

UZUN ETKİLİ KONTRASEPTİF AMAÇLI DEPO-MEDROKSİPROGESTERON ASETATIN (DMPA) SIÇAN OVARYUMUNA ETKİLERİ

Esra Tan*

Dünya Sağlık Teşkilatı (WHO), hükümetler ve uluslararası aile planlaması yardım kurumları, insanların istedikleri sayıda çocuğa sahip olmaları, istenmeyen gebeliklerin önlenmesi, nüfus artış hızının yavaşlatılması, ekonomik gelişimin hızlandırılması ve ana-çocuk sağlığının düzeltilmesi için sürekli çalışmalar yapmaktadır. Ne varki kadınların üreme kontrolünde yararlandıkları kontraseptif yöntemlerin güvenilirliği, etki ve yan etkileri ile ilgili endişeler sürmektedir.

Oral kontraseptiflere alternatif bir yöntem olarak 1965'de önerilen, ekonomik yönden ucuz, etki gücü son derece yüksek ve kullanımı 150 mg./3 ay (im) şekliyle kolay olan depomedroksiprogesteron asetat da tartışmalara neden olmuş bir ilaçtır. Dünyanın 1/3 ülkesinde kullanılan ilaç 1978'de Amerika'da FDA (Food Drug Administration) tarafından kanser riski, uzun süre kullanımda infertilitenin sürekli kalması ve fetal abnormalite oluşturması gibi nedenlerle yasaklanmıştır. Bugün Amerika'da kontrasepsiyon dışında endometriyosiz, endometriyal ve renal kanser tedavisinde kullanılan ilaç, özellikle nüfus patlamasının yaşandığı geri kalmış ülkelerde uygulanabilirliği açısından önemlidir. Bu nedenle Dünya Sağlık Teşkilatı ilaç üzerine yapılan çalışmalarını desteklemektedir (4,5,6,7,9,10,11,13). İlaç üzerinde yapılan çalışmalar daha çok klinik düzeyde yan etkileri üzerine olmuş ve dokuda yaptığı değişiklikler çalışılmamıştır. Bu çalışma ilacın özellikle ovaryumlara olan etkisini ve iddia edilen kanser riski ve infertilitenin sürekli kalması gibi yan etkilerini araştırmak amacıyla yapılmıştır. Çalışmada düşük doz ve kısa süreli kullanımla, yüksek doz ve uzun süreli kullanım kıyaslanmıştır. Işık mikroskobu kesitlerinde ovulasyonun olup olmadığı, folliküller gelişme, malign değişiklikler ve infertilitenin sürekliliğine neden olacak değişiklikler incelenmiştir.

* A.Ü.T.F. Histoloji-Embriyoloji Bilim Dalı (Uzmanlık tezi özeti) Yrd. Doç. Dr.

Geliş Tarihi : Mayıs 20, 1993

Kabul Tarihi : Haziran 13, 1994

GEREÇ VE YÖNTEMLER

150 - 200 gr. ağırlığındaki Wistar tipi erişkin albino dişi sıçanlar, 20'si deney, 10'u kontrol grubu olarak çalışmada kullanıldı. Kontrol gurubu sıçanlara, her deney gurubu ile beraber östrus döneminin aynı evresinde cilt altı serum fizyolojik verildi ve dokular birlikte takibe alındı. Deney gurubu hayvanlar ikiye ayrıldı :

1. gurup = > Kısa süreli, düşük doz ilaç uygulanan 10 sıçana östrus siklusu boyunca birbirini takibeden 4 günlük sürede ovulasyonu engelleyici en düşük doz olarak tesbit edilen 0.3 mg. DMPA/gün uygulandı ve 24 saat sonra ovaryumlar çıkarıldı.
2. gurup = > 8 hafta boyunca 3.5 mg. DMPA/haf. şeklinde uzun süreli yüksek doz ilaç verilen hayvanların 7 gün sonunda ovaryumları çıkarıldı ve takibe alındı.

Uygun dozlar ve süre, Bhowmik'in belirttiği şekilde hayvanların östrus döneminin süresi ve sıklığı göz önüne alınarak hesaplandı (2).

Parçaların bir bölümü 24 saat Bouin çözeltisinde tespit edildikten sonra dereceli alkollerden geçirilerek dehidrate edildi ve amyl asetat kullanılarak şeffaflaştırıldı. Parafine gömülen bloklardan 6 μ m.'lik kesitler alındı. Kesitler, hematoksilienozin, Masson trikrom ve Mallory azan boylarıyla boyandı. Diğer parçalar ise daha sonra yapılacak ultrastrüktürel incelemeye hazırlık amacıyla 0.2 m fosfat tampon içindeki % 3 gluteraldehitte tesbit edildi. 0.1 M fosfat tamponla yıkandı ve 90 dk. % 1'lik OsO₄ ile ikinci tesbit uygulandıktan sonra araldit CY 212 gömme materyaline gömüldü. Bu bloklardan ultramikrotomda 1 μ m. kalınlığında kesitler alındı ve toluidin mavisi-azür II kalın kesit boyaması yapıldı. Carl Zeiss fotomikroskopunda resimleri çekildi.

BULGULAR

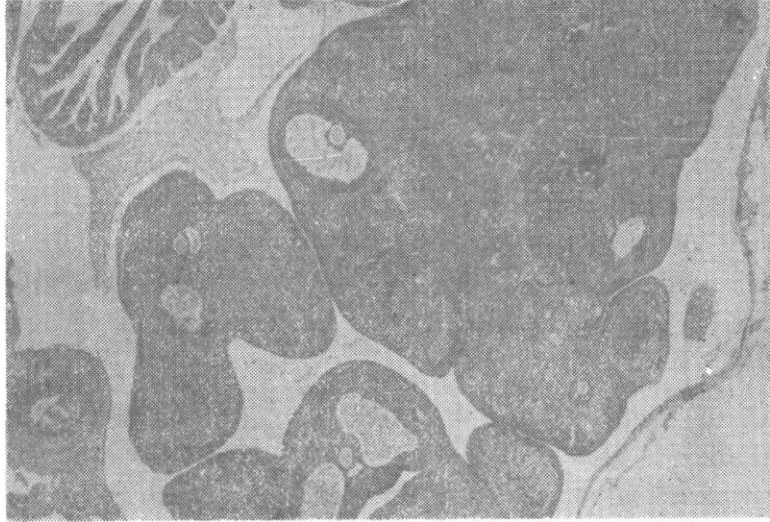
1. Kontrol gurubuna ait ovaryumlardan alınan parafin kesitlerinde, kortekste küçük büyütmelemlerde değişik düzeylere kadar gelişme göstermiş folliküller görüldü (Şekil 1). Gerilemekte olan korpus luteumlarla beraber ovulasyonu gösteren yeni korpus luteumlar da tespit edildi. Yeni korpus luteumlar iri, poligonal, soluk boyanmış, lüteinize olmuş granüloza hücreleri ile dikkat çekerken gerilemekte olan korpus luteumda bağ dokusunda artma, hücrelerde dejenerasyon, küçülme ve çekirdeklerinde piknoz tespit edildi (Şekil 2).

2. Kısa süreli düşük doz DMPA uygulanan sıçanların ovaryumlarından alınan parafin kesitlerinde kontrol gurubu ile kıyaslandığında folliküllerin gelişmenin değişik düzeylerinde atreziye gittiği tespit edildi (Şekil 3). Primordiyal ve preantral folliküllerde dejenerasyonun ilk bulgusu ovosit üzerinde gözlemlendi. Ovositteki şişme, vakuolizasyon ve karyolysise, granüloza hücrelerinin düzeninde bozulma, birbirinden uzaklaşma, bazı çekirdeklerde piknoz eşlik ediyordu (Şekil 4). Antral folliküllerde ise atrezi ilk olarak follikül duvarında izlendi. Granüloza hücrelerinin sayıca azaldığı, hücrelerin birbirinden uzaklaşıp düzenli görünümünü kaybettikleri tespit edildi. Sitoplazmalarında yağ dejenerasyonu, çekirdeklerinde piknoz gösteren hücreler antrum içine dökülmeye başlamıştı (Şekil 5). Ovositte, zona pel-lusida gerginliğini kaybetmiş ve dalgalıydı. Ovosit sitoplazmasındaki granüller ve çekirdeğindeki piknoz ile dejenerasyon belirtileri gösteriyordu (Şekil 6). Nadir follikülde muhtemelen ovositin tamamıyla dejenere olmadan önce parthenogenetik tipte bölünmesine bağlı birden fazla ovosit izlendi. Granüloza hücrelerindeki dejenerasyon ve bu katın dökülerek incelmeye ilaveten bazal membran hipertrofiye uğramış ve «camsı membran» olarak adlandırılan hyalin kata dönüşmüşü (Şekil 7). Bazılarında follikül duvarı iyice incelmış bunun yanında antrumda korona radyatasyonunu da yitirmiş çıplak bir ovosit yalnız olarak izleniyordu. Bu şekilde dökülmüş granüloza hücreleriyle ince duvarlı folliküller, atretik kistik follikül şeklindeydi (Şekil 8).

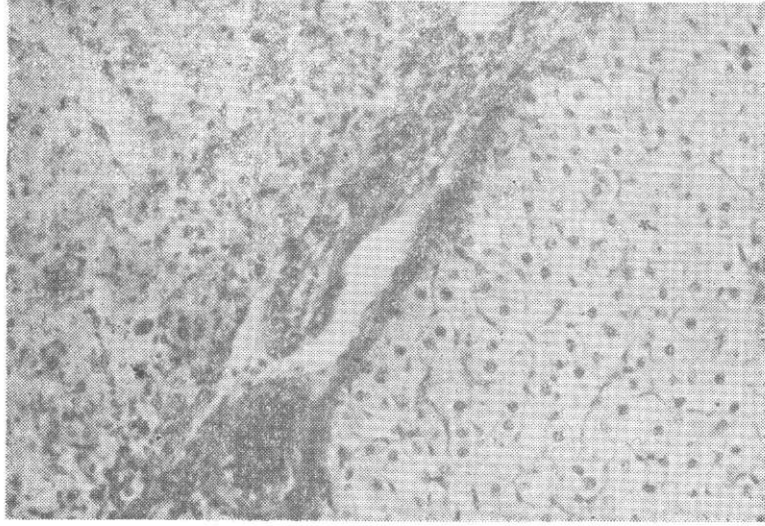
Ovulasyonu gösteren, yeni gelişmiş korpus luteum tespit edilmedi. Bir önceki sıklusa ait gerilemekte olan korpus luteumlar bulunuyordu (Şekil 3). Eski korpus luteumlarda bağ dokusunda ve fibroblastlarda artış, lüteinize-granüloza hücrelerinde küçülme, steroid salgılayan hücrelerde dışarıdan steroid verildiğinde görüldüğü gibi sitoplazmadaki lipit damlacıklarında artış ve bazı çekirdeklerde piknoz tespit edildi (Şekil 9).

3. Uzun süreli, yüksek doz DMPA uygulandıktan sonra ovaryumlar küçüldüler ve genellikle inaktif olarak saptandılar (Şekil 10). Bazılarında çok az sayıda, gelişmiş ancak atrezi bulguları gösteren folliküller vardı (Şekil 11). Asıl olarak ovaryuma hakim olan atretik folliküllerin fibrozisiyle oluşmuş korpus fibrozum (korpus atretikum)

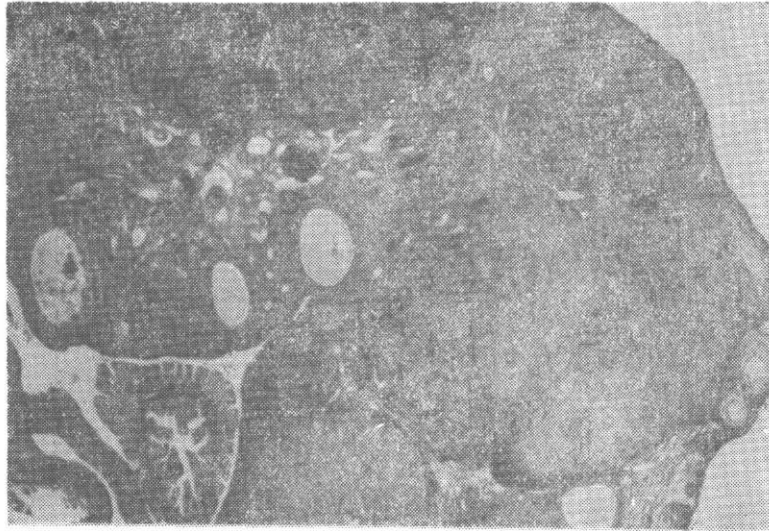
yapılarıydı. Bunlar çevreleri bağ dokusuyla sınırlanmış, büzülmüş; içleri bağ dokusu ve kılcıl damarlarla dolu olarak incelendi (Şekil 11). Bazı ovaryumlarda çok az sayıda follikül, antral düzeye kadar geliştikten sonra atreziye uğramıştı. Bunlarda follikül duvarında granüloza hücreleri azalmış ve antruma dökülmüşlerdi. Granüloza hücrelerinde piknoz ve birbirinden ayrılma vardı. Atreziye uğramış folliküllerde kan damarları ile birlikte bağ dokusu birçok yerden bazal membranı delerek dejenere follikül epitel içine girmişti (Resim 12). Duvardaki atrezinin yanında ovosit dejenere olmuş ve yüzer şekilde boşlukta gözlemlendi (Şekil 13). Ovositte dejenerasyona bağlı sitoplazmada vakualizasyon, nükleolemmada dalgalanma, düzensizlik ve invaginasyonlar, kromatin materyalde depolimerizasyon izlendi. Ovosit membranı düzensiz, korona radyata hücreleri ayrılmış ve düzenini yitirmişti (Şekil 14). Çok az sayıda dahi antral düzeye kadar gelişmiş atretik follikül olmasına rağmen hiç korpus luteum ve korpus albicans'a rastlanmadı (Şekil 10-11). Bu da folliküllerde gelişme olabilmemesine rağmen ovulasyonun kesinlikle olmadığını gösteriyordu. Sürekli infertiliteye neden olabilecek bir fibrosiz tesbit edilmedi.



Şekil 1 : Kontrol gurubunda, değişik seviyelere kadar gelişme gösteren folliküller, x 10. Boya : HE



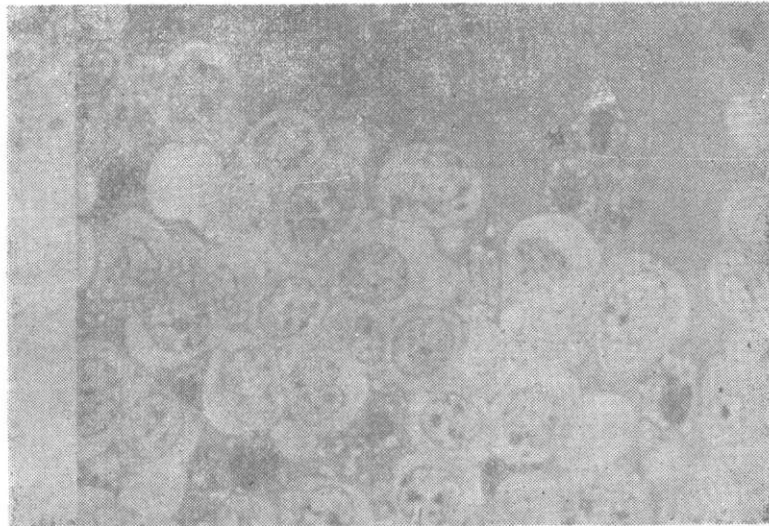
Şekil 2 : Kontrol gurubunda, yeni gelişmiş bir korpus luteum (*) ve yanında dejenerasyon gösteren eski bir korpus luteum izleniyor. x 80. Boya : Masson trikrom



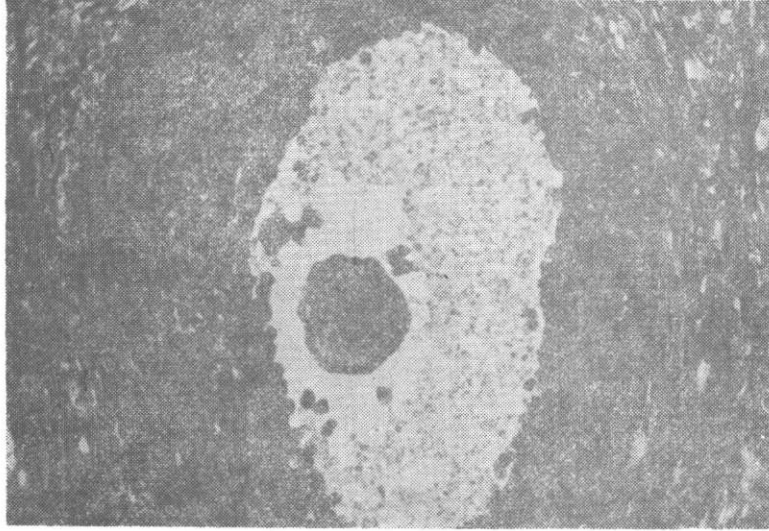
Şekil 3 : Kısa etkili düşük doz ilaç uygulanan gurubda, değişik düzeylerde atreziye gitmiş folliküller görülüyor. x 10. Boya : Mallory Azan



Şekil 4 : Ovositte dejenerasyon, erime ve follikül duvarında atrezi gösteren iki follikül görülüyor. Folliküllerin yanında eski bir korpus luteum (*). x 63. Boya : Mallory Azan



Şekil 5 : Yarı ince kesitte, follikül duvarındaki hücrelerde düzensizlik, sitoplazmalarında yağ dejenerasyonu, çekirdeklerinde piknoz görülüyor (ok). x 400. Boya : Toluidin mavisi-Azür II



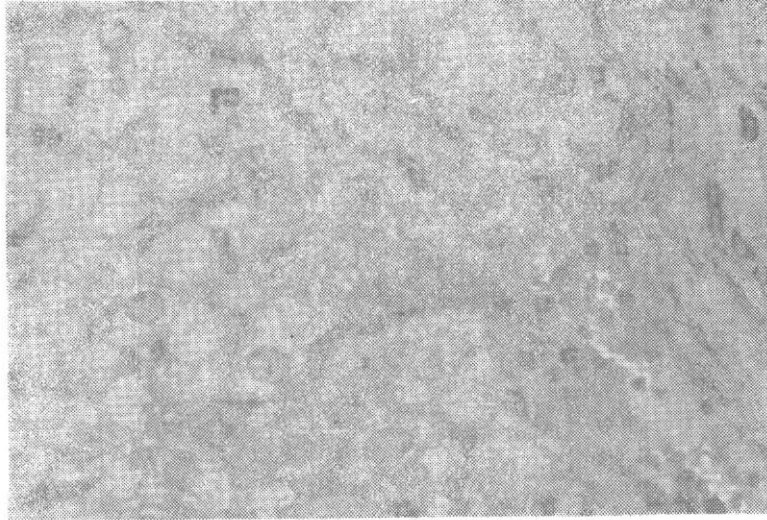
Şekil 6 : Ovosit çekirdeğinde piknoz, zona pellusida da dalgalanma görülüyor. Korona radyata kaybolmuş, piknotik çekirdekli granüloza hücreleri antrumda yüzer şekildedir. x 100. Boya : Mallory Azan



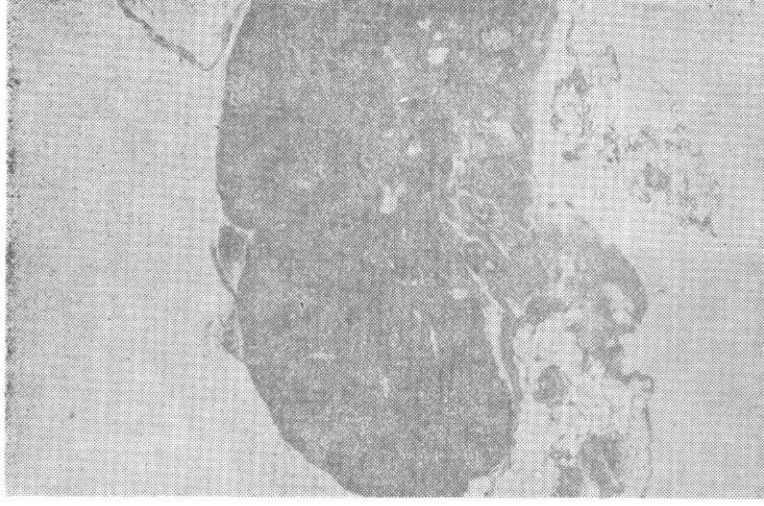
Şekil 7 : Parthenogenetik bölünme gösteren dejenere bir follikül ve çevresindeki bazal membranın kalınlaşması 'camsı membran' (ok) izleniyor. x 40. Boya : Masson trikrom.



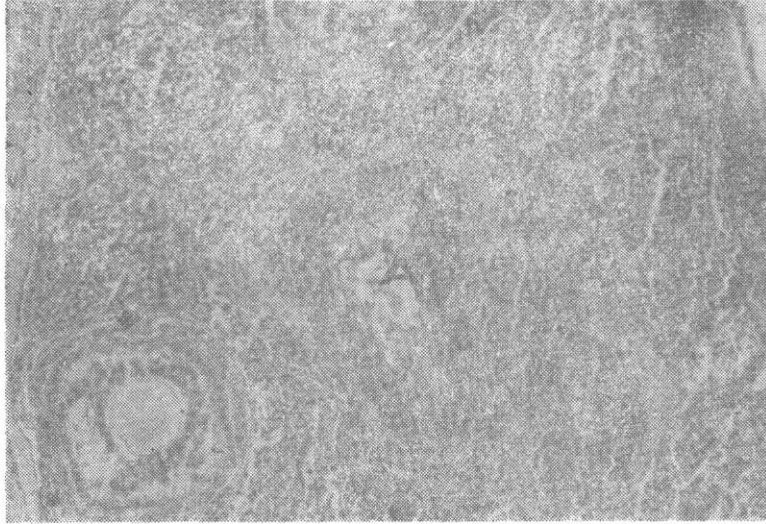
Şekil 8 : Follikül duvarı incelmış, atretik ovosit antrumda yalnız bulunmakta. x 63.
Boya : Masson trikrom.



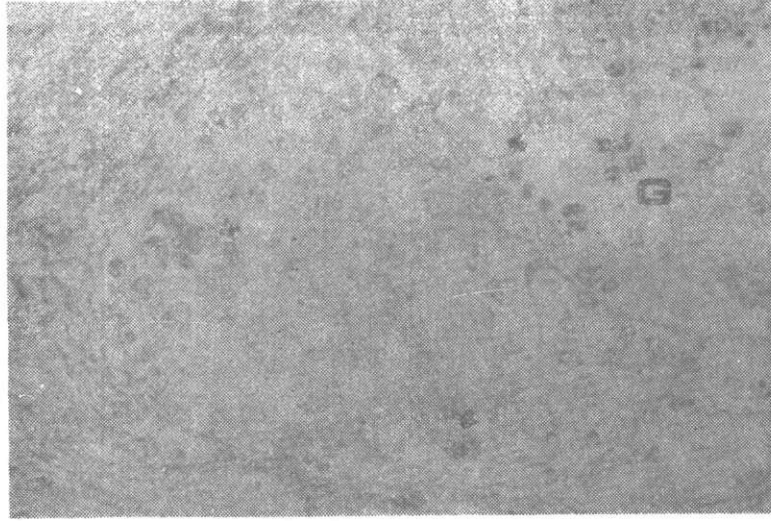
Şekil 9 : Gerileyen korpus luteumda fibroblast (F) ve bağ dokusu artışı gözleniyor.
x 400. Boya : Toluidin mavisi-Azür II.



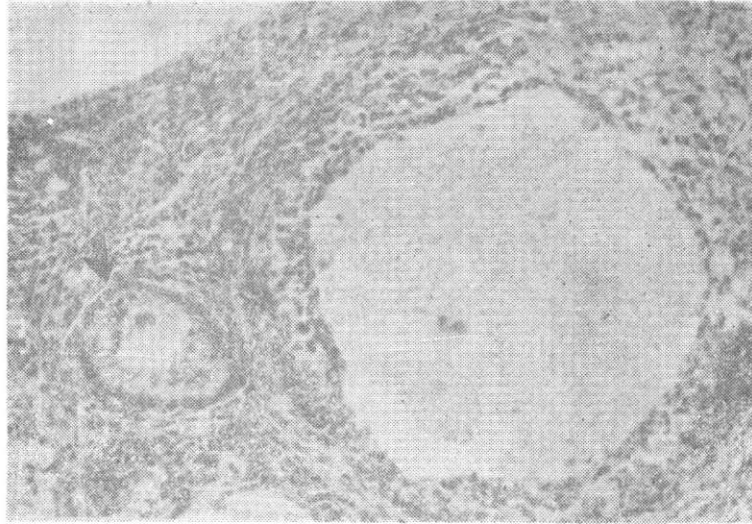
Şekil 10 : Uzun etkili yüksek doz ilaç uygulandıktan sonra ovaryum küçülmüş ve inaktif olarak izleniyor. x 10. Boya : H.E.



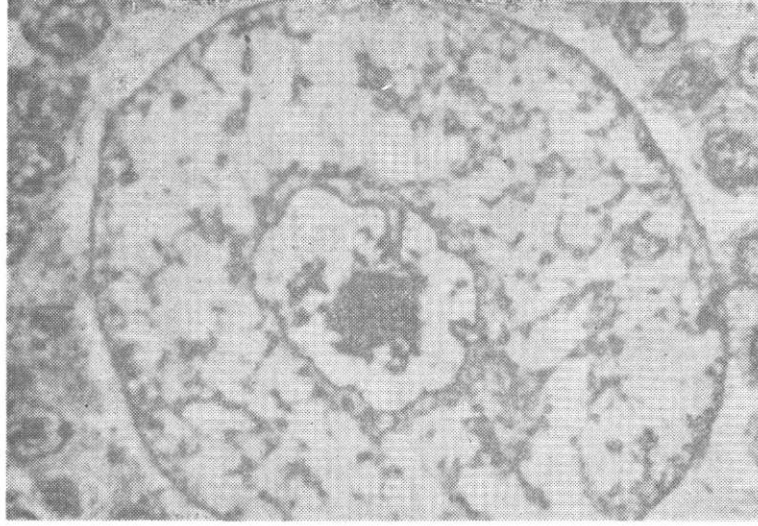
Şekil 11 : Atreziye giden (ok) ve atretik folliküller (A) beraber görülüyor. x 63. Boya : H.E.



Şekil 12 : Uzun etkili yüksek doz DMPA uygulanan guruba ait atretik follükül duvarında lümene dökülmüş dejenere granüloza hücreleri (G) ve bazal membranı delerek follükül epiteii içine giren kılcal damarlar (ok) izleniyor. x 200. Boya : Toluidin mavisi-Azür II.



Şekil 13 : Atretik kistik follükül ve yanında atretik bir primer follükül (ok) görölüyor. x 80. Boya : H.E.



Şekil 14 : Atretik ovositte sitoplazmada vakuoller çekirdekte düzensizlik ve kromatin materyalde depolimerisasyon izleniyor. x 400. Boya : Toluidin mavisi-Azür II.

TARTIŞMA

DMPA'nın etkisi ve yan etkileri üzerine klinikte birçok araştırma yapılmıştır ancak ovaryumlara olan etkisini histolojik yönden inceleyen çok az çalışma vardır. Bhowmik DMPA ve başka bir enjektabl kontraseptif olan NET-EN'ı (norethisterone enanthate) değişik doz ve sürelerde karşılaştırmıştır. Düşük dozlarda kısa sürede ovaryumlarda atrezi ve folliküllerde değişik gelişme seviyelerinde dejenerasyon, yüksek dozlarda uzun sürede ise atrofi bildirmiştir. NET-EN'e göre DMPA'nın etkisinin daha kuvvetli olduğu sonucuna varmıştır (2). İkinci bir çalışma ise NET-EN'le 130 kadında klinik düzeyde ve 6 kadında laparotomi sırasında alınan biopsi örneklerinde yapılmıştır. Burada antral follikül seviyesine kadar ulaşan gelişme izlenmiş ancak taze ve gerilemiş korpus luteum görülmemiştir. Bazı atretik folliküllerde tekada lüteinizasyon görülmesi folliküller gelişmeye yardım eden FSH yanında LH'nın da varlığına bağlanmıştır (14).

Bu çalışmada yukarıdaki kaynaklarla uyumlu olarak her iki deney gurubunda folliküller atrezinin klasik bulguları gösterilmiştir. Yüksek doz uzun süre ilaç uygulanan gurubda bile antral follikül dü-

zeyine ulaşmış ve atreziye gitmiş folliküller vardır. Buna rağmen her iki deney gurubunda da ovulasyonu gösteren korpus luteum bulunmamıştır. Bu sonuç DMPA'nın ovulasyonu kesinlikle engellediğini gösterir. Uzun süreli gurubda Bhowmik'in bildirdiği atrofi bulunmamıştır. Tekada lüteinizasyon olmaması ise NET-EN'e göre DMPA'nın daha kuvvetli bir LH inhibitörü olduğunu göstermektedir. Uzun etkili enjeksiyon şeklindeki progesteron preparatlarını kullanan kadınlarda LH ve FSH erken folliküller faz seviyesindedir. FSH enjeksiyondan hemen sonra düşsede, 3-4 gün sonra eski değerlere döner. Bunun yanında LH piki gözlenmez (8). Çalışmada ovulasyonun olmayışı LH pikinin yokluğunu göstermektedir. Beraberinde gözlenen antral düzeye kadar gelişme FSH'nın varlığını desteklemektedir.

İlacın en çok tartışılan etkisi kanser oluşturması üzerine olmuştur (5,7,10,11). İnsanlarda malignite gösterilememiştir. Bugün endometriyosiz tedavisinde ve endometriyum kanserinde yardımcı ilaç olarak kullanılmaktadır. Tolunay'da 1989'da yaptığı bir çalışmada benign değişiklikler bildirmiştir (12). Bu çalışmada da malignite bulgusuna rastlanmamıştır.

DMPA, ara kanama ve fertilitenin geç dönmesi gibi etkileri kişiye belirtilmek şartıyla bugün birçok ülkede önerilmektedir. Fertilitenin gecikmesi doza bağlanmış ve düşük dozlarda daha kısa sürede geri döndüğü gösterilmiştir. İnfertilite oluşması söz konusu değildir. Uzun etkili yüksek doz ilaç verilen grupta bile kortikal stroma yoğunluğunda artma tesbit edilse dahi belirgin bir fibrosiz tesbit edilmemiştir. Sağlıksız düşükler ve doğum koşulları düşünülürse özellikle geri kalmış toplumlarda tercih edilebilir (1,3).

ÖZET

Kişiye en az zararlı ve en etkin doğum kontrolü yöntemini bulmak için bir çok araştırmacı ve Dünya Sağlık Teşkilatı (WHO) gibi kuruluşlar sürekli çalışmaktadır. Depo medroksiprogesteron asetat (DMPA) da bu amaçla kullanılabilen uzun etkili enjektabl bir ilaçtır. Bu çalışmada sıçanlara değişik dozlarda ve değişik sürelerde DMPA uygulanarak ovaryumlarda yaptığı histolojik değişiklikler incelenmiştir. Deney gruplarında yeni oluşmuş korpus luteum olmaması ovulasyonun engellendiğini göstermiştir. Ovulasyonun engellenmesi LH pikinin

yokluğuna bağlanmıştır. Uzun etkili yüksek doz DMPA verilen grupta dahi kortekste folliküller gelişmenin gözlenmesi FSH'un varlığını göstermektedir. Fibrosiz ve malign değişiklikler tesbit edilmemiştir. Uzun etkili grupta daha az olmak üzere folliküllerde gelişmenin değişik seviyelerinde atrezi en belirgin bulgudur.

Anahtar Kelimeler : Ovaryum, DMPA, Kontrasepsiyon.

SUMMARY

The Effects of Long-Term Contraceptive Aimed DMPA on Rat Ovarium

In order to find a reliable and most harmless contraceptive method, there are so many ongoing researchs done by several health organizations specially by World Health Organization (WHO). The DMPA is a well known medication in injectable and long-acting group. In this study, the histological changes in rat ovarian after giving DMPA in different dosages and in different administration periods were studied. There was no new formation of corpus luteum seen after DMPA and this provided an evidence that DMPA inhibited the ovulation. In this inhibition, the absence of luteinated hormone (LH) peak was the main reason. In another group which was given high dose long acting DMPA, the observation of follicular development in cortex revealed the presence of FSH. Fibrosis and malign changes were not observed. The common significant result is atresia in different stages of follicular development especially in high dose long term DMPA treated group.

Key Words : Ovarium, DMPA, Contraception.

KAYNAKLAR

1. Basnayake S Abeywickrama D : Acceptability of depo-provera. The Lancet 8373, 18, 390, 1984.
2. Bhowmik T Mukherjea M : Histological changes in the ovary and uterus of rat after injectable contraceptive therapy. Contraception, vol. 37 No. 5 : 529-538, 1988.
3. Bonhomme MG Potts DM Fortney JA et al : Safety of depot medroxyprogesterone acetate. Lancet 338 : 942, 1991.

4. Britton TF : Recognizing DMPA as a contraceptive. *Am. J. Nurs.* 84 (3) : 306, 1984.
5. Depo-provera update : Not FDA-approved, but experts recommend Depo-Provera. *Cont. Tech. Update.* 13 (1) : 1-20, 1992.
6. Ginsburg K Moghissi K : Alternate delivery systems for contraceptive progestogens. *Fertil Steril.* 49 (Suppl) (5) : 16-30, 1988.
7. Gold RB : Special Report : Depo-provera : The jury stil out. *Fam. Plan. Persp.* 15 (2) : 78-81, 1983.
8. Mishell DR : Effect of 6 α -methyl-17 α -hydroxyprogesterone on urinary excretion of luteinizing hormone, *Am., J., Obst. and Gynec.* 99 (1) 86-90, 1967.
9. Odland V : New delivery systems for hormonal contraception, *Acta. Obstet. Gynecol. Scand. Suppl.* 134 : 15-20, 1986.
10. Potts M Paxman JM : Depo-Provera-Ethical Issues in its testing and distrubition. *J. Med. Ethics.* 10 (1) : 9-20, 1984.
11. Richard B Lasagna L : Drug regulation in the United States and the United Kingdom : The depo provera story. *Annals of Internal Medicine (Ann. Ijnt. Med.)* 106 : 868-891, 1987.
12. Tolunay Ş : Enjekte edilebilen hormonal gebelik önleyicilerin dişi sıçanların genital sistemleri üzerine etkileri. *Uludağ Üniv. Tıp Fak. Der.,* 2, 16, 263-272, 1989.
13. Wilson E : Injektale contraception, *The Practitioner.* 232 : 32-36, 1988.
14. Zanartu J Navarro C : Fertility inhibition by an injektale progesteron acting for 3 months. *Obs. and Gynec.* 31 (5), 1968.