

MMATÜR DİŞİ KOBAYLARDA İNSAN CHORIONIC GONADOTROPİN'İNİN (HCG) OVARYUM GELİŞMESİNE ETKİSİ

(x) Doç. Dr. Şermin KALAYCI

Ö Z E T

Yeni doğmuş kobaylara HCG enjeksiyonu yapılarak, enjeksiyondan 1,2,3,4,5 haftalar sonra ovaryumunda oluşan değişiklikler incelendi. Folliküler gelişim kantitatif olarak değerlendirildi. Bulgular normal gelişmekte olan ovaryumlarla kıyaslandığında, HCG'nin kobay overlerinde stromal gelişimi hızlandırdığı, fakat follikül maturasyonuna etki yapmadığı, ovulasyonu daha önce oluşturduğu, Corpus Luteum ve ve atretik folliküllerin belirli yaşlarda sayısını arttırdığı, ve ovaryum ağırlıklarında normale kıyasla artma meydana getirdiği saptandı. Gelişen folliküller ise normallere nazaran daha büyük çapta idi. HCG verilen kobaylarda steroid sentezi ile paralel ilişkisi olan, alkalin fosfataz aktivitesinin fazlaşmış oluşu, HCG'nin steroid sentezini arttırıcı etkisine bir kanıt olarak görüldü.

2. GİRİŞ :

Normal ovaryumun gelişimiyle ilişkin morfolojik kriterler ve kantitatif veriler, daha önce yapılan ön çalışmada ortaya konmuştu (1). Bu çalışmada, bir glikoprotein luteotropik hormon olan HCG'nin kobaylarda post-natal devredeki ovaryum gelişimine etkileri, kantitatif ve histokimyasal yolla incelenmiştir.

3. MATERYEL VE METOD :

Jones ve Krohn(2) hayvanlarda oosit sayısının ırka bağlı olarak değişiklikler gösterdiğini belirttiklerinden, ça-

lışmada da kantitatif bir yol uygulandığından, HCG'nin immatür ovaryum üzerine etkisini araştırmak amacıyla daha önceki(1) çalışmada kullanılan türden kobaylar seçilmiştir. Hormonal etkinin placenta bariyeri sebebiyle değişiklik gösterebileceği düşüncesiyle, HCG enjeksiyonu doğumdan önce anne kobaya yapılmamıştır. Gebe kobaylar ayrı kafeslerde saklanarak, beslenmesine özen gösterilmiştir. Yeni doğan kobaylarda 3-4 günlükten önce dış genital organlarına bakılarak erkek-dişi ayrımı yapılamadı. Bu nedenle, doğumdan bir gün sonra hormon verilen kobaylardan bir kısmı sonradan erkek

olarak saptandığından bunlardan materyel olarak yararlanılamamıştır.

Kobayın arka bacak adalesi içine, Pregyl (Organon) preparatından yarım ampul, yani 250 U. Ü. hormon verildi. Enjeksiyon yapılan kobayların ayakları numaralanarak, annesinin bulunduğu kafese konuldu. Kullanılan hormon dozu çok yüksek olduğundan oluşacak değişiklikler abartılmak istenmiştir. Enjeksiondan 1,2,3,4,5. haftalar sonra kobaylar bayıltılarak, overleri

çıkarıldı. Kobay ve over ağırlıkları kaydedildi (Tablo: 1). Ovaryumlardan hazırlanan parafin bloklara yarım seri kesit yapıldı, kesitler H. Eosin ile boyandı. Folliküller Petersen'e göre(1) klasifie edilerek sayıldı. Ayrıca her kobayın diğer ovaryumuna HCG'nin steroid aktivitesine olan etkisini göstermek amacıyla alkalen fosfataz enzimi demonstrasyonu için Gomori'nin Kobalt sülfid metodu uygulandı. (3). Kontrol olarak ta normal gelişen kobay ovaryumlarına aynı işlem yapıldı.

TABLO: I

HCG enjeksionu yapılan kobaylarda beden ve over yağırılıkları :

No :	Yaş :	Beden ağırlığı :	Tek over ağırlığı
		gr.	gr.
1	1 hafta	140	10
2	1 hafta	137	10
3	2 hafta	136	10
4	2 haftca	211	20
5	2 hafta	200	18
6	3 hafta	162	20
7	3 hafta	170	18
8	4 hafta	293	30
9	4 hafta	114	12
10	5 hafta	172	25
11	5 hafta	170	24
12	5 hafta	250	17

4. BULGULAR :

Hemotoksilen-Eosin preparasyonları :

1 haftalık Kobay ovaryumu :

Ovaryumu en dışta tek katlı kübik epitel çevrelemekte, ve belirli bir tunica albuginea seçilememektedir. Kortikal kısımda, yalnızca primer ve sekonder folliküller bulunmakta, bütün oositlerin çevresinde follikül epiteli yer al-

maktadır. Korteksin derin kısımlarında değişik gelişim devrelerinde, gelişen folliküller mevcuttur. Folliküllerden en ileri gelişim döneminde olanı Tip 4 şeklinde olup (Tablo II) Z. Pellucida ve bazal membranlar belirlidir.

2 Haftalık Kobay Ovaryumu :

Epitel germinativumun altında bulunan T. Albuginea oldukça gelişmiş olarak dikkati çekmekte ve folliküllere

ait bazal membranlar bir haftalıktakinden daha belirgin görünümündedir. Stromal kapillerlerin pek çoğu hiperemik (Resim 1). en gelişkin folliküller tip 5 ve daha az sayıda tip 6 karakteristi-

ğinde. Tip 6 da folikül epitel hücreleri küçük sıvı alanlarını ile birbirinden ayrılmış görünümündedir. Gelişmiş folliküllerde Teka tabakası kalınlaşmış, hipertrofik durumda.

TABLO 2- Normal ve HCG verilen koblarda follikül gelişiminin tiplere göre dağılımı

Tipler	I Hafta		II Hafta		III Hafta		VI Hafta		V Hafta	
	Normal	HCG	Normal	HCG	Normal	HCG	Normal	HCG	Normal	HCG
2 a	215	207	201	224	155	184	102	104	128	86
3 a	94	86	97	19	104	92	107	8	95	21
3 b	7	17	19	46	32	42	60	12	132	18
4	9	15	27	31	19	44	28	28	54	19
5 a	—	—	0	14	2	84	8	41	19	14
5 b	—	—	0	14	0	3	29	34	7	12
6	—	—	0	8	4	12	9	7	36	19
7	—	—	—	—	—	57	14	14	17	17
8	—	—	—	—	—	—	2	12	18	19

Ortalama: $\bar{X}_i = 81.25$ $\bar{X}_i = 81.24$ $\bar{X}_i = 69.0$ $\bar{X}_i = 44.5$ $\bar{X}_i = 45.0$ $\bar{X}_i = 57.6$ $\bar{X}_i = 35.9$ $\bar{X}_i = 26.0$ $\bar{X}_i = 50.6$ $\bar{X}_i = 22.5$
 st. sapma: $SD \mp 97$ $SD \mp 90$ $SD \mp 82$ $SD \mp 74$ $SD \mp 60$ $SD \mp 57$ $SD \mp 39$ $SD \mp 29$ $SD \mp 46.5$ $SD \mp 23.0$

T değeri T=0.01 T=0.56 T=0.43 T=0.63 T=1.7
 P aralığı P) 0.50 P) 0.05 P) 0.05 P) 0.05 P) 0.05



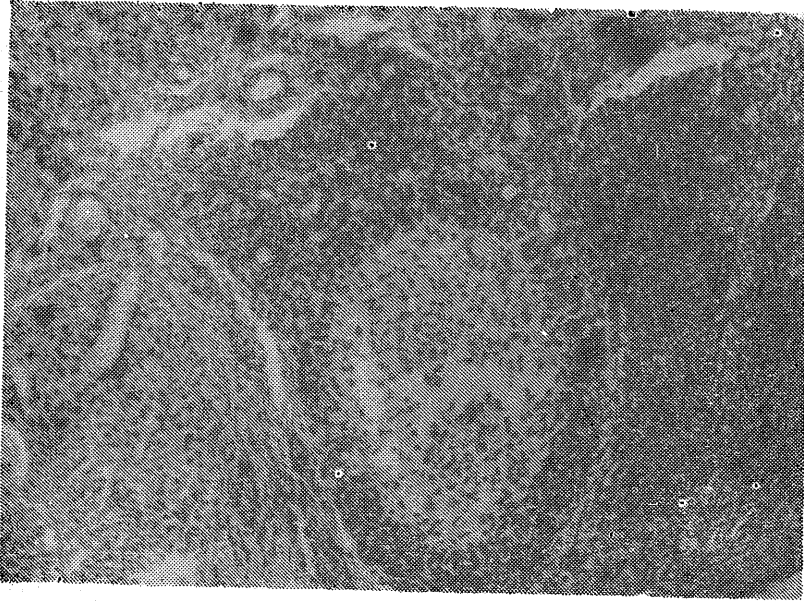
Resim :1 HCG verilen 2 haftalık koby ovaryumunda, H. eosin preparasyonu Stromal damarların aktif hiperemik görünümü

4 Haftalık Kobay Ovaryumu :

Preparatlara bakar bakmaz Corpus Luteum ve atretik folliküller belirgin şekilde seçildi. Atretik follikül terimi follikül hücreleri ve oositlerde degeneratif değişiklik varsa kullanılmaktadır. Sıklıkla granuloza hücrelerinde, çoğun discus proligerusa komşu olan granuloza hücrelerinde piknoz başlaması ile kolaylıkla tanınmaktadır (4). Bu devrede Corpus Luteum atrezisine hiç raslanmadı. Stromal aktif görünüm bahse değer niteliktedir. Preovulatar (Tip 8), ve post ovulatar folliküller bulunmakta. olup, Kobay 4. üçüncü haftada seksüel olgunluğa erişmektedir.

3 Haftalık Kobay Ovaryumu :

T. Albuginea bir öncekinden daha iyi gelişmiştir. Gelişen folliküllerden çoğu ise antrumludur. Damarların ekserisi hiperemiktir. En ileri gelişim devresindeki follikül tip 7 karakteristiğinde olup teka follikülü yine hipertrofikdir. Atretik folliküllerin fazlası olduğu dikkati çekmektedir. Aynı tip Folliküllerin normale kıyasla daha büyük oluşları seçildi ise de, follikül çapları olanakların yetersizliği nedeniyle ölçülemedi.



Resim 2 : HCG verilen 4 haftalık kobay ovaryumunda genel görünüş.

5 Haftalık Kobay Ovaryumu :

Beşinci haftadakine benzer bir görünümündedir. Corpus Luteum pek çok, sayıda olup. bazıları ileri bir genişleme göstererek, kiste benzer formlar

yaratmıştır. Atretik follikül çokluğu, ve stromanın artmış görünümü dikkati çekmektedir. Damarların hemen hepsinde hiperemik durumun var oluşu seçildi.

Alkalen Fosfataz Reaksiyonu yapılan preparatlar :

Kontrol gurubundaki ovaryumlarında : Sekonder folliküllerden pre ve post ovulatuvar folliküllere doğru incelendiğinde, maturasyona bağlı olarak enzimatik aktivitede artmanın bulunduğu saptandı : Şöyleki ;

Oosit : Hiçbir devrede olumlu sonuç yoktu.

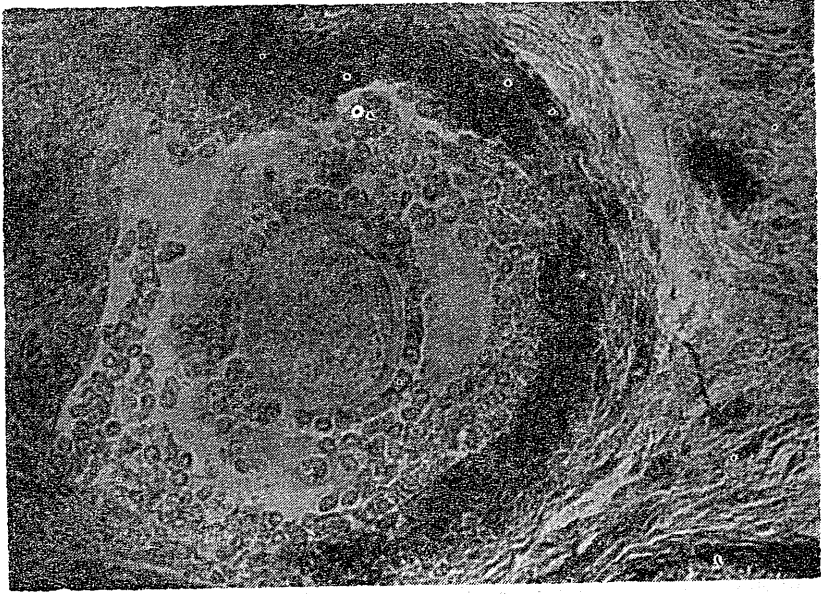
Granülosa hücreleri : Ergin bir follikülde zayıf veya orta şiddette olumlu aktivite vardı.

Stromal hücrelerde : 1 inci haftada olumsuz, 3 üncü haftada zayıf bir reaksiyon ve 5 inci haftada kuvvetli pozitif enzimatik aktivite seçildi.

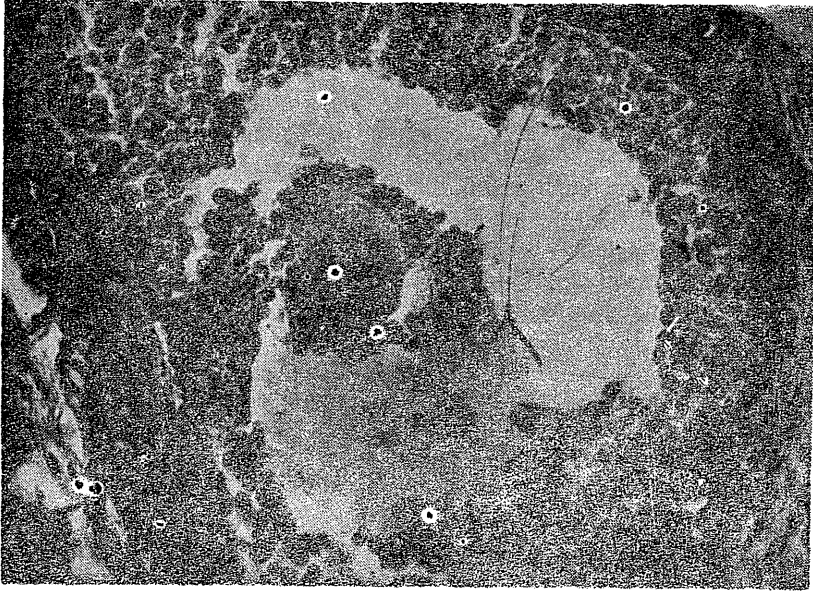
C. Luteum : Kuvvetli pozitif reaksiyon göstermekteydi.

HCG Verilen Kobay Ovaryumlarında :

Kontrol hayvanlarının overlerindeki sonuçlara benzer bulgular elde edilmiştir. Yalnızca HCG verilenlerde enzimatik aktivitenin daha kuvvetli pozitif oluşu dikkati çekmiştir Resim 3, 4 ün incelenmesinde aradaki fark belirgin olarak görülmektedir.



Resim 3: 3 Haftalık Normal gelişimdeki, Kontrol gurubundaki kobaya ait ovaryum Oosit olumsuz, granülosa hücreleri zayıf, teka interna hücreleri iseyer yer kuvvetli enzimatik reaksiyon göstermekte Stromal hücrelerde yer yer olumlu yer yer olumsuz cevap var. Alkalen fosfataz Reaksiyonu.



Resim 4: 3 haftalık HCG enjeksiyonu yapılmış kobay ovaryumu Oositte ve likor follikülünde olumsuz, granuloza hücrelerinde kuvvetli, Teka ve stromal hücrelerde çok kuvvetli enzimatik rekaksiyon seçilmekte. Alkalen fosfataz reaksiyonu.

5. TARTIŞMA :

HCG'nin bugün bilinen asal işlevi; ovulasyonu stimüle etmek, gebelik corpus luteumunun erken gelişimini ve devamını sağlamaktır. Ovulasyonu stimüle edici yeteneğinden kliniklerde oligoovulatuvar hastalarda ve corpus luteum yetersizlikleri olaylarında yararlanılmaktadır (5-6). Ayrıca corpus luteumun devamını sağlayarak, gebelik ürününün korunmasını sağladığından habitüel düşük vakalarında da kullanıma alanı bulmuştur (7).

Çalışmada HCG enjeksiyonu yapılan kobayların ovaryumları, hiçbir işlem yapılmamış kobayların ovaryumları ile (1) çeşitli morfolojik açılarından kıyaslanarak aşağıda tartışılan sonuçlara varılmıştır :

1- Folliküller gelişimin kantitatif değerlendirilmesi incelendiğinde (Tablo II), ilk bakışta örneğin normalde 2 haftalık ovaryumda en ileri gelişim gösteren follikül tip 4 şeklinde olup, HCG verilenlerde tip 6 olarak seçilmesi follikül maturasyonunun hızlandığı izlenimini uyandırmakta ise de, aşağıda belirtilen istatistiki analiz sonucu :

I Haftada :

Normal ve HCG verilen vakalar arasındaki T değerinin O'ya yakın oluşu I. haftada hemen hemen hiç bir fark bulunmadığı gerçeğini ortaya koymaktadır.

II Haftada :

Normal ve HCG verilen vakalar arasında T değeri 0,56 ve $P > 0,05$ olduğundan önemli bir fark göze çarpmamaktadır.

III Haftada :

Normal ve HCG verilen vakalar arasında T değeri 0-43 ve $P > 0,05$ olduğundan önemli bir fark yoktur.

IV Haftada :

Normal ve HCG verilen vakalar arasında T değeri 0,63 ve $P > 0,05$ olarak bulunduğundan yine önemli bir fark yoktur.

V Haftada :

Normal ve HCG verilen vakalar arasındaki T değerinin 1,7 olarak hesaplanmış bulunuşu söz konusu vakalar arasında çok az bir fark olduğu kanısını uyandırmakta ise de P nin 0-10 ilâ 0,05 arasında oluşu; yani $P > 0,05$ olarak hesaplanmış bulunuşu; istatistiki yönden önemli bir farkın bulunmadığını göstermektedir. Kısaca HCG'nin follikül maturasyonuna etkisi olmadığı sonucu ortaya çıkmaktadır. Nitekim bu bulgu Literatürel bilgiye de uymaktadır(8-9).

R. Goldberger ve arkadaşları(10) hipofizektomili hayvanlarda HCG ile birlikte FSH verdiklerinde, overlerde östrojen sekresyonunun stimüle olduğunu görmüşlerdir. Östrojenin granülosa hücrelerinde proliferasyonu sağladığı bilindiğinden, HCG verilimindeki değişikliklerin östrojen sentezini stimülasyon yoluyla oluştuğu yargısına varmışlardır(11). Ayrıca aynı araştırmacılar sadece östrojen ve FSH verilen hayvanlarda, FSH ve HCG verilen hayvanlardaki folliküler değişikliklerin kantitatif ve kalitatif olarak benzer oluşuna dayanarak, yukarıdaki hipotezlerini kuvvetlendirmişlerdir.

Hipofizektomili sıçanlarda HCG'nin testislerdeki steroid sülfataz enzim aktivitesini artırışı da buna paralel bir sonuçtur (12). Bilindiği gibi Ovaryumdaki Steroid hormonlardan östrojen granülosa ve teka hücrelerinde, androjen sentezi stromada (corpus luteum ve follikül dışındaki kısımlar) yapılır. Donald Mc. Kay ve arkadaşları yaptıkları histokimyasal çalışmada östrojen yapımı ile alkalen fosfataz arasında paralel bir ilişki bulunduğunu göstermişlerdir (13).

Söz konusu çalışmada HCG'nin steroid aktivitesini arttırıp arttırmadığını kontrol amacıyla HCG verilen ve normal kontrol hayvanlarının ovaryumlarında aranan alkalen fosfataz enzim aktivitesinin kıyaslanması, HCG verilen hayvanlarda alkalen fosfataz enziminin daha kuvvetli olduğunu göstermiştir. Böylelikle HCG'nin östrojen sentezini arttırdığını indirekt yolla enzim artması ile ortaya koyarak, Goldberger ve arkadaşlarının görüşüne katılmaktayız. Aynı gelişim haftalarındaki, aynı tip folliküllerin normallerle kıyaslanmasında HCG'nin follikülerin çapını arttırdığı görüldü. Bu bulgu östrojenin granülosa hücrelerinde yaptığı proliferasyonla açıklanabilir.

2- Kobaylar bir hafta daha erken seksüel olgunluğa erişmişlerdir, normalde 5. inci haftada görülen ovulasyon, bunlarda 4 üncü haftada ilk defa seçilmiştir. HCG'nin ovulasyona etkisinin hangi mekanizma ile olduğu kesin olarak bilinmemekle beraber, burada da yine steroid sentezinde yaptığı düzenleme ile ortaya çıktığı düşünülmektedir. Normal olarak tavşanlarda HCG enjeksiyonundan 10 saat sonra ovulasyon olmaktadır, bu yönden ovulas-

yonu incelemekte tavşan ideal bir materyeldir (14). Lipner (15) yaptığı çalışmada steroid sentezini önliyen Cyta-noketononu kullanarak, bu madde ile birlikte HCG verilmesi halinde ovulasyon olmadığını gözleyerek, ovulasyon ile steroid sentezi arasında bir ilişkinin varlığını düşünmüştür. Adrenal steroidlerin daha az etkin olduğunu da adre-nelektominin ovulasyonda önemli değişiklik göstermediğini saptayarak ispatlamıştır. Sonuç olarak ta "HCG'nin ovulasyona indirekt yolla, steroidogene-zis ile etkilidir" yargısına varmıştır. Östrojenin LH salgılanma refleksini stimüle ederek ovulasyonda etkili ola-bileceği düşünülmüştür. 1964 de Cedark ve arkadaşları(16) HCG nin steroid hidroksilasyonunu stimüle ettiğini or-taya koymuşlardır.

3- Corpus Luteum ve atretik follikül sayısı çok fazladır. C. Luteum fazlalığı bilinen fonksiyonu ile bağdaşmaktadır(8). Atretik folliküllerdeki sayının çok fazla olması ise post-ovula-tuar devrelerde atrezi oranının yüksel-mesi ile açıklanabilir (9). Uygulanan dozajda 5 haftaya kadarki devrelerde ovaryumlarda C. Luteuma ait hiçbir regeresyon belirtisi olmayıp, atretik folliküllerin hepsi değişik devrelerdeki folliküllere ilişkin idi.

4- Overlerin ağırlığında artma vardır. Normallerle kıyaslama sonucu, over ağırlığındaki artış açıkça belirli-dir. Ağırlıktaki bu artmayı, folliküller-deki daha hacimli oluş, hemen hemen bütün kesimlerde dikkati çeken hipere-mi ve bazı çok genişlemiş Corpus Lu-teumun varlığına bağliyabiliriz. Ayrıca interstiel dokudaki artma da buna katkıda bulunmaktadır. Hipofizekto-mi yapılarak hipofizin gonadlara olan

etkisinin yok edildiği durumlarda ise, HCG'nin immatür hayvanlarda sadece interstiel dokuda hipertrofi yaparak over ağırlığını arttırdığı bildirilmiştir (4-8-17).

5- Tekla hipertrofisi ve tunica al-bugineanın daha öncelikle gelişimi sap-tandı.

6- Yaşla birlikte görülen interstiel doku artımı atretik folliküllere bağla-nabilir.

SUMMARY

The Effect Of HCG on the Over of the Guinea-Pigs During Neonatal De-velopment.

The immature female guinea-pigs treated neonatally with a single high dose of HCG. It caused early ovalation and formation of the corpus Luteum and increased of the ovarian weight, but no effect on the follicular matu-ration. The same types of follicles appered to be larger after HCG treat-ment than those in normal groups. The effects of HCG can be related with eostrogen stimulation.

KAYNAKLAR

- 1- Kalaycı Şermin : Kobaylarda over-lerin doğumdan ergin devreye ka-darki morfolojik gelişimi. At. Üniv. Tıp Bul. V:4, Sayı: 15,1972.
- 2- Petersen and H. Petersen : Pro-posal for a classification of oocytes and folliclies in the mouse ovpry. J. Reprod. Fert. 17, 555-557, 1968.
- 3- Davenport : Histological and His-tochemical Technics. Saunders comp. 1960.

- 4- J.S. Perry and I.W. Rowlands: Hypophysectomy of the immature guinea-pig and the ovarian response to gonadotrophins. *J. Reprod. Fertil.* 6, 292-404, 1963.
- 5- E. Caspi and H. Hirsch : Therapy of ovulatory sterility and corpus luteum insufficiency with human menopausal and chorionic gonadotropins. *Israel Jour.* V:7 No:9 1040-1971.
- 6- Lunenfeld B. et al. L induction de l'ovulation dans les amenorrhees hypophysaires par un traitement combine de gonadotrophines urinaires menopausiques et de gonadotrophines chorioniques. *CR Soc. Franc Gynec* 35:3, 1965.
- 7- Van de Wiele R.L. and Turksoy R.N.: Treatment of amenorrhea and of anovulation with human menopausal and chorionic gonadotropins. *J.-Clin. Endoc.* 25: 369, 1965.
- 8- Obstetrics Greenhill : W.B. Saunders comp. Phil. U.S.A. 1966
- 9- David N. Danforth : Textbook obstet. and gynec. Harper and Row Pub. N. York, 1966.
- 10- Robert L. Goldenberg et al : Interection of FSH and HCG on follicle development in the ovarian augmantation reaction. *Endocrinol* 91: 463, 1972.
- 11- R.L. Goldenberger : Estrogen and follicle stimulating hormone interactions on follicle growth in rats. *Endoc.* 90 : 1492, 1972.
- 12- Albert D. Notation and F. Ungar: Testis steroid sulfatase activity in rats treated with chorionic gonadotropins. *Endocrinol.* 90, 1537-1542 1972
- 13- Donald G. Mc Kay et al : Adult Human ovary Obs and. gynecol. vol: 18: 1, 1961.
- 14- P. Virutamases et al : Local ovarian effects of catecholamines on human CG induced ovulation in rabbit. *Fert. and Ster.* vol: 22 N:4, 1971.
- 15- H. Lippner and L. Wendelken : Inhibition of ovulation by inhibition of steroidogenesis in immature rats. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 136: 1141-45, 1971.
- 16- Elliot P.: Scientific Found. of obs and Gyn. F.A. Davi scom. Phil. U.S.A.
- 17- L. M. Helman and J. A. Pritchard: William's Obstetric: Appleton century. Mercedith corporation Grofts. N. York. 1971. p: 137.