

Tavşanlarda Aspirinin Ovulasyon Üzerine Etkisi

EFFECT OF ASPIRIN ON OVULATION IN THE RABBIT

Yrd.Doc.Dr.Yılmaz ŞAHİN*, D.Olgun KONTAŞ**, Doç.Dr.Erdal KAYA*

Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi 'Kadın Hastalıkları ve Doğum ABD, "Patoloji ABD, KAYSERİ

ÖZET

Siklooksijenaz inhibitörü olan indometazin ile tavşanlarda hCG ile indüklenmiş ovulasyonun önlenmesi ovulasyonda prostaglandinlerin rol oynadığını göstermektedir. Bu deneysel çalışma siklooksijenaz inhibitörü olan aspirinin tavşanlarda ovulasyonda aynı inhibitör etkiyi gösterip göstermediğini anlamak için yapıldı. Marjinal kulak veni yolu ile tüm tavşanlara hCG (100IU) verilip aynı yolla bir gruba hCG'den 8 saat sonra indometazin (10 mg/kg), bir gruba da hCG'den 6.5 saat sonra aspirin (100 mg/kg) verildi. Kontrol grubuna hCG'den 7 saat sonra serum fizyolojik verildi. hCG'den 24 saat sonra laparotomi yapıldı. Unrüptüre folliküller, hemorajik unrüptüre folliküller ve korpus hemorajikum, korpus luteumlar sayılarak ovulasyon oranı (ovulasyon sayısı/matür folliküller) bulundu. Ovulasyon oranı kontrol grubunda %81.7, indometazin grubunda %0 ve aspirin grubunda %73.7 idi. Aspirinin ovulasyonu önleyemediği görüldü.

Anahtar Kelimeler: Ovulasyon, Aspirin, indometazin

T Klin Jinekoi Obst 1993, 3:73-76

Memelilerde ovulasyon sırasında öoverlerde akut inflamatuvar reaksiyona benzer vasküler, strüktürel ve metabolik değişiklikler olmaktadır. Preovulatuvar periyotta yükselen LH öoverde kan akımını artırır, intravasküler volüm ve perméabilite artışı öoverde hiperemi ve interstisyel ödeme neden olur (1). Bu sırada öoverde inflamatuvar reaksiyonda mediator olarak bilinen prostaglandinler, lökotrenler, bradikinin, kallikrein, platelet aktivatör faktörü ve plasminogen aktivatör aktivitesinde lo-

Geliş Tarihi: 22.5.1992

Kabul Tarihi: 30.11.1992

Yazışma Adresi: Yrd.Doc.Dr.Yılmaz ŞAHİN
Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi
Kadın Hastalıkları ve Doğum ABD,
38039 KAYSERİ

Anatolian J Gynecol Obst 1993 *

SUMMARY

Indomethacin, a cyclooxygenase inhibitor, blocks hCG-induced ovulation in rabbits, suggesting that prostaglandins are involved in this process. Experiments were done to investigate whether aspirin, which is also cyclooxygenase inhibitors, display the same inhibitory effect on ovulation in the rabbit. Indomethacin (10 mg/kg) and aspirin (100 mg/kg) were administered via marginal ear vein, 8 hours and 6.5 hours respectively after hCG (100IU) administration. Control animals received serum physiologic alone. Laparotomy was performed 24 hours after hCG administration. The presence of unruptured follicles, hemorrhagic unruptured follicles, and corpora hemorrhagica, corpora lutea was recorded and ovulatory efficiency (OVEF-ovulations/mature follicles) was determined. OVEF was 81.7% for control, 0% for indomethacin-treated and 73.7% for aspirin treated rabbits. Ovulation was not inhibited by aspirin.

Key Words: Ovulation, Aspirin, Indomethacin

Anatolian J Gynecol Obst 1993, 3:73-76

kal bir artış vardır. Bunların follikül rüptürü sürecinde rol aldığı kabul edilmektedir (1-5).

Akut inflamatuvar reaksiyonu inhibe eden indometazin, sodyum diklofenak gibi birçok nonsteroidal antiinflamatuvar ilaçlarla (NSAİİ) ovulasyonun inhibe edilebildiği gösterilmiştir. Ovulasyon infeksiyon alanında lökosit ve makrofajların çoğalmasını azaltan, daha çok kronik enfeksiyonlarda etkili olan deksametazon ve prednisolon gibi steroid antiinflamatuvar ajanlarla inhibe edilememiştir. Ovulasyon akut inflamatuvar bir olaydır. Ovulasyon yaklaşırken follikül sıvıda prostaglandinlerin konsantrasyonu artmaktadır. Eğer bu artış indometazin verilmesiyle önlenirse, follikül rüptürü olmaz, ovulasyon gerçekleşemez. İndometazin gibi siklooksijenaz inhibitörü olan aspirinin tavşanlarda intragastrik yolla verilmesiyle ovulasyonu önleyemediği bildirilmiştir (6).

Biz tavşanlarda aspirini intravenöz yolla 100 mg/kg dozda vererek ovulasyonda indometazin gibi aynı inhibitör etkiyi gösterip göstermediğini araştırmak için bu çalışmayı yaptık.

MATERYEL VE METOD

Bu çalışma 13 adet seksüel olarak matür, 2-2.5 kg ağırlığındaki Yeni Zelanda Beyaz dişi tavşanların üzerinde yapıldı. Hayvanlar deneysel işlemlerden önce kontrollü ışık ve ısı ortamlarında aynı şartlarda izole edildi. Tavşanların hepsine saat 08.00'de marjinal kulak veni yolu ile 100 IU Human Koryonik Gonadotropin (hCG; Pregnyl ampul, Organon) verildi, indometazin grubuna (n-3) hCG'den 8 saat sonra aynı yol ile indometazin (Indocid 50 mg injectable, Merck Sharp and Dohme, Paris) 10 mg/kg verildi. Aspirin grubuna (n-4) hCG'den 6.5 saat sonra 100 mg/kg dozda aspirin (Aspisol, injectable asetil salisilik asit, Bayer, Leverkusen) verildi. Kontrol grubu (n-6) tavşanlara ise hCG'den 7 saat sonra aynı yolla serum fizyolojik verildi. hCG'den 24 saat sonra tüm hayvanlara intravenöz pentothal sodium (32 mg/kg) verilerek anestezi altında laparotomi yapıldı. Bilateral överler çıkarıldı.

Diseksiyon mikroskobu altında x10 büyütme ile muayene edilip her över için 2 mm'den büyük rüptüre olmamış follüküller, hemorajik stigma ve korpus luteumlar sayılıp kayıt edildi. Unrüptüre follüküllerden hemorajik olanlar belirlendi, %10'luk formalinde tesbit edilip, parafinde bloklandıktan sonra överlerden uzak eksenleri boyunca 50 mikron aralıklarla hiç doku kalmayana kadar kesit yapıldı. Dokular hematoksilen-eosin (HE) ile boyanıp ışık mikroskobu ile incelendi, iki mm'den büyük unrüptüre follüküller ve hemorajik olanları, korpus luteumlar ovulasyon olarak sayıldı. Mikroskopik sayımlar esas alındı.

Kontrol grubu, indometazin grubu ve aspirin grubunda follüküllerin özellikleri ve ovulasyon oranı (ovulasyonlar/matür follüküller) karşılaştırıldı. Sonuçların istatistiksel analizinde Mann Whitney u ve Student t testleri kullanıldı.

BULGULAR

Her 3 grupta follüküllerin özellikleri ve ovulasyon oranları Tablo 1'de görülmektedir. Kontrol grubunda toplam 12 överde 115 matür follükülden 94 ovulasyon olup ovulasyon oranı %81.7 (94/115), her bir över için toplam follükül sayısı 9.6 olarak bulundu, indometazin verilen grupta toplam 6 överde hiç ovulasyon görülmedi. Ovulasyon oranı %0 (0/56), bir över için follükül sayısı 9.33 olarak bulundu. Toplam 56 matür follükünün de 26'sında (%46) follüküller içine kanama olup hemorajik unrüptüre follükül şeklindeydi. Aspirin verilen grupta toplam 8 överde ovulasyon oranı %73.7 (42/57) ve bir över için follükül sayısı 7.1 olarak bulundu.

Kontrol grubu ile indometazin ve aspirin grubunun toplam follükül sayıları benzerdi ($p>0.05$), $p>0.05$). He-

Tablo 1. Kontrol ve tedavi grupları överlerinde follüküllerin özellikleri

	Kontrol (12 över)	indometazin (6 över)	Aspirin (8 över)
Unrüptüre follüküller	21	56	14
Hemorajik unrüptüre follüküller	4	26	1
Ovulasyon olan follüküller	94	-	42
Toplam follüküllerr	115	56	57
Över başına follüküller	9.6	9.3	7.1
Ovulasyon yüzdesi	81.7	0	73.7

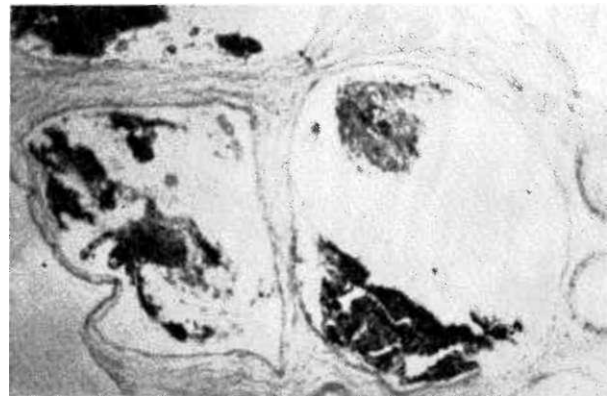
Ovulasyon yüzdesi-Ovulasyon sayısı / Toplam follüküllend 00

morajik unrüptüre follükül sayısı aspirin grubunda kontrol grubundan farklı değilken ($p>0.05$), indometazin grubunda kontrol grubundan önemli derecede yüksek bulundu ($p<0.05$). indometazin grubunda ovulasyon tamamen önlenerek kontrol grubuna göre anlamlı fark bulundu ($p<0.001$). Aspirin grubu ile kontrol grubunun ovulasyon oranı arasında önemli bir fark bulunamadı. Şekil 1'de indometazin grubunda hemorajik unrüptüre follüküller, Şekil 2'de aynı grupta luteinize unrüptüre follükül görülmektedir.

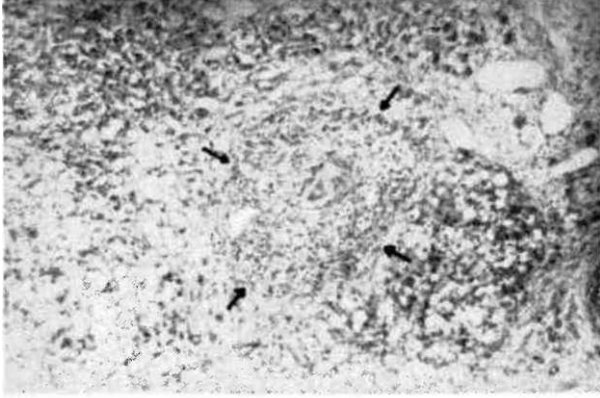
TARTIŞMA

Follükül rüptürü follüküün kollajen tabakasının bozulmasıyla gerçekleşir. Bu dinamik olayda steroid hormonlar, prostaglandinler, histamin, siklik nükleotidler, enzimatik aktiviteler ve ovarian düz kas kontraksiyonlarının rol oynadığı düşünülmektedir (1).

Preovulatuvar gonadotropinlerin yükselmesi matür ovarian follükül duvarında inflamatuvar reaksiyonu stimüle eder. Granuloza hücrelerinden prostaglandinler salgılanır, artan prostaglandinler ile yine granuloza hücrelerinde üretilen plasminojen aktivatörü sentezi stimüle edilir, intrafollüküller plasmin artar. Plasmin ve diğer serin proteazlar follüküün konnektif dokusundaki ovarian



Şekil 1. Indometazin grubunda hemorajik unrüptüre follükül (ex32, HE).



Şekil 2. İndometazin grubunda luteinize unrüptüre follikülx100, HE.

kollajenazları aktive eder, bu lokal proteolitik enzimler de follikül duvarındaki strüktürel bütünlüğü değiştirir, kollajen fibrilleri parçalayarak follikül rüptürünü kolaylaştırır. PG'lerin artışı ile vazodilatasyon ve vasküler permeabilite artışı da olur (1,5). Ovarian folliküllerin teka externa ve kortikal stromasında bulunan PG'lerin etkili olduğu düz kaslar ovarian kontraktileteye neden olarak ovulasyon yardımcı olabilir, ancak bu durum ovulasyonda asıl faktör değildir (1).

Hipofizektomili raflarda GnRH'un gonadotropinlerin yokluğunda mayozis ve ovulasyonu sağladığı gösterilmiştir. GnRH'un stimule ettiği PG artışı ve ovulasyon PG sentetaz inhibitörleriyle inhibe edilebildiğinden GnRH'un PG yolu ile ovulasyonu sağladığı sanılmaktadır (1,7).

Espey ve ark. (8) IV hCG ile indüklenen tavşanlarda PG'lerin 2 saat sonra artmaya başlayıp 10 saat süren ovulatuvar sürecin 2. yarısında hızla yükseldiğini, 10. saatte peak yaptığını ve ovulasyonun yaklaşık hCG'den 10 saat sonra olmaya başladığını görmüşlerdir. IV 10 mg/kg indometazin hCG'den 8 saat sonra verilince ovulasyonu önlediği halde, 1 veya 9 saat sonra verildiğinde PG sentezini önemli derecede azaltmasına rağmen, ovulasyonu önleyememiştir. Ayrıca indometazin dozu azaldıkça ovulasyon önleyici etkisi de azalmıştır. Bu sonuç başka mediatörlerin de varlığını düşündürmektedir.

Çalışmamızda hCG'den 8 saat sonra IV 10 mg/kg indometazin verdiğimiz tavşanlarda toplam 6 överde hiç ovulasyon görülmedi. Ancak unrüptüre folliküllerin %46'sı hemorajik folliküldü. Bu grupta hemorajik unrüptüre follikül sayısı kontrol grubundakinden önemli derecede fazla bulundu ($p < 0.05$). İndometazin hemorajik follikül oluşumuna yol açtığı bildirilmiştir. Ovulatuvar folliküllerin duvarlarındaki kan damarları proteolitik aktivite ile zayıflatılırken, indometazin follikül rüptürden korur ancak damarların yırtılmasını önleyemez, ekstrasvazyonla antrum kanla dolar (8). Çalışmamızda indometazin follikülogenezisi etkilemeden

ovulasyonu tamamen önledi. İndometazin grubunda total unrüptüre follikül sayısı kontrol grubundaki rüptüre ve unrüptüre folliküllerin toplam sayısı ile benzer bulundu ($p > 0.05$).

İndometazin gibi siklooksijenaz inhibitörü olan aspirinin ovulasyon üzerine etkisini araştırmak için suda yeterince çözülemediğinden İV verilemeyen aspirin 1000 mg/kg dozda tavşanlara laparotomi yapıp İntragastrik injeksiyon yolu ile verilmiş, ovulasyon önlenmemiştir (6). Biz çalışmamızda aspirinin İM ve İV verilebilen injektabl formunu (Aspisol) tavşanlara İV 100 mg/kg dozda vererek ovulasyona etkisini araştırdığımızda bu grupta ovulasyon oranının kontrol grubundan farklı olmadığını gördük ($p > 0.05$). Aspirin follikülogenezisi etkilemedi ve -ayrıca indometazinin arttığı hemorajik follikül oluşumuna da neden olmadı.

Memelilerde ovulatuvar folliküllerde oluşan inflamasyona benzer değişikliklere ovarian kallikrein de yardım etmektedir. Ovarian kallikrein lokal vazodilatasyonu ve vasküler permeabiliteyi artırıp, ovarian hiperemiye yardım eder. İndometazinin ovarian kallikrein aktivitesini de azalttığı, ovulasyon oranının ovarian PG seviyelerinden ziyade ovarian kallikrein aktivitesi ile daha yakın ilişkili olduğu da bildirilmiştir. İndometazinin siklooksijenaz inhibisyonundan başka bazı yollarla ovarian kallikrein! azalttığı sanılmaktadır (3).

Bir çalışmada raflarda indometazin ovulasyonu önlerken ovulasyon oranının PG'lere göre İpooksijenaz ürünlerinden özellikle 15-hidroxyeicosatetraenoic acid (15-HETE) ile çok daha yakın ilişkili olduğu görülmüştür (9) -

Rat överlerinde bradikinin ile yapılan çalışmalarda bradikinin ovulasyon sayısını ve birlikte özellikle prostasiklin olmak üzere PG sentezini de artırdığı görülmüştür (10).

Killick ve ark. (11) kadınlarda ovulatuvar periyotda indometazin vermekle %100 luteinize unrüptüre follikül (LUF) geliştiğini ultrasonografik takip ve serum progesteron tayini ile göstermiştir. Katz ve ark. (12) da tavşanlarda indometazinin ovulasyonu önlerken progesteron seviyesini etkilemediğini görerek follikül rüptüre olmadan granuloza hücrelerinin fonksiyona luteal hücrelere dönüştüğünü bildirmiştir. Kadınlarda NSAÜ ile tedaviden sonra LUF gelişmesinin preovulatuvar folliküllerde PG, tromboxane ve lökotrenlerin sentezinde azalma ile ilgili olduğu ve bu ilaçların steroidogenezisi etkilemediği gösterilmiştir. Priddy ve ark. (13) LUF sendromuna yol açan NSAİ'ın nonhormonal oral kontrasepsiyon potansiyellerinin olabileceğini, ancak bu ilaçların yüksek dozda yan etkilerinin olduğunu belirtmektedir.

Sonuç olarak çalışmamızda tavşanlarda 10 mg/kg İV indometazinin follikülogenezisi etkilemeden ovulasyonu %100 önlerken, 100 mg/kg İV aspirinin ovulasyonu önleyici etkisinin bulunmadığını gördük.

KAYNAKLAR

1. Yoshimura Y, Wallach EE. Studies of mechanism (s) of mammalian ovulation. *Feral Steril* **1987**; **47:22**.
2. Yoshimura Y, Espey L, Hosoi Y, Adachi T, Atlas SJ, Ghodgaonkarz RB, et al. The effects of bradykinin on ovulation and prostaglandin production by the perfused rabbit ovary. *Endocrinology* **1988**; **122:2540**.
3. Espey LL, Tanaka N; Winn V, Okamura H. increase in ovarian kallikrein activity during ovulation in the gonadotrophin-primed immature rat. *J Reprod Fertil* **1989**; **87:503**.
4. Li X, Sagawa H, Ihara Y, Okagaki A, Hasegawa M, Inamori K, Ito'i H, et al. The involvement of platelet-activating factor in thrombocytopenia and follicular rupture during gonadotroph in-induced superovulation in immature rats. *Endocrinology* **1991**; **129**; **3132**.
5. Miyazaki T, Dharmarajan AM, Atlas SJ, Kate E, Wallach EE. do prostaglandins lead to ovulation in the rabbit by stimulating proteolytic enzyme activity? *Fertil Steril* **1991**; **55:1183**.
6. Espey LL, Stein VI, Dumitrescu J. Survey of antiinflammatory agents and related drugs as inhibitors of ovulation in the rabbit. *Fertil Steril* **1982**; **38:238**.
7. Ekholm C, Clark MR, Magnusson C, Isaksson O, Le-Marie WJ. Ovulation induced by a gonadotropin releasing hormone analog in hypophysectomized rats involves prostaglandins. *Endocrinology* **1982**; **110:228**.
8. Espey LL, Norris C, Saphire D. Effect of time and dose indomethacin on follicular prostaglandins and ovulation in the rabbit. *Endocrinology* **1986**; **119:746**.
9. Tanaka N, Espey LL, Kawano T, Okamura H. Comparison of inhibitory actions of indomethacin and epostone on ovulation in rats. *Am J Physiol* **1991**; **260(2 pt 1)** PE **170**.
10. Hellperg P, Larson L, Olofsson J, Hedin L, Brannstrom M. Stimulatory effects of bradykinin on the ovulatory process in the in vitro-perfused rat ovary. *Biol Reprod* **1991**; **44:269**.
11. Killick S, Elstein M. Pharmacologic production of luteinized unruptured follicles by prostaglandin synthetase inhibitors. *Fertil Steril* **1987**; **47:773**.
12. Katz E, Dharmarajan AM, Sueoka K, Ghodgaonkar RB; BPharm, Dubin NH, et al. Effects of systemic administration of indomethacin on ovulation, luteinization, and steroidogenesis In the rabbit ovary. *Am J Obstet Gynecol* **1989**; **161:1361**.
13. Priddy AR, Killick SR, Elstein M, Morris J, Sullivan M, Patil L, et al. The effects of prostaglandin synthetase inhibitors on human preovulatory follicular fluids prostaglandin, thromboxane, and leukotriene concentraions. *J Clin Endocrinol Metab* **1990**; **71:235**.