

44270

T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
PATOLOJİ ANABİLİM DALI
Prof. Dr. Emek ÖZEN

DİŞİ FETÜS ve İNFANTLARDA
ÖSTROJEN ve PROGESTERON
RESEPTÖR AKTİVİTESİNİN
ARAŞTIRILMASI

(47 OLGU)

(UZMANLIK TEZİ)

Dr. Erdener ÖZER

İZMİR - 1995

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ.....	1
GİRİŞ	2
GEREÇ VE YÖNTEM.....	5
BULGULAR.....	7
TARTIŞMA.....	22
SONUÇLAR.....	31
ÖZET.....	32
KAYNAKLAR.....	33

ÖNSÖZ

Bu çalışma, TÜBİTAK tarafından tahsis edilen NATO Bursu desteğiyle; “Edinburgh, Royal Hospital for Sick Children, Pediatrik Patoloji ve Sitogenik Departmanı” ’nda gerçekleştirilmiştir.

Çalışma sırasında 47 postmortem inceleme yapılmış ve 503 adet parafin kesite immunohistokimyasal teknik uygulanmıştır.Çalışma ile ilgili istatistiksel analiz, Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Bilgisayar Bölümünde gerçekleştirilmiştir.

Çalışmadaki amaç; östrojen ve progesteron reseptörlerinin insan fetüs ve infantlarına ait dokulardaki aktivitelerinin araştırılması ve bu aktivitenin perinatal ve fetal döneme ait bazı klinikopatolojik parametrelerle olan olası ilişkisinin incelenmesi ve bunların sonucunda östrojen ve progesteron hormonlarının bu dönemdeki fizyolojik öneminin belirlenmesidir.

Bu çalışmayı gerçekleştirebilmem için olanak sağlayan Anabilim Dalı Başkanı’mız Sayın Prof. Dr. Emek Özen’e, tez danışmanım Sayın Prof. Dr. Uğur Pabuçcuoğlu’na, D.E.Ü.T.F. Patoloji Anabilim Dalı’nda yetişmemde emeği olan Sayın Prof. Dr. Tülay Canda, Prof. Dr. M. Şerefettin Canda, Prof. Dr. A. Ali Küpelioglu, Doç. Dr. H. Aydanur Kargı, Yrd. Doç. Dr. Kutsal Yörükoğlu, Yrd. Doç. Dr. Meral Koyuncuoğlu ve tüm öğretim görevlilerine, ayrıca Edinburgh RHSC Pediatrik Patoloji Departmanından Sayın J W Keeling’e teşekkür eder, şükranlarımı sunarım.

Dr. Erdener ÖZER

GİRİŞ

Reseptör; tanım olarak, bir hormona spesifik noktalarda bağlanarak, hormon-reseptör kompleksi oluşturan ve böylece hormonun bilinen fizyolojik etkilerinden sorumlu hücre içi olayları düzenleyen, intraselüler ya da membran proteini niteliğindeki molekül ya da moleküller grubudur.

Östrojen ve progesteron reseptörleri; intraselüler proteinler olup, bir konsantrasyon gradyentine bağlı olarak, dolaşımdan hücre içine alınan hormon molekülüne selektif bağlanarak, hormon reseptör kompleksi oluştururlar. Aktive olan hormon-reseptör kompleksi, spesifik olarak, nükleus içindeki, hormon yanıt elementleri olarak isimlendirilen kısa DNA sekanslarına bağlanarak, fizyolojik hormon aktivitesini sağlayan transkripsiyon olayını gerçekleştirirler (1,2).

Reseptör molekülü, ilk kez bu yüzyılın başında Langley ve Ehrlich tarafından ilaçlar için tanımlanmıştır. Hormonlar için reseptörlerin tanımlanması ise, 1960'lı yıllara rastlamaktadır. Bu dönemde ilk kez Jensen ve arkadaşları, bazı hayvan dokularında otoradyografi tekniğini kullanarak östrojen reseptörlerini göstermişlerdir (3). Progesteron reseptörleri ise ilk kez, 1970 yılında aynı teknik ve benzer dokuların kullanıldığı Sherman ve arkadaşlarının çalışmaları gösterilmiştir (4).

Östrojen ve progesteron reseptörlerinin dokularda varlığını belirlemek için, histokimyasal ve biokimyasal yöntemlerden yararlanılmaktadır. Histokimyasal yöntem içerisinde dekstran kaplı kömür preparatları yanısıra, otoradyografi ve immunohistokimya kullanılmaktadır. Bunlar dışında bu konuda; doku homojenizasyonu, subselüler fraksinasyon ve selüler enükleasyon gibi tekniklerin yer aldığı çalışmalar vardır (5,6). Ancak bu yöntem ve teknikler arasında, immunohistokimyasal yöntemin selektivite ve topografik üstünlüğü vardır (7).

Otoradyografi, trityum işaretli sentetik östrojen ve progesteron preparatlarının, hedef dokularda analitiksel olarak gösterilmesi prensibine dayalı histokimyasal bir yöntemdir. Bu yöntem, dekstran kaplı kömür preparatları ile

birlikte östrojen ve progesteron reseptörlerinin selektif olarak gösterilmesinde, öncü pek çok çalışmada kullanılmıştır (8,9,10). Ancak günümüzde her iki yöntem de reseptör işlev mekanizmasının ve diğer bazı temel özelliklerin ortaya konmasında, daha dinamik bir yöntem olan immunohistokimyanın gerisinde kalmıştır (11).

Östrojen ve progesteron reseptörlerinin, immunohistokimyasal yöntemlerle gösterildiği ilk çalışmalar bazı hayvan dokularıdır (12,13). Bu çalışmalarını takiben; östrojen reseptörü ilk kez insanlarda, meme tümörü olgularında ve uterus dokularında gösterilmiştir (14, 15). Progesteron reseptörünün insan dokularında gösterilmesi ise, daha sonraki yıllarda mümkün olabilmıştır (10). Bu progesteron reseptör çalışmaları da, meme tümörü ya da kadın genital traktüs dokularını içermektedir.

Östrojen ve progesteron reseptörleri; insan dokularında önceleri sadece frozen doku kesitlerinde gösterilmiştir. Ancak daha sonraki yıllarda, parafin doku kesitlerinde de bu hormon reseptörlerin gösterilebilmesi mümkün olmuştur (16, 17). İmmunohistokimyasal yöntem içinde avidin-biotin kompleksi ya da peroksidaz-antiperoksidaz yöntemleri kullanılmaktadır. Gerek doku kesitlerinin gerekse uygulanacak metodun seçimi merkezden merkeze değişmektedir.

Östrojen hormonunun, meme karsinomunun promosyonunda önemli rol oynadığı, ilk kez yaklaşık bir yüzyıl önce Beatson tarafından bildirilmiştir. Neoplastik hastalıkların, histopatolojik tekniklerle prognostik analizinin yapılması, gerek hastalığın hastanın geri kalan yaşamına etkisinin, gerekse hastanın tedavi rejimine yanıtının belirlenmesi açısından güncelliğini korumaktadır. Östrojen ve progesteron hormonlarının mutajenik etkilerinde, östrojen ve progesteron reseptörlerinin kilit rol oynadığının belirlenmesi, bu hormonların promotör olarak rol oynadığı neoplastik hastalıklarda, dikkatlerin reseptörler üzerinde toplanmasına yol açmıştır (18). Literatürde başta meme ve endometrium karsinomu olmak üzere, bir grup neoplastik hastalıkta östrojen ve progesteron reseptörlerinin prognostik önemi belirlenmiştir (19, 20).

Östrojen ve progesteron hormonlarının hedef dokuları, bu dokuların hücre içi reseptörlerine selektif olarak bağlanma kapasiteleri ile belirlenir. Literatürde bu hedef dokuların belirlenmesine yönelik, çoğunlukla hayvan dokularının ve otoradyografi yönteminin kullanıldığı bir dizi çalışma vardır. Bu çalışmalarda östrojen ve progesteron hormonunun klasik hedef dokuları olarak; kadın genital traktüsü (korpus, serviks, vajen), ovaryum, meme, ön hipofiz ve hipotalamus gösterilmiştir (21). Kaynaklarda, insan fetüs ve infantlarına ait dokularda progesteron ve östrojen reseptörlerinin aktivitesini araştıran çalışmalar sınırlı kapsamda ve az sayıdadır (22, 23). Oysa östrojen hormonunun fetal ve perinatal dönemde önemli rol oynadığı öteden beri bilinmektedir (24).

Obstetride hedef, bebeğin ekstrauterin yaşam için uygun matürasyona ulaştıktan sonra, güvenli bir şekilde doğumunun gerçekleştirilmesidir. Bu matürasyon, dokuların fonksiyonel ve morfolojik matürasyonu ile sıkı sıkıya ilişkilidir. Hücresel düzeyde reseptör aktivitesinin, doku fonksiyonlarının gerçekleştirilmesinde önemli rol oynadığı kabul edilen bir gerçektir. Normal intrauterin gelişim ve normal doğum kilosuna bebeğin ekstrauterin yaşam için uygun matürasyona ulaştığını gösteren önemli iki kriterdir. Ayrıca maternal ve plasental faktörlerin de bu matürasyonu etkilediği unutulmamalıdır. Buna ek olarak plasenta hem östrojen, hem progesteron hormonunun ana kaynağıdır. Sonuç olarak; plasental yetersizlik bu hormonların fetüs üzerine olan fizyolojik etkilerini olumsuz yönde etkilemektedir.

Bu çalışmada temel amaç; östrojen ve progesteron reseptörlerinin, bilinen hedef dokularında, fetal ve perinatal dönemdeki aktivitelerinin, immuno-histokimyasal yöntem ile araştırılması ve bu aktivitenin; intrauterin gelişme geriliği, düşük doğum kilosuna, plasental yetersizlik gibi bazı klinikopatolojik olaylarla ve bazı maternal faktörler ile olan olası ilişkisinin belirlenmesidir. Bu amaçla elde edilecek sonuçların; intrauterin yaşam kalitesine ve ayrıca bu reseptörlerin özelliklerini araştıran gelecekteki çalışmalara ışık tutabileceği düşünülmektedir.

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu araştırmada; Edinburgh Royal Hospital for Sick Children, Patoloji ve Sitogenetik Departmanında, Haziran 1994-Aralık 1994 arası 38 tanesi primer yapılan toplam 47 postmortem inceleme çalışılmıştır. Olguların seçiminde kriter olarak, dişi cinsiyet ve otolitik ya da masere olmamaları gözönünde tutulmuştur. Sonuç olarak, gestasyonel yaşları 18 ile 39 hafta arasında değişen 37 fetüs ve 0-1 yaşları arasındaki 10 infant çalışma kapsamına alınmıştır. Çalışma kapsamına giren bu 47 olgunun hepsine ait uterus ve vajen dokuları ile makroskopik olarak yeterli olduğu düşünülen 31 olguya ait meme dokusu postmortem inceleme sırasında çıkarılmıştır. Bu dokular %10 luk formalinde fikse edildikten ve doku işleminden geçirildikten sonra, H+E boyalı parafin kesitlerde değerlendirilmiştir. Doku işlemi şu aşamaları kapsamıştır: % 80'lik alkolde 1 saat, % 95'lik alkolde 3 defa 1 saat, absolu alkolde 3 defa 1 saat, ksilolde 3 defa 1 saat, parafinde 3 defa 1 saat ve vakum altında parafinde 1 saat. Sonuçta morfolojik olarak yeterli bulunan 125 dokuya östrojen ve pregesteron reseptörlerinin varlığını göstermek amacıyla immunohisto-kimyasal yöntem uygulanmıştır.

Bu 168 dokuya ait parafin bloklardan kesilen 4 mikron kalınlığındaki kesitler, polilizin kaplı cam lamalara (Sigma Chemical Co-UK) alınmıştır. Ksilol ve alkol serilerinden geçirilerek deparafinize edilen kesitler, endojen peroksidaz inhibisyonu için, %3'lük H₂O₂/methanol ile oda sıcaklığında (17°C) 15 dakika enkübe edilmişler ve akarsuda yıkanmışlardır. Bu aşamadan sonra kesitler; 800 voltluk mikrodalga fırın içinde 600 ml sodyum sitrat tampon solüsyonu (pH 6.0, 10 µm) bulunan kaplara yerleştirilmiş, 10. dakikada 100 ml distile su eklenmiş ve % 100 güçte (power) toplam 20 dakika tutulmuştur. Kesitler daha sonra, dışarıda 20 dakika bırakıldıktan sonra Triphosphate Buffer Solüsyonunda (TBS, 0.01µm, pH=7.0) yıkanmışlardır. Daha sonra kesitler TBS içinde primer ER(1/100 dilüsyon) ve PR(1/5 dilüsyon) antikor solüsyonları (monoklonal, mouse, IgG, Dako Ltd-UK) içinde oda sıcaklığında 60 dakika bırakılmış, TBS ile 3 defa 2 dakika yıkandıktan

sonra, TBS solüsyonu ve %4 normal insan serumu içindeki biotin işaretli sekonder antikorla (1/150 dilüsyon, poliklonal, rabbit anti-mouse, IgG, Dako Ltd-UK) 30 dakika oda sıcaklığında enkübe edilmiştir. Daha sonra 3 defa 2 dakika TBS içinde yıkanan kesitler Tris/HCl solüsyonu içindeki (0,05m, pH=7.6) streptavidin-biotin kompleksi (Dako Ltd-UK) ile 30 dakika enkübe edilmiş ve 3 defa 2 dakika TBS içinde yıkandıktan sonra diaminobenzidine tetrahydrochloride (DAB) solüsyonu (Sigma Chemical Co.) ile 10 dakika muamele edilmiştir. Daha sonra kesitler akarsuda yıkanmış, hematoksilin ile hafif kontr boyama uygulanmış, dehidratasyon için alkol serilerinden ve son olarak ksilolden geçirildikten sonra kapatılmıştır.

Teknik açıdan yeterlilik kriteri olarak nükleer kahverengi boyanma, zemin boyamasının olmaması ve kontrol kesitlerinin pozitifliği (Resim I,II) kabul edilmiştir. Reseptör pozitivitesi saptanan olgulara ait arşivdeki kendi dokuları arasından hipofiz, ovaryum, karaciğer, böbrek, iskelet kası, kalp kası dokularına ve grup içindeki perinatal olgulara ait plasenta dokularına da, daha sonra aynı immunohistokimyasal yöntem uygulanmıştır. Sonuç olarak toplam 503 kesite immunohistokimyasal yöntem uygulanmış, östrojen ve progesteron reseptör aktivitesi araştırılmıştır (Tablo I).

Reseptör pozitifliği saptanan en erken gestasyonel haftadan itibaren (Olgu No:12) tüm fetal olgularda; postmortem inceleme istek formlarından; anne yaşı, anne doğum sayısı ve sorunlu gebelik (hipertansiyon, pre-eklamptik toksemi, intauterin gelişme geriliği, antepartum hemoraji, polihidroamnios, maternal enfeksiyon, diabet, plasental patoloji ve diğerleri) öyküsü belirlenmiştir. Ayrıca bu olgulara ait ayak uzunluğu, oturma yüksekliği, doğum kilosu, doğum kilosu-plasenta ağırlığı oranı ve beyin-karaciğer ağırlık oranı postmortem inceleme esnasında saptanmıştır. Öyküye dayanan parametreler yüzde ve aritmetik ortalamalar ile, ölçümlere dayanan parametreler, normal değerleri de içeren grafikler ile kıyaslanarak değerlendirilmiştir (Tablo II,III,IV,V ve Grafik I,II,III,IV,V). Ayrıca hormon reseptör aktiviteleri pozitif ve negatif olan olguların, kovaryans yöntemi ile istatistiksel analizi yapılmıştır (Tablo VI).

BULGULAR

Çalışmada elde edilen bulgular aşağıdaki tablo, grafik ve resimlerde gösterilmiştir:

Tablo I: Olguların yaş ve dokulardaki östrojen (E) ve progesteren (P) reseptör aktivitelerine göre dökümü

Olgu	Yaş	Serviks Vajen		Korpus		Meme		Hipofiz		Ovaryum		Karaciğer		Böbrek		Çizgili Kas		Myokard		Plasenta	
		E	P	E	P	E	P	E	P	E	P	E	P	E	P	E	P	E	P	E	P
1	0/18	-	-	-	-																
2	0/19	-	-	-	-																
3	0/19	-	-	-	-																
4	0/20	-	-	-	-																
5	0/21	-	-	-	-																
6	0/22	-	-	-	-																
7	0/22	-	-	-	-																
8	0/23	-	-	-	-																
9	0/24	-	-	-	-																
10	0/25	-	-	-	-																
11	0/25	-	-	-	-																
12	0/26	+	-	-	-			-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
13	0/26	+	-	-	-			-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
14	0/26	-	-	-	-																
15	0/27	-	-	-	-																
16	0/27	-	-	-	-																
17	0/28	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
18	0/29	-	-	-	-	-	-														
19	0/30	-	-	-	-	-	-														
20	0/30	+	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
21	0/30	-	-	-	-	-	-														
22	0/30	-	-	-	-	-	-														
23	0/30	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
24	0/31	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
25	0/32	-	-	-	-	-	-														
26	0/32	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
27	0/33	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
28	0/33	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
29	0/33	-	-	-	-	-	-														

Olgu	Yaş	Serviks Vajen		Korpus		Meme		Hipofiz		Ovaryum		Karaciğer		Böbrek		Çizgili Kas		Myokard		Plasenta	
		E	P	E	P	E	P	E	P	E	P	E	P	E	P	E	P	E	P	E	P
30	0/33	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
31	0/34	-	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
32	0/34	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
33	0/36	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
34	0/36	+	+	+	-	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
35	0/37	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
36	0/37	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
37	0/39	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
38	1/365	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
39	1/365	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
40	6/365	+	+	+	-	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
41	1/52	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
42	3/52	-	+	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
43	2/12	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
44	6/12	+	-	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
45	8/12	-	-	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
46	9/12	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
47	13/12	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Tablo II: Östrojen reseptörü (ER) negatif (üst) ve pozitif (alt) olguların araştırılan parametrelerle ilişkisi

Olgu	DK (gr)	AU (mm)	OY (mm)	AY	ADS	D/P	B/K	Öykü
14	770	51	220	19	2	5.2	5.1	+
15	770	51	236	17	1	4.5	5.8	-
16	750	51	236	20	2	7.5	6.2	+
18	1050	57	266	30	2	4.9	6.0	+
19	1100	59	273	17	1	5.8	4.8	+
21	1225	64	274	25	2	7.3	6.1	+
22	1005	63	271	23	2	6.4	5.0	+
23	1150	62	270	26	2	6.4	5.0	+
25	1250	62	292	19	1	6.6	6.1	+
29	1360	67	290	35	4	6.2	5.8	+
35	2300	76	328	20	2	6.7	3.6	-

Olgu	DK (gr)	AU (mm)	OY (mm)	AY	ADS	D/P	B/K	Öykü
12	880	49	225	32	2	3.2	3.2	+
13	780	48	215	27	2	3.8	4.0	+
17	950	56	260	24	2	5.0	4.4	+
20	1250	62	274	20	1	5.6	3.5	-
24	1400	62	272	17	1	5.3	3.0	-
26	1500	62	285	17	1	6.0	4.8	+
27	1400	69	294	18	1	5.8	3.0	-
28	1670	64	293	33	1	6.2	3.0	+
30	1750	65	295	33	3	5.8	3.0	+
31	2050	68	302	24	2	5.9	3.1	+
32	1700	67	298	23	1	6.3	4.5	+
33	2090	70	325	20	2	6.6	3.4	+
34	2190	72	331	23	2	6.2	3.2	+
36	2750	77	338	29	3	6.3	3.2	+
37	2900	80	348	25	2	6.4	3.0	+

Kısaltmalar : DK (doğum kilosu), AU (ayak uzunluğu), OY (oturma yüksekliği), AY (anne yaşı), ADS (anne doğum sayısı), D/P (doğum kilosu-plasenta ağırlık oranı), B/K (beyin-karaciğer ağırlık oranı), Öykü (sorunlu gebelik)

Tablo III: Progesteron reseptör (PR) negatif (üst) ve pozitif (alt) olguların araştırılan parametrelerle ilişkisi

Olgu	DK (gr)	AU (mm)	OY (mm)	AY	ADS	D/P	B/K	Öykü
18	1050	57	266	30	2	4.9	6.0	+
19	1100	59	273	17	1	5.8	4.8	+
21	1225	64	274	25	2	7.3	6.1	+
22	1005	63	271	23	2	6.4	5.0	+
25	1250	62	292	19	1	6.6	6.1	+
27	1400	69	294	18	1	5.8	3.0	-
29	1360	67	290	35	4	6.2	5.8	+
32	1700	67	298	23	1	6.3	4.5	+
33	2090	70	325	20	2	6.6	3.4	+
35	2300	76	328	20	2	6.7	3.6	-
37	2900	80	348	25	2	6.4	3.0	+

Olgu	DK (gr)	AU (mm)	OY (mm)	AY	ADS	D/P	B/K	Öykü
17	950	56	260	24	2	5.0	4.4	+
20	1250	62	274	20	1	5.6	3.5	-
23	1150	62	270	26	2	6.5	5.0	+
24	1400	62	272	17	1	5.3	3.0	-
26	1500	62	285	18	1	6.0	4.8	+
28	1670	64	293	33	1	6.2	3.0	+
30	1750	65	295	33	3	5.8	3.0	+
31	2050	68	302	24	2	5.9	3.1	+
34	2190	72	331	23	2	6.2	3.2	+
36	2750	77	338	29	3	6.3	3.2	+

Kısaltmalar : DK (doğum kilosu), AU (ayak uzunluğu), OY (oturma yüksekliği), AY (anne yaşı), ADS (anne doğum sayısı), D/P (doğum kilosu-plasenta ağırlık oranı), B/K (beyin-karaciğer ağırlık oranı), Öykü (sorunlu gebelik)

Tablo IV: Çalışmadaki parametrelerin gestasyonel haftalara göre normal değerleri
(Keeling JW. The perinatal necropsy. In: Fetal and Neonatal Pathology.
Second Edition. Springer Verlag, London: 1993: 1-32)

Hafta	AU (mm)	OY (mm)	BA(gr)	KA(gr)	B/K	DK (gr)	PA(gr)	D/P
24	45.2	208	92	32	2.87	638	225	2.9
25	47.7	218					235	3.1
26	50.2	228	111	39	2.84	845	245	3.3
27	52.7	238					260	3.5
28	55.2	247	139	46	3.02	1020	270	4.9
29	57.0	256					290	5.1
30	59.2	265	166	53	3.13	1230	310	5.3
31	61.2	274					335	5.4
32	63.0	283	209	65	3.21	1488	360	5.6
33	65.0	293					380	5.8
34	68.2	302	246	74	3.32	1838	400	6.0
35	70.5	311					420	6.2
36	73.5	321	288	87	3.31	2165	435	6.4
37	76.5	331					450	6.5
38	78.5	341	349	111	3.14	2678	465	6.6
39	81.0	352					480	6.7
40	82.5	362	362	130	2.79	3163	490	6.8

Kısaltmalar: AU (ayak uzunluğu), OY (oturma yüksekliği), BA (beyin ağırlığı), KA (karaciğer ağırlığı), B/K (beyin-karaciğer ağırlık oranı), DK (doğum kilosu), PA (plasenta ağırlığı), D/P (doğum kilosu-plasenta ağırlık oranı),

Tablo V: Çalışmamızdaki maternal parametrelerin ER ve PR aktivitelerine göre ortalama ve yüzdeleri

		AY	ADS	Öykü
ER	+	24.4	1.7	79.2
	-	22.8	1.9	81.8
PR	+	24.7	1.8	80.0
	-	23.1	1.8	81.8

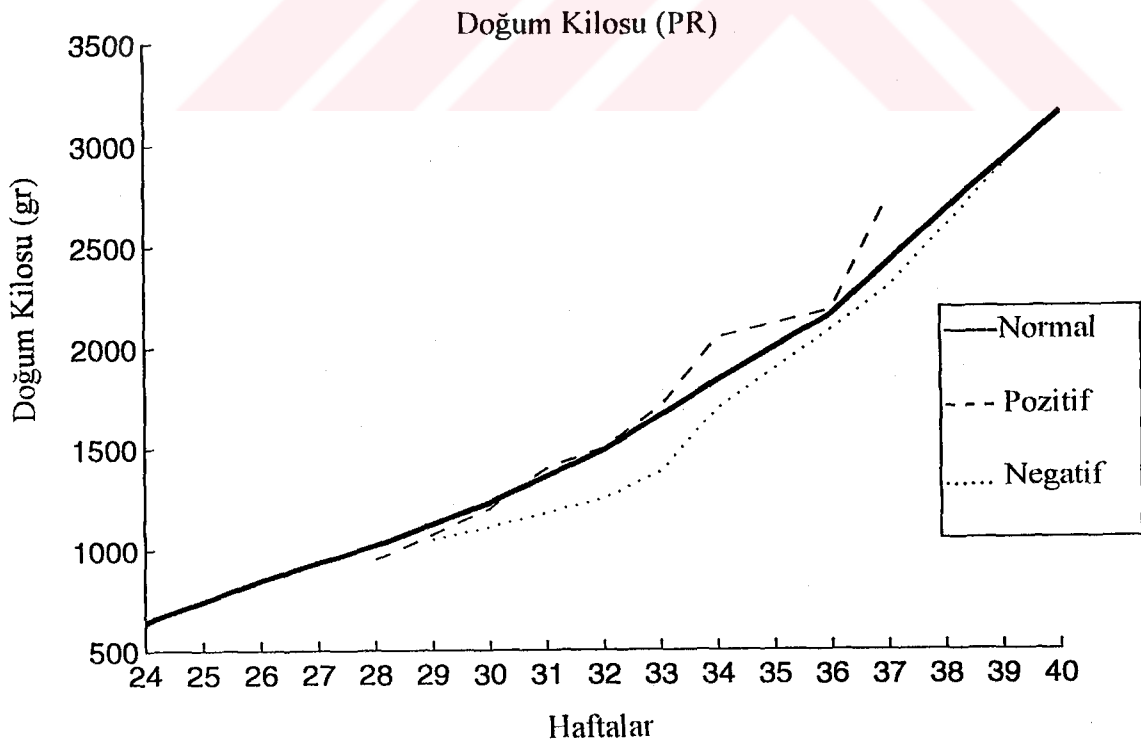
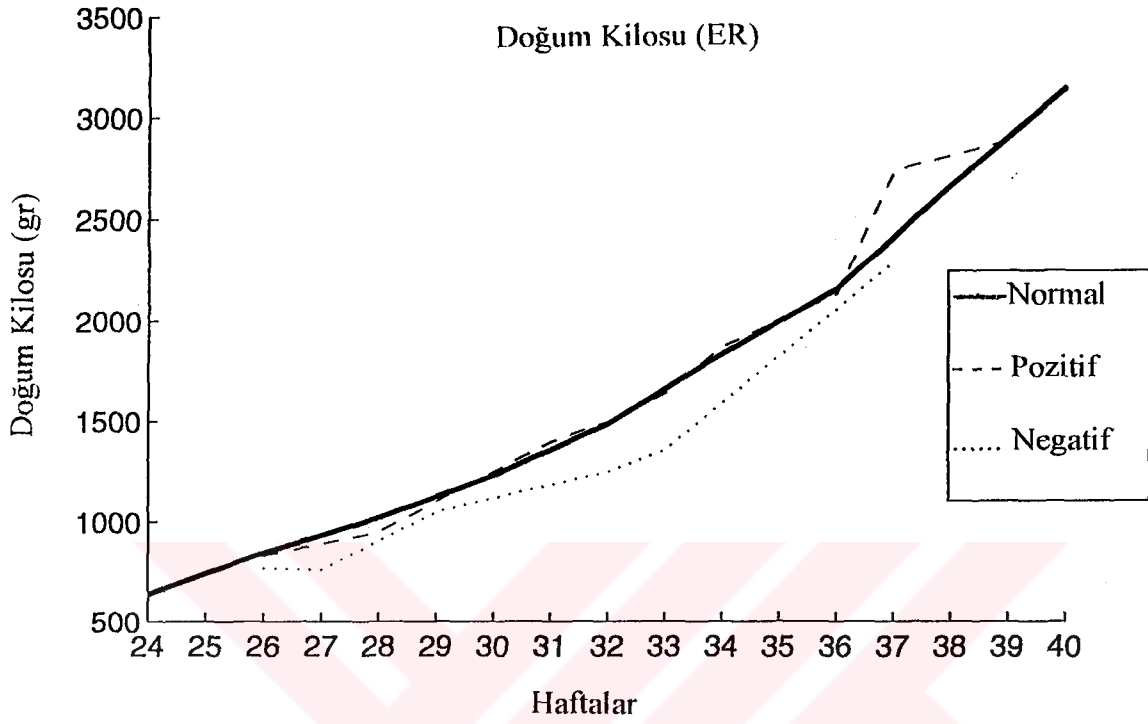
Kısaltmalar: AY (anne yaşı), ADS (anne doğum sayısı), Öykü (sorunlu gebelik)

Tablo VI: Hormon reseptör aktivitesi pozitif ve negatif olan olguların kovaryans yöntemi ile istatistiksel analizi

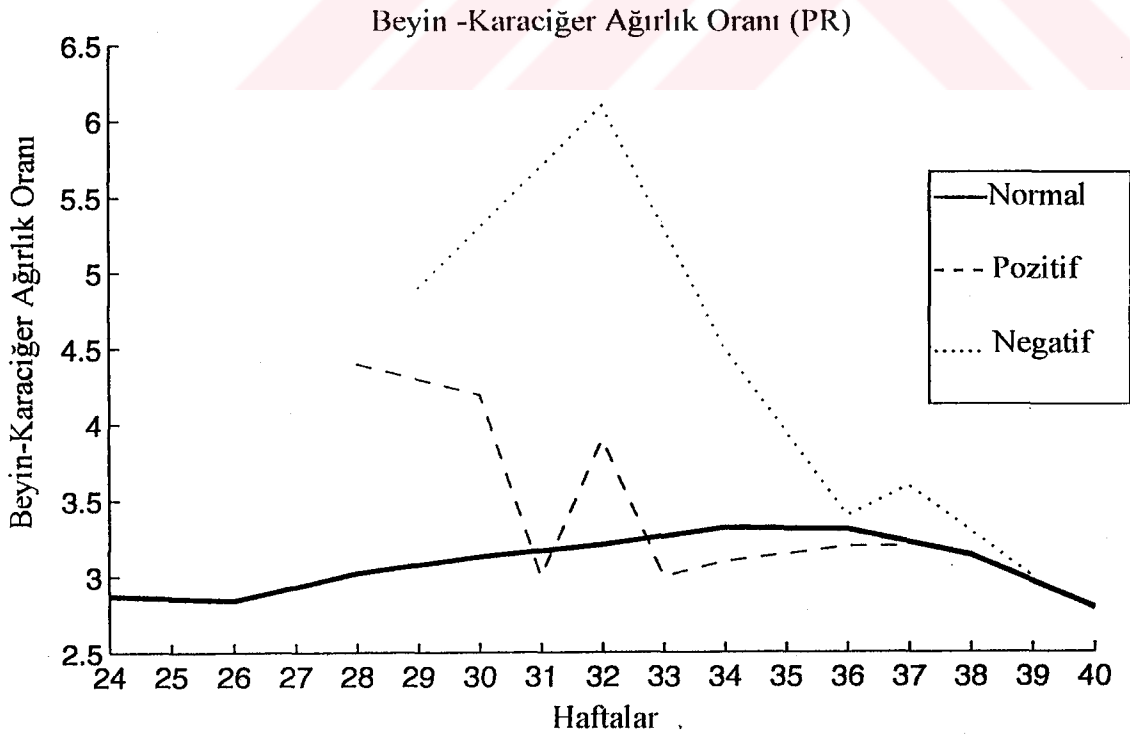
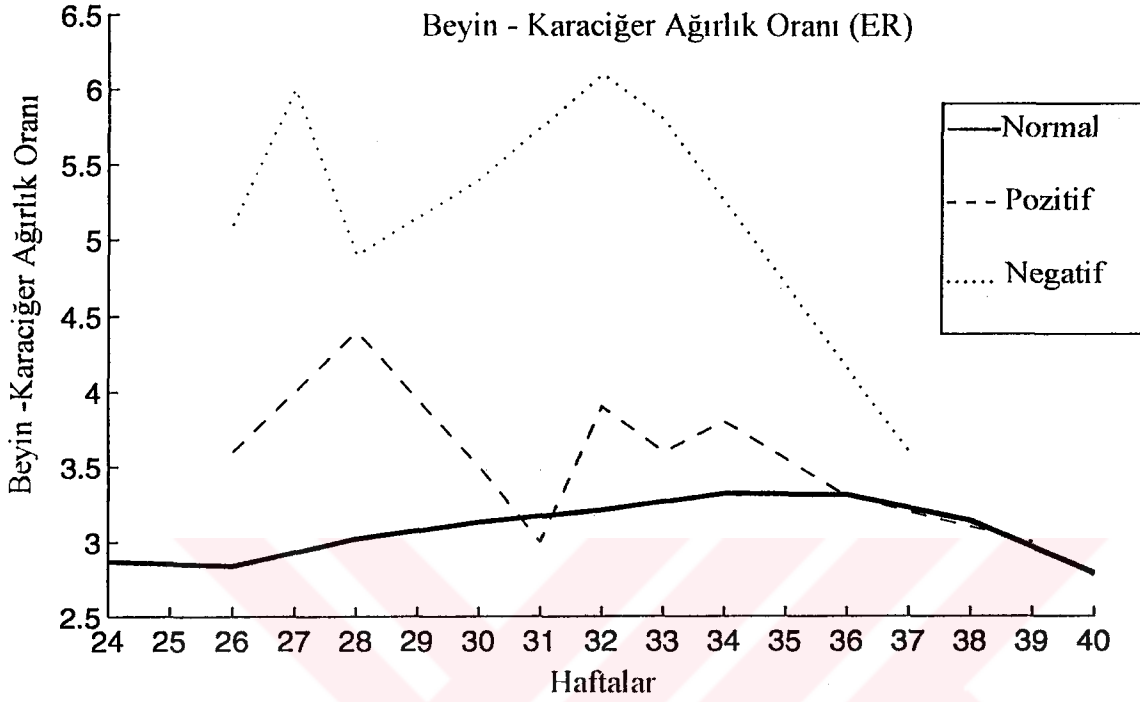
	DK	B/K	D/P	AU	OY	AY
p değeri	0.054	0.034	0.014	0.396	0.540	0.574
Varyans (S ²)	30386	0.4877	0.5562	4216	369.4	29.08
Ortalama (pozitif olgular)	1519 gr	3.66	5.52	62.56 mm	275.4 mm	23.8
Ortalama (negatif olgular)	1369 gr	5.32	6.36	63.31 mm	280.5 mm	22.5

Kısaltmalar: DK (doğum kilosu), AU (ayak uzunluğu), OY (oturma yüksekliği), AY (anne yaşı), D/P (doğum kilosu-plasenta ağırlık oranı), B/K (beyin-karaciğer ağırlık oranı)

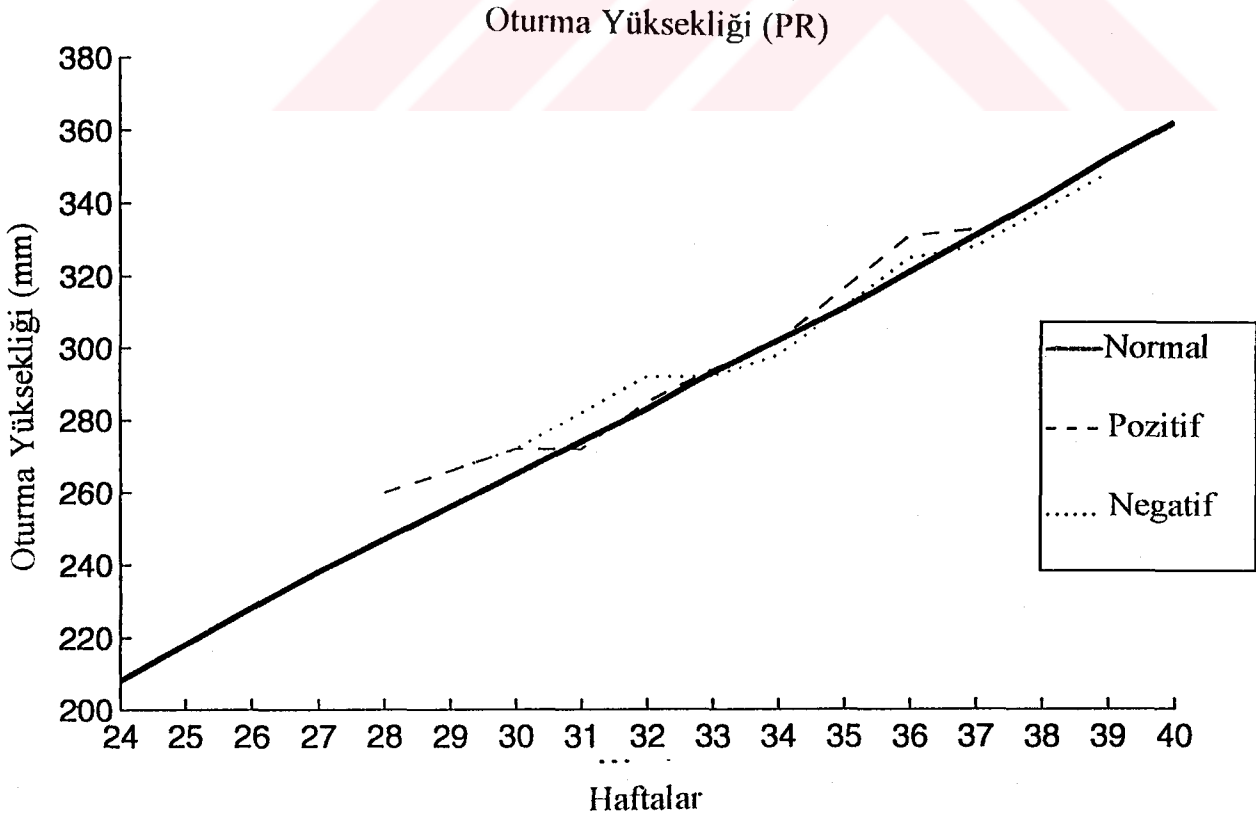
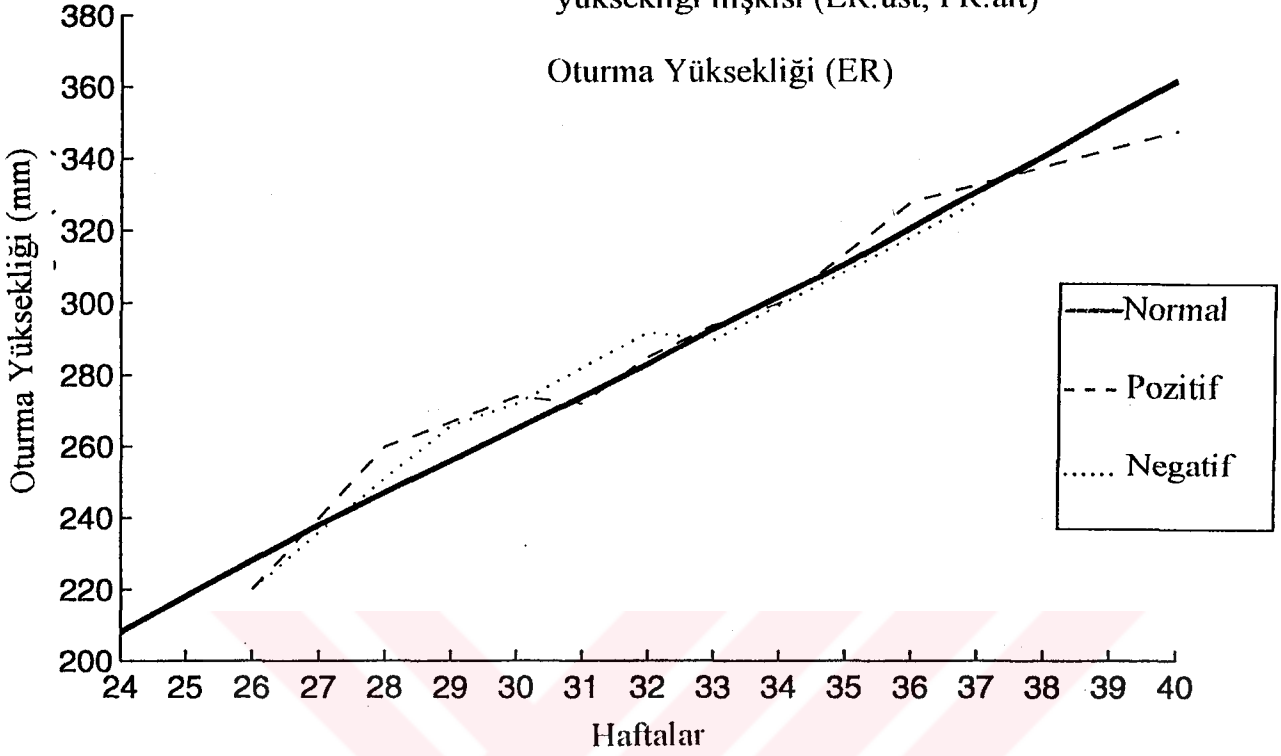
Grafik I: Gestasyonel haftalara göre reseptör aktivitesi-doğum kilosu ilişkisi
(ER:üst, PR:alt)



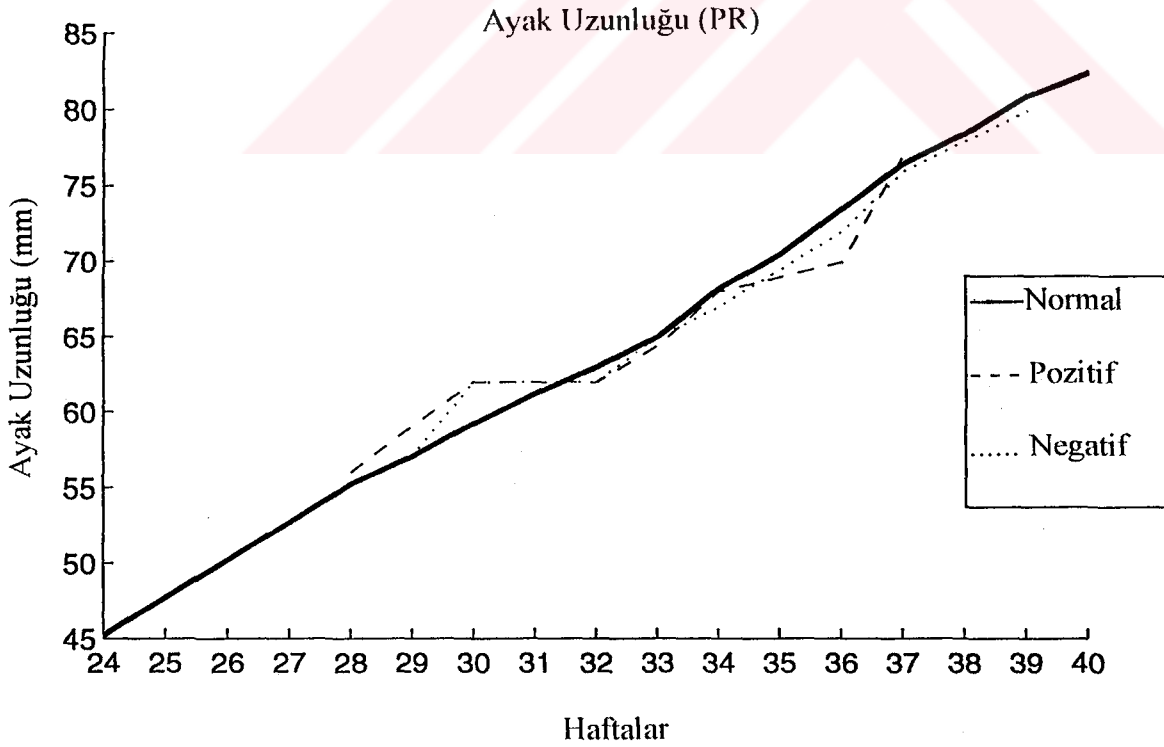
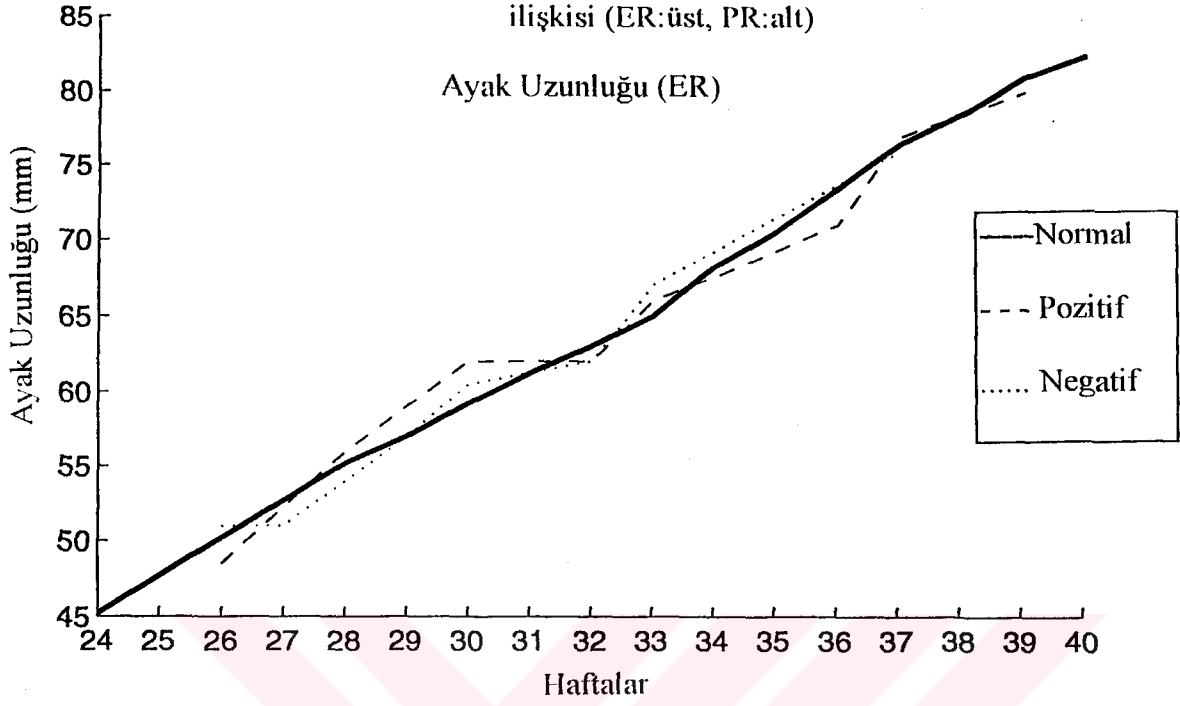
Grafik II: Gestasyonel haftalara göre reseptör aktivitesi- beyin / karaciğer ağırlık oranı ilişkisi (ER:üst, PR:alt)



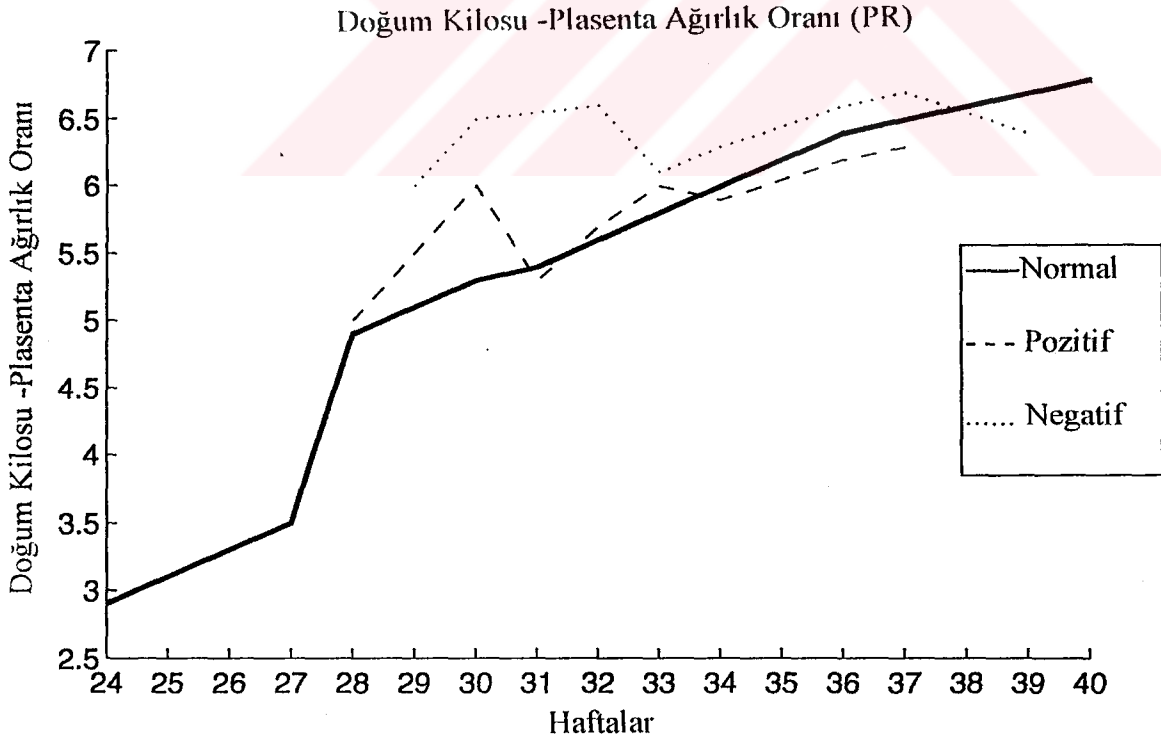
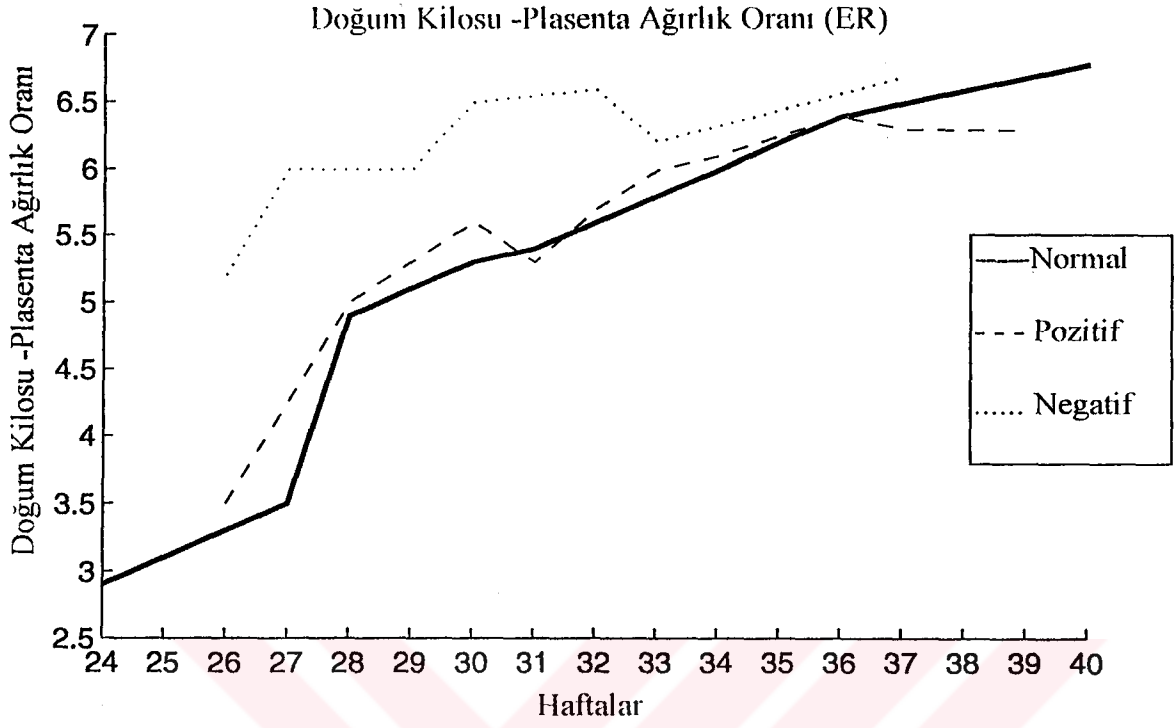
Grafik III: Gestasyonel haftalara göre reseptör aktivitesi-oturma yüksekliği ilişkisi (ER:üst, PR:alt)

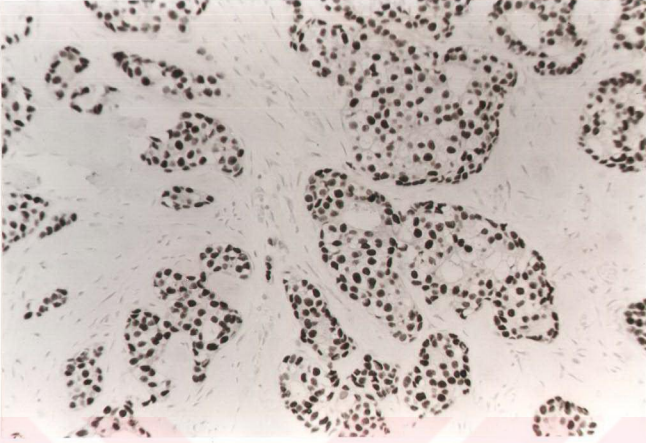


Grafik IV: Gestasyonel haftalara göre reseptör aktivitesi-ayak uzunluğu ilişkisi (ER:üst, PR:alt)

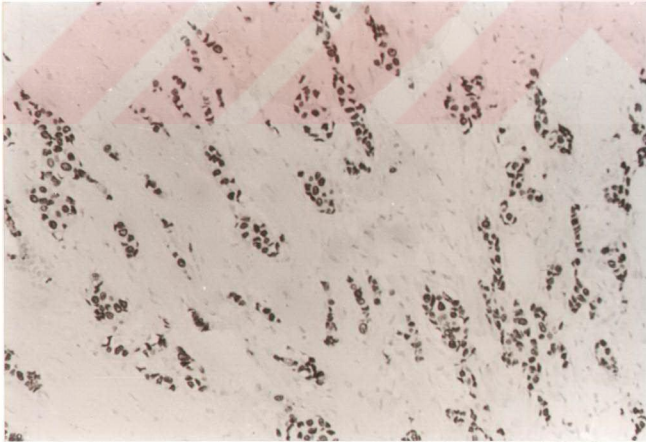


Grafik V: Gestasyonel haftalara göre reseptör aktivitesi-doğum kilosu/plasenta ağırlığı oranı ilişkisi (ER:üst, PR:alt)





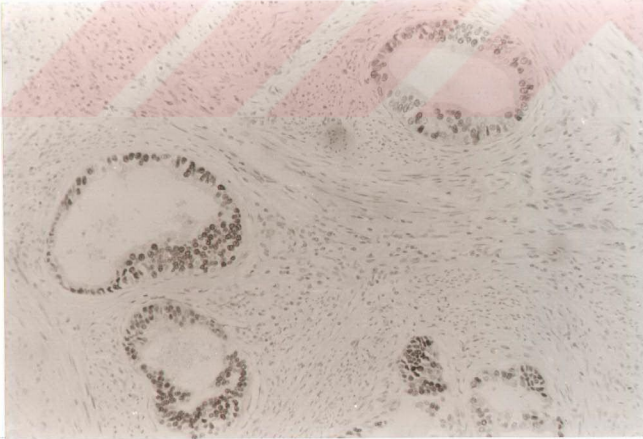
Resim I: Çalışmada kullanılan kontrol blokları: ER(+)



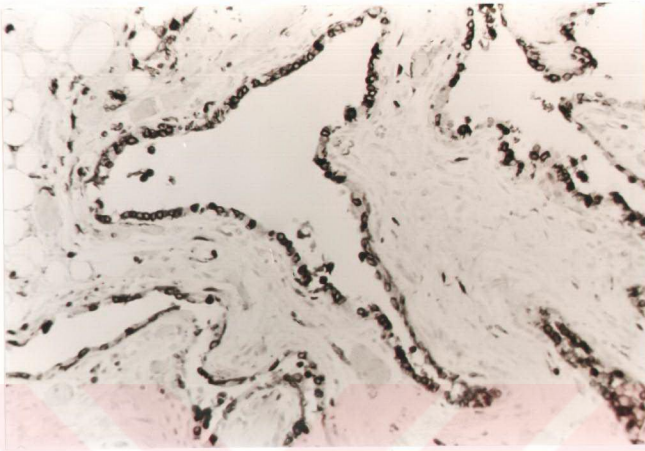
Resim II: Çalışmada kullanılan kontrol blokları: PR(+)



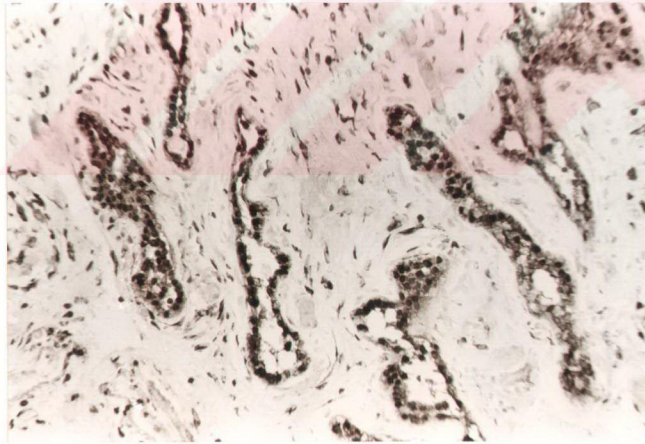
Resim III: Olgu No: 12 (26 hafta) Serviks ER(+)



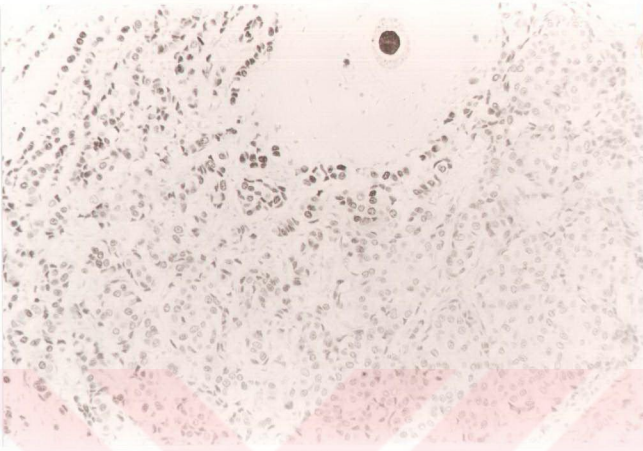
Resim IV: Olgu No: 17 (28 hafta) Endometrium PR(+)



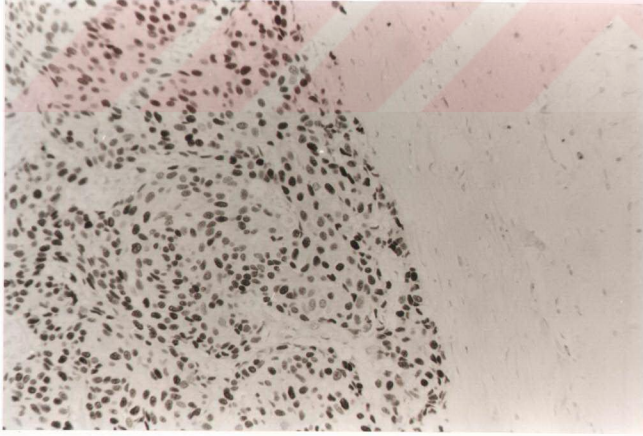
Resim V: Olgu No: 36 (37 hafta) Meme ER(+)



Resim VI: Olgu No: 34 (36 hafta) Meme PR(+)



Resim VII: Olgu No: 40 (6 gün) Ovaryum PR(+)



Resim VIII: Olgu No: 40 (6 gün) Hipofiz ER(+)

TARTIŞMA

Östrojen ve progesteron hormonları, steroid hormon ailesi içinde yer alırlar. Steroid hormonları karaciğerde metabolize olduktan sonra, metabolitleri böbrekler yoluyla dışarı atılır. Biyolojik olarak aktif hormonlar plazma, serum ya da dokularda, metabolitleri ise idrarda gösterilebilir.

Östrojen ve progesteron hormonunun sentez yeri perinatal dönemde genel olarak gonadlar ve plasentadır. Fetal dönemde steroid hormonları çok büyük oranda plasenta tarafından sentezlenir. Yapılan çalışmalar; sinsityotrofoblastların 3. trimestrden itibaren progesteron sentezlediklerini ve progesteron sentezinin %80-90'ından sorumlu olduklarını göstermiştir. Bu sentez olayında lizozomal enzimler ve prekürsür olarak anne dolaşımından alınan Low Density Lipoprotein (LDH) kolesterol kullanılmaktadır (25, 26, 27). Progesteron sentezi yanısıra; östrojen biosentezinin büyük kısmı, sülfat aromatzasyonu yoluyla plasenta tarafından gerçekleştirilmektedir. Plasenta ayrıca, bu hormonların metabolizmasının büyük bir kısmından da sorumludur. Plasentanın bir başka görevi ise anne-fetüs arasında hormon transferidir (28). Koryoamniotik membranların steroid hormon sentezi ve metabolizmasına katkıları önemli sayılabilecek düzeylerde olmaktadır. Fetal organların bu sentez ve metabolizma olayına katkıları ise minimal düzeydedir. Örneğin ovaryum döllenme sonrası 8. haftadan itibaren steroidogeneze bir ölçüde katkıda bulunmaktadır. Ancak fetal dokularda gerek progesteron sentezinde rol oynayan lizozomal enzimler, gerekse östrojen sentezinde rol oynayan sülfataz enzimi yetersiz düzeydedir. Bu nedenle gerek ovaryumun gerek ise adrenal, karaciğer, hipofiz ve hipotalamus gibi diğer fetal organların östrojen ve progesteron sentezine katkıları, plasenta ile karşılaştırılacak olursa çok düşük düzeyde olmaktadır (29, 30)

Plasental östrojen ve progesteron sentezinin özelliklerinden biri, dişi ya da erkek cinsiyet farklılığı göstermemesidir. Amniotik sıvıda yapılan ölçümler, her iki cinsiyette de yakın değerleri ortaya koymuştur (31).

Doğumla birlikte plasentanın ortamdan kalkması ile, steroidogenez büyük ölçüde yavaşlar ve puberteye dek minimal bir seviyede devam eder. Yine de kan steroid hormon düzeyi hipofiz bezinin negatif feedback kontrolünü karşılayacak düzeydedir (32). Bu dönemdeki minimal hormon sentezi büyük ölçüde ovaryumdaki stromal hücrelerden kaynaklanmaktadır. Neonatal dönemde bebeklerde ilk birkaç gün östrojen hormonunun klinik etkileri görülmektedir. Bu durum doğum stresine bağlı olarak, artmış steroid hormon sentezinden kaynaklanmaktadır. Ancak bir süre sonra bu etkiler ortadan kalkmaktadır. Kenny ve arkadaşları bu durumu östrojen hormon reseptörlerinin hedef dokularda yetersiz gelişmiş olmasına bağlamışlardır (33).

Östrojen ve progesteron hormonunun, fetal dokulara spesifik etkilerini araştıran çalışmalar sınırlı sayıdadır. Bunlar; östrojenin fetal kemik gelişimine ve fetal dokulardaki fibroblastlar üzerine olan etkilerini araştıran çalışmalar ile progesteronun fetal dönemde makrofaj ve T lenfosit aktivitesinde önemli rol oynadığını savunan çalışmalardır (34,35,36). Ancak östrojen sentezi, gebelik süresince artan bir hızla devam etmekte ve doğum esnasında, kan östrojen hormon düzeyi, gebe olmayan bir kadın ile kıyaslanacak olursa 300-500 katı gibi yüksek değerlere ulaşmaktadır. Bu nedenle östrojen ve progesteronun fetal dokulara etkileri sınırlı sayıda dokuyu kapsamamaktadır. Hatta genel anlamda östrojenin aktif formu olan östriolün, fetüs gelişimi hakkında fikir verecek bir kriter olduğu düşünülmektedir. Bu düşünceye paralel olarak fetal ölümle sonuçlanan gebeliklerde kan östriol düzeyinin, normal değerlerden daha düşük düzeylerde olduğu saptanmıştır (37). Bu konudaki diğer çalışmalar; patolojik gebeliklerde, östrojen sentezinde rol oynayan sülfataz enziminin yetersiz düzeyde olduğunu (38) ve ayrıca anensefalik fetüs ile sonuçlanan gebeliklerde kan östriol düzeyinin normal değerlerin % 25-50'si düzeyinde olduğunu göstermiştir (39).

Östrojen hormonunun maternal etkileri temelde uterotrofik özelliğinden kaynaklanmaktadır. Ancak östrojen hormonunun ilginç bir özelliği de maternal ya da fetal hedef dokularda progesteron hormonunu prestimüle etmesidir (40,41). Aynı

zamanda östrojen hormonu, primer olarak progesteron reseptör sentezini de stimüle etmektedir. Buna karşılık progesteron hormonu östrojen reseptörlerine bağlanma yeteneğindedir. Sonuç olarak bu hormonların fonksiyonların bu hormon reseptör ilişkileri önemli rol oynamaktadır (42,43). Progesteron hormonunun ayrıca androjen reseptörlerine bağlanarak, fetüste maskülinizan etkiye neden olduğu düşünülmektedir (44).

Östrojen ve progesteron reseptörlerinin hücre içi lokalizasyonunu araştıran pek çok çalışma bulunmaktadır. Bunlar arasında selüler fraksiyonasyon tekniğini kullanan çalışmalarda reseptörlerin hücre içinde nükleus ve sitozolde lokalize olduğu gösterilmiştir. Ultrastrüktürel seviyede ise hormon reseptörlerinin nükleus içinde kromatin serpintileri arasında ya da nükleus membranlarının yakınında yer aldığı ortaya konmuştur (45,46).

Tüm steroid hormonlarının hücre içi etki mekanizmalarını açıklayan genel model, transformasyon ve translokasyon aşamalarından oluşmaktadır (47). Belli bir konsantrasyon gradyentine bağlı olarak dolaşımdan hücre içine alınan östrojen ya da progesteron hormonu, sitozoldeki 8 S proteinine bağlanarak transformasyon aşamasından geçer. Bu aşamadan sonra nükleus içine alınan hormon molekülü; 4 S proteinine bağlanarak, ısıya bağımlı translokasyon aşamasını tamamlar. Bu iki aşamalı işlemden sonra, reseptörün A komponenti DNA'ya, doku spesifitesinden sorumlu B komponenti ise asidik proteinlere bağlanır. Bu bağlanma sonucunda RNA polimeraz aktive edilerek, m-RNA sentezinden sorumlu transkripsiyon işlemi gerçekleşir. Sonuçta hedef doku için gerekli olan protein sentezi tamamlanmış olur.

Onkolojide kanser tanısı yanı sıra, kanserlerin prognostik özelliklerinin belirlenmesi önem taşımaktadır. Bu konudaki immunohistokimyasal araştırmalarda, üç tip antikorun pratik değeri bulunmaktadır. Bunlar hücre kökenine ve proliferen olan hücrelere spesifik antikorlar ile östrojen-progesteron reseptör antikorlarının yer aldığı büyümeyi düzenleyici proteinlere spesifik monoklonal antikorlardır (48). Bilinen bir gerçek, meme karsinomlarında östrojen hormonunun mutajenik etkisinin reseptörler tarafından düzenlenmekte olduğudur. Buna paralel olarak fonksiyonel

östrojen reseptörü taşıyan meme kanseri hücresi (MCF-7) kültürlerinde, östrojenin mutajenik etkisi ispatlanmıştır (18). Bir diğer çalışmadaki bulgulara göre radyotoksitenin östrojen reseptörleri tarafından yönlendirildiği düşünülmektedir (49).

Östrojen ve progesteron reseptörleri meme karsinomları dışında kadın genital sistem karsinomlarında da değişik oranlarda prognostik önem taşımaktadır. Endometrium karsinomlarında, tuba uterina adenokarsinomlarında ve over karsinomlarının bazılarında östrojen reseptörünün prognostik önemi gösterilmiştir (45,50,51). Yine de malign tümörlerde bu hormon reseptörlerinin prognostik analizi günümüzde pratik anlamda meme karsinomlarını içermektedir. Geniş serilerden oluşan çalışmalarda primer kadın meme kanserlerinin % 60'ının östrojen ve progesteron reseptörü taşıdığı bulunmuştur. Ayrıca reseptörden zengin tümörlerin, reseptörden fakir tümörlere oranla, cerrahi sonrası daha iyi bir prognoz gösterdiği saptanmıştır. Aynı zamanda cerrahi sonrası endokrin terapiye ya da antiöstrojen preparatlarının kullanımına, östrojen reseptöründen fakir tümörlerin % 5 ve daha aşağı oranda yanıt verdiği, reseptörden zengin tümörlerde ise bu oranın objektif olarak % 70'lere ulaştığı belirlenmiştir (52,53,54). Bu çalışmalarda temel prensip frozen ya da parafin kesitlerde, immunohistokimyasal olarak tümör hücre nükleuslarındaki östrojen ve progesteron reseptör antikörlerinin gösterilmesidir. Kaynaklarda ayrıca; meme ve kadın genital sistemi tümörleri dışında, kolorektal karsinomları (55), meningiomları (56), mide karsinomlarını (57), bronkojenik karsinomları (58), malign melanomu (59) ve lösemileri (60) kapsayan çalışmalar bulunmaktadır.

Östrojen ve progesteron hormonlarının belirlenmesinde yararlanılan teknikler başlıca immunohistokimya, dekstran kaplı kömür preparatları ve otoradyografidir. Ancak dekstran kaplı kömür preparatlarının kullanıldığı çalışmalarda yöntemin pahalı olması, uygulanmasının zor olması ve biopsi materyalinin taze olma zorunluluğu dezavantaj oluşturmaktadır. Ayrıca bu yöntem tümör heterojenitesinden kaynaklanan yanlış sonuçlar vermektedir (48). Tritiyum işaretli östrojen hormonunun

kullanıldığı otoradyografik teknik ise, pratik ve dinamik açıdan immunohistokimyanın gerisinde kalmaktadır. Buna ek olarak immunohistokimyanın çok küçük dokulara uygulanabilmesi, ince iğne aspirasyonları gibi sitolojik materyallerin de değerlendirilme olanağını gündeme getirmektedir (61). İmmunohistokimyasal teknik ayrıca reseptörlerin inter ve intraselüler dağılımını göstermede daha başarılı sonuçlar vermektedir.

Östrojen ve progesteron hormonun immunohistokimyasal yöntemlerle gösterilmesinde, monoklonal antikorlar poliklonal antikorlara tercih edilmektedir (62). Monoklonal antikorların; sukroz dansite gradyentinin kullanılmasına dayanan spesifiteleri ve zemin boyanmasının minimal olması gibi avantajları vardır. İmmunohistokimyasal metod olarak, peroksidaz antiperoksidaz ya da avidin-biotin kompleksi kullanılmaktadır. Bu konuda avidin-biotin kompleksi daha çok tercih edilmektedir. İmmunohistokimyasal tekniğin parafin kesitlere uygulanabilmesi pratik açıdan avantaj oluşturmaktadır. Ancak literatürde frozen kesitlerin özellikle progesteron reseptörlerinin belirlenmesinde kalite açısından daha avantajlı olduğunu savunan araştırmacılar vardır (54). Bizim çalışmamızda parafin kesitler, monoklonal antikorlar ve streptavidin biotin kompleksi tercih edilmiştir.

Östrojen ve progesteron reseptörlerinin özelliklerini araştıran ancak pratik değeri olmayan diğer çalışmalar; reseptör purifikasyonu ve genetik klonlama (63,64) ile hücre kültürü, dijital görüntüleme ve akış sitometrisini kapsamaktadır (65,66,67).

Perinatalojide prematürite tanımı içinde, düşük doğum kilosu ve preterm doğum kavramları yer almaktadır. Doğum kilosu için 2500 gram, doğum zamanı için 37. hafta kriter olarak alınmaktadır. Düşük doğum kilolu ya da preterm doğan infantlar, normale nazaran yüksek oranda morbidite ve mortalite riski taşımaktadır. Bu riskin organ immatüritesi ile ilişkili olduğu düşünülürse, östrojen ve progesteron hormonu gibi intrauterin gelişmeyi etkileyen hormonların, hücresel seviyedeki fonksiyonlarından sorumlu reseptörlerinin fonksiyonel öneminin belirlenmesi gerekmektedir. Bu düşünce doğrultusunda doğum kilosu ele alındığında, çalışmamızdaki östrojen ve progesteron reseptör aktivitesi negatif olguların, pozitif

olgulara ve normal gestasyonel yaştakilere göre daha düşük kilolu olduğu gör÷lmektedir (Grafik I). Ancak bu veri ile ilgili p değerinin 0.054 olduğu bulunmuştur (Tablo VI). Bu değerin > 0.05 olması, bu ilişkinin istatistiksel açıdan önemsiz olduğunu göstermektedir.

Preterm doğumu kolaylaştıran risk faktörleri arasında, öncelikli olarak plasental nedenler, intrauterin gelişme geriliği ve maternal nedenler yer almaktadır. Fetal gelişme 25. haftaya kadar daha çok selüler düzeyde olmakta ve hücre sayısında artış şeklinde gör÷lmektedir. Bu haftadan sonra bu artış yavaşlamakta, yerini fonksiyonel matürasyona bırakmaktadır (68). Buna örnek olarak pulmoner sürfaktan sentezi gösterilebilir. Çalışmamızda da bu fonksiyonel matürasyona paralel olarak 26.-28. haftadan itibaren östrojen ve progesteron reseptör aktivitesi saptanmıştır (Tablo I).

Intrauterin gelişmeyi gösteren en geçerli parametreler arasında; beyin-karaciğer ağırlık oranı ile ayak uzunluğu ve oturma yüksekliği gibi dış ölçümler yer almaktadır. Beyin - karaciğer ağırlık oranının 4'ün üzerinde olması, intrauterin gelişme geriliği ile uyumlu sayılmaktadır. Çalışmamızda östrojen ve progesteron reseptör aktivitesi negatif bulunan olgularda, aynı gestasyonel yaştaki pozitif olgulara ve normal değerlere oranla bu oran daha yüksek bulunmuştur (Grafik II). Bu parametre için p değeri 0.034 olarak saptanmıştır (Tablo VI). Bu değerin < 0.05 olması istatistiksel önemliliği göstermektedir. Buna karşın ayak uzunluğu ve oturma yüksekliğine ait değerler her üç grup için birbirine yakın değerlerdir (Grafik III, IV). Ayrıca bu parametrelere ait p değerlerinin > 0.05 olarak saptanması istatistiksel önemsizliği göstermektedir (Tablo VI).

Preterm doğumu kolaylaştıran bir başka risk faktörü ise maternal nedenlerdir. Bunlar arasında hipertansiyon, diabet, enfeksiyon gibi maternal hastalıklar; gebe kalma sayısı ya da maternal yaş gibi medikososyal faktörler yer almaktadır. Ancak çalışmamızda östrojen progesteron reseptörü pozitif ve negatif olgular arasında, bu nedenlerden kaynaklanan herhangi bir farklılık gözlenmemiştir (Tablo V).

Normal intrauterin fetal gelişimde genetik, nütresyonel ve süperempoze hastalıklar yanısıra, plasental yeterlilik önemli rol oynamaktadır (68). Placenta, östrojen ve progesteron sentezinin ana kaynağıdır. Ayrıca östrojen ve progesteron sentezi ile reseptör sentez ve aktivitesi arasında sıkı ilişki bulunmaktadır (40,42). Bu nedenle plasental yetersizlik reseptör fonksiyonlarını etkilemektedir. Doğum kilosu placenta ağırlık oranının normalden yüksek olması plasental yetersizliği işaret etmektedir. Bu çalışmadaki östrojen ve progesteron reseptörü negatif olan olgularda, bu oran, aynı gestasyonel yaştaki pozitif olgulara ve normal değerlere oranla daha yüksektir (Grafik V). Ayrıca bu veriye ait p değeri 0.014 olarak saptanmıştır (Tablo VI). Bu değer < 0.05 olması istatistiksel önemliliği göstermektedir.

Östrojen ve progesteron reseptörlerinin bilinen klasik hedef dokuları; uterus, vajen, meme, ön hipofiz ve hipotalamustur (21). Uterustaki östrojen ve progesteron reseptör varlığını araştıran ve hayvan dokularının kullanıldığı immunohistokimyasal çalışmalarda; epitel hücrelerinde, bağ dokusu hücrelerinde ve düz kas hücrelerinde reseptör varlığı belirlenmiştir. Endotel hücrelerinde, perivasküler bağ dokusu hücrelerinde, granülositlerde, kan hücrelerinde ve peritoneal yüzeyi döşeyen mezotelial hücrelerde ise reseptör varlığı izlenmemiştir (69). Endometriumdaki östrojen reseptör varlığı hormonal durum ile yakın ilişkilidir. Örneğin progesteron verilen olgularda, luminal epitel hücrelerinde reseptör pozitivitesi kaybolurken, glandüler epitel ve stromal hücrelerde nükleer reseptör konsantrasyonu artmaktadır (70). Ayrıca menstrüal siklusun proliferatif fazında, epitelial ve stromal hücrelerde kuvvetli boyanma izlenirken, ovulasyonla birlikte boyanma yoğunluğu azalmakta ve sekresyon fazının sonuna doğru bazal epitel hücrelerinde tekrar pozitif boyanma gözlenmektedir (71). Uterus kavitesine rahim içi araç benzeri yabancı cisim konan farelerde, skuamöz metaplazik özellikteki luminal epitel hücrelerinin az ya da olumsuz boyanma gösterdikleri bildirilmiştir (72).

Serviks ve vajeni kapsayan benzer çalışmalarda epitel ve stromal hücrelerde sekretuar fazla birlikte reseptör pozitivitesi saptanmıştır. Bu pozitivite vajen mukoza epitelinde bazal hücrelerde daha belirgindir (11,21). Servikin glandüler epitel

hücrelerindeki reseptör pozitifitesi konusunda farklı bulgular vardır. Ancak genel olarak değişik hayvan deneylerinde farklı bulguların gözlenmesi tür farklılığına ve başka bir nükleer protein ile çapraz boyanmaya bağlanmaktadır (11).

Bizim çalışmamızda endometrium glandüler epitel hücrelerinde, serviks luminal epitel hücrelerinde hormon reseptör varlığı gösterilmiştir (Resim III,IV).

Östrojen ve progesteron hormonu, meme dokusunun normal gelişimi ve diferansiyasyonunda en önemli rolü oynayan hormonlardır. Perinatal dönemdeki meme dokusunda bu hormonlara en duyarlı alanlar, ilerde puberte döneminde asinüslara dönüşecek olan terminal epitel tomurcuklarıdır (73). Meme bezinde östrojen ve progesteron reseptör varlığını araştıran immunohistokimyasal çalışmalar, meme karsinomları dışında bazı hayvan deneyleridir. Bu çalışmalarda epitelial ve stromal hücrelerde reseptör pozitifitesi saptanırken, myoepitelial hücreler ve yağ hücreleri negatif sonuç vermiştir (74). Bizim çalışmamızda meme bezinde glandüler epitel hücrelerinde östrojen ve progesteron reseptörlerinin varlığı belirlenmiştir (Resim V,VI).

Ovaryum ve hipofiz dokuları, östrojen ve progesteron hormonları için diğer iki hedef dokusudur. Çalışmalarda; ovaryumda granüloza hücreleri östrojen reseptör antikorları ile kuvvetli pozitif boyanırken, teka-lutein hücreleri ve interstisyel hücrelerde hafif boyanma gözlenmiştir (21). Hipofiz bezinde ise; ön hipofizde yer alan asidofil, bazofil ve kromofob hücrelerde reseptör pozitifitesi saptanırken, arka hipofizde yer alan hücrelerde negatif boyanma gözlenmiştir (75). Ön hipofizdeki bu reseptör varlığı, hem östrojen, hem progesteron için geçerli olmakta; yaş, hormonal durum ve türe bağlı farklı özellikler göstermektedir. Ayrıca bu konuda erkek ya da dişi cinsiyet ayrımı bulunmamasına rağmen, Shughrue ve arkadaşları progesteron reseptörlerinin, hipofiz gelişimi yanısıra ve dişi davranıştan sorumlu olabileceğini savunmuşlardır (76). Hipofizde hormon reseptör varlığını inceleyen bir başka çalışmada Keefer ve arkadaşları, hipofizdeki östrojen reseptör varlığının geç gestasyonel dönemlerde ortaya çıktığını göstermişlerdir (77). Bizim çalışmamızda

da perinatal dönemdeki ovaryum ve hipofiz dokularında hormon reseptör varlığı belirlenmiştir (Resim VII, VIII).

Östrojen ve progesteron reseptörleri için kabul edilen klasik hedef dokuları içinde sonuncusu santral sinir sistemidir. Hipotalamus, amygdala ve preoptik bölge reseptör varlığının en belirgin olduğu santral sinir sistemi bölgeleridir (78). Çalışmamız bu dokuları içermemektedir.

Hedef dokular olmamalarına rağmen, östrojen ve progesteron reseptörleri diğer dokularda da gösterilmiştir. Örneğin Mendelson ve arkadaşları ikinci trimester insan abortuslarında, böbrek dokusunda östrojen reseptör varlığını belirlemişlerdir (79). Bunun yanısıra karaciğerin progesteron hormonu için hedef doku olduğunu bildiren çalışmalar vardır (80). Bizim çalışmamızda bu iki doku yanısıra; iskelet kası ve çizgili kas dokularında da östrojen ve progesteron reseptör varlığı izlenmemiştir. Ancak literatürde bu dokular yanısıra hormon reseptör varlığı pek çok dokuda gösterilmiştir. Bu dokular; adrenal, timus, lenf nodu, tükrük bezi, deri, kan damarı, akciğer, pankreas, erkek genital sistem organları, tiroid, sinovya, kemik, yağ dokusu, ince barsak, tuba uterina ve desidua'dır (21,81,82,83)

Plasenta intrauterin yaşam kalitesinde etkin rol oynayan bir organdır. Plasentada östrojen ve progesteron reseptör varlığını araştıran çalışmalarda farklı sonuçlar elde edilmiştir. Fujimori ve arkadaşları erken gestasyonel dönemde; sinsiyo trofoblastlarda reseptör varlığını göstermişlerdir. Aynı zamanda son dönem plasentalarında reseptör pozitifliğini bildiren çalışmalar vardır. Ancak bu bulguların aksine Padayachi ve arkadaşlarının çalışmalarında plasenta dokusunda herhangi bir sitozolik ya da nükleer reseptör varlığı gösterilememiştir (84, 85, 86, 87). Bizim çalışmalarımızda da bu çalışmaya benzer olarak plasenta dokularında östrojen ya da progesteron reseptör varlığı gözlenmemiştir.

SONUÇLAR

- 1- Bu çalışmada; endometrium, vagina-serviks, meme, over ve hipofiz dokularında östrojen ve progesteron reseptör aktivitesi immunohistokimyasal olarak gösterilmiştir. Bu aktivite üçüncü trimestr ile birlikte gözlenmekte doğum sonrası da devam etmektedir. Bu dokularda reseptör aktivitesinin saptanması, bu dokuların hedef doku olma özelliklerinden kaynaklanmaktadır.
- 2- Östrojen ve progesteron reseptör aktivitesinin negatif olduğu olgularda; doğum ağırlığı aynı gestasyonel yaştaki pozitif olgulardan daha düşük bulunmuştur. Ancak doğum ağırlığına ait p değerinin > 0.05 olması bu bulgunun istatistiksel önemsizliğini göstermektedir.
- 3- Doğum kilosu - plasenta ve beyin-karaciğer ağırlık oranları östrojen ve progesteron reseptör aktivitesi negatif olan olgularda aynı gestasyonel yaştaki pozitif olgulara oranla daha yüksek bulunmuştur. Ayrıca bu iki parametreye ait p değerlerinin < 0.05 olması, bulguların istatistiksel önemliliğini göstermektedir.
- 4- Çalışma kapsamındaki hiçbir olguda; plasenta, böbrek, karaciğer, kalp kası ve iskelet kası dokularında östrojen ya da progesteron reseptör aktivitesi saptanmamıştır.
- 5- Östrojen ve progesteron reseptör aktivitesi ile ayak uzunluğu ve oturma yüksekliği gibi dış ölçümler arasında bir ilişki bulunmamıştır. Aynı ilişkisizlik, anne yaşı, doğum sayısı ve sorunlu gebelik öyküsü için de söz konusudur. Ayrıca bu parametrelerle ilgili p değerlerinin > 0.05 oluşları bu verilerin istatistiksel açıdan önemsizliğini ortaya koymaktadır.

ÖZET

Bu çalışma, 37 dişi fetüs ve 10 dişi infanta ait postmortem incelemeyi kapsamaktadır. Çalışmada, postmortem inceleme sırasında çıkarılan; serviks, vajen, korpus uteri, meme, hipofiz, ovaryum, karaciğer, böbrek, çizgili kas, myokard ve plasenta dokularına ait kesitlere, östrojen ve progesteron reseptör varlığını araştırmak amacıyla immünohistokimyasal teknik uygulanmıştır. Bu amaçla 503 kesitte reseptör varlığı araştırılmıştır. Ayrıca reseptör aktivitesi pozitif ve negatif olguların; doğum kilosu, ayak uzunluğu, oturma yüksekliği, doğum kilosu-plasenta ağırlık oranı ve beyin-karaciğer ağırlık oranı gibi, intrauterin gelişmeyi gösteren parametrelerle ilişkisi, istatistiksel olarak değerlendirmiştir.

Sonuç olarak; vajen, serviks, korpus uteri, meme, ovaryum ve hipofiz dokularında, 3. trimesterden itibaren reseptör aktivitesi saptanmış ve bu aktivitenin doğum sonrası da devam ettiği gözlenmiştir. Diğer dokularda (karaciğer, böbrek, çizgili kas, myokard, plasenta) ise böyle bir aktivite saptanmamıştır.

Reseptör aktivitesi negatif olan olgularda aynı gestasyonel yaştaki pozitif olgulara oranla, doğum kilosu-plasenta ağırlık oranı ve beyin-karaciğer ağırlık oranı istatistiksel olarak daha yüksek bulunmuştur. Doğum kilosu reseptör aktivitesinin negatif olduğu olgularda daha düşük olmakla beraber, bu bulgunun istatistiksel olarak önemi görülmemiştir. Reseptör aktivitesi negatif ve pozitif olan olgularda, ayak uzunluğu ve oturma yüksekliği değerlerinden kaynaklanan bir farklılık saptanmamıştır.

KAYNAKLAR

- 1- Green S, Chambon P. The oestrogen receptor: from perception to mechanism. In: Parker MG (ed.) Nuclear hormone receptors. London: Academic Press, 1991: 15-38.
- 2- Klein-Hitpass L, Schorpp M, Wagner V, Ryffel GV. An oestrogen responsive element derived from the 5' flanking region. *Cell* 1986; 46: 1053-61
- 3- Jensen EV, Jacobsen HI. Oestrogen Receptors. In: Pingus G, Vollmer EP (eds.) Biologic activities of steroids to cancer New-York: Academic Press, 1960: 161-69.
- 4- Sherman MR, Corvol PL, O'Malley BW. Progesterone binding components of chick oviducts. *J Biol Chem* 1970; 245: 6085 - 96.
- 5- Edwards DP, Martin PM, Horwitz KB, Chammanes GC, McGuire WL. Subcellular compartmentalization of estrogen receptors in human breast cancer cells. *Exp Cell Res* 1980; 127: 197 - 202.
- 6- Welshons WV, Gorski J. Nuclear localization of unoccupied receptors for estrogens and progesterone in GH₃. *Endocrinology* 1985; 117: 214 - 19.
- 7- Munck A. Autoradiographic localization of steroids. In: Pasqualini JR (ed). Receptor and mechanism of action of steroid hormones. New York. Marcel Dekker Inc, 1976: 42 - 84.
- 8- Toft DO, Gorski J. A receptor molecule for estrogens. *Proc Natl Acad Sci USA* 1966; 5: 1574 - 81.
- 9- Jensen EU, Sujuki T, Kawashima T, Stumpf WE, Jungblut PW, De Sambre ER. A two step mechanism for the interaction of estradiol with rat uterus. *Proc Natl Acad Sci USA* 1968; 59:632-8.
- 10- Laumas KR, Farooq A. Progesterone binding component in rat and chick oviducts. *Am J Endocr.* 1966; 36:95-102.

- 11- Press MF, Greene GL. Recent developments in the use of antireceptor antibodies to study steroid hormone receptors. In: Clark CR (ed.) *Steroid hormone receptors*. Chichester: Ellis Horwood Ltd, 1987:251-275.
- 12- McClellan MC, West NB, Tacha DE, Green GL, Brenner RB. Immunohistochemical localization of estrogen receptors in the macaque reproductive tract with monoclonal antiestrophilins. *Endocrinology* 1984; 114:2002-14.
- 13- Perrot-Applanat M, Lageat F, Groyer-Picard MT, Milgrom E. Immunocytochemical study of mammalian progesterone receptor using monoclonal antibodies. *Endocrinology* 1985; 116:1473-81.
- 14- Press MF, Greene GL. An immunocytochemical method for demonstrating estrogen receptor in human uterus using monoclonal antibodies to human estrophilin. *Lab Invest* 1984; 50:480-89.
- 15- King WJ, De Sombre ER, Jensen EV, Greene GL. Comparison of immunocytochemical and steroid binding assays for estrogen receptors in human breast tumors. *Cancer Res* 1985; 45:293-99.
- 16- Paulsen HS, Ozzello L, King WJ, Greene GL. The use of monoclonal antibodies to estrogen receptor (ER) in paraffin sections of human breast cancer J *Histochem Cytochem* 1985; 33:87-95.
- 17- Bur ME, Green GL, Press MF. Estrogen receptor localization in formalin fixed, paraffin embedded endometrium. *Int J Gynecol Pathol* 1987; 6:140-151.
- 18- Lippman ME, Bolan G, Huff KK. The effects of androgens and antiandrogens on hormon responsive human breast cancer in long term tissue culture. *Cancer Res* 1976; 36:4595-601.
- 19- Concongiu ML, Chambers JT, Voynick JM, Pirro M, Schwarz PE. Immunohistochemical evaluation of estrogen and progesterone receptor content

- in 183 patients with endometrial carcinoma. *Am J Clin Pathol.* 1989; 94 (3): 247-54.
- 20- Giri DD, Dundas SAC, Nottingham JF, Underwood JCE. Oestrogen receptors in benign epithelial lesions and intraductal carcinomas of the breast: an immunohistological study. *Histopathology* 1989; 574-84.
- 21- Stumpf WE, Sar M. Autoradiographic localization of steroids. In: Pasqualini JR (ed.) *Receptor and mechanism of action of steroid hormones.* New York: Marcel Dekker. Inc, 1976:42-84.
- 22- Davies IJ, Naftalin F, Ryan KJ, Siv J. A specific high affinity of estrogen binding component in fetal pituitary and brain tissues. *J Clin Endocr Metab* 1975; 40:909-12.
- 23- Nguyen BL, Giambiagi N, Mayrand C, Lacerf F, Pasqualini JR. Estrogen and progesterone receptors in the fetal and newborn responses to tamoxifen. *Endocrinology* 1986; 119: 978-88.
- 24- Goebel R, Kuss E. Estrogen and progesterone in pathological pregnancies. In: Vermeulen A, Klopper A, Sciarra F, Jungblut P, Lerner L (eds.). *Research on steroids.* Amsterdam: Elsevier / North Holland Biomedical Press, 1987: 465-73.
- 25- Pasqualini JR, Kincl F.A. Biosynthesis and metabolism of different hormones. In: *Hormones and the fetus, Vol I.* Oxford: Pergamon Press Ltd, 1985: 105-139.
- 26- Everett RB, Mac Donald PC. Endocrinology of the placenta. *Ann Rev Med* 1978; 32: 473-88.
- 27- Wolf AS, Musch KA, Speidel W, Strecker JR, Lauritzen C. Steroid metabolism in the perfused human placenta. *Acta Endocr* 1978; 87: 181-91.
- 28- Stawe V. Steroid hormone formation and metabolism. In: *Perinatal Physiology.* New York and London: Plenum Medical Book Company, 1978: 775-87.

- 29- Wu CH, Flichinger GL, Archer DF, Tauchston JG. Estrogen formation in vitro by fetal liver, fetal adrenal gland and placenta of early human pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 1970; 107: 313-17.
- 30- Benagiano G, Mancuso S, De La Torne B. Metabolism of 17-beta-oestradiol by the previable human foetus in midterm. *Acta Endocr* 1970; 63: 39-49.
- 31- Sippel WG, Müller-Holoe W, Dörr HG, Bidlingmaier F, Knorr D. Concentration of steroids determined simultaneously in human amniotic fluid. *J. Clin Endocr Metab* 1981; 52: 385-92.
- 32- Martin CR. Steroid hormone secretion in juvenils. In: *Endocrine Physiology*. NewYork: Oxford University Press, 1985: 637.
- 33- Kenny FM, Angsusingha K, Stinson D, Hotchhiss J. Unconjugated estrogens in the perinatal period. *Pediatric Res* 1973; 7:826-31.
- 34- Abdul-Kerim A. Fetal endocrinology: A review. *J. Med Libon* 1967; 20-201-20.
- 35- Kuarstein B, Nördbö H, Schultz-Haudt SD. The nature of the ground substance and fibroblasts in connective tissue of the fetus. *Acta Endocrinol* 1963; 44: 209-18.
- 36- Sridoma V, Pacihi F, Yong IL, Maorwad A, Reiley M, Degroot EJ. Decreased levels of helper Tcells: possible cause of immun deficiency in pregnancy. *Steroids* 1982; 31: 627-43.
- 37- Frondsens VA, Jorgensen PL, Suenstrup B. The advantage of one thousand and one obstetrical patients assessed by estriol excretion. *Ann Clin Res* 1970; 2:354-64.
- 38- France T, Liggins GC. Placental sulfatase deficiency during human pregnancy. *J Clin Endocr Metab* 1969; 29:138-41.
- 39- Mac Donald PC, Siiteri PK. Origin of oestrogen in pregnant woman with an anencephalic fetus. *J Clin Invest* 1965; 44:465-74.

- 40- Pasgualini JR, Lensere A, Tahri-Tauteri A, Nguyen BL: Effects of oestrogen sulphates on uterine growth and on progesterone receptor in the foetal fetus. *Acta Endocr* 1982; 101:630-35.
- 41- Rao BR, Wiest WG, Allen WM. Progesterone receptors in human uterus. *Endocrinology* 1974; 95:1275.
- 42- Coural P, Falk R, Freifeld M, Bardin CW. In vitro studies of progesterone binding protein in pig uterus. *Endocrinology* 1972; 90:1464-69.
- 43- Pasgualini JR, Kincl FA, Sumida C. Receptors, mechanism of action and biological responses of hormones. In: *Hormones and fetus, Vol II*. Oxford: Pergamon Press, 1991: 51-265.
- 44- Reves ZC, Chappel CI, Gawday R. Masculinization of female fetuses in the rat. *Endocrinology* 1960; 66:140-44.
- 45- Press MF, Holt JA, Herbst AL, Greene GL. Immunohistochemical identification of estrogen receptor in ovarian carcinomas: Localization with monoclonal estrophilin antibodies compared with biochemical assays. *Lab Invest* 1985; 53:349-58.
- 46- Szego CM, Pitras RI. Subcellular distribution of oestrogen receptors. *Nature* 1985; 317: 88-99.
- 47- Schrader WT, Toft DO, O'Malley BW. Estrogen and progesterone binding components in the nucleus. *J Biol Chem* 1972; 247:2401-7.
- 48- Bharat J, Schmid KW. Prognostic typing of tumours. In: *Immunohistochemistry in diagnostic pathology*. Singapore: Churchill Livingstone Co. 1993:125-130.
- 49- De Sambre ER, Jensen EV, Stumpf WE. Estrogen receptor-directed radiotoxicity with Auger electrons. *Cancer Res* 1992; 51 (29): 5752-8.
- 50- McCarty KS, Jr, Miller LS, Cox EB, Konrath J. Estrogen receptor analyses: Correlation of biochemical and immunohistochemical methods using monoclonal antireceptor antibodies *Arch Pathol Lab Med* 1985; 109:716-29.

- 51- Creasman WT, Sasso RA, Weed JC, Jr, Mc Carty KS, JR. Ovarian carcinoma: Histological and clinical correlation of cytoplasmic estrogen and progesterone binding. *Gynecol Oncol* 1981; 12:319-328.
- 52- Mc Guire WL, Corbone PP, Sear ME; Escher GC. Estrogen receptors in human breast cancer; an overview. In: WL Mc Guire, PP Corbene, EP Vollmer (eds.). *Estrogen receptors in human breast cancer*. New York, Raven Press; 1975:1-8.
- 53- Singhakowinta A, Mohindra R, Brooks SC, Vaithevicus VK, Brennan MJ. Clinical correlation of endocrine therapy and oestrogen receptor. In: WL Mc Guire, PP Corbene, EP Volners (eds.). *Estrogen receptors in human breast cancer*. New York, Raven Press 1975: 131-133.
- 54- Shimade A, Kimura S, Abe K, Nagasaki K, Adachi I, Vamaguchi K et al. Immunohistochemical staining of estrogen receptor in paraffin section of human breast cancer by use of monoclonal antibody: Comparison with that in frozen sections. *Proc Natl Acad USA* 1985; 82:4803-11.
- 55- Hendrichsen CW. Oestrogen and pregesterone receptors in colorectal cancers. *Br J Surg* 1993; 80 (5): 630-46.
- 56- Piantelli M. Type II oestrogen binding sites and antiproliferative activity in human meningiomas. *Cancer* 1993; 71(1): 193-8.
- 57- Matsoi M, Inoue H. The prognosis of patients with gastric cancer possessing sex hormone receptors. *Surg Today* 1992; 22:421-5.
- 58- Cagle PT, Campbell JH, Goldman S. Estrogen and progesterone receptors in bronchogenic carcinoma. *Cancer Res* 1990; 50(20): 6632-5.
- 59- Cohen C, Wolf H. Estrogen receptor status in malignant melanoma. *Am J Dermatopathol* 1991; 12(6): 562-4.
- 60- Lorocca LM. Type II oestrogen binding sites in acute lymphoid and myeloid leukaemias. *Br J Haematol* 1951; 75(4): 489-95.

- 61- Masoad S. Estrogen and progesterone receptors in cytology. *Diag Cytopathol* 1992; 8(5): 475-91.
- 62- Greene GL, Jensen EV. Monoclonal antibodies as probes for estrogen receptor detection and characterization. *J Steroid Biochem* 1982; 16: 353-60.
- 63- Greene GL. Application of immunochemical techniques to the analysis of estrogen receptor structure and function. In Litwack G (ed). *Biochemical action of hormones*. New York, Academic Press; 1984: 13-26.
- 64- Walter P, Green S, Greene G, Krust A, Bornet JM, Jeltsch IM, Staub A et al. Cloning of the human estrogen receptor c DNA. *Proc Natl Acad Sci USA* 1985; 82: 7889-94.
- 65- King WI, Green GL. Monoclonal antibodies localize oestrogen receptor in the nuclei of target cells. *Nature* 1984; 307: 745-50.
- 66- Esteban JM, Uchida T, Maddelozzo I. Improvement of the quantification of estrogen and progesterone receptors in parafin-embedded tumors by image analysis. *Am J Clin Pathol* 1993; 99 (1): 32-8.
- 67- Schutte B, Kommass A. Flow cytometric steroid receptor analysis. *Prog Histochem Cytochem* 1992; 26: 1-4.
- 68- Batcup G. Prematurity. In: Keeling JW (ed). *Fetal and neonatal pathology* London, Springer Verlag; 1993: 200-222.
- 69- Press MF, Nausek-Gaubl NA, Greene GL. Estrogen receptor localization in the female genital tract. *Am J Pathol* 1986; 123: 280-91.
- 70- WE Stumpf, M Sar. Estrogen receptor status. In: Velordo JT, Pasprow A (eds). *The biological perspectives of the uterus*. New York, Academic Press; 1976: 104-19.
- 71- Press MF, Nausek-Gouble NA, King WJ, Herbst Al, Greene GL. Immunochemical assesment of oestrogen receptor distribution in the human endometrium throughout the menstrual cycle. *Lab Invest* 1984; 51: 495-99.

- 72- Stumph WE, Joshi SG, Sar M. Effects of intrauterine foreign body on the localization of (3H)-estradiol in rat uterine tissues. *Proc Soc Exp Biol Med* 1973; 142: 973-6.
- 73- Clarke R, Dickson RB, Lippman ME. The role of steroid hormones and growth factors in the control of normal and malignant breast. In: Parker MG (ed). *Nuclear hormone receptors*. London, Academic Press; 1991: 297-300.
- 74- Sar M, Stumpf WE. Autoradiography of mammary glands and uteri of mice after injection of [H] estradiol. *J Steroid Biochem* 1976; 7: 391-4.
- 75- Stumpf WE, Sar M, Keefer DA. Hormon receptor status of steroids. In: Tixier-Vidal A, Forquhar M (eds). *Pituitary: Ultrastructure in biological systems*. New York, Academic Press; 1975: 63-82.
- 76- Shunghrue PJ, Stumpf WE, Sar M, Elger W, Schulze PE. Progesterin receptors in brain and pituitary of 20 day old fetal mice *Endocrinology* 1989; 125:333-8.
- 77- Keefer D, Holdregger C. The antagonism of estrogen receptors; the brain and pituitary. *Dev Brain Res* 1985; 19: 1386-95.
- 78- Davies IJ, Naftolin F, Ryan KJ, Siu J. A specific high affinity, limited capacity estrogen binding component in fetal and brain tissues. *J Clin Endocr Metab* 1975; 40: 909-12.
- 79- Mendelson CR, Mac Donald PC, Johnston JM. Estrogen binding in human fetal lung and kidney tissues. *Endocrinology* 1980; 106: 360-74.
- 80- Greenway B, Iqbal MJ, Johnson PJ, Williams R. Oestrogen receptor proteins in malignant and fetal pancreas. *B Med J* 1981; 282: 751-3.
- 81- Ben-Hur H, Campbell JH, Kabowski J. Localization of oestrogen receptors in long bones and vertebra of human fetuses. *Calcif Tissue Int* 1993; 53(2): 91-6.
- 82- Wu WX, Curtis JW. Immunolocalization of oestrogen and progesterone receptors in the human decidua. *Human Reprod* 1993; 8(7): 1129-35.

- 83- Mizutoni T. Identification of oestrogen receptor in human adipose tissue. *J Clin Endocrinol Metab* 1994; 78(4): 950-4.
- 84- Yaunes MA, Besch NF, Besch PK. Estrodiol and progesterone binding component in human cytosol. *Am J Obstet Gynecol* 1981; 141: 170-4.
- 85- Fujimori K, Yomada M. In vitro evidence for 17β estradiol receptor in the human placenta. *Cell Mol Biol* 1977; 22: 357-65.
- 86- Rwese R. Oestrogen and progesterone receptors in human term placenta. *Placenta* 1989; 10(6): 570-78.
- 87- Padayachi T, Pegorora RJ, Hodmayer J, Jaoubert SM, Norman RT. Decreased concentration and affinities of oestrogen and progesterone receptors. *J Steroid Biochem* 1987; 26: 473-78.