



Sveriges lantbruksuniversitet
Swedish University of Agricultural Sciences

Fakulteten för veterinärmedicin och
husdjursvetenskap

Embryots signalering under tidig dräktighet

- en jämförelse mellan idisslare, gris och häst

Signals from the embryo during early pregnancy

- a comparison between ruminants, pigs and
horses

Sophia Mourath

Uppsala
2019

Embryots signalering under tidig dräktighet - en jämförelse mellan idisslare, gris och häst

Signals from the embryo during early pregnancy - a comparison between ruminants, pigs and horses

Sophia Mourath

Handledare: *Elisabeth Persson, Sveriges lantbruksuniversitet,
institutionen för anatomi, fysiologi och biokemi*

Examinator: *Maria Löfgren, Sveriges lantbruksuniversitet,
institutionen för biomedicin och veterinär
folkhälsvetenskap*

Omfattning: 15 hp

Nivå och fördjupning: Grundnivå, G2E

Kurstitel: *Självständigt arbete i veterinärmedicin*

Kurskod: EX0862

Program/utbildning: Veterinärprogrammet

Kursansvarig institution: *Institutionen för biomedicin och veterinär
folkhälsvetenskap*

Utgivningsort: Uppsala

Utgivningsår: 2019

Elektronisk publicering: <https://stud.epsilon.slu.se>

Nyckelord: *dräktighetssignal, blastocyst, conceptus, progesterone, östrogen, corpus
luteum, idisslare, gris, häst*

Keywords: *maternal recognition of pregnancy, blastocyst, conceptus, progesterone,
estrogen, corpus luteum, ruminant, pig, horse*

Sveriges lantbruksuniversitet
Swedish University of Agricultural Sciences

Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap

INNEHÅLLSFÖRTECKNING

Sammanfattning	1
Summary	2
Inledning	3
Material och metoder	3
Litteraturoversikt.....	4
Reproduktionsfysiologi	4
<i>Brunstcykeln</i>	4
<i>Prostaglandiner</i>	5
<i>Tidig embryonalutveckling</i>	5
<i>Översikt av aktuella signalsubstanser</i>	5
Tidig embryosignalering hos idisslare	6
<i>Preimplantationsperioden hos idisslare</i>	6
<i>Interferon tau</i>	6
<i>Luteolytisk och antiluteolytisk mekanism hos idisslare</i>	6
Tidig embryosignalering hos gris.....	7
<i>Preimplantationsperioden hos gris</i>	7
<i>Östrogen</i>	8
<i>Luteolytisk och antiluteolytisk mekanism hos gris</i>	8
Tidig embryosignalering hos häst	9
<i>Preimplantationsperioden hos häst</i>	9
<i>Potentiella signalmolekyler</i>	10
<i>Luteolytisk och antiluteolytisk mekanism hos häst</i>	10
Diskussion	12
Litteraturförteckning	14

Förkortningar

CL	Corpus luteum
COX-1	Cyklooxygenas-1
COX-2	Cyklooxygenas-2
EP-receptorer	Prostaglandin E-receptorer
ESR1	Östrogenreceptor
FSH	Follikelstimulerande hormon
GnRH	Gonadotropinfrisättande hormon
IFNAR	Interferon tau-receptor
IFNT	Interferon tau
IL1B2	Interleukin 1, beta 2
LH	Luteiniserande hormon
MRP	Maternal recognition of pregnancy
OXTR	Oxytocinreceptor
PGE ₂	Prostaglandin E ₂
PGF _{2α}	Prostaglandin F _{2α}
PGR	Progesteronreceptor
PTGFR	Prostaglandin F _{2α} -receptor

SAMMANFATTNING

Tidig embryonal död under dräktighet är vanligt förekommande hos våra domesticerade djur vilket får konsekvenser för reproduktionsresultatet. För att en dräktighet skall etableras och kunna fortskrida krävs det kommunikation mellan det tidiga embryot eller konceptus (den nya individen med dess fosterhinnor) och det maternella systemet. Utan denna kommer dräktigheten att avbrytas och modern kommer att återgå till brunstcykeln. Gulkroppen (corpus luteum, CL) bildas i äggstocken efter ovulation och producerar därefter det dräktighetsbevarande hormonet progesteron. Progesteron bidrar på flera olika sätt till att skapa och upprätthålla en gynnsam miljö för konceptus i livmodern. Om djuret inte är dräktigt kommer CL efter en tid att genomgå luteolys, vilket hos många arter visats ske till följd av höga nivåer av prostaglandin $F_{2\alpha}$ ($PGF_{2\alpha}$). Progesteronfrisättningen från CL kommer därefter att upphöra.

För att detta inte skall ske sänder konceptus ut signaler under tidig dräktighet, vilket leder till bevarandet av CL och en fortsatt frisättning av progesteron från denna. Denna process, som kallas ”maternal recognition of pregnancy” (MRP), kan definieras som den fysiologiska process som innebär signalering från konceptus vilket leder till bevarandet av CL under en längre tid. Samspelet mellan modern och konceptus är komplicerat och många signaler är inblandade från båda håll, men den här studien har fokuserat på så kallade MRP-signaler. Deras huvudsakliga uppgift är att bevara CL men skiljer sig dock åt mellan olika djurslag. Syftet med den här studien är att redogöra för dessa MRP-signaler, deras mekanismer och med avseende på detta även göra en jämförelse mellan idisslare, gris och häst.

MRP-signalen hos idisslare är interferon tau (IFNT) som indirekt hämmar syntesen av $PGF_{2\alpha}$. Hos gris fungerar östrogen som MRP-signal. Denna hämmar dock inte syntesen av $PGF_{2\alpha}$, utan omdirigerar istället utsöndringen av $PGF_{2\alpha}$ på ett sådant sätt att luteolys förhindras. MRP-signalen hos häst har ännu inte fastställts men den skiljer sig från de ovan nämnda djurarternas signaler. Dess mekanism tror man dock också syftar till att hämma syntesen av $PGF_{2\alpha}$.

MRP-signaler sänds ut under tidsspännet från att det tidiga embryot frigör sig från zona pellucida fram till att placentabildningen sker. I samband med detta sker även en förlängning av konceptus hos idisslare, en migration hos häst och båda delarna hos gris. Att denna utbredning sker är av stor vikt för att skapa en så stor kontaktyta som möjligt mellan konceptus och endometriet och för att utsöndringen av MRP-signaler ska ske i tillräcklig grad.

Mer forskning på detta område krävs för att öka förståelsen om infertilitet på grund av tidig embryonal död och kunna utveckla nya metoder för att förebygga detta. Ytterligare kunskap om denna tidiga signalering och kommunikation behövs även för att optimera olika metoder inom reproduktionsbioteknologin.

SUMMARY

Early embryonic death during pregnancy is common during pregnancy in our domestic animals, which has consequences for the reproduction result. Communication between the embryo or the conceptus (the new individual with associated membranes) and the maternal system at an early stage is crucial for the establishment and the sustenance of pregnancy. In the absence of this communication, the pregnancy will cease, and the female will return to the oestrous cycle. The corpus luteum (CL) is formed in the ovaries after ovulation and produces progesterone. This hormone contributes in many ways to the creation and sustainability of a favourable environment for the conceptus in the uterus. However, CL will eventually undergo luteolysis and the release of progesterone will cease in the absence of pregnancy. In many species, this occurs because of high levels of prostaglandin $F_{2\alpha}$ ($PGF_{2\alpha}$).

In order to prevent this from happening, the conceptus releases signals during early pregnancy which result in the maintenance of CL and the continual release of progesterone. This process is called “maternal recognition of pregnancy” (MRP) and can be defined as the physiological process that results in the expanded lifespan of CL because of signalling mechanisms from the early conceptus. The interaction between the mother and the conceptus is complicated and many signals are sent reciprocally. The focus of this study is on the so-called “MRP-signals”, whose primary function is to expand the lifespan of CL. However, these signals do differ between various species. The aim of this literature study is to shed light of these MRP-signals, their mechanisms and make a comparison between ruminants, pigs and horses with regard to these signals.

The MRP-signal of ruminants is interferon tau (IFNT) which inhibits the synthesis of $PGF_{2\alpha}$ indirectly. Oestrogen is the MRP-signal of pigs, but this signal does not inhibit the synthesis of $PGF_{2\alpha}$. Instead, it redirects the sequestration of $PGF_{2\alpha}$ in a way that results in the prevention of luteolysis. The MRP-signal of the horse is still unknown, but it does differ from the signals of ruminants and pigs. The mechanism is however believed to inhibit the synthesis of $PGF_{2\alpha}$.

The MRP-signals are released sometime between the hatching of zona pellucida and the placentation. Connected to this event, an elongation of the conceptus occurs in ruminants, the conceptus of the horse migrates in the uterus and the conceptus of the pig does both. This expansion is crucial to make as much contact with the endometrium as possible in order to allow a release of the appropriate levels of MRP-signals.

There is a need for further research in this area in order to increase our understanding of infertility because of early embryonic loss and for the development of methods to prevent it. Further knowledge about early signalling and communication is also needed for optimal methodology in the field of reproduction biotechnology.

INLEDNING

En av de främsta orsakerna till infertilitet hos både människor och djur är spontan abort under tidig dräktighet (Mondal *et al.*, 2016). För att en dräktighet ska etableras och kunna fortskrida krävs en signalering från det tidiga embryot eller conceptus (den nya individen och dess fosterhinnor) till det maternella systemet. Denna signal gör modern medveten om närvaron av conceptus och resulterar i att hon inte återgår till sin normala brunstcykel. Begreppet "maternal recognition of pregnancy" (MRP) myntades först av Roger Short (1969) enligt Spencer & Hansen (2015). MRP kan definieras som den fysiologiska process som på grund av embryonal signalering till det maternella systemet resulterar i att de gulkropp/ar (corpus luteum, CL) som bildats i äggstocken efter ovulation består under en längre tid.

Att livslängden på CL måste förlängas för att dräktigheten ska kunna fortskrida och att genuttrycket i livmodern måste förändras för att skapa en gynnsam miljö för utvecklingen av fostret är gemensamt för många däggdjur (review, Bazer 2015). Dock kan vägen dit skilja sig markant mellan olika djurslag, inte minst när det gäller den komplicerade signaleringen mellan conceptus och det maternella systemet. Hos våra domesticerade arter finns olika MRP-signaler, det vill säga de signalmolekyler som är avgörande för bevarandet av CL. MRP-signalen hos idisslare har identifierats som interferon tau (IFNT), hos gris har östrogen samma funktion och signalen hos häst är ännu okänd men antas inte vara densamma som hos varken idisslare eller gris.

Kunskaper om den tidiga signaleringen mellan conceptus och det maternella systemet är av stor vikt för att öka förståelsen kring infertilitet och för att utveckla nya metoder för att minska förekomsten av tidig embryonal död (Mondal *et al.*, 2016).

Syftet med den här uppsatsen är att redogöra för embryots tidiga signalering och de mekanismer som resulterar i en bevarad dräktighet hos idisslare, gris och häst, samt att jämföra processen mellan dessa djurslag.

MATERIAL OCH METODER

Databaserna Web of Science, PubMed, och Google Scholar har använts för artikelsökning. Sökorden "maternal recognition of pregnancy", blastocyst*, embryo*, conceptus*, endometrium, mechanism, progesterone, estrogen, oxytocin, prostaglandin* och "corpus luteum", CL, har använts. För att vidare specialisera sökningen har orden kompletterats med (cattle OR bovine OR cow OR cows OR heifer*) eller (horse* OR mare OR mares OR equine) eller (pig OR pigs OR sow OR sows OR porcine*). Därifrån har diverse vetenskapliga artiklars referenslistor använts.

För avsnitten "Brunstcykel" och "Tidig embryonalutveckling" har kapitel 19 ur boken Sjaastad *et al.* (2016) använts om inte annat anges.

LITTERATURÖVERSIKT

Reproduktionsfysiologi

Brunstcykeln

En brunstcykel avser tiden mellan två lyckade ovulationer hos icke-dräktiga djur. Den kan delas in i två olika faser: follikelfasen och lutealfasen. Follikelfasen karakteriseras av oocyten mognad och ovulation medan lutealfasen hänsyftar till perioden från ovulationen till dess att corpus luteum, CL, nedregleras. Dessa faser kan i sin tur delas upp ytterligare två faser vardera: follikelfasen består av proöstrus och östrus medan lutealfasen består av metöstrus och diöstrus. Uppdelningen med fyra olika faser är bra anpassad för att beskriva brunstcykeln hos gris och nötkreatur, medan den tvådelade är mer lämpad för häst.

Brunstcykeln är hormonreglerad. Hypothalamus frisätter gonadotropinfrisättande hormon (GnRH) som transporteras till hypofysens framlob där hormonet i sin tur leder till frisättningen av gonadotropinerna follikelstimulerande hormon (FSH) och luteiniserande hormon (LH). FSH stimulerar follikulär utveckling samt sekretionen av hormonet inhibin som via negativ feedback hämmar frisättningen av FSH från hypofysen. LH stimulerar i huvudsak produktionen av könshormoner såsom östradiol från de växande folliklarna och progesteron från CL.

Under proöstrus kommer folliklarna successivt att öka frisättningen av östrogen till följd av frisättningen av FSH och LH. Frisättningen av FSH kommer dock att hämmas till följd av den ökade produktionen av inhibin och östrogen från folliklarna. Varför LH-frisättningen kommer att dominera över FSH under östrus. Östrogenproduktionen kommer att fortsätta öka till dess att den når över en tröskelnivå, vilket kommer att leda till en fundamental förändring av hur hypothalamus svarar på östrogen. Medan FSH fortfarande är motverkat av inhibin så kommer en enorm frisättning av GnRH ske, vilket genererar en LH-topp som leder till ovulation.

Efter ovulationen kommer kvarvarande follikelceller att temporärt omvandlas till en kompakt körtel, CL. Denna stimuleras av LH och kommer inte att vara fullt utvecklad förrän i slutet på metöstrus. CL producerar det dräktighetsbevarande hormonet progesteron vars huvudsakliga effekt är att skapa en gynnsam miljö i livmodern för tillväxt av embryon. Detta kan bland annat åstadkommas genom att progesteron stimulerar tillväxten av livmoderkörtlar, hämmar GnRH-frisättning så att ingen follikulär utveckling sker och förhindrar kontraktion av livmodermuskulatur genom att motverka östrogens och oxytocins stimulerande effekt på denna. Hos idisslare och gris krävs det även en nedreglering av prostaglandinreceptorn (PGR) i endometriets luminala och glandulära epitelceller för att stimulera genuttryck som bidrar till placentabildningen (Ziecik *et al.*, 2011; Brooks *et al.*, 2014). En nedreglering av PGR sker även hos häst (Hartt *et al.*, 2005).

Om djuret inte är dräktigt kommer oxytocin att binda in till oxytocinreceptorer i endometriet. Detta kommer att generera syntes av prostaglandiner under senare delen av lutealfasen, vilket kommer att leda till luteolys av CL. Detta markerar slutet på diöstrus och minskningen av progesteronnivåerna kommer att gynna GnRH-frisättning och en ny follikulär fas kan påbörjas.

Prostaglandiner

Prostaglandiner spelar en central roll för nedbrytningen av CL (Ochoa *et al.*, 2018). PGF_{2α} och PGE₂ är exempel på två olika typer av prostaglandiner som är en grupp modifierade fettsyror som spelar en stor roll inom reproduktionsfysiologin. Dessa härstammar båda ifrån arachidonsyra som frigörs från fosfolipidmembran med hjälp av fosfolipaser och metaboliseras sedan vidare av cyklooxygenaserna COX-1 eller COX-2. Trots sitt gemensamma ursprung har dessa två signalmolekyler olika receptor-affinitet och effekt: PGF_{2α} har hög affinitet för prostaglandin F_{2α} receptorn (PTGFR), vilken stimulerar en ökad intracellulär kalciumkoncentration. Hos ett icke-dräktigt djur produceras höga nivåer av PGF_{2α} i slutet av lutealfasen vilket leder till luteolys. PGE₂ har däremot affinitet för en annan typ av receptorer, EP-receptorer. PGE₂ anses, i motsats till PGF_{2α}, ha en luteotrop effekt (Mor *et al.*, 2015). Den exakta mekanismen genom vilken PGE₂ påverkar CL är dock inte utredd (Akinlosotu *et al.*, 1988). PGE₂ har troligen flera olika roller vilka även innefattar att påverka endometriets mottaglighet och att myometriet är inaktivt samt att ha en roll i immunförsvaret (Arosh *et al.*, 2004).

Tidig embryonalutveckling

Efter ovulationen vandrar oocytan ner i äggledaren där den kan befruktas och bilda en zygot. Zygoten är en stor cell med mycket cytoplasma som är omgiven av ett skyddande lager, zona pellucida. I zygoten initieras celldelningar, vilka upprepas samtidigt som en förflyttning genom äggledaren sker. Efter några dagar har en sfärisk samling celler bildats, en morula, och efter ytterligare några dagar har det bildats en blastocyst. Denna består av en vätskefylld hålighet och två distinkta cellpopulationer: ett inre cellager som kommer att utvecklas till fostret och ett yttre lager av trofoblastceller som kommer att utvecklas till fosterhinnor och den fetala delen av placentan. När blastocysten når livmodern dröjer det en tid innan zona pellucida bryts ned och en nära kontakt mellan fosterhinnorna och endometriet kan etableras vilket möjliggör placentabildningen. Det är under denna tid, mellan det att zona pellucida bryts ner och placentabildningen, som trofoblastcellerna utsöndrar sin MRP-signal. Här finns en del djurslagsskillnader mellan gris, idisslare och häst.

Översikt av aktuella signalsubstanser

Några av de signalsubstanser som har en viktig roll under tidig dräktighet och deras receptorer samt funktion har sammanställts i tabell 1.

Tabell 1. Förenklad översikt av de olika signalsubstansernas receptorer och verkan. Vissa skillnader förekommer mellan djurslagen, tabellen är i första hand gjord utifrån fårs signalering baserad på Mor *et al.*, (2015); Geisert *et al.*, (2015); Spencer & Hansen, (2015); Ochoa *et al.*, (2018)

Ligand	Receptor	Effekt	Kommentar
PGF _{2α}	PTGFR	Luteolytisk	
PGE ₂	EP-receptorer	Luteotrop	
Oxytocin	OXTR	↑PGF _{2α}	
Östrogen	ESR1	↑OXTR	Gris: ökad exokrin utsöndring av PGF _{2α}
Progesteron	PGR	↓OXTR↓ESR1↓PGR	
Interferon tau (IFNT)	IFNAR	↓ESR1	Endast hos idisslare

Tidig embryosignalering hos idisslare

Preimplantationsperioden hos idisslare

Blastocysten är autonom hos idisslare fram till att zona pellucida bryts ner, vilket har visats genom att det är möjligt att genomföra embryotransfer fram till denna tidpunkt (Spencer & Hansen, 2015). Försök att flytta konceptus efter detta misslyckas i regel, vilket kommer sig av att det är vid denna tid som signaleringen och förlängningen av konceptus börjar.

Förlängningen av konceptus är en essentiell del av den tidiga embryonalutvecklingen och för utsöndringen av idisslarnas MRP-signal, interferon tau (IFNT) (Spencer & Hansen, 2015). Den sker när zona pellucida bryts ned och trofoblasten övergår från att vara sfärisk, till att få en lång och filamentös form (Lonergan & Forde, 2015).

För att förlängningen skall kunna ske krävs en optimal livmodermiljö, sekret från endometrie-körtlarna och signalering för att sätta igång processen hos trofoblastcellerna (Gray *et al.*, 2002; Zhao *et al.*, 2015). Några signalmolekyler som påverkar genuttrycket i endometriet till en mer gynnsam miljö och bidrar till förlängningen är: progesteron från CL, prostaglandiner från både endometriet och trofoblasten samt IFNT från trofoblasten (Brooks *et al.*, 2014).

Interferon tau

IFNT är en signalmolekyl som är unik hos idisslare och spelar en avgörande roll för att en dräktighet skall etableras och lyckas fortskrida. Molekylen har en antiluteolytisk effekt genom att hämma uttrycket av oxytocinreceptorer (OXTR) i endometriet och därmed även uttrycket av PGF_{2α} (Roberts *et al.*, 2008) men den har troligen även andra funktioner såsom att bidra till förlängningen av konceptus (Brooks *et al.*, 2014) och uppreglera, alternativt stabilisera, uttrycket av PGR i endometriet (Mondal *et al.*, 2016). IFNT tros dessutom verka antiviralt och kan möjligen bidra till maternell immunotolerans gentemot konceptus (Raheem, 2017). IFNT stimulerar även PGE₂-produktion (Bazer, 2013).

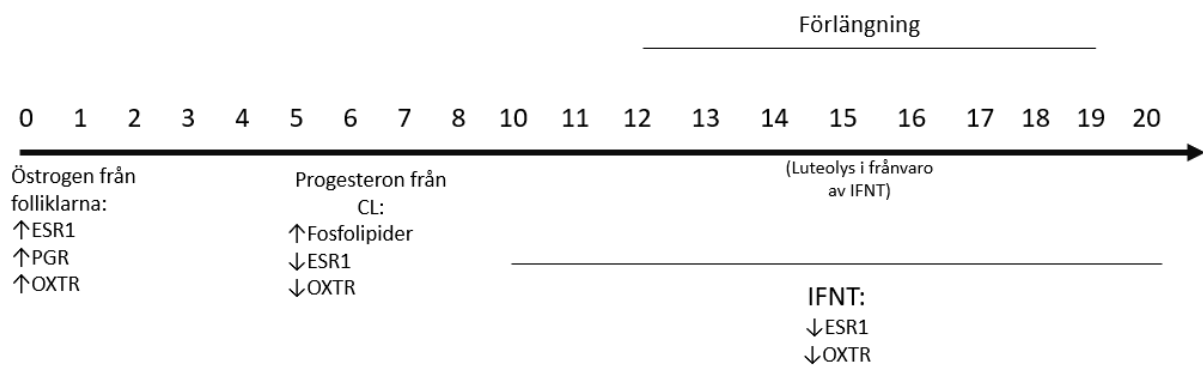
Luteolytisk och antiluteolytisk mekanism hos idisslare

Vid tiden för befruktning utsöndras östrogen från folliklarna, vilket hos får har visats öka uttrycket av östrogenreceptorer (ESR1), progesteronreceptorer (PGR) och oxytocinreceptorer (OXTR) i endometriet (Spencer & Hansen, 2015). Trots närvaron av OXTR kommer inte tillräckliga mängder PGF_{2α} att kunna produceras i detta skede för att generera luteolys, eftersom oxytocinfrisättningen från CL ännu är låg.

Under tidig diöstrus kommer progesteronhalterna att öka från den nybildade CL vilket dels leder till att fosfolipider börjar ackumuleras i endometriet och som senare kan komma att metaboliseras till prostaglandiner, dels att uttrycket av ESR1 och OXTR blockeras (Spencer & Hansen, 2015). Efter 8–10 dagar av progesterondominans kommer progesteronet att nedreglera uttrycket av sin egen receptor, PGR, i endometriet. Samtidigt sker en uppreglering av COX-2. Den minskade effekten av progesteron kommer dag 13–14 att leda till en snabb ökning av ESR1 och tack vare en ökad östrogenutsöndring från folliklarna uppregleras även OXTR. Från och med dag 9 produceras oxytocin från CL och hypofysens baklob, vilket nu kan binda in till OXTR i endometriet och generera pulserande doser av PGF_{2α} mellan dag 14 och 16. Dessa är

tillräckliga för att orsaka luteolys av CL. Hos idisslare transporteras $\text{PGF}_{2\alpha}$ lokalt från livmodern till äggstocken via den nära kontakten mellan *V. uterina* och *A. ovarica* (Dyce *et al.*, 2010; Bazer, 2015).

Hos en dräktig tacka uttrycks IFNT dag 10 från trofoblastcellerna i konceptus (Spencer & Hansen, 2015). IFNT verkar endokrint på endometriet genom att binda till typ 1 interferon-receptorer (IFNAR) vilket hämmar transkription av genen för ESR1, vilket i sin tur hämmar bildningen av OXTR och $\text{PGF}_{2\alpha}$. Hos nötkreatur har man dock inte kunnat påvisa en minskning av ESR1 i livmoderepitelet hos dräktiga djur jämfört med icke-dräktiga och IFNT har troligen en direkt påverkan på OXTR-uttrycket hos dessa djur. Utsöndringen av IFNT upphör efter dag 20 eftersom tillräckliga mängder av oxytocin inte längre kan frisättas från CL för att orsaka luteolys (Flint, 1995). Flint menar även att denna mekanism för IFNT att förhindra luteolys fungerar på i huvudsak samma sätt hos får, nötkreatur och get. I figur 1 visas en tidslinje över händelser som sker under tidig dräktighet hos tacka.



Figur 1: Översikt över händelser under tidig dräktighet hos tacka. Siffrorna längs tidslinjen anger dagar efter ovulation. Fri tolkning efter Spencer och Hansen (2015).

Tidig embryosignalering hos gris

Preimplantationsperioden hos gris

Dag 8 efter befruktningen kläcks blastocysten ur zona pellucida (Geisert *et al.*, 2015). Därefter utsöndras östrogen och prostaglandin från konceptus som initierar en migration genom livmodern fram till dag 11-12 då en hastig förlängning av konceptus sker, till en filamentös form. Migrationen och den hastiga förlängningen har två syften: dels för att fördela plats åt varje individuellt konceptus och dels för att ge möjlighet till kontakt med livmodern på så stora ytor som möjligt. Det är viktigt att MRP-signalerna från konceptus når endometriet i hela livmodern. Hos gris metaboliseras inte $\text{PGF}_{2\alpha}$ lika effektivt i lungorna som hos idisslare, varför risken att $\text{PGF}_{2\alpha}$ orsakar luteolys är förhöjd då $\text{PGF}_{2\alpha}$ kan spridas både systemiskt och från livmodern via lokal kärlkommunikation.

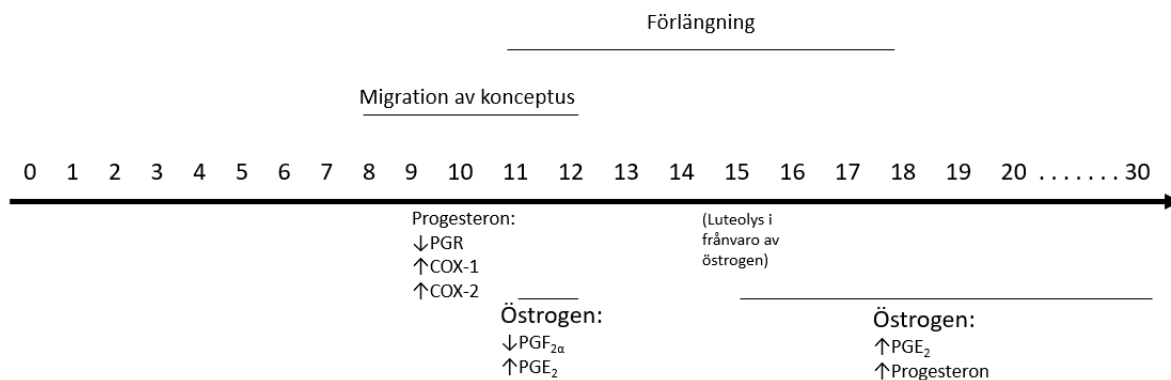
För att en dräktighet skall kunna upprätthållas hos gris krävs i regel att det finns minst två konceptus, ett i vardera livmoderhornet som utsöndrar östrogen, annars kommer $\text{PGF}_{2\alpha}$ fortfarande att utsöndras från det tomma hornet, enligt sammanfattning av (Raheem, 2017). Det har visats att om en sugga endast blivit dräktig i ett av hornen kommer CL i äggstocken på samma sida som det tomma hornet att brytas ner till följd av en det hornet inte har utsatts för östrogen från konceptus (Bazer, 2015). Sedan kommer även de andra CL att brytas ner, trots närvaron av konceptus i det hornet. Under förlängningen mellan dag 11 och 18 utsöndrar konceptus en rad molekyler i form av bland annat cytokiner som påverkar olika transkriptionsfaktorer vilka är avgörande för att generera en immunmodulering i livmodern och skapa en så gynnsam miljö för fostret som möjligt (Geisert *et al.*, 2014). Liksom hos idisslare producerar även grisens trofoblastceller interferoner: $\text{IFN}\gamma$ och $\text{IFN}\delta$. Dessa har dock ingen antiluteolytisk verkan och fungerar inte direkt som signaler för MRP. Däremot har de många andra funktioner såsom att inducera specifika gener i endometriet vilka troligen bidrar till reglering av en maternell immunbarriär så att placentabildning utan invasion tillåts ske. De kan även, tillsammans med andra signaler, spela en roll för den ökade angiogenes i livmodern som en dräktighet kräver.

Östrogen

Östrogen, i huvudsak östradiol- 17β , är den MRP-signal som finns hos gris (Geisert *et al.*, 1987). Den utsöndras i två omgångar för att CL ska bestå över 25 dagar: den första mellan dag 11-12, medan den andra behöver ske mellan dag 15 och 30 (Ziecik *et al.*, 2011). Att endometriet utsätts för östrogen vid rätt tid och i rätt mängd är avgörande för att dräktigheten ska etableras. Östrogen kan bidra till dräktighetens bevarande genom att ha en direkt luteotrop effekt på CL (Conley & Ford, 1989) samt att stimulera progesteron indirekt genom att öka antalet luteala LH-receptorer (Ziecik *et al.*, 2011). Förutom att reducera $\text{PGF}_{2\alpha}$ har östrogen även förmåga att stimulera syntes av det luteotropa PGE_2 . På så vis ökar kvoten mellan PGE_2 och $\text{PGF}_{2\alpha}$ till fördel för PGE_2 . Östrogen stimulerar även ökad vaskulär permeabilitet och blodflöde i livmodern (Geisert *et al.*, 2015).

Luteolytisk och antiluteolytisk mekanism hos gris

Teorin om exokrin-endokrin utsöndring av $\text{PGF}_{2\alpha}$ hos gris presenterades först av Bazer och Thatcher (1977) enligt (Geisert *et al.*, 2015). Dag 10 kommer progesteron orsaka en nedreglering av PGR. Detta genererar ett ökat uttryck av COX-1 och COX-2 från endometriet, vilket i sin tur leder till ökade nivåer av PGE_2 och $\text{PGF}_{2\alpha}$. Hos ett icke-dräktigt djur kommer höga nivåer av $\text{PGF}_{2\alpha}$ att hamna i endometriets kapillärbädd, det vill säga endokrin utsöndring och sedan föras vidare via *V. uterina* till *A. ovarica* och orsaka luteolys strax efter dag 15 i äggstocken. Hos ett dräktigt djur kommer konceptus under dag 11-12 att utsöndra östrogen, grisens MRP-signal (se figur 2). Detta stimulerar utsöndringen av $\text{PGF}_{2\alpha}$ att istället hamna i livmoderlumen dvs. exokrin utsöndring. Där metaboliseras $\text{PGF}_{2\alpha}$ av trofoblastceller till PGE_2 . Fostret utsöndrar även interleukin 1, beta 2 (IL1B2) som också bidrar till ökad syntes av PGE_2 .



Figur 2: Översikt över händelser under tidig dräktighet hos gris. Siffrorna längs tidslinjen anger dagar efter ovulation. Fri tolkning efter Geisert et al. (2015).

Tidig embryosignalering hos häst

Preimplantationsperioden hos häst

Hästar har flera unika fenomen i sin tidiga embryonalutveckling (Klein, 2015), däribland att det bildas en kapsel som består efter att zona pellucida brutits ner och som inte försvinner förrän runt dag 22. Konceptus behöver migrera över stora delar av endometriet och redan kring dag 6 initierar konceptus syntes av prostaglandiner, östrogener och progesteron från fosterhinnorna som bidrar till utvecklingen av konceptus.

Kapseln tros ha flera olika funktioner för att underlätta motilitet hos konceptus: den hjälper fostret att behålla sin sfäriska form, agerar mekaniskt skydd och innehåller sialinsyra som antas ha en anti-adhesiv effekt (Oriol et al., 1993; Stout et al., 2005). Fostrets rörelse i livmodern börjar dag 9, når sin höjdpunkt mellan dag 11-14 för att sedan avstanna vid dag 16 (Mcdowell et al., 1988). Förhindras rörligheten kommer den cirkulerande mängden progesteron i moderns blod att minska och dräktigheten kommer att upphöra.

Troligen är det konceptus självt som stimulerar kontraktiliteten i livmodern vilket möjliggör rörligheten, och mycket tyder på att det är prostaglandiner som orsakar peristaltiken i myometriet (Stout & Allen, 2001). Dock vet man ännu inte om det kan vara östrogen från konceptus som stimulerar frisättning av prostaglandin från endometriet eller om prostaglandinet ursprungligen kommer ifrån konceptus självt (Klein & Troedsson, 2011). Det har visat sig att om konceptus rör sig över en yta av mindre än två tredjedelar av endometriet så kan inte dräktigheten upprätthållas. Den bakomliggande anledningen till migrationen kan vara att fostret ska kunna frisätta en, hittills okänd, anti-luteolytisk faktor över hela endometriet.

Potentiella signalmolekyler

En specifik signalmolekyl som initierar MRP har än så länge inte kunnat identifieras hos häst (Smits *et al.*, 2018). MRP borde dock inträffa mellan dag 12 och 14, eftersom embryotransfer kan fungera dag 12 men inte dag 14.

Liksom hos gris börjar hästens konceptus utsöndra östrogen runt dag 10 (Hartt *et al.*, 2005). Försök har gjorts för att undersöka östrogens potentiella verkan som MRP hos ston genom att exponera ston för östrogen efter ovulation. Detta har dock inte påvisat några resultat om att förlänga livet på CL (Klein & Troedsson, 2011).

Hästens konceptus utsöndrar också olika interferoner, däribland IFN δ (Klein & Troedsson, 2011). Dessa utsöndras dock inte i tillräcklig mängd under den tid som är kritisk för MRP-signalering, utan först senare under utvecklingen och har högst osannolikt något med MRP att göra.

Vanderwall *et al.* (1994) undersökte om livslängden på CL förlängdes vid intrauterin infusion av PGE₂ hos ston. Resultaten visade dock ingen signifikans (P=0,09) för att PGE₂ skulle ha en sådan effekt på CL. Dock menar Vanderwall att man kan se en trend att PGE₂ skulle kunna ha en påverkan på livslängden på CL, men att det krävs fler studier på området.

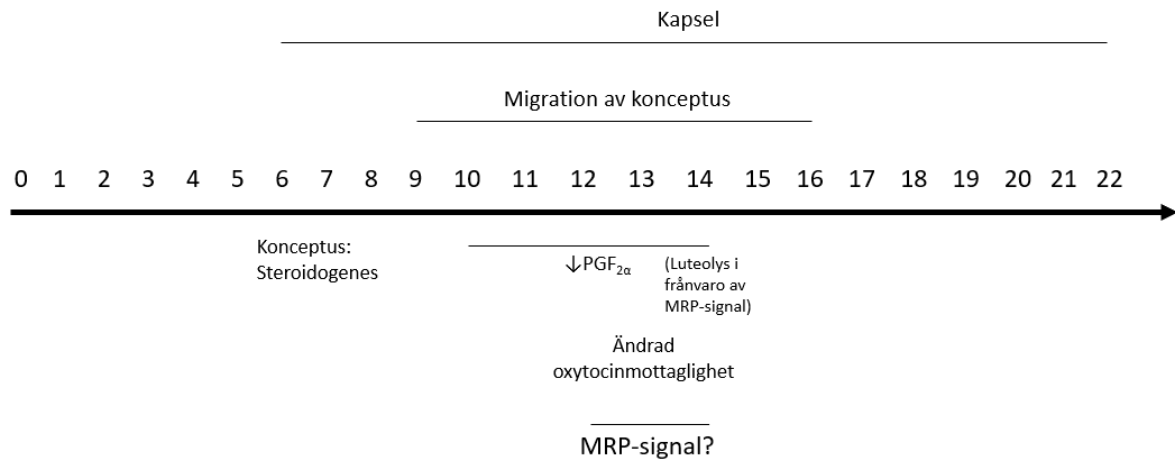
Luteolytisk och antiluteolytisk mekanism hos häst

Luteolys hos häst sker runt dag 14 vid utebliven dräktighet, men eftersom MRP-signalen ännu inte är känd så har heller inte en fullständig mekanism för bevarandet av CL kunnat fastställas (Klein & Troedsson, 2011). Dock tycks mekanismen för hur hästens konceptus meddelar sin närvaro skilja sig jämfört med både idisslare och grisar. Liksom hos andra stora domesticerade djur orsakar PGF_{2 α} luteolys en viss tid efter ovulationen. Detta visar en studie där man indirekt, genom att mäta metaboliten PGFM, kunde påvisa pulserande frisättning av PGF_{2 α} i blodet hos icke-dräktiga ston i samband med nedbrytning av CL och minskande progesteronnivåer (Kindahl *et al.*, 1982). En annan studie visade att koncentrationen PGF_{2 α} i plasma från venöst blod i livmodern var lägre hos dräktiga ston mellan dag 10 och 14 än hos icke-dräktiga ston under samma tid (Douglas & Ginther, 1976). Ealy visade i en *in vitro*-studie att COX-2, och följaktligen även PGF_{2 α} , begränsades när det utsattes för sekret som utsöndras från konceptus (Ealy *et al.*, 2010).

Möjligen kan konceptus ha en antiluteolytisk effekt genom att inhibera frisättningen av PGF_{2 α} från endometriet i blodet. Detta är av stor vikt eftersom luteolys induceras systemiskt hos hästen och inte via lokala kärl (från livmodern till äggstocken), så som det sker hos idisslare (Bazer, 2015). Hästen har en mindre effektiv metabolism av PGF_{2 α} i lungorna än vad idisslare och gris har, vilket möjliggör att nivåerna av PGF_{2 α} kan bli högre i blodet och nå fram till CL via systemisk väg (Sjaastad *et al.*, 2016).

Oxytocin har visats spela en central roll för frisättningen av PGF_{2 α} från endometriet vid tiden för luteolys (Klein, 2015). Det har visats *in vitro* att oxytocin ökar uttrycket av COX-2 och därför även PGF_{2 α} (Ealy *et al.*, 2010). *In vivo* kan en hastig ökning av PGFM i blodet påvisas hos icke-dräktiga ston som injiceras med oxytocin under diöstrus (Klein & Troedsson, 2011).

Det har även kunnat påvisas att endometriets mottaglighet för oxytocin ökar runt tiden för luteolys till följd av höjda koncentrationer av OXTR hos icke-dräktiga ston, emedan OXTR-nivåerna förblir oförändrade hos dräktiga ston (Sharp *et al.*, 1997; Starbuck *et al.*, 1998). Mekanismen för bevarandet av CL hos häst kan antas vara relaterat till denna förändring av mottaglighet för oxytocin, vilket i sin tur påverkar frisättningen av $\text{PGF}_{2\alpha}$ (Bazer, 2015; Klein, 2015). I figur 3 visas en tidslinje över händelser som inträffar under tidig dräktighet hos ston.



Figur 3: Översikt över händelser under tidig dräktighet hos häst. Siffrorna längs tidslinjen anger dagar efter ovulation. Fri tolkning efter Klein & Troedsson (2011) och Klein (2015).

DISKUSSION

För att en dräktighet skall kunna etableras och fortskrida krävs det tidig kommunikation mellan conceptus och moderns endometrium (review Bazer, 2015). Detta arbete har fokuserat på de olika MRP-signalerna hos idisslare, gris och häst, vars huvudsakliga uppgift är att förhindra luteolys och på så vis bevara dräktigheten. Det bör dock nämnas att det finns betydligt fler signaler som är inblandade för att en dräktighet skall utvecklas optimalt än de som tagits upp här.

Hos idisslare har IFNT identifierats som MRP-signal, hos gris är det östrogen och hos häst har en specifik MRP-signal ännu inte kunnat fastställas (review Bazer, 2015). Hos idisslare och gris utsöndras signalerna från trofoblastcellerna och förhindrar indirekt att PGF_{2α} lyckas bryta ner CL. Detta är troligen även fallet hos häst. Vägen dit skiljer sig dock åt hos de olika djurslagen.

Mekanismen hos idisslare går ut på att hämma uttrycket av OXTR i endometriet och på så vis även hämma syntesen av det luteolytiska PGF_{2α} (Spencer & Hansen, 2015). Hos grisen hämmas inte syntesen av PGF_{2α}, utan det är dess utsöndring som omdirigeras: istället för att deponeras i blodet kommer PGF_{2α} att deponeras i livmoderlumen, där den sedan kommer att omvandlas till det luteotropa PGE₂ (Geisert *et al.*, 2015). Mekanismen hos häst är ännu inte känd, men den antas vara associerad med en minskad mottaglighet för oxytocin i endometriet vilket, liksom hos idisslare, bidrar till en hämmad syntes av PGF_{2α} (review Bazer, 2015; Klein, 2015).

Förutom dessa olikheter så finns det även tidiga anatomiska och fysiologiska skillnader som påverkar bevarandet av dräktighet. Hos alla dessa djur eftersträvar conceptus att maximera ytan för interaktion med endometriet, antingen genom att conceptus förlängs, att det migrerar eller en kombination av dessa (Mcdowell *et al.*, 1988). Hos idisslare sker en förlängning av conceptus, hos gris är både migration och förlängning av vikt, medan det hos hästen endast sker en migration. Kontakten med endometriet är en förutsättning för att de olika MRP-signalerna ska kunna hämma PGF_{2α} till den grad att luteolys inte sker.

En anatomisk skillnad mellan dessa djur är att idisslare och gris har en nära lokalisation av *A. ovarica* och *V. uterina* som på ett effektivt sätt överför PGF_{2α} i venen från livmodern till äggstockens artär (Sjaastad *et al.*, 2016). Denna kontakt mellan kärlen är dock inte lika utpräglad hos hästen och PGF_{2α} har svårare att nå äggstocken den vägen för att orsaka luteolys. Dock kompenseras detta genom att PGF_{2α} metaboliseras mindre effektivt i lungorna hos häst jämfört med hos idisslare och grisar. Detta möjliggör att PGF_{2α} kan nå CL via systemisk cirkulation.

De likheter som jag har identifierat hos de djurslag som tas upp i denna studie utgörs av vissa komponenter som ingår i processen, till exempel att PGF_{2α} har en luteolytisk effekt hos alla dessa arter och deras MRP-signaler syftar till att hämma PGF_{2α} på olika sätt. Progesteron är hos alla det dräktighetsbevarande hormonet som krävs för att upprätthålla en god miljö åt conceptus och att utbredningen av conceptus i livmodern är essentiell för att en dräktighet ska kunna bevaras.

Att öka kunskapen inom området för signalering under tidig dräktighet är viktigt av olika anledningar. Hos däggdjur är tidig embryonal död det största hindret för att uppnå en ökad reproduktionseffektivitet enligt en sammanfattning av Mondal *et al.* (2016). Hos nötkreatur sker merparten av tidig embryonal död inom spannet mellan befruktning och tiden då MRP-signalen sänds ut (Lonergan & Forde, 2015). Detta bidrar starkt till en minskad reproduktionseffektivitet. Denna höga dödlighet hos tidiga embryon kan ha många olika anledningar, men troligen kan det associeras med en defekt förlängningsprocess, under vilken IFNT skall utsöndras och etablera dräktigheten (Sanchez *et al.*, 2018; Lonergan *et al.*, 2019). Ju mer vi lär oss om kommunikationen mellan endometriet och det tidiga embryot och utvecklingen av konceptus, desto mer förståelse kommer vi att få om infertilitet och orsaker till tidig embryonal död hos nötkreatur. Den kunskapen behövs för att i framtiden kunna utveckla nya metoder för att förbättra fertiliteten hos nötkreatur (Brooks *et al.*, 2014) men även för att kunna utveckla nya preventivmedel (Mondal *et al.*, 2016).

Relevansen av detta ämne har även ökat under senare år i samband med tekniska framsteg inom reproduktionsbioteknologin. I dagsläget praktiseras embryoöverföring både hos ko, gris och häst. Embryoöverföring är komplicerat och kräver till exempel att både givare och mottagare är synkroniserade, vilket ofta kräver artificiell påverkan på reproduktionssystemet. Kunskaper om den molekylära kommunikationen mellan det maternella systemet och konceptus behövs för att utveckla optimala strategier och metoder för att dessa och liknande metoder ska fungera (Mondal *et al.*, 2016). Framsteg inom genforskningen kommer troligen att öka kunskapen inom detta område ytterligare genom att, om möjligt, även lyckas identifiera gener som är ansvariga för ökad embryoöverlevnad.

Sammanfattningsvis kan sägas att den tidiga signaleringen från konceptus till modern är av största vikt för att bevara en dräktighet. Hos idisslare, gris och häst skiljer sig MRP-signalerna åt på flera plan men samtliga resulterar i en begränsning av $\text{PGF}_{2\alpha}$ och bevarandet av CL. Ytterligare forskning behövs för att utveckla metoder som kan minska förekomsten av för tidig embryonal död för att kunna bidra till förbättrad fertilitet och framsteg inom reproduktionsbioteknologin.

LITTERATURFÖRTECKNING

- Akinlosotu, B. A., Diehl, J. R. & Gimenez, T. (1988). Prostaglandin E2 counteracts the effects of PGF₂ α in indomethacin treated cycling gilts. *Prostaglandins* [online], 35(1), pp 81–93. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0090698088902766>. [Accessed 2019-02-27].
- Arosh, J. A., Banu, S. K., Kimmins, S., Chapdelaine, P., MacLaren, L. A. & Fortier, M. A. (2004). Effect of interferon- τ on prostaglandin biosynthesis, transport, and signaling at the time of maternal recognition of pregnancy in cattle: Evidence of polycrine actions of prostaglandin E2. *Endocrinology* [online], 145(11), pp 5280–5293. Available from: <https://academic.oup.com/endo/article/145/11/5280/2500796>. [Accessed 2019-02-27].
- Bazer, F. W. (2013). Pregnancy recognition signaling mechanisms in ruminants and pigs. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 4, p 23.
- Bazer, F. W. (2015). History of maternal recognition of pregnancy. In: Geisert, R. D. & Bazer, F. W. (Eds) *Regulation of implantation and establishment of pregnancy in mammals: Tribute to 45 year anniversary of Roger V. Short's "Maternal recognition of pregnancy"*. pp 5–25. Cham: Springer International Publishing. ISBN 978-3-319-15856-3.
- Bazer, F. W. & Thatcher, W. W. (1977). Theory of maternal recognition of pregnancy in swine based on estrogen controlled endocrine versus exocrine secretion of prostaglandin F₂ α by the uterine endometrium. *Prostaglandins* [online], 14(2), pp 397–401. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/009069807790185X>. [Accessed 2019-02-20].
- Brooks, K., Burns, G. & Spencer, T. E. (2014). Conceptus elongation in ruminants: roles of progesterone, prostaglandin, interferon tau and cortisol. *Journal of Animal Science and Biotechnology* [online], 5(1), p 53. Available from: <https://doi.org/10.1186/2049-1891-5-53>. [Accessed 2019-02-19].
- Conley, A. J. & Ford, S. P. (1989). Direct luteotrophic effect of oestradiol-17 β on pig corpora lutea. *Reproduction* [online], 87(1), pp 125–131. Available from: https://rep.bioscientifica.com/view/journals/rep/87/1/jrf_87_1_017.xml. [Accessed 2019-03-05].
- Douglas, R. H. & Ginther, O. J. (1976). Concentration of prostaglandins F in uterine venous plasma of anesthetized mares during the estrous cycle and early pregnancy. *Prostaglandins* [online], 11(2), pp 251–260. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0090698076901489>. [Accessed 2019-02-21].
- Dyce, K. M., Sack, W. O. & Wensing, C. J. G. (2010). *Textbook of veterinary anatomy*. 4th ed. St. Louis, Mo: Saunders/Elsevier. ISBN 978-1-4160-6607-1.
- Ealy, A. D., Eroh, M. L. & Sharp, D. C. (2010). Prostaglandin H synthase Type 2 is differentially expressed in endometrium based on pregnancy status in pony mares and responds to oxytocin and conceptus secretions in explant culture. *Animal Reproduction Science* [online], 117(1), pp 99–105. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378432009000876>. [Accessed 2019-02-22].
- Flint, A. P. (1995). Interferon, the oxytocin receptor and the maternal recognition of pregnancy in ruminants and non-ruminants: a comparative approach. *Reproduction, Fertility and Development* [online], 7(3), pp 313–318. Available from: <http://www.publish.csiro.au/RD/RD9950313>. [Accessed 2019-02-12].
- Geisert, R. D., Johnson, G. A. & Burghardt, R. C. (2015). Implantation and establishment of pregnancy in the pig. In: Geisert, R. D. & Bazer, F. W. (Eds) *Regulation of implantation and establishment of pregnancy in mammals: Tribute to 45 year anniversary of Roger V. Short's*

- "*Maternal recognition of pregnancy*". pp 137–163. Cham: Springer International Publishing. ISBN 978-3-319-15856-3.
- Geisert, R. D., Lucy, M. C., Whyte, J. J., Ross, J. W. & Mathew, D. J. (2014). Cytokines from the pig conceptus: roles in conceptus development in pigs. *Journal of Animal Science and Biotechnology* [online], 5(1), p 51. Available from: <https://doi.org/10.1186/2049-1891-5-51>. [Accessed 2019-02-15].
- Geisert, R. D., Zavy, M. T., Wettemann, R. P. & Biggers, B. G. (1987). Length of pseudopregnancy and pattern of uterine protein release as influenced by time and duration of oestrogen administration in the pig. *Reproduction* [online], 79(1), pp 163–172. Available from: https://rep.bioscientifica.com/view/journals/rep/79/1/jrf_79_1_021.xml. [Accessed 2019-02-21].
- Gray, C. A., Burghardt, R. C., Johnson, G. A., Bazer, F. W. & Spencer, T. E. (2002). Evidence that absence of endometrial gland secretions in uterine gland knockout ewes compromises conceptus survival and elongation. *Reproduction*, 124(2), pp 289–300.
- Hartt, L. S., Carling, S. J., Joyce, M. M., Johnson, G. A., Vanderwall, D. K. & Ott, T. L. (2005). Temporal and spatial associations of oestrogen receptor alpha and progesterone receptor in the endometrium of cyclic and early pregnant mares. *Reproduction* [online], 130(2), pp 241–250. Available from: <https://rep.bioscientifica.com/view/journals/rep/130/2/1300241.xml>. [Accessed 2019-03-06].
- Kindahl, H., Knudsen, O., Madej, A. & Edqvist, L. E. (1982). Progesterone, prostaglandin F-2 alpha, PMSG and oestrone sulphate during early pregnancy in the mare. *Journal of reproduction and fertility. Supplement* [online], 32, pp 353–359. Available from: <http://europepmc.org/abstract/med/6300390>. [Accessed 2019-02-26].
- Klein, C. (2015). Pregnancy recognition and implantation of the conceptus in the mare. In: Geisert, R. D. & Bazer, F. W. (Eds) *Regulation of implantation and establishment of pregnancy in mammals: Tribute to 45 year anniversary of Roger V. Short's "Maternal recognition of pregnancy"*. pp 165–188. Cham: Springer International Publishing. ISBN 978-3-319-15856-3.
- Klein, C. & Troedsson, M. H. T. (2011). Maternal recognition of pregnancy in the horse: a mystery still to be solved. *Reproduction, Fertility and Development* [online], 23(8), pp 952–963. Available from: <http://www.publish.csiro.au/rd/rd10294>. [Accessed 2019-02-12].
- Lonergan, P. & Forde, N. (2015). The role of progesterone in maternal recognition of pregnancy in domestic ruminants. In: Geisert, R. D. & Bazer, F. W. (Eds) *Regulation of Implantation and Establishment of Pregnancy in Mammals: Tribute to 45 Year Anniversary of Roger V. Short's "Maternal Recognition of Pregnancy"*. pp 87–104. Cham: Springer International Publishing. ISBN 978-3-319-15856-3.
- Lonergan, P., Sanchez, J. M., Mathew, D. J., Passaro, C. & Fair, T. (2019). Embryo development in cattle and interactions with the reproductive tract. *Reproduction Fertility and Development*, 31(1), pp 118–125.
- Mcdowell, K. J., Sharp, D. C., Grubaugh, W., Thatcher, W. W. & Wilcox, C. J. (1988). Restricted conceptus mobility results in failure of pregnancy maintenance in mares. *Biology of Reproduction* [online], 39(2), pp 340–348. Available from: <https://academic.oup.com/biolreprod/article/39/2/340/2763674>. [Accessed 2019-02-12].
- Mondal, S., Mor, A. & Reddy, I.J. (2016). Factors/Genes in maternal recognition of pregnancy: an overview. In: Soccol, V. T., Pandey, A. & Resende, R. R. (Eds) *Current Developments in biotechnology and bioengineering: Human and animal health applications*. Elsevier. ISBN 978-0-444-63671-3.

- Mor, A., Mondal, S., Reddy, I. J. & Soumya, N.P. (2015). Genes regulating maternal recognition of pregnancy in domestic animals: an update. *Brazilian archives of biology and technology* [online], 58(6), pp 854–863. Available from: <https://doaj.org/article/19ce79fba08a41e3a17e548bc3cc0841>. [Accessed 2019-02-12].
- Ochoa, J. C., Penagaricano, F., Baez, G. M., Melo, L. F., Motta, J. C. L., Garcia-Guerra, A., Meidan, R., Pinheiro Ferreira, J. C., Sartori, R. & Wiltbank, M. C. (2018). Mechanisms for rescue of corpus luteum during pregnancy: gene expression in bovine corpus luteum following intrauterine pulses of prostaglandins E-1 and F-2 alpha. *Biology of Reproduction*, 98(4), pp 465–479.
- Oriol, J. G., Sharom, F. J. & Betteridge, K. J. (1993). Developmentally regulated changes in the glycoproteins of the equine embryonic capsule. *Reproduction* [online], 99(2), pp 653–664. Available from: https://rep.bioscientifica.com/view/journals/rep/99/2/jrf_99_2_048.xml. [Accessed 2019-02-22].
- Raheem, K.A. (2017). An insight into maternal recognition of pregnancy in mammalian species. *Journal of the saudi society of agricultural sciences* [online], 16(1), pp 1–6. Available from: <https://doaj.org/article/fd5a2fd449bd4636929fd1cbd527edb7>. [Accessed 2019-02-12].
- Roberts, R. M., Chen, Y., Ezashi, T. & Walker, A. M. (2008). Interferons and the maternal–conceptus dialog in mammals. *Seminars in cell & developmental biology* [online], 19(2), pp 170–177. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1084952107001656>. [Accessed 2019-02-12].
- Sanchez, J. M., Mathew, D. J., Passaro, C., Fair, T. & Lonergan, P. (2018). Embryonic maternal interaction in cattle and its relationship with fertility. *Reproduction in Domestic Animals*, 53, pp 20–27.
- Sharp, D. C., Thatcher, M.-J., Salute, M. E. & Fuchs, A.-R. (1997). Relationship between endometrial oxytocin receptors and oxytocin-induced prostaglandin F2 α release during the oestrous cycle and early pregnancy in pony mares. *Reproduction* [online], 109(1), pp 137–144. Available from: https://rep.bioscientifica.com/view/journals/rep/109/1/jrf_109_1_019.xml. [Accessed 2019-02-22].
- Short, R. V. (1969). Implantation and the maternal recognition of pregnancy. I: Wolstenholme, G. E. W. & O'Conner, M. *Foetal Autonomy*. Ciba Foundation General Symposium. London, J. A. Churchill Ltd. pp 2–26. ISBN-13: 978-0700014187
- Sjaastad, O. V., Hove, K. & Sand, O. (2016). *Physiology of domestic animals*. 3rd ed. ISBN 978-82-91743-41-7.
- Smits, K., Willems, S., Van Steendam, K., Van De Velde, M., De Lange, V., Ververs, C., Roels, K., Govaere, J., Van Nieuwerburgh, F., Peelman, L., Deforce, D. & Van Soom, A. (2018). Proteins involved in embryo-maternal interaction around the signalling of maternal recognition of pregnancy in the horse. *Scientific Reports*, 8(1), p 5249.
- Spencer, T. E. & Hansen, T. R. (2015). Implantation and Establishment of Pregnancy in Ruminants. In: Geisert, R. D. & Bazer, F. W. (Eds) *Regulation of implantation and establishment of pregnancy in mammals: Tribute to 45 year anniversary of Roger V. Short's "Maternal recognition of pregnancy"*. pp 105–135. Cham: Springer International Publishing. ISBN 978-3-319-15856-3.
- Starbuck, G. R., Stout, T. a. E., Lamming, G. E., Allen, W. R. & Flint, A. P. F. (1998). Endometrial oxytocin receptor and uterine prostaglandin secretion in mares during the oestrous cycle and early pregnancy. *Reproduction* [online], 113(2), pp 173–179. Available from: https://rep.bioscientifica.com/view/journals/rep/113/2/jrf_113_2_002.xml. [Accessed 2019-02-22].

- Stout, T. A. & Allen, W. R. (2001). Role of prostaglandins in intrauterine migration of the equine conceptus. *Reproduction* [online], 121(5), pp 771–775. Available from: <https://rep.bioscientifica.com/view/journals/rep/121/5/771.xml>. [Accessed 2019-02-13].
- Stout, T. A. E., Meadows, S. & Allen, W. R. (2005). Stage-specific formation of the equine blastocyst capsule is instrumental to hatching and to embryonic survival in vivo. *Animal Reproduction Science* [online], 87(3), pp 269–281. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378432004002532>. [Accessed 2019-02-22].
- Vanderwall, D. K., Woods, G. L., Weber, J. A. & Lichtenwalner, A. B. (1994). Corpus luteal function in nonpregnant mares following intrauterine administration of prostaglandin E2 or estradiol-17 β . *Theriogenology* [online], 42(7), pp 1069–1083. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0093691X94908559>. [Accessed 2019-02-27].
- Zhao, S., Liu, Z.-X., Gao, H., Wu, Y., Fang, Y., Wu, S.-S., Li, M.-J., Bai, J.-H., Liu, Y., Evans, A. & Zeng, S.-M. (2015). A three-dimensional culture system using alginate hydrogel prolongs hatched cattle embryo development in vitro. *Theriogenology* [online], 84(2), pp 184–192. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0093691X15001387>. [Accessed 2019-02-19].
- Ziecik, A. J., Waclawik, A., Kaczmarek, M. M., Blitek, A., Jalali, B. M. & Andronowska, A. (2011). Mechanisms for the establishment of pregnancy in the Pig. *Reproduction in Domestic Animals* [online], 46(s3), pp 31–41. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1439-0531.2011.01843.x>. [Accessed 2019-02-12].