



Prepubertal ve Postpubertal Sıçanların Genital Sistem Organlarında Ürotensin 2 Reseptörünün Karşılaştırılması*

Duygu KÖSE^{1a}, Zekai HALICI^{2b}, Erdem TOKTAY^{3c}

1. Atatürk Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı, Erzurum, TÜRKİYE.
 2. Atatürk Üniversitesi, Klinik Araştırma, Geliştirme ve Tasarım Uygulama ve Araştırma Merkezi, Erzurum, TÜRKİYE
 3. Kafkas Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Kars, TÜRKİYE.
- ORCID: 0000-0002-3468-1567^a, 0000-0001-6854-6059^b, 0000-0002-0715-2707^c

Geliş Tarihi/Received	Kabul Tarihi/Accepted	Yayın Tarihi/Published
27.12.2019	15.04.2020	27.10.2020

Bu makaleye atıfta bulunmak için/To cite this article:

Köse D, Halıcı Z, Tokay E: Prepubertal ve Postpubertal Sıçanların Genital Sistem Organlarında Ürotensin 2 Reseptörünün Karşılaştırılması. Atatürk Üniversitesi Vet. Bil. Derg., 15(2): 113-121, 2020. DOI: 10.17094/ataunivbd.666100

Öz: Çalışmada sıçanlarda genital organlarda (over, uterus ve testis) puberte öncesi ve sonrasında Ürotensin 2 Reseptör'ü (ÜTR 2) varlığını ve dağılımını karşılaştırmalı olarak araştırmayı amaçladık. Çalışma toplam 20 adet Wistar Albino cinsi sıçan ile yapıldı. Sıçanlar 2 grup (N:5) erkek (Grup 1: prepubertal erkek, Grup 2: postpubertal erkek) ve 2 grup (N:5) dişi (Grup 3: prepubertal dişi, Grup 4: postpubertal dişi) olmak üzere 4 gruba ayrıldı. Sıçanlardan uterus, over ve testis örnekleri alındı. Moleküler çalışmada ÜTR 2 mRNA ekspresyon seviyeleri gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu ile incelendi ve immünohistokimyasal olarak ÜTR 2 boyaması ile sonuçlar karşılaştırıp bu dokularda ÜTR 2 varlığı ve dağılımı araştırıldı. Dişi sıçanlarda prepubertal ve postpubertal over ve uterus dokularında ÜTR 2 mRNA ekspresyon seviyeleri değerlendirildiğinde postpubertede istatistiksel olarak anlamlı oranda artmış olarak bulunurken, erkek sıçanların testis dokularındaki ÜTR 2 mRNA ekspresyon seviyelerinde prepuberte ve postpubertede arasında bir fark görülmedi. Postpubertal over ve uterusunda artan ÜTR 2 seviyelerinin artan östrojen ya da progesteron seviyeleri ile ilişkili olabileceği düşünüldü. Over ve uterus hastalıklarında ÜTR 2' ünün ayrıntılı olarak araştırılması ve ÜTR 2'ü agonist ve antagonistleri ile ilgili over ve uterus hastalıklarında ileri araştırmalar yapılması gerekliliği sonucuna varıldı.

Anahtar Kelimeler: Over, Testis, Uterus, Ürotensin 2.

A Comparison of Urotensin 2 Receptor in Genital System Organs of Prepubertal and Postpubertal Rats

Abstract: In this study, we aimed to investigate the presence and distribution of urotensin 2 receptor (UTR 2) in the genital organs (ovary, uterus and testis) before and after puberty as prepubertal and postpubertal. A total of 20 Wistar Albino rats were used. The rats were divided into two groups (N: 5) male (Group 1: prepubertal male, Group 2: postpubertal male) and 2 groups (N: 5) female (Group 3: prepubertal female, Group 4: postpubertal female). Uterine, ovarian and testicular samples were collected from rats. In the molecular study, UTR 2 mRNA expression levels were examined by real-time polymerase chain reaction (Real Time-Polymerase Chain Reaction) and immunohistochemical results were compared with the results of UTR 2 staining. UTR 2 mRNA expression levels in the prepubertal and postpubertal ovary and uterine tissues of female rats were found to be significantly increased in postpubertal, but no difference was seen in UTR 2 mRNA expression levels in testicular tissues of male rats. It was thought that increased UTR 2 levels in the postpubertal ovary and uterus may be associated with increased estrogen or progesterone levels. It was concluded that UTR 2 should be investigated in detail in ovarian and uterine diseases and further investigations of ovarian and uterine diseases related to UTR 2 agonists and antagonists should be performed.

Keywords: Ovary, Testis, Uterus, Urotensin 2.

✉ Duygu Köse

Atatürk Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı, Erzurum, TÜRKİYE.

e-posta: duygu.kose@atauni.edu.tr

* Bu çalışma Atatürk Üniversitesi tarafından THD-2018-6859 proje kodlu BAP projesi ile desteklenmiştir.

GİRİŞ

Ürotensinerjik sistem memeli organ sisteminde fizyolojik olaylarda çok önemli roller üstlenmiştir (1). Ürotensin 2 (ÜT 2) sağlıklı insanlarda plazmada ölçüldüğünde düşük miktarlarda tespit edilmektedir. Yapılan araştırmalar sonucu; sağlıklı insanlarda ÜT 2'nin belirgin bir görevi olmadığı, hastalık durumlarında ise görevinin belirginleştiği bilinmektedir (2-6). ÜT 2'nin önemi şimdiye kadar tanımlanan tespit edilmiş en güçlü vazokonstriktör olması nedeniyledir (7). ÜT 2 kan akımının rol oynadığı hemodinamik ve osmoregulator olaylarda ön plana çıkmaktadır (8). Kan akımının yoğun olduğu kalpteki pozitif inotrop ve kronotrop yanıtlarda (9) oldukça önemli roller üstlenmiştir. Bu rollere ilave olarak kardiyak ve vasküler hipertrofide (10), kollajen ve fibronektin birikimini indüklemeye (11) ve inflamatuvar cevap modülasyonunda (12) da rol oynamaktadır. Bu etkilerinin yanı sıra ÜT 2 güçlü anjiojenik etkilidir (13) ve bunlara ek olarak ÜT 2 insülin salınımını da inhibe etmektedir (13). Bu nedenlerle ÜT 2 kalp yetersizliği, yüksek tansiyon ve preeklampsi gibi kardiyovasküler sistem hastalıklarıyla, diyabetes mellitus gibi endokrin sistem hastalıklarıyla, çeşitli böbrek ve karaciğer hastalıklarıyla ve noröpsikiyatrik hastalıklarla ilişkilendirilmiştir (14-16). Yapılan çeşitli çalışmalarda vücuttaki ÜT 2 konsantrasyonlarının kalp, karaciğer ve renal hastalıklarda, ateroskleroz ve hipertansiyon gibi kardiyovasküler hastalıklarda ve diyabetes mellitusta yükseldiği gösterilmiştir (6, 17-22). ÜTR 2'ü, G proteinine bağlı olup 'GPR14' olarak adlandırılmıştır. ÜT 2 ve reseptörünün santral sinir sistemi başta olmak üzere, kanlanması fazla olan periferik vasküler dokularda, kan akımının yoğun olduğu kalp ve böbrekte, bu organlara ek olarak mesane ve prostat gibi üriner sistem organlarında, pankreas, böbrek üstü bezi ve hipofiz gibi endokrin sistem organlarında varlığının gösterilmesine ve ayrıntılı olarak birçok araştırılma yapılmasına rağmen (23,24); over, testis ve uterus dokularında ise varlığı gösterilmiş ancak henüz ayrıntılı araştırmalar yapılmamıştır (25,26).

Ürogenital sistemde puberte öncesi ve sonrası çeşitli farklılıklar görülmektedir. Puberte cinsel olgunluk olarak tanımlanmaktadır ve puberte ile

birlikte genital sistem organlarında önemli fizyolojik değişiklikler görülmektedir. Puberte başlangıcı ırklara göre farklılıklar göstermektedir. Sıçanlarda puberteye ulaşma süresi ortalama 8-10 haftadır. Olgun ve ağırlıklarının yarısına ulaşmış sıçanların puberteye ulaştığı bilinmektedir; fakat yaştan ve ağırlıktan daha güvenilir bir göstere vücut uzunluğunun 148-150 cm' ye ulaşmasıdır (27). Prepubertal ve postpubertal dönemlerde farklı fizyolojik mekanizmalar rol oynamaktadır. Erkek sıçanlarda spermatogenesis, dişi sıçanlarda vaginal açıklıkla birlikte proöstrus, pubertede oluşan temel fizyolojik olaydır. Vazokonstriktör mekanizmaların önemli rol oynadığı pubertal dönemde ve sonrasında en güçlü vazokonstriktör olan ÜTR 2'nin aktif rol oynama olasılığı fazladır. ÜTR 2 tüm vasküler sistemde aynı etkiyi göstermemekle birlikte vasküler sistemde güçlü ve değişken konstriktör etkiler oluşturur. Vasküler yapının önemli olduğu, konstriktör mekanizmaların önemli rol oynadığı sıçan genital sisteminde de ÜTR 2 varlığı ayrıntılı olarak araştırılması gereken literatürde eksik kalmış ve araştırılmaya değer bir konudur.

MATERYAL ve METOT

Hayvanlar

Çalışmada, Atatürk Üniversitesi Tıbbi ve Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkezi Deneysel Hayvanları Laboratuvarı'ndan alınan toplamda 20 adet *Wistar albino* cinsi sıçan (250-300 gr) kullanıldı. Çalışma öncesinde sıçanlar uygun ışık koşullarında (14: 10 saat, ışık: karanlık döngüsü), 22 ° C' de iyi havalandırılan bir odada tipik plastik kafeslerde talaş zemin üzerinde tutuldu. Standart sıçan yemi ve musluk suyu ad libitum olarak verildi. Çalışma, Tıbbi Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkezi tarafından onaylandı (Etik kurul onay no: 2018/5/110).

Deneysel Prosedürü

Çalışmada toplam 20 adet *Wistar Albino* cinsi sıçan kullanıldı. Sıçanlar 2 grup erkek, 2 grup dişi

olmak üzere 4 gruba ayrıldı. Sıçanlarda puberteye ulaşma süresinin ortalama 8-10 hafta olduğu bilindiği için çalışmaya alınan sıçanların prepubertal grup olanları puberteye girmemiş olanlardan (en fazla 4 haftalık), postpubertal olanları ise puberteye girdiği kesin olanlardan (en az 14 haftalık) temin edildi.

Deney Grupları: 20 adet sıçan 5'erli gruplara ayrıldı.

Grup 1: erkek sıçan grubu (prepubertal) (5 sıçan)

Grup 2: erkek sıçan grubu (postpubertal) (5 sıçan)

Grup 3: dişi sıçan grubu (prepubertal) (5 sıçan)

Grup 4: dişi sıçan grubu (postpubertal) (5 sıçan)

Deneysel prosedürün sonlandırılması için yüksek doz anestezi madde ile (thiopental 50 mg/kg) sakrifikasyon işlemleri gerçekleştirilerek sıçanlardan uterus, over ve testis örnekleri alındı. Dişi sıçanlarda median hatta insizyon yapıldıktan sonra uterus ve overe ulaşıp çıkarıldı. Erkek sıçanlarda testisi çıkarmak için skrotal kesi yapılarak testis çıkarıldı. Dokular çevrelerindeki bağ ve yağ dokularından temizlendikten hemen sonra, erkek sıçan grubundan alınan testis örnekleri ve dişi sıçan grubundan alınan over ve uterus örneklerinin yarısı immünohistokimyasal analiz için hemen formaldehite, diğer yarısı moleküler analizler için, -80 °C ultra derin dondurucuya konuldu.

Histopatolojik Analizler

Rutin İmmünohistokimyasal Prosedür

Pozitif şarjlı lamlara alınan kesitler; Leica Bond-Max otomatik immünohistokimya cihazına yerleştirilerek, ÜTR 2 varlığı ve dağılımı incelenmek üzere Leica Bond Polymer Refine Detection Kit® ile boyandı. Leica bond-MAX otomatik immünohistokimya boyama cihazında: 30 dk, 60 derecede parafininin erimesi sağlandı. 15 dakika dewax (veya ksilol) solüsyonunda tutularak deparafinizasyon işlemi gerçekleştirildi. 15 dk %99' luk alkolde tutularak rehidratasyon gerçekleştirildi. Wash Buffer [veya PBS (fosfat buffer solüsyonu)] solüsyonunda 3 dk yıkandı. Epitop 2 (veya Antijen

Retrieval Solüsyon Ph=9) solüsyonunda antijen retrieval işlemi gerçekleştirildi. Wash Buffer (PBS) solüsyonunda 3 dk yıkandı. %3'lük hidrojen peroksidase (veya peroksidase blocking) da 10 dk bekletildi. Wash Buffer (PBS) solüsyonunda 3 dk yıkandı. Antikor damlatılıp 60 dk beklendi. Wash Buffer (BPS) solüsyonunda 3 dk yıkandı. Post Primer solüsyon [(veya sekonder antibody (link)) damlatılarak 15 dk bekletildi. Wash Buffer (PBS) solüsyonunda 3 dk yıkandı. Polimer solüsyon [veya Streptavidin peroksidaz solüsyon (label)] damlatılarak 15 dk bekletildi. Wash Buffer (PBS) solüsyonunda 3 dakika yıkandı. Saf suda 3 dakika yıkandı.

Diaminobenzidine +Kromojen damlatılıp 5 dk bekletildi. Saf suda 3 dakika yıkandı. Hematoksilende 5 dakika boyandı. Distile su 3 ile yıkandı. Alkolde 2 dakika bekletildi. Ksilolde 2 dakika bekletildi. Entellan ile kapatıldı.

İmmünohistokimyasal olarak,

Over, uterus ve testiste ÜTR 2 immün boyamalarına bakıldı ve immüno pozitiflikler stereolojik yöntemlerle sayılarak sayısal yoğunluk hesaplamaları yapıldı. Sayısal veriler parametrik testlerle istatistiksel olarak değerlendirildi.

Moleküler Çalışmalar

Çalışmamız in vivo olarak gerçekleştirilip, moleküler anlamda gen düzeyinde incelemeler yapıldı. ÜTR 2 mRNA ekspresyon düzeylerini değerlendirmek için gerçek zamanlı-polimeraz zincir reaksiyonu (Real Time-PCR) yapıldı. Bunun için sırasıyla; homojenizasyon, RNA izolasyonu, cDNA sentezi ve mRNA ekspresyonlarının kantitatif olarak belirlenmesi işlemleri uygulandı.

Real Time-PCR

Sıçan Over, Testis ve Uterus Dokusundan Ribonükleik Asit (RNA) Ekstraksiyonu

Dokuların Tissue Lyser II (Qiagen) ile azot muamelesiyle birlikte homojenizasyonu sağlanıp QIAcube de RNA ekstraksiyonu yapıldı ve total RNA

izolasyonu aşamaları sürdürüldü. Total mRNA miktarı nano drop spektrofotometri (EPOCH Take 3 Plate, Biotek) ile 260 nm’de ölçülerek değerlendirildi. Elde edilen RNA gerekli koşullarda -80 °C’de saklandı.

Revers Transkriptaz Reaksiyonu ve Komplementer DNA (cDNA) Sentezi

RNA’dan cDNA oluşumu High Capacity cDNA Reverse Transcription kiti ile sağlandı. cDNA sentezi için her bir reaksiyonda 10µl RNA kullanılarak sıcaklık değerlerine göre Veriti 96 Well Thermal Cycler (Applied Biosystem) ile sağlandı. cDNA miktarı nano drop spektrofotometri (EPOCH Take3 Plate, Biotek) ile belirlenerek, elde edilen cDNA -20°C’de saklandı.

cDNA sentez reaksiyonu için 10 µl total RNA, 2 µl 10 X RT Buffer, 0.8 µl 25 X dNTPs mix, 2 µl 10 X RT Random Primers, 1 µl MultiScribe Reverse Transcriptase ve 4.2 µl DEPC-H₂O kullanıldı.

Real Time PCR ile ÜTR 2 mRNA Ekspresyonlarının Kantitatif Olarak Belirlenmesi

ÜTR 2 mRNA ekspresyonu Taq Man Gene Expression Master Mix kullanılarak sağlandı (Tablo 1). Referans gen olarak β-actin (Rn00667869_m1) kullanıldı. StepOne Plus Real Time PCR System (Applied Biosystems) cihazı kullanılarak amplifikasyon ve kantifikasyon gerçekleştirildi. 200 ng cDNA için aşağıda verilen TaqMan® gen ekspresyon primerleri aşağıda belirtildiği gibi pipetleme yapılarak 40 siklus boyunca reaksiyon devam ettirildi. CT (cycle threshold), gerçek zamanlı PCR deneylerinde floresan sinyal miktarının, gözlemlenebilmesi için gereken minimum değeri (eşik değerini) geçtiği döngü sayısına (eşik döngüsü) verilen addır. CT değerleri cihazda otomatik olarak delta delta CT’ ye çevrildi ve sonuçlar istatistiksel olarak SPSS 25.00 programında değerlendirilmeye alındı.

Tablo 1. ÜTR 2 gen sens ve antisens primerleri (ÜTR 2: Ürotensin 2 reseptörü).

Table 1. Sens and antisense primers for UTR 2 gene (UTR 2: Urotensin 2 receptor).

UTS2R	F: CCC AAC GCA ACC CTC AAC	Primer
	R: GCC ACC AGG TCC TCC AG	Design

Pipetleme için X µl cDNA (200ng), 10 µl TaqMan Master Mix, 1 µl Assay kullanıldı ve RNase free H₂O ile 20 µl’e tamamlandı.

İstatistiksel Analiz

Gerekli çalışmalar yapıldıktan sonra verilerin tümü SPSS 25 programında değerlendirildi. Veri sonuçları ortalama değerleri ve standart deviasyonları (sd) ile belirtildi. Her gruptaki hayvan sayısı 5 olduğu için normalite testi olarak Shapiro Wilk uygulandı. Karşılaştırılan grup sayıları prepubertal ve postpubertal olmak üzere 2 olduğu ve gruplar normal dağıldığı için gruplar arasındaki farkın anlamlılığı student T testi ile değerlendirildi. İstatistiksel anlamlılık değeri (P) 0.05 olarak değerlendirildi.

BULGULAR

Histopatolojik Bulgular

İmmünohistokimyasal Sonuçlar

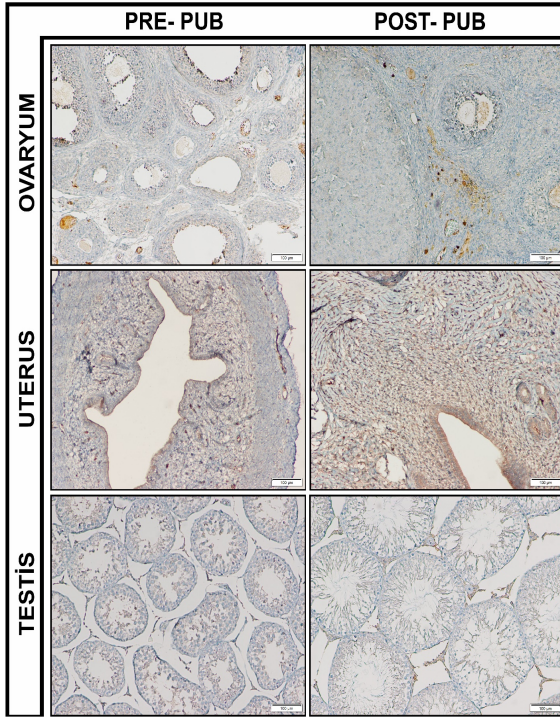
Çalışma analizlerinin daha iyi anlaşılması amacıyla immünohistokimyasal (İHK) bulgular immün pozitiflik derecesine göre skorlandı. Buna göre immün; negatif (-), hafif pozitif (+), orta pozitif (++) , şiddetli pozitif (+++) olacak şekilde Tablo 2’de boyama türlerine göre gösterilmiştir.

Tablo 2. ÜTR 2 skorum sonuçları (ÜTR 2: Ürotensin 2 reseptörü).

Table 2. UTR 2 scoring results (UTR 2: Urotensin 2 receptor).

Organ	Prepuberte	Postpuberte
Over	+	++
Uterus	++	+++
Testis	+	+

Bu sonuçlara göre; ÜTR-2 antikoru ile yapılan İHK boyamada, over ve testis dokusunun pre puberte grubunda hafif derecede immün pozitiflik görülürken, uterus dokusunda orta derecede immün pozitiflik görülmüştür. Post puberte grubunda testis dokusunda hafif pozitiflik görülürken, over dokusunda orta derecede pozitiflik, uterus dokusunda ise şiddetli pozitiflik görülmüştür (Tablo 2). Bu immün pozitiflik over dokusunda özellikle medullada kan damarlarında izlenirken, uterus dokusunda ise bağ dokuda ve kan damarlarında immün pozitiflik izlenmiştir. Testis dokusunda ise bağ dokuda pozitiflik izlendi (Şekil 1).



Şekil 1. Testis, over ve uterus dokularında ÜTR 2 immünohistokimya boyama sonuçları (PRE-PUB: prepubertal, POST-PUB: postpubertal) (ÜTR 2: Ürotensin reseptörü 2).

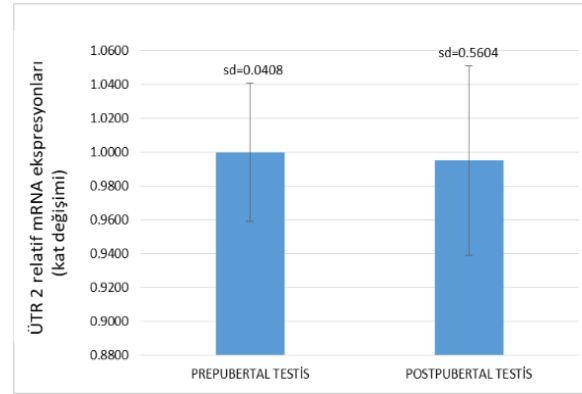
Figure 1. Results of UTR 2 immunohistochemistry staining in testicular, ovarian, and uterine tissues (PRE-PUB: prepubertal, POST-PUB: postpubertal) (UTR 2: Urotensin receptor 2).

Moleküler Bulgular

ÜTR 2 mRNA Ekspresyonları

Real Time PCR ile prepubertal ve postpubertal sıçanlardan alınan testis dokularında ölçülen mRNA

ekspresyonlarının sonuçları (Şekil 2) SPSS 25 programında değerlendirildi. Gruplardaki sıçan sayısı 5 olduğu için Shapiro Wilk normalite testi uygulandı. Prepubertal testis ($P=0.115$) ve postpub testis ($P=0.168$) gruplarının normal dağıldığı görüldü ($P>0.05$). Gruplar normal dağıldığı ve karşılaştırılan grup sayısı 2 olduğu için Student T test uygulandı. Student T testinde gruplar arasındaki fark anlamsız olarak bulundu ($P=0.891$) ($P>0.05$). Testis dokusunda ÜTR 2 mRNA ekspresyonlarında pre ve post puberte arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı.

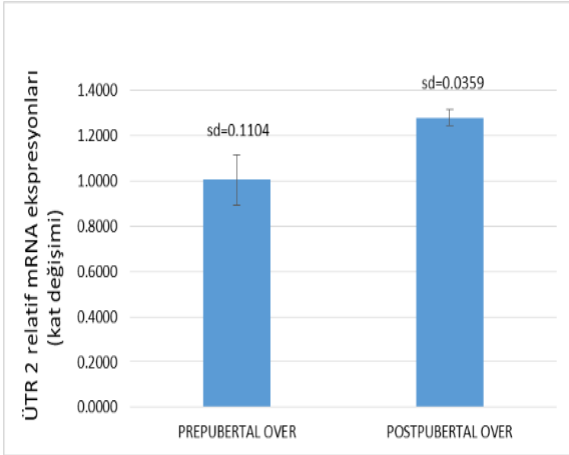


Şekil 2. Testis dokusunda Real-Time PCR ile ölçülen ÜTR 2 mRNA ekspresyonlarının student T-testi ile değerlendirme sonuçları $P=0.891$ ($P>0.05$) (PCR: polymerase chain reaction, ÜTR 2: ürotensin 2 reseptörü, mRNA: haberci RNA, sd: standart deviasyon).

Figure 2. Results of the evaluation of UTR 2 mRNA expression in testicular tissue by Real-Time PCR with student T-test $P=0.891$ ($P>0.05$) (PCR: polymerase chain reaction, UTR 2: urotensin 2 receptor, mRNA: messenger RNA, sd: standard deviation).

Real Time PCR ile prepubertal ve postpubertal sıçanlardan alınan over dokularında ölçülen mRNA ekspresyonlarının sonuçları (Şekil 3) SPSS 25 programında değerlendirildi. Gruplardaki sıçan sayısı 5 olduğu için Shapiro Wilk normalite testi uygulandı. Prepubertal over ($P=0.357$) ve postpub over ($P=0.550$) gruplarının normal dağıldığı görüldü ($P>0.05$). Gruplar normal dağıldığı ve karşılaştırılan grup sayısı 2 olduğu için Student T test uygulandı. Student T testinde gruplar arasındaki fark anlamlı

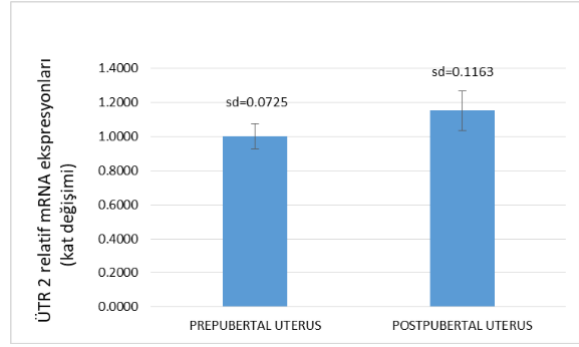
olarak bulundu ($P=0.01$) ($P<0.05$). Over dokusunda postpubertede mRNA ekspresyonları prepuberteye göre istatistiksel olarak anlamlı oranda artmış olarak saptandı.



Şekil 3. Over dokusunda Real-Time PCR ile ölçülen ÜTR 2 mRNA ekspresyonları student T-testi ile değerlendirme sonuçları $P=0.01$ ($P>0.05$) (PCR: polymerase chain reaction, ÜTR 2: ürotensin 2 reseptörü, mRNA: haberci RNA sd: standart deviasyon).

Figure 3. UTR 2 mRNA expression in ovarian tissue measured by Real-Time PCR and student T-test evaluation results $P=0.01$ ($P>0.05$) (PCR: polymerase chain reaction, UTR 2: urotensin 2 receptor, mRNA: messenger RNA, sd: standard deviation).

Real Time PCR ile prepubertal ve postpubertal sıçanlardan alınan uterus dokularında ölçülen mRNA ekspresyonlarının sonuçları (Şekil 4) SPSS 25 programında değerlendirildi. Gruplardaki sıçan sayısı 5 olduğu için Shapiro Wilk normalite testi uygulandı. Prepubertal uterus ($P=0.668$) ve postpubertal uterus ($P=0.384$) gruplarının normal dağıldığı görüldü ($P>0.05$). Gruplar normal dağıldığı ve karşılaştırılan grup sayısı 2 olduğu için Student T test uygulandı. Student T testinde gruplar arasındaki fark anlamlı olarak bulundu ($P=0.041$) ($P<0.05$). Uterus dokusunda postpubertede mRNA ekspresyonları prepuberteye göre istatistiksel olarak anlamlı oranda artmış olarak saptandı.



Şekil 4. Uterus dokusunda Real-Time PCR ile ölçülen ÜTR 2 mRNA ekspresyonları student T-testi ile değerlendirme sonuçları $P=0.41$ ($P>0.05$) (PCR: polymerase chain reaction, ÜTR 2: ürotensin 2 reseptörü, mRNA: haberci RNA sd: standart deviasyon).

Figure 4. UTR 2 mRNA expression measured by Real-Time PCR in uterine tissue by student T-test evaluation results $P=0.41$ ($P>0.05$) (PCR: polymerase chain reaction, UTR 2: urotensin 2 receptor, mRNA: messenger RNA, sd: standard deviation).

TARTIŞMA ve SONUÇ

Pubertede temel genitöüriner sistem organları olan dişi sıçanların over ve uteruslarında, erkek sıçanların ise testislerinde önemli değişiklikler görülmektedir (17).

Yapılan bir çalışmada (28), gonadotropin seviyeleri ve morfolojik özelliklere göre prepubertal ovaryum gelişimi 4 döneme ayrılmıştır: Neonatal dönem (doğum-1. hafta), infantil dönem (1-3. haftalar), jüvenil dönem (3-5. haftalar) ve peripubertal dönem (jüvenil dönem sonrası 3 gün).

Neonatal dönemde ovaryumlar Folikül Stimulan Hormon (FSH) etkisi ile testosteronu östradiol-17β'ya metabolize ederler. Infantil dönemde, FSH ve Luteinizan Hormon (LH) etkinliği ile folliküler gelişim görülür. Jüvenil dönemde folliküller östrojen sekresyonuna başlarlar. Peripubertal dönem boyunca uterus sıvı ile doludur, folliküller büyük miktarlarda östrojen salgırlar ve gonadotropinlerdeki artış ilk ovulasyonlara neden olur. Ovaryum gelişimi gonadotropinlere, FSH, LH, Gonadotropin Salıcı Hormon (GSH), prolaktin ve büyüme hormonuna bağlıdır. FSH seviyeleri

doğumdan 12. güne kadar artar ve kademeli olarak düşer. GSH salınımları esnasında LH konsantrasyonu yavaşça artarak yüksek seviyelere ulaşır. Hipotalamustaki GSH doğumdan pubertasa kadar artar. Juvenil dönemde her 3 saatte bir prolaktin salınımı meydana gelir ve bu salınım ovaryumdan östradiol ve progesteron salınımını indükler (29).

Özellikle genital sistemde bulunan organlar gerek cinsel olgunluk süresince gerekse hamilelik gibi durumlarda farklı fizyolojik özellikler sağlamaktadır. Bu özellikleri ile cinsel organlar diğer organlara göre çok daha farklı fizyolojik özellikler taşımaktadır. Yaşa ve fizyolojik duruma bağlı olarak cinsel organların hormon veya diğer endojen peptidlere olan cevabı değişmektedir. Özellikle hamileliğin son döneminde uterusun oksitosine duyarlılığının artması, cinsel gelişim evrelerinde uterus dokusunun FSH, prostaglandin gibi endojen maddelere karşı duyarlılığının artması bu organların fizyopatolojik durumlarda çok daha farklı reseptörlerin etkili olabileceğini düşündürmektedir.

Çalışmamızda dişi sıçanlarda prepubertal (<4 hafta) ve postpubertal (>14 hafta) olarak değerlendirilen over ve uterus dokularında, prepubertal olarak pozifliği gösterilen ÜTR 2' lerinde postpubertede artış görülmüştür. Artan mRNA ekspresyonları ile birlikte immünohistokimyasal olarak artan pozitiflik gözlenmesi postpubertede ÜTR 2' de anlamlı oranda artış olduğunu göstermektedir. Artan ÜTR 2' lerinin pubertede artan östrojen ya da progesteron ile ilişkili olabileceği düşünülmüştür.

Sıçanlarda, prepuberteden puberteye geçişle birlikte testis yapısında önemli değişikliklerin görüldüğü bildirilmiş ve sıçanlarda testis gelişiminde üç ayrı evre incelenmiştir (30): 1. 0-37 günlük dönem; prepubertal dönem, 2. 42-75 günlük dönem; pubertal dönem, 3. 90-365 günlük dönem; erişkin dönem

Çalışmamızda erkek sıçanlarda prepubertal (<4 hafta) ve postpubertal (>14 hafta) olarak değerlendirilen testis dokularında, prepubertal

olarak pozifliği gösterilen ÜTR 2' lerinde postpubertede değişiklik görülmemiştir. İnsanlarda yapılan bir araştırmada da polikistik over sendromunda serum ÜT 2 ve serbest testesteron düzeyleri ve folikül sayıları arasında anlamlı bir ilişki bulunmamıştır (31). Bu konuyla ilgili ayrıntılı araştırmalar mevcut literatürde mevcut olmasa da bu bulgular çalışmamızı destekler niteliktedir.

Sonuç olarak; çalışmamızda over, uterus ve testiste ÜTR 2 varlığı ve dağılımı prepuberte ve postpubertede Real Time PCR ve immünohistokimyasal boyama ile karşılaştırılmalı olarak gösterilmiştir. Dişi sıçanlarda over ve uterus dokularında, prepubertal olarak pozifliği gösterilen ÜTR 2' lerinde postpubertede artış görülmüştür. Erkek sıçanlarda testis dokularında, prepubertal olarak pozifliği gösterilen ÜTR 2' lerinde postpubertede değişiklik görülmemiştir. Over ve uterusun fizyolojik ve endokrin dönemlerindeki değişikliklerde ve bu organların hastalıklarında ÜTR 2' ünün ayrıntılı olarak araştırılması ve puberte sonrası artışının mekanizmasının ve nedeninin daha geniş bir çalışmayla gösterilmesi gerekliliği sonucuna varılmıştır.

Çıkar Çatışması

Yazarlar, çıkar çatışması olmadığını beyan eder.

KAYNAKLAR

1. Vaudry H., Do Rego JC., Le Mevel JC., Chatenet D., Tostivint H., Fournier A., Tonon MC., Pelletier G., Conlon JM., Leprince J., 2010. Urotensin II, from fish to human. *Ann N Y Acad Sci*, 1200, 53-66.
2. Huang CY., Burns JC., Shimizu C., 2017. Urotensin 2 in Kawasaki disease pathogenesis. *Pediatr Res*, 82, 1048-1055.
3. Jumaah S., Celekli A., Sucu M., 2018. The role of human urotensin-II in patients with hypertrophic cardiomyopathy. *J Immunoassay Immunochem*, 39, 150-162.
4. McDonald J., Batuwangala M., Lambert DG.,

2007. Role of urotensin II and its receptor in health and disease. *J Anesth*, 21, 378-389.
5. Zhang X., Ye Y., Yang C., Gong H., Li Y., Zhang G., Yuan J., Zou Y., 2018. Clinical significance of increased urotensin II levels in acute myocardial infarction. *Discov Med*, 26, 7-20.
 6. Ong KL., Lam KS., Cheung BM., 2005. Urotensin II: its function in health and its role in disease. *Cardiovasc Drugs Ther*, 19, 65-75.
 7. Ames RS., Sarau HM., Chambers JK., Willette RN., Aiyar NV., Romanic AM., Loudon CS., Foley JJ., Sauermelch CF., Coatney RW., Ao Z., Disa J., Holmes SD., Stadel JM., Martin JD., Liu WS., Glover GI., Wilson S., McNulty DE., Ellis CE., Elshourbagy NA., Shabon U., Trill JJ., Hay DW., Ohlstein EH., Bergsma DJ., Douglas SA., 1999. Human urotensin-II is a potent vasoconstrictor and agonist for the orphan receptor GPR14. *Nature*, 401, 282-286.
 8. Song W., Abdel-Razik AE., Lu W., Ao Z., Johns DG., Douglas SA., Balment RJ., Ashton N., 2006. Urotensin II and renal function in the rat. *Kidney Int*, 69, 1360-1368.
 9. Watson AM., Lambert GW., Smith KJ., May CN., 2003. Urotensin II acts centrally to increase epinephrine and ACTH release and cause potent inotropic and chronotropic actions. *Hypertension*, 42, 373-379.
 10. Papadopoulos P., Bousette N., Giaid A., 2008. Urotensin-II and cardiovascular remodeling. *Peptides*, 29, 764-769.
 11. Dai HY., Kang WQ., Wang X., Yu XJ., Li ZH., Tang MX., Xu DL., Li CW., Zhang Y., Ge ZM., 2007. The involvement of transforming growth factor-beta1 secretion in urotensin II-induced collagen synthesis in neonatal cardiac fibroblasts. *Regul Pept*, 140, 88-93.
 12. Shiraiishi Y., Watanabe T., Suguro T., Nagashima M., Kato R., Hongo S., Itabe H., Miyazaki A., Hirano T., Adachi M., 2008. Chronic urotensin II infusion enhances macrophage foam cell formation and atherosclerosis in apolipoprotein E-knockout mice. *J Hypertens*, 26, 1955-1965.
 13. Guidolin D., Albertin G., Ribatti D., 2010. Urotensin-II as an angiogenic factor. *Peptides*, 31, 1219-1224.
 14. Ross B., McKendry K., Giaid A., 2010. Role of urotensin II in health and disease. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 298, 1156-1172.
 15. Olukman M., Can C., Coskunsever D., Uyanikgil Y., Cavusoglu T., Sozmen E., Duman S., Celenk FG., Ulker S., 2019. Urotensin receptor antagonist palosuran attenuates cyclosporine-a-induced nephrotoxicity in rats. *Adv Clin Exp Med*, 28, 1393-1401.
 16. Oral E., Halici Z., Cinar I., Ozcan E., Kutlu Z., 2019. Evaluation of endothelial dysfunction in bipolar affective disorders: Serum endocan and Urotensin-II Levels. *Clin Psychopharmacol Neurosci*, 17, 211-221.
 17. Farzianpour F., Rahimi FA., Shahidi SN., Ansari NS., 2016. Relationship between 'patient's rights charter' and patients' satisfaction in gynecological hospitals. *BMC Health Serv Res*, 16, 476.
 18. Hao WR., Sung LC., Chen CC., Hong HJ., Liu JC., Chen JJ., 2019. Cafestol activates nuclear factor erythroid-2 related factor 2 and inhibits Urotensin II-Induced cardiomyocyte hypertrophy. *Am J Chin Med*, 47, 337-350.
 19. Duan JS., Chen S., Sun XQ., Du J., Chen ZW., 2019. Urotensin-receptor antagonist SB-706375 protected isolated rat heart from ischaemia-reperfusion injury by attenuating myocardial necrosis via RhoA/ROCK/RIP3 signalling pathway. *Inflammopharmacology*, 27, 1309-1318.
 20. Zhang R., Chen J., Liu D., Wang Y., 2019. Urotensin II receptor antagonist reduces hepatic resistance and portal pressure through enhanced eNOS-dependent HSC vasodilatation in CCl4-induced cirrhotic rats. *Front Med*, 13, 398-408.
 21. Eyre HJ., Speight T., Glazier JD., Smith DM., Ashton N., 2019. Urotensin II in the development and progression of chronic kidney disease

- following (5/6) nephrectomy in the rat. *Exp Physiol*, 104, 421-433.
22. Matsumoto T., Watanabe S., Kobayashi S., Ando M., Taguchi K., Kobayashi T., 2017. Age-related reduction of contractile responses to Urotensin II is Seen in aortas from Wistar rats but not from type 2 diabetic Goto-Kakizaki rats. *Rejuvenation Res*, 20, 134-145.
 23. Jegou S., Cartier D., Dubessy C., Gonzalez BJ., Chatenet D., Tostivint H., Scalbert E., LePrince J., Vaudry H., Lihmann I., 2006. Localization of the urotensin II receptor in the rat central nervous system. *J Comp Neurol*, 495, 21-36.
 24. Cadirci E., Ugan RA., Dincer B., Gundogdu B., Cinar I., Akpınar E., Halici Z., 2019. Urotensin receptors as a new target for CLP induced septic lung injury in mice. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*, 392, 135-145.
 25. Sugo T., Murakami Y., Shimomura Y., Harada M., Abe M., Ishibashi Y., Kitada C., Miyajima N., Suzuki N., Mori M., Fujino M., 2003. Identification of urotensin II-related peptide as the urotensin II-immunoreactive molecule in the rat brain. *Biochem Biophys Res Commun*, 310, 860-868.
 26. Dubessy C., Cartier D., Lectez B., Bucharles C., Chartrel N., Montero-Hadjadje M., Bizet P., Chatenet D., Tostivint H., Scalbert E., LePrince J., Vaudry H., Jegou S., Lihmann I., 2008. Characterization of urotensin II, distribution of urotensin II, urotensin II-related peptide and UT receptor mRNAs in mouse: evidence of urotensin II at the neuromuscular junction. *J Neurochem*, 107, 361-374.
 27. Mülazımoğlu SB., İde T., Aslan S., 2012. Ratlarda Üreme. *J Clin Analytical Med*, 39-44.
 28. Ojeda SR., Urbanski HF., Ahmed CE., 1986. The onset of female puberty: studies in the rat. *Recent Prog Horm Res*, 42, 385-442.
 29. Advis JP., Ojeda SR., 1979. Acute and delayed effects of anterior pituitary transplants in inducing precocious puberty in the female rat. *Biol Reprod*, 20, 879-887.
 30. Yaman Ö., 2015. Prepubertal sıçan testislerinde cisplatin maruziyetinin neden olduğu seminifer tübül hasarı ve erişkin sperm parametreleri üzerine l-karnitinin koruyucu etkisi Trakya Üniversitesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Edirne.
 31. Yılmaz O., Calan O., Kume T., Calan M., 2013. The relationship of urotensin II with insulin resistance and hs-CRP in patients having PCOS. *Gynecol Endocrinol*, 29, 970-973.