



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
YEDİTEPE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM ANABİLİM DALI

**GEBE SIÇANLARDA MATERNAL PROGESTERON TEDAVİSİNİN
FETAL BEYİN GELİŞİMİ ÜZERİNE OLAN ETKİLERİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Mert Yeşiladalı

Prof. Dr. N. Cem FIÇICIOĞLU

Anabilim Dalı Başkanı

Doç. Dr. Oluş Api

Tez Danışmanı

İSTANBUL

2016



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
YEDİTEPE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM ANABİLİM DALI

**GEBE SIÇANLARDA MATERNAL PROGESTERON TEDAVİSİNİN FETAL
BEYİN GELİŞİMİ ÜZERİNE OLAN ETKİLERİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Mert Yeşiladalı

Prof. Dr. N. Cem FIÇICIOĞLU

Anabilim Dalı Başkanı

Doç. Dr. Oluş Api

Tez Danışmanı

İSTANBUL

2016



**T.C. YEDİTEPE ÜNİVERSİTESİ, DENEY HAYVANLARI ETİK KURULU
(YÜDHEK)**

ETİK KURUL KARARI

Toplantı Tarihi	Karar No	İlgi	Proje Yürütücüsü
24.04.2015	463	14.04.2015 Tarihli Yazı	Dr. Mert YEŞİLADALI

“Gebe ratlarda progesteron uygulamasının fetüs beyni üzerine olası etkilerinin araştırılması” adlı bilimsel çalışma etik kurulumuzda görüşülmüş olup, çalışmanın etik kurallara uygun olduğuna oy birliğiyle karar verilmiştir.

Etik Onay Geçerlilik Süresi: 1 Yıl

GÖREVİ	ADI SOYADI	İMZA
Başkan	Prof. Dr. M. Ece GENÇ	
Başkan Yardımcısı	Prof. Dr. Erdem YEŞİLADA	KATILMADI
Raportör	Prof. Dr. Işıl Aksan KURNAZ	
Üye	Prof. Dr. Bayram YILMAZ	
Üye	Prof. Dr. Başar ATALAY	
Üye	Yard.Doç.Dr.Soner DOĞAN	
Üye	Yard. Doç. Dr. Ediz DENİZ	KATILMADI
Üye	Doç. Dr. C. Narter YEŞİLDAĞLAR	KATILMADI
Üye	Sumru KİRAZCI	

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasında elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlar için referans gösterdiğimi ve bu referansları listelediğimi, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

Bu tezin yayınlanması konusundaki tasarruf hakkı üniversiteye aittir ve yayınlanması için izin gerekmektedir. Yine bu tezden yazarının izni olmadan fotokopi ile çoğaltma yapılamayacağı ve tezden ancak referans vermek kaydıyla alıntı yapılabileceği unutulmamalıdır.

Dr. Mert YEŞİLADALI

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince bizlere karşı her zaman anlayışlı olan, bilgi ve tecrübelerini aktarmaktan mutluluk duyan, gerek mesleki gerek manevi anlamda desteğini her zaman hissettiğim saygıdeğer hocam ve Anabilim Dalı Başkanım Prof. Dr. Cem Fıçıcıoğlu'na;

Uzmanlık eğitimimim son döneminde hastanemiz bünyesine katılmış olmasına rağmen cerrahi deneyiminden ve tecrübesinden faydalanma fırsatı bulduğum değerli hocam Prof. Dr. Meral Aban'a;

Tezimin her aşamasında tecrübeleriyle bana yol gösteren, özel hayatından aldığı zamanı tez çalışmamı ayıran ve öğretme isteğini asla kaybetmeyen sevgili hocam Doç. Dr. Oluş Api'ye;

Mesleki anlamda eğitimime verdiği katkıların yanı sıra insani anlamda da bana çok şey katan ve her zaman gülen yüzüyle desteğini yanımda hissettiğim sevgili hocam Doç. Dr. Rukset Attar'a;

Bana cerrahiye sevdiren, öğretmekten asla vazgeçmeyen, eğitimi bütün komplikasyonların üzerinde tutan ve maddi manevi her konuda yanımda olan sevgili hocam Doç. Dr. Gazi Yıldırım'a;

Yeditepe Üniversitesi Deneysel Tanı ve Araştırma Merkezi adına bizlere her türlü olanağı sağlayan sayın hocam Prof. Dr. Bayram Yılmaz'a,

Patolojik incelemelerde zaman ayırıp bana birebir öğreterek yardımcı olan sayın hocam Prof. Dr. Ferda Özkan'a, preparatların hazırlanması için yoğun emek ve çaba sarfeden değerli patoloji teknikerlerine; deney hayvanların sağlığıyla yakından ilgilenen, laboratuvarı etkili kullanmama yardımcı olan veteriner hekim Engin Sümer, Selim Doğan ve Uğur Polat'a,

Asistanlığım süresince en zor günlerimde yanımda olan, bütün zorlukları birlikte göğüslediğimiz sevgili çalışma arkadaşım ve dostum Dr. Özge Kızılkale Yıldırım'a;

Çalışmalarım döneminde yokluğumu asla hissettirmemek için insanüstü bir gayretle çalışan sevgili çalışma arkadaşım Dr. İlke Baran Karaçiftçi'ye;

Eğitimimiz süresince sıkıntıları birlikte paylaştığımız tüm hemşire, laboratuvar ve yardımcı sağlık personeline,

Beni bugünlere getirmek için maddi manevi hiçbir desteklerini esirgemeyen ve yokluğuma sürekli katlanmak zorunda kalan canım anne ve babama,

Saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

1. GİRİŞ	8
2. GENEL BİLGİLER	11
2.1 Fetal embryoloji	11
2.2 Merkezi sinir sisteminin gelişimi	11
2.2.1 Nörolasyon	15
2.2.2 Nöroblast proliferasyonu	15
2.2.3 Nöroblastların programlı apoptozu.....	17
2.2.4 Nöroblast migrasyonu.....	17
2.2.5 Akson ve dendritlerin gelişimi.....	19
2.2.6 Hücre membranının elektriksel polaritesi.....	20
2.2.7 Sinaptogenez.....	20
2.2.8 Nörotransmitter sentezi.....	21
2.2.9 Myelinasyon	21
2.3 Fetal Beyin Gelişimi	23
2.4 Ratlarda sinir sisteminin anatomisi.....	25
2.5 Progesteronun beyinde etkileyebileceği reseptörler ve fonksiyonları	26
2.5.1 Östrojen reseptörleri.....	26
2.5.2 Progesteron reseptörleri.....	28
2.5.3 Myelin basic protein (MBP).....	31
2.5.4 Myelin Proteolipid Protein (PLP).....	32
2.5.5 Oligodendrosit transkripsiyon faktörü 2 (OLIG2).....	32
2.5.6 Platelet kaynaklı büyüme faktör reseptörü- α (PDGFR α)	33
2.6 Progesteron ile ilgili genel bilgiler	35
2.6.1 Progesteron molekülü.....	35
2.6.2 Progesteronun Obstetrik Kullanımı.....	38
2.6.3 Progesteron ve Merkezi Sinir Sistemi	39
3. YÖNTEM	42
3.1 Araştırmanın Evreni ve Örneklem:.....	42
3.2 Deney Grupları:	43
3.3 Değerlendirme Yöntemi:.....	43
3.3.1 Histolojik Değerlendirme Yöntemi:.....	43
3.3.2 İmmünohistokimyasal Analizler:	44

3.3.3 İstatistiksel Analiz:.....	44
4. BULGULAR	45
4.1 Progesteron Reseptörü (PR).....	45
4.2 Östrojen Reseptörü (ER).....	45
4.3 Miyelin Basic Protein (MBP).....	46
4.4 OLIG2.....	48
4.5 PLP.....	49
4.6 PDGFR.....	51
5. TARTIŞMA	58
6. SONUÇ	67



KISALTMALAR

17-OHPC:	17 Hidroksi progesteron kaproat
AMH:	Anti Müllerian Hormon
AP α :	Allopregnanolone
AR:	Androjen Reseptörü
bHLH:	Helip-loop-helix
COX:	Siklooksijenaz
DNA:	Deoksiribonükleik asit
ER :	Östrojen Reseptörü
FGF:	Fibroblast büyüme faktörü
GABA:	Gamma-aminobütirik asit
INSL3:	İnsülin benzeri protein 3
LHR:	Luteinize edici hormon reseptörü
MAPK:	Mitogen-Activated Protein Kinase
MBP:	Myelin Basic Protein
MITF:	Microphthalmia-Associated Transcription Factor
NGN2:	Neurogenin 2
NO:	Nitrik Oksit
OLIG2	Oligodendrosit Transkripsiyon Faktörü 2
PCR:	Polimeraz zincirleme reaksiyonu
PDGFR:	Platelet kaynaklı büyüme faktör reseptörü
PLP:	Myelin proteolipid protein
PR:	Progesteron Reseptörü
SOD:	Süperoksit Dismutaz
SSS:	Santral Sinir Sistemi
STAR:	Steroidogenic acute regulatory protein
STAT3:	Signal transducer and activator of transcription 3
VEGF:	Vasküler endotelial büyüme faktörü

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1: Notokord Uzantısının gelişimini gösteren çizimler	13
Şekil 2: Notokord uzantısının ileri gelişimi ile notokorda dönüşümü	14
Şekil 3: Nöral tüp ve nöral kristanın oluşumu	15
Şekil 4: 16 haftalık normal fetüste ön beynin koronal kesiti.	18
Şekil 5: Myelin oluşumunun transvers kesiti	22
Şekil 6: Konsepsiyondan erişkin hayata kadar beyin gelişimi.....	24
Şekil 7: İnsan ve rat beyin yapılarını gösteren şematik çizim	26
Şekil 8: Rat beyninde progesteron reseptörleri dağılımı	29
Şekil 11: Myelin Basic Protein	31
Şekil 12: Progesteron molekülü.....	35
Şekil 13: Gebelik veya gebelik olmaması durumunda progesteron düzeyleri..	37
Şekil 10: Progesteron ile indüklenen nöroprotektif sinyal modeli.....	40
Şekil 14: Gruplar arası ER boyanma şiddetinin grafiksel olarak gösterimi	46
Şekil 15: Gruplar arası MBP boyanma şiddetinin grafiksel olarak gösterimi....	47
Şekil 16: Gruplar arası OLIG2 boyanma yüzdesinin grafiksel olarak gösterimi	49
Şekil 17: Gruplar arası PLP boyanma şiddetinin grafiksel olarak gösterimi.....	50
Şekil 18: Gruplar arası PDGFR boyanma yüzdesinin grafiksel gösterimi	52
Şekil 19: Grup C (kontrol) ve Grup A (17OH progesteron kaproat) ER boyanmaları	53
Şekil 20: Grup C (kontrol) ve Grup A (17OH progesteron kaproat) OLIG2 boyanmaları	54
Şekil 21: Grup C (kontrol) ve Grup B (mikronize progesteron) MBP boyanmaları	55
Şekil 22: Grup C (kontrol) ve Grup B (mikronize progesteron) PLP boyanmaları	56
Şekil 23: Grup C (kontrol) ve Grup C (17OH progesteron kaproat) PDGFR boyanmaları	57

TABLO LİSTESİ

Tablo 1: Gruplar arası ER boyanma şiddetinin karşılaştırılması	45
Tablo 2: Gruplar arası MBP boyanma şiddetinin karşılaştırılması	47
Tablo 3: Gruplar arası OLIG2 boyanma yüzdelerinin karşılaştırılması	48
Tablo 4: Gruplar arası PLP boyanma şiddetinin karşılaştırılması	50
Tablo 5: Gruplar arası PDGFR boyanma yüzdelerinin karşılaştırılması	51



ÖZET

Amaç: Gebelik süresince terapötik dozda progesteron uygulanan sıçanlarda, fetal beyin dokusunda bulunan beyin gelişiminde önemli rol oynayan reseptörlerin ve proteinlerin ekspresyonunda anlamlı bir değişiklik meydana gelip gelmediğini araştırmak.

Yöntem: Çalışmada kullanılan toplam 15 adet dişi Spraque-Dawley türü sıçan 5'er adet olmak üzere 3 gruba ayrıldı. Grup A'ya gebeliğin ilk gününden itibaren haftada bir kez *17- α -OH progesteron kaproat* 7mg/kg dozunda i.m. uygulandı. Grup B'ye gebeliğin ilk gününden itibaren her gün, günde bir kez *mikronize progesteron* 4mg/kg p.o. olarak gavaj yoluyla uygulandı. Kontrol grubu olarak belirlenen Grup C'ye her gün oral gavaj yoluyla saf zeytinyağı verildi. 21 günlük gebelik sürelerinin sonunda vajinal doğum yoluyla elde edilen toplam 152 sıçandan, her anneden 4'er adet olmak üzere toplam 60 tanesi incelemeye alındı ve doğumlarının ilk gününde dekapite edilerek beyin dokuları çıkarıldı. İmmünohistokimyasal boyamayla dokularda ER, PR, MBP, PLP, OLIG2, PDGFR ekspresyonları incelendi.

Bulgular: Çalışma sonuçlarına göre tedavi gruplarında kontrol grubuna göre ER, MBP, PLP, OLIG2 ekspresyonlarında istatistiksel olarak anlamlı oranda artış saptanırken, PDGFR ekspresyonunda istatistiksel olarak anlamlı oranda azalma olduğu tespit edildi. Hiçbir grupta PR'ne ait pozitif boyanma bulgusu saptanmamıştır.

Tartışma: Gebelik döneminde verilen progesteron tedavisinin fetüs organ sistemleri üzerindeki etkileri konusunda yeterli sayıda çalışma bulunmamaktadır. Çalışmamız sonucunda maternal progesteron tedavisinin fetal sıçan beyinde bulunan, beyin gelişimi üzerinde önemli etkileri olan protein ve reseptörlerin ekspresyonunu anlamlı oranda değiştirdiğini tespit ettik. Bu sonuçlar ışığında maternal progesteron tedavisinin fetüs üzerinde cinsel davranış, kognitif fonksiyonlar, metabolizma, nöron migrasyonu ve differensiasyonu ve myelinizasyon artışına bağlı olarak kognitif ve nörogelişimsel fonksiyonlar üzerindeki etkisinin, erken ve geç çocukluk döneminde, iyi tasarlanmış klinik çalışmalar ile araştırılması gerekmektedir.

Sonuç: Maternal progesteron tedavisi fetüs beyinde bulunan, sinir sistemi gelişimi açısından önem arz eden protein ve reseptörlerin ekspresyonunda anlamlı oranda değişikliğe yol açmaktadır.

SUMMARY

Objective: To study any possible effects of maternal progesterone therapy on important proteins and receptors in fetal brain tissue of rats.

Materials and Methods: Fifteen female Speaque-Dawley rats were used in this study, which were divided in three groups. *17- α -OH progesterone caproat* 7mg/kg, i.m. was applied once a week to Group A, from first day of pregnancy. *mikronize progesteron* 4mg/kg p.o. was daily applied to Group B, from first day of pregnancy. Group C was control group and olive oil was given daily from first day of pregnancy. After 21 days pregnancy period, 152 newborn rats were born by vaginal birth. 60 of them, including 4 from each mother, were taken study and decapitated from first day of their birth. Their brain tissues were obtained and ER, PR, MBP, PLP, OLIG2, PDGFR were studied by immunohistochemistry.

Results: Groups A and B had significantly more expression of ER, MBP, PLP, OLIG2; and less expression of PDGFR; compared to Group C. None of the groups had PR expression.

Discussion: There are very few studies concerning the effect of maternal progesteron therapy on fetal organ systems. Our study revealed significant effects of progesterone therapy on fetal brain receptors and proteins, which have particular roles on embryogenesis and brain tissue development. In the light of these results, long term effects of maternal progesterone therapy on fetus remains to be studied; including possible effects on metabolism, cognitive functions, sexual behaviour, neuron migration and differentiation and increased myelination.

Conclusion: Maternal progesterone therapy causes statistically significant changes on expressions of several proteins and receptors in brain, which have important roles in central nervous system development.

1. GİRİŞ

Progesteron; etimolojik olarak vücudu gebeliğe hazırlayan hormon anlamına gelen latince [pro + ge(station) + ster(ol) + one] kelimelerinden türemiştir. Günümüz bilgileri ışığında, progesteronun bunun dışında birçok sistemde farklı fonksiyonları olduğu bilinmektedir.

Progesteron birbirinden bağımsız olarak dört farklı araştırma grubu tarafından keşfedilmiştir (1,2,3,4). Willard Myron Allen, Rochester Tıp Fakültesi'nde anatomi profesörü George Washington Corner ile birlikte 1933'te progesteronu keşfetmiştir. Allen önce erime noktasını, molekül ağırlığını ve kısmi moleküler yapısını belirlemiştir. Bu maddeye, Progestasyonel Steroidal Keton kelimelerinden türetilen Progesteron adını vermiştir. (5). İlaç asıl olarak enjeksiyon şeklinde kullanılmıştır çünkü oral alımda hızla aktivitesini kaybetmektedir (6). Progesteron da diğer steroidler gibi birbirine bağlı 4 siklik hidrokarbondan meydana gelmektedir. Progesteron, keton ve oksijen içeren fonksiyonel gruplar ve bunun yanı sıra 2 metil bağı içermektedir. Tüm steroid hormonlar gibi hidrofobiktir.

İnsan vücudunun temel pregestasyonel hormonu olan progesteron, korpus luteumda, pregnenolondan dönüşüm ile üretilir. Fonksiyonu, endometriumu proliferatif fazdan sekretuar faza geçirerek uterusu fertilize ovumun alınması ve büyümesi için hazırlamaktır. Menstrüasyonu ve uterin kontraksiyonları baskıladığından dolayı gebeliğin devamında da çok önemlidir.

Progesteron günümüzde ilaç olarak da kullanılmaktadır. Kadınlarda amenore, infertilite, premenstrüel sendrom, menstrüel düzensizlikler, menopoz (estrojenik tedaviyi tamamlayıcı olarak), luteal faz yetmezliği gibi jinekolojik endikasyonlarla kullanılmaktadır.

Bunun yanında progesteronun obstetrik kullanımı da mevcuttur. Tekrarlayan gebelik kaybı etiyolojisinde yer alan luteal faz yetmezliği, preterm doğum öyküsü ve kısa serviks başlıca kullanım endikasyonları arasında yer almaktadır. Ayrıca, etkinliği tartışmalı olmasına rağmen, düşük tehdidi endikasyonu ile de erken gebelik haftalarından başlanarak tüm gebelik süresince uzun süreli ve yüksek dozlarda uygulanmaktadır (7). Ancak, progesteronun insan

fetüsünün gelişimi ve çeşitli organ sistemleri üzerine olan etkileri ile ilgili yeterli sayıda veri bulunmamaktadır. Maternal progesteron kullanımının gelişmekte olan fetüs üzerine etkileri hakkında yalnızca hayvan çalışmalarından elde edilmiş bazı bilgiler mevcuttur.

2014 yılında koyunlar üzerinde yapılan bir çalışmada, erken gebelik döneminde verilen progesteron desteğinin erkek fetüslerde testis dokusunda PR, LHR, ER alfa, ER beta ve AR ekspresyonu üzerindeki etkisi incelenmiştir. En belirgin etkinin, testis dokusunda AR ekspresyonunda artışı olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca, AMH, INSL3, ER beta, LHR, STAR ekspresyonunda da artış saptanmıştır. Hipofiz bezine ait reseptörlere olan etkisi ise teknik sebepler nedeniyle sonuçlandırılmamıştır (8).

2015 yılında yapılan başka bir hayvan çalışmasında ise preterm doğurtulmuş yenidoğan domuzlara progesteron tedavisi verilmesinin ardından, beyin dokularındaki progesteron türevlerinin düzeyleri ölçülerek, progesteronun myelinizasyon ve beyin gelişimi üzerine olan etkileri kontrol grubu ile karşılaştırılmıştır (9). Çalışma sonucunda, progesteron tedavisi almış yenidoğanların beyinde nöroprotektif etkili progesteron metaboliti allopregnanolone düzeylerinin daha yüksek olduğu görülmüştür. Buna karşın, yapılan subgrup analizde, progesteron tedavisi almış gruptaki erkek yenidoğanların serebellum ve serebrum MBP, PLP, OLIG2, PDGFR α düzeylerinde düşüş saptanmış ve bunun da beyin gelişimine olumsuz etkisi olabileceği ileri sürülmüştür.

Progesteronun erişkinlerde, özellikle travmatik beyin hasarı üzerinde nöroprotektif etkisi olduğu çeşitli çalışmalar ile gösterilmiştir (10,11,12). Ayrıca seks steroid hormonlarının aksonal myelinizasyonda ve santral sinir sisteminin beyaz maddesinin oluşumunda kritik bir rol oynadıkları bilinmektedir (13). Ancak, yenidoğan ve fetal beyin gelişimi üzerine olan etkileri konusunda yeterli çalışma bulunmamaktadır. Konjenital kalp hastalığı olan yenidoğanlarda en sık görülen komorbidite nörolojik disabilitedir. *Children's Hospital of Philadelphia'da* "**Randomized Trial of Maternal Progesterone Therapy**" ismiyle halen yürütülmekte olan bir çift-kör randomize klinik çalışmada, gebelikte anneye verilen progesteronun konjenital kalp hastalığı olan yenidoğanlarda, nörolojik

disabiliteyi azaltıcı bir etkisi olup olmadığı araştırılmaktadır(14). Çalışmanın Aralık 2018 tarihinde sonuçlanması beklenmektedir.

2009 yılında başlanıp 2015 yılında sonlandırılan OPPTIMUM çalışmasına ait ilk sonuçlar, Şubat 2016 yılında ABD'de Society of Maternal Fetal Medicine (SMFM) toplantısında sözlü bildiri olarak sunulmuştur. Bu çalışmada erken doğumun önlenmesinde vajinal mikronize progesteron ile plasebo karşılaştırılarak progesteronun erken doğumu önlemedeki etkinliği ile neonatal sonuçları üzerindeki ve uzun dönem çocukluk çağı kognitif ve nörogelişimsel sonuçların (2 yaş) değerlendirilmesi amaçlanmıştır (15). Çalışmanın sonucunda progesteronun kısa serviksi olan kadınlarda erken doğumu önleyici etkisi bulunmadığı ve obstetrik, neonatal sonuçları iyileştirici anlamlı olumlu bir etkisi bulunmadığı gösterilmiştir. Diğer yandan, çalışmanın sekonder sonlanma kriterleri arasında bulunan progesterona maruz kalan yenidoğanların solunum sistemi, gastrointestinal sistem ve renal sistem açısından kontrol grubuna göre daha yüksek oranda olumsuz etkiler görüldüğü bildirilmiştir. Ayrıca, 2 yaşına geldiklerinde deneklere yapılan kognitif fonksiyon değerlendirilmesinde (*Bailey-III Cognitive and Function Scale*) progesteron grubuyla kontrol grubu arasında anlamlı bir farklılık gösterilememiştir. Bu örnek çalışmada ortaya konulduğu üzere, progesteronun gebelik süresince uzun süreli kullanımının olası olumlu etkilerine rağmen, fetal organ sistemleri üzerindeki etkisi erken yenidoğan döneminde ortaya çıkmayıp, hayatın daha ileri dönemlerinde ortaya çıkıyor olabilir. Bu nedenle yaptığımız bu çalışmada, tüm gebelik süresince maternal terapötik dozda progesterona maruz kalan fetal sıçanlarda beyin dokusunda, beyin gelişiminde önemli rol oynayan reseptörlerin ve proteinlerin ekspresyonunda anlamlı bir değişiklik meydana gelip gelmediğini araştırmak istedik.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 Fetal embryoloji

İnsan gelişimi erkek gamet hücresi spermatozon ile dişi gamet hücresi oositin birleşerek zigot oluşturması anlamına gelen fertilizasyon ile başlar. Zigot bölünerek, hücre bölünmesi, göçü, büyümesi ve farklılaşması ile çok hücreli insana dönüşür. 1940'ların başına kadar, konjenital bozuklukların esas nedeni genetik faktörlere bağlansa da Gregg ve arkadaşlarının yapmış oldukları çalışmalar sonucunda, hamileliğin erken dönemlerinde annesi etkileyen çevresel faktörlerin de konjenital malformasyonlara neden olacağı ortaya konmuştur. Teratoloji alanındaki hızlı gelişmelere rağmen, insanlardaki konjenital malformasyonlar konusundaki bilgilerin artışı oldukça sınırlı kalmıştır(16).

Fetus gelişimi 3 evrede değerlendirilebilir; Birinci evre; yaklaşık olarak gebeliğin ilk 18–20 haftasını içerir, hücrelerin hızlı mitozla beraber çoğalmasıyla karakterize olup hücreler sayıca artar. İkinci fazda (20–28 gebelik haftası arası) hiperplazi ve hipertrofi bir arada olur. Üçüncü evrede ise; (28 gebelik haftası sonrası) hücre büyüklüklerinde artış, kas ve konnektif doku birikimi vardır(17).

2.2 Merkezi sinir sisteminin gelişimi

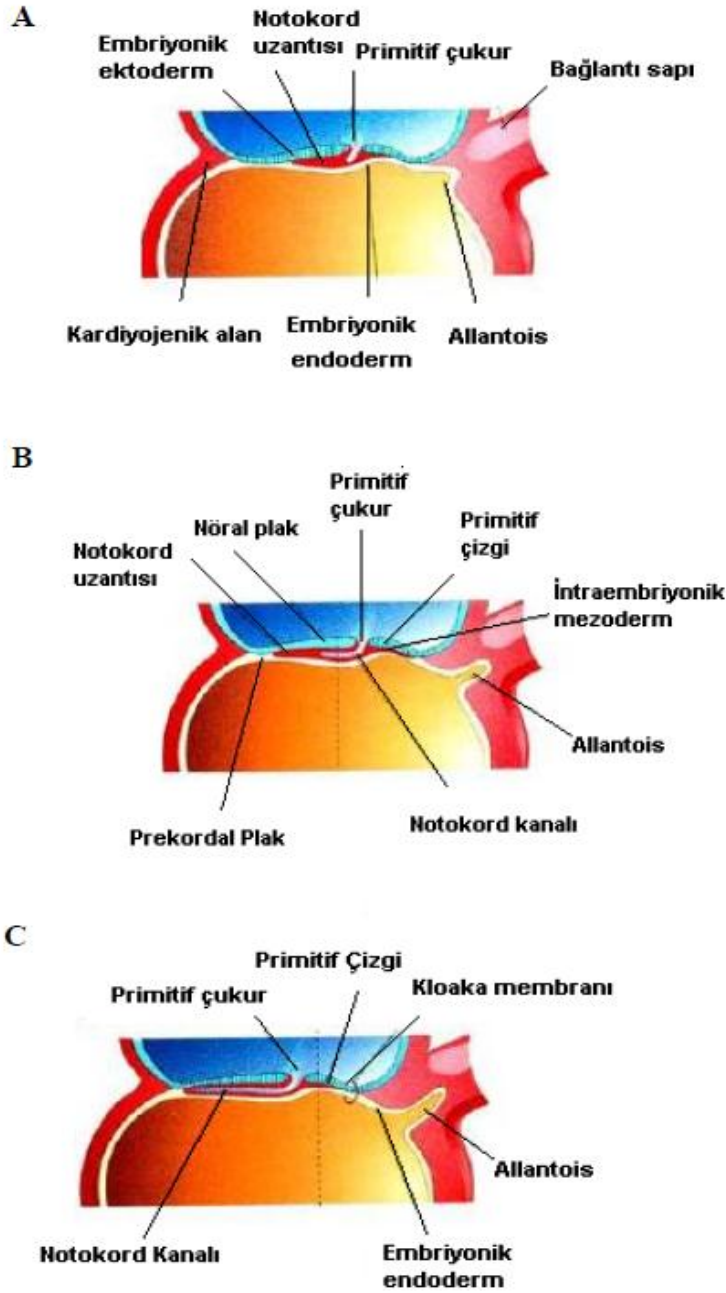
Beynin gelişimi belli sekanslarda gerçekleşir. Bazı olaylar, beynin gelişimine yan etkilerde bulunarak zarar verebilir. Bazıları kısadır (örn; tek bir kez toksin maruziyeti), bazıları ise gebelikte haftalar boyunca etki eder(örn; bazı konjenital enfeksiyonlar, diyabetes mellitus, genetik veya kromozomal defektler). Nörolojik gelişimin anatomik ve fizyolojik bağı, bir nöronun büyüme ve gelişimini ve diğer nöronlarla sinaptik bağlantılarını yansıtır. Olgun nöron, elektriksel polarize membranı ile sekretuar bir hücredir. Endokrin ve ekzokrin hücrelerin sekretuar olmasına ve kas hücrelerinin uyarılabilir membranlara sahip

olmasına rağmen, sadece nöronlar bu iki fonksiyona sahiptir. Nöron prekürsörleri ne sekretuar ne de uyarılabilirler.

Nöronların hücresel gelişimi, ontogenezin bir görünümüdür ve diğer hücrelerle konumsal ilişkileri, hem fonksiyon hem de infantlarda neonatal nöbetler gibi bazı bozuklukların patogenezi açısından önemlidir. Nöroblastlar, nöronal gelişimden sorumlu olan postmitotik nöroepitelyal hücrelerdir. Bu hücreler matür nöronların sahip olduğu membran polaritesi, sekresyon, sinaptik bağlantılar gibi fonksiyonlarını henüz kazanmamıştır ve sıklıkla gezicidirler. "Blast" teriminin kullanımı hematopoezden farklıdır, bu blastlar hala mitotik siklusun içindedir ve neoplastik bile olabilirler. Nöral tüpün oluşumu ve indüklenmesinden sonraki nöronal gelişim basamakları, beyindeki malformasyonun tipini ve daha sonraki anormal nörolojik disfonksiyonu tahmin etmeye yardımcıdır. Bu basamaklar; (1) nöral tüpün nörolasyon ve oluşumu, (2) nöroblastların mitotik proliferasyonu, (3) nöroblastların programlı hücre ölümü, (4) nöroblast göçü, (5) akson ve dendritlerin gelişimi, (6) hücre membranının elektriksel polaritesi, (7) sinaptogenez, (8) nörotransmitterlerin biyosentezi ve (9) aksonların miyelinizasyonudur. (18).

Sinir sistemi nöral plaktan gelişir. Notokord ve paraksiyal mezoderm nöral plağa farklılaşmak üzere üzerindeki ektodermi uyarır. Nöral plaktan nöral katlantılar, nöral tüp ve nöral krista oluşur. Nöral tüp MSS'ne farklıdır. Nöral krista ise periferik sinir sistemi ve otonom sinir sistemi'nin büyük kısmını yapan hücreleri oluşturur.

Nörolasyon olarak bilinen bir süreç olan nöral plak ve nöral tüp oluşumu 4. haftanın başında (22–23. günler) başlar. Nöral katlantıların kaynaşması kranial ve kaudal yönde her iki uçta da sadece küçük bir açıklık kalıncaya kadar ilerler. Kranial açıklık (rostral/anterior nöropor) 25. günde kapanırken kaudal/ posterior nöroporun kapanması 2 gün sonra olur. Nöral tüpün duvarları beyin ve medulla spinalisi oluşturmak üzere kalınlaşır. Nöral kanal; beynin ventriküler sistemi ve medulla spinalis'in kanalis sentralis'ini yapar(19).



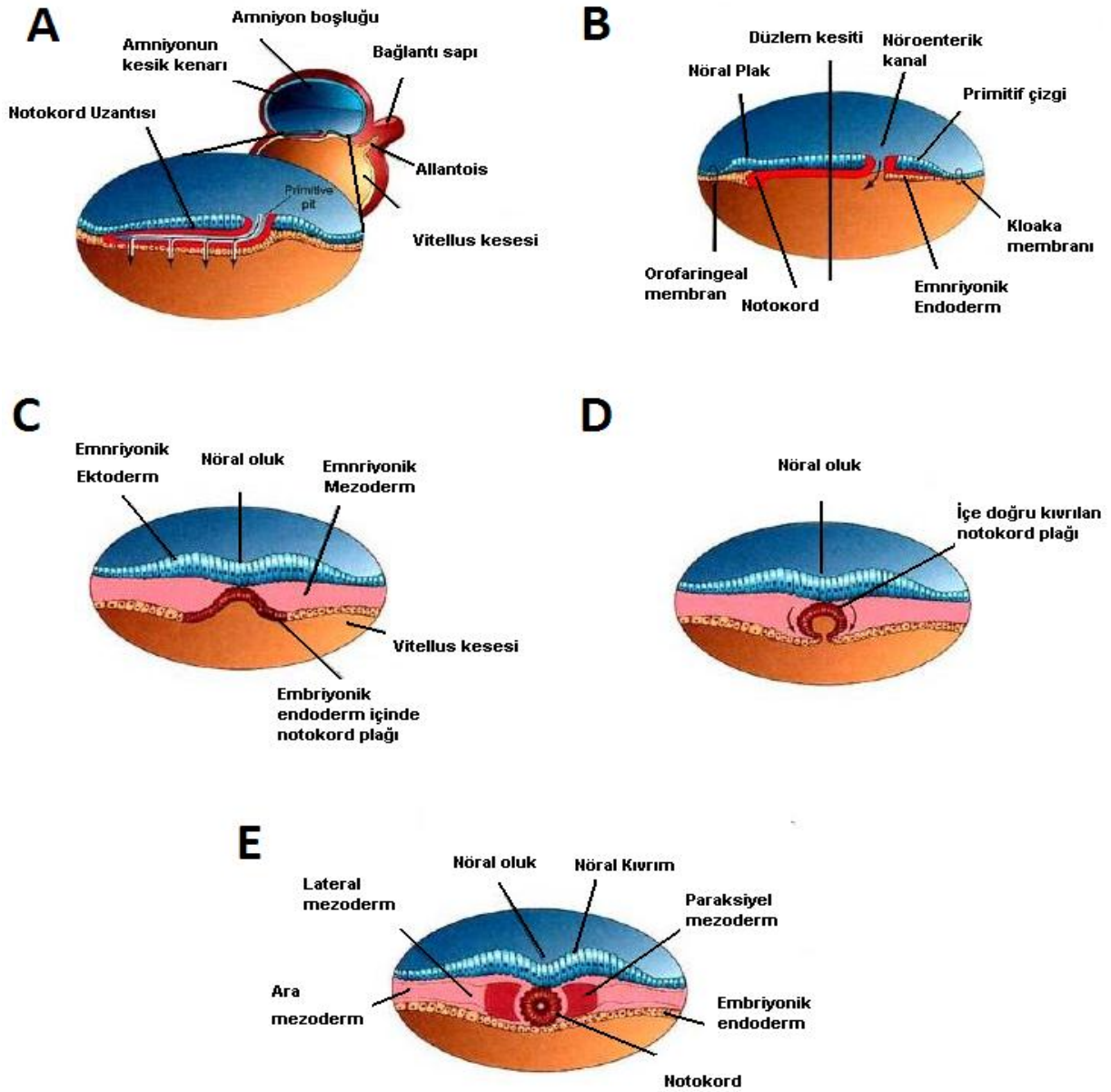
Şekil 1: Notokord Uzantısının gelişimini gösteren çizimler (21)

oluşturur (Şekil 2. B). Primitif çizgideki bazı hücreler notokord uzantısının her iki tarafında kraniale doğru ve prekordal plak çevresine göç eder. Burada kardiyojenik alanda, üçüncü haftanın sonunda gelişmeye başlayan kalp; primordiyumunu oluşturacak olan kardiyojenik mezodermi yapmak üzere

Bazı mezenşimal hücreler primitif düğüm ve çukurdan kraniale doğru göç eder ve orta çizgide notokord uzantısı denen hücresel bir kordon oluşturur (Şekil 1. A-B). Bu uzantıda kısa zamanda bir lümen, notokord kanalı oluşturur (Şekil 1. B-C). Notokord uzantısı ektoderm ve endoderm arasında kraniale doğru, silindirik endodermal hücrelerden oluşan küçük yuvarlak bir alan olan prekordal plağa ulaşana kadar ilerler. İçi boş olan çubuk şeklindeki notokord uzantısı daha fazla ilerleyemez; çünkü prekordal plak üstündeki ektoderme sıkıca yapışmıştır. Bu kaynaşmış tabakalar ileride ağız boşluğunun gelişeceği orofarengial membranı

birleşirler. Primitif çizginin kaudalinde ileride anüsün gelişeceği dairesel bir alan olan kloaka membranı bulunur (**Şekil 1.C - B**) (16).

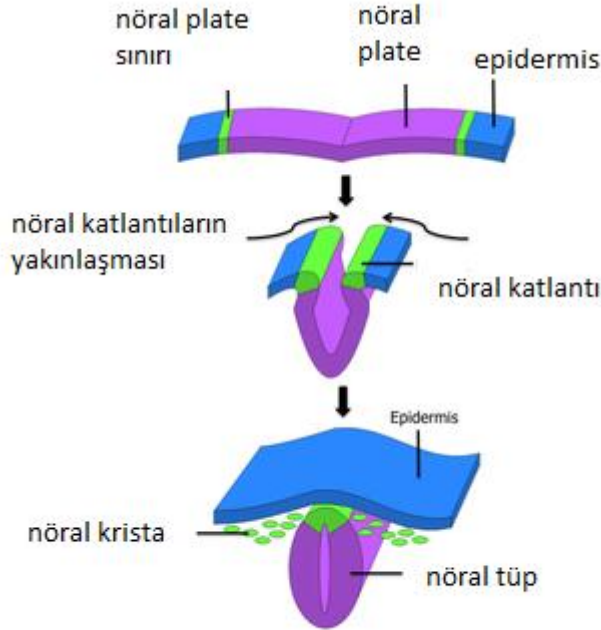
Notokord etrafında, orofarengial membrandan primitif düğüme kadar uzanan omurga oluşur. Omur cisimleri oluştuğça notokord dejenere olur ve kaybolur, yalnızca her bir intervertebral diskin nukleus pulposusunu içinde varlığını sürdürür. Üstünde uzanan embriyonik ektodermin kalınlaşmasını ve merkezi sinir sisteminin primordiumu olan nöral plağın (**Şekil 2. A-C**) oluşumunu uyarır(20).



Şekil 2: Notokord uzantısının ileri gelişimi ile notokorda dönüşümü(21)

2.2.1 Nörulasyon

Notokord gelişince üzerindeki ektodermi indükleyerek kalınlaşmasına ve uzun, kalınlaşmış nöroepitelyal hücrelerden oluşan nöral plak adı verilen yapının oluşumuna neden olur. Nöral plağın ektoderminden merkezi sinir sistemi gelişir. Notokord uzadıkça nöral plak genişler ve kraniale doğru orofarengial membrana kadar ilerler (**Şekil 2. B**). Yaklaşık 18. günde nöral plak, merkez eksenini boyunca invajine olarak her iki yanında nöral kıvrımların bulunduğu orta çizgide longitudinal olarak uzanan nöral oluğu oluşturur (**Şekil 2.D-E**). Nöral kıvrımlar embriyonun kranial ucunda daha kabarık görünümündedir, bu da beyin gelişiminin ilk belirtisidir. Üçüncü haftanın sonunda nöral kıvrımlar birbirine doğru yaklaşıp birleşmeye başlar ve nöral plak nöral tüpe dönüşür (**Şekil 3**). Nörulasyonun dördüncü haftasında tamamlanır(22).



Şekil 3: Nöral tüp ve nöral kristanın oluşumu

2.2.2 Nöroblast proliferasyonu

Nöral tüp formasyonunu takiben, ventriküler bölgedeki nöroepitelyal hücrelerden nöronlar ve glial hücreler oluşmaya başlar. Bölünme hızının en hızlı olduğu

dönemler beyin sapı için ilk trimesterin başı, önbeyin için ise ilk trimesterin sonu ile ikinci trimesterin başıdır. Matür serebral korteksteeki nöron sayısının oluşabilmesi için fetal telensefalonun 33 kere mitotik bölünmeye uğraması gerekmektedir.

Nöroepitelyumdaki mitotik aktivite en çok ventriküler bölgede gerçekleşir, mitotik uzamanın yönelimi kardeş hücrelerin kaderini belirler. Eğer yarık, ventriküler bölgeye dikse, iki kardeş hücreden bir sonraki mitozu hazırlanan iki eşit nöroepitelyal hücre meydana gelir. Öte yandan, yarık ventriküler bölgeye paralelse, kardeş hücreler eşit olmaz(asimetrik yarıma). Bu durumda ventriküler bölgedeki başka bir nöroepitelyal hücreye dönüşürken, bölgeden uzak olan diğeri, ventriküler bağlantısından ayrılır ve kortikal alana göç edecek postmitotik nöroblastta dönüşür. İki gen ürünü hücrenin kaderini belirler; bunlar numb ve notch yolaklarıdır ve nöroepitelyal hücrenin ayrı bölümlerinde bulunurlar. Simetrik yarıma ile iki kardeş hücre de ikisinden de aynı miktarda alır; fakat asimetrik yarımda ikisinden eşit olmayan oranlarda alınır ve bu da sonrasını etkiler. Mitotik uzama "Centractin" gerektirir.

İnsan sinir sisteminin pek çok bölümünde aktif mitoz doğumdan önce sona erer. Fakat bazı kısımlar nöroblastların postnatal mitoz potansiyelini sürdürür. Bu kısımlardan biri serebral hemisferlerin periventriküler bölgesidir (23). Bir diğeri, serebellar korteksin eksternal granüler tabakasıdır, burada 1 yaşına kadar mitoz devam eder. Radyasyon veya sitotoksik ilaçlar ile hasar görme durumunda bu nöronların postnatal rejenerasyonu hayvanlarda olduğu gibi insanlarda da görülebilir. Primer olfaktör reseptör nöronları da bu rejenerasyon potansiyelini korur. Aslına bakılırsa bu nöronların hayat boyunca sabit bir turnover'ı yoktur, intranazal epitele hasar veren üst solunum yolu enfeksiyonlarından sonra kişi anosmik hale gelebilir. Subventriküler zon ve hipokampal dentat girusta mitoz potansiyeli olan "Kök hücre" popülasyonları olduğu bildirilmiştir (18). Nöron olarak matür hale gelebildikleri için hasar görmüş erişkin beyninin rejenerasyon potansiyeli ile önemli derecede ilişkilidirler (24).

2.2.3 Nöroblastların programlı apoptozu

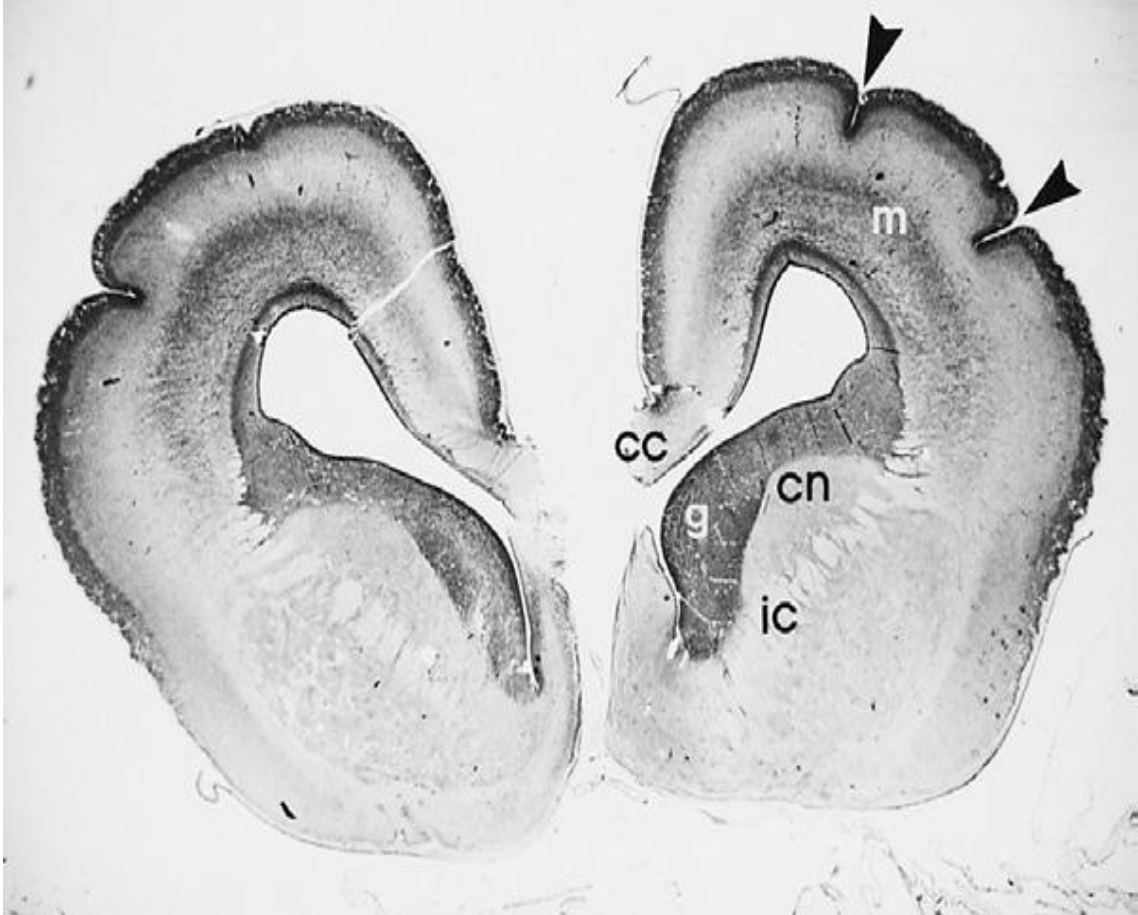
Mitotik proliferasyon ile sinir sisteminde haddinden fazla nöroblast üretilir. Bu fazlalığın kesin bir immatür nöron sayısına ulaşılana kadar %30-50 azaltılması programlı hücre ölümü/apoptoz ile olur. Fetusta apoptoz sürecini durduran faktörler birden fazladır ve genetik olarak belirlenmiştir. Hedefi ile uyuşmayan hücreler, diğer hücreler ile sinaptik bağlantı kurabilen hücrelere göre dejenerasyona karşı daha hassastır. Apoptozu hormonlar ve nöropeptitler düzenler. C-fos gibi bazı homeotik genler sinir sisteminde apoptozun düzenlenmesi için, diğer supresör genler ise apoptotik genlerin ekspresyonunun durdurulması için önem taşır.

Apoptozun 2 ayrı fazı vardır. Biri henüz farklılaşmamış nöroepitelyal hücrelerin veya farklılaşmasını tamamlayamamış nöroblastları içerirken; diğer faz fetal beynin tam olarak farklılaşmış nöronlarını içerir. İlk faz embriyonik hayat sırasında başlar ve bazı beyinlerde ventriküler bölgedeki endimiler farklılaşmaya dek 2. Trimestere kadar sürebilir. (Örn; periventriküler telensefalik nöroepitelyum) İkinci faz primer olfaktor nöronlar ve hipokampüste hayat boyunca devam edebilir ve bu kök hücre öncülü rezervi ile yakından ilişkilidir (18).

2.2.4 Nöroblast migrasyonu

Olgun insan beyninin hiçbir nöronu nöroepitelyumda üreme bölgesini işgal etmez. Uygun komşu nöronlarla sinaptik bağlantıları kurmak ve aksonlarını kısa veya uzun hedeflerine göndermek üzere göç ederler. Subependimal germinal matriks (**Şekil 4**), embriyonik konsantrik tabakaların subventriküler bölgesidir ve postmitotik premigratuvar nöroblastlar ve glioblastlardan oluşur. Genellikle olgun sinir hücrelerinin hareketi sentrifugaldır, beynin yüzeyine doğru yayılırlar. Serebellar korteks istisnaidir; eksternal granül hücreleri önce serebellum yüzeyine doğru yayılır ve daha sonra folia serebelli (gri cevher) 'ye doğru göç ederler. Nöroblastların göçü gebeliğin 6. Haftalarında başlar ve 2. trimesterden sonra germinal matrikste glioblastların hakim olmasına rağmen

fetal hayatın en az 34 haftasına kadar devam eder. Glioblastlar postnatal erken dönemlere kasar göç etmeye devam eder. Beyin sapında nöroblast göçü gebeliğin 2. ayında tamamlanır. Serebellar eksternal granül hücreleri hayatın ilk yılına kadar göç etmeye devam eder.



Şekil 4: 16 haftalık normal fetüste ön beynin koronal kesiti. Henüz göç etmemiş nöroblastların ve glial prekürsörlerin yaygın subependimal germinal matriksi (g) gösterilmektedir. Beynin yüzeyinde oluklar gelişmeye başlamıştır. Göç eden nöroblastlar (m) subkortikal beyaz cevherde görülmektedir. Korpus kallosum (cc) rüptüre edilmiş ve 2 hemisfer birbirine yaklaşmıştır. (Hematoksilen-eozin ile boyanmıştır). Cn: kaudat nükleus. Ic: capsula interna'nın ön crus'u.

2.2.5 Akson ve dendritlerin gelişimi

Nöroblast göçünde izlenen yol boyunca nöronlar büyük oranda farklılaşmamış hücreler olarak kalır ve embriyonal serebral korteks 2. Trimesterde, radial kan damarları ve ekstrasellüler alan arasında sıkı şekilde bulunan vertikal hücre sütunlarından oluşur. Hücre farklılaşması organellerin, esas olarak endoplazmik retikulum ve mitokondrinin proliferasyonu ile ve hücre membranının iç yüzeyinde nükleer kromatinin yoğunlaşması ile başlar. Düz endoplazmik retikulum şişer ve ribozomlar çoğalır (25).

Aksonların gelişimi her zaman dendritlerden önce gerçekleşir. Akson bağlantıları dendritlerin farklılaşması başlamadan önce oluşur. Ramon y Cajal aksonların varacağı yere doğru yönelimini fark etmiş ve bunu "büyüme konisi" olarak adlandırmıştır. Büyüme konisininin terminal sinapsına doğru rehberlik eden tropik faktörler (kimyasal, endokrin, elektrotaktik) yıllarca ihtilaf içinde kalır. Bununla birlikte, bilinmektedir ki yayılabilir moleküller yolları boyunca fetal endodimal hücreler ve bazı glial hücrelerin oluşumu sırasında büyüme konisine rehberlik eder. Bazı moleküller (örn; beyin kaynaklı nörotrofik faktör, netrin, S-100 β protein) gelişen aksonları çeker, oysa ki diğerleri (örn; glikozaminoglikan, keratan sülfat-keratin ile karıştırılmamalı-) güçlü bir şekilde iter ve böylelikle anormal çaprazlamaları ve türevlerini engeller. Laminin ve fibronektin gibi matriks proteinleri de ayrıca aksonal kılavuzluk için substrat sağlar. Hücreler arası çekim aksonları son hedeflerine yaklaştırır. İmmatür sinir hücresinin göçü ve dendritik büyümenin başlaması arasındaki gecikmeye rağmen, dendritlerin dallanması matür nöronun sinaptik yüzeyinin %90'ından daha fazlasından sorumludur. Dendritik dallanma paterni her nöron tipine spesifiktir. Dendritlerin üzerindeki geniş uçlu kısa çıkıntılar olan dikensi yapılar, sinaptik membran farklılaşmasına alan sağlar. Nöronların golgi metodu ile boyanması ve gümüş, cıva gibi ağır metallerle işlenmesi bir asırdan fazladır uygulanır ve dendritik dallanmaları en iyi gösteren metod olmaya devam etmektedir. Sinir sisteminin anlaşılması amacıyla Bu tekniğe pek çok katkının arasında, öncülük eden çalışma Ramon y Cajal'inki olmuştur. Fetüste normal dendritik dallanma seyri

gösterilmesinde üstündür. Dendritlerin gösterilmesi için mikrotübül ilişkili protein-2 gibi daha yeni immünohistokimyasal teknikler de mevcuttur (18).

2.2.6 Hücre membranının elektriksel polaritesi

Membran uyarılabilirliğinin oluşması nöronal gelişimde en önemli işaretlerden biridir. Fakat bu gelişimin ne kadar sürdüğü ve zamanı tam bilinmemektedir. Membran polaritesi sinaptogenezden ve nörotransmitter sentezinin başlangıcından önce oluşur. İstirahat membran potansiyelinin devamı, sodyum potasyum pompasını çalıştırmak için önemli miktarda enerji sarfiyatı gerektirir. Farklılaşmamış nöroblast istirahat membran potansiyelini sürdürmede yetersiz kalabilir. Nöron membranında iyon kanallarının gelişimi de, uyarılabilir membranların olgunlaşmasında ve istirahat membran potansiyelinin sürdürülmesinde bir diğer önemli faktördür (18).

2.2.7 Sinaptogenez

Dendritik dikenlerin gelişimini ve hücre membranının polarizasyonunu takiben sinaps oluşumu gerçekleşir. Sinaptogenez ve nöroblast göçü arasındaki ilişki sinir sisteminin farklı yerlerine göre farklılık gösterir. Serebral kortekste sinaptogenez daima nöroblast göçünü takip eder. Serebellar kortekste ise eksternal granül hücreleri, moleküler tabakanın uzun paralel lifleri oluşturacak aksonal gelişimi sağlar ve purkinje hücre tabakası üzerinden gri cevherdeki pozisyonlarına göç etmeden önce sinaptik bağlantı kurulur. Isının şiddetlenmesi ile Sinaptofizin immünoaktivitesi, fetüs ve yenidoğanda normal ve anormal sinaptogenezin anlaşılması için önemli bir işaret olarak kullanılabilir (26).

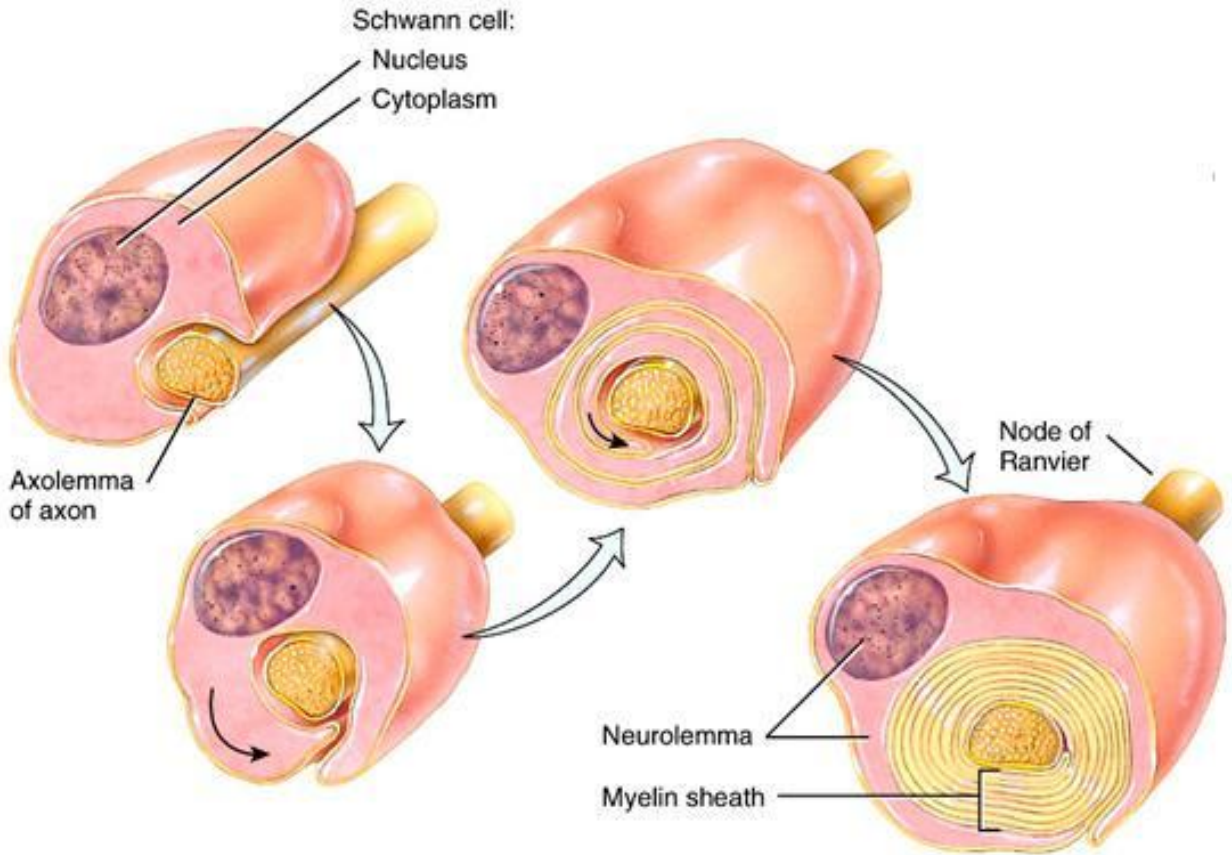
2.2.8 Nörotransmitter sentezi

Nörotransmitter sentezi ve kimyasalların nöromodülasyonunun temelini, nöronların sekretuar karakteri oluşturur. Bu olmazsa sinaptik iletim mümkün değildir. Transmitter olarak kullanılan bazı maddeler; (1) asetilkolin, (2) dopamin, epşnefrin, norepinefrin ve serotonini içeren moroaminler, (3) P maddesi, somatostatin gibi nöropeptidler, enkefalin gibi opioid ilişkili peptidler ve (4) glutamik asit, aspartik asit, GABA ve glisin gibi aminoasitlerdir. Glisin, gaba, SSS'deki asetilkolin gibi bazı transmitterler inhibitör karakterdedir. Her nöron tipi karakteristik bir transmitter üretir. Motor nöronlar asetilkolin, serebellar purkinje hücreleri GABA, granüler hücreler glutamik asit üretir. Bazı nöronlarda nöropeptidler ile bazı nörotransmitterler bir arada bulunabilir. Beynin bazı kısımlarında geçici fetal transmitterler gelişme süreci sırasında var olup sonradan kaybolabilir. P maddesi ve somatostatin gebeliğin 2. Trimesterinde fetal serebellumda bulunur fakat olgun serebellumda asla bulunmazlar. Olgun beyinde frontal lobun serebral korteksinde, kolinerjik muskarinik reseptörlerin laminar dağılım paterni, fetal beynin tam tersidir. Bu geçici transmitterlerin fonksiyonu bilinmemektedir. Bazıları erken gelişim döneminde tropik moleküller olarak işlev görür. GABA gibi aminoasit yapıdaki transmitterler bile gelişimin erken dönemlerinde tropik fonksiyon görebilir. In situ hibridizasyon ve immünohistokimyasal teknikler, deney hayvanlarının gelişen beyindeki nöronlarda bulunan nörotransmitterlerin bazı durumlarda insan dokusuna uygulanabilir olduğunu göstermektedir (27). Nörotransmitter sistemlerinin gelişimi sadece kimyasal transmitterlerin sentez mekanizmasına dayalı değildir, bu kimyasal sinyallerin spesifik reseptörlerinin ve nöron membranının uyarılabilirliğinin modifiye edilme yeteneğinin gelişmesi, spesifik moleküllerin tanınmasının ardından aksiyon potansiyelinin tetiklenmesine de dayanır (28).

2.2.9 Myelinasyon

Medulla spinalis'teki sinir aksonları saran miyelin kılıfı, fetal dönemin geç evrelerinde oluşmaya başlar ve doğum sonrası ilk yıl süresince oluşmaya devam

eder. Benzer polipeptid sekansına sahip myelin bazik proteinler, miyelin oluşumu için gerekli olan proteinlerdir. Genellikle sinir yolakları işlevsel hale geldiğinde, myelinleşmenin de başladığı gözlenir. Motor özelliklerdeki nöronlar duyu nöronlarına göre daha öncemyelinleşmektedir. Medulla spinalis içerisindeki sinir liflerini saran miyelin kılıfları, oligodendrositler tarafından oluşturulur. Bu hücrelerin plazma membranları, akson etrafında dolanarak çok sayıda membran tabakaları oluştururlar. Periferik sinir liflerinin aksonları etrafındaki miyelin kılıflarını, oligodendrositlerle aynı işlevi gören Schwann hücreleri (nörolemma hücreleri) tarafından oluşturulur. Schwann hücreleri, nöral krest hücrelerinden köken alarak çevreye göç ederler. Schwann hücreleri, merkezi sinir sisteminden çıkan somatik motor nöronların ve pre ve postgangliyonik otonomik motor nöronların aksonları etrafından dolanarak miyelin oluşumunu sağlarlar (**Şekil 5**)



(a) Transverse sections of stages in the formation of a myelin sheath

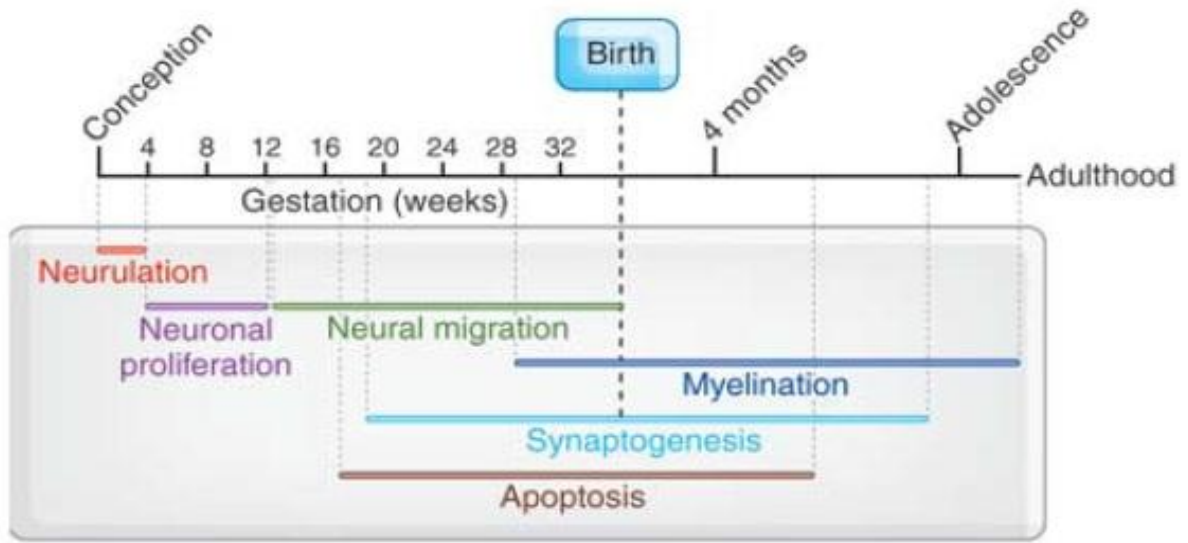
Şekil 5: Myelin oluşumunun transvers kesiti

Bu hücreler aynı zamanda somatik ve visseral duyu nöronlarının (psödoünipolar nöronlar) hem santral hem de periferik uzantıların etrafını da sararlar. Yaklaşık 20. Haftadan itibaren periferik sinir lifleri myelinin depolanmasından kaynaklanan beyazımtırak bir görünüme sahiptir. (25)

2.3 Fetal Beyin Gelişimi

İnsan beyninin matürasyonu karmaşık ve hayat boyu süren bir süreçtir. Günümüzde görüntüleme yöntemleriyle detaylı olarak incelenebilmektedir. Korteks ve subkortikal gri cevherde fetal hayat boyunca hücre çoğalması, matürasyonu ve göçü dikkatli ve sıralı bir şekilde gelişir. Sonuç olarak doğumda insan beyninde yaklaşık 100 milyon nöron bulunmaktadır. Yenidoğan beyni erişkin beyninin 1/3-1/4'ü kadardır. Çevresel faktörlerden pozitif veya negatif olarak modifiye olan genetik programlara bağlı olarak özelleşerek gelişmeye devam eder. Günümüzde Benes ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmalarda miyelinizasyonun hayatın 3. dekatında da devam ettiği gösterilmiştir(29). Yüksek kognitif fonksiyonlar için gerekli olan beynin dorsal bölgelerinin miyelinizasyonunun devam ettiği görülmekteyken, primitif fonksiyonlar için gerekli olan ventral ve derin beyin bölgelerinde miyelinizasyonun erken dönemde olduğu görülmektedir(30).

Beyin, 4. somit çiftinin kranialindeki nöral tüpten gelişir. Nöral katlantıların tamamen birleşmesinde önce; gelişen nöral tüpün rostral ucunda üç farklı kesecik görülür. Rostralden caudale, 3 primer beyin keseciği ön beyin (prosensefalon-forebrain), orta beyin (mesensefalon- midbrain) ve arka beyin (rhombensefalon-hindbrain)'dir. 4. haftanın başlamasıyla ön beyin telensefalon ve diensefalon olmak üzere; iki sekonder beyin kesecikleri-veziküllerine ayrılır. Arka beyin de 5. haftada metensefalon ve miyelensefalona ayrılır(31).



Şekil 6: Konsepsiyondan erişkin hayata kadar beyin gelişimi(164)

Çalışmalar, 3 primer yapının 6. Gebelik haftasında oluştuğunu göstermektedir. Bunlar ön beyin, orta beyin ve arka beyindir. Ayrıca prozensefalon, mezensefalon ve rombensefalon olarak da bilinmektedirler. 7. Gebelik haftasında buralardan 5 sekonder yapı gelişir. Bunlar telensefalon, diensefalon, mezensefalon, metensefalon ve myelensefalondur. Sonradan erişkinlikte lateral ventriküller, aqueductus, 4. Ventrikülün alt ve üst kısımları telensefalon ve myelensefalondan gelişir. (32). Başta frontal ve parietal korteksler olmak üzere kortikal beyaz cevher çocukluktan (9 yaş) ergenliğe kadar(14 yaş) büyür. Kortikal gri cevher gelişimi frontal ve parietal kortekslerde 12 yaş civarında, 17 yaş civarında temporal loblarda pik yapar. (En son superior temporal korteks olgunlaşır) Gri cevher kaybı bakımından önce duysal ve motor nöronlar ve bunları takiben diğer kortikal bölgeler gelişir (33)(**Şekil 6**).

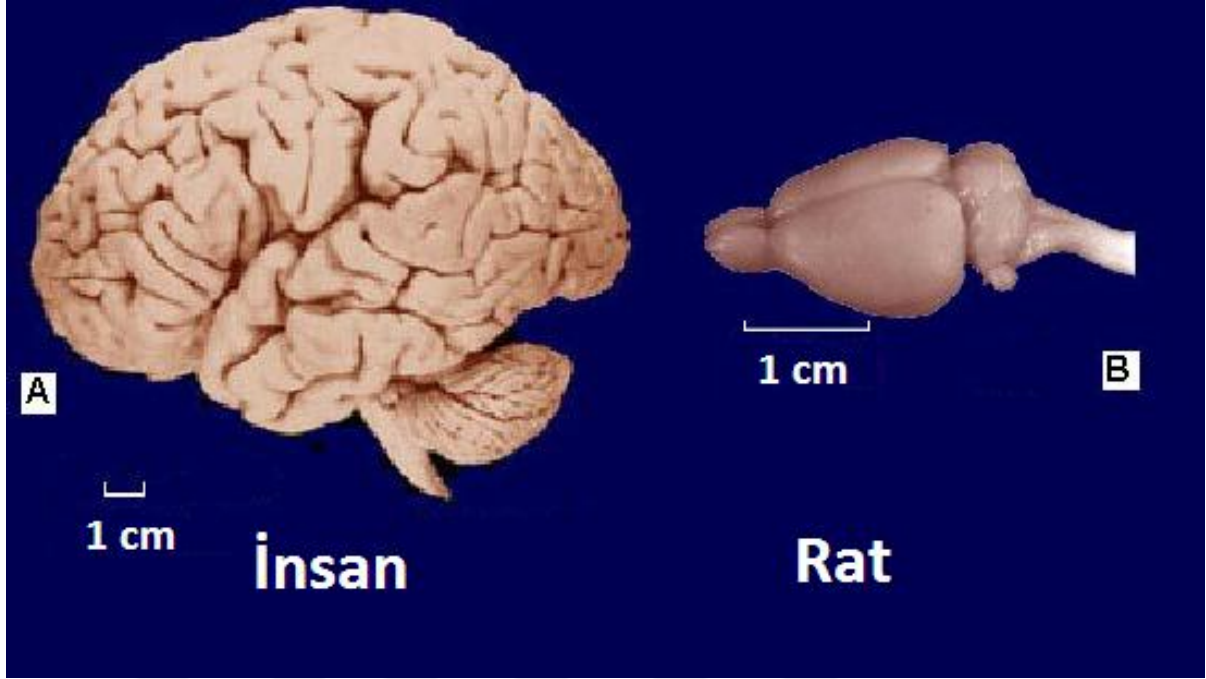
2.4 Ratlarda sinir sisteminin anatomisi

Tüm laboratuvar hayvanları arasında ise rodentler (kemirgenler) biyomedikal araştırmalar için en çok tercih edilen hayvanlardır (34).

Ratlarda da insanlarda olduğu gibi beyin; ön beyin (prosencefalon-forebrain), orta beyin (mesencefalon- midbrain) ve arka beyin (rhombencefalon-hindbrain) oluşturacak şekilde bölümlere ayrılır. Beynin en büyük kısmı olan ön beyin, diensefalon ve telensefalon olarak iki alt bölümde incelenir. İki büyük serebral hemisferden oluşan telensefalon beynin en büyük kısmını oluşturur ve erişkin bir ratta 278 mm² kadar yüzey alanına sahiptir. En dikkat çeken iki özelliği; lisencephalos (gyrus ve sulcuslar bulunmaz), yani kıvrımları olmayan düz yapıda olması ve bulbus olfactoriusların oldukça büyük olmasıdır. Kortikal gri madde 15 miktarı ise çok azdır. Ratlarda optic chiasma beyin tabanında bulbus olfactoriusların hemen caudalinde bulunur(35).

Serebellum bol kıvrımlı bir görünüştedir. Orta, ortanın iki yanında birer yan lob ve bunların dış yanlarında kafatasının periotik kapsülün içinde yer alan parafloküler loblar olarak 5 ayrı bölümden oluşur. Parafloküler loblar kemirgenlere has bir özelliktir ve içine yerleştiği periotik kapsül petros kemiğin uzantısıdır (**Şekil 7**),(36).

Beyin ventrikülleri insandakine benzer özelliktedir. İnsanlarda olduğu gibi 12 çift cranial sinirleri vardır.



Şekil 7: İnsan ve rat beyin yapılarını gösteren şematik çizim A) Gyrus ve sulcuslar belirgin, B) Rat beyni için tipik olan lisencephaloz görülmekte, beynin ön bölümünde belirgin halde görülen bulbus olfactoriuslar (165)

2.5 Progesteronun beyinde etkileyebileceği reseptörler ve fonksiyonları

2.5.1 Östrojen reseptörleri

Östrojen reseptörleri (ER), hücrelerin içinde ve membranında bulunan, östrojen (17β -estradiol) hormonu tarafından aktive edilen protein yapıda reseptörlerdir (37). İki grup ER bulunmaktadır: intraselüler reseptör ailesine mensup olan *nükleer östrojen reseptörleri* (ER α ve ER β), ve çoğunlukla G protein ilişkili olan *membran östrojen reseptörleri* (mERs) (GPER (GPR30), ER-X, and G $_q$ -mER). Burada nükleer östrojen reseptörlerinden bahsedilecektir (38).

Östrojen tarafından aktive edildikten sonra östrojen reseptörü nükleusa geçer ve DNA'ya bağlanarak farklı genlerin aktivitesini düzenler. Bununla birlikte DNA'dan bağımsız ek fonksiyonları da bulunmaktadır.

İki östrojen reseptörü farklı doku tiplerinde yaygın şekilde bulunmakla birlikte, dağılım paternlerine göre bazı önemli farklılıklar gösterirler;(39).

- *ER α* endometriumda, meme kanser hücrelerinde, ovaryen stromal hücrelerde ve hipotalamusta bulunur. Erkeklerde bu reseptör ductus efferentes epitelinde gösterilmiştir.
- *ER β* ise ovaryen granülosa hücreleri, böbrek, beyin, kemik, kalp, akciğerler, intestinal mukoza, prostat ve endotelial hücrelerde bulunur (40).

ER α ve *ER β* 'nin beyin ve spinal kordun rostral-kaudal mesafesi boyunca bulunduğu gösterilmiştir. Bu reseptörlerin bulunmadığı yerlerin haricinde üst üste binme paterni gösterebilir, veya reseptörlerden biri diğerine göre daha fazla miktarda bulunabilir. Stria terminalis'in bed nükleusu, medial ve kortikal amigdala nükleusu, preoptik alan, lateral habenula, periakuaduktal gri madde, parabrakiyal nükleus, lokus seruleus, solitar traktus nükleusu, spinal trigeminal nükleus ve spinal kordun süperfisyal laminasını da içeren beyin bölgelerinde iki östrojen reseptörü de bulunur. Bununla birlikte çeşitli beyin bölgelerinde farklı ekspresyon paternleri gösterebilirler. Ventromediyal hipotalamik nükleus ve subfornikal organda sadece *ER α* bulunmuştur. Buna karşın, olfaktör bulbus nöronları, supraoptik, paraventriküler, suprakiazmatik ve tuberal hipotalamik nükleusta, zona incerta, ventral tegmental alan, serebellum, spinal kordun lamina 3-5-8 ve 9'unda ve pineal bezde yalnızca *ER β* bulunur. İki reseptörün de bulunduğu yerler arkuat nükleus ve hipokampüstür; *ER α* arkuat nükleusta, *ER β* ise hipokampüste daha yaygındır. (41). Son zamanlarda yapılan çalışmalara göre, glia da iki reseptörü de içerebilir fakat glial östrojen reseptörünün fonksiyonu bilinmemektedir.(42)

Östrojenin beyin fonksiyonlarına ciddi etkileri olduğu bilinmektedir. Östrojenin en iyi bilinen nörolojik etkisi, nöronları glutamat eksitotoksitesinden,

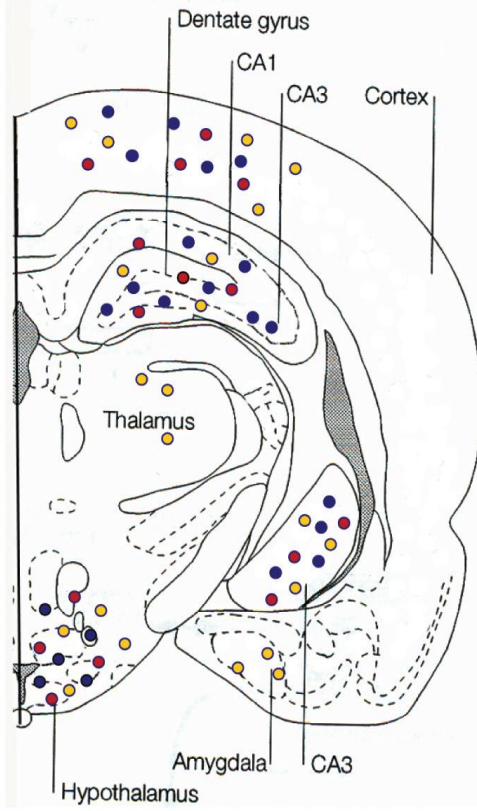
amiloid beta'dan ve oksidatif stresten korumasıdır.(43). Ayrıca ruh halini düzenlediği bilinir; östrojen tedavisinin etkileri depresandan antidepresan etkiye kadar değişmektedir.(44). Majör depresif bozukluk tüm popülasyonda %17'den fazla sıklıkta görülen en sık psikiyatrik hastalıktır (45). Pek çok çalışma majör depresif bozukluğun kadınlarda erkeklere göre 2 kat fazla görüldüğünü bildirmiştir. (46). Cinsiyetler arasındaki bu farkın, östrojenin ER α veya ER β üzerinden etki ederek ruh hali üzerinde değişken etki yaratmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Ayrıca ER α 'nın östrojen düzeyleri azaldığında transkripsiyonu ve hafızayı sürdürdüğü gösterilmiştir. Hipokampüste östrojen reseptörlerinin bulunuyor olması, hafızanın ER α ekspresyonuna ve östrojen seviyelerine dayandığını göstermektedir. (47).

2.5.2 Progesteron reseptörleri

Gonadal steroid hormon olan progesteronun (P4) fonksiyonları üremeden çok daha fazladır. Örneğin santral sinir sistemindeki birden çok bölgede, hipotalamus ve onun ötesinde hipokampus ve kortekste P4 etkilidir. Son yıllarda östrojen ile de düzenlenen bu iki ekstrapitotalamik bölgede P4'ün nöroprotektif ve nörorejeneratif etkileri araştırılmıştır (48)(49)(50). P4'ün üreme ile ilgili olmayan nörolojik etkileri azımsanamayacak kadar klinik öneme sahiptir. Progesteronlar hormon tedavisinde östrojenin uterin epitel üzerindeki proliferatif etkisini karşılamak için östrojen ile birlikte kullanılırlar. Östrojen, 17 β - estradiol (E2) progesteron ile birlikte bilinç, nöroproteksiyon gibi beyin fonksiyonlarını düzenlemede görev alır. (43)(51)(52). P4'ün nöroprotektif rolü henüz yeni anlaşılmıştır.(53). Gonadal hormon olarak bakıldığında progesteron daima östrojen ile uyum içinde çalışır. Bununla birlikte bu glial kaynaklı progesteronun mevcut ve gelecekteki terapötik kullanımları için geçerli değildir(54)

Progesteron reseptör dağılımı beyin bölgesine, hücre tipine ve hormonal duruma göre değişim gösterse de beyinde geniş bölgelere yayılmıştır ve belli hücre tiplerine spesifik değildir. (**Şekil 8**). Progesteron reseptör tiplerinin ikisi de

PR A and B Isoforms in Rat Brain



	Detection Method	Tissue Distribution	Reference
●	Western Blot	Hippocampus Hypothalamus Frontal Cortex	C. Guerra-Araiza et al., <i>J Neuroendocrinol.</i> , 15:984-90 (2003)
●	RT-PCR	Hippocampus Hypothalamus Frontal Cortex Cerebellum * Olfactory Blub * (* Not shown)	C. Guerra-Araiza et al., <i>Brain Research Bulletin</i> , 59:105-109 (2002)
●	<i>In Situ</i> Hybridization	Isocortex Hippocampus Hypothalamus Thalamus Amygdala	J Kato et al., <i>Hormones and Behavior</i> , 28:454-463 (1994)

Şekil 8: Rat beyinde 25 Dx PR transmembran dağılımı. Klasik progesteron reseptörleri olan PRA ve PRB beyinde çeşitli bölgelere lokalizedir.

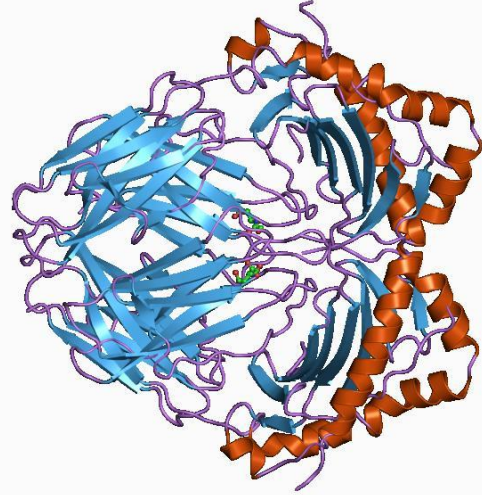
(PRA ve PRB) ratların frontal korteksi ve hipokampüsünde bulunmuştur. Progesteron reseptör immünoreaktivitesi stria terminalis bed nükleus'ta (özellikle de medial nükleusun medial kısmında) oldukça yüksektir. Medial nükleusun orta ve dış kısmında daha düşüktür. Progesteron reseptör ekspresyonu, sentromedial amigdalada medial amigdaloid nükleusun posterodorsal kısmında öne çıkar. Stria terminalis bed nükleusta ve sentromedial amigdalada progesteron reseptör ekspresyonu ile ilgili cinsiyet farklılığı bulunamamıştır(55). Beyin sapında progesteron reseptör immünoreaktivitesi nukleus traktus solitarius'un norepinefrin nöronlarında bulunur. Guerra-Arazia ve arkadaşları, rat serebellumunda progesteron reseptör izoformlarının cinsiyet farklılığına göre seks steroidleri tarafından düzenlenmesini analiz etmek için kantitatif RT-PCR analizini kullanmıştır.(56). PR-A erkek serebellumunda özellikle östrojenler tarafından indüklenirken, dişi ratlarda progesteron reseptör izoformları östrojen veya progesteron değişmemektedir. Benzer şekilde ratların hipokampüsünde ve

olfaktör bulbusunda östrojen PR-A izoformlarını indüklerken, progesteronun etkisi bulunamamıştır. Rodentlerde progesteron reseptörleri ventromedial hipotalamustadır. (57). Auger ve arkadaşları dişi ratlarda preoptik alanda, hipotalamusun ventromedial ve dorsomedial nükleuslarında ve arkuat nükleusta PR-immünoreaktif hücreleri göstermiştir. (55). Progesteron, bunun 5-alfa redükte derivesi olan dihidroprogesteron ve tetrahidroprogesteron(Allopregnanolon), Schwann hücrelerinin çoğalmasını ve bu hücrelerden myelinizasyonun aktivasyonunu tetiklediği gösterilmiştir. (58).

Steroidlerin, nöronal aktivasyonda gerekli enerji ihtiyacının sürdürülmesinde metabolik fonksiyonları da düzenlediği anlaşılmıştır. (59)(60). Nilson ve arkadaşlarının yakın zamandaki çalışmalarında, P4'ün E2 ile karşılaştırıldığında 24 saat boyunca mitokondrial solunumu önemli oranda artırdığı gözlenmiştir. (61). Oksidatif solunumda önemli oranda artışla ilgili olarak; P4 ve E2, COX 4 enzim aktivitesini ve COX 4 mRNA'nın ekspresyonunu önemli oranda artırır. Hem P4 hem E2 elektron transportunu indükleyerek serbest radikalleri ve mitokondriyal lipid peroksidasyonunu azaltır. Lipid peroksidasyonunun azalması yalnızca mitokondriyal etkinliğin ötesinde farklı mekanizmaların da aktivasyonunu gerektirir. P4 MnSOD(mitokondriyal süperoksit dismutaz) ekspresyonunu önemli derecede artırır. Buna karşın, peroksiredoksin 5 ekspresyonu sadece E2 tarafından indüklenir. Bu sonuçlar, hem P4 hem E2'nin, MnSOD'u (mitokondriyal süperoksit dismutaz) artırarak süperoksit anyonunun O₂ ve H₂O₂'ye dönüşümünü artırdığını göstermektedir. Halbuki E2 tek başına peroksiredoksin 5'i indükler ve H₂O₂'nin temizlenmesini, oksidatif hasarın engellenmesini sağlar. Daha da ötesi, P4 ve E2 mitokondriyal fonksiyonları direkt olarak düzenler ve ne P4 ve E2 ne de bunların kombinasyonu mitokondriyal biyogenezi indüklemeyebilir. P4, en az E2 kadar etkiliyken, ikisinin kombinasyonu etkiyi azaltmaktadır. Tüm bunların sonucunda P4 ve E2 kombinasyonu, cevabın boyutunda azalma meydana getirir.

2.5.3 Myelin basic protein (MBP)

Myelin basic protein, nöronlarda myelin oluşumunda rol alan önemli proteinlerden biridir. Myelin kılıf çok tabakalı bir membrandır, sinir sistemine özeldir ve aksonal impuls iletim hızını artıran iyi bir yalıtıcıdır. (62). MBP, myelin membranındaki lipitlerle etkileşerek myelinin düzgün yapısının devamlılığını sağlayan bir proteindir. (63).



Şekil 9: Myelin Basic Protein

MBP ilk olarak 1971'de myelin membranları izole edildikten sonra tanımlanmıştır. (64). Bu tarihten sonra, MBP eksikliği olan farelerde SSS myelinizasyonunun azaldığı ve tremor, nöbetler ve erken ölümle karakterize hastalıklar gözlenmiştir. İnsanda MBP geni 18. Kromozomdadır, bu protein santral sinir sistemine ve çeşitli hematopoetik sistem hücrelerine lokalizedir (65).

Santral sinir sistemindeki MBP havuzu çok çeşitlidir, çok sayıda uç uca eklenmiş varyant ve post-translasyonel modifikasyon (fosforilasyon, metilasyon, deamidasyon ve sitrulinasyon) içerir. Genel olarak MBP'nin majör formu 18.5 Kd civarında bir proteindir. (170 rezidü) (Şekil 11) Melanositik hücre tiplerinde MBP gen ekspresyonu MITF tarafından düzenlenmektedir (66).

Santral sinir sisteminde MBP ekspresyonu pek çok hayvan türünde çalışılmıştır. (67). Spinal kordda myelin oluşumu ratları (68), fareleri (69), possumları (70), tavşanları (71), ve tavukları (72) da içeren pek çok hayvan türünde belgelenmiştir. Myelin membran sentezi ve myelin tabakalarının sıkıştırılması pek çok oligodendrosit-spesifik genin koordine şekilde ekspresyonunu gerektirir. Bu genlerin ekspresyonu ve oligodendrositlerin olgunlaşması hücre kültürlerinde çalışılmıştır. Örneğin; yenidoğan rodentlerin optik sinir ve beyinlerinde oligodendrosit ile zenginleştirilmiş kültürlerde oligodendrosit maturasyon düzeyi

ve MBP, 2,3 siklik nükleotid fosfodiesteriz, karbonik anhidraz, protein kinaz C izoenzimleri ve çeşitli glikolipidlerin ekspresyonu arasındaki ilişki gösterilmeye çalışılmıştır.(73).

2.5.4 Myelin Proteolipid Protein (PLP)

Myelin Proteolipid Protein (PLP veya Lipofilin) santral sinir sisteminin majör myelin proteinidir.(74). Myelinin çok tabakalı yapısının oluşumunda ve devamında önemli rol oynamaktadır. (75).

PLP'de meydana gelen nokta mutasyonlar, myelin metabolizmasındaki bozukluktan kaynaklanan nörolojik bir hastalık olan Pelizaeus-Merzbacher hastalığının sebebidir. Hayvanlarda demyelinizan hastalıklar olan "mouse jimpy" ve "dog shaking pup" gibi hastalıkların da sebebinin PLP mutasyonları olduğu gösterilmiştir (76).

PLP yüksek oranda korunan bir hidrofobik proteindir. 276-280 aminoasitten oluşur ve 4 transmembran segmenti, 2 disülfid bağı ve kovalent bağlı lipidler(memelilerde en az 6 palmitat grubu) içerir. Bir nöronal membran proteini olan GPM6A ile yüksek oranda ilişkilidir. (77).

2.5.5 Oligodendrosit transkripsiyon faktörü 2 (OLIG2)

Oligodendrosit transkripsiyon faktörü, OLIG 2 geni tarafından kodlanan bir basit helix-loop-helix (bHLH) transkripsiyon faktörüdür. 329 aminoasit uzunluğundadır, 32 kDa boyutunda ve 1 helix-loop-helix DNA-bağlı alan içerir. bHLH ailesinin 3 üyesinden biridir. Diğer ikisi ise OLIG1 ve OLIG3'tür. OLIG2 ekspresyonu santral sinir sisteminde oldukça kısıtlıdır, gelişimin farklı aşamalarında hem anti-nörojenik hem de nörojenik faktör olarak etki eder. OLIG2 motor nöron ve oligodendrosit farklılaşmasında önemli bir belirleyicidir. Erken gelişim döneminde replikasyonu sürdürmekle görevlidir. Başlıca Down sendromu ve beyin tümörü gibi hastalıklarla ilişkilendirilmiştir. (78)

OLIG2 en çok, oligodendrositlerin ve spesifik nöron tiplerinin geliştiği beyin ve spinal kordun ventriküler bölgesinde kısıtlı olarak eksprese edilir. Spinal kordda pMN bölgesi ardışık olarak motor nöronları ve oligodendrositleri üretir. Embriyogenez sırasında OLIG2 ilk olarak motor nöron öncüllerinin ventral alanını oluşturur ve nöronal farklılaşmayı teşvik eder. OLIG2 gelişimin sonraki dönemlerinde oligodendrosit öncüllerinin oluşumunu ve farklılaşmasını sağlar. Motor nöron ve oligodendrositlerin farklılaşmasındaki nörojenik faktör olarak fonksiyon görmesinden ayrı olarak, erken dönemlerde anti-nörojenik faktör olarak da görev yapar. OLIG2'nin bu anti-nörojenik etkisi glioma gibi malignensilerin oluşumunda önemli rol oynamaktadır (79).

OLIG2'nin farklılaşma ve çoğalmadaki çok yönlü işlevlerinde fosforilasyonun rolü aydınlatılmaya çalışılmıştır. Çalışmalar; OLIG2'nin Ser30'dan fosforilasyonunun, ne astrositlere dönüşen ne de nöronal progenitör olarak kalan kortikal öncül hücrelerin kaderini belirlediğini göstermiştir.(80). Üçlü serin fosforilasyonu (ser10, ser13 ve ser14) OLIG2'nin proliferatif fonksiyonunu da düzenlemektedir. (81). Bir başka fosforilasyon bölgesi olan Ser147'nin, OLIG2 ve NGN2 arasındaki bağı regüle ederek motor nöron gelişimini düzenlediği tahmin edilmektedir.(82). Bunun ötesinde OLIG2, Ser77-Ser88 pozisyonundaki 12 komşu serin ve treonin kalıntılarından oluşan ST kutusu içerir. ST kutusunda fosforilasyonun biyolojik olarak fonksiyonel olduğu bilinmekle birlikte, invivo olarak rolüne henüz açıklık getirilememiştir. (83).

2.5.6 Platelet kaynaklı büyüme faktör reseptörü- α (PDGFR α)

Platelet kaynaklı büyüme faktörü (PDGF) hücre büyümesi ve bölünmesini düzenleyen sayılı büyüme faktörlerinden biridir. Özellikle anjiyogenezde önemli rol oynar. Kimyasal olarak PDGF 2 A (-AA) veya 2 B (-BB) zinciri veya ikisinden (AB) oluşan bir dimerik glikoproteindir. (84)

PDGF, fibroblast, düz kas hücresi ve glial hücreler gibi mezenkimal kökenli hücreler için mitojendir. (85). Hem fareler hem de insanlarda PDGF sinyalleşme ağı 4 liganddan oluşur; PDGFA-D ve iki reseptör; PDGFRalfa ve PDGFRbeta.

Tüm PDGF'lerin fonksiyonları benzerdir, disülfid bağlı homodimerlerdir fakat PDGFA ve B heterodimerdir.

PDGF plateletler tarafından sentezlenir, depolanır (plateletlerin alfa granüllerinde) ve aktivasyon ile salınır. Ayrıca düz kas hücreleri, aktive makrofajlar ve endotelial hücreler tarafından da üretilmektedir. (86).

PDGF reseptörü (PDGFR) reseptör tirozin kinaz sınıfındandır ve yüzeyel reseptörlerdendir. 2 reseptör tipi tanımlanmıştır; alfa tip ve beta tip PDGFR (87). Alfa tip PDGF-AA, PDGF-BB ve PDGF-AB'ya bağlanırken beta tip PDGFR PDGF-BB ve PDGF-AB'ye yüksek afinite gösterir. (88). PDGF, ikinci ve üçüncü immünoglobulinlerde lokalize ligand bağlı PDGFR'ye bağlanır. PDGF'nin aktivasyonu ile bu reseptörler dimerize olur, oto-fosforilasyona uğrar ve daha sonra sinyal transdüksiyonunu aktive eder. PI3K yolağı veya reaktif oksijen türleri aracılığıyla STAT3 yolağı aktive olur (89). Hücre siklusu ve gen ekspresyonunun düzenlenmesinde bunlar etkilidir. Ayrıca bu büyüme sinyali kompleksinin hücre göçünün kontrolünde de önemli rolü olduğu gösterilmiştir. (90).

PDGF gelişimin erken dönemlerinde mitojeniktir, farklılaşmamış mezenkimal ve bazı öncül hücre popülasyonlarının proliferasyonunu sağlar. Gelişimin geç dönemlerinde PDGF sinyalleri doku yapılanmasında ve hücre farklılaşmasında etkilidir. Mezenkimal proliferasyonu sağlamasına ek olarak, erişkin hayvanlarda gelişim sırasında hücre göçünde, farklılaşmada ve mezenkimal ve migratuar hücre tiplerinin fonksiyonlarında da etkisi olduğu gösterilmiştir (91). Bu ailedeki diğer büyüme faktörleri vasküler endotelial büyüme faktörü B ve C (VEGF-B, VEGF-C) dir, bunlar anjiyogenez ve endotelial hücre büyümesinde rol oynar. Bir diğeri ise yine anjiyogenezde görev alan plasental büyüme faktörüdür (PIGF).(92).

PDGF embriyonik gelişimde, hücre çoğalmasında, hücre göçünde ve anjiyogenezde rol oynar. (93). Ayrıca oligodendrosit öncülü hücrelerin çoğalmasını sürdürdüğü bilinmektedir. Fibroblast büyüme faktörü (FGF)'nin oligodendrosit öncülü hücrelerdeki PDGF reseptörlerindeki sinyal yolağını aktive ederek reseptörleri olumlu anlamda düzenlediği gösterilmiştir. (94).

2.6 Progesteron ile ilgili genel bilgiler

2.6.1 Progesteron molekülü

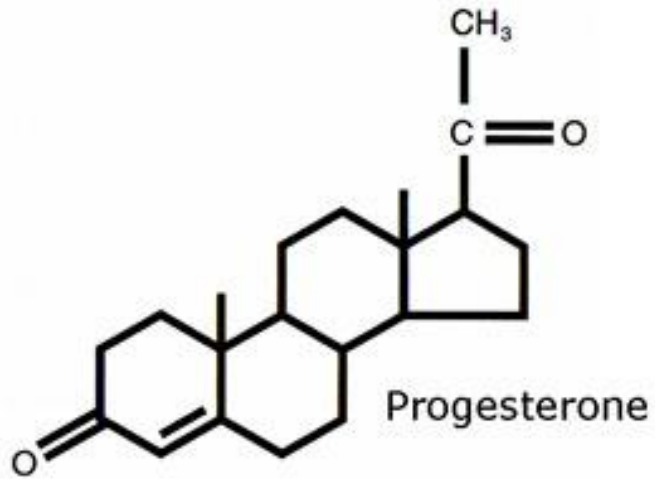
Progesteron (P4) bir endojen steroid olup menstrüal siklusta, gebelikte ve insan ve diğer türlerin

embriyogenezinde rol alan bir progesteron seks hormonudur. (Şekil 12)

'Progesteronlar' adı verilen bir steroid hormon grubuna aittir ve vücudun temel progesteronudur. (95).

Progesteron ayrıca seks hormonları, kortikosteroidler gibi diğer endojen steroidlerin üretiminde önemli metabolik bir ara üründür ve bir nörosteroid olarak beyin fonksiyonları üzerinde önemli rol oynar. (96). Ayrıca Dünya Sağlık Örgütü'nün esansiyel ilaçlar listesinde temel sağlık sistemi için en önemli ilaçlardan biri olarak yer alır.

Vücudun en önemli progesteron olan progesteron, nükleer progesteron reseptörü (nPR)'ne agonist etki eder (afinitesi ; $K_D = 1$ nM). Buna ek olarak progesteron, PGRMC1 ligandının(progesteron reseptör membran komponenti-1 / σ_2 reseptör) yanı sıra yakın zamanda keşfedilen membran progesteron reseptörlerine de agonist etkilidir. (mPR)(97), Daha da fazlası, σ_1 reseptörüne antagonistik etkili, nikotinik asetilkolin reseptörlerinin negatif allosterik modülatörü ve mineralokortikoid reseptörlerinin potent antagonistidir (98). Progesteron; aldosteron ve kortizol ve kortikosteron gibi glukokortikoidlerin aşırı dozlarında mineralokortikoid reseptör aktivasyonunu engeller, fizyolojik konsantrasyonlarda natriürez gibi anti mineralokortikoid etkiler oluşturur. Buna ek olarak düşük



Şekil 10: Progesteron molekülü

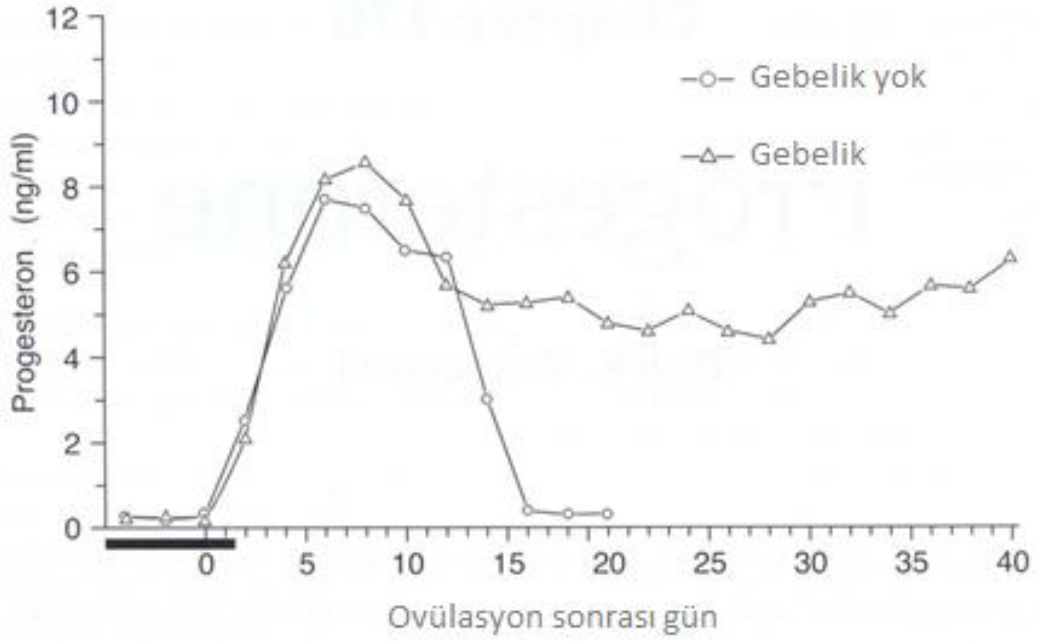
potansiyeline rağmen glukokortikoid reseptörüne bağlanarak parsiyel agonistik davranır. (kortizol ile karşılaştırıldığında $EC_{50} >100$ kattan fazla düşüktür (99).

Progesteron, 5alfa-dihidroksiprogesteron ve allopregnanolon gibi nörosteroid aktif metabolitleri üzerinden GABA-A reseptörüne indirekt olarak pozitif allosterik modülatör etki yapar. (100).

Progesteronun insan sperminde non-genomik olarak kilit etkileri bulunmaktadır. Reseptörleri henüz tamamlanmamış olmakla birlikte, fertilizasyon öncesi dişi genital traktına göç etmektedir. Spermde yol açtığı tanımlanabilmiş değişikliklerden biri olan intraselüler kalsiyum düzeyi dalgalanmalarının motiliteyi düzenlediği düşünülmektedir (101).

“Gebelik hormonu” olarak da adlandırılan progesteronun fetal gelişim açısından bir çok rolü bulunmaktadır:

- Progesteron uterusu implantasyona hazırlamak için endometriumu sekretuar faza geçirir. Aynı zamanda sperm geçişini engellemek amacıyla vajinal epitel ve servikal mukusun yapısında değişikliklere yol açar.
- Progesteron endometral epitel hücrelerinde anti-mitojenik etki gösterir ve östrojenin tropik etkilerini dengeler. Gebelik oluşmadığı takdirde progesteron seviyeleri düşer ve menstrüasyon ile sonuçlanır (**Şekil 13**). Normal menstrüasyon kanaması progesteron çekilme kanamasıdır. Ovülasyon oluşmadığı durumda korpus luteum gelişmez ve progesteron seviyeleri düşük seyrederek, bu da anovulatuvar disfonksiyonel uterin kanama ile sonuçlanır (102).
- İmplantasyon ve gebelik durumunda progesteron annenin immün sistemini baskılayarak, gebeliğe karşı doğabilecek bir maternal immün cevabı baskılar.
- Progesteron uterus düz kasının kontraktilesini azaltmaktadır.
- Gebelik süresince laktasyonu inhibe etmektedir. Gebelik sonrası süt gelmesi progesteronun düşmesi ile tetiklenmektedir.
- Progesteron seviyesinde düşüşün doğumu başlatan faktörlerden biri olduğu düşünülmektedir.



Şekil 11: Gebelik veya gebelik olmaması durumunda progesteron düzeyleri

Fetüs plasental progesteronu metabolize ederek adrenal steroid üretmektedir. Bu sebeple yüksek doz progesteron maruziyetinin adrenal steroid üretiminde etkisi olabileceği düşünülmüştür. Fareler üzerinde yapılmış bir çalışmada hem uzun hem kısa süreli farmakolojik dozda maternal progesterona maruz kalmış farelerde testosteron üretiminde azalma olduğu tespit edilmiştir. Mekanizma tam olarak gösterilmemiş olsa da, yüksek doz progesteronun fetal testis fonksiyonunu inhibe edici etkisi olabileceği düşünülmüştür (103).

Fleischman et al. tarafından (2015) yapılmış bir çalışmada progesteron ile cinsel yönelimler arasındaki ilişki araştırılmıştır. Bu çalışmada progesteron seviyeleri yüksek bulunan kadınların, hemcinsleri ile cinsel ilişkiye daha sıcak baktığı ortaya konulmuştur. Benzer şekilde, hemcinsleri ile cinsel ilişkiye sıcak bakan erkeklerde de progesteron seviyeleri daha yüksek bulunmuştur (104).

2.6.2 Progesteronun Obstetrik Kullanımı

Progesteron düzeyleri çoğu memelide doğum başlangıcından hemen önce hızlı bir düşüşe girer. Bu durum “progesteron çekilmesi” olarak adlandırılır ve doğumu başlayan eylem olarak değerlendirilir. Ancak, insanda doğum sürecinde maternal fetal ve amniyotik sıvı progesteron düzeyleri yüksek kalır ve düşüş göstermez. Bu sürece progesteron aktivitesi azalan progesteron reseptörleri tarafından düzenlenen progesteron çekilmesinin katkıta bulunduğu düşünülmektedir (105). Teorik olarak uterin sessizliği sağlamak için progesteron kullanımının preterm eylemi durdurabileceği düşünülmektedir. Bu hipotez geçtiğimiz yarım yüzyılda birçok çalışmanın çıkış noktası olmuştur.

Son 15 yıl içindeki çalışmalar profilaktik olarak verilen progestin bileşiklerinin değerlendiren birkaç çalışmayı da kapsamaktadır. En önemli çalışma tekrarlayan preterm doğum riski yüksek olan kadınlarda profilaktik progestin tedavisini değerlendirmek için MEMU ağı tarafından yapılmıştır. Bu çalışmada preterm doğum öyküsü olan 310 kadına randomize olarak 17-hidroksiprogesteron kaproat verilmişti(106). Diğer 153 kadına plasebo verilmişti ve bunlar 16. Haftadan 36. Haftaya kadar haftalık intramüsküler olarak inert yağ veya 17-OHPC enjeksiyonları şeklinde uygulanmıştı. 37, 35 ve 32. haftadan önce meydana gelen doğum oranları progestin tedavisi alan olguların tümünde anlamlı şekilde daha azdı. Ancak, aynı dönemde Ağ tarafından yapılan ikiz ve üçüz gebeliklerde 17-OHPC kullanılan benzer çalışmada preterm doğum oranlarında düzelme gösterilememiştir(107).

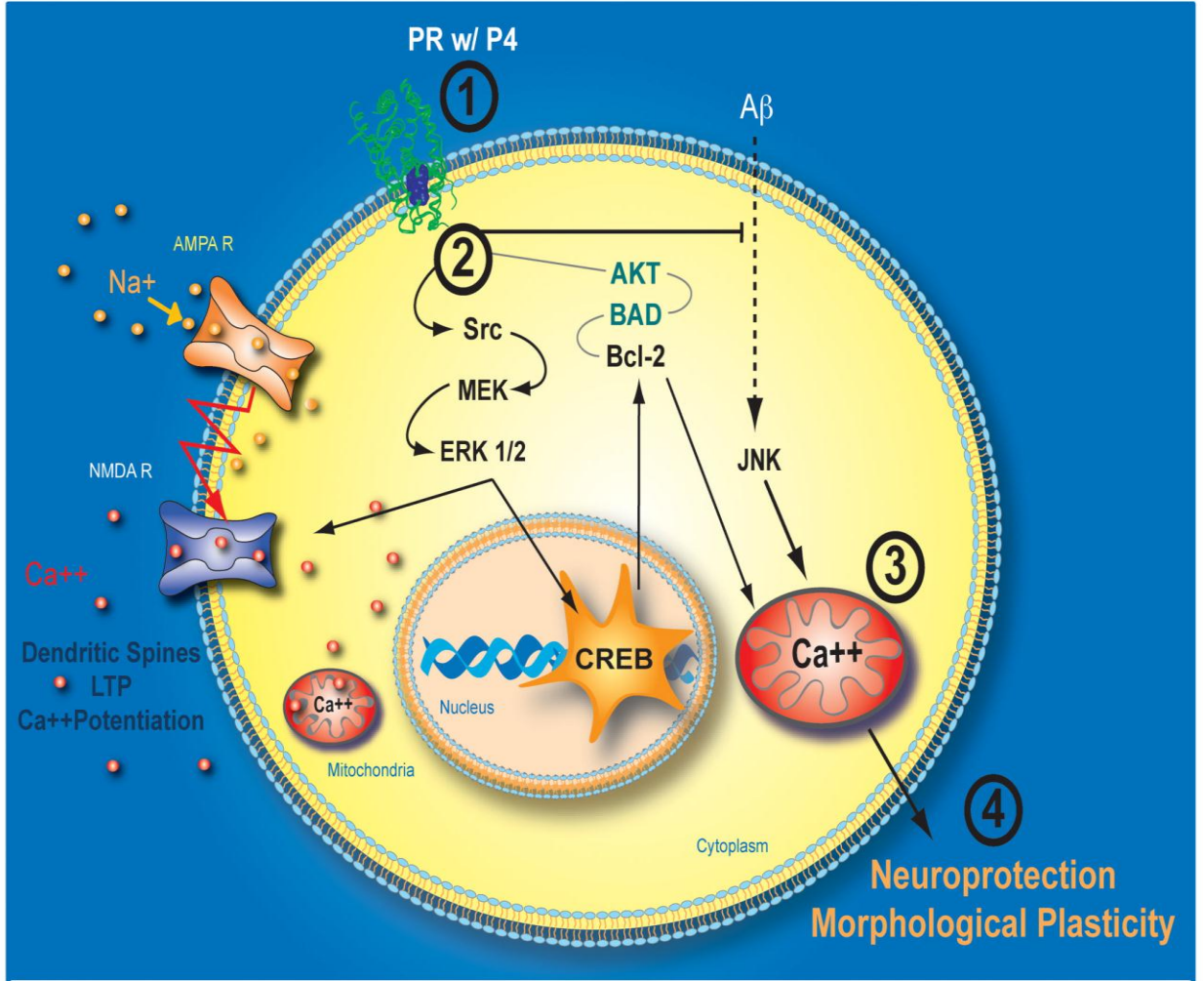
Meis ve arkadaşlarının (2003) 17-OHPC çalışması, çalışmanın plasebo kolundaki beklenmedik yüksek preterm doğum oranları nedeniyle zora girmiştir. Çalışma öncesi kohort incelemesinden beklenti %36 iken bu çalışmada %55 daha erken doğumla karşılaşıldı. Eleştiri 17-OHPC'nin etkili olabileceğinin gösterilmiş olmasıdır, çünkü plasebo grubu bu yüksek %55'lik preterm doğum oranı ile biçimsizdir. Bu, gerçekte çalışmada 17-OHPC tedavisi alan kadınlarda saptanan %36 oranı ile karşılaştırılmıştır. Bu uyumsuzluğu aydınlatmak için Ağ tarafından bir doğrulama çalışması sürdürülmektedir (108).

Ayrıca, Meis ve arkadaşlarının (2003) 17-OHPC çalışmasının tersine O'Brien e arkadaşları (2007) daha önce preterm doğum öyküsü olan 659 kadına randomize olarak vajinal jel formunda progesteron ve plasebo vermişlerdir. Preterm doğum oranlarında fark saptamamışlardır (109).

Obstetrikte en çok tartışılan konulardan biri olan preterm eylemi önlenmesi konusunda, tartışmanın merkezinde özellikle nullipar olan ve daha önce preterm doğum öyküsü olmayan tekil gebelik yaşayan kadınlarda preterm doğumu önlemek amacıyla progesterinlerin başlanıp başlanmayacağı konusu durmaktadır. Romero ve stanczyk (2013) kafa karıştırıcı kanıtlar için bir yorumda progesteron ve 17-hidroksiprogesteron'un aynı olmadığını iddia etmişlerdir. Progesteron korpus luteumdan ve plasentadan salgılanan doğal bir steroid iken, 17-hidroksiprogesteron kaproat sentetik bir steroiddir. Bu yazarlar invitro deneylerde, gebe kadınların ve hayvanların uterusunda doğal ve sentetik progesterinlerin etkinliğini incelemişlerdir. Örneğin, doğal progesterinler sezaryen doğumlardan elde edilen kas liflerinde gözlemlendiği gibi kontraktiletiyi baskılarken, 17-OHPC baskılamamıştır (110).

2.6.3 Progesteron ve Merkezi Sinir Sistemi

Progesteron (P4) pek çok nöroprotektif mekanizmayı tetiklemektedir (**Şekil 10**). Örneğin nöron kültürlerinde, ikisi de nöroprotektif etkili olan P4 MAPK/ERK ve Akt sinyal yollarını aktive ettiği gösterilmiştir. (111). Spinal kord yaralanma modellerinde P4 nöroproteksiyonu mekanizması; "beyin kaynaklı nörotrofik faktör"de upregülasyon, kolin asetiltransferaz aktivitesinde ve düzeyinde artış (112), ve mitokondriyal disfonksiyonda azalma ile ilişkilendirilmiştir. (113). Serebral iskemi modellerinde P4'ün koruyucu etkisi, NO sentaz-2 ekspresyonu ve inflamasyonun supresyonuna dayandırılmıştır.(114). Nöronlardaki bu direkt etkilerine ek olarak, P4 indirekt olarak non-nöronal hedef hücre popülasyonunu da etkileyerek nöroprotektif etkiler ortaya koyar. Örneğin; kan beyin bariyeri kaçağını ve gilal aktivasyonu azaltıp, myelinizasyonu artırdığı gösterilmiştir.(64,65).



Şekil 12: Progesteron ile indüklenen nöroprotektif sinyal modeli. İkincil haberci(2) kaskadını başlatan progesteron reseptör (1) ligand aktivasyonu ile yaşlanma ve nörodejenerasyon ile ilişkili olan sinaptik disfonksiyonu engeller, nöronal sağkalımı artırır. (3) Bu sinyal kaskadları bir noktada birleşir ve aktif ve pasif sinyal yolları ile mitokondriyi toksinlerden korur. ERK/CREB/Bcl-2 ve Akt yolları aynı anda aktive edilir, bunlar mitokondriyal fonksiyonları artırır ve nöronların nörodejeneratif etkilere karşı koymalarını sağlar. Aktif koruma yolağı Aβ ile indüklenen JNK aktivasyonunu ve mitokondriyal disfonksiyonu engeller.

Hayvanlarda P4 ve metabolitlerinin, Morris su labirenti testine göre öğrenmeyi ve performansı azalttığı gösterilmiştir. (117)(118). Bunun altında yatan mekanizma bilinmemesine rağmen, yakın zamandaki çalışmalar, önceden AP α uygulandığında, Morris su labirenti testinde ratların AP α 'nın etkilerine kısmi tolerans geliştirdiğini göstermiştir. (119). Dişilerde AP α 'ya uzun süre maruziyetin (örn; gebelik, postmenopozal hormon replasman tedavisi, menstrüal

siklus) öğrenme, hafıza gibi kognitif fonksiyonları, muhtemelen GABAerjik mekanizmalar doğrultusunda değiştirebileceği gösterilmiştir. Dendritik diken yoğunluğuyla belirlenebilen eksitatuar sinapslar, öğrenme ve hafıza için substrat sağlarlar. Kayda değer sayıda literatürde, hipokampal piramidal nöronlarda dendritik diken oluşumuna östrojen ve P4'ün etkisi tanımlanmıştır. (120).

Progesteron, her bir majör glial hücre tipinin (astrozitler, mikroglia, oligodendrositler ve schwann hücreleri) kimyasal yanıtını düzenlemektedir. Astrositlerde progesteronun, sinaptik plastisiteyi regüle eden ApoE gibi pek çok proteinin üretimini de düzenlediği gösterilmiştir. Bu proteinler nöritlere sebep olan kolesterol ve diğer lipidleri taşıdığı için sinaptik remodelling'de önemli rol oynamaktadır. P4'ün anti-inflamatuar aktivitesinin görüldüğü modeller bulunmaktadır. Kesici-delici yaralanmalardan sonra, progesteronun reaktif astrozitleri E2'den daha çok, pregnanolon'dan daha az azalttığı gösterilmiştir. (121). Progesteron myelinizasyonu düzenlediği günümüzde daha net bir şekilde ortaya konulmuştur ve bu özelliği direkt etkilerine örnektir. Sinyal sinir ve özellikle schwann hücrelerinin P4 sentezleme ve P4'ü 5 alfa redükte ve 3 alfa-5alfa redükte türevlerine dönüştürme yeteneğine sahip olduğu gösterilmiştir (dihidroprogesteron ve tetrahidroprogesteron). (122).

Santral sinir sisteminde P4 ve nörosteroid metabolitleri, myelin proteini sentezi gibi glial fonksiyonları teşvik eder. Yenidoğan rat beyninden hazırlanan glial hücre kültürlerinde P4'ün, "myelin basic protein" ve 2' 3' siklik nükleotid-3'-fosfodiesteraz (santral sinir sisteminde 3. en çok bulunan myelin proteini) üreten oligodendrositlerin sayısını artırdığı gösterilmiştir. P4'ün myelinizasyondaki rolü Scumacher ve arkadaşları tarafından çalışmalarda ayrıntılı olarak ortaya konulmuştur(54).

3. YÖNTEM

Çalışmamız prospektif, plasebo kontrollü deneysel hayvan araştırması olarak yapıldı. Yeditepe Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulu onayı alınan bu çalışma, Yeditepe Üniversitesi Deneysel Hayvanları Laboratuvarında (YÜDETAM) gerçekleştirildi. Doku immünohistokimyasal incelemeleri Yeditepe Üniversitesi Patoloji Anabilim Dalı tarafından gerçekleştirildi.

3.1 Araştırmanın Evreni ve Örneklem:

Bu araştırma Yeditepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Hayvanları Etik Kurulunun 2015/463 nolu kararı ile onaylanmış deneysel hayvan çalışmasıdır. Çalışmada kullanılan sıçanlar Yeditepe Üniversitesi Deneysel Hayvanları Laboratuvarının hayvan yetiştirme ünitesinde "outbred" yöntemi ile elde edildiler. Çalışmada gebeliği planlanmış olan 15 adet dişi Sprague-Dawley türü sıçan kullanıldı. Hamilelik oluşturmak için sıçanlar 2 dişi, 1 erkek olacak şekilde 3'er sıçanlık gruplar halinde 4 gün süre ile aynı kafeslerde tutuldu. Gebelik başlangıcını belirlemek için günlük vajinal smear alındı ve sperm araştırması yapıldı. Sperm tespit edilen gün 0. gün kabul edildi. Sperm tespit edilen dişi sıçan kafesten ayrıldı. Sıçanlar, 20-23 °C ısı, %50 nem, 12 saat karanlık ve 12 saat fotoperiyotta, ad-libitum beslendiler. Sıçanlar 3 gruba ayrılıp, her grubun kafesleri ayrıldı. Gebelik süresi tamamlandığında yenidoğan sıçanlar vajinal doğum ile dünyaya geldi. Toplamda 152 adet yenidoğan arasından, her anneden dörder adet olmak üzere toplam 60 adet yenidoğan sıçan doğumlarının ilk gününde incelemeye alındı. Çalışmaya alınan sıçanların tümü çalışma bitiminde anestezi altında iken dekapitasyonla sakrifiye edildi

3.2 Deney Grupları:

Grup A: *17- α -OH progesteron kaproat grubu:* 5 adet dişi sıçana gebeliğin ilk gününden itibaren haftada bir kez *17- α -OH progesteron kaproat* (PROLUTON Depot Ampul 500mg/2ml, Bayer Türk Kimya San.) 7mg/kg dozunda i.m. uygulandı.

Grup B: *Mikronize Progesteron gurubu:* Gebeliğin ilk gününden itibaren 5 adet dişi sıçana her gün, günde bir kez *mikronize progesteron* (PROGESTAN yumuşak kapsül 100mg, Koçak Farma İlaç ve Firma Sanayi A.Ş.) 4mg/kg p.o. olarak uygulandı. Kapsül içerisindeki mikronize progesteron saf zeytinyağı içerisinde çözülerek oral gavaj ile verildi.

Grup C: *Kontrol Grubu:* Gebeliğin ilk gününden itibaren 5 adet dişi sıçana hergün oral gavaj yoluyla saf zeytinyağı verildi. Diğer gruplarla aynı koşullarda 21 gün boyunca takip edildi.

3.3 Değerlendirme Yöntemi:

3.3.1 Histolojik Değerlendirme Yöntemi:

Deney sonunda, her anneden dörder adet olmak üzere toplam 60 adet canlı fetüs dekapite edilerek beyin dokuları ayrıldı. Beyin dokuları bütün olarak alınarak % 10 formaldehit solüsyonu içinde tespit edildi. Dokuların tespit olması için 24 saat boyunca %10'luk formaldehit solüsyonunda bırakıldılar. Tespit sonrası dokular Shandon Excelcior marka doku takip cihazında doku takibine alındı. Doku takibi sonrasında paraffin bloklara gömüldü. Shandon marka Mikrotomla 5 μ m kalınlığında kesitler alındı. Deparafinizasyondan sonra kesitlere hematoksilin-eozin (H-E) boyama yöntemi uygulandı. Boyanan preparatlar OLYMPUS BX53 marka mikroskopla incelendi. Resimler Olympus DP73 kamera ataçmanı ile elde edildi.

3.3.2 İmmünohistokimyasal Analizler:

Formalin ile fikse edilmiş ve parafine gömülmüş beyin dokuları immünohistokimyasal olarak incelenmiştir. Rotarymikrotom kullanılarak kesilmiş 5 µm kalınlığındaki kesitler daha sonra Leica Bondmax marka otomatik immünohistokimya boyama cihazında antikorlar ile boyandı (MBP, PLP Genetex®; PDGFR, OLIG2 Novus®; ER, PR Leica®). Myelin Basic Protein (MBP) ve proteolipid protein (PLP) immün boyamaları daha fazla serebellumun VIII ve X lobüllerinde bakılmıştır. Bu lobüllerin seçilmiş olmasının sebebi intrauterin dönemde matürasyon gösterdiklerinin düşünülmesidir (123). Boyanmış bölgeler 100x magnifikasyonda incelenmiştir. İmmünohistokimyasal incelemeler patolog tarafından kör olarak yapılmıştır.

3.3.3 İstatistiksel Analiz:

Verilerin istatistiksel analizi amacıyla SPSS (Statistical Package for Social Sciences, IBM® Corp. 2011) statistics version 20 programı kullanıldı. Kategorik veriler, gruplar arasındaki farkın anlamlılığı için çok gözlü Ki kare testi ile değerlendirildi. Gruplar arasında fark bulunduğu farkın hangi gruplardan kaynaklandığını belirlemek amacıyla gruplar birleştirilerek dört gözlü tabloya dönüştürülerek Fisher's Exact veya Pearson Ki kare testi yapıldı. $p < 0,05$ istatistiksel anlamlılık düzeyi olarak kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1 Progesteron Reseptörü (PR)

Grup A, Grup B ve Grup C'ye ait fetal beyin dokusu analizlerinde progesteron reseptörüne (PR) ait pozitif boyanma bulgusu saptanmadı.

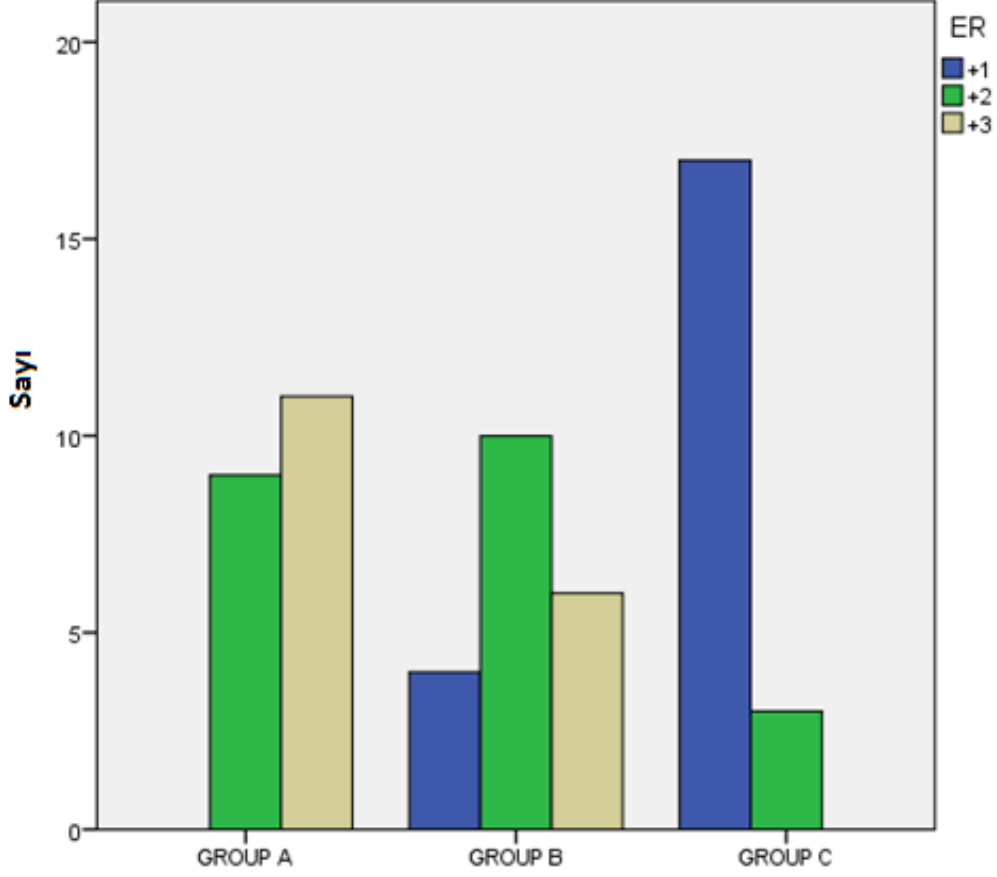
4.2 Östrojen Reseptörü (ER)

Gruplar arasında beyin dokusu ER boyanma şiddeti karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edildi (Tablo 1) ($p=0,000$). Grup A'ya ait beyin dokusu örneklerinde 1+ şiddetinde ER pozitifliği hiç saptanmamış olup, 1+ üzerinde boyanma şiddeti %100 (20/20) oranında saptandı. Grup B'ye ait beyin dokusu örneklerinde 1+ şiddetinde ER pozitifliği %20 (4/20) oranında saptanmış olup, 1+ üzerinde boyanma şiddeti %80 (16/20) oranında olduğu tespit edildi. Grup C'ye ait beyin dokusu örneklerinde ise 1+ şiddetinde ER pozitifliği %85 (17/20) oranında saptanırken, 1+ üzerinde boyanma şiddeti %15 (3/20) olarak tespit edildi. Tedavi grupları (Grup A ve Grup B) karşılaştırıldığında ise, ER boyanma şiddetleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadığı tespit edildi ($p=0,1$).

Tablo 1: Gruplar arası ER boyanma şiddetinin karşılaştırılması

Östrojen Reseptörü (ER)				
	1+	2+	3+	Toplam
Grup A	0	9	11	20
Grup B	4	10	6	20
Grup C	17	3	0	20
Toplam	21	22	17	60

$p=0,000$



Şekil 13: Gruplar arası ER boyanma şiddetinin grafiksel olarak gösterimi

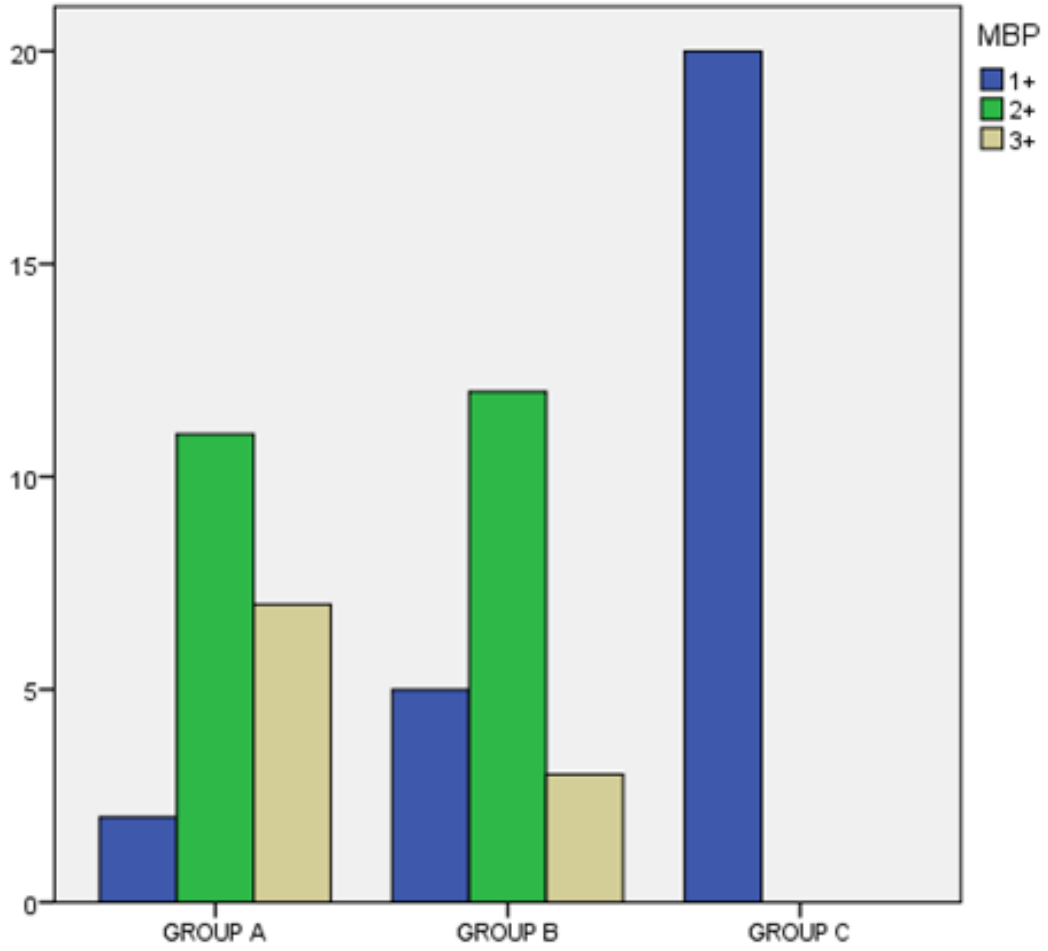
4.3 Miyelin Basic Protein (MBP)

Gruplar arasında beyin dokusu MBP boyanma şiddeti karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edildi (Tablo 1) ($p=0,000$). Grup A'ya ait beyin dokusu örneklerinde 1+ şiddetinde MBP pozitifliği %10 (2/20) oranında saptanırken, 2+ ve üzerinde boyanma şiddeti %90 (18/20) oranında saptandı. Grup B'ye ait beyin dokusu örneklerinde 1+ şiddetinde MBP pozitifliği %25 (5/20) oranında saptanmış olup, 2+ ve üzerinde boyanma şiddeti %75 (15/20) oranında olduğu tespit edildi. Grup C'ye ait beyin dokusu örneklerinin tamamının 1+ şiddetinde MBP ile boyandığı tespit edilmiştir. Tedavi grupları (Grup A ve Grup B) karşılaştırıldığında ise, MBP boyanma şiddetleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadığı tespit edildi ($p=0,4$).

Tablo 2: Gruplar arası MBP boyanma şiddetinin karşılaştırılması

	MBP			Toplam
	1+	2+	3+	
GRUP A	2	11	7	20
GRUP B	5	12	3	20
GRUP C	20	0	0	20
Toplam	27	23	10	60

p=0,000



Şekil 14: Gruplar arası MBP boyanma şiddetinin grafiksel olarak gösterimi

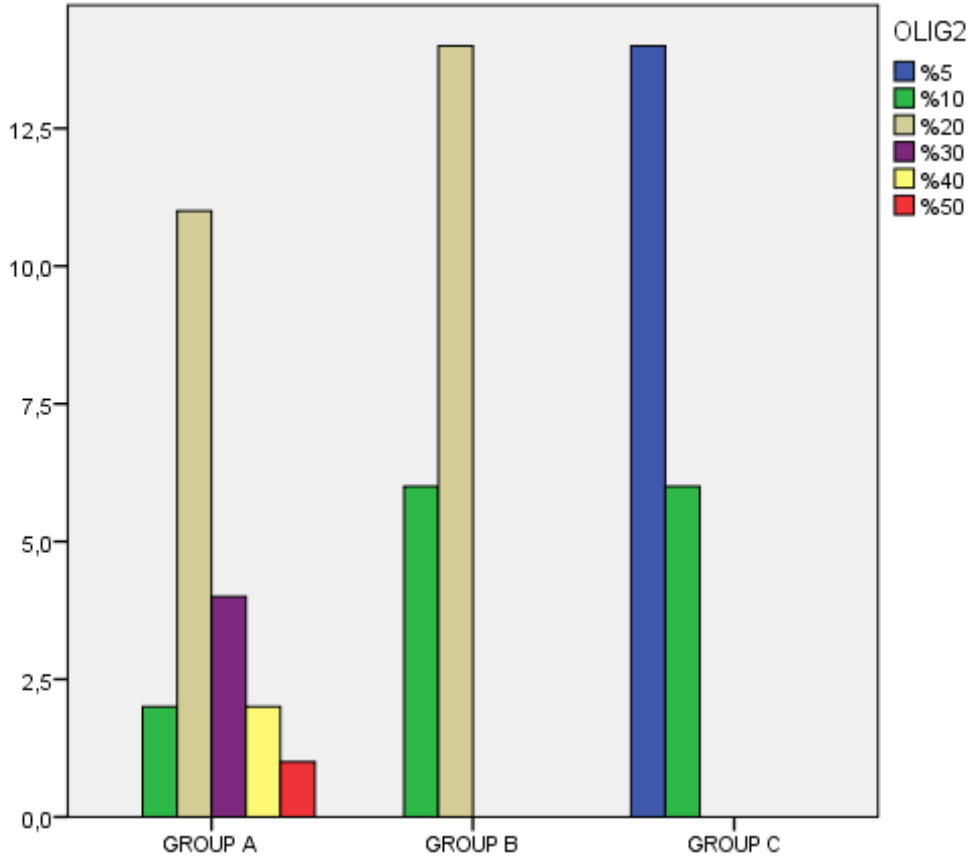
4.4 OLIG2

Gruplar arasında beyin dokusu OLIG2 boyanma yüzdeleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edildi (Tablo 1) ($p=0,000$). Grup A'ya ait beyin dokusu örneklerinde %10 ve altında OLIG2 boyanma yüzdesi %10 (2/20) oranında saptanırken, %10 üzerinde boyanma şiddeti %90 (18/20) oranında saptandı. Grup B'ye ait beyin dokusu örneklerinde %10 ve altında OLIG2 boyanma yüzdesi %30 (6/20) oranında saptanırken, %10 üzerinde boyanma şiddeti %70 (14/20) oranında saptandı. Grup C'ye ait beyin dokusu örneklerinin tamamında OLIG2 boyanma yüzdesi %10 ve altında olarak tespit edildi. Tedavi grupları (Grup A ve Grup B) karşılaştırıldığında ise, OLIG2 boyanma yüzdeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadığı tespit edildi ($p=0,23$).

Tablo 3: Gruplar arası OLIG2 boyanma yüzdelerinin karşılaştırılması

	OLIG2						Toplam
	%5	%10	%20	%30	%40	%50	
GRUP A	0	2	11	4	2	1	20
GRUP B	0	6	14	0	0	0	20
GRUP C	14	6	0	0	0	0	20
Toplam	14	14	25	4	2	1	60

$p=0,000$



Şekil 15: Gruplar arası OLIG2 boyanma yüzdesinin grafiksel olarak gösterimi

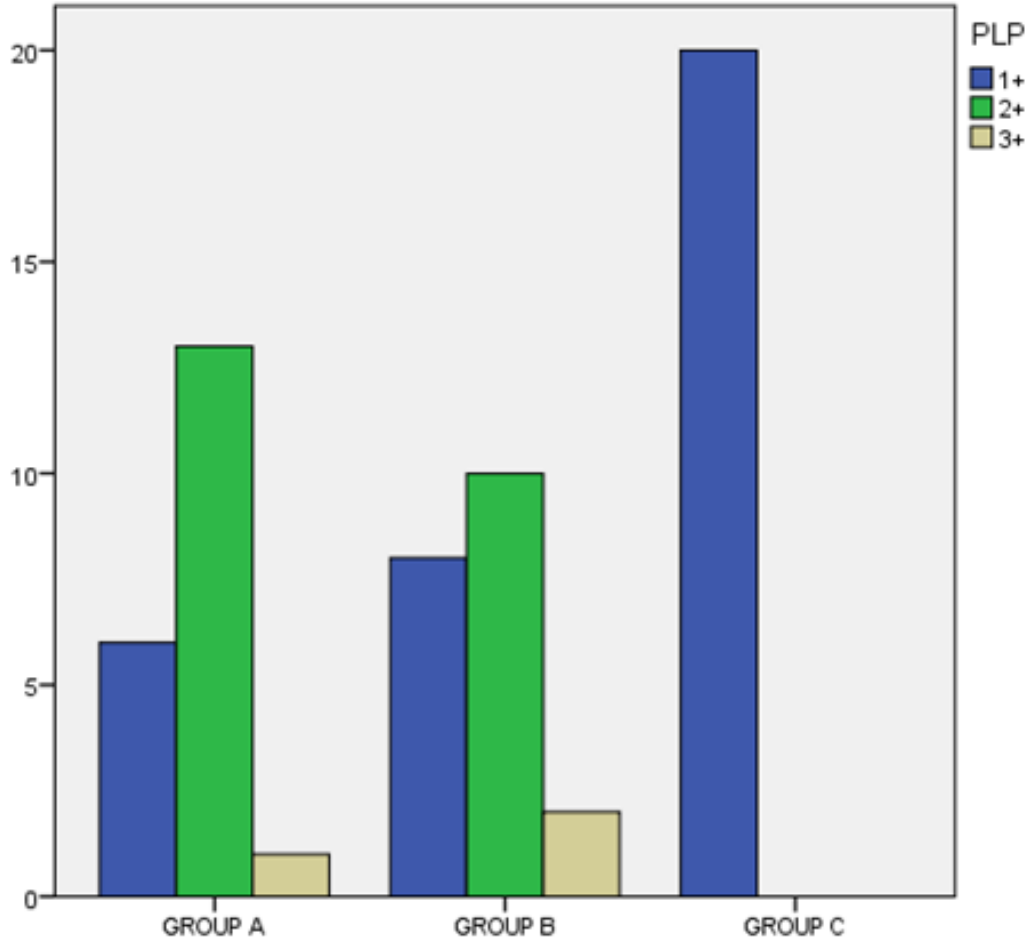
4.5 PLP

Gruplar arasında beyin dokusu PLP boyanma şiddeti karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edildi (Tablo 4) ($p=0,000$). Grup A'ya ait beyin dokusu örneklerinde 1+ şiddetinde PLP pozitifliği %30 (6/20) oranında saptanırken, 2+ ve üzerinde boyanma şiddeti %70 (14/20) oranında saptandı. Grup B'ye ait beyin dokusu örneklerinde 1+ şiddetinde PLP pozitifliği %40 (8/20) oranında saptanmış olup, 2+ ve üzerinde boyanma şiddeti %60 (12/20) oranında olduğu tespit edildi. Grup C'ye ait beyin dokusu örneklerinin tamamının 1+ şiddetinde PLP ile boyandığı tespit edilmiştir. Tedavi grupları (Grup A ve Grup B) karşılaştırıldığında ise, PLP boyanma şiddetleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadığı tespit edildi ($p=0,3$)

Tablo 4: Gruplar arası PLP boyanma şiddetinin karşılaştırılması

	PLP			Toplam
	1+	2+	3+	
GRUP A	6	13	1	20
GRUP B	8	10	2	20
GRUP C	20	0	0	20
Toplam	34	23	3	60

p=0,000



Şekil 16: Gruplar arası PLP boyanma şiddetinin grafiksel olarak gösterimi

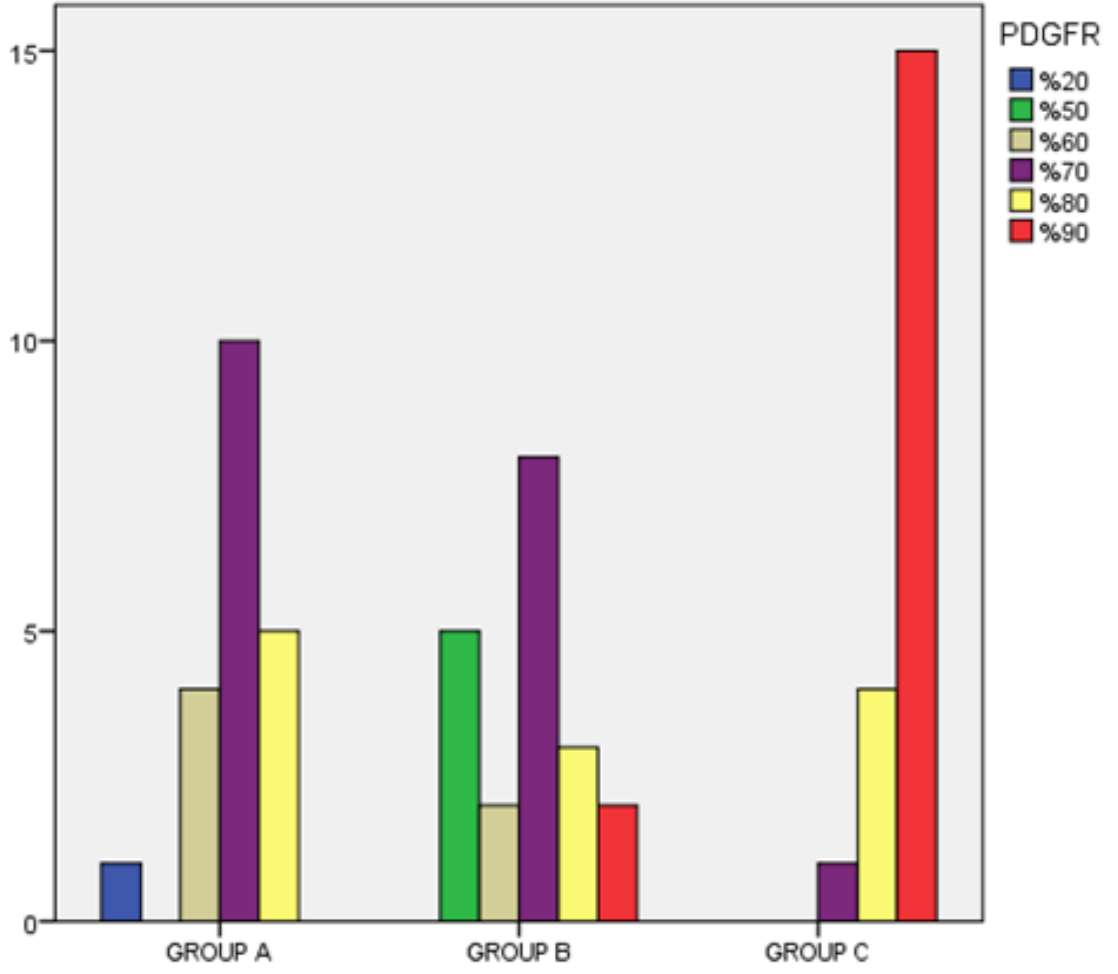
4.6 PDGFR

Gruplar arasında beyin dokusu PDGFR boyanma yüzdeleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edildi (Tablo 5) ($p=0,000$). Grup A'ya ait beyin dokusu örneklerinde %90'ın altında PDGFR boyanma yüzdesi %100 (20/20) oranında saptanırken, hiçbir örnekte %90 ve üzerinde boyanma izlenmedi. Grup B'ye ait beyin dokusu örneklerinde %90'ın altında PDGFR boyanma yüzdesi %90 (18/20) oranında saptanırken, %90 ve üzerinde boyanma yüzdesi %10 (2/20) oranında saptandı. Grup C'ye ait beyin dokusu örneklerinde ise %90 altında boyanma yüzdesi %25 (5/20) olarak saptanırken, %90 ve üzerinde boyanma yüzdesi %75(15/20) olarak saptandı. Tedavi grupları (Grup A ve Grup B) karşılaştırıldığında ise, PDGFR boyanma yüzdeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadığı tespit edildi ($p=0,48$).

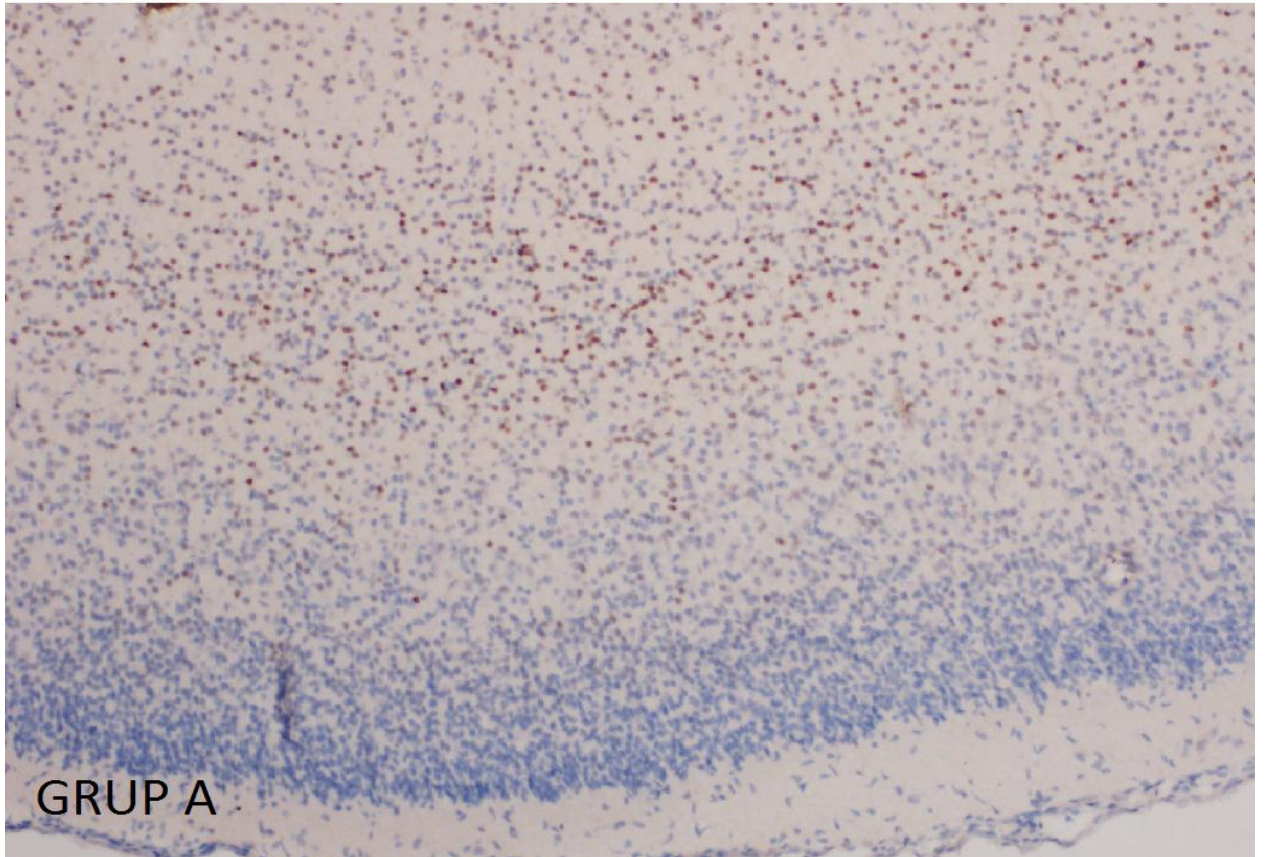
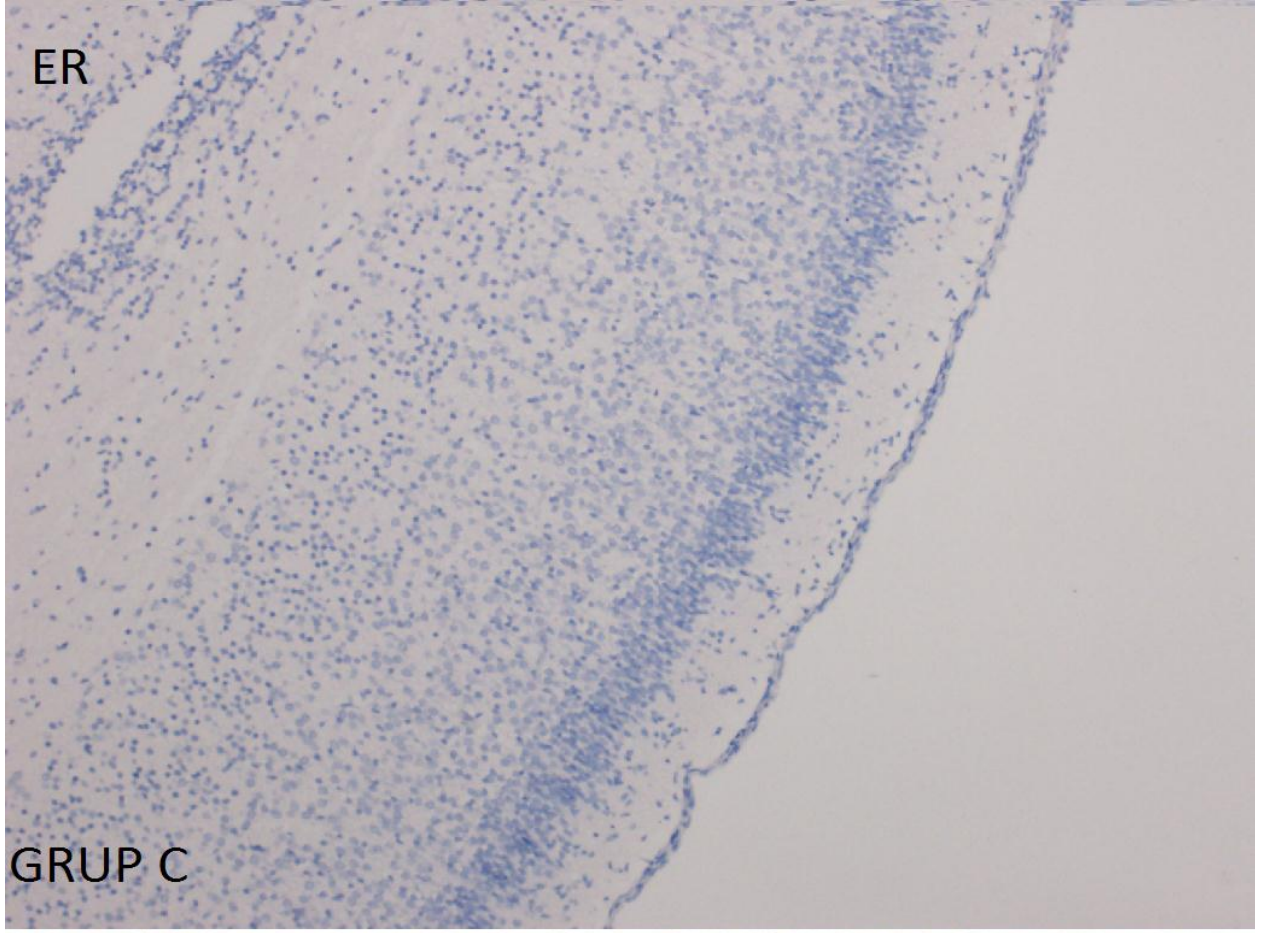
Tablo 5: Gruplar arası PDGFR boyanma yüzdelerinin karşılaştırılması

	PDGFR						Toplam
	%20	%50	%60	%70	%80	%90	
GRUP A	1	0	4	10	5	0	20
GRUP B	0	5	2	8	3	2	20
GRUP C	0	0	0	1	4	15	20
Toplam	1	5	6	19	12	17	60

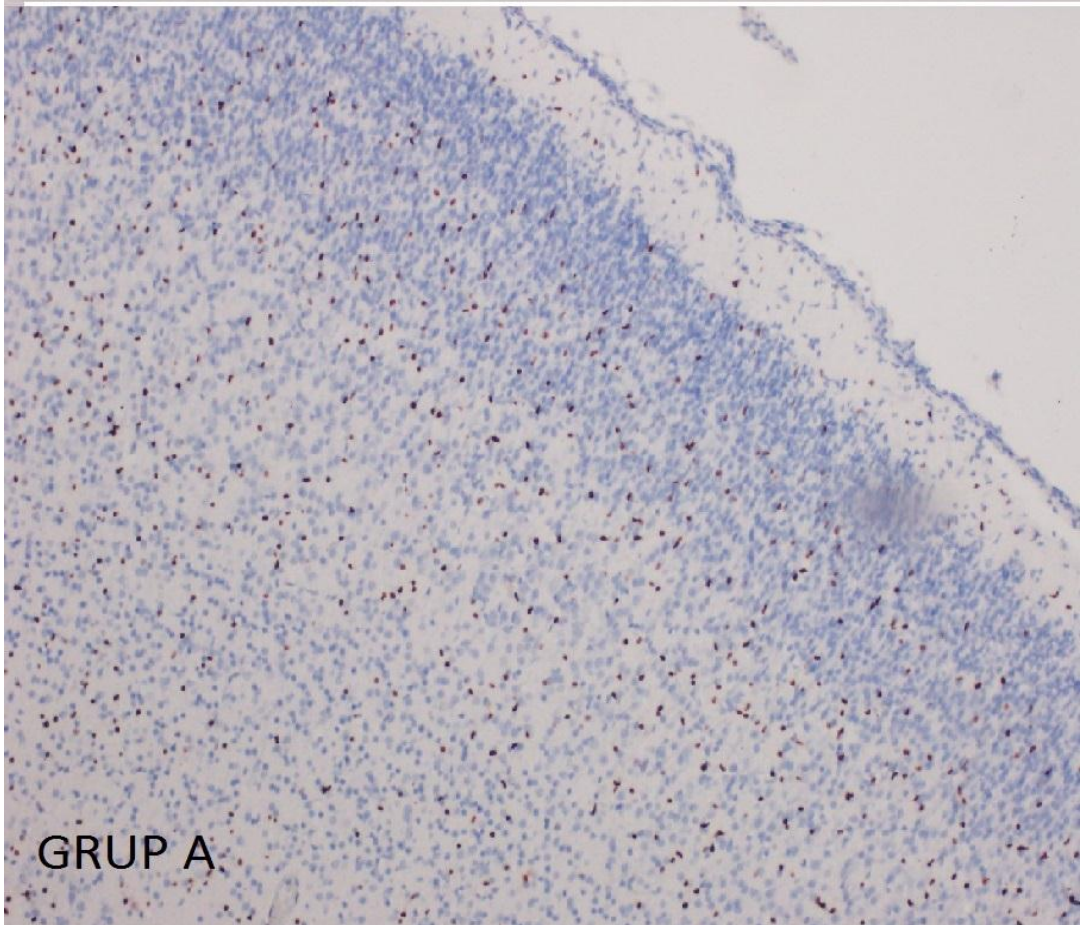
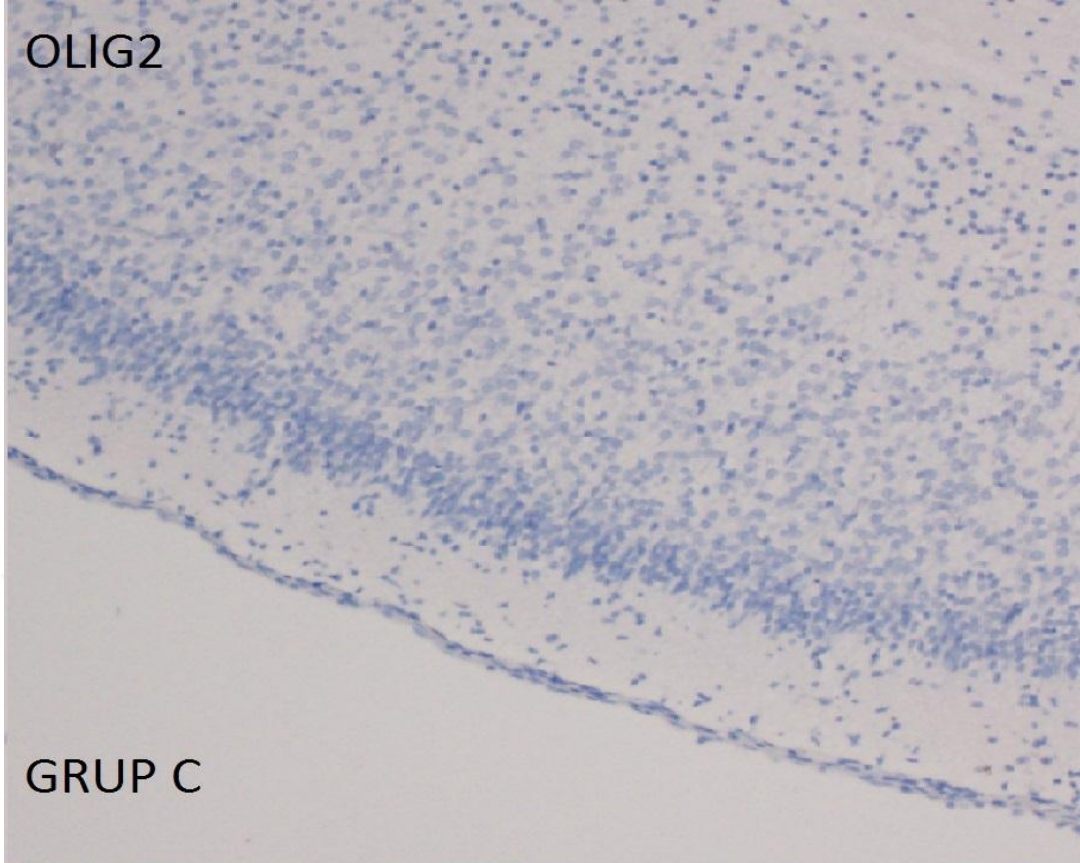
$p=0,000$



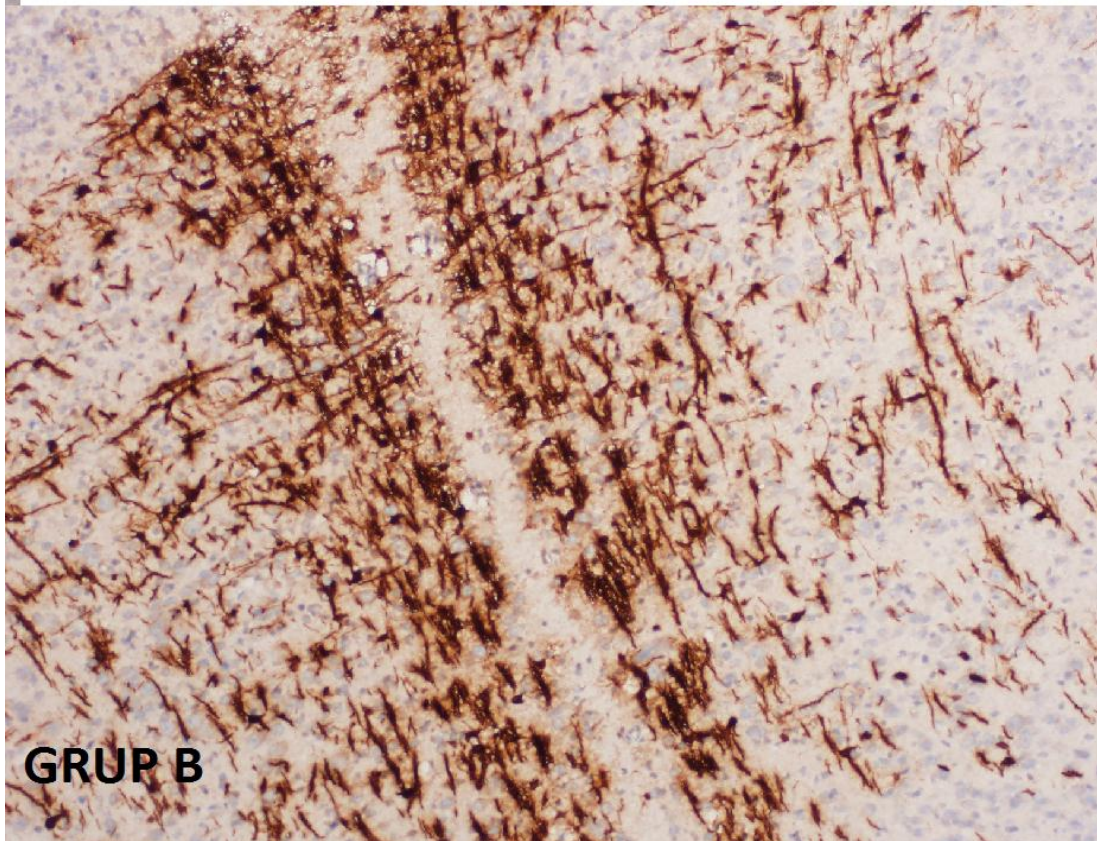
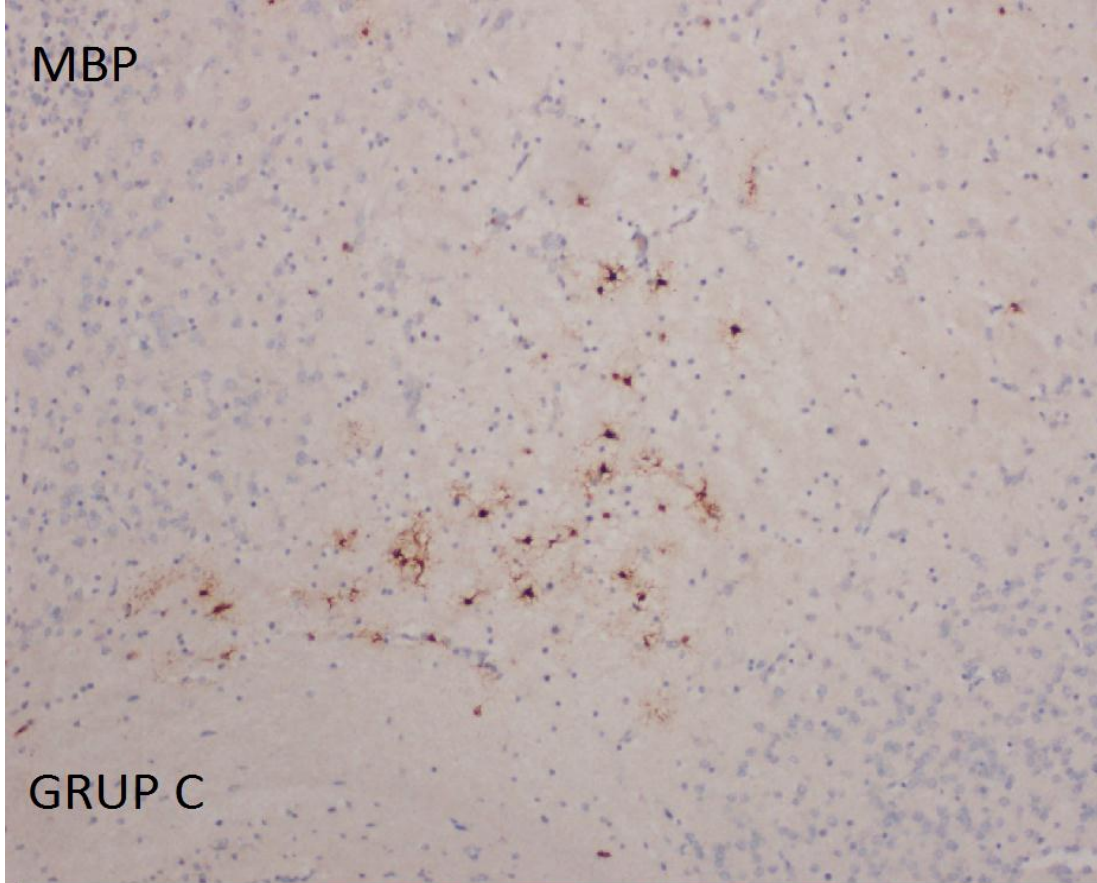
Şekil 17: Gruplar arası PDGFR boyanma yüzdesinin grafiksel olarak gösterimi



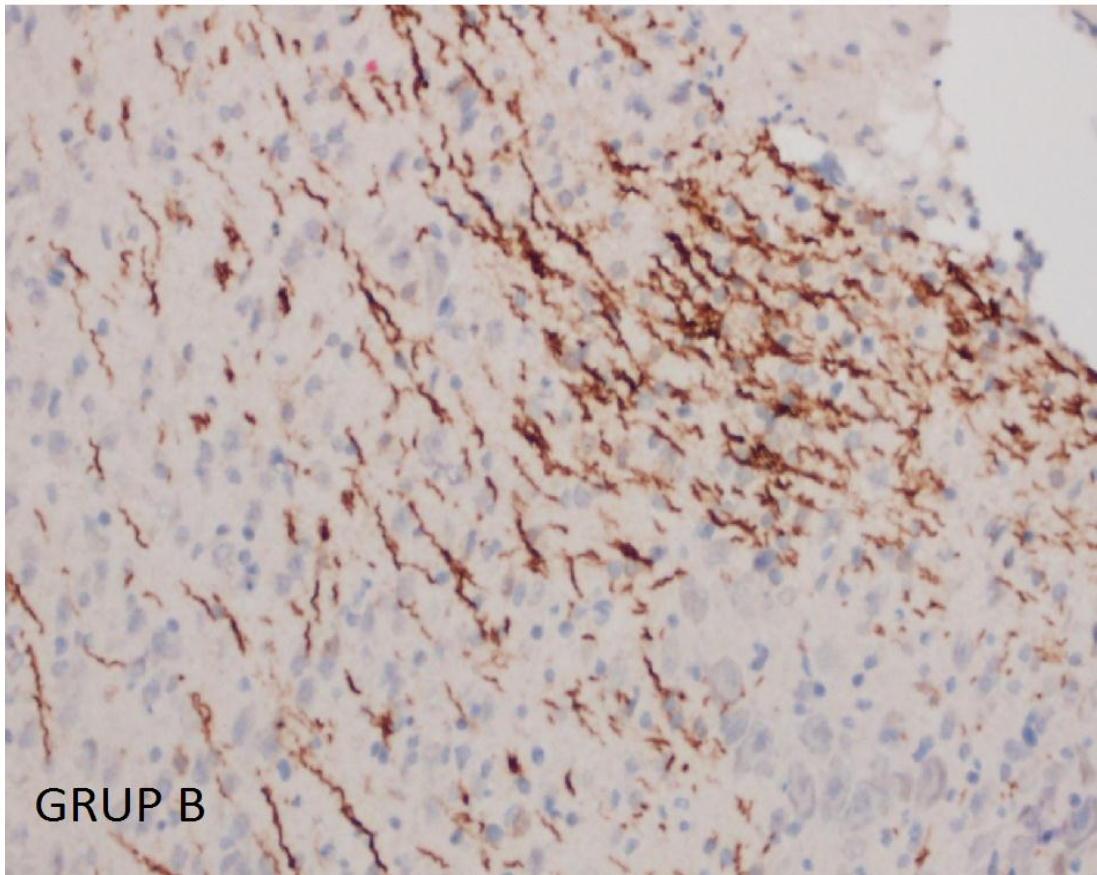
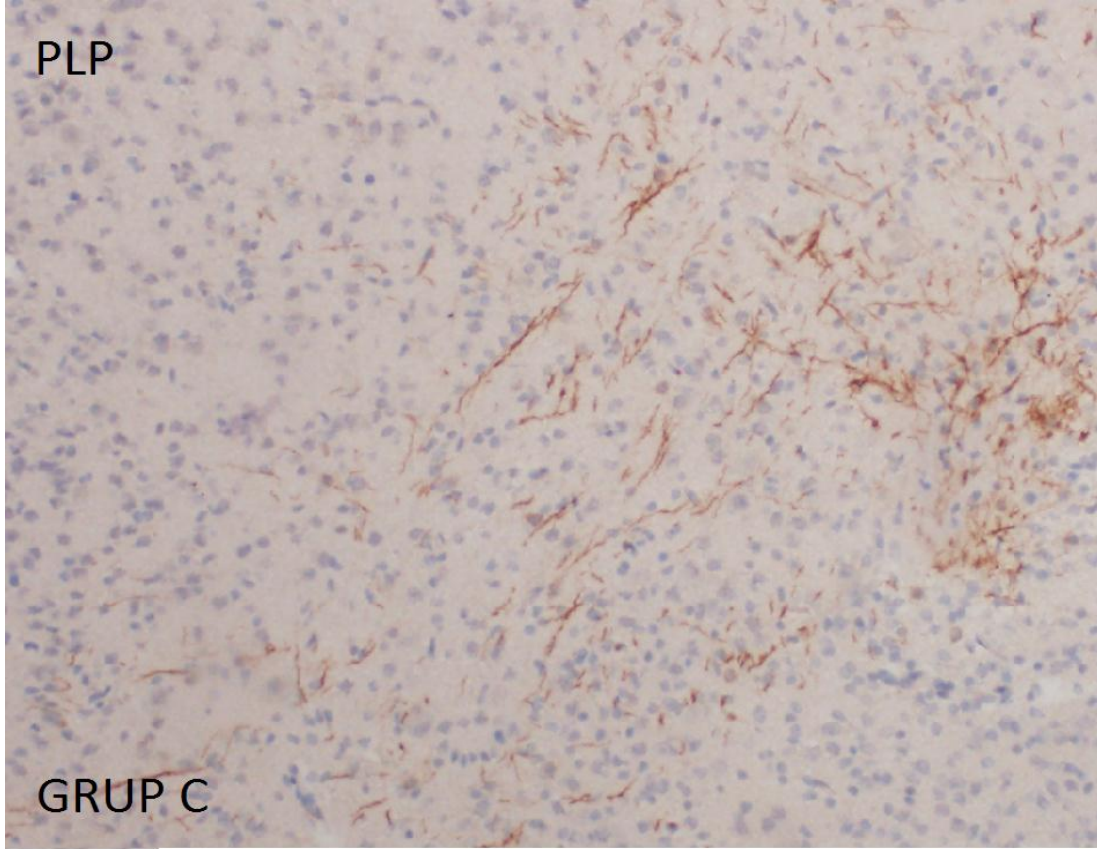
Şekil 18: Grup C (kontrol) ve Grup A (17OH progesteron kaproat) ER boyanmaları (x100)



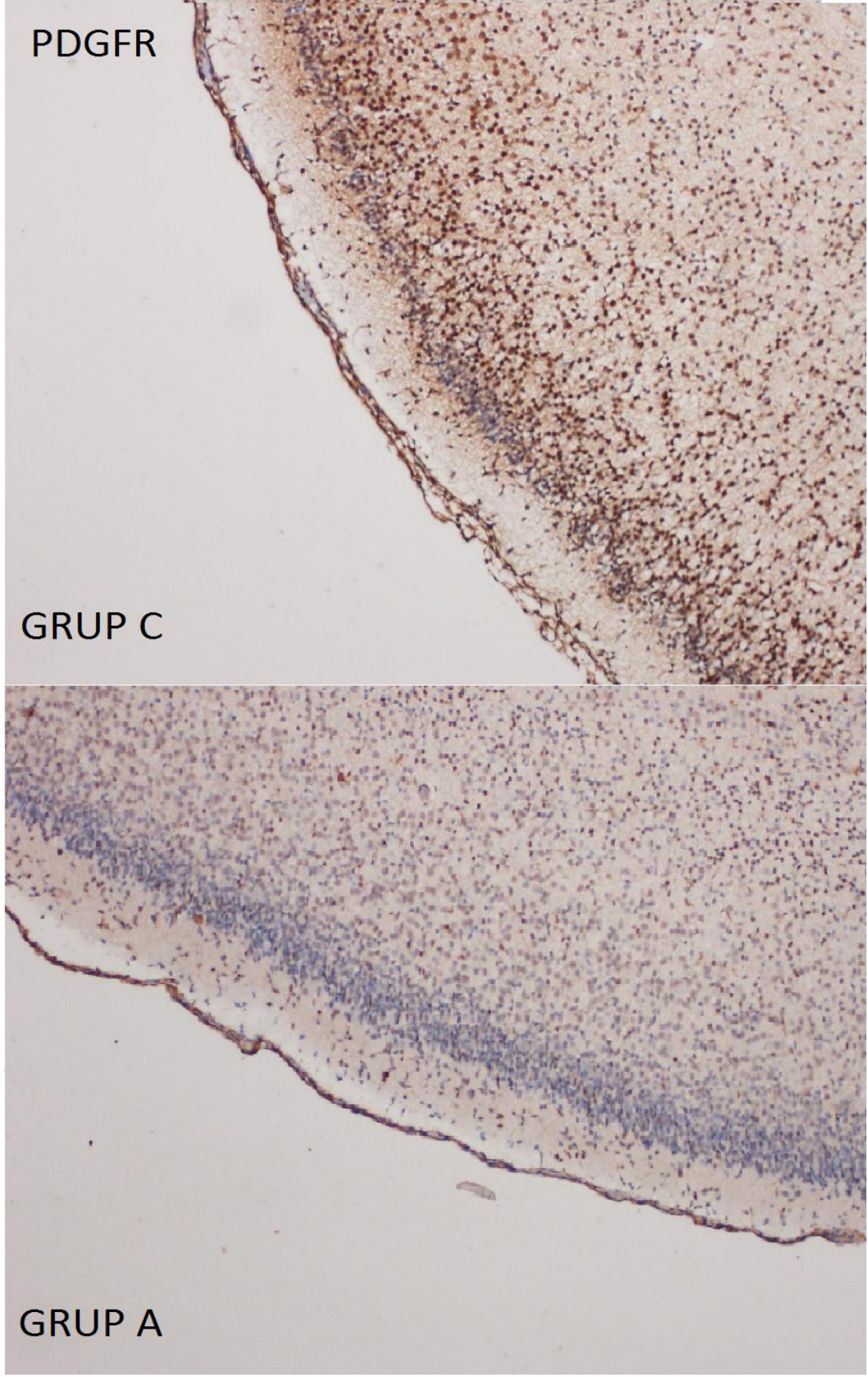
Şekil 19: Grup C (kontrol) ve Grup A (17OH progesteron kaproat) OLIG2 boyanmaları (x100)



Şekil 20: Grup C (kontrol) ve Grup B (mikronize progesteron) MBP boyanmaları (x100)



Şekil 21: Grup C (kontrol) ve Grup B (mikronize progesteron) PLP boyanmaları (x100)



Şekil 22: Grup C (kontrol) ve Grup C (17OH progesteron kaproat) PDGFR boyanmaları (x100)

5. TARTIŞMA

Son yıllarda erken doğumun önlenmesinde progesteronun artan kullanımı tüm dünyada yaygın hale gelmiştir. Başlıca kısa serviks endikasyonunda olmak üzere, önceki gebeliğinde erken doğum öyküsü olan kadınlarda 16-24. gebelik haftasında başlanmak üzere haftalık 500mg i.m. 17OH progesteron kaproat enjeksiyonu veya vajinal 200µg mikronize progesteron ile profilaksi başlanmakta; 34-36. gebelik haftasına kadar tedavi aralıksız olarak sürdürülmektedir(124). Bunun yanında, kanıta dayalı tıp çerçevesinde düşük tehdidi tedavisinde progesteronun etkinliği tartışmalı olmasına rağmen, ülkemiz de dahil olmak üzere dünyanın bir çok ülkesinde gebeliğin erken haftalarından itibaren yaygın olarak kullanıldığı bilinmektedir (125). Düşük tehdidinin aksine, progesteronun erken doğumu etkilemedeki etkinliğinin araştırıldığı çalışmalarda progesteronun oldukça etkili olduğuna dair veriler söz konusudur (126). Ancak kronik progesteron maruziyetinin maternal servikal ve uterin doku üzerindeki olumlu etkilerine rağmen fetal beyin, böbrek, karaciğer, iskelet sistemi gibi diğer organ sistemleri üzerindeki etkisine dair yeterli sayıda uzun dönem çalışması bulunmamaktadır. 2009 yılında başlanıp 2015 yılında sonlandırılan OPPTIMUM çalışmasına ait ilk sonuçlar, Şubat 2016 yılında ABD’de SMFM toplantısında sözlü bildiri olarak sunulmuştur. Bu çalışmada erken doğumun önlenmesinde vajinal mikronize progesteron ile plasebo karşılaştırılarak progesteronun erken doğumu önlemedeki etkinliği ile neonatal sonuçları üzerindeki ve uzun dönem çocukluk çağı kognitif ve nörogelişimsel sonuçların (2 yaş) değerlendirilmesi amaçlanmıştır (15). Çalışmanın sonucunda progesteronun kısa serviksi olan kadınlarda erken doğumu önleyici etkisi bulunmadığı ve obstetrik, neonatal sonuçları iyileştirici anlamlı olumlu bir etkisi bulunmadığı gösterilmiştir. Diğer yandan, çalışmanın sekonder sonlanma kriterleri arasında bulunan progesterona maruz kalan yenidoğanların solunum sistemi, gastrointestinal sistem ve renal sistem açısından kontrol grubuna göre daha yüksek oranda olumsuz etkiler görüldüğü bildirilmiştir. Ayrıca, 2 yaşına geldiklerinde deneklere yapılan kognitif fonksiyon değerlendirilmesinde (*Bailey-III Cognitive and Function Scale*)

progesteron grubuyla kontrol grubu arasında anlamlı bir farklılık gösterilememiştir. Bu örnek çalışmada ortaya konulduğu üzere, progesteronun gebelik süresince uzun süreli kullanımının olası olumlu etkilerine rağmen, fetal organ sistemleri üzerindeki etkisi erken yenidoğan döneminde ortaya çıkmayıp, hayatın daha ileri dönemlerinde ortaya çıkıyor olabilir. Bu nedenle yaptığımız bu araştırmada, tüm gebelik süresince maternal terapötik dozda progesterona maruz kalan fetal sıçanlarda beyin dokusunda, beyin gelişiminde önemli rol oynayan reseptörlerin ve proteinlerin ekspresyonunda anlamlı bir değişiklik meydana gelip gelmediğini araştırmak istedik.

Progesteron hormonu günümüzde artık basit bir kadınlık hormonu olarak algılanmamaktadır. Özellikle rodent hayvan modellerinden gelen kanıtlar progesteronun erkek beyni de dahil olmak üzere beyinde normal matürasyon üzerinde olumlu etkiler gösteren ve hatta nöroendokrin ve reproduktif kapasitenin gelişimini etkileyen bir hormon olduğu yönündedir. Ayrıca progesteronun gerek dişi gerek erkeklerde kognitif fonksiyonun gelişiminde etkili olduğu gösterilmiştir (127). Progesteronun beyin gelişimi üzerindeki olası etkileri gösterildiği için preterm doğum profilaksisinde kullanımı sonrasında insan beyni üzerindeki etkilerinin araştırılması için daha çok çalışmaya ihtiyaç duyulduğu aşikardır. Biz de yaptığımız bu hayvan çalışmasında maternal yolla verilen progesteronun fetal sıçan beyinde bulunan ER, MBP, PLP, OLIG2 gibi beyin gelişimi üzerinde önemli etkileri olan protein ve reseptörlerin ekspresyonunu arttırdığını tespit ettik.

Çalışmamızda ortaya çıkan en önemli sonuçlardan biri terapötik dozda kronik maternal progesteron maruziyetinin fetal beyinde myelinizasyon ve oligodendrosit progenitörlerini arttırdığının gösterilmiş olmasıdır. Çalışmamızda gruplar arasında beyin dokusu MBP boyanma şiddeti karşılaştırıldığında kontrol grubuna göre hem 17OH progesteron kaproat hem de mikronize progesterona maruz kalan fetal beyin dokularında MBP ekspresyon oranının istatistiksel olarak anlamlı düzeyde arttığını gösterdik (Tablo 2). Yine gruplar arasındaki beyin dokusu PLP boyanma şiddeti karşılaştırıldığında kontrol grubuna göre hem 17OH progesteron kaproat hem de mikronize progesterona maruz kalan fetal beyinlerde PLP ekspresyon oranının da istatistiksel olarak anlamlı düzeyde arttığını tespit ettik (Tablo 4). Diğer yandan tedavi grupları arasında, MBP ve PLP

boyanmasının 17OH progesteron kaproat grubunda mikronize progesterona göre daha fazla arttığını saptamamıza rağmen aradaki farkın istatistiksel olarak anlamlı düzeye ulaşmadığını tespit ettik. Myelin basic protein, nöronlarda myelin oluşumunda rol alan önemli bir proteindir. Myelin Proteolipid Protein (PLP veya Lipofilin) ise santral sinir sisteminin majör myelin proteindir. Bu iki protein immünohistokimyasal incelemelerde myelinizasyonun bir göstergesi olarak kullanılmaktadır. Myelin kılıf çok tabakalı bir membrandır, sinir sistemine özeldir ve aksonal impuls iletim hızını artıran iyi bir yalıtıcıdır. Myelinizasyon fetal ve neonatal beyin gelişiminde bu nedenle çok önemli bir süreçtir. Progesteronun myelinizasyonu arttırdığına dair özellikle son yıllarda yapılan hayvan çalışmalarının sayısı giderek artmaktadır. Schumacher et al. tarafından yapılan hayvan çalışmalarında, progesteronun nöroprotektif etkisi gösterilerek özellikle periferik sinir sisteminde myelinizasyonu arttırdığı ortaya konulmuştur (128). Labombarda et al. tarafından yapılan çalışmada komplet spinal kord yaralanması meydana getirilen sıçanlarda progesteronun remiyelinizasyon üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Çalışmanın sonucunda progesteron kullanımının oligodendrosit prekürsör hücreleri ve PLP ekspresyonunu artırarak myelinizasyona yardımcı olduğu gösterilmiştir (129). Rupprecht ve Holsboer; Mani ve O'Malley tarafından yapılan çalışmalarda da progesteronun özellikle intrasellüler progesteron reseptörüne (PR) bağlanmasını takiben gen transkripsiyonunu düzenlediği, hücre sinyal yollarında hızlı non-genomik etkiler gösterdiği ve nörotransmitterlerin hücre zarı reseptörlerinde direkt etki gösterdiği ortaya konulmuştur (98)(130). Progesteron metaboliti olarak bilinen allopregnanolonun özellikle nöronal GABA_A reseptörleri üzerinde olan pozitif modülasyon etkisi Lambert et al. tarafından gösterilmiştir(131). Allopregnanolon ve GABA_A reseptörleri arasındaki interaksyonun, progesteronun davranışsal etkilerinden sorumlu olduğu ileri sürülmüştür (132). Progesteron ve metabolitlerinin santral sinir sisteminde oligodendrositler tarafından oluşturulacak myelinizasyon üzerindeki etkileri ise son zamanlarda çalışmaların başlıca odak noktası olmuştur. Yapılan çalışmalarda yenidoğan sıçan beyinlerinden hazırlanan glial hücre kültürlerinde progesteronun MBP immünoreaktif oligodendrosit sayısını arttırdığı gösterilmiştir (133). Benzer şekilde demiyelinizan lezyon sonrası spontan remiyelinizasyonun

çok geciktiği yaşlı ratlarda progesteronun myelinizasyonu arttırdığı gösterilmiştir(134). Ghomari et al. tarafından yapılan diğer bir çalışmada ise progesteronun sıçan serebellumunda MBP ekspresyonunu ve dolayısıyla santral sinir sistemi myelinizasyonunu arttırdığı ortaya konulmuştur (135). Bahsedilen bu çalışmada, progesteronun MBP ekspresyonu ve santral sinir sistemi myelinizasyonunu özellikle bazı hücre sinyal sistemleri üzerinden yaptığı düşünülmüştür. Bunlardan birincisi intrasellüler progesteron reseptörü, ikincisi ise hücre zarı üzerinde yer alan GABA_A reseptörleridir. Bizim çalışmamızda hiçbir grupta progesteron reseptörüne (PR) ait pozitif boyanma bulgusu saptanmamıştır. Literatüre baktığımızda hayvan çalışmalarında progesteron reseptörünün fetal ve neonatal beyin gelişimi sürecinde, özellikle geçici olarak eksprese edildiği gösterilmiştir (127). Bu nedenle çalışmamızda gerek kontrol grubu, gerekse de tedavi gruplarında PR ekspresyonunun bulunmamasının sebebi olarak PR'ın geçici ekspresyonu nedeniyle olabileceği düşünülmüştür. Progesteron, fetal beyin üzerindeki etkilerini intrauterin dönemde geçici olarak eksprese edildiği bir dönemde gerçekleştirmiş olabilir. Çalışmamızda, sıçan beyinlerini hayatın 1. Gününde incelediğimiz için ve fetal beyinde PR'ın geçici ekspresyonu gösterilmiş olduğundan dolayı, fetal dönemde PR ekspresyonu hakkında fikir yürütememekteyiz. Diğer yandan, ikinci olasılık ise progesteronun veya metabolitlerinin fetal beyin üzerindeki etkilerini başka bir reseptör üzerinden gerçekleştirmiş olma olasılığıdır. Daha önceden yapılan birkaç çalışmada, progesteronun santral sinir sisteminde MBP artırıcı etkisi ve myelinizasyon üzerindeki diğer etkilerinin GABA_A reseptörü üzerinden gerçekleştirdiği gösterilmiştir (136). Ancak, bizim çalışmamızda GABA_A reseptörü bakılmadığından dolayı bu konuda kesin bir yorum yapmak mümkün değildir.

Oligodendrosit transkripsiyon faktörü (OLIG2), OLIG 2 geni tarafından kodlanan bir basit helix-loop-helix (bHLH) transkripsiyon faktörüdür. OLIG2 motor nöron ve oligodendrosit farklılaşmasında önemli bir belirleyicidir. Erken gelişim döneminde replikasyonu sürdürmekle görevlidir (89). OLIG2 en çok, oligodendrositlerin ve spesifik nöron tiplerinin geliştiği beynin ve spinal kordun ventriküler bölgesinde kısıtlı olarak eksprese edilir. Embriyogenez sırasında OLIG2 ilk olarak motor nöron öncüllerinin ventral alanını oluşturur ve nöronal

farklılaşmayı teşvik eder. OLIG2 gelişimin sonraki dönemlerinde oligodendrosit öncüllerinin oluşumunu ve farklılaşmasını sağlar. Oligodendrosit gelişim yolu multifaktöriyel olup OLIG1, OLIG2 ve NKx2.2 gibi transkripsiyon faktörleri, oligodendrosit prekürsör hücrelerin differensiyasyonunda rol alan faktörlerdir. Bu sebeple oligodendrosit oluşumu ve dolayısıyla myelinizasyonun çalışılabilmesi için bu transkripsiyon faktörlerinin de incelenmesi gerekmektedir (137).

Çalışmamızda gruplar arasında beyin dokusu OLIG2 boyanma yüzdeleri karşılaştırıldığında, kontrol grubuna göre hem 17OH progesteron kaproat hem de mikronize progesterona maruz kalan fetal beyinlerde OLIG2 boyanma yüzdesinin istatistiksel olarak anlamlı düzeyde arttığını saptadık. Bunun yanında OLIG2 boyanmasının 17OH progesteron kaproat grubunda mikronize progesterona göre daha fazla arttığını saptamamıza rağmen aradaki farkın istatistiksel olarak anlamlı düzeye ulaşmadığını tespit ettik. Oligodendrosit transkripsiyon faktörlerinin oligodendrosit oluşumu ve fonksiyonunu düzenlediği düşünüldüğünde, bu bulguların artmış myelinizasyon ile uyumlu olduğu görülmektedir. Progesteronun postnatal dönemde oligodendrositler için mitojenik olduğu daha önce yapılmış hayvan çalışmalarında gösterilmiş olmasına rağmen (138), intrauterin dönemde artmış maternal progesterona maruz kalan fetüslerde mitojenik etkisinin olup olmadığı hakkında daha önce yapılmış bir çalışma bulunmamaktadır. Çalışmamızda elde edilen bulgular ışığında maternal progesteron uygulamasının fetüs beynindeki oligodendrositlerin matürasyonu ve proliferasyonunu artırıcı etkisi olduğu ve myelinizasyonu artırdığı görülmüştür.

Plasental yetmezlik ve intrauterin gelişim geriliği durumlarında fetal beyindeki myelinizasyonun olumsuz etkilendiği daha önce yapılan hayvan çalışmalarıyla ortaya konulmuştur (139). Myelinizasyon eksikliğinin sinir iletim hızını, sinaptogenezi ve dolayısıyla nöronal fonksiyonları olumsuz etkileyebileceği ve kalıcı nöral hasara sebep olabileceği düşünülmektedir. Bunun ilerleyen hayatta hafızayı ve öğrenme kapasitesini düşürebileceği öngörülmektedir (140). Hatta beyinin belirli bölgelerindeki myelinizasyon değişikliklerinin şizofreni, obsesif kompulsif bozukluk, depresyon, dikkat eksikliği ve hiperaktivite, otizm ve şizofreni ile ilgili olabileceği düşünülmektedir (141). Bütün bu bilgiler ışığında, terapötik dozda fetal progesteron maruziyetinin

yaptığımız bu hayvan çalışmasında myelinizasyonu arttırdığı göstermemiz önemli bir bulgudur. Sıçan beyinde göstermiş olduğumuz progesterona cevaben artan myelinizasyonun, insan beyinde de geçerli olup olmadığını şu an için bilmemekteyiz. Ayrıca progesterona bağlı artan myelinizasyonun, erken ve geç çocukluk döneminde kognitif ve nörogelişimsel fonksiyonlar üzerindeki etkisinin, iyi tasarlanmış klinik çalışmalar ile araştırılması gerekmektedir.

Progesteronun özellikle erişkinlerde myelinizasyonu artırıcı etkisi ilgili yapılmış bir takım klinik çalışmalar bulunmaktadır. Bu çalışmalarda akut travmatik beyin hasarı sonrası progesteron kullanımının nöroprotektif etkisi olduğu gösterilmiştir (13,115,137,138). bu konuda yapılan hayvan çalışmalarında da deneysel modellerde oluşturulan santral sinir sistemi hasarı sonrasında progesteron düzeylerinin arttığı gösterilmiş ve endojen progesteronun nöroprotektif ve nörojeneratif mekanizmalarda rol oynadığı düşünülmüştür (139,140). Bu bilgilerden yola çıkılarak yüksek dozda ve tekrarlayan progesteron kullanımının nöron viabilitesinde ve myelin tamirinde olumlu etkileri hayvan çalışmalarında gösterilmiştir. Progesteronun nöroprotektif etkisi birçok mekanizmaya bağlanmıştır. Bu mekanizmalar arasında beyin ödemi azaltıcı etki, antiinflamatuvar etki, antioksidan aktivite, mitokondriyal fonksiyonların korunması, hemostatik proteinlerin regülasyonu, kan beyin bariyeri disfonksiyonunun düzeltilmesi yer almaktadır (146). Progesteronun sıçan ve fare modellerinde orta serebral arter oklüzyonu sonrasında da nöroprotektif etkisi gösterilmiştir (147). Bu çalışmalardan yola çıkılarak, pediatrik grupta oluşan travmatik beyin hasarı sonrası progesteronun koruyucu etkisi ile ilgili yapılan hayvan çalışmaları da yavaş yavaş yapılmaya başlanmıştır. Örneğin Robertson et al. tarafından yapılan çalışmada beyin hasarı oluşturulmuş sıçan yavrular progesteron ile tedavi edildiklerinde, erkek yavrularda progesteronun mitokondriyal fonksiyonu koruduğu, ancak dişi yavrularda bu etkinin görülmediği gösterilmiştir (148). Benzer şekilde Geddes et al. tarafından yapılan bir çalışmada da erkek sıçanlarda progesteronun nöroprotektif etkisi gösterilmiştir. Aynı grup tarafından 2016 yılında yapılan diğer bir çalışmada ise progesteronun dişi sıçanlarda da aynı etkiyi gösterdiği ortaya konulmuştur (149). Bu çalışmalardan ve bizim bulgularımızdan yola çıkarak, gebelikte yaygın olarak kullanılan

progesteronun fetal beyin üzerindeki etkilerinin, özellikle uzun dönem sonuçlarının klinik olarak geniş çalışmalarla araştırılmasına acilen ihtiyaç olduğu anlaşılmaktadır.

Platelet kaynaklı büyüme faktörü (PDGF) hücre büyümesi ve bölünmesini düzenleyen sayılı büyüme faktörlerinden biridir. PDGF, fibroblast; düz kas hücresi ve glial hücreler gibi mezenkimal kökenli hücreler için mitojen etkilidir. (95)(96). PDGF embriyonik gelişimde, hücre çoğalmasında, hücre göçünde ve anjiyogenezde rol oynar (104), bunun yanında oligodendrosit öncülü hücrelerin çoğalmasını sürdürdüğü bilinmektedir. Fibroblast büyüme faktörü (FGF)'nin oligodendrosit öncülü hücrelerdeki PDGF reseptörlerindeki sinyal yolağını aktive ederek reseptörleri olumlu anlamda düzenlediği gösterilmiştir (105). PDGFR gelişen beyinde belirli bölgelerde nöronlar ve "growth cone" denilen büyüme uzantılarında eksprese olmaktadır (150). Cheng ve Mattson tarafından yapılan çalışmalarda PDGF'nin glutathion peroksidaz gibi antioksidatif enzimleri aktive ederek, embriyonik hippocampal nöronları enerji deprivasyonu ve oksidatif stresten koruduğu tespit edilmiştir (151). PDGF'nin beyinde reseptörlerine bağlandığı zaman glial hücre proliferasyonunu, hatta erişkin farelerde bile nörojenezi tetiklediği gösterilmiştir (152). Yanhua et al. tarafından yapılan hayvan çalışmalarında PDGF reseptörlerinin gelişen beyin dokusunda yaygın olarak üretildiği ve aktivite gösterdiği bulunmuş olup, bu çalışmayı destekleyen diğer çalışmalarla da PDGFR'nin nöron migrasyonu, diferensiasyonu ve hücreler arası koordinasyon açısından önemli bir etken olduğu konusunda yaygın bir kanı oluşmuştur (146,147).

Bizim çalışmamızda beklenenin aksine PDGFR ekspresyonunda progesteron tedavisi alan gruplarda istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalma olduğu görülmüştür. Palliser et al. tarafından 2015 yılında yapılan bir çalışmada preterm doğmuş guinea domuzlarında postnatal progesteron tedavisinin nörosteroid konsantrasyonları ve serebellar myelinizasyon üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Bu çalışma sonucunda da progesteron tedavisinin beyin allopregnanolon düzeylerini artırarak total serebellar PDGFR düzeylerini azalttığı bulunmuştur. Ancak bu etki preterm yavrularda gözlenirken term yavrularda

görülmemiştir. Bütün bu bilgiler ışığında, PDGFR ekspresyonundaki progesterona bağlı azalmanın, intrauterin dönemde nöron migrasyonu ve differensiasyonu açısından olumsuz bir etkisinin olup olmadığı, daha fazla hayvansal deney ve klinik araştırmalarla incelenmesi gereken bir konudur.

Çalışmamızda bakılan diğer bir önemli parametre, östrojen reseptör ekspresyonunun araştırılmasıdır. Bilindiği üzere östrojenin beyin üzerinde reproduktif etkilerinin yanı sıra birçok reproduktif olmayan etkisi de bulunmaktadır. Östrojenin erken embryonik dönemde beyinin seksüel differensiasyonunda rol aldığı bilinmektedir (55)(155). Erkek fetüste testosteronun yüksek olduğu dönemde, hippokampüste aromataz aktivitesi ve ER α ekspresyonu gösterilmiştir. Cinsel davranış üzerine yapılan araştırmalar, hippokampal bölgenin bu yolla maskülenizasyon ve defeminizasyona uğradığını göstermektedir (156). ER α üzerine yapılan çalışmalarda, östrojenin erkeklerde üreme fizyolojisi, spermatogenez, testis fonksiyonu, cinsel partner seçimi ve agresyon gibi davranışsal özellikler üzerinde belirleyici etkisi olduğu gösterilmiştir (152,153,154). Bunun yanında ER α 'nın oksitosin ve vazopressin üzerinde düzenleyici etkisi olduğu ve dolayısıyla "bağ kurma" gibi sosyal ilişkiler üzerinde etkisi olduğu tespit edilmiştir (160). Bütün bunlar göz önüne alındığında östrojenin ER α aracılığıyla erkek sosyoseksüel davranış oluşumunda majör bir rolü olduğu düşünülmektedir.

Beyindeki östrojen reseptörlerinin stres, seksüel ve hafıza ile ilişkili kognitif fonksiyonları regüle ettiği ve birçok nöroendokrin ve otonom fonksiyonu kontrol ettiği bilinmektedir(161). Östrojen reseptör ER subtiplerinin (alfa ve beta) beyinde farklı oranlarda eksprese edildiği bilinmektedir. Östrojen reseptörlerinin yalnızca genomik transkripsiyon faktörlerini etkilemesinin yanısıra genomik olmayan sinyal yollarında da yer aldığı bilinmektedir. 17-beta estradiol gibi çoğu aktif östrojenin östrojen reseptörüne bağlanabildiği bilirse de, çevresel ve yiyecek bileşiği olarak bilinen birçok maddenin de östrojen reseptörüne bağlanabildiği ve aktivitesini etkileyebildiği gösterilmiştir (157). Östrojen reseptör alfa'nın östrojenin anti-obezite etkilerinden sorumlu olduğu; delesyonunun adipoziteyi artırdığı ve hem dişi hem de erkek farelerde metabolik sendroma yol açtığı gösterilmiştir (163).

Bizim alışmamızda kontrol grubu ile karşılaştırıldığında tedavi gruplarında ER pozitifliğinin istatistiksel olarak anlamlı düzeye arttığını saptadık. Ancak tedavi grupları arasında, ER ekspresyonunun 17OH progesteron kaproat grubunda mikronize progesterona göre daha fazla arttığını saptamamıza rağmen aradaki farkın istatistiksel olarak anlamlı düzeye ulaşmadığını tespit ettik. Progesteronun sıçan beyindeki östrojen reseptörlerini arttırıcı etkisini insana ekstrapole ettiğimizde, bu artışın cinsel davranış fizyolojisinin programlanmasında ve hayatın ilerleyen dönemlerinde (ocukluk ve erişkinlik) uzun süreli metabolik etkilerinin dikkatle araştırılması gereken önemli bir nokta olduğu sonucuna varılmıştır. Bu nedenle fetal dönemde uzun dönem progesterona maruz kalmış insanlarda bu yönde yapılacak olan karşılaştırmalı klinik araştırmalar ile progesteron tedavisinin ER'n arttırıcı etkisinin klinik önemine ilişkin sorulara cevap verilebilir.

6. SONUÇ

Yaptığımız bu araştırmada, gebelik süresince maternal terapötik dozda progesterona maruz kalan fetal sıçanlarda beyin dokusunda, beyin gelişiminde önemli rol oynayan reseptörlerin ve proteinlerin ekspresyonunda anlamlı değişiklikler meydana geldiğini saptadık.

Çalışma sonuçlarımıza göre, maternal yolla verilen progesteronun fetal sıçan beyinde bulunan ER, MBP, PLP, OLIG2 gibi beyin gelişimi üzerinde önemli etkileri olan protein ve reseptörlerin ekspresyonunu artırırken, PDGFR ekspresyonunu azalttığını ortaya koyduk. Ayrıca, çalışmamıza ait gerek tedavi gerekse de kontrol gruplarında sıçanların beyin dokularında PR ekspresyonuna rastlamadık.

Literatüre baktığımızda hayvan çalışmalarında progesteron reseptörünün fetal ve neonatal beyin gelişimi sürecinde, özellikle geçici olarak eksprese edildiği gösterilmiştir. Bu nedenle çalışmamızda gerek kontrol grubu, gerekse de tedavi gruplarında PR ekspresyonunun bulunmamasının sebebi olarak PR'ın geçici ekspresyonu nedeniyle olabileceği düşünülmüştür. İkinci bir olasılık ise progesteronun veya metabolitlerinin fetal beyin üzerindeki etkilerini başka bir reseptör üzerinden gerçekleştirmiş olma olasılığıdır.

Progesteronun sıçan beyindeki östrojen reseptörlerini artırıcı etkisini insana ekstrapole ettiğimizde, bu artışın cinsel davranış fizyolojisinin programlanması, kognitif fonksiyonlar ve metabolizma ile ilgili hayatın ilerleyen dönemlerinde (çocukluk ve erişkinlik) görülebilecek etkilerinin dikkatle araştırılması gereken önemli bir nokta olduğu sonucuna varılmıştır.

PDGFR ekspresyonundaki progesterona bağlı azalmanın, intrauterin dönemde nöron migrasyonu ve differensiasyonu açısından olumsuz bir etkisinin olup olmadığı, daha fazla hayvansal deney ve klinik araştırmalarla incelenmesi gereken bir konu olduğunu düşünmekteyiz.

Çalışmamıza ait en önemli bulgu ise terapötik dozda fetal progesteron maruziyetinin fetal beyin dokusunda myelinizasyonu arttırdığını göstermemizdir. Sıçan beyinde göstermiş olduğumuz maternal progesterona cevaben artan

myelinizasyonun, insan beyinde de geçerli olup olmadığını şu an için bilmemekteyiz. Progesterona bağlı artan myelinizasyonun, erken ve geç çocukluk döneminde kognitif ve nörogelişimsel fonksiyonlar üzerindeki etkisinin, iyi tasarlanmış klinik çalışmalar ile araştırılması gerekmektedir.



Referanslar:

1. Allen WM (1935). "The isolation of crystalline progesterin". *Science* 82 (2118): 89–93.doi:10.1126/science.082.2118.89. PMID 17747122.
2. Butenandt A, Westphal U (1934). "Zur Isolierung und Charakterisierung des Corpusluteum-Hormons". *Berichte Deutsche chemische Gesellschaft* 67 (8): 1440–1442.
3. Hartmann M, Wettstein A (1934). "Ein krystallisiertes Hormon aus Corpus luteum". *Helvetica Chimica Acta* 17: 878–882.
4. Slotka KH, Ruschig H, Fels E (1934). "Reindarstellung der Hormone aus dem Corpusluteum". *Berichte Deutsche chemische Gesellschaft* 67 (7): 1270–1273.
5. Allen WM (1970). "Progesterone: how did the name originate?". *South. Med. J.* 63 (10): 1151–5.
6. Gerald, Michael (2013). *The Drug Book*. New York, New York: Sterling Publishing. p. 186.
7. Carl P. Weiner, (2009) *Drugs for Pregnant and Lactating Women*, 2nd Edition, Saunders Elsevier, p. 942-943.
8. Magna M, Duncan C; Can progesterone supplementation in early pregnancy affect normal male fetal development? *SRF Vac. Sch.*; 2014.
9. Palliser HK, Kelleher M a., Tolcos M, Walker DW, Hirst JJ. Effect of postnatal progesterone therapy following preterm birth on neurosteroid concentrations and cerebellar myelination in guinea pigs. *J Dev Orig Health Dis* [Internet]. 2015;6(04):350–61. Available from: http://www.journals.cambridge.org/abstract_S2040174415001075
10. 5. Skolnick BE, Maas AI, Narayan RK; Progesterone in traumatic brain injury. SYNAPSE Steering Committee. *N Engl J Med.* 2015 Apr 30;372(18):1767.
11. Khanna A, Simard JM, Kahle KT. Progesterone in traumatic brain injury. *N Engl J Med.* 2015 Apr 30;372(18):1765-6.
12. Xydakis MS, Ling GS, Ecklund JM. Progesterone in traumatic brain injury. *N Engl J Med.* 2015 Apr 30;372(18):1765.

13. Wright DW, Yeatts SD, Silbergleit R. Progesterone in traumatic brain injury. *N Engl J Med.* 2015 Apr 30;372(18):1766-7.
14. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02133573>. son girilme tarihi: 15.03.2016.
15. Northen AT, Norman GS, Anderson K, Moseley L, Divito M, Cotroneo M, Swain M, Bousleiman S, Johnson F, Dorman K, et al.: Follow-up of children exposed in utero to 17 alpha-hydroxyprogesteronecaproate compared with placebo. *ObstetGynecol* 2007,110(4):865–872.
16. Sadler, T.W. (1990). *Langman’s Medikal Embriyoloji (C. Başaklar, Çev.)*. Ankara: Palme Yayıncılık (1993).
17. Madazlı, R. (2008). *Plasenta*. İstanbul: Nobel Tıp Kitapevleri.
18. *Bradley’s neurology in clinical practice*.(2012)—6th ed. / [edited by] Robert B. Daroff [et al.]. p. 1412-1430.
19. Moore, K. L., Persaud, T.V.N. (1998). *The developing human: clinically oriented embryology*. Philadelphia: Saunders.
20. Moore, K. L., Persaud, T.V.N. (2009). *Embriyoloji ve Doğum Defetlerinin Temelleri (7. Baskı)*. (S. Müftüoğlu, P. Atilla, F. Kaymaz, Çev.). İstanbul: Güneş Kitabevi.
21. Moore, K. L., Persaud T.V.N (2000). *Color Atlas of Clinical Embryology*. Philadelphia: Saunders.
22. Carlson, B.M. (2009). *Human Embryology and Developmental Biology (4th ed.)*. Philadelphia: Churchill Livingtone.
23. Kendler A1, Golden JA. Progenitor cell proliferation outside the ventricular and subventricular zones during human brain development. *J Neuropathol Exp Neurol.* 1996 Dec;55(12):1253-8.
24. Schuldiner M, Eiges R, Eden A, Yanuka O, Itskovitz-Eldor J, Goldstein RS, Benvenisty N. Induced neuronal differentiation of human embryonic stem cells. *Brain Res.* 2001 Sep 21;913(2):201-5.
25. Moore, L. K., Persaud T. (2008) *Human Embryology (8. Baskı) Nobel Tıp Kitapevleri*.
26. Sarnat HB, Flores-Sarnat L, Trevenen CL. Synaptophysin immunoreactivity in the human hippocampus and neocortex from 6 to 41

- weeks of gestation. *J Neuropathol Exp Neurol.* 2010 Mar;69(3):234-45.
27. Dupuy-Davies S1, Houser CR. Evidence for changing positions of GABA neurons in the developing rat dentate gyrus. *Hippocampus.* 1999;9(2):186-99.
 28. Rho JM, Storey TW. Molecular ontogeny of major neurotransmitter receptor systems in the mammalian central nervous system: norepinephrine, dopamine, serotonin, acetylcholine, and glycine. *J Child Neurol.* 2001 Apr;16(4):271-280.
 29. Benes FM et al. Myelination of a key relay zone in the hippocampal formation occurs in the human brain during childhood, adolescence, and adulthood. *Arch Gen Psychiatry* 1994; 51: 477-84.
 30. Togo W, Thompson PM, Sowel ER. Mapping brain maturation. *Trends in Neurosciences* 2006; 29: 148-59.
 31. Bleyl, S.B., Braver, P.R., Francs West, P.H. (2009). *Lanser's Human Embryology* (4 th ed.). Philadelphia: Churchill Livingtone.
 32. Kim MS1, Jeanty P, Turner C, Benoit B.J. Three-dimensional sonographic evaluations of embryonic brain development. *Ultrasound Med.* 2008 Jan;27(1):119-24.
 33. Blakemore SJ. Imaging brain development: the adolescent brain. *Neuroimage.* 2012 Jun;61(2):397-406. doi: 10.1016/j.neuroimage.2011.11.080. Epub 2011 Dec 8. Imaging brain development: the adolescent brain.
 34. Tıpta Hayvan Çalışmaları ve Etik: Erişim 26 Şubat 2012 <http://thefuar.com/icerik.asp?id=398&Uid=2>.
 35. Cantürk, N. Z., Sayek, İ. (2005). *Cerrahi Araştırma.* İstanbul; Nobel Tıp Kitabevleri.
 36. Bayramiçli, M. (2005). *DeneySEL Mikrocerrahi* (1. bs.). İstanbul: Argos.
 37. Dahlman-Wright K, Cavailles V, Fuqua SA, Jordan VC, Katzenellenbogen JA, Korach KS, Maggi A, Muramatsu M, Parker MG, Gustafsson JA (2006). "International Union of Pharmacology. LXIV. Estrogen receptors". *Pharmacol. Rev.* 58 (4): 773–81.
 38. Levin ER (2005). "Integration of the extranuclear and nuclear actions of

- estrogen". *Mol. Endocrinol.* 19 (8): 1951–9.
39. Hess RA (2003). "Estrogen in the adult male reproductive tract: A review". *Reproductive Biology and Endocrinology* 1 (52): 52.
 40. Babiker FA, De Windt LJ, van Eickels M, Grohe C, Meyer R, Doevendans PA (2002). "Estrogenic hormone action in the heart: regulatory network and function". *Cardiovascular Research* 53 (3): 709–19.
 41. Shughrue, P.J., Komm, B., Merchenthaler, I., 1996. The distribution of estrogen receptor-beta mRNA in the rat hypothalamus. *Steroids* 61, 678–681.
 42. Santagati, S., Melcangi, R.C., Celotti, F., Martini, L., Maggi, A., 1994. Estrogen receptor is expressed in different types of glial cells in culture. *J. Neurochem.* 63, 2058–2064.
 43. Nilsen J, Brinton RD. Impact of progestins on estrogen-induced neuroprotection: synergy by progesterone and 19-norprogesterone and antagonism by medroxyprogesterone acetate. *Endocrinology* 2002;143:205–12.
 44. Shors, T.J., Leuner, B., 2003. Estrogen-mediated effects on depression and memory formation in females. *J. Affect. Disord.* 74, 85–96.
 45. Varghese, F.P., Brown, E.S., 2001. The hypothalamic–pituitary–adrenal axis in major depressive disorder: a brief primer for primary care physicians. *Prim. Care Companion J. Clin. Psychiat.* 3, 151–155.
 46. Kornstein, S.G., 1997. Gender differences in depression: implications for treatment. *J. Clin. Psychiatry* 58 (Suppl. 15), 12–18.
 47. Bean L a, lanov L, Foster TC. Estrogen receptors, the hippocampus, and memory. *Neuroscientist* [Internet]. 2014;20(5):534–45. Available from: <http://nro.sagepub.com/content/20/5/534.abstract>
 48. Baulieu EE, Schumacher M, Koenig H, Jung-Testas I, Akwa Y. Progesterone as a neurosteroid: actions within the nervous system. *Cell Mol Neurobiol* 1996;16:143–154.
 49. Carroll JC, Rosario ER, Chang L, Stanczyk FZ, Oddo S, LaFerla FM, Pike CJ. Progesterone and estrogen regulate Alzheimer-like neuropathology in female 3xTg-AD mice. *J Neurosci* 2007;27:13357–65.

50. Giachino C, Galbiati M, Fasolo A, Peretto P, Melcangi R. Neurogenesis in the subependymal layer of the adult rat: a role for neuroactive derivatives of progesterone. *Ann N Y Acad Sci* 2003;1007:335–9.
51. Callier S, Morissette M, Grandbois M, Pelaprat D, Di Paolo T. Neuroprotective properties of 17betaestradiol, progesterone, and raloxifene in MPTP C57Bl/6 mice.
52. Gonzalez Deniselle MC, Lopez Costa JJ, Gonzales SL, Labombada F, Garay L. Basis of progesterone protection in spinal cord neurodegeneration. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology* 2002;83:199–209.
53. Gonzalez Deniselle MC, Garay L, Lopez-Costa JJ, Gonzalez S, Mougel A, Guennoun R, Schumacher M, De Nicola AF. Progesterone treatment reduces NADPH-diaphorase/nitric oxide synthase in Wobbler mouse motoneuron disease. *Brain Res* 2004;1014:71–9.
54. Baulieu E, Schumacher M. Progesterone as a neuroactive neurosteroid, with special reference to the effect of progesterone on myelination. *Steroids* 2000;65:605–12.
55. Auger CJ, De Vries GJ. Progesterin receptor immunoreactivity within steroid-responsive vasopressin-immunoreactive cells in the male and female rat brain. *J Neuroendocrinol* 2002;14:561–567.
56. Guerra-Araiza C, Coyoy-Salgado A, Camacho-Arroyo I. Sex differences in the regulation of progesterone receptor isoforms expression in the rat brain. *Brain Res Bull* 2002;59:105–9.
57. Kato J, Hirata S, Nozawa A, Yamada-Mouri N. Gene expression of progesterone receptor isoforms in the rat brain. *Horm Behav* 1994;28:454–63.
58. Magnaghi V, Ballabio M, Roglio I, Melcangi RC. Progesterone derivatives increase expression of Krox-20 and Sox-10 in rat Schwann cells. *J Mol Neurosci* 2007;31:149–57.
59. Nilsen J, Irwin RW, Gallaher TK, Brinton RD. Estradiol in vivo regulation of brain mitochondrial proteome. *J Neurosci* 2007;27:14069–77.
60. Nilsen, J.; Irwin, RW.; Masri, R.; Brinton, RD. Hormone therapy enhances

- functional efficiency of brain mitochondria. Endocrine Society Annual Meeting; Boston, MA. 2006.
61. Irwin RW, Yao J, Hamilton R, Cadenas E, Brinton RD, Nilsen J. Progesterone and estradiol regulate oxidative metabolism in brain mitochondria. *Endocrinology*. 2008.
 62. Sakamoto Y, Kitamura K, Yoshimura K, Nishijima T, Uyemura K (March 1987). "Complete amino acid sequence of PO protein in bovine peripheral nerve myelin". *J. Biol. Chem.* 262 (9): 4208–14.
 63. Deber CM, Reynolds SJ (April 1991). "Central nervous system myelin: structure, function, and pathology". *Clin. Biochem.* 24 (2): 113–34.
 64. Eylar EH, Brostoff S, Hashim G, Caccam J, Burnett P (September 1971). "Basic A1 protein of the myelin membrane. The complete amino acid sequence". *J. Biol. Chem.* 246 (18): 5770–84.
 65. Saxe DF, Takahashi N, Hood L, Simon MI (1985). "Localization of the human myelin basic protein gene (MBP) to region 18q22----qter by in situ hybridization". *Cytogenet. Cell Genet.* 39 (4): 246–9.
 66. Hoek KS, Schlegel NC, Eichhoff OM, Widmer DS, Praetorius C, Einarsson SO, Valgeirsdottir S, Bergsteinsdottir K, Schepsky A, Dummer R, Steingrímsson E (December 2008). "Novel MITF targets identified using a two-step DNA microarray strategy". *Pigment Cell M.*
 67. Campagnoni, A.T., B. Sorg, H.J. Roth, K. Kronquist, S.L. Newman, K. Kitamura, C. Campagnoni, and B. Crandall(1987) Expression of myelin protein genes in the developing brain. *J. Physiol. (Lond.)* 82:229-238.
 68. Macklin, W.B., E. Oherfield, and M.B. Lees (1983-84) Electroblot analysis of rat myelin proteolipid protein and basic protein during development. *Dev. Neurosci.* 6:161-168.
 69. Choi, B.H. (1986) Myelin-forming oligodendrocytes of developing mouse spinal cord: immunocytochemical and ultrastructural studies. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 45:513-24.
 70. Ghooray, G.T., and G.F. Martin (1993) The development of myelin in the spinal cord of the North American opossum and its possible role in the loss of rhrospinal plasticity. A study using myelin basic protein and

- galactocerebroside immunohistochemistry. B.
71. Gillespie, C.S., B.D. Trapp, D.R. Colman, and P.J. Brophy (1990) Distribution of myelin basic protein and P2 mRNAs in rabbit spinal cord oligodendrocytes. *J. Neurochem.* 54: 1556-15561.
 72. Macklin, W.B., and C.L. Weill (1985) Appearance of myelin proteins during development in the chick central nervous system. *Dev. Neurosci.* 7:170- 178.
 73. Cammeron, R.S., and P. Rakic (1991) Glial cell lineage in the cerebral cortex: a review and synthesis. *Glia* 4:124-137.
 74. Dautigny A, Popot JL, Pham Dinh D (1991). "Major Myelin proteolipid: the 4-alpha-helix topology". *J. Membr. Biol.* 120 (3): 233–246.
 75. Kitamura K, Sakamoto Y, Yoshimura K, Nishijima T, Uyemura K (1987). "Complete amino acid sequence of PO protein in bovine peripheral nerve myelin". *J. Biol. Chem.* 262 (9): 4208–4214.
 76. Stoffel W, Schliess F (1991). "Evolution of the myelin integral membrane proteins of the central nervous system". *Biol. Chem. Hoppe-Seyler* 372 (9): 865–874.
 77. Yan Y, Lagenaur C, Narayanan V (1993). "Molecular cloning of M6: identification of a PLP/DM20 gene family". *Neuron* 11 (3): 423–431.
 78. OLIG2 as a specific marker of oligodendroglial tumour cells. Marie Y, Sanson M, Mokhtari K, Leuraud P, Kujas M, Delattre JY, Poirier J, Zalc B, Hoang-Xuan K *Lancet.* 2001 ; 358 (9278) : 298-300.
 79. Gaber ZB, Novitsch BG (Mar 2011). "All the embryo's a stage, and Olig2 in its time plays many parts". *Neuron* 69 (5): 833–5.
 80. Setoguchi T, Kondo T (Sep 2004). "Nuclear export of OLIG2 in neural stem cells is essential for ciliary neurotrophic factor-induced astrocyte differentiation". *The Journal of Cell Biology* 166 (7): 963–8.
 81. Sun Y, Meijer DH, Alberta JA, Mehta S, Kane MF, Tien AC, Fu H, Petryniak MA, Potter GB, Liu Z, Powers JF, Runquist IS, Rowitch DH, Stiles CD (Mar 2011). "Phosphorylation state of Olig2 regulates proliferation of neural progenitors". *Neuron* 69 (5): 906–17.
 82. Li H, de Faria JP, Andrew P, Nitarska J, Richardson WD (Mar 2011).

- “Phosphorylation regulates OLIG2 cofactor choice and the motor neuron-oligodendrocyte fate switch”. *Neuron* 69 (5): 918–29.
83. Huillard E, Ziercher L, Blond O, Wong M, Deloulme JC, Souchelnytskyi S, Baudier J, Cochet C, Buchou T (Jun 2010). “Disruption of CK2beta in embryonic neural stem cells compromises proliferation and oligodendrogenesis in the mouse telencephalon”. *Mol Cell Biol.* 2010 Jun;30(11):2737-49
 84. Hannink M, Donoghue DJ (1989). “Structure and function of platelet-derived growth factor (PDGF) and related proteins”. *Biochim. Biophys. Acta* 989 (1): 1–10.
 85. Heldin CH (1992). “Structural and functional studies on platelet-derived growth factor”. *EMBO J.* 11 (12): 4251–4259.
 86. Kumar, Vinay (2010). *Robbins and Coltran Pathologic Basis of Disease*. China: Elsevier. pp. 88–89.
 87. Matsui T, Heidaran M, Miki T, Popescu N, La Rochelle W, Kraus M, Pierce J, Aaronson S (1989). “Isolation of a novel receptor cDNA establishes the existence of two PDGF receptor genes”. *Science* 243 (4892): 800–4.
 88. Heidaran MA, Pierce JH, Yu JC, Lombardi D, Artrip JE, Fleming TP, Thomason A, Aaronson SA (25 October 1991).
 89. Blazevic T, Schwaiberger AV, Schreiner CE, Schachner D, Schaible AM, Grojer CS, Atanasov AG, Werz O, Dirsch VM, Heiss EH (December 2013).
 90. Yu JC, Li W, Wang LM, Uren A, Pierce JH, Heidaran MA (1995). “Differential requirement of a motif within the carboxyl-terminal domain of alpha-platelet-derived growth factor (alpha PDGF) receptor for PDGF focus forming activity chemotaxis, or growth”. *J. .*
 91. Hoch RV, Soriano P (2003). “Roles of PDGF in animal development”. *Development* 130 (20): 4769–4784.
 92. Maglione D, Guerriero V, Viglietto G, Ferraro MG, Aprelikova O, Alitalo K, Del Vecchio S, Lei KJ, Chou JY, Persico MG (1993). “Two alternative mRNAs coding for the angiogenic factor, placenta growth factor (PIGF),

- are transcribed from a single gene of chromosome 14. *Oncogene*. 1993 Apr;8(4):925-31.
93. Barres BA, Hart IK, Coles HS, Burne JF, Voyvodic JT, Richardson WD, Raff MC (1992). "Cell Death and Control of Cell Survival in the Oligodendrocyte Lineage". *Cell* 70 (1): 31–46.
 94. McKinnon RD, Matsui T, Dubois-Dalcq M, Aaronson SA (November 1990). "FGF modulates the PDGF-driven pathway of oligodendrocyte development". *Neuron* 5 (5): 603–14.
 95. Tekoa L. King; Mary C. Brucker (25 October 2010). *Pharmacology for Women's Health*. Jones & Bartlett Publishers. pp. 372–373.
 96. Baulieu E, Schumacher M (2000). "Progesterone as a neuroactive neurosteroid, with special reference to the effect of progesterone on myelination". *Steroids* 65 (10-11): 605–12.
 97. Thomas P, Pang Y (2012). "Membrane progesterone receptors: evidence for neuroprotective, neurosteroid signaling and neuroendocrine functions in neuronal cells". *Neuroendocrinology* 96 (2): 162–71.
 98. Rupprecht R, Reul JM, van Steensel B, Spengler D, Söder M, Berning B, Holsboer F, Damm K (1993). "Pharmacological and functional characterization of human mineralocorticoid and glucocorticoid receptor ligands". *Eur J Pharmacol* 247 (2): 145–54.
 99. Attardi BJ, Zeleznik A, Simhan H, Chiao JP, Mattison DR, Caritis SN (2007). "Comparison of progesterone and glucocorticoid receptor binding and stimulation of gene expression by progesterone, 17-alpha hydroxyprogesterone caproate, and related progestins".
 100. Paul SM, Purdy RH (1992). "Neuroactive steroids". *FASEB J*. 6 (6):
 101. Harper CV, Barratt CL, Publicover SJ (October 2004). "Stimulation of human spermatozoa with progesterone gradients to simulate approach to the oocyte. Induction of [Ca(2+)](i) oscillations and cyclical transitions in flagellar beating". *J Biol Chem*. 2004 Oct 29;279(44):46315-25
 102. Patel, B.; Elguero, S.; Thakore, S.; Dahoud, W.; Bedaiwy, M.; Mesiano, S. (2014). "Role of nuclear progesterone receptor isoforms in uterine pathophysiology". *Human Reproduction Update* 21 (2): 155–173.

103. Pointis G, Latreille MT, Richard MO, D'Athis P, Cedard L. Effect of maternal progesterone exposure on fetal testosterone in mice. *Biol Neonate*. 1984;45(4):203-8.
104. Fleischman DS1, Fessler DM, Cholakians AE. Testing the Affiliation Hypothesis of Homoerotic Motivation in Humans: The Effects of Progesterone and Priming. *Arch Sex Behav*. 2015 Jul;44(5):1395-404. doi: 10.1007/s10508-014-0436-6. Epub 2014 Nov 25.
105. Regulation of progesterone receptor A and B expression in human preterm, term, and postterm placental villi. Ziyang J, Huaibin R, Xiaotian M, Guangtong S, Xiaoqing C, Zijiang D, Ziyue J, We D, Lizhou S. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 2010 May;89(5):705-11.
106. Progesterone to prevent spontaneous preterm birth. Romero R, Yeo L, Chaemsaitong P, Chaiworapongsa T, Hassan SS. *Semin Fetal Neonatal Med*. 2014 Feb;19(1):15-26.
107. Prevention of preterm birth in triplets using 17 alpha-hydroxyprogesterone caproate: a randomized controlled trial. Caritis SN, Rouse DJ, Peaceman AM, Sciscione A, Momirova V, Spong CY, Iams JD, Wapner RJ, Varner M, Carpenter M, Lo J, Thorp J, Mercer BM, .
108. Meis PJ, Klebanoff M, Thom E, Dombrowski MP, Sibai B, Moawad AH, Spong CY, Hauth JC, Miodovnik M, Varner MW, Leveno KJ, Caritis SN, Iams JD, Wapner RJ, Conway D, O'Sullivan MJ, Carpenter M, Mercer B, Ramin SM, Thorp JM, Peaceman AM, Gabbe S Prevention of .
109. O'Brien JM, Adair CD, Lewis DF, Hall DR, Defranco EA, Fusey S, Somapillay P, Porter K, How H, Schackis R, Eller D, Trivedi Y, Vanburen G, Khandelwal M, Trofatter K, Vidyadhari D, Vijayaraghavan J, Weeks J, Dattel B, Newton E, Chazotte C, Valenzuela G, Ca.
110. Romero R, Stanczyk FZ. Progesterone is not the same as 17 α -hydroxyprogesterone caproate: implications for obstetrical practice. *Am J Obstet Gynecol*. 2013 Jun;208(6):421-6.
111. Singh M. Ovarian hormones elicit phosphorylation of Akt and extracellular-signal regulated kinase in explants of the cerebral cortex. *Endocrine* 2001;14:407-15.

112. Simpkins JW, Dykens JA. Mitochondrial mechanisms of estrogen neuroprotection. *Brain Res Rev.* 2007.
113. Robertson CL, Puskar A, Hoffman GE, Murphy AZ, Saraswati M, Fiskum G. Physiologic progesterone reduces mitochondrial dysfunction and hippocampal cell loss after traumatic brain injury in female rats. *Exp Neurol* 2006;197:235–43.
114. Gibson CL, Constantin D, Prior MJ, Bath PM, Murphy SP. Progesterone suppresses the inflammatory response and nitric oxide synthase-2 expression following cerebral ischemia. *Exp Neurol* 2005;193:522–530.
115. Grossman KJ, Goss CW, Stein DG. Effects of progesterone on the inflammatory response to brain injury in the rat. *Brain Res* 2004;1008:29–39.
116. Azcoitia I, Leonelli E, Magnaghi V, Veiga S, Garcia-Segura LM, Melcangi RC. Progesterone and its derivatives dihydroprogesterone and tetrahydroprogesterone reduce myelin fiber morphological abnormalities and myelin fiber loss in the sciatic nerve of aged .
117. Johansson IM, Birzniece V, Lindblad C, Olsson T, Backstrom T. Allopregnanolone inhibits learning in the Morris water maze. *Brain Research* 2002;934:125–131.
118. Silvers JM, Tokunaga S, Berry RB, White AM, Matthews DB. Impairments in spatial learning and memory: ethanol, allopregnanolone, and the hippocampus. *Brain Res Brain Res Rev* 2003;43:275– 84.
119. Turkmen S, Lofgren M, Birzniece V, Backstrom T, Johansson IM. Tolerance development to Morris water maze test impairments induced by acute allopregnanolone. *Neuroscience* 2006;139:651–9.
120. Gould E, Woolley CS, Frankfurt M, McEwen BS. Gonadal steroids regulate dendritic spine density in hippocampal pyramidal cells in adulthood. *J Neurosci* 1990;10:1286–91.
121. Garcia-Estrada J, Luquin S, Fernandez AM, Garcia-Segura LM. Dehydroepiandrosterone, pregnenolone and sex steroids down-regulate reactive astroglia in the male rat brain after a penetrating brain injury. *Int J Dev Neurosci* 1999;17:145–51.

122. Martini L, Magnaghi V, Melcangi RC. Actions of progesterone and its 5alpha-reduced metabolites on the major proteins of the myelin of the peripheral nervous system. *Steroids* 2003;68:825–9.
123. Tolcos M, Bateman E, O'Dowd R, et al. Intrauterine growth restriction affects the maturation of myelin. *Exp Neurol*. 2011; 232, 53–65.
124. S. S. HASSAN, R. ROMERO, D. VIDYADHARI, Vaginal progesterone reduces the rate of preterm birth in women with a sonographic short cervix: a multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled trial, *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2011 Jul; 38(1): 18–31.
125. Wahabi HA, Fayed AA, Esmaeil SA, Al Zeidan RA. Progesterone for treating threatened miscarriage. *Cochrane Database Syst Rev*. 2011 Dec 7;(12):CD005943.
126. Errol R Norwitz, , Louis E. Progesterone Supplementation and the Prevention of Preterm Birth, *Rev Obstet Gynecol*. 2011 Summer; 4(2): 60–72.
127. Christine K. Wagner, Progesterone Receptors and Neural Development: A Gap between Bench and Bedside? *Endocrinology*. 2008 June; 149(6): 2743–2749.
128. Schumacher M1, Guennoun R, Stein DG, De Nicola AF. Progesterone: therapeutic opportunities for neuroprotection and myelin repair. *Pharmacol Ther*. 2007 Oct;116(1):77-106.
129. Effects of progesterone on oligodendrocyte progenitors, oligodendrocyte transcription factors, and myelin proteins following spinal cord injury. Labombarda F, González SL, Lima A, Roig P, Guennoun R, Schumacher M, de Nicola AF. *Glia*. 2009 Jun;57(8):884-97.
130. Progesterone receptor function from a behavioral perspective. Mani SK, Blaustein JD, O'Malley BW. *Horm Behav*. 1997 Jun;31(3):244-55.
131. Progesterone and allopregnanolone in the central nervous system: response to injury and implication for neuroprotection. Guennoun R, Labombarda F, Gonzalez Deniselle MC, Liere P, De Nicola AF, Schumacher M. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2015 Feb;146:48-61.
132. Neurosteroids: endogenous bimodal modulators of the GABAA receptor.

- Mechanism of action and physiological significance. *Majewska MD. Prog Neurobiol.* 1992;38(4):379-95.
133. Jung-Testas I1, Schumacher M, Robel P, Baulieu EE., Actions of steroid hormones- and growth factors on glial cells of the central and peripheral nervous system. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 1994 Jan;48(1):145-54.
134. Steroids and the reversal of age-associated changes in myelination and remyelination. Ibanez C, Shields SA, El-Etr M, Leonelli E, Magnaghi V, Li WW, Sim FJ, Baulieu EE, Melcangi RC, Schumacher M, Franklin RJ. *Prog Neurobiol.* 2003 Sep;71(1):49-56.
135. A. M. Ghomari, I. Dusart, M. El-Etr, F. Tronche, C. Sotelo, M. Schumacher, E.-E. Baulieu. Mifepristone (RU486) protects Purkinje cells from cell death in organotypic slice cultures of postnatal rat and mouse cerebellum. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2003 Jun 24;100(13):7953-8
136. Schumacher M, Mattern C, Ghomari a., Oudinet JP, Liere P, Labombarda F, et al. Revisiting the roles of progesterone and allopregnanolone in the nervous system: Resurgence of the progesterone receptors. *Prog Neurobiol [Internet]. Elsevier Ltd; 2014;113:6–39.*
Available from:
<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S030100821300097X>
137. Transcriptional control of oligodendrogenesis. Nicolay DJ, Doucette JR, Nazarali AJ. *Glia.* 2007 Oct;55(13):1287-99.
138. Ghomari AM1, Baulieu EE, Schumacher M. Progesterone increases oligodendroglial cell proliferation in rat cerebellar slice cultures. *Neuroscience.* 2005;135(1):47-58.
139. Schober ME1, McKnight RA, Yu X, Callaway CW, Ke X, Lane RH. Intrauterine growth restriction due to uteroplacental insufficiency decreased white matter and altered NMDAR subunit composition in juvenile rat hippocampi. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.*
140. Piorkowska K, Thompson J, Nygard K, Matuszewski B, Hammond R, Richardson B. Synaptic development and neuronal myelination are altered with growth restriction in fetal guinea pigs. *Dev Neurosci.* 2014;36(6):465-76.

141. Fields RD: White matter in learning, cognition and psychiatric disorders. *Trends Neurosci* 2008;31;361-370.
142. Wright DW, Kellermann AL, Hertzberg VS, Clark PL, Frankel M, Goldstein FC, Salomone JP, Dent LL, Harris OA, Ander DS, Lowery DW, Patel MM, Denson DD, Gordon AB, Wald MM, Gupta S, Hoffman SW, Stein DG. Very early administration of progesterone for acute traumatic brain injury. *N Engl J Med*. 2014 Dec 25;371(26):2457-66.
143. Progesterone for acute traumatic brain injury. Ma J, Huang S, Qin S, You C. *Cochrane Database Syst Rev*. 2012.
144. De Nicola AF, Labombarda F, Gonzalez Deniselle MC, Gonzalez SL, Garay L, Meyer M, Gargiulo G, Guennoun R, Schumacher M. Progesterone neuroprotection in traumatic CNS injury and motoneuron degeneration. *Front Neuroendocrinol*. 2009 Jul;30(2):173-87.
145. Christine K. Wagner, Progesterone Receptors and Neural Development: A Gap between Bench and Bedside? Christine K. Wagner *Endocrinology*. 2008 June; 149(6): 2743–2749.
146. Guo Q, Sayeed I, Baronne LM, Hoffman SW, Guennoun R, Stein DG. Progesterone administration modulates AQP4 expression and edema after traumatic brain injury in male rats. *Exp Neurol*. 2006 Apr;198(2):469-78.
147. Jiang N, Chopp M, Stein D, Feit H. Progesterone is neuroprotective after transient middle cerebral artery occlusion in male rats. *Brain Res*. 1996 Sep 30;735(1):101-7.
148. Robertson CL, Saraswati M. Progesterone protects mitochondrial function in a rat model of pediatric traumatic brain injury. *J Bioenerg Biomembr*. 2015 Apr;47(1-2):43-51.
149. Geddes RI, Sribnick EA, Sayeed I, Stein DG. Progesterone treatment shows benefit in a pediatric model of moderate to severe bilateral brain injury. *PLoS One*. 2014 Jan 28;9(1):e87252.
150. Hutchins JB, Jefferson VE. Developmental distribution of platelet-derived growth factor in the mouse central nervous system. *Brain Res Dev Brain Res*. 1992 Jun 19;67(2):121-35.

151. Cheng B, Mattson MP. PDGFs protect hippocampal neurons against energy deprivation and oxidative injury: evidence for induction of antioxidant pathways. *J Neurosci.* 1995 Nov;15(11):7095-104.
152. Kuhn HG, Dickinson-Anson H, Gage FH. Neurogenesis in the dentate gyrus of the adult rat: age-related decrease of neuronal progenitor proliferation. *J Neurosci.* 1996 Mar 15;16(6):2027-33.
153. Abundance of platelet-derived growth factors (PDGFs), PDGF receptors and activation of mitogen-activated protein kinases in brain decline with age. Hu Y, Schett G, Zou Y, Dietrich H, Xu Q. *Brain Res Mol Brain Res.* 1998 Jan;53(1-2):252-9.
154. F. Besnard, F. Perraud, M. Sensenbrenner, G. Labourdett Platelet-derived growth factor is a mitogen for glial but not for neuronal rat brain cells in vitro *Neuroscience Letters* Volume 73, Issue 3, 27 January 1987, Pages 287–292.
155. Auger AP, Tetel MJ, McCarthy MM. Steroid receptor coactivator-1 (SRC-1) mediates the development of sex-specific brain morphology and behavior. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2000 Jun 20;97(13):7551-5.
156. Kimura D. Sex differences in the brain. *Sci Am.* 1992 Sep;267(3):118-25.
157. E.F. Rissman, S.R. Wersinger, H.N. Fugger, T.C. Foster Sex with knockout models: behavioral studies of estrogen receptor alpha *Brain Res.*, 835 (1999), pp. 80–90.
158. C.E. Roselli, K. Chambers Sex differences in male-typical behaviors in response to androgen and estrogen treatments in rats *Neuroendocrinology*, 69 (1999), pp. 290–298.
159. J. Bakker, J.S.I. Honda, N. Harada, J. Balthazart Sexual partner preference requires aromatase (Cyp19) gene in male mice *Horm. Behav.*, 42 (2002), pp. 158–171.
160. J.R. Williams, T.R. Insel, C.R. Harbaugh, C.S. Carter Oxytocin administered centrally facilitates formation of a partner preference in female prairie voles (*Microtus ochrogaster*) *J. Neuroendocrinol.*, 6 (1994), pp. 247–250.
161. Damian G. Zuloaga, Stephanie L. Yahn, Yefei Pang, Alicia M. Quihuis,

- Mario G. Oyola, Andrea Reyna, Peter Thomas, Robert J. Handa, Shailaja K. Mani, Distribution and Estrogen Regulation of Membrane Progesterone Receptor- β in the Female Rat Brain. *Endocrinology*. 2012 Sep;153(9):4432-43
162. Donald P. McDonnell, Suzanne E. Wardell, The molecular mechanisms underlying the pharmacological actions of ER modulators: Implications for new drug discovery in breast cancer *Curr Opin Pharmacol*. Author manuscript; available in PMC 2011 December 1. Publi.
163. Ohlsson C, Hellberg N, Parini P, Vidal O, Bohlooly-Y M, Rudling M, Lindberg MK, Warner M, Angelin B, Gustafsson JA. Obesity and disturbed lipoprotein profile in estrogen receptor-alpha-deficient male mice. *Biochem Biophys Res Commun*. 2000 Nov 30;278(3):64.
164. Tau, G. Z.; Peterson, B. S. (2010). "Normal Development of Brain Circuits". *Neuropsychopharmacology* 35 (1): 147–168. doi:10.1038/npp.2009.115.
165. Phylogenetic Expansion of Cortical Surface Area: Erişim; 16 Ocak 2012 <http://psyc254.uconn.edu/meds5377/cortexstudents.html>.