

Endometriozis Olgularında Endometrium ve Ovarian Endometrioma Dokularındaki Östrojen ve Progesteron Reseptör Düzeyleri

ESTROGEN AND PROGESTERONE RECEPTOR LEVELS OF ENDOMETRIUM AND OVARIAN ENDOMETRIOMA IN ENDOMETRIOSIS

Şebnem ALTUNYURT*, Ata ÖNVURAL**, Sabahattin ALTUNYURT***, Meral KOYUNCUOĞLU****, Burçin TUNA*****

* Uz.Dr., Dokuz Eylül Üniversitesi Kadın Hastalıkları ve Doğum AD,
** Prof.Dr., Dokuz Eylül Üniversitesi Kadın Hastalıkları ve Doğum AD,
*** Yrd.Doç.Dr., Dokuz Eylül Üniversitesi Kadın Hastalıkları ve Doğum AD,
**** Prof.Dr., Dokuz Eylül Üniversitesi Patoloji AD,
*****Yrd.Doç.Dr., Dokuz Eylül Üniversitesi Patoloji AD, İZMİR

Özet

Amaç: Ovarian endometrioma dokusundaki östrojen ve progesteron reseptör düzeyleri ile endometrium östrojen ve progesteron reseptör düzeyleri arasındaki ilişkisinin araştırılması.

Çalışmanın Yapıldığı Yer: Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum AD.

Materyal ve Metod: Histopatolojik olarak ovarian endometrioma tanısı almış 32 olgu çalışmaya alındı. Olguların ovarian endometrioma ve uterin endometrium doku örneklerinde immünohistokimyasal yöntemle östrojen ve progesteron reseptör düzeyleri belirlendi. Endometrial ve endometrioma reseptör düzeyleri arasındaki ilişki araştırıldı.

Bulgular: Endometriumdaki östrojen reseptörleri ile ovarian endometriomadaki östrojen reseptörleri arasında anlamlı bir pozitif korelasyon saptandı ($p<0.05$; $r=0.397$). Benzer korelasyon progesteron reseptörleri için de gösterildi. Ayrıca, hem endometriumda hem de ovarian endometriomadaki östrojen reseptörleri ile progesteron reseptörleri arasında da kuvvetli bir korelasyon saptandı.

Sonuç: Bizim verilerimize göre endometriumdan alınan örneklerin östrojen ve progesteron reseptör düzeyleri bakılarak endometriotik odaklardaki reseptör seviyeleri konusunda bir fikir sahibi olunabileceği sonucuna varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Östrojen reseptörü, Progesteron reseptörü, Endometriozis, Endometrioma

T Klin Jinekoloj Obst 2003, 13:284-287

Summary

Objective: To determine the relationship of estrogen and progesterone receptor levels between the ovarian endometrioma and uterine endometrium.

Institution: Dokuz Eylül University School of Medicine, Department of Obstetrics and Gynecology.

Materials and Method: 32 cases with the diagnosis of ovarian endometrioma after histopathologic evaluation were included into study. Estrogen and progesterone receptor levels were determined by immunohistochemical study in ovarian endometrioma and uterine endometrium. Relationship of estrogen and progesterone receptor levels between the ovarian endometrioma and endometrium tissues were determined.

Results: A significant positive correlation was determined between estrogen receptor levels of endometrium and ovarian endometrioma ($p<0.05$; $r=0.397$). A similar correlation was determined for progesterone receptors. Furthermore, significant correlations were determined between estrogen and progesterone receptore levels of both endometrium and ovarian endometrioma tissues.

Conclusion: According to our data it may be possible to estimate the estrogen and progesterone receptor levels of endometrioma by evaluating the estrogen and progesterone receptor levels of endometrial tissue samples.

Key Words: Estrogen receptor, Progesterone receptor, Endometriosis, Endometrioma

T Klin J Gynecol Obst 2003, 13:284-287

Endometriozis, uterin kavite dışında endometrial bezlerin ve stromanın varlığının histolojik olarak tespit edilmesi ve ektopik dokuda doku hemorajisi ve hemosiderin yüklü makrofajların bulunması ile karakterize bir hastalıktır (1). Endometriozis genellikle pelvik ağrı ve infertilite şikayetleri ile karşımıza çıkan ve jinekolojik hastalıklar içinde önemli bir oranı oluşturan kronik bir hastalıktır (2). Etiyolojisi ve patogenezi hakkındaki bilgilerimiz sınırlı olsa da büyük bir olasılıkla östrojen, hastalığa yol açan endometriotik dokuların büyümesini stimüle etmektedir. Endometriozisin en sık

implantasyon yerleri pelvik organlar ve peritondur (3).

Endometriotik dokuda östrojen, progesteron ve androjen reseptörleri vardır (3). Endometriotik dokunun büyümesi için östrojene ihtiyaç vardır. Reseptör ölçümleri biyokimyasal yöntemler (ligand bağlama yöntemiyle radyoaktif işaretli sentetik steroidler kullanılır) ve immünohistokimyasal tekniklerle yapılır. Endometriumda östrojen reseptörleri geç proliferatif fazda maksimum olur. Progesteron reseptör seviyesi erken sekresyon fazında ve ovulasyonda en yüksek düzeydedir (4).

Bu çalışmanın amacı, oluşumunun östrojene bağımlı olduğu bilinen endometriozisin medikal tedaviye vereceği yanıtın tahmin edilmesinde; endometriotik odaklardaki östrojen ve progesteron reseptör düzeylerinin saptanmasının klinik olarak yararlı olup olmayacağını belirlemesidir. Bu çalışmada; endometriotik odaktaki östrojen ve progesteron reseptör düzeylerinin, endometriumdaki reseptör düzeyleri ile ilişkisi araştırılmıştır. Daha az invaziv bir yöntemle (endometrial biopsi olarak) endometriotik odakların reseptör düzeyleri hakkında bilgi edinebilme olasılığı irdelenmiştir.

Materyel ve Metod

1996-2002 yılları arasında Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalında total abdominal histerektomi ve tek yada çift taraflı salpingo-ooferektomi veya Ooferektomi+Endometrial biyopsi yapılmış histopatolojik inceleme sonucu "endometrioma" tanısı almış toplam 32 olgu çalışmaya dahil edildi. Çalışmaya dahil edilme kriterleri:

1. Premenopozal dönemde olanlar
2. Operasyonun yapıldığı dönemde menstrual siklusun folliküler fazında bulunanlar
3. Endometrioması bulunan ve eşzamanlı olarak endometrioma ait doku örneği olanlar (histerektomi materyali veya endometrial biopsi materyali)
4. Son 3 ay içinde herhangi bir hormonal tedavi almamış olanlar

Hastaların yaş, gravida, AFS skorları, kronik kasık ağrısı öyküsü ve operasyon tipi gibi özellikleri belirlendi.

Bu olgulara ait formalinde fiske, parafinde gömülü endometrial ve endometrioma dokularına immünohistokimyasal olarak (İHK) östrojen reseptör (ÖR) ve progesteron reseptör (PR) spesifik primerler uygulanmıştır. Kullanılan antikorlar ve dilüsyonları, ER, NOVO CASTRA NCLbF11, 1:40 ile PR, NOVO CASTRA NCLB12 1:100'dür.

İmmünohistokimyasal uygulamalarda kullanılan primer antikorlar için pozitif kontrol olarak endometrium dokusu kullanılmıştır. İHK, peroksidaz ile işaretlenmiş streptavidin-biotin yöntemi kullanılarak yapılmıştır. ZYMED östrojen ve progesteron antikorları uygulanacak deparafinize kesitler, boyama öncesi sitrat tampon solüsyonu (10 mM, pH=6) içinde özel plastik kutulara yerleştirilerek, mikrodalga fırında üç kez beşer dakika süreyle kaynatılmıştır. Böylece epitopun ortaya çıkması sağlanmıştır. Kesitler mikrodalga fırından çıkartılarak oda ısısında soğumaya bırakılmıştır. Daha sonra kesitlere %3'lük hidrojen peroksit damlatılarak endojen peroksidaz aktivitesi bloke edilmiştir, 10 dakika serum blocking solution'da bekletil-

Tablo 1. Nükleer boyanma yüzdesine ve boyanma yoğunluğuna göre reseptör skorlaması

Nükleer boyanma yüzdesi	Skor	Boyanma yoğunluğu	Skor
0-%25	1	Boyanma yok ya da zayıf	1
%26-%75	2	Kuvvetli boyanma	2
%76-%100	3	Çok kuvvetli boyanma	3

miştir. Daha sonra primer antikorlar damlatılarak 60 dakika beklenmiştir. 60 dakika sonunda kesitler pH'sı 7.2 olan TRIS'de yıkanarak primer antikorun uzaklaşması sağlanmıştır. Ardından sırasıyla bağlayıcı biotinize sekonder antikor ve streptavidin peroksidaz solüsyonu damlatılarak 10'ar dakika beklenmiş ve TRIS'de yıkanmıştır. Peroksidaz aktivitesini göstermek için kromojen olarak 3,3'-diaminobenzidin tetraklorür (DAB) kullanılmıştır. Çeşme suyunda yıkanan kesitler Mayer's hematoksilen ile zıt boyama yapıldıktan sonra yükselen alkol serilerinden geçirilip, 20 dakika ksilolde bekletilerek şeffaflamaları sağlanmış ve Entellan (Merck) damlatılarak kapatılmıştır.

İmmünreaktivitenin Değerlendirilmesi: Östrojen reseptör ve progesteron reseptör ekspresyonları immünohistokimyasal olarak duktuslarda kahverengi nükleer boyanma olumlu olarak değerlendirilmiştir. Östrojen reseptör ve progesteron reseptör ekspresyonları duktuslardaki nükleer boyanmanın yoğunluğuna ve boyanan hücrelerin yüzdesine göre değerlendirilmiştir. Bu iki değerlendirmeden elde edilen skorların toplanması ile toplam immünohistokimyasal skor elde edilmiştir. Değerlendirme Tablo 1'da gösterilmiştir.

Boyanma derecesi, "toplam immünohistokimyasal skor" üç gruba ayrılarak hesaplanmıştır. Toplam immünohistokimyasal skor ise nükleer boyanma yüzdesinden elde edilen skor ile boyanma yoğunluğundan elde edilen skorun toplamıdır.

Bu değerlendirmede toplam skoru 2 olanlar 1. grup (reseptör negatif) olarak değerlendirilirken, toplam skoru 3-4 olanlar 2. grup ve toplam skoru 5-6 olanlar 3. grup olarak belirlenmiştir (5).

Hesaplanan toplam immünohistokimyasal reseptör skorunun hastaların belirlenen yaş, AFS skoru ile ilişkisi araştırıldı. Ayrıca yaş ile AFS arasındaki ilişki de değerlendirildi. Endometrium ve endometrioma örneklerindeki toplam immünohistokimyasal östrojen ve progesteron reseptör skorlarının da birbiri ile ilişkisi araştırıldı.

İstatistiksel İşlemler: Çalışma grubuna ait tanımlayıcı istatistikler ve belirlenen datalar arasındaki korelasyon değerlendirmeleri SPSS 10.0 for Windows bilgisayar programı ile yapıldı. Korelasyon değerlendirmelerinde Pearson

Tablo 2. Çalışma grubunun tanımlayıcı özellikleri

Özellik	Minimum-Maksimum	N	Ortalama ± SD
Yaş	36-50	32	42.69±3.09
Gravida	1-4	32	2.19±0.86
AFS Skoru	18-90	32	44.13±1.39
Kasık ağrısı öyküsü	Var	26	%81.3
	Yok	6	%18.7
Operasyon tipi	TAH+BSO	26	%81.3
	TAH+USO	4	%12.5
	Oofektomi	2	%6.2

TAH-Total Abdominal Histerektomi
BSO- Bilateral salpingo-oofektomi
USO- Unilateral salpingo-oofektomi

Correlation testi kullanıldı. $p<0.05$ anlamlı olarak değerlendirildi.

Bulgular

Çalışma grubundaki hastalara ait ortalama yaş, gravida, AFS skoru gibi tanımlayıcı özellikler Tablo 2'de verilmiştir.

Çalışmaya katılan hastaların büyük bir grubunda (%81.3) öyküde kronik kasık ağrısı şikayeti belirlendi. Hastaların %81.3'üne TAH+BSO operasyonu uygulanırken 2 hastada oofektomi ve endometrial örnekleme uygulanmıştı. Ayrıca 4 hastada TAH+USO tercih edilmişti (Tablo 2).

Hastaların belirlenen immünohistokimyasal skorları (boyanma yüzdesi ve boyanma yoğunluğunun değerlendirilmesinden elde edilen skorların toplamı olan skor=toplam immünohistokimyasal skor) karşılaştırıldığında östrojen ve progesteron reseptör skorları açısından endometrium ve endometrioma sonuçlarının anlamlı olarak farklılık göstermediği belirlendi ($p>0.05$) (Tablo 3).

Hastalardan elde edilen bulguların birbiriyle ilişkilerinin araştırılması amacıyla korelasyon testleri yapıldı. Bu değerlendirmede endometrial örneklerdeki östrojen reseptör skorları ile endometrioma örneklerindeki östrojen re-

septör skorları arasında da orta derecede anlamlı pozitif bir korelasyon belirlendi ($p<0.05$, $r=0.397$). Benzer bir korelasyon progesteron reseptörleri için de gözlemlendi ($p<0.05$; $r=0.360$). Bu sonuçlara ilave olarak hem endometrium hem de endometrioma doku örneklerinde hesaplanan östrojen reseptör skorları ile progesteron reseptör skorları arasında endometrioma için daha kuvvetli olmak üzere anlamlı bir pozitif korelasyon belirlendi ($p<0.05$) (Tablo 4).

Tartışma

Çalışmamızda hastalardaki AFS skoru ile endometrium ve endometriomadaki östrojen ve progesteron reseptör düzeyleri arasında anlamlı bir ilişki gösterilemedi. Hastalığın yaygınlığı ile endometriotik odaklardaki östrojen veya progesteron reseptörlerinin muhtemel ilişkisi hastalığın etiopatogenezine katkıda bulunabilecek bir bulgu olabilirdi. Ancak bu ilişkinin gösterilebilmesi belki hastalığın başlangıcından itibaren geçen zaman gibi başka bazı hastalığın yaygınlığına etkili diğer faktörler elimine edildiğinde mümkün olabilecektir.

Hastaların yaşı ile gerek endometrium ve gerekse endometriomalardaki östrojen ve progesteron düzeyleri arasında anlamlı bir ilişki gösterilememiştir. Hastalar premenopozal olgulardan seçildiği için menopozun getirdiği hormonal destek azalmasının reseptör düzeyleri üzerine muhtemel etkileri de gözlenmemiştir. Bu bilgilere göre premenopozal kadınlarda endometrial östrojen ve progesteron reseptör miktarının yaşa bağlı olarak lineer bir değişim göstermediği ve başka bazı faktörlerden etkilendiği söylenebilir.

Normal endometriumda östrojen reseptörlerinin en yüksek konsantrasyonlarda bulunduğu dönem menstrual siklusun geç proliferatif fazıdır. Progesteron reseptör seviyesi erken sekretuar fazda ve ovulasyonda en yüksek düzeydedir. Östrojen ve progesteron reseptör komponenti sekretuar faz boyunca azalır (6). Bu bilgiye dayanarak menstrual siklusun endometrial reseptör düzeylerine etkisini minimize etmek için bizim çalışmamıza katılan hastalar menstrual siklusun folliküler dönemindeki olgulardan seçildi.

Fujishita ve arkadaşları (7) yapmış oldukları çalışmalarında endometriumda östrojen reseptörlerinin menstrual siklusun proliferatif döneminde en yüksek olduğunu ve

Tablo 3. Çalışma grubunun endometrium ve endometriomada saptanan toplam immünohistokimyasal östrojen ve progesteron reseptör skor ortalamaları

Reseptör	Doku	Ortalama ± SD	Minimum-Maksimum	p
Östrojen	Endometrium	4.94±1.27	2-6	0.481
	Endometrioma	4.72±1.20	2-6	
Progesteron	Endometrium	5.38±1.29	2-6	0.600
	Endometrioma	5.22±1.07	2-6	

Tablo 4. Elde edilen bulguların birbiri ile ilişkisinin değerlendirilmesi (korelasyon analizi)

Karşılaştırılan parametreler	P	r
Yaş-AFS skoru	0.917	0.019
Yaş-Endometrium E rs	0.880	0.028
Yaş-Endometrium P rs	0.684	-0.075
Yaş-Endometrioma E rs	0.482	-0.129
Yaş-Endometrioma P rs	0.290	-0.193
AFS skoru- Endometrium E rs	0.414	-0.149
AFS skoru- Endometrium P rs	0.967	0.008
AFS skoru- Endometrioma E rs	0.785	-0.050
AFS skoru- Endometrioma P rs	0.266	-0.203
Endometrium E rs- Endometrioma E rs	0.027	0.397
Endometrium P rs- Endometrioma P rs	0.043	0.360
Endometrioma E rs- Endometrioma P rs	0.020	0.409
Endometrioma E rs- Endometrioma P rs	0.001	0.629

rs-Reseptör skoru

luteal faza doğru azaldığını ifade etmişler ancak peritoneal endometriotik odaklardaki östrojen ve progesteron reseptörlerinin siklusa bağımsız olarak her dönemde yüksek düzeylerde olduğunu açıklamışlardır. Bu çalışmada 26 hastada 18 peritoneal endometriotik odakta alınan biyopsi çalışılmıştır. Vaka sayısının bizim çalışmamıza göre daha az olması ve değişik yapıdaki peritoneal lezyonlardan (siyah lezyon, mavi lezyon) örnekler alınmış olması dolayısıyla endometriotik lezyonlardaki östrojen, progesteron reseptörleri düzeyindeki faza bağlı değişimin gösterilememiş olabileceği düşünülebilir. Jiang ve arkadaşlarının 2002 yılında yayınlanan çalışmalarında (8) 22 endometriotik doku örneğinde östrojen reseptörlerinin siklusa geç proliferatif dönemde en yüksek düzeyde olduğu ve geç sekretuar döneme doğru azaldığı görülürken progesteron reseptörlerinde bu değişim görülmemiştir. Reseptör seviyelerindeki bu değişiklikler kişisel yanıt farklılıklarından kaynaklanabileceği gibi kullanılan yöntemle ilgili de olabilir. Bununla beraber bu çalışmada endometriotik odaklardaki östrojen reseptör düzeyinin geç sekretuar fazda azalmasının bu odakların proliferasyon kabiliyetlerinin bu dönemde azaldığı yönünde yorumlanabileceği ifade edilmiştir. Ancak daha önce yapılan bir çalışmada endometriotik dokuların normal endometrium dokusundan farklı olarak geç sekretuar fazda bile proliferatif aktivitesini devam ettirdiği ve bu bulgunun endometriotik implantların hormonlara endometriumdan daha az bağımlı olduğu şeklinde yorumlanabileceği ifade edilmiştir (6).

Bizim çalışmamızda endometriumdaki östrojen reseptörleri ile endometriomadaki östrojen reseptörleri arasında anlamlı bir pozitif korelasyon saptandı ($p<0.05$; $r=0.397$). Bu ilişki bizi endometriozisli olgularda endometriotik odaklardaki reseptör düzeyinin endometrial örneklerde

reseptör düzeyi bakılarak tahmin edilebileceği sonucuna götürebilir. Benzer korelasyon progesteron reseptörleri için de gösterildi. Diğer taraftan endometriumdaki östrojen reseptörleri ile progesteron reseptörleri arasında da kuvvetli bir korelasyon saptanmıştır ($p<0.05$; $r=0.656$). Aynı ilişki endometriomalarda da östrojen ve progesteron reseptörleri arasında gösterilmiştir ($p<0.05$; $r=0.369$). Bu anlamlı ilişkiler sonucu endometriumdaki ve endometriomalardaki östrojen ve progesteron reseptörlerinin bir paralellik gösterdiği ve endometriozisli hastalarda endometriumdan alınan bir biopside östrojen ve progesteron reseptör yoğunlukları bakılarak endometriotik odaklardaki reseptör seviyeleri konusunda bir fikir sahibi olunabileceği sonucuna varılabilir. Daha sonra yapılacak çalışmalarda eğer östrojen ve/veya progesteron reseptörünü daha fazla taşıyan endometriotik odakların medikal tedaviye daha iyi yanıt verdiği konusunda veriler elde edilirse bu bilgiler daha anlamlı olacaktır. Böyle bir durumda endometriozisli olgularda endometriumdan alınan biopside yapılan reseptör çalışması ile hastanın medikal tedaviye nasıl bir yanıt vereceği konusunda yorum yapmak mümkün olabilecektir.

Bu bilgilerin ışığı altında, bundan bir sonraki aşamada endometriumda östrojen ve progesteron reseptörleri az veya çok olan vakalarda medikal tedaviye vereceği yanıtın klinik olarak karşılaştırılması yapılabilir.

KAYNAKLAR

1. Thomas E. The clinician's view of endometriosis. Int J Gynaecol Obstet 1999; 64(Suppl 1) :1-3.
2. Brosens IA. Symptomatic endometriosis: focus on recurrent ectopic bleeding as a defining feature of endometriosis and therapeutic target. Hormonal Ther Obstet Gynaecol 1999; 5:4-11.
3. Teirney R, Prentice A. The medical management of endometriosis. Reviews in Gynaecological Practice 2002; 2:91-7.
4. Vinatier D, Orazi G, Cosson M, Dufour P. Theories of endometriosis. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol 2001; 96:21-34.
5. Silverstein MJ, Lagios MD, Craig PH, Waisman JR, Lewinsky BS, Colburn WJ, Poller DN. A prognostic index for ductal carcinoma in situ of the breast. Cancer 1996; 77(11):2267-74.
6. Nisolle M, Casanas-Roux F, Donnez J. Immunohistochemical analysis of proliferative activity and steroid receptor expression in peritoneal and ovarian endometriosis. Fertility and Sterility 1997;68(5):912-9.
7. Fujishita A, Nakane PK, Koji T, Masuzaki H, Chavez RO, Yamabe T, Ishimaru T. Expression of estrogen and progesterone receptors in the endometrium and peritoneal endometriosis: an immunohistochemical and in situ hybridization study. Fertility and Sterility 1997; 67(5): 856-64.
8. Jiang J, Wu R, Wang Z, Sun H, Xu Z, Xiu H. Effect of mifepristone on estrogen and progesterone receptors in human endometrial and endometriotic cells in vitro. Fertility and Sterility 2002; 77(5):995-1000.

Geliş Tarihi: 22.01.2003

Yazışma Adresi: Dr Şebnem ALTUNYURT
Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi
Kadın Hastalıkları ve Doğum AD,
35340, İnciraltı, İZMİR
s.altunyurt@deu.edu.tr