

T. C.
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
Histoloji - Embriyoloji Bilim Dalı

**OVARİEKTOMİZE EDİLEN SIÇANLARDA
PTERİN -6- KARBOKSİLİK ASİT VE
LH-RH'un PİNEALOSİTLER İLE
HİPOFİZDE GONADOTROP VE
MAMMATROP HÜCRELERİN
ULTRASTRÜKTÜRÜNE
ETKİLERİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Fehmi ÜNLÜ
(Arş. Gör.)

BURSA
1989

T. C.
Yükseköğretim Kurulu
Dokümantasyon Merkezi

İÇİNDEKİLER

Sayfa

SUMMARY

ÖZET

- GİRİŞ	1
- GEREÇ VE YÖNTEM	11
- BULGULAR	13
- TARTIŞMA	32
- KAYNAKLAR	37

SUMMARY

Effects of pterin-6-carboxylic acid (P6CA) and Luteinizing hormone Releasing hormone on ultrastructure of pinealocytes and gonadotrop and mammotrop cells of hypophysis in ovariectomized rats:

In this study, the acute effects of LH-RH and P6CA on the ultrastructures of pinealocytes of epiphysis, gonadotrop and mammotrop cells of hypophysis of previously ovariectomized rats were investigated. A sum of 12 adult rats, that were subjected to bilateral ovariectomy, ten days prior to start the applications were used. Animals were divided into three groups, each of which consisted of four rats. First group received P6CA (5 microgram per kg of body weight), while the second group rats were treated with LH-RH (0.2 ml per kg of body weight of rats), and the last group was given only solvent, in equal volume and served as the negative controls. Tissue samples were taken into glutaraldehyde and Osmium tetroxide fixative solutions for comparative histological examinations from all animals that were killed by decapitation, Performed exactly one hour after injections of test substances. Following the fixation, tissue samples were embedded into Vestopal to prepare thin sections by LKB ultratom. Tissues were contrasted with Uranyl acetate and lead citrate before reading under JEOL 100-C Transmission Electron Microscope.

The results showed that, P6CA increased the activity of pinealocytes and gonadotrop hormone secreting cells and activated the mammotrop hormone secreting cells in hypophyseal gland in ovariectomized rats. However, LH-RH was not active as P6CA; and only slightly stimulated the activity of pinealocytes and gonadotrop secreting cell, while no appreciable change was observed in mammotrop hormone secreting cells as the result of treatment.

ÖZET

Bu çalışmada ovariektomi yapılmış sıçanlarda pterin-6-karboksilik asit ve LH-RH'un epifizin pinealositleri ile hipofizde bulunan gonadotrop ve mammatrop hücrelerin ultrastrüktürleri üzerine olan akut etkileri araştırılmıştır.

Çalışmada 10 günlük, ovariektomi yapılmış 12 ergin sıçan kullanılmıştır. Hayvanlar 4'er bireylik 3 gruba ayrılarak; 1. gruba 5 mg/kg. pterin-6-karboksilik asit, 2. gruba 0.2 ml/kg. LH-RH verilmiştir. 3. gruba yalnızca çözücü sıvı enjeksiyonu yapılarak kontrol grubu oluşturulmuştur. Enjeksiyondan 1 saat sonra dekapitasyon ile öldürülen hayvanlardan mikroskopik incelemeler için alınan dokular glutaraldehit ve OsO_4 te fikse edildikten sonra vestopale gömüldüler. LKB ultratomu ile alınan ince kesitler uranil asetat ve kurşun sitrat ile kontrastlandıktan sonra JEOL 100-C transmission elektron mikroskopunda incelendiler.

Yapılan gözlemler sonucunda pterin-6-karboksilik asitin ovariektomi yapılmış sıçanlarda pinealositler ile gonadotrop hücrelerin aktivitelerini artırırken, mammatrop hücreleri de aktive ettiği gösterilmiştir. LH-RH alan sıçanlarda ise pinealositlerde ve gonadotrop hücrelerde aktivitenin arttığı, ancak mammatrop hücrelerde belirgin bir değişiklik oluşturmadığı gözlenmiştir.

GİRİŞ

Pineal bez (*corpus pineale, glandula pinealis, epiphysis cerebri*) insanda *colliculus superior*'lar arasında, *trigonum pineale*' de yer alır. *Splenium corporis callosi*'nin altında bulunur. Küçük, kozalak biçimli, 8 mm. uzunlukta olan organ, *splenium corporis callosi*' den üçüncü-ventriküle ait *tela choroidea* ile ayrılmıştır. Organın ön bölümünde *lamina superior* ve *lamina inferior*'a ayrılan bir *pedunkulusu* vardır. *Pedunkulusun* iki *laminası* arasına *recessus pinealis* sokulmuştur. *Lamina inferior commissura posterior*'u, *lamina superior commissura habenularum*'u içerir (1,2).

Sıçanlar üzerine yapılan bir çalışmada *pedunkulus*'un az sayıda *pinealosit* ve *glia hücresi* ile çok sayıda *miyelinsiz sinir liflerinden* oluştuğu gösterilmiştir (3). *Tentorium cerebelli* bölgesinden organın *dorsal*, ya da *dorsolateral* yüzüne giren *sinir lifleri* organa girmeden önce tek, ya da çift olarak *nervus conarii*'yi oluştururlar. *Nervus conarii*'yi oluşturan bu *sinir lifleri* *ganglion cervicale superius*'dan çıkan *adrenerjik sempatik sinir lifleridir* (1,2).

Björklund ve ark. (4) sıçanlar üzerinde yaptıkları bir çalışmada *habenulo-pineal* yolun bazı *sinir liflerinin* *nucleus habenularum* nöronlarından kaynaklanan *nervus conarii*'nin *postganglionik sempatik sinir lifleri* olduğunu göstermişlerdir.

Pineal bez *pedunkulus* dışında tümü ile *pia mater* ile sarılıdır. *Pia mater* kapsül görevi üstlenmiştir ve organ içine girerek düzensiz *lobülleri* oluşturur. Hücreler arasında zengin bir *kapiller ağ* ve *sinir lifleri* bulunur. Organın *parankiması* *glia hücreleri* ile *pinealositlerden* oluşur. *Glia hücreleri* *pinealositler* arasında bulunan ve kısmen onları saran ince uzun *nükleuslu* ve *pinealositlere* oranla daha koyu boyanan *modifiye astrositlerdir*. Işık mikroskopik olarak *nükleusları* koyu bazofil boyanırlar (5,6).

Pinealositler parankimanın yaklaşık % 95'ini oluşturlar. Poligonal biçimde uzantılı hücrelerdir. Uygun gümüşleme teknikleri ile hücrelerin uzantıları görülebilir. Uzantılar genişlemeler yaparak kapillerlere yakın olarak sonlanırlar (5,6). Damar çevresinde bulunan bu uzantılarda membran ile çevrili, küçük, granüllü veziküller bulunur. Bu uzantılara sitoplazmik uzantı denir (7).

Pinealosit nükleusları büyük, loblu, ya da düzensiz biçimde görülür. Nükleolus oldukça belirgindir. Hücre sitoplazması üç bölümde değerlendirilir. Bunlar :

- 1- Perikaryon
- 2- Sitoplazmik uzantı
- 3- Pinealosit terminal bölgesi (7).

Sitoplazmada organeller genellikle perikaryon bölgesinde yerleşmiştir. Perikaryon bölgesinde agranüler endoplazmik retikulum (AER) ve serbest ribozom (R) bakımından zengindir. Granüler endoplazmik retikulum (GER) küçük çubuksu veziküller şeklinde, Golgi kompleksi (G) sayıca az bulunmaktadır. Mitokondrionlar (M) değişik büyüklük ve şekillerde, az sayıdadırlar. Sitoplazmada ayrıca salgı granülleri (sg), lipid damlaları (L) ve lizozomlar (Lz) görülür (6).

Bazı çalışmalarda (8,9) pineal bezde farklı iki tip salgılamanın olduğu bildirilmektedir. Bunlar, Golgi kompleksinden gelişen granüler veziküller (gv) ile doğrudan doğruya granüler endoplazmik retikulumdan gelişen salgılamadır. Pevet (8) 1977'de bu salgılamaya bir isim vermemiş yalnızca granüler vezikül üretiminden farklı bir salgılama şekli demiş iken 1979'da ependimal benzeri salgılama adını vermiştir (9).

Cardinali ve ark. (10) göre ise iki tip pineal bez vardır. Birinci tip sentral benzodiazepin (BZP) reseptörlerine sahip olup güçlü bir γ -aminobutyric acid (GABA) inhibisyonu gösterir (sığır, koyun ve olasılıkla insan

pineal bezi) . İkinci tip ise periferik BZP reseptörlerine sahiptir ve GABA inhibisyonu göstermez (sıçan pineal bezi gibi).

Benson ve Krasovich' e (11) göre, granüler veziküller pineal bezin antigonadotropik bileşiklerini içerirler. Bu araştırmacılar, granüllü veziküllerin ışık periyodunun sonunda maksimum değere çıktığını, karanlık periyodun sonunda ise minimum değere indiğini göstermişlerdir. Bu çalışmadan elde edilen bir başka bulgu da, granüllü veziküllerin ışık periyodunda norepinefrin' in tropik etkisi ile sentezlendiği ve karanlık periyotta melatonin sentezi arttığına da sayısının azaldığıdır.

Ancak pinealositlerden salgılanan bu iki tip salgı materyalinin varlığı ve miktarı hayvan türlerine, hatta aynı tür hayvanlarda değişen fizyolojik koşullara göre, çok büyük değişiklikler göstermekte olduğundan bu konu halen oldukça tartışmalıdır.

Pineal bez insanda, fetal hayatın ikinci ayında gelişmeye başlar (5). Moller (12) baş çevresi 30 mm. ile 178 mm. arasında değişen 13 insan fetusu üzerinde yaptığı çalışmasında pinealositlerin hormon sentezi için gerekli organellere, bezin zengin innervasyona ve bol kan damarına sahip olduğunu bildirmiştir.

Pineal bezin salgıladığı hormonlar ile memelilerde endokrin pankreas, paratiroid, adrenal bez ile gonadlar (1) üzerinde ve hatta tiroid bezi ile anterior hipofizden salgılanan hormonlar, termoregülasyon, insülin metabolizması, tümör gelişimi, lokomotor aktivite ,beyin nörotransmitter metabolizması, yağ birikimi, pigmentasyon ve immünsistem üzerine de etkili olabileceği bildirilmektedir (13). Vriend ve ark. (14) da pineal hormonlarının tiroid bezi üzerine etkili olduğunu göstermişlerdir.

Pineal bez tümörü olan (parankimanın yıkımı) çocuklarda erken pubertenin görülmesi organın antigonadotropik etkisi olabileceğini düşündürmüştür (5).

Bu düşünceden yola çıkılarak yapılan çalışmalarda pineal bezden iki grup kimyasal bileşik elde edilmiştir. Bunlar, indoller ile peptid ve proteinlerdir. Son zamanlarda bunlara pteridinler adı verilen bir üçüncü grup daha eklenmiştir(15,16).

Bilinen en eski pineal hormon grubu indol bileşikleri olup, bunların en iyi bilineni ise melatonindir. Melatoninin, vücutta ışık uyarısı yoluyla aydınlık-karanlık periyoduna uygun olarak, belirli bir salgılanma ritmi bulunmaktadır. Yoshisuke ve ark.(17) 1976 yılında yaptıkları bir çalışmada melatoninin sıçanların plazma ve idrarlarındaki ritmik miktarlarını belirlemişlerdir. Benzer ritmin alabalık, kertenkele, kaplumbağa, bildircin, civciv, afrika dokumacı kuşu, hamster, deve, maymun, eşek, domuz, sığır ve insanda da bulunduğu bildirilmektedir. Vaughan (15) yapmış olduğu bir derlemede yukarıda belirtilen hayvanların plazma, beyin-omurilik sıvısı, pineal bez ve idrarında bulunan melatonin miktarları ile ilgili bulguları bir tablo halinde vermiştir.

Melatonin ve onun prekürsörlerini oluşturan serotonin, serotonin N-asetil transferaz ve N-asetil serotoninin aydınlık ve karanlık periyotlara göre miktarlarında görülen değişimler, bezi innerve eden sempatik sinir sonlanmalarından salgılanan noradrenalin ile kontrol edilir (18). Pineal bez hücreleri, çevresel faktör olarak görülen ışığın etkisini organizmanın fizyolojik gelişimine adapte eden bir organ olarak filogenetik bakımdan fotoreseptör hücrelerden gelişmiştir (8). Bu nedenle bezde hormon üretimi ışığa bağımlıdır.

Vitale ve ark.(19) pineal bez ile gonad ve ışık arasındaki bu ilişkiyi araştırmak için Djurgarian hamsterlerinde yaptıkları bir çalışmada pineal bezin üreme sistemi üzerinde fotoperiyodik mekanizmanın bir parçası imiş gibi etki ettiğini ortaya koymuşlardır.

Petterborg ve Reiter (20) üç hafta boyunca kısa süre ışıktat(24 saatte 8 saat) tuttukları prepubertal dişi sıçanlarda üreme sisteminin büyümesinin inhibe edildiğini göstermişlerdir. Bu araştırmacılar ayrıca melatoninin kronik etkisinde aynı sonucu verdiğini belirtmektedirler.

Yapılan bir in vitro çalışmada ise melatoninin izole hamster adenohipofizde FSH ve LH sekresyonunu differansiyel olarak inhibe ettiği bildirilmiştir (21).

Sackman ve ark. (22) kontrol grubu hamsterlere her gün 25 mikrogram melatonin uygulanması sonucu vücut ağırlığında artma, testis ve aksesuar seks bezlerinin (vesikula seminalis, koagülasyon bezi) büyümesinde ve hipofiz prolaktin düzeyinde azalma olduğunu, buna karşılık pinealektomize gruba aynı şekilde yapılan melatonin uygulamasının bir değişikliğe neden olmadığını ispatlamışlardır.

Güvercinlerde yapılan bir çalışmada (23), pinealektomi sonrasında plazma LH ve STH'un her iki cinstede azaldığı, dişilerde FSH'un arttığı, ovaryum, ovidukt ve erkeklerde testis ağırlığının arttığı bildirilmiştir.

Melatoninin hamsterlerde gonadal atrofiyi uyaran tek faktör olmadığını gösteren çalışmalar da vardır. Pevet ve ark.(24,25) kontrol grubu ile pinealektomize hamsterlere 5 metoxy-tryptamine (5-MT), uygulamışlar ve 5-MT'nin her iki grupta da testislerde involusyona neden olduğunu, bu etkinin kontrol grubunda daha fazla olduğunu görmüşlerdir.

Collu ve ark. (26) ise metoksiindol bileşiklerinin sıçanlarda vaginal açılma süresini uzattığını göstermişlerdir.

Pineal bezden salgılanan peptid ve protein yapısındaki hormonlar içerisinde üzerinde en çok çalışılan, arginine-vasotocin (AVT) dir. Bu çalışmaların çoğu AVT'nin üreme sistemi üzerine olan etkilerine ilişkin olup hipofiz ve genital sistem ekseninde yapılmıştır. Vaughan ve ark.(27) 25 günlük immatür

farelere uygulanan AVT'nin ovaryum, uterus, testis, ventral prostat ve aksesuar genital bezlerin ağırlığında belirgin bir azalmaya neden olduğunu göstermişlerdir.

Demolin ve ark. (28) AVT'nin hipofizde FSH ve LH sentezi ve salınmasını, inhibe etmediğini in vitro olarak göstermişler ve bu etkinin yerinin hipotalamusta LH-RH'un üzerine olması gerektiğini öne sürmüşlerdir.

Salisbury ve ark. (29) ise ovariyektomize edilmiş sıçanlarda AVT'nin LH ve prolaktin salınması üzerine olan etkilerini oksitosin ve arginine vasopresin ile karşılaştırmalı olarak araştırmışlardır. Sonuçta AVT'in 0.1 , 0.25, 0.5 mg. lık dozlarının kandaki LH ve prolaktinin belirli zamanlardaki miktarlarını etkilemediği halde, 1 mg. lık AVT dozunun, kandaki LH ve prolaktin seviyelerini kontrol grubuna göre zıt bir etki ile, saat 14.00 - 16.00 arasında maksimum olması gerekirken minimum düzeye indirdiğini, bu etkinin diğer hipotalamik hormonlar olan oksitosin ve arginine vasopresin uygulamalarında olmadığını göstermişlerdir.

Vaughan ve ark. (30) ergin farelerde AVT ve melatoninin östrus siklusunu uzattığını gebelere uygulandığında ise canlı doğumu engellediğini göstermişlerdir.

Pteridinlerin pineal bez hormonu olarak tesbit edilmesinden sonra, üreme sistemi üzerindeki etkileri de son on yıl içinde önem kazanmaya başlamıştır.

Vaughan (15) ın bir bildirisinde büyük bir araştırmacı grubun koyun pineal ekstrelerinden antigonadotropik bir madde elde ettikleri bildirilmektedir. İndol, peptit ve protein tabiatında olmayan bu madde pteridinler grubuna aitti ve 6-L-eritrobiopterin ile aynı özelliğe sahipti. Sentetik 6-L-eritrobiopterin, sıçanlardan elde edilen hipofiz ekstratı ile inkübe edildikten sonra, immatür farelere verildiğinde antigonadotropik bir aktivite gözlenmiştir.

Ancak bu çalışmalar farklı mevsimlerde yapıldığında, benzer bulgular elde edilmemiştir. Denemelerde 6-L-eritrobiopterin içeren izole fraksiyonun (C_4) , 18 günlük, pinealektomize-hemikastre erkek sıçanlara uygulanması plazma LH'unu önemli ölçüde azalttığı görülmüştür. Ancak C_4 fraksiyonu içindeki diğer maddelerin de LH üzerinde inhibitör aktivite oluşturabileceği dşnlmş, bu nedenle % 18'lik 7-L-eritrobiopterin karıştırılmış sentetik 6-L-eritrobiopterin enjeksiyonunda, plazma LH'unu önemli ölçüde inhibe ettiği gösterilmiştir. Çünkü pteridinler ışık etkisi ile kolaylıkla pterin-6-karboksilik asite dönüşebilen ışığa çok duyarlı bileşiklerdir.

Ebels ve ark. (31) evresel faktör olarak görülen ışığın farklı dalga boyları ile pteridin ve indol metabolizması arasında bir ilişkinin olduğunu ve bu üç faktörün üreme sistemini etkilediğini ileri sürmektedirler.

Pterin-6-karboksilik asit, indirgenmiş bir pteridin türevi olarak pineal bezden izole edilmesine rağmen, elde edilen kaynaklarda üreme sistemi üzerine olan etkileri henüz tam olarak açıklanmamıştır.

Hipofiz, omurgalılarda üreme sistemi üzerindeki etkilerini Romeis'in delta bazofil hücreleri olarak isimlendirilen gonadotrop hücreler ve bunların endokrin salgıları olan folikül stimülan hormon (FSH) ve luteinizan hormon (LH) ile göstermektedir. FSH ve LH ise hipotalamustan salgılanan folikül releasing hormon (FRH) ile luteinizan hormon-releasing hormon (LH-RH)'un kontrolü altındadır (5-6).

Mendoza ve ark. (32) sentetik LH-RH'un hipofiz'de LH içeren gonadotropların salgılarını boşaltmasını başlatmakta etkili olduğunu belirtmektedirler.

Hipofiz hormonlarından bir diğeri olan prolaktin üreme sistemi endokrinolojisi üzerindeki etkilerinden dolayı, çalışmalarda mammatrop hücreler gonadotrop hücreler ile birlikte incelenmeye alınırlar. Prolaktinin meme bezi üzerine

etkisinin yanı sıra, bazı memelilerde, progesteron salgılanmasını uyarıcı bir etkisinin olduğu da bilinmektedir (33). Prolaktin sentezleyen hücreler azokarmin ile boyanan, Romeis'in epsilon asidofil hücreleri olarak bilinen mammatrop hücrelerdir (5).

Shiino ve Yamauchi (34) neonatal ovariektominin, gonadotrop hücrelerin ultrastrüktürü üzerine etkisini araştırmışlar, sonuçta gonadotrop hücrelerde hipertrofi, endoplazmik retikulumda dilatasyon ve mitokondri sayısında artış olduğunu gözlemişlerdir. Ayrıca ovariektomi yapılmış sıçanlara estradiol uyguladıklarında, hipertrofinin kaybolduğunu da belirtmektedirler. Araştırmacılar elde ettikleri bu bulguları, ovariektomi sonucu östrojen azalmasına bağlı olarak, LH-RH'un artmasına bağlamaktadırlar.

Samir ve ark.(35) sıçanlarda gonadektomiden sonra, gonadotrop hücrelerde hipertrofi ve sitoplazmada vakuoller gözlemlendiğini belirtmişlerdir. Aynı araştırmacılar, yapmış oldukları bu morфометrik çalışmada, gonadotropların ortalama alanının gonadektomiden sonra giderek arttığını, 3 ay sonra maksimum değere ulaştığını, 6 ay sonra ise azaldığını saptamışlardır. Ovariektomiden 1 ay sonra, mammatrop hücrelerin miktarı erkeklerdekilerin düzeyine inmiştir.

Girod ve ark. (36) erkekler, gebelik ve laktasyon döneminde olmayan dişiler, gebeler ve laktasyon döneminde olan kirpilerin mammatrop hücrelerinin yapısını karşılaştırmalı olarak araştırmışlardır. Laktasyon döneminde mammatrop hücrelerin nükleuslarının, erkeklerin ve laktasyon döneminde olmayan dişilerinkinden daha büyük, nükleoluslarının ise daha belirgin olduğunu belirtmektedirler. Ayrıca laktasyon dönemindeki mammatrop hücrelerde Golgi kompleksi ile granüler endoplazmik retikulumun gelişmiş, salgı granüllerinin sayısının da artmış olduğu elde ettikleri bulgular arasındadır.

Sahu ve Chakraborty (37) estradiolün erişkin ovariektomize

sıçanlar ile erişkin olmayan sıçanlar üzerine etkisini araştırmışlardır. Sonuçta estradiolün erişkinlerde ovariektomi ile uyarılan pineal hipertrofisini, erişkin olmayan erkeklerde pinealositlerde nükleus çapının artmasını sağladığı, erişkin olmayan dişilerde pinealosit sitolojisi üzerinde etkili olmadığı bildirilmiştir.

Karasek ve ark. (38) kastrasyonun sıçan pinealositlerinde granüller endoplazmik retikulum ve Golgi kompleksinde gelişmeye, lipid damlaları ile lizozom miktarında ise artışa neden olduğunu, Das Gupta (39) kastrasyonun, sıçan pinealositlerinde hipertrofiye neden olduğunu, bildirmektedirler.

Sarkar ve Fink (40) ovariektomize sıçanlarda hipofiz sapından topladıkları kanı inceliyerek, LH-RH salınması ile LH salınması artışı arasındaki ilgiyi araştırmışlar ve ovaryum hormonlarının LH-RH salınmasını baskıladığını göstermişlerdir. Aynı araştırmada estradiol, estradiolbenzoat ve progesteronun ise LH-RH salınmasını artırdığı belirtilmiştir.

Satodate ve ark. (41) hipofizektomi yapılan sıçanların pineal bezlerini karşılaştırmışlar, hipofizektomi yapılan sıçanlarda pineal bez fonksiyonunun azaldığını, ovariektomize olan sıçanlarda ise uyarımda az bir değişikliğin olduğunu belirtmişlerdir.

Erdinç (42) hazırlamış olduğu doktora tezinde stres, ACTH, gonadotropin ve gerovital H₃ uygulanmış sıçanlarda pinealosit mitokondriumlarında polimorfizm ve vakuolleşmeye dikkati çekmektedir.

Üner (43) ise yüksek lisans tezinde pterin-6-karboksilik asitin mammatrop hücreler üzerinde uyarıcı etki gösterdiğini, fakat gonadotrop hücreleri etkilemediğini belirtmektedir.

Pineal bez ile ilgili yapılan çalışmalarda, araştırmacıların tümü pineal bezin üreme sistemi üzerinde etkili olduğunu kabul etmektedirler. Yapılan

araştırmalar, pineal bez hormonlarının hangilerinin hangi etkiyi gösterdiği yönünde yoğunlaşmıştır.

Elde edilen kaynaklarda pineal bezden yakın zamanda izole edilmiş bir bileşik olan pterin-6-karboksilik asitin üreme sistemi endokrinolojisindeki yeri ve fonksiyonuna ilişkin yeterli çalışmaya rastlanılmamıştır.

Redding ve Schally (44) yaptıkları bir çalışmada radyoaktif işaretli LH-RH'un pineal bezdeki birikiminin adenohipofizdeki birikiminden 2 kat daha fazla olduğunu göstermişlerdir.

Bu çalışmada ise pterin-6-karboksilik asit ve LH-RH'un pinealositler ile hipofizin gonadotrop ve mammatrop hücreleri üzerine olan akut ultrastrüktürel etkileri araştırılmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışmada, İstanbul Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Merkezi (DETAM) nden temin edilen, 150-160 gr. ağırlığında 12 adet ergin dişi Wistar albino sıçanlar kullanıldı. Tüm sıçanlara eter anestezisi altında bilateral ovariyektomi yapıldı. Ovariyektomi operasyonunun stresinin geçmesi ve östrojen yokluğunun etkisinin stabil hale gelmesini sağlamak için ovariyektomiden sonra 10 gün beklenildi. Operasyondan 10 gün sonra deney hayvanları 4'er bireylik üç gruba ayrıldı. Bu gruplara aşağıdaki uygulamalar yapıldı.

1. grup hayvanlara pterin-6-karboksilik asit subkutan olarak 5 mikrogram/kg dozunda, N-bütanol + asetik asit + distile su (4:1:1) karışımında çözücü ile sabah saat 10⁰⁰ da verildi. Ünner (43) yapmış olduğu çalışmada 5 mg/kg lık dozun istenilen etkiyi oluşturduğunu belirtmesi sebebiyle aynı doz kullanıldı.

2. grup hayvanlara 0.2 ml/kg luteinizan hormon releasing hormon (LH-RH) tek doz olarak sabah saat 10⁰⁰ da, subkutan olarak verildi.

3. grup hayvanlara yalnızca deney grubuna verilen hacimde çözücü sıvı enjeksiyonu yapıldı.

Klasik ders kitaplarında proteinlerin 45-60 dakikada kana karıştığı bildirildiği için hormonal etkinin akut olgularını yakalayabilmek amacıyla kontrol ve deney gruplarındaki sıçanlar enjeksiyondan 1 saat sonra dekapite edildi.

Her bir deney hayvanının dekapitasyonundan hemen sonra vakit geçirilmeden alınan pineal ve hipofiz dokuları fosfat tamponlu % 2.5'lik glutaraldehit ve % 1'lik OsO₄ ile ikişer saat süre ile fiksasyona tabi tutuldular.

Fiksasyonu tamamlanan dokular, tampon çözelti ile 15 dakika yıkandıktan sonra sırasıyla %30, % 50, % 70, %90 ve %100 aseton serilerinden geçirilerek dehidre edildiler. Gömme materyali olarak VESTOPAL kullanıldı Bunun için 1/3, 1/1, 3/1 oranlarda VESTOPAL + aseton serilerinde birer saat tutuldular. Daha sonra % 1 aktivatör + % 1 intiatör içeren VESTOPAL de 1 er saat bekletildikten sonra jelatin kapsüller içindeki bir miktar gömme materyali ile birlikte inkübatöre yerleştirildi, sonra 12 pineal ve 12 hipofize ait dokular 60° C de 24 saat polimerizasyona tabi tutuldular.

LKB ultramikrotomu ile alınan 600 - 800.° A luk ince kesitler 3 er adet grid üzerine alındı. Kesitler uranil asetat ve kurşun sitrat ile kontrastlandıktan sonra (45), JEOL 100-C transmission elektron mikroskobu ile incelendiler. Gözlemler özellikle pinealositler ile hipofiz gonadotrop ve mammatrop hücreleri üzerinde yoğunlaştırıldı. İncelemeler sırasında alınan mikrofotograflar değerlendirilerek kontrol ve deney grupları ultrastrüktürel açıdan kıyaslandılar.

BULGULAR

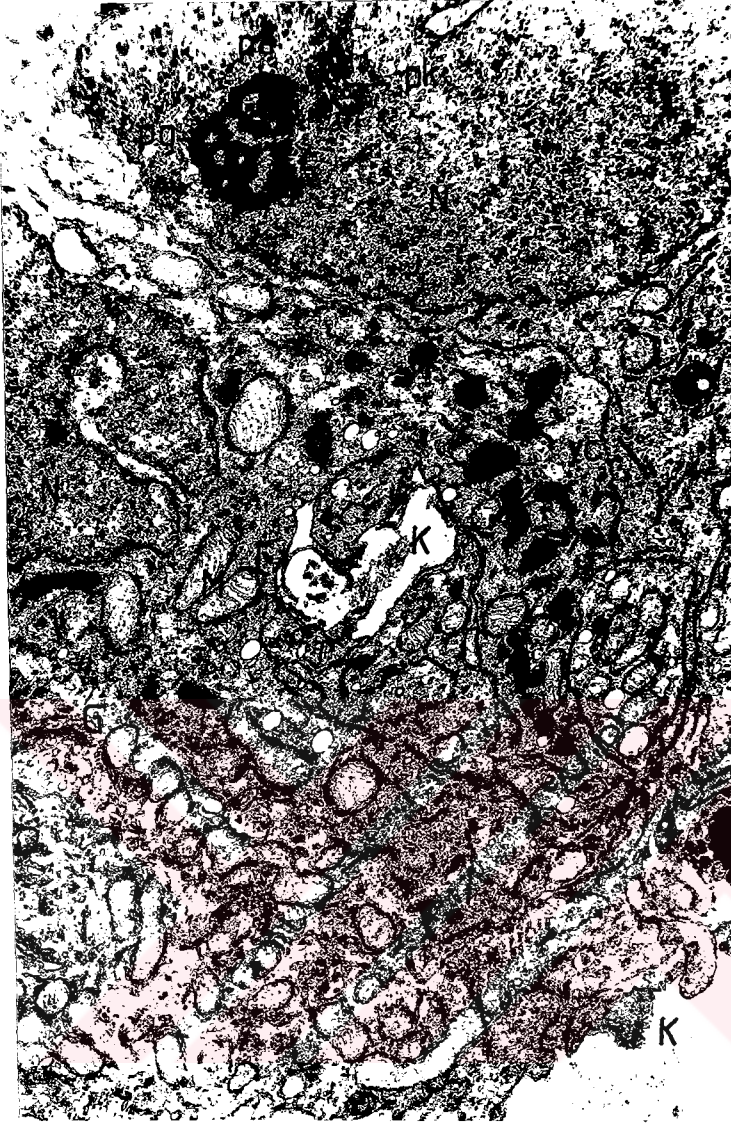
PİNEALOSİT ULTRASTRÜKTÜRÜ :

OVARİEKTOMİZE EDİLEN KONTROL GRUBU :

Kontrol grubu pinealositlerde sitoplazma organel ve inklüzyon bakımından az yoğundu. Sitoplazmada aktif olmayan Golgi kompleksleri (Resim-1, Resim-2) ile az sayıda granüler endoplazmik retikulum (GER) görülüyordu (Resim-3). Organel bakımından az yoğun olan sitoplazmada ribozomlar az sayıda idi. Bol miktardaki mitokondriyumlar değişik çap ve şekillerde, kristalları belirgindi. Mitokondrial matriks elektronca az yoğundu. Sitoplazmada lizozomlar fazla olarak görüldü. (Resim-1, Resim-2): Ayrıca sitoplazmada lipid damlaları dikkati çekti (Resim-3): "Yoğun cisim" olarak isimlendirilen salgı granülleri değişik şekil ve büyüklükte, oldukça fazla miktardaydı. (Resim-1, Resim-2). Pinealosit nükleusları oldukça düzensiz şekilli idi ve nükleus membranı düzensiz invaginasyonlarla nükleusta loblar yapmıştı. Nükleoplazma kromatin yönünden fakir görünümde idi. Yalnızca dağınık yerleşim gösteren heterokromatin materyaline sahipti. Nükleolus nükleus membranına yakın olarak yerleşmişti. Nükleolusun pars granüloza ile düzensiz kafes yapısındaki pars amorf bölümleri oldukça belirgindi. İntranükleolar kromatin pars amorfanın boşlukları arasındaki kromatin materyalini oluşturmaktaydı. Perinükleolar kromatin pars amorfadan ayrılmış gibi görünmekteydi (Resim-1, Resim-2).

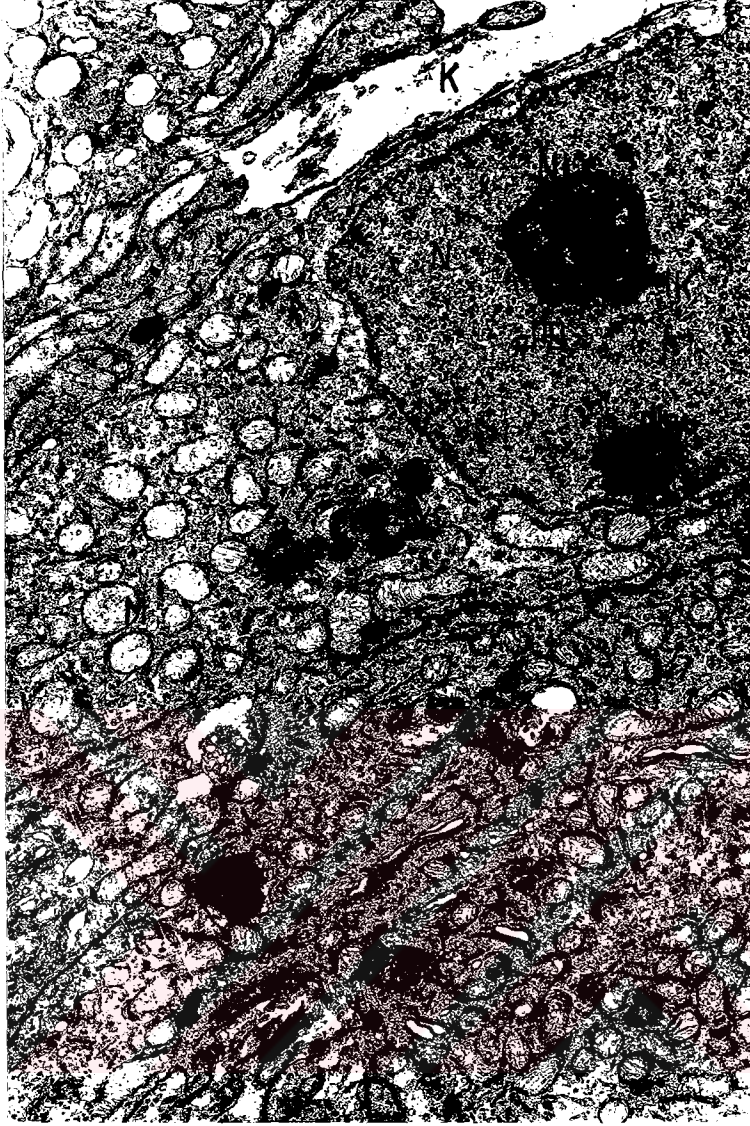
OVARİEKTOMİZE EDİLEN ve PTERİN -6- KARBOKSİLİK ASİT VERİLEN GRUP :

Sitoplazma kontrol grubunun aksine organel bakımından yoğundu. Golgi kompleksinde belirgin bir aktivite dikkati çekmekte idi. Sayısal bir artışın yanında sakkuluslarının yapısında bir genişleme belirgindi (Resim-4, Resim-5, Resim-6). Granüler endoplazmik retikulumda bir artış görülüyordu. Agranüler endoplazmik retikulum (AER) belirgin değildi. Poliribozomlarda



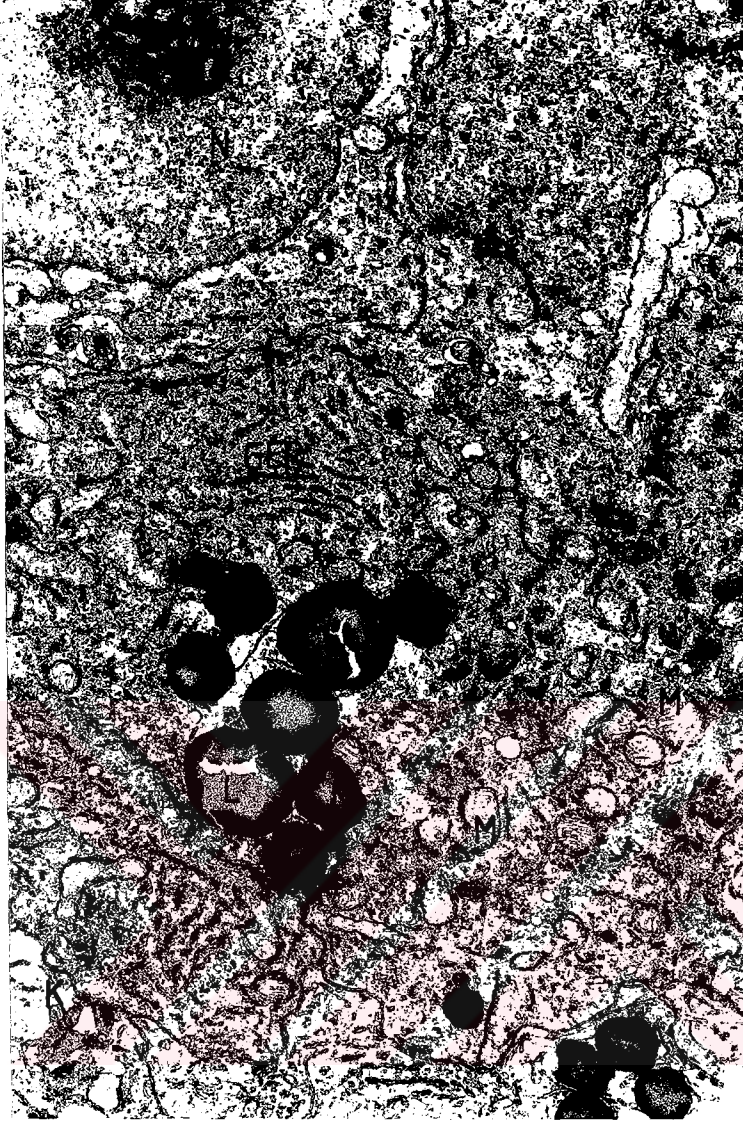
Resim-1:Ovariectomize Kontrol grubu pinealosit ince yapısı; Yoğun cisim gruplaşmaları ve nükleer membran invaginasyonları görülmekte (13200 X).

- N- Nukleus
- pg- pars granuloza
- pa- pars amorfa
- pk- peri nukleolar kromatin
- yc- yoğun cisim
- M- Mitokondrium
- K- Kapiller
- I- İnvaginasyon



Resim-2:Ovariectomize Kontrol grubu pinealosit ince yapısı; (13200 X)

- N- Nukleus
- Nl- Nukleolus
- pg- pars granüloza
- Ik- İntra nükleolar kromatin
- pk- peri nükleolar kromatin
- yc- yoğun cisim
- Lz- Lizozom
- M- Mitokondrium
- G- Golgi kompleksi



Resim-3:Ovariectomize Kontrol grubunda pinealosit ince yapısı; (13200 X).

N- Nukleus

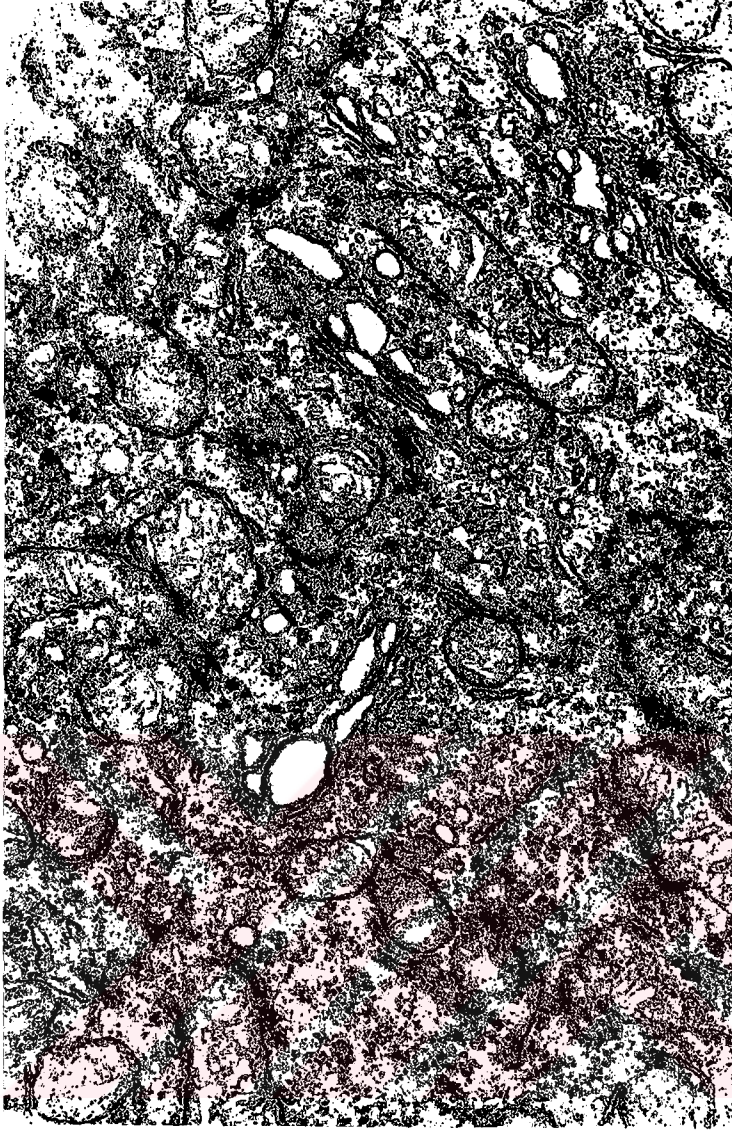
N1- Nukleolus

pk- peri nükleolar kromatin

M - Mitokondrium

GER- Granüler endoplazmik retikulum

L- Lipid

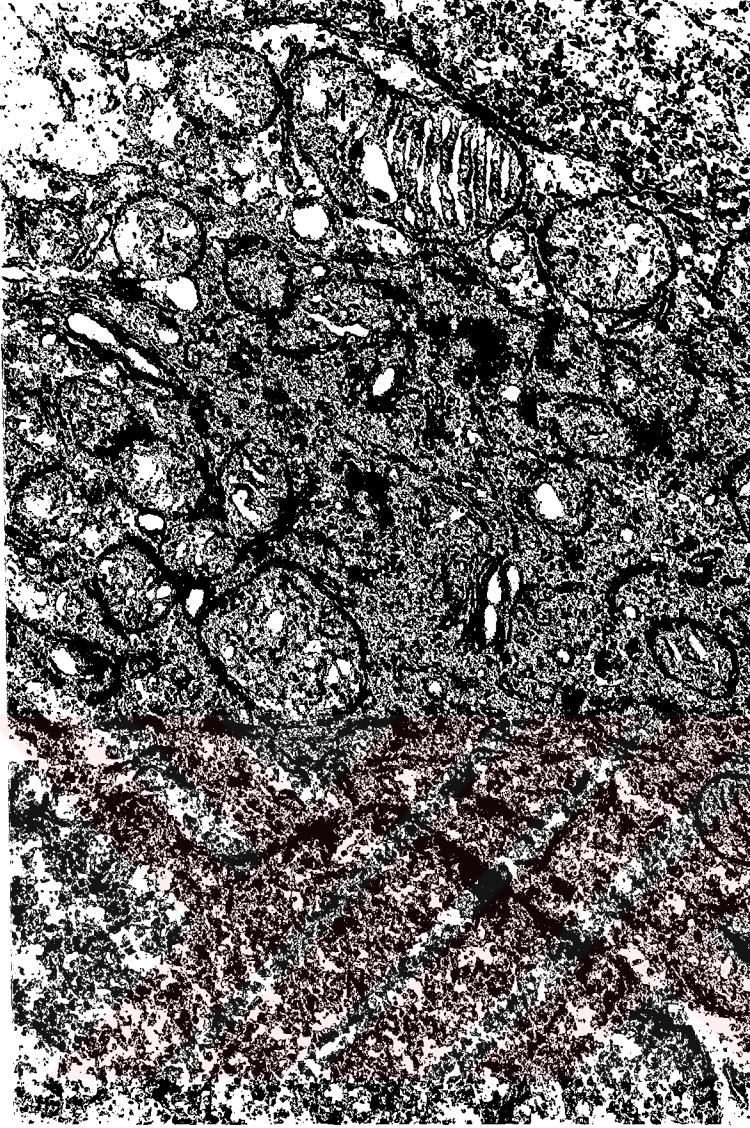


Resim-4:Ovariectomize ve pterin-6-karboksilik asit verilen grupta pinealosit sitoplazması; aktif Golgi kompleksleri ve yoğun cisim ile poliribozomlardaki artış görülmektedir (32000 X)

G- Golgi kompleksi

M- Mitokondrium

yc- yoğun cisim



Resim-5:Ovariectomize ve pterin-6-karboksilik asit verilen grupta pinealosit ince yapısı; aktif Golgi kompleksi bölgeleri görülmektedir (32000 X).

N- Nukleus

G- Golgi kompleksi

M- Mitokondrium

yc- yoğun cisim

bir artış görölüyordu. Mitokondriumlarda yer yer şişkinlikler ve krista kayıpları görüldü (Resim-5, Resim-6). Krista kaybı olmayan mitokondriumların mat-riksi kontrol grubuna oranla daha osmiofilikti. Lizozomal yapılar kontrol grubu-na oranla daha az sayıdaydı. Sitoplazmada bulunan lipid damlacıklarının sayı ve büyüklüklerinde bir azalma görüldü. Salgı granülleri genellikle perikapiller alanda artmış olarak görülmekle birlikte Golgi kompleksinde de az miktarda görüldü (Resim-4). Nükleüs ve nükleolus yapısında bir değişiklik yoktu.

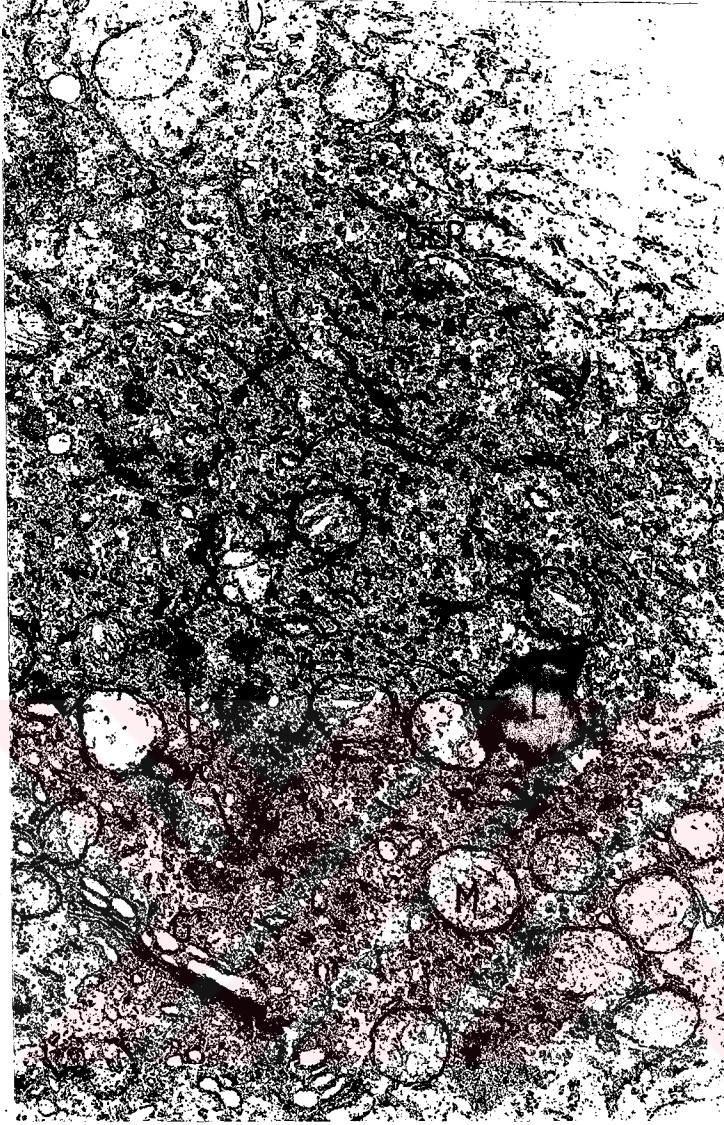
OVARİEKTOMİZE EDİLEN ve LH-RH VERİLEN GRUP :

Pinealosit sitoplazmaları organel yönünden yoğundu. Golgi kompleksi gelişmişti. İnce uzun veziküller şeklinde olan granüler endoplazmik retikulumda bir artış olduğu gözlemlendi (Resim-7, Resim-8). Ribozomlar kontrol grubuna oran-la artmış olarak görölüyordu. Mitokondriumlarda şişme ile birlikte krista eri-mesi şeklinde değişiklikler dikkati çekmekteydi (Resim-7, Resim-8). Lizozomal yapılar ve lipid miktarı kontrol grubuna göre azalmıştı. Salgı granüllerinde bir artış görüldü (Resim-7, Resim-9). Nükleus ve nükleolus yapısında bir değişik-lik görölmedi.

HİPOFİZ ULTRASTRÜKTÜRÜ :

OVARİEKTOMİZE EDİLEN KONTROL GRUBU :

Gonadotrop hücreler, genellikle kapillerler çevresinde yerleşik ve iri nükleusluydular. Nükleus nispeten oval ya da küresel bir biçimdeydi. Nükleo-plazma kromatin yönünden az yoğundu. Heterokromatin materyali genellikle nükleus membranı altında fibröz laminaya tutunmuş olarak görüldü (Resim-10): Sitoplazmada aktif granüler endoplazmik retikulum sisternaları dikkati çekmek-teydi. Osmiofilik olan mitokondriumlar şekil bakımından farklı görüntüdeydi. Salgı granülleri ise özellikle sitoplazma içinde oldukça fazla sayıda göze çarp-maktadır.



Resim-7:Ovariektomize ve LH-RH verilen grupta pinealosit sitoplazması;
Golgi kompleksindeki aktivasyon ile yoğun cisim sitoplazmada
yoğunlaşması görülmekte (20000 X).

G- Golgi kompleksi

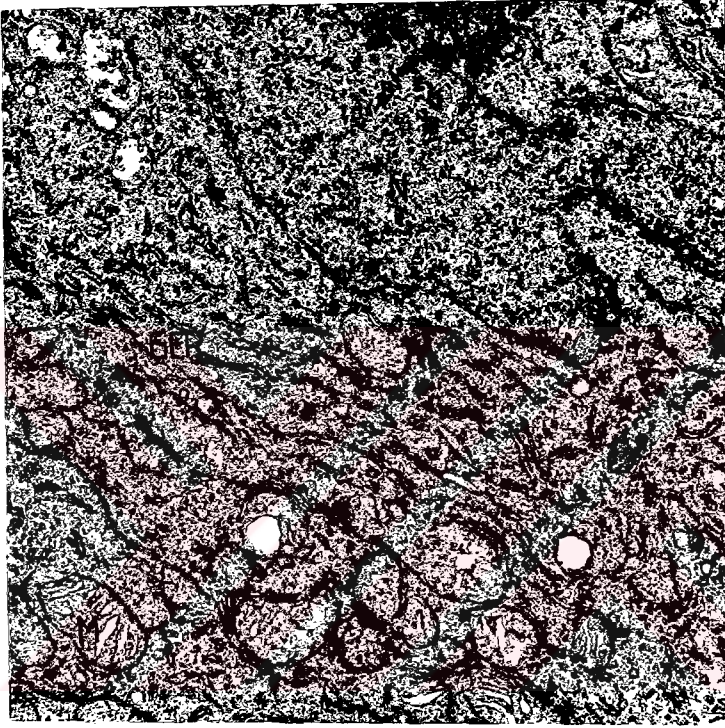
M- Mitokondrium

GER- Granüler endoplazmik retikulum

L- Lipid

yc- yoğun cisim

— - Ribozom



Resim-8:Ovariectomize ve LH-RH verilmiş grup pinealosit ince yapısı;

GER artışı görülmekte (20000 X).

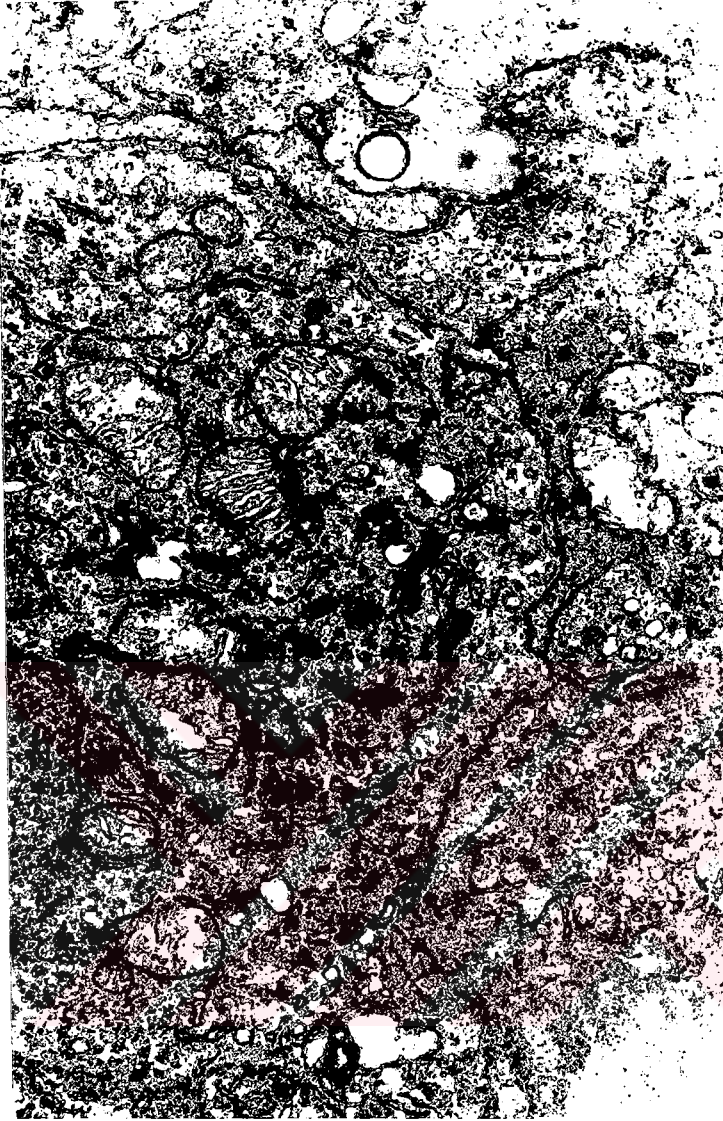
GER- Granüler Endoplazmik Retikulum

N- Nukleus

N1- Nukleolus

M- Mitokondrium (krista erimesi)

→- Ribozom

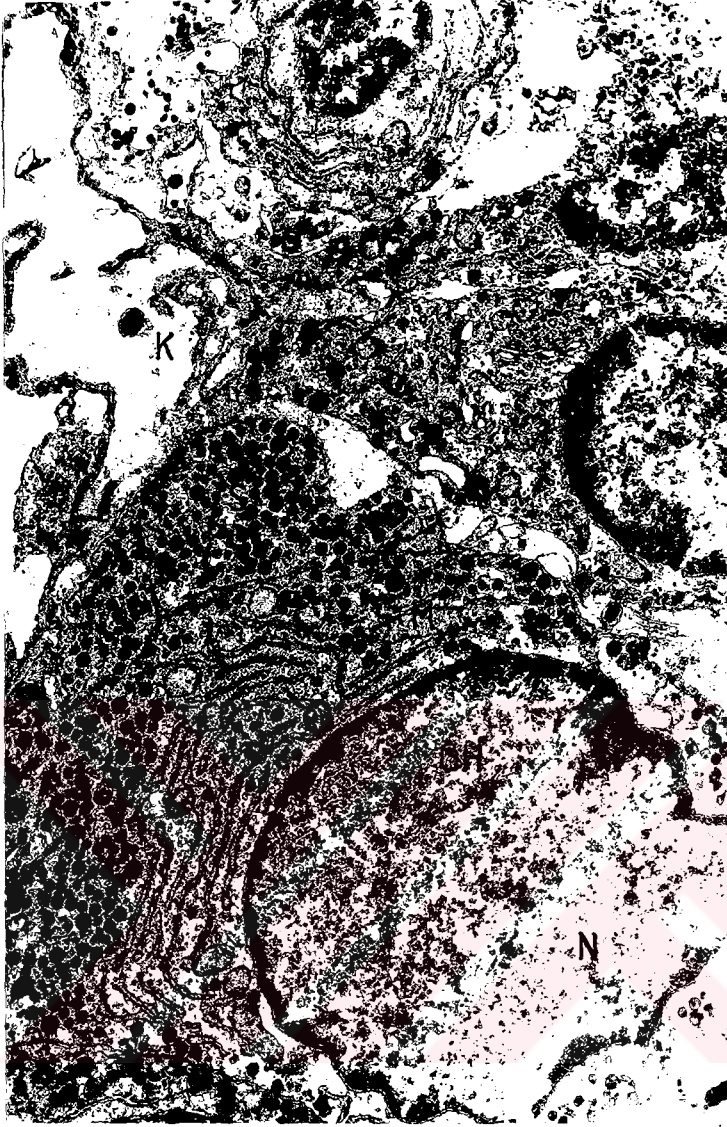


Resim-9:Ovariektomize ve LH-RH verilen grupta pinealosit ince yapısı; vezikül ile çevrili çomak artışı ve yoğun cisimler görülmektedir (20000 X).

N- Nukleus

M- Mitokondrium

yc- yoğun cisim



Resim- 10:Ovariectomize kontrol grubu hipofizde bir gonadotrop hücre;
sitoplazmada fazla miktarda salgı granülü birikimi görül-
mekte (13200 X).

GH- Gonadotrop hücre

N- Nukleus

GER- Aktif granüler endoplazmik retikulum sisternaları

K- Kapiller

S- Salgı granülleri

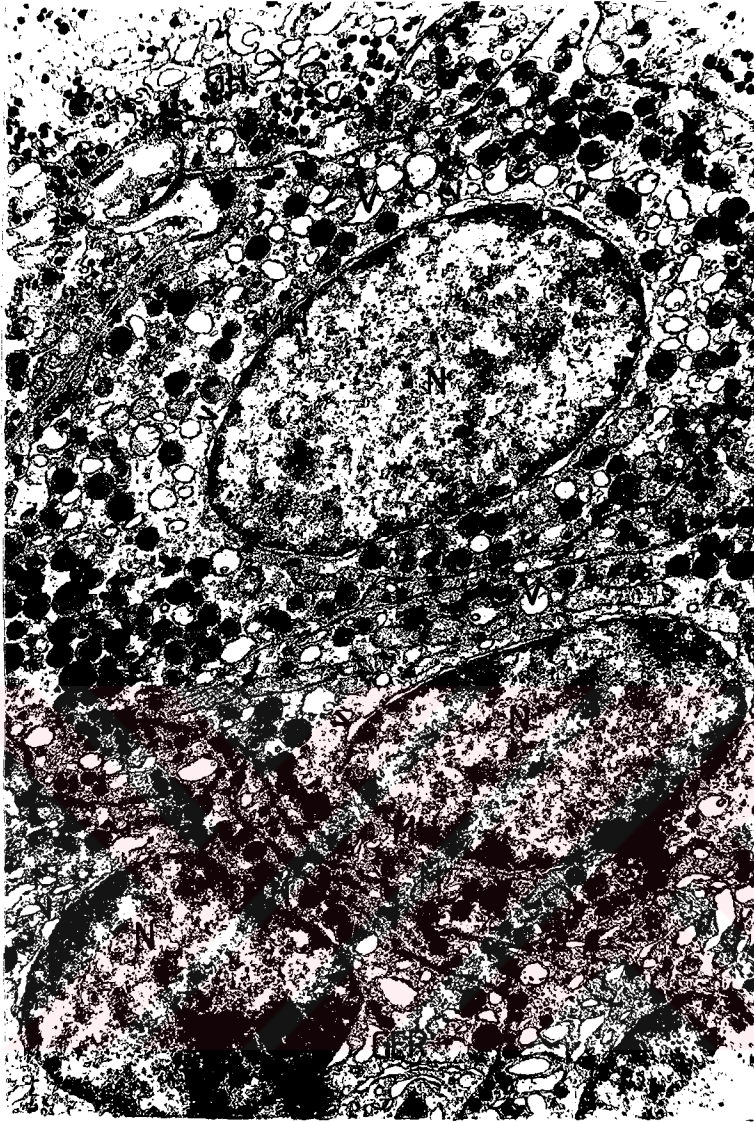
M- Mitokondri

Mammatrop hücreler genellikle gonadotrop hücrelere yakın yerleşik ve nükleusları oval biçimliydi. Tüm mammatrop hücrelerde perinükleer aralık şişkinlikler göstermekteydi. Nükleoplazma içinde heterokromatin hem nükleus membranına bağlı ve hem de dağınık olarak bulunmaktaydı (Resim-10, Resim-11). Bazı kesitlerde nükleolus kromatin materyali ile birleşmiş gibiydi (Resim-11). Sitoplazmada az sayıda, küçük, şekli ovalden yuvarlağa kadar değişen, agranüler endoplazmik retikulum sisternalarını anımsatan vakuollere rastlandı. Bu vakuollerin bazıları boş , bazıları ise osmiofilik materyal taşımaktaydı. Granüller endoplazmik retikulum ve Golgi kompleksi çok iyi gelişmemişti. Salgı granülleri sitoplazmada dağınık olarak görülmekteydi.

OVARIEKTOMİZE EDİLEN ve PTERİN -6-KARBOKSİLİK ASİT VERİLEN GRUP :

Gonadotropik hücrelerde nükleoplazma organel ve inklüzyon bakımından yoğun olarak görüldü. Heterokromatin oldukça az bir miktardaydı ve nükleus membranına bağlıydı. Granüler endoplazmik retikulumda ve Golgi kompleksinde belirgin bir artış görüldü. Mitokondriyumlar şişkin görünümdeydi ve krista kaybı ile birlikte matriks granüllerinde de büyük bir azalma görüldü. Sitoplazmada görülen salgı granülleri azalmış ve hücre zarına yakın yerleşmişlerdi. Hücre sitoplazması organel bakımından az yoğun olarak görüldü (Resim-12).

Mammatrop hücrelerde nükleus kontrol grubu ile aynı yapıda görüldü, ancak perinükleer aralıkta görülen genişlemeler bu grupta görülmedi. Sitoplazma organel bakımından yoğun olarak görülüyordu. Mitokondriyumlar genişlemişti ve kristalarda erime görüldü. Böyle mitokondriumlarda matriks genellikle az miktarda osmiofilik materyal taşımaktaydı. Granüler endoplazmik retikulum gelişmişti (Resim-12, Resim-13). Kontrol grubunda rastlanan küçük vakuoller kaybolmuş gibi görülmekteydi. Sitoplazmada az da olsa lizozomal yapılara rastlandı. Sitoplazmadaki salgı granüllerinin sayısında kontrol grubuna göre bir değişiklik görülmedi (Resim-13):



Resim-11:Ovariectomize kontrol grubu hipofizde mammatrop hücreler;
perinükleer genişleme ve vakuolleşmeler görülmekte (13200 X).

N- Nukleus

Nl- Nukleolus

M- Mitokondrium

GER- Granüler endoplazmik retikulum

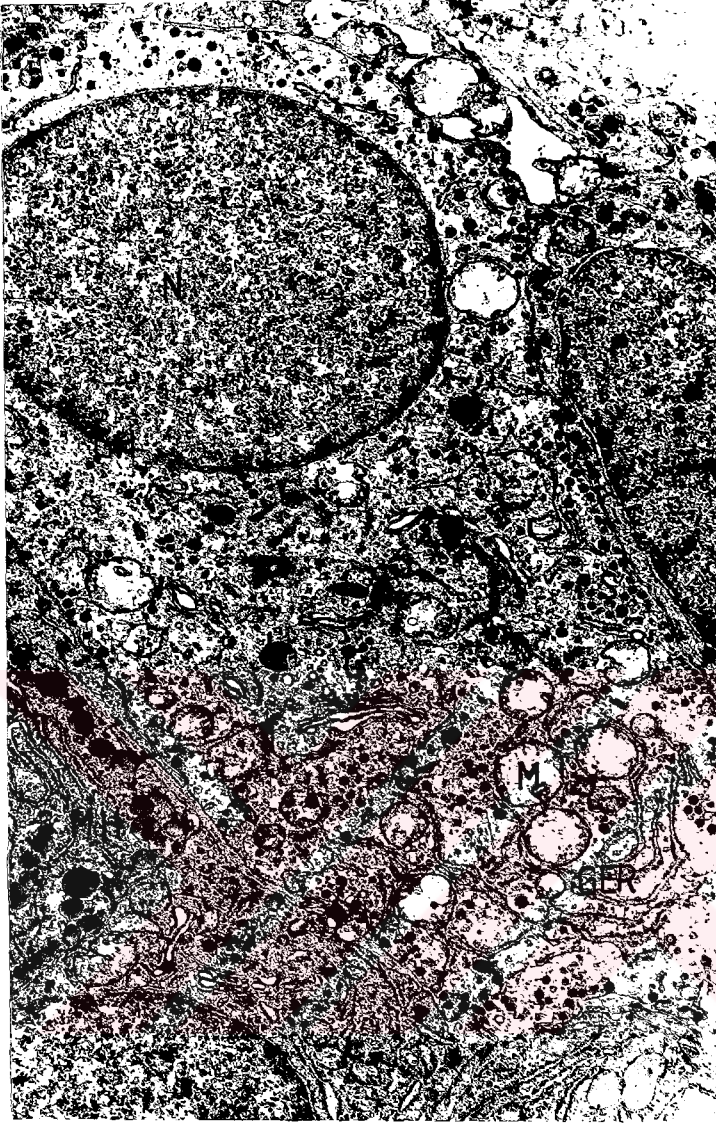
MH- Mammatrop hücre

GH Gonadotrop hücre

V- Vakuol

S- Salgı granülü

>- Perinükleer genişlemeler



Resim -12:Ovariektomize ve Pterin-6-karboksilik asit verilmiş grupta hipofizde gonadotrop hücre; salgı granülleri periferde ve Golgi kompleksindeki artışı görülmektedir (13200 X).

GH- Gonadotrop hücre

MH- Mammatrop hücre

N- Nukleus

G- Golgi kompleksi

M- Mitokondrium

GER- Granüler endoplazmik retikulum

S- Salgı granülü

L- Lipid



Resim -13:Ovariektomize ve Pterin-6-karboksilik asit verilmiş grupta hipofizde mammatrop hücre (16600 X).

MH- Mammatrop hücre

N- Nukleus

M- Mitokondium (Mitokondriumda krista erimesi)

Lz- Lizozom

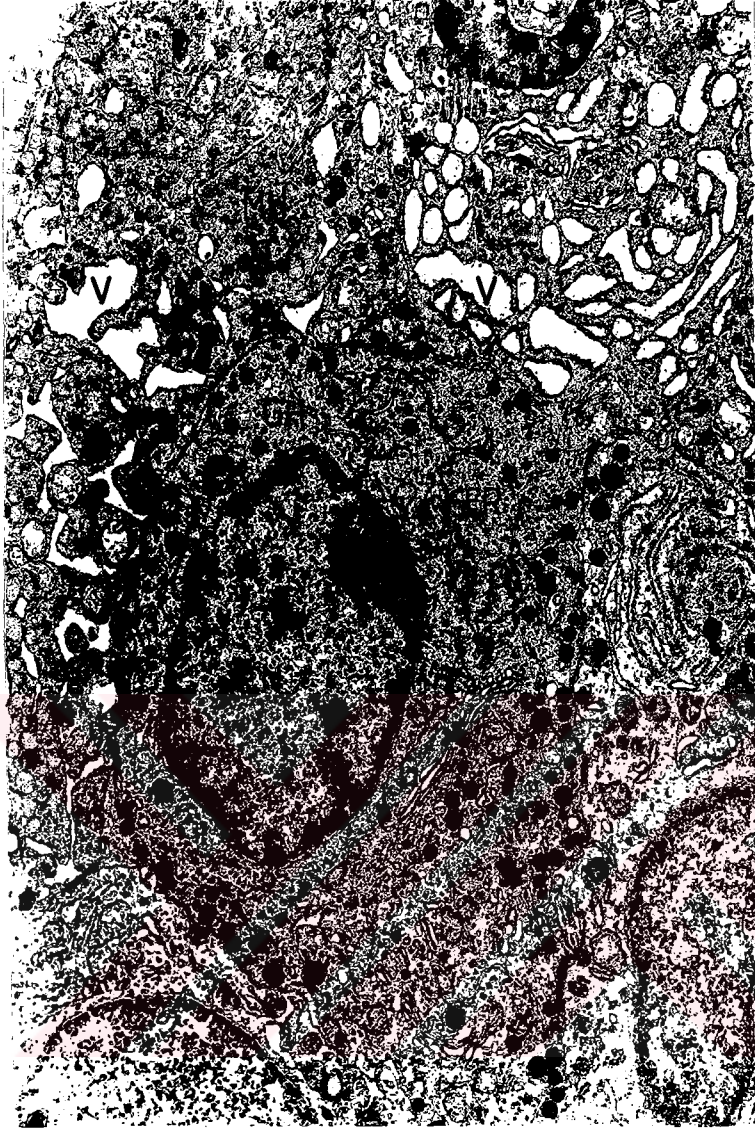
GER- Granüler endoplazmik retikulum

S- Salgı granülü

OVARIEKTOMİZE EDİLEN VE LH-RH VERİLEN GRUP :

Gonadotrop hücrelerde nükleoplazma elektronca yoğun ve kromatin materyali nükleoplazma içerisinde heterojen dağılmıştı. Sitoplazma organel ve inklüzyon bakımından az yoğun. Golgi kompleksi oldukça belirgin ve granüler endoplazmik retikulum gelişmiş durumdaydı. Sitoplazmada az miktarda görülen salgı granülleri hücrenin periferinde yerleşmişti (Resim-14).

Mammatrop hücreler organel bakımından az yoğun bir sitoplazmaya sahipti (Resim-14, Resim-15): Nükleus materyalinde büyük bir farklılık görülmedi. Ancak heterokromatin kaybolmuş ya da nükleus membranına tutunmuş gibiydi. Perinükleer aralıkta genişleme gözlenmedi. Granüler endoplazmik retikulum ve Golgi kompleksinde bir gelişme söz konusuydu. Ayrıca farklı büyüklük ve şekilde içi boş vakuoller göze çarpıyordu (Resim-14). Bu grupta mammatrop hücrelerde göze çarpan nokta sitoplazmada salgı granüllerinin oldukça az görülmesidir. Ayrıca mitokondriumlarda yine yer yer krista erimesi şeklinde değişiklikler göze çarpıyordu (Resim-15).



Resim-14:Ovariectomize ve LH-RH verilmiş grupta gonadotrop hücre;
periferik yerleşimli salgı granülü ve mammatrop hücrede
vakuolleşmeler görülmekte (13200 X).

GH- Gonadotrop hücre

N- Nukleus

G- Golgi kompleksi

GER- Granüler endoplazmik retikulum

MH- Mammatrop hücre

V- Vakuolleşmeler

S- Salgı granülü



Resim -15: Ovariectomize ve LH-RH verilmiş hipofizde mammatrop hücre; granülden yoksun sitoplazma görülmekte (26000 X).

MH- Mammatrop hücre

N- Nukleus

G- Golgi kompleksi

GER- Granüler endoplazmik retikulum

M- Mitokondrium (ve krista erimesi)

S- Salgı granülü

TARTIŞMA

Descartes'den günümüze kadar pineal bezin fonksiyonu üzerinde çeşitli varsayımlar bulunmaktadır. Bazı araştırmacılar pineal bezin fonksiyonsuz bir rudiment olduğunu, bazı araştırmacılar ise multipotent endokrin bir organ olduğunu kabul ediyorlardı (46). Ancak son 20 yıl içerisinde yapılan çalışmalar pineal bezin multipotent endokrin bir organ olduğunu göstermektedir (1,46,47). Yapılan araştırmalar pineal bezin önemini tartışmasız olarak ortaya koymuştur (13,46,47).

Pineal bez ile ilgili çalışmalar arttıkça organın hipotalamus-hipofiz-gonad eksenini üzerindeki etkisinin daha kompleks ve önemli olduğu anlaşılmaya başlanmıştır. Bugün pineal bezin üreme sistemi üzerindeki dolaylı ya da dolaysız etkilerinin araştırılması oldukça geniş bir çalışma alanını kapsamaktadır.

Üreme sistemi endokrinolojisi ile ilgili in vivo çalışmalarda gonad hormonlarının etkisi elimine edilmek istendiğinde gonadektomi yapmak temel bir tekniktir. Bu çalışmada da östrojensiz bir ortamda elde edilen bulguların karşılaştırılması amaçlandığından materyal olarak ovariyektomi yapılmış sıçanlar kullanılmıştır.

Ovariyektomize edilen sıçan pinealositlerinde elde edilen kontrol grubuna ait bulgular daha önce yapılan çalışmaların sonuçlarıyla uyum içerisinde (37, 38):

Yapılan bir çalışmada (39) ovariyektomiden 1-2 hafta sonra pinealositlerde hipertrofinin durduğu ve bundan sonra bir değişikliğin olmadığı gözlenmiştir. Elde ettiğimiz bulgularda göstermiştir ki çalışmamızda 10 günde pinealositlerde hipertrofi meydana gelmiştir.

Çalışmamızda ovariyektomi yapılan kontrol grubunun pinealosit nükleuslarının membranında görülen invaginasyonlar, nükleolusta görülen belirginlik

ile nükleus membranına yakın yerleşim tesbit edildi. Bu tip bulguların sentez aktivitesi artmış olan hücrelere ait olduğu bilinmektedir (48):

Ovariectomize edilen sıçanların pinealosit sitoplazmalarında elde ettiğimiz bulgular da daha önce benzer çalışmalarda elde edilen bulgulara uymaktadır (39,41,49).

Araştırmacılar LH-RH'un pineal bezde yüksek orandaki bağlanması organında peptid/protein salgılama mekanizmasında etkili olabileceğini düşünmüşler ve bu düşüncenin ışığı altında yaptıkları bir araştırmada (50) dikkat çekici bulgular elde etmişlerdir. Araştırmacılar in vitro koşullarda LH-RH'un hamster sıçan ve farelerde pineal bezde protein salgılanmasını artırdığını göstermişlerdir. Bu bulgular LH-RH'un pineal bez üzerinde de etkili olduğunu göstermektedir. Ancak bu bulgular biyokimyasal araştırmaların bulgularıdır. Bizim elde ettiğimiz bulgular, biyokimyasal bulguları destekler yöndedir. Gonadotropik hücrelerde gördüğümüz gelişmiş GER ve Golgi kompleksi bu hücrelerin sentez faaliyetlerinin artmış olduğuna işaret etmektedir.

Mc Nulty ve ark. (51) sıçanlar üzerinde yaptıkları bir çalışmada yaz aylarında 200 kat artan arginine-vasotocin aktivitesinin granüler endoplazmik retikulum, lipid damlaları ve vezikül ile çevrili çomak ve granüler veziküllerde sayısal artışa neden olduğunu göstermişlerdir. Bu değişikliklerin, peptid/protein depolanması ve indol metabolizması ile yakından bağlantılı olduğunu ifade etmişlerdir.

Çalışmamızda kontrol ve deney gruplarında pinealosit sitoplazmalarında gördüğümüz salgı granülleri (yoğun cisim) Milin'in çalışmasında (52) "prosekretuar granül" olarak, Haldar ve Pevet'in çalışmalarında ise "yoğun cisim" olarak isimlendirilmektedir (50,53,54). Çalışmamızda ovariectomize edilen kontrol ve deney grupları pinealositlerde yoğun cisimler görülmekteydi. Ancak

Karasek 'in çalışmasında (49) orşidektomi ve organ kültürlerinde "vezikül ile çevrili çomak" ların sayısındaki bir artıştan bahsedilmektedir. Bizim çalışmamızda bu yapılar belirgin olarak görülmedi. Bunların fonksiyonel önemi tam olarak anlaşılamamıştır. Değişik fizyolojik faktörler ile kontrol edilen hücresel yapılar olarak kabul edilmektedirler. Miktarları, yapıları ve sitoplazmik yerleşimleri çevresel ışık şartlarına bağlı gibi görülmektedir. Romijn değişen koşullar altında sempatektomiden sonra noradrenalin için pineal reseptörü gibi fonksiyon gösterdiklerini iddia etmiştir (9).

Çalışmamızda gördüğümüz yoğun cisimlerin ne olduğu tartışmalıdır.

Bazı araştırmacılara göre bunlar prosekretuvar granüldürler, bazı araştırmacılara göre de lizozomal formasyonun ilk basamağı olabileceklerini veya katekolamin ve protein içerdiğini ileri sürmektedirler (54).

Pineal bezin peptid/protein salgılaması üzerine LH-RH'un (50), prolaktinin (53) ve metoksiindollerin (54) etkilerinin araştırılmasına karşın taranabilen literatürde pterin-6-karboksilik asitin etkilerinin araştırıldığı bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Ancak Üner 'in yüksek lisans tezinde (43) pterin -6- karboksilik asitin pinealosit yapısını östrus siklusunun farklı evrelerine göre etkilediği belirtilmektedir. Araştırmacı, pterin-6-karboksilik asitin indolamin biyosentezi üzerinde etkili olabileceğini de ileri sürmüştür. Üner'in bulguları, pterin -6- karboksilik asitin gonadotrop hücreler üzerinde etkili olmadığını göstermektedir. Halbuki bizim bulgularımızda pterin-6-karboksilik asitin muhtemelen LH-RH'un üzerindeki etkilerinden dolayı gonadotrop hücrelerde sekresyonu artırmaktadır. Sonuçlar arasındaki bu farklılık, uygulanan yöntemlerin farklılığından kaynaklanıyor olabilir. Üner, ovariectomi yapılmamış, normal östrus siklusu gösteren sıçanlarda çalışmıştır. Biz ise ovariectomize edilmiş, normal östrus siklusu göstermeyen sıçanlarda çalıştık. Ovariectomize edilen

sıçanlarda LH-RH salınması uyarılmış durumdadır. Buna ek olarak verilen pterin-6-karboksilik asit gonadotrop hücrelerde sekresyona neden olmuştur.

Bu çalışmada kontrol grubunu oluşturan ovariectomize edilmiş sıçanların hipofizinde daha önce yapılan çalışmalara (55,56) benzer bulgular elde edilmiştir.

Mietkiewski ve ark. (55) gonadektominin erkek sıçan hipofizinde gonadotropik hücrelerde hipertrofi oluşturduğunu göstermişlerdir.

Masataka ve ark. (34) neonatal ovariectominin hipofiz ultrastrüktüründe ortaya çıkardığı hipertofik gonadotrop hücreleri tanımlamaktadırlar.

Somer ve ark. (56) kronik alkol etkisi ile kastre olmuş olan sıçanlarda gonadotropik hücrelerdeki hiperplazi ve hipertrofiyi göstermişlerdir.

Bizim çalışmamızda da kısa süreli ovariectomi ile kontrol grubuna ait hücrelerde ultrastrüktürel olarak hipertrofik bir görünüm hakimdi. Gonadotropik hücre sitoplazmalarında salgı granüllerinde belirgin bir artış vardı. Gonadotropik hücrelerde endoplazmik retikulum dilatasyonu, aktif Golgi kompleksi ve çok sayıda mitokondri dikkati çekti. Araştırmacılara göre (55,56) bu tip hücreler artan LH-RH'ya bağlı olarak ortaya çıkmaktadır. Mendoza ve ark.(32) kastre edilmiş sıçan hipofizinde LH-RH enjeksiyonunun LH'un serumdaki miktarının arttığını belirtmişlerdir. Bu bulgu, çalışmamızda LH-RH verilen grupta görülen salgılama olayındaki hızlanma ile uyum içindedir. Buna paralel olarak gonadotrop hücrelerde salgı granüllerindeki artış da Mendoza'nın bulgularını desteklemektedir.

Vaughan ve ark.(57) 1982 de yayınladıkları bir çalışmada sığır pineal peptid fraksiyonu (E_5) nun kastre edilmiş ve kastre edilmemiş sıçanlardaki etkisini araştırmışlardır. Elde edilen bulgular bu uygulamanın kastre edilmiş grupta plazma LH ve FSH ile hipofiz dokusundaki LH düzeyleri üzerinde önemli bir etki göstermediğini, ancak hipofiz dokusunda FSH azalmasını engel-

lediği yöndedir. E_5 in hipofizde prolaktin düzeyini azalttığı da elde edilen bulgular arasındadır.

Pterin-6-karboksilik asit uygulanan sıçanların gonadotrop hücrelerinde görülen salgı granüllerindeki azalma, dejeneratif mitokondrionlar ve hücre sitoplazmasının elektron yoğunluğunun azalması, sentez aktivitesinde bir azalma olduğu şeklinde yorumlandı. Halbuki proestrus fazındaki sıçanlarda pterin-6-karboksilik asitin gonadotrop hücrelerin aktivitesi üzerinde etkili olmadığı bildirilmektedir(43,58).

Mammatrop hücrelerde gözlediğimiz bulgular, pterin-6-karboksilik asitin ovariectomize edilen sıçanlarda bu hücrelerin aktivasyonunun artırdığı gözlemlendi. Ayrıca ergin dişi sıçanlarda pterin-6-karboksilik asitin mammatrop hücreler üzerinde uyarıcı bir etki yaptığı bildirilmiştir (43,58). Bunun dışında düşük serotonin de prolaktin sekresyonunu artırıcı bir etkiye sahiptir (59). Çünkü düşük serotonin kanda yüksek melatonin seviyesinin bir işaretidir. Böylece indol türevlerinin de mammatrop hücreler üzerinde sekresyonu artırıcı bir etki den söz edilebilir.

Sonuç olarak ovariectomize edilen sıçanlarda pterin-6-karboksilik asitin pinealosit ve gonadotrop hücrelerin aktivitesini artırdığı, mammatrop hücrelerin aktivitesini uyardığı, LH-RH'un ise pinealosit ve gonadotropik hücrelerin aktivitesini artırırken mammatrop hücrelerde bir değişiklik oluşturmadığını söyleyebiliriz. Ayrıca, elde ettiğimiz bulgular adenohipofizdeki gonadotrop hücreler üzerinde stimulan etkisinin olduğu bilinen LH-RH'un pinealositler üzerinde de aynı etkiyi gösterdiğini destekler yöndedir.

Bu alanda gerek şimdiye kadar yapılan çalışmalar, gerekse bizim bulgularımız ışığında bir değerlendirme yapmak gerekirse; pteridin türevi hormonların pineal bezdeki metabolizmasının ortaya çıkarılması ve özellikle hipotalamus-hipofiz-gonad eksenini üzerindeki etkilerinin ayrıntılı bir biçimde çalışılması gerekmektedir.

KAYNAKLAR

- 1- WILLIAMS P., WARWICK R., Gray's Anatomy, 36 th ed., London, Churchill Livingstone 1980, 1445-1448 .
- 2- ÇİMEN A., Anatomi, Bursa, Uludağ Üniversitesi Basımevi, 1987, 313-317 .
- 3- CALVO J., BOYA J., Ultrastructure of the Rat Pineal Stalk, Acta anat., 123, 172-177, 1985 .
- 4- BJÖRKLUND A., OWMAN CH., WEST K.A., Peripheral Sympathetic Innervation And Serotonin Cells in the Habenular Region of the Rat Brain, Z. Zellforsch 127,570-579 1972 .
- 5- GENESER F., Textbook of Histology, Copenhagen, Munksgaard , 1986, Chapter 21, 564-568.
- 6- KALAYCI Ş., Histoloji, Bursa, Uludağ Üniversitesi Basımevi, 1986, 313-317.
- 7- ÖCAL T., Değişik DeneySEL Durumlardaki Epifiz Bezi Üzerinde Ultrastrüktürel Araştırmalar ; 5-Metoksyindol'lerin Pineal Peptit-Protein Sentez Mekanizması Üzerine Etkileri, Tıp Bilimleri Doktora Tezi, İstanbul 1984
- 8- PEVET P., On The Presence Of Different Populations of Pinealocytes in the Mammalian Pineal Gland , J.Neural Transmission, 40, 289-304, 1977 .
- 9- PEVET P., Secretory Processes in the Mammalian Pinealocyte under Natural and Experimental Conditions, Progress in Brain Research, 52, 149-194, 1979 .
- 10- CARDİNALİ D.P., VACAS M.I., ROSENSTEİN R., et.al., The Pineal Gland as a Multi-effector Organ, Advances in pineal research, 129-138, 1996.
- 11- BENSON B., KRASOVİCH M., Circadian Rhythm in the Number of Granulated Vesicles in the Pinealocytes of Mice ; Effects of Sympathectomy and Melatonin Treatment, Cell Tiss. Res. 184,499-506, 1977 .
- 12- MOLLER M., The Ultrastructure of the Human Fetal Pineal Gland ; I.Cell Types and Blood Vessels, Cell Tiss. Res., 152,13-30, 1974 .

- 13- REITER R.J., The Pineal Gland: An Important Link to the Environment, Nips, 1, 202-205, 1986 .
- 14- VRIEND J., REITER R.J., ANDERSON G.R., Effects of the Pineal and Melatonin on thyroid Activity of Male Golden Hamsters, Gen. Comp. Endocr., 38, 189-195, 1979.
- 15- VAUGHAN M.K., The Pineal Gland-A Survey of Its Antigonadotropic Substances and Their Actions, Inter.Rev.Physiol., 24,41-95, 1981 .
- 16- EBELS I., BALEMANS M.G.M., Physiological Aspects of Pineal Functions in Mammals, Physiol. Rev. 66,3, 581-604, 1986 .
- 17- YOSHISUKE OZAKI, LYNCH H.J., WURTMAN R.J., Melatonin in Rat Pineal, Plasma, and Urine: 24-Hour Rhythmicity and Effect of Chlorpromazine, Endocrinology 98, 6, 1418-1424, 1976 .
- 18- AXELROD J., The Pineal Gland A Neurochemical Transducer; Chemical signals from nerves regulate synthesis of melatonin and convey information about internal clocks., Science, 184,1341-1348, 1974 .
- 19- VITALE P.M., DARROW J.M., DUNCAN M.J., et.al., Effects of photoperiod, pinealectomy and castration on body weight and daily torpor in Djungarian hamsters (Phodopus sungorus), J.Endocr 106, 367-375, 1985 .
- 20- PETTERBORG L.J., REITER R.J., Effect of Photoperiod and Pineal Indoles on the Reproductive System of Young Female White-Footed Mice, J.Neural Transmission, 55, 149-155, 1982.
- 21- WUN WAN-SONG A., BERKOWITZ A.S. PRESLOCK J.P., Melatonin's differential inhibition of FSH and LH release from hamster pituitary glands, Mol. Cell. Endocr., 46, 215-225, 1986.
- 22- SACKMAN J. W., LITTLE J.C., RUDEEN P.K., et.al., The Effects of Pineal Indoles Given Late in the Light Period on Reproductive Organs and Pituitary Prolactin Levels in Male Golden Hamsters, Hormone Res 8,84-92, 1977.

- 23- RINTAMAKI H., HISSA R., BALTHAZART J., et al., The Effect of Pinealectomy on Plasma Levels of Gonadotrophins and Growth Hormone in the Pigeon (*Columba livia*), *J. Pineal Res.* 1, 381-389, 1984.
- 24- PEVET P., HALDAR-MISRA C., ÖCAL T., The Independency of an Intact Pineal Gland of the Inhibition by 5-Methoxytryptamine of the Reproductive Organs in the Male Hamster, *J.N. Transmission*, 52, 95-106, 1981.
- 25- PEVET P., HALDAR-MISRA C., ÖCAL T., Effect of 5-Methoxytryptophan and 5-Methoxytryptamine on the Reproductive System of the Male Golden Hamster, *Gen. Comp. Endocr.*, 46, 3, 357, 1982.
- 26- COLLU R., FRASCHINI F., MARTINI L., The Effect of Pineal Methoxyindoles on Rat Vaginal Opening Time, *J. Endocr.* 50, 679-683, 1971 .
- 27- VAUGHAN M.K., VAUGHAN M.G., KLEIN D.C., Arginine Vasotocin : Effects on Development of Reproductive Organs, *Science*, 186, 938-939 , 1974.
- 28- DEMOULIN A., HUDSON B., FRANCHIMONT P., et al., Arginine-Vasotocin does not Affect Gonadotrophin Secretion in vitro, *J. Endocr.*, 72, 105-106, 1977.
- 29- SALISBURY R.L., KRIEG Jr. R.J., SEIBEL H.R., Effects of arginine vasotocin, oxytocin, and arginine vasopressin on steroid-induced surges of luteinizing hormone and prolactin in ovariectomized rats, *Acta Endocr*, 94, 166-173, 1980.
- 30- VAUGHAN M.K., REITER R., VAUGHAN M.G., Fertility Patterns in Female Mice Following Treatment with Arginine-Vasotocin or Melatonin. *Int. J. Fertil.*, 21, 1, 65-68, 1976.
- 31- EBELS I., NOTEBORN H.P.J.M., DE MOREE A., Some characteristics of pterins isolated from sheep pineals compared with those of synthetic pterins and the influence of these compounds on the methylating

- capacity of pineals of rats exposed to light of different wavelengths.,
 Biochem. Clin. Aspects of pteridines, 3, 127-150, 1984.
- 32- MENDOZA D., ARIMURA A., SCHALLY A.V., Ultrastructural and light
 microscopic observations of rat pituitary LH- containing gonadotrophs
 following injection of synthetic LH-RH., Endocr., 92,4,1153-1160,1973.
- 33- ÖZER A., Endokrin sistem histolojisi ders notları, 1987.
- 34- MASATAKA S., YAMAUCHI K., Effects of neonatal ovariectomy on the
 ultrastructure of gonadotrophs in female rats., Acta anat, 117,281-
 288, 1983.
- 35- SAMIR N. IBRAHIM, MOUSSA S. M., CHILDS G.V., Morphometric studies
 of rat anterior pituitary cells after gonadectomy:correlation of changes
 in gonadotropes with the serum levels of gonadotropins., Endocr. 119,
 2, 629-637, 1986
- 36- GIROD C., LHERITIER M., TROUILLAS J., et. al., Cell types of the
 pars distalis of the hedgehog (*Echinocystus europaeus* L.) adenohypophy-
 sis: Cytological, immunocytochemical and ultrastructural studies 2. pro-
 lactin cells., Acta anat ., 117, 102- 111, 1983.
- 37- SAHU A., CHAKRABORTY S., Estradiol modulation of pineal gland activity
 in the wild bandicoot rat, *Bandicota bengalensis*., Acta anat., 125,
 1-5, 1986
- 38- KARASEK M., PAWLIKOWSKI M., ARIENS KAPPERS J., et. al., Influence
 of castration followed by administration of LH-RH on the ultrastructure
 of rat pinealocytes., Cell Tiss. Res., 167, 325-339,1976
- 39- DAS GUPTA T.K., Cellular hypertroph in rat pineals after castration.,J,
 Endocr. 41, 607-608, 1968.
- 40- SARKAR D. K., FINK G., Lutteinizing hormone releasing factor in pituitary
 stalk plasma from long-term ovariectomized rats. Effects of steroids.,

- J. Endocr. 86, 511-524, 1980.
- 41- SATODATE R., SASAHİ K., OTA M., The pineal gland of intact, hypophysectomized, or ovariectomized rats. Arch Neurol, 23, 278-286, 1970
- 42- ERDİNÇ F., Epiphysis cerebri üzerinde deneysel incelemeler ve pinealocyt'lerde görülen ultrastrüktürel değişiklikler. Doktora tezi, İstanbul 1974.
- 43- ÜNER M., Pterin-6- carboxylic acid'in değişik estrus evrelerinde hipofiz ve pineal ultrastrüktürü üzerine etkisi., Yüksek lisans tezi 1987.
- 44- REDDİNG T.W., SCHALLY A.V., The distribution, half-life and excretion of tritiated luteinizing hormone-releasing hormone (LH-RH) in rats., Life sciences 12,1, 23-32,1973.
- 45- REYNOLDS E.G., The use of lead citrate at high pH as an electron opaque stain in electron microscopy., J.Cell.Biol. 17, 208-212,1963.
- 46- REİTERJ.R., FRASCHİHI F., Endocrine aspects of the mamamalian pineal gland: A Review., Neuroendocrinology 5, 219-255,1969.
- 47- ROMİJN H.J. The pineal, Atranquilizing organ ?. Minireview., Life sciences, 23,2257-2274, 1978.
- 48- KRSTIC R.V., Ultrastructure of the mammalian cell An Atlas. Springer Verlag, Berlin Heidelberg New York 1979,10-17.
- 49- KARASEK M. Quantitative changes in number of "Synaptik Ribbons" in Rat pinealocytes after orchidektomy and in organ culture.,J.Neural transmission 38, 149-157,1976.
- 50- HALDAR - MISRA C., PEVET P., The influence of luteinizing hormone-releasing hormone (LH-RH) on the process of protein and/or peptide secretion characterized by the formation of granular vesicles in mammalian pinealocytes Comparative in vitro study. Cell Tissue Res., 232, 529-538, 1983.

- 51- Mc NULTY J.A., PRECHEL M.M., AUDHYA T.K., et. al. Pineal ultrastructure and indole profiles spanning the summer rise in arginine vasotocin immunoactivity. *Endocr.*, 117,3, 1035-1042,1985.
- 52- MİLİN J.R., Ultrastructural characteristics of proteinergic synthesis in the pineal gland. *Folia anat.*, 1, 21,445-466,1981.
- 53- HALDAR - MİSRA C. PEVET P., Influence of prolactin on the processes of protein and/or peptide secretion in mouse and rat pinealocytes an in vitro study. *J.N.Transmission*, 58, 245- 259,1983.
- 54- HALDAR - MİSRA C. PEVET P., The influence of different 5-methoxy-indoles on the process of protein/peptide secretion characterized by the formation of granular vesicles in the mouse pineal gland An in vitro study. *Cell Tissue Res.* 230, 113-126,1983.
- 55- MIETKIEWSKI K., MALENDOWICZ L., LUKASZYK A., Cytological and cytochemical comparative study on the effect of cyproterone (Anti-androgen) and gonadektomy on the gonadotrophic cells of the hypophysis in male rats. *Acta Endocrinologica.* 61, 293-301,1969.
- 56- SOMER L., WROBEL K.H, SCHIMMEL M., Castration Cells in rat adenohypophysis after long-term alcohol consumption., *Acta anat.*, 131,41-46, 1988.
- 57- VAUGHAN M.K., RICHARDSON B.A., JOHNSON L.Y., et al., Effects of a bovine pineal peptidic fraction (E_5) on plasma and pituitary levels of LH,FSH and prolactin., *Experientia*, 38, 871-872, 1982.
- 58- ÜNER M., ÜNLÜ F., ÖCAL İREZ T., ve ark. Pterin-6-karboksilik asid'in pineal ve hipofiz ultrastrüktürü üzerine etkileri., VIII. Elektronmikroskopik kongresi, 17-12 Haziran 1987 Sivas, Serbest Bildiri Özetleri, 16.
- 59- SAFFE R.B., SAUNDER W.B. Reproductive endocrinology, YEN S.S.C., "Prolactin in human reproduction" 237-263, 1986.