

Ovarektomi Yapılan Sıçanlara Ekzojen Verilen Östrojenin Uterus Bağ ve Kas Dokularına Etkilerinin Araştırılması

Berna Güney Saruhan*, M. Aydın Ketani*

ÖZET

Çalışmamız da, ovarektomi ve ovarektomi sonrasında ekzojen olarak kullanılan östrojenin uterus bağ ve kas dokuları üzerindeki histopatolojik etkileri araştırılması amaçlandı.

Çalışmada 75 günlük 21 adet dişi Wistar Albino kullanıldı. Sıçanlar 3 gruba ayrıldı. Grup 1 deki hayvanlara hiçbir işlem uygulanmadı, grub 2 deki ve grub3 deki hayvanlara bilateral ovarektomi yapıldı. 2 ay sonra 1.Gruptaki hayvanlara 0.1 ml solusyonA, grup2 deki hayvanlara 0.1 ml solusyonB, grup 3 deki hayvanlara ise 0.1 ml solusyonB içerisinde 1.0µg 17βösradiol uygulandı. Uygulamaların bitiminden sonra hayvanlar sakrifiye edildi,uterus dokuları yerinden çıkarılarak rutin histolojik işlemlere tabii tutuldu.Hematoksilen Eozin, HematoksilenVan Gieson, Azan ile boyanarak ışık mikroskopik değerlendirildi.

Kontrol grubunda bağdokunun gevşek görünümü,uterus bezlerinde sayıca azalma ve lumenlerinde daralma, myometrium düz kas hücrelerinde ve damarlarında azalma izlendi.Östrojen kullanımından sonra bağ doku artışı, kas tabakasında kalınlaşma, kas hücrelerinde ve kollagen miktarında artış tespit edilmiştir.

Sonuç olarak, ovarektomi bağ dokusunda gevşek yapılanmaya, kas dokusunda azalmaya neden olurken;östrojen kullanımının bu aksaklıkları düzelttiği sonucuna vardık.

Anahtar Kelimeler: Myometrium, Ovarektomi, Östrojen, Sıçan

Effects of Surgical Ovariectomy and Oestrogen Treatment on Rat Uterus Connective-Muscle Tissues

SUMMARY

The aim of this study was to explore the effects of ovariectomy and treatment with oestrogen hormone on uterus myometrium and connective tissue activity.

In this study, 21 adult female Wistar-Albino were used. Animals in group 1 received no treatment.All animals in the other two groups were bilaterally ovariectomized and kept for 60 days.Animals in group 1 0.1ml of solutionA, group 2 0.1 ml solution B, group 3 1.0µg 17β oestradiol were given. All rats were sacrificed and taken uterus tissue, fixed in formol fluid and embedded in paraffin.Paraffin sections, obtained by routine histologic methods, and stained with Hematoxylen-Eozin, Hematoxylen-Van Gieson,Azan.The stained sections were later evaluated under a light microscopy.

The number of uterinal glands were decrease and narrow, the appearance of stromal tissue was more loose in bilaterally ovariectomy group.

As a result, after oestrogen applications coused thickening the endometrial stroma and myometrium.

Key Words: Myometrium, Ovariectomy, Oestrogen, Rat

* Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi Histoloji – Embriyoloji A.D.



GİRİŞ

Üremenin hormonal mekanizması üzerindeki bilimsel çalışmaları, son yıllarda oldukça gelişmeler göstermiştir. Öte yandan, hormonların karşılıklı olumlu yada olumsuz etkileşimleri ve yer aldıkları endokrin sistem içerisindeki düzenleyici işlevleri konularında da yeni bilgiler ve deneyimler kazanılmıştır. Özellikle son yıllarda steroid hormon kullanımının giderek artması da bu grup çalışmaların sayısında artışa yol açmıştır. Steroid hormonların etki mekanizmasında adenil siklaz ve c-AMP nin rolü yoktur. Steroid hormonlar, sitoplazmik reseptör protein ve nükleer akseptör sistem aracılığıyla etki etmektedirler. Steroid hormonların etkilerini gösterebilmeleri için, hücre membranından geçerek stoplazmada bulunan spesifik bir reseptör protein ile birleşmeleri gerekmektedir. Bu steroid-protein kompleksi daha sonra nükleusa taşınarak kromatin üzerinde yer alan özel bir akseptör ile birleşir. Böylelikle oluşan steroid-reseptör-akseptör bağlantısı, enzimlerin sentezi için uygun mRNA yapılmasını sağlar. Bu mRNA nükleustan sitoplazmaya geçerek ribozomlarda protein sentezini başlatır. Ovaryumlarda şekillenen steroid hormon olan östrojen, dişilerde ikincil sex karakterlerinin oluşmasını ve devamlılığını, uterusun motor aktivitesini geliştirme, memelerin ve tubuler genital kanalın gelişmesinden sorumludurlar (1).

Dişi üreme dokularının fonksiyonları ve gelişimleri başlıca iki seks steroid hormonu tarafından düzenlenir; östrojen ve progesteron. Günümüzde yapılan çalışmalarda, rat uterusunda östrojene bağlı gen deyimini araştırılmaktadır. Yine yapılan çalışmalarda, uterusu östrojen hareketinin yeni arabulucu genlerle olduğu tanımlanmaktadır (2).

Östrojen uterusun normal fizyolojisinde olduğu gibi çeşitli patolojisinde de önemli rol oynar. Üreme siklusu ve gebelikte uterusun doğal yapısı değişir. Yapılan çalışmalarda östrojen kullanımının uterus düz kas hücrelerin de proliferasyon ve migrasyona neden olup olmadığı araştırma konusu olmuştur (3).

Ekzojen östrojenler, insan ve laboratuvar hayvanlarının genital kanallarının gelişimi üzerine teratojenik ve karsinojenik etki gösterirler (4). Antiöstrojenler parametre ve doza bağlı olarak az veya çok östradiol kadar etkin

olabilirler (5). Östradiol'un uterus üzerine kronik uygulamalarında uterus dokusunda medyana gelen değişiklikler ve vücut uterus ağırlığı araştırmacıların dikkatini çekmiştir (6). Myometrium östrojenin etkisinde çok gelişir. Bu gelişme hem kas hücrelerinin büyümesi hem de bölünüp çoğalmaları ile sağlanır. Östrojen kullanımına bağlı olarak, bir çok düz kas hücresi protein sekreti yapan hücrelerin ultrastruktural özelliklerine sahip olur ve aktif olarak kollagen sentez ederler. Böylelikle uterus kollagen muhtevasının önemli derecede artışına sebep olur (7).

Bu çalışmanın amacı, özellikle son yıllarda ekzojen östrojen kullanımının giderek artmasıyla birlikte bu uygulamanın dişilerin genital sistemleri üzerine olan etkilerinin araştırılması amaçlandı.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamızda 220-250 gr ağırlığında 75 günlük 21 adet dişi Wistar Albino sıçan kullanıldı. Sıçanlar 90 m³lük bir odada, ortalama 25±3 C de çelik kafeslere kondular ve pelet yem ve musluk suyu ile ad libitum beslendiler.

Sıçanlar Sham, kontrol ve deney grubu olmak üzere 3 gruba ayrıldılar.

Grup-1deki (sham) hayvanlara hiçbir işlem uygulanmadı. Plasebo olarak (aynı stres ortamını oluşturmak üzere) 0.1 ml solusyonA içerisinde (1/3 oranında karıştırılmış %100 etanol ve %0.9 serum fizyolojik W/VBP, Boots, Australia) intraperitoneal yolla verildi. (n=7)

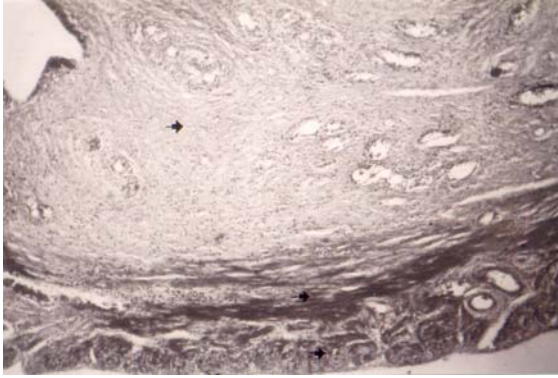
Grup-2 deki ve grub-3 deki sıçanlara, intraperitoneal injeksiyonla ketalar (Ketamin HCL/50mg/kg) anestezisi altında bilateral ovarektomi yapılarak, östrojen eksikliği şekillendirildi. İki aylık bekleme süresi sonrasında 2. grubtaki hayvanlara 0.1 ml subkutan injeksiyonla 1/3 oranında karıştırılmış benzil alkol ve amerikan yarfıstığı yağı 3 gün süreyle verildi. (solusyon B). (n=7)

Grup-3 deki hayvanlara, yaklaşık 2 aylık bekleme süresinin sonunda, 3 gün süre ile eritilmiş 0.1 ml solusyonB içerisinde 1.0µg 17β Östradiol (1,3,5 (10) -estratriene-3,17β diol Sigma) subkutan olarak verildi. (n=7).

Uygulamalardan 3 gün sonra hayvanlara anestezi altında cardiac exsanguination (kalpten kanın çekilmesi) işlemi uygulanarak sakrifikasyon gerçekleştirildi. Sakrifikasyondan sonra hayvanların uterus dokuları ekstirpe edilerek, %10 luk nötral formalinde fikse edildi. Dehidrasyon ve parafin inklüzyon işlemlerinden sonra dokular parafin bloklara gömüldü. Parafin bloklardan elde edilen kesitler, Hematoksilen-Eozin, Hematoksilen-Van Gieson, Azan ile boyandı (8). Boyama işlemini takiben tüm kesitler ışık mikroskopunda değerlendirildi.

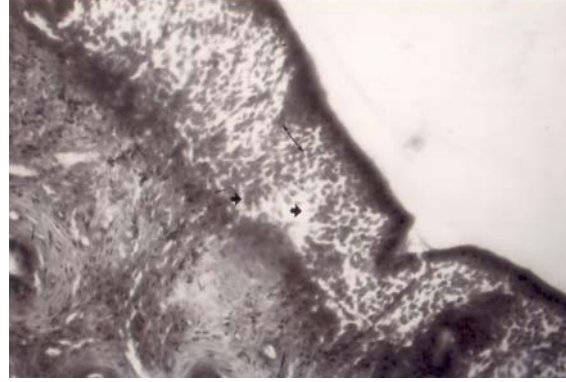
BULGULAR

Sham grubunda; endometrial stroma, myometrium ve perimetriumdan oluşan normal uterus dokusu izlendi (Resim-1).

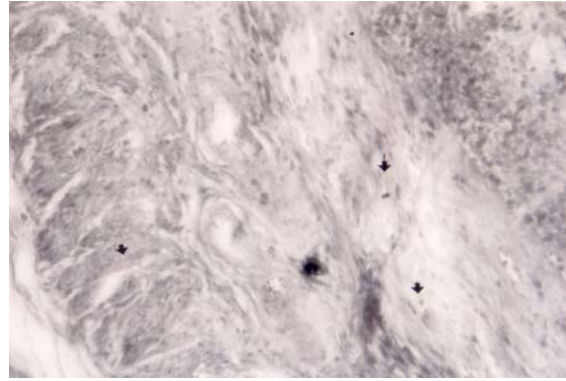


Resim 1. Sham grubuna ait normal uterus görünümü. Bağdokusu (→), myometrium ve perimetriumun normal görünümü (→).Mallory Azanx10.

Grub – 2 deki (kontrol) denek hayvanlarında; endometriumun yüzeyel kısmının gevşek bir yapı kazanması (bu alanda bağdoku kaybı), uterinal guddelerdeki dar lumen görünümü, myometriumda düz kas hücrelerinde azalma, dikkati çekmekteydi (Resim-2a,b).

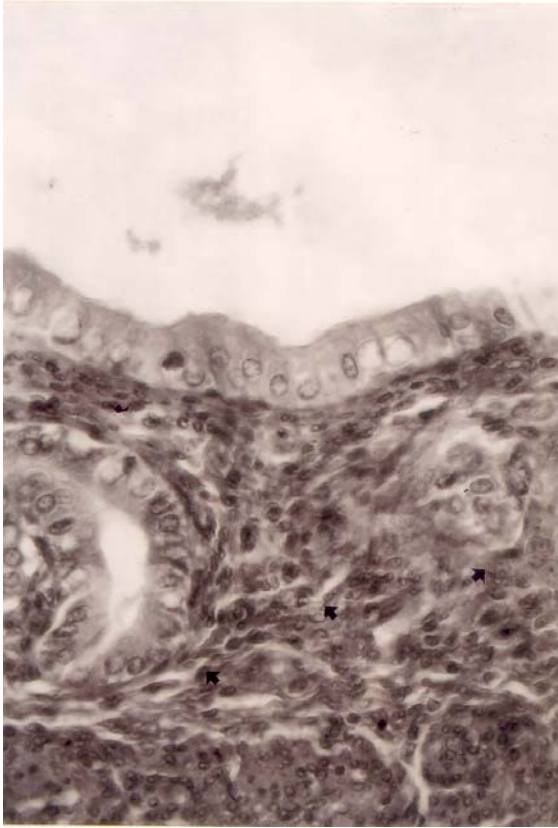


Resim 2a. Kontrol grubuna ait uterus görünümünde; endometriumun yüzeyel kısmının gevşek bir yapı kazanması (→), basit prizmatik epitel hücreleri içeren guddelerin dar lumene ve düz tubuluslara sahip oluşu (↓). Hematoksilen-Eozin x20.

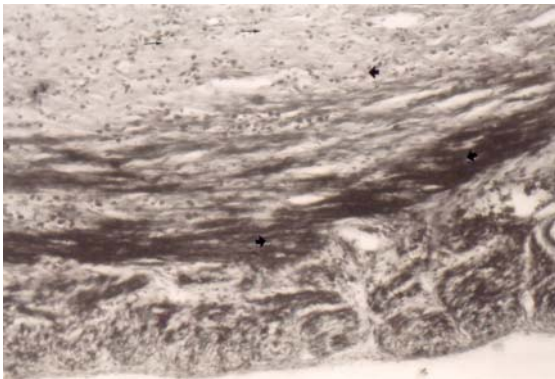


Resim 2b. Kontrol grubuna ait uterus görünümünde; myometriumda düz kas hücrelerinin azalması (↑) .Mallory Azanx20.

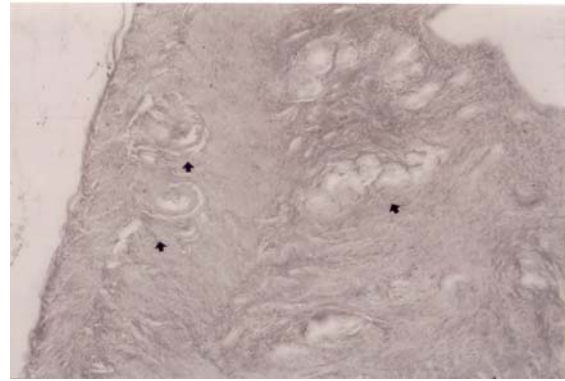
Grub-3 deki deney hayvanlarında ise; ekzojen oestrogen kullanımından sonra endometriumun yüzeyel kısmında belirgin düzelme (hüresel bağdoku artışı), kas tabakasında kalınlaşma, kas hücrelerinde büyüme ve kollenjen artışı, stratum vaskülarde belirgin kan damarı artışı dikkati çekmekteydi (Resim-3a,b,c)



Resim 3a. Ekzojen östrojen kullanımından sonra, endometriyumun yüzeysel kısmında belirgin düzelme (hücresel bağdoku artışı), uterus bezleri düzensiz dış hattı ile geniş lumenlere sahip oluşunun, görünümü (↑).Hematoksilen Vangiesson x20.



Resim 3b.Ekzojen östrojen kullanımından sonra;kas tabakasında kalınlaşma, kas hücrelerinde büyüme ve kollagen artışı (→).Mallory Azanx20.



Resim 3c. Ekzojen östrojen kullanımından sonra stratum vaskulare de, belirgin kan damarı artışı (→) izlenmekte. Mallory Azanx10.

Oestrogen eksikliğine bağlı olarak şekillenen değişikliklerin, ekzojen olarak oestrogen verildiğinde düzeldiği sonucuna varılmıştır. Oestrogen kullanımı sonucunda, myometriumda kalınlaşma, kollagen artışı tespit edilmiştir.

TARTIŞMA

Östrojenin uterus morfolojisi üzerinde etkin olduğu, endometrium ve myometriumunda kalınlaşmaya neden olduğu belirtilmiştir (9). William ve arkadaşları yaptıkları deneysel çalışmada östrojen kullanımının uterus endometrium ve myometriumunda kalınlaşmaya neden olduğunu vurgulamışlardır (10). Bu da bizim çalışmamızla uyumludur.

1970 lerden beri, endometrial hücrelerdeki hücre membranına estradiolun bağlandığını gösteren kanıtlar vardır (11). Endometrium ve myometriumdaki sitoplazmik estrogen receptor düzeyi, menopoz sonrasında ki birkaç yıl içerisinde bazı vakalarda bir hayli yüksek ve endometrium da tamamen atrofik hali dikkati çekmiştir (12).

Yapılan başka bir çalışmada, ovariectomi sonrasında uterus epitelinde boyca azalma, bağdoku kaybı, kaslarda incelme gözlemlenmiştir (13). Bu çalışmada bizim çalışmamızla uyumludur.

KAYNAKLAR

1. Alaçam E, Deveci H, Gökçen H. Theriogenoloji. Nürol matbaacılık A.Ş Ankara,1990:25-42.
2. Wu X, Pang ST, Sahlin L. Gene expression profiling of the effects of castration and estrogen treatment in the rat uterus. Biol Reprod ,2003;69:1308-17.
3. Mason HR., Grove SD, Rubin, BS. Estrogen induces CCN5 expression in the rat uterus in vivo. Endocrinology, 2004; 145:976-82.
4. Bern HA, Talamantes FJ. Neonatal mouse models and their relation to disease in the human female: Developmental effects of diethylstilbestrol (DES) in pregnancy. In Herbst AL ,1981;11:20-4.
5. Poteat, WL. The effect of clomiphene citrate and estradiol on body weight, vaginal cornification and uterine weight after chronic treatment of ovariectomized rats. Experient, 1976;33:1080-1082.
6. Barker TE, Walker BE. Initiation of irreversible differentiation in vaginal epithelium. Anat Rec,1969;154:149-159 .
7. Corlas L, Junqueira J, Carneiro R. Kelley. Basic Histology. Eight edition march. United States of America. 1995; 528-529.
8. Hosie MJ, Murphy CR. Clomiphene Citrate alters surface ultrastructure of uterine luminal epithelial cells. Acta Anat,1992; 145:175-178.
9. Terenius L, Ljungkvist I. Aspectson the mode of action of antiestrogens and antiprogestogens. Gynec Invest,1972;3:96-107..
10. Poteat W, Walter JB. The interaction of clomiphene, estradiol and progesterone in the control of rat uterine glycogen metabolism. Am J Anat ,1977;149:153-164.
11. Pietras RJ, Szego CM. Partial purification and characterization of oestrogen receptors in subfractions of hepatocyte plasma membranes. Biochem,1980; 191:741-760.
12. Punnonen R, Kouvonon I, Lovgren T. Uterine and ovarian estrogen receptor levels in climacteric women. Acta Obstet Gynecol Scand,1979; 58 :389-91.
13. Iguchi T, Todroki S, Yamaguchi NJ.: Changes in uterus and vagina of mice treated neonatally with antiestrogens. Acta Anat,1989; 136: 146-154.

Yazışma Adresi:

Berna GÜNEY SARUHAN
Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Histoloji-Embriyoloji A.D. / Diyarbakır
E-mail: bsaruhan@dicle.edu.tr

