

## Foliküler aktivasyonu etkileyen transkripsiyon faktörleri

İlke ÜNLÜSOY<sup>1</sup>, Okan ERTUĞRUL<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Hayvancılık Merkez Araştırma Enstitü Müdürlüğü, Lalahan, Ankara

<sup>2</sup> Ankara Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Genetik AD, Ankara

Geliř Tarihi / Received: 16.08.2012, Kabul Tarihi / Accepted: 04.02.2014

**Özet:** Memelilerde üreme yaşının ilerlemesi ovaryum fonksiyonların kaybını doğurur. Üreme performansının başlıca belirleyicisi, primordial folikül havuzunun büyüklüğü ve bu havuzun yaşam süresidir. Folikül havuzunun büyüklüğünü ve fonksiyonlarını etkileyen birçok faktör vardır. Bu karmaşık mekanizma tam olarak anlaşılamamış olsa da reproduktif yaşın belirlenmesinde bazı transkripsiyon faktörleri etkin bir rol oynamaktadır. Bu derlemede üzerinde çalışmalar yapılmış, foliküler aktivasyonu etkileyen transkripsiyon faktörlerine değinilecek ve foliküler aktivasyon mekanizması aydınlatılmaya çalışılacaktır.

**Anahtar kelimeler:** Folikülogenezis, transkripsiyon faktörleri, ovaryum, oosit

### Transcription factors affecting follicular activation

**Summary:** Aging in mammals causes to loose ovarian functions. The main marker of productivity is vast of primordial follicle pool and lifetime of this pool. Vast of follicle and functions are affected by many factors. Even this complicated mechanism is not understood exactly for determination of reproductive age some transcription factors have an effective role. In this review, transcription factors that have been studied and have an effect on follicular activation will be dealt with and mechanism of follicular activation will be clarified.

**Key words:** Folliculogenesis, transcription factors, ovarium, oocyte.

### Giriř

Oositler doğumdan önce üreme çağına gelip folikül havuzundan seçilinceye kadar primordial foliküller içinde tutulur ve ovaryumda uzun bir süre istirahat beklerler (20). Bu yüzden foliküller büyüme aktivasyonu, dişi üreme potansiyelini kontrol eden başlıca biyolojik kontrol noktasıdır. Fakat folikülogeneziste sadece hücresel gelişim açıklanabilmektedir. Fertilizasyon için fonksiyonel oositlerin zamanında dağıtımını garanti eden moleküler mekanizmanın anlaşılması için gerekli hücre içi haberleşme yolları hala büyük oranda bilinmemektedir. Oositi aktive eden ve durduran hücreler arası sinyal sisteminin iyi anlaşılması dişilerin yavru veriminin artırılmasında ve üretkenliğin süresini uzatmada kritik bir önem taşımaktadır. Ayrıca evcil hayvan yetiştiriciliğinde ve yaban hayvanların popülasyonunun kontrolünde uygulanabilirlik oluşmasını sağlayacaktır (15).

Ovaryum fizyolojisinin bu temel mekanizmasının daha iyi anlaşılabilmesi evcil hayvanların üret-

kenliğı için biyoteknolojik olarak ilerlemeyi, nesli tükenmekte olan yerli ırkların üretkenliğinin sürdürülmesini ve zararlı hayvanların kontrolünde insanlı yeni gelişmeleri sağlayacaktır (14, 18). Aynı şekilde yeni anlayışların prematüre ovaryum hastalığı (POF) bulunan kadınların sağıklı üremenin gerçekleştirilmesi için tedavide bir potansiyel oluşturacağı da bildirilmiştir (15).

### Foliküler Aktivasyonun Mekanizması

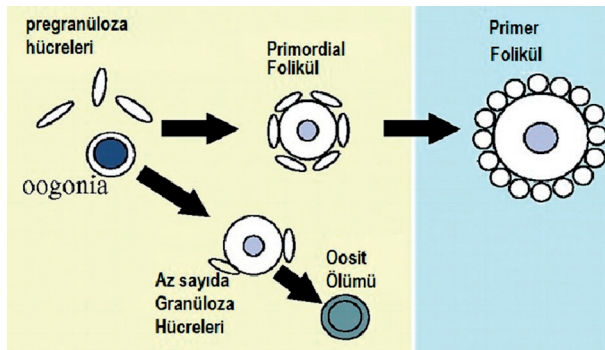
Folikülogenezis, folikülün primordiyal fazdan başlayarak morfolojik olarak belirlenen primer, preantral ve antral fazları geçerek graaf veya preovulatuvar folikül fazıyla sonuçlanmasıdır. Folikülogenezis sırasında oositler büyürken granüloza hücreleri de çoğalır ve farklılaşır. Primordial kök hücreler intrauterin folikülogenez sırasında çap olarak büyür ve mayotik olgunlaşmaya doğru gider. Bu işlev, primordial kök hücrelerinin mayoz I'ın profaz aşamasında durması ile sonuçlanır. İntrauterin dönemde overlerde profaz I'de tutulan her oosit, pregranüloza

hücrelerinden oluşmuş tek katlı yassı hücre tabakası ile çevrilidir. Puberteden sonra gonadotropinlerin etkisi ile foliküllerin büyüme hızı artar ve granuloza hücreleri arasında birtakım boşluklar şekillenerek antral foliküllerin oluşumu gerçekleşir (4).

Primordial folikülün ilk aktivasyonunu kontrol etmek için oosit ve bunu çevreleyen somatik hücreler arasında hücre içi haberleşmeyi sağlayan bazı sitokinlerin ve büyüme faktörlerinin dâhil olduğu sinyal sistemi vardır (5, 8, 23).

Memelilerde oositler, gelişimin erken döneminde oogoniya (oositi oluşturacak kök hücreler) dönüşmek için gonadlara göç eden primordial kök hücrelerden (PKH) köken alarak gelişmektedirler. Fötal ve neonatal dönemde pregranuloza hücrelerin primordial folikül oluşturmak için gelişmesiyle folikülogenezis başlar (15).

Primordial hücre havuzundan bazı foliküller hormon ve enzimler aracılığı ile uyarılarak sırasıyla primer, sekonder ve antral faza girmek için gelişmektedirler (23). Bu gelişim sırasında oosit aşama aşama büyür, zona pellucida üretilmeye başlar ve oositin çevresi granuloza hücresiyle sarılır. Antral folikül gelişiminin son aşamasına kadar oositler mayozu devam edebilecek hale gelmektedir (28). Ovulasyondan önce, ani LH (Lüteinleştirici Hormon) artışı nükleer olgunlaşmayı sağlar ve ilk mayotik bölünme tamamlanır. Bu safhada birinci polar hücre oluşur ve oositler Mayoz II'nin metafazında tekrar dinlenme fazına geçer (7).



**Şekil 1.** Oogonia ve pregranuloza hücrelerinden hücreli primordial folikül oluşumu. Çok az granuloza hücresine sahip oositlerin ölümü ve yeteri kadar granuloza hücresine sahip oositler primordial folikül oluştururlar (22 nolu kaynaktan uyarlanmıştır).

## Foliküler aktivasyonda rol alan transkripsiyon faktörleri

Transkripsiyonda ve bunun düzenlenmesinde rol oynayan özel protein faktörleridir. DNA üzerinde özel bölgelere bağlanarak başka faktörlerle ya da RNA polimeraz ile etkileşime geçerler ve transkripsiyonu başlatırlar. Bu transkripsiyon faktörleri proteinin yapısına göre sınıflara ayrılırlar. Birçok transkripsiyon faktörü transkripsiyonu aktive ederken bazıları ise inaktive etmekle görevlidir (12).

### 1. FIGLA (Factor In the Germline)

Primordial folikül oluşumunda rolü olan ilk transkripsiyonel faktör  $\alpha$  kök hücre hattı olduğu (Fig  $\alpha$  yada FIGLA) ve Zona Pellucida (ZP) hücrelerinden eksprese edilen genlerin ifadenmesini kontrol ettikleri bildirilmiştir. FIGLA temel helix-loop-helix yapısına sahip bir transkripsiyon faktörüdür ve E-box motifine bağlanarak Zona Pellucida hücrelerinden eksprese edilen genlerin transkripsiyonunu düzenledikleri belirtilmiştir (13).

FIGLA, ZP transkripsiyonun başladığı yerin yaklaşık 200 baz yukarısındaki promotöründe yer alan E-box motifine heterodimer olarak bağlanmaktadır (17,23). FIGLA'nın farelerin embriyonik döneminin en erken 13. gününde salgılandığı belirtilmiştir. FIGLA'dan yoksun farelerde embriyonik gonadların doğuma kadar normal görünseler de primordial folikül formasyonu ardından bloke oldukları ve oositlerin birkaç gün içinde kayboldukları bildirilmiştir (24). FIGLA'nın erken folikülogenezis aşamasında kritik bir transkripsiyon faktörü olmasından dolayı ZP1,2,3 genlerinin FIGLA'dan yoksun farelerde ifade edilemediği belirtilmiştir (17).

Oosit tarafından sentezlenen FIGLA aracılığıyla primordial folikül formasyonunu oluşturmaktadır. Homozigot olarak FIGLA'dan yoksun erkek fareler fertil olurlarken, dişi farelerin fenotipik analizinde sterilite gözlenmiştir. Bu dişi farelerin ovaryumlarının histolojik değerlendirilmesinde üreme hücresinin bulunmadığı ve bu durumun üreme hücre yuvalarının yıkılmasından ve folikül oluşturmadaki yetersizlikten kaynaklandığı bildirilmiştir. Yani embriyogenesiz dönemde oositlerin mayozun diploten aşamasına geçemedikleri ve bu üreme hücrelerinin öldüğü saptanmıştır (24).

## 2. FOXO3

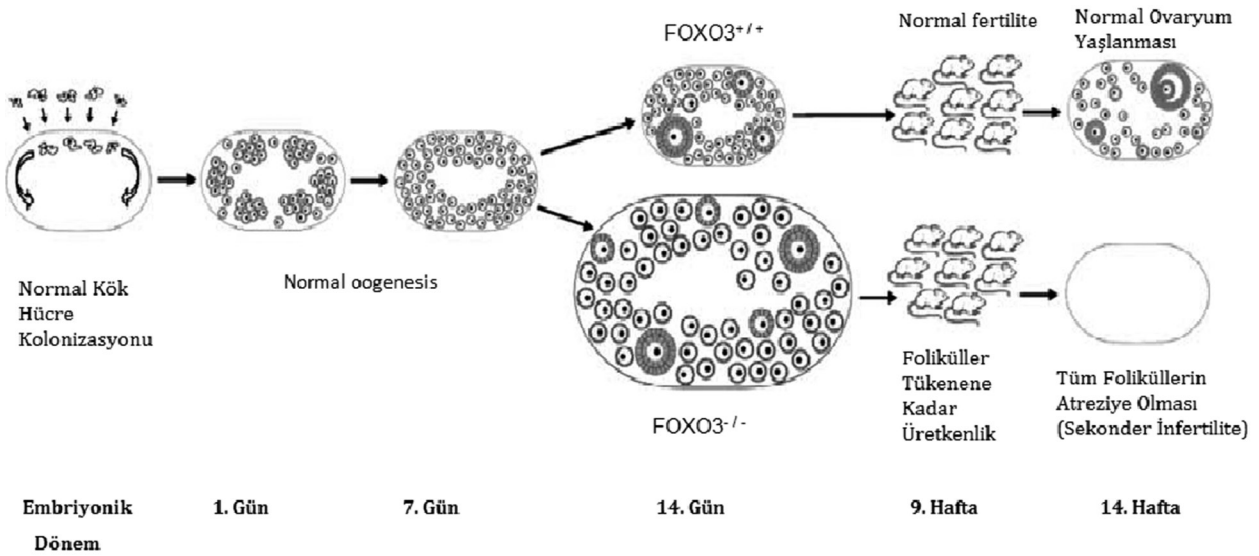
Farede 10. kromozom üzerinde, insanda ise 6. kromozom üzerinde yer alan FOXO (1) forkhead transkripsiyon ailesinin bir üyesidir. İnsanda 100'den fazla FOXO üyesi bulunmaktadır (2, 15). Forkhead ailesine ait (şimdi FOXA olarak sınıflandırılmaktadır) ilk kez *Drosophilalar*'da keşfedilen bir FOXO üyesinde var olan bir mutasyonun çatal şeklinde kafa görünümü oluşturduğundan ismini buradan almaktadır. FOXO3'den yoksun dişi farelerde yaşa bağlı olarak infertilite şekillendiği belirtilmiştir (2).

FOXO3'ün embriyogenesis, tümorogenesis ve hücre döngüsünün durdurulması ve apoptozis durumları gibi birçok hücrel farklılaşmada rol aldığı bildirilmektedir (10). Granüloza hücrelerinde sentezlendiği belirlenen FOXO3'ün aracı olduğu ve primordial folikül seçiminde baskılayıcı etkisi

olan mekanizma hala tam olarak açıklanamamıştır (15).

Folikül gelişimi geri dönüşümsüz olduğundan, primer folikül aktivasyonunu düzenleyen mekanizma her östrus döngüsü boyunca bazı foliküllerin gelişimini garanti etmek, aynı zamanda primordial foliküllerin olgunlaşmadan tükenmesini ve üreme yaşının çabuk ilerlemesine de engel olmak zorundadır (9).

FOXO3'ün primordial folikül gelişimde önemli bir role sahip olduğu bildirilmiştir. Karakteristik ovaryum hiperplazi sendromu ve erken folikül tüketimi ile sonunda prematüre ovaryum başarısızlığıyla (POF) sonuçlanan FOXO3'den yoksun ovaryumlar içindeki primer foliküller doğumdan birkaç gün içinde toplu halde aktive olurlar (3, 9).



**Şekil 2.** FOXO3'den yoksun farelerin ovaryum gelişimi. 14. Günde ovaryum boyutunda ani artış ve ovaryumun tamamında aktivasyon gözlenir. Buna rağmen bazı foliküller yavru için yeterlilik gösterirler. 15'inci haftaya kadar tüm foliküller atreziye olur ve folikül havuzunun tükenmesiyle prematüre ovaryum yetersizliği (prematüre ovarian failure) (POF)) şekillenir (9 nolu kaynaktan uyarlanmıştır).

## 3. FOXL2

FOXL2 ovaryumların somatik hücrelerinden salınırlar (9). Forkhead transkripsiyon faktörü ailesinden olan FOXL2'nin de folikül gelişimine dâhil olduğu belirtilmiştir (17). Primordial ve primer folikül formasyonunda önemli oldukları belirtilmiş ayrıca insan FOXL2 geni üzerindeki mutasyonlar

insanda göz kapağı anomalileri ve prematüre ovaryum yetmezliğine (POF) sebep olmaktadır (9). FOXL2'den yoksun dişi farelerin geniş çaplı foliküller atreziden dolayı steril oldukları belirtilmiştir (21, 26). FOXL2'den yoksun farelerde FIGLA, GDF9 ve KIT sentezlenmesinin etkilenmediği bildirilmiştir (17).

#### 4. FOXC1

FOXC1 forkhead transkripsiyon ailesinin winged-helix yapısında olan bir transkripsiyon faktörüdür ve bunun görevindeki aksama PKH'nin oluşumunu etkilememektedir. Ancak PKH'lerin göçünün aksamasının genital kabartıyı oluşturan hücre popülasyonunun çevresindeki bozukluklarından kaynaklandığı belirtilmiştir. Önceleri ovaryum içinde PKH'ler normal olarak çoğalsa bile, bunu destekleyen dokuların doğru biçimde düzenlenmediği ve primordial foliküller doğru organize olmadığı bildirilmiştir. Bu mutantların doğumda öldükleri fakat ovariektomi edilen dişilerin transplante edilen ovaryumlarının folikülogenezise gittikleri belirtilmiştir. Fakat granüloza hücrelerinin ve teka hücrelerinin iyi organize olmadığı ve antrumun şekillenmediği görülmüştür (15).

#### 5. NOBOX (Newborn Ovary Homeobox)

NOBOX homeobox genidir ve özellikle oositlerden salınırlar. Farelerde oosite özgü genlerin düzenlenmesinde rol oynadıkları belirtilmiştir (6). NOBOX'un in silico görüntüleme tekniği kullanılarak özellikle yeni doğanların ovaryumunda sentezlendiği belirlenmiştir (17). NOBOX eksikliğinde FIGLA'da gözlenen aynı erken folikülogenezis hatası gözlenmiştir. NOBOX'dan yoksun oositlerde histolojik olarak primordial folikül gözlenmekte, fakat çapının 20µm'ye çok ender çıkabildiği ve oosit etrafını saran somatik hücrelerin sayısının 7'yi nadiren aşabildiği belirlenmiştir (19). Oysa primordial foliküller aşağı yukarı 24 düz ve kübik granüloza hücrelerinden oluşmaktadır (27). Tıpkı FIGLA'dan yoksun knockoutlar gibi NOBOX'dan yoksun knockoutların da oositlerini hızla kaybettikleri ve doğumdan iki hafta sonra ovaryumlarında sadece birkaç tane dejenere olmuş oosit olduğu gözlenmiştir. Nobox knockout ovaryumlarında KITL ve KIT'in sentezlendiği bildirilmiştir (17). Dahası BAX, BCL2, BCL2L2, CASP2, MLH1 ve MSH5 gibi mayoziste ve ooptoziste görev yapan genlerin de Nobox knockout farelerde sentezlendiği saptanmıştır. Fakat özellikle oositlerden sentezlenen POU5F1, GDG9, BMP15, RFPL4, H100, ZAR1 ve MOS, NOBOX eksikliğinde yeni doğanların ovaryumlarında ani olarak azaldığı belirlenmiştir (19).

#### 6. POU5F1

OCT-4 (Octamer-binding transcription factor 4) olarak da bilinen POU5F1 (POU domain, class 5, transcription factor 1) bir transkripsiyon faktörü proteindir (25). Farklılaşmamış embriyonik kök hücrenin kendini yenilemesine etkindirler ve bu nedenle farklılaşmamış hücrelerin belirteci olarak kullanılırlar. Çok az ya da çok fazla salınmaları hücrelerin farklılaşmasına sebep olmaktadır (16).

Bu proteinin gerçek rolü tam açıklanamasa da, son zamanlarda oogenesis üzerinde bir rolü olduğu düşünülmektedir (17). Primordial kök hücreleri (PKH) içinde sentezlenmekte ve oositin mayotik profaz I' inin başlamasından sonra baskılanmaktadır. Doğumdan sonra ise tekrar sentezlendikleri ve salınımlarının oositlerin büyüme periyodu ile örtüştüğü belirtilmiştir. POU5F1'den yoksun farelerin embriyonik dönemde ölümü şekillendiği, ancak doğumdan sonra ovaryumlardaki görevinin pek bilinmediği bildirilmiştir. Ancak knockout farelerde POU5F1'nun PKH'nin hayatta kalması ile ilgili bir role sahip olduğu belirtilmiştir. Knockoutların doğduklarında biraz primordial folikül içerdikleri ancak zamanla bunları kaybettikleri, altıncı haftada hemen hemen tamamının yok olduğu gözlenmiştir. Bu durumun gonadların kolonizasyonunda öncülük eden PKH'lerin prematüre apoptozisi ile sonuçlanan POU5F1 eksikliğinden kaynaklandığı bildirilmiştir (11).

#### Sonuç

Bir oositin gelişimi için çevresindeki somatik hücrelerle koordineli çalıştığı açıktır. Bu koordinasyonun tüm haberleşme sistemi, hücresel ve hormonal aktivasyonu tam olarak açıklığa kavuşmuş değildir. Bu sistemin daha iyi anlaşılması için diğer faktörler gibi transkripsiyon faktörlerinin de üzerinde durulması yavru verimi üzerine etkili olan genlerin belirlenmesine katkı sağlayacaktır. Yavru veriminin artması en çok çiftlik hayvanları için istenilen bir durumdur. Bu yüzden bu tür çalışmaların sadece laboratuvar hayvanları üzerinde değil, çiftlik hayvanları üzerinde de yapılması gerekmektedir. Yavru veriminin kontrolü ile çiftlik hayvanlarında üretkenliğin artması, dolayısıyla et, süt ve diğer verimlerinin

artması da sağlanacaktır. Bir batında doğacak yavru sayısının artması daha fazla et, süt ve yapağı anlamına gelir. Ayrıca nesli tükenen hayvanların düzgün bir organizasyonla tekrar kazanılmasını sağlayacak, çoğalması istenmeyen hayvanların ise daha etkili ve acısız yöntemlerle kontrol altına almayı mümkün kılacak ve ıslah çalışmalarının daha kısa sürede sonuca ulaşmasını sağlayacaktır.

## Kaynaklar

1. **Anonim** (2012): Mus musculus forkhead box O3 (Foxo3), mRNA Erişim Adresi: [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide/NM\\_019740.2](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide/NM_019740.2) Erişim Tarihi: 10.08.2012
2. **Carter ME, Brunet A** (2007): FOXO Transcription Factors. *Current Biology*. 17 Issue 4, Pages R113-R114
3. **Castrillon DH, Miao L, Kollipara R, Horner JW, DePinho RA** (2003): Suppression of ovarian follicle activation in mice by the transcription factor FOXO3A. *Science* 301 215-218.
4. **Çelik Ö, Yıldırım A** (2010): Folikülogenezisin Moleküler Temelleri. İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi 17 (1) 59-63
5. **Gilman A, Goodman LS, Hardman JG, Limbird LE** (2001): Goodman, Gilman's the pharmacological basis of therapeutics. New York: McGraw-Hill
6. **Huntriss J, Hinkins M, Picton HM** (2006): cDNA cloning and expression of the human NOBOX gene in oocytes and ovarian follicles. *Molecular Human Reproduction* 12 (5) 283-389.
7. **Hutt KJ, Albertini DF** (2007): An oocentric view of folliculogenesis and embryogenesis. *Reproductive Biomedicine Online* 14 758-764.
8. **Hutt KJ, McLaughlin EA, Holland MK** (2006): KIT/ KIT Ligand in mammalian oogenesis and folliculogenesis: Roles in rabbit and murine ovarian follicle activation and oocyte growth. *Biology of Reproduction* 75 421-433.
9. **John GB, Shirley LJ, Gallardo TD, Castrillon DH** (2007): Specificity of the requirement for FOXO3 in primordial follicle activation Society for Reproduction and Fertility DOI: 10.1530/REP-06-0051 ISSN 1470-1626.
10. **Kaufmann E, Knochel W** (1996): Five years on the wings of fork head. *Mechanisms of Development* 57 3-20.
11. **Kehler J, Tolkunova E, Koschorz B, Pesce M, Gentile L, Boiani M, Lomeli H, Nagy A, McLaughlin KJ, Scholer HR** (2004): OCT4 is required for primordial germ cell survival. *EMBO Reports* 5 1078-1083.
12. **Latchman DS** (2008): Eukaryotic Transcription Factors. P: 96-98 In: Regulation of Transcription Factor Synthesis. Fifth Edition, Elsevier, Great Britain, ISBN: 978-0-12-373983-4
13. **Liang L, Soyal SM, Dean J** (1997): FIGalpha, a germ cell specific transcription factor involved in the coordinate expression of the zona pellucida genes. *Development* 124: 4939-4947.
14. **McLaughlin EA, Holland MK, Aitken RJ** (2003): Contraceptive vaccines. *Expert Opinion on Biological Therapy* 3: 829-841.
15. **McLaughlin EA, McIver SC** (2009): Awakening the oocyte: controlling primordial follicle development. *Society for Reproduction and Fertility* ISSN 1470-1626
16. **Niwa H, Miyazaki J, Smith AG** (2000): Quantitative expression of OCT-3/4 defines differentiation, dedifferentiation or self-renewal of ES cells. *Nature Genetics* 24 (4) 372-376.
17. **Pangas SA, Rajkovic A** (2006): Transcriptional regulation of early oogenesis: in search of masters. *Human Reproduction Update* 12 (1) 65-76,
18. **Pukazhenthi B, Comizzoli P, Travis AJ, Wildt DE** (2006): Applications of emerging technologies to the study and conservation of threatened and endangered species. *Reproduction, Fertility, and Development* 18 77-90.
19. **Rajkovic A, Pangas SA, Ballow D, Suzumori N, Matzuk MM** (2004): NOBOX deficiency disrupts early folliculogenesis and oocyte-specific gene expression. *Science* 305: 1157-1159
20. **Reynaud K, Driancourt MA** (2000): Oocyte attrition. *Molecular and Cellular Endocrinology* 163: 101-108.
21. **Schmidt M, de Mattos SF, van der Horst A, Klompaker R, Kops GJ, Lam EW, Burgering BM, Medema RH** (2002): Cell cycle inhibition by FOXO forkhead transcription factors involves downregulation of cyclin D. *Molecular and Cellular Biology* 22: 7842-7852.
22. **Spears N, Molinek MD, Robinson LLL, Fulton N, Cameron H, Shimoda K, Telfer EE, Anderson RA, Price DJ** (2003): The role of neurotrophin receptors in female germ-cell survival in mouse and human. *Development* 130: 5481-5491
23. **Skinner MK** (2005): Regulation of primordial follicle assembly and development. *Human Reproduction Update* 11: 461-471.
24. **Soyal SM, Amleh A, Dean J** (2000): FIGalpha, a germ cell-specific transcription factor required for ovarian follicle formation. *Development* 127: 4645-4654.
25. **Takeda J, Seino S, Bell GI** (1992): Human OCT3 gene family: cDNA sequences, alternative splicing, gene organization, chromosomal location, and expression at low levels in adult tissues. *Nucleic Acids Research* 20 (17) 4613-4620.
26. **Uda M, Ottolenghi C, Crisponi L, Garcia JE, Deiana M, Kimber W, Forabosco A, Cao A, Schlessinger D, Pilia G** (2004): FOCL2 disruption causes mouse ovarian failure by pervasive blockage of follicle development. *Human Molecular Genetics* 13(11) 1171-1181
27. **Webb R, Nicholas B, Gong JG, Campbell BK, Gutierrez CG, Garverick HA, Armstrong DG** (2003): Mechanisms regulating follicular development and selection of the dominant follicle. *Reproduction Supplement* 61: 71-90.
28. **Zheng P, Dean J** (2007): Oocyte-specific genes affect folliculogenesis, fertilization, and early development. *Seminars in Reproductive Medicine* 25: 243-251.