

## Ethinyl Estradiol ve Desogestrel'in Sıçanlarda Ovaryum Üzerine Etkileri: I. Histolojik Değişiklikler

Melda Yardımoğlu\*

**ÖZET.** Yüksek dozda 5-10-15-20-25-30 gün ve düşük dozda 5-10-15-20-25-30-35-40-45-70 gün süreyle mide sondası ile ethinyl estradiol (EE) + desogestrel verilen sıçanlarda ovaryumlar ışık mikroskopik olarak incelendi. Yapılan incelemelerde öncelikle folliküler ve corpus luteum (CL) üzerinde duruldu. Atrezi olayına daha ziyade veziküler ve Graaf follikül (GF) 'lerinde rastlandı. Bununla beraber ovaryumların aktivitesini devam ettirdiği, fibrozis belirtilerinin görülmediği sonucuna varıldı.

**Anahtar Kelimeler.** Oral kontraseptifler .ethinyl estradiol .desogestrel.sıçan ovaryumları .histolojik çalışmalar.

### The Effects of Ethinyl Estradiol and Desogestrel on the Rat Ovary: I. Histological Changes

**SUMMARY.** Ovaries of the rats which had been administered ethinyl estradiol (EE) + desogestrel high doses for 5-10-15-20-25-30 days and low doses for 5-10-15-20-25-30-35-40-45-70 days by the way of oral intubation were examined light microscopically. Especially it was emphasized primarily on follicles and corpus luteum (CL) in the examinations. Atresia process was seen particularly in Vesicular and Graaf follicles (GF). However, it was concluded that the ovaries were active and there was no fibrosis.

**Key Words .** Oral contraceptives . ethinyl estradiol .desogestrel .rat ovary .histological studies.

Günümüzde uygulanan kontrasepsiyon yöntemlerinden oral kontraseptif (OC)'ler düzenli kullanıldığında mükemmel etkili, kullanımı kolay ve bir çok kadın için güvenli bir yöntemdir<sup>1</sup>. OC'ler en fazla araştırılmış ilaçlardır<sup>2</sup>. Araştırmaların bir kısmı deney hayvanları üzerinde<sup>3-9</sup>, bir kısmı ise doğrudan doğruya gönüllü kadınlar üzerinde<sup>10-15</sup> uygulanmıştır. Radyoaktif işaretli sentetik östrojen (hexoestriol) ile yapılan deneylerde en yüksek ilaç konsantrasyonunun üreme organlarında ve böbreklerde toplandığı bildirilmiştir<sup>16</sup>. Düşük dozlu kombine tip-OC'lerin etkilerini kapsayan araştırma sayısının az olduğu bildirilmiştir<sup>17</sup>. Bu sebeple çalışmamızda günümüzün düşük dozlu preparatlarından Desolett kullanılmıştır. Taranabilen kaynaklarda Desolett'in formülünde bulunan etkin maddeler (EE + desogestrel)'in beraberce ovaryum üzerinde oluşturduğu histolojik veya histopatolojik etkilerle ilgili bir çalışmaya rastlanamamıştır. OC'lerin ovaryuma etkileri ile ilgili olarak daha önce yapılan çalışmalara katkıda bulunmak üzere bu araştırma planlanmıştır.

### Gereç ve Yöntem

Çalışmada 80 adet ergin dişi beyaz sıçan kullanıldı. 56 sıçana EE + desogestrel içeren kombine monofazik tipte OC preparat Desolett (Organon) iki farklı dozda verildi. İlaç yeterli dozda ve uygun periyotlarla verebilmek için mide sondası kullanıldı<sup>18</sup>.

Farklı dozda ilaç alan deney grupları:

1- Yüksek doz deney grubu sıçanlara hergün 0.12 mg/kg EE + 0.6 mg/kg desogestrel 5-10-15-20-25-30 gün süreyle verildi.

2- Düşük doz deney grubu sıçanlara hergün 0.0006 mg/kg EE + 0.0003 mg/kg desogestrel 5-10-15-20-25-30-35-40-45-70 gün süreyle verildi.

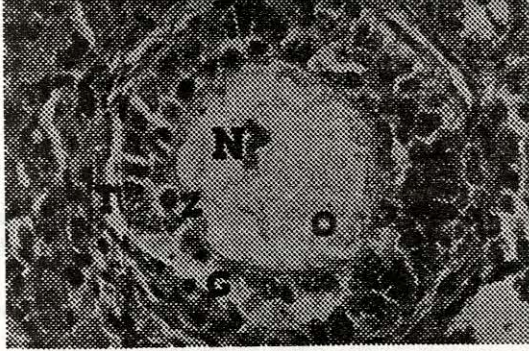
Aynı yaş grubunda 24 sıçan kontrol grubu olarak kullanıldı ve bu hayvanlar da deney grubundakiler gibi ad libitum beslenip barındırıldılar, ancak OC verilmedi.

Ovaryumlar nötral formalinde fikse edildi ve 5-6 mikron'luk parafin kesitleri alındı. Kesitler Hematoksilen osin ve Masson'un trikrom tekniği ile boyandılar<sup>19</sup>. Preparatlar ışık mikroskopunda değerlendirildi.

\* Dr.; Uludağ Ü. Tıp Fak. Histoloji-Embriyoloji ABD  
Geliş Tarihi: 8.2.1994  
Kabul Tarihi: 8.2.1995

### Bulgular

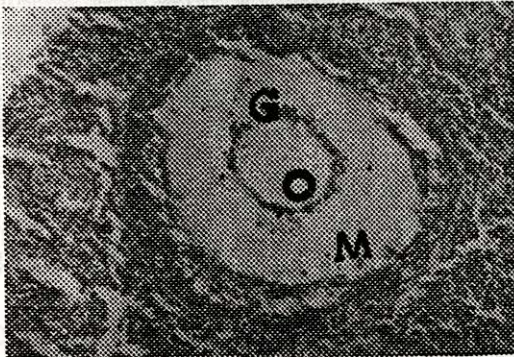
Kontrol ve deney grubunda Masson trikrom tekniği ile tunica albuginea'da kollajen liflerin kalınlık, şekil ve seyrinde farklılık görülmedi. Pek az multilaminar primer follikülde oositte nekrotik değişiklikler, karyolizis ve piknozis ile zona pellusida'da şekil bozukluğu ve yer yer boyanma farkı gözlemlendi (Resim: 1).



Resim: 1

10 gün yüksek dozda OC alan sıçanda multilaminar primer follikül. N: nukleus, O: oosit, Z: zona pellusida, G: granülosa hücreleri, T: teka hücreleri. Masson'un trikrom boyası. 10x40

Bazı veziküler folliküllerde biçimsel değişiklik, deformasyon şeklinde atretik belirtiler gözlemlendi. Granülosa hücrelerinin nukleusları piknotikti, birbirleriyle ve oosit ile bağlantıları bozulmuştu; teka follikülü'de atrezi ile beraber luteinizasyon görüldü (Resim: 2).

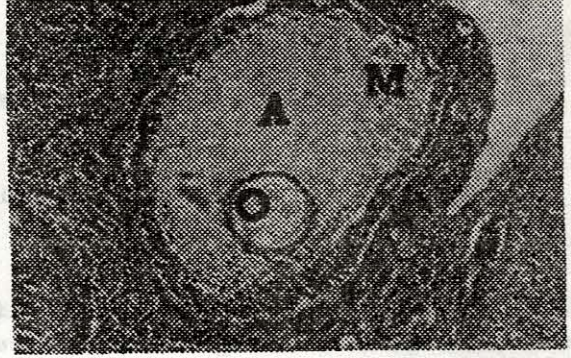


Resim: 2

30 gün yüksek dozda OC alan sıçanda veziküler follikül atrezi. O: oosit, G: granülosa hücreleri, M: makrofaj. HE.10x25

Deney grubu sıçanlara ait GF'ler kontrol grubundakilerle karşılaştırıldığı zaman iki grup arasında bazı yapısal farklılıklar gözlemlendi. Bu farklılıklar değişik derecelerde olup deney grubunda kontrol grubundan sapmalar gösteren GF atrezi-

lerine rastlandı (Resim: 3). 10 gün yüksek dozda OC alan sıçanda GF'de granülosa hücreleri prizmatik görünümdeydi, teka interna'da kapiller dilatasyonları vardı. Atrezi olayı follikül gelişiminin herhangi bir evresinde olmakla beraber en fazla veziküler ve GF'lerde belirgin şekilde görülmüştür.



Resim: 3

10 gün yüksek dozda OC alan sıçanda GF atrezi. O: oosit, A: antrum, F: follikül duvarı, M: makrofaj. HE. 10x25

### Tartışma

Bu çalışmada kullanılan Masson'un trikrom bağ dokusu boyama yöntemi ile t. albuginea'da kalınlık, şekil ve kollajen liflerin düzenlenişi bakımından bir değişiklik görülmedi. Bu gözlemimiz, Vadar ve Tan'ın bulgularıyla uyum içerisindedir<sup>3,7</sup>. Buna karşı 1-3 ay süre ile uzun etkili östrojen-progestin ajanı Deladrate uygulanan 8 kadından 1'inde yüzeysel derecede kapsüler fibrozis saptanmıştır<sup>14</sup>. Çeşitli kombine OC preparatları değişik sürelerle (6-10 ay) alan 17 kadından 2'sinde t. albuginea'da yüzeysel bir kalınlaşma görüldüğü, fakat hiçbirinde perifolliküler fibrozis görülmediği bildirilmiştir<sup>15</sup>. Bizim çalışmamızda da t. albuginea ve stroma yapısında belirgin bir farklılık bulunmamıştır.

OC'lerin 10-50 günlük uygulamalarında tavşanların ovarial korteksinde kontrollere göre bir farklılık göstermediği bildirilmiştir<sup>3</sup>. Biz de deney grubu sıçanların ovarial korteksinde benzeri bulguları elde ettik.

OC alan tavşanların ovaryumlarında çok az atretik primer follikül görülmüştür<sup>3</sup>. Bir başka çalışmada OC alan sıçanların primer folliküllerinde az da olsa oositte atretik belirtiler görüldüğü bildirilmiştir<sup>4</sup>. Bu sonuçlar bizim sonuçlarımıza uymaktadır.

OC uygulanan tavşanlarda sekonder folliküllerin kontrol grubundakilerle aynı şekilde görüldüğü, ancak pek az sayıda sekonder follikülde zona pellusida'da şekil bozukluğu ve boyanma farkı görüldüğü bildirilmiştir<sup>3</sup>. Bir başka çalışmada OC verilen sıçanların sekonder folliküllerinin kontrol

grubu ile aynı şekilde görüldüğü bildirmiştir<sup>4</sup>. Bu bulgular, bizim multilaminar primer folliküller üzerindeki gözlemlerimizle benzerlik göstermektedir. Sekonder follikül terminolojisi, bugün kullandığımız multilaminar primer follikül terminolojisine karşılık gelmektedir<sup>16</sup>.

Uzun etkili östrojen-progestin ajanı enjeksiyonu yapılan 8 kadından 5'inde tersiyer (veziküler) follikül görülmüştür<sup>14</sup>. OC alan sıçanlarda atrezi etkisinin daha ziyade tersiyer folliküllerde belirgin olarak gözlemlendiği bildirilmiştir<sup>4</sup>. Bu dönemde atrezinin önce granülosa hücrelerinde görüldüğü belirtilmiştir. Başka bir çalışmada OC'den en fazla zarar gören folliküllerin tersiyer folliküller olduğu bildirilmiştir<sup>3</sup>. Bu çalışmada deneme süresine bağlı olarak zarar görmenin çeşitli derecelerde olduğu bildirilmiştir. Deneme süresi uzadıkça daha ileri derecede atretik belirtilerin görüldüğü belirtilmiştir. Atrezinin ilk önce membrana granülosa'da başladığı; sonra oosit, kumulus ooforus ve teka follikülü'ye geçtiği ifade edilmiştir. Araştırmacıların tersiyer follikül üzerindeki bulguları bizim veziküler folliküller üzerinde yaptığımız gözlemlere uymaktadır. Bugün kullandığımız veziküler follikül terminolojisi tersiyer folliküle karşılık gelmektedir<sup>16</sup>.

İnjektabl kontraseptif tedavisinden sonra "sıçan ovaryumlarında tüm morfolojik değişimin gelişen folliküllerin dejenerasyonu ile folliküler apparatusun atreziye uğradığı" şeklinde özetlenmiştir<sup>6</sup>.

6-100 ay kombine tipte OC alan 10 kadından 5'inde FSH ve LH'nin daha düşük düzeylerine rağmen, GF'leri görülmüştür<sup>15</sup>.

Yapılan bir çalışmada 8 ay OC alan sıçanların GF'deki granülosa hücrelerinin prizmatik görünümde olduğu ve teka hücrelerinde aşırı dejenerasyon görüldüğü bildirilmiştir<sup>5</sup>. Aynı çalışmada teka kapiller genişlemeleri ve yer yer kanama odaklarından da söz edilmiştir.

Başka bir çalışmada sıçanlarda EE ve norethisterone acetate'in ovaryuma etkileri araştırılmıştır<sup>17</sup>. 6 hafta 50 mikrogram EE verilmesi GF'de granülosa hücrelerinin hiperplazisini oluşturmuş ve ovulasyon inhibe olmuştur.

Araştırmacıların OC'lerinde GF'ler üzerindeki bulguları bizim bulgularımızla benzerlik içerisindedir. Çalışmamızda deney grubu ovaryum kesitlerinde GF'lerin atrezi dereceleri deneme süreleri ve OC dozlarıyla ilişkili olarak değişmiştir. 5 gün düşük dozda OC alan sıçanlarda hafif bir atrezi görülmesine rağmen, 10 gün ve daha uzun süre yüksek dozda OC alan sıçanlarda atrezinin daha ileri derecelerine rastlanmıştır.

Sıçanlarda OC verilmeden önce meydana gelmiş CL'ların genellikle çok az regresyon gösterdiği, 30 gün sürenin bile regresyon için yeterli olmadığı;

fakat CL'ların yapı ve hacim bakımından gerilediğinden söz edilmiştir<sup>4</sup>. Norethynodrel-mestranol enjekte edilen sıçanlarda ovulasyonun inhibe olduğuna dair işaretlere rağmen, ovaryumlarda iri CL görülmüştür<sup>18</sup>.

Sürekli olarak norethindrone alan 11 kadından 3'ünde kistik CL gözlenmiştir<sup>19</sup>.

Bizim çalışmamızda da yüksek doz deney gruplarında daha az olmak üzere, tüm deney grubu sıçanlarda CL görülmüştür.

Bu çalışmada kombine OC'lerin sıçan ovaryumlarında veziküler follikül ve GF atrezilerine sebep olmak suretiyle etkili oldukları sonucuna varılmıştır.

Dr. Melda YARDIMOĞLU  
Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi  
Histoloji ve Embriyoloji ABD  
Tel: 4428206/21137 - 4428105  
16059 Görükle / BURSA

### Kaynaklar

1. Goodman MA, Gilman A: The pharmacological basis of therapeutics. Eight ed. Vol. II. Pergamon Press, New York-Oxford-Beijing-Frankfurt-Sao Paulo-Sydney-Tokyo, 1991, p. 1384-1412.
2. Hatcher RA, Kowal D, Guest F, Trussel J, Stewart F, Stewart GK: Contraceptive technology. International ed. Çeviri ed. Dervişoğlu AA, Çeviren: Senlet P, İnsan Kaynağını Geliştirme Vakfı, Demircioğlu Matbaacılık, Ankara, 1990, s. 265-269.
3. Vardar KT: Ovulasyonu önleyen ilaçların ada tavşanlarının ovarium'larına etkisi. Ankara Üniv. Diyarbakır Tıp Fak. Derg., 1:1, 1972 (Ayrı baskı).
4. Erem T: Oral kontraseptiflerin sıçanların memelerinde ve ovaryumlarında meydana getirdikleri morfolojik değişikliklerin normalleri ile mukayeseli incelenmesi. Ankara Üniv. Diş Hek. Fak. Derg., 2:1, 1975 (Ayrı baskı).
5. Gürsoy E, Hallaç P, Erbeni T, Hepyüksel G: Oral kontraseptiflerin ovaryum ve tuba uterina üzerine etkisinin ultrastrüktürel düzeyde incelenmesi. 6. Elektronik Mikroskopi Kongresi Özetleri. 1981, s. 67-68.
6. Bhowmik T, Mukberjea M: Histological changes in the ovary and uterus of rat after injectable contraceptive therapy. Contraception. 37(5):529-38, 1988.
7. Tan E: Sıçan ovaryumuna kısa süreyle verilen progesteronun etkileri. I. Histoloji ve Embriyoloji Sempozyumu Bildiri Özetleri, 1992, s. 121.
8. Killick SR: Ovarian follicles during oral contraceptive cycles their potential for ovulation. Fertil Steril, 52(4):580-82, 1989.
9. Landgren BM, Dada O, Aedo AR, Johannisson E, Diczfalucy E: Pituitary, ovarian and endometrial effects of 300 microgram norethisterone and 30 microgram levonorgestrel administered on cycle days 7 to 10. Contraception, 41(6):569-581, 1990.
10. Alexander F: Veteriner Farmakoloji. Çeviren: Özkazanç, Ankara Üniv. Vet. Fak. Yayınları: 308, Yardımcı ders kitabı: 209, Ankara, 1974, s. 189-194.
11. Wharton C, Blackburn R: Gebeliği önleyici düşük dozlu haplar. Population Reports, Rinehart W, Seri A (7):1-19, 1988.
12. Woodard G: Principles in drug administration. Guy IW, Methods of animal experimentation. Vol. I, Chapter: 9, Academic Press, New York-San Francisco-London, 1965, p. 343-60.

13. Drury RAB, Walligton EA: Carleton's Histological Technique. Fourth ed. Oxford University Press, 1967.
14. Plesner R: Morphology of human ovaries after treatment with an injectable long-acting oestrogen-progestogen agent. Acta Obstet Gynec Scand. 53:169-176, 1974.
15. Starup J, Visfeldt J: Ovarian morphology and pituitary gonadotrophine in serum during and after long term treatment with oral contraceptives. Acta Obstet Gynec Scand. 53:161-67, 1974.
16. Clement PB: Ovary. Histology for Pathologists. Ed. Sternberg SS, 1992, p. 797-98.
17. Zaki K, Rizk M, Kira L, Nour H, Guirguis R: Studies on the effects of ethinyl estradiol and norethisterone acetate on the adrenal cortex and some other tissues in the rat. Endokrinologie, 73(1):66-76, 1979.
18. Minaguchi H, Meites J: Effects of a norethynodrel mestranol combination (Encovid) on hypothalamic and pituitary hormones in rats. Endocrinology, 81:826, 1967.
19. Moghissi KS: Morphologic changes in the ovaries of women treated with continuous microdose progestogens. Fertil Steril, 23(10):739-44, 1972.