



İneklerde Luteolizis Mekanizması ve Vazoaktif Ajanları

Mushap KURU^{1✉}, Hasan ORAL¹, Recai KULAKSIZ²

1. Kafkas Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı, Kars, TÜRKİYE.

2. Kafkas Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Dölerme ve Suni Tohumlama Anabilim Dalı, Kars, TÜRKİYE.

Özet: Korpus luteum (CL) ovulasyon sonrasında şekillenir ve gebeliğin devamlılığında rol oynar. Ayrıca geçici bir süre progesteron salgılayan endokrin etkinliği bulunan fonksiyonel bir yapıdır. Sığırlarda luteolizis temel olarak iki fazda meydana gelir. Bunlar fonksiyonel ve yapısal luteolizis olarak sınıflandırılır. Yapısal luteolizis, fonksiyonel luteolizisten CL'nin yapısal involüsyonu ile ayırt edilebilir. Luteolizis sırasında nitrik oksit, endotelin-I, angiotensin-II ve oksitosin gibi birçok vazoaktif ajan uyarılır. Son yıllarda renkli Doppler ultrasonografi kullanılması ile luteolizis başlangıcında luteal kan akımında artış olduğu tespit edilmiştir. Bu derlemenin amacı, Doppler ultrasonografi kullanılarak luteoliziste değişen mekanizmalar, vazoaktif ajanların bu süreçteki görevleri ve aralarındaki ilişkiler hakkında bilgi vermektir.

Anahtar kelimeler: İnek, Korpus luteum, Luteolizis, Vazoaktif ajan.

Mechanism of Luteolysis and Vasoactive Agents in Cows

Abstract: The corpus luteum (CL) forms after ovulation and plays an important role in the maintenance of pregnancy. Besides, it is a functional structure temporarily secreting progesterone and having endocrine activity. In cattle, the luteolysis generally occurs in two phases. These are classified as functional and structural luteolysis. Structural luteolysis is distinguished from the structural luteolysis with CL's structural involution. During luteolysis, many vasoactive agents are stimulated such as nitric oxide, endothelin-I, angiotensin II, and oxytocin. In recent years, an increase has been found in the luteal blood flow at the beginning of the luteolysis, as determined by colour Doppler ultrasonography. The purpose of this review was to explain both various mechanisms about the vasoactive agents responsible in the luteolysis and their reciprocal interactions.

Key words: Corpus luteum, Cow, Luteolysis, Vasoactive agent.

GİRİŞ

O vulasyon sonrasında şekillenen korpus luteum (CL), Graaf follikülünün çeperinde yer alan membrana granuloza ve teka interna hücrelerinin hipertrofisi ve luteinizasyonu ile oluşan, gebeliğin şekillenmesiyle birlikte devamlılığında rol oynayan, geçici bir süre progesteron salgılayan ve endokrin etkinliği bulunan fonksiyonel bir yapıdır (Miyamoto ve Shirasuna, 2009; Çolak, 2010).

Korpus luteum morfolojik ve biyokimyasal açıdan farklı hücreler içerir. Bu hücreler boyutlarına göre ayırt edilmekle birlikte iki tiptedirler. Bunlar; *luteal hücreler* (küçük ve büyük luteal hücreler) ve *vasküler hücreler* (endotelial hücreler, eritrositler, lökositler ve fibroblastlar) olarak sınıflandırılabilir (O'Shea ve ark., 1989).

1. Korpus Luteumun Lizisi

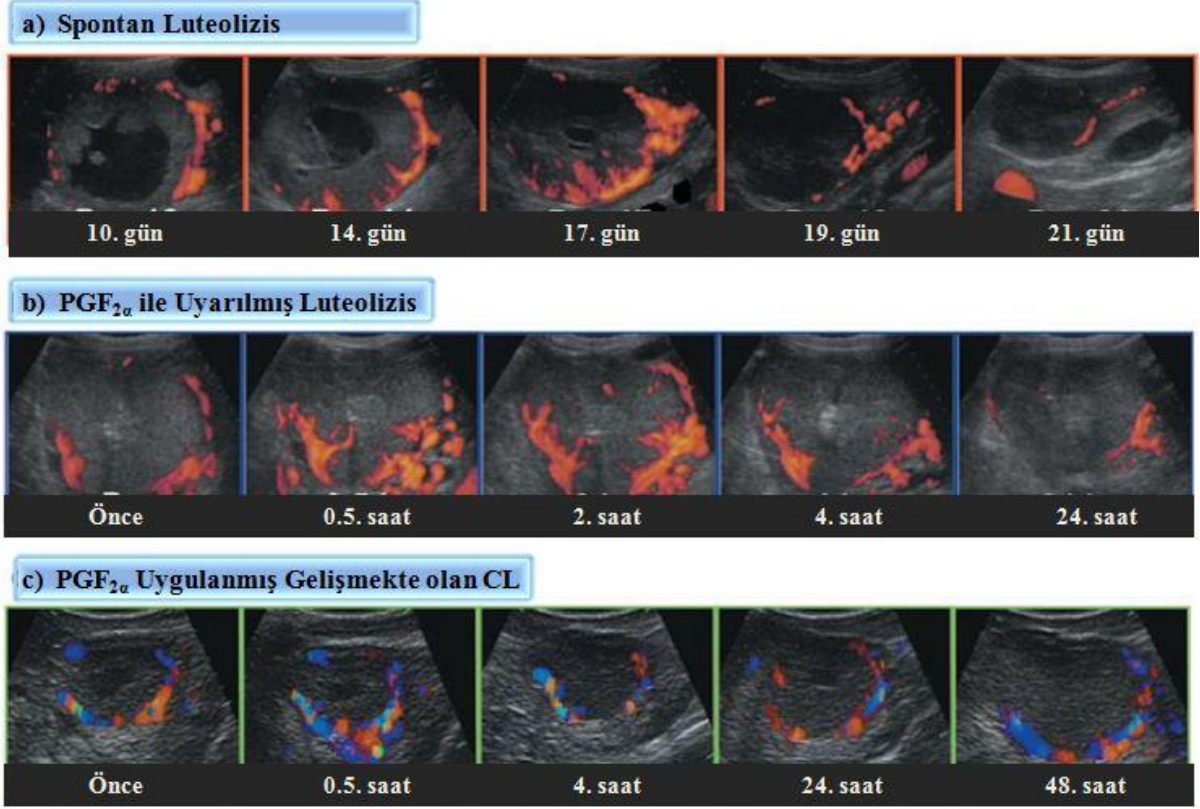
Korpus luteumun morfolojik ve fonksiyonel regresyonuna neden olan luteolizis olgusu uterus tarafından uyarılır (Shirasuna ve ark., 2008b; Çolak, 2010). Östrus siklusunun 12. gününden itibaren progesteron, kendi reseptörlerini baskılamaya başlar ve onların duyarsızlaşmasını sağlar. Bu sırada ovaryumda gelişen follikülden östradiol salgılanır ve endometriumda östrojen reseptör alfa ve oksitosin reseptörlerinin artmasını sağlar. Ayrıca nörohipofizden oksitosin salınımını da uyarır. Oksitosin de uterus endometriumundan prostaglandin F₂ alfa (PGF_{2α}) salınımını başlatır (Milvae ve ark., 1996; Vural ve ark., 2012). Sonuçta gebe olmayan uterus tarafından sentezlenen PGF_{2α}, venöz yolla uterusu terk ederken ovaryum arterlerine geçerek korpus luteuma ulaşır. Bu işlem sonucunda kan dolaşımındaki progesteron seviyesi düşer ve luteolizisi hızlı bir şekilde tamamlar. Bu işlem sonucunda kan dolaşımındaki progesteron seviyesi düşer ve gonadotropin salınım hormonu (GnRH) konsantrasyonu ve LH'nin sentez ve salınım sıklığı artar. Sonuçta luteolizis gerçekleşir ve yeni bir siklusun başlangıcı uyarılmış olur (Çolak, 2010).

Anatomik olarak uterus venaları ve arterleri birlikte seyredir. Uterustan salgılanan PGF_{2α} ovaryum arterine difüzyonla geçer. Prostaglandin F_{2α} 'nın uterus-ovaryum damarlarında daralmaya sebep olduğu, luteal hücrelerin beslenmesini engellediği ve luteolizisin şekillendiği bildirilmektedir (Ford, 1982; Reynolds, 1986; Milvae ve ark., 1996; Kalkan ve Horoz, 2010). Yapılan son çalışmalarda, PGF_{2α}'nın damarlarda önce bir genişlemeye ardından daralmaya neden olduğu doppler ultrasonografi kullanılarak ortaya konulmuştur (Shirasuna ve ark., 2008b; Miyamoto ve Shirasuna, 2009).

Sığırlarda luteolizis temel olarak iki fazda meydana gelir. Bu fazlar; fonksiyonel ve yapısal luteolizis olarak sınıflandırılır (Sakumoto ve Okuda, 2004; Miyamoto ve ark., 2005; Skarzynski ve ark., 2008). Yapısal luteolizis, fonksiyonel luteolizisten CL'nin yapısal involüsyonu ile ayırt edilebilir. Korpus luteumun yapısal involüsyonunda belirgin bir şekilde luteal hücre kaybı yaşandığından anatomik olarak küçülmeye başlamaktadır. Bununla beraber yapısal luteoliziste karakteristik olarak progesteron (P4) seviyesinde ani bir düşüş yaşanır (Sugino ve Okuda, 2007).

2. Sığırlarda Luteolizis Sırasında Korpus Luteumun Durumu

Kan akımı, reproduktif organların fizyolojisinde kritik role sahiptir. Geçen 30 yıl boyunca ekzojen veya endojen PGF_{2α}'nın en önemli etkisinin luteal kan akımını hızlı bir şekilde düşürmek olduğu bildirilmiştir (Nett ve ark., 1976). Luteal faz ortalarında (siklusun 7-12. günleri) uygulanan PGF_{2α}'nın plazma P4 konsantrasyonu ve CL volümünü düşürdüğü, erken luteal dönemde ise (siklusun 5. gününe kadar) luteolizise neden olmadığı (Şekil 1c) bildirilmiştir (Miyamoto ve ark., 2006; Shirasuna ve ark., 2008b).



Şekil 1. Sığırlarda luteolizis sırasında CL kan akım alanları. **a)** Spontan luteolizis **b)** Östrus siklusunun 10. günü PGF_{2α} ile uyarılan luteolizis olgusu, **c)** Östrus siklusunun 4. günü PGF_{2α} uygulaması ve CL'deki kan akım alanları (Miyamoto ve ark., 2006).

Figure 1. The areas of blood flow in the corpus luteum during the luteolysis in cattle. a) Spontaneous luteolysis, b) PGF_{2α}-induced luteolysis in case of the 10th day of oestrous cycle, c) PGF_{2α} administration on d 4 of oestrous cycle and the areas of blood flow in the corpus luteum (Miyamoto et al., 2006).

Son yıllarda renkli-doppler ultrasonografi ile yapılan çalışmalarda, olgun CL tespit edilen hayvanlara (östrus siklusunun 10. günü; Şekil 1b) PGF_{2α}'nın luteolitik dozunun intramuskuler uygulanmasının, CL'nin periferindeki kan akımında akut bir yükselmeye (ilk 30 dakika-2 saat) neden olduğu ve bu olayı takiben kan akımının düştüğü bildirilmektedir (Acosta ve ark., 2002; Ginther ve ark., 2007).

Sığırlarda siklusun 16-18. günlerinde, spontan olarak şekillenen luteolizis sırasında CL'nin periferindeki kan akımının artması (Şekil 1a), plazma 13,14-dihydro-15-keto-PGF_{2α}'nın (PGFM: PGF_{2α} metaboliti) artışıyla ilişkilendirilmiş ve devamında luteal P4 ani bir düşüşe uğradığı bildirilmiştir

(Shirasuna ve ark., 2008c; Miyamoto ve Shirasuna, 2009).

3. Sığır Korpus Luteumunu'nun Vazoaktif Ajanları

Ovaryumdaki kan akışının lokal değişiklikleri, prostaglandinlerin ve steroidlerin biyosentezindeki değişikliklerle paralellik gösterir. Bu bağlamda nitrik oksit, apelin-apelin reseptör, angiotensin II (Ang II), endotelin-I (EDN-I) ve oksitosin gibi maddeler sistemik dolaşımda vasküler ton düzenleyici vazoaktif peptidler olarak görev yaparlar (Acosta ve Miyamoto, 2004; Miyamoto ve Shirasuna, 2009). Yapılan çalışmalarda da Ang II ve EDN-I'in ovulasyon, oosit maturasyonu ve CL fonksiyonları gibi birçok reproduktif olayı düzenlediği ortaya konmuştur (Acosta ve Miyamoto, 2004).

3.1. Nitrik Oksit

Nitrik oksit (NO) L-arginin'den NO sentaz aracılığı ile ovaryumlarda sentezlenip luteal dolaşıma geçmektedir (Skarzynski ve ark., 2000; Korzekwa ve ark., 2006). Nitrik oksit spontan luteolizis sırasında veya $PGF_{2\alpha}$ enjeksiyonu sonrasında CL'den salgılanmakta ve luteal kan akışında belirgin bir artışa neden olmaktadır. Ayrıca direkt olarak CL'ye NO enjeksiyonu sonrasında CL volümünün azaldığı ve dolayısıyla P4 seviyesini doğrudan düşürdüğü bildirilmektedir (Skarzynski ve ark., 2003; Shirasuna ve ark., 2008b). Bunun yanında; luteal hücrelere direkt NO enjeksiyonunun Ca^{+2} mobilizasyonu ile apoptozisi uyardığı ve luteoliziste etkili olduğu bildirilmektedir (Korzekwa ve ark., 2006; Sugino ve Okuda, 2007).

3.2. Apelin ve Apelin Reseptör (APJ)

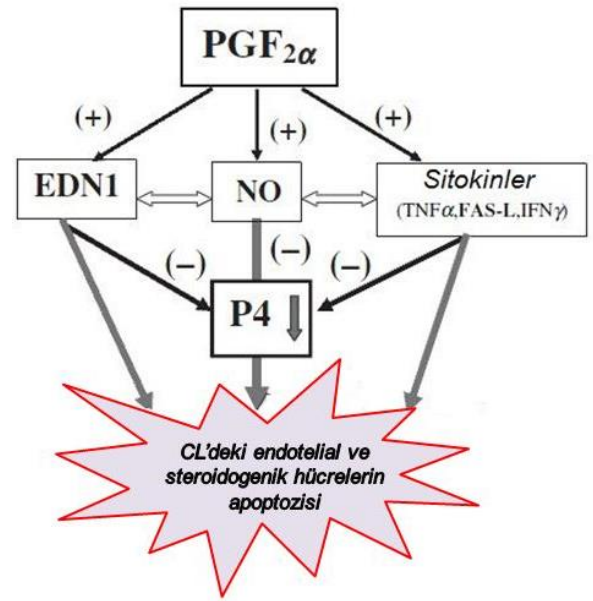
Apelin mRNA ve immunoreaktif apelin mide, beyin, kalp, kan damarları, akciğer, uterus ve ovaryum gibi çeşitli organlarda bulunan vazoaaktif bir ajandır. Apelin ve APJ, luteal faz dönemlerinde (erken, orta ve geç luteal dönemde) artış gösterir ve eNOS inhibitörlerini ortadan kaldırmak suretiyle NO sentezini artırır. Bu sayede vazorelaksan etki yapıp CL'nin periferik kan akışında artışa neden olarak luteoliziste görev almaktadır (Shirasuna ve ark., 2008a). Prostaglandin $F_{2\alpha}$ uygulanan hayvanlarda yarım saat sonra bu ajanların seviyesinde yükselme tespit edilmiştir (Shirasuna ve ark., 2008a; Miyamoto ve Shirasuna, 2009).

3.3. Endotelin-I

Endotelin-I (EDN-I) ilk kez domuzdan (aortik endotelial hücrelerden) izole edilmiş, endotelial hücreler tarafından üretilen 21-amino asit peptid yapıda ve güçlü vazokonstriktif etkisi olan bir ajandır (Shirasuna ve ark., 2006; Watanabe ve ark., 2006). Endotelin-I folliküler granuloza hücrelerinde, luteal hücrelerinde, endometrium ve plasenta gibi birçok reproduktif dokuda tespit edilmiştir (Milvae, 2000).

Siğirlarda intraluteal EDN-I sekresyonu yükselmeye başladığında, bu maddenin vazokonstriktif

etkisi sayesinde luteal kan akışında azalma, CL volümünde küçülme ve P4 seviyesi de belirgin bir düşme olmaktadır. Bu yüzden de yapısal luteoliziste önemli bir görevi olduğu bildirilmektedir (Watanabe ve ark., 2006). Siğirlarda spontan luteolizis sırasında intraluteal $PGF_{2\alpha}$ salınımı ve EDN-I arasında yüksek bir pozitif korelasyon olduğu (Shirasuna ve ark., 2004b), böylelikle $PGF_{2\alpha}$ ve EDN-I arasında lokal bir pozitif feedback mekanizmasının (Şekil 2) olabileceği bildirilmektedir (Miyamoto ve Shirasuna, 2009).



Şekil 2: Fonksiyonel ve yapısal luteolizisin hipotetiksel modeli. $PGF_{2\alpha}$: Prostaglandin F2 alfa, NO: Nitrik oksit, EDN1: Endotelin-I, P4: Progesteron, TNF: Tümör nekrozis faktörü, FAS-L: Fas-ligant, IFN- γ : İnterferon gamma (Skarzynski ve ark., 2008).

Figure 2. Hypothetical model of the functional and structural luteolysis. $PGF_{2\alpha}$: Prostaglandin F2 alpha, NO: Nitric oxide, EDN1: Endothelin-I, P4: Progesterone, TNF α : Tumour necrosis factor, FAS-L: Fas-ligant, IFN- γ : Interferon gamma (Skarzynski et al., 2008).

3.4. Angiotensin II

Lokal rennin-angiotensin sisteminin bu komponenti birçok türün ovaryumlarında belirlenmiştir (Hayashi ve Miyamoto, 1999). Angiotensin II (Ang II), angiotensin çevirici enzim tarafından Ang I'den çevrilen güçlü vazoaaktif bir ajandır (Hayashi ve ark., 2002). Araştırmacılar

luteoliziste Ang II seviyesinin artış gösterdiği anda, luteal hücrelerden P4 sentezinin inhibe edildiğini ve buna bağlı olarak plazma P4 seviyesinin düştüğünü bildirmişlerdir (Shirasuna ve ark., 2004a; 2004b).

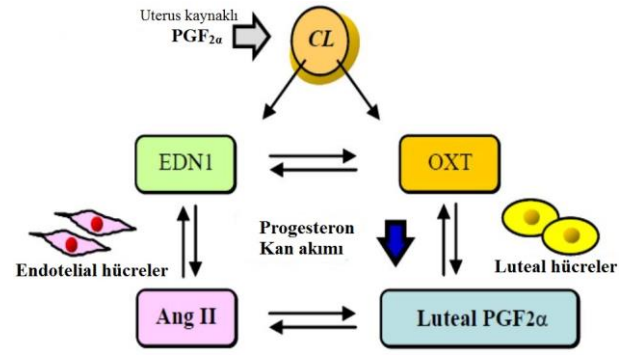
In-vivo olarak yapılan bir çalışmada; intraluteal Ang II sekresyonu, luteolizisin başlamasından hemen sonra artış göstermekte ve spontan luteolizis sırasında da yüksek bir seviyeye ulaşmaktadır. Sığırlarda spontan luteolizis sırasında $PGF_{2\alpha}$ ve EDN-I arasında pozitif bir korelasyon olduğu gösterilmiştir. Bunun yanında, intraluteal $PGF_{2\alpha}$ ve Ang II arasında da bir pozitif feedback ilişkisinin olduğu bildirilmektedir (Shirasuna ve ark., 2004a, 2004b).

3.5. Prostaglandinler

Prostaglandinler 20 karbonlu yapıya sahiptir ve birçok dokudan sentezlenirler. Araşidonik asitten üretilen bu mediyatörlerin birçok fizyolojik olayda önemli görevleri olduğu bildirilmektedir (Weems ve ark., 2006). Bilindiği üzere sığırlarda seksüel siklusun 16-18. günlerinde uterustan salgılanan $PGF_{2\alpha}$ primer luteolitik faktördür. Uterustan salgılanan $PGF_{2\alpha}$ 'ya ek olarak sığırlarda fonksiyonel CL'den $PGF_{2\alpha}$, PGE_2 ve 6-keto- $PGF_{1\alpha}$ (PGI_2) olmak üzere üç çeşit prostaglandin üretimi ve salınımı vardır (Milvae ve Hansel, 1983).

3.6. Oksitosin

Sığırlarda oksitosin CL'deki büyük luteal hücrelerinden sentezlenir ve spontan luteolizis başlangıcında salınım düzeyi bu dönemin orta ve sonuna doğru neredeyse aynıdır. Fakat bu dönemde CL'den salınan oksitosin aralıklı olarak artışlar gösterebilir ki aynı artışlar $PGF_{2\alpha}$ ve EDN-I seviyesinin artışlarıyla benzerlik gösterir. Aynı durum Ang II düzeyi için söylenemez (Shirasuna ve ark., 2007). Buna bağlı olarak oksitosinin, luteal hücrelerin $PGF_{2\alpha}$ ve luteal endotelial hücrelerin EDN-I salınımını uyarabildiği bildirilmektedir. Bu nedenle araştırmacılar; luteal oksitosin ile $PGF_{2\alpha}$ ve EDN-I arasında lokal bir pozitif feedback döngüsünün olabileceğini, ayrıca vazoaaktif maddelerin salınımını da arttırabileceğini (Şekil 3) bildirmektedirler (Miyamoto ve Shirasuna, 2009).



Şekil 3. Sığırlarda luteolizis sırasında vazoaaktif moleküller arasındaki lokal pozitif feedback mekanizması. $PGF_{2\alpha}$: Prostaglandin F2 alfa, Ang II: Angiotensin II, EDN1: Endothelin-I, P4: Progesteron, TNF: Tümör nekrozis faktörü, FAS-L: Fas-ligant, IFN- γ : İnterferon gama (Miyamoto ve Shirasuna, 2009).

Figure 3. Local positive feedback mechanism between the vasoactive molecules. $PGF_{2\alpha}$: Prostaglandin F2 alpha, Ang II: Angiotensin II, EDN1: Endothelin-I, P4: Progesterone, TNF: Tumour necrosis factor, FAS-L: Fas-ligant, IFN- γ : Interferon gamma (Miyamoto and Shirasuna, 2009).

3.7. Luteoliziste Görevli Diğer Ajanlar

Tümör nekrozis faktör alfa (TNF- α) makrofajlar tarafından aktive edilen tümörosidal faktör üreten 17 kDa ağırlığında protein yapılı bir moleküldür. Bu molekül sığırlarda CL lizisinde aktif rol oynamaktadır. Sığırlarda TNF- α luteal fazın geç döneminde CL'den daha fazla salgılanır ve apoptoziste görev alır (Sakumoto ve Okuda, 2004). Bunun yanında TNF- α 'nın uterus endometriyumundan $PGF_{2\alpha}$ salınımını da uyardığı bildirilmiştir (Miyamoto ve ark., 2000).

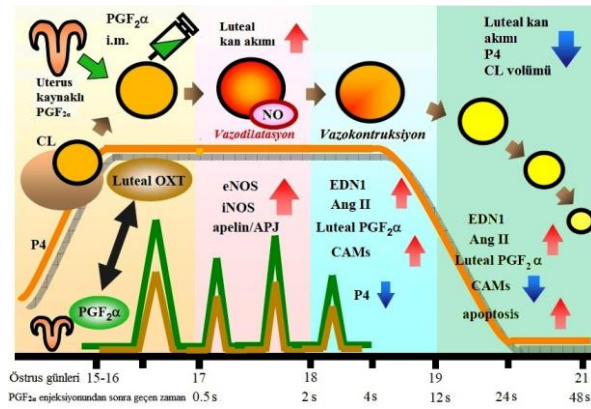
Faz ve Faz-ligant sisteminin, sığırlarda yapısal luteolizis sırasında gerçekleşen luteal hücre apoptozisinde önemli bir role sahip olduğu bildirilmiştir. Faz ekspresyonunun yapısal luteolizis sırasında yükselmesinin, immun hücrelerden (lenfosit ve makrofaj) sentezlenen TNF- α ve interferon gama'dan (INF- γ) kaynaklanabileceği bildirilmektedir (Acosta ve ark., 2002; Miyamoto ve Shirasuna, 2009).

Yukarıda bahsedilen faktörlerle birlikte, B-hücre lenfoma 2 (Bcl-2) ailesi ve Baks sistemleri de luteal hücre apoptozisinde görevlidir ve bu etkenler (baks ve kaspas-3) seksüel siklusun 21. gününde korpus

luteumun regresyonu sırasında DNA basamak formasyonu ve mRNA ekspresyonu ile tespit edilir. Reaktif oksijen çeşitleri de (ROS) luteal hücre apoptozisinde görevlidir. Bu etkisini baks ve kaspas-3 ekspresyonunu ve ortamdaki TNF- α oranını arttırarak gösterdiği bildirilmektedir (Sugino ve Okuda, 2007).

SONUÇ

Siğirlarda luteolizisin en erken bulgularından biri olan luteal kan akışında artış, renkli doppler ultrasonografinin kullanımının yaygınlaşmasından sonra tespit edilen önemli bir olgudur. Bunun yanında uterus kaynaklı ve dışarıdan uygulanan PGF_{2 α} sonrasında luteolitik dalgada meydana gelen değişimler daha iyi anlaşılabilir. Ayrıca bu yöntemle birlikte NO'nun luteolitik mekanizmada vazodilatatif etki gösterdiği tespit edilmiştir. Sonuç olarak, yapılan çalışmalarla vazodilatatif (NO ve Apelin-APJ) ve vazokonstruktif (EDN-I ve Ang II) ajanların luteolizisteki görevleri ve birbirleri arasındaki ilişki daha iyi anlaşılabilir olacaktır (Şekil 4).



Şekil 4. Siğirlarda luteolitik dalga sırasında rol oynayan vazoaktif ajanlar. OXT: Oksitosin, NO: Nitrik oksit, eNOS: Endotelial nitrik oksit, iNOS: İndüklenmiş nitrik oksit, EDN1: Endotelin-I, Ang II: Angiotensin II, CAMs: Hücre adezyon molekülleri, P4: Progesteron (Miyamoto ve Shirasuna, 2009).

Figure 4. Vasoactive agents involved during the luteolytic wave in cattle. OXT: Oxytocin, NO: Nitric oxide, eNOS: Endothelial nitric oxide, iNOS: Induced nitric oxide, EDN1: Endothelin-I, Ang II: Angiotensin II, CAMs: Cell adhesion molecules, P4: Progesterone (Miyamoto and Shirasuna, 2009).

KAYNAKLAR

- Acosta TJ., Yoshizawa N., Ohtani M., Miyamoto A., 2002. Local changes in blood flow within the early and midcycle corpus luteum after prostaglandin F_{2 α} injection in the cow. *Biology of Reproduction*, 66, 651-658.
- Acosta TJ., Miyamoto A., 2004. Vascular control of ovarian function: ovulation, corpus luteum formation and regression. *Animal Reproduction Science*, 82-83, 127-140.
- Çolak A., 2010. Üreme fizyolojisi ve endokrinolojisi. In "Evcil Hayvanlarda Doğum ve İnfertilite", 5th Ed., E Alaçam, 5th ed, 15-22, Medisan, Ankara.
- Ford SP., 1982. Control of uterine and ovarian blood flow throughout the estrous cycle and pregnancy of ewes, sows and cows. *Journal of Animal Science*, 55, 32-42.
- Ginther OJ., Silva LA., Araujo RR., Beg MA., 2007. Temporal associations among pulses of 13,14-dihydro-15-keto-PGF_{2 α} , luteal blood flow, and luteolysis in cattle. *Biology of Reproduction*, 76, 506-513.
- Hayashi K., Miyamoto A., 1999. Angiotensin II interacts with prostaglandin F_{2 α} and endothelin-1 as a local luteolytic factor in the bovine corpus luteum in vitro. *Biology of Reproduction*, 60, 1104-1109.
- Hayashi K., Tanaka J., Hayashi KG., Hayashi M., Ohtani M., Miyamoto A., 2002. The cooperative action of angiotensin II with subluteolytic administration of PGF_{2 α} in inducing luteolysis and oestrus in the cow. *Reproduction*, 124, 311-315.
- Kalkan C., Horoz H., 2010. Pubertas ve seksüel sikluslar. In "Evcil Hayvanlarda Doğum ve İnfertilite", Ed., E Alaçam, 5th Ed, 23-40, Medisan, Ankara.
- Korzekwa AJ., Okuda K., Woclawek-Potocka I., Murakami S., Skarzynski DJ., 2006. Nitric oxide induces apoptosis in bovine luteal cells. *The Journal of Reproduction and Development*, 52, 353-361.

- Milvae RA., Hansel W., 1983. Prostacyclin, prostaglandin $F_{2\alpha}$ and progesterone production by bovine luteal cells during the estrous cycle. *Biology of Reproduction*, 29, 1063-1068.
- Milvae RA., Hinckley ST., Carlson JC., 1996. Luteotropic and luteolytic mechanisms in the bovine corpus luteum. *Theriogenology*, 45, 1327-1349.
- Milvae RA., 2000. Inter-relationships between endothelin and prostaglandin $F_{2\alpha}$ in corpus luteum function. *Reviews of Reproduction*, 5,1-5.
- Miyamoto Y., Skarzynski DJ., Okuda K., 2000. Is tumor necrosis factor- α a trigger for the initiation of endometrial prostaglandin $F_{2\alpha}$ release at luteolysis in cattle? *Biology of Reproduction*, 62, 1109-1115.
- Miyamoto A., Shirasuna K., Wijayagunawardane MP., Watanabe S., Hayashi M., Yamamoto D., Matsui M., Acosta TJ., 2005. Blood flow: a key regulatory component of corpus luteum function in the cow. *Domestic Animal Endocrinology*, 29, 329-339.
- Miyamoto A., Shirasuna K., Hayashi KG., Kamada D., Kawashima, C., Kaneko E., Acosta TJ., Matsui M., 2006. A potent use of color ultrasound as a tool for reproductive management: new observation using color ultrasound scanning that were not possible with imaging only in black and white. *The Journal of Reproduction and Development*, 52, 153-160.
- Miyamoto A., Shirasuna K., 2009. Luteolysis in the cow: a novel concept of vasoactive molecules. *Animal Reproduction*, 6, 47-59.
- Nett TM., McClellan MC., Niswender GD., 1976. Effects of prostaglandins on the ovine corpus luteum: Blood flow, secretion of progesterone and morphology. *Biology of Reproduction*, 15, 66-78.
- O'Shea JD., Rodgers RJ., D'Occhio MJ., 1989. Cellular composition of the cyclic corpus luteum of the cow. *Journal of Reproduction and Fertility*, 85, 483-487.
- Reynolds LP., 1986. Utero-ovarian interactions during ear pregnancy: role of conceptus-induced vasodilation. *Journal of Animal Science*, 62, 47-61.
- Sakumoto R., Okuda K., 2004. Possible actions of tumor necrosis factor- α in ovarian function. *The Journal of Reproduction and Development*, 50, 39-46.
- Shirasuna K., Asaoka H., Acosta TJ., Wijayagunawardane MP., Matsui M., Ohtani M., Miyamoto A., 2004a. Endothelin-I within the corpus luteum during spontaneous luteolysis in the cow: local interaction with prostaglandin $F_{2\alpha}$ and angiotensin II. *Journal of Cardiovascular Pharmacology*, 44, 252-255.
- Shirasuna K., Asaoka H., Acosta TJ., Wijayagunawardane MP., Ohtani M., Hayashi M., Matsui M., Miyamoto A., 2004b. Real-time relationships in intraluteal release among prostaglandin $F_{2\alpha}$, endothelin-1, and angiotensin II during spontaneous luteolysis in the cow. *Biology of Reproduction*, 71, 1706-1711.
- Shirasuna K., Watanabe S., Oki N., Wijayagunawardane MP., Matsui M., Ohtani M., Miyamoto A., 2006. A cooperative action of endothelin-1 with prostaglandin $F_{2\alpha}$ on luteal function in the cow. *Domestic Animal Endocrinology*, 31, 186-196.
- Shirasuna K., Shimizu T., Hayashi KG., Nagai K., Matsui M., Miyamoto A., 2007. Positive association, in local release, of luteal oxytocin with endothelin 1 and prostaglandin $F_{2\alpha}$ during spontaneous luteolysis in the cow: a possible intermediary role for luteolytic cascade within the corpus luteum. *Biology of Reproduction*, 76, 965-970.
- Shirasuna K., Shimizu T., Sayama K., Asahi T., Sasaki M., Berisha B., Schams D., Miyamoto A., 2008a. Expression and localization of apelin and its receptor APJ in the bovine corpus luteum during the estrous cycle and prostaglandin $F_{2\alpha}$ -induced luteolysis. *Reproduction*, 135, 519-525.
- Shirasuna K., Watanabe S., Asahi T.,

- Wijayagunawardane MP., Sasahara K., Jiang C., Matsui M., Sasaki M., Shimizu T., Davis JS., Miyamoto A., 2008b. Prostaglandin F_{2α} increases endothelial nitric oxide synthase in the periphery of the bovine corpus luteum: the possible regulation of blood flow at an early stage of luteolysis. *Reproduction*, 135, 527-539.
- Shirasuna K., Yamamoto D., Morota K., Shimizu T., Matui M., Miyamoto A., 2008c. PGF_{2α} stimulates endothelial nitric oxide synthase depending on the existence of bovine granulosa cells: analysis by coculture system of endothelial cells, smooth muscle cells and granulosa cells. *Reproduction in Domestic Animals*, 43, 592-598.
- Skarzynski DJ., Kobayashi S., Okuda K., 2000. Influence of nitric oxide and noradrenaline on prostaglandin F_{2α} -induced oxytocin secretion and intracellular calcium mobilization in cultured bovine luteal cells. *Biology of Reproduction*, 63, 1000-1005.
- Skarzynski DJ., Jaroszewski JJ., Bah MM., Deptula KM., Barszczewska B., Gawronska B., Hansel W., 2003. Administration of a nitric oxide synthase inhibitor counteracts prostaglandin F_{2α} -induced luteolysis in cattle. *Biology of Reproduction*, 68, 1674-1681.
- Skarzynski DJ., Ferreira-Dias G., Okuda K., 2008. Regulation of luteal function and corpus luteum regression in cows: hormonal control, immune mechanisms and intercellular communication. *Reproduction in Domestic Animals*, 43, 57-65.
- Sugino N., Okuda K., 2007. Species-related differences in the mechanism of apoptosis during structural luteolysis. *The Journal Reproduction and Development*, 53, 977-986.
- Vural R., Güzeloğlu A., Küplülü Ş., 2012. Gebelik Fizyolojisi. In "Çiftlik Hayvanlarında Doğum ve Jinekoloji", Ed., A Semacan, M Kaymaz, M Fındık, A Rışvanlı, A Köker, 125-154, Medipres, Malatya.
- Watanabe S., Shirasuna K., Matsui M., Yamamoto D., Berisha B., Schams D., Miyamoto A., 2006. Effect of intraluteal injection of endothelin type: a receptor antagonist on PGF_{2α}-induced luteolysis in the cow. *The Journal Reproduction and Development*, 52, 551-559.
- Weems CW., Weems YS., Randel RD., 2006. Prostaglandins and reproduction in female farm animals. *The Veterinary Journal*, 171, 206-228.