

KOBAY OVARYUMUNUN DOĞUMDAN ERGİN DEVREYE KADARKİ MORFOLOJİK GELİŞİMİ

Şermin KALAYCI (x)

ÖZET

Kobaylarda ovaryumun gelişimi ışık mikroskobu seviyesinde incelendi. Bu arada oluşan dinamik değişikliklerin tanımı yapılmaya çalışıldı ve değişik yaşlarda germ hücresi, follikülü hücreleri stro- madaki gelişimsel değişiklikler tarif edilerek tartışıldı.

bir gelişim, farklılaşma ve degenerasyon olayları oluşur.

Normal ve deneysel koşullarda ovaryum ve follikül gelişimi ile ilgili sonuçların kıyaslanmasında standart nomenklatür çok büyük bir kolaylık sağlar. Ovaryumda oluşan dinamik değişiklikleri tartışmadan önce, yardımcı olacak bazı terim ve sınıflamayı vermek yerinde olacaktır.

Oosit ve Folliküllerin Sınıflandırılması

Oosit ve follikül gelişiminin devrelerini tanımlamada pek çok sınıflama yapılmıştır. Bazı araştırmacılar granüloza hücrelerinin şeklini ve oosit çevresindeki hücrelerin tabaka sayısını esas olarak almışlardır(1).

Bazıları follikül hacmini veya en büyük çapını kriter olarak tutmuşlardır. Bir kısmında follikül çapı ile birlikte, granüloza hücrelerinin tabaka sayısını ana kriter olarak kabul etmiştir(2).

1- Giriş :

Ovaryumun gelişmesini etkileyen değişik hormonal, kimyasal ve fiziksel faktörleri araştırma amacıyla, bu çalışmalara basamak teşkil edecek normal gelişimdeki morfolojik kriterleri saptamak gayesiyle takdim edilen ön çalışma yapılmıştır. Eldeki taranan literatürlerde fare, sıçan ve tavşan ovaryumlarının gelişimleri üzerine çok sayıda makaleye rastlanmış ise de, kobaya ait çalışmanın bulunmaması ve kobayın teminindeki kolaylık, histolojik çalışmalarda çok iyi sonuç vermesi göz önüne alınarak materyel olarak kobayın seçimi uygun görülmüştür.

Doğum ve erginlik devresi arasındaki zamanda ovaryum uniform basit bir organdan, multiform çok yüksek farklılaşmış olana değişir. Yine gençlik ve ergin devreler arasında sabit bir organ halinde kalmaz, aksine belirli

(x) Dr. Histoloji ve Embriyoloji Doçenti-Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji-Embriyoloji Bölümü Öğretim Üyesi.

Yapılan çalışmada Pedersen ve Peters'in (3) sınıflaması uygulanmıştır. Burada sınıflamanın dayandığı hususlar şunlardır :

1. Farklı gelişim devrelerindeki folliküller içindeki oositlerin hacmi
2. Granüloza hücrelerinin sayısı
3. Follikülün morfolojisi

A- Oosit

Oositler üçe ayrılır.

a) Küçük oosit, çapı 20 mikron dan küçük

b) Gelişen oosit, hücre büyüme halindedir fakat henüz nihai çapa ulaşmamıştır (Çapı 20-27 mikron arası).

b) Büyük oosit çapı 80 mikron.

B- Folliküller :

Folliküllerdeki hücre sayısı en büyük enine kesitte sayılır ve morfolojisinde dikkate alınarak küçük, orta ve büyük follikül olarak ayrılan folliküllerde 8 alt gruba ayrılmaktadır.

a) Küçük folliküller :

Tip 1- Küçük bir oositten ibaret, follikül hücresi yok.

Tip 2- Çevresinde az sayıda follikül hücresi olan küçük bir oositten oluşur.

Tip 3a- Follikül hücreleri oosit çevresinde tam bir kuşatma yapmıştır, enine kesitte yirmi hücreden fazla olmayan granüloza hücresi vardır.

b) Orta ve Büyük folliküller :

Tip 3b) Gelişen oosit 20-60 granüloza hücresi ile tam bir halka şeklinde çevrilmiş.

Tip 4- Gelişen oosit iki sıralı, en büyük enine kesitte 61-100 hücreden ibaret granüloza hücreleri ile kuşatılmıştır.

Tip 5a) Orta ve büyük follikül arası geçiş devresi. Oosit büyümekte olan veya büyük tip olabilir. 3 sıralı granüloza hücresi ile kuşatılmıştır.

Hücre sayısı 100-200 arası değişir.

c) Büyük folliküller :

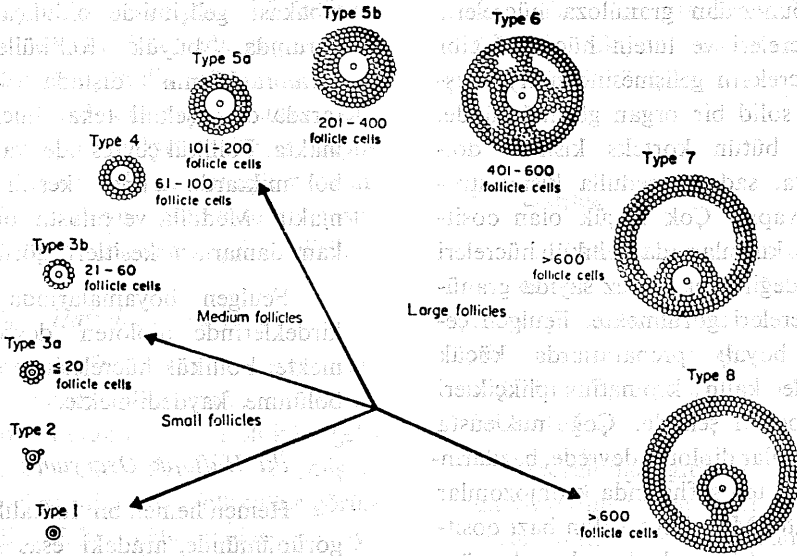
Tip 5b) Tam gelişmiş oosit, pek çok tabakalı follikül hücreleri ile çevrelenmiştir.

Follikül sıvısı yoktur. Hücre sayısı en büyük enine kesitte 201-400 arası değişmektedir.

Tip 6) Follikül hücreleri ufak sıvasahaları ile yer yer birbirinden ayrılmıştır. 401-600 hücreli.

Tip 7) Follikülde follikül sıvısı ile dolu tek bir kavite vardır, hücre sayısı 600'den fazla olarak -en büyük enine kesitte sayılır.

Tip 8) Tek bir follikül kavitesi bulunan follikülde iyi gelişmiş cumulus görülür. Bu follikül preovulatuvar follikülü temsil eder.



TEXT-FIG. 1. Classification of follicles.

Şekil 1; Folliküllerin sınıflandırılması

3- Materyel ve Metod :

Yeni doğmuş ve iki yaş arasındaki dişi kobaylardan yirmi tanesi çalışmada kullanıldı. Değişik yaşlardaki kobaylar eter anestezi altında bayılarak batin açıldı, overler mümkün olduğu kadar çabuk çıkarılarak, over çevresindeki tuba uterinalar temizlendikten sonra, her iki overde ayrı ayrı tartıldı (Tablo I). Formol tespitine alınarak parafin bloklar yapıldı. Overlerden birtanesine overin en geniş yüzeyi elde edilene kadar 5-6 mikronluk seri kesitler yapıldı, Hematoksilen-eozinle boyandı, diğer overe ise Feulgen ve Van-Gieson özel boyaları Mc Manus ve Mowry'e göre uygulandı.

Her yaş grubu için yarım over seri kesitinde folliküller Petersen'in sınıflaması esas alınarak sayıldı. Sayım

için mikroskopik ekler bulunmadığından şöyle bir yol uygulandı. Her kesitin sayımı yapılmadan önce küçük büyütme ile şematik resimleri çizildi, daha sonra büyük büyütme ile hücreleri sayılarak morfolojileride göz önüne alınarak, her bir follikül için bulunan sonuçlar, başta yapılan şema üzerine kaydedildi. Sayımlar follikülün en büyük enine kesitinde, yani oosit çekirdeğinin görüldüğü folliküllerde yapıldı.

Oosit çapı olanakların yetersizliğinden ölçülemedi.

4- Bulgular :

Yeni doğanda Ovaryum :

Yüzeyde tek katlı kübik epitel germinativum organı tamamen kuşatmakta. Ovaryum tamamiyle germ hü-

releri ve multipotansiyel stroma hücrelerinin (multipotansiyal denilmesinin sebebi bunlardan granüloza hücreleri, teka hücreleri ve lutein hücreleri gibi diğer hücrelerin gelişmesindedir) oluşturduğu solid bir organ görünümünde. Oositler bütün korteks kısmını doldurmakta, sadece medulla kısmı stromadan yapılı. Çok küçük olan oositlerin dış kısımlarında follikül hücreleri mevcut değil. Yer yer az sayıda granüloza hücreleri görülmekte. Feulgen çekerdek boyalı preparatlarda küçük oositlerde kalın kromatin iplikçikleri yer yer belirli şekilde. Çoğu nukleusta kromozomlar diploten devrede, bazılarında ise pakiten safhasında kromozomlar seçilmekte. Medullaya yakın bazı oositler diğer satıhta olanlara kıyasla göze batar büyüklükte, kan damarları belirli değil. Teka kılıfı, follikül hücreleri, sıvı, hormon gibi faktörler bulunmamakta.

Bir Haftalık Ovaryum :

Organ sadece tümüyle büyümemiş, yanısıra morfolojik bazı değişiklikler dikkati çekmekte. Ovaryum dıştan tek sıra kübik epitel ile kuşatılmış ve organ solid vasfını muhafaza etmekte. Korteksin en dış kısmında sadece küçük oositler bulunmakta, bütün oositler follikül hücreleri ile kuşatılmış durumda. Küçük oositlerden başka, diğer oositlerde büyüme ve follikül gelişimi başlamış çoğunluğu unilaminar folliküller (tek sıra yassı follikül hücreleri ile çevrelenmiş olanlar) teşkil etmekle beraber, folliküllerde tip 4'den ileri bir gelişme görülmemekte. Zona pelliculada gelişmiş folliküllerde belirli. Fakat aynı çapta olan folliküllerde aynı derecede gelişmiş durumda değil, hatta farklı iki ovaryumda da aynı gelişimi göster-

memekte. Bazal membran bütün folliküllerde çok iyi seçilmekte. Teka tabakası gelişimi de oldukça ilerlemiş durumda, büyük follikülleri bazal membranlarının dışında konsantrik tarzda disk şekilli teka hücreleri sarmakta. Follikül çevresinde kapiller tipte bol miktarda damar kesitine rastlanmakta. Medulla ve hilusta büyük tipte kan damarları kesitleri görülmekte.

Feulgen boyamalarında oosit çekirdeklerinde diploten devresi görülmekte. Follikül hücrelerinde de mitotik bölünme kaydedilmekte.

İki Haftalık Ovaryum :

Hemen hemen bir haftalık ovaryum görünümünde, aradaki esas fark daha fazla sayıda follikül gelişiminin mevcut oluşu. Gelişen folliküllerden en ileri devrede olanı tip 5 b karakterindedir. Fakat tip 5 ve tip 4 özelliğinde olanlar daha fazla sayıdadır (Tablo II). Teka gelişimi daha ilerlemiş. Özellikle tip 4 ve 5 özelliğindeki folliküllerde iyi gelişmiş teka hücreleri, bazı sahalarda 7-8 sıra halinde bazal membranı kuşatmakta. Teka hücreleri arasında çok sayıda ince duvarlı kapillerle seçilmekte. Damar gelişimi bu devrede çok ilerlemiş şekilde dikkati çekmekte. Büyük dallanmalar gösteren damarlar yanısıra stromada pek çok sayıda kapiller bulunmakta.

Üç Haftalık Ovaryum

Korteksin dış kısmı tamamen küçük folliküller ile doldurulmuş (tip 2-3a 3b şeklinde). Dışta bulunan epitelyum germinativum yine tek katlı kübik epitel niteliğini taşımakta. Korteksin derin kısımlarında ise değişik gelişim devrelerinde folliküller yer almış. Burada en ileri gelişim gösteren foli-

küller tip 6 karakterinde. Teka hücreleri bu bölgedeki folliküller çevresinde iyi gelişmiş. Bazal membran bütün folliküllerde belirgin. Stromada bağ dokusu az. Özellikle medulla bölgesinde orta kısımda büyük damarlar mevcut. Bütün stromaya yayılmış bulunan kapillerlerin sayısında ikinci haftaya nazaran daha fazla. Büyük folliküllerde oositlerdeki zona pellucida çok belirli.

Dört Haftalık Ovaryum :

Periferik folliküller sırt sırta vermiş görünümde, aralarında stroma az miktarda bulunmakta. Follikül gelişimi daha ileri duruma erişmiştir. Tip 6-7-8 özelliğindeki folliküller görülmektedir. Fakat hâla ovulasyon veya Corpus Luteum teşekkülü yoktur. Kapiller sayısında daha fazlalaşmış durumdadır. Kobay olgunluğa yaklaştıkça değişiklikler daha yavaşlaşmış olarak yer almaktadır.

Beş Haftalık Ovaryum :

Yüzeyde bulunan epitel tek katlı kübik nitelikte. Epitel altında fibröz bağ dokusu kesifleşmesi sonucu T. Albuginea teşekkül etmiş. Seri kesitlerde ovulasyona giden 18 follikül görüldü. Ayrıca Corpus Luteum ve Corpus Hemorajikuma rastlandı. Degeneratif follikül sayısında daha önceki devrelere kıyasla daha fazla idi.

Beş aylıktan iki yaşına kadar değişik devrelerdeki Ovaryum

Erginlik devresindeki bütün ovaryumlardaki değişik devrelerdeki folliküllerde, çok sayıda dikkati çeken atrezilerde beş haftalık ovaryumdan morfolojik bakımdan fark olmadığı görüldü. Epitel germinativum 2.ci yaş-

ta yer yer kübik, yer yer yassılaştırmış karakterde. Stromanın yaş ilerledikçe daha fazla yer işgal etmekte olduğu dikkati çekiyor. Degenerasyona ait çok değişik görünüm her yaşta bulunmakta.

5. Tartışma

Doğumdan ergin devreye kadarki sürede yer alan morfolojik değişikliklerin ışık mikroskobu seviyesinde kısa bir tanımlı yapılmaya çalışılmış ve follikül gelişimi kantitatif olarak değerlendirilmiştir.

Görüldüğü gibi kobayda doğumda ovaryum iyi gelişmemiştir. Görülen germ hücreleri oositlerdir. Oositler oogoniumdan türerler ve mitotik yeteneğini kaybeden oogonium oosit adını almaktadır. Oositlerde ise meiotik tarzda bölünme görülür. Meiotik profaz ovulasyondan biraz öncesine kadar muhafaza edilir.

Teplitz ve Ohno tavşanlarda yaptıkları çalışmalarda oogenezin doğumdan sonra tamamlandığı yegâne memeli türü olarak tavşanı tanımlamışlardır(5), Peters ve Corone(6) hams terlerde de benzer durumu gözlemişlerdir. Kobaylarda yeni doğan ovaryumunun tetkiki, bunlarında genel bütün memelilerdeki değişimi gösterdiğini, yani oogenezin doğumda tamamlandığını ortaya koymaktadır. Genel olarak kısa gebelik geçiren küçük hayvanlarda embrionik devrede meydana gelen primer folliküllerin çoğunda, oositler 1.meiosisun profazı safhasına girmektedir. Gebeliği uzun süren memelilerde, örneğin 9 ay süren insan ve sığırdaki fetal ovaryumda 1. meiotik profaz 2-8,5 ay arası olur (7).

Kobayda, yeni doğan ovaryumlarında çoğu oositler çıplak görünümde iken, unilaminardan multilaminar folliküle geçiş birinci haftada başlamaktadır. Tablo II nin incelenmesinden anlaşılacağı gibi folliküllerin çoğu, daha genç devrelerde, ileri devrelerden daha hızlı bir gelişime uğramaktadır. Petersen'in (8) farelerde yaptığı çalışmalarda follikül gelişiminin erken devrelerde genç devrelerden daha çabuk oluşu sonucunu kobaydaki ovaryumda görmektedir. Sıçanlardaki elde edilen kantitatif bulgularla kobaydaki folliküllerin kantitatif sonuçlarının kıyaslanması kobayda gelişimin daha hızlı olduğunu ortaya koymaktadır. Hamsterlerle de kıyaslama da da benzer sonuç ortaya çıkmaktadır, bunlarda ancak ikinci haftada multilaminar folliküller görülebilmektedir (9).

Bulgularla belirtildiği gibi Corpus Luteum en erken beşinci haftada görülmektedir. Corpus Luteum sayısı bundan ileriki devrelerde artmaktadır. Doğumda immatür olmasına rağmen kobay seksüel olgunluğa beşinci haftada erişmektedir. Bu zaman sıçanlarda 40-70 gün, farede 40-60 gün, tavşanda 4-7 ay, hamsterde bir aydır(9). Kıyaslamada kobayda bu sürenin kısa olduğu dikkati çekmektedir.

Zona pellucida bir haftalık kobay ovaryumunda ancak gelişim gösteren folliküllerde görülmektedir. Literatürel bilgiye göre, zona pellucida gelişimi farede 2-3 günlük iken başlamaktadır. Hamsterde puperte öncesine kadar, sıçanda ise perepupertal ve ergin devrede olağan değildir(12, 13, 14).

Atreziye hemen bütün devrelerde rastlanmıştır. Çekirdek kromatininin

kondansasyonu, sitoplazmada kümelenme veya bükülme ile karakterizedir. Bazı sahalarda rastlanan şüpheli koyu nüveli germ hücreleri atrezi başlangıcını temsil edebilir. Strömanın yaşla paralel olarak gittikçe artması, başlıca degenere folliküllere bağlıdır.

Bütün folliküllerdeki bazal membranın belirgin şekli farelerde yapılan araştırmalarda da dikkat çekmiştir (10,11).

Doğumdan itibaren epitel germinativum ovaryum sathını tamamen kuşatmış olarak seçilmiştir. Tunica albuginea iyi gelişmiş şekilde ancak beşinci haftada görülmektedir. Farelerde ise doğumdan sonraki ilk günde inkomplet tunica albugineanın var olduğu yazılmıştır(11).

Kobaylarda yaşla ilgili ovaryumlardaki morfolojik gelişim esnasında ağırlığında da artma olmaktadır (Tablo 1). Arada rastlanan 5-6-13 nolu kobaylarda görülen farklar, kobay ağırlığı ile ilgili olabileceği gibi, ayrıca küçük yaşta overlerden tubalar ne kadar dikkatle ayrılırsa ayrılсын tam bir temizleme mümkün olmadığından, ağırlıkta hatalı sonuca sebebiyet vermesinden ileri gelebilir.

Değişik yaşlarda overlerin ağırlığı ileride yapmayı planladığımız çalışmalarda önemli olabileceği düşüncesiyle dikkate alınmıştır.

Kobaylarda doğum ve ergin devre arası periotta ovaryumların sabit olmayıp, devamlı ve çabuk bir değişime uğradığı görülmektedir.

Tablo I: Kobay Ağırlık yaş ve ovaryum ağırlıklarını gösteren tablo

No:	Kobay Ağırlığı	Yaşı	Ovaryum Ağırlığı
1	52 gr.	Yeni doğmuş	4.7 mgr.
2	101 gr.	7 günlük	8 mgr.
3	114 gr.	7 günlük	7 mgr.
4	138 gr.	14 günlük	11 mgr.
5	140 gr.	21 günlük	14 mgr.
6	140 gr.	21 günlük	14 mgr.
7	150 gr.	28 günlük	11 mgr.
8	220 gr.	28 günlük	12 mgr.
9	400 gr.	35 günlük	12 mgr.
10	168 gr.	35 günlük	17 mgr.
11	426 gr.	5 ay	95 mgr.
12	643 gr.	6 ay	93 mgr.
13	483 gr.	6 ay	80 mgr.
14	742 gr.	7 ay	78 mgr.
15	590 gr.	8 ay	80 mgr.
16	561 gr.	9 ay	64 mgr.
17	714 gr.	10 ay	72 mgr.
18	734 gr.	11 ay	57 mgr.
19	800 gr.	12 ay	80 mgr.
20	616 gr.	24 ay	100 mgr.

Tablo II: Değişik Yaşlardaki Ovaryum Yarım Seri Kesitinde Sayılan Folliküllerin Tiplere Göre Dağılımı

Tipler	2	3a	3b	4a	5a	5b	6	7	8
Bir haftalık	215	94	7	9			4		
İki haftalık	201	97	19	27			5		
Üç haftalık	155	104	32	19	2	—	4		
Dört haftalık	102	107	60	28	8	29	9	14	2
Beş haftalık	128	95	132	54	19	7	36	17	18

6. Summary

OVARIAN DEVELOPMENT IN THE GUINEA - PIG BETWEEN BIRTH AND MATURITY

In Guinea-pigs, the development of the ovary have been studied by light microscopy. The morphology of the ovary changes considerably between the day of birth and maturity. Developmental changes in germ cells, follicle cells and stroma were described and discussed.

KAYNAKLAR

1- Hadek R. The structure of mammalian egg. *Int. Rev. Cytol.* 18, 29, 1965.

2- Ingram, D.L. The Effect of oestrogen on the atresia of ovarian follicles. *J. Endoc.* 19, 123, 1959.

3- Torben Petersen and Hannah Peters (1968) Proposal for a classification of oocytes and follicles in the mouse ovary. *J. Reprod. Fert.* 17, 555-57.

4- Mc Manus and Mowry (1960): *Staining Methods Histologic and Histochemical.*

5- Teplitz, K and Ohno, S (1963) Postnatal induction of oogenesis in the rabbit *Exp. Cell Res.* 31, 183-189.

6- Peters H. Levy E. and Crone (1965) Oogenesis in rabbits. *J. Exp. Zool* 158, 169-179.

7- S. Ohno and J.B. Smith (1964) Role of Fetal Follicular Cells in Meiosis of mammalian Oocytes. *Cytogenetic* 3: 324-333.

8- Torben Pedersen (1969) Follicle growth in the immature mouse ovary *Acta Endocrinologica* 62, 117-132.

9- Brenda S. Weakley (1967) Light and Electron microscopy of developing germ cells and follicle cells in the ovary of the golden hamster *J. Anat.* 101, 3, 435-459.

10- Horacio Marchand and Luciano Zamboni (1972) Presence of connections between follicles in juvenile mouse ovary *Am. J. of Anat* may vol: 134 N:1.

11- D. Louise Odor and Richard J. Blandau (1969) Ultrastructural Studies of fetal and Early Postnatal mouse ovaries. *Am. J. Anat.* 125:177-216

12- Odor, D.L. (1960) Electron microscopic studies on ovarian oocytes and unfertilized tubal ova in the rat. *J. Biophysic. Biochem. Cytol.* 7:567-574.

13- Odor, D.L. (1965) The Ultra structure of unilaminar follicles of the hamster ovary. *Am. J. Anat.* 116: 493-522.