

Erişkin Boz Ayı Ovaryumlarının Yapısal Özelliklerinin Histolojik Yönden İncelenmesi*

Nesrin ÖZFILİZ

Uludağ Üniversitesi, Veteriner Fakültesi Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı, Bursa-TÜRKİYE

Geliş Tarihi: 09.01.1996

Özet:: Bu çalışma Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Vahşi Yaşam Araştırma Merkezine rehabilitasyon amacı ile getirilen 5 erişkin Boz ayının ovaryumlarının yapısal özelliklerini incelemek amacı ile yapıldı.

Laparoskopik cerrahi yöntemi ile elde edilen ovaryumlar, ikiye bölünerek tamponlu formolde tespit edildiler. Dondurma mikrotomu ile alınan 10-15µ'luk kesitler Oil-red O ile boyandı. Parafin bloklara gömülen parçalardan elde edilen 5-7µ kalınlığındaki kesitler, Crossmon'in triple, Gomori'nin gümüşleme, Pinkus'un orcein giemsa, Mc Manus'un periodic-acide schiff (PAS) metodları ile boyandılar.

Ultrasonografi cihazı ile ovaryumun oval biçimli olduğu gözlemlendi. Histolojik muayenesinde korteksin dışta, medüllerinin içte yer aldığı tespit edildi. Ovaryum yüzeyinin girintili çıkıntılı olduğu ve dış yüzeyini tek katlı kübik epitelin örttüğü belirlendi.

Tunika albugineanın kollagen iplik demetleri ve retikulum ipliklerinden zengin olmasına karşın elastik iplik yönünden fakir olduğu saptandı. Ovaryumun korteksinde bağdoku hücrelerinin yanı sıra interstisyel hücrelerin paketler halinde bulunduğu ve lipid içerdiği tespit edildi. Kortekste primordiyal, primer, sekonder ve tersiyer folliküller ile korpus luteum ve atretik folliküller gözlemlendi.

Medüllerinin gevşek bağdoku yapısı gösterdiği, bol miktarda değişik çaplarda kan, lenf damarları ve sinir telleri içerdiği, elastik ipliklerin sadece bu yapıların çevresinde yoğun olduğu tespit edildi.

Anahtar Sözcükler: Ayı, Ovaryum, Yapı.

Histological Investigation on the Structural Aspects of Adult Brown Bears' Ovary

Abstract: This study was made to investigate the structure of the ovaries of adult Brown bears which were brought to the Wildlife Research Centre (WRC) in Bursa.

Ovaries obtained by laparoscopic surgery method, were divided into two pieces and fixated in buffered formalin. The 10-15 µ cryostat sections were stained with Oilred O stain method. The 5-7 µ sections cut from paraffin blocks stained with Crossmon's triple stain, Gomori's silver stain, Pinkus' orcein-giemsa stain and Mc Manus' periodic acide schiff (PAS) technique.

The shapes of ovaries were observed as ovoid by ultrasonografi device. In the histological examinations, it was composed of two main zones cortex and medulla. The surfaces of ovaries were wavy and lined by simple cuboidal epithelium. Tunica albuginea was rich in collagenous fibers bundles and reticulum fibers whereas poor in elastic fibers. In the cortex of ovaries, connective tissue cells were existed in addition to intersitial cells containing lipid. Primordial, primer, secondary, tertiary follicles, corpus luteum and atretic follicles were seen in the cortex of ovaries.

Medulla was consisted of loose connective tissue. Medulla contained different sizes of blood, lymph vessels and nerve fibers surrounded elastic fibers.

Key Words: Bear, Ovaries, Structure.

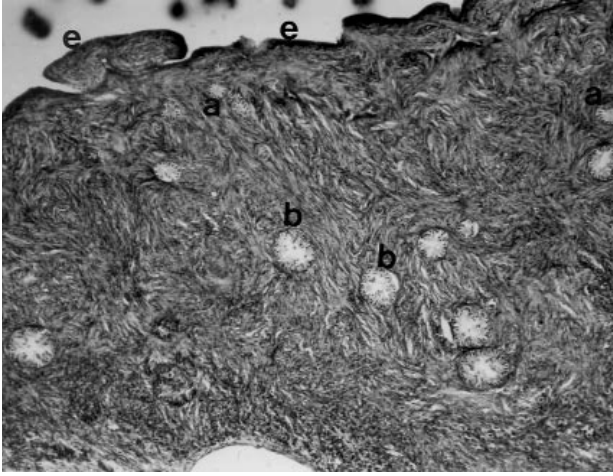
Giriş

Güneş ışınlarının bir çok endokrin fonksiyon ile birlikte üreme fonksiyonunun da düzenlediği bilinmektedir. Aşağı sınıf omurgalılarda, kanatlılarda ve evcil memeli hayvanlarda üremeyi kontrol eden fotoperiyot üzerinde yaygın olarak çalışılmıştır (1-5). Çalışmamızda materyal olarak kullanılan Boz ayıların güneş ışığından etkilenecek mevsimsel üreme özelliği gösterdiği, yılın belirli zamanlarında seksüel yönden aktif olduğu bilinmektedir. Dişi ayılarda kızgınlık (östrus) dönemi, coğrafi bölgelere göre değişmek üzere güneş ışınlarının etkili ve daha uzun süre-

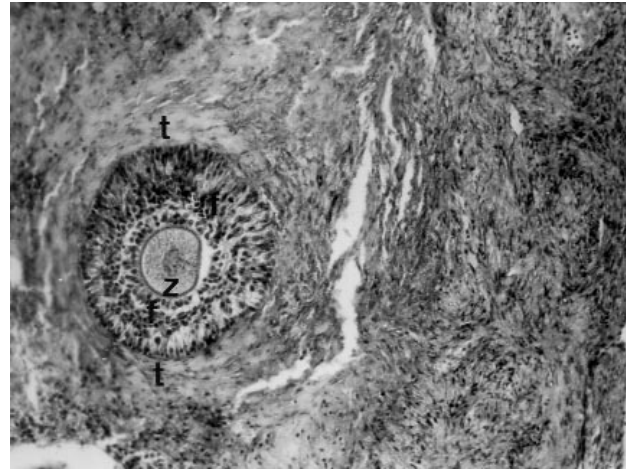
li olduğu Nisan-Mayıs ayları arasında başlar (6,7). Dişi ayılarda beslenme çok önemlidir. Yetersiz beslenme; çiftleşme mevsiminde ovulasyonunun oluşmamasına, gebelik oluşmuş ise embriyonal ve fetal ölümlere neden olabilmektedir. Boz ayılarda çiftleşme Haziran-Temmuz aylarında olmakta, embriyo Eylül-Ekim aylarında inaktif döneme girmekte, doğumlar Ocak-Şubat aylarında gerçekleşmektedir (6,8,9).

Dişi ayılar, yaz aylarında hiperfajiktir aşırı yerler. Olası bir gebelikte yeterli yağ rezervini sağlamak ve bu rezervleri kış uykusunda hem kendi hayatını, hem de yavrunun

* Bu çalışma U.Ü. Veteriner Fakültesi, Vahşi Yaşam Araştırma Merkezinde yapılmıştır.



Şekil 1. Ovaryumun korteksi, tek katlı kübik epitel (e), primordial folliküller (a), primer folliküller (b). Üçlü boyama tekniği X70.



Şekil 2. Sekunder follikül, zona pellusida (z), follikül epitelleri (f), teka follikülü (t). Üçlü boyama tekniği. X140.

hayatını devam ettirebilmek için kullanmaktadırlar. Ayrıca yavru doğduktan sonraki süt ihtiyacı da bu rezervlerden sağlanmaktadır (6,10).

Dünyada giderek soyu tükenmekte olan değişik ayı ırklarının reproduktif sistemleri ve hormonları üzerinde çalışmalar yapılmıştır. Johnston ve ark. (11) Amerikan Siyah ayılarında (*Ursus Amerikanus*) oositlerin elde edilmesi ve olgunlaşması, Tsubota ve ark. (12) Hokkaido ayılarının korpus luteumlarında steroidogenik enzimlerin gecikmiş implantasyon ile ilgisi üzerinde, Tsubota ve ark. (13) Hokkaido ayılarında korpus albicans ve plasental skarlar arasındaki ilişki üzerinde, Mc Millin ve ark. (14), Tsubota ve Kanagawa (15), Palmer ve ark. (16) seksüel aktivitenin arttığı ve azaldığı dönemlerde kandaki hormon düzeyleri ile ilgili çalışmalar yapmışlardır.

Literatürde ülkemizde yaşayan dişi Boz ayıların reproduktif organları ile ilgili herhangi bir çalışmaya rastlayamadık. Bu nedenle Boz ayıların ovaryumlarının yapısal özelliklerini histolojik ve histoşimik metodlarla incelemeyi amaçladık.

Materyal ve Metot

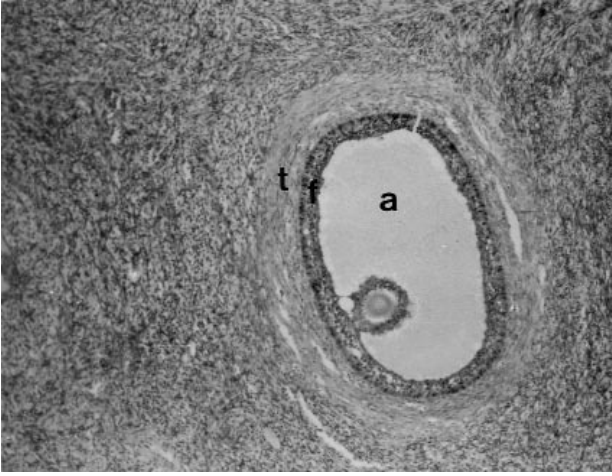
Çalışma, Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Vahşi Yaşam Araştırma Merkezine getirilen 5 erişkin dişi Boz ayı üzerinde yapıldı. Ayılar doğaya salınmadan önce laparoskopik cerrahi yöntemi ile ovariektomize edildi. Ovariektomizasyon, seksüel yönden aktif dönemin bitimi olan Temmuz ayı sonunda yapıldı. Elde edilen ovaryumlar ikiye bölünerek tamponlu formol tesbitine alındı. Dondurma mikrotomu ile alınan 10-15µ'luk kesitler Oil-

red O metodu (17) ile boyandı. Parafin bloklara gömülen parçalardan elde edilen 5-7µ kalınlığındaki kesitler Crossmon'ın triple (18), Gomori'nin gümüşleme (19), Pinkus'un orcein-giemsma (20), Mc Manus'un periodic-acide schiff (PAS) (21) metodları ile boyandılar.

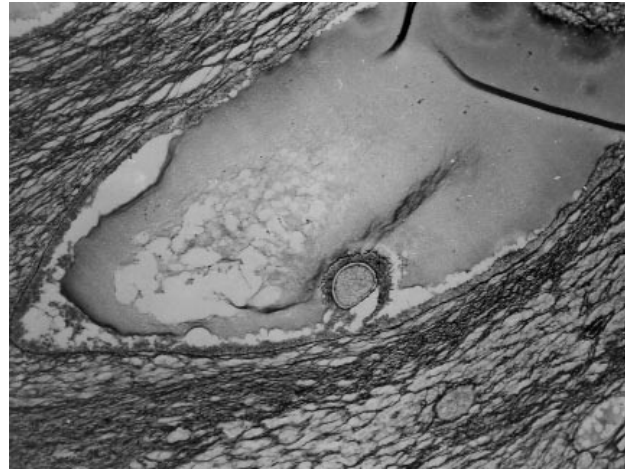
Bulgular

Ultrasonografi cihazı ile Boz ayılarda ovaryumun oval biçimli olduğu gözlemlendi. Ovaryumlar, laparoskopi metodu ile çıkartıldığından bütün olarak elde edilemedi. Ovaryumların histolojik muayenesinde korteksin dış, medüllerinin iç kısımda yer aldığı ve yaklaşık 1/3'ünün korteks, 2/3'ünün medulla olduğu tespit edildi. Ovaryumların dış yüzeyini tek katlı kübik epitelin örttüğü, yüzeyinin daha önceki ovulasyonlar nedeni ile girintili çıkıntılı olduğu tespit edildi (Şekil 1). Germinatif epitelin retikulum ipliklerinden zengin bir bazal membran üzerine oturduğu görüldü. Tunika albugineanın kollagen iplik demetleri ve retikulum ipliklerinden zengin olmasına karşın, elastik iplik yönünden fakir, bağdoku hücrelerinden zengin olduğu saptandı.

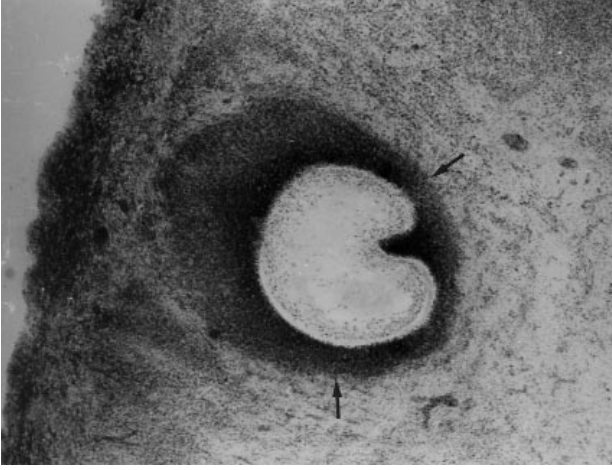
Ovaryum korteksinde bağdoku hücrelerinin yanısıra intersitisiyel hücrelerin paketler halinde bulunduğu, bu hücrelerin PAS + reaksiyon verdiği ve lipid içerdiği belirlendi. Kortekste değişik gelişme aşamalarında olan folliküllerin yer aldığı gözlemlendi. Primordiyal folliküllerin ovaryum korteksinde tunika albugineanın hemen altında yer aldığı, bu follikülde iri ökromatik çekirdekli oositi çevresinden tek katlı yassı epitel hücrelerinin örttüğü saptandı. Primordiyal folliküllerin çap ortalaması 36±4µ olarak tespit edildi. Primer folliküllede, iri ökromatik



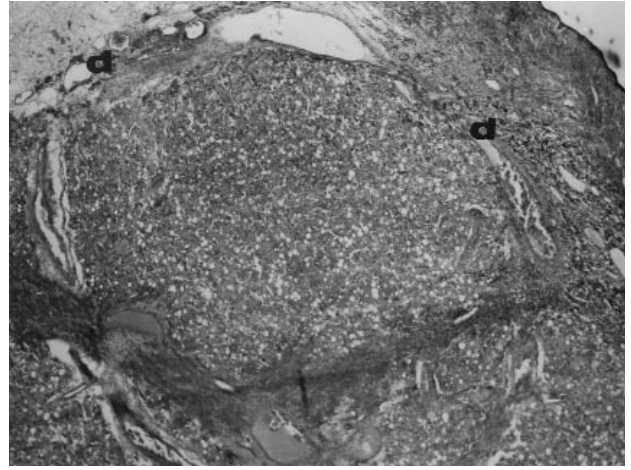
Şekil 3. Tersiyer follikül, Antrum (a), follikül epitelleri (f), teka follikülü (t), Mc Manus'un periodic acide schiff tekniği. X70.



Şekil 4. Tersiyer follikül çevresinde retikulum iplikleri. Gomori'nin gümüşleme tekniği. X70.



Şekil 5. Follikül epitelleri ve teka follikülünde lipid (oklar). Oil-red O tekniği. X28.

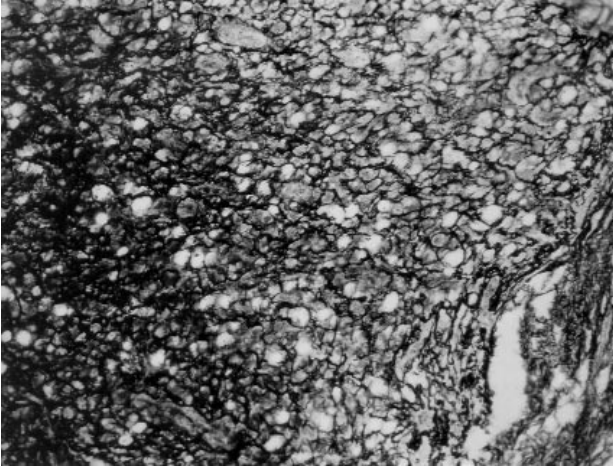


Şekil 6. Korpus luteum genel görünümü, çevresinde değişik büyüklükte damarlar (d). Üçlü boyama tekniği. X28.

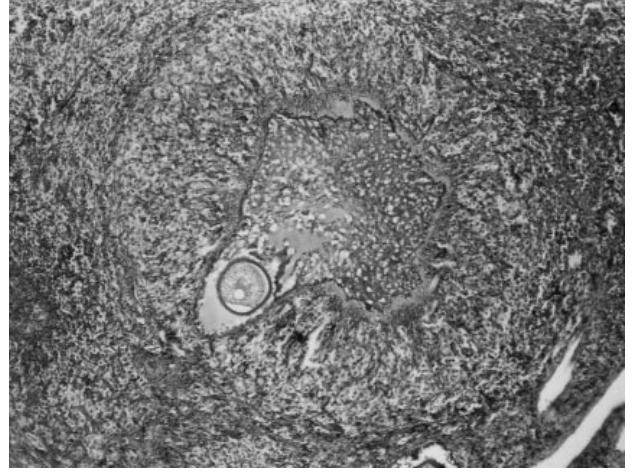
çekirdekli oositi, tek katlı kübik veya pirizmatik hücrelerin kuşattığı görüldü. Bu folliküllerin çap ortalaması $114\pm 8\mu$ olarak saptandı (Şekil 1b). Sekunder folliküllerde, oosit çevresinde PAS+reaksiyon veren zona pellusida'nın şekillendiği, bunun dışında birkaç sıralı follikül epitel hücrelerinin mevcut olduğu gözlemlendi. Follikül epitellerini ince bir teka follikülünün kuşattığı saptandı (Şekil 2t). Sekunder folliküllerin çap ortalaması $236\pm 6\mu$ olarak hesaplandı. Tersiyer folliküllerde, follikül epitellerinin eriyerek bir antrum şekillendirdiği, antrumdaki sıvının orta derecede PAS + reaksiyon verdiği görüldü (Şekil 3). Teka follikülünün internasında mekik biçimli hücreler, düz kas hücreleri ve retikulum ipliklerinin yaygın olduğu, teka follikülünün eksternasında ise, mekik biçimli hücreler ve bunların arasında daha az miktarda retikulum ipliklerinin

bulunduğu gözlemlendi (Şekil 4). Tersiyer folliküllerin çap ortalaması $910\pm 33\mu$ olarak hesaplandı.

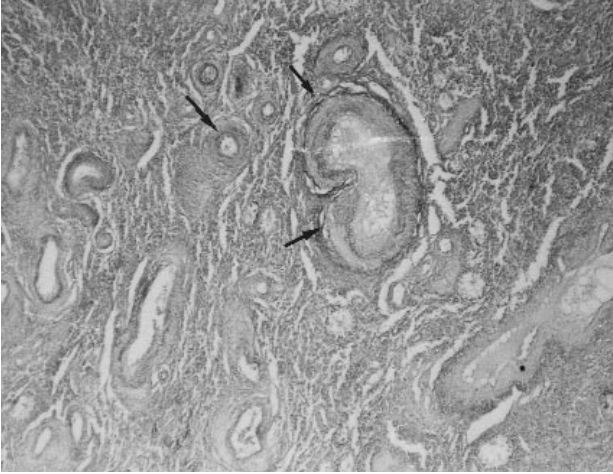
Folliküllerin değişik gelişme aşamalarının tümünde oositlerin, follikül epitellerinin ve çevrelerindeki teka follikülünün lipid yönünden zengin olduğu tesbit edildi (Şekil 5). Ovulasyon yerinde şekillenen korpus luteumların biri diğerine göre daha büyük olan iki tip hücreden oluştuğu (Şekil 6), büyük olanların orta derecede PAS + reaksiyon verdiği, bol miktarda yağ içerdiği gözlemlendi. Korpus luteumu oluşturan hücreler arasında retikulum ipliklerinin (Şekil 7), çevresinde de damarların yaygın olduğu tesbit edildi (Şekil 6d). Korpus luteum çap ortalaması $5900\pm 127\mu$ olarak hesaplandı. Gerileyerek korpus albicans oluşturan bir korpus luteumda dejenerasyon olan hücrelerden geriye PAS+reaksiyon, kollagen ve retikulum



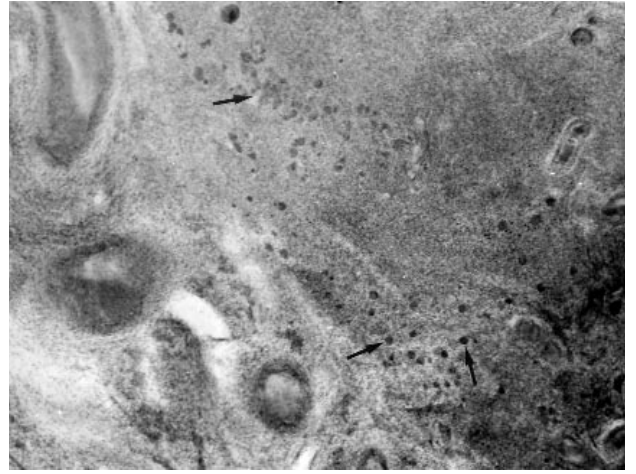
Şekil 7. Korpus luteum hücreleri arasında retikulum iplikleri. Gomori'nin gümüşleme tekniği. X140.



Şekil 8. İleri gelişme aşamasındaki bir follükülden atretik follükül oluşumu. Üçlü boyama tekniği. X70.



Şekil 9. Ovaryum medullasında damarlar çevresinde elastik iplikler (oklar). Pinkus'un giemsa-orcein tekniği. X80.



Şekil 10. Ovaryum medullasında lipid içeren hücreler (oklar). Oil-red O tekniği. X28.

ipliklerinden zengin bağdoku ve elastik ipliklerle kuşatılmış bol miktarda değişik çapta damarlar saptandı.

Gelişme aşamasının değişik dönemlerinde iken gerileyen çok sayıda atretik follükül görüldü. İlk gelişme aşamasındaki follüküllerin yerinde şekillenen atretik follüküllerin küçük, ileri gelişme aşamalarındaki follüküllerin yerinde şekillenen atretik follüküllerin büyük olduğu, kollagen ve retikulum ipliklerinden zengin ve bağdokudan oluştuğu belirlendi. Oositi kuşatan zona pellusidanın atretik follükül oluşumu sırasında en son kaybolduğu saptandı (Şekil 8).

Medullanın gevşek bağdoku yapısı gösterdiği, bol miktarda değişik çaplarda kan, lenf damarları ve sinir telleri içerdiği, elastik ipliklerin sadece bu yapıların çevresinde

yoğun olduğu (Şekil 9 oklar), retikulum ipliklerinin ise tüm medullada yaygın olarak görüldüğü tespit edildi. Medullada yer alan hilus hücrelerinin gruplar oluşturduğu, PAS ile orta derecede pozitif reaksiyon verdiği, bu hücrelerin yağ boyası ile de boyandığı saptandı. Medullada ayrıca lipid damlacıkları da belirlendi (Şekil 10 oklar).

Tartışma

Evcil memeli hayvanlarda ve laboratuvar hayvanlarında, endokrin ve ekzokrin fonksiyona sahip olan oval biçimli ovaryumun, dışta korteks, içte medulla olmak üzere 2 katmandan oluştuğunu, bu katmanları dıştan kuşatan epitelin gençlerde tek katlı kübik, ileri yaşlarda tek katlı yassı, tunika albugineada kollagen iplik

demetleri ve bağdoku hücrelerinin yaygın olduğunu, korteksin değişik gelişme aşamalarında follüküllerden, medullanın kan, lenf damarları ve sinir telleri yönünden zengin olduğunu, bu oluşumların çevresinde elastik ve retikulum ipliklerinin de ağ oluşturduğunu klasik kitaplar bildirmektedir (22-27). Ülkemizde yaşayan Boz ayıların ovaryumları ile ilgili histolojik bulgularımız bilinenler ile hemen hemen aynı paraleldedir. Ancak Boz ayıların ovaryumlarının korteksinde yer alan follüküllerin çapları yönünden farklılıklar olduğu tesbit edilmiştir. Priedkalns (28) ratlarda yaptığı çalışmada, ilk gelişme aşamasındaki primordiyal follükül çaplarını 20 μ olarak bildirirken, Boz ayılarda 34 \pm 4 μ olarak hesapladık. Primer follükül çapını; Priedkalns (28) ratlarda, Parker (24) Histoloji kitabında insanda 40 μ olarak bildirirken, Boz ayılarda 114 \pm 8 μ olarak belirledik. Sırası ile aynı araştırmacı ve yazar sekonder follükül çapını 120 μ , 80 μ , tersiyer follükül çapını 150-300 μ ve 200 μ olarak bildirmişlerdir. Çalışmamızda Boz ayılarda sekonder follükül çap ortalamasını 236 \pm 6 μ ,

tersiyer follükül çap ortalamasını 910 \pm 33 μ olarak saptadık. Böylelikle; Boz ayılarda oositleri taşıyan follükül çaplarının evcil memeli hayvan ve insaninkilerden oldukça büyük olduğunu tesbit ettik.

Hokkaido ayılarının korpus albicansları üzerinde çalışan Tsubota ve ark. (13) oluşan dejenerasyonun derecesine göre; korpus albicansları 3 aşamada incelemiştir. Başlangıçta elastik iplikler tarafından kuşatılan kan damarları ve dejenere luteal hücreler, daha sonra luteal hücresiz dönem ve en sonunda da sadece kan damarlarından ibaret olan dönem. Weber ve ark. (29) sığır fütüslerinin, Talukdar ve ark. (30) Assamın yöresel keçilerinin ovaryum korpus albicanslarında bol miktarda damar ve retikulum iplikleri olduğunu bildirmişlerdir. Çalışmamızda korpus albicansları gelişme aşamalarına göre gruplandırmaksızın inceledik ve elastik ipliklerle kuşatılmış olan bol miktarda damar ve retikulum ipliklerinden oluştuklarını saptadık.

Kaynaklar

1. Fox, R.R., Laird, C.W.: Sexual cycles. Ed. E.S.E. Hafez., Lea and Febiger. Philadelphia. 107-122; 1970.
2. Paniagua, R., Fraile, B., Saez, F.J.: Effects of photoperiod and temperature on testicular function in amphibians. *Histol. Histopath.* 1990; 5: 365-378.
3. Lewis, P.: How light effects the reproductive system. *World Poultry.* 1988; 2: 57. 1988.
4. Siopes, T.D., Underwood, A.: Pineal gland and ocular influences on Turkey breeder hens. 1. Reproductive performance. *Poultry Science.* 1987; 66: (3), 521-527.
5. Leyva, O.H: The effect of photoperiod and melatonin secretion on the reproductive cycle of the domestic cat. *Dissertation-Abstract-International, -B-Sciences and Engineering.* 1984; 44: 7, 2079.
6. Andrew, K.: Bears, pandas and racons in management guidelines for bears and racoons. Ed. John Patridge, Top. Cop., Bristol BS. 1992; 16-206: 12-19.
7. Wallach, J.D.: Ursidae in fowler zoo and wild animal medicine. Philadelphia. W.B. Saunders. 1978; 548-570.
8. Wimsatt, W.A.: Delayed implantation in the Ursidae, with particular reference to the Black bear (*Ursus Americanus Pallas*). In delayed implantation. Univ. Chicago press. 1963; 49-76.
9. Vaisfeld, M.A., Chestin, I.E.: Belarus, Bears. 1963; 66-67.
10. Andrew, K.: Bears, pandas, racoons in management guidelines for bears and racoons. Ed. John. Patridge, Top. Copy. Bristol BS. 1992; 16-206: 22-106.
11. Johnston, L.A., Donoghue, A.M., Igo, W., Simmons, L.G., Wildt, D.E., Rieffenberger, J.: Oocyte recovery and maturation in the American Black bear (*Ursus Americanus*). *Journal of Experimental Zoology.* 1994; 269, 1, 53-61.
12. Tsubota, T., Nitta, H., Osawa, Y. Mason, J.I., Kita, I., Tiba, T., Bahr, J.M.: Immunolocalization of steroidogenic enzymes P450Sc α , 3 β -Hsd, P450C17 and P450 Arom in the corpus luteum of the Hokkaido Brown Bear (*Ursus Arctos Yesoensis*) in relation to delayed implantation. *Journal of Reproduction and Fertility.* 1994; 101, 3, 557-561.
13. Tsubota, T., Kanagava, H., Mano, T., Aoi, T.; Corpora albicantia and placental scars in the Hokkaido Brown Bear. *Bears their biology and management.* 1989; 8, 125-128.
14. Mc Millin, J.M., Seal, U.S., Roberts, L., Erickson, A.W.: Annual testosterone rhythm in the Black Bear (*Ursus Americanus*). *Biol. Reprod.* 1976; 15: 163-167.
15. Tsubota, T., Kanagava, H.: Annual changes in serum testosterone levels and spermatogenesis in the Hokkaido Brown Bear (*Ursus Arctos Yesoensis*). *J. Mamm. Soc. Jpn.* 1989; 14: 11-17.
16. Palmer, S.S., Nelson, R.A., Ramsay, M.A., Stirling, I., Bahr, J.M.: Annual changes in serum sex steroids in male and female black (*Ursus Americanus*) and Polar (*Ursus Maritimus*) bears. *Biol. Reprod.* 1988; 38: 1044-1050.
17. Grimstone, A.V., Skear, R.J.: A guide book to microscopical methods. Cambridge at the University press. 1972; 53-54.

18. Crossmon, G.: A Modification of mallory's connective tissue stain with a discussion of the principles involved. *Anat. Rec.* 1937; 69: 33-38.
19. Gomori, G.: Gomori's method for reticulum. *Amer. J. Path.* 1937; 13: 993-1002.
20. Pinkus, H.: A modification of Unna Taenzer's procedure. *Arch. Dermat. And Syph.* 1944; 49: 355.
21. Mc Manus, J.F.A.: Stain Tech. (AFIB modification) copyright by Williams and Wilkins co. 1948; 23, 99-108.
22. Dellmann, H.D., Brown, M.E.: Female reproductive system, *Textbook of Veterinary Histology*, Philadelphia, Lea and Febiger, 309-336; 1981.
23. William, J.B.: Female reproductive system, *Applied Veterinary Histology*, Baltimore, Hong Kong, London, Sydney, Williams and Wilkins, 506-522; 1986.
24. Paker, Ş.: Dişi genital sistem, *Histoloji*, Bursa, Uludağ Üniversitesi, 223-259; 1986.
25. Hafez, E.S.E.: Functional histology of reproduction, *Reproduction in farm animals*, 65-85; 1987.
26. William, J.B., Linda, M.W.: Female reproductive system. *Color Atlas of Veterinary Histology*, 207-231; 1990.
27. Tanyolaç, A.: Dişide genital sistem, *Özel Histoloji*, 141-152; 1993.
28. Priedkalns, J.: Effect of melengestrol acetate on ovarian follicles, intersitial gland and corpora lutea in the rat: A quantitative morphological study. *Z. Zellforsch.*, 1969; 93, 56.
29. Weber, A.F., Cox, V.S., Shope, R.E., Fletcher, T.F., Lee, D.M.: Prevalance of atretic corpora lutea in ovaries of bovine fetuses. *American journal of Veterinary Research*, 1993; 54(7): 1047-1050.
30. Talukdar, S.R., Bordoloi, C.C., Ahmed, S.: Histological and histochemical studies of atretic follicles in ovary of Assam local goat (*Capra Hircus*) in early post-natal life (0-90 days). *Indian Veterinary Journal*, 1991; 68(3): 245-248.