

# ELECTRON MICROSCOPIC CHANGES IN THE RAT UTERUS DURING THE MENSTRUAL CYCLE

Feriba TURHAN, Deniz ERDOĞAN, Gülnur TAKE, Yeşim BARDAKÇI

## ÖZ

**Amaç:** Çalışmamızda farklı menstrüel döngüde uterus duvarındaki ince yapı düzeyindeki değişikliklerin yapısal olarak incelenmesi amaçlandı.

**Gereç-Yöntem:** Çalışmada Wistar albino cinsi 16 adet dişi sıçan kullanıldı. Sıçanların menstrüel evreleri (proöstrus, östrus, metaöstrus ve diöstrus) vajinal smear alınarak, Papanicolaou boyama yöntemiyle ayırt edildi. Uteris örnekleri mikroskopik izleme yöntemlerinden geçirilerek bloklandı. Uygun boyamalarla yapısal düzeyde incelendiler.

**Bulgular:** Proöstrus evresinde uterus epitel boyunun uzamaya başlaması, lümenin girinti ve çıkıntılarının azlığı, yalancı bezlerin oluşmaya başlaması, lamina propria'da gelişkin fibroblast benzeri stromal hücreler ve damarlardaki dolgunluk insan erken proliferasyon evresi ile uyumluydu. Ayrıca yan yüz bağlantı birimleri belirgindi Östrus evresinde, hücre yan yüzlerinde sıkı bağlantı birimleri gelişkindi ve nokta şeklindeydi. İnterdijitasyonlar proöstrus grubuna karşın çoktu. Hücreler arası aralık yer yer açılmıştı. Bu evrede epitel boyundaki artış, apoptotik hücre ve cisimcikler, bez lümenlerinde katlantıların şekillenmesi, lamina propria'da yerleşik stromal hücreler, damarlanma ve kollajen liflerde artış, hipertrofik düz kas hücreleri, insan geç proliferasyon evresi yapısal değişimleri ile uyumluydu. Metaöstrus evresinde epitel boyundaki alçalma, gelişkin uterus ve yalancı bezlerin varlığı, lamina propria'nın stromal hücrelerindeki artış, yoğun sitoplazmalı düz kas hücreleri insan sekresyon evresi başlangıcı ile eşdeşti. Diöstrus evresinde ise metaöstrus evresinde izlenen yapısal değişimler artmıştı bu, geç sekresyon evresine eşdeşti.

**Sonuç:** Sıçan menstrüel döngüsü evrelerinin insan proliferasyon, folliküller ve erken-geç sekresyon evreleri ile örtüştüğü kanısına varıldı.

**Anahtar Kelimeler:** Uterus, Menstrüel Siklus, Elektron Mikroskopi.

## MENSTRÜEL DÖNGÜDE SIÇAN UTERUS YAPISINDAKİ ELEKTRON MİKROSKOBİK DEĞİŞİKLİKLER

### ABSTRACT

**Purpose:** To examine structural changes in the uterine wall during the menstrual cycle.

**Materials and Methods:** 16 Wistar albino female rats were used. The rats' estrous cycle stages were proestrus, estrus, metaestrus, and diestrus. Vaginal smears were obtained and stained using an adaptation of the Papanicolaou procedure. Suitable sections from the uterus for microscopic study were prepared.

**Results:** During proestrus the observed increase in length of the epithelium, the loss of the papillae of the lumen, the formation of pseudoglands, development of fibroblast-like stromal cells in lamina propria and the fullness in veins correlates with the early proliferation stage of lumen. During the estrous cycle, behind the apical cells generally like a dot are well developed. The interdigitations were more developed than those during proestrus. In this stage, the increase in length of the epithelium, the presence of apoptotic cell and substances, formation of folds in glandular lumens, developed resident stromal cells in lamina propria, increase in angiogenesis and collagen fibers, and the presence of hypertrophic smooth muscle cells were appropriate findings for the late proliferate phase of the human uterus. In the metaestrus cycle, the distinctive decrease in epithelium length, the presence of highly developed uterus glands and pseudoglands, increase in developed resident stromal cells in lamina propria, and smooth muscle cells with dense cytoplasm were all regarded as appropriate findings for the early secretory phase. In the diestrus stage, the alterations in the metaestrus cycle increased and the findings were consistent with the late secretory phase of the human uterus.

**Conclusion:** The rat estrous cycle matched with human proliferate, follicular, and early-late secretory phase findings.

**Key Words:** Uterus, Menstrual Cycle, Electron Microscopy.

## INTRODUCTION

Epitel doku içi boşluklu organlar ile vücudun dış yüzünü örterek seçici bir bariyer özelliği gösterir. Dokunun sürekliliği ve seçici geçirgenliği, epitel hücreleri arasındaki yan yüz bağlantı birimlerinde gerçekleşir. Bağlantı birimleri yan yüzün apikalinden bazale doğru; sıkı bağlantı, ara bağlantı, desmozom, nekzus ve interdijitasyonlar olarak sıralanır. Uterus'un da içinde bulunduğu epitel doku ile dōşeli bir çok organda en yaygın çalışılan bağlantı birimleri sıkı bağlantılardır (tight junction, zonula okludens). Dinamik yapılar olan bu bağlantı birimleri fizyolojik ve patolojik uyarılara karşı belirgin değişiklikler gösterirler. Sıcaklık, kalsiyum yoğunluğu, büyüme faktörleri, kinazlar, ikincil haberciler ve hormonlar bağlantı birimleri yapı ve işlevleri üzerine etkili faktörlerdendir.

Uterus'un, işlevi hormonal uyarımlarla düzenlenir ve işlevine koşut yapısı menstrüel döngü içerisinde dört evrede incelenir. Sıçanlarda bu döngü 4 gün sürer ve proöstrus, östrus, metaöstrus ve diöstrus evrelerinden oluşur. Menstrüel döngü sürecinde ovaryum hormonlarının değişen düzeyleri uterus yüzey ve bez epitel hücreleri, stroma yapısı ile miyometriyum düz kas hücrelerinde önemli değişikliklere neden olur. Uterus yüzey epitelinde metaöstrus, diöstrus ve proöstrus'da yüksek düzeyde hücre çoğalması olduğu bildirilmiştir (1). Bu çoğalmanın metaöstrus ve diöstrus evrelerinde bez hücre artışı ile birlikte olaylandığı gösterilmiştir. Östrus evresinde ise hücre ölümünün yüzey ve bez epitel hücrelerinde apoptotik yolak ile gerçekleştiği saptanmıştır (2). Ovaryum hormonlarının sıkı bağlantı birimlerinin boyutlarında da değişikliğe neden olduğu gözlemlenmiştir (3).

Biz çalışmamızda sıçanlarda farklı menstrüel evrelerde uterus yüzey epitelindeki yan yüz bağlantı birimlerinin de içinde olduğu tüm uterus duvar değişikliklerini ince yapı düzeyinde, ışık ve elektron mikroskopik olarak incelemeyi amaçladık.

## GEREÇ - YÖNTEM

Bu çalışmada Gazi Üniversitesi Laboratuvar Hayvanları Yetiştirme ve Deneysel Araştırma Merkezi'nden sağlanan Wistar albino cinsi 180-250 gram ağırlığında puberte gelişimlerini tamamlamış 16 adet dişi sıçan kullanıldı.

Sıçanların menstrüel evreleri Papanicolaou boyama yöntemi kullanılarak saptandı. Buna göre proöstrus, östrus, diöstrus ve metaöstrus olmak üzere 4 farklı menstrüel evre, her evrede 4 sıçan olacak şekilde belirlendi. Vajinal sitolojik veriler Schaberg'in (1992) belirlediği döngüsel değişim sınıflaması doğrultusunda değerlendirildi.

Gruplara uygun dönemlerde alınan uterus doku örnekleri %2,5 luk fosfat tamponlu gluteraldehid solüsyonunda tespit edildi.

Sorenson fosfat tamponla yıkayıp, OsO4 ile ikinci tespit ve boyanmaları yapıldı. Dokular tekrar fosfat tamponla yıkayıp artan derecelerde alkol serilerinden geçirilerek dehidrate edildiler. Daha sonra Araldite CY212 kit ile hazırlanan gömme materyali ile bloklandılar. Hazırlanan bloklardan 1µm'lik yarı ince kesitler alınarak toluidin mavisi ile boyandı ve bilgisayar donanımlı fotoşık mikroskofta (DCM 4000, Leica, Germany) değerlendirildi. İşaretlenen bölgelerden alınan ince kesitler uranil asetat - kurşun sitrat ile boyanarak Carl Zeiss EM 900 elektron mikroskofta incelendi.

İstatistik çalışması için her gruba ait 4 örnekten yarı ince kesitler alınarak, her preparattan 5'er alan olacak şekilde ışık mikroskobu ile uterus tüm epitel kalınlığı X10'luk, miyometriyum kalınlığı X4'lük büyütmede, Qwin İmage Analizer Sistem (DCM 4000, Leica, Germany) ile ölçüldü. Sonuçların SPSS programları ile istatistiksel analizi yapıldı. Elde edilen veriler ANOVA testi uygulanarak değerlendirildi. P değeri,  $p < 0,05$  olanlar anlamlı olarak değerlendirildi.

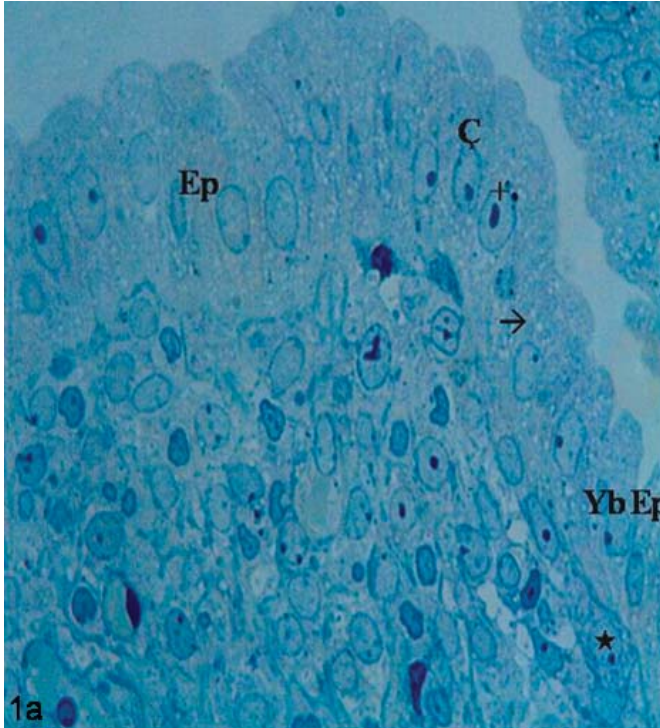
## BULGULAR

### Elektron Mikroskopik Bulgular:

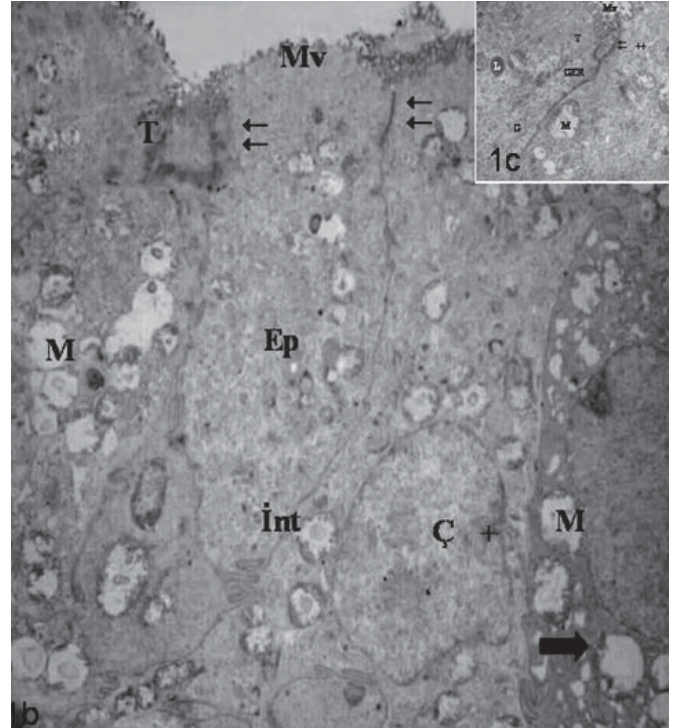
Proöstrus grubuna ait denek uterus dokularının yarı ince kesitlerinde uterus lümen epiteli tek sıralı prizmatikti. Çekirdekler oval şekilli, bazalde yerleşik ve ökromatikti. Heterok-

romatin çekirdek zarı altında ince bir şerit halindeydi. Çekirdekçikler belirgindi. Epitel çöküntülerinin lamina propria'ya doğru uzanarak yalancı bezleri oluşturduğu ve bu bezlerdeki epitel boyunun yüzey epiteline karşın daha alçak boyulu olduğu dikkati çekiyordu. Yüzey ve bez epitel hücrelerinde apikal sitoplazma yerleşimli irili ufaklı vezikül ve vakuoller yaygındı. Lamina propria'da çeşitli bağ dokusu hücreleri ve kapillerler izleniyordu (Resim 1a).

Bu grubun elektron mikroskopik incelemelerinde, yarı ince kesitlerdeki bulgulara ek olarak; yüzey epitel hücrelerinde apikalde mikrovillusların dağılımı belirgindi. Bazı epitel hücrelerinde sitoplazma ve çekirdek oldukça yoğun boyanmıştı. Hücre organel dağılımı genellikle çekirdek üstü sitoplazmada belirgindi. Yer yer kristolizis gösteren iri mitokondriyonlar izleniyordu. Hücrelerin yan yüzlerinin apikal bölgelerinde sıkı ve ara bağlantılar, bazale yakın bölgelerinde ise interdijitasyonlar belirgin olarak görülmüyordu. Apikal sitoplazmada bağlantı birimlerine yönelmiş terminal ağlar belirgindi (Resim 1b). İleri büyütmelelerde apikal sitoplazmada granülsüz endoplazmik reikulum tubuluslarına ait enine kesitler yaygındı. Bazı tubuluslar oldukça genişlemişti. Golgi kompleksi gelişkindi. GER tubulusları azdı ve genelde bazalde yerleşikti. Serbest ribozomlar yaygındı. Yer yer primer lizozomlar izleniyordu (Resim 1c). Lamina propria'da çeşitli bağ dokusu hücreleri özellikle fibroblast ve eozinofiller ayırt ediliyordu. Arada kolagen lifler yaygındı. Kas katmanında hücrelerde organeller

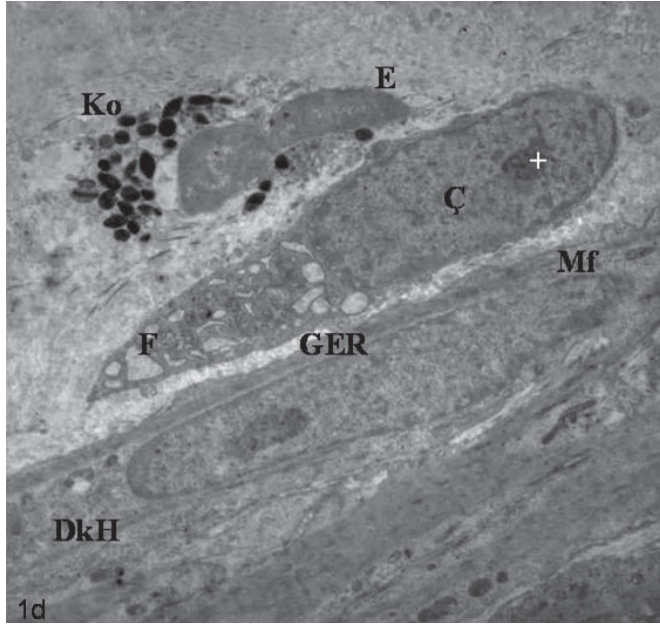


**Resim 1a:** Proöstrus evresi, yarı ince kesit. Epitel (Ep), çekirdek (Ç), yalancı bez epiteli (YbEp), yalancı bezler (★) ve veziküller (⊗) görülüyor. (Toluidin mavisi, X400).



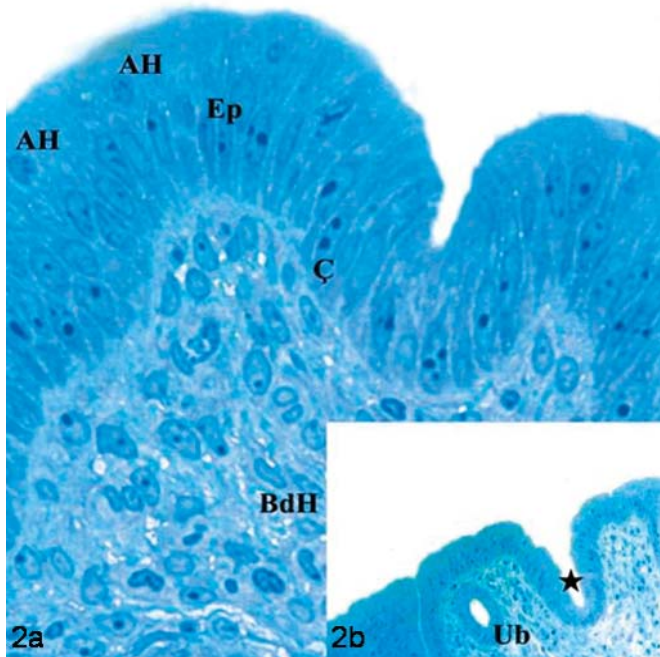
**Resim 1b-c:** Proöstrus evresi. b) Epitel (Ep), çekirdek (Ç), çekirdekçik (+), mitokondriyonlar (M), bağlantı birimleri (⊗), interdijitasyon (İnt), yoğun sitoplazmalı hücre (➔), terminal ağ (T) ve mikrovilluslar (Mv) izleniyor (Uranil asetat- Kurşun sitrat, X3000). c) Proöstrus evresinde, epitel hücreleri. Mikrovilluslar (Mv), terminal ağ (T), lizozom (L), granüllü endoplazmik retikulum (GER), granülsüz endoplazmik retikulum (++) , Golgi kompleksi (G) ve bağlantı birimleri (⊗) görülüyor. (Uranil asetat-Kurşun sitrat, X3000).





**Resim 1d:** Proöstrus evresinde, stroma. Çekirdek (Ç), çekirdekçik (+), granüllü endoplazmik retikulum (GER), eozonofil lokosit (E), düz kas hücresi (DkH), fibroblast (F), kollagen lifler (Ko) ve miyofibriller (Mf) izleniyor. (Uranil asetat- Kurşun sitrat, X4400).

çekirdek çevresinde yerleşikti. Kenar sitoplazma miyofibrillerle doluydu (Resim 1d). Proöstrus evresindeki yapısal değişimlerin insanda proliferasyon evresinin başlangıç bölümüne uyum gösterdiği kanısına varıldı. Epitel boyunun büyüme başlaması, lümenin az girintili çıkıntılı oluşu, yalancı bezlerin oluşmaya başlaması, lamina propria'da fibroblast benzeri hücrelerin gelişkin yapı sergilemesi ve damarlardaki dolgunluk proliferasyon evresi yapısal değişimleriyle uyumluydu.

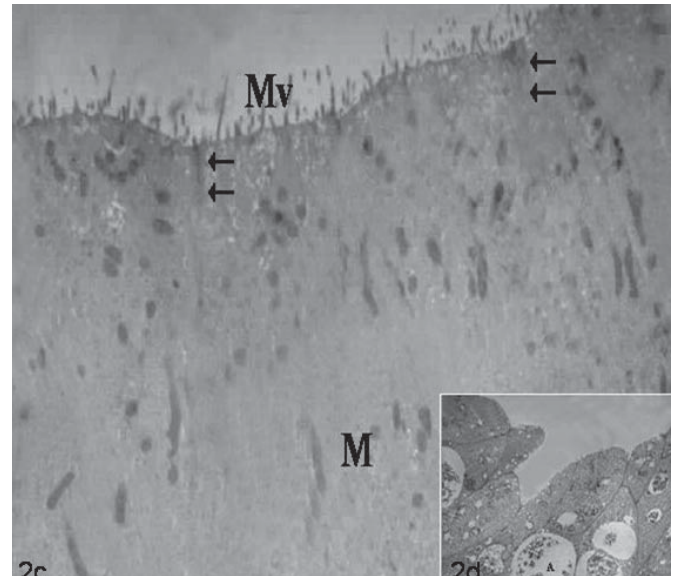


**Resim 2a-b:** Östrus evresi, yarı ince kesit. a) Epitel (Ep), çekirdek (Ç), apoptotik hücreler (AH) ve bağ dokusu hücreleri (BdH), b) Uterus bezleri (Ub) ve yalancı bezler (\*) görülüyor. (Toluidin mavisi, X400).

Östrus evresindeki uterusu ait yarı ince kesitlerde yüzeysel epitelinin yüksek boylu prizmatik bir hal aldığı saptandı. Epitelde bazı hücrelerin apoptoze gittiği görüldü. Lümeninde belirgin katlantılar oluşmuştu. Yalancı ve gerçek uterus bezleri gelişkindi ve hücre boyları yüzeysel epiteline kıyasla daha kısaydı.. Lamina propria'da bağ dokusu hücrelerinin proöstrusa karşın daha gelişkin olduğu ilgiyi çekiyordu. Damarlar yaygındı (Resim 2a-b).

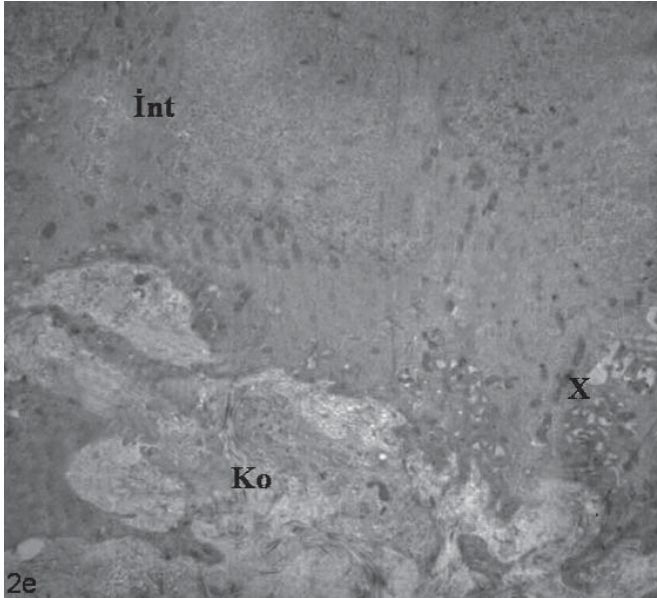
Aynı gruba ait elektron mikroskop incelemelerinde, apikal yüzeyde uzanan mikrovillusların proöstrus grubuna karşın daha az, ancak daha uzun oldukları ilgiyi çekiyordu. Apikale yakın hücre yan yüzlerinde sıkı bağlantı birimleri gelişkindi. Bunlar genelde nokta şeklinde izleniyordu. Sitoplazmada mitokondriyonlar proöstrus grubuna karşın daha yoğun matrisliydi. Çekirdekler ökromatiktir. Hücre sitoplazmasında serbest ribozomlar ve kısa GER tubulusları yaygındı. Bazı epitel hücre sitoplazmalarında iri apoptotik cisimcikler izleniyordu (Resim 2c-d). Hücre bazal sitoplazmalarının yan yüzlerinde interdişitasyonlar proöstrus grubuna göre daha gelişkindi ve yer yer hücreler arası aralığın açıldığı ilgiyi çekiyordu. Lamina propria'da yaygın kollagen lif demetleri belirgindi (Resim 2e) ve gelişkin stromal hücreler ayırt ediliyordu (Resimle gösterilmemiştir). Düz kas hücrelerinin proöstrusa karşın daha hipertrofik olduğu belirgindi. Çekirdek çevresi sitoplazmada mitokondriyonlar irili ufaklıydı. Sarkolemanın hemen altında ise miyofibriller uzanıyordu (Resim 2f). Östrus evresindeki bu yapısal değişimlerin folliküler evre (geç proliferasyon) gelişimiyle oldukça uyumlu olduğu ve proöstrus evresindeki değişimlerin artarak devam ettiği düşünüldü.

Metaöstrus evresindeki deneklerin uteruslarının yarı ince kesitlerinde epitel boylarının diğer iki gruba karşın daha kısaldığı gözlemlendi. Yalancı bezler ve uterus bezleri oldukça gelişkindi. Uterus bezlerinin lümenlerinin oldukça genişlemiş olduğu, içlerinin de az yoğun salgı maddesi ile dolu olduğu

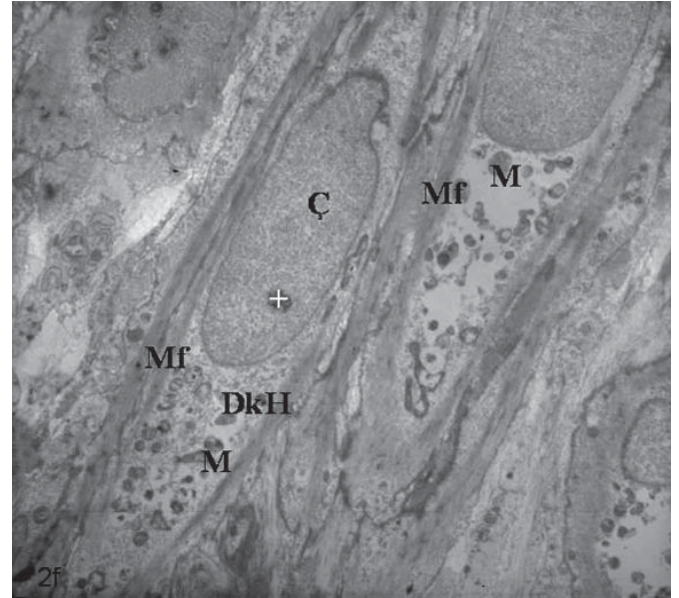


**Resim 2c-d:** Östrus evresi, epitel hücreleri. c) Mikrovilluslar (Mv), mitokondriyonlar (M), bağlantı birimleri (⊗); d) Apoptotik hücre ve cisimler (A) görülüyor. (Uranil asetat- Kurşun sitrat, X3000)

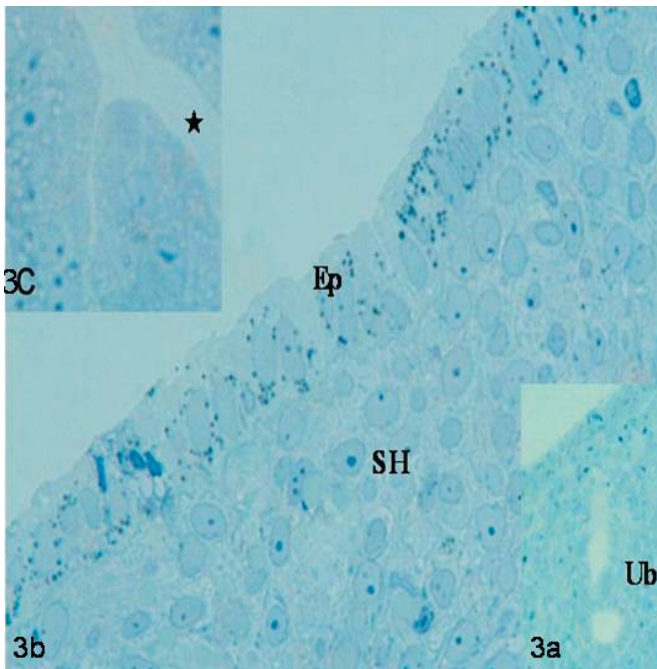




**Resim 2e:** Östrus evresinde, epitel hücreleri arasındaki interdigitasyonlar (İnt), kollagen lifler (Ko), hücreler arası aralıkta açılmalar (X) izleniyor. (Uranyl asetat- Kurşun sitrat, X3000).



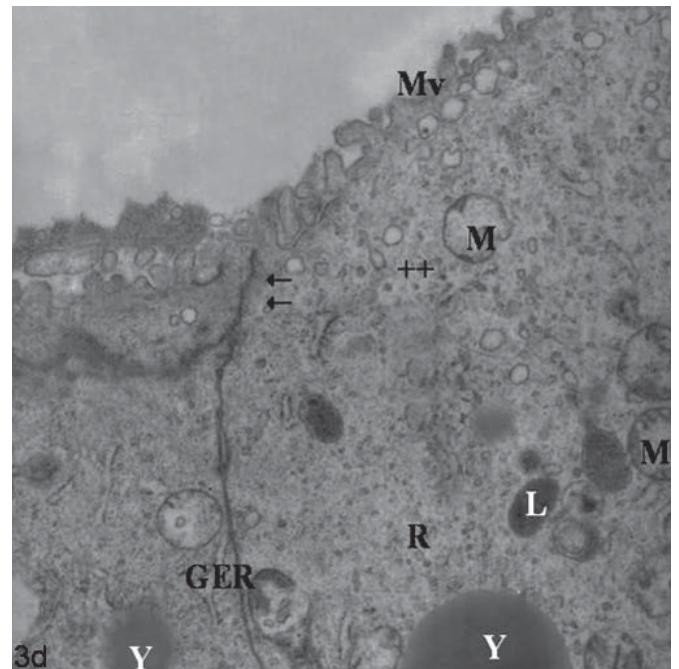
**Resim 2f:** Östrus evresinde, stroma. Çekirdek (Ç), çekirdekçik (+), mitokondriyonlar (M), miyofibriller (Mf), düz kas hücreleri (DkH) izleniyor. (Uranyl asetat- Kurşun sitrat, X3000).



**Resim 3a-b-c:** Metaöstrus evresi, yarı ince kesit. a) Uterus bezleri (Ub); b) Epitel (Ep), stromal hücreler (SH); c) Yalancı bezler (★) görülüyor. (Toluidin mavisi, a; X100, b; X400, c; X100).

dikkati çekiyordu. Lamina propria'da yaygın stromal hücre varlığı belirgindi (Resim 3a-b-c).

Küçük büyültmeli elektron mikroskopik incelemelerinde epitel hücrelerine ait mikrovillusların boylarının oldukça kısa olduğu, yer yer değişik şekilde genişlemeler gösterdikleri ayırt ediliyordu (Resimle gösterilmemiştir). Büyük büyültmeli incelemelerde apikal sitoplazmada granülsüz endoplazmik

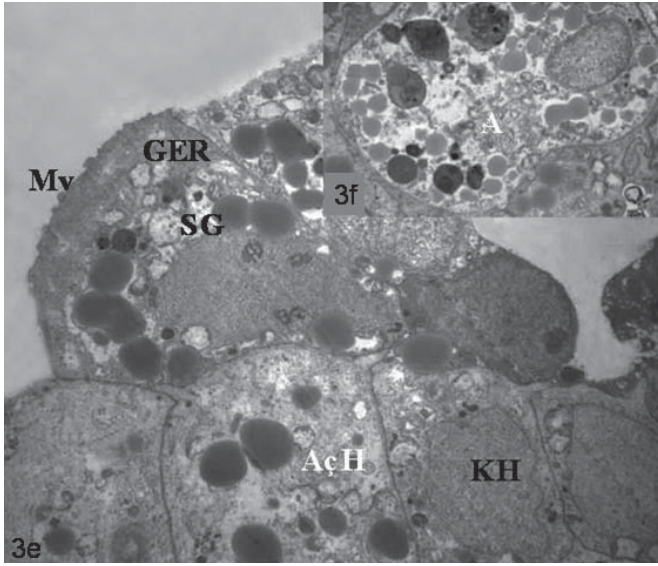


**Resim 3d:** Metaöstrus evresinde, epitel hücrelerinde mitokondriyonlar (M), mikrovilluslar (Mv), yağ damlacıkları (Y), lizozomlar (L), granüllü endoplazmik retikulum (GER), granülsüz endoplazmik retikulum (++) ve bağlantı birimleri (X) izleniyor. (Uranyl asetat- Kurşun sitrat, X3000).

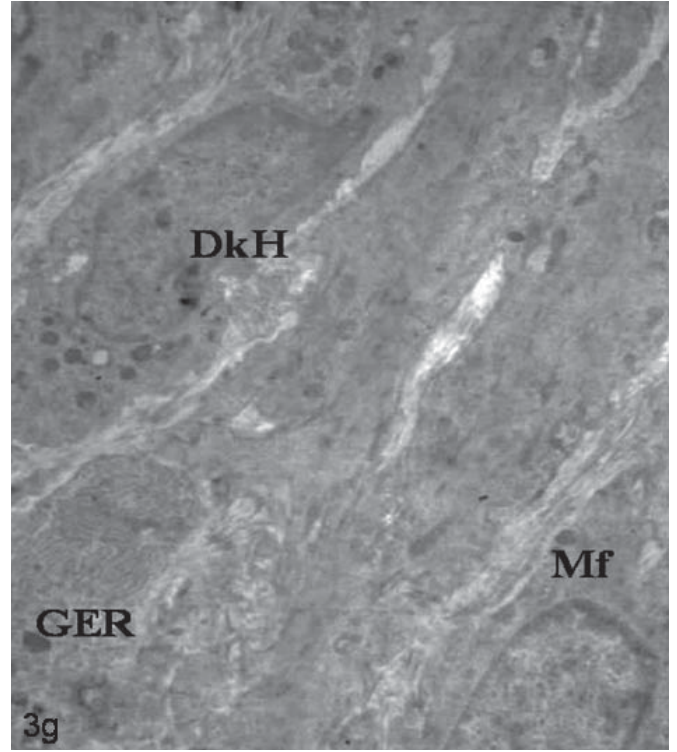
retikulum tubuluslarının yaygın olduğu saptandı. Yer yer kısa GER tubulusları izleniyordu. Mitokondriyonlardan bazılarında yine kristolizis belirgindi. Yer yer irili ufaklı yağ damlacıkları gözlemleniyordu. Serbest ribozomlar yaygındı. Tek tük primer lizozomlar izleniyordu. Apikal bölüme yakın yan hücre zarlarında bağlantı birimleri belirgindi (Resim 3d). Bez hücreleri açık ve koyu hücreler şeklindeydi. Mikrovilluslar kısa ve küttü. Sitoplazmada GER tubulusları yer yer genişlemiş va-



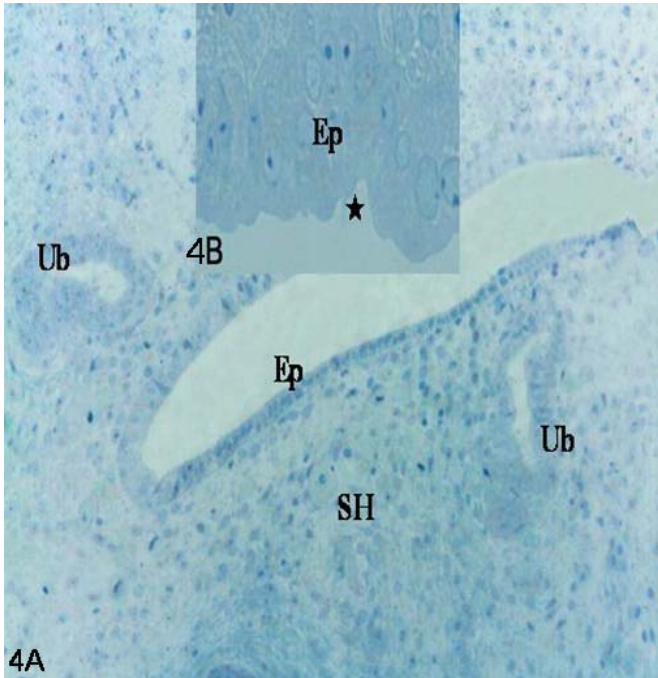
kuolümsü yapıdaydı. Salgı granülleri iri ve oldukça yoğundu.



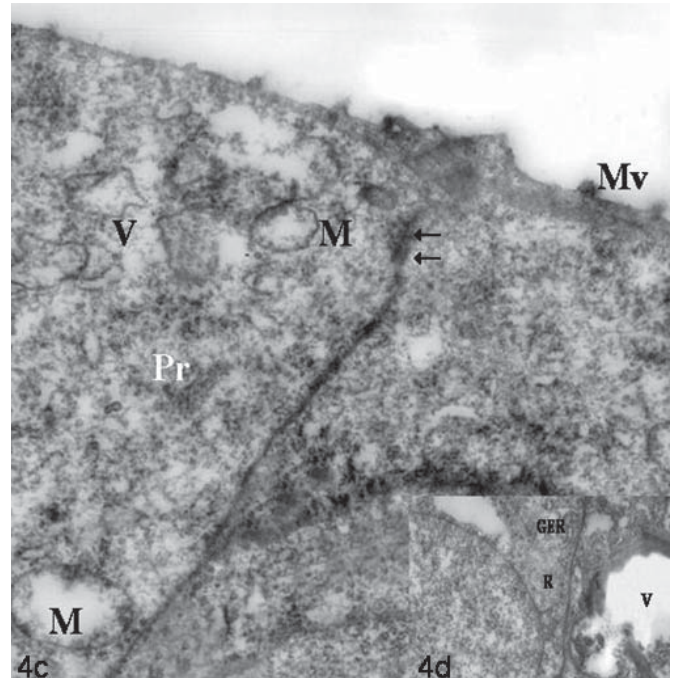
**Resim 3e-f:** Metaöstrus evresi, epitel hücreleri. e) Apoptotik cisimler (A); f) Mikrovilluslar (Mv), granüllü endoplazmik retikulum (GER), salgı granülleri (SG), açık (AçH) ve koyu hücreler (KH) görülüyor. (Uranyl asetat- Kurşun sitrat, X3000)



**Resim 3g:** Metaöstrus evresi, stroma. Granüllü endoplazmik retikulum (GER), düz kas hücreleri (DkH) ve miyofibriller (Mf) görülüyor. (Uranyl asetat- Kurşun sitrat, X3000)



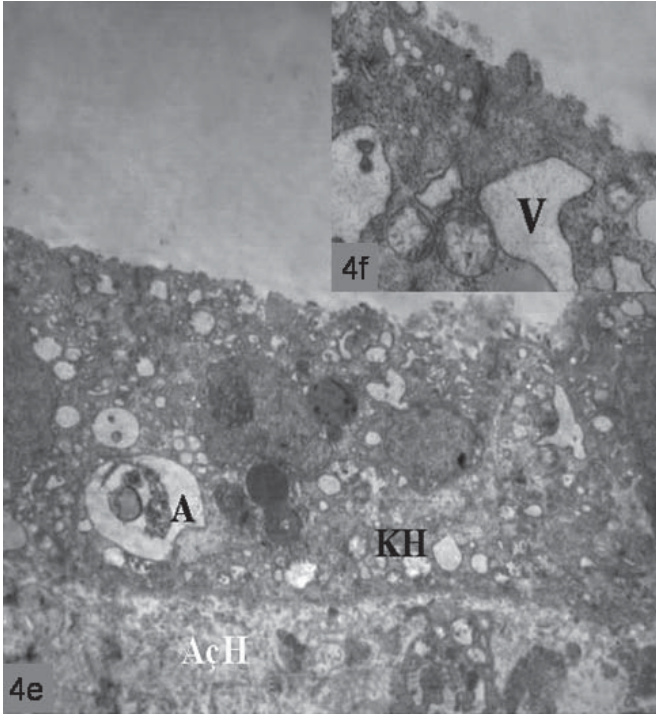
**Resim 4a-b:** Diöstrus evresi, yarı ince kesit. a) Epitel (Ep), uterus bezleri (Ub) ve stromal hücreler (SH); b) Epitel (E) ve yalancı bezler (★) izleniyor. (Toluidin mavisi, X400)



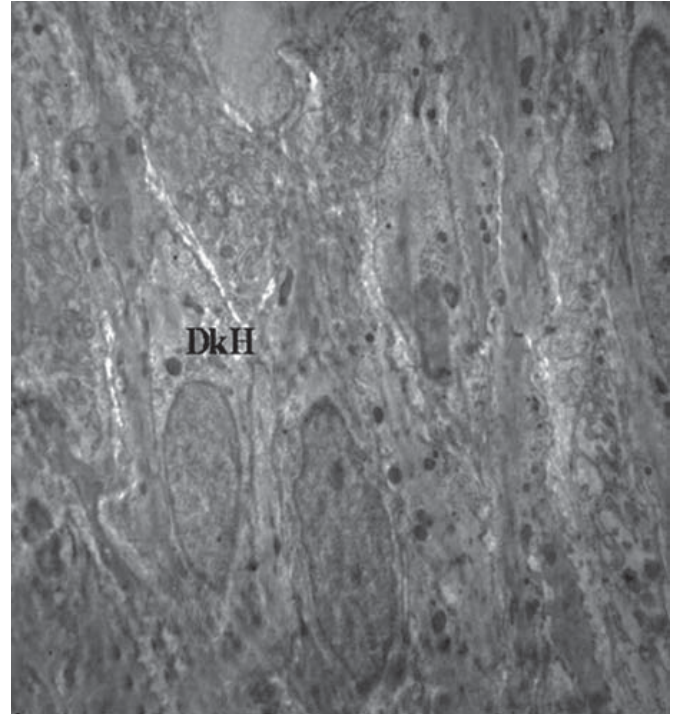
**Resim 4c-d:** Diöstrus evresi, epitel hücreleri. c) Mikrovilluslar (Mv), mitokondriyonlar (M), bağlantı birimleri (⊗), poliribozom (Pr), vakuoller (V) görülüyor; d) Diöstrus evresinde, mitokondriyon (M), ribozomlar (R), granüllü endoplazmik retikulum (GER) ve vakuol (V) izleniyor. (Uranyl asetat- Kurşun sitrat, X12000)

Bazı bez hücrelerinde yaygın apoptotik cisimciklerin varlığı dikkat çekiyordu (Resim 3e-f). Aynı gruba ait lamina propria incelemelerinde aktif, gelişkin stromal hücreler izleniyordu. Bu hücrelerin bazılarında apoptotik cisimcikler ayırt ediliyor-

du. Arada yaygın eozinofiller ilgiyi çekiyordu (Resimle gösterilmemiştir). Kas hücreleri diğer gruplara karşı daha yoğun sitoplazmalı olarak ayırt ediliyordu. Hücre oylumları östrus grubuna karşı daha dardı. Ancak bazı kas hücrelerinin olduk-



**Resim 4e-f:** Diöstrus evresi, epitel hücreleri. e) Sitoplazmada apoptotik cisimler (A), koyu (KH) ve açık hücreler (AçH), f) Vakuoller (V) izleniyor. (Uranil asetat- Kurşun sitrat, X3000).



**Resim 4g:** Diöstrus evresinde, düz kas hücreleri izleniyor. (Uranil asetat- Kurşun sitrat, X3000).

ça aktif olduğu ilgiyi çekiyordu. GER'un yer yer genişlediği ve içlerinin az yoğun bir madde ile dolu olduğu görülüyordu. Miyofibrillerin yaygın olarak bulunduğu ve çekirdek çevresi sitoplazma dışında tüm sitoplazmaya dağıldıkları izleniyordu (Resim 3g). Metaöstrusdaki tüm bu yapısal değişimlerin sekresyon evresi başlangıcıyla uyumlu olduğu belirlendi.

Diöstrus evresine ait uterus dokusunun yarı ince kesitlerinde epitel diğer tüm gruplara karşın son derece incelmisti. Yüksek boylu kübikten, alçak kübiğe değişkenlik gösteriyordu. Yalancı bezler oldukça az sayıda buna karşın uterus bezleri belirgindi. Uterus bez lümeni oldukça girintili çıkıntılı ve genişti. Hem uterus bezlerinin hem de yalancı bez epitel hücrelerinin boyları yüzey epiteline oranla daha yüksek boylu prizmatikti. Stromada iri stromal hücreler ayırt ediliyordu (Resim 4a). Bu grupta mukoza katlantılarının oldukça sık olduğu yer yer de hiç gözlenmediği ayırt ediliyordu (Resim 4b).

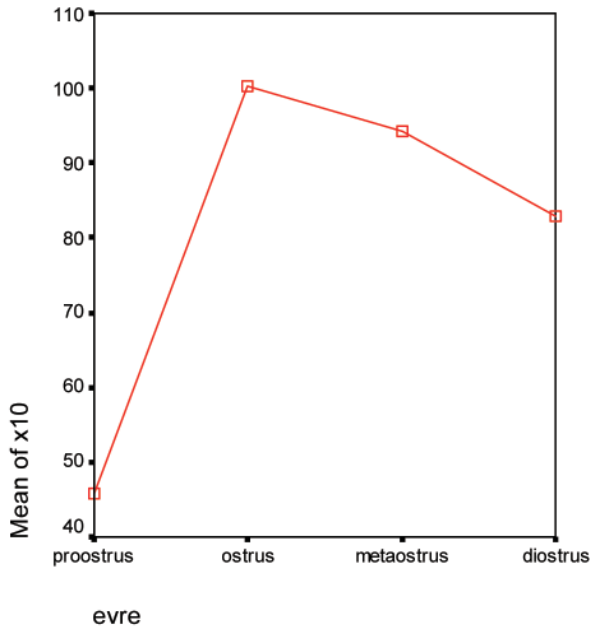
Diöstrus evresine ait küçük büyültmeli elektron mikroskopik incelemelerde yüzey epitel hücrelerinin apikal yüzlerinde mikrovillusların son derece az sayıda ve kısa, künt çıkıntılar şeklinde olduğu izleniyordu (Resimle gösterilmemiştir). Büyük büyültmeli incelemelerde apikal yüze yakın hücre yan yüzlerinde bağlantı birimlerinin belirginliği ayırt ediliyordu. Apikal sitoplazmada irili ufaklı vakuoller, yer yerde kristolizis gösteren genişlemiş mitokondriyonlar ilgiyi çekiyordu. Poliribozomlar yaygındı. Epitel hücrelerinin bazal bölümlerinde kısa ve yer yer genişlemiş GER tubulusları ve yaygın serbest ribozomlar ilgiyi çekerken, oldukça iri vakuoller de ayırt ediliyordu (Resim 4c-d). Uterus bez hücrelerinin oldukça aktif yapı sergilediği izleniyordu. Sitoplazmada genişlemiş GER tubulusları, apoptotik cisimcikler ve apoptotik hücreler

ayırt ediliyordu. Hücre yan yüzlerinin yer yer genişlediği ilgiyi çekmekteydi. Bazı bez hücrelerinde koyu ve açık renk sitoplazma ayrımı olduğu dikkati çekti. Koyu renk hücrelerin apoptoze giden hücreler olabileceği düşünüldü. Bu hücrelerin sitoplazmalarında yaygın apoptotik cisimcikler ve vakuoller izleniyordu (Resim 4e-f). Lamina propria'da iri gelişkin yapı sergileyen stromal hücreler arada yaygın kollajen lifler ve eozinofiller görülüyordu. Stromal hücrelerde GER tubuluslarının aşırı derecede genişlediği ve az yoğun bir maddeyle dolu olduğu dikkati çekti (Resimle gösterilmemiştir). Kas hücrelerinin metaöstrus grubuna karşın oylumca daha küçük ancak daha kalın katman oluşturdukları dikkati çekti (Resim 4g). Bu gruba ait yarı ince ve ince kesitlerinde, gerek epitel hücreleri gerekse bez ve lamina propria'daki hücrelerde gözlemediğimiz yapısal özellikler insan sekresyon evresi ile uyumlu bulunmuştur.

#### İstatistiksel Bulgular:

Uterus epitel uzunlukları, dokuların kalın kesitlerinde incelenerek, Leica foto ışık mikroskopunda Qwin İmage Analyzer sistemi ile ölçüldü. Farklı menstrüal evrelerden alınan doku örneklerinde uterus tüm epitel uzunluğu X10'luk büyültmede ve miyometriyum uzunluğu X4'lük büyültmede ölçülerek değerlendirildi (Grafik 1-2). Sonuçların SPSS programı kullanılarak istatistik analizler yapıldı. Uterus epitelinde bulunan uzunluk sonuçlarına ait veriler ANOVA testi ile değerlendirildi ve sonuç tüm epitel ve miyometriyum uzunlukları arasında fark olduğunu gösterdi. Evrelerin birbiri ile farklılık oranları belirlendi.  $P < 0,05$  anlam aralığında değerlendirildi ve anlamlı bulundu. Bulunan anlamlı ANOVA sonucunda hangi gruplar arasındaki farkların anlamlı farklara işaret ettiğini bul-





**Grafik 1:** Evrelere göre epitel boyu ortalamaları.

mak amacıyla Tamhane ve Dunnet T3 testleri uygulandı. İkili farklardan, X10 büyültme altında, proöstrus - östrus - diöstrus evrelerine ait epitel uzunluk ortalamaları arasındaki farklar anlamlı bulundu. X4 büyültme altında, proöstrus - metaöstrus evreleri arasındaki miyometriyum kalınlık ortalamaları anlamlı olarak farklıydı. (Tablo 1 - 2).

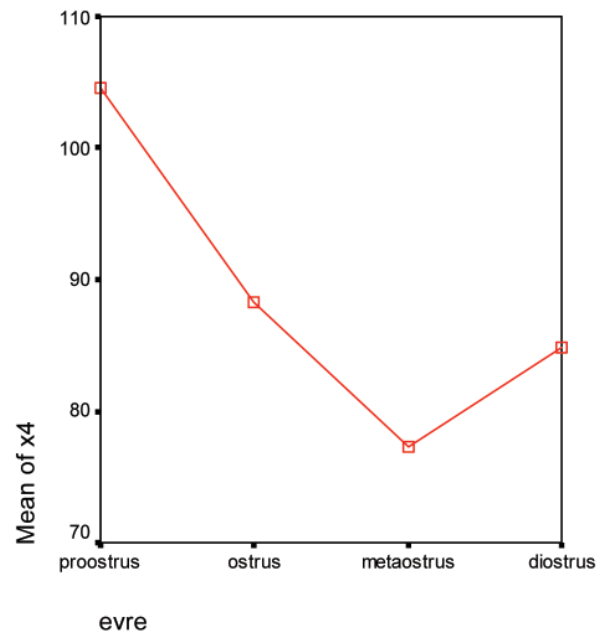
## TARTIŞMA VE SONUÇ

Menstrüel döngü sırasında, endometriyum'un fonksiyonel katmanını oluşturan yapıların ve hücrelerin çoğalması, farklılaşması ve ölümü ovaryumdan salgılanan hormonların denetimi altındadır. Sıçanlar üzerinde yapılan çalışmalarda, östrojen ve progesteron'un etkisi altında menstrüel döngünün 4 gün sürdüğü ve proöstrus, östrus, metaöstrus ve diöstrus evrelerinden oluştuğu belirlenmiştir. Bu süreçte uterus, hücreler arası bağlantı birimlerini de içeren çeşitli yapısal ve biyokimyasal değişikliklere uğramaktadır (3).

Biz de çalışmamızda sıçanlarda proöstrus, östrus, metaöstrus ve diöstrus evrelerinde uterusda olaylanan yapısal değişiklikleri ışık ve elektron mikroskop düzeyinde göstermeye çalıştık.

Uterus'un da içinde olduğu epitel doku ile dōşeli birçok organda hücreler arası bağlantı birimleri özellikle de sıkı bağlantı birimleri üzerinde çalışmalar yapılmış, sıkı bağlantı birimlerinin dinamik yapılar olup (4,5,6,7) yapı ve işlevleri üzerine ovaryum hormonlarının etkili oldukları belirlenmiştir (8). Mendoza-Rodriguez ve ark. proöstrusta sıkı bağlantı proteinlerinin belirgin olarak arttığını bildirmişlerdir (4).

Biz çalışmamızda proöstrus evresinde epitel hücre yan yüzlerinde ince yapı düzeyinde normal görünüm sergileyen sıkı ve ara bağlantı birimleri ile bazale doğru interdijitasyonları saptadık. Hücreler arası aralıklar ve terminal ağ bölgesi



**Grafik 2:** Evrelere göre miyometriyum kalınlık ortalamaları.

de normal yapı sergiliyordu. Östrus evresinde nokta gibi küçük sıkı bağlantı birimlerini apikale yakın bölgede de izledik. İnterdijitasyonlar ise proöstrus grubuna göre daha gelişkindi. Ancak bu evrede ve diöstrus evresinde hücreler arası aralıkta yer yer açılmalar saptadık. Metaöstrus ve proöstrus evrelerinin sıkı bağlantı birimlerinde ise yapısal olarak bir bozulma ya da diğer evrelere göre bir değişim belirlemedik.

Goranova ve ark. silli fibroblastlar ve miyometriyum kas hücrelerini elektron mikroskopik olarak incelemişlerdir. Proöstrus evresinde endometriyumun silli fibroblast hücreleri daha az sayıda bulunmuş, silyalarının tek olduğu ve Golgi kompleksine yakın yerleşimli bazal cisimcikten çıktığı belirlenmiştir. Bu evrede düz kas hücrelerinin sayısının arttığını gözlemlemişlerdir. Her iki hücre doğumdan erişkin döneme değin sayısal olarak değişime uğramaktadır (9).

Bizim çalışmamızda endometriyumda, özellikle düz kas hücreleri, fibroblastlar ve eozinofil lökositler ayırd edilmiştir. Fibroblastlar, sitoplazma ve çekirdekleri oldukça yoğun olarak boyanan, GER tubulusları salgı içeriği ile dolu aktif hücreler olarak belirlenmiştir. Düz kas hücreleri ise uzun iğ şekilli, çekirdekleri hücre şekline uyumlu olarak izlenmiştir. Bu hücrelerin çalışmamızdaki gruplar arasında belirgin bir ince yapı değişimi sergilemedikleri saptanmıştır.

Spornitz ve ark. sıçanlarda uterus yüzey epitelinin menstrüel döngü değişikliklerini tarayıcı elektron mikroskopik olarak incelemişlerdir. Menstrüel dönemleri vajinal smear ve eş zamanlı alınan kan E2, P, FSH ve LH düzeyleri ile belirlemişlerdir. Proöstrusta LH'nin E2'nin yükselmesinden hemen önce döngüdeki en yüksek değerine ulaştığı, FSH'nin ise yavaş bir artışla orta seviyeye kadar yükseldiği, E2 en yüksek düzeyine ulaştığı progesteronun bu evrenin sonunda en yüksek ikinci değerinde olduğu görülmüştür. Çalışmalarında Proöstrus evresinde gerçek uterus bezlerinin oldukça belirgin olduğunu ve

lūmen çevresinde halkasal olarak yerleştğini, yalancı bezlerin ışınsal yerleşimli olduğunu ve stromadaki bezlerin kanallarıyla ilişkileri bulunmadığını saptamışlardır. İki bez arasındaki bir diğer ayrıcalığın bezlerin ve bezi oluşturan hücre boyutlarının farklılığı olduğu belirtilmiştir. Gerçek bez hücrelerinin genellikle çevrelerindeki epitel hücrelerinden daha küçük olduğu, daha kısa ve yoğun mikrovilluslar içerdikleri, menstrüel döngüde iyi görülebilen yapılar olan yalancı bezlerin uterus boşluğunda herhangi bir şişlik oluşturmayıp ve uzun mikrovilluslara sahip olduklarını saptamışlardır. Salgı ürünleri azdır (10).

Bizim çalışmamızda menstrüel döngü vajinal smear (PAP) yöntemi ile belirlenmiştir. Uterus ve bez hücreleri kübik yada prizmatik şekilli olarak saptanmıştır. Mikrovillusların boy ve sayılarında gruplar arasında önemli farklılıklar görülmüş-

tür. Proöstrus evresinde yüzey epitel hücrelerinde sık ve kısa mikrovilluslu hücreler izlenirken, östrus evresindeki mikrovillusların daha az ancak daha uzun oldukları saptanmıştır. Mikrovillusların boy ve sayılarında gruplar arasında önemli farklılıklar görülmüştür. Bununla birlikte metaöstrus ve diöstrus evrelerinde uterus epitel hücrelerinde mikrovillusların boylarının oldukça kısa olduğu ve yer yer değişik şekilde genişlemeler gösterdikleri ayırt edilmiştir. Bu evredeki gerçek bezlerin epitel hücrelerinde ise mikrovillusların neredeyse hiç görünmedikleri saptanmıştır. Epitel hücrelerinin boyları arasında da yine gruplara göre değişiklikler saptanmıştır. Proöstrus evresinde uterus yüzey epitel hücre boyunun yalancı bez epitel hücrelerine göre daha yüksek boylu oldukları, diöstrus evresinde ise hem yalancı hem de gerçek bez epitelinin yüzey epiteline oranla daha yüksek boylu prizmatik oldukları

**Tablo 1:** Evrelere göre farklılıkların incelendiği betimsel istatistik sonuçları.

		Sayı	Ortalama	Standart Sapma
<b>x10 (epitel boyu)</b>	proöstrus	4	45,7560	2,22064
	östrus	4	100,2910	9,33841
	metaöstrus	4	94,2935	26,46703
	diöstrus	4	82,7880	11,35330
	Toplam	16	80,7821	25,74314
<b>x4 (miyometriyum kalınlığı)</b>	proöstrus	4	104,5050	5,39056
	östrus	4	88,2365	15,98755
	metaöstrus	4	77,2835	10,31902
	diöstrus	4	84,7900	10,35083
	Toplam	16	88,7037	14,32339

**Tablo 2:** ANOVA Tek Yönlü Varyans Analizi Tablosu.

		Kareler Toplamı	Serbestli Derecesi (sd)	Kareler Ortalaması	F	P
<b>x10</b>	<b>Gruplar Arası</b>	7176,026	3	2392,009	10,383	,001**
	<b>Gruplar İçi</b>	2764,615	12	230,385		
	<b>Toplam</b>	9940,641	15			
	<b>Gruplar Arası</b>	1582,549	3	527,516	4,235	,029**
<b>x4</b>	<b>Gruplar İçi</b>	1494,845	12	124,570		
	<b>Toplam</b>	3077,394	15			

\* Her iki ANOVA sonucu da  $p < 0,05$  düzeyinde anlamlıdır



gözlemlenmiştir. Metaöstrus ve östrus evrelerinde ise bu oran tersine dönmüştür.

Yapılan çeşitli çalışmalar uterus epitel hücreleri çoğalma farklanma ve ölümlerinin östrojen ve progesteron hormonlarıyla düzenlendiğini ortaya koymuştur. Sato ve ark. östrus döngüsünde uterusdaki apoptozisi araştırmışlar, uterus yüzey epitel hücrelerinde proöstrus ve östrus evrelerinde çoğalma erkini oldukça yüksek bulmuşlardır. Bu bulgunun nedeni olarak serum östrojen düzeyinin proöstrusta en yüksek düzeyde olması gösterilmiştir. Bu evrede uterus yüzey epitel hücre boylarının yükselmeye başladığı, bez epitel hücrelerinde ise mitotik erkin artarak en yüksek düzeye ulaştığı saptanmıştır. Yüzey ve bez hücrelerinde apoptozis bu evrede gözlenmemiştir (11). İnsanda ise apoptozis menstrüel döngünün sekresyon evresinde izlenir. Hopwood ve ark. sekresyon evresinin sonunda premenstrüel ve menstrüel evrede endometriyumda çok sayıda apoptotik hücre gruplarına rastlamışlardır (12).

Rumpel ve ark. uzun süre progesteron antagonisti uygulanan sıçanların uteruslarını elektron mikroskopik olarak incelemişlerdir. Proöstrus evresinde uzun dönem progesteron antagonisti uygulanan sıçanlarda uterus lümen epitelinde mitotik erk, apoptozisde artış ve granülosit invazyonu izlenmiştir. Miyometriyum kalınlığında artış, miyositlerde hipertrofi ve GER tubuluslarında genişleme saptanmıştır. Progesteron uterus epitel hücrelerinde östrojen uyarısıyla oluşmuş mitoz baskılar. Uterus epitel hücrelerinde apoptozisi arttırdığı bilinen progesteron antagonistine etkin bırakılan ratlarda yüzey epitelinde çoğalma görmüşlerdir. Mitoz erkindeki artış araştırmacılarca apoptozisle ölen hücrelerin yerini olasılıkla, mitozla çoğalan yeni hücrelerin alması olarak açıklanmıştır (13).

Bizim çalışmamızda da proöstrus grubunda miyometriyumda bir kalınlaşma izlenmemiş miyometriyumdaki kalınlaşma östrus evresinde saptanmıştır. Epitel boyunun yükseldiği, epitelin sıkıca paketlenmiş çok sayıda prizmatik hücreden oluştuğu saptanmıştır. Yine bu evrede apoptotik hücre yada cisimcik izlenmemiştir.

Östrus evresinde LH en düşük, FSH ise en yüksek düzeyindedir. E2 östrusun ortasında siklustaki ikinci en düşük seviyesindedir ardından tekrar yükselmeye başlar. Progesteron orta düzeydedir, evrenin sonunda yükselmeye başlar (10).

Östrus evresinde uterus'un incelendiği immunohistokimyasal çalışmalarda, bu evrede yüzey epitelinin boyunun en yüksek düzeye ulaştığı, mitozun metaöstrus, diöstrus ve proöstrusta yüksek olduğu ancak bez epitelinde mitoz hızının metaöstrus ve diöstrus evrelerinde arttığı gösterilmiş, her iki hücre grubunda apoptotik indeksin östrus evresinde en yüksek düzeye ulaştığı bildirilmiştir (4). Sato ve arkadaşlarının çalışmasında da yüzey epitelinin boyunun en yüksek düzeye östrusta ulaştığı, mitozun östrus döneminde, apoptotik indeksin ise metaöstrusta en yüksek değerine çıktığı bildirilmiştir. Araştırmacılar bez epitel hücrelerinde mitozu en yüksek proöstrus, en düşük östrus evresinde, yüksek apoptozis hızını ise östrus evresinde saptamışlardır (11). Östrus evresinde yüzey epitelinin çoğalma ve oylumu artar, hücre yan yüz sınırlarını saptamak zorlaşır. Tüm epitel hücre yüzeyi bu evreye özgü

salgılamının yoğunluğuna koşut olarak bir araya gelmiş, apikal bölgelerinde balonsu şişlikler olan mikrovilluslarla kaplıdır. Yalancı bezler östrus süresince belirgin şekilde saptanır (10).

Russel ve ark. yaptıkları çalışmada diöstrus ve östrus evrelerindeki sıçanların uterus düz kas hücreleri ve fibroblastlarını incelemişlerdir. Östrus evresinde miyometriyum düz kas hücrelerinde GER ve Golgi kompleksinde genişleme gözlenmiş, az yoğun materyal ile dolu olduklarını saptamışlardır. Mitokondriyonlar bu organeller arasına dağılmıştır. Düz kas hücre yüzeyleri katlantılar ile dalgalı şekilde belirlenmiş, yoğun miyoflament içerikleri ile kolayca fibroblastlardan ayrılabilirlikleri bildirilmiştir (14).

Bir diğer çalışmada östrus evresinde endometriyum silli fibroblast hücrelerinin arttığı, düz kas hücrelerinin az miktarda bulunduğu belirlenmiştir (9).

Çalışmamızda östrus evresinde yüzey epitel hücrelerinde apoptozise giden hücreler, mikrovilluslarda sayıca azalma ve boylarında artış, apikalde yerleşik küçük bağlantı birimleri, gelişkin interdijitasyonlar ve hücreler arası aralıkta açılmalar izlenmiştir. Diğer gruplara oranla daha yoğun matriksli mitokondriyonlar ile yaygın serbest ribozomlar ve kısa GER tubulusları saptanmıştır. Lamina propria'da yaygın kollojen lif demetleri ve gelişkin stromal hücreler ayırt edilmiştir. Düz kas hücrelerinde ise hipertrofi izlenmiştir. Metaöstrus evresinin sıçanlarda 6-8 saat sürdüğü ve çok sayıda lökositin aktive olduğu bilinmektedir. Bu evrede LH ve FSH düzeyleri düşüktür. E2 evrenin ilk üçte ikilik bölümünde düşüken son üçte birde orta düzeye yükselir. Östrusun sonunda yükselmeye başlayan progesteron döngüdeki ikinci yükselişini bu evrede yapar (10). Daha önce yapılmış çeşitli çalışmalarda epitel katlantıları azdır. Uterus bezleri sayı ve boyut olarak azalmış tüm yüzeye yayılmış yalancı bezler ise artmıştır. Epitel hücrelerindeki mikrovilluslar kısalmıştır (10). Lümen içeriğinde belirgin bir azalma izlenir (4). Yüzey epitelinin yüksekliği değişmediği ve mitotik erki düşük olduğu vurgulanmış, apoptotik uterus yüzey ve bez epitel hücrelerine en yoğun bu dönemde rastlanmıştır (11). Endometriyumun silli fibroblast hücreleri ve düz kas hücrelerinin az miktarda bulunduğu belirlenmiştir (9).

Bizim çalışmamızda metaöstrus evresinde yüzey epitel hücrelerinin kısa mikrovilluslu oldukları, granülsüz ve granüllü endoplazmik retikulum tubuluslarının apikal sitoplazmada yerleşik oldukları, mitokondriyonların bazılarında belirgin kristolizis olduğu, irili ufaklı yağ damlacıklarının ve yaygın serbest ribozomların varlığı, primer lizozomlar ve normal yapılarındaki yan yüz bağlantı birimleri dikkati çekmiştir. Bez epitel hücrelerinde ise açık ve koyu olmak üzere iki tip hücre saptanmıştır. Bu hücrelerin sitoplazmalarında genişlemiş vakuolümsü GER tubulusları ve salgı granülleri ayırt edilmiştir. Bunların bazılarında da yaygın apoptozis izlenmiştir. Yaygın eozinofil lökositler, yoğun sitoplazmalı, zengin miyofibriller kapsayan kas hücreleri ayırt edilmiştir.

Sıçanlarda menstrüel evrenin 55-57 saat süren ve döngünün yarısından fazlasını kapsayan evresi diöstrus evresidir (15). LH VE FSH en düşük düzeydedir. Estrojen evrenin başında

düşükken sonuna doğru yükselmeye başar. Progesteron metöstrusda başladığı düşüşünü sürdürmektedir (10). Düşük östrojen ve progesteron hücreselektivitedeki düşüşle uyumludur. Mitozdaki düşüşe koşut apoptotik indeks de en düşük seviyesindedir. Bu evre dinlenme evresi olarak da isimlendirilebilir. Diğer evrelerden ayrıcalıklı olarak lümende enine katlantı az miktarda, uzunlamasına katlantı ise hemen hiç bulunmamaktadır. Yalancı bezlerin orta çukurlukları yenilenmiş yani normal yüzey epiteline dönmeye başlamıştır. Poligonal ve kübik şekilde izlenen epitel hücreleri en kısa boylarındadır. Mikrovilluslar yüzey epitelinde farklı uzunlukta, yalancı bezlerde ise uzun olarak izlenmektedir (10,11).

Goranova ve ark. yaptığı çalışmada endometriyum silli fibroblast hücrelerinin en yoğun diöstrus evresinde olduğu bildirilmiştir (9). Ross ve ark. aynı evrede düz kas hücrelerini uzun iğ, şeklinde ve büyük çekirdeğe sahip olarak izlenmiştir (14). Diöstrusda olgun ve olgun olmayan düz kas hücreleri gebe olmayan insan uterusuna benzemektedir (16,17).

Bizim çalışmamızda diöstrus evresinde yüzey epitel hücrelerinin diğer gruplara karşın son derece incelendiği saptanmıştır. Bez epitel hücrelerinin ise daha yüksek boylu oldukları ve bezlerin lümenlerinin genişlemiş olduğu dikkati çekmiştir. İnce yapı düzeyinde ise mikrovillusları son derece kısa ve az, bağlantı birimleri belirgin, apikal sitoplazmalarında vakuoller ve genişlemiş kristolizis gösteren mitokondriyonlar kapsayan hücreler dikkati çekmiştir. Bu hücrelerin yaygın poliribozomlar kapsadıkları ve bazılarının apoptozise gittiği saptanmıştır. Lamina propriyada ise stromal hücreler, arada yaygın kollagen lifler ve eozinofil lökositler ile küçük oylumlu ancak kalın kas hücreleri belirlenmiştir.

Sonuç olarak, ince yapı düzeyindeki bulgularımızla sıçan menstrüel evrelerinin, insan menstrüel, proliferasyon, folliküller ve erken-geç sekresyon evreleri ile örtüştüğü, menstrüel evrede uterus değişimlerinin inceleneceği araştırmalarda sıçanların deneysel model olarak kullanılabileceği kanısına varılmıştır.

*Yazışma Adresi*

*Gülner TAKE*

*Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Abd*

*06500 Beşevler, ANKARA*

*Tel: 0 312 2024614 Fax: 0 312 2124647*

*e-mail: gtake@gazi.edu.tr*

## REFERENCES

1. Hubscher CH, Brooks DL, Johnson JR. A quantitative method for assessing stages of the rat estrous cycle. *Biotech Histochem* 2005; 80: 79-87.
2. Spornitz UM, Dravid A, Winkelmann A. Scanning electron microscopic demonstration of surface and subsurface enzymes in rat endometrium during the estrous cycle. *Scanning* 1998; 20: 224.
3. Long JA, Evans HM. The oestrus cycle in the rat and its associated phenomena. *Mem. Univ. California* 1922; 6: 1-148.
4. Mendoza-Rodriguez CA, Gonzalez-Mariscal L, Cerbon M. Changes in the distribution of ZO-1, occludin, and claudins in the rat uterine epithelium during the estrous cycle. *Cell Tissue Res* 2005; 319: 315-30.
5. Cohen E, Talmon A, Faff O ve ark. Formation of tight junctions in epithelial cells. I. Induction by proteases in a human colon carcinoma cell line. *Exp Cell Res* 1985; 156: 103-16.
6. Gilula NB, Fawcett DW, Aoki A. The Sertoli cell occluding junctions and gap junctions in mature and developing mammalian testis. *Dev Biol* 1976; 50: 142-68.
7. Alavi N, Lianos EA, Palant CE ve ark. Induction of epithelial tight junctions by a light chain protein isolated from a patient with Fanconi's syndrome. *Nephron* 1983; 35: 130-5.
8. Murphy CR, Swift JG, Mukherjee TM ve ark. The structure of tight junctions between uterine luminal epithelial cells at different stages of pregnancy in the rat. *Cell Tissue Res* 1982; 223: 281-6.
9. Goranova V, Chaldakov GN. Ciliated fibroblast and smooth muscle cells in the rat uterus. *Experientia* 1990; 46: 488-9.
10. 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.
11. Sato T, Fukazawa Y, Kojima H ve ark. Apoptotic cell death during the estrous cycle in the rat uterus and vagina. *Anat Rec* 1997; 248: 76-83.
12. Hopwood D, Levison DA. Atrophy and apoptosis in the cyclical human endometrium. *J Pathol* 1976; 119: 159-66.
13. Rumpel E, Michna H, Kühnel W. Morphology of the rat uterus after long-term treatment with progesterone antagonists. *Ann Anat* 1993; 175: 141-9.
14. Ross R, Klebanoff SJ. Fine structural changes in uterine smooth muscle and fibroblasts in response to estrogen. *J Cell Biol* 1967; 32: 155-67.
15. Feder HH. *Neuroendocrinology of Reproduction. Physiology and Behavior*. 279 Ed. T. Adler. Plenum Press. New York/London 1981
16. Rhodin JA. Fine structure of vascular walls in mammals with special reference to smooth muscle component. *Physiol Rev Suppl* 1962; 5: 48-87.
17. Van Itallie C, Rahner C, Anderson JM. Regulated expression of claudin-4 decreases paracellular conductance through a selective decrease in sodium permeability. *J Clin Invest* 2001; 107: 1319-1327.