellikle endotel hücreleri için özgül etkilere sahip olan multifonksiyonel bir büyüme faktörü ailesidir. Endotel hücrelerinin proliferasyonuna, migrasyonuna ve differensiasyonuna neden olur. VEGF, hem embriyogenez sırasında, hem de yetişkinde vaskülogenez ve anjiogenez için önemli ve gereklidir.

Anjiogenez; embriyo implantasyonu için zorunlu bir basamaktır ve reseptörleri post-ovuluar ve peri-implantasyon dönemi süresince belirgin olarak artar. Embriyogenez sürecinde VEGF reseptörlerinin anormal ekspresyonu meydana gelirse, bu durum embriyo kaybı ile sonuçlanır. İnfertil ve infertil olmayan kadınların orta-sekretuar fazdaki uterus sıvıda bulunan VEGF düzeyleri karşılaştırıl-

dığında infertil kadınlarda önemli ölçüde azalmış olduğu gösterilmiştir.³⁹

VEGF ekspresyonu uterus luminal epitelde gebeliğin birinci ve ikinci günü yüksek ovaryan östadiol seviyelerine bağlı olarak artmaktadır. Üçüncü günde stromada VEGF seviyesi düşüktür. VEGF dördüncü ve beşinci günlerde luminal epitelde ve periepitelyal stromada artış gösterir. Özellikle blastokistin endometriyum ile temasından 3 gün sonra implantasyon alanındaki epitel ve periepitelyal stromada VEGF ekspresyonu artmaktadır.^{9,10} Fare deneylerinde VEGF'in, endometrial bezlerde de yer aldığı, reseptörlerinin (VEGFR1 ve 2) ise blastokistlerde eksprese olduğu kanıtlanmıştır. Ayrıca endometrial stromal hücrelerde VEGF yapımı ile desidualizasyon arasında pozitif korelasyon mevcuttur.⁹

MUC-1 (Müsin-1)

Müsin 1 (Muc1), çeşitli üreme yolları, meme bezi, akciğer, böbrek, mide ve pankreas dâhil olmak üzere çeşitli organlardaki salgı epitel hücreleri tarafından apikal olarak ifade edilen müsin ailesine ait bir membran glikoproteinidir.⁴⁰ Müsinler hücre yüzeyini enzimatik olarak dirençli hale getirirerek, hücre-hücre ve hücre-ekstraselüler matriks adezyonlarını kısıtlar ve hücreleri, immün sistemden korurlar. Çeşitli türlerde Muc1 uterus epitelinin yüzeyinde ortaya çıkar ve endometriyuma embriyo bağlanmasını bloke eder. İmplantasyon sırasında luminal ve glandular uterus epitelinde hem mRNA hem de protein seviyeleri açısından azalmış Muc1 ekspresyonu gösterilmiş ve bu down regülasyonun implantasyon için gerekliliği vurgulanmıştır. Progesteron tarafından Muc1 ekspresyonu düzenlenir.⁶ Ayrıca, adezyon fazında blastokistlerin varlığı da Muc1 ekspresyonunu etkilemektedir. Yapılan çalışmalar, uterin epitel Muc1'in ekspresyonunun hormonların ve embriyonun koordinasyonu ile düzenlendiğini göstermiştir; bu nedenle, adezyonu önleyici molekül olan Muc1, adezyon fazı sırasında implantasyon bölgesinden uzaklaştırılmalıdır.^{41,42}

Adezyon

Fertilizasyondan yaklaşık 6 gün sonra zonasından ayrılmış blastokistin endometrial epitel yüzeyine

bağlanmasıyla adezyon süreci başlamış olur. Blastokist, embriyoblastın bulunduğu kutuptaki trofoblastlar tarafından endometriyuma yapışır. Bu kutba embriyonal kutup (embriyonal pole), karşı kutba ise abembriyonal kutup (abembriyonal pole) denir. Endometriyum epiteline yapışan trofoblastlar, endometriyuma değer değmez, hızla çoğalmaya başlarlar ve sitotrofoblast ile sinsityotrofoblast olmak üzere iki tabakaya ayrılırlar.¹¹

Blastokistin gömülmesi (implantasyonu), birinci haftanın sonunda başlar ve ikinci haftanın sonuna kadar devam eder. İmplantasyon alanının etrafındaki stromal hücreler, glikojen ve lipidleri depolayarak polihedral görünüm kazanarak desidual hücrelere ayrılır ve invazyon gösteren sinsityotrofoblast hücrelerin yakınında dejenere olurlar. Embriyonik beslenme için zengin kaynak oluşturan bu dejenere hücreler, sinsityotrofoblastlar tarafından kullanılırlar.¹²

Blastokist fertilizasyondan sonra 10. günde alıcı endometriyuma tamamen gömülür.

Adezyon aşamasında izlenen moleküler değişimler implantasyonu destekler. Bu moleküller; sitokinler, MMP (matriks metalloproteinazlar), adezyon molekülleri, ekstraselüler matriks komponentleri ve homeobox genleridir.¹³

Hücre adezyon molekül ailesi; kadherinler, selektinler, Ig süperailisi, integrinlerdir (**Şekil 1**). Bu yüzey ligandları, genellikle glikoproteinler yapısında olup, hücre-hücre yapışmasına aracılık eder. Genel fonksiyonları, doku entegrasyonu, yara iyileşmesi, morfogenez hareketler, hücre göçleri ve tümör metastazıdır.

İntegrinler; luminal ve glandular endometrial epitelde çok çeşitli integrinler tanımlanmıştır. İnsan endometriyumunda tanımlanmış menstrual siklusun 20.-24.günlerinde eksprese olan 3 çeşit integrin (alfa1 beta1, alfa4 beta1 ve alfa5 beta3 integrin) gösterilmiştir. Özellikle alfa5 beta3 integrin'in embriyo adezyonu için reseptör olduğu kanıtlanmıştır.⁴³

Selektinler; uterus duvarıyla blastokist etkileşimlerinin erken aşamalarında yer alır. Bir çalışmada inflamasyon alanına göç eden lökositin endotelde izlediği yola benzetilmiştir. Blastokist de benzer şe-

kilde, başarılı implantasyon için uterusda en doğru alanı selektinler aracılığıyla seçmektedir.⁴⁴

Kadherinler; kalsiyum bağımlı hücre-hücre adezyon mekanizmalarından sorumlu bir glikoprotein grubudur. E-, P-, N- kadherin alt sınıflarına ayrılırlar. İmplantasyonda E-kadherin en çok rol oynayandır.⁴³

Ig süper ailesi üyeleri, homofilik veya heterofilik bağlanma (integrinler için ligand) özellikleri ile hücre-hücre yapışmasına aracılık eder. Hücreler arası adezyon molekülü-1 (ICAM-1 veya CD54), integrinler için bir ligand görevi görmektedir. ICAM-1 etkileşimleri, lökositlerin ve diğer çeşitli immünolojik ajanların transendotelial göçüne aracılık eder. ICAM-1, implantasyon sürecinde endometrial epitelyal hücrelerin apikal yüzeyinde yer alır.⁴⁵

Sitokinler; genel olarak ovaryan steroidler tarafından ekspresyonları düzenlenir ve embriyo büyümesi ve farklılaşmasına ayrıca implantasyon ile ilgili bağışıklık sisteminin düzenlenmesine aracılık ederler. İmplantasyonla ilgili çalışmalarda; CSF-1 ve 2, LIF, PAF, IL-1, IL-6, IL-10, makrofaj uyarıcı protein- α (MSP- α), makrofaj inflamatuvar protein (MIP) 1- β , Inhibin A, IFN- α ve IFN- γ gibi sitokinlerin rol aldığı gösterilmiştir.⁴⁶

$\alpha V\beta 3$ Integrin

Kan damarlarındaki çeşitli hücrelerden (örneğin; endotel hücreleri, düz kas hücreleri, fibroblast, makrofaj ve trombositler), mezenkimden köken alan hücrelerin neredeyse tümünden eksprese edilen çok yaygın integrinlerden birisidir. Birçok biyolojik olaya aracılık ettiği bilinmektedir (örneğin; vasküler düz kas hücrelerinin göçü, kemik matriksine osteoklastların adezyonu, angiogenez ve implantasyon). Ayrıca $\alpha V\beta 3$ integrin, hücre proliferasyonu ve differansiyasyonu arasındaki dengenin düzenlenmesinde rol oynamaktadır.

İmplantasyon penceresi sırasında $\alpha V\beta 3$ integrin uterusun luminal epitelinde ve glandular epitelinde eksprese edilir. Bu periyot maksimum uterin reseptivite ile aynı zamana denk gelir. Integrinlerin ekspresyonu, embriyo-endometriyum etkileşim ve blastokistin başarılı implantasyonu için gereklidir.¹⁴

Çalışmalardan anlaşıldığına göre; implantasyon sırasında fare, tavşan ve insanlarda sekretuar fazda ekspresyonu olan ve $\alpha V\beta 3$ için bir ligand olarak luminal ve glandular epitelin salgısal bir ürünü olan osteopontin yer alır. İnsanlarda ekspresyonu progesteron tarafından düzenlenirken, farelerde östrojen ile ekspresyonu arttırılır. $\alpha V\beta 3$ 'ü bağlayan ve diğer integrinler için bağlanma alanlarına sahip bir Arginin-Glisin-Aspartat (RGD) alanı içerir. Ayrıca trofoektoderm ve maternal epiteldeki reseptörler arasında köprü oluşturabilen homo-oligomerler oluşturur.⁴³

İnvazyon

Başarılı bir implantasyon için embriyonun adezyonundan sonra, invazyon adı verilen kontrollü proteolitik işlemlerle gerçekleşen blastokistin stromaya gömülme aşaması izlenir. İlk olarak bazal membran yıkılmalı, daha sonra trofoblast stromal alana geçerek maternal kan damarlarına penetre olmalıdır. Tüm bunların gerçekleşmesi için proteonazlara (matriks metalloproteinazlar ve plazminojen aktivatörleri) ihtiyaç vardır (Şekil 1).¹⁵

MMP-2 ve 9 (Matriks Metalloproteinaz-2 ve 9)

MMP'ler hücre göçünün yanı sıra hücre dışı matriksin (ECM) yeniden yapılandırılmasında önemli bir rol oynayan çinko bağımlı proteolitik enzimler (endopeptidazlar) ailesidir. Anormal MMP ekspresyonu, otoimmün hastalıklar, kanser, endometriyozis ve diğer iltihaplı hastalıklar patogenezinde rol oynar. MMP'ler üreme sisteminin normal fizyolojisi için çok önemlidir. 20 tip MMP'den MMP-2 ve MMP-9, insan endometrial stromasında bulunan jellatinazlardır. Hem MMP-2 hem de MMP-9, insan embriyo implantasyonu sırasında ECM yeniden düzenlenişinde ana hız sınırlayıcı enzimlerdir.^{45,46} Bununla birlikte, MMP-2 ve MMP-9 hiperaktivitesi, endometrial inflamasyonda görülenlere benzer, istenmeyen bir uterus ortamı ile ilişkilidir, çünkü başarılı implantasyon, MMP'lerin aktivasyonu ve inhibisyonu arasındaki dengeye bağlıdır. Bir çalışmada infertil ve fertil kadınlar karşılaştırıldığında infertil kadınlarda daha yüksek intrauterin MMP-2 ve MMP-9 aktivitesi bildirilmiştir. Bu gözlemlere göre, MMP aktivitesi, implantasyonda uygun olmayan uterus için bir biyo-belirteçtir.⁴⁴

Sonuç olarak bu derlemede, embriyo implantasyon süreci ve bu süreçte rol alan hormonlar ve moleküller hakkında ayrıntılı bilgi verilmiştir. İmplantasyonun moleküler mekanizmasının tam olarak anlaşılması, infertilitenin tanı ve tedavisini geliştirecektir. Birçok infertilite problemi, çeşitli yardımcı üreme teknikleriyle aşılmıştır. Ancak, embriyo implantasyonu hâlâ IVF-ET (İn Vitro Fertilizasyon ve Embriyo Transferi) başarısında önemli bir sınırlayıcı basamak olmaya devam etmektedir. IVF-ET uygulanan hastalarda embriyo kalitesi ve endometrial reseptivitesi gebelik başarısı için iki ana belirleyicidir. Gelişim sürecini tamamlayamamış embriyo veya embriyonun reseptif olmayan endometriyuma aktarılması implantasyon aşamasında başarısızlığa sebep olur ve böylece IVF-ET’de düşük gebelik oranları ile karşılaşılır. Endometrial reseptivite için moleküler ve hücrel mekanizmalara dair bilgilerimiz artmış olmasına rağmen, her bir bireyin reseptivitesinin ne zaman kazanıldığına doğru bir şekilde tanımlanması mümkün değildir. Bu nedenle, endometrial reseptivite tayini yapabilmek için güvenilir biyo-belirteçlerin tespit edilmesi gerekir. Embriyo kalitesini ve endometrial reseptiviteyi saptamak için duyarlı ve invaziv olmayan yöntemler, başarısız implantasyondan

kaynaklı infertilite ile mücadeleye yardımcı olacaktır.

Teşekkür

İngilizce değerlendirmesi için Prof. Dr. Bekir Uğur ERGÜR’e çok teşekkür ederim.

Finansal Kaynak

Bu çalışma sırasında, yapılan araştırma konusu ile ilgili doğrudan bağlantısı bulunan herhangi bir ilaç firmasından, tıbbi alet, gereç ve malzeme sağlayan ve/veya üreten bir firma veya herhangi bir ticari firmadan, çalışmanın değerlendirme sürecinde, çalışma ile ilgili verilecek kararı olumsuz etkileyebilecek maddi ve/veya manevi herhangi bir destek alınmamıştır.

Çıkar Çatışması

Bu çalışma ile ilgili olarak yazarların ve/veya aile bireylerinin çıkar çatışması potansiyeli olabilecek bilimsel ve tıbbi komite üyeliği veya üyeleri ile ilişkisi, danışmanlık, bilirkişilik, herhangi bir firmada çalışma durumu, hissedarlık ve benzer durumları yoktur.

Yazar Katkıları

Fikir/Kavram: Filiz Yılmaz; **Tasarım:** Filiz Yılmaz; **Denetleme/Danışmanlık:** Işıl Tekmen; **Veri Toplama ve/veya İşleme:** Filiz Yılmaz; **Analiz ve/veya Yorum:** Işıl Tekmen; **Kaynak Taraması:** Filiz Yılmaz; **Makalenin Yazımı:** Filiz Yılmaz, Işıl Tekmen; **Eleştirel İnceleme:** Işıl Tekmen.

KAYNAKLAR

- Sengupta J, Ghosh D. Multi-level and multi-scale integrative approach to the understanding of human blastocyst implantation. *Prog Biophys Mol Biol.* 2014;114(1):49-60. [Crossref] [PubMed]
- Matsumoto H, Fukui E, Yoshizawa M. Molecular and cellular events involved in the completion of blastocyst implantation. *Reprod Med Biol.* 2016;15(2):53-8. [Crossref] [PubMed] [PMC]
- Zhang S, Lin H, Kong S, Wang S, Wang H, Wang H, et al. Physiological and molecular determinants of embryo implantation. *Mol Aspects Med.* 2013;34(5):939-80. [Crossref] [PubMed] [PMC]
- Matsumoto H. Molecular and cellular events during blastocyst implantation in the receptive uterus: clues from mouse models. *J Reprod Dev.* 2017;63(5):445-54. [Crossref] [PubMed] [PMC]
- Moore Keith L. *The Developing Human: Clinically Oriented Embryology.* 10th ed. Philadelphia, PA: Elsevier Health Sciences; 2015. p.560.
- Wamaitha SE, Niakan KK. Human pre-gastrulation development. *Curr Top Dev Biol.* 2018;128:295-338. [Crossref] [PubMed]
- Bessonard S, Mesnard D, Constam DB. PC7 and the related proteases Furin and Pace4 regulate E-cadherin function during blastocyst formation. *J Cell Biol.* 2015;210(7):1185-97. [Crossref] [PubMed] [PMC]
- Fierro-González JC, White MD, Silva JC, Plachta N. Cadherin-dependent filopodia control preimplantation embryo compaction. *Nat Cell Biol.* 2013;15(12):1424-33. [Crossref] [PubMed]
- White MD, Bissiere S, Alvarez YD, Plachta N. Mouse embryo compaction. *Curr Top Dev Biol.* 2016;120:235-58. [Crossref] [PubMed]
- Samarage CR, White MD, Álvarez YD, Fierro-González JC, Henon Y, Jesudason EC, et al. Cortical tension allocates the first inner cells of the mammalian embryo. *Dev Cell.* 2015;34(4):435-47. [Crossref] [PubMed]
- Saini D, Yamanaka Y. Cell polarity-dependent regulation of cell allocation and the first lineage specification in the preimplantation mouse embryo. *Curr Top Dev Biol.* 2018;128:11-35. [Crossref] [PubMed]
- Shin H, Bang S, Kim J, Jun JH, Song H, Lim HJ. The formation of multivesicular bodies in activated blastocysts is influenced by autophagy and FGF signaling in mice. *Sci Rep.* 2017;7:41986. [Crossref] [PubMed] [PMC]
- Fu Z, Wang B, Wang S, Wu W, Wang Q, Chen Y, et al. Integral proteomic analysis of blastocysts reveals key molecular machinery governing embryonic diapause and reactivation for implantation in mice. *Biol Reprod.* 2014;90(3):52. [Crossref] [PubMed]
- Saito K, Furukawa E, Kobayashi M, Fukui E, Yoshizawa M, Matsumoto H. Degradation of estrogen receptor α in activated blastocysts is associated with implantation in the delayed implantation mouse model. *MHR: Basic Science of Reproductive Medicine.* 2014;20(5):384-91. [Crossref] [PubMed]

15. Wacławik A, Kaczmarek MM, Blitek A, Kaczynski P, Ziecik AJ. Embryo-maternal dialogue during pregnancy establishment and implantation in the pig. *Mol Reprod Dev.* 2017;84(9):842-55. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)] [[PMC](#)]
16. Correa F, Wolfson ML, Valchi P, Aisemberg J, Franchi AM. Endocannabinoid system and pregnancy. *Reproduction.* 2016;152(6):R191-R200. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
17. Zhang Q, Yan J. Update of Wnt signaling in implantation and decidualization. *Reprod Med Biol.* 2016;15(2):95-105. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)] [[PMC](#)]
18. Jessmon P, Leach RE, Armant DR. Diverse functions of HBEGF during pregnancy. *Mol Reprod Dev.* 2009;76(12):1116-27. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)] [[PMC](#)]
19. Tu Z, Wang Q, Cui T, Wang J, Ran H, Bao H, et al. Uterine RAC1 via Pak1-ERM signaling directs normal luminal epithelial integrity conducive to on-time embryo implantation in mice. *Cell Death Differ.* 2016;23(1):169-81. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)] [[PMC](#)]
20. Davidson LM, Coward K. Molecular mechanisms of membrane interaction at implantation. *Birth Defects Res C Embryo Today.* 2016;108(1):19-32. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
21. Poon CE, Madawala RJ, Dowland SN, Murphy CR. Nectin-3 is increased in the cell junctions of the uterine epithelium at implantation. *Reprod Sci.* 2016;23(11):1580-92. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
22. Hantak AM, Bagchi IC, Bagchi MK. Role of uterine stromal-epithelial crosstalk in embryo implantation. *Int J Dev Biol.* 2014;58(2-4):139-46. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)] [[PMC](#)]
23. Sadler TW. *Langman's Medical Embryology.* 13th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2017. p.424.
24. Makieva S, Giacomini E, Ottolina J, Sanchez AM, Papaleo E, Viganò P. Inside the endometrial cell signaling subway: mind the Gap(s). *Int J Mol Sci.* 2018;19(9). [[Crossref](#)] [[PubMed](#)] [[PMC](#)]
25. da Costa e Silva Rde C, Moura KK, Ribeiro Júnior CL, Guillo LA. Estrogen signaling in the proliferative endometrium: implications in endometriosis. *Rev Assoc Med Bras (1992).* 2016;62(1):72-7. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
26. Herington JL, Guo Y, Reese J, Paria BC. Gene profiling the window of implantation: microarray analyses from human and rodent models. *J Reprod Health Med.* 2016;2(Suppl 2):S19-S25. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)] [[PMC](#)]
27. Tu Z, Ran H, Zhang S, Xia G, Wang B, Wang H. Molecular determinants of uterine receptivity. *Int J Dev Biol.* 2014;58(2-4):147-54. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
28. Egashira M, Hirota Y. Uterine receptivity and embryo-uterine interactions in embryo implantation: lessons from mice. *Reprod Med Biol.* 2013;12(4):127-32. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)] [[PMC](#)]
29. Qiong Z, Jie H, Yonggang W, Bin X, Jing Z, Yanping L. Clinical validation of pinopode as a marker of endometrial receptivity: a randomized controlled trial. *Fertil Steril.* 2017;108(3):513-7.e2. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
30. Mokhtar HM, Giribabu N, Muniandy S, Salleh N. Testosterone decreases the expression of endometrial pinopode and I-selectin ligand (MECA-79) in adult female rats during uterine receptivity period. *Int J Clin Exp Pathol.* 2014;7(5):1967-76.
31. Li F, Zhang M, Zhang Y, Liu T, Qu X. GnRH analogues may increase endometrial Hoxa10 promoter methylation and affect endometrial receptivity. *Mol Med Rep.* 2015;11(1):509-14. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
32. von Grothusen C, Lalitkumar S, Boggavarapu NR, Gemzell-Danielsson K, Lalitkumar PG. Recent advances in understanding endometrial receptivity: molecular basis and clinical applications. *Am J Reprod Immunol.* 2014;72(2):148-57. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
33. Miravet-Valenciano JA, Rincon-Bertolin A, Vilella F, Simon C. Understanding and improving endometrial receptivity. *Curr Opin Obstet Gynecol.* 2015;27(3):187-92. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
34. Achache H, Revel A. Endometrial receptivity markers, the journey to successful embryo implantation. *Hum Reprod Update.* 2006;12(6):731-46. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
35. Paria BC, Song H, Dey SK. Implantation: molecular basis of embryo-uterine dialogue. *Int J Dev Biol.* 2001;45(3):597-605.
36. Yuan J, Deng W, Cha J, Sun X, Borg JP, Dey SK. Tridimensional visualization reveals direct communication between the embryo and glands critical for implantation. *Nat Commun.* 2018;9(1):603. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)] [[PMC](#)]
37. Zhao LH, Cui XZ, Yuan HJ, Liang B, Zheng LL, Liu YX, et al. Restraint stress inhibits mouse implantation: temporal window and the involvement of HB-EGF, estrogen and progesterone. *PLoS One.* 2013;8(11): e80472. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)] [[PMC](#)]
38. Robertson SA, Chin PY, Schjenken JE, Thompson JG. Female tract cytokines and developmental programming in embryos. *Adv Exp Med Biol.* 2015;843:173-213. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
39. Binder NK, Evans J, Gardner DK, Salamonsen LA, Hannan NJ. Endometrial signals improve embryo outcome: functional role of vascular endothelial growth factor isoforms on embryo development and implantation in mice. *Hum Reprod.* 2014;29(10):2278-86. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
40. Inyawilert W, Fu TY, Lin CT, Tang PC. MicroRNA-199a mediates mucin 1 expression in mouse uterus during implantation. *Reprod Fertil Dev.* 2014;26(5):653-64. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
41. Inyawilert W, Fu TY, Lin CT, Tang PC. Let-7-mediated suppression of mucin1 expression in the mouse uterus during embryo implantation. *J Reprod Dev.* 2015;61(2):138-44. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)] [[PMC](#)]
42. Bastu E, Mutlu MF, Yasa C, Dural O, Nehir Aytan A, Celik C, et al. Role of mucin 1 and glycodelin A in recurrent implantation failure. *Fertil Steril.* 2015;103(4):1059-64.e2. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
43. Kang YJ, Forbes K, Carver J, Aplin JD. The role of the osteopontin-integrin $\alpha v \beta 3$ interaction at implantation: functional analysis using three different in vitro models. *Hum Reprod.* 2014;29(4):739-49. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
44. Chen J, Khailil RA. Matrix metalloproteinases in normal pregnancy and preeclampsia. *Prog Mol Biol Transl Sci.* 2017;148:87-165. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)] [[PMC](#)]
45. Bałkowiec M, Maksym RB, Włodarski PK. The bimodal role of matrix metalloproteinases and their inhibitors in etiology and pathogenesis of endometriosis (Review). *Mol Med Rep.* 2018;18(3):3123-36. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)] [[PMC](#)]
46. Thouas GA, Dominguez F, Green MP, Vilella F, Simon C, Gardner DK. Soluble ligands and their receptors in human embryo development and implantation. *Endocr Rev.* 2015;36(1):92-130. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]