

**T.C.
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MORFOLOJİ ANABİLİM DALI
HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ BİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS PROGRAMI**

Tez Yöneticisi
Doç. Dr. Turan KARACA

**DENEYSEL HİPERTİROİDİ OLUŞTURULMUŞ
SIÇANLARDA ÖSTRUS SIKLUSUNUN DEĞİŞİK
EVRELERİNDE DIŞI GENİTAL ORGANLARDA
(OVARYUM VE UTERUS) ÖSTROJEN VE
PROGESTERON RESEPTÖR DAĞILIMININ
İMMÜNOHİSTOKİMYASAL OLARAK İNCELENMESİ**

(Yüksek Lisans Tezi)

Halil BOZOĞLU

EDİRNE – 2013

**T.C.
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MORFOLOJİ ANABİLİM DALI
HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ BİLİM
DALIYÜKSEK LİSANS PROGRAMI**

Tez Yöneticisi
Doç. Dr. Turan KARACA

**DENEYSEL HİPERTİROİDİ OLUŞTURULMUŞ
SIÇANLARDA ÖSTRUS SIKLUSUNUN DEĞİŞİK
EVRELERİNDE DIŞI GENİTAL ORGANLARDA
(OVARYUM VE UTERUS) ÖSTROJEN VE
PROGESTERON RESEPTÖR DAĞILIMININ
İMMÜNOHİSTOKİMYASAL OLARAK İNCELENMESİ**

(Yüksek Lisans Tezi)

Halil BOZOĞLU

Destekleyen Kurum: TÜBAP/2012-140

Tez No :

EDİRNE – 2013

T.C.
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitü Müdürlüğü

O N A Y

Trakya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı yüksek lisans programı çerçevesinde ve Doç. Dr. Turan KARACA danışmanlığında yüksek lisans öğrencisi Halil BOZOĞLU tarafından tez başlığı “Deneysel Hipertiroidi Oluşturulmuş Sıçanlarda Östrus Siklusunun Değişik Evrelerinde Dişi Genital Organlarda (Ovaryum ve Uterus) Östrojen ve Progesteron Reseptör Dağılımının İmmünohistokimyasal Olarak İncelenmesi” olarak teslim edilen bu tezin tez savunma sınavı/..../..... tarihinde yapılarak aşağıdaki jüri üyeleri tarafından “**Yüksek Lisans Tezi**” olarak kabul edilmiştir.

JÜRİ BAŞKANI

ÜYE

ÜYE

ÜYE

Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylıyorum.

Doç. Dr.Tammam SİPAHİ
Enstitü Müdürü V.

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca bilgi ve deneyimlerini paylaşarak bana yardımcı olan, tezimin hazırlanmasında büyük desteğini gördüğüm ve öğrencisi olmaktan mutluluk duyduğum Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı başkanımız ve çok değerli Danışmanım Sayın Doç. Dr. Turan KARACA'ya, yetişmemde büyük katkıları olan değerli hocalarım Sayın Prof. Dr. Mehmet KANTER, Sayın Doç. Dr. Gülnur KIZILAY ÖZFİDAN'a, Sayın Doç. Dr. Yeşim Hülya UZ'a, Sayın Yrd. Doç. Dr. Yeter TOPÇU TARLADAÇALIŞIR'a, Tezimin değişik aşamalarında birlikte çalıştığımız ve yardımlarını esirgemeyen değerli arkadaşlarım Hicran COŞAR'a, kardeşim Nalan ŞAN'a, Serpil BAYIR'a, Ömer Faruk TEMUR'a, Soner UYSAL'a, tüm bölüm arkadaşlarıma, maddi destek sağlayan TÜBAP'a ve aileme teşekkürlerimi bir borç bilirim.

İÇİNDEKİLER

1-GİRİŞ VE AMAÇ	1
2-GENEL BİLGİLER	4
TİROİD BEZİ	4
HİPERTİROİDİ	8
HİPERTİROİDİ VE İNFERTİLİTE	9
HİPERTİROİDİ VE GEBELİK	10
OVARYUM	11
UTERUS	17
ÖSTROJEN VE PROGESTERON RESEPTÖRLERİ	21
SIÇANLARDA MENSTRÜEL DÖNGÜ EVRELERİ VE ÖZELLİKLERİ	24
GEREÇ VE YÖNTEMLER	26
BULGULAR	31
TARTIŞMA	52
SONUÇLAR	59
ÖZET	61
SUMMARY	63
KAYNAKLAR	65
ŞEKİLLER VE TABLOLAR LİSTESİ	80
ÖZGEÇMİŞ	83
EKLER	84

SİMGE VE KISALTMALAR

ATP	: Adenozin trifosfat
cAMP	: Siklik adenozin monofosfat
ERα	: Östrojen reseptörü alfa
ERβ	: Östrojen reseptörü beta
FSH	: Folikül uyarıcı hormon
FT₄/ST₄	: Serbest tiroksin
FT₃/ST₃	: Serbest triiodotironin
GnRH	: Gonadotropin salgılatıcı hormon
KL	: Korpus luteum
LH	: Lutein hormon
LH-RH	: Luteinize edici hormon rilizing hormon
μm	: Mikrometre
mcg/kg	: Mikrogram/kilogram
PR	: Progesteron reseptörleri
TSH	: Tiroid stimulan hormon
TBG	: Tiroksin bağlayan globulin
TSI	: Tiroid stimüle edici immunglobulin
T₃	: Triiodotironin
T₄	: Tiroksin
TRH	: Tirotropin serbestleştirici hormon
kDa	:Kilodalton
ZP	: Zona pellicuda

GİRİŞ VE AMAÇ

Hipertiroidi, birçok sistemde bozukluklara neden olmakla birlikte, fonksiyonel ve yapısal komplikasyonları olan dünyada diyabetten sonra en yaygın endokrin hastalık nedenidir (1). Birçok hipertiroidi nedeni; etkenin tam olarak bilinmediği, otoimmün bir hastalıktır. Kadınlarda görülme sıklığı erkeklere oranla on kat daha fazladır (2). Hipertiroidinin başlıca komplikasyonları arasında; sinirlilik, uykusuzluk, eksoftalmi, ürtiker, vitiligo, myopati, hepatomegali, jinekomasti, fertilite azalması, düzensiz menses (amenor veya polimenor) vb. gibi semptomlar yer almaktadır (1,3,4). Hipertiroidinin kadınlarda sebep olduğu düzensiz menses ve fertilite azalması; yıllardır araştırılan, ancak tam olarak aydınlatılamamış pek çok yönü olan bir konudur.

Hipertiroidi insanlarda ve deney hayvanlarında; genital organlarda (ovaryum ve uterus) fonksiyonel ve yapısal değişikliklere neden olmaktadır (5-15). Bu nedenle sıçanlarda uygulanan deneysel hipertiroidi modelleri, hipertiroidinin patogenezinin aydınlatılması ve yeni terapötik girişimlerin denenmesi için yapılan araştırmalarda sıklıkla kullanılmaktadır.

Hipertiroidi de kadınlarda sıkça rastlanan etkileri ovariyal siklusta, yaygın bozukluklar arasında oligomenor (otuzbeş günün üstünde adet görme), amenor (adet görmeme), orta döngüde lutein hormon (LH) zirvesi azalmakta ya da tamamen yok olmaktadır (16,17).

Uterusa dair hipertiroidi bulgularında ise tiroid hormon reseptörleri gösterilmiş, geliştirilen hipertiroidi durumunda endometriyada kalınlaşma ve gecikmiş blastokist implantasyonu gözlenmiştir (9,10). Bunun yanında hipertiroidinin uterusu estradiol alımını ve saklanması azalttığı bildirilmiştir (11).

Memeli hayvanlar, türlerine ve yaşlarına bağlı olarak farklı aralıklarda östrüs gösterirler (18, 19). Birbirini izleyen iki östrüs evresinin başlangıcı arasındaki süreye seksüel siklus ya da östrüs siklusu denir (21). Memelileri siklik aktivitelere göre ayırdığımızda; sıçanlar, “poliöstrik hayvanlar” grubuna girmektedir. Östrüs siklusu; proöstrüs, östrüs, metöstrüs, diöstrüs ve anöstrüs olmak üzere 5 evreye ayrılır. Fakat sıçanlarda, anöstrüs evresi görülmediği için sadece 4 evre gözlenmektedir. Östrüs siklusu, sıçanlarda 4-5 gün sürmektedir (20). Proöstrüs ve östrüs evreleri yaklaşık 12 saat, diöstrüs 57 saat sürdüğü bilinmektedir (21).

İnsan ovaryum ve uterusunda menstural siklus sırasında östrojen reseptörleri (ER) ve progesteron reseptörlerinin (PR) dağılımını belirlemek için immünohistokimyasal boyamalardan faydalanılır (18). Sıçanlarda yapılan çalışmalarda ovaryum ve uterusunda östrojen ve progesteron reseptörleri yine immünohistokimyasal boyamalarla gösterilmiştir (22).

Yapılan çalışmalarda primordiyal ve preantral foliküllerde östrojen ve progesteron reseptörlerine rastlanılmamıştır. Antral foliküllerin granüloza hücrelerinde ER gözlenmiş, fakat PR miktarının LH dalgalanmasından önce ihmal edilecek kadar az olduğu görülmüştür. Buna karşın, LH dalgası sırasında baskın folikülün granüloza hücrelerinde PR gösterilmiş, ancak ER görülmemiştir. Diğer taraftan, baskın olmayan foliküllerin granüloza hücrelerinde ER saptanmış, fakat PR görülmemiştir. Menstrasyon döngüsü süresinde, teka interna hücrelerinde ve onu çevreleyen doku hücrelerinde ER görülmemiş, PR ise pozitif boyanmıştır (24).

Östrojen reseptörü (ER)'nin ER β ve ER α olmak üzere iki alt tipi bulunur. ER β , primer, sekonder ve olgun foliküllerin, granüloza hücrelerinin çekirdeklerinde izlenmiştir. Atretik foliküllerde ise zayıf boyanma izlenmiş ya da hiç boyanmadığı görülmüştür. Teka hücrelerinde, luteal hücrelerde, germinal epitelde ve oositlerde, çekirdekte özgün bir ER β tutulumu gözlenmemiştir. ER α ise granüloza hücrelerinde hiç görülmezken; germinal epitelde, interstitial hücrelerde ve teka hücrelerinde gözlenmiştir (23).

Sonuç olarak yapılan literatür incelemelerinde, hipertiroidinin, değişik menstural siklus evrelerinde etkilerini ortaya koyan yeterli sayıda literatüre rastlanılmamıştır. Bu çalışmada; L-Tiroksin ile hipertiroidi oluşturulmuş dişi sıçanların ovaryum ve uterus dokularında, hipertiroidinin etkilerine bağlı olarak; östrojen ve progesteron reseptörlerinin dağılımındaki değişimin immünohistokimyasal tekniklerle değerlendirmesi ve böylece hipertiroidili bireylerde ovaryum ve uterus dokusunda görülen normal olmayan ovariyal ve

uterus siklus yapısının aydınlatılması ile literatürde görülen hipertiroidili kadınlardaki infertilitenin açıklanmasına katkı sağlayacağını düşünmekteyiz.

GENEL BİLGİLER

TİROİD BEZİ

Tiroid Bezi Anatomisi

Tiroid bezi; boyunda, trakeanın anteriorunda, krikoid kıkırdak ve suprasternal çentik arasında bulunup, isthmus ile birbirine bağlı olan iki lobtan oluşan endokrin bir organdır. İnsan popülasyonunun, %15-40'ında embriyonel bir kalıntı olan primodial lob olarak isimlendirilen üçüncü bir lob daha görülebilir ve genellikle sol lobdan köken alır. Sağ lob yaklaşık olarak, sol lobun iki katı büyüklüğe sahip olduğu için bez asimetrik bir yapı sergilemektedir. Endokrin bezlerin en büyüğü olan tiroid bezinin ağırlığı, bireyden bireye değişmekle birlikte, ortalama 20-30 gr kadardır. Tiroid bezi kadınlarda, biraz daha büyük ve ağırdır. Menstruasyon ve gebelik dönemlerinde fizyolojik olarak büyür. Bunun yanında diyet ile alınan iyotun yetersiz olduğu bölgelerde yaşayan kişilerde de tiroid bezinin büyüklüğü ve ağırlığı belirgin olarak artar. Tiroid bezinin her iki kutbunun posteriorunda, paratiroid hormon üreten paratiroid bezler yerleşmişlerdir (2-32).

Tiroid Bezi Histolojisi

Tiroid bezi, servikal fasiyadan uzanan ince ve düzensiz kollajen içeren bağ dokusundan bir kapsül ile çevrilmiştir (33-35). En dıştan saran bu kapsülün altında, daha ince ve tamamen beze bitişik olan tiroid bezinin asıl kapsülü yer alır (35). Gevşek bir bağ dokusundan oluşan asıl kapsülden parankimaya doğru trabeküller uzanır ve bu trabeküller, bezi düzensiz bölmelere ayırır (25,28,33,37). Bu bölmeler giderek inceldiğinden, tüm

foliküllere erişerek, başlıca retiküler liflerden oluşan ince, düzensiz bağ dokusu ile folikülleri birbirinden ayırmaktadır. Ayrıca bu trabeküller, damarların ve sinirlerin geçiş yerlerini oluşturur ve beze fiziksel destek sağlar (38). Tiroid, folikülleri saran büyük bir kan ve lenfatik kılcal kan damarı ağı bulunan aşırı damarlı bir organdır. Bu kılcal kan damarlarının endotel hücreleri, diğer endokrin bezlerde olduğu gibi pencerelidir. Tiroid bezi, dakikada kendi ağırlığının beş katı kadar kan akımına sahip olan özel bir bezdir (38). Tiroid bezinin arka kısmında, kapsüle gömülü halde, oval şekilli 4 tane paratiroid bezi bulunmaktadır (38).

Tiroid bezi, insan vücudunda foliküler yapıya sahip tek endokrin organdır. Bezin yapısal, fonksiyonel birimleri olan ve salgı işlevini gerçekleştiren bu foliküllerdir (27,33,35,38). Tiroid bezi, çapları 15-500 µm arasında değişen farklı büyüklüklere ve farklı şekillere sahip yuvarlağımsı, yaklaşık 20-30 milyon tiroid folikülünden oluşmaktadır (33-38). Tiroid folikülünü sınırlandıran bağ dokusundan oluşan bazal lamina üzerinde tek sıra epitel hücreleri izlenir. Tiroid folikülleri, içi kolloid dolu fonksiyonel birimleridir. Tiroid foliküllerinin morfolojik görünümü, bezin bölgesine ve folikülün işlevsel aktivitesine göre değişiklik göstermektedir. Epitel hücrelerinin morfolojik görünümü; folikülün işlevsel durumuna göre prizmatikten yassı epitele doğru bir değişim gösterir. Epitel hücrelerin yassı görünümü, folikülün “hipoaktif” olduğunu gösterirken, prizmatik epitel “hiperaktif” durumda folikülü işaret eder (38).

Folikül epiteli (esas hücreler), aynı anda proteinleri sentezleyen, salgılayan, emen ve sindiren bir hücrenin tüm özelliklerini taşımaktadır. Bu hücrelerin bazal laminaya bakan kısımları kaba endoplazmik retikulumdan zengindir. Çekirdek, genellikle yuvarlak ve hücrenin merkezine yerleşimlidir. Apikal kutup ise golgi kompleksi ve salgı granüllerinin yanı sıra 0,5-0,6 µm çapında bolca lizozom ve bazı büyük fagozomlar bulunmaktadır. Apikal kutubun hücre zarı ise lümeneye bakan yüzde mikrovilluslara sahiptir. Mitokondri ve düz endoplazmik retikulumu sisternaları sitoplazmaya dağılmış olarak izlenir (38).

Foliküllerin ortasında bulunan lümen, epitel hücreleri ile döşenmiş olup, içindeki kolloid de, folikül hücreleri tarafından yapılarak lümeneye bırakılan ve tiroide özgü protein olan tiroglobulin içerir. Tiroid hormonları, bu proteinin içinde depolanmış olarak bulunur ve gerektiğinde tiroglobülinde ayrılarak kana verilir (1,38).

Tiroid bezi içinde yerleşmiş diğer bir hücre grubu da, parafoliküler hücreler veya C hücreleri olup, kalsitonin sekrete ederler (38,40).

Tiroid Bezi Fizyolojisi

Tiroid bezi, vücudun normal metabolizması ve homeostazi için gerekli olan 3 hormon üretir (1,28,31,40,41):

- 1- Triiodotronin (T3)
- 2- Tetraiodotronin (Tiroksin, T4)
- 3- Kalsitonin (Tirokalsitonin)

Tiroid bezi hormonları olan triiodotronin ve tiroksin folikül hücreleri tarafından sentezlenir ve salgılanır. Foliküllerin lümeninde depolanan kolloidin başlıca bileşeni, yaklaşık 120 tirozin aminoasidi içeren iyotlu büyük bir glikoprotein olan tiroglobulindir (25,31,41). Tirozin aminoasitleri, tiroglobulinin içerisinde iyotla birleşen ana maddelerdir. Tiroglobulin bir hormon olmamakla birlikte, tiroid hormonlarının inaktif depolanma şekli ve prekürsörüdür (25,28,40). Yani, triiodotronin ve tiroksin, kolloidin içinde tiroglobulin halinde depo edilmektedir. Tiroid hormonlarının serbest kalabilmesi için de tiroglobulinin hidrolize uğraması gerekmektedir (31). Tiroglobulinden serbestleşen aktif tiroid hormonları folikül lümeninden tiroid epiteli vasıtasıyla, folikülü çevreleyen fenestralı kapillerlerle kana geçmektedir (25).

Kalsitonin hormonu ise parafoliküler hücreler tarafından sentezlenir ve fizyolojik olarak paratiroid hormonunun antagonistidir. Kalsitonin hormonu, osteoklastların yıkıcı aktivitesini baskılamak ve osteoid kalsifikasyonunu artırarak kemiklerde kalsiyum depolanmasını artırır. Böylece kan kalsiyum düzeyini düşürmüş olur (25,31).

Tiroid hormonlarının sentezlenmesi, folikül içerisindeki iyodür seviyesi ile folikül hücrelerinin bazolateral kısmında bulunan Tiroid Stimülan Hormon (TSH) reseptörlerine TSH'nin bağlanmasıyla başlatılır. Böylece TSH, folikül hücrelerini tiroid hormonlarının sentezlenmesi ve depolanması için uyarılmış olur. Uyarılan folikül hücreleri de cAMP sentezini artırarak, iyot alınımını ve hormon üretimini başlatırlar (31,40). TSH, sıcak ve stres gibi uyaranlara bağlı olarak daha az salgılırken, soğukta daha çok salgılmaktadır (37). Tiroid folikülleri içerisinde başlayan hormon sentezi, ancak birkaç farklı aşamadan geçerek tamamlanır (25). Tiroid hormonlarının sentezlenip kana verilmesi 6 aşamada gerçekleşir:

- 1- Tiroglobulinin sentezlenmesi
- 2- İyotun yakalanması ve iyodidin oksidasyonu
- 3- Tiroglobulinin iyodinasyonu
- 4- T3 ve T4' ün oluşumu

5- Kolloidin Emilimi

6- T₄ ve T₃'ün dolaşıma verilmesi (27,28,30,41)

Tiroglobulinden dolaşıma serbestleşen hormonların yaklaşık % 70'i plazma proteinlerine, özellikle de tiroksin-bağlayıcı globuline (TBG) bağlanır. Hormonların % 25'lik bölümü ise tiroksin bağlayıcı pre-albümine (TBPA) ya da albümine bağlanır. Geriye kalan % 5'lik kısım ise metabolik olarak aktif kalır (25,40). T₄'ün % 99,9'u plazma proteinlerine bağlanırken % 0,1'lik kısmı ise serbest biçimde kalır. T₃'ün ise % 1'den az bir kısmı serbest olarak bulunur. Bu serbest hormon biçimleri, metabolize edilecekleri ve biyolojik etkilerini gösterecekleri doku hücreleri tarafından tutulurlar (41). Bağlayıcı proteinlerin tiroksine olan bu fazla ilgisinden dolayı, tiroksin dokularda yavaş bir şekilde serbestleşir. Dolaşımdaki tiroksinin yarısı her 6 günde bir serbestleşirken, plazma proteinlerine olan az ilgisinden dolayı triiyodotroninin yarısı, yaklaşık bir günde serbestleşir. Tiroksinin 4 katı fazla etkiye sahip olan triiyodotroninin latent süresi 6-12 saattir, en yüksek hücresel aktivitesi ise 2-3 gün sürer (41).

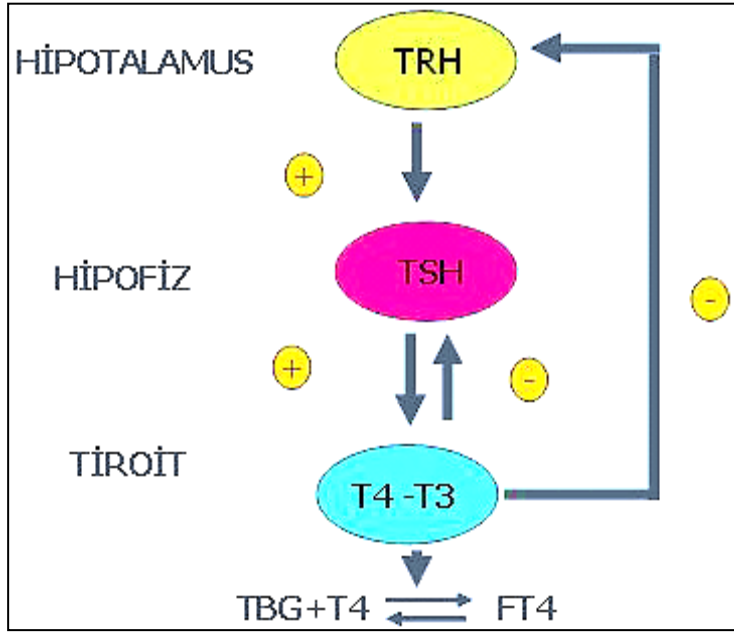
Tiroid Hormonlarının Biyolojik Etkileri

Tiroid hormonları gen ekspresyonunu, doku farklılaşmasını ve genel gelişmeyi düzenlerler. Tiroid hormonları çekirdek reseptörlerine, sitoplazma reseptörlerine göre daha yüksek afinite ile bağlanmaktadır. Nüklear bir mekanizmayla etki gösteren tiroid hormonlarının etkileri geç başlamakta fakat uzun sürmektedir. Bu hormonların en önemli etkileri organ ve dokulardaki hücresel tepkimeleri hızlandırmalarıdır. Hormonal etki ile büyümenin ve adenozin tri fosfat (ATP) oluşumu ve yıkımının artmasına bağlı olarak, oksijen ve enerji tüketiminin arttığı gözlenmektedir. Tiroid hormonları ATP üretimine sebep olan Na-K ATPaz sentezini hızlandırarak, termojenik bir etkinin oluşmasına neden olmaktadır. Bu nedenle metabolizma hızını, ATP üretimini hızlandırarak artırır (28,40,42.).

Hipotalamo-Hipofizer-Tiroid Aksı

Tiroid fonksiyonlarının başlıca kontrol kaynağı, bir hipotalamus hormonu olan Tirotropin Serbestleştirici Hormona (TRH) yanıt olarak adenohipofizden salgılanan glikoprotein yapısındaki TSH dur (27,30,34,40,44,Şekil 1). TRH, hipotalamustaki hücreler tarafından salgılanır, hipotalamohipofizyal portal sistemle ön hipofize taşınır. Böylece hipofizden ön lobundan TSH salgılanması sağlanmış olur. Ön hipofizdeki hücrelerin TRH'a yanıt vermeleri, triiodotronin ve tiroksinin feedback kontrolü altındadır (27,40). Dolaşımda

tiroid hormonları fazla olduğu zaman tirotropların TRH'ya yanıt vermeleri azalır. Tiroid hormonları az olduğunda ise tirotropların TRH'a yanıt vermeleri artar (27,44,).



Şekil 1. Hipotalamo-hipofizer-tiroid aksı (44).

HİPERTİROİDİ

Dokuların yüksek miktarda tiroid hormonları ile karşılaşması sonucu gelişen klinik durumdur. Tiroid işlevinin artışına bağlı oluşmasına rağmen, dışarıdan fazla miktarda hormonun alınmasına, inflamasyona veya tiroid dışında bir bölgeden hormonun salgılanmasına bağlı da oluşabilmektedir (45).

Hipertiroidizmlili hastaların tiroid bezleri normalin 2-3 katı kadar büyür ve hiperplazi oluşur. Folikül epiteli lümen içine doğru çok sayıda katlantılar ve kıvrımlar oluşturduğundan, hücre sayısındaki artış, bezin büyüklüğündeki artıştan daha fazladır. Bu durumda esas hücrelerin yüksekliği artar, kolloid ise büyük ölçüde azalır (30,34,40,41). Buna bağlı olarak hücrelerin tiroid hormonu salgılama hızı da artar. Yapılan bazı çalışmalarda, büyüyen bezlerin normalin 5-15 katı tiroid hormonu ürettiği gösterilmiştir (30,36,40,41).

Dışarıdan fazla miktarda hormon alınması ve tiroid dışında bir bölgeden hormon salınması durumunda ise tiroid bezi normalin aksine, atrofiye uğrar. Dışardan alınan ya da başka bir bölgeden salgılanan tiroid hormonlarının beze yaptığı baskılayıcı etki, bu sonucu doğurur. Böylece tiroid folikül lümeninde biriken kolloid kana verilmez ve folikül epitel hücreleri hipoaktif olarak izlenir. Bu mekanizmada histolojik olarak normal tiroid dokusunun aksine, lümenin daha büyük ve folikül epitel hücrelerinin yassılaştığı olarak izlenmesine

neden olur. Biyokimyasal parametreler ise normal tiroid bulgularına göre TSH değeri azalırken, FT₄ ve FT₃ değeri dışarıdan alınan ya da başka bir bölgeden salınan tiroid hormonları nedeniyle artmıştır.

Hipertiroidizmin en yaygın şekli (%60-90) ve bir otoimmün hastalık olan Graves hastalığında tiroid bezinde meydana gelen değişikliklerin, TSH fazlalığında görülen değişikliklerle aynı olduğu belirlenmiştir (30,37,40,41). Ancak bu hastalar üzerinde yapılan radyoimmünoassay çalışmalarda, hastalarda plazma TSH miktarında bir artışın olmadığı, hatta azalmanın olduğu, fakat buna rağmen hastaların plazmalarında TSH benzeri etkileri olan bazı maddelerin var olduğu gösterilmiştir. Bu maddeler, TSH'ın bağlandığı reseptörlere bağlanabilen immunglobulin (IgG antikoru) antikorlardır. Bunlara, tiroid stimüle edici immunglobulin (TSI) adı da verilmektedir (40,41). Bu antikorların, TSH'ın bağlandığı reseptörlere bağlanarak cAMP sistemini sürekli aktive etmek suretiyle hipertiroidiye yol açtıkları düşünülmektedir (41). TSI üretimi feedback kontrolü ile denetlenemediği için de tiroidin büyümesi, T₃ ve T₄ üretimi de kontrolsüz bir şekilde devam etmektedir (40). TSH'ın etkisi yaklaşık bir saat iken, bu antikorların 12 saat süren uyarıcı etkileri olduğu da tespit edilmiştir (41). Hipertiroidizm, bazen tiroid dokusunda oluşan ve çok miktarda tiroid hormonu salgılanmasına neden olan bir adenomun sonucunda da gelişebilir. Ancak, adenom bulunduğu bölgede aşırı tiroid sekresyonuna neden olurken, geriye kalan tiroid bölgelerinin işlevlerini inhibe eder (41).

Hipertiroidinin başlıca nedenleri aşağıda sıralanmıştır:

- Basedow Graves hastalığı,
- Toksik multinodüler guatr (Plummer hastalığı),
- Toksik nodüler guatr (Toksik adenom),
- Trofoblastik tümörler,
- Struma-Ovari,
- İyotla indüklenen hipertiroidizm (Jod Basedow),
- Artmış TSH sekresyonu (TSHoma: TSH salgılayan hipofiz adenomu)

HİPERTİROİDİ VE İNFERTİLİTE

İnfertil kadınlarda tiroid hastalıklarının (disfonksiyon ve otoimmünite) prevalansı üzerinde literatürde yeterli veriye rastlanmaktadır. Ancak, tiroid bozukluğu olan kadınlarda infertilite prevalansı hakkında veri literatürde çok azdır. Endometriozis, polikistik over

sendromu ya da prematür over yetmezliği nedeniyle kısırlık durumunda, tiroid otoimmünite daha yüksek bir prevalans, fertil kadınlarda ortaya konmuştur (3-19).

Ovulatuvar menstural döngü, tirotoksikozlu kadınlarda oluşmasına rağmen menstural bozukluklar yaygındır. Oligomenore en yaygın görülen anormalitedir ve oligomenore amenora dönüşebilir (16). Tirotoksikozda gözlemlenmiş en erken klinik değişimler arasında amenore bulunmaktadır. Bu bulgu ilk olarak 1840'da kayıtlara geçmiştir (17). Amenoreye o zamandan beri sık sık rastlanmıştır, ancak menstural döngüde bazı başka değişimler de görülmüştür. Bunlar arasında anovülasyon, oligomenore ve hipotiroidizmde daha yaygın görülen menometroraji de bulunmaktadır (16). Bu değişikliklerin T4'ün yumurtalıklar ve uterus üzerinde mi yoksa hipofiz ve hipotalamus üzerindeki doğrudan etkisiyle mi gerçekleştiği henüz kesinleşmemiştir. T4'ün doğurganlık üzerindeki etkisi ise daha mutlak. Buna karşın menstural döngüdeki bozuklukların, doğurganlığı olumsuz etkileyeceği aşıkardır. Terapi sayesinde bireyin menstural döngüleri olağan düzenine geri döndürülebilir. Tirotoksikozda görülen kilo kaybı ve psikolojik bozukluklar (öncelikle kaygı) da cinsel fonksiyon bozukluğuna katkıda bulunabilir (46). Tirotoksik kadınlarda, sık sık LH, FSH ve östrojen fazlası görülür. Ayrıca gonadotropin salgılayan hormonuna (GnRH) karşı gonadotropin reaksiyonu artar (50). Ancak döngü ortasındaki LH artışı azalır ya da olmaz (51).

Ergenlik öncesi tirotoksikozun, cinsel olgunlaşmayı ve adet başlangıcını geciktirdiği kaydedilmiştir. Ergenlikteki gecikme tirotoksikozun vücut kompozisyonu üzerindeki etkisi (örneğin vücut yağı oranında düşüş) ile ilişkilendirilebilir. Bu etkinin ayrıca ergenliğin başlangıcı ve menarş ile ilişkili olduğu düşünülmektedir (16).

Uterusa dair deneysel çalışmalarda tiroid hormon reseptörleri gösterilmiştir. Aşırı tiroid hormonu verilen deneysel verilerde endometriyada kalınlaşma görülmüştür. Yine uterusda gecikmiş blastokist implantasyonu gösterilmiştir (9, 10).

HİPERTİROİDİ VE GEBELİK

Gebelikte hipertiroidi, hipotiroidiye nazaran daha seyrek görülmekle beraber görülme sıklığı % 0.2'dir (49). Hipertiroidinin en başta gelen nedeni ise % 85-90 oranında Graves hastalığıdır (50). Diğer nedenler; toksik multinodüler guatr, toksik adenom ve subakut tiroidittir. Çok daha düşük oranda da hiperemesis gravidorum, mol hidatiform ve struma ovarii gebelikte görülebilmektedir (51-54). Tedavi edilmeyen hipertiroidi, hem anne hem de fetus için önemli bir risk oluşturmaktadır (55-57). Anne ile ilgili komplikasyonlar; düşük,

plasantaya ayrılması, erken doğumdur. Annede kalp yetmezliği, pre-eklampsi ve tiroid krizi gelişme riski artmıştır (58-59,64). Uygun tedavi edilmemiş vakalarda, fetüs ve yeni doğanda da komplikasyonlar gelişebilmektedir. Bunlar; prematurelik, düşük doğum ağırlığı, yeni doğanın santral hipotiroidisi ve yeni doğan hipertiroidisi (60-63). Hipertiroidisi olan kadınlarda gebeliğinin üçüncü trimesterinde düşük doğum ağırlıklı bebek doğurma riski diğer faktörlerden bağımsız olarak 4,1 kat daha yüksek olduğu bildirilmiştir (58).

OVARYUM

Ovaryum Anatomisi

Tuba uterina'nın arka ve alt kısmında iki yanda bulunan ovaryumlar, lig. latum uteri içinde bulunurlar. Uzun eksenini hemen hemen vertikal yöndedir. Pembemsi-gri renkli olan ovaryumların yüzü, ergenlik çağına değin peritonla örtülü olup düz ve parlaktır. Puberteden sonra periton özelliğini yitirir ve matlaşır. Ovulasyon ve doğurmaya koşut olarak da üzeri pürüklü bir görünüm alır. İnsanda her bir ovaryum yaklaşık 4 cm uzunluğunda, 2 cm eninde ve 0,8 cm kalınlığındadır. Ağırlığı da 3 - 5 gr kadardır (35).

Ovaryum Histolojisi

Histolojik olarak üç katman gözlenir(Şekil 2):

I-Epitel (Germinatif epitel): Ovaryum dış yüzeyini örter. Bu kat tek sıra kübik epitelden oluşur. Epitelin peritona bakan yüzünde mikrovilluslar ve az sayıda kinosilyalar gözlemlenir.

II-Tunika albuginea: Bağ dokusundan yapılmıştır. Yaş ilerledikçe kalınlaşır ve sertleşir. Az damarlı, düzensiz sıkı bağ dokusu yapısındadır. Kollajen lifler yüzeye paralel demetler oluştururlar.

III-Ovaryum stroması: Ovaryum'un temel ve destek dokusunu oluşturur. Ovaryum stroması dışta korteks, içte medulla olmak üzere iki bölgedir (65).

a)Korteks (cortex ovarii): Organın dış ve işlevsel bölümüdür. Çeşitli gelişim aşamalarındaki ovaryum folikülleri ve korpus luteum görülür. Korteks stromasında kollajen, elastik lifler ve lif ağları ile ince uzun mekik şeklinde stroma hücreleri bulunur. Stroma hücreleri fibroblastlardan ayrıcalık olarak hormon salgılayan teka interna hücrelerine dönüşebilen hücrelerdir.

b) Medulla (medulla ovarii): Kan ve lenf damarları ile sınırlardan zengin açık renk iç bölgedir. Korteks ve medullayı yapısal olarak kesin sınırla ayırmak olası değildir.

Ovaryum folikül gelişimi: Ovaryum folikülleri değişen büyüklüktedir, her biri tek oosit içerir ve korteks stromasına dağılmış olarak bulunurlar.

Histolojik olarak üç ana tip ovaryum folikülü bulunur;

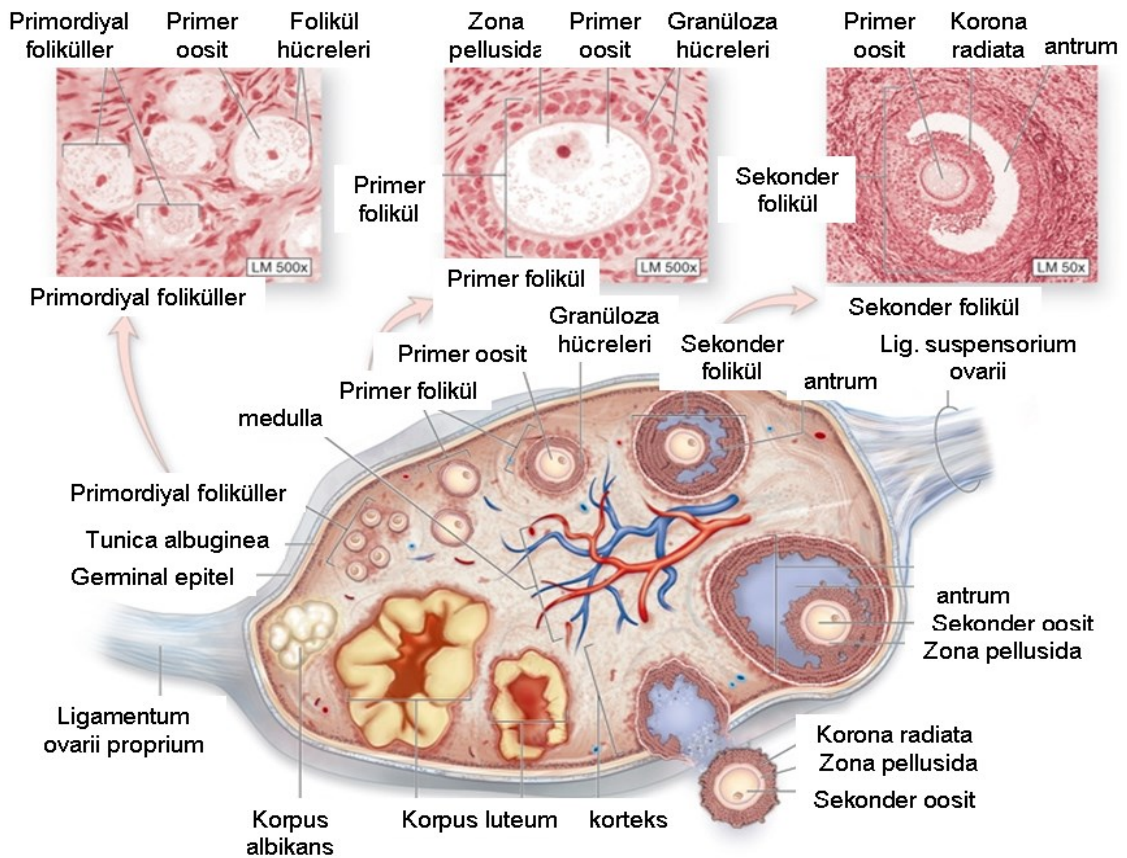
1- Primordiyal Folikül

2- Büyüyen Folikül

a- Primer Folikül

b- Sekonder veya Antral Folikül

2- Olgun ya da Graaf Folikülü



Şekil 2. Folikül gelişimi (68).

Primordiyal folikül, fetal gelişimin 3. ayında ovaryumda belirir. Olgunlaşmış ovaryumda primordiyal foliküller tunika albugineanın hemen altında korteks stroması içinde bulunur. Primordiyal foliküllerde oosit tek katlı yassı folikül hücreleriyle sarılmıştır. Folikül hücrelerinin dış bölümü bazal lamina ile sınırlandırılmıştır. Bu aşamada folikül içindeki oosit

yaklaşık 30 µm çapındadır. Eksantrik yerleşmiş nükleusu içinde çok belirgin nükleolusu vardır.

Primordiyal folikül, büyüyen folikül aşamasına geçtiğinde, folikülde, oositte ve buna eşlik eden stromada da değişiklikler meydana gelir. Başlangıç olarak oosit genişler ve bunu saran folikül hücreleri çoğalmaya başlayarak kübik bir şekil alırlar. Folikül hücreleri kübik yapıya farklılaştığında folikül **primer folikül** olarak adlandırılır. Oosit büyüdükçe, homojen ve yoğun boyanan, asidofilik ışık kırıcı tabaka olan Zona pellusida (ZP), oosit ve folikül hücreleri arasında belirir. ZP, ışık mikroskopunda ilk olarak oosit 50-80 µm'ye büyüdüğünde belirir. Büyüyen oosit jel yapısında olan, glikozaminoglikandan ve glikoproteinden zengin ZP'yı salgılar (65).

Tek katlı olan folikül hücreleri mitotik bölünmelerle birlikte çok katlı epitel görüntüsü alır ve buna membrana granulosum denir. Bu aşamada folikül hücreleri ise granüloza hücreleri olarak adlandırılır. Bazal lamina folikül hücrelerinin dış kısmıyla stroma arasındaki yerini korur. Foliküler büyüme sırasında granüloza hücreleri arasında çok sayıda gap junction gelişir. Çünkü besin ve küçük makro moleküllerin kandan foliküler sıvıya geçmesi ovum ve folikül gelişimi için çok önemlidir (66).

Granüloza hücrelerinin çoğalmasıyla folikülü çevreleyen stromal hücreler "Teka folikülü" denen bağ doku yapısını oluştururlar. Teka folikülü daha sonra iki ayrı tabakaya farklılaşır. Bunlar:

Teka interna: Çok iyi damarlanmış iç tarafta bulunan, kübik ve salgı yapan hücrelerdir. Teka interna hücrelerinde çok sayıda LH reseptörü vardır. LH uyarımına cevap olarak, östrojenin öncüsü olan androjenleri sentezler ve salgırlar. Teka internada salgı yapan hücrelere ek olarak fibroblastlar, kollajen lifler ve zengin bir damar ağı vardır.

Teka eksterna: Bağ doku hücrelerinin dış kısmıdır. Esas olarak düz kas hücreleri ve kollajen lif demetlerinden oluşur. Teka tabakaları arasında ve teka eksterna ile çevre stroma arasındaki sınır belirgin değildir. Bununla birlikte granüloza hücreleri ile teka tabakası arasında bulunan bazal lamina bu iki tabakayı kesin şekilde ayırır.

Granüloza tabakası 6-12 hücre tabakasına ulaştığında granüloza hücreleri arasında sıvı dolu boşluklar belirmeye başlar. Bu aşamada folikül ise **sekonder** veya **antral folikül** adını alır. Bu hyaluronik asitten zengin sıvıya folikül sıvısı denir. Bu sıvı birikmeye devam ettikçe boşluklar birleşir ve tek büyük bir boşluk halini alır ki buna da **antrum** denir. Antral folikül aşamasından sonra eksantrik olarak yerleşmiş oosit büyüyemez ve azami 125 µm çapında

kalır. Büyüme inhibisyonu ise 2 kDa büyüklüğünde bir peptid olan Oocyte Maturation Inhibitor(OMI) tarafından sağlanır.

Antral folikül ve dolayısı ile antrum büyüdükçe granüloza hücreleri de genişler. Granüloza hücre tabakasının kalınlığı oositle ilişkide olduğu yer dışında aynıdır. Granüloza hücrelerinin oositle ilişkide olduğu bölgede hücreler kalınlaşmış tepe şeklinde bir yapı oluşturur ki buna **kumulus ooforus** denir. Kumulus ooforus hücreleri, oositi sarar ve ovulasyonda da oositle birlikte atılan bu hücrelere **korona radiata** denir.

Graaf folikülü olarak da bilinen olgun foliküller 10 mm veya daha büyük olabilirler. Bu büyüklüğünden dolayı ovaryum yüzeyinde bir çıkıntı olarak gözükürler. Folikül azami büyüklüğüne yaklaştıkça granüloza hücrelerinin mitotik aktivitesi azalır. Granüloza hücre tabakası antrumun genişlemesine bağlı olarak inceler. Granüloza hücreleri arasındaki boşluk büyüdükçe, ovulasyona hazırlık olarak, birbirleriyle olan bağlantıları ve ilişkileri zayıflar.

Ovulasyon sırasında, arta kalan granüloza ve teka hücrelerinden oluşan folikül duvarı folikül katlandıkça kıvrıntılar oluşturur ve **korpus luteuma** dönüşür. İlk olarak teka internada bulunan kan damarlarının folikül boşluğuna doğru kanaması **korpus hemorajikum** oluşumuna neden olur. Daha sonra stromada ki dokular folikül boşluğuna doğru akın ederler. Granüloza ve teka interna hücre tabakasında ciddi morfolojik değişiklikler meydana gelir.

Korpus luteum oluşmaya başlamasıyla teka internada bulunan kan ve lenf damarları granüloza tabakasına doğru hızlı bir şekilde büyür. Korpus luteum içinde geniş bir damar ağı meydana gelir. Ovaryum korteksinde yerleşmiş bulunan korpus luteum progesteron ve östrojen salgılar. Döllenme olmuş ise bu hormonlar endometriyumun büyüme ve salgı aktivitesini uyararak implantasyon için hazırlanmasını sağlarlar (67).

Ovaryum Fizyolojisi

Ovaryumlar, dışıde gametlerin üretilmesi (gametogenesis) ve steroid yapıdaki hormonların sentezlenip salgılanmasından (Steroidogenesis) yükümlüdür. Hipotalamustan nabızsal olarak 90 dakikalık aralıklarla salgılanan GnRH (gonadotropin salgılatıcı hormon) hipofiz ön lobundan gonadotrop hormonların (FSH, LH) salgılanmasını denetler. Bu hormon yarılanma ömrü 2–4 dakika olan bir dekapeptittir. Bunların ovaryumlara etkisiyle menstrual döngü içinde östrojen ve progesteron salgılanması ardarda gerçekleşir.

Ovaryumdan salgılanan hormonlar ve görevleri:

1-Östrojen: Ovaryum foliküllerinin büyümesini ve olgunlaşmasında görevlidir. Endometriyumu kalınlaştırmasının yanı sıra uterus salgısını, kan dolaşımını ve uterus

boyunu'nun müköz salgısını arttırır. Tüm genital yolların epitel örtüsünün ve düz kasların büyümesini sağlar. Tuba uterinaların hareketini, silya aktivitesini arttırır. FSH salınımını bazı durumlarda azaltmak (negatif geri bildirim) bazı durumlarda ise arttırarak etki gösterir (pozitif geri bildirim). Vagina epitelinin kornifiye edilmesinden sorumludur. Dış genital organları geliştirir ve dişiye has vücut biçimini alınmasını sağlar. Deri yağ bezlerinin salgısını inceltmenin yanı sıra meme bezleri kanalları gelişiminden sorumludur. Gen düzeyinde protein anabolizmasını uyarır. Hipotalamustaki ilgili nöronları etkileyerek cinsel isteği arttırır (40).

2-Progesteron: Endometriyum salgısını uyararak, uterus salgısını koyu, yapışkan hale getirir. Gebelikte uterus kaslarını büyütür, geliştirir. Tuba uterina ve uterus hareketlerini azaltır. Vagina epitelinin kornifiye olmasını azaltır, önler. Meme bez dokusunu büyütür ve meme bezleri üzerine prolaktin etkisini önler. Vücut sıcaklığını yükseltir (yaklaşık 0,5 °C). Hipotalamustan LH-RH (luteinize edici hormon salgılatıcı hormon), hipofiz bezinden LH salgılanmasını önler (negatif geri bildirim). Zigot implantasyonu için T lenfositleri baskılar ve fetüsü korumada immun supresif etki gösterirler (40).

Ovaryumlardan olgun bir oositin oluşturularak atılması (ovulasyon), puberteden menapoza kadar devam eden kesintisiz süreçtir. İnsanda ovulasyon menstruasyonun başlangıcından itibaren 13-14. günlerde gerçekleşir ve her ortalama 28 günde bir oositin atılmasıyla tekrarlanan bu olaylar "ovariyan siklus" olarak bilinir. Ovariyan siklus 3 fazdan oluşur;

1- Folikül büyüme ve gelişiminin görüldüğü foliküler faz,

2- Ovulasyon,

3- Korpus luteum (KL) oluşumuyla birlikte durağan bir sürecin gözlemlendiği luteal faz (35).

Foliküler faz: Olgun folikülün granüloza ve teka interna hücrelerinden salgılanan steroid hormonlar hipotalamo-hipofizyal sistemi etkileyerek gonadotrop hormon salgılanmasını düzenler. Döngünün ilk yarısında primer foliküllerin oluşumu gonadotrop hormonlardan bağımsızdır, ancak daha sonraki gelişme için FSH gereklidir. Foliküler evrenin başında artan FSH salınımı primer foliküllerin büyümesini uyarır, granüloza hücrelerinde FSH reseptörlerinin sayısını artırır. Bu etkiyle granüloza hücreleri çoğalır ve bu hücrelerde aromataz enzimi yapılır. Yüksek östrojen düzeyi FSH'ı azaltırken, LH'ı artırır. LH reseptörleri teka interna hücrelerinde bulunur. Bu hücrelerde kolesterolden androjenler sentezlenerek salgılanır ve difüzyonla granüloza hücrelerine geçer, aromataz androjenleri östrojenlere dönüştürür. Östrojen teka internaya geçer ve burada bulunan kılcal damarlarla genel dolaşıma katılır. Artan östrojenler doğrudan hipofizi etkiler ve dolaylı olarak da, GnRH

sentezini baskılayarak FSH salgılanmasını kısıtlar. Östrojenler ovulasyon öncesi LH salgısının artmasını sağlar ve LH piki ovulasyonu başlatır (70).

Ovulasyon: LH düzeyindeki artışa yanıt olarak granüloza hücreleri üzerindeki LH reseptörleri azalır ve granüloza hücrelerinde LH'ya yanıt olarak östrojen üretimi durur. Bu artış ile primer oositin birinci mayotik bölünmesi tutuklu kaldığı aşamadan harekete geçer. Bu olay LH artışından 12-24 saat sonra meydana gelir ve sekonder oosit ve birinci kutup cisimciğinin oluşumu ile sonlanır (71). Ovulasyon sırasında olgun folikül ovaryum yüzeyinden dışarıya doğru, stigma adı verilen bir çukurluk yapar. LH düzeyinin artması sonucu uyarılan teka eksterna ve tunika albuginea içindeki proteolitik etkinlik, olgun folikülün yırtılmasını kolaylaştırır. Dışarıya atılan oosit, ovaryuma çok yaklaşmış olan ovidukta girer. Oosit burada döllenir. Döllenme ovulasyon sonrasında ilk 24 saat içinde gerçekleşmezse oosit bozulur ve ortadan kaldırılır (72).

Luteal faz: Ovulasyondan sonra geriye kalan foliküler hücre tabakası kıvrımlı bir şekil alır ve hormon salgılayan majör bir bez olan korpus luteumun bir bölümünü oluşturur. Bu dönüşüm sırasında ilk olarak folikülün bazal membranı yıkılır. Başlangıçta damarsız olan granüloza hücre kümesi içine kan damarları girer. Antrum boşluğuna kan dolar ve pıhtılaşır; böylece, geçici bir yapı olan korpus hemorajikum meydana gelir. Daha sonra, yeni oluşmuş kan damarları, fibroblastlar ve kollajen lifler fibrin pıhtı içine girer. Granüloza hücreleri, granüloza lutein hücrelere dönüşüp, steroid sentezleyen hücre özelliği gösterirler. Bu özelliği kazandıktan sonra, FSH ve LH uyarısına yanıt olarak progesteron ve östrojen salgırlar. Teka interna hücreleri de teka lutein hücrelerine dönüşür ve LH uyarısına yanıt olarak androstenedion ve progesteron üretirler (72).

Döllenme ve implantasyon gelişmediğinde korpus luteum sadece 14 gün işlevsel halde kalır ve bu durumda menstruasyon korpus luteumu adını alır. İnsan koryonik gonadotropini ve diğer lüteotropinlerin yokluğunda östrojen ve progesteronların salgılanması azalır ve ovulasyondan yaklaşık 10-12 gün sonra korpus luteum dejenere olmaya başlar (71). Bu olay luteal gerileme ya da luteoliz olarak da adlandırılır. Luteoliz boyunca korpus luteum gerilerken fonksiyonel ve yapısal birçok değişiklik meydana gelir. Meydana gelen esas fonksiyonel değişiklik luteal hücreler tarafından sentezlenen progesteronun azalmasıdır. Yapısal değişikliklerin başında programlı hücre ölümü yoluyla luteal doku ve hücrelerin bozulması yer alır (73). Dejenere olan korpus luteumda hücreler arasında hiyalin materyal birikmesiyle korpus albicans oluşur (71).

UTERUS

Uterus Anatomisi

Uterus pelvis boşluğunda önde mesane, arkada rektum ve altta vajina arasında yer alan kalın duvarlı, kastan yapılmış ve içi boş embriyonun implante olduğu organıdır. Uterusun abdominal bölümü tuba uterina ile pelvik bölümü ise vajina ile birleşir (74,75). Hafif düzleşmiş bir armudu andıran uterus, gövdesinin ön yüzeyi neredeyse tamamen düz olmasına karşın, arka yüzeyi belirgin bir şekilde konvektir. Uzunluğu yaklaşık olarak 8 cm, genişliği 5 cm, kalınlığı ise 2,5 cm' dir. Ağırlığı ortalama 50-80 gr arasında olup, doğum yapmış ve yapmamış kadınlarda değişiklik gösterir (75,76,Şekil 3).

Anatomik olarak iki bölgeye ayrılır;

a- Gövde (Corpus uteri): Uterus'un geniş olan üst bölümüdür. Ön yüz düz, arka kısım ise konvektir (74-78)

c- Serviks (Cervix uteri): Uterus'un isthmus uteri ile vagina arasında kalan bölümüdür. Uterus' un 1/3' ünü oluşturur. Alt kısmı vagina içine doğru sokulmuştur (77,79).

Uterus Histolojisi

Uterus histolojik olarak üç katmandan oluşur;

I-Perimetriyum (Tunika seroza): İnce bir bağ dokusu ile desteklenmiş tek sıra mezotel hücrelerinden oluşur. Peritonun visseral yaprağıdır. Tunika adventisya peritonsuz bölgede dış kat olarak işlev görür. Perimetriyum ön yüzün sadece bir kısmını, arka yüzün ise tümünü örter (74,81).

II-Miyometriyum (Tunika muskularis): Uterusun en kalın katmanıdır. Bağ dokusu bölmeleriyle ayrılmış düz kas demetleri görülür. Dıştaki kas kısmı, uzunlamasına düzenlenmiş düz kaslardan yapıldır. Orta kas kısmı, büyük arterler, venöz pleksuslar ve lenf damarları içerir. Enlemesine ve uzunlamasına uzanan düz kas demetlerini kapsar. İç kas kısmı ise, mukozanın altında uzunlamasına uzanan ince düz katmanından oluşur. Uterusun anatomik bölümlerine göre kalınlığı değişir. Miyometriyum, fundus ve korpusun orta bölümlerinde daha kalın iken tuba uterinanın açılış yerinde daha ince bir yapı gözlemlenir (74,80).

III-Endometriyum (Tunika mukoza): Fetusun yerleşip geliştiği uterusun en iç katmanıdır (80). Epitel ile basit tübüler bezler içeren lamina propriadan oluşur. Lamina propria yoğun, düzensiz kollagen lifler içeren bol hücreli, fibroblastlardan zengin, gevşek bağ dokusu yapısındadır. İğ biçimli bağdokusu hücreleri, makrofajlar, lökositler ve çok sayıda

retiküler lifler içerir (30). Epitel, tek katlı prizmatik silyalı ve salgı yapıcı hücrelerden oluşur. Bezler, miyometriyuma yakın alt bölümlerinde nadiren dallanma göstermektedir. Uterus bezlerinin epiteli, yüzey epiteline benzese de silyalı hücreler daha azdır. Tek katlı prizmatik salgı yapan hücrelerden oluşurlar ve bazen dallı tübüler yapı gösterirler (81).

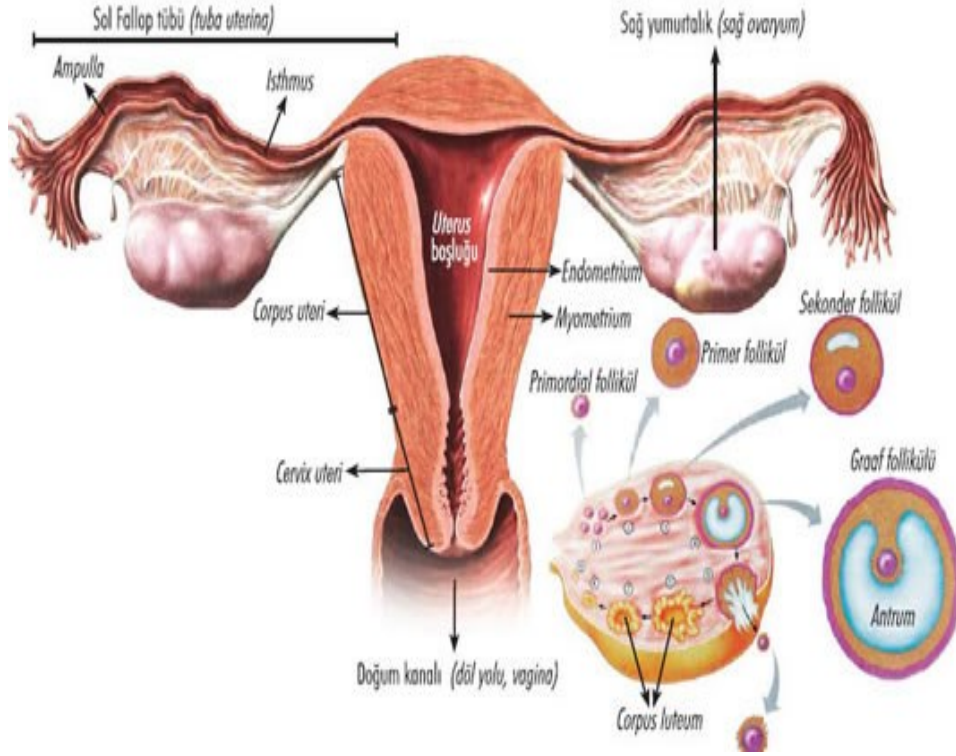
Endometriyum iki katmandan oluşur. Endometriyumun 1/3 derin kısmını oluşturan ve uterus bezlerinin son kısımlarını içeren miyometriyuma komşu bölgeye **endometriyum bazalis (str. basale endometriale)** denir. Bu katman menstruasyon sırasında atılmaz ve endometriyumun yenilenmesi buradan olur.

Endometriyumun 2/3 yüzeyel bölgesinde ise bezlerin boyun ve gövde kısımları yerleşiktir. Bu katman menstruasyonla atılır. Buraya **endometriyum fonksiyonalis (str. functionale endometriale)** denir. Fonksiyonel tabaka bezlerinde dört tip epitel kökenli hücre bulunur. Bunlar; proliferatif hücreler, salgı hücreleri, silyalı hücreler ve bazal hücrelerdir (83). Her menstrual döngüde endometriyumun yüzeyel 3/2'lik kısmı dökülerek bazalis tabakasından yeniden meydana gelir. Endometriyum menarş ve menapoz arasında, tek katlı prizmatik epitel ve altda lamina propriyadan oluşmaktadır. Miyometriyum ve endometriyum menopozda, atrofiye uğrar ve endometriyum bezleri düzleşir. Bezler büyük oranda kaybolarak doku daha fibrotik bir görünüm alır (75). Ergenlik çağındaki kadınlarda hipofiz ön lobunun uyarımı altındaki ovaryum hormonlarının etkisiyle endometriyumda döngüsel değişimler meydana gelir. Buna menstrual ya da uterinal döngü de denir.

Uterus Fizyolojisi

Pratik olarak menstrual döngünün başlangıcı menstrual kanamanın görüldüğü gün olarak alınır. Menstrual döngü 12-15 yaşlarda başlar ve menopoza değin sürer. Menstrual döngü üç evreden oluşur (Şekil 4).

I-Proliferatif evre; döngünün 5-14'üncü günleri arasında gerçekleşir. Ovaryum folliküllerinin gelişmesi ve östrojen hormonun üretimi ile ilgili evredir. Tüm evre boyunca hücresel çoğalma ile bezler ve endometriyumun yüzey epiteli artar (80). Proliferatif evrenin erken döneminde endometriyum genellikle 2 mm den daha incedir. Tek katlı prizmatik epitel hücreleri içeren salgı bezleri dardır ve tübüler bezler bazal katmandan endometriyal boşluğun yüzeyine kadar genelde düz ve birbirlerine koşut yönde uzanırlar (75). Bez hücrelerinde



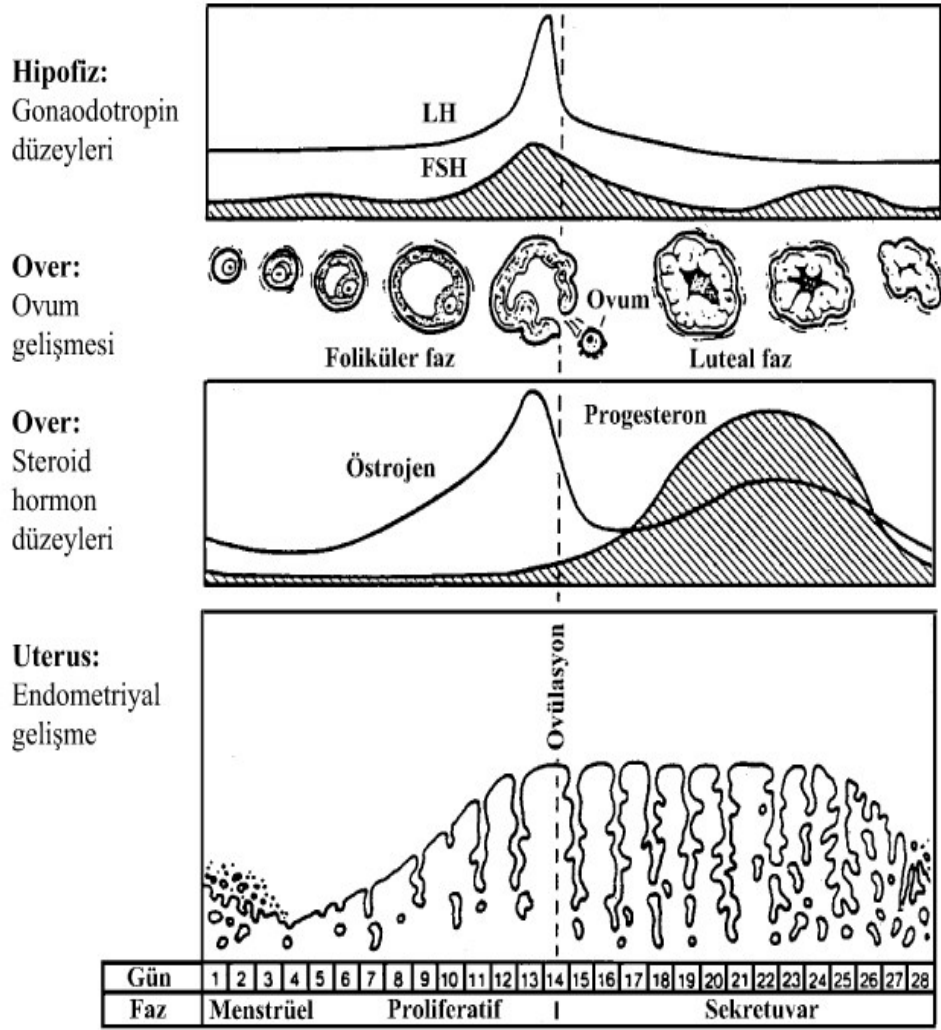
Şekil 3. Ovaryum ve uterus anatomisi (124).

granüllü endoplazmik retikulum sisterna sayısında ve Golgi kompleksi boyutlarında giderek bir artış görülür. Bu şekilde hücreler salgılama fonksiyonu için hazırlık yapar. Yenilenmekte olan stroma içine doğru spiral arterler ilerlerler (80). Bezlerde glikojen birikimi başlamıştır. Hücrelerde iri, yoğun kromatinli çekirdekler görülür (30). Geç proliferatif evrede bez epiteli ve stromada artış sonucunda endometriyum kalınlaşır. Endometriyumun fonksiyonals katmanındaki salgı bezleri bazaldeki dallanmış bölümleriyle karşılaştırıldığında birbirinden oldukça ayrıktırlar. Bazalde salgı son bölümleri daha çoktur ve stroma yoğundur. Ovulasyonun yaklaşmasıyla bez epitelleri uzar ve yalancı katlanmalar meydana getirirler (75). Endometriyum, döngünün 14. gününde tümüyle yenilenmiş ve kalınlaşmıştır. Bu evre ovulasyondan bir gün sonraya kadar sürer ve sonunda endometriyum kalınlığı 3 mm' ye ulaşmıştır (74).

II-Sekresyon (luteal) evresi; ovulasyonu izleyen 2-3 gün içerisinde başlayan ve 28. güne kadar süren evredir. Bu evre progesteron hormonu etkisiyle gerçekleşen menstruasyona hazırlık niteliğinde olan değişiklerin başladığı dönemdir (75). Ayrıca ovulasyondan sonra oluşan korpus luteumdan salgılanan progesteron etkisi ile endometriyumda sekretuar değişimler olur. Bu değişimlerin amacı, döllenmiş ovumun implantasyonu için uygun bir ortam oluşturmaktır (84). Bu evrede, endometriyal bezlerden glikojen birikimi ve stromada ödem

nedeniyle endometriyum kalınlaşması devam eder (30). Endometriyum bu evrede en kalın (5mm) durumuna ulaşır. Bezlerin lümenini glikoprotein salgı ürünleri genişletir (80). Salgı ürünleri ilk günlerde bez hücrelerinin çoğunda çekirdek altı bölgede yer alırken, ilerleyen günlerde çekirdek üstü bölgeye geçerler (85). Erken sekretuar evre, evrenin başlangıcından 21. güne kadarki dönemdir. Östrojen reseptörleri azalır. Progesteron reseptörleri özellikle stromada bol miktarda bulunurlar. Endometriyal bezler daha da artar ve lümen aralığı genişler (84). Menstruasyon öncesi döngünün son 2-3. günü “geç sekretuar evre” olarak bilinir. Bu evrede bezler kıvrıntılı ve dallanmış görülür. Lümenleri salgıyla doludur. Spiral arterler belirginleşmiştir (85). Ovulasyondan sonra döllenme gerçekleşirse, tüm endometriyum desidua halini alır. Döllenme olmazsa, sekresyon evresi sona erer. Korpus luteumun işlevi azalır. Progesteron ve östrojen hormonlarının da azalmasıyla menstruasyon evresi başlar (80). İlaveeten geç sekretuar evrede, endometriyum bezlerinin mukus salgısı azalır. Ovulasyondan 11 gün sonra lenfositler endometriyuma göç etmeye başlar (84).

III-Menstruasyon evresi; döngünün 1-4. günleri arasındaki evredir (85). Menstruasyon evresi yüzey epitelinin altındaki hücreler arası boşluklara kan hücrelerinin dolmasıyla başlar. Sekretuar evrenin sonunda spiral arterlerin duvarları kasılmasıyla kan akımı engellenir. Oluşan iskemi damar duvarının ve endometriyum fonksiyonals katmanının nekrozuna sebep olur. Bu arada kasılan damarların yukarısında bulunan kan damarları yırtılır ve kanama başlar. Bu kanamanın süresi ve hiperplazi derecesine göre değişmektedir (80). Devamlı östrojen etkisi veya östrojen düzeyinin azalması sonucunda endometriyum bir taraftan yenilenirken diğer taraftan dökülür ve kanar (84). Ortalama 30-50 ml kan kaybı olur (80). Endometriyum kısmen ayrılmış bir hale gelir. Menstrual evrenin sonunda endometriyumdan geriye sadece, endometriyum bezlerinin bazal bölümlerini içeren bazal tabaka kalır (80). Bu evrede fonksiyonals katmanında oksijen azalmıştır. Menstruasyon evresi, öncesi ve süresince bazalis katmanı kendi düz arterlerinden beslenmeyi sürdürür. Buradaki bezlerin bazal hücreleri çoğalarak yeni oluşan hücreler yüzeye doğru ilerleyerek bezleri oluşturur (30). Bu katmanın damar endoteli ve stroma hücreleri de çoğalır. Kollagen ve ara madde salgılanır. Bu evreye yenilenme ya da rejenarasyon evresi denir. Bez hücrelerinin çoğalması ve bunların yüzeye çoğalmasıyla proliferatif evre ve döngü yeniden başlar (30).



Şekil 4. Menstrüel sıklustaki hormonal, over folikülü ve endometriyal değişiklikler (123).

ÖSTROJEN VE PROGESTERON RESEPTÖRLERİ

Östrojen ve progesteron gibi steroid hormonlar dokulardaki spesifik etkilerini intraselüler özel reseptörleri aracılığı ile gösterirler. Etki mekanizmaları şu şekildedir;

- Hormon hücre duvarını basit difüzyonla geçer.
- Nükleus membranına kadar ilerler ve burada reseptör proteinine bağlanarak reseptör-hormon kompleksini oluştururlar.
- Nükleusta nuklear DNA ile hormon reseptör kompleksi etkileşir.
- mRNA sentezi olur. mRNA nükleustan çıkarak ribozomlara taşınır.
- Spesifik hücre aktivitesini oluşturacak protein sentezi burada gerçekleşir.

Cinsiyet hormonlarının, hedef hücrede ekspresyonunu transkripsiyon seviyesinde düzenlediği genler; enzimleri, salgı ürünlerini, yapısal proteinleri, bunun yanında büyüme faktörlerini ve protoonkogenleri içerir (75-97)

Östrojen

Östrojenler 18 karbonlu hormonlardır. 17 β -östradiol, östron ve estradiol doğal östrojenlerdir. Bunlardan estradiol vücutta en fazla bulunan ve östrojenik etkileri en fazla olan doğal östrojendir. Estradiol vücutta kısmen östrona dönüşür (98). Ovaryum foliküllerinin teka interna ve granüloza hücrelerinden, korpus luteum ve plasentadan salgılanır. Biyosentetik yolla androjenlerden oluşurlar. Dolaşımdaki androstenedionun aromatisasyonu ile de sentezlenirler. Aromataz (CYP19), androstenedionun östrona, testosteronun ise östradiole dönüşümünü katalizleyen enzimdir. Dolaşımdaki östradiolün %2'si serbest, %60'ı albümine, %38'i testosteronu da bağlayan, gonadal steroid-bağlayıcı globuline (GBG) bağlıdır. Karaciğerde östrojenler okside edilir veya glukuronid ve sülfat bileşiklerine dönüştürülür. Bu bileşiklerin tümü diğer metabolitlerle birlikte idrar, safra ve dışkı ile atılır (97).

Östrojen reseptörü: Yapılan çalışmalarda, primordiyal ve preantral foliküllerde östrojen reseptörleri bulunmadığı görülmüştür. Antral foliküllerin granüloza hücrelerinde östrojen reseptörü gösterilmiştir. Diğer taraftan baskın olmayan foliküllerin granüloza hücrelerinde östrojen reseptörü saptanmıştır. Menstrasyon döngüsü süresinde teka interna ve onu çevreleyen doku hücrelerinin, östrojen reseptörü immün negatif oldukları tespit edilmiştir (24).

Uterusta ise endometriyum epitel hücrelerinde, stromada, bez epitellerinde immün pozitif boyanmıştır. Myometriyum tabakasındaki kaslarda yine pozitif boyanma izlenmiştir (86).

Östrojen reseptörünün iki alt tipi bulunur: Bunlar; ER β ve ER α 'dır. Bunların immünohistokimyasal olarak yerleşimi, yeni doğan, erken doğum sonrası evrede, immatüre ve yetişkin sıçanlarda belirlenmiştir ve farklı bölgelerde yerleşmiş oldukları belirlenmiştir. ER β ; primer, sekonder ve olgun foliküllerin, granuloza hücrelerinin çekirdeklerinde gözlenmiştir. Atretik foliküllerde ise zayıf boyanma ya da hiç boyanmama gözlenmiştir. ER α ise granüloza hücrelerinde hiç gözlenmezken; germinal epitelde, interstitial hücrelerde ve tekal hücrelerde gözlenmiştir (23).

Sıçanlarda; östrojenin; östrojen reseptörü- α ve östrojen reseptörü- β olmak üzere iki alt tipi tanımlanmıştır (99,100). Türler arasında yüksek benzerlik göstermekte olan ER- β , aynı

zamanda farelerde ve insanlarda klonlanmıştır (101,102). Estradiolün ER- α 'ya bağlanma afinitesinin, ER- β 'ya göre daha yüksek olduğu ve ER- α 'nın transkripsiyonal aktivasyonunu artırdığı belirtilmiştir (103,104). Ayrıca fare uterusunda ER- β 'nın; ER- α 'nın negatif düzenleyicisi olarak görev üstlendiği bildirilmiştir (105).

Progesteron

Progesteron, 21 karbonlu olan korpus luteum, plasenta ve az miktarlarda folikülden salınan hormondur. Az miktarlardaki progesteron, testis ve böbreküstü bez korteksinden de dolaşıma kazandırılır. Dolaşımdaki progesteronun yaklaşık %2'si serbest, %80'i albümine, %18'i ise kortikosteroid bağlayıcı globuline bağlıdır. Yarı ömrü kısa olan progesteron, karaciğerde, pregnanediol dönüştürüldükten sonra, glukuronik asitle birleştirilip idrarla atılır (40).

Progesteron reseptörleri: Antral foliküllerin granüloza hücrelerinde, progesteron reseptörü miktarının LH dalgalanmasından önce ihmal edilecek kadar az olduğu bildirilmiştir. LH dalgası sırasında, baskın folikülün granüloza hücrelerinde progesteron reseptörü saptanmamıştır. Bunun yanında baskın olmayan foliküllerin granüloza hücrelerinde progesteron reseptörü bulunmamıştır. Ovulasyondan sonra ise erken gebelik sırasında progesteron reseptörü, lüteinleşmiş granüloza hücrelerinde ve korpus luteum içinde kalmayı sürdürür. Menstrasyon döngüsü süresinde, teka interna ve onu çevreleyen doku hücreleri progesteron reseptörü ise pozitifdir (24).

Progesteron reseptörü, uterusu ise menstrual siklusun dönemlerine göre değişiklik göstermesinin yanında endometriyum epitelinde ve stromasında saptanmıştır. Bunun yanında fonksiyonel tabakanın bezlerinde immün pozitiflik gözlenmiştir. Myometriyum tabakasının kas hücrelerinde ise menstrual siklusun evrelerine göre yoğunluğu değişiklik arz etse de pozitif boyanmıştır (106).

İki ayrı promotör bölgesinde transkripsiyonla tek bir genden iki progesteron reseptörü izoformu (PR-A, PR-B) üretilir. Bir genden iki protein izoformunun eksprese edilmesi fare, sıçan, insan gibi birçok türde görülür (24). İnsandaki PR-A izoformu PR-B'den N terminal uçtaki 164 aminoasidin yokluğuyla ayrılır. Öte yandan, iki izoformun varlığının fizyolojik anlamı bilinmemektedir (97). İzoformların oranı, gelişim boyunca üreme sistemi dokusuna ve östrus döngüsüne bağlı olarak değişir (23,109).

SİÇANLARDA MENSTURAL SIKLUS EVRELERİ VE ÖZELLİKLERİ

Sıçanlar, puberte başlangıcından yaşlılığa kadar döngüsel aktivite gösteren ve mevsime bağlı olmayan poliöstrik, yani üreme dönemi boyunca birden fazla kızgınlık evresi görülen hayvanlardır. Puberte ile başlayan ilk menstural siklus dört gün kadar sürer ve yaşlandıkça bu süre giderek uzayarak hayatın son dönemlerinde altı günü bulur (23).

Rat östrus siklusu ortalama 4-5 gün sürmektedir. Östrus siklusu laboratuvar kolonilerinde mevsimden bağımsız olarak yıl boyu sürmektedir (110,111). Siklus 4 dönemi kapsar. Proöstrus evresi yaklaşık 12 saat, östrus evresi 9-15 saat, metöstrus evresi 21 saat ve diöstrus evresi de ortalama 57 saat sürer (23,112).

Proöstrus evresinde; lüteinleştirici hormon ve estradiol en üst düzeye ulaşır. Estradiol, evrenin başlangıcında en düşük düzeydeyken, evrenin ortalarına doğru en yüksektir. Progesteron değeri metöstrus ve diöstrustan sonraki pik seviyesine proöstrus fazının sonunda ulaşır (115,116).

Östrus evresine geçerken, estradiol düzeylerinde hafif bir azalma olur. Follikül uyarıcı hormonda da yavaş bir artış görülür (23). Östrus evresinde; lüteinleştirici hormon en düşük düzeydedir. Follikül uyarıcı hormon en yüksek değerine ulaşır. Estradiol düzeyi düşmeyi sürdürür ve bu evrenin ortalarına doğru en alt düzeydedir. Progesteron düzeyinde de artma olur ve östrusun sonuna doğru ovülasyon gerçekleşir (23).

Metöstrus evresinde; estradiol seviyesi artmaya başlar. Progesteron sekresyonu metöstrus evresi süresince yüksektir. Bu fazda korpus luteum oluşumu gerçekleşir (117).

Diöstrus evresi dinlenme fazıdır (117). Lüteinleştirici hormon ve follikül uyarıcı hormon düzeyleri düşüktür. Progesteron sekresyonu, diöstrus faz süresince yüksektir. Bu evrede estradiol düzeyinde de azalma sürer, proöstrus dönemine doğru en düşük düzeye ulaşır (23).

Farklı memeli türlerinde östrus aşamalarını belirlemek için kabul edilen yöntem vajinal smeardir (114). Bu yöntem, vajinal duvardan sürüntü alınması ya da vajinal yıkama sonucu elde edilen preparatlar üzerinde, her bir faz ile ilintili hücre tiplerinin (epiteliyal veya kornifiye hücre, lökositler) histolojik olarak tanınması esasına dayanır. Östrus siklusu fazlarına ait hücre dağılımları ve smear yoğunluğu Tablo 1'de verilmiştir. Bu yöntem canlı hayatta iken, tekrarlayan siklusa ait gözlemler için güvenilir bir kayıt sağlar. Ayrıca

hayvanlarda ovulasyon zamanı, kızgınlık dönemi (davranışsal östrus) ve gebeliğin tespiti için de kullanılan pratik bir yöntemdir (115,118,119).

Etkili bir saptama için vaginal sitolojik örneklerin gün boyunca aynı saatte alınması gerekmektedir. Ratlarda, pamuk çubuklar kullanılarak sık sık alınan smearlerde kornifiye hücrelerin ya da östrus benzeri smearlerin normalden fazla sayıda gözlendiği bildirilmiştir (120). Sık smear almak vajinal epitelde kornifikasyona neden olmaktadır (113,121).

Tablo 1. Vajinal smeardeki hücre morfolojisi ile östrus siklus safhalarının sınıflandırılması (122)

Siklus safhası	HÜCRE TİPİ ^a			
	Lökositler	Nukleuslu epitel	Kornifiye epitel	Smear yoğunluğu
Proöstrus	0/+ sık dejenere	+ /+++ iyi gelişmiş (Predominant)	0/+	orta
Östrus	0	0	++/+++ göreceli olarak küçük hücreler (predominant)	ortadan şiddetliye
Metöstrus	0/++	0	++/+++ östrustakinden daha geniş, daha düz ve daha kümelenmiş (öbek)	ortadan şiddetliye
Diöstrus	+ /+++ (Predominant)	+ /+++ çoğunlukla düzensiz şekilli ve vakuollü	0 ya da +/++	ince ya da ortadan şiddetliye

^aHücre yoğunluğu: 0 = yok, + = az, ++ : orta yoğunlukta, +++ : şiddetli.

GEREÇ VE YÖNTEMLER

DENEKLER

Çalışmamızda Trakya Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma Birimi'nde üretilen, ağırlıkları 200-250 gr arasında değişen, aynı biyolojik ve fizyolojik özelliklere sahip Wistar albino türü 64 adet erişkin dişi sıçan kullanıldı. Deney süresi boyunca, tüm deneklerimiz, optimum laboratuvar koşulları (22 ± 1 °C, 12 saat aydınlık/karanlık siklusunda) altında, günlük içme suyu ve % 21 ham protein içeren pelet yemlerle (Purina) beslendi. Düzenli olarak kafes bakımları yapıldı. Dört kontrol ve dört deney olmak üzere sekiz grup oluşturuldu. Deney başında tüm hayvanlar numaralandırılarak ağırlık ölçümleri yapıldı.

Gruplar;

Kontrol grupları:

- I. Grup: Proöstrüs Kontrol Grubu; hiçbir müdahalede bulunulmadı (n=8).
- II. Grup: Östrüs Kontrol Grubu; hiçbir müdahalede bulunulmadı (n=8).
- III. Grup: Metöstrüs Kontrol Grubu; hiçbir müdahalede bulunulmadı (n=8).
- IV. Grup: Diöstrüs Kontrol Grubu; hiçbir müdahalede bulunulmadı (n=8).

Deney grupları:

- I. Grup: Proöstrüs Deney Grubu; 21 gün süre ile 250 mcg/kg/gün olmak üzere subkutan enjeksiyon yolu ile tiroksin (L-Tiroksin) hormonu verildi (n=8).
- II. Grup: Östrüs Deney Grubu; 21 gün süre ile 250 mcg/kg/gün olmak üzere subkutan enjeksiyon yolu ile tiroksin (L-Tiroksin) hormonu verildi (n=8).
- III. Grup: Metöstrüs Deney grubu; 21 gün süre ile 250 mcg/kg/gün olmak üzere subkutan enjeksiyon yolu ile tiroksin (L-Tiroksin) hormonu verildi (n=8).

IV. Grup: Diöstrüs Deney grubu; 21 gün süre ile 250 mcg/kg/gün olmak üzere subkutan enjeksiyon yolu ile tiroksin (L-Tiroksin) hormonu verildi (n=8).

Deney sonunda 21. günden başlanarak 24 saatte bir defa deneklerin vulva bölgesi %70 etil alkolle (Merck) silindikten sonra, steril tahta çubukların pamukla kaplanmış uç kısımları nemlendirildi ve vajina içerisinden, nazikçe sürüntü alınıp, lam üzerine yayıldı. Oda sıcaklığında kuruyan smearlere %70 metanol (Merck) uygulanıp, yine oda sıcaklığında kurutularak fiksasyon sağlandı. %1'lik Toluidin mavisi (Sigma-USA) ile 5 dakika boyanan preparatlar distile su ile yıkanıp kurutulduktan sonra Kanada balzamu (Fluka-Almanya) ile kapatıldı. Östrus fazlarına ait fotoğrafların çekimi için, CX31 Olympus marka ışık mikroskobu ve C-5060 Olympus marka kamera kullanıldı.

Çalışma için Trakya Üniversitesi Etik Kurulu'ndan (Ek 1) 09.06.2012 tarihinde onay alındı.

BİYOKİMYASAL ANALİZ İÇİN HAZIRLANMASI

Anestezi sağlandıktan sonra, doku örneklerinin alınımından önce kardiyak kan alınarak biyokimyasal değerlendirme için Trakya Üniversitesi Sağlık Araştırma ve Uygulama Merkezi Hormon Laboratuvarı'na gönderildi.

DOKU TEMİNİ VE HAZIRLANMASI

Yirmi birinci gün sonunda deney ve kontrol gruplarında, vajinal smear örnekleri alınarak ilgili sıklusa gelen sıçanların tartımları yapıp, intraperitoneal (i.p.) yoldan 50 mg/kg ketamin (Ketalar-Eczacıbaşı/Türkiye) ve 10 mg/kg xylazine (Rompun-Bayer/Türkiye) ile anestezi sağlanıp diseksiyon edildikten sonra, uterus, ovaryum ve tiroid örnekleri birlikte alınıp değerlendirildi. Alınan uterus, ovaryum ve tiroid örnekleri %10 luk tamponlu nötral formaldehit fiksatifinde tespit edildi. Dokuların ışık mikroskopik incelemeleri için işlemlendirilmeleri Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarı'nda gerçekleştirildi.

IŞIK MİKROSKOBİK İNCELEME

Işık mikroskopik incelemeler için ovaryum, uterus ve tiroid dokuları, Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Işık Mikroskopi Laboratuvarı'nda işlemlendirildi. Bu amaçla ovaryum, uterus ve tiroid dokuları %10'luk

tamponlu nötral formaldehit fiksatoründe 72 saat fikse edildikten sonra yıkama işlemine geçildi. Doku örnekleri bir gece akarsuda yıkanarak tespit maddesinden arındırıldı. Yıkanan dokular daha sonra artan derecelerdeki (%70, %80 ve %96 da birer saat, %100 de üç saat) alkol serilerinde geçirilerek sudan kurtarılmaları (dehidratasyon) sağlandı. Dehidratasyon aşamasından sonra saydamlaştırma basamağı için dokular 3 seri 15'er dakika ksilazin ile muamele edildi. Gömme işleminden önce dokular yumuşak parafinde (56 °C'deki etüvde) 1 gece tutuldu. Bir sonraki gün doku örnekleri yumuşak parafinden alınarak 1 saat sıvı sert parafinde tutularak, bloklandı. Bu bloklardan Leica RM-2245 silindirli mikrotom kullanılarak 5 µm (mikrometre) kalınlığındaki kesitler alındı. Tiroid bezi, uterus ve ovaryumdaki histolojik yapı değişikliklerini ortaya koyabilmek amacıyla alınan kesitler, Hematoksilen+Eosin (H+E) ile boyandı. Işık mikroskopunda (Olympus CX31-Japan) incelenerek, bulguların fotoğrafları çekildi.

İMMÜNOHİSTOKİMYASAL İNCELEME

Östrojen Reseptörü İmmünohistokimyasal Boyama

İnceleme için her gruba ait ovaryum ve uterus dokularından 5 µm kalınlığında kesitler alındı ve deparafinizasyon işlemi takiben, kesitler suya indirildi. Suya indirilen kesitler antijen retrieval içinde mikrodalga fırında 20 dakika kaynatıldı. Oda ısısında 20 dakika soğumaya bırakıldıktan sonra, kesitler fosfat buffer solusyonu (PBS) ile yıkandı. Bu aşamadan sonra hidrojen peroksidaz aktivitesinin giderilmesi için metanolde (Riedel-de Hæn 24229) hazırlanan %3'lük hidrojen peroksit (H₂O₂) ile 20 dk muamele edildi. Kesitler PBS (pH 7.2-7,4) ile yıkandı. Özgül olmayan antikor bağlanmalarını bloklamak üzere kesitlere %1 preimmün rabbit serum (Ultra V Block, LabVision, TA-015-UB) uygulandı. Daha sonra kesitler nemli chamber içinde 1/100 oranında sulandırılmış primer antikor ile 1 saat süre ile inkübe edildi. Kullanılan primer antikor, anti-estrogen reseptör alpha antibody (ab37438Abcam, USA) idi. Kesitler 3 kez PBS ile yıkama sonrasında 20 dakika sekonder antikor solüsyonunda (biotinylated second antibody Invitrogen UK) tutuldu. Üç kez PBS'de yıkanan kesitlere 20 dk streptavidin peroksidaz solüsyonu (streptavidin peroxidase, enzyme conjugate, Invitrogen UK) uygulandı. Kesitlere 3 kez PBS ile yıkama sonrasında 10 dakika diamin benzidin (DAB) kromojen solüsyonu (LabVision, TA-002-HAC) uygulaması yapıldı. Kesitler distile su ile yıkandıktan sonra 5 dakika Mayer hematoksilen uygulanarak zıt boyama yapıldı. Alkol serilerinden (%70, %80 ve %96'lık alkolde 2 dakikadan 2 defa, %100'lük

alkolde 2 dakikadan 3 defa) geçirildi. Saydamlaştırma için 3 dakikadan 3 defa ksilazinde bekletilerek kapatma solüsyonu ile lamel kapatıldı ve ışık mikroskobunda değerlendirmeye alındı.

Progesteron Reseptörü İmmünohistokimyasal Boyama

İnceleme için her gruba ait ovaryum ve uterus dokularından 5 µm kalınlığında kesitler alındı ve deparafinizasyon işlemini takiben kesitler suya indirildi. Suya indirilen kesitler antijen retrieval içinde mikrodalga fırında 20 dakika kaynatıldı. Oda ısısında 20 dakika soğumaya bırakıldıktan sonra kesitler PBS ile yıkandı. Bu aşamadan sonra hidrojen peroksidaz aktivitesinin giderilmesi için metanolde (Riedel-de Hæn 24229) hazırlanan %3'lük hidrojen peroksit (H₂O₂) ile 20 dakika muamele edildi. Kesitler PBS (pH 7.2-7,4) ile yıkandı. Özgül olmayan antikor bağlanmalarını bloklamak üzere kesitlere %1 preimmün rabbit serum (Ultra V Block, LabVision, TA-015-UB) uygulandı. Daha sonra kesitler nemli chamber içinde 1/40 oranında sulandırılmış primer antikor ile bir gece boyunca (yaklaşık 16 saat) +4 C⁰ inkübe edildi. Kullanılan primer antikor, anti-progesterone reseptor antibody (ab2764-PR-AT 4,14 Abcam, USA) idi. Kesitler 3 kez PBS ile yıkama sonrasında 20 dakika sekonder antikor solüsyonunda (biotinylated second antibody Invitrogen UK) tutuldu. 3 kez PBS'de yıkanan kesitlere 20 dk streptavidin peroksidaz solüsyonu (streptavidin peroxidase, enzyme conjugate Invitrogen UK) uygulandı. Kesitlere 3 kez PBS ile yıkama sonrasında 10 dk DAB kromojen solüsyonu (LabVision, TA-002-HAC) uygulaması yapıldı. Kesitler distile su ile yıkandıktan sonra 5 dk Mayer hematoksilen uygulanarak zıt boyama yapıldı. Alkol serilerinden (%70, %80 ve %96'lük alkolde 2 dakikadan 2 defa, %100'lük alkolde 2 dakikadan 3 defa) geçirildi. Saydamlaştırma için 3 dakikadan 3 defa ksilazinde bekletilerek kapatma solüsyonu ile lamel kapatıldı ve ışık mikroskobunda değerlendirmeye alındı.

BİYOKİMYASAL İNCELEME

Biyokimyasal analiz için Trakya Üniversitesi Sağlık Araştırma ve Uygulama Merkezi Hormon Laboratuvarı'na gönderilen deney ve kontrol grubundaki hayvan kanları santrifüj edildi. IMMULITE 2000 XPi Overview Siemens cihazında Immunoassay yöntemiyle serbest T₄ ve progesteron değerleri; ng/ml cinsinden, TSH değerleri; mIU/ml olarak, östrojen ise pg/ml olarak tayin edildi.

İSTATİSTİKSEL ANALİZ

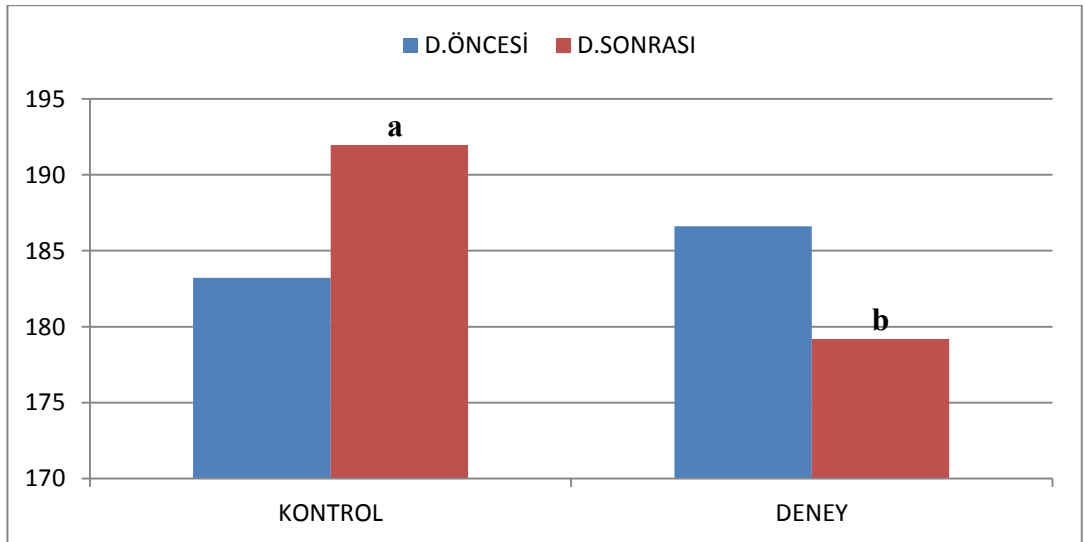
İstatistiksel analizler için, SASv 12.0 paket program kullanılarak varyans analizleri yapıldı. Gruplar arası ve içindeki farklılıklar Duncan testi ile belirlendi. Tüm veriler ortalama (\pm) standart sapma (S.S) olarak ifade edildi. Ayrıca ovaryumdaki korpus luteum ve granüloza hücrelerinde, PR boyaması semikantitatif olarak saptandı. Ovaryum PR miktarında semikantitatif değerlendirme, aşağıdaki biçimde yapıldı; yok (-), nadir (\pm), az (+), orta (++) , fazla (+++), çok fazla (++++).

BULGULAR

VÜCUT AĞIRLIKLARI, TSH VE SERBEST T₄ BULGULARI

Vücut ağırlık bulguları

Deney öncesi ve deney sonrası her iki gruptaki hayvan ağırlıkları ölçülerek değerlendirildi. Deney grubundaki hayvanların ağırlıklarının azaldığı gözlemlenirken, kontrol grubunda ağırlıklarının arttığı görüldü ($P < 0.05$, Şekil 5). Ortaya çıkan bu sonuç, hipertiroidinin bulguları arasında değerlendirildi.



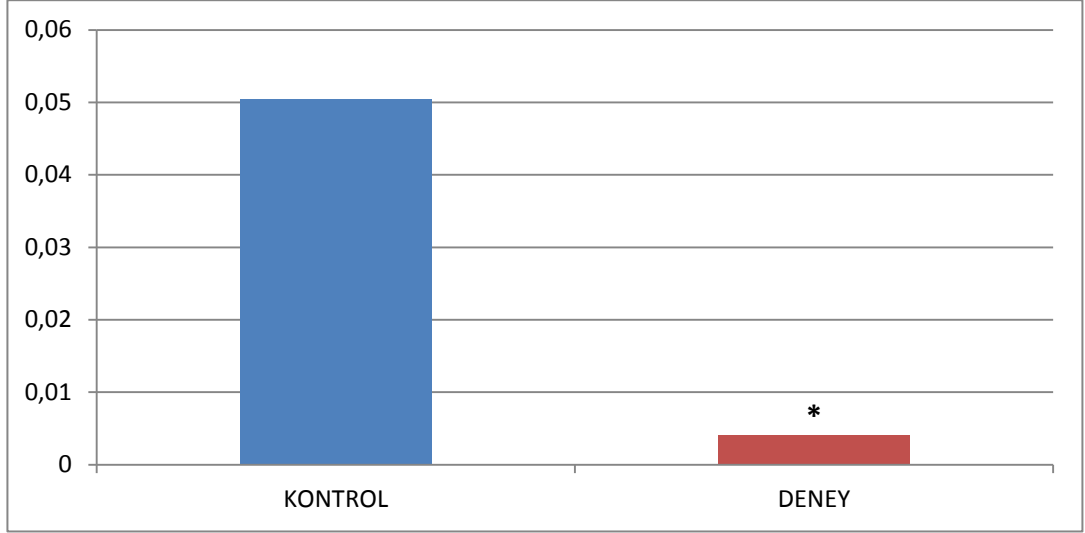
a: $P < 0.05$ deney öncesine göre anlamlı olarak artmıştır.

b: $P < 0.05$ deney öncesine göre anlamlı olarak azalmıştır.

Şekil 5. Deney öncesi ve deney sonrası gruplara göre ortalama ağırlık değerleri.

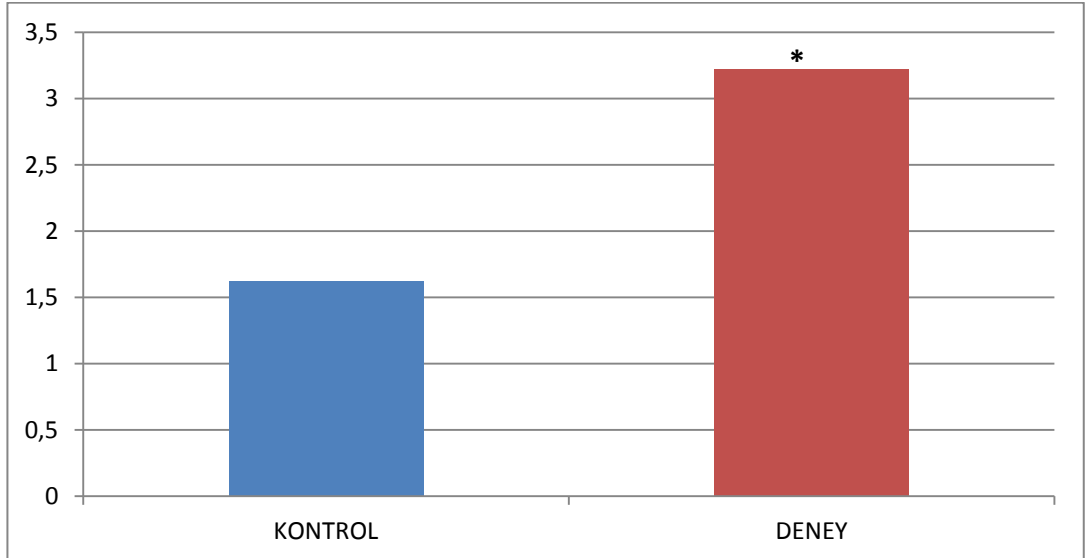
Deney Sonrası Grupların TSH ve serbest T₄ Plazma Değeri Bulguları

Deney sonunda, TSH değeri hipertiroidi grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olarak azaldığı tespit edildi ($P<0.001$; Şekil 6). Kontrol grubuna göre deney grubunun serbest T₄ değerleri ise istatistiksel olarak anlamlı olarak yüksek bulundu ($P<0.001$; Şekil 7).



* $P<0.001$; Kontrole göre anlamlı olarak düşmüştür.

Şekil 6. Deney ve kontrol gurubunun TSH değerleri.

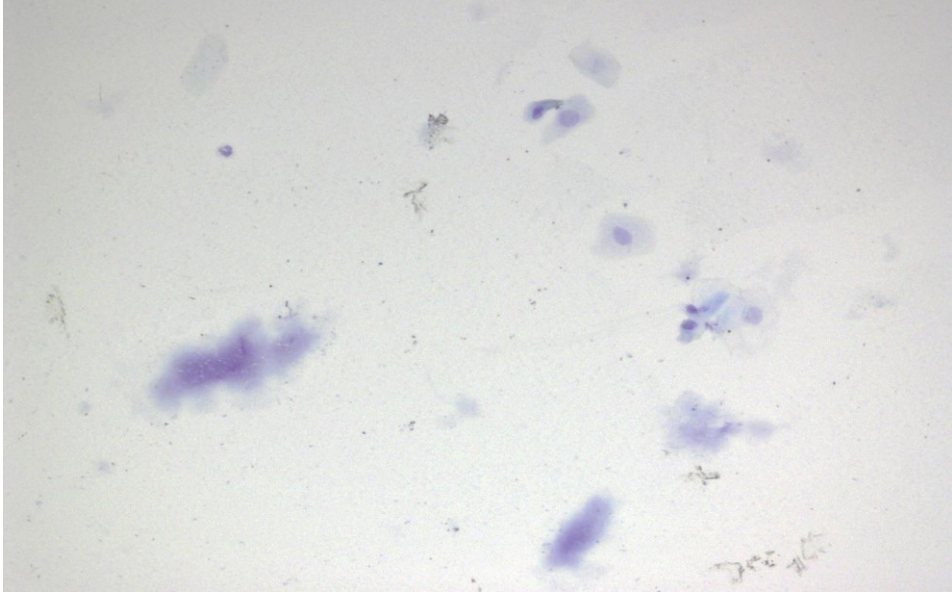


* $P<0.001$; Kontrole göre anlamlı olarak artmıştır.

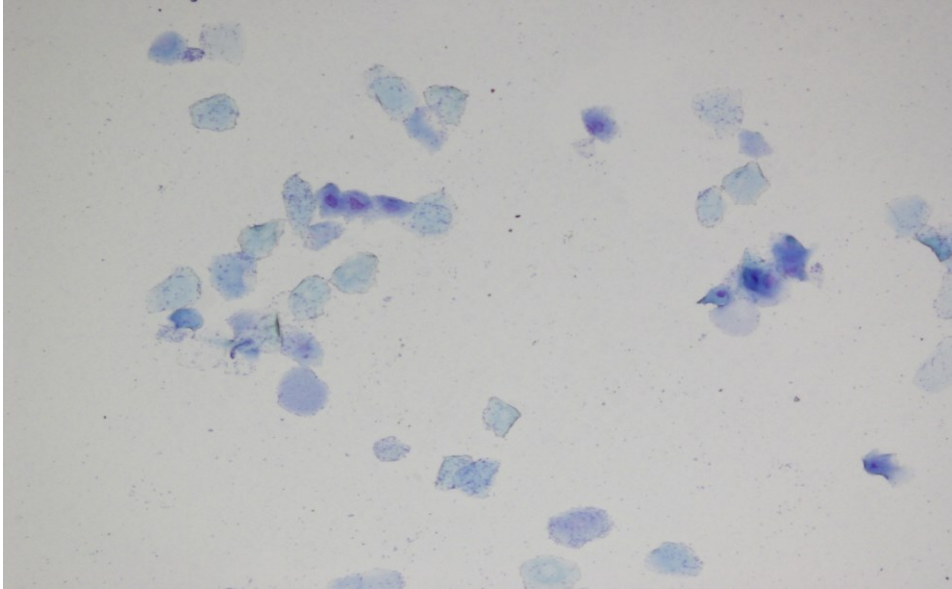
Şekil 7. Deney ve kontrol grubunun serbest T₄ değerleri.

DENEY SONUNDA MENSTUREL SIKLUS TESPİT BULGULARI

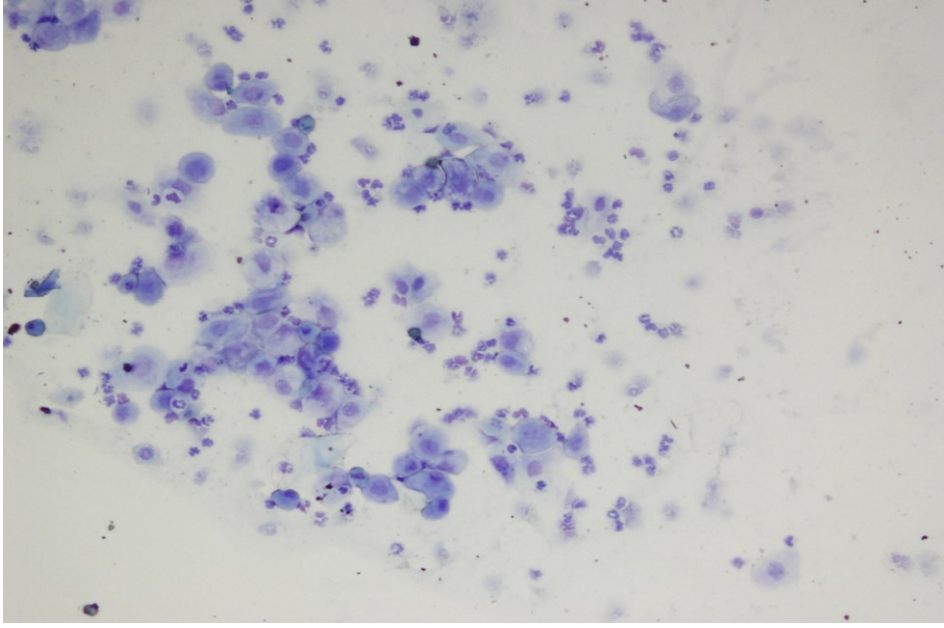
Deney sonunda kontrol ve deney grubundan, menstural siklus tespiti için alınan vajinal smearlar ışık mikroskobu vasıtasıyla tespit edildi. Boyama işlemi için toluidin mavisi kullanıldı. Sonuçların değerlendirilmesi Tablo 1'deki veriler ışığında gerçekleştirildi (Şekil 8-11).



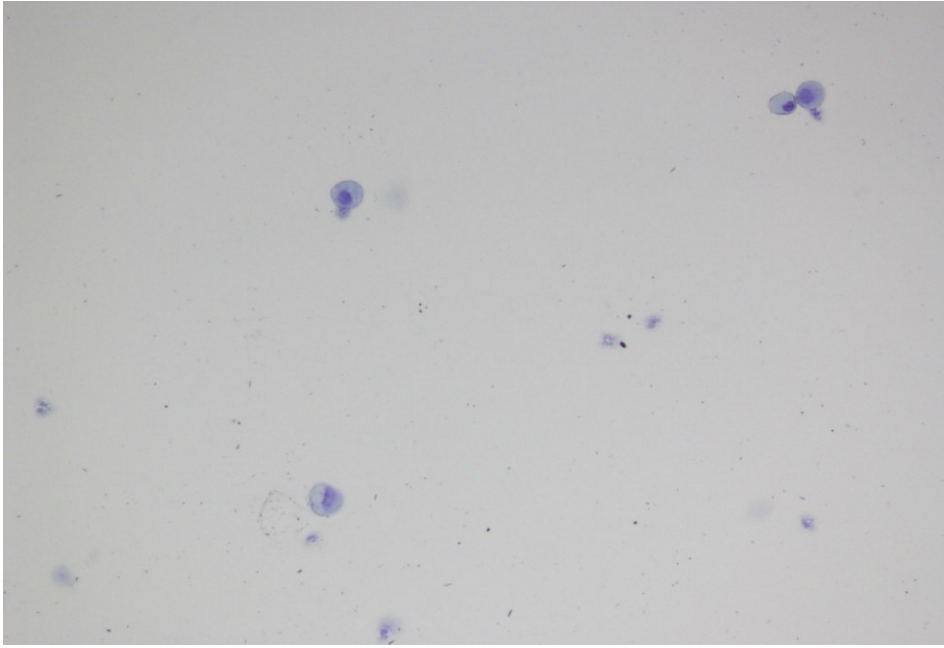
Şekil 8. Proöstrus grubuna ait smear görüntüsü, 400X.



Şekil 9. Östrus grubuna ait smear görüntüsü, 400X.



Şekil 10. Metöstrus grubuna ait smear görüntüsü, 400X.



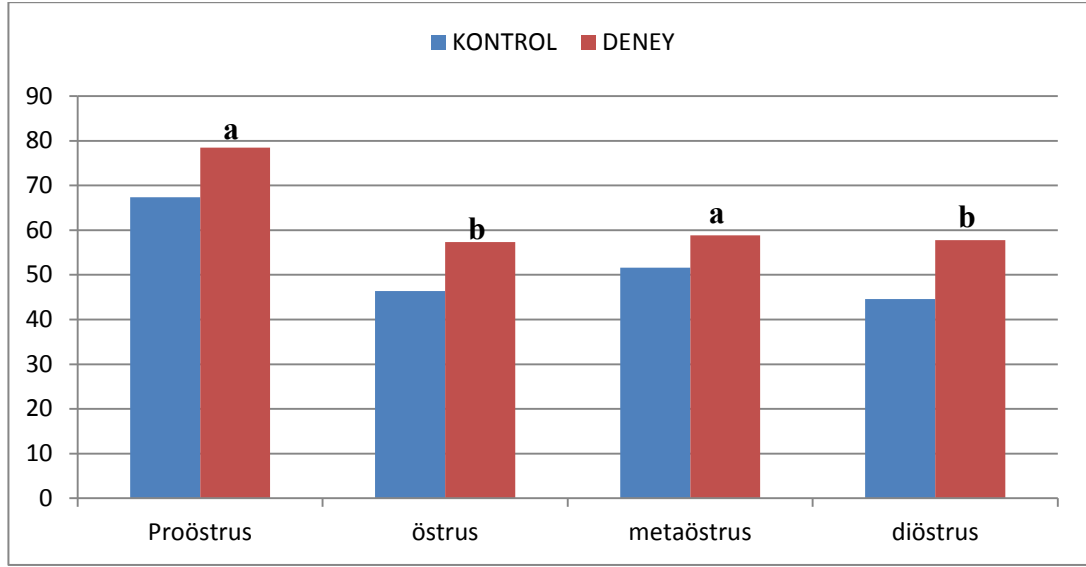
Şekil 11. Diöstrus grubuna ait smear görüntüsü, 400X.

DENEY SONRASI GRUPLARA GÖRE PLAZMA ÖSTROJEN VE PROGESTERON DEĞERLERİ

Vajinal smeara göre her siklus evresi için (Proöstrus, östrus, metöstrus ve diöstrus) deney ve kontrol grubundan 8 denekten oluşmak üzere toplam 64 sıçanın östrojen ve progesteron değerleri ölçüldü.

Menstrual siklusun tüm evreleri sırasında plazma östrojen değerleri kontrol gruplarına göre deney gruplarında daha yüksek bulundu ($P<0.01$ veya $P<0.001$; Şekil 12).

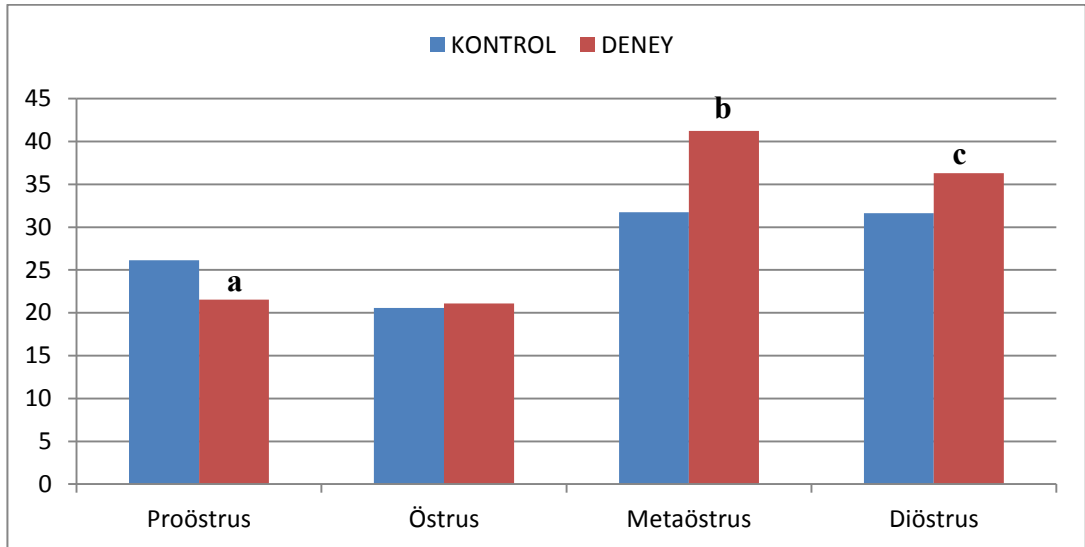
Progesteron değerleri incelemesinde proöstrus deney grubunda kontrole göre anlamlı olarak azaldığı ($P<0.01$); deney metöstrus ve diöstrus gruplarında kontrole göre anlamlı olarak arttığı gözlemlendi (sırasıyla $P<0.001$ ve $P<0.005$; Şekil 13).



a: $P<0.01$; Kontrole göre anlamlı olarak artmıştır.

b: $P<0.001$; Kontrole göre anlamlı olarak artmıştır.

Şekil 12.Östrojen hormonunun deney ve kontrol grupları siklus evrelerine göre ortalama dağılımları (hormon miktarı pg/ml-menstrual siklus evreleri).



a: $P<0.01$; Kontrole göre anlamlı olarak azalmıştır.

b: $P<0.001$; Kontrole göre anlamlı olarak artmıştır.

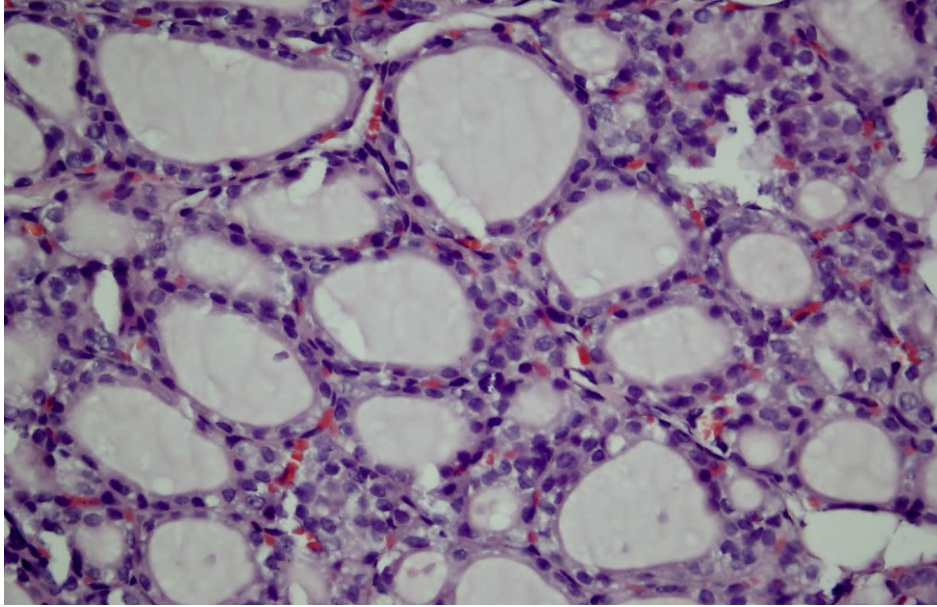
c: $P<0.005$; Kontrole göre anlamlı olarak artmıştır.

Şekil 13.Progesteron hormonunun deney ve kontrol grupları siklus evrelerine göre ortalama dağılımları (hormon miktarı ng/ml-menstrual siklus evreleri).

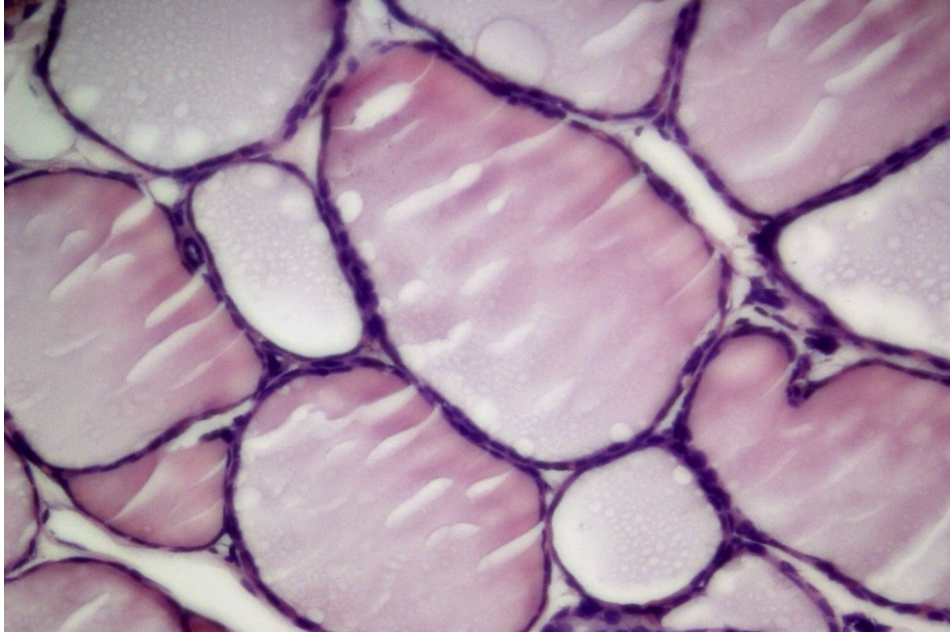
IŞIK MİKROSKOBİK BULGULAR

Tiroid Bezi Bulguları

Deney ve kontrol gurubuna ait sıçanların tiroid dokularından alınan H&E boyalı kesitlerde ışık mikroskopik bulgular değerlendirildiğinde; kontrol grubunda normal tiroid folikül yapısı gözlemlenirken, deney grubundaki hayvanların tiroid folikülleri kontrol grubundaki sıçanlara oranla daha büyük olduğu görüldü. Bunun yanında deney grubunda folikül epiteli yassı şekilli olarak izlenirken, kontrol grubunda prizmatikten kübiğe değişen şekilde görüldü. Deney grubundaki bu görüntü fizyolojik olarak tiroid hormonu sentez edilmiş, fakat dolaşımdaki TSH azlığı nedeniyle dolaşıma verilememesinin bir sonucu olarak değerlendirildi. Bu sonuç dışarıdan verilen tiroksin hormonu sebebiyle oluşan hipertiroidinin bulguları arasında değerlendirildi(Şekil 14,15).



Şekil 14. Kontrol grubu tiroid bezi H&E boyama, 400X.



Şekil 15. Deney grubu tirod bezi H&E boyama, 400X.

İMMÜNOHİSTOKİMYASAL BULGULAR

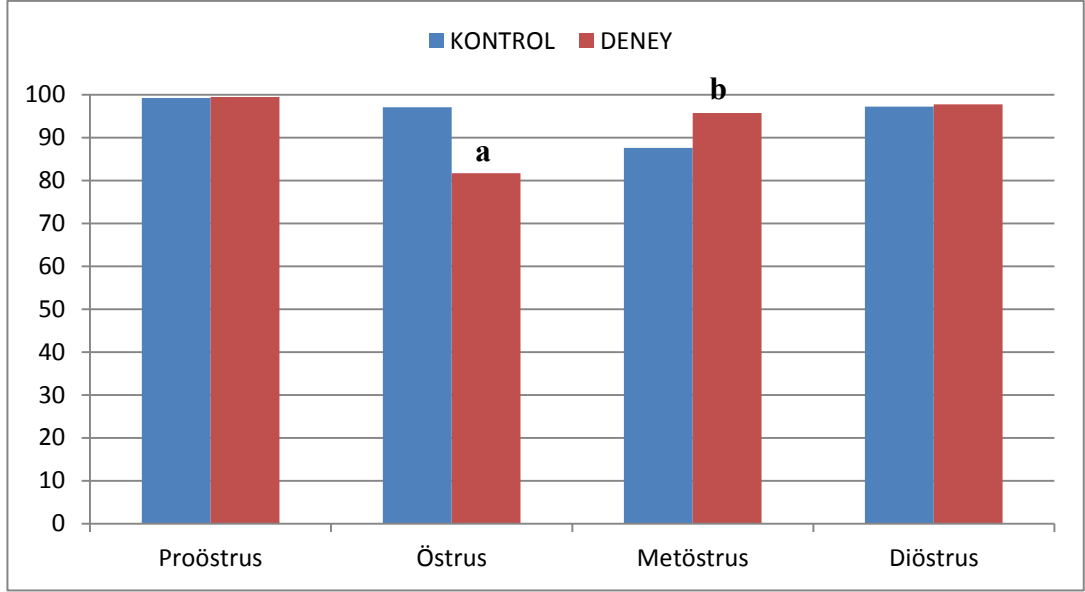
İmmünohistokimyasal olarak deney ve kontrol gruplarından alınan uterus ve ovaryum dokuları menstural siklus evrelerine göre östrojen ve progesteron reseptör sayıları pozitif boyanma olan bölgelere göre değerlendirildi. Birbirinden bağımsız 2 araştırmacı tarafından bu işlem yapıldı.

Ovaryumda östrojen ve progesteron pozitif boyanma olan; korpus luteum, germinal epitel, granüloza hücreleri ve teka tabakası olmak üzere 4 bölgede her siklus için 8 ayrı alanda pozitif boyanan hücreler sayıldı ve yüzde olarak ifade edildi.

Uterusta ise deney ve kontrol gruplarında her siklusta östrojen ve progesteron pozitif boyanan; bez epiteli ve stroma hücreleri 8 ayrı kesit ve alanda sayılarak yüzde ile ifade edildi.

Uterusta Östrojen Reseptör Dağılım Bulguları

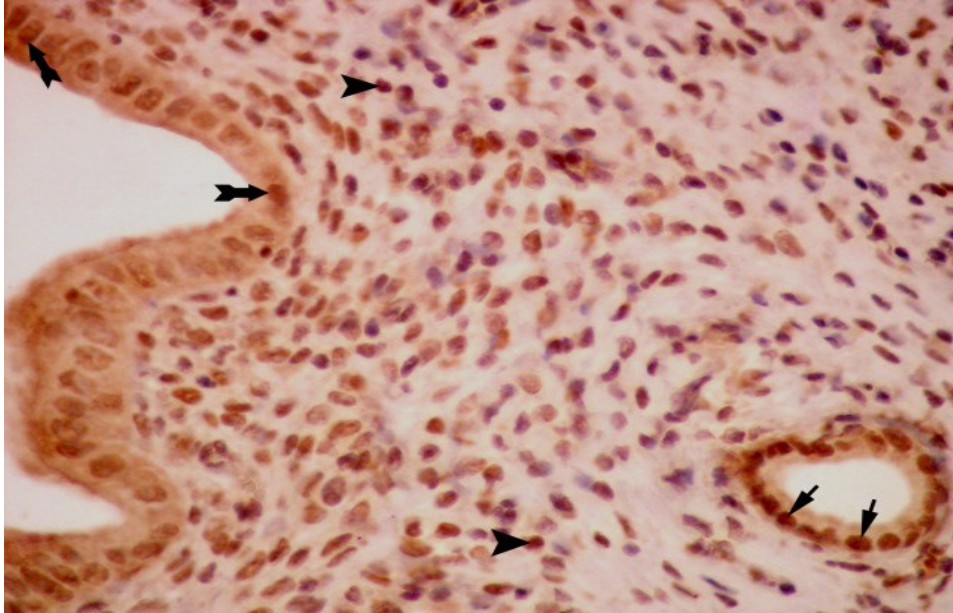
Uterus bez epitelinde immünohistokimyasal boyamada proöstrus ve diöstrus gruplarında kontrol ve deney grupları arasında anlamlı bir değişiklik yoktu ($P>0.05$). Östrojen reseptör alfa ($ER\alpha$) sayısında östrus evresinde, deney grubu sıçanlarda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede azalmanın olduğu tespit edildi ($P<0.05$). Bununla birlikte metöstrus evresinde deney grubu bez epitelinde kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede artışın olduğu belirlendi ($P<0.01$; Şekil 16,17).



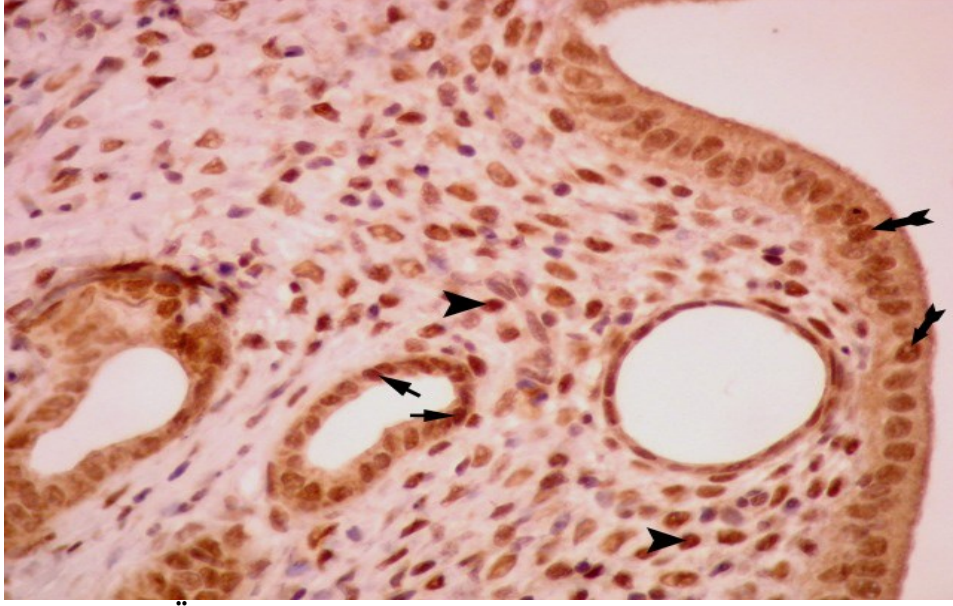
a: $P < 0.005$; Kontrolle göre anlamlı olarak azalmıştır.

b: $P < 0.01$; Kontrolle göre anlamlı olarak artmıştır.

Şekil 16. Uterus bez epiteli hücrelerinde siklus evrelerine göre östrojen reseptör yüzdeleri.

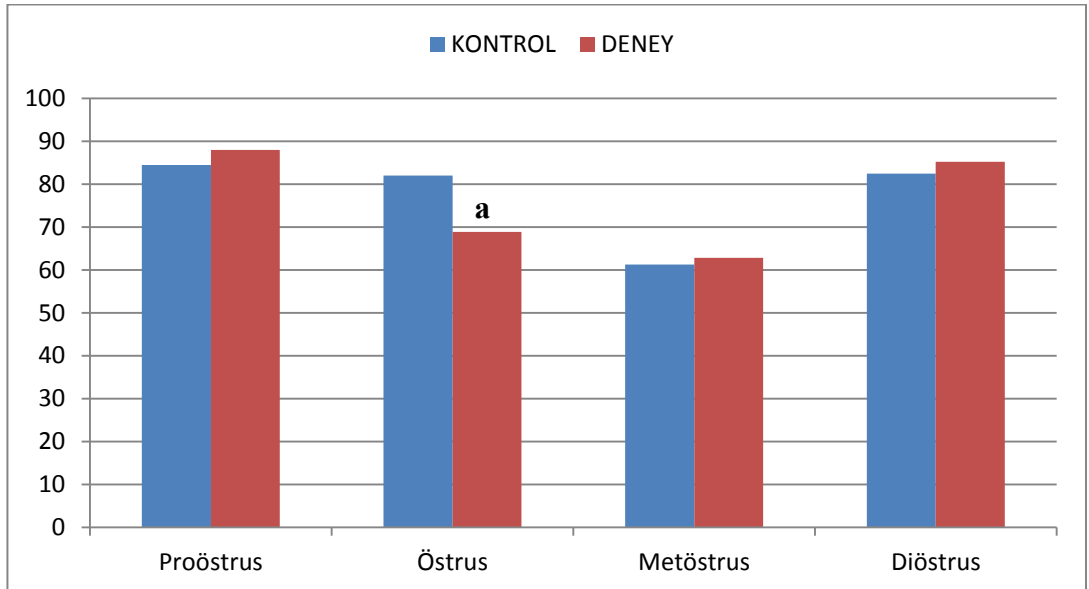


Şekil 17. Proöstrus hipertiroidili grup, uterus dokusunda ER α immünohistokimyasal boyama, 400X. Epitel hücrelerinde ER α pozitif boyanma (kalın ok), stroma hücrelerinde ER α pozitif boyanma (ok başı), bez epitel hücrelerinde ER α pozitif boyanma (ince ok).



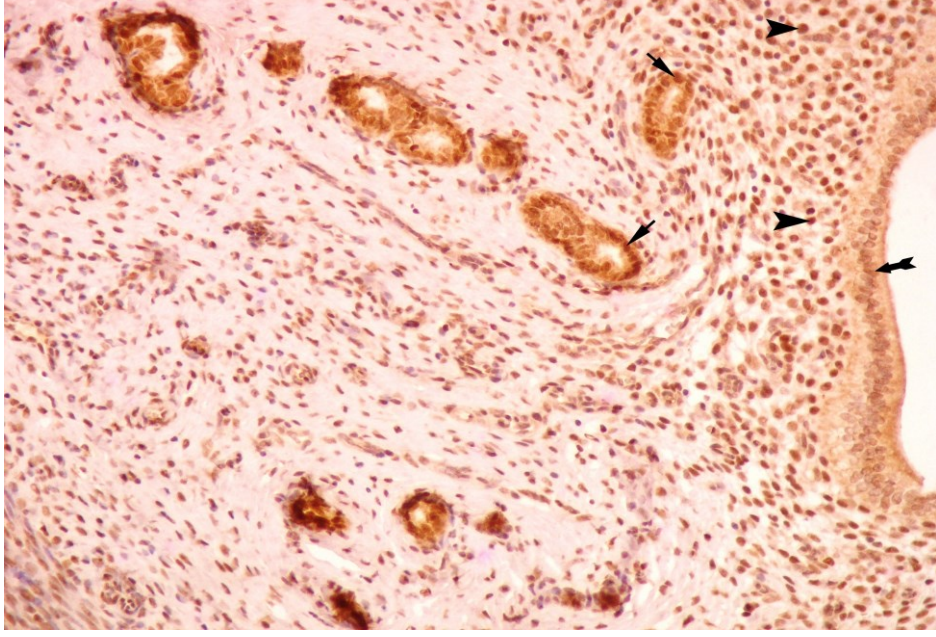
Şekil 18. Östrus kontrol grubunda, uterus dokusunda ER α immünohistokimyasal boyama, 400X. Epitel hücrelerinde ER α pozitif boyanma (kalın ok), stroma hücrelerinde ER α pozitif boyanma (ok başı), bez epitel hücrelerinde ER α pozitif boyanma (ince ok).

Uterus dokusunda yapılan ER α immünohistokimyasal boyamasında stromal hücrelerde ise östrus evresinde deney grubunda kontrole göre östrojen reseptör sayısı istatistiksel olarak azaldığı görüldü ($P < 0.005$). Östrus siklusunun diğer evrelerinde deney ve kontrol grupları arasında anlamlı bir farklılığın olmadığı tespit edildi ($P > 0.05$; Şekil 18-21).

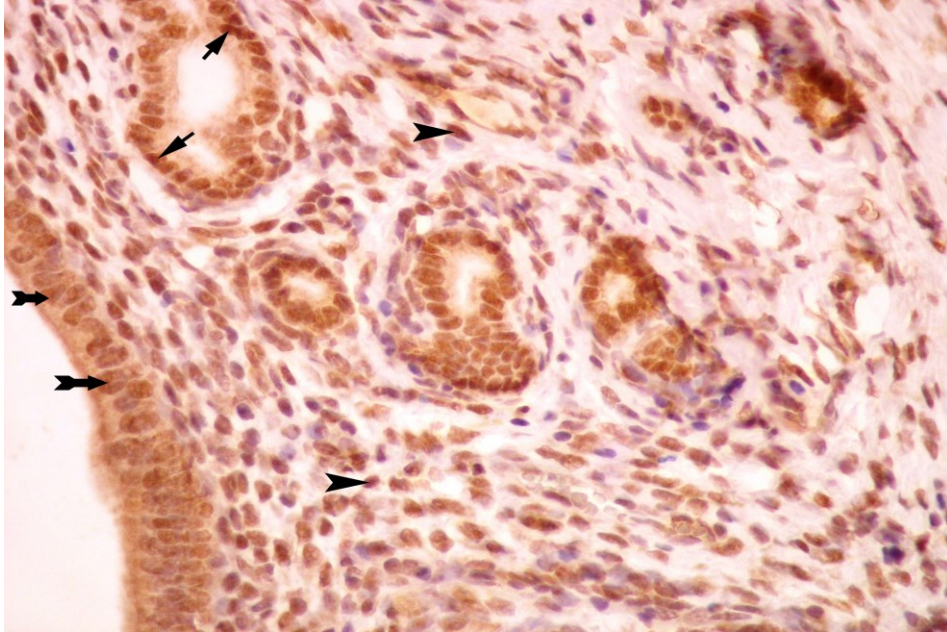


a: $P < 0.005$; Kontrole göre anlamlı olarak azalmıştır.

Şekil 19. Uterus stroma hücrelerinde siklus evrelerine göre östrojen reseptör yüzdeleri.



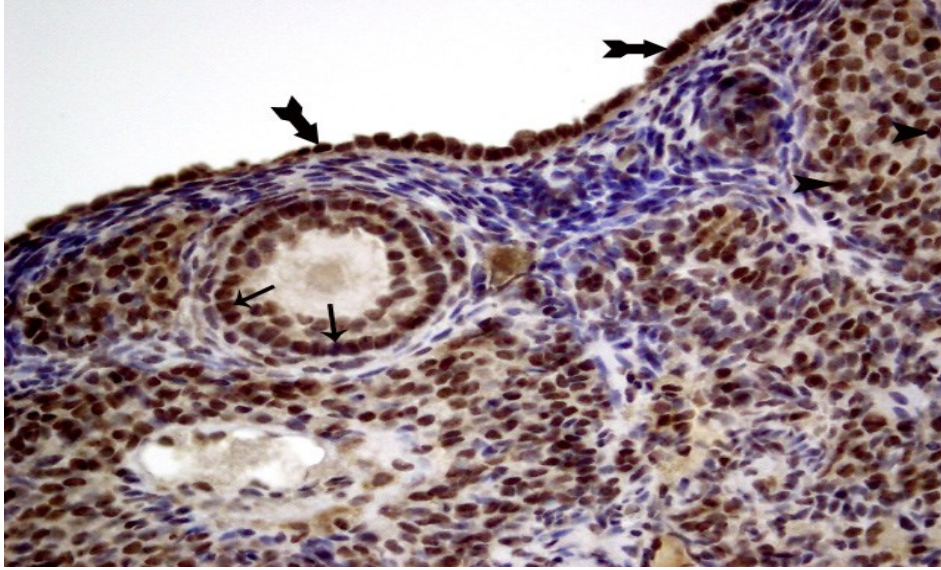
Şekil 20. Metöstrus hipertiroidili grupta, uterus dokusunda ER α immünohistokimyasal boyama, 200X. Epitel hücrelerinde ER α pozitif boyanma (kalın ok), stroma hücrelerinde ER α pozitif boyanma (ok başı), bez epitel hücrelerinde ER α pozitif boyanma (ince ok).



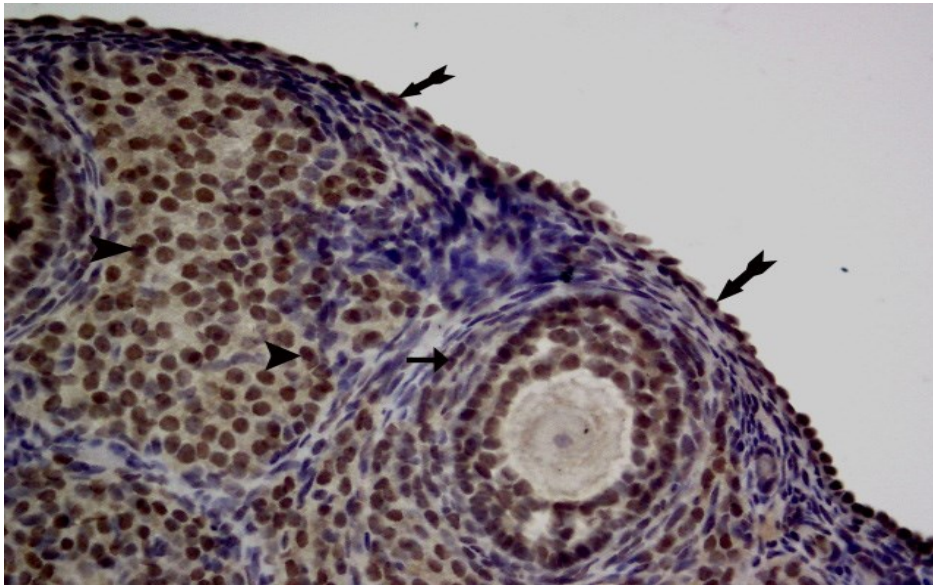
Şekil 21. Diösturs hipertiroidili grupta, uterus dokusunda ER α immünohistokimyasal boyama, 400X. Epitel hücrelerinde immün pozitif boyanma (kalın ok), stroma hücrelerinde ER α pozitif boyanma (ok başı), bez epitel hücrelerinde ER α pozitif boyanma (ince ok)

Ovaryumda Östrojen Reseptör Dağılım Bulguları

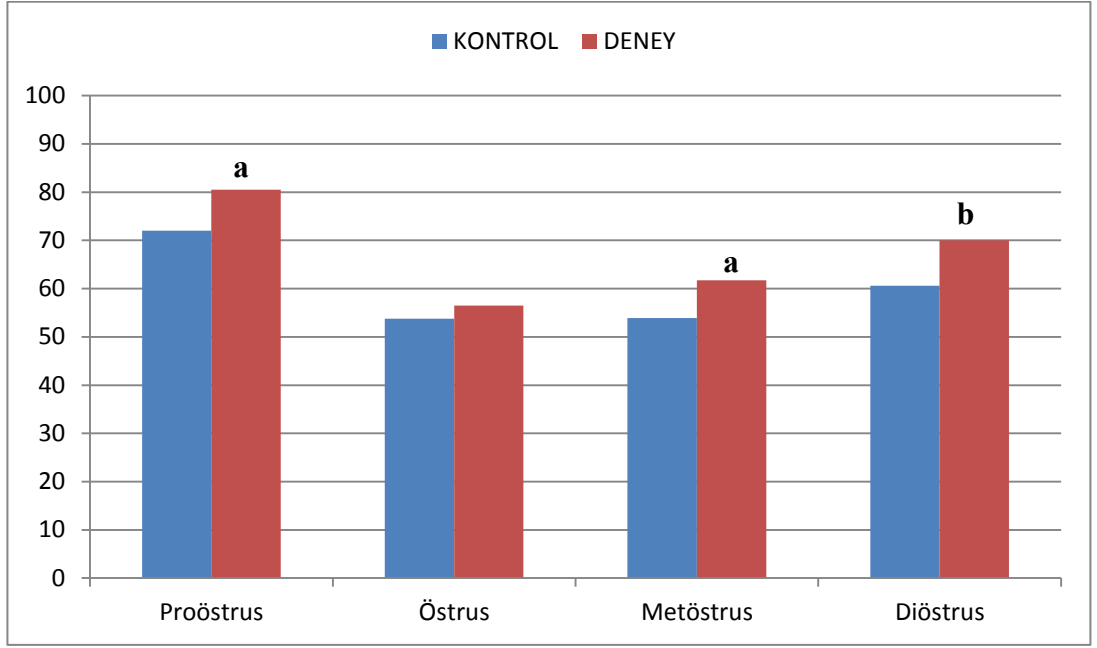
Ovaryumda korpus luteuma dair immünohistokimyasal östrojen reseptör boyamasında, kontrol grubuna göre deney grubunda tüm evrelerde artış görüldü. Proöstrus, metöstrus ($P<0.05$) ve diöstrus ($P<0.01$) deney gruplarında, kontrol gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı bir artış izlendi (Şekil 22-24).



Şekil 22. Östrus kontrol grupta, ovaryum dokusunda ER α immünohistokimyasal boyama, 400X. Germinal epitel hücrelerinde ER α pozitif boyanma (kalın ok), ganüloza hücrelerinde ER α pozitif boyanma (ince ok), korpus luteum hücrelerinde ER α pozitif boyanma (ok başı).



Şekil 23. Östrus hipertiroidili grupta, ovaryum dokusunda ER α immünohistokimyasal boyama, 400X. Germinal epitel hücrelerinde ER α pozitif boyanma (kalın ok), teka tabakası hücrelerinde ER α pozitif boyanma (ince ok), korpus luteum hücrelerinde ER α pozitif boyanma (ok başı).

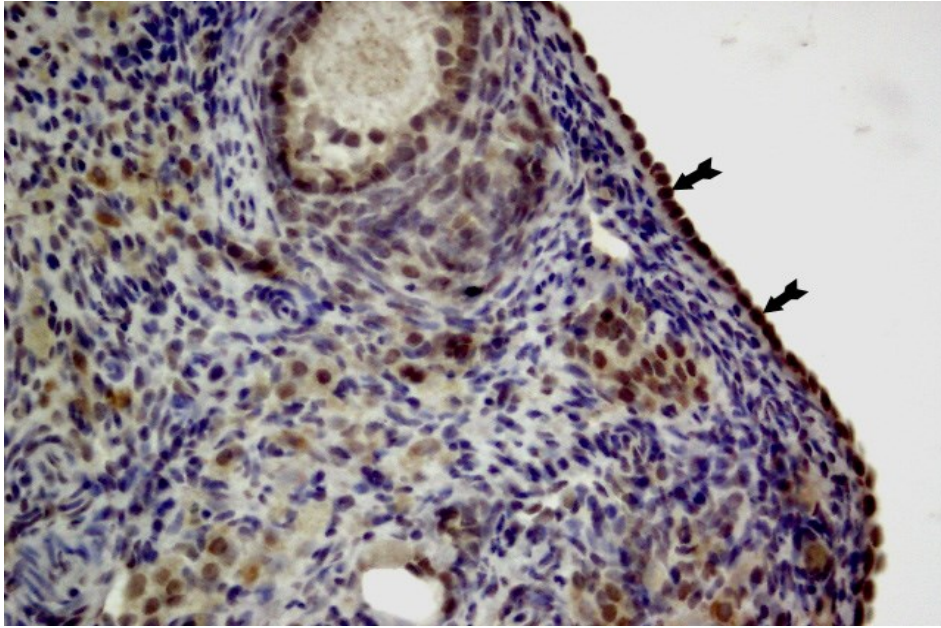


a: $P < 0.05$; Kontrole göre anlamlı olarak artmıştır.

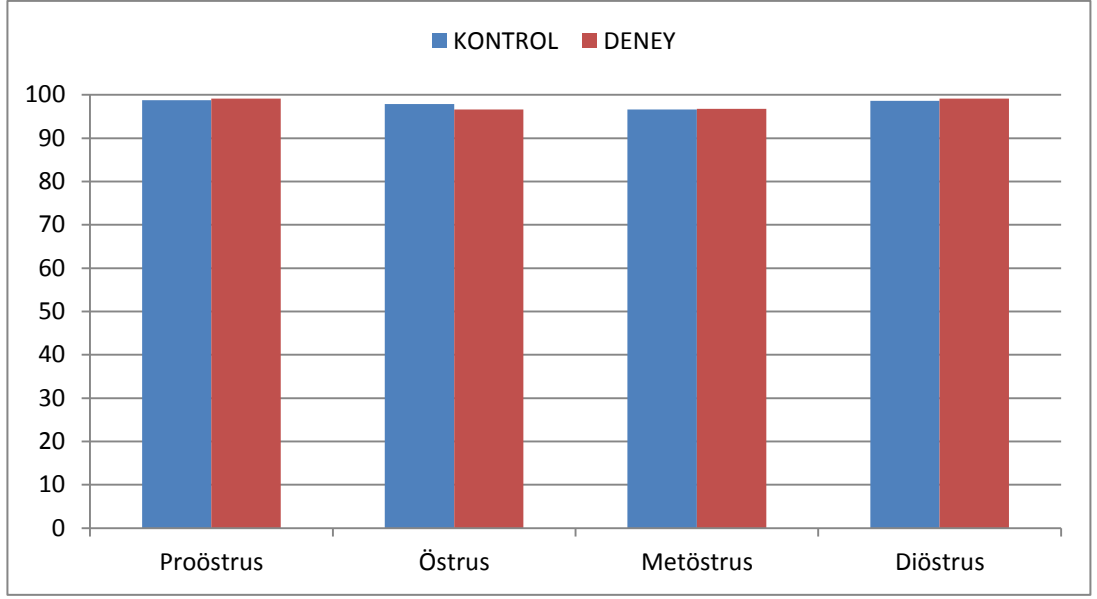
b: $P < 0.01$; Kontrole göre anlamlı olarak artmıştır.

Şekil 24. Ovaryum korpus luteumda menstural siklus evrelerine göre östrojen reseptör yüzdeleri.

Ovaryum germinal epitelinde ise, kontrol grubu ile deney grubu birbirine çok yakın yüzdelerde ve hemen hemen tamamı östrojen pozitif boyanmıştır (Şekil 25,26).

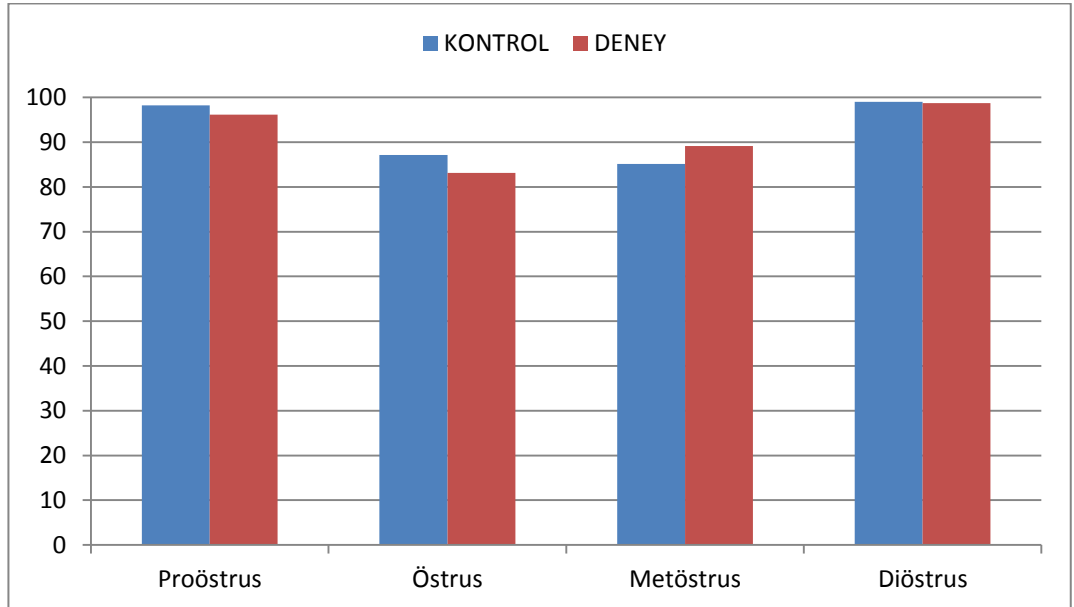


Şekil 25. Proöstrus kontrol grupta, ovaryum dokusunda ER α immünohistokimyasal boyama, 400X. Germinal epitel hücrelerinde ER α pozitif boyanma (kalın ok)

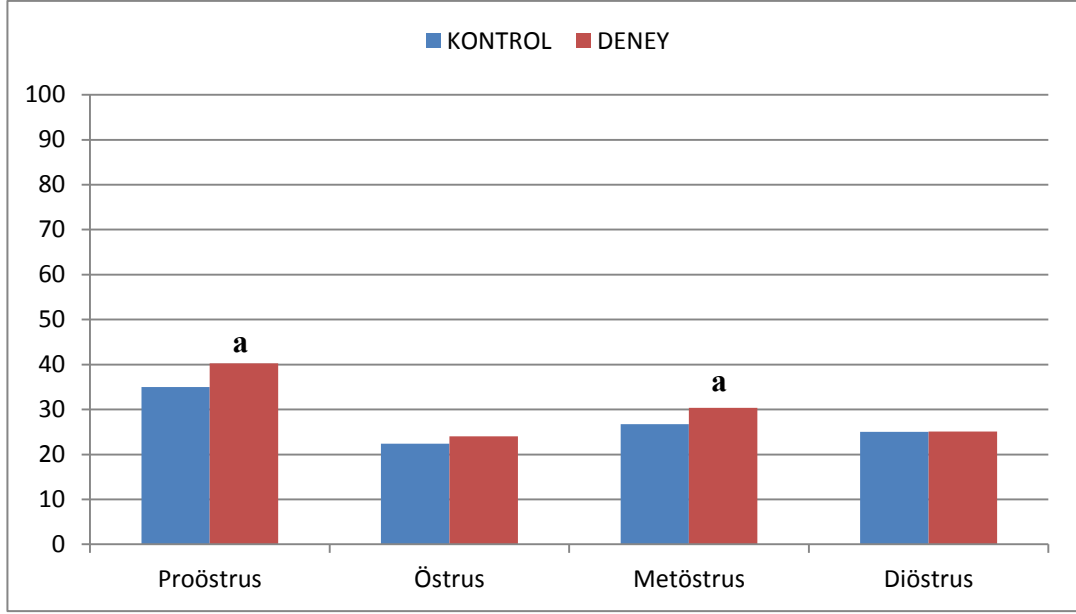


Şekil 26. Ovaryum germinal epitel hücrelerinde menstrual siklus evrelerine göre östrojen reseptör yüzdeleri.

Ovaryum granüloza hücrelerinde menstrual siklus evrelerinde deney gruplarına göre kontrol grupları arasında anlamlı bir farklılık görülmezken (Şekil 27), teka tabakasındaki hücrelerde proöstrus ve metöstrus evrelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış saptanmıştır ($P < 0.05$; Şekil 28-31).

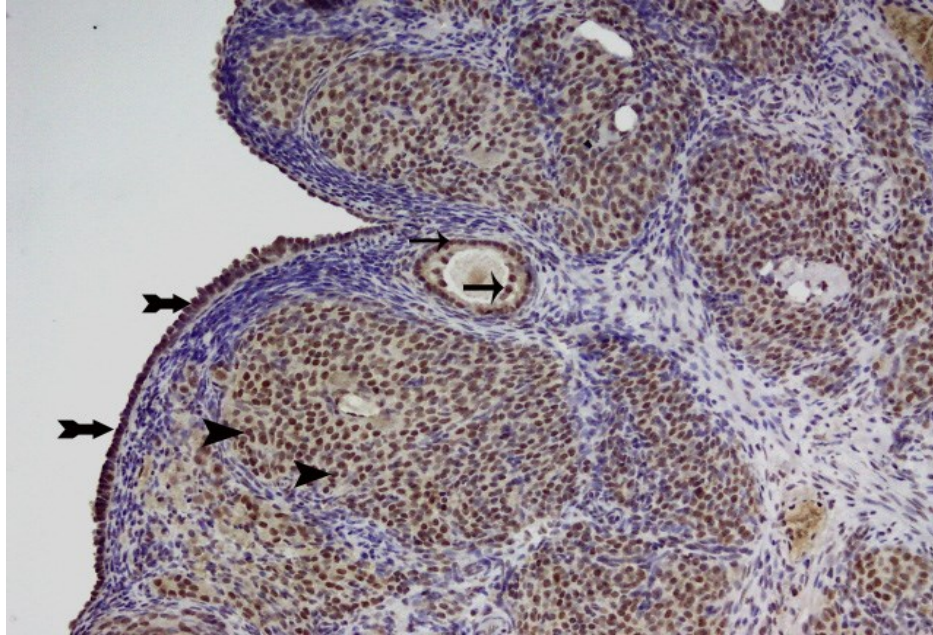


Şekil 27. Ovaryum granüloza hücrelerinde menstrual siklus evrelerine göre östrojen reseptör yüzdeleri.

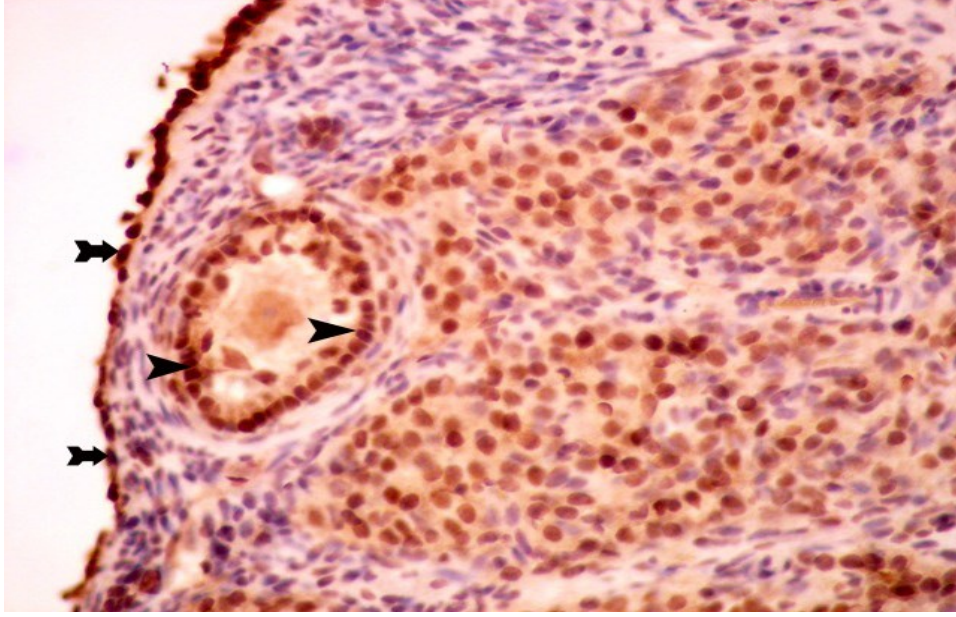


a: $P < 0.05$; Kontrole göre anlamlı olarak artmıştır.

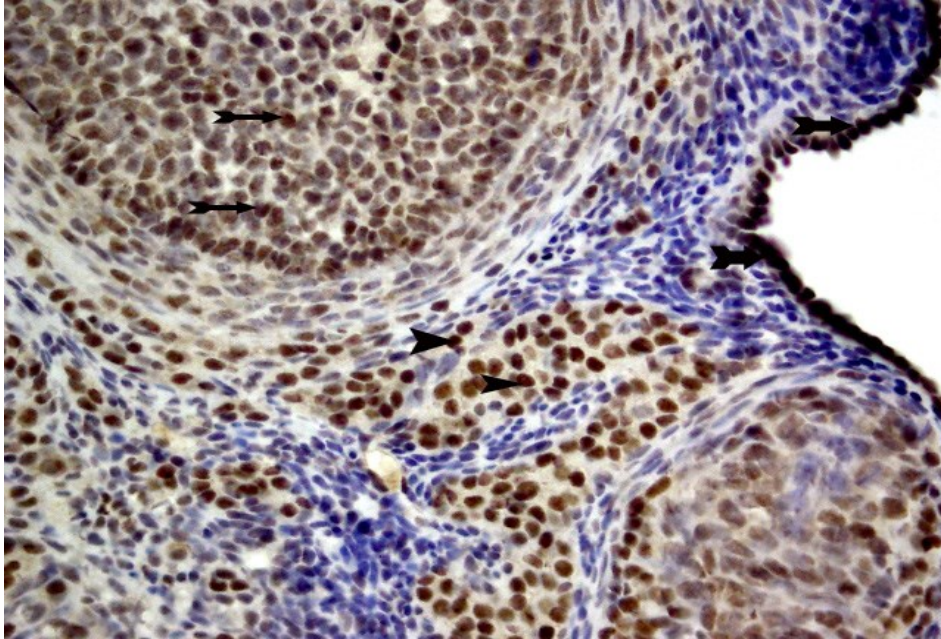
Şekil 28. Ovaryum teka tabakası hücrelerinde menstural siklus evrelerine göre östrojen reseptör yüzdeleri.



Şekil 29. Metöstrus hipertiroidili grupta, ovaryum dokusunda ER α immünohistokimyasal boyama, 200X. Germinal epitel hücrelerinde ER α pozitif boyanma (kalın ok), granüloza hücrelerinde ER α pozitif boyanma (ince ok), korpus luteum hücrelerinde ER α pozitif boyanma (ok başı).



Şekil 30. Diöstrus kontrol grupta, ovaryum dokusunda ER α immünohistokimyasal boyama, 400X. Germinal epitel hücrelerinde ER α pozitif boyanma (kalın ok), granüloza hücrelerinde ER α pozitif boyanma (ok başı)

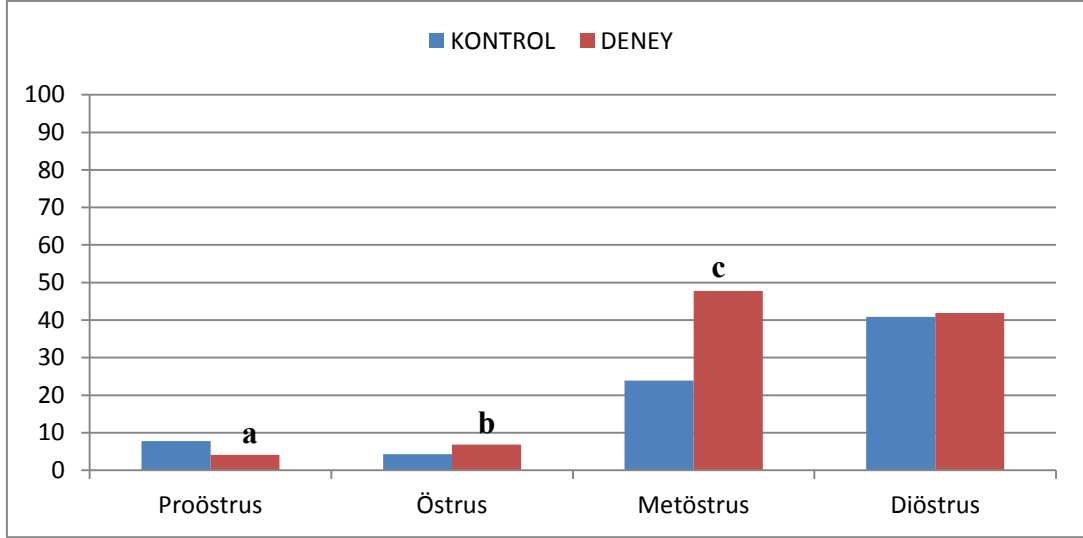


Şekil 31. Diöstrus hipertiroidili grupta, ovaryum dokusunda ER α immünohistokimyasal boyama, 400X. Germinal epitel hücrelerinde ER α pozitif boyanma (kalın ok), ovaryum stroma hücrelerinde ER α pozitif boyanma (ok başı). Granüloza hücrelerinde ER α pozitif boyanma (ince ok)

Uterusta Progesteron Reseptör Dağılım Bulguları

Yapılan immünohistokimyasal boyamada menstural siklusunun proöstrus evresinde uterus lümen ve bez epiteli hücrelerinde, deney grubunda kontrol grubuna göre progesteron

reseptör sayısında anlamlı derecede bir azalma ($P<0.001$), östrus ve metöstrus evrelerinde ise deney gruplarında kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı derecede artışın olduğu saptandı. (sırasıyla; $P<0.001$ ve $P<0.005$). Diöstrus evresinde ise deney ve kontrol grupları arasında herhangi bir farklılığın olmadığı görüldü ($P>0.05$; Şekil 32-35).

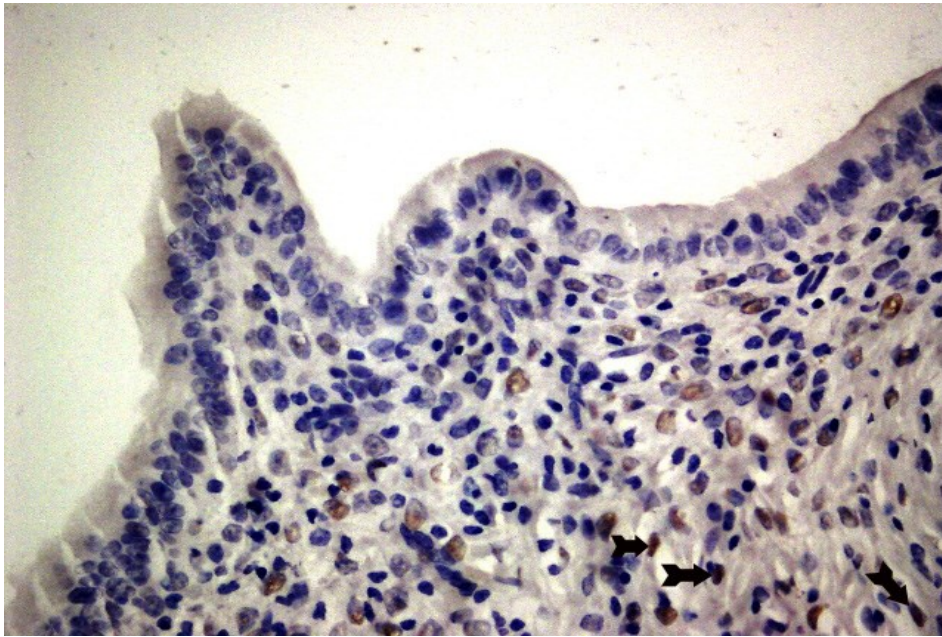


a: $P<0.001$;Kontrole göre anlamlı olarak azalmıştır.

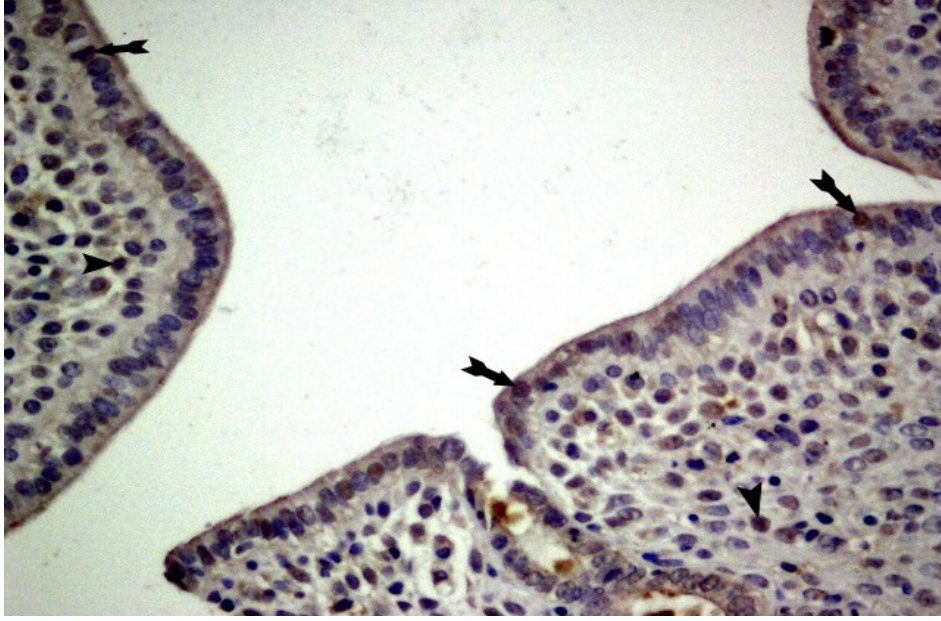
b: $P<0.005$;Kontrole göre anlamlı olarak artmıştır.

c: $P<0.001$; Kontrole göre anlamlı olarak artmıştır.

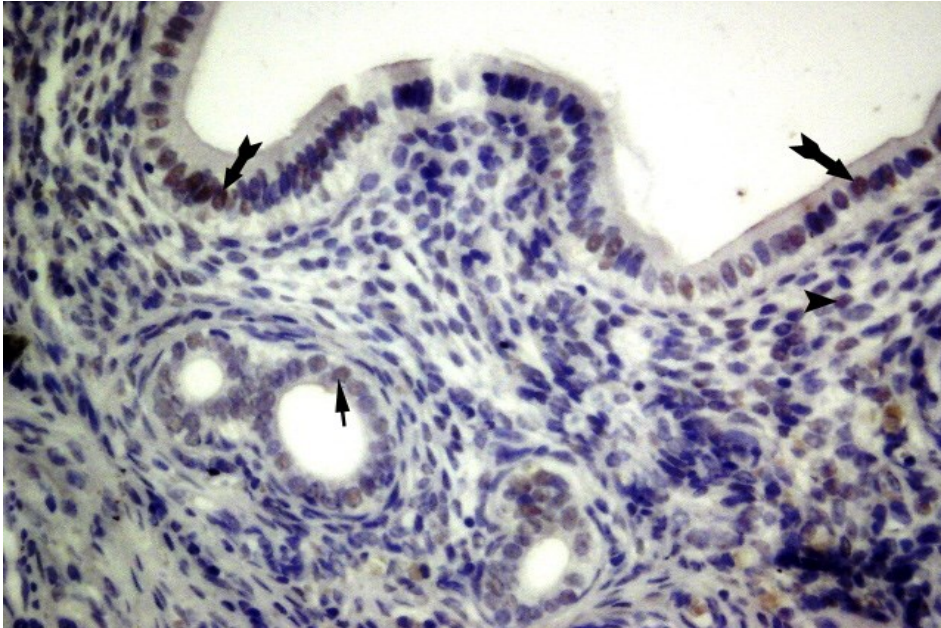
Şekil 32. Uterus bez epitel hücrelerinde, siklus evrelerine göre progesteron reseptör yüzdeleri.



Şekil 33. Proöstrus kontrol grubunda, uterus dokusunda PR immünohistokimyasal boyama, 400X. Stroma hücrelerinde PR pozitif boyanma (kalın ok).

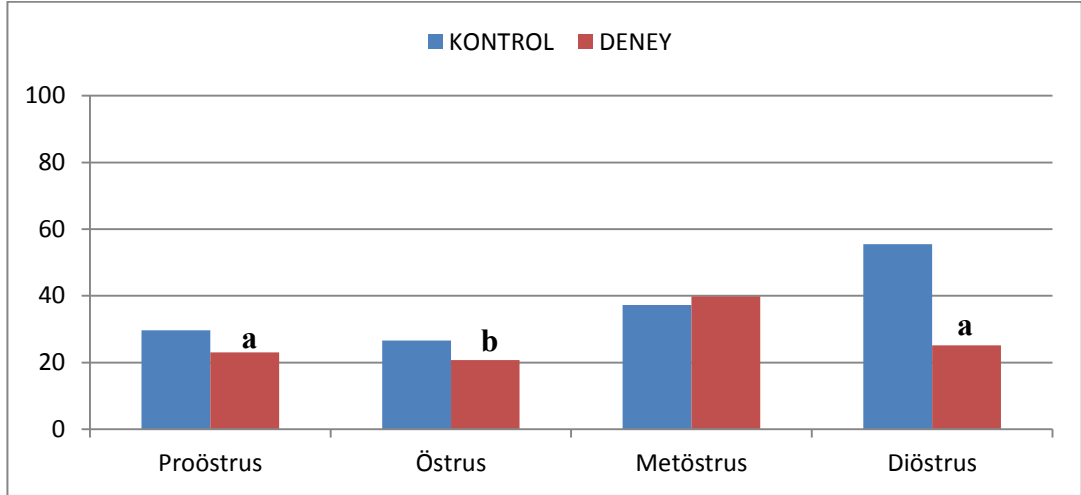


Şekil 34. Östrus kontrol grubunda, uterus dokusunda PR immünohistokimyasal boyama, 400X. Stroma hücrelerinde PR pozitif boyanma (ok başı), epitel hücrelerinde PR pozitif boyanma (kalın ok)



Şekil 35. Metöstrus hipertiroidili grubunda, uterus dokusunda PR immünohistokimyasal boyama, 400X. Stroma hücrelerinde PR pozitif boyanma (ok başı), epitel hücrelerinde PR pozitif boyanma (kalın ok), bez epiteli PR pozitif boyanma (ince ok).

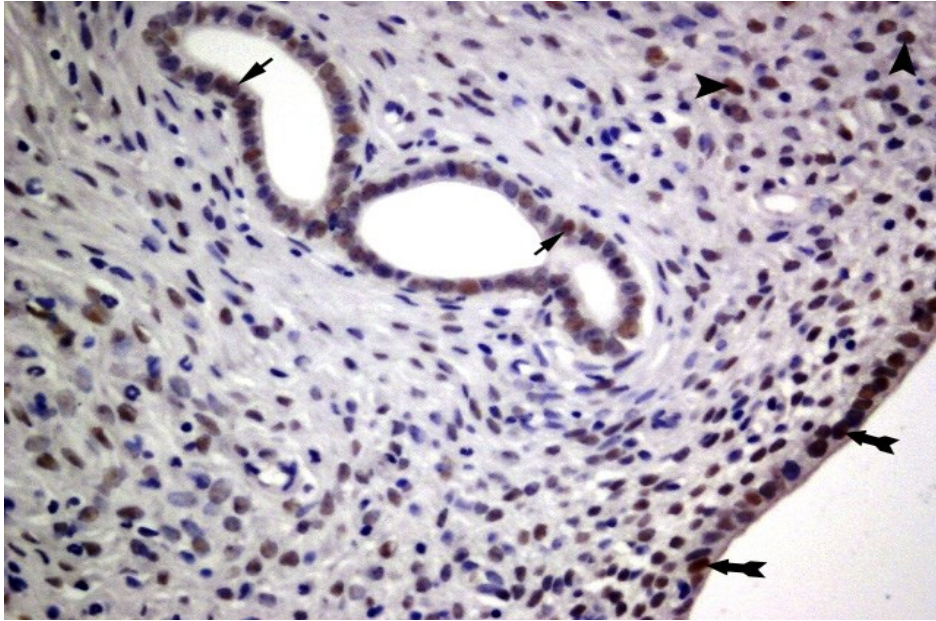
Uterus stomasında progesteron reseptör dağılımları incelendiğinde menstrual siklusun proöstrus, östrus ve diöstrus evrelerinde deney gruplarında kontrole göre istatistiksel anlamlı bir düşüşün olduğu gözlemlendi ($P<0.001$ ve $P<0.005$; Şekil 36,37).



a: $P<0.001$; Kontrole göre anlamlı olarak azalmıştır.

b: $P<0.005$; Kontrole göre anlamlı olarak azalmıştır.

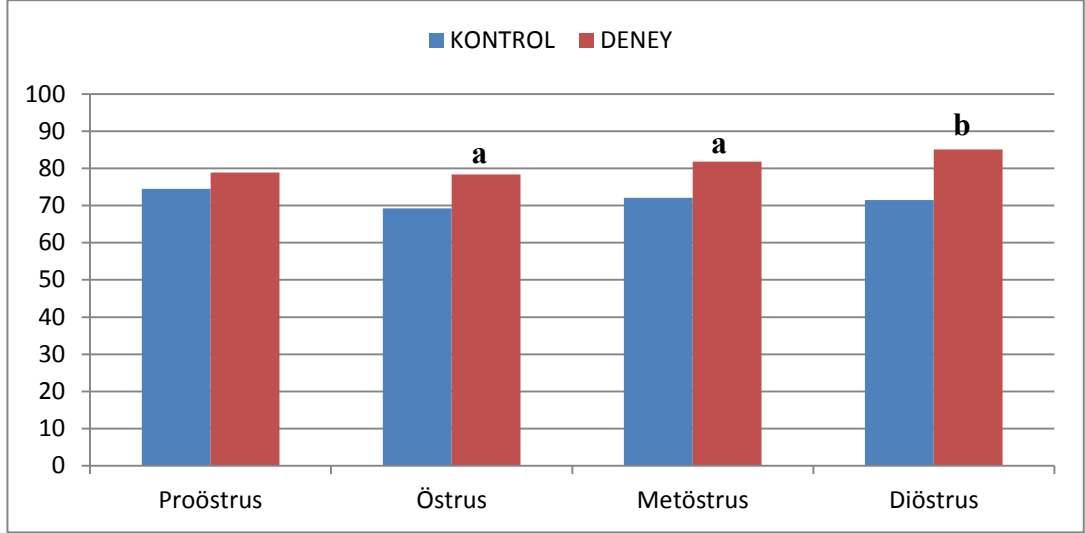
Şekil 36. Uterus stroma hücreleri, siklus evrelerine göre progesteron reseptör yüzdeleri.



Şekil 37. Diöstrus kontrol grubunda, uterus dokusunda PR immünohistokimyasal boyama, 400X. Stroma hücrelerinde PR pozitif boyanma (ok başı), epitel hücrelerinde PR pozitif boyanma (kalın ok), bez epiteli PR pozitif boyanma (ince ok).

Ovaryumda Progesteron Reseptör Dağılım Bulguları

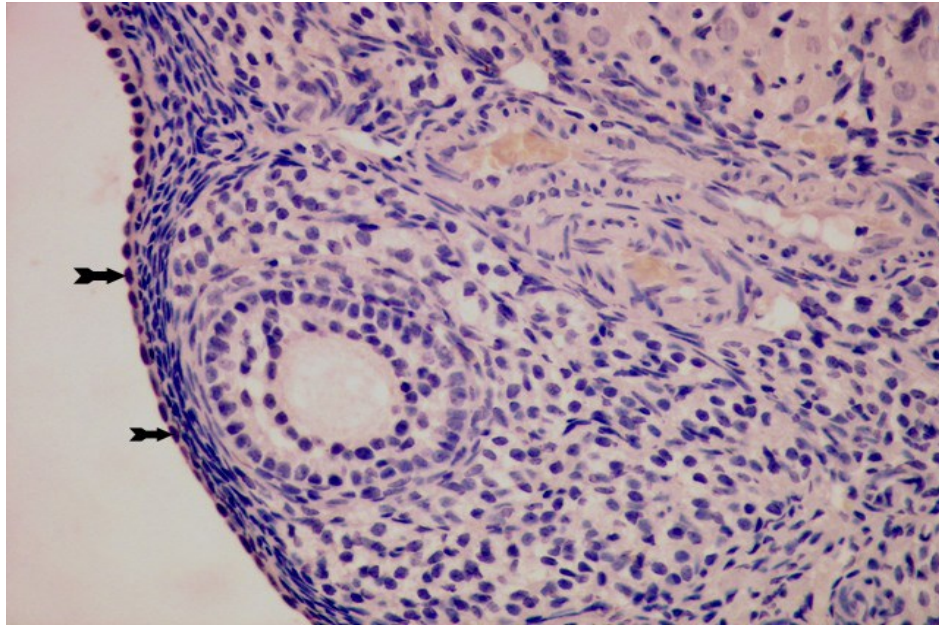
Ovaryum germinal epitelinin PR immünohistokimyasal boyamasında deney grubunda kontrol grubuna göre siklusun tüm evrelerinde artış görülürken, bu artışın siklusun östrus, metöstrus ($P<0.05$) ve diöstrus ($P<0.005$) evrelerinde istatistiksel olarak anlamlı düzeyde olduğu görüldü (Şekil 38-41).



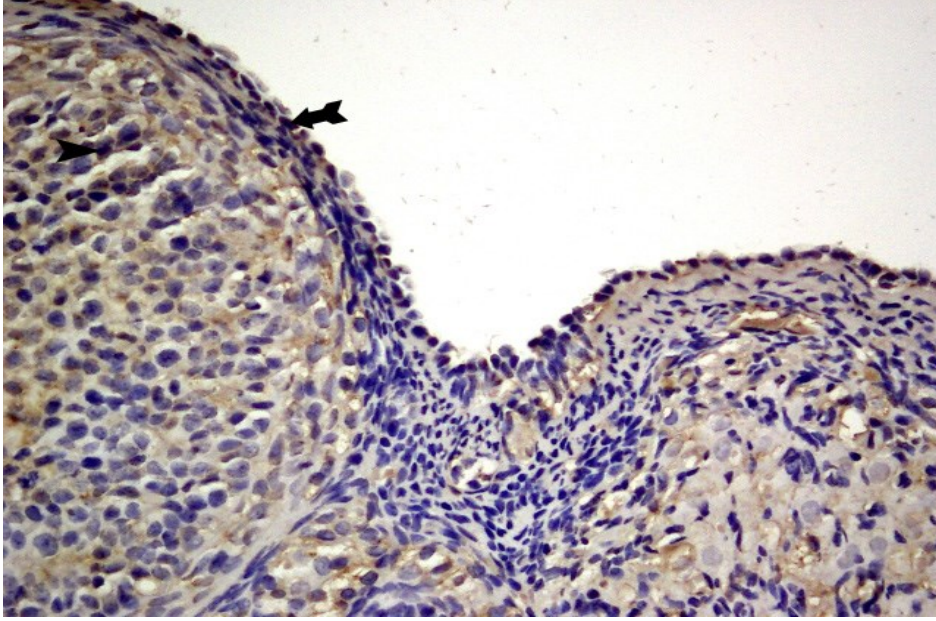
a: $P<0.05$; Kontrole göre anlamlı olarak artmıştır.

b: $P<0.005$; Kontrole göre anlamlı olarak artmıştır.

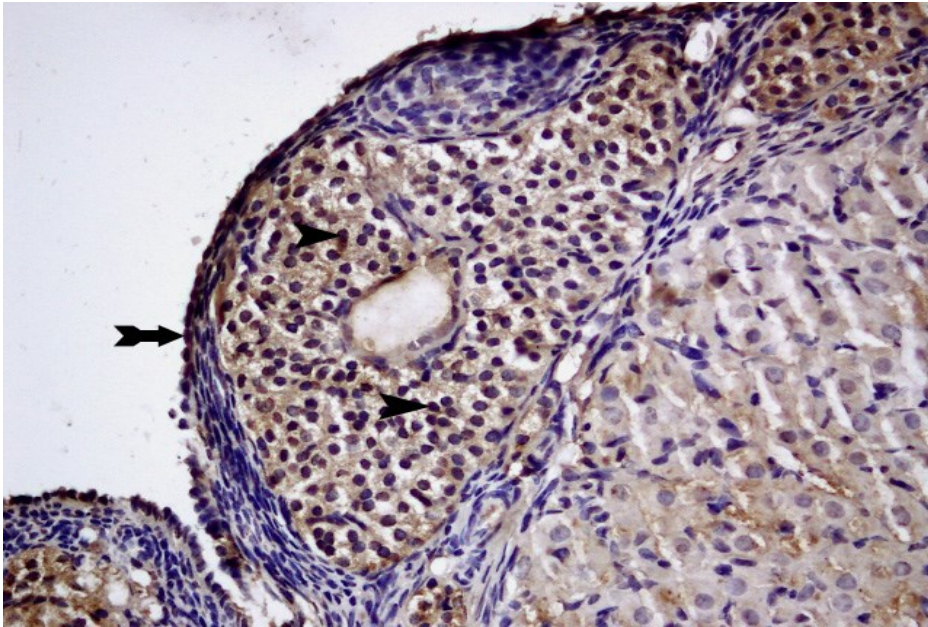
Şekil 38. Ovaryum germinal epitel hücrelerinde, siklus evrelerine göre progesteron reseptör yüzdeleri.



Şekil 39. Proöstrus kontrol grubunda, ovaryum dokusunda PR immünohistokimyasal boyama, 400X. Germinal epitel hücrelerinde PR pozitif boyanma (oklar)



Şekil 40. Östrus kontrol grubunda, ovaryum dokusunda PR immünohistokimyasal boyama, 400X. Germinal epitel hücrelerinde PR pozitif boyanma (kalın ok), korpus luteum hücrelerinde PR pozitif boyanma (ok başı)



Şekil 41. Metöstrus hipertiroidili grupta, ovaryum dokusunda PR immünohistokimyasal boyama, 400X. Germinal epitel hücrelerinde PR pozitif boyanma (kalın ok), korpus luteum hücrelerinde PR pozitif boyanma (ok başı).

Ovaryuma dair progesteron reseptörü immünohistokimyasal boyamasında korpus luteum ve granüloza hücrelerine ait semikantitatif değerlendirme sonuçları Tablo 2’de verilmiştir.

Tablo 2. Ovaryuma dair siklus evrelerine göre, korpus luteum ve granüloza hücreleri PR semikantitatif değerlendirmesi

Grup ve Evre	Korpus luteum *	Granüloza hücreleri
Kontrol proöstrus	-	±
Deney proöstrus	±	+
Kontrol östrus	-	-
Deney östurs	±	±
Kontrol metösturs	-	+
Deney metöstrus	±	++
Kontrol diösturs	±	-
Deney diösturs	+	-

*: yok (-), nadir (±), az (+), orta (++) , fazla (+++), çok fazla (++++)

TARTIŞMA

Dokuların yüksek miktarda tiroid hormonları ile karşılaşması sonucunda gelişen klinik tabloya tirotoksikoz denir. Hastalığın nedenleri arasında hipertiroidizm ve düşük radyoaktif uptakeli tirotoksikozlar sayılabilir. Hipertiroidizmin en sık görülen nedenleri ise Basedow-Graves hastalığı, toksik multinodüler guatr ve toksik adenomdur.

Hipertiroidi klinik tablosunu tanımlamada kullanılan TSH, serbest T₃ ve serbest T₄ kan plazma konsantrasyonlarından TSH'nin normale göre düşük, serbest T₃ ve serbest T₄'ün ise normal sınırların üstünde olduğu birçok çalışmada gösterilmiştir (1).

Sunulan bu çalışmada, elde edilen TSH ve serbest T₄ değerleri yapılan çalışmalar ile paralellik göstermektedir. Örneğin, Özgüner ve ark. ratlar üzerinde yaptığı çalışma; sunulan bu çalışmadaki bulgulara benzer olarak, TSH değerini kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşük bulurken, serbest T₄ değerini kontrole göre anlamlı derecede yüksek olduğu tespit edilmiştir (125).

Sunulan bu çalışmada, tiroksin hormonu alınımına bağlı tiroid bez epitelinde değişim ve deney grubundaki hayvanlarının vücut ağırlıklarındaki azalma hipertiroidi kliniği ile paralellik göstermektedir.

Hipertiroidili hastalardaki yüksek kan tiroid hormon konsantrasyonunun, farklı organ ve sistemleri etkilemesi sonucu, etkilenen doku ve organa ait bulgu ve belirtilerin görüldüğü saptanmıştır (3,126). Tiroid hormonlarının, birçok sistem gibi hastalarda üremeye dair fonksiyonları etkileyebildikleri bildirilmiştir (126). Bu fonksiyonları; direkt üreme organlarını mı, yoksa hipofiziyel aksı mı etkileyerek ortaya çıkardığı tartışmalıdır.

Yapılan deneysel ve klinik araştırmalardan elde edilen bulgulara göre, hipotalamik (hipofiz) tiroid aksı (HPT) ile hipotalamik ovaryum aksı (HPO) fizyolojik olarak ilişkilidir ve

bazı patolojik durumlarda tek bir sistem gibi birlikte hareket ederler. Ovaryumlardaki spesifik hormon reseptörlerinin, üretkenlik fonksiyonunu düzenliyor olabileceğine ve östrojenin HPT aksının daha üst düzeylerinde etkisi olabileceğine dair önermeler bu iki ana endokrin aksının karşılıklı ilişkisini bütünleştirir niteliktedir (126).

Tiroid hormonlarının etkilerini göstermek için yapılan çalışmalarda, dişi genital sistem organlarından uterus ve ovaryumda tiroid hormon reseptörleri saptanmıştır. Rae ve ark. yaptığı çalışmada, ovaryum yüzey epitelinde tiroid reseptörleri gösterilmiştir (127). Evans ve ark. tarafından yapılan çalışmada ise uterusu tiroid reseptörleri varlığı bildirilmiştir (9).

Hipertiroidinin; direkt organdaki kendi reseptörleri veya dolaylı olarak hipofiziyal aks vasıtasıyla ya da her iki yolu kullanarak genital sistem üzerinde infertiliteye etkileri kaçınılmazdır. Hipertiroidinin infertiliteye etkilerine dair yapılan çalışmalar genellikle menstural döngüye etkilerini içermesinin yanı sıra gelişim aşaması ve gebelikteki etkilerine dair çalışmalarda vardır.

Neonatal farelerde yüksek dozda tiroksin verilmesinin vajnal açılmada ve ilk östrusda gecikmeye yol açtığı belirlenmiştir (14). Cohen 1935’de hipertiroidili hayvanların hipofiz bezlerinin cinsel olgunlaşmaya girmemiş dişilere transplante ettikten sonra erken ergenliğe neden olduğunu tespit etmiştir (6).

Ergenlik öncesi tirotoksikozun cinsel olgunlaşmayı ve adet başlangıcını geciktirdiği kaydedilmiştir (16). Benzer olarak, diğer bir çalışmada, kızlarda menarş yaşının herhangi bir endokrin hastalığı olmayan sağlıklı bireylere göre biraz daha yüksek olduğunu kaydetmiştir (128).

Ovulatuvar menstural döngü tirotoksikozlu kadınlarda oluşmasına rağmen menstural bozukluklar yaygındır. Bu nedenle adet görmeyen tirotoksikozlu kadınlarda hamilelik ihtimali göz önünde bulundurulmalıdır. Oligomenor en yaygın görülen anormalitedir (16) ve oligomenore amenoreye dönüşebilir. Bu durum ilk kez Von Basedow’un klasik çalışmasında belirtilmiştir (17). Polimenor, hipotiroidizme oranla daha az görülür. Bu menstural rahatsızlıkların sıklık derecesi değişkenlik gösterir. Benson ve Dailey hipertiroidli hastaların %58’inin oligomenor ya da amenorlu, %5’inin ise polimenorlu olduğunu bildirmişlerdir (129). Yine yapılan bir çalışmada, Joshi ve ark. hipertiroidili kadınların % 64.7’sinde menstural düzensizliklerin olduğunu tespit etmişlerdir ve % 17’sinde ise, herhangi bir rahatsızlığa rastlanamamıştır (130). Bu düzensizlikler bazen tiroid fonksiyon bozukluğu sonrasında oluşmaktadır. Ancak, Krassas ve ark. 214 tirotoksikozlu hastadan sadece % 21’inde düzensiz döngülerin olduğunu bildirmişlerdir. Bu çelişkili sonuçlar, genetik ya da

başka bilinmeyen faktörlerle ile açıklanabilir (131). Tirotoksikozda görülen kilo kaybı ve psikolojik bozukluklar (öncelikle kaygı) da cinsel fonksiyon bozukluğuna katkıda bulunabilir (46). Tirotoksik kadınlarda sık sık LH, FSH ve östrojen fazlalığı görülür. Ayrıca gonadotropin salgılayan hormona (GnRH) karşı gonadotropin reaksiyonu artar (47). Ancak döngü ortasındaki LH artışı azalır ya da olmaz (48).

Tiroid hormonu artışı hamileliği geciktirmekte, düşüğe ve neonatal ölümlere yol açabilmektedir (5). Bunun nedeni belki de trofoblastik fonksiyonu doğrudan etkilemesi gibi görülmektedir (8).

Sunulan bir araştırmada, farelere aşırı tiroid hormonu verilmesinin endometrium kalınlaşmasına neden olduğu tespit edilmiştir (10). Ruh ve ark. T₄'ün fare uterusunda estradiol yerleşimini ve tutulumunu azalttığını bildirmişlerdir (11). Schultze ve Noonan tirotoksikozlu farelerde östrojene karşı düşük uterus aktivitesini kaydetmişlerdir. Aynı çalışmada tirotoksikozun gecikmiş blastosise ve atık ebatının artmasına yardım ettiği kaydedilmiştir (12).

Hipertiroidinin dişi genital sistemde etkilerini ortaya koyabilecek temel unsurlar arasında östrojen ve progesteron hormon miktarı ve ilgili dokudaki reseptörleri önem arz etmektedir.

De Moraes ve ark. yaptığı deneysel çalışmada, hipertiroidide; progesteron hormonu plazma değeri östrus öncesi yüksek bulunurken, östrus sonrası ise giderek kontrole yakın değerde olduğunu belirtmiştir (132). Yapılan bu çalışmada, kontrol grubunun menstural siklus evrelerindeki plazma progesteron değerleri daha önceki ratlarda yapılan çalışmalarla paralel bulunmuştur (23,115-117). Hipertiroidili grupta ise plazma progesteron düzeyleri, siklusun proöstrus evresinde kontrole göre düşük seyrederken, östrus evresinde kontrole yakın, metöstrus ve diöstrus evresinde ise anlamlı derecede yüksek olduğu saptandı.

Yapılan bir çalışmada, hipertiroidili grupta, kontrol grubuna göre östrojenin idrar metabolitlerinde artış saptanmıştır (133). Yapılan bu çalışmada, kontrol grubunun menstural siklus evrelerindeki östrojen değerleri daha önceki çalışmalarla paralel iken (23,115-117), hipertiroidi oluşturulmuş deney grubunda ise; tüm siklus evrelerinde kontrole göre anlamlı derecede yüksek seyrettiği belirlendi.

Richards ve ark. yaptıkları araştırmada, ovaryum fonksiyonlarının ovaryum steroid hormonlarınca düzenlendiğini belirlenmiş, östrojen ve progesteronun, folikül gelişiminin iki düzenleyicisi olabileceğini bildirmişlerdir (134). Östradiol'e maruz bırakıldığında, FSH'ın sıçan granuloza hücrelerine tutunmasının artabileceği gösterilmiştir (135). Östradiol'ün,

FSH'ı indüklediği, aromataz etkinliğini arttırdığı ve sıçan granüloza hücrelerinin üzerindeki luteinleştirici hormon (LH) etkisini indüklediği yapılan araştırmalarda gösterilmiştir (136). Keyes ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada, bu steroidin, sıçan ve tavşan korpus luteumu üzerine luteotropik etkiye sahip olduğu bildirilmiştir (137,138). Buna karşın Schreiber ve ark. yapmış oldukları çalışmada progesteronun sıçan granüloza hücrelerinde FSH tarafından uyarılan östrojen üretimini ve LH reseptör şekillenmesini baskıladığı rapor edilmiştir (139). Progesteronun aynı zamanda hamsterlarda foliküler olgunlaşmayı baskıladığı belirlenmiştir (140). Rothchild ve ark. yaptığı çalışmada, progesteronun insan korpus luteumu üzerinde otokrin luteotropik etkiye de sahip olabileceği belirtilmiştir (141). Bununla birlikte, ovaryum steroid hormonlarının, ovaryum dokusunda steroid reseptörleri aracılığıyla mı etkili oldukları ya da dolaylı olarak hipotalamus ve hipofiz bezi üzerinden mi etkili oldukları tam olarak bilinmemektedir. Klasik hormon bağlama yöntemleri ile ovaryum içinde östrojen reseptörleri ve progesteron reseptörleri belirlenmiştir. Östrojen ve progesteronun bu özel reseptörleriyle çeşitli otokrin ve / veya parakrin işlevlerinin bulunabileceği bildirilmektedir (46,143). Son zamanlarda östrojen ve progesteron reseptör proteinine özgü monoklonal antikörlerin üretilmesiyle meme, endometriyum ve ovaryuma ait normal ve neoplastik dokularda bu reseptörlerin dağılımları konusunda immunohistokimyasal bir yaklaşım ortaya konmuştur (144-146).

Jacobs ve ark. ile Kudolo ve ark. araştırmaları ile uyumlu olarak bizim çalışmamızda da, ovaryumda ER α ve PR dağılımı incelenmiş olup, menstural siklusla değişen oranda germinal epitelde, granüloza hücrelerinde, korpus luteumda ve foliküller arası bağ dokuda varlığı gösterilmiştir (46,143). Bu bulgu, steroid hormonların folikül gelişiminde reseptörleri üzerinden düzenleyici etki gösterebileceğinin kanıtı olarak değerlendirilmiştir ve aynı zamanda hipertiroidinin ER α ve PR lokalizasyonunu da etkilediği gösterilmiştir.

Uterusta ER α ve PR dağılımı ile ilgili yapılan immunohistokimyasal çalışmalarda, epitel hücrelerinde, bağ doku hücrelerinde ve düz kas hücrelerinde reseptör varlığı tespit edilmiştir. Endotel hücrelerinde, perivasküler bağ doku hücrelerinde ve kan hücrelerinde reseptör varlığı gözlenmemiştir (147).

Yapılan bu çalışmada, uterusta östrojen ve progesteron reseptörlerin lokalizasyonu menstural siklusun evrelerine göre farklılıklar gösterdiği tespit edildi. Hipertiroidili deney grubunda ise kontrol grubuna göre bez epiteli ya da stroma hücrelerinde ER α ve PR dağılımı menstural östrus evrelerine göre değişim göstermiş olduğu görülmüştür.

İmmünohistokimyasal olarak ratların uterus ve ovaryumlarında östrojen reseptörünün ER α ve ER β olarak iki alt gruplarının olduğu tespit edilmiştir (148-150). Normal uterus endometriyumunda menstrual siklus süresince ER β mRNA ekspresyonu ER α 'dan daha düşük olduğu bildirilmiştir (151).

İnsanlarda yapılan bir çalışmada, ER α 'nın; endometriyumda bez epitel hücrelerinin çekirdeklerinde yoğun bir şekilde eksprese oldukları tespit edilmiştir. Aynı çalışmada, ER α 'nın ER β 'dan daha fazla olduğu bildirilmiştir. Bununla birlikte, ER β 'nın uterus lümen eptelinde ER α 'ya göre hafifçe azaldığı belirlenmiştir. (151). Ratlarda yapılan bir araştırmada, arseniğe maruz bırakılma sonucu uterusu myometriyum ve endometriyumda ER α yoğunluğu azalmıştır (86).

Saruhan ve ark. yaptıkları bir araştırmada, uterus yüzey epitelinde, endometriyal bez hücrelerinde, stromada ve myometriyumda ER dağılımının luteal ve foliküler evrelerde değişkenlik gösterdiği bildirilmiştir (154). Sunulan bu çalışmada, uterus bez epitel hücrelerinde menstrual siklustaki değişime bağlı olarak östrus evresinde ER α düzeyi kontrol grubuna göre hipertiroidi grubunda anlamlı olarak azaldığı tespit edilirken, metöstrus grubunda kontrole göre anlamlı olarak arttığı tespit edildi. Stromal hücrelerde ise, ER α immünohistokimyasal boyamasında menstrual siklusun sadece östrus evresinde kontrole göre hipertiroidili ratlarda anlamlı bir azalma olduğu görülmüştür.

Yapılan çalışmalarda epitelyal hücreler ve uterus stromasında östrojen hormonunun, östrojen ve progesteron reseptörlerinin ekspresyonunu etkilediği bildirilmiştir. Bununla birlikte yapılan araştırmalarda, yüksek foliküler östrojen seviyesinin yüksek östrojen ve progesteron reseptör miktarı ile paralel olabileceği bildirilmiştir (152,153). Yapılan başka bir çalışmada ise östrojenin, kendi reseptörlerini ve progesteron reseptörlerini artırırken, progesteronun hem kendi hem de ER düzeylerini azaltıcı etki gösterdiği gösterilmiştir (157,158).

Zarembka ve ark. yaptıkları çalışmada, rat uterus dokusunda PR ve ER dağılımları gösterilmiştir (159). Sunulan bu çalışmada ise, uterus stroması ve epitelinde menstrual siklus süresince kontrol grubuna göre hipertiroidili grupta PR'deki değişim gösterilmiştir. Metöstrus ve diöstrus gruplarında diğer gruplara göre daha yoğun bir tutulum gözlenirken, diğer gruplarda daha az tutulum varlığı gösterilmiştir. Hipertiroidili grup, kontrol grubu ile kıyaslandığında bez epitelinde proöstrus evresinde anlamlı bir azalış görülürken, östrus ve metöstrus evrelerinde anlamlı bir artış görülmüştür. Bez epitelindeki reseptör konsantrasyonundaki değişimin kontrol ve hipertiroidili grubun plazma konsantrasyonu ile

paralel olduğu görülmüştür. Uterus stormasında ise proöstrus, östrus ve diösturs evrelerinde anlamlı bir azalış görülmüştür. Bu sonuç, hipertiroidili grubun kontrol grubuna göre artan östrojenin plazma konsantrasyonunun, progesteron reseptörleri üzerinde baskılayıcı etkisinin olabileceği şeklinde değerlendirildi.

Yapılan çalışmalarda; yenidoğan farelerde ovidukt, serviks, vajinal epitel dokularında ER α ekspresyonun olduğu gözlenirken aynı dönemde uterus epitellerinde bu reseptörün olmadığı gösterilmiştir. Bunun aksine, stromal hücrelerde uterus dahil olmak üzere genital kanal organlarında ER α ekspresyonu varlığı bildirilmiştir (155,156).

Aksoy'un yaptığı çalışmada, ergin ratlarda ovaryum dokusunda antrum sıvısında progesteron pozitiflik tespit edilmişken, granüloza hücrelerinde değişen derecelerde progesteron reseptör pozitifliği bildirilmiştir. Antral foliküllerde hücrelerin bir kısmında progesteron reseptör pozitif iken, bazılarında negatif olduğu ileri sürülmüştür. Bunun yanında, stromada progesteron reseptör tutulumunun yaygın olduğu bildirilmiştir (22).

Yapılan bu araştırmada, ovaryum dokusunda germinal epitelde progesteron reseptör düzeyinde östrus, metöstrus ve diösturs evrelerinde hipertiroidili ratlarda kontrol grubuna göre anlamlı derecede yükselmenin olduğu tespit edildi (Şekil 38). Menstrual siklusun proöstrus evresinde ise progesteron reseptör sayısında bir artış olsa da anlamlılık yoktu (Şekil 38).

PR için ovaryumda yapılan semikantitatif değerlendirmelerde korpus luteumda kontrol gruplarının proöstrus, östrus ve metöstrus evrelerinde progesteron reseptörlerinin negatif olduğu görülmüştür. Bunun yanında, hipertiroidili gruplardan ise diösturus evresinde en yoğun olduğu tespit edilmiştir. Yapılan immünohistokimyasal değerlendirmelerde, granüloza hücrelerinde kontrol östrus ve diösturs evreleri ile hipertiroidili diösturs evresinde progesteron reseptörü negatif olduğu gözlemlendi (Tablo 2).

Ovaryuma dair ER α incelendiği ratlardaki deneysel çalışmada, Pelletier ve ark. teka hücrelerinde, germinal epitelde ve ovaryum stormasında pozitiflik saptarken, Shughrue ve ark. granüloza hücrelerinde de pozitiflik gösterilmiştir (150,160). Diğer bir çalışmada ise, bu sayılan lokalizasyonların yanı sıra oosit hücresinde de tutulum gösterilmiştir (148). Daha sonra yapılan birçok çalışmada da, paralel sonuçlar alınmıştır (148-150,160-165). ER β için yapılan pekçok çalışmada ise, ovaryum stormasında, granüloza hücrelerinde, korpus luteumda ve teka hücrelerinde varlığı gösterilmiştir (148-150,160-165). Aksoy'un yaptığı çalışmada 10 haftalık ovaryum dokusunda, granüloza hücrelerinde, teka interna hücrelerinde, oosit sitoplazmasında, oosit çekirdeğinde ve ovaryum stromasında tutulum bildirilmiş, folikül antrumu ile korpus luteumda tutulumun olmadığı ileri sürülmüştür (22). Yapılan bu çalışmada

ise, ovaryum dokusunda, kontrol ve deney grubunda ER α , menstrual evrelere göre değişen oranlarda, germinal epitelde, teka hücrelerinde, granüloza hücrelerinde, korpus luteumda tutulumu gözlenirken, antrumda kısmen tutulum gerçekleşti. Menstrual siklus evrelerindeki hipertiroidili grup, kontrol grubuna göre; teka hücrelerinde ve korpus luteumdaki reseptör sayılarında anlamlı artışın olduğu belirlendi. Germinal epitel ve granüloza hücrelerinde ise anlamlı bir artış görülmedi. Deney grubunun kontrol grubuna göre ovaryumun değişik bölgelerindeki ER α artışı; östrojen plazma konsantrasyonunun kendi reseptör konsantrasyonunu artırmasının bir sonucu olarak değerlendirildi.

SONUÇLAR

“Hipertiroidizm” vücutta tüm sistemleri etkileyen metabolik bir hastalıktır. Hipertiroidinin özellikle dişi üreme sistemi üzerine etkileri hala tam olarak anlaşılamamıştır.

Çalışmamızda; tiroksin ile deneysel hipertiroidi oluşturulmuş sıçanların ovaryum ve uterus dokularında, hipertiroidinin etkilerine bağlı olarak; plazma östrojen ve progesteron konsantrasyonları ile ER ve PR için hücresel immünreaktivitelerinde ortaya çıkacak değişiklikleri değerlendirmeyi ve böylece hipertiroidili bireylerde görülen normal olmayan menstural siklusu aydınlatmayı ve buna bağlı olarak infertil olan dişi bireylerin tedavi süreçlerine destek olmayı planladık.

Hipertiroidili sıçanlarda TSH değerinin kontrol gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı derecede düştüğü ($P<0.001$), serbest T_4 'ün ise aksine istatistiksel olarak anlamlı derecede yükseldiğini ($P<0.001$), yine bu bulgularla beraber vücut ağırlıklarının anlamlı derecede azaldığını ($P<0.05$) ve tiroid bezi histolojik bulgularının değiştiğini gözlemlendi. Kontrol grubu deneklerde, menstural siklus evrelerine göre plazma östrojen ve progesteron miktarlarının literatür değerlendirmeleri ile uyumlu olduğu gözlemlenirken, hipertiroidili grupta ise plazma östrojen miktarının istatistiksel olarak anlamlı derecede evrelere göre (proöstrus ve metöstrus; $P<0.01$ ve östrus ve diöstrus; $P<0.001$) arttığını, progesteron değerinin proöstrus ($P<0.01$) evresinde azaldığını, metösturs ve diösturs evresinde ise arttığını (metösturs; $P<0.001$ ve diösturs; $P<0.005$) gözlemlendi (Şekil 12-13). Yapılan immünohistokimyasal incelemelerde; kontrol grubuna kıyasla hipertiroidili sıçanlarda, ER α ve PR immünreaktivitesinin ovaryum ve uterus dokularındaki bölgelere göre yapılan değerlendirmelerinde anlamlı derecede değişimlere uğradığı tespit edildi (Şekil 16-41; Tablo2).

Sonuç olarak, veriler gözönünde bulundurulduğunda, hipertiroidi durumunda yüksek plazma tiroid hormon (Serbest T₃ ve Serbest T₄) seviyelerine bağlı olarak plazma östrojen ve progesteron hormon seviyelerinin ve ovaryum ile uterus dokularındaki ER α ve PR dağılımının değiştiği saptandı. Bu sonuçlar; menstural siklustaki düzensizlikler ile ER α ve PR sayısındaki değişimlere bağlı olarak hipertiroidinin infertilite de önemli bir etken olabileceğini göstermiştir.

ÖZET

Hipertiroidili dişilerde ortaya çıkan menstural siklustaki düzensizlikler ve genital organlardaki (ovaryum ve uterus) olumsuz etkileri ile meydana gelen infertilite olgularına katkı sağlamak amacıyla siklus evrelerinde östrojen ve progesteron plazma konsantrasyonları ile ovaryum ve uterus dokularındaki reseptör miktarını ortaya konulması hedeflendi.

Çalışmada 64 adet Wistar Albino cinsi erişkin dişi sıçan kullanıldı. Denekler, rastgele 4' kontrol, 4' ise deney grubu olmak üzere toplam 8 gruba ayrıldı. Deney grubunda hipertiroidi oluşturmak için deneklere 21 gün süresince 250 mcg/kg oranında her gün aynı saatte tiroksin uygunlandı. Deney sonunda vajinal smear bulgularına göre menstural siklus evreleri saptanarak her evre için deney ve kontrol gruplarında 8 sıçan işleme alındı. Öncelikle plazma TSH, serbest T₄ strojen ve progesteron konsantrasyonlarını saptamak için kardiyak kanları alındı ve deneklerin ovaryum, uterus ve tiroid dokuları mikroskopik incelemeler için alındı.

Tüm deney gruplarının tiroid dokularında, tiroid foliküllerinin kontrol grubundaki sıçanlara oranla daha büyük olduğu görüldü. Bunun yanında, deney grubunda folikül epiteli yassı şekilli olarak izlenirken, kontrol grubunda prizmatikten kübiğe değişen şekilde görüldü. Bununla birlikte, plazma TSH ve serbest T₄ değerleri ve deney başındaki ağırlıklarına göre deney sonu kilo kaybı, hipertiroidi klinik tablosuyla paralel olduğu saptandı.

Plazma strojen konsantrasyonu; hipertiroidili grupta, kontrol grubuna göre menstural siklus süresince istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu. Ovaryum ve uterus dokusundaki ER α lokalizasyonu ise menstural siklusun farklı evrelerinde hipertiroidili grupta kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı artma/azalma olduğu saptandı.

Plazma progesteron konsantrasyonunda ise, hipertiroidili grupta kontrol grubuna göre menstural siklus evrelerinde istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar olduğu gözlemlendi. Uterus dokusunda PR yüzdesi menstural siklus süresince hipertiroidili grupta, bez epitelinde plazma progesteron konsantrasyonu ile paralel istatistiksel olarak anlamlı yükselme saptandı. Stroma hücrelerinde ise, metösturs evresi dışında istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük olduğu tespit edildi. Ovaryum dokularındaki PR yüzdesi menstural siklus süresince germinal epitelde hipertiroidi grupta kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar saptandı.

Sonuç olarak, hipertiroidinun sebep olduğu infertilite olgularında, hem plazma östrojen ve progesteron seviyesi, hem de ovaryum ve uterus doklarındaki ilgili reseptörlerinin dağılımlarındaki farklılıkların sonucu ile etkili olabileceğini düşünmekteyiz.

Anahtar kelimeler: Hipertiroidi, Ovaryum, uterus, immünohistokimya, progesteron reseptörü, östrojen α reseptörü.

IMMUNOHISTOCHEMICAL EXAMINATION OF ESTROGEN AND PROGESTERONE RECEPTOR DISTRIBUTION IN FEMALE GENITALIA (OVERY AND UTERUS) DURING DIFFERENT STAGES OF ESTROUS CYCLE IN RATS WHICH ARE EXPERIMENTALLY INFLICTED WITH HYPERTHYROID

SUMMARY

It has been aimed to detect the amount of receptors in ovarian and uterus tissues as well as the plasma concentrations of estrogen and progesterone during menstrual cycles in order to explain female infertility phenomena caused by the negative effects of hyperthyroidism in female genitalia and irregularities of menstrual cycles due to hyperthyroidism.

In the present study 64 adult female wistar albino rats were used. Subjects have randomly been separated into 8 different groups, four of which constituted the control group while the remaining four were the actual experimental group. The subjects of the experimental group were injected with 250 mcg/kg thyroxin every day at the same hour during a period of 21 days in order to infect them with hyperthyroidism. At the end of this period, both groups were processed for every cycle after detecting their menstrual cycles according to the vaginal smear findings. First, cardiac blood samples were withdrawn so as to detect the concentrations of plasma TSH, and free T₄ estrogen and progesterone. In addition, ovary, uterus and thyroid tissues were taken to conduct microscopic examinations.

Thyroid follicles of the rats in the experimental group were recorded to be bigger in comparison with the rats in the control group. Furthermore, the shape of follicle epithelium was flat in the experimental group whereas the shape of follicle epithelium varied between columnar and cuboidal in the control group. Apart from this, it has been recorded that plasma TSH and free T₄ values as well as the weight loss when compared to their weights at the beginning of this experiment were parallel with clinical picture of hyperthyroidism.

The concentration of plasma estrogen was recorded as statistically high in the experimental group in comparison with the control group. There were also statistically high fluctuations of ER α localization in the ovary and uterus tissues of the experimental group during different phases of menstrual cycle.

Plasma progesterone concentration also fluctuated in a statistically relevant amount during menstrual cycles of the experimental group. Moreover, there were also statistically high increases in glandular epithelium in parallel with the concentration of plasma progesterone as well as the PR per cent in uterus tissue during the menstrual cycle of the experimental group. The number of stroma cells was recorded to be statistically low except for metostrus phase. In addition to these, there were statistically relevant differences of PR percent in ovarian tissues in the germinal epithelium during the menstrual cycles of the experimental group in comparison with the control group.

As a result, we conclude that both the levels of plasma estrogen and progesterone as well as the differences in the distributions of relevant receptors in ovarian and uterus tissues have an impact on female infertility due to hyperthyroidism.

Key Words: Hyperthyroidism, ovarian, uterus, immunohistochemistry, progesterone receptor, estrogen α receptor.

KAYNAKLAR

1. Özata M. Tiroid hastalıkları tanı ve tedavisi. Ankara GATA Basımevi; 2003; s 42-78.
2. Fauci AS, Kasper DL, Hauser SL, Longo Dan L, James J, Harrison L. Principles of internal Medicine. Volume 2: 15 th ed. North America; Mc Graw –Hill Componies, 2001; p 2060 - 078.
3. Gordon GG, Southren AL. Thyroid-hormone effects on steroid-hormone metabolism. Bull NY Acad Med 1977; 53; p241–259.
4. Yamazaki KK, Sato K, Shizume. Potent thyrotropic activity of human chorionic gonadotropin variants in terms of 125I incorporation and de novo synthesized thyroid hormone release in human thyroid follicles. J Clin Endocrinol Metab 1995; 80: 473–9.
5. Leathem JH. Nutritional effects on endocrine secretions. In Sex and Internal Secretions Williams & Wilkins. Baltimore WC Young Ed; 1961; 666.
6. Cohen RS. Effect of experimentally produced hyperthyroidism upon the reproductive and associated organs of the male rat. Am J Anat 1935; 56: 143–154.
7. Howland BE, Ibrahim EA. Hyperthyroidism and gonadotropin secretion in male and female rats. Experientia 1973; 29: 1398–9.
8. Maruo TS, Hiramatsu T, Otani. Increase in the expression of thyroid hormone receptors in porcine granulosa cells early in follicular maturation. Acta Endocrinol 1992; 127: 152–160.
9. Evans RW, Farwell AP, Braverman LE. Nuclear thyroid hormone receptors in the rat uterus. Endocrinology 1983; 113: 1459–1463.

10. Reineke EP, Soliman FA. Role of thyroid hormone in reproductive physiology in the female. *Iowa State Col J Sci* 1953; 28: 67.
11. Ruh MF, Ruh TS, Klitgaard HM. Uptake and retention of estrogens by uteri from rats in various thyroid states. *Proc Soc Biol Med* 1970; 134: 558–61.
12. Schultze AB, Noonan J. Thyroxine administration and reproduction in rats. *J Anim Sci* 1970; 30: 774–6.
13. Schlesinger S, Mcgillivray MH, Munschauer RW. Acceleration of growth and bone maturation in childhood thyrotoxicosis. *J Pediatr* 1973;83: 233–236.
14. Gellert RJ, Bakke JL, Lawrence NL. Delayed vaginal opening in the rat following pharmacologic doses of T4 administered during the neonatal period. *J Lab Clin Med*1971; 77: 410–416.
15. Frisch RE, Mcarthur JW. Menstrual cycles: fatness as a determinant of minimum weight for height necessary for their maintenance or onset. *Science* 1974; 185: 949–51.
16. Thomas R, Reid RL. Thyroid disease and reproductive dysfunction: a review. *Obstet Gynecol* 1987; 70: 789–98.
17. Von Basedov CA. Exophthalmos durch hypertrophie des Zellgewebes in der. *Augenhohl Wochenschrift Heilk* 1840; 6: 197.
18. Thijssen JHH. Progesterone receptors in the human uterus and their possible role in parturition. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2005; 97: 397-400.
19. De Cock H, Vermeirsch H, Ducatelle R, De Schepper J. Immunohistochemical analysis of estrogen receptors in cystic–endometritis–pyometra complex in the bitch. *Theriogenology* 1997; 48: 1035-47.
20. Oba G. Ratlarda Siklus Dönemlerinin Ve Gebeliğin Vajinal Smear Yöntemi İle İki Boyama Tekniği Kullanılarak Saptanması (Tez). Ankara Üniv Sağ Bil Enst Doğum ve Jin ABD. Ankara; 1998.
21. Montes GS, Luqoe EH, Effects of ovarian steroids on vaginal smears in the rat. *Acta Anat* 1998; 133:192-9.
22. Aksoy A. Yaşlanmaya Koşut Sıçan Ovaryum’unda Folikül İnce Yapısı ve Folikül Uyarın Hormon Reseptörlerinin(FSHR), Östrojen Reseptörlerinin(ER), Progesteron Reseptörlerinin (PR) İmmünohistokimyasal Olarak Belirlenmesi (Tez). Ankara: Gazi Üniv Sağlık Bilimleri Enst Histoloji ve Emb ABD; 2008.

23. Rose MP, Gaines Das RE, Balen AH. Definition and measurement of follicle stimulating hormone. *Endocrinol Rev* 2000; 21: 5 – 22.
24. Iwai T, Nanbu Y, Iwai M, Taii S, Fujii S, Mori T. Immunohistochemical localization of oestrogen receptors and progesterone receptors in the human ovary throughout the menstrual cycle. *Virchows Arch A Pathol Anat Histopathol* 1990; 417(5): 369–75.
25. Kelly DE, Wood RL, Enders AC. *Bailey's Textbook of Microscopic Anatomy, Eighteenth Edition*. Baltimore / London. Williams & Wilkins. 1984; 794-816.
26. Ross MH, Pawlina W, Kaye GI. *Histology A Text and Atlas*. Baltimore. Lippincott Williams & Wilkins, 2003; 655-659.
27. Kierszenbaum LA. *Histology and Cell Biology*. Çeviri: Demir R. *Histoloji ve Hücre Biyolojisi*. Ankara. Palme Yayıncılık, 2006; 499-504.
28. Standring S, *Gray's Anatomy. The Anatomical Basis of Clinical Practice*. London: Churchill Livingstone Elsevier 2008; 462-463.
29. Toprak M, Akın SM. *Anatomi Ders Kitabı*. İstanbul: İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Yayınları Yayın No: 204, 1998: 768-824.
30. Gartner LP, Hiatt JL. *Color Textbook of Histology 2nd Edition*. Pennsylvania WB Saunders Company 2001; 310-314.
31. Moore KL, Dalley AF, *Clinically Oriented Anatomy* Çeviri: Şahinoğlu K. *Kliniğe yönelik anatomi*. İstanbul 2007; 550-560.
32. Ovalle WK, Nahirney PC. Çeviri: Müftüoğlu S, Kaymaz F, Atilla P. *Netter Temel Histoloji*. Ankara: Güneş Tıp Kitap Evleri, 2009; 508-515.
33. Eroschenko PV. *di Fiore's Atlas of Histology with Functional Correlations*. Çeviri: Demir R. *di Fiore Histoloji Atlası Fonksiyonel İlişkileriyle*. Ankara Palme Yayıncılık 2001; 273-281.
34. Leeson TS, Leeson CR, Paparo AA. *Text Atlas of Histology*. Philadelphia / London Toronto / Montreal / Sydney / Tokyo WB Saunders Company 1988; 579-594.
35. Junqueira LC, Carneiro J, Kelley RO. *Basic Histology*. Çeviri: Aytekin Y. *Temel Histoloji* İstanbul Barış Kitabevi 1993; 472-495.

36. Fawcett DW. Bloom and Fawcett A Textbook of Histology. WB Saunders Company Philadelphia-London-Toronto-Mexico-Rio de Janeiro-Sydney-Tokyo-Hong Kong. 1994; 490-497.
37. Saxena KM, Crawford JD, Talbot NB. Childhood thyrotoxicosis: a long-term prospective. Br Med J 1964; 4: 1153-8.
38. Jungheira LC, Carneiro J. (çeviri editörü Seyhun S, Yener A.) Temel Histoloji 1.baskı, İstanbul Nobel tıp Kitabevi 2009; s.411-5.
39. Feuillan P T, Shawker S, ROSE, et al. Thyroid abnormalities in the McCune Albright syndrome: ultrasonography and hormonal studies. J Clin Endocrinol Metab 1990; 71: 1596-1601.
40. Özgünen T, Dikmen N. Harper'ın Biyokimyası. Nobel Tıp Kitabevi Kitabevi. İstanbul 2004; 561-6. 601-6.
41. Guyton AC. Textbook of Medical Physiology, 7. ^{dh}. Çeviri: Gökhan N, Çavuşoğlu H. Tıbbi Fizyoloji İstanbul Nobel Tıp Kitabevi 1987; 1293-1309.
42. Hulbert AJ. Thyroid hormones and their effects: a new perspective. Biol Rev Camb Philos Soc 2000 Nov; 75(4): 519-631.
43. Gomieniak O, Perlistein TS, Hopkins PN, Brown NJ, Murphey LJ, Jeunemaitre X, Hollenberg NK, Williams GH. Thyroid function and blood pressure homeostasis in euthyroid subjects. J Clin Endocrinol Metab 2004 Jul; 89(7): 3455-61.
44. Palmes D, Maurice F, Scanlon. Thyrotropin releasing hormone and thyroid-stimulating hormone. Leslie J, DeGroot J, Larry Jameson (Editors). Endocrinology 4. th Philadelphia WB Saunders Company 2001.
45. Sandalcı Ö, Moldovyalı S, Azizlerli H, Alagöl M, Orhan Y. Metabolizma ve Beslenme Hastalıkları. İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı Endokrinoloji 2001; 129 - 49.
46. Roger J. Menstruation and systemic disease. N Eng J Med 1958; 259: 676-81.
47. Erfurth EM, Hedner P. Increased plasma gonadotropin levels in spontaneous hyperthyroidism reproduced by thyroxine but not by triiodothyronine administration to normal subjects. J Clin Endocrinol Metab 1987; 64: 698-703.
48. Akande EO, Hockaday TR. Plasma concentration of gonadotrophins, oestrogens and progesterone in thyrotoxic women. Br J Obstet Gynaecol 1975; 82: 541-51.

49. Mestman J. Hyperthyroidism in Pregnancy. *Clin Obstet Gynecol* 1997; 40: 45-64.
50. Momotani N, Noh J, Ishikawa N, Ito K. Relationship between silent thyroiditis and recurrent Graves' disease in the postpartum period. *J Clin Endocrinol Metab* 1994; 79: 285-9.
51. Glioner D. Management of hypo- and hyperthyroidism during pregnancy. *Growth Horm IGF Res* 2003; 13 Suppl A:45-54.
52. Goodwin TM, Hershman JM. Hyperthyroidism due to inappropriate production of human chorionic gonadotropin. *Clin Obstet Gynecol* 1997; 40: 32-44.
53. Caffrey T. Transient hyperthyroidism of hyperemesis gravidarum: a sheep in wolf's clothing. *J Am Board Fam Pract.* 2000; 13: 35-38.
54. Kung AWC, Ma JTC, Wang C, Young RTT. Hyperthyroidism during pregnancy due to coexistence of struma ovarii and Graves' disease. *Postgraduate Med J* 1990; 66: 132-133.
55. Davis LE, Lucas MJ, Hankins GD, Roark ML, Cunningham FG. Thyrotoxicosis complicating pregnancy. *Am J Obstet Gynecol.*1989; 160: 63-70.
56. Hamberger JI. Diagnosis and management of Graves' disease in pregnancy. *Thyroid* 1992; 2: 219-224.
57. Mestman JH. Hyperthyroidism in pregnancy. *Endocrinol Metabol Clin North Am* 1998; 27: 127-49.
58. Phoojaroenchanachai M, Sriussadaporn S, Peerapatdit T, Vannasaeng S, Nitiyanant W, Boonnamsiri V, et al. Effect of maternal hyperthyroidism during late pregnancy on the risk of neonatal low birth weight. *Clin Endocrinol* 2001; 54: 365-370.
59. Easterling TR, Schmucker BC, Carlson KL, Millard SP, Benedetti TJ. Maternal hemodynamics in pregnancies complicated by hyperthyroidism. *Obstet Gynecol* 1991; 78: 348-352.
60. Mestman JH, Goodwin TM, Montoro MM. Thyroid disorders in pregnancy. *Endocrinol Metab Clin North Am* 1995; 24: 41-71.
61. Mandel SH, Hanna, La Franci SH. Neonatal hypopituitary hypothyroidism associated with maternal thyrotoxicosis. *J Pediatric Endocrinol* 1989; 3: 189-192.

62. Kempers MJ, van Tijn DA, Trotsenburg AS, Vijlder JJ, Wiedijk BM, Vulsma T. Central congenital hypothyroidism due to gestational hyperthyroidism: detection where prevention failed. *J Clin Endocrinol Metabol* 2003; 88: 5851–5857.
63. Heckel S, Favre R, Schlienger JL, Soskin P. Diagnosis and successful in uterotreatment of a fetal goitrous hyperthyroidism caused by maternal Graves' disease. *Fetal Diagn Ther* 1997; 12: 54-58.
64. Millar LK, Wing DA, Leung AS, Koonings PP, Montoro MN, Mestman JH. Low birth weight and preeclampsia in pregnancies complicated by hyperthyroidism. *Obstet Gynecol* 1994; 84: 946–949.
65. Fair T. Follicular oocyte growth and acquisition of developmental competence. *Anim Reprod Sci* 2003; 78(3-4): p. 203-16.
66. Himelstein-Braw R, Byskov AG, Peters H, Faber M. Follicular atresia in the infant human ovary. *J Reprod Fertil* 1976; 46(1): p. 55-9.
67. Syrop CH, Dawson JD, Husman KJ, Sparks AE, Van Voorhis BJ. Ovarian volume may predict assisted reproductive outcomes better than follicle stimulating hormone concentration on day 3. *Hum Reprod* 1999; 14(7): p. 1752-6.
68. Herbrandson C. Learning the reproductive system chapter 28 [online]. 2005 [cited 2008Feb7]. Available from: URL: http://academic.kellogg.cc.mi.us/herbrandsonc/bio201_McKinley/Reproductive%20%20System.htm 2012
69. Kierszenbaum AL. Follicle development and menstrual cycle. In: *Histology and Cell Biology*. USA Mosby Inc 2002; 564-75.
70. Michael HR, Edward JR, Lynn JR. Female Reproductive System. *Histology: A text and Atlas 2 edition* USA Williams&Wilkins 1989: 649-62.
71. Ross MH. *Histology: A Text and Atlas*. 4th ed Philadelphia PA: Lippincott Williams & Wilkins; 2003; pp. 726-742.
72. Guyton AC, Hall J E: *Tıbbi Fizyoloji*. Çavuşoğlu H (Çev) 10. basım. İstanbul: Nobel Tıp Kitap Evleri; 2001.
73. Larsen WJ. *Human Embryology*. 3rd ed Philadelphia Pennsylvania: Churchill Livingstone; 2001. pp. 12-13.
74. Ross HM, Kaye IG. *Histology, A Text and Atlas*. 4 th ed Baltimore: Lippincott Williams and Wilkins; 2003.

75. Cunningham GF, Gant FN, Leveno JK, Gilstrap CL, Hauth CJ, Wenstram DK. Williams Obstetrics. 21. st ed. North America: Medical Publishing Division Mc Graw-Hill Companies; 2001; p. 39-83.
76. Banister, Berry, Collins, Dyson, Dussek, Ferguson. Gray's Anatomy. 38. Edition. England: Churchill Livingstone; 1995.
77. Hatipoğlu, T. Anatomi. 1. Baskı Hatipoglu Yayınevi Ankara 2001; s 203-204.
78. Snell SR. Clinic Anatomy (Çeviri Editörü: Yıldırım M.). 5. Baskı Nobel Tıp Kitabevleri İstanbul 1998; 323-326
79. Arıncı K, Elhan A. Anatomi 1. Cilt Günes Kitabevi, Ankara, 1995; s: 428-437
80. Junqueira LC, Carneiro J, Kelley R. Basic Histoloji. 1998; p: 433-434.
81. Erdoğan D, Hatipoğlu MT, Görgün M. Ilgaz C. Özel Histoloji. 1. Baskı SBAD Yayınları, Ankara 1996; s: 179-86.
82. Sancak B, Cumhuri M. Fonksiyonel Anatomi Bas Boyun ve İç Organlar. 1. Baskı ODTÜ Gelistirme Vakfı Yay ve İletisim A.S. Yayınları, Ankara, 1999; s:333-338.
83. Orchard MD, Murphy CR. Alterations in tight junction molecules of uterine epithelial cells during early pregnancy in molecules of uterine epithelial cells during early pregnancy in the rat. Acta Histochem 2002; 104: 149-155.
84. Atasü T, Sahmay S. Jinekoloji. 1. Baskı Üniuersal Bilimsel Yayınları 6 İstanbul 1996; s:159-164.
85. Stenberg SS. Histology for Pathology. 12 th Edition Lippincott- Raven Philadelphia New York 1997; p:879-929.
86. Chatterjee A, Chatterjee UC. Arsenic abrogates the estrogen-signaling pathway in the rat uterus. Reprod Biol Endocrinol 2010; 8: 80.
87. Mulvihill ER, Palmiter RD. Relationship of nuclear progesterone receptors to induction of ovalbumin and conalbumin mRNA in chick oviduct. J Biol Chem 1980; 255(5): 2085–2091.
88. Dickson RB, McManaway ME, Lippman ME. Estrogen induced factors of breast cancer cells partially replace estrogen to promote tumor growth. Science 1986; 232: 1540–1543.

89. Walker P, Weichsel ME Jr, Hoath SB, Poland RE, Fisher DA. Effect of thyroxine, testosterone, and corticosterone on nerve growth factor(NGF) and epidermal growth factor (EGF) concentrations in adult female mouse submaxillary gland: dissociation of NGF and EGF responses. *Endocrinology* 1981; 109(2): 582–587.
90. Reitsma PH, Rothberg PG, Astrin SM, Trial J, Bar-Shavit Z, Hall A, et al. Regulation of myc gene expression in HL-60 leukaemia cells by a vitamin D metabolite. *Nature* 1983; 306(5942): 492–494.
91. Norris JS, Cornett LE, Hardin JW, Kohler PO, MacLeod SL, Srivastava, et al. Autocrine regulation of growth: II. Glucocorticoids inhibit transcription of c-sis oncogene-specific RNA transcripts. *Biochem Biophys Res Commun* 1984; 122:124–128.
92. Brelvi ZS, Studzinski GP. Inhibition of DNA synthesis by an inducer of differentiation of leukemic cells. I a. 25 dihydroxy vitamin D₃ precedes downregulation of the c-myc gene. *J Cell Physiol* 1986; 128: 171–179.
93. Eastman-Reks SB, Vedeckis WV. Glucocorticoid inhibition of c-myc, c-myb, and c-Ki-ras expression in a mouse lymphoma cell line. *Cancer Res* 1986; 46: 2457–62.
94. Chen SV, Pollard JW. C-rasH and ornithine decarboxylase are induced by oestradiol-17 beta in the mouse uterine luminal epithelium independently of the proliferative status of the cell. *FEBS Lett* 1986; 196: 309–314.
95. Murphy LJ, Murphy LC, Friesen HG. Rapid regulation of c-myc protooncogene expression by progesterone in the avian oviduct. *Endocrinology* 1987; 120: 1882–8.
96. Travers MT, Knowler JT. Oestrogen induced expression of oncogenes in the immature rat uterus. *FEBS Lett* 1987; 211: 27–30.
97. Ganong WF. *Tıbbi Fizyoloji*. Çeviri: Türk Fizyoloji Bilimler Derneği 20. baskı Ankara: Nobel Tıp Kitabevi; 2002.
98. Kayaalp O. Estrojenler, projestinler ve antagonistleri. *Tıbbi Farmakoloji* 10.Baskı 2002;1314-40 s.
99. Koike S, Sakai M, Muramatsu M. Molecular cloning and characterization of rat estrogen receptor cDNA. *Nucleic Acids Res* 1987; 15(6): 2499–2513.

100. Kuiper GG, Enmark E, Peltö-Huikko M, Nilsson S, Gustafsson JA. Cloning of a novel receptor expressed in rat prostate and ovary. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1996; 93(12): 5925–5930.
101. Tremblay GB, Tremblay A, Copeland NG, Gilbert DJ, Jenkins NA, Labrie F, et al. Cloning, chromosomal localization, and functional analysis of the murine estrogen receptor beta. *Mol Endocrinol* 1997; 11(3): 353–65.
102. Mosselman S, Polman J, Dijkema R. ER beta: identification and characterization of a novel human estrogen receptor. *FEBS Lett* 1996; 392(1): 49–53.
103. Peterson CM. Estrogen and progesterone receptors: an overview from the year 2000. *J Soc Gynecol Investig* 2000; 1: 3–7.
104. Paech K, Webb P, Kuiper GG, Nilsson S, Gustafsson J, Kushner PJ, Scanlan TS. Differential ligand activation of estrogen receptors ERalpha and ERbeta at AP1 sites. *Sci* 1997; 277(5331): 1508–10.
105. Price RH Jr, Lorenzon N, Handa RJ. Differential expression of estrogen receptor beta splice variants in rat brain: identification and characterization of a novel variant missing exon 4. *Brain Res Mol Brain Res* 2000; 80(2): 260–8.
106. Kraus WL, Katzenellenbogen BS. Regulation of progesterone receptor gene expression and growth in the rat uterus: modulation of estrogen actions by progesterone and sex steroid hormone antagonists. *Endocrinology* 1993; 132: 2371–2379.
107. Vegeto E, Shahbaz MM, Wen DX, Goldman ME, O'Malley BW, McDonnell DP. Human progesterone receptor alpha form is a cell and promoter specific repressor of human progesterone receptor B function. *Mol Endocrinol* 1993; 7: 1244–55.
108. Mangal RK, Wiehle RD, Poindexter AN, Weigel NL. Differential expression of uterine progesterone receptor forms A and B during the menstrual cycle. *J Steroid Biochem Mol Biol* 1997; 63(4–6): 195–202.
109. Zheng W, Magid MS, Kramer EE, Chen YT. Follicle stimulating hormone receptor is expressed in human ovarian surface epithelium and fallopian tube. *Am J Pathol* 1996; 148(1): 47–53.
110. Bennett, JP, Vickery BH. Rats and Mice. In: Hafez ESE, editor. *Reproduction and Breeding Techniques for Laboratory Animals*. Philadelphia: Lea and Febiger; 1970; p. 299–315.
111. Kohn DF, Clifford CB. Biology and diseases of rats. In: Anderson LC, Leow FM, Quimby FW, editors. *Laboratory Animal Medicine*, San Diego: Academic Press; 2002; p. 121–165.

112. Mülazımoğlu SB, İde T, Aslan S. Ratlarda Üreme. J Clin Anal Med Ankara Üni Veteriner Fakültesi Doğum ve Jinekoloji ABD, Ankara 2005; 39-44.
113. Petroianu A, Vasconcellos LS, Alberti LR, Nunes MB. The influence of venous drainage on autologous ovarian transplantation. J Surg Res 2005; 124: 175-9.
114. Champlin AK, Dorr DL. Determining the stage of the estrous cycle in the Mouse by then appearance of the vagina. Biol Reprod 1973; 8: 491-4.
115. Campbell CS, Ryan KD, Schwartz NB. Estrous cycles in the Mouse: relative influence of continuous light and the presence of male. Biol Reprod 1976; 14: 292-9.
116. Rao RP, Kaliwal BB. Monocrotophos induced dysfunction on estrous cycle and follicular development in mice. Ind Health 2002; 40: 237-44.
117. Hubscher CH, Brooks DL, Johnson JR. A quantitative method for assessing stages of the rat estrous cycle. Biotech Histochem 2005; 80 (2):79-87.
118. Spornitz UM, Socin CD, Dravid AA. Estrous stage determination in rats by means of scanning electron microscopic images of uterine surface epithelium. Anat Rec 1999; 254:116-26.
119. Mandl MM. Cyclical changes in the vaginal smear of adult ovariectomized rats. J Exper Biol 1951; 28: 585-92.
120. Drickamer LC. Determination of oestrous condition in female mice is dependent upon time of day. J Reprod Fertil 1987; 79: 659-62.
121. Allen E. The oestrous cycle in the Mouse. Am J Anat 1922; 30: 297-371.
122. Nelson JF, Felicio LS, Randall PK, Sims C, Finch CHA, longitudinal study of estrous cyclicity in aging C57BL/6J Mice: I. Cycle frequency, Length and vaginal cytology. Biol Reprod 1982; 27: 327-39.
123. <http://www.nuveforum.net/44-jinekoloji/70625-kadin-ureme-sistemi/> 2012
124. <http://www.7gunsaglik.com.tr/soru?oku=yumurtal%C4%B1k%20yoklu%C4%9Fu> 2012
125. Özgüner M, Altuğ Ş, Ural M, İşler M. Deneysel hipertiroidinin erişkin sıçan testis dokusunda oluşturduğu histolojik değişiklikler SDÜ Tıp Fak Derg 2004; 11(3): 1-6.

126. Doufas AG, Mastorakos G. The hypothalamic pituitary thyroid axis and the female reproductive system. *Endocrine Unit Evgenidion Hospital Uni of Athens Medical School, Athens, Greece.* 2000; 900: 65-76.
127. Rae MT, Gubbay O, Kostogiannou A, Price D, Critchley HOD, Hillier SG. Thyroid Hormone Signaling in Human Ovarian Surface Epithelial Cells. *J Clin Endocrinol Metabol* 1992; (1): 322–327.
128. Mastorakos GNS, MitsiadesAG, Doufas AG, Koutras DA. Hyperthyroidism in McCune-Albright syndrome with a review of thyroid abnormalities sixty years after the first report. *Thyroid* 1997;7: 433–439.
129. Benson RC, Dailey ME. Menstrual pattern in hyperthyroidism and subsequent post-therapy hypothyroidism. *Surg Gynaecol Obstet* 1955;100: 19–26.
130. Joshi JV, Bhandarkar SD, Chadha M, Balaiah D, Shah R. Menstrual irregularities and lactation failure may precede thyroid dysfunction of goitre. *J Postgrad Med* 1993;39: 137–41.
131. Krassas GE, Pontikides N, Kaltsas T, Papadopoulou P, Batrinos M. Menstrual disturbances in thyrotoxicosis. *Clin Endocrinol* 1994;40: 641–644.
132. Moraes GVD, Vera-Avila HR, Lewis AW, Koch JW, Neuendorff DA, Hallford DM. Influence of hypo- or hyperthyroidism on ovarian function in Brahman cows. *J Anim Sci* 1998; 76: 871-879.
133. Gallagher TF, FukushimaDK, NoguchiS. Recent studies in steroid hormone metabolism in man. *Recent Prog Horm Res* 1966; 22: 283–303.
134. Richards JS. Maturation of ovarian follicles: actions and interactions of pituitary and ovarian hormones on follicular cell differentiation. *Physiol Rev* 1980; 60: 51–89.
135. Richards JS, Uilenbroek JTJ, Jonassen JA. Follicular growth in the rat: A reevaluation of the roles of FSH and LH. *Adv Exp Med Biol* 1979; 112: 11–26.
136. Adashi EY, Hsueh AJW. Estrogens augment the stimulation of ovarian aromatase activity by follicle-stimulating hormone in cultured rat granulosa cells. *J Biol Chem* 1982; 257:6077–6983.
137. Keyes PL, Gadsby JE, Yuh KCM, Bill CH. The corpus luteum. *Int Rev Physiol* 1983; 27: 57–97.

138. William MT, Roth MS, Marsh JM, LeMaire WJ. Inhibition of basal and gonadotropin-stimulated progesterone synthesis by estradiol in isolated human luteal cells. *J Clin Endocrinol Metab* 1979; 48: 437–440 95.
139. Schreiber JR, Nakamura K, Truscello AM, Erickson GF. Progestins inhibit FSH-induced functional LH receptors in cultured rat granulosa cells. *Mol Cell Endocrinol* 1982; 25: 113–24.
140. Kim I, Greenwald GS. Stimulatory and inhibitory effects progesterone on follicular development in the hypophysectomized FSH/LH-treated hamster. *Biol Reprod* 1987; 36: 270–6.
141. Rothchild I. The regulation of mammalian corpus luteum. *Recent Prog Horm Res* 1981; 37: 194–208.
142. Jacobs BR, Suchocki S, Smith RG. Evidence for a human ovarian progesterone receptor. *J Obstet Gynecol* 1980; 138:332–6.
143. Kudolo GB, Elder MG, Myatt L. A novel oestrogen-binding species in rat granulosa cells. *J Endocrinol* 1984; 102: 83–91.
144. Greene GL, Jensen EV. Monoclonal antibodies as probes for estrogen receptor detection and characterization. *J Steroid Biochem* 1982; 16: 353–359.
145. Logeat F, Vu Hai MT, Fournier A, Legrain P, Buttin P, Milgrom E. Monoclonal antibodies to rabbit progesterone receptor: cross-reaction with other mammalian progesterone receptors. *Proc Natl Acad Sci USA* 1983; 80: 6456–59.
146. Greene GL, Harris K, Bova R, Kinders R, Moove B, Nolan C. Purification of T47D human progesterone receptor and immunohistochemical characterization with monoclonal antibodies. *Mol Endocrinol* 1988; 2: 714–26.
147. Press M.F. Nausek-Gaulbl NA, Greene GL. Estrogen receptor localization in the female genital tract. *Am J Patol* 1986; 123: 280-91.
148. Wang H, Masironi B, Eriksson H, Sahlin L. A comparative study of estrogen receptors and in the rat uterus. *Biol Reprod* 1999; 61(4): 955–64.
149. Mowa CN, Iwanaga T. Developmental changes of oestrogenreceptor and mRNAs in the female reproductive organ of the rat analysis by in situ hybridization. *J Endocrinol* 2000; 167(3): 363–69.

150. Pelletier G, Labrie C, Labrie F. Localization of oestrogen receptor, oestrogen receptor and androgen receptors in the rat reproductive organs. *J Endocrinol* 2000; 165(2): 359–70.
151. Fujimoto J, Hirose R, Sokaguchi H, Tomaya T. Expression of oestrogen reseptör- α and $-\beta$ in ovarian endometriomata *Mol Human Reprod* 5;1999: 742-47.
152. Kurita T, Lee K, Cooke PS, Taylor JA, Lubahn DB, Cunha GR. Paracrine regulation of epithelial progesterone receptor by estradiol in the mouse female reproductive tract. *Biol Reprod* 2000; 62: 821-30.
153. Kurita T, Lee K, Cooke PS, Lydon JP, Cunha GR. Paracrine regulation of epithelial progesterone receptor and lactoferrin by progesterone in the mouse uterus. *Biol Reprod* 2000; 62: 831-8.
154. Berna G S, Hakan S M, Aydın K. Immunohistochemical detection of estrogen and progesterone receptors in the bovine uterus and their relation to serum sex steroid hormone levels during the follicular and luteal phase. *Kafkas Univ Vet Fak Derg* 2009; 15 (3): 447-54.
155. Bigsby RM, Aixin L, Luo K, Cunha GR. Strain differences in the ontogeny of estrogen receptors in murine uterine epithelium. *Endocrinology* 1990; 126(5): 2592–6.
156. Yamashita S, Newbold RR, McLachlan JA, Korach KS. Developmental pattern of estrogen receptor expression in female mouse genital tracts. *Endocrinology* 1989; 125(6) : 2888–96.
157. Lessey BA, Killam AP, Metzger DA, Haney AF, Greene GL, McCarty KS Jr. Immunohistochemical analysis uterine estrogen and progesterone receptors throughtout the menstrual cycle. *J Clin Endocrinol Metab* 1988; 67: 334-8.
158. Snijders MP, de Goeij AF, Debets-Te Baerts MJ, Rousch MJ, Koudstaal J, Bosman FT. Immunohistochemical analysis of oestrogen receptors and progesterone receptors in the human uterus throughout the menstrual cycle and after the menopause. *J Reprod Fertil*,1992; 94: 363-8.
159. Zarembka FR, Koiler DE, Plotka M. Effect of ether or ketamine anesthiaon rat utenne estrogen and progesterone receptors. *Clin Chem* 1989; 35/1: 143-5.
160. Shughrue PJ, Lane MV, Scrimo PJ, Merchenthaler I. Comparative distribution of estrogen receptor-a (ER-a) and b (ER-b) mRNA in the rat pituitary, gonad, and reproductive tract. *Steroids* 1998; 63: 498–504.

161. Bao B, Kumar N, Karp RM, Garverick HA, Sundaram K. Estrogen receptor b expression in relation to the expression of luteinizing hormone receptor and cytochrome P450 enzymes in rat ovarian follicles. *Biol Reprod* 2000; 63: 1747–55.
162. Sar M, Welsch F. Differential expression of estrogen receptor-b and estrogen receptors in the rat ovary. *Endocrinology* 1999; 140: 963–71.
163. Jefferson WN, Couse JF, Banks EP, Korach KS, Newbold RR. Expression of estrogen receptor beta is developmentally regulated in reproductive tissues of male and female mice. *Biol Reprod* 2000; 62: 310–7.
164. Rosenfeld CS, Murray AA, Simmer G, Hufford MG, Smith MF, Spears N, et al. Gonadotropin induction of ovulation and corpus luteum formation in young estrogen receptor-a knockout mice. *Biol Reprod* 2000; 62: 599–605.
165. Fitzpatrick SL, Funkhouser JM, Sindoni DM, Stevis PE, Deecher DC, Bapat AR, et al. Expression of estrogen receptor-b protein in rodent ovary. *Endocrinology* 1999; 140: 2581–91.

ŞEKİLLER LİSTESİ

	Sayfa No
Şekil 1. Hipotalamo-hipofizer-tiroid aks.....	8
Şekil 2. Folikül gelişimi.....	12
Şekil 3. Ovaryum ve uterus anatomisi.....	19
Şekil 4. Menstrüel siklustaki hormonal, over folikülü ve endometriyal değişiklikler.....	21
Şekil 5. Deney öncesi ve deney sonrası gruplara göre ortalama ağırlık değerleri.....	31
Şekil 6. Deney ve kontrol grubunun TSH değerleri.....	32
Şekil 7. Deney ve kontrol grubunun serbest T ₄ değerleri.....	32
Şekil 8. Proöstrus grubuna ait smear görüntüsü.....	33
Şekil 9. Östrus grubuna ait smear görüntüsü.....	33
Şekil 10. Metöstrus grubuna ait smear görüntüsü.....	34
Şekil 11. Diöstrus grubuna ait smear görüntüsü.....	34
Şekil 12. Östrojen hormonunun deney ve kontrol grupları siklus evrelerine göre ortalama dağılımları (hormon miktarı pg/ml-menstural siklus evreleri).....	35
Şekil 13. Progesteron hormonunun deney ve kontrol grupları siklus evrelerine göre ortalama dağılımları (hormon miktarı ng/ml-menstural siklus evreleri).....	35
Şekil 14. Kontrol grubu tirod bezi H&E boyama 400X.....	36

Şekil 15. Deneş grubu tirod bezi H&E boyama 400X.....	37
Şekil 16. Uterus bez epiteli hücrelerinde siklus evrelerine göre östrojen reseptör yüzdeleri.....	38
Şekil 17. Proöstrus hipertiroidili grup, uterus dokusunda ER α immünohistokimyasal boyama 400X.....	38
Şekil 18. Östrus kontrol grubunda, uterus dokusunda ER α immünohistokimyasal boyama 400X.....	39
Şekil 19. Uterus stroma hücreleri siklus evrelerine göre östrojen reseptör yüzdeleri.....	39
Şekil 20. Metöstrus hipertiroidili grupta, Uterus dokusunda ER α immünohistokimyasal boyama 200X.....	40
Şekil 21. Diösturs hipertiroidili grupta, uterus dokusunda ER α immünohistokimyasal boyama 400X.....	40
Şekil 22. Östrus kontrol grupta, ovaryum dokusunda ER α immünohistokimyasal boyama 400X.....	41
Şekil 23. Östrus hipertiroidili grupta, ovaryum dokusunda ER α immünohistokimyasal boyama 400X.....	41
Şekil 24. Ovaryum korpus luteumda menstrual siklus evrelerine göre östrojen reseptör yüzdeleri.....	42
Şekil 25. Proöstrus kontrol grupta, ovaryum dokusunda ER α immünohistokimyasal boyama 400X.....	42
Şekil 26. Ovaryum germinal epitel hücrelerinde menstrual siklus evrelerine göre östrojen reseptör yüzdeleri.....	43
Şekil 27. Ovaryum Granüloza Hücrelerinde menstrual siklus evrelerine göre östrojen reseptör yüzdeleri.....	43

Şekil 28. Ovaryum teka tabakası hücrelerinde menstural siklus evrelerine göre östrojen reseptör yüzdeleri.....	44
Şekil 29. Metöstrus hipertiroidili grupta, ovaryum dokusunda ER α immünohistokimyasal boyama 200X.....	44
Şekil 30. Diöstrus kontrol grupta, ovaryum dokusunda ER α immünohistokimyasal boyama 400X.....	45
Şekil 31. Diöstrus hipertiroidili grupta, ovaryum dokusunda ER α immünohistokimyasal boyama 400X.....	45
Şekil 32. Uterus bez epitel hücrelerinde, siklus evrelerine göre progesteron reseptör yüzdeleri.....	46
Şekil 33. Proöstrus kontrol grubunda, uterus dokusunda PR immünohistokimyasal boyama 400X.....	46
Şekil 34. Östrus kontrol grubunda, uterus dokusunda PR immünohistokimyasal boyama 400X.....	47
Şekil 35. Metöstrus hipertiroidili grubunda, uterus dokusunda PR immünohistokimyasal boyama 400X.....	47
Şekil 36. Uterus stroma hücreleri, siklus evrelerine göre progesteron reseptör yüzdeleri.....	48
Şekil 37. Diöstrus kontrol grubunda, uterus dokusunda PR immünohistokimyasal boyama 400X.....	48
Şekil 38. Ovaryum germinal epitel hücreleri, siklus evrelerine göre progesteron reseptör yüzdeleri.....	49
Şekil 39. Proöstrus kontrol grubunda, ovaryum dokusunda PR immünohistokimyasal boyama 400X.....	49

Şekil 40. Östrus kontrol grubunda, ovaryum dokusunda PR immünohistokimyasal boyama 400X.....	50
Şekil 41. Metöstrus hipertiroidili grupta, ovaryum dokusunda PR immünohistokimyasal boyama 400X.....	50

Tablolar

Tablo 1. Vajinal smeardeki hücre morfolojisi ile östrus siklus safhalarının sınıflandırılması.....	25
Tablo 2. Ovaryuma dair siklus evrelerine göre, korpus luteum, granüloza hücreleri ve PR semikantitatif değerlendirme.....	51

ÖZGEÇMİŞ

1981 yılında İzmir/Bergama'da doğdum. Ortaöğretimimi İzmir Yenişehir Sağlık Meslek Lisesi'nde tamamladıktan sonra Laboratuvar Teknisyeni olarak 2001 yılında Sağlık Bakanlığı'nda çalışmaya başladım. 2004 yılında İstanbul Üniversitesi Tıbbi Laboratuvar bölümünü bitirdikten sonra dikey geçişle Trakya Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji bölümünü 2009 yılında bitirerek Biyolog olarak görevime devam ettim. 2004-2008 yılları arasında yine Anadolu Üniversitesi İşletme Fakültesi İşletme Bölümünü bitirdim. 2009 ağustos-2010 ocak ayları arasında askerlik hizmetini yerine getirdim. 2010-2011 yılları arasında tezsiz yüksek lisansla Trakya Üniversitesi'nden Pedagojik Formasyon Serifikası aldım. 2011 yılında Trakya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı'nda yüksek lisans eğitimime başladım. Halen aynı Anabilim Dalı'nda yüksek lisans eğitimime devam etmekteyim. Aynı zamanda Edirne Devlet Hastanesi Biyokimya Laboratuvarı'nda Biyolog olarak görev yapmaktayım.

EKLER

T.C.
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU KARARLARI

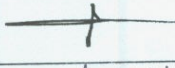
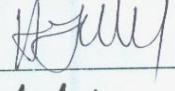

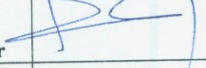

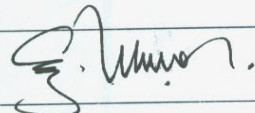
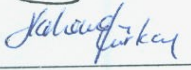
EDİRNE

Oturum Sayısı: 04

Karar Tarihi: 30.05.2012

KARAR NO: 2012.04.02

Yürütücülüğünü Tıp Fakültesi öğretim üyesi Doç. Dr. Turan KARACA'nın yaptığı Yüksek Lisans Öğr. Bio.Halil BOZOĞLU'nun tezi olarak planlanan TÜHDYEK-2012/043 protokol nolu "Deneysel Hipertiroidi Oluşturulmuş Sıçanlarda Östrus Siklusunun Değişik Evrelerinde Dişi Genital Organlarda (Ovaryum ve Uterus) Östrojen ve Progesteron Reseptör Dağılımının İmmünohistokimyasal Olarak İncelenmesi" başlıklı çalışma hakkında görüşüldü; araştırmanın amaç, yaklaşım, gereç ve yöntemler dikkate alınarak incelenmesi sonucunda: Hayvan Hakları Evrensel Bildirgesi ve etik kurallara uygun olarak hazırlanmış ve çalışmanın yapılabileceğine mevcudun oy birliği ile karar verilmiştir.

Ünvanı/Adı/Soyadı	Araştırma ile İlişki	Toplantı Katılımı	İmza
Yrd.Doç.Dr. Burhan AKSU Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi	<input type="checkbox"/> var <input type="checkbox"/> yok	<input type="checkbox"/> evet <input type="checkbox"/> hayır	
Yrd.Doç. Dr. Hayati ARDA Fen-Edebiyat Fakültesi Öğretim Üyesi	<input type="checkbox"/> var <input type="checkbox"/> yok	<input type="checkbox"/> evet <input type="checkbox"/> hayır	
Vet.Hek. Ziya ÇUKUR Veteriner Hekim	<input type="checkbox"/> var <input type="checkbox"/> yok	<input type="checkbox"/> evet <input type="checkbox"/> hayır	
Hüseyin KOÇ Sivil Toplum Örgütü Üyesi Sivil Üye	<input type="checkbox"/> var <input type="checkbox"/> yok	<input type="checkbox"/> evet <input type="checkbox"/> hayır	
Yrd.Doç.Dr. Beytullah ÖZKAN Fen-Edebiyat Fakültesi Öğretim Üyesi	<input type="checkbox"/> var <input checked="" type="checkbox"/> yok	<input checked="" type="checkbox"/> evet <input type="checkbox"/> hayır	
Yrd.Doç.Dr. Y. Atakan SEZER Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi	<input type="checkbox"/> var <input type="checkbox"/> yok	<input type="checkbox"/> evet <input type="checkbox"/> hayır	
Doç. Dr. Enis ULUÇAM Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi	<input type="checkbox"/> var <input checked="" type="checkbox"/> yok	<input checked="" type="checkbox"/> evet <input type="checkbox"/> hayır	
Yrd.Doç.Dr.Hakan GÜRKAN Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi	<input type="checkbox"/> var <input checked="" type="checkbox"/> yok	<input checked="" type="checkbox"/> evet <input type="checkbox"/> hayır	
Osman GÜLTEKİN Sivil Üye	<input type="checkbox"/> var <input checked="" type="checkbox"/> yok	<input checked="" type="checkbox"/> evet <input type="checkbox"/> hayır	