

2004-420

1200



TÜBİTAK

TÜRKİYE BİLİMSEL VE TEKNİK ARAŞTIRMA KURUMU
THE SCIENTIFIC AND TECHNICAL RESEARCH COUNCIL OF TURKEY

Sağlık Bilimleri Araştırma Grubu
Health Sciences Research Committee

**VAJEN EPİTELİNDE VİTAMİN RESEPTÖR VARLIĞININ GÖSTERİLMESİ
VE ÖSTROJEN VE VİTAMİN D'NİN KORNİFİN ALFA EKSPRESYONUNU
DÜZENLEMESİ**

PROJE NO:SBAG-2620

102.S099

52309

YRD. DOÇ.DR. BAŞAK YILDIRIM

DOÇ. DR GÜLÇİN ABBAN

YRD. DOÇ.DR. BERNA ERDOĞAN

ÖNSÖZ:

Menopoz hastalarında özellikle hormonal menopoz tedavisi verilemeyen menopoz hastalarında vajinal yakınmalar (pruritus, irritasyon, dispareni ve vajinal kanama) en önemli sorunlardandır. Vajinal semptomlara yönelik yeni tedavi yaklaşımlarının geliştirilmesinde vajen epitelinin çoğalma ve farklılaşma fizyolojisinin anlaşılmasının önemi büyüktür. Pek çok hücre tipinin büyüme ve farklılaşmasının düzenlenmesinde rolü olduğu bildirilen D vitaminin hormonal menopoz tedavisi alamayan kadınlar için alternatif bir tedavi yöntemi olabileceğini düşünmekteyiz

Bu çalışma TÜBİTAK Sağlık Bilimleri Araştırma Grubunca desteklenmiştir.

**VAJEN EPİTELİNDE VİTAMİN RESEPTÖR VARLIĞININ GÖSTERİLMESİ
VE ÖSTROJEN VE VİTAMİN D'NİN KORNİFİN ALFA EKSPRESYONUNU
DÜZENLEMESİ**

İÇİNDEKİLER

Tablo ve Şekiller.....	i-ii
Öz (Abstract)	1-2
Giriş.....	3
Genel Bilgiler.....	3-4
Gereç ve Yöntem.....	4-6
Bulgular.....	6-15
Tartışma ve Sonuç	16-18
Kaynaklar.....	18-19

TABLO ve RESİMLER

Tablo-1: Diösterus, Proösterus, Österus dönemindeki ve ovariektomi sonrası vajen dokusunda mikrofotografik alanlara özgü farklı bölgelerde vitamin D reseptör tanımlanması

Tablo- 2: Vitamin D uygulaması sonrası vajen dokusunda mikrofotografik alanlara özgü farklı bölgelerde kornifin alfa ekspresyonu

Resimler:

Resim 1: Diöstrus dönemindeki sıçanlardan alınan vajen dokusunda vitamin D reseptör dağılımı. Apikal hücreler; (ac), bazal hücreler; (*), bağ dokusu lifleri; (çift ok), bağ dokusu hücreleri ;(kalın ok) İmmunoperoksidaz X 200

Resim 2: Proösterus dönemindeki sıçanlardan alınan vajen dokusunda vitamin D reseptör dağılımı. Apikal hücreler; (ac), müköz hücreler; (mü) bazal hücreler; (*), bağ dokusu lifleri; (çift ok), bağ dokusu hücreleri; (kalın ok).

İmmunoperoksidaz X 200

Resim 3: Österus dönemindeki sıçanlardan alınan vajen dokusunda vitamin D reseptör dağılımı. Kornifiye tabakası; (K), Apikal hücreler; (ac), bazal hücreler; (*), bağ dokusu lifleri; (çift ok), bağ dokusu hücreleri; (kalın ok).

İmmunoperoksidaz X 200

Resim 4: Ovariektomiden 3gün sonraki sıçan vajen dokusunda vitamin D reseptör dağılımı. Epitel; (E), bağ dokusu lifleri; (çift ok), bağ dokusu hücreleri; (kalın ok). İmmunoperoksidaz X 200

Resim 5: Ovariektomiden 3gün sonraki sıçan vajen dokusunda vitamin D reseptör dağılımı. Epitel; (E), bağ dokusu lifleri; (çift ok), bağ dokusu hücreleri; (kalın ok). İmmunoperoksidaz X 100

Resim 6: Overioktomi sonrası sıçan vajen dokusunda kornifin alfa ekspresyonu.

Epitel ;(E), bağ dokusu lifleri; (çift ok), bağ dokusu hücreleri; (kalın ok).

İmmunoperoksidaz X 200

Resim 7: Overioktomi sonrası 20 IU vitamin D uygulaması yapılan gruptan alınan sıçan vajen dokusunda kornifin alfa ekspresyonu. Epitel; (E), bağ dokusu lifleri; (çift ok), bağ dokusu hücreleri; (kalın ok).

İmmunoperoksidaz X 200

Resim 8: Overioktomi sonrası 30 IU vitamin D uygulaması yapılan gruptan alınan sıçan vajen dokusunda kornifin alfa ekspresyonu. Epitel; (E), Apikal hücreler; (ac), bazal hücreler; (*), bağ dokusu lifleri; (çift ok), bağ dokusu hücreleri; (kalın ok).

İmmunoperoksidaz X 400

Resim 9: Overioktomi sonrası 50 IU vitamin D uygulaması yapılan gruptan alınan sıçan vajen dokusunda kornifin alfa ekspresyonu. Epitel; (E), kornifiye tabaka; (K) Apikal hücreler; (ac), bazal hücreler; (*) bağ dokusu lifle (çift ok), bağ dokusu hücreleri ;(kalın ok)

İmmunoperoksidaz X 400

TABLO ve RESİMLER

Tablo-1: Diösterus, Proösterus, Österus dönemindeki ve ovariektomi sonrası vajen dokusunda mikrofotografik alanlara özgü farklı bölgelerde vitamin D reseptör tanımlanması

Tablo- 2: Vitamin D uygulaması sonrası vajen dokusunda mikrofotografik alanlara özgü farklı bölgelerde kornifin alfa ekspresyonu

Resimler:

Resim 1: Diöstrus dönemindeki sıçanlardan alınan vajen dokusunda vitamin D reseptör dağılımı. Apikal hücreler; (ac), bazal hücreler; (*), bağ dokusu lifleri; (çift ok), bağ dokusu hücreleri ;(kalın ok) İmmunoperoksidaz X 200

Resim 2: Proösterus dönemindeki sıçanlardan alınan vajen dokusunda vitamin D reseptör dağılımı. Apikal hücreler; (ac), müköz hücreler; (mü) bazal hücreler; (*), bağ dokusu lifleri; (çift ok), bağ dokusu hücreleri; (kalın ok).
İmmunoperoksidaz X 200

Resim 3: Österus dönemindeki sıçanlardan alınan vajen dokusunda vitamin D reseptör dağılımı. Kornifiye tabakası; (K), Apikal hücreler; (ac), bazal hücreler; (*), bağ dokusu lifleri; (çift ok), bağ dokusu hücreleri; (kalın ok).
İmmunoperoksidaz X 200

Resim 4: Ovariektomiden 3gün sonraki sıçan vajen dokusunda vitamin D reseptör dağılımı. Epitel; (E), bağ dokusu lifleri; (çift ok), bağ dokusu hücreleri; (kalın ok).
İmmunoperoksidaz X 200

Resim 5: Ovariektomiden 3gün sonraki sıçan vajen dokusunda vitamin D reseptör dağılımı. Epitel; (E), bağ dokusu lifleri; (çift ok), bağ dokusu hücreleri; (kalın ok).
İmmunoperoksidaz X 100

Resim 6: Overioktomi sonrası sıçan vajen dokusunda kornifin alfa ekspresyonu.

Epitel ;(E), bağ dokusu lifleri; (çift ok), bağ dokusu hücreleri; (kalın ok).

Immunoperoksidaz X 200

Resim 7: Overioktomi sonrası 20 IU vitamin D uygulaması yapılan gruptan alınan sıçan vajen dokusunda kornifin alfa ekspresyonu. Epitel; (E), bağ dokusu lifleri; (çift ok), bağ dokusu hücreleri; (kalın ok).

Immunoperoksidaz X 200

Resim 8: Overioktomi sonrası 30 IU vitamin D uygulaması yapılan gruptan alınan sıçan vajen dokusunda kornifin alfa ekspresyonu. Epitel; (E), Apikal hücreler; (ac), bazal hücreler; (*), bağ dokusu lifleri; (çift ok), bağ dokusu hücreleri; (kalın ok).

Immunoperoksidaz X 400

Resim 9: Overioktomi sonrası 50 IU vitamin D uygulaması yapılan gruptan alınan sıçan vajen dokusunda kornifin alfa ekspresyonu. Epitel; (E), kornifiye tabaka; (K) Apikal hücreler; (ac), bazal hücreler; (*) bağ dokusu lifle (çift ok), bağ dokusu hücreleri ;(kalın ok)

Immunoperoksidaz X 400

separating all the samples in two categories for 1 and 4 integrin expression: negative (absence of reaction) and positive(+,++,+++).

Results

Group I (Pregnancy of day 4)

β1 integrin

The surface epithelium in this group demonstrated strong apical membrane staining and moderate apical and basal cytoplasmic staining for β1 integrin. In addition, kollogen fibers and cells in stroma stained moderately. No β1 integrin staining was found in glandular cells. In this group, surface epithelial cells and stromal cells showed a stronger β1 staining as compared to β4 staining. Endothelial cells of blood vessels were negative (Fig: 1).

β4 integrin

Moderate staining was observed on apical and basal cytoplasm of surface epithelium in group I animals. A slightly stronger staining was detected on apical membrane of surface epithelium whereas no staining was found for β4 integrin on basal membrane. No β1 integrin staining was found in glandular cells but interestingly a linear staining decorated on their apical membrane. Poor staining was determined in stromal cells and fibers. Endothelial cells of blood vessels were negative (Fig: 2).

Group II (Pregnancy of day 6)

β4Integrin

Surface epithelial cells and glandular cells displayed a weak membraneus and diffused cytoplasmic staining for β4 integrin. Strong staining was observed in fibers of stroma (Fig: 3).

β1 Integrin

Positive staining for β1, which gradually changes from weak to moderate was observed on apical part of surface epithelium. It was interesting to observe that some cells had no immunoreaction on surface epithelium whereas the others had moderate. Stromal fibers showed a weak staining immunoreactivity. Moderate immunoreactivity was observed on endothelium of blood vessels.

ÖZET

Giriş ve Amaç

Vitamin D3 (1-25-dihidroksi vitamin D3 [1,25 (OH)₂ D₃]) pek çok hücre tipinde DNA sentezini artırarak hücre çoğalmasını ve farklılaşmasını sağlamaktadır. Vitamin D3 steroid-tiroid hormon reseptör süperailisinin bir üyesi olup intrasellüler reseptöre bağlanarak işlev görür. Vitamin D nin hücre çoğalması ve farklılaşmasında östrojene benzer etkiler gösterir. Lokal veya sistemik vitamin D kullanımı hormon tedavisi alamayan menopoz hastaları için yeni bir çözüm olabilir. Bu çalışmada iki amacımız vardı. Öncelikli amacımız österus siklus süresince ve overioktomi sonrası vajen epitelinde vitamin D reseptör dağılımının ve yerleşiminin belirlenmesi. Yassı epitel farklılaşması çok safhali bir işlem olup her safha ayrı bir gen ile karakterizedir (2,3). Kornifin alfa geni yassı epitel farklılaşmasını belirleyen genlerin en bilinenidir. Çalışmamızın ikinci amacı overioktomize farelere çeşitli dozlarda vitamin D uygulaması yaptıktan sonra vajen epitelinde kornifin alfa ekspresyonunun dağılımını ve yerleşimini belirlemektir.

Gereç ve Yöntem

Çalışmamızın ilk kısmında elli sıçan diösetrus, proösterus ve österus ve iki overioktomize grubu olacak şekilde 5 gruba ayrıldı. Denekler servikal dislokasyon yöntemiyle öldürülerek vajenleri alındı. Vajen dokularına vitamin D reseptörünü belirlemek amacıyla immunohistokimyasal yöntem uygulandı. İkinci kısımda kırk sıçana overioktomi yapıldı. Bunlar 4 gruba ayrıldı. İlk grubu kontrol olarak kullanıldı. İkinci gruba 20IU/kg, 3. gruba 30IU/kg vitamin D 15 gün süreyle intramuskular olarak enjekte edildi. Dördüncü grup sıçana vitamin D intramuskular olarak tek doz halinde enjekte edildi. Vitamin D3 uygulaması yapıldıktan 14 gün sonra hayvanlar öldürülerek vajenleri çıkarıldı ve immunohistokimyasal işlem için hazırlandı.

Bulgular

Tüm österus sikluslarında Vitamin D reseptörü vajen epitelinin suprabazal ve bazal tabakasında tanımlandı. Diösetrus ve österus da VDR apikal hücrelerde pozitif olmasına karşın proösterusda negatifti. Vitamin D reseptörü overioktomize sıçanların vajen epitelinde negatif reaksiyon gösterdi. İkinci basamak çalışmamızda iki-üç sıralı olan overioktomili vajen epitelinin vitamin D enjekte edilen grupta çok sıralı hale geldiği belirlendi aynı zamanda bu grupta kornifin α ekspresyonu bütün gruplarda pozitif reaksiyon gösterdi. Overioktomili grupta ise vajen epiteli kornifin α ekspresyonu açısından negatifti.

Sonuç:

Vitamin D reseptörü siklus süresince pozitif reaksiyon gösterirken, overioktomi sonrasında negatifti.

Sonuçlarımıza göre Vitamin D çok katlı epitel farklılaşmasında etkili olan kornifin alfa ekspresyonunun düzenlenmesinde rol oynamaktadır.

ABSTRACT

Intraduction:

Vitamin D, via its active metabolite 1, 25-dihydroxyvitamin D₃, plays a critical part in regulation of growth and differentiation of tissues lining keratinizing stratified squamous epithelium. The biological effects of 1, 25-Dihydroxyvitamin D₃ activity are thought to be mediated by an intracellular receptor 1,25- dihydroxyvitamin D which belongs to the steroid thyroid nuclear receptor super family. Previously aim of this study was to determine the distribution of VDR in rat vaginal epithelium during estrus cycle and in ovariectomized rats. Squamous differentiation is a multi-stage process in which each step is characterized by expression of specific genes including those encoding various keratins and proteins involved in formation of cross-linked envelope(3,6). Cornifin α or human small proline-rich proteins (SPRR's) was used as across-linked protein and analyze the regulation of the squamous specific gene, cornifin α by vitamin D in vaginal epithelium by immunohistochemistry which has not been previously reported.

Materials and Methods:

The experiment was performed in two groups of rat: The expression of the VDR was examined in the first group during the estrous cycle and in the second group after ovariectomy. Vaginas were removed and processed for immunocytochemistry for first aim. Forty mature inbred female rats were ovariectomized under anesthesia. ovariectomized animals divided four group. Group I were used as a control. The second group, included 10 rats, were injected intramuscularly with 20 IU/kg of vitamin D₃ (GroupII), 10 rats (GroupIII) were injected intramuscularly with 30 IU/kg of vitamin D₃ for fifteen days. Ten rats(GroupIV) were injected intramuscularly single with 50 IU./kg of vitamin D₃ as a single dose. Animals were killed, vaginas removed and processed for immunohistochemical analysis for second aim.

Results:

In cyclic rats, VDR was detected in basal and suprabasal cells during all of the cycle periods. In apical cells VDR was positive in diestrus and estrus while negative in proestrous. In ovariectomized rats, VDR was not detected in all layers of vaginal epithelium. In our study localization of the VDR antigen was predominantly cytoplasmic. Only nuclear staining was seen on early estrous. the vaginal epithelium consist of a stratified, nonkeratinizing epithelium which change into a highly- stratified keratinizing epithelium upon treatment with vitamin D₃. Cornifin α expression was positive in group II,III,IV. In control rats, cornifin α was not detected in any layers of vaginal epithelium.

Conclusion:

.In vaginal epithelium the presence of VDR was shown by using immunohistochemical techniques. During the estrous cycle VDR has an important role in proliferation and differentiation of vaginal squamous epithelium similar to the effects of estrogen. Our results demonstrate that vitamin D₃ play key roles in regulation of differentiation and cornifin α expression in vaginal epithelium.

GİRİŞ

Menopoz hastalarında özellikle hormonal menopoz tedavisi verilemeyen menopoz hastalarında vajinal yakınmalar (pruritus, irritasyon, dispareni ve vajinal kanama) en önemli sorunlardandır. Vajinal semptomlara yönelik yeni tedavi yaklaşımlarının geliştirilmesinde vajen epitelinin çoğalma ve farklılaşma fizyolojisinin anlaşılmasının önemi büyüktür. D vitamininin de östrojene benzer şekilde pek çok hücre tipinin büyüme ve farklılaşmasının düzenlenmesinde rolü olduğu bildirilmektedir (1). Vitamin D hücrelerde reseptörlere bağlanarak işlev görür (1). Çeşitli dokularda varlığı gösterilen Vitamin D reseptörlerinin (VDR) vajen epitelindeki varlığı ve yerleşiminin bilinmesi hormonal tedavi alamayan hastalar için D vitamini uygulamasının alternatif bir yöntem olarak geliştirilebileceğini düşünmekteyiz. Bu nedenle bu çalışmadaki öncelikle vajen epitelinde österus siklusu süresince ve ovariectomi sonrasında vitamin D reseptörlerini (VDR) araştırdık. İkinci amacımız overioctomi sonrası vitamin D uygulanan sıçanlarda çok katlı yassı epitel farklılaşmasının incelemektir. Çok katlı epitel farklılaşması çok safhalı bir prosesdir ve her bir basamakta farklı bir gen ekspresyonu ile karakterizedir (2,3). Kornifin alfa çok katlı yassı epiteli düzenleyici proteinlerden biridir. Overioctomili hayvanlarda vajen epitelinde kornifin alfa proteini tesbit edilememiştir (2,3). Bu çalışmada vitamin D uygulaması yapılan hayvanların vajen epitelinde çok katlı yassı epitel farklılaşmasını belirlemek için kornifin alfa ekspresyonu immunohistokimyasal olarak incelendi.

GENEL BİLGİLER

Vajen epitelinin çoğalması ve hücrelerin farklılaşması kompleks bir olaydır. Östrojen, A vitamini, (biyolojik formları retinal, retinoik asit ve retinoidler) vajen epitelinin çoğalmasını ve farklılaşmasını etkiler. Östrojen vajinada yassı epitel farklılaşmasını uyarır ve keratinizasyonun artırır. Vitamin A ve retinoik asit östrojenden farklı olarak östrojenin uyardığı terminal farklılaşmayı baskılayarak müköz sekresyon yapan hücre sayısını artırır. A vitamini eksiliği kalıcı keratinizasyona neden olur (4,5).

Epidermis keratinizasyonunda retinoik asid, retinoid ve vitamin A'nın yanı sıra vitamin D' nin de rolü olduğu bildirilmektedir (1).

Retinoidlerin bazal keratinositlerin farklanmasını baskılayıcı, normal deride keratinositlerin çoğalmasını arttırıcı etkilerine karşılık, vitamin D farklılaşmış keratinosit çoğalmasını azaltmakta ve östrojenin etkisine benzer şekilde keratinosit farklanmasını indüklemektedir. Pek çok hücre tipinin büyüme ve farklılaşmasının düzenlenmesinde rolü olduğu, bu arada epidermis keratinizasyonunda da rol aldığı bildirilen vitamin D₃, steroid – tiroid hormon reseptör süper ailesinin bir üyesi olan bir intrasellüler reseptöre (vitamin D reseptör= VDR) bağlanır. Reseptörleriyle birlikte vitamin D₃, genlerin vitamin D₃'e yanıt veren elementlerine bağlanır ve bu genlerin transkripsiyonunu pozitif veya negatif olarak etkiler (1,4).

Karaciğer, böbrek, tiroid, adrenal, gastrointestinal yol, meme ve deriyi de içeren pek çok normal epitelyal dokuda vitamin D reseptörü saptanmıştır (5). Aktif vitamin D₃'ün sıçanlarda, üreme sistemde kritik rol oynadığı bildirilmiştir (6). Dişi sıçanların üreme sisteminde vitamin D reseptörü yalnızca ovaryumlar ve servikal hücrelerde çalışmış ve ovaryum folliküllerde (spesifik olarak granülosa hücrelerinde), folliküler teka hücrelerinde ve ovarian stroma ve germinal epitelinde, normal servikal dokunun alt servikal tabakalarında özellikle bazal hücre tabakasında saptanmıştır (5-7).

GEREÇ VE YÖNTEM

Araştırmada ergin 50 dişi sıçanlar kullanıldı. Haftada 5 gün alınan vajinal smearların sitolojik incelenmesiyle östrus siklusu monitorize edildi ve yalnızca 2 günü diöstrus (diösterus 1 ve 2), 1 günü proöstrus ve 1 günü östrus olmak üzere en az 2 düzenli siklusu gözlenen sıçanlar çalışmaya alındı. Sıçanlar 5 gruba ayrıldı. 1. grup diösterus dönemindeki, 2. grup proösterus dönemindeki, 3. grup österus dönemindeki, 4. grup ve 5. grup ovariektomi yapılan sıçanları içermektedir.

Sıçanların ilk 3 grubu servikal dislokasyon yöntemiyle öldürüldü ve vajen dokuları çıkarıldı. Ovariektomi yapılan sıçanlardan 10 tanesi ovariektomi sonrası 3. günde (4. grup) diğer 10 tanesi ise 5. günde (5. grup) aynı yöntemle öldürüldü ve vajenleri alındı.

Alınan vajen dokuları %10 luk nötral formalinde 72 saat tesbit edildi. Daha sonra parafine gömülen örneklerden 4-5µm kalınlığında kesitler polilizinli camlara alındı. Kesitlere rutin ışık mikroskop takip yöntemi uygulandı. Vajen epitelinde vitamin D reseptörlerini

belirlemek için avidin- biotin immunohistokimyasal yöntemi uygulandı. Primer antikor Santa Cruz Biotechnology' den yöntem kiti ise Zymed Laboratories INC' den elde edildi.

İmmunohistokimyasal Boyama Yöntemi

Endojen peroksidaz aktiviteyi bloke etmek için dokular 10 dakika %3 lük hidrojen peroksitte tutuldu. Antijenik belirtilerin maskelenmemesi için saponin ile 15 dakika inkübe edildi.

İmmüoglobulinlerin özgül olmayan bağlamalarını engellemek için bloking serumda 15 dakika bekletildi. Kesitler VDR primer antikorda (Rabbit poliklonal antikor Lot#1039, Santa cruz Biotechnology) +4°C de inkübe edildi. Kesitler 15 dakika sekonder antikorda (Biotinlated antikor Part# 20570999, Zymed Laboratories INC) bekletildi. PBS yıkamasından sonra avidin-biotin-compleks-peroksidaz uygulandı. Kromojen olarak Diaminobenzidine (DAB, Lot#10163354) kullanıldı. Daha sonra zıt boyama için hematoksilende 1dakika süreyle bekletilen örnekler dereceli alkol serilerinden ve ksilenden geçirildi ve ışık mikroskobunda incelenerek resimlendi. İmmun aktivitenin değerlendirilebilmesi için aşağıdaki skala kullanıldı.

- (-) : Boyanma yok
- (+/-): Çok zayıf boyanma
- +
- ++ : Orta boyanma
- +++ : Kuvvetli boyanma

Araştırmamızın ikinci kısmında overektomi yapılan 40 sıçan her grupta 10 denek olacak şekilde 4 gruba ayrıldı. Overioktomi yapılan 3 grup sıçana ovarioktomiden 1 hafta sonra çeşitli dozlarda vitamin D uygulaması yapıldı. Grup 1 kontrol olarak kullanıldı. Vitamin D₃, 2. gruba 20 i.u./kg, 3. gruba 30 i.u./kg, 15 gün süreyle intramuskular olarak enjekte edildi. Dördüncü Grupa 50 i.u./kg vitamin D₃, intramuskuler olarak tek doz halinde verildi. Vitamin D₃ uygulaması yapıldıktan 10 gün sonra bütün sıçanlar kesildi ve vajenleri çıkarılarak formaldehitte tesbit edildi. Alışlagelmiş ışık mikroskop takip yöntemi uygulandıktan sonra kesitler lizimli camlara alınarak kornifin alfa ekspresyonu için immunohistokimyasal yöntem uygulandı.

Immunohistokimyasal Yöntem

Endojen peroksidaz aktiviteyi bloke etmek için dokular 10 dakika %3 lük hidrojen peroksitte tutuldu. Kesitlerde 1 saat bloking solusyonda oda ısısında inkübe edildikten sonra 1/1500 kornifin alfa antikorunda (SQ37A-Ab- Jetten lab) 1 saat bekletildi. Sekonder antikorda 1saat bekletilen kesitlere avidin-biotin-compleks-peroksidaz uygulandı. Kromojen olarak Diaminobenzidine (DAB, Lot#10163354) kullanıldı. Daha sonra zıt boyama için hematoksilende 1dakika süreyle bekletilen örnekler dereceli alkol serilerinden ve ksilenden geçirildi ve ışık mikroskobunda incelenerek resimlendi. İmmun aktivitenin değerlendirilebilmesi için aşağıdaki skala kullanıldı.

(-) : Boyanma yok

(+/-): Çok zayıf boyanma

(+) : Zayıf boyanma

(++) : Orta boyanma

(+++): Kuvvetli boyanma

BULGULAR

Diösterus dönemindeki vajinal epitel tabakası oldukça ince olup 3-5 sıra şeklindeydi. Diösterus sonunda epitel çoğalmaya ve üst sıradakiler müköz karakter almaya başlamıştı. Proösterus döneminde kornifiye keratinize tabaka müköz hücre tabakasının hemen altında görüldü ve geç proösterus döneminde tüm müköz hücreler vajinal lümenine döküldü. österus döneminde epitel tabaka oldukça kalındı.

Diösterus döneminde vitamin D reseptörleri tüm epitel hücrelerinde pozitif reaksiyon verdi. En üst sıradaki hücrelerin alt tabakadaki hücelere göre daha koyu boyandığı dikkati çekti. Bazal ve supra bazal hücrelerde boyanma apikal hücelere karşın daha zayıf idi. Bazal membrandaki tutulumda oldukça zayıftı. Boyanma sitoplazmik olup çekirdek boyanması belirlenmedi. Bu grupta L. propriadaki kollajen fibriller (bağ dokusu lifleri) ve stromal hücreler zayıf boyanma gösterdi.(Resim 1)

Proösterus döneminde epitel diösterus dönemine göre daha kalınlaşmıştı ve en üst sırada müköz hücre sırası dikkati çekiyordu. Bu dönemde suprabazal hücreler kuvvetli reaksiyon gösterirken üst bölgedeki müköz hücrelerde tutulumun negatif ya da zayıf pozitif olması oldukça ilginçti. Bazal hücrelerde boyanma ise orta derecede idi. Bu gruptaki hücrelerde de

boyanma yaygın ve granüler şekildedeydi ve çekirdek boyanmamıştı. Bazal membrandaki reaksiyon zayıftı ancak diösterus grubuna göre daha fazla idi. Bu grupta da epitel altı bağ dokusu liflerinde pozitif boyanma izlendi. Ancak liflerdeki boyanma diösterus grubuna karşın biraz daha yoğundu. Stromal hücrelerde de pozitif reaksiyon vardı (Resim 2).

Östreus dönemindeki vajinal epitelde boyanma oldukça yoğun idi. Epitelde hücre sırası oldukça fazla olup en üst yüzeyde ince kornifiye tabaka dikkati çekti. Supra bazal ve apikal hücrelerin kuvvetli boyandığı belirlendi. Bazal hücreler ise üst bölgelere göre daha az reaksiyon göstermişti bununla birlikte boyanma yine kuvvetli idi. Bazal membranın da kuvvetli pozitif immunboyanma gösterdiği gözlemlendi. Kollajen fibrillerde reaksiyon bu grupta da pozitif idi. Apikal bölgedeki hücrelerde çekirdek boyanması dikkat çekiciydi. (Resim 3).

Ovariektomi yapılan sıçanlarda (Grup 4 ve grup 5) ise VDR reaksiyonu negatifti. Her iki grupta da epitel katı oldukça az idi. Bazı alanlarda iki sıra bazı alanlarda üç sıra izlenen epitelin bazı bölgelerde tek kata indiği saptandı. Epitel hücrelerin normal şekillerini kaybettiği dikkati çekti. Bağ dokusu lifleri bu gruplarda zayıf pozitif olup yine çekirdek boyanması yoktu (Resim 4,5).

Bazal

Hücreler

Bazal

membranı

Bağ Dokusu

Lifler

Stromal

hücreler

Epitel hücre

çekirdekleri

Wiktör

hücreler

Tablo-1- Diösterus, Proösterus, Estörus dönemindeki ve ovariektomi sonrası vajan dokusunda mikrofotografik alanlara özgü farklı bölgelerde vitamin D reseptör tanımlanması

	Grup I (Diösteru Dönemi)	Grup II (Proösterus Dönemi)	Grup III (Österus Dönemi)	Grup IV (Ovariektomi 3.Gün)	GrupV (Ovariektomi 5. Gün)
Kornifiye Tabaka	-	-	-	-	-
Apikal hücreler	+++	-	+++	-	-
Suprabazal hücreler	++	+++	+++	-	-
Bazal Hücreler	++	+++	+++	-	-
Bazal membran	-/+	++	+++	-	-
Bağ Dokusu Lifleri	+	++	++	++	+
Stromal hücreler	+	+	+	+	+
Epitel hücre çekirdekleri	-	-	++	-	-
Müköz hücreler		-/+			

Overioktomi yapıldıktan sonra vitamin D uygulaması yapılmayan grup 1 epitel hücrelerinin bazı alanlarda 2-3 sıralı bazı alanlardada ise tek sıralı olduğu belirlendi. Hücreler yuvarlak veya oval şekilli idi. Kornifin alfa ekspresyonunun epitel hücrelerinde negatif olmasına karşın bazal laminanın pozitif reaksiyon göstermesi ilginçti (Resim 6). Overioktomi sonrası 15 gün süreyle 20 i.u./kg vitamin D uygulaması yapılan grup 2 de ise epitel 5 sıralı hale gelmişti ancak hücre şekilleri yuvarlak ve olgun epitel hücre şeklinden oldukça farklıydı. Bununla birlikte epitel hücrelerinin yoğun kornifin alfa reaksiyonu gösterdiği özellikle apikal hücrelerdeki reaksiyonun bazal kısımlara karşın daha pozitif olduğu belirlendi. Ayrıca çekirdeklerdeki pozitif reaksiyonda dikkat çekiciydi (Resim 7). Overioktomi sonrası 15 gün süreyle 30 i.u./kg vitamin D uygulaması yapılan grup3'te epitel hücre sırasının ve hücre şekillerinin hemen hemen normale yakın izlendiği belirlendi. Normal epitelde olduğu gibi bazalde yer alan hücrelerin yüksek boylu olduğu, bunların apikale doğru iyice yassılaştığı ve en üst sırada çok ince bir şekilde kornifiye tabakasının oluştuğu dikkati çekti. Kornifin alfa ekspresyonu epitel hücrelerinde pozitif ancak apikal hücrelerdeki reaksiyonun bazaldekilere oranla oldukça yoğun olması oldukça dikkat çekiciydi. Boyanma sitoplazmik olup yaygın şekildeydi. Bazalde ve supra bazalde yer alan hücrelerde çekirdek boyanması negatif iken apikaldeki hücrelerde sitoplazmayla birlikte çekirdeklerde de yoğun bir boyanma izlendi (Resim 8).

Overioktomi sonrası tek doz olarak 50 i.u./kg vitamin D uygulanan grup 4'te epitel tabakasının tam anlamıyla oluştuğu belirlendi. Grup 3 epitel tabakasında izlenen ince kornifiye tabakasının bu grupta oldukça kalın olduğu dikkati çekti. Grup 4 'te bazalden apikale tüm hücrelerde ve hücre çekirdeklerinde kornifiye alfa reaksiyonu kuvvetli pozitif (Resim 9).

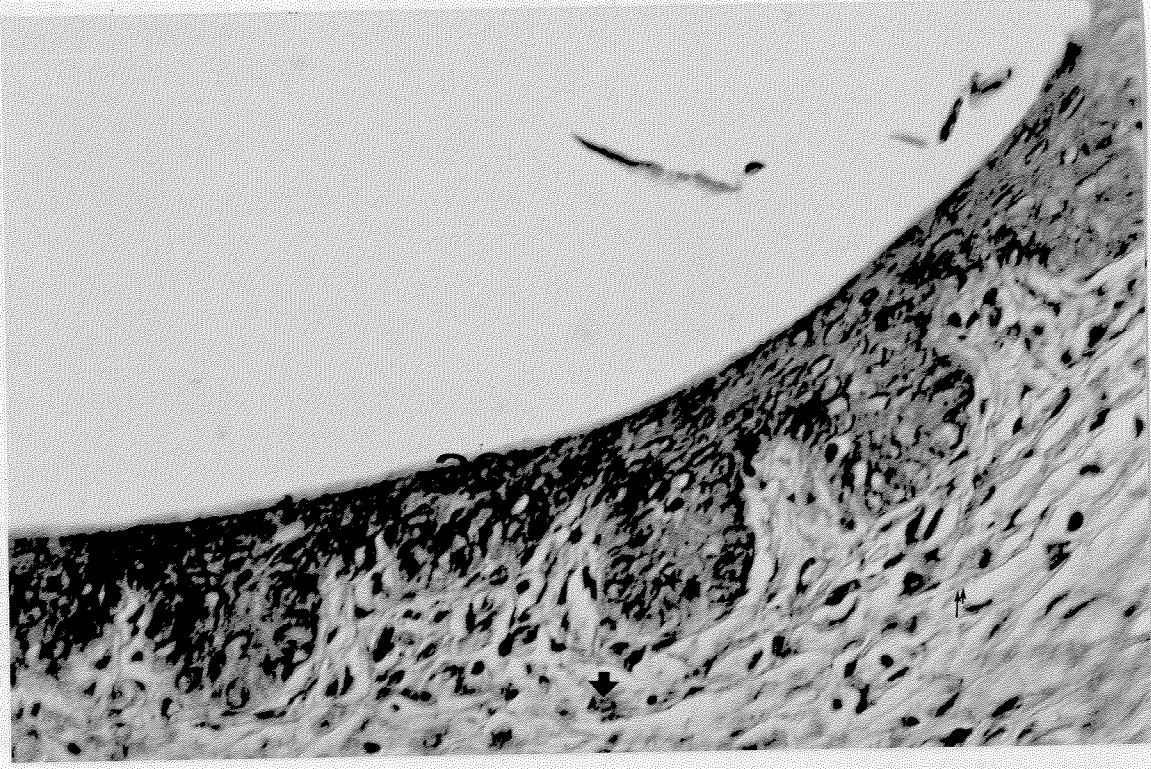
hücre

*Apikal hücrelerde kornifiye pozitif, bazal ve supra bazal hücrelerde negatif

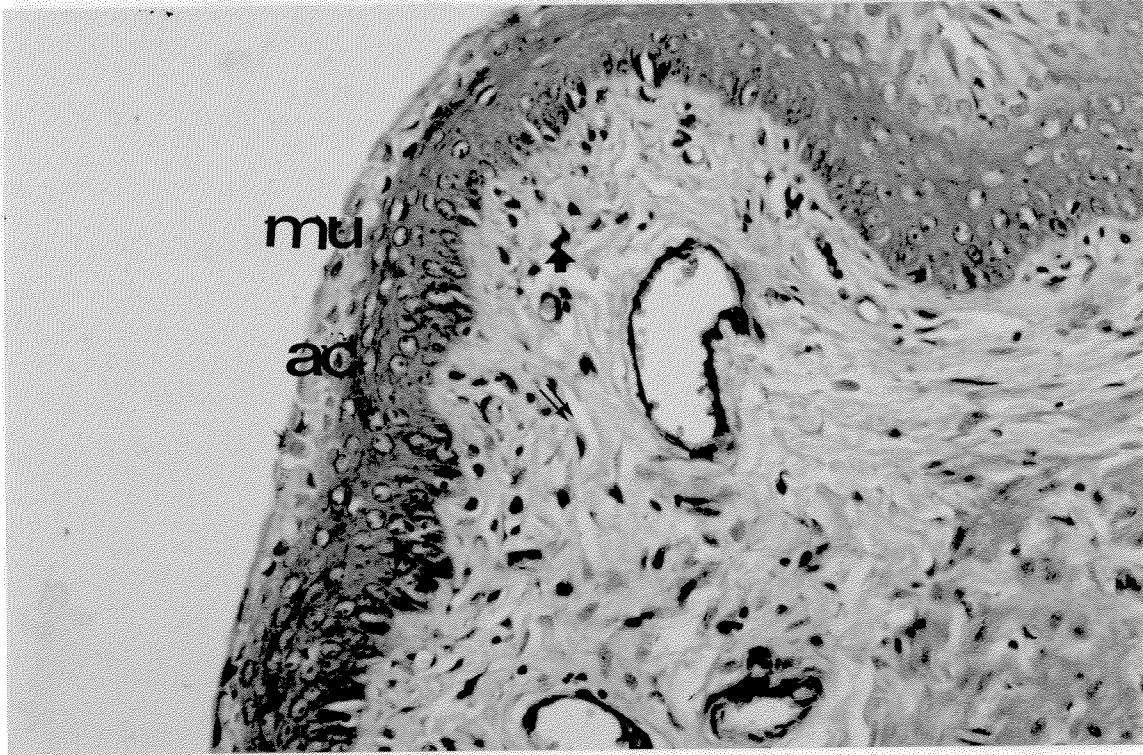
Tablo-2- Vitamin D uygulaması sonrası vajen dokusunda mikrofotografik alanlara özgü farklı bölgelerde kornifin alfa ekspresyonu

	Grup I Kontrol	Grup II 20 i.u./kg Vitamin D uygulaması	Grup III 30 i.u./kg Vitamin D uygulaması	Grup IV 50 i.u./kg Vitamin D uygulaması
Kornifiye Tabaka	-	-	-	-
Apikal hücreler	-	+++	+++	+++
Suprabazal hücreler	-	++	++	+++
Bazal Hücreler	-	++	++	+++
Bazal membran	++	++	++	+++
Bağ Dokusu Lifleri	+	+	+	+
Stromal hücreler	+	+	+	+
Epitel hücre çekirdekleri	-	++	+++*	+++

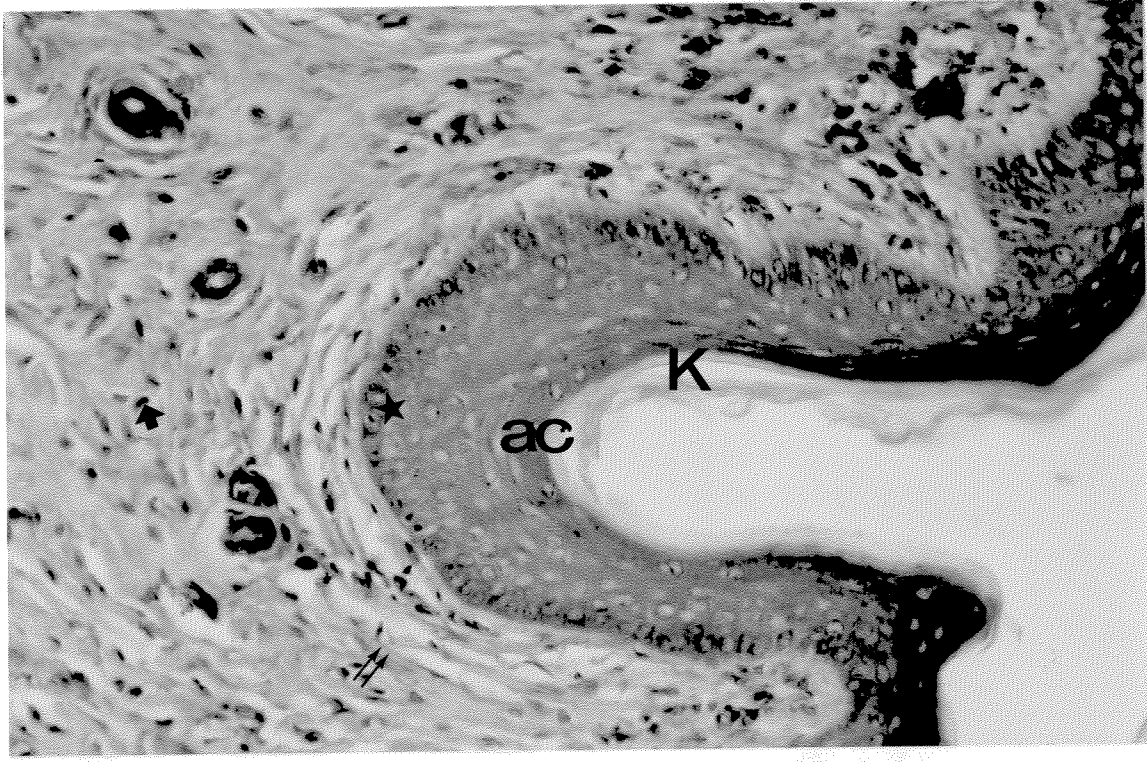
*Apikal hücrelerde kuvvetli pozitif, bazal ve supra bazal hücrelerde negatif



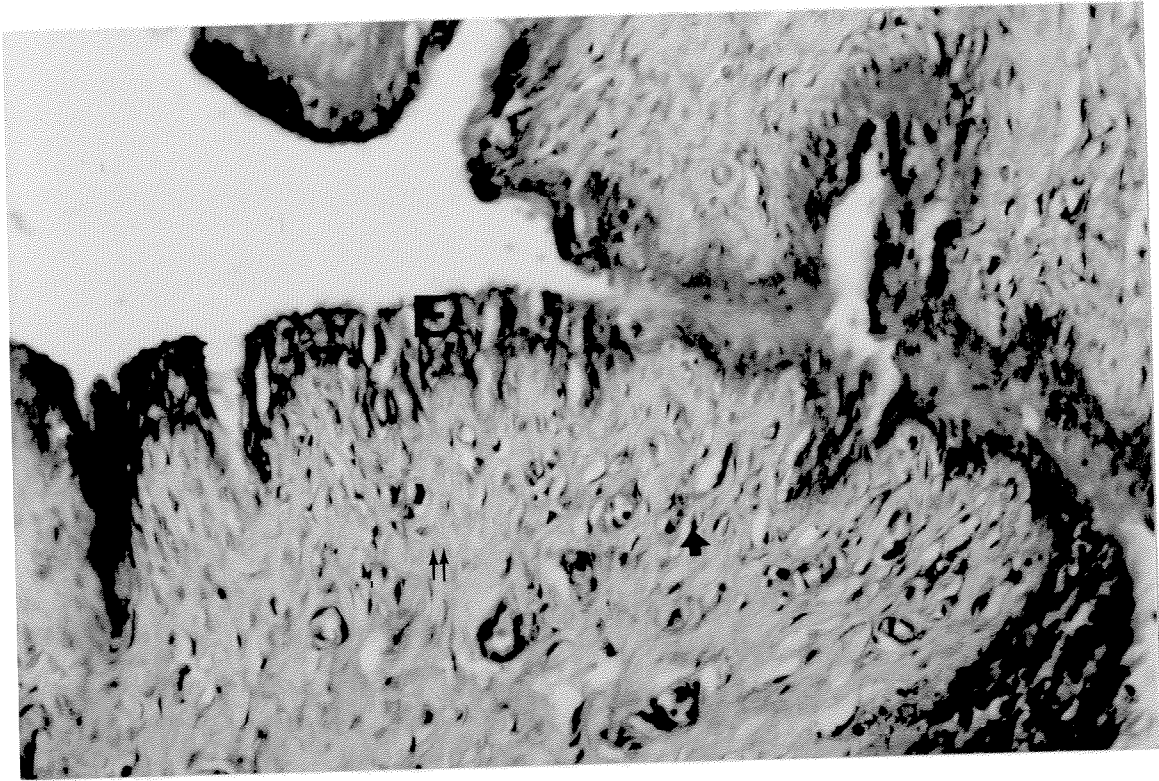
Resim 1: Diösterus dönemindeki sıçanlardan alınan vajen dokusunda vitamin D reseptör dağılımı. Apikal hücreler; (ac), bazal hücreler; (*), bağ dokusu lifleri; (çift ok), bağ dokusu hücreleri ;(kalın ok) İmmunoperoksidaz X 200



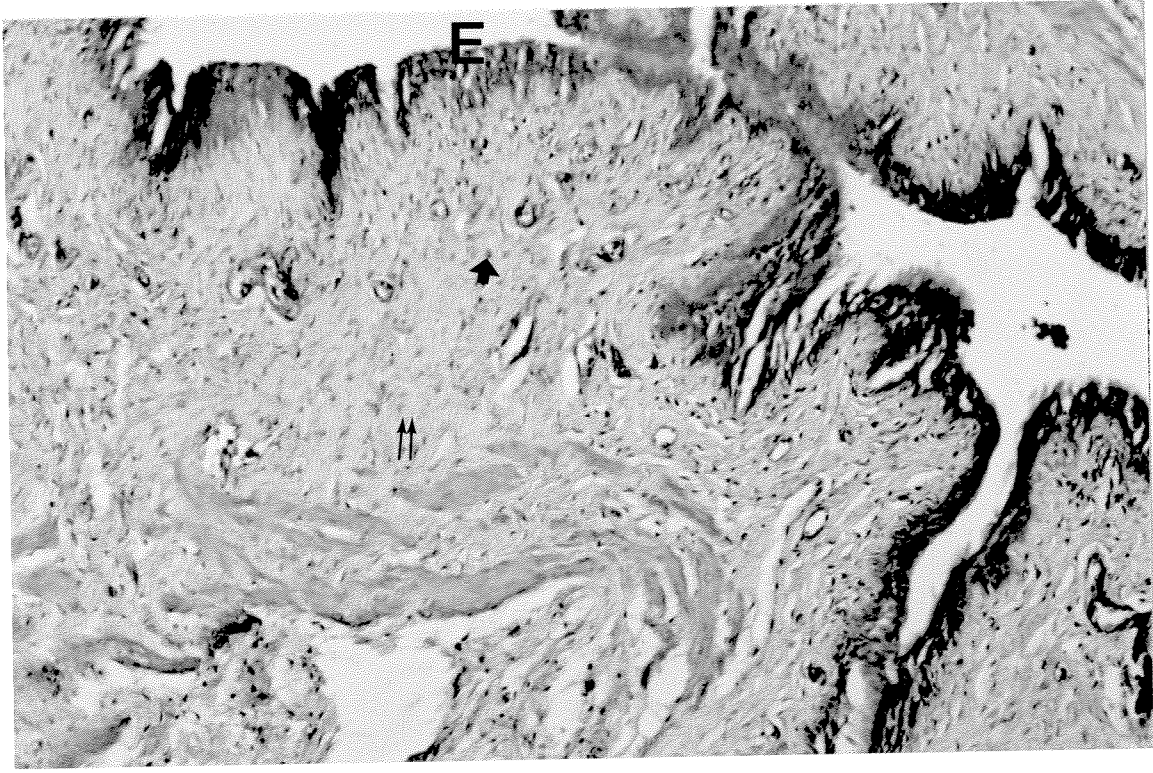
Resim 2: Proösterus dönemindeki sıçanlardan alınan vajen dokusunda vitamin D reseptör dağılımı. Apikal hücreler; (ac), müköz hücreler; (mü) bazal hücreler; (*), bağ dokusu lifleri; (çift ok), bağ dokusu hücreleri; (kalın ok). İmmunoperoksidaz X 200



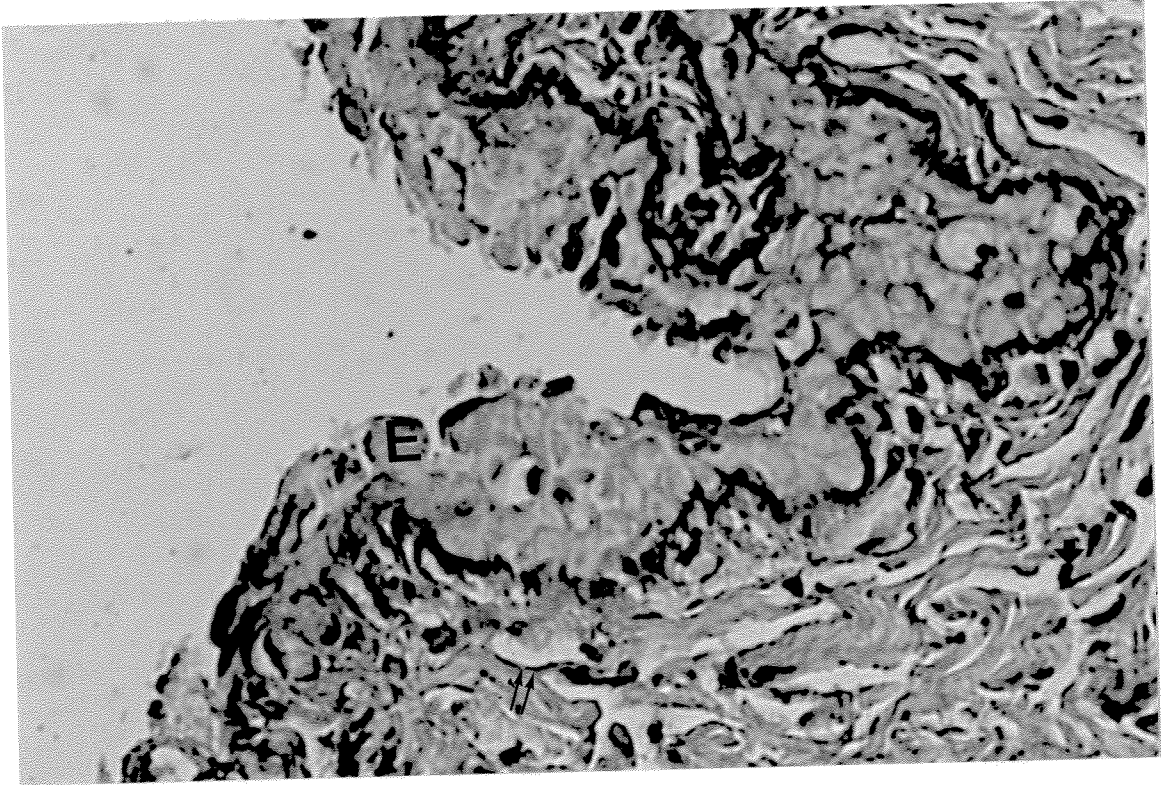
Resim 3: Österus dönemindeki sıçanlardan alınan vajen dokusunda vitamin D reseptör dağılımı. Kornifiye tabakası; (K), Apikal hücreler; (ac), bazal hücreler; (*), bağ dokusu lifleri; (çift ok), bağ dokusu hücreleri; (kalın ok).
İmmunoperoksidaz X 200



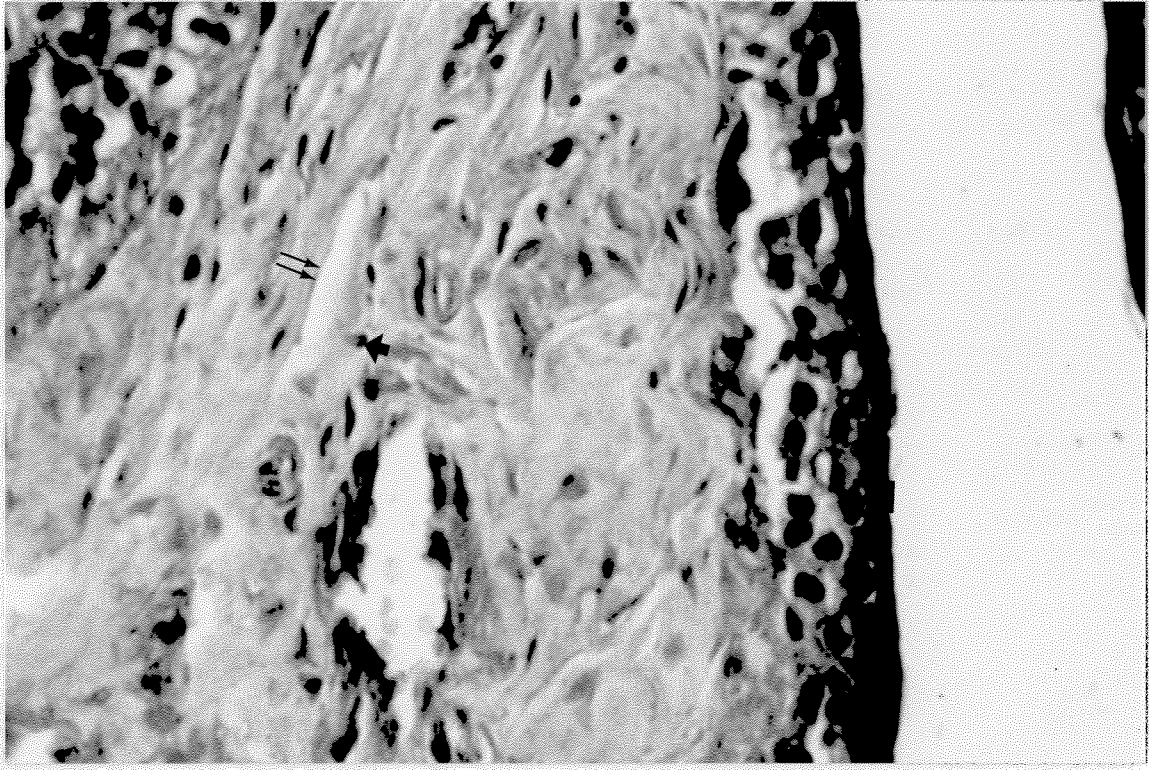
Resim 4: Ovariectomiden 3gün sonraki sıçan vajen dokusunda vitamin D reseptör dağılımı. Epitel; (E), bağ dokusu lifleri; (çift ok), bağ dokusu hücreleri; (kalın ok).
İmmunoperoksidaz X 200



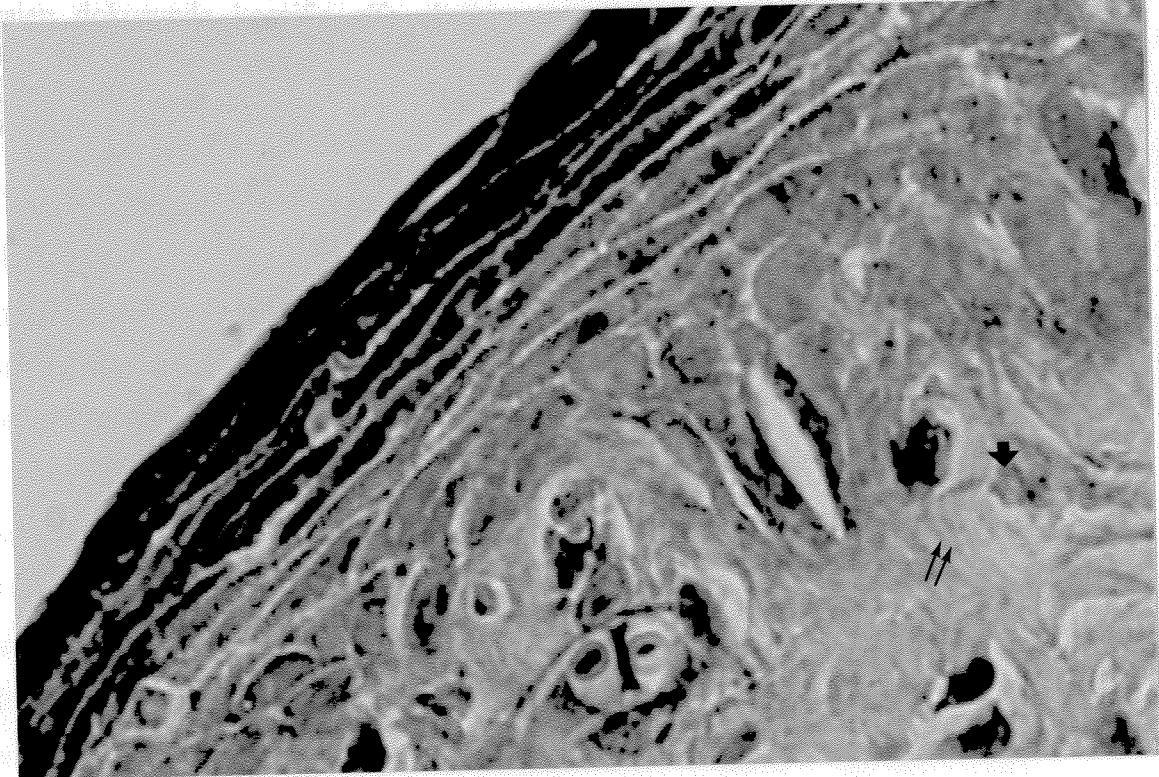
Resim 5: Ovariectomiden 3gün sonraki sıçan vajen dokusunda vitamin D reseptör dağılımı. Epitel; (E), bağ dokusu lifleri; (çift ok), bağ dokusu hücreleri; (kalın ok). İmmunoperoksidaz X 100



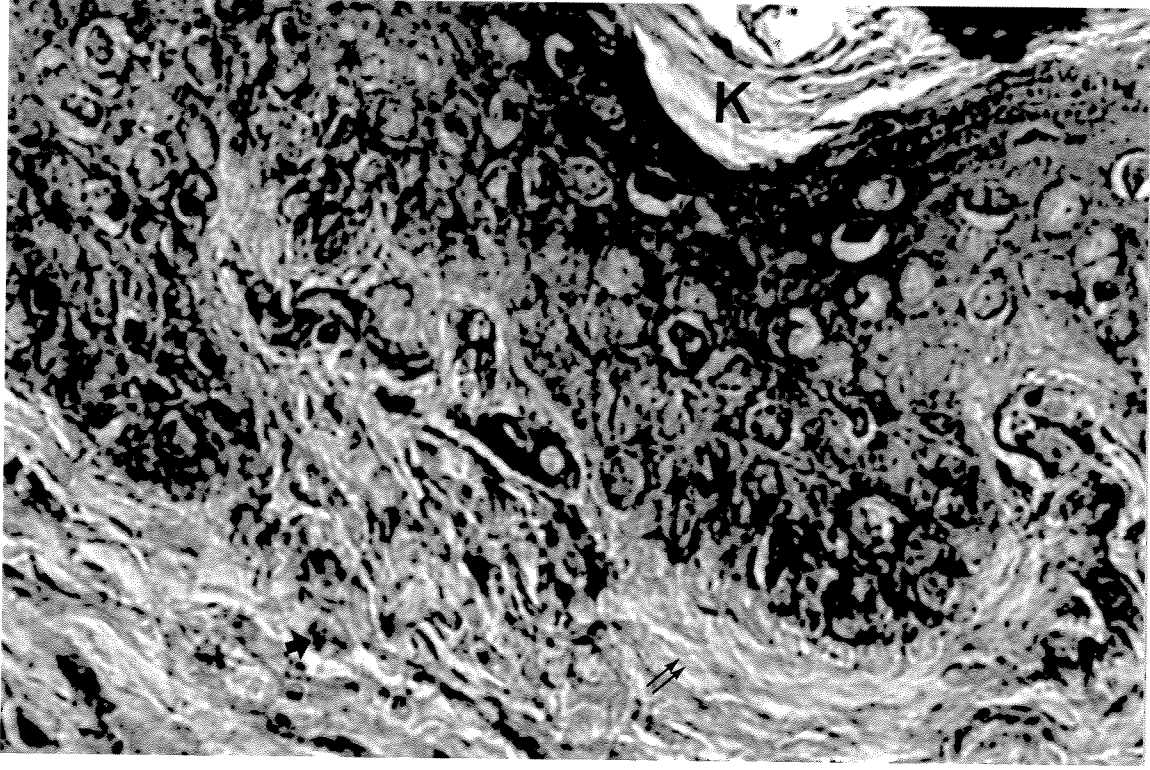
Resim 6: Overioktomi sonrası sıçan vajen dokusunda kornifin alfa ekspresyonu. Epitel ;(E), bağ dokusu lifleri; (çift ok), bağ dokusu hücreleri; (kalın ok). İmmunoperoksidaz X 200



Resim 7: Overioktomi sonrası 20 IU vitamin D uygulaması yapılan gruptan alınan sıçan vajen dokusunda kornifin alfa ekspresyonu. Epitel; (E), bağ dokusu lifleri; (çift ok), bağ dokusu hücreleri; (kalın ok).
İmmunoperoksidaz X 200



Resim 8: Overioktomi sonrası 30 IU vitamin D uygulaması yapılan gruptan alınan sıçan vajen dokusunda kornifin alfa ekspresyonu. Epitel; (E), Apikal hücreler; (ac), bazal hücreler; (*), bağ dokusu lifleri; (çift ok), bağ dokusu hücreleri; (kalın ok).
İmmunoperoksidaz X 400



Resim 9: Overioktomi sonrası 50 IU vitamin D uygulaması yapılan gruptan alınan sıçan vajen dokusunda kornifin alfa ekspresyonu. Epitel; (E), kornifiye tabaka; (K) Apikal hücreler, (ac), bazal hücreler; (*) bağ dokusu lifleri; (çift ok), bağ dokusu hücreleri ;(kalın ok)
İmmunoperoksidaz X 400

vajen epitelinde pozitif reaksiyon gösteren hücre reaksiyonun öncesi ve yavaşlığı uterus epitelinde yeni doğan hormonunun yavaş epitel farklılaşma dan etkisine bağlı olarak farklılık gösteriyordu. Östrojenin daha az salındığı diösterus döneminde vajen epitelin **TARTIŞMA:** etkin kuvvetli olduğunu ait uterusa doğru reaksiyonun yavaşlığı azalmıştı. Çoç diösterus ve proösterus döneminde yüzeyel hücreler küçük müköz hücreler

Vajen çok katlı yassı epitel ile çevrili olup bu epitelin çoğalması ve farklılaşması östrojen ve progesteron hormonu etkisindedir (8). Östrojen hücrelerin çoğalmasına ,progesteron ise musifikasyona neden olur (9). Puberte dönemindeki hayvanlarda uterus ve vajen epitelinde çoğalma ve farklılaşma östrojenin kontrolündedir (2,3). Yassı epitel farklılaşması ve çoğalmasında östrojenin yanı sıra retinoidlerin (Vitamin A, Retinoik asit) ve Vitamin D nin de önemli rol oynayabileceği bildirilmektedir (10-12).

Vitamin A'nın (retinol) ve aktif metaboliti olan retinoik asitin (RA) üreme kanalında ki hücre çoğalmasını ve farklılaşmasını etkilediği aynı zamanda da üreme yeteneğini artırıcı işlevleri olduğu bilinmektedir (10,11). Vitamin A ve türevleri östrojenin indüklediği terminal farklılaşmayı baskırlar (12). Vitamin A eksikliği ise kalıcı keratinizasyona neden olmaktadır (10). Retinoidler reseptörlere bağlanarak hücresel işlevlerini gerçekleştirirler. İki sınıf retinoid reseptörü vardır. Retinoik asit reseptörü (RAR α , β , γ) ve retinoid X reseptörü (RXR α , β , γ). Bu iki reseptörün östrojen etkisinde eksprese oldukları özellikle östrojen sekresyonu döneminde bazal ve supra bazal hücrelerde kuvvetli diösterus ve proösterus döneminde zayıf ya da negatif eksprese edildiği saptanmıştır. Buna karşın ovarioktomize vajen epitelinde RAR α belirlenirken diğer reseptör grubunun RXR negatif reaksiyon göstermesi oldukça ilginçtir. Östrojen tedavisi alan ovariektomize farelerde RXR reaksiyonunu özellikle bazal ve suprabazal hücrelerde pozitif olması bu sınıf reseptörlerin östrojen etkisinde işlev gördüğünü göstermektedir. (12).

Vitamin D3-1-25dihydroxyvitamin D3 [1,25 (OH) $_2$ D3] ün pek çok hücre tipinde DNA sentezini artırarak çoğalmayı sağladığı bildirilmektedir. Vitamin D hücre içindeki kalsiyumun ani olarak artmasını sağlar. Araştırmacılar bu ani artışın hücre farklılaşmasında kritik rol oynadığını düşünmektedirler. Vitamin D3 steroid-tiroid hormon reseptör süperailisi üyesi olan intrasellüler reseptöre bağlanarak işlev görür (1,4,13-15). Transkripsiyonel düzeyde c-myc, TGF- β 1, IL-2, IL-8 ve IF γ gibi genler vitamin D3 tarafınan düzenlenir (3,16).

Sıçan epiteli bazal tabaka, supra bazal tabaka ve yüzeyel tabakalardan oluşur (apikal hücreler, müköz hücreler ve keratinize hücreler) (7,12,17). Vajen epitelinde daha önce varlığı gösterilmeyen VDR bizim çalışmamızda diösterus, proösterus ve österus dönemlerindeki

vajen epitellerinde pozitif reaksiyon gösterdi. Ancak reaksiyonun derecesi ve yerleşimi österus sikluslarına yani östrojen hormonunun yassı epitel farklanmasına olan etkisine bağlı olarak farklılık gösteriyordu. Östrojenin daha az salındığı diösterus döneminde vajen epitelinin yüzey hücreleri kuvvetli boyanırken alt sıralara doğru reaksiyonun yoğunluğu azalmıştı. Geç diösterus ve proösterus döneminde yüzeyel hücreler kübik müköz hücrelere dönüşmüştü. Bu dönüşüm *transdifferensiasyon* olarak adlandırılmaktadır ve progesteron hormonu etkisindedir (12,18). Proösterus döneminde müköz hücrelerinde reaksiyonun olmaması ya da çok zayıf olması ancak hemen altındaki supra bazal hücrelerde oldukça yoğun olması ilginçti. Österus döneminde VDR reaksiyonunun tüm epitel boyunca olduğu buna karşın kuvvetli boyanmanın suprabazal ve yüzey epitel hücrelerinde olduğu görüldü. Östrojen hormonunun oldukça az olduğu ovarioktomize hayvanların vajen epitelinde ise VDR reseptörünü belirlenemedi. Sonuçlarımız bize vitamin D reseptörünün östrojen etkisinde olduğunu ve östrojene bağımlı olarak ekspresyon gösterdiğini düşündürmektedir.

Bizim çalışmamızda vitamin D reseptörü genellikle sitoplazmik olarak boyanma gösterdi. Çekirdek boyanmasına yalnızca österus dönemindeki epitel hücrelerinde gözlemlendi.

Yassı epitel farklanması çok safhalı bir işlem olup her safha ayrı bir gen ile karakterizedir (2,3). Kornifin alfa geni yassı epitel farklanmasını belirleyen genlerin en bilinenidir. Kornifin alfa geni östrojen ve retinoidlerin ekisi altındadır. Östrojen ve retinoidlerle kornifin alfa arasındaki ilişkiyi inceleyen bir çalışmada östrojenin kornifin alfa ekspresyonunu artırıcı, retinoidlerin ise azaltıcı etkiye sahip olduğu belirlenmiştir. Ayrıca aynı çalışmada ovarioktomize vajen epitelinde kornifin alfa ekspresyonu saptanamamıştır (2,3).

Kornifin α mRNA ekspresyonunun östrojen verildikten sonra hemen artmaya başladığı bildirilmektedir. Kornifin alfa ekspresyonu östrojenik steroidler, östrodiol ve dietilbestrole spesifik olarak arttığı ve bu sonuçların kornifin alfa ekspresyonunun direkt ve dolaylı olarak östrojenle kontrol edildiğini göstermektedir (19).

Biz çalışmamızda vitamin D'nin östrojene benzer etki gösterdiği hipotezinden yola çıkarak Vitamin D'nin vajen epitelizasyonuna ve kornifin alfa ekspresyonuna etkisi araştırdık. Bunun için Vitamin D₃ üç farklı doz halinde ovarioktomi yapılan hayvanlara verildi. Epitelizasyon açısından en iyi sonuçlar 30 i.u./kg Vitamin D verilen 3. grup ve tek doz olarak 50 i.u./kg Vitamin D uygulanan 4. grup hayvanlardan elde edildi. İki grupta da epitelin çok katlı olduğu hücrelerin apikale doğru gidildikçe yassı hale dönüştüğü belirlendi. Grup 3 teki kornifiye tabaka çok ince olmasına karşın 4. grupta daha kalın olarak izlendi. Kornifin alfa

boyanması tüm gruplarda farklılık göstermişti. 15 gün süreyle 20 i.u./kg Vitamin D uygulanan grup 2 de tüm hücrelerde yoğun bir pozitif reaksiyon izlendi. 30 i.u./kg Vitamin D verilen grup 3 epitel hücrelerinde reaksiyon apikal ve bazalde farklılık gösteriyordu. Apikal hücreler yoğun pozitif boyanma gösterirken suprabazal ve bazalde boyanma daha zayıf idi. Tek doz olarak 50 i.u./kg Vitamin D uygulanan grup 4 epitel hücrelerinde ise boyanma tüm tabakalarda yaygın ve pozitif idi. Ayrıca diğer gruptan farklı olarak çekirdeklerde pozitif reaksiyon izlendi. Overektomi yapılan hayvanların vajen epitelinde kornifin alfa ekspresyonu negatif idi.

Biz bu çalışmamızda VDR'nin vajen epitelindeki yerleşimini ve dağılımını ilk kez gösterdik. Aynı zamanda vitamin D'nin vajen epitelinde östrojene benzer şekilde epitelizasyonu indüklediğini belirledik. Bu sonuçlar bize lokal veya sistemik vitamin D kullanımının hormon tedavisi alamayan menopoz hastaları için yeni bir çözüm olabileceğini kanısını uyandırdı.

10. Vasi W, Wu L, Chen Y, et al. *J Clin Invest* 1992; 90: 1500-1505. *Retinoic acid inhibition of retinoic acid metabolism: effect on the retinoic acid receptor*. *J Clin Invest* 1992; 90: 1500-1505.

Kaynaklar: 1. Anton MJ, De Luca LM, Nelson K: Regulation of cornifin alfa expression in the vaginal and uterine epithelium by estrogen and retinoic acid. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 1996; 123: 7-15.

2. Ponnampertuma RM, Kirchoff SM, Trifiletti L, Ovariectomy increases squamous metaplasia of uterin horns and survival of SENCAR mice fed a vitamin A-deficient diet, *Am J Clin Nutr*, 1999; 70: 502-8.
3. Chateau D, Boehm N: Regulation of differentiation and keratin 10 expression by *all-trans* retinoic acid during the österus cycle in the rat vaginal epithelium. *Cell Tissue Res* 1996; 284: 373-381.
4. Petrazzouli M, Goldsmith LA, Molecular mechanisms of cell signaling, *Dermatology in General Medicine*,m In Freedberg IM, Eisen AZ, Wolff K, 5.ed. Mc Graw-Hill, New York, (1999), p:114-131.
5. Reichrath J, Rafi L, Muller SM: Immunohistochemical analysis of 1,25-dihydroxyvitamin D3 receptor in cervical carcinoma. *Histochem J* 1998; 30(8): 561-567.
6. Berger U, Wilson P, McClelland RA: Immunocytochemical detection of 1,25-dihydroxyvitamin D receptors in normal human tissues. *J Clin Endocrinol Metab*, 1988 ; 67(3): 607-613.
7. Johnson JA, Grande JP, Roche PC: Immunohistochemical detection and distribution of the 1,25-dihydroxyvitamin D3 receptor in rat reproductive tissues, *Histochem Cell Biol*, 1996 ; 105(1): 7-15.
8. Yamashita S, newbold RR, Mclachlan JA, Korach KS: The role of the estrogen receptor in uterine epithelial proliferation and cytodifferentiation in neonatal mice, *Endocrinology*, 1990; 127: 2456-63.
9. Marvin KW, George MD, Fujimato W, : Cornifin, a cross-linked envelope precursor in keratinocytes that is down-regulated by retinoids, *Proc.Natl. acad. Sci*, 1992, 87: 9333-37.

10. Van Wauwe J, Van Nyen G, Coene MC, Liarozole inhibitor of retinoic acid metabolism exert retinoid-mimetic effects in vivo. *Jpharmacol Exp ther*, 1992; 261: 773-9
11. Chambon P, Retinoid signaling pathway: molecular and genetic analyses. *Semin Cell Biol*. 1994, 5: 115-258
12. Boehm N, Chateau D, Rochette-Egly C: Retinoid receptors in rat vaginal and uterine epithelia: changes with ovarian steroids. *Molecular and Cellular Endocrinology* 1997, 132: 101-8.
13. Mangelsdorf DJ, Thummel C, Beato M, The nuclear receptor super family : the second decade, *Cell*, 1995; 83: 835-39.
14. Kastner P, Chambon P, Leid M. Role of the nuclear retinoic acid receptors in the regulation of gene expression, *Vitamin A in Health and Disease*. R: Blomhoff (ed.), Marcel Dekker, New York, 1994; p: 189-238.
15. Reichrath J, Rafi L, Muller SM, Immunohistochemical analysis of 1,25-dihydroxyvitamin D3 receptor in cervical carcinoma, *Histochem J*, 1998; 30(8): 561-567.
16. Gorodeski GI, Eckert RL, Utian WH, Sheenan L, Retinoids sex hormones and glucocorticoids regulate ectocervical cell envelope formation but not the level of the envelope precursor, involucrin, *Differentiation*, 1989; 42, 75-80
17. Taguchi O., Bigsby RM., Cunha GR. Estrogen responsiveness and estrogen receptor development of murine female reproductive tract. *Dev. Growth Differ.* 1988; 30, 301-313.
18. Horvat B., Vrcic H., damjanov I. Transdifferentiation of murine squamous vaginal epithelium in proösterus is associated with changes in expression of keratin polypeptides. *Exp. Cell Res.* 1992, 199, 234-9.
19. Jetten M.A., De Luggca L.M., Nelson K, Schroeder W., Sue Burlingame, Fujimoto W, Regulation of cornifin α expression in vaginal and uterine epithelium by estrogen and retinoic acid, *Molecular and Cellular Endocrinology*, 1992; 123 : 7-15.

Resimler

Resim 1: Diesterus dönemindeki vajen epiteli (E), apikal hücreler (Kalın ok), Suprabazal hücreler (sp), bazal hücreler (b), bazal membran (ok) bağ dokusu lifleri (Çift ok), stromal hücreler (asterix)

İmmunoperoksidaz X10

Resim 2: Aynı gruptan daha büyük büyültmede vajen epiteli (E), apikal hücreler (Kalın ok), Suprabazal hücreler (sp), bazal hücreler (b), bazal membran (ok) bağ dokusu lifleri (Çift ok), stromal hücreler (asterix)

İmmunoperoksidaz X20

Resim 3: Proiesterus dönemindeki vajen epiteli (E), müköz hücreler (m) apikal hücreler (Kalın ok), Suprabazal hücreler (sp), bazal hücreler (b), bazal membran (ok) bağ dokusu lifleri (Çift ok), stromal hücreler (asterix)

İmmunoperoksidaz X100

Resim 4 : Aynı gruptan daha büyük büyültmede vajen epiteli (E), müköz hücreler (m) apikal hücreler (Kalın ok), Suprabazal hücreler (sp), bazal hücreler (b), bazal membran (ok) bağ dokusu lifleri (Çift ok), stromal hücreler (asterix)

İmmunoperoksidaz X200

Resim 5: Esterus dönemindeki vajen epiteli (E), kornifiye tabaka (k), apikal hücreler (Kalın ok), Suprabazal hücreler (sp), bazal hücreler (b), bazal membran (ok) bağ dokusu lifleri (Çift ok), stromal hücreler (asterix)

İmmunoperoksidaz X200

Resim 6: Aynı gruptan daha büyük büyültmede vajen epiteli (E), kornifiye tabaka (k), apikal hücreler (Kalın ok), Suprabazal hücreler (sp), bazal hücreler (b), bazal membran (ok) bağ dokusu lifleri (Çift ok), stromal hücreler (asterix)

İmmunoperoksidaz X400

Resim 7: Ovariectomi yapıldıktan 3 gün sonra vajenleri çıkarılan sıçanların vajen epiteli(E), bağ dokusu lifleri (Çift ok), stromal hücreler (asterix)

İmmunoperoksidaz X200

Resim 8: Ovariectomi yapıldıktan 5 gün sonra vajenleri çıkarılan sıçanların vajen epiteli(E), bağ dokusu lifleri (Çift ok), stromal hücreler (asterix)

İmmunoperoksidaz X200

PROJE ÖZET BİLGİ FORMU

Proje Kodu: PROJE NO:SBAG-2620
Proje Başlığı: VAJEN EPİTELİNDE VİTAMİN RESEPTÖR VARLIĞININ GÖSTERİLMESİ VE ÖSTROJEN VE VİTAMİN D'NİN KORNİFİN ALFA EKSPRESYONUNU DÜZENLEMESİ
Proje Yürütücüsü ve Yardımcı Araştırmacılar: Yrd. Doç.Dr. Başak Yıldırım Doç. Dr Gülçin Abban Yrd. Doç.Dr. Berna Erdoğan
Projenin Yürütüldüğü Kuruluş ve Adresi: Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi
Destekleyen Kuruluş(ların) Adı ve Adresi: TÜBİTAK-SBAG
Projenin Başlangıç ve Bitiş Tarihleri: Eylül 2002-2004
Öz (en çok 70 kelime): Bu çalışmada vajen epitelinde österus süresi boyunca ve overioktomi sonrası vitamin D reseptörlerinin varlığı ve daha sonra overioktomili hayvanlara vitamin D uygulaması yapılarak epitel farklılaşması için kornifin alfa ekspresyonu incelenmiştir. Vitamin D reseptörleri österus siklusları süresince pozitif reaksiyon verirken overioktomili hayvanlarda negatif olarak belirlenmiştir. Vitamin D uygulaması sırasında vajen epitinde kornifin alfa ekspresyonu pozitif boyanma göstermiştir. Lokal veya sistemik vitamin D kullanımının hormon tedavisi alamayan menopoz hastaları için yeni bir çözüm olabileceğini düşünmekteyiz.
Anahtar Kelimeler: Vajina , epitel, vitamind reseptör
Projeden Kaynaklanan Yayınlar: Immunohistochemical detection of 1,25 dihydroxyvitamin D receptor in rat vaginal epithelium Fertility and Sterility, Vol: 82, No: 6, December 2004 (makale) YILDIRIM B, G. ABBAN, B. ERDOĞAN, Expression of Vitamin D Receptor On Mouse Endometrium During Menstrüel Cycle, 2003, ESHRE, Madrid, İSPANYA (Poster) Royan Enstitüsünden (İran) 6. International Araştırma Ödülü için Davet mektubu Araştırmadan çıkan ikinci yayın değerlendirme için gönderildi. Aynı zamanda bu yıl Danimarka' da düzenlenen European Society of Human Reproduction & Embryology (ESHRE) kongresinde sunulmak üzere gönderildi.
Bilim Dalı: Kadın Hastalıkları ve Doğum, Histoloji ve Embriyoloji, Dermatoloji <input type="checkbox"/> Doçentlik Bilim Dalı Kodu: 1035, 1033, 1014