



Koç ve Boğa Abomazumunda Progesteron Reseptörünün İmmunlokalizasyonu

Narin LİMAN¹, Ergül ERGEN¹, Ural Kemal KAVRAAL¹, Zela KARAKOÇ²

¹Erciyes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Kayseri-TÜRKİYE

²Siirt Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Siirt-TÜRKİYE

*Sorumlu yazar: Narin LİMAN; E-posta: narinliman@gmail.com; ORCID:0000-0001-5489-2719

Atif yapmak için: Liman N, Ergen E, Kavraal UK, Karakoç Z. Koç ve boğa abomazumunda progesteron reseptörünün immunlokalizasyonu. Erciyes Üniv Vet Fak Derg 2019; 16(3): 162-169.

Özet: Progesteron (P4) memeli ovaryumunda korpus luteum tarafından üretilen, hem dişi ve erkek üreme sistemlerinde hem de reproduktif olmayan doku ve organlarda çeşitli fonksiyonlar üstlenir. P4 hedef dokulardaki etkilerini, progesteron reseptörü (PR) adı verilen spesifik hücre içi reseptörler aracılığıyla gerçekleştirir. Çeşitli çalışmalar PR'lerinin hem normal sağlıklı hem de kanserli mide dokularında ekspres edildiğini ve mide mukozasının progesteron eylemi için hedef doku olduğunu ortaya koymaktadır. PR ekspresyonu insan, fare, rat ve mongol gerbil midesinde rapor edilmesine rağmen koç ve boğa midelerinde bu reseptörün varlığına dair çalışma bulunmamaktadır. Sunulan çalışmanın amacı PR'ünün erişkin koç ve boğa abomazumlarının kardiya, fundus ve pilorus bölgelerinde ekspres edilmediğini, PR ekspresyonunun mide bölümlerinin yapısal özelliklerine bağlı bir değişim gösterip göstermediğini immunohistokimyasal yöntemle belirlemek ve PR'ünün olası rolünü değerlendirmektir. Çalışmamızda her iki türün abomazum bölümlerinde yüzey epitel hücreleri hariç, foveola gastrika'yı örten epitel hücrelerinde ve lamina propriyadaki bez epitel hücrelerinde PR'ünün çekirdekten ziyade sitoplazmik ve membransel yerleşim gösterdiği tespit edildi. Koç abomazumunun kardiya bölümünde de bulunduğu gözlenen pariyetal hücreler ile her iki türün fundus bölgesindeki pariyetal hücrelerde PR immunreaksiyonunun kuvvetli sitoplazmik olduğu gözlemlendi. Pylorus bölgesinde foveola gastrika epitel hücrelerinin ve müköz bez epitel hücrelerinin bazal sitoplazmalarının ve lateral membranlarının PR için pozitif boyanma sergiledikleri görüldü. Bunların yanı sıra koç ve boğa abomazumlarının her üç bölümünde tunika muskularisi oluşturan düz kas hücrelerinde, lamina propria ve tunika muskularisdeki kan damarlarının endotel ve düz kas hücrelerinde sitoplazmik PR immunreaksiyonu tespit edildi. Sonuç olarak bu bulgular progesteronun, koç ve boğa midelerinde çeşitli biyolojik süreçleri PR'leri aracılığıyla düzenlediğinin önemli bir kanıtı olabilir.

Anahtar kelimeler: Abomazum, boğa, immunohistokimya, koç, progesteron reseptörü

The Immunolocalization of Progesterone Receptor in the Abomasum of Ram and Bull

Summary: Progesterone (P4), which is produced by the corpus luteum in the mammalian ovary, undertakes various functions in both female and male reproductive systems as well as non-reproductive tissues and organs. P4 effects the effects of target tissues via specific intracellular receptors called progesterone receptor (PR). Several studies have demonstrated that PR is expressed in both healthy and cancerous stomach tissues and that the gastric mucosa is the target tissue for progesterone action. Although PR expression is reported in human, mouse, rat and mongol gerbil stomach, there is no study of the presence of this receptor in rams and bull abomasum. The purpose of the present study was to investigate whether PR is expressed in adult ram and bull abomasum, and whether the PR expression exhibits a change depending on the structural properties of the abomasum regions, i.e. the cardia, fundus and pylorus using immunohistochemistry, and to evaluate the possible function of PR. In both species, the epithelial cells lining the foveola gastrica and the epithelial gland cells in the lamina propria, except for surface epithelial cells, exhibited cytoplasmic and membranous immunostaining for PR. The parietal cells of the fundus region in the abomasum of both species and of the cardia region of ram abomasum displayed strongly cytoplasmic PR immunoreactivity. The basal cytoplasm and lateral membranes of the epithelial cells in the foveola gastrica and the epithelial cells of mucous gland in the pylorus region showed positive staining for PR. In addition, cytoplasmic PR immunoreactivity was detected in the smooth muscle cells of tunica muscularis and in the endothelial and smooth muscle cells of blood vessels in the abomasum wall. As a result, these findings may be an important proof that P4 regulates biologically distinct processes in abomasum of ram and bull through the action of the PRs.

Key words: Abomasum, bull, immunohistochemistry, progesterone receptor, ram

Giriş

Progesteron (P4) dişilerde ovaryumda korpus luteum tarafından üretilen ve hem dişi hem de erkek repro-

düktif sistemde merkezi rol oynayan steroid yapıda bir hormondur (30). Dişilerde ovulasyon, implantasyon, desidualizasyon, doğum ve meme gelişimi gibi temel olayları tetikler (11). Erkeklerde ise spermatogenez, akrozom reaksiyonu ve testosteron biyosentezini kontrol eder (19). Menstrual döngüde ve hamileli-

ğin erken evlerinin sürdürülmesinde önemlidir. Aynı zamanda bazı kanserlerin büyümesinde de rol oynayabilir. P4, reproduktif olmayan doku ve organlarda da çeşitli fonksiyonlar üstlenir. Karbonhidrat, lipid ve protein metabolizması üzerinde önemli etkiye sahip olup (13), örneğin pankreasda Langerhans adacıklarına doğrudan etki ederek hiperinsülinemiye indüklerken, karaciğerde glikojen depolanmasını teşvik eder (13). P4 mineralokortikoid reseptörler (MR) için yüksek bağlanma afinitesi nedeniyle güçlü bir MR antagonistidir ve MR için doğal ligand olan aldosteron ile rekabet ederek böbrekte mineralokortikoidlerin fonksiyonunun düzenlenmesine katılır (23). P4 gastrointestinal sistemde besin ve minerallerin ara metabolizması ve emilimi ile ilişkilidir. (9). Bunların yanısıra belirli kanser türlerinin patolojisinde de önemli rol oynar (4,15,20).

P4 hedef dokulardaki etkilerini, progesteron reseptörü (PR) adı verilen nüklear reseptör ailesinin üyeleri olan spesifik hücre içi reseptörler aracılığıyla gerçekleştirir (3). PR, benzer genler tarafından kodlanan fakat farklı promotörler tarafından düzenlenen PR-A (72-94 kDa) ve PR-B (108-120 kDa) olmak üzere iki ana izoforma sahiptir (2). PR'nin uterus (2), ovaryum (10), meme (26), testis (1) beyin (5), kalp ve damarlar (12), endokrin pankreas (7) ve midede (6,25) eksprese edildiği çeşitli raporlarla ortaya konmuştur. PR'lerinin midedeki ekspresyonlarına ilişkin çalışmalar daha çok mide kanserleri üzerine odaklanmış olup, bu çalışmalar P4'ün ve PR'lerinin mide kanserinin patolojisinde önemli rol oynadığını göstermektedir (15,20). Ayrıca bu çalışmalar PR'lerinin hem normal sağlıklı hem de kanserli mide dokularında eksprese edildiğini bu nedenle de mide mukozasının progesteronun eylemi için hedef doku olduğunu ortaya koymaktadır. PR ekspresyonu sağlıklı insan, fare, rat ve mongol gerbil midesinde rapor edilmesine rağmen (25) ruminant türlerinden koç ve boğa midelerinde bu reseptörün varlığına dair bir herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Ruminantlar 4 odacıklı mide yapısına sahip olup ilk 3 bölme "ön mide" olarak adlandırılan rumen, retikulum ve omazumdan oluşur. Son kısım ise "abomazum" olarak adlandırılan gerçek mide bölümü olup ruminant midelerinin %7'sini oluşturur. Abomazum diğer memeli hayvanların glanduler mide yapısına benzer olarak kardiya, fundus ve pilorus olmak üzere 3 bölüme ayrılır (21). Abomazum gıdaların kimyasal olarak parçalanmasından sorumlu olup hidroklorik asit, pepsin, müsin, rennin ve lipaz içeren mide özsuynunun salgılanmasından sorumludur. Ayrıca rumenden gelen bakterilerin hücre duvarlarının yıkımından sorumlu olan lizozim enzimini de salgılar (21).

Bu çalışmanın amacı PR'ünün erişkin koç ve boğa abomazumlarının kardiya, fundus ve pilorus bölgelerinde eksprese edilip edilmediğini ve PR ekspresyonunun mide bölümlerinin yapısal özelliklerine bağlı bir değişim gösterip göstermediğini immunohistokim-

yasal yöntemle belirlemek ve bu bağlamda PR'ünün olası rolünü değerlendirmektedir.

Gereç ve Yöntem

Bu çalışmada özel mezbahalarda kesilen 24 aylık boğa (n=10) ve 12 aylık koçların (n=10) herhangi bir lezyon veya parazit enfeksiyonu bulunmayan sağlıklı abomazumlarının kardiya, fundus ve pilorus bölgelerinden alınan, formol-alkol solüsyonu ile tespit edilen ve takiben rutin histolojik işlemlerden geçirilerek parafine gömülen doku örnekleri kullanıldı. Farklı mide bölümlerine (kardiya, fundus ve pilorus) ait her bir örnekten, lam üzerinde en az iki adet kesit olacak şekilde 5'er µm kalınlığında kesitler alındı. Bu kesitlerin bir serisi abomazum bölümlerinin yapısal özelliklerini incelemek için Mallory'nin modifiye üçlü boyaması ile, diğer serisi ise PR lokalizasyonunu belirlemek için immunohistokimyasal yöntemle boyandı. İmmünohistokimya (IHC), Thermo Scientific immün boyama kitinde bildirilen prosedüre uygun olarak gerçekleştirildi (Thermo Scientific, katalog no: TA-125-HL). Özetle; kesitler, 5'er dakika (iki kez) ksilen içerisinde deparafinize edildikten sonra dereceli etanol serilerinden geçirilerek distile suya kadar getirildi. Antikoron bağlanacağı antijenik bölgelerin açığa çıkarılması amacı ile kesitler, sitrat çözeltisi (pH: 6) içerisinde 95°C'de 30 dk tutuldu ve süre sonunda oda ısısına gelinceye kadar aynı solüsyon içinde bekletildi. Doku-daki endojen peroksidaz aktivitesini ortadan kaldırmak amacıyla kesitler metanolde hazırlanmış %3'lük H₂O₂ solüsyonu içerisinde 20 dk bekletildikten sonra 5'er dk (üç kez) PBS (phosphate buffer saline, pH: 7.4, 0.01 M) çözeltisinde yıkama yapıldı. Preparatlar daha sonra, primer antikoron spesifik olmayan bağlanmalarını önlemek amacı ile bloklayıcı solüsyona (Thermo Scientific, katalog no: TA-125-UB) 5 dk maruz bırakıldı ve takiben PBS'de üç kez yıkılarak solüsyonun uzaklaşması sağlandı. PR antikoru (SantaCruz, katalog no: sc-539, dilüsyon oranı: 1/100) her bir kesit üzerine damlatıldı ve +4°C'de gece boyunca inkübasyona bırakıldı. Ertesi gün kesitler 5'er dk (üç kez) PBS içerisinde yıkandıktan sonra oda ısısında 20 dk biyotin işaretli sekonder antikör (Thermo Scientific, katalog no: TA-125-BN) ile muamele edildi. Daha sonra 5'er dk (5 kez) PBS içerisinde yıkamayı takiben kesitlere oda ısısında 20 dk süreyle streptavidin peroksidaz (Thermo Scientific, katalog no: TA-125-HR) uygulandı. Son olarak kesitler üzerine 3.3 diaminobenzidin (DAB, ThermoScientific, katalog no: TA-125-HDX) damlatılarak 5 dk bekletildi. Takiben distile suda 5'er dk (üç kez) yıkanan kesitler Gill'in Hematoksilin solüsyonunda 5 dk bekletilerek çekirdeklerin boyanması sağlandı. Akan çeşme suyu altında 5 dk boyunca yıkanan kesitler artan dereceli alkol serilerinden geçirilerek dehidre edildi ve ksilen içerisinde parlatıldıktan sonra entellan kullanılarak lamel ile kapatıldı.

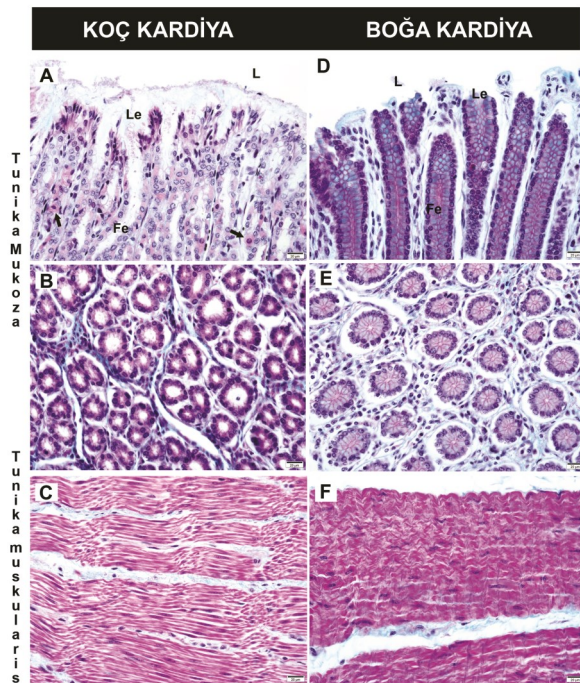
IHC prosedürlerinin özgünlüğü, negatif ve pozitif

kontrol dokuları kullanılarak test edildi. Pozitif kontrol olarak insan kolon ve meme bezi, sığır uterus örneklerine ait arşiv bloklardan alınan kesitler kullanıldı. Negatif kontroller için alınan abomazum örnekleri primer antikor yerine PBS veya normal rabbit IgG (Santa Cruz Biotechnology, sc-2027) ile inkube edildi. Tüm örnekler aynı protokol uygulandı. Abomazum bölümlerindeki PR immunreaksiyonu, ışık mikroskopunun farklı objektif büyütme (10X, 20X ve 40X) kullanılarak boyanma yoğunluğuna dayalı bir yarı-kantitatif skorlama yöntemi ile değerlendirildi. Negatif boyama için -, zayıf boyanma için +, orta derecede boyanma için ++ ve güçlü boyanma için +++ olmak üzere dört yoğunluk seviyesi belirlendi. Her abomazum bölümünün tamamı taranarak pozitif boyanmış doku ve hücreler iki bağımsız değerlendirici (NL ve EE) tarafından değerlendirildi ve iki değerlendiricinin ortalama skoru hesaplandı. Değerlendirmeler abomazumun her bir bölümünde tunika mukozanın bileşenlerinde (yüzey epiteli, foveola epiteli, pariyetal hücreler ile lamina muskularis) ve tunika muskularisinde yapıldı.

Bulgular

Koç ve boğa abomazumlarının yapısal özellikleri

Koç ve boğa abomazumlarının kardiya, fundus ve pilorus bölgelerinin yapısal özellikleri şekil 1, 2 ve 3' de gösterilmiştir. Abomazumun her üç bölümünde de



Şekil 1. Koç ve boğa abomazumunda kardiya bölgesi. **A ve D:** Yüzey epiteli (**Le**) ve foveola gastrika (**Fe**), **B ve E:** Kardiya bezleri, **C ve F:** Tunika muskularis. **L:** Lümen, **kalin ok:** Pariyetal hücre. Mallory'nin modifiye trikrom boyaması. Bar: 20 µm

luminal epitelin (lamina epitelyalis) tek katlı prizmatik epitelten oluştuğu (Şekil 1-A, D, 2-A, D ve 3-A, D), lamina propriyanın kardiya, fundus ve pilorus bezleri ile dolu olduğu gözlemlendi (Şekil 1-B, E, 2-B, E ve 3-B, E). Kardiya bezlerinin seröz (Şekil 1-B, E), fundus (Şekil 2-B, E) ve pilorus bezlerinin (Şekil 3-B, E) ise müköz karakterde salgı yapan hücrelerden oluştuğu belirlendi. Boğada fundus bölgesindeki bezlerde ayrıca asidofilik sitoplazmalı pariyetal hücrelerinin bulunduğu görüldü (Şekil 2-B). Bununla birlikte koçta pariyetal hücrelerin hem kardiya hem de fundus bölgesindeki bezlerde ve ayrıca foveola gastrica epitellerinde gözlemlendiği ve bu hücrelerin kardiya bölgesinde az sayıda olduğu, fundus bölgesinde ise bez epitel hücrelerinin çoğunluğunu oluşturduğu tespit edildi (Şekil 2-E). Boğada fundus bezlerindeki pariyetal hücre sayısı koç abomazumunun fundus bölgesine kıyasla daha az sayıda bulundu. Bezlerin hemen altında longitudinal seyirli düz kas hücrelerinden yapılmış lamina muskularis ve onun altında da dar bir submukozanın varlığı belirlendi. Abomazumun bütün bölümlerinde tunika muskularisin de düz kas hücrelerinden oluştuğu ve içte sirküler, dışta da longitudinal seyirli olduğu gözlemlendi (Şekil 1-C, F, 2-C, F ve 3-C, F).

Koç ve boğa abomazumlarında PR'ünün lokalizasyonu

Koç ve boğa abomazumlarının kardiya, fundus ve pilorus bölgelerinde PR lokalizasyonu immunohistokimyasal yöntemle değerlendirilmiş olup yarı kantitatif değerlendirme sonuçları tablo 1'de PR lokalizasyonuna ilişkin örnek gösterimler ise şekil 4, 5 ve 6'da sunulmuştur.

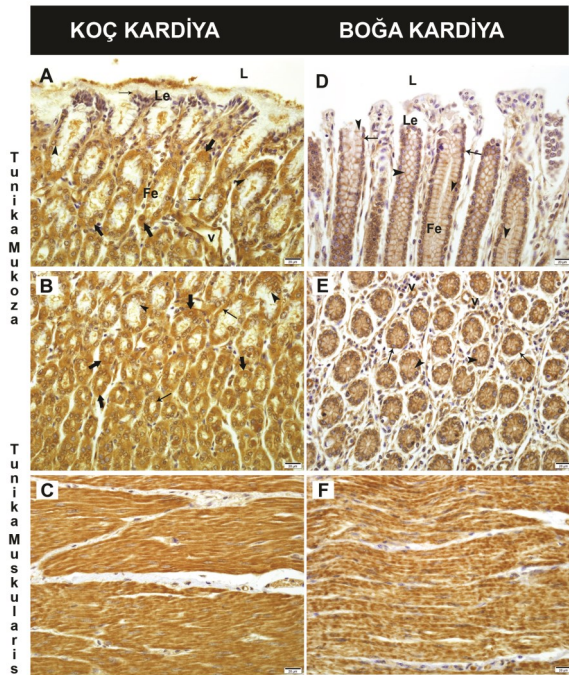
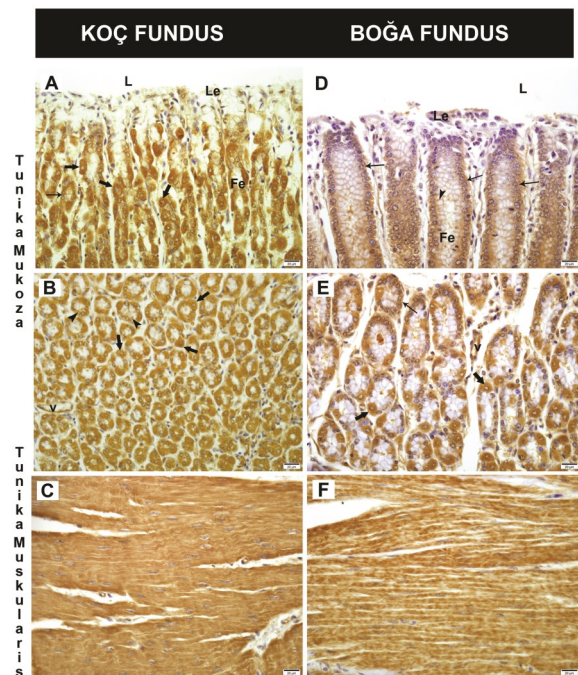
Hem boğa hem de koçta her üç abomazum bölümünde yüzey epitel hücrelerinde PR için boyanmanın negatif olduğu gözlemlendi (Şekil 4-A,D, 5-A,D ve 6-A,D). Boğada kardiya bölgesinde foveola gastrika'yı örten epitel hücrelerinde kuvvetli pozitif membransel, lamina propriyadaki bez epitel hücrelerinde ise kuvvetli pozitif membransel ve orta derecede pozitif sitoplazmik boyanma saptandı. PR pozitif membransel boyanma hücrelerin birbirlerine bakan lateral yüzlerinde yerleşmişti (Şekil 4-B). Koç abomazumunun kardiya bölgesinde ise foveola gastrika'yı örten epitel hücrelerinde ve bez epitel hücrelerinde kuvvetli pozitif membransel ve sitoplazmik boyanma ile pariyetal hücrelerde kuvvetli sitoplazmik boyanma dikkati çekti (Şekil 4-E).

Her iki türde fundus bölgesinde, kardiya bölgesindeki reaksiyona benzer olarak yüzey epitelinde boyanma saptanmazken (Şekil 5-A,D), boğada foveola gastrika epitel hücrelerinde, fundus bezlerinde bez epitel hücrelerinde orta derecede membransel ve sitoplazmik, pariyetal hücrelerde ise kuvvetli sitoplazmik boyanma gözlemlendi (Şekil 5-B). Koçta foveola gastrika epitel hücreleri ile bez epitelinde orta derecede pozitif membransel ve sitoplazmik bir boyanma gözlemlenirken,

Tablo1. Koç ve boğa abomazumlarının kardiya, fundus ve pilorus bölgelerinde PR lokalizasyonu

Abomazum bölümleri ve katmanları		Koç	Boğa
Kardiya	Tunika mukoza	Yüzey epiteli	-
		Foveala epiteli	m: +++; s: +++
		Pariyetal hücre	+++
		Bez epiteli	m: +++; s: +++
		Lamina muskularis	s: +++
Fundus	Tunika mukoza	Yüzey epiteli	-
		Foveala epiteli	m: ++; s: ++
		Pariyetal hücre	s: +++
		Bez epiteli	m: ++; s: ++
		Lamina muskularis	s: +++
Pilorus	Tunika mukoza	Yüzey epiteli	-
		Foveala epiteli	m: ++; s: +++
		Bez epiteli	m: ++; s: +++
		Lamina muskularis	s: +++
Kardiya	Tunika muskularis		
Fundus		s: +++	s: +++
Pilorus			

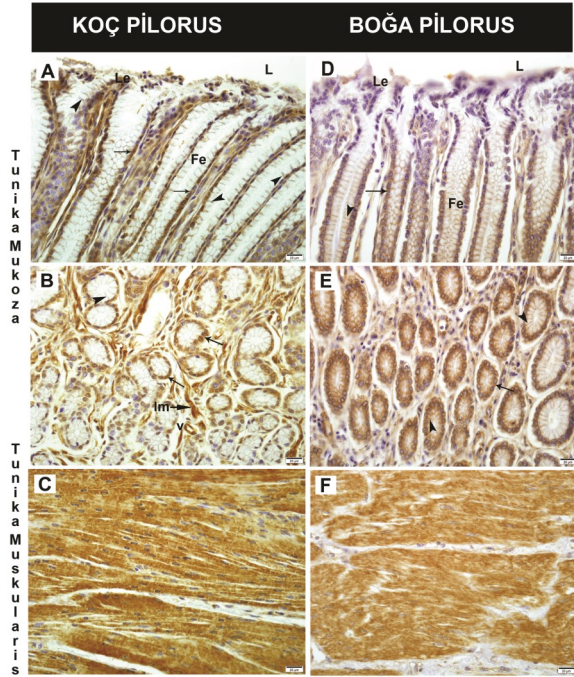
s: sitoplazmik boyanma, m: membransel boyanma

**Şekil 4.** Koç ve boğa abomazumunda kardiya bölgesinde PR immunlokalizasyonu. **A ve D:** Yüzey epiteli (**Le**) ve foveola gastrika (**Fe**), **B ve E:** Kardiya bezleri, **C ve F:** Tunika muskularis, **L:** Lümen, **kalin ok:** Pariyetal hücre, **ok başı:** PR'ünün membransel lokalizasyonu, **ince ok:** PR'ünün sitoplazmik lokalizasyonu, **v:** kan damarı. Strep-Avidin-Biotin Peroksidaz immunohistokimya boyaması. Bar: 20 µm**Şekil 5.** Koç ve boğa abomazumunda fundus bölgesinde PR immunlokalizasyonu. **A ve D:** Yüzey epiteli (**Le**) ve foveola gastrika (**Fe**), **B ve E:** Fundus bezleri, **C ve F:** Tunika muskularis, **L:** Lümen, **kalin ok:** Pariyetal hücre, **ok başı:** PR'ünün membransel lokalizasyonu, **ince ok:** PR'ünün sitoplazmik lokalizasyonu, **v:** kan damarı. Strep-avidin-Biotin Peroksidaz immunohistokimya boyaması. Bar: 20 µm

fundus bölgesinde, foveola gastrikalardan başlayarak bezlerde yoğun olarak bulunan pariyetal hücrelerde ise kuvvetli sitoplazmik reaksiyon tespit edildi (Şekil 5-E).

Her iki türün pilorus bölgesinde foveola gastrika epitel hücrelerinin ve bezlerdeki müköz karakterde salgı yapan bez epitel hücrelerinin bazal sitoplazmalarının ve lateral membranlarının PR için pozitif boyanma

sergiledikleri ve sitoplazmik boyanmanın membransel boyanmadan daha yoğun olduğu tespit edildi (Şekil 6-A, B, D, E).



Şekil 6. Koç ve boğa abomazumunda pilorus bölgesinde PR immunlokalizasyonu. **A ve D:** Luminal epitel ve foveola gastrika, **B ve E:** Pylorus bezleri, **C ve F:** Tunika muskularis **L:** Lümen, **kalın ok:** Pariyetal hücre, **ok başı:** PR'ünün membransel lokalizasyonu, **ince ok:** PR'ünün sitoplazmik lokalizasyonu, **Im:** lamina muskularis. Strep-Avidin-Biotin Peroksidaz immunohistokimya boyaması. Bar: 20 µm

Abomazumun her üç bölümünde tunika muskularisi oluşturan düz kas hücrelerinin kuvvetli sitoplazmik PR immunreaksiyonu sergiledikleri gözlemlendi. Ayrıca gerek lamina propriyadaki ve gerekse tunika muskularisdeki kan damarlarının endotel ve düz kas hücreleri katmanlarında kuvvetli pozitif PR immunoreaksiyonu belirlendi (Şekil 4-C,F, 5-C,F ve 6-C,F).

Tartışma ve Sonuç

Bu çalışmada koç ve boğa abomazumlarının kardiya, fundus ve pilorus bölgelerinin morfolojik özellikleri ile bu bölgelerdeki PR'lerinin (PR-A ve PR-B) varlığı ve lokalizasyonları histolojik ve immunohistokimyasal olarak ilk kez incelendi.

Abomazum diğer memeli hayvanlardaki tek boşluklu basit midenin geviş getirenlerdeki karşılığı olup bezel mukozaya sahiptir ve basit midelerdekine benzer olarak kardiya, fundus ve pilorus olmak üzere üç bölüme ayrılır (21). Her bir bölümün mukozasında lamina propriya içine uzanan değişik uzunluklardaki foveola gastrika adı verilen girintiler bulunur. Lamina epi-

telyalis tek katlı prizmatik epitelten oluşur. Lamina propriyada mide bölümlerine özgü özelliklere sahip mide bezleri yer alır. Mide bezlerinin önemli yapısal bileşenlerinden biri, hidroklorik asit ve B12 vitamin bağlayıcı intrinsik faktör salgılamakla görevli olan pariyetal hücrelerdir (14). Sunulan çalışmada koç ve boğanın abomazumunun kardiya, fundus ve pilorus bölgelerinin yapısal özellikleri karşılaştırmalı olarak incelenmiş olup bulgularımız hem koç hem de boğa abomazumlarının klasik literatür bilgiye paralel morfolojik özellikler sergilediğini göstermektedir. Ancak hem boğa hem de koç abomazumunun fundus bölgesinde lamina propriyada yer alan bezlerde pariyetal hücreler gözlenirken, koç fundusunda bu hücrelerin boğa fundusuna kıyasla sayıca daha fazla olduğu tespit edildi. Ayrıca koç abomazumunun kardiya bölgesinde yer alan bezlerde ve foveola gastrika epitel hücreleri arasında az sayıda pariyetal hücre varlığı göze çarptı. Bu bulgu bize gastrik asit sekresyonunun sadece fundus bezlerinde olmadığını kardiya bölgesinde de sekresyon yapıldığını, buna ek olarak koç fundusunda gastrik asit sekresyonunun boğa fundusuna oranla daha yoğun olduğunu göstermektedir. Ayrıca bu bulgu iki ruminant türünde abomazumun yapısal özelliklerinin birbirlerinden az da olsa farklı olduğunu ortaya koymaktadır.

Gonadal steroid hormonlar, başta uterus, meme, ovaryum, testis, prostat ve kas dokuları olmak üzere çeşitli dokularda hücre büyümesini, hücre farklılaşmasını, protein birikimini ve karbonhidrat kullanımını düzenler. Sindirim sisteminde de besin ve minerallerin emilmesi ve ara metabolizmanın düzenlenmesi gibi fonksiyonlara sahip oldukları çeşitli çalışmalarla ortaya konmuştur (9). Örneğin progesteron ve östrojen hormonlarının özofagusun alt sfinkter kaslarında gevşetici ve kolonda kolonik geçişi yavaşlatıcı etkisinin bulunduğu (9) ve ayrıca menstrüel siklus boyunca bu hormonların düzeylerinde oluşan değişimlerin dışkılama alışkanlıklarının değişmesine neden olduğu bilinmektedir (29). Bunların yanısıra kadınlarda menstrüel siklusun luteal fazında progesteron artışına bağlı olarak gastrointestinal geçiş süresinin yaklaşık %25 oranında uzadığı bildirilmiştir (29). Rattarda yapılan bir çalışmada düşük doz progesteronun mide boşalmasını hızlandırdığı, yüksek dozların ise yavaşlattığı kanıtlanmıştır (17). Mongol gerbilde, erken *Helicobacter pylori* enfeksiyonuna yanıtta progesteron hormonunun gastrin salgılayan hücre sayısını azalttığı, proliferasyon indeksinde bir azalmaya neden olduğu ve apoptotik hızı artırarak gastrik hasara karşı koruyucu rol üstlendiği gösterilmiştir (24). Östrojen ya da progesteron hormonunun koç ve boğaların sindirim sistemleri üzerindeki etkilerinin araştırıldığı herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Ancak bu steroid hormonların koç ve boğaların midelerinde modüle edici bir etki göstermesi ve sindirim sisteminin fizyolojik aktivitesini etkilemesi olası görünmektedir.

Bilindiği üzere gonadal steroid hormonlar dokulardaki etkilerini spesifik hormon reseptörleri aracılığıyla gerçekleştirirler. Bunlardan progesteron hormonunun etkilerine aracılık eden progesteron reseptörlerine ilişkin çalışmaların çoğu üreme sistemine odaklanmış olmakla birlikte, kardiyovasküler sistem (12) ve sinir sistemi (5) dahil olmak üzere çeşitli dokulardaki varlıkları bilinmektedir. Nitekim sindirim sisteminin de progesteron reseptörlerine sahip olduğu kavramı yeni değildir (6,25). Sindirim sisteminde steroid hormon reseptörlerinin kanserle ilişkisi hakkında birçok çalışma olsa da insanlarda progesteron reseptörlerinin normal midede ve kanserli midelerde ekspresyonlarının farklı olmadığı rapor edilmiştir (15). Bugüne değin sığırların sindirim sisteminde progesteron reseptörünün varlığını bildiren sadece bir araştırma bulunmakta olup, söz konusu çalışmada sığır sindirim sisteminde progesteron reseptörünün RT-PCR yöntemiyle ekspresyonu incelenmiş, progesteron reseptörü mRNA'sının mide ve bağırsaklarda çok düşük miktarlarda bulunduğu, rumen ve retikulumda eksprese edilemediği ancak omazum, abomazum ve duodenumda ekprese edildiği, duodenum haricindeki diğer bağırsak bölümlerindeki ekspresyonların farklılık göstermediği bildirilmiştir (22).

Yukarıda da belirtildiği gibi, PR'ünün mide dokularındaki ekspresyonuna ilişkin mevcut bilgi, esas olarak histolojik olmayan analiz yoluyla elde edilmiştir. Bu yöntemlerin başlıca dezavantajlarından biri, mRNA / protein ekspresyonu ve histolojik yapılar arasındaki karmaşık ilişkileri gözden kaçırmaları ve dolayısıyla reseptörün fonksiyonel analizini engellemeleridir. Sunulan çalışmada normal koşullar altındaki sığır ve koç abomazumlarında progesteron reseptörünün protein düzeyindeki ekspresyonu immünohistolojik olarak ilk kez incelendi ve reseptörün potansiyel fizyolojik fonksiyonları da elde edilen sonuçlara dayanarak tartışıldı. Pfaff ve ark. (2003) 'nın bildirdiğinin aksine, immünohistokimyasal bulgularımız, PR'lerinin koç ve boğa abomazumlarının mukoza ve kas katmanlarını oluşturan çeşitli yapısal bileşenler tarafından eksprese edildiğini göstermektedir. Çalışmamızda her iki türün abomazum bölümlerinde yüzey epitel hücreleri hariç, foveola gastrika'yı örten epitel hücrelerinde, lamina propriyadaki bez epitel hücrelerinde nükleer lokalizasyondan ziyade sitoplazmik ve membransel PR lokalizasyonu tespit edildi. PR'ünün, benzer genler tarafından kodlanan fakat farklı promotörler tarafından düzenlenen PR-A (72-94 kDa) ve PR-B (108-120 kDa) olmak üzere iki ana izoforma sahip olduğu bilinmektedir (2). PR-A genellikle hücre çekirdeğinde lokalize olmasına karşın, PR-B devamlı olarak nükleer ve sitoplazmik kompartımanlar arasında hareket halindedir. Bu karakteristiği nedeniyle PR-B doğrudan transkripsiyonel olaylara katılabilir veya nüklear olmayan sinyal yolları ile etkileşime girerek hızlı sitoplazmik değişimlere aracılık edebilir (4). Çalışmamızda kullandığımız PR primer antikoru (kat no:

sc-539, Santa Cruz Biotechnology) PR-A ve PR-B izoformlarının her ikisine karşı hazırlanmış olup sitoplazmik ve membransel immün boyanmalar boğa ve koç abomazumlarında PR-B izoformunun daha baskın şekilde eksprese edildiğinin bir göstergesi olarak yorumlanabilir.

Progesteronun nüklear olmayan etkinlikleri ile ilgili çeşitli çalışmalar mevcuttur. Sitoplazmik protein kinazlarla doğrudan etkileşime girebilen ve aktive edebilen, genellikle steroid hormon reseptör süper ailesindeki bir ligand ile aktive edilmiş transkripsiyon faktörü, klasik progesteron reseptörünün ekstra nüklear veya membran ile ilişkili aktivitelerini gerçekleştirebilir. Bu reseptör yakın zamanda klasik PR ile ilgisi olmayan, membrana lokalize progesteron reseptörü (mPR) olarak tanımlanmıştır (8). Membrana lokalize progesteron reseptörünün üç alt tipi (mPR α , β ve γ) bulunmaktadır (8). Bunlardan mPR α ekspresyonu farede beyin, testis, uterus, kemik iliği, dalak, aksiller lenf düğümleri, karaciğer ve gastrointestinal kanalda (27,30), insanda, ovaryum, testis, uterus, meme, böbrek, adrenal bez, lenfoid dokular ile amniyon ve koryon keselerinde gösterilmiştir (8). Fare midesinde mPR α ekspresyonunun foveola epitelinde ve esas hücrelerde bulunmadığı, ancak pariyetal hücrelerde güçlü bir immunreaksiyonunun bulunduğu gösterilmiştir (30). Çalışmamızda fare midesinde bildirilenlerden farklı olarak her iki türün abomazum bölümlerinde foveola gastrikayı örten epitel hücrelerinde ve bez epitel hücrelerinde PR'ünün membransel lokalizasyonu bu reaksiyonun mPR'nden kaynaklanabileceği fikrini akla getirmektedir. Ancak kullandığımız primer antikoru yalnızca PR-A ve PR-B izoformlarını taşıdığından dolayı bu hipotezi kesin olarak kanıtlayabilmek için membransel progesteron reseptörüne spesifik mPR antikoru kullanılarak immünohistokimya analizinin yapılması gereklidir.

Genel olarak, gebelik sırasında peptik ülser hastalığı nadiren görülür. Bunun nedeninin gebelik süresince yüksek progesteron hormon düzeyi olduğuna inanılmaktadır. Yüksek progesteron düzeyinin gastrik asit çıkışını azaltabildiği ve koruyucu mukus üretimini artırdığı ileri sürülmektedir (18). Ayrıca midede pariyetal hücrelerin asit üretiminin yanı sıra steroidogenik aktiviteye de sahip oldukları, östrojen, progesteron ve testosteron metabolitlerini salgıladıkları (16), bu nedenle de seksüel hormonların hepatik-gastrik aksının düzenlenmesinde önemli rolleri olduğu bilinmektedir (28). Çalışmamızda ilginç bir şekilde, PR'ünün her iki türün pariyetal hücrelerinde yoğun bir şekilde eksprese edildiğinin saptanması, erkek hayvanlarda da progesteronunun PR sinyalleme yoluyla gastrik asit sekresyonunu kontrol etmede doğrudan bir role sahip olabileceğine ve ayrıca pariyetal hücrelerin steroidojenik aktivitelerini PR aracılığıyla sürdürebileceğine dair yeni kanıtlar sağlamaktadır.

Fare midesinde bildirilenlere (30) paralel olarak çalış-

mamızda da koç ve boğa abomazumlarının tüm bölümlerinde tunika mukozanın lamina muskularisindeki düz kas hücreleri ile tunika muskularisi oluşturan sirküler ve longitudinal seyirli düz kas hücrelerinde PR için kuvvetli sitoplazmik bir immun boyanmanın bulunduğu gözlemlendi. Bu bulgu, progesteronun PR'ü aracılığıyla ruminant abomazumunda düz kas hücrelerinin mide tonusu ve motilitesinin düzenlenmesi gibi işlevlerine katıldığını gösterebilir.

Sonuç olarak koç ve sığır abomazumunun kardiya, fundus ve pilorus bölgelerinde foveola, bez epiteli ve pariyetal hücreler ile lamina muskularis ve tunika muskularisi oluşturan düz kas hücrelerindeki PR'ünün ifade edildiğinin belirlenmesi, koç ve boğa midelerinin fizyolojik aktivitesinde progesteronun PR'leri aracılığıyla rol oynadığının önemli bir kanıtı olabilir.

Kaynaklar

1. Abid S, Gokral J, Maita A, meharji P, Kadam S, Pires E, Modi D. Altered expression of progesterone receptors in testis of infertile men. *Reprod Biomed Online* 2008; 17(2): 175-84.
2. Anzaldúa SR, Camacho-Arroyo I, Reyna-Neyra A, Perez- Martinez M, Cerbon M. Regional differences in expression of progesterone receptor in oviduct and uterus of rabbit during early pregnancy. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol* 2007; 147(3): 685-90.
3. Beato M, Herrlich P, Schutz G. Steroid hormone receptors: Many actors in search of a plot. *Cell* 1995; 83(6): 851-7.
4. Bellance C, Khan JA, Meduri G, Guiochon-Mantel A, Lombès M, Loosfelt H. Progesterone receptor isoforms PRA and PRB differentially contribute to breast cancer cell migration through interaction with focal adhesion kinase complexes. *Mol Biol Cell* 2013; 24(9): 1363-74.
5. Brinton RD, Thompson RF, Foy MR, Baudry M, Wang J, Finch CE, Morgan TE, Pike CJ, Mack WJ, Stanczyk FZ, Nilsen J. Progesterone receptors: Form and function in brain. *Front Neuroendocrinol* 2008; 29(2): 313-9.
6. Bruce LA, Beshudi FM. Progesterone effects on three regional gastrointestinal tissues. *Life Science* 1979; 25(9): 729-34.
7. Doglioni C, Gambacorta M, Zamboni G, Coggi G, Viale G. Immunocytochemical localization of progesterone receptors in endocrine cells of the human pancreas. *Am J Pathol* 1990; 137(5): 999-1005.
8. Dressing GE, Goldberg JE, Charles NJ, Schwertfeger KL, Lange CA. Membrane progesterone receptor expression in mammalian tissues; a review of regulation and physiological implications. *Steroids* 2011; 76(1-2): 11-7.
9. Eliakim R, Abulafia O, Sherer DM. Estrogen, progesterone and the gastrointestinal tract. *J Reprod Med* 2000; 45(10): 781-8.
10. Gava N, Clarke CL, Byth K, Arnett-Mansfield RL, deFazio A. Expression of progesterone receptors A and B in the mouse ovary during the estrous cycle. *Endocrinology* 2004; 145(7): 3487-94.
11. Gellersen B, Fernandes MS, Brosens JJ. Non-genomic progesterone actions in female reproduction. *Hum Reprod Update* 2009; 15(1): 119-38.
12. Ingegno MD, Moner SR, Thelmo W, Greene GL, Davidian M, Jaffe BM, Pertschuk LP. Progesterone receptors in the human heart and great vessels. *Lab Invest* 1988; 59(3): 353-6.
13. Kalkhoff RK. Metabolic effects of progesterone. *Am J Obstet Gynecol* 1982; 142(6): 735-8.
14. Karakoç Z, Sagsöz H, Ketani MA. Mucin profiles of the abomasum in bulls and rams: A comparative study. *Microsc Res Techniq* 2016; 79(9): 856-68.
15. Karat D, Brotherick I, Shenton BK, Scott D, Raimes SA, Griffin SM. Expression of estrogen and progesterone receptors in gastric cancer: A flow cytometric study. *Br J Cancer* 1999; 80(8): 1271-4.
16. Le Goascogne C, Sananès N, Eychenne B, Gouézou M, Baulieu EE, Robel P. Androgen biosynthesis in the stomach: Expression of cytochrome P450 17 alpha-hydroxylase/17,20-lyase messenger ribonucleic acid and protein, and metabolism of pregnenolone and progesterone by parietal cells of the rat gastric mucosa. *Endocrinology* 1995; 136(4): 1744-52.
17. Liu CY, Chen LB, Liu PY, Xie DP, Wang PS. Effects of progesterone on gastric emptying and intestinal transit in male rats. *World J Gastroenterol* 2002; 8(2): 338-41.
18. Michaletz-Onody PA. Peptic ulcer disease in pregnancy. *Gastroenterol Clin North Am* 1993; 21(4): 817-26.
19. Oettel M, Mukhopadhyay AK. Progesterone: The forgotten hormone in men? *Aging Male* 2002; 7(3): 236-57.
20. Oshima CT, Wonraht DR, Catarino RM, Mattos D, Forones NM. Estrogen and progesterone receptors in gastric and colorectal cancer. *Hepatogast-*

roenterology 1999; 46(30): 3155-8.

21. Ozfiliz N, Tutuncu Ş, Erdost H. Immunohistochemical distribution of ghrelin positive cells in the abomasum of sheep. Ankara Üniv Vet Fak Derg 2011; 58(1): 61-4.
22. Pfaffl MW, Lange IG, Meyer HH. The gastrointestinal tract as target of steroid hormone action: Quantification of steroid receptor mRNA expression (AR, ER, ER and PR) in 10 bovine gastrointestinal tract compartments by kinetic RT-PCR. J Steroid Biochem Mol Biol 2003; 84(2-3): 159-66.
23. Quinkler M, Bumke-Vogt C, Meyer B, Bahr V, Oelkers W, Diederich S. The human kidney is a progesterone-metabolizing and androgen-producing organ. J Clin Endocrinol Metab 2003; 88(6): 2803-9.
24. Saqui-Salces M, Rocha-Gutierrez BL, Barrios-Payan JA, Ruiz-Palacios G, Camacho-Arroyo I, Gamboa-Dominguez A. Effects of estradiol and progesterone on gastric mucosal response to early *Helicobacter pylori* infection in female gerbils. Helicobacter 2006; 11(2): 123-30.
25. Saqui-Salces M, Neri-Gomez T, Gamboa-Dominguez A, Ruiz-Palacios G, Camacho-Arroyo I. Estrogen and progesterone receptor isoforms expression in the stomach of Mongolian gerbils. World J Gastroenterol 2008; 14(37): 5701-6.
26. Shyamala G, Chou YC, Louie SG, Guzman RC, Smith GH, Nandi S. Cellular expression of estrogen and progesterone receptors in mammary glands: Regulation by hormones, development and aging. J Steroid Biochem Mol Biol 2002; 80(2): 137-48.
27. Thomas P. Discovery of a new family of membrane progesterone receptors in vertebrates and detection of the alpha and beta subtypes in mouse brain, testis and uterus. Med Chem Res 2004; 13(3-4): 202-9.
28. Ueyama T, Shirasawa N, Numazawa M, Yamada K, Shelangouski M, Ito T, Tsuruo Y. Gastric parietal cells: Potent endocrine role in secreting estrogen as a possible regulator of gastro-hepatic axis. Endocrinology 2002; 143(8): 3162-70.
29. Wald A, Van Thiel DH, Hoechstetter L, Gavalier JS, Egler KM, Verm R, Scott L, Lester R. Gastrointestinal transit: The effect of the menstrual cycle. Gastroenterology 1981; 80(6): 1497-1500.
30. You S, Zuo L, Varma V. Broad tissue expression of membrane progesterone receptor alpha in normal mice. J Mol Hist 2010; 41(2-3): 101-10.

