

Ratlarda Cerrahi Olarak Oluşturulan Endometrioziste Makroskopik ve Mikroskopik Bulgular

MACROSCOPIC AND MICROSCOPIC FINDINGS OF SURGICALLY INDUCED ENDOMETRIOSIS IN THE RAT

Mehmet TAYYAR*, Figen ÖZTÜRK**, Gurur POLAT*

Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi *Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı, "Patoloji Anabilim Dalı

ÖZET

Amaç: Elik sorunlar sebebiyle insan üzerinde yapılamayan endometriozis araştırmalarına bir model oluşturmak amacıyla ratlarda cerrahi olarak endometriozis oluşturmak.

Çalışmanın Yapıldığı Yer: Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi. Kadın Hastalıkları ve Doğum ABD

Materyal ve Metod: Ağırlıkları 160-230 g olan dişi 15 Swiss-Albino rat çalışmada kullanıldı. Deney grubundaki 10 ratta intraperitoneal thiopental anestezisi verildikten sonra steril şartlarda laparotomi yapılarak uterin horn-dan eksizyon yapıldı. Endometrium tarafı mezentere bakacak şekilde implantlar batına yerleştirildi. Kontrol grubundaki 5 ratta ise uterin horn yerine yağ dokusu kullanıldı. Postoperatif 6 hafta sonra yeniden laparotomi yapılarak implantlar eksize edildi. Histopatolojik işlemlerden sonra peraparatlar hematoksilen eosin ile boyanarak incelendi.

Bulgular: Deney grubundaki implantlar makroskopik ve mikroskopik olarak endometriozis oluştuğunu gösterirken kontrol grubundakilerde benzer gelişme saptanmadı.

Sonuç: Ratlarda cerrahi olarak endometriozis oluşturmak mümkündür. Etik problemler nedeniyle insan üzerinde yapılamayacak araştırmalar deneysel rat endometriozis modelinde başarı ile yapılabilir.

Anahtar Kelimeler: Endometriozis, Rat

T Klin Jinekolo Obst 1994,1:54-58

Endometriozis, endometrial dokunun uterus dışındaki ve özellikle periton boşluğunda bulunduğu patolojik tablodur. Endometriozisin prevalansı %1-7 olarak tahmin edilmektedir, infertilite, disparenü ve pelvik ağrı şikayetleri ile başvuranların %50'sinde görülmektedir. Uzun yıllardır etyolojisi ve tedavi yöntemleri tartışılmaktadır. Etik problemler yüzünden etyoloji ve tedavi yöntemlerinin araştırılması için insan yerine tavşan ve rat

Geliş Tarihi: 22.10.1993

Kabul Tarihi: 15.01.1994

Yazışma Adresi: Mehmet TAYYAR
P.K.316
38002 KAYSERİ

SUMMARY

Objective: Surgical induction of rat endometriosis to find a research model for endometriosis that can be used to study those aspects of endometriosis which cannot be investigated in women because of the ethic problems.

Institution: Erciyes University Faculty of Medicine. Department of Obstetrics and Gynecology

Materials and Methods: Fifteen female Swiss-Albino rats weighing 160-230 g were used, in this study. After intraperitoneal thiopental anesthesia laparotomy was performed and uterine horn was excised under sterile conditions in 10 rats of the study group. The implants were placed into abdomen with the endometrial surface facing mesentery Fat tissue was used instead of uterine horn in the control group of 5 rats. Six weeks later second laparotomy was performed and the implants were excised. After histopathological procedures and hematoxylin eosin application, preparations were analysed.

Findings: In the study group macroscopic and microscopic analysis of the implants revealed that endometriosis were developed, but similar developments were not observed in the control group.

Conclusion: It is possible to induce endometriosis surgically in rats. Experimental rat endometriosis model offers an opportunity to study those aspects of endometriosis which cannot be investigated in women because of the ethic problems.

Key Words: Endometriosis, Rat

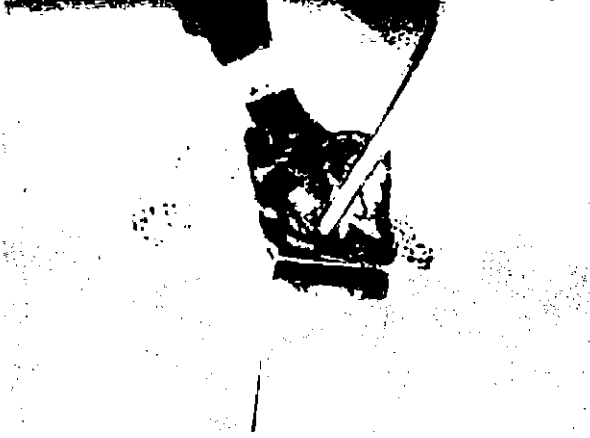
Anatolian J Gynecol Obst 1994,1:54-58

modelleri kullanılmaktadır. Tavşan ve ratlarda değişik teknikler tavsiye edilmiştir (1-3).

Biz bu çalışmada ratlarda endometrium transplantı kullanarak oluşturduğumuz endometriozis tablosunda makroskopik ve mikroskopik araştırma yapmayı amaçladık.

MATERYAL VE METOD

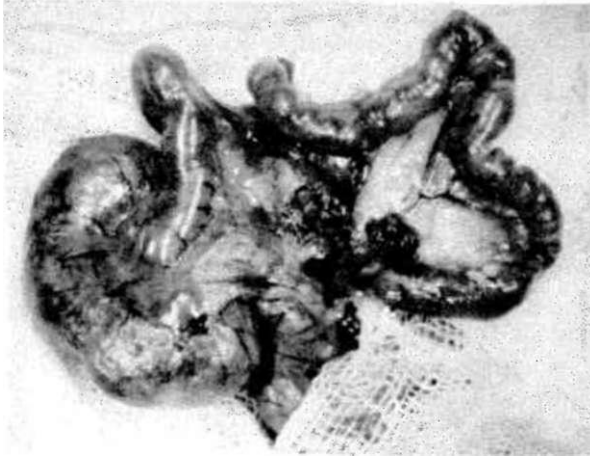
Bu çalışma Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik ve Deneysel Araştırma Merkezi'nde yapıldı. Araştırmada ağırlıkları 160-230 g olan dişi 15 Swiss-Albino rat kullanıldı. Çalışmaya başlamadan hemen önce her bir rata 125 mg ampisilin profilaktik olarak verildi. 50 mg/kg dozda intraperitoneal thiopental anestezisi veril-



Şekil 1. Sağ horndan 1 cm uzunlukta eksizyon yapıldı.
Figure 1. 1 cm-excision from right horn



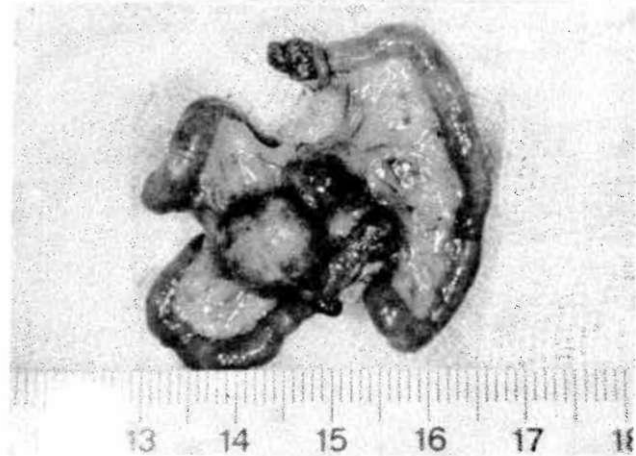
Şekil 3. Endometriozis odakları.
Figure 3. Endometriosis areas



Şekil 2. Mezenter üzerine uterin implantın yerleştirilmesi.
Figure 2. The placement of uterine implant on the mesentery

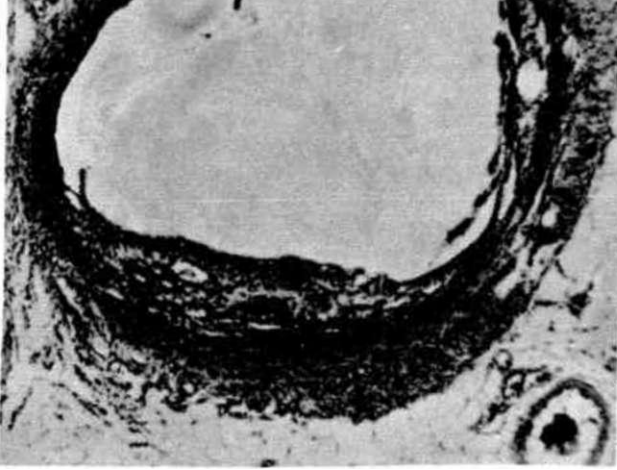
dikten sonra abdomen traşı yapıldı. Saha temizliği povidoneiodine ile sağlandı. Steril kompreslerle abdomen örtüldü. Laparotomi orta hat insizyon ile yapıldı. Laparotomi sonrası tüm operasyon süresince ameliyat mikroskopu (P20, OP MI, N2086, Varşova, Polonya) gerektiğinde kullanıldı. Uterus ve hornlar eksplere edildikten sonra sağ horndan 1 cm eksizyon yapıldı (Şekil 1). Elde edilen hornlara endometrium tabakasına kadar longitudinal kesi yapıldı. Elde edilen dokular 3x3 mm çapta 3 parçaya bölündü. Üç horn parçası mezenter üzerine damarlara yakın olacak şekilde ve endometrial yüzey mezenter bakacak pozisyonda ayrı ayrı tek bir suture ile (6.0 polyglactin absorabl cerrahi suture)

Anatolian J Gynecol Obst 1994, 4

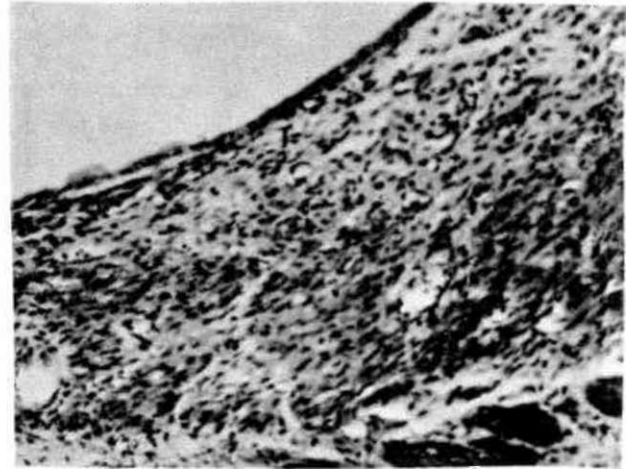


Şekil 4. Bir Endometriozis odağı.
Figure 4. An endometriosis area

yerleştirildi (Şekil 2). Kontrol grubundaki 5 ratta ise perituterin yağ dokusu kısmen eksize edilerek mezenter üzerine implante edildi. Abdomen iki tabaka halinde kapatıldı. Birinci tabakada 3.0 polyglactin, ikinci tabakada 4.0 polypropylene suture kullanıldı. Tüm operasyon süresince mikro cerrahi prensiplerine ve steriliteye azami dikkat gösterildi, 6 hafta süre ile bakımı ve takibi yapı-



Şekil 5. Gelişen Endometriozis odağının mikroskopik görünümü (HEX32)
Figure 5. Microscopic view of the endometriosis area



Şekil 6. Gelişen bir başka Endometriozis odağının mikroskopik görünümü (HEX65)
Figure 6. Microscopic view of another endometriosis area

lan ratlara hiçbir ilave medikasyon yapılmadı. Hiçbir rat bu süre içinde ölmedi.

Altı hafta sonra yüksek doz eter inhale ettirerek ratlar öldürüldü ve ikinci laparotomi yapılarak inokulasyon yerleri incelendi. Tüm implant sahaları eksize edilerek formol içerisine konuldu. Dokular rutin histopatolojik takipten geçirildi ve överlerin uzun eksenine boyunca kesitler yapılarak hematoksilen eosin ile boyandı. Hazırlanan preparatlar ışık mikroskopu ile incelendi.

BULGULAR

Deney grubunda ikinci laparotomi ile elde edilen dokuların makroskopik analizinde 0.4 cm ile 1 cm arası değişen büyüklüklerde sarı kırmızı renkte endometriozisi şüpheli görünümler vardı (Şekil 3,4).

Mikroskopik olarak endometrium implante edilen ratlarda yaptığımız incelemede çevrede yağ dokusu izlendi. Yağ dokusu içerisinde odaklar halinde etrafında vaskülarizasyon ve fibrozis artışı olan endometrium stroma ve bezlerinden oluşan odaklar izlendi. Bez epitelini yer yer proliferatif görünümdedi. Stroma sellüler görünümde ve arada sitoplazması hemosiderinle yüklü çok sayıda histiosit ihtiva etmekteydi. Bu bulgular endometrial dokunun aktif olarak büyüdüğünü göstermektedir. Sonuç olarak, deney grubundaki 10 ratta endometriozis geliştiği kanısına varılmıştır (Şekil 5,6).

Kontrol grubundaki 5 ratta ise makroskopik 0.1x0.2 cm çaplarında odaklar vardı. Bunların mikroskopik incelemesinde yağ dokusu izlenmiştir.

TARTIŞMA

Endometriozisin en önemli komplikasyonu infertilitedir. Endometriozise bağlı infertilitenin patogeneğinde suçlanan ovulasyon, fertilizasyon, tubal transport ve implantasyon aşamalarındaki olumsuz değişiklikleri insan üzerinde araştırmak etik zorluklar göstermektedir (4,-6). Ayrıca erken embriyonik gelişim döneminde endometriozisin etkisini insanda kolayca araştırmak müm-

kün değildir (7,8), Endometriozise bağlı peritoneal ortam ve endometrial dokuda infertiliteye sebep olabilecek endokrinolojik, immünolojik ve biyokimyasal değişimleri araştırmak için endometriozis öncesinden başlanarak belirli zamanlarda cerrahi girişim gerekliliği de etik kuralları zorlamaktadır (9-14). Bu nedenlerle birçok araştırmacı endometriozis çalışmalarını hayvan modelleri üzerinde yapmışlardır.

Endometriozis tedavisinde kullanılabilecek ajanların diğer ilaçlarda olduğu gibi öncelikle hayvan modellerinde denenmesi ve tedavi etkinliği ile komplikasyonların değerlendirilmesi gereklidir. Bu amaçla son yıllarda gonadotropin releasing hormon analog ve antagonistleri ile bir immunomodulator olan pentoksifylline deney hayvanları üzerinde oldukça sık araştırılmışlardır (16-17.) Tedavide kullanılan ilaçların etkinliğini ve rekürrent endometriozisi saptayabilmek tekrarlayan cerrahi girişimleri gerektirdiğinden hayvan modelleri araştırmacıya önemli kolaylık sağlamaktadır (18,19).

Endometrial dokudan ototransplantasyon yapılarak maymun, tavşan ve ratta iatrojenik endometriozis oluşturmak ve bu modelde araştırma yapmak mümkündür (3,20). Her bir hayvanın kendine göre avantaj ve dezavantajları vardır.

Maymun modeli insana menstrual siklus ile endometriozisin histolojik ve makroskopik benzerlikleri olması sebebi ile daha avantajlıdır. Dezavantajı ise bakım güçlüğü ve yüksek maliyetidir (21).

Tavşan modeli ise düşük maliyetli olması ve cerrahi olarak endometriozis oluşturma başarısının yüksek olması nedeniyle avantajlıdır. Uterusun çift horn şeklinde olması, birtarafın kullanılıp diğer tarafın araştırılması için faydalı olabilir (22). Rock ve arkadaşları (23) yaptıkları bir çalışmada tavşanlarda intraoküler yerleşimli endometriozis oluşturmuşlar ve bu modelin direkt gözlem yapma ve göziçi sıvısını inceleme kolaylığı nedeniyle tercih edilebileceğini öne sürmüşlerdir. Tavşan modellerinin dezavantajı hayvanın refleks ovulatuvar olması ve insan menstrual siklusuna uygunluk göstermemesidir (24).

Rat modeli maliyetin ve laparotomi sonrası mortallite oranının düşük olması sebebi ile tercih edilebilir. Yılda 70-80 estrus siklusu vardır. Yalnız luteal fazı çok kısadır. Bu modelin dezavantajı kısa luteal faz ile progesteronun uterin implantlara olan sekretuar etkisinin azalmasıdır. Ayrıca övler etraflarındaki bursa sayesinde kısmen peritoneal ortamdan korunur (3,25).

Çalışmamızda seroza, muskularis ve mukoza tabakaları olan küçük uterus parçalarının otoplastasyonu ile morfolojik olarak endometriozise uyan yapılar tespit ettik. Mikroskopik olarak bu yapıları incelediğimizde endometriozise uyan görüntüler saptadık. Bazı araştırmaların (4) aksine ilave hormon vermedik. Böylece dışardan hormon vermeksizin transplantın geliştiğini gözledik. Bu bulgularımız Hahn ve arkadaşlarının (20) yaptığı araştırma sonuçları ile uyumludur.

Araştırmamızda transplantları hazırlarken bazı ötürlerin yaptığı endometriumu miyometriümden ayırma işlemini yapmadık (20). Vernon ve arkadaşlarının (3) yaptığı bir çalışmada peritoneal kavite endometrial hücreler bulunan solüsyonlar ile irriğe edildiği halde endometriozis gelişmemiştir. Bu da göstermektedir ki endometrial glandlar implantasyon yapmak ve büyümek için stroma hücrelerine ihtiyaç duymaktadırlar. Menstrasyon olan canlılarda stroma tabakası menstrasyon ile birlikte atılmaktadır. Estrus hayvanlarda ise bu atılım olmamaktadır ve stroma bütünlüğünü korumaktadır. Bu nedenle estrus hayvanlarda spontan endometriozis görülmemektedir (25). Biz uterus tabakalarını diseksi etmediğimiz için implantların gelişip endometriozis oluşturmasını sağlamış olduk.

Sonuç olarak, ratlarda cerrahi olarak endometriozis oluşturmak mümkündür. Bu model endometriozise bağlı infertiliteyi araştırmak için iyi bir seçenektir. Etik problemler sebebi ile insan üzerinde yapılamayacak endometriozis deneyleri için ratlar başarı ile kullanılabilirler.

KAYNAKLAR

- Barbieri RL. Etiology and epidemiology of endometriosis. *Am J Obstet Gynecol* 1990; 162:565.
- Schmidt CL. Endometriosis: A reappraisal of pathogenesis and treatment. *Fertil Steril* 1985; 44:157.
- Vernon MW, Wilson EA. Studies on the surgical induction of endometriosis in the rat. *Fertil Steril* 1985; 44:684.
- Donnez J, Wayembergh Casanas-Roux F, Karaman Y, et al. Effect of ovulation of surgically induced endometriosis in rabbits. *Gynecol Obstet Invest* 1987; 24:131.
- Tayyar M, Öztürk F, Polat G, Kaya E. Over endometriozisinin sıçan ovulasyonuna etkisi. *Jinekoloji ve Obstetrik Dergisi* 1992; 6:119.
- Dunselman GA, Land JA, Bouckaert P, et al. Effect of endometriosis on ovulation, ovum pickup, fertilization and tubal transport in the rabbit. *J Reprod Fertil* 1988; 82:193.
- Sueldo CE, Kelly E, Montoro L, et al. Effect of Interleukin-1 on gamete interaction and mouse embryo development. *J Reprod Med* 1990; 35:868.
- Prough SG, Aksel S, Gilmore SM, et al. Peritoneal fluid tractions from patients with endometriosis do not promote two-cell mouse embryo growth. *Fertil Steril* 1990; 54:927.
- Mori T, Singtripop T, Kawashima S. Animal model of uterine adenomyosis: is prolactin a potent inducer of adenomyosis in mice? *Am J Obstet Gynecol* 1991; 165:232.
- Johnson JV, Rozek MM, Moreno AC, et al. Surgically induced endometriosis does not alter peritoneal factors in the rabbit model. *Fertil Steril* 1991; 56:343.
- Dunselman GAJ, Dumoulin JCM, Land JA, et al. Lack of effect of peritoneal endometriosis on fertility in the rabbit model. *Fertil Steril* 1991; 56:340.
- Sharpe KL, Bertero MC, Vernon MW, et al. Detection of a progesterone-induced secretory protein synthesized by the uteri but not the endometriotic implants of rats with induced endometriosis. *Fertil Steril* 1991; 55:403.
- Isaacson KB, XU Q, Lyttle CR, et al. The effect of estradiol on the production and secretion of complement component 3 by the rat uterus and surgically induced endometriotic tissue. *Fertil Steril* 1991; 55:395.
- Homm RJ, Garza DE, Mathur S, et al. Immunological aspects of surgically induced experimental endometriosis. Variation in response to therapy. *Fertil Steril* 1989; 52:132.
- Zanagnolo VL, Beck R, Schlaff WD, et al. Time related effects of gonadotropin-releasing hormone analog treatment in experimentally induced endometriosis in the rat. *Fertil Steril* 1991; 55:411.
- Sharpe KL, Bertero MC, Vernon MW. Rapid regression of endometriosis by a new gonadotropin releasing hormone antagonist in rats with surgically induced disease. *Prog Clin Biol Res* 1990; 323:449.
- Steinleitner A, Lambert H, Suarez M, et al. Immunomodulation in the treatment of endometriosis-associated subfertility: use of pentoxifylline to reverse the inhibition of fertilization by surgically induced endometriosis in a rodent model. *Fertil Steril* 1991; 56:975.
- Rajkumar K, Schott PW, Simpson CW. The rat as an animal model for endometriosis to examine recurrence of ectopic endometrial tissue after regression. *Fertil Steril* 1990; 53:921.
- Sharpe KL, Bertero MC, Muse KN, et al. Spontaneous and steroid-induced recurrence of endometriosis after suppression by a gonadotropin-releasing hormone antagonist in the rat. *Am J Obstet Gynecol* 1991; 164:187.
- Hahn DW, Carraher RP, Foldes RG, et al. Development of an animal model for evaluating effect of drugs on endometriosis. *Fertil Steril* 1985; 44:410.
- Schenken RS, William RF, Hodgen GD. Experimental endometriosis in monkeys. *Ann NY Acad Sci* 1991; 622:242.
- Dunselman GAJ, Willebrand D, Land JA, et al. A rabbit model endometriosis. *Gynecol Obstet Invest* 1989; 27:29.
- Rock JA, Prendergast RA, Bobbie D, et al. Intraocular endometrium in the rabbit as a model for endometriosis. *Fertil Steril* 1993; 59:232.
- Berthet J, Pasquier D, Racinet C. An original model of experimental endometriosis in the rabbit. *J Gynecol Obstet Biol Reprod* 1992; 21:625.
- Zamah NM, Dudson MG, Stephens LC, et al. Transplantation of normal and ectopic human endometrial tissue into athymic nude mice. *Am J Obstet Gynecol* 1984; 149:591.