

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
HİSTOLOJİ ve EMBRİYOLOJİ ANA BİLİM DALI

FİTOÖSTROJENLERİN UTERUS ENDOMETRİYUMUNA OLAN ETKİLERİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Elif Gülçiçek ABBASOĞLU TOPA

Tez Danışmanı
Prof.Dr. Candan ÖZOĞUL

ANKARA
OCAK 2010

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
HİSTOLOJİ ve EMBRİYOLOJİ ANA BİLİM DALI

FİTOÖSTROJENLERİN UTERUS ENDOMETRİYUMUNA OLAN ETKİLERİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Elif Gülçiçek ABBASOĞLU TOPA

Tez Danışmanı
Prof.Dr. Candan ÖZOĞUL

Bu tez Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından SBE-11/2003-1 proje numarası ile desteklenmiştir.

ANKARA
Ocak 2010

İÇİNDEKİLER

İÇİNDEKİLER.....	i
I. GİRİŞ VE AMAÇ	1
II. GENEL BİLGİLER	3
1. UTERUSUN EMBRİYOLOJİSİ.....	3
2. UTERUS ANATOMİSİ	4
3. UTERUSUN HİSTOLOJİSİ.....	7
4. UTERUSUN FİZYOLOJİSİ	13
5. ÖSTROJENLER ve ÖSTROJEN RESEPTÖRLERİ	15
6. FİTOÖSTROJENLER.....	16
III. GEREÇ VE YÖNTEM	20
IV. BULGULAR	26
V. TARTIŞMA VE SONUÇ	44
VI. ÖZET.....	55
VII. SUMMARY	57
VIII. ÖZGEÇMİŞ	59
IX. KAYNAKLAR	60

I. GİRİŞ VE AMAÇ

Kadınlık hormonu östrojenler sekonder seks karakterlerini oluşturan, genital organlarda siklik değişiklikler yapan, gebelikte meme bezleri ve uterus kasının gelişmesine neden olan steroidlerdir. Ovaryumda teka interna ve granüloza hücrelerinden, korpus luteumdan ve plasentadan salgılanırlar. Biyosentetik olarak androjenlerden kaynaklanırlar.

Fitoöstrojenler ise bitkilerde bulunan ve steroid yapıda olmayan östrojenlerdir. Doğada 300'den fazla bitki ve bitkisel ürünün yapısında bulunan fitoöstrojenler kadınlik hormonu östrojen ile benzer etkinlik göstermektedirler. Bu bileşikler östrojen α ve β reseptörlerine östradiol benzer şekilde bağlanırlar, ancak etkinlikleri steroid yapıdaki östrojenlerden oldukça düşüktür.^{1,2,3,4,5,6,7,8}

Günlük yaşantımızda tükettiğimiz, soya fasulyesi, buğday, pirinç, mercimek, havuç, patates, sarımsak, fasulye, maydanoz, elma, nar, kiraz, hurma, kahve ve şarap gibi birçok besin grubu değişik oranlarda fitoöstrojen içermektedir. Bu gıdalarda bulunan fitoöstrojen türleri ve miktarları farklıdır. Bitkilerde en çok bulunan fitoöstrojen türü genistein ve daidzeindir.

Fitoöstrojenlerin, koroner kalp hastalıkları, arterosklerozis, hiperkolesterol gibi hastalıklara ve hormona bağlı oluşan kanserlere karşı koruma sağlamak, kolesterol düzeyini düşürmek, menopoza sonrasında östrojenik aktivitenin devamını sağlayarak, sıcak basmaları, gece terlemeleri gibi menopoza şikayetlerini azaltmak ve kemikte mineral kaybını azaltarak osteoporozu önlemek gibi yararlı etkileri vardır.^{9,10,11,12,13,14,15}

Soya ürünleri tüketimi menopoza sonrası kadınlarda, endometriyum kanser riskini %50'den daha fazla oranda azaltmaktadır.¹⁶ Menopoza sonrası kadınlarda uzun süre soya içeren tablet kullanımı ile endometriyal

hiperplazi artmakta ancak alınan biyopsilerde tümörleşme gözlenmemektedir.¹⁷

Fitoöstrojenlerin bu yararlı etkileri antiöstrojenik ve kısmen de östrojenik etki göstermelerine bağlıdır.^{8,9}

Fitoöstrojenlerden zengin diyet ile beslenmenin birçok yararlı etkisinin yanında zararlı yan etkileri de bulunmaktadır.^{15,20}

Bitkilerde en çok bulunan fitoöstrojen olan genisteinin, östrojen etkisiyle oluşan endometriyum kanserine karşı koruyucu etki gösterdiği belirtilmiş olmakla birlikte; bazı çalışmalarda yenidoğan farelerde cilt altı genistein uygulamasının uterus adenokarsinomlarının görülme sıklığını arttırdığı bildirilmiştir.^{21,22}

Bilinen tüm yararlı ve zararlı etkileri ile günlük yaşamda çokca tükettiğimiz fitoöstrojenlerin çeşitli organlar üzerine olan etkileri güncel araştırma konularındandır. Yapılan literatür taramalarında kadınlık hormonu gibi davranan bitkisel östrojenlerin farklı dozlarının uterustaki ultrastrüktürel etkilerini ortaya koyan makale yok denecek kadar azdır.

Bu nedenle bu çalışmanın amacı, farelerde farklı dozlarda uygulanan fitoöstrojenlerin uterustaki etkilerini ışık mikroskobu, transmission ve scanning elektronmikroskobu ile yapısal olarak incelemektir.

II. GENEL BİLGİLER

1. UTERUSUN EMBRİYOLOJİSİ

Embriyo'nun kromozomal ve genetik cinsiyeti, fertilizasyon sırasında belirlenir ancak erkek ve dişi yapısal özellikleri embriyonik 7. haftadan sonra ayırt edilebilir. Genital sistem erken dönemde her iki cinsde de birbirine benzer, bu nedenle genital sistem gelişiminin başlangıç evresi 'farklanmamış evre' olarak adlandırılır.

Genital sistem mezoderm kökenlidir. Dişi ve erkek embriyoda mezonefrik ve paramezonefrik kanallar olmak üzere iki çift kanal vardır. Embriyoner gelişimin 5. - 6. haftalarında genital sistem farklanmamış evrede olduğundan genital kanalların her ikisi de hem dişi hem erkek embriyoda bulunmaktadır.

Dişi embriyolarda testesteron bulunmadığından mezonefrik kanallar gerilerken Müller baskılayıcı madde yokluğu nedeniyle paramezonefrik kanallar 7. haftadan sonra dişi genital sistemi oluşturmak üzere farklanırlar.²³

Paramezonefrik kanal ürogenital kabarıklığının ön – yan yüzeyinde kölom epitelinin uzunlamasına bir girintisi şeklinde belirir. Kanal, kraniyal uçtan kölom boşluğu içine huni şeklinde bir yapıyla açılır. Önce mezonefrik kanalın lateralinde ve onu çaprazladıktan sonra kaudomedial yönde gelişmeyi sürdürür. Orta hatta paramezonefrik kanala aksi yönde yaklaşır. Başlangıçta, bir septumla birbirinden ayrılmış olan bu iki kanal daha sonra birleşerek uterus kanalını meydana getirir. Birleşmiş olan kanalların kaudal ucu, ürogenital sinusun arka duvarına doğru ilerleyerek paramezonefrik ya da müllerian tüberkül denilen küçük bir şişkinlik oluşturur. Mezonefrik kanallar ise ürogenital sinusa müllerian tüberkülün her iki yanından açılırlar.^{24,25} Paramezonefrik kanallar dışide esas genital kanalları oluştururlar.²⁴

Başlangıçta her bir paramezonefrik kanalda üç bölüm tanımlanır.

- 1- Kölom boşluğuna açılan kranial vertikal bölüm
- 2- Mezonefrik kanalları çaprazlayan horizontal bölüm
- 3- Karşı taraftaki eşiyle birleşen kaudal vertikal bölüm

İlk iki bölümden tuba uterinalar gelişir. Kaudal bölümler ise uterus kanalını oluşturmak üzere kaynaşırlar. Paramezonefrik kanalın ikinci bölümü mediokaudal yönde hareket ettiğinde, ürogenital kabarıklıklar giderek daha transvers bir düzleme gelmeye başlarlar. Kanallar orta hatta birleştikten sonra geniş bir transvers pelvik katlantı oluştururlar. Kaynaşmış durumdaki paramezonefrik kanalların lateralinden, pelvis duvarına kadar uzanan bu katlantıya 'uterusun sınırlayıcı ligament'i' denir.

Bu ligamentin üst sınırında uterus tüpleri, arka yüzünde ise ovaryumlar yer alır. Uterus ve sınırlayıcı ligamentler pelvisi uterorektal ve uterovezikal boşluklar olarak ikiye ayırır. Kaynaşan paramezonefrik kanallardan uterusun korpus ve serviks bölümleri gelişir. Bunlar uterusun kas katmanı olan miyometriyumu ve periton örtüsü olan perimetriyumu oluşturan bir mezenşim tabakasıyla sarılmış haldedir.²⁵

2. UTERUS ANATOMİSİ

Uterus pelvis boşluğunda önde mesane, arkada rektum ve altta vajina arasında yer alan kalın duvarlı, kastan yapılmış ve içi boş gebelik organıdır. Uterusun abdominal bölümü tuba uterina ile pelvik bölümü ise vajina ile birleşir.^{26,27}

Yaklaşık olarak uzunluğu 8 cm, genişliği 5 cm, kalınlığı 2,5 cm' dir. Ağırlığı doğum yapmış ve yapmamış kadınlarda farklı olmak üzere 50- 80 gr arasındadır. Armut şeklinde olan uterusun gövdesinin ön yüzeyi neredeyse tamamen düz olmasına karşın, arka yüzeyi belirgin bir şekilde konvektir.^{27,30}

Uterus anatomik olarak 3 bölgeye ayrılır.

- 1) Gövde (Corpus uteri): Tuba uterina'ların giriş yaptığı yerlerin altında kalan, uterusun geniş üst bölümüdür. Bu kısmın ön yüzü düz, arka yüzü ise konvektir.^{26,28} Corpus uterinin duvarı seroza ve müköler mukoza katmanlarından oluşur.²⁷
- 2) Fundus: Corpus uterinin tuba uterinalara bağlandığı yerin yukarısında kalan yuvarlak kısımdır
- 3) Serviks (Cervix uteri): Uterusun isthmus uteri ile vajina arasında kalan bölümüdür. Yaklaşık 2 cm uzunluğunda olan bu bölüm, uterusun 1/3 'ünü oluşturur ve alt kısmı vajina içerisine doğru sokulmuş durumdadır. Serviks uterinin vajina içerisine giren bu bölümüne portio vaginalis cervicis, yukarısında kalan bölümüne ise portio supravaginalis cervicis denir. Servikal kanalın uterus tarafındaki ağzına internal os (iç delik), vajina tarafında ki ağzına external os (dış delik) adı verilir. Serviks esas olarak kollagen ve elastik dokular ile kan damarlarından oluşur ve az miktarda düz kas lifi içerir.²⁹

Normal olarak kadınların çoğunda uterusun uzun eksenini ile vajinanın uzun eksenini arasında açıklığı öne bakan 90°'lik bir açı oluşur. Bu durum anterversio uteri olarak adlandırılır. Ayrıca corpus uterinin uzun eksenini ile serviks uterinin uzun eksenini de açıklığı öne bakan geniş bir açı oluşturur. 170° olan bu açı ile antefleksiyo uteri konumu tamamlanır. Bu nedenle ayakta duran ve mesanesi boş olan kadınlarda uterus hemen hemen yatay durumdadır.²⁸

Uterusun geniş, yuvarlak ve utero sakral bağları vardır. Bu bağların tümü çifttir. Lig.Teres Uteri (Yuvarlak Bağ) düz kas hücreleri ve bağ dokusundan yapılmıştır. Uterustan başlar canalis inguinalis'te seyreder ve lifleri labium majusta gevşek bağ dokusuna karışır.³¹ Lig.Latum Uteri (Geniş Bağ) Uterusun yan kenarlarında pelvik duvara doğru uzanır.²⁷

Yuvarlak baş tarafındaki ucunun vertikal kesiti üçgendir ve uterin damarlar bu başın geniş tabanında yayılırlar. Alt kısmı büyük oranda serviksle yan yana duran baş dokusuna başlanmıştı ve parametrium olarak adlandırılır. Üst kısmı tuba uterinaları örten üç kıvrımdan oluşur.²⁷

Utero sakral başlar ise rectum ile uterus arasında uzanırlar ve baş dokusundan yapılmışlardır. Baş dokusu bir miktar kas dokusu içerir ve periton ile kaplıdır.^{26,27}

Corpus uteri, önde ekskavasyo vezikouterina ve mesanenin üst yüzü ile komşudur. Arkada douglas çıkmazı (excoavatio rectouterina) içindeki colon sigmoideum ve ileum ansları ile temas eder.²⁸

Uterusun beslenmesini sağlayan en önemli kaynak a.iliaca internanın bir dalı olan a.uterinadır. Lig.latum uterinin tabanından iç yana doğru seyreden bu arter üreteri üstten dik açı ile çaprazlar ve orificium internum düzeyinde cerviks uteriye ulaşır. Daha sonra lig.latum uteri içinde uterusun yan kenarında yükselen arter, sonunda a. ovarica ile anastomos yapar. A. ovarica da uterus beslenmesine katkıda bulunur. Diğer yandan a. uterina, cerviks uteri ile vajinayı besleyen bir dal verir.²⁸

Uterusun venleri kalındır ve arterleri izleyerek lig.latum uteri içine girerler. Serviks uterinin yanlarında plexus venosus uterinus'u oluştururlar. Buradan çıkan venler (v.uterinae) v.iliaca internaya açılır.^{26,31}

Uterus sinirleri plexus hypogastricus inferior'dan ve büyük ölçüde de plexus utero vaginalis'in ön ve orta bölümlerinden gelir.²⁸

3. UTERUSUN HİSTOLOJİSİ:

Kalın olan uterus duvarı ve dıştan içe doğru 3 tabakadan oluşur.

- Perimetrium (tunika serosa)
- Miyometrium (tunika muskularis)
- Endometrium(tunika mukoza)

En dış tabaka olan perimetrium mezotel ve altında bulunan ince gevşek bağ dokusundan oluşur. Perimetrium peritonun visseral yaprağıdır. Bu dış kat peritonsuz bölgede 'tunika adventisya'dır. Perimetrium ön yüzün sadece bir kısmını örterken arka yüzün tamamını örter.

Uterusun en kalın katmanı olan miyometrium bağ dokusu ile ayrılmış düz kas lif demetlerinden oluşur. Düz kas demetleri pek belirgin olmayan üç tabaka oluşturur. İç ve dış kas tabakası uzunlamasına uzanan ince düz kas lifleri içerir.^{34,33} Enlemesine ve uzunlamasına uzanan düz kaslardan oluşan orta kas tabakası büyük arterler, lenf damarları ve venöz pleksuslar içerir.^{26,32}

Miyometrium fundus ve korpusun orta bölümlerinde kalın, tuba uterina'nın açılış yerinde ise daha incedir.³²

Gebelik sırasında miyometrium düz kas hücrelerinin sayısının artması (hiperplazi) ve düz kas hücrelerin büyüklüklerinin artması (hipertrofi) sonucu bir büyüme evresine girer.³³ Gebelik sırasında birçok düz kas hücresi protein salgısı yapan hücrelerin ince yapı özelliklerini gösterir ve aktif olarak kollajen sentezler. Böylece uterusun kollajen içeriği önemli derecede artmış olur.³⁴

Gebelik sonrasında bazı düz kas hücrelerinde harabiyet, diğerlerinin boyutlarında azalma ve kollagenin enzimatik yıkımı meydana gelir. Böylece uterusun boyutları gebelik öncesindeki değerlere iner.³⁴

Endometriyum, uterusun en iç katmanı ve mukozasıdır. Epitel ve basit tübüler bezler içeren lamina propria'dan oluşur. Yüzey epiteli tek katlı prizmatiktir. Silyalı ve mikrovilluslu sekretuar hücreler olmak üzere iki tip hücre izlenir.^{34,35} Uterus bezlerinin epiteli, yüzey epiteline benzemesine karşın silyalı hücreler nadirdir. Yüzey epitelinde olduğu gibi tek katlı prizmatik salgı yapan hücrelerden oluşurlar. Bezler miyometriyuma yakın alt bölümlerinde bazen dallı tübüler yapı gösterirler.^{31,37}

Lamina propria yoğun, düzensiz, kollajen lifler içeren bol hücreli, gevşek bağ dokusudur. Lamina propria bağ dokusu hücreleri, lökositler, makrofajlar, ve çok sayıda kollagen lifler içerir.^{36,37}

Endometriyum işlevsel olarak iki katmandan oluşmuştur. Endometriyumun 2/3 üst bölgesinde bezlerin boyun ve gövde bölümlerini içeren, menstruasyon sırasında dökülen yüzeyel endometriyum fonksiyonalis tabakası bulunur. Endometriyumun 1/3 ünü oluşturan, uterus bezlerinin son bölümlerini yapan ve miyometriyuma komşu olan tabaka endometriyum bazalis adını alır. Bu katman menstruasyon sırasında atılmaz, fonksiyonel tabakanın yenilenmesi için kaynak oluşturur.^{34,33}

Endometriyum'un fonksiyonalis tabakası gebelik ve sekresyon evresinde iki kattan oluşur. Bezlerin daralıp kapanmış boyun bölgelerini içeren 2/3 üst bölümü sıkı yapıdadır ve kompakt tabaka adını alır. Süngerimsi yapıda olan 1/3 alt bölüm ise spongiöz tabaka olarak adlandırılır.³⁴

Endometriyum'un damarlanması farklıdır. Miyometriyumun orta kas tabakasında bulunan arteryel dallar uterus duvarına içe doğru oblik olarak girdiğinde ve orta 1/3 üne ulaştığında bu damarlar yüzeye paralel düzlemde dallanırlar. Bu nedenle bu damarlara arkuat arterler denir. Arkuat arterlerden endometriyuma doğru dik açılarla çıkan ışınsal arterler endometriyum bazalisteki kısa düz arterleri yaparlar.³⁸ Spiral arterlerden oluşan endometriyal arterler, ışınsal arterler ve bunlardan dallanan bazal

arterlerin devamıdır.²⁷ Spiral arterler fonksiyonals tabakasının daha üst kısımlarında incelerak arteriyoller ve kapillerlere dönüşürler.²⁶ Kapiller ağı yüzey epitelinin hemen altında yer alır.³⁸ Spiral arterler endometriyumun fonksiyonals tabakasının üçte birini ve orta kısmının çoğunu kanlandırır. Bu damarların duvarları bazı hormonların etkilerine karşı oldukça duyarlıdır. Bu nedenle bu damarlar menstrasyonda önemli rol oynarlar. Düz arterler spiral arterlerden daha kısadır ve çapları daha dardır. Bu damarlar sadece endometriyumun bazal katmanına ya da orta tabakanın küçük bir bölümüne yayılırlar ve hormonal aktiviteye duyarsızdır.²⁷ Kapiller yatak, ince duvarlı genişlemiş laküna adı verilen bölgeler içerir.²⁶ Lakünalar endometriyumun venöz sisteminde de bulunabilir. Tüm endometriyumda ince duvarlı venlerden ve sinüzoidlerden oluşan bir ağ bulunmaktadır.³⁸

Endometriyumda bol miktarda lenf dolaşımı izlenmekle birlikte gerçek lenfatik damarlar çoğunlukla bazal katmanda yayılmış haldedirler. Miyometriyumun lenf damarları perimetriyuma gidildikçe sayıca artar ve serozanın hemen altında, özellikle uterusun arka ve daha az oranda da ön duvarında bir lenfatik pleksus meydana getirirler.²⁷

Endometriyumun kendine özgü büyüme ve işlevsel özellikleri vardır.²⁷ Yeni doğanda endometriyum genellikle proliferasyon evresindeki görünümündedir. Doğumdan sonra iki hafta içinde gerileme gösterir. Kanamadan önce endometriyum incedir ve aktif olmayan bezler içerir.³⁹ Puberteden önce endometriyum tek katlı, alçak, kübik epitelle döşelidir. Bu epitel ince bir stroma ile desteklenir. Epitel stromaya doğru çöken az sayıda tübüler bezler içerir.⁴¹

Doğurganlık evresinde epitel hücreleri, stroma hücreleri ve damarlar hızlı bir şekilde çoğalırlar. Her menstrüel döngüde endometriyumun yüzeyel 2/3 lük kısmı dökülür. Menarş ve menopoz arasında endometriyum tek katlı prizmatik epitel ve altındaki lamina propriadan

oluşur. Menopozda miyometriyum ve endometriyumda atrofi izlenir. Endometriyum epiteli düzleşir bezler büyük oranda kaybolur ve bezler arasındaki doku daha fibrotik bir görünüm alır.²⁷

Endometriyumun menstruasyonda dışarı atılan fonksiyonals tabakasındaki bezlerde epitel kökenli 4 tip hücre bulunur:

- proliferatif hücreler
- salgı hücreleri
- silyalı hücreler
- bazal hücreler³⁹

Proliferatif ve bazal hücrelerin yoğun kromatinli çekirdekleri ve belirsiz çekirdekçikleri vardır. Sitoplazmaları bazofiliktir. Proliferasyon evresinde hücre sayısı artınca çekirdekler bez epiteline yalancı çok katlı görüntüsü verirler.³⁹

Salgı hücrelerinde müsinöz olmayan bir salgı mevcuttur. Salgı ilk olarak çekirdeğin altında birikmeye başlar. 3 tip salgı hücresi ayırt edilir. Bunlar; vakuolsüz, vakuollü hücreler ve tuba uterinalardaki hücrelere benzeyen salgı hücreleridir.

Vakuolsüz hücrelerin çekirdekleri yuvarlak ve veziküllüdür, homojen dağılmış kromatin içerirler. Çekirdekçikleri belirgin ve sitoplazmaları eozinofiliktir. Vakuollü hücrelerin çekirdekleri ise proliferatif hücrelerinkine benzer.³⁹ Silyalı hücreler proliferasyon evresinde daha belirgindir. Genç silyalı hücreler bazal laminaya yakındırlar ve piramit şeklindedirler. Şeffaf açık renk sitoplazmalara sahiptirler. Bezleri döşeyen hücrelerde erken sekretuar evrede ince yapı düzeyinde dev mitokondriler ve çekirdeklerinde kanal sistemi görülür.^{39,40}

Ergenlik çağındaki kadınlarda hipofiz ön lobunun uyarımı altındaki ovaryum hormonlarının etkisi endometriyumun döngüsel ve yapısal değişime girmesine neden olur. Buna menstrual döngü adı verilir.³⁴

Menstrual döngünün 3 evresi vardır:

1. Proliferatif evre: Ovaryum folliküllerinin geliştiği ve östrojenlerin üretildiği dönemle eş zamanlı geliştiğinden Foliküler evre olarak da adlandırılır. Proliferatif evrenin erken döneminde endometriyum genellikle 2 mm'den daha incedir. Salgı bezleri dardır, tübüler bezler bazal katmanda endometriyal kavitenin yüzeyine kadar genelde düz ve birbirlerine paralel yönde ilerler.²⁷ Bezlerde glikojen birikimi başlar. Hücreler iri ve yoğun kromatinli çekirdek içerirler.³⁶ Bez epitelinde mitoz gerçekleşir. Geç proliferatif evreye gelindiğinde bez epiteli ve stromada artış sonucunda endometriyum kalınlaşır. Stroma gevşektir ve endometriyumun fonksiyonel katmanındaki salgı bezleri bazalde uzanan dallanmış bölümleri ile karşılaştırıldığında birbirinden oldukça uzaktır. Bazalde salgı son bölümleri daha çoktur ve stroma yoğundur. Döngünün ortasında ovulasyon yaklaştığı için bez epitelleri uzar ve yalancı katlanmalar oluşturur.²⁷ Döngünün 14. gününde endometriyum tümüyle yenilenmiştir. Proliferatif evre ovulasyondan bir gün sonraya kadar sürer. Bu evrenin sonunda endometriyum 3 mm kalınlığındadır. Epitel hücrelerinin bazal kısımlarında glikojen birikimi belirgindir.²⁶ Bu evrede epitel hücrelerinde granüllü endoplazmik retikulum sayısı ve golgi kompleksi boyutları giderek artar ve bu şekilde hücreler salgı için hazırlık yaparlar. Spiral arterler ise yenilenmekte olan stroma içine doğru ilerlerler.³⁴
2. Sekresyon evresi: Ovulasyondan sonra başlar. Korpus luteumdan salınan progesteron etkisi altındadır ve 28. güne kadar devam eder. Sekresyon evresi menstruasyona hazırlık için değişikliklerin olaylanmaya başladığı evredir.²⁷ Bu evrede endometriyum kalınlaşmaya devam eder. Kalınlaşma, damarlanmanın artması, ödem ve epitel hücrelerinin çekirdek altı sitoplazmalarında glikojen

depolamasından kaynaklanır.^{34,26} Endometriyum bu evrede 5mm ye yani en büyük kalınlığına ulaşır. Glikoprotein salgıları bezlerin lümenini genişletir.³⁴ Salgı granülleri bez hücrelerinin çoğunda çekirdek altındaki bölgede iken ilerleyen günlerde bu granüller çekirdeğin üst kısmına geçer.³⁹ Menstruel siklusun başlamasından itibaren 14-21. günler erken sekretuar evre, 21.-25. günler orta sekretuar evre olarak değerlendirilir. Bu da ovulasyondan sonraki 5-9. günlerdir. Stroma içinde kıvrımlanmış, dallanmış ve lümenleri salgı ile dolu bezler bulunur.³⁹ Salgı ürünleri bez epitel hücrelerinin bazalinde birikmeye başlar ve daha sonra apikale doğru birikerek lümene boşaltılır.³⁶ Çekirdekler, hücrenin bazaline kaymıştır. Spiral arterler gelişmiş, kıvrımlanmış ve fonksiyonals tabakasını kaplamıştır.

Menstrüel döngünün son 2-3 günü yani ovulasyon sonrası 10-14. günler geç sekretuar evredir. Bu evrede spiral arterler belirginleşir. Ovulasyondan sonra döllenme olursa endometriyum desidua halini alır. Döllenme olmazsa korpus luteumun işlevi azalır. Progesteron ve östrojen salgısı azalmasıyla, sekresyon evresi sona erer ve menstruasyon evresi başlar.^{34,41}

3. Menstruasyon evresi: menstrüel döngünün ilk 1-4 günleridir. Endometriyum 0,5-3 mm kalınlığındadır. Yüzey epitelinin altındaki hücreler arası boşluklara kan hücreleri dolmaya başlar.³⁹ Sekresyon evresinin sonunda spiral arterlerin duvarları kasılır, kan akımı engellenir. Oluşan iskemi sonucunda damar duvarı ve fonksiyonals tabakası nekroza uğrar. Bu sırada kasılan damarların üstünde bulunan kan damarları yırtılır ve kanama başlar.³⁴ Bu evrede fonksiyonals tabakasında oksijen azalmıştır. Menstruasyon evresinden önce ve menstruasyon süresince bazalis tabakası kendi düz arterlerinden beslenmeye devam eder. Buradaki bezlerin bazal hücreleri çoğalır ve yeni oluşan hücreler yüzeye doğru ilerleyerek buradaki bezleri tamamlarlar. Bu tabakadaki damar endoteli ve

stroma hücreleri de çoğalır. Stroma hücrelerinden kollajen ve ara madde salınır. Bu evreye ise rejenerasyon (yenilenme) evresi denir. Bez hücrelerinin yeniden çoğalıp yüzeye doğru ilerlemesiyle menstruel döngü yeniden proliferatif evreden başlar.³⁶

4. UTERUSUN FİZYOLOJİSİ

Kadın hormonal sistemi üç hormon grubunun etkisi altındadır.

1. Daha önceleri luteinizan serbestleştirici hormon olarak da adlandırılan hipotalamik serbestleştirici hormon ya da gonadotropik serbestleştirici hormon (GnRH).
2. Hipofiz ön lobu hormonlarından folikül uyarıcı hormon (FSH) ve Luteinize Hormon (LH). Bu hormonların her ikisi de hipotalamusta sentezlenen GnRH hormonuna yanıt olarak salgılanır.
3. Ovaryum hormonları olan östrojen ve progesterondur. Bu hormonlar hipofiz ön lobundan salgılanan FSH ve LH'a yanıt olarak ovaryumlar tarafından salgılanır.

Kadınlarda menstrüel döngü süresince bu hormonların miktarları değişkenlik gösterir. Döngünün farklı evrelerinde farklı hızlarda salgılanırlar.^{42,44}

Östrojenler vücutta sekonder dişi seks özelliklerini veren özgül hücrelerin çoğalma ve büyümesini sağlarlar. Gebe olmayan bir kadında östrojenler çok miktarda ovaryumlardan, az miktarda da adrenal korteksten salgılanırlar. Gebe olan kadında ise çok miktarda plasentadan salınırlar. Kadının plazmasında önemli miktarlarda üç tip östrojen bulunur.

- β -östradiol
- Östron
- Östriol

Ovaryumlardan salınan en önemli östrojen β -östradiol'dur. Ovaryumlardan östron salgısı ise azdır. Östron genellikle adrenal korteks ve ovaryum teka hücrelerinden salgılanan androjenlerin periferik

dokulardaki dönüşümlerinden oluşur. Östriol zayıf bir östrojendir ve özellikle karaciğerde östradiol ve östronun oksidasyon ürünü olarak ortaya çıkar.^{42,45}

Östrojenler çocuklukta çok az miktarda salgılanırlar pubertede ise salgılanan miktar hipofiz gonadotropik hormonların etkisi ile yirmi kattan daha yüksek oranda artış gösterir. Bu evrede dişi dış genital organları çocukluk görüntüsünden erişkine dönüşür.

Pubertenin ilk birkaç yılında uterus boyutları iki üç kat artar. Bundan daha önemlisi östrojenlerin etkisi ile endometriyumda oluşan değişimlerdir. Östrojenler stromada belirgin proliferasyona ve implantasyonda yumurtanın beslenmesine yardımcı olacak olan endometrial bezlerde gelişmelere yol açarlar.⁴³

Progestinler içinde en önemli hormon progesterondur. 17-Alfa-hidroksiprogesteron progesteronla birlikte salınan az miktarda olan ve progesteronla aynı etkiye sahip olan diğer bir progestindir.

Gebe olmayan kadında progesteron ovaryum döngüsünün ikinci yarısında korpus luteumdan salgılanır. Döngünün ilk yarısında ise progesteron ovaryumlar ve böbrek üstü bezi korteksinden az miktarda ve eşit olarak salgılanır. Gebeliğin dördüncü ayından itibaren ise plasentadan büyük miktarda progesteron serbestlenir.⁴²

Progesteronun en önemli işlevi menstruel döngünün ikinci yarısında endometriyumda sekresyonla ilgili değişimleri başlatarak uterusu döllenmiş olan yumurtanın implantasyonuna hazırlamaktır.

Progesteron ayrıca uterus kasılmalarının şiddetini ve frekansını azaltıcı etkiye sahiptir. Bu şekilde implante olan yumurtanın atılması engellenir.⁴³

5. ÖSTROJENLER ve ÖSTROJEN RESEPTÖRLERİ

Kadınlık hormonu olan östrojenler, çok miktarda ovaryumlardan, az miktarlarda da adrenal korteks ve gebelikte oluşan korpus luteum ve plasentadan salgılanan 18 Karbonlu steroid yapıda hormonlardır.

Adrenal bezlerde sentezlenen androsteneidon yağ doku, karaciğer, böbrek, akciğer ve çizgili kaslarda aromataz enzimi aktivitesiyle östrojene dönüştürülür.^{46,47}

Kadın vücudunda bulunan başlıca östrojen 17 β -östradiol 'dür ve östrondan 12 kat, östriolden 80 kat daha etkili aktiviteye sahiptir.⁴⁶

17 β -östradiol hedef hücredeki östrojen reseptörlerine (ER) bağlanarak etkili olmaktadır. Hedef hücredeki östrojen reseptörünün miktarı ve çeşidi 17 β -östradiol'ün etkisini belirlemektedir.

Östrojen reseptörlerinin ER α ve ER β olmak üzere iki alt tipi vardır.⁴⁸

Östrojen reseptörleri, üreme sistemi, kardiyovasküler sistem, hematopoez, merkezi ve periferik sinir sistemi dokularında incelenmiş ve her bir östrojen reseptörünün özel fonksiyonları olduğu bildirilmiştir.⁵⁴

ER α ; genellikle ovaryum, tubauterina, uterus, meme, böbrek, üreter, ve idrar kesesi gibi ürogenital dokularda bulunur.⁵² Doku proliferasyonundan sorumludur, güçlü proliferasyon aktivitesinden dolayı östrojenler bağlandığında malign dejenerasyona (tümör oluşumu) neden olabilmektedir.^{49,50,51}

ER β ; ürogenital sistem yanında, merkezi sinir sistemi, kemik, akciğer ve immün sistem yapıları gibi birçok dokuda bulunmaktadır.⁵³ ER β ilk defa 1996 yılında rat prostatından klonlanmıştır, fakat östrojen bağımlı hastalıklardaki fonksiyonu tam olarak bilinmemektedir.⁴⁸

ER β antiproliferatif etkisiyle, poliferatif dokularda farklılaşmaya neden olur ve ER α antagonisti gibi etki gösterir.⁵⁶

6. FİTOÖSTROJENLER:

Fitoöstrojenler bitki türlerinde bulunan östrojen gibi davranan ve steroid yapıda olmayan bileşiklerdir.⁵⁵

Hemen hemen bütün bitki türleri fitoöstrojenleri sentezlerler. Doğada 300'den fazla bitki türünde bulunan fitoöstrojen bileşikleri 3 grupta toplanmaktadır:

- Isoflavonlar (Genistein, Daidzein, BiochaninA, Formononetin)
- Lignanlar (Matairesinole, Secoisolariciresinol, Enterolactone, Enterodiol)
- Coumestanlar⁵⁷

Batı yarımkürede östrojenik aktivitesi olan birçok bitki özü çeşitli amaçlar için kullanılmaktadır. Bu bitkilerden en önemlileri ve içerdikleri fitoöstrojen türleri şöyledir:

- Soya ürünleri (izoflavonlar)
- Keten tohumu (lignanlar)
- Kırmızı yonca (izoflavonlar ve coumestanlar)⁵⁸

Günlük yaşamımızda tükettiğimiz, sebzeler (patates, havuç, bezelye), meyveler (nar, kiraz, elma), tahıllar (buğday, pirinç, mercimek, soya), maydanoz, sarımsak ve kahve bol miktarda fitoöstrojen içermektedir.¹⁵

Fitoöstrojenler; sahip oldukları fenolik halka ile östrojen reseptörlerine bağlanarak östrojen agonisti (östrojenik) veya antagonisti (antiöstrojenik) gibi davranırlar.⁵⁵

Fitoöstrojenlerin metabolizmada östrojenik ve antiöstrojenik davranışları; fitoöstrojenin konsantrasyonu, endojen östrojenin konsantrasyonu ve östrojen reseptörlerinin dağılımı gibi faktörlere bağlıdır.

Fitoöstrojenler ER'lerine tıpkı östrojenler gibi bağlanırlar. 17 β -östradiol'den daha zayıf östrojenik aktivite gösterirler.^{61,62,63} Fakat vücutta endojen östrojenlerinden 100 kat daha fazla konsantrasyonlarda bulunabilirler.⁶²

Antiöstrojenik etkilerini ise; yüksek konsantrasyonlarında ve östradiol'ün fizyolojik konsantrasyonları varlığında, ER'lerine bağlanmada 17 β -östradiol'le rekabete girerek ve zayıf östrojenik aktivite göstererek gerçekleştirirler.⁶⁷

17 β -östradiol ve fitoöstrojenlerin moleküler yapıları birçok yönden benzerdir. Her ikisi de içerdikleri OH(hidroksil) grupları ile aromatik halka yapısına sahiptirler. Bu hidroksil grupları östrojen reseptörlerinde bulunan ligand bağlayıcı bölgelere bağlanmayı sağlarlar. Ayrıca içerdikleri hidroksil gruplarının varlığı ve pozisyonu östrojenik aktivitenin ilk şartı olarak kabul edilmektedir.^{59,60}

Fitoöstrojenler insanlarda ve hayvanlarda, idrar, semen, kan ve dışkıda tanımlanmıştır.^{64,65}

Doğada inaktif halde bulunan fitoöstrojenler sindirim sisteminde aktif hallerine dönüştürülürler. İnsanda bulunan başlıca iki izoflavon genistein ve daidzein, her biri ayrı ayrı bitki öncülleri olan BiochaninA ve Formononetin'den metabolize olurlar. Bitkilerde glukozidlerle bağlı olan inaktif formları genistein ve daidzeindir. Diyetle alındıktan sonra bağırsak duvarındaki bakteriyel glukozidazlarca hidrolize olup şeker artıklarından uzaklaştırıldıklarında aktif formları olan Genistein ve Daidzein'e dönüşürler, ve emilime uygun hale getirilirler. Vücutta glukuronidlerle tekrar eşleşirler ve başka bir metabolizmaya uğramadan idrarla atılırlar.

Kolon mikroflorasında, daidzein, equol veya O- demethylangolensin (O-Dma)'ya ileri metabolize olurken, genistein de p-ethyl phenol'e ileri metabolize olurlar. Daidzein, genistein, equol ve O-Dma insan ve hayvanlarda kan ve idrarda en çok bulunan fitoöstrojenlerdir.^{64,65}

Bitkilerde bulunan fitoöstrojenlerin; koroner kalp hastalıkları, arterosklerozis, hiperkolesterol, hormona bağlı kanser, osteoporoz ve menopoz şikayetleri gibi kronik hastalıkları azaltıcı etkisi olduğu düşünülmektedir. Menopoz dönemindeki kadınlarda sıcak basması, gece terlemeleri gibi şikayetlerin ve osteoporoz görülme sıklığı fitoöstrojen kullanımına bağlı olarak azalmaktadır^{10,12,15}.

Kadınlarda meme, ovaryum, endometriyum, erkeklerde prostat kanseri gibi hormon bağımlı kanserlerin görülme sıklığı Amerika'da yaşayan insanlarda, Asya'da yaşayanlara göre daha fazladır. Asya'da yaşayan insanların diyetlerinin yüksek oranda fitoöstrojen içermesi, bu belirtilerin görülme oranındaki azalmanın soyaya bağlı olduğunu göstermektedir.^{69,70}

Soya ve diyetle bulunan fitoöstrojenlerin glukoz ve lipit metabolizmasını etkiledikleri, obezite ve diyabet oluşumunda koruyucu oldukları düşünülmektedir.^{58,68}

Asyalılarda obezite ve metabolik bozukluklar, soya kullanımına bağlı olarak düşüktür. Tip 2 diyabet Tokyo'da yaşayan Japonlarda Amerika'da yaşayan Japonlara göre daha az görülmektedir.⁷¹

Soya yağ metabolizmasını hızlandırarak, daha fazla yağ yakılmasını sağlar. Aynı zamanda vücutta insülin salgılanmasını dengede tutarak, insülinin fazla salgılanmasıyla ortaya çıkan fazla enejinin yağ olarak depolanmasını ve acıkma hissini azaltır.

Soyanın içerdiği yüksek protein kas kitlesinin gelişmesini sağlar. Gelişen kas kitlesi de daha fazla enerji tüketerek kilo kontrolüne yardımcı olur.⁷⁵

Menopoz sonrası kadınlarda izoflavon tüketimi, düşük beden kitle indeksi, yüksek HDL seviyesi ve plazma LDL konsantrasyonunun azalması ile ilişkilendirilmektedir.^{72,73,74}

Fitoöstrojen içeren preparatların kullanımının son yıllarda artması fitoöstrojenlerin faydalı etkileri yanında zararlı yan etkileri olabileceği konusunu da gündeme getirmiştir. Zararlı etkilerinin başında kısırlığa neden olabileceği ve meme kanserini uyurabileceği gelmektedir.

İlk olarak 1946 yılında Batı Avustralya'da izoflavonlardan zengin yonca ile beslenen koyunlarda üreme bozukluğunun geliştiği gözlenmiştir.^{77,10,78}

Benzer şekilde 2. Dünya Savaşı'nın sonlarına doğru besin kıtlığı nedeniyle lale soğanı ile beslenen birçok Alman kadında menstruel bozukluklar gözlenmiştir.⁷⁷

Kemirgenlerde yapılan birçok çalışmada, saflaştırılmış genisteinin zararlı etkileri olabileceğini göstermiştir. Yenidoğan farelerde cilt altı genistein uygulaması uterus karsinomlarının artmasına neden olmuştur.^{22,42,21}

Erişkin erkek ratlarda diyetle soya tüketimi androjen seviyelerinde ve prostat ağırlığında azalmaya sebep olmuştur.¹⁵

Çocuklarda ergenliğe kadar kanda östrojen bulunmadığından, yüksek dozla dışarıdan fitoöstrojen alımı östrojene bağlı bazı belirtilerin ve erken ergenliğin ortaya çıkmasına neden olabilmektedir. Ayrıca bebek mamalarında bulunan soya ile aşırı miktarda isoflavonun yeni doğanda alımı konusunda da kaygılar söz konusudur. Son yüzyılda milyonlarca bebek tarafından tüketilen izoflavonlar belli bir zararlı etki göstermemiştir fakat yine de bebeklik endokrin hasar için hassas bir dönemdir ve yüksek konsantrasyonlarda fitoöstrojene maruz kalınması erişkin dönemde çeşitli hastalıkların başlangıcında etkili olabilmektedir.^{76,77, 20}

İsoflavonlar, tiroid hormonlarının üretiminde rol oynayan Tiroid Peroksidaz (TPO) enzimini inhibe ederek tiroid hastalıklara neden olabilmektedir.⁷⁶

III. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmada kolay üreyebilmeleri, katı gıdaya erken başlamaları ve kısa sürede cinsel olgunlaşmalarını tamamlamaları nedeniyle denek olarak fareler kullanıldı. Fareler katı gıda ile beslenmeye en erken doğumdan sonraki 3. haftada başlar. Erkek-dişi ayrımı bu haftadan itibaren daha kolay yapılabilmektedir. Bu nedenle çalışmaya 3 haftalık 17 fare alındı ve denekler 3 diyet grubuna ayrıldı. Deneklerin sütten kesilmiş olması doğrudan üç ayrı diyet grubuna ayrılmasına ve böylece diyetlerin etkinliğinin tam olarak araştırılmasına olanak sağladı.

18 günlük Swiss Albino cinsi dişi fareler sütten kesilir kesilmez herhangi bir ek gıda almadan Hırsız Sıhha Enstitüsüne bağlı Serum Çiftliğinden elde edildi. Fareler Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Laboratuvarına götürüldü. Kontrol grubunda 5, deney gruplarında 6'şar fare içerecek şekilde rastgele 3 gruba ayrıldılar ve tartıldıktan sonra polikarbonat kafeslere yerleştirildiler. Laboratuvar ortamı 12 saat aydınlık 12 saat karanlık döngüsü, ısı 21°C ve nem oranı % 50 olacak şekilde düzenlendi. Daha sonra her kafese önceden hazırlanan üç ayrı diyet konuldu. Farelerin yem ve suya sınırsız ulaşmaları sağlandı. Çalışma süresince her iki günde bir kafesler düzenli olarak temizlendi, eksilen yem ve su eklendi. Fareler 63 günlük oluncaya kadar bu ortamda üç ayrı diyetle beslendiler.

Fare ve sıçan çalışmalarında kullanılan diyetler östrojen içeriği ve östrojenik etkinliği yönünden değişiklik gösterir. Birçok hayvan laboratuvarı standart fare diyeti olan Purina 5001 gibi yüksek oranda (500 mgr) fitoöstrojen içeren diyet kullanmaktadır.

	Genistein	Daidzein	Toplam
PURINA 5001	214 mgr/g	277 mgr/g	491 mgr/g

Diyetteki fitoöstrojen miktarının standart olmaması nedeniyle sadece fitoöstrojen düzeyini inceleyen bu araştırmada fitoöstrojen miktarını tam olarak belirlemek için saflaştırılmış bir diyet kullanıldı.

Bu çalışmada fitoöstrojen diyetinin doza bağlı etkilerinin araştırılması amaçlandığı için;

- Fitoöstrojen içermeyen diyet (Fito-0),
- Standart diyetle aynı miktarda fitoöstrojen içeren kontrol diyeti (Fito-500)
- Yüksek dozda fitoöstrojen içeren Fito-1000 diyeti

Olmak üzere üç ayrı diyet hazırlandı.

Çalışmada kullanılan 3 ayrı diyet ve fitoöstrojen içerikleri aşağıdaki gibi belirlendi:

GRUP	DİYET	FİTOÖSTROJEN İÇERİĞİ	n
1. Grup(Fito-0)	AIN-76A	(-)	5
2. Grup(Fito-500)	AIN-76A+350mg/g genistein+150mg/g daidzein	500 mg/g	6
3. Grup(Fito-1000)	AIN-76A+700mg/g genistein+300mg/g daidzein	1000 mg/g	6

1. Tespit ve dokuların alınması Prosedürü

63 gün sonunda cinsel olgunluğunu tamamlayan fareler bulundukları kafeslerle birlikte aynı gün diseksiyonun yapılacağı Gülhane Askeri Tıp Akademisi Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı'na götürüldüler. Deneklere perfüzyon fiksasyonu yöntemi uygulandı. Her bir fare sırasıyla kafeslerinden alınıp tartıldıktan sonra intramüsküler Ketalar ve Rompun (0,2 ml) anestezisi uygulanarak uyutuldular. Daha sonra çalışılacak alan üzerine iğneler yardımıyla fiske edildiler. İnce uçlu küçük makas yardımıyla göğüs duvarı açıldıktan sonra sağ atrium kesildi. Enjektör yardımıyla sol ventrikülden girilerek heparinli serum fizyolojik enjekte edildi. İşlem dolaşımdaki kan temizlenip ve sağ atriumdan berrak serum fizyolojik gelene kadar sürdürüldü. Daha sonra sol ventriküldeki aynı delikten enjektörle girilerek tespit solüsyonu olan %2,5'lik fosfat tamponlu gluteraldehit verildi. Bu işlem fiksatif verilirken denekte oluşan kasılmalar sona erene kadar sürdürüldü. Tüm farelerde fiksasyon tamamlandıktan sonra uterus doku örnekleri %2.5'lik fosfat tamponlu gluteraldehit solüsyonu içeren küçük şişelere alındı.

Transmission Elektron Mikroskopi Prosedürü

Perfüzyon yöntemi ile alınan doku örnekleri 1mm³'lük küçük parçalara ayrıldılar ve 1/15M fosfat tamponlu %2.5'luk gluteraldehit solüsyonunda pH 7.4'de +4⁰C'de tespit edildiler. Daha sonra fosfat tamponunda 4 kez yıkanan doku örnekleri 1/15M'lik fosfat tamponlu %1'lik osmium tetraoksit (OSO₄) ile +4⁰C'de ikinci kez tespit edildiler. Doku parçaları tespit işleminden sonra tekrar fosfat tamponuyla yıkanarak etil alkol serilerinden geçirilerek sudan kurtarıldılar.

Etil Alkol (%)	Süre x Dakika
50	1x15
60	1x15
70	1x15
80	1x15
90	1x15
96	2x15
100	2x30
Propilenoksit	1x10

Sudan kurtarılan doku parçaları

- Ön gömme materyali olan 2.5 ml Araldit (Araldit CY212) ve 2.5 ml DDSA (Dodosenil Suksinik Anhidrit) karışımında bir gece bekletildi.

- b. Asıl gömme materyali olarak 2.5 ml Araldit ve 2.5 ml DDSA karıştırılıp, karışımın 0.2 ml'si atılarak yerine 0.2 ml BDMA (Benzil Dimetil Amin) konularak 2 saat oda ısısında, 2 saat 40°C'lik etüvde bekletildiler. Daha sonra içinde aynı gömme materyali bulunan jelatin kapsüllere gömüldüler. Polimerizasyon işlemi 40°C'lik etüvde 24 saat, 60°C'lik etüvde 48 saat bırakılarak yapıldı.

Elde edilen bloklardan alınan yarı ince kesitler toluidin mavisiyle boyanarak BH2 Olympus fotomikroskopta incelenip fotoğraflanarak değerlendirildi, daha sonra ince kesit için işaretlendi. Elde edilen kesitlerden her gruptaki preparatlarda endometriyum epitel kalınlıkları, bilgisayar donanımlı kamera ataçmanlı foto ışık mikroskopunda (DM 4000B, Leica Weetlar Germany DFC280 plus camera) fotoğraflanarak değerlendirildi. Image Analyse System QWin Programme (Leica, Germany) kullanılarak yapılan ölçümlerin ortalamaları alındı. İşaretlenen bölgeden ultramikrotom ile alınan ince kesitler kurşun sitrat ve uranil asetatla boyandılar. Carl Zeiss EM 900 elektron mikroskopunda uterus endometriumunun ince yapısı açısından incelenerek resimlendirildi.

Scanning Elektronmikroskopi Prosedürü

1. 0.5 cm² büyüklüğündeki doku örnekleri dehidrasyon amacıyla aşağıdaki alkol serilerinden geçirildi

Alkol Oranı	Süre
%50	10 dak.
%75	10-15 dak
%96	10-15 dak.

2. Doku örnekleri içlerindeki alkolün uzaklaştırılması için Emitech K 850 kritik Nokta kurutucusuna (CPD) koyuldu. CO₂ gazı ile çalışan CPD yüzey gerilimini sıfırlayarak hücre içindeki alkol ile CO₂'nin yer

değiştirmesini sağladı. Daha sonra CO₂ buharlaştı ve hücrelerin şekli bozulmadan, büzüşmeden kurutulmuş oldu.

3. Conduktive Carbon Cement yapıştırıcı ile dokular alüminyum stab üzerine yapıştırıldılar. Örnekler Emitech 550X (Sputter Coater) Partikül kaplayıcısına konularak önce vakumla içindeki hava alındı daha sonra odaya argon gazı verilerek iyon konsantrasyonu sağlandı. Katotta toplanan iyonlar altın-palladium tabakasına çarparak oradan 2nm partikül çaplı altın ve 1.7 partikül çaplı palladium parçalarının kopması ve örneğin üzerine gelip yapışması sağlandı.
4. Kaplanan örnekler SEM'e koyuldu. Vakum yapılarak örneğin üzerine yollanacak elektronların hava ile çarpışmadan ve aynı doğrultudan sapmadan örnek üzerine yollanması sağlandı. Daha sonra elektronların yansıması sonucu görüntülerin fotoğrafları çekildi.⁸⁰

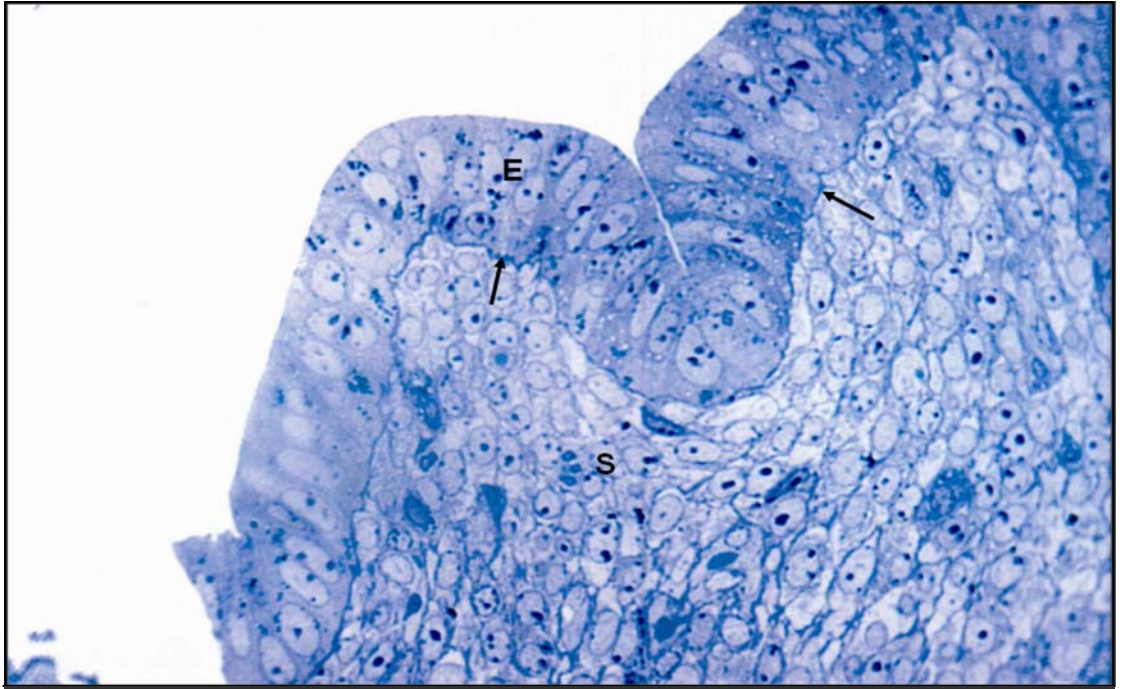
IV. BULGULAR

Kontrol grubunda ışık mikroskop ve transmission elektron mikroskop incelemeleri sonucunda, endometriyumun, yüzey epiteli, bez epiteli ve stromanın tüm elemanları ile normal yapıda olduğu gözlemlendi. Epitel, bağ doku ilişkisi normal görünümde, doku sağlıklı endometriyum yapısındaydı. (Res:1-3) Scanning elektronmikroskopunda yapılan incelemede ise endometriyum epitelinde az sayıda hücrede erken sekretuar evre bulgusu olan pinopodlar gözlemlendi (Res:4). Transmission elektronmikroskop resimlerinde de taranabilen az sayıda hücrede pinopod öncülü apikal şişkinliklerin varlığı belirlendi (Res: 5)

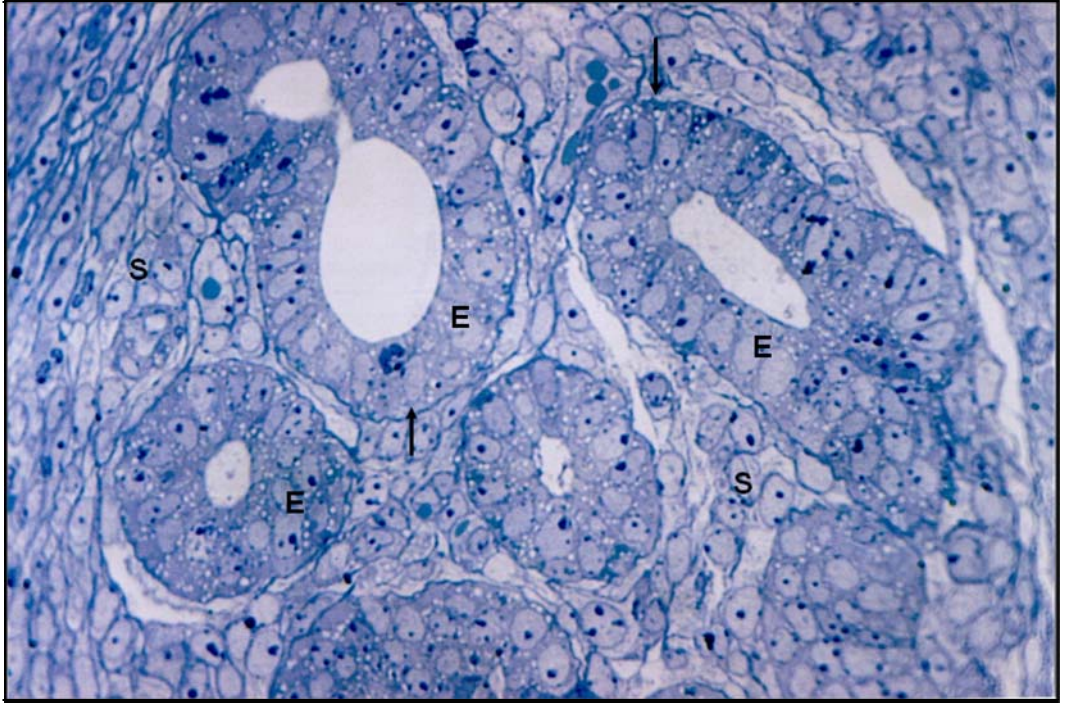
Fito 500 grubunda ise ışık mikroskopik incelemede hem yüzey epitel hücrelerinin hem de endometrial bez hücrelerinin çoğunun normal görünümde olduğu gözlemlendi. Epitel hücreleri arasında az sayıda koyu boyanan hücrelerin varlığı dikkati çekti. Bazal membran düzenli ve alttaki bağ dokusu ile epitel ilişkisi normal yapıdaydı (Res:6,7) Bu grubun transmission elektron mikroskopik incelemesinde ise yüzey epitel hücrelerinin çekirdek ve tüm hücre elemanları normal görünümdeyken mitokondriyonlarda krista kaybı belirgindi. Bazal membran düzenli stromal hücreler ise normal görünümdeydi (Res: 8) Endometrial bezlerin epitel hücreleri arasında ışık mikroskopunda gözlenen az sayıda elektron dens hücreler ultrastrüktürel incelemede de gözlemlendi. Bu gibi hücrelerde sitoplazmik elemanları ayırt etmek oldukça güçtü (Res: 9) Diğer bez hücreleri ise normal görünümde salgı granülleri ve diğer hücresel elemanlarının yanı sıra krista kaybı olan mitokondriyonlar içeriyordu. (Resim 8,9). SEM incelemede Fito-500 grubu Fito-0 grubu ile karşılaştırıldığında yüzey epitel hücrelerinde pinopodların sayıca arttığı belirlendi. (Resim 10). Pinopodların sayıca artışı endometriyumun orta sekretuar evreye farkedildiğinin göstergesi olarak kabul edildi.

Fito1000 grubunda ise kalın kesitlerde koyu boyanan epitel hücrelerinin Fito500 grubuna göre daha fazla sayıda olduğu dikkati çekti (Res: 11) Normal görünümlü hücreler arasında ve çoğunlukla bazalde yer alan bu hücrelerin bir grubunun proapoptotik bir grubunun ise apoptotik hücreler olduğu düşünüldü. Bu hücreler TEM ile de gözlemlendi (Res: 12-14). Yine bu grupta bazal membran altında bazal membran bağ dokusu bileşkesinde ödematöz alanların varlığı dikkati çekti (Res:12-15).Bu grupta epitel hücrelerinde kalın kesitlerde belirgin olarak gözlenen geniş vakuollerin TEM de mitokondriyonlarda şişme ve krista kaybı olduğu anlaşıldı (Res: 13-15). Bu grubun SEM incelemelerinde endometriyum yüzey epitel hücrelerin hemen hepsinde apikal çöküntüler gözlemlendi (Res: 16). Hemen hemen tüm epitel hücrelerin geç sekretuar evre bulgusuna sahipti. Bu durum Fito-1000 uygulaması ile salgılamının erken aktive edildiğini düşündürdü.

Ayrıca tüm gruplardan elde edilen preparatlarda yapılan ölçümlerde endometriyum epitel kalınlıklarının ortalamaları eşdeğer bulundu.



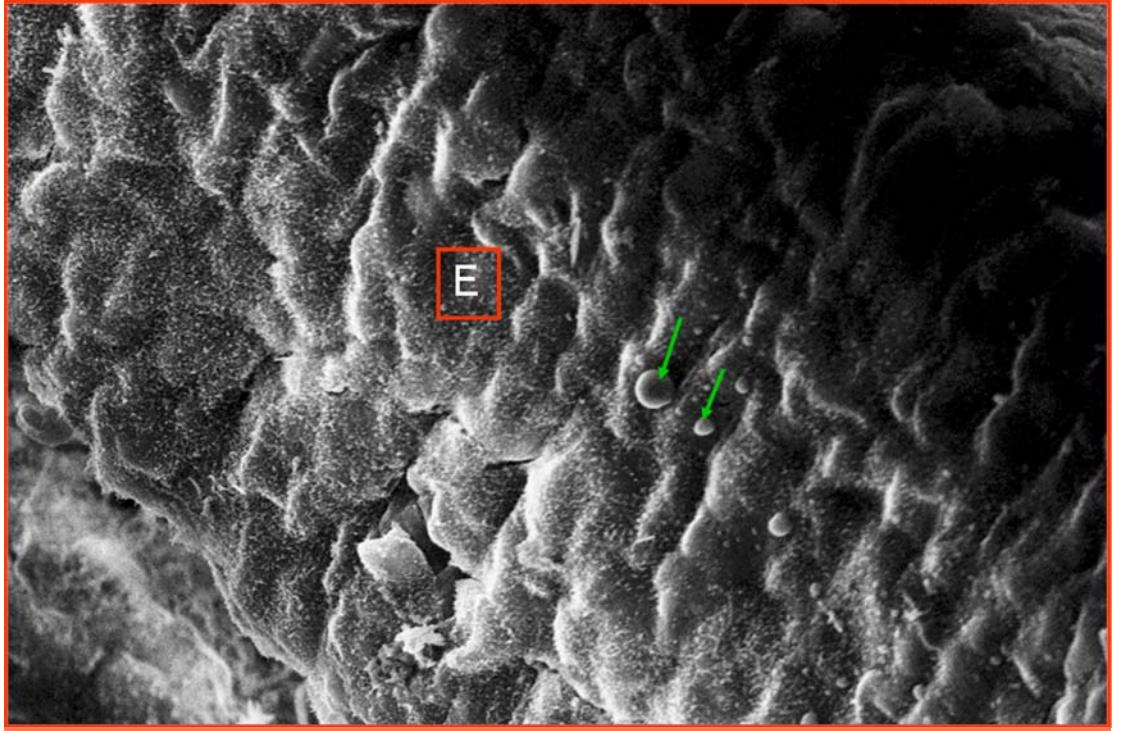
Resim 1: Fito-0. Endometriyum yüzey epiteli (E),stroma (S), epitel bağ doku geçişi (→). Toluidin mavisi X 400



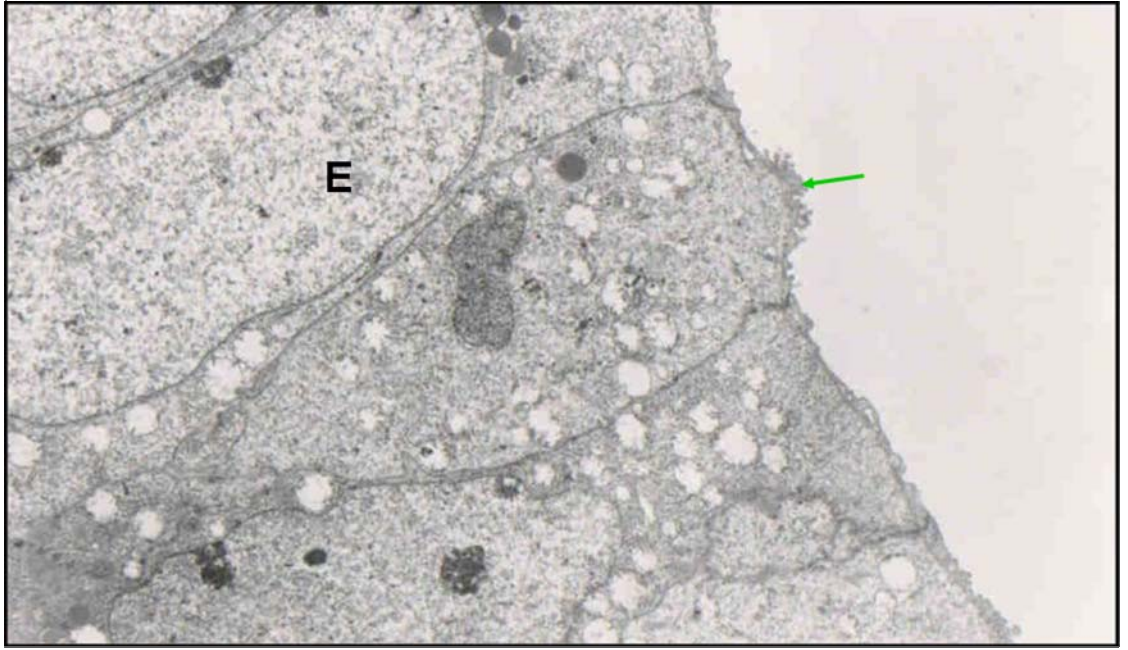
Resim 2: Fito-0. Endometriyal bez epiteli (E), stroma (S), epitel bağ doku geçişi (→). Toluidin mavisi X 400



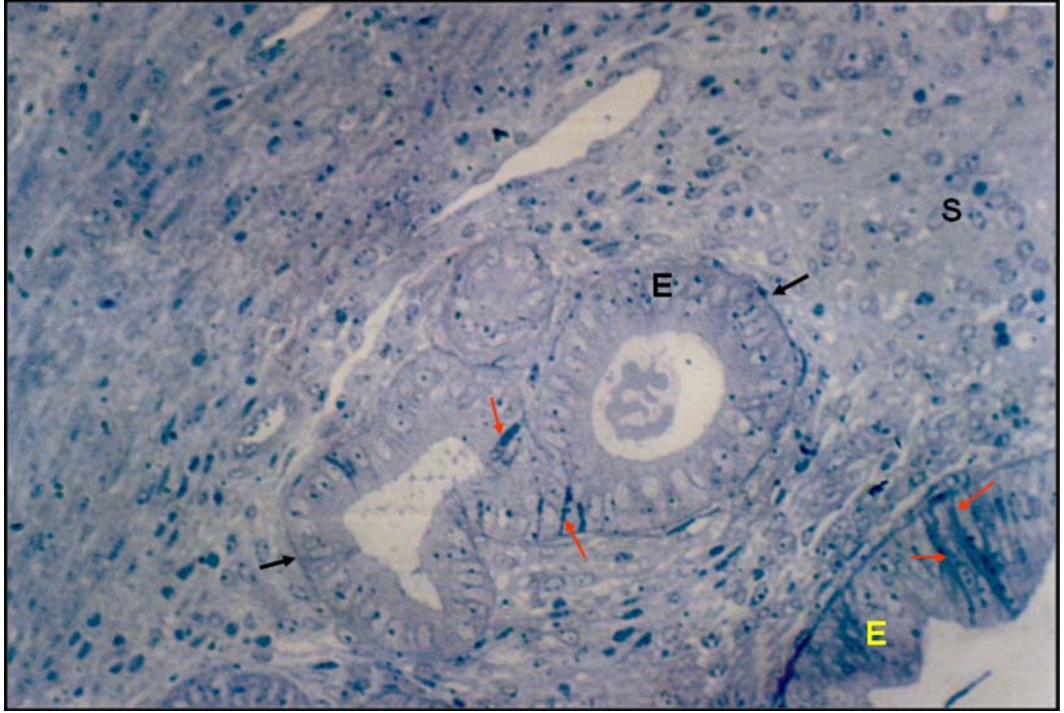
Resim 3: Fito-0. Transmission elektronmikroskopik olarak normal görünen endometriyum epiteli. Uranil asetat- kurşun sitrat X9000



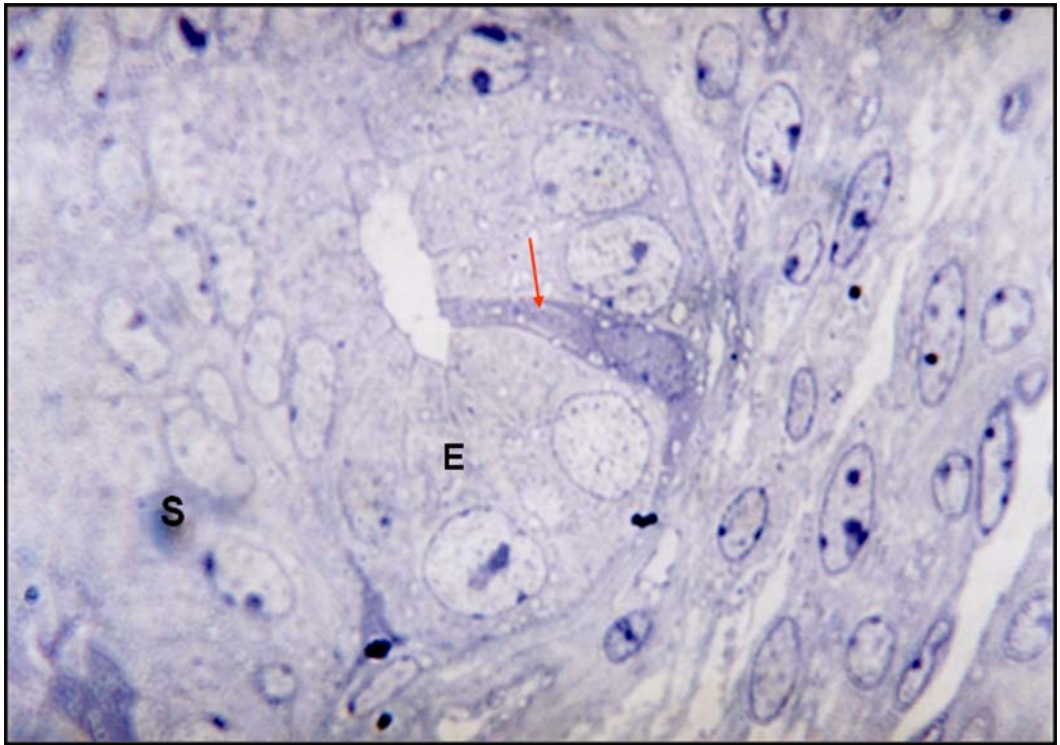
Resim 4: Fito-0. Scanning elektronmikroskopik görünüm. Endometriyum epiteli (E), pinopodlar (yeşil oklar). X 1.85 KX



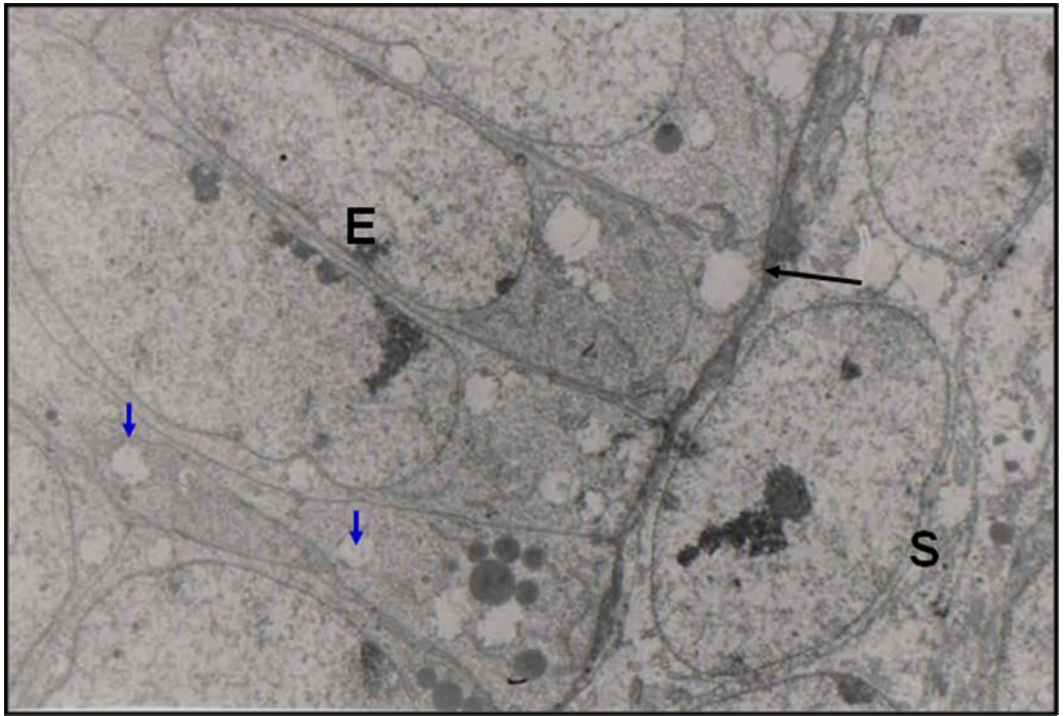
Resim 5 : Fito-0. Endometriyum epiteli (E), pinopodların transmission elektronmikroskopik görünümü (yeşil ok). Uranil asetat-kurşun sitrat X9000.



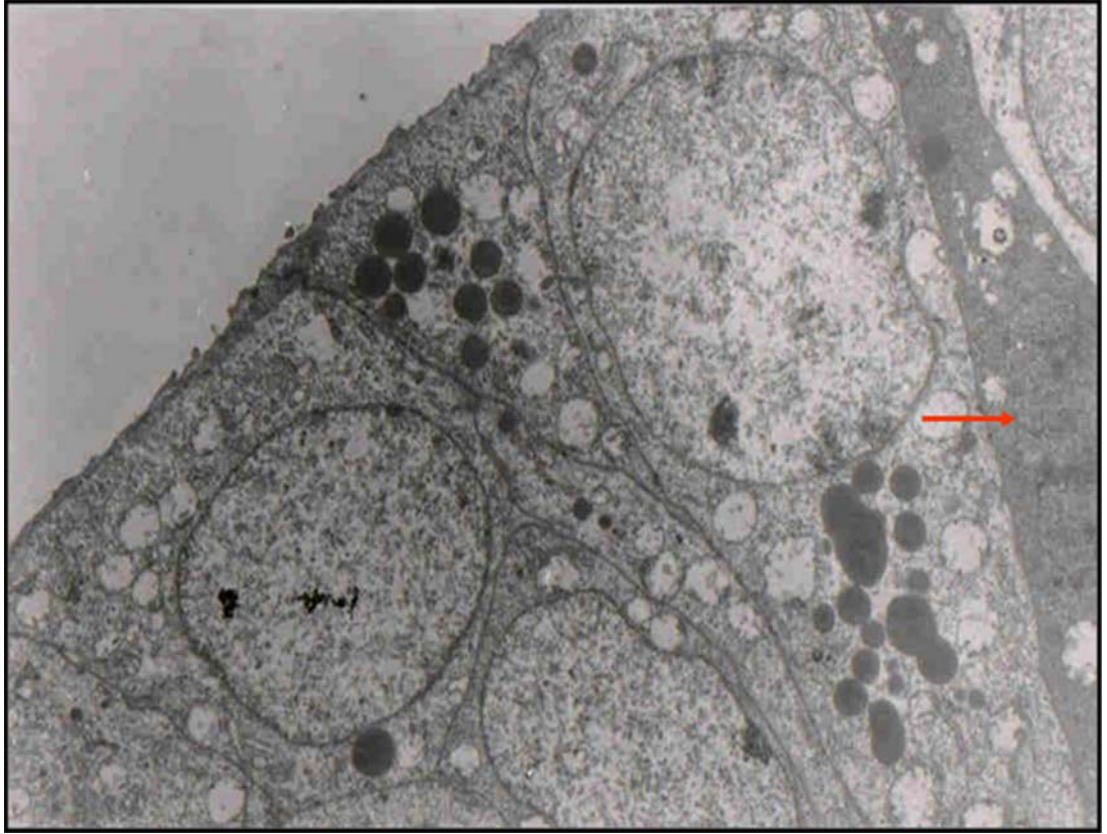
Resim 6 : Fito 500. Endometriyum yüzey epiteli (sarı E), endometriyum bez epiteli (E), koyu boyanan epitel hücreleri (kırmızı oklar), epitel bağ doku geçişi (→). Toluidin mavisi X200



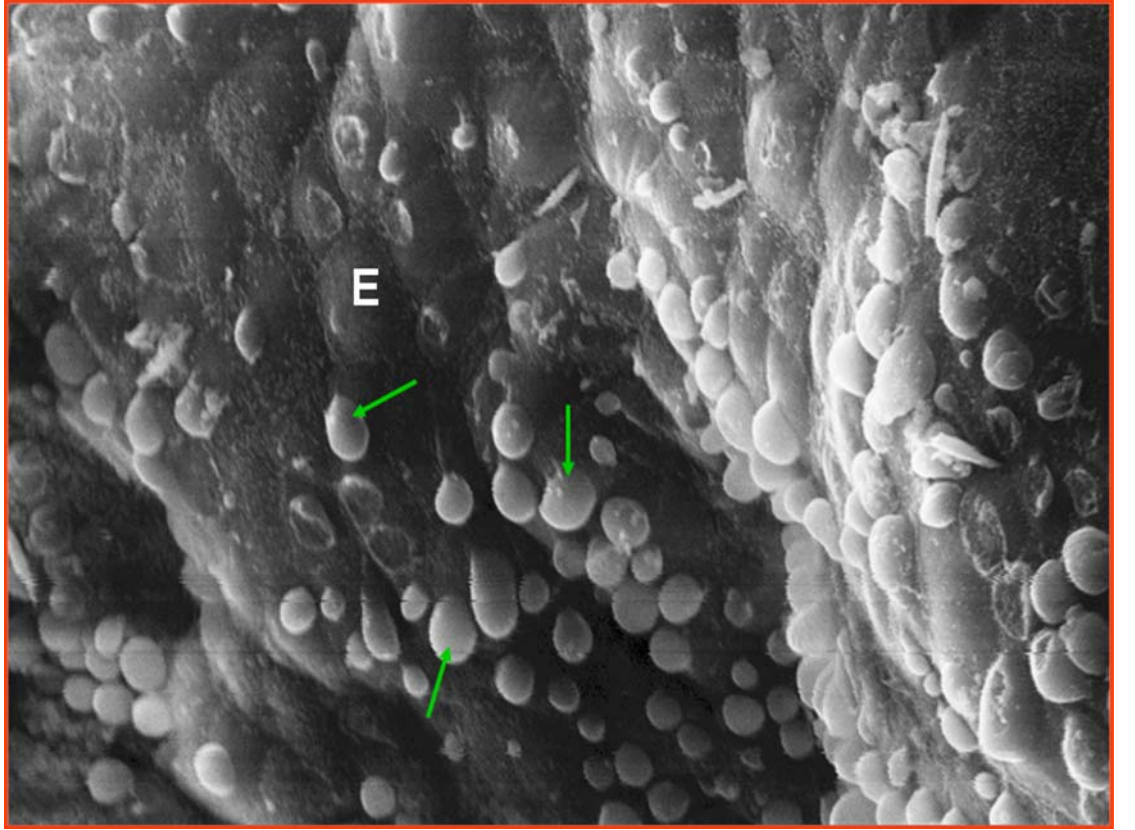
Resim 7: Fito-500. Normal görünümde endometrium bez epiteli (E), stroma (S), koyu boyanan hücre (kırmızı ok). Toluidin mavisi X400.



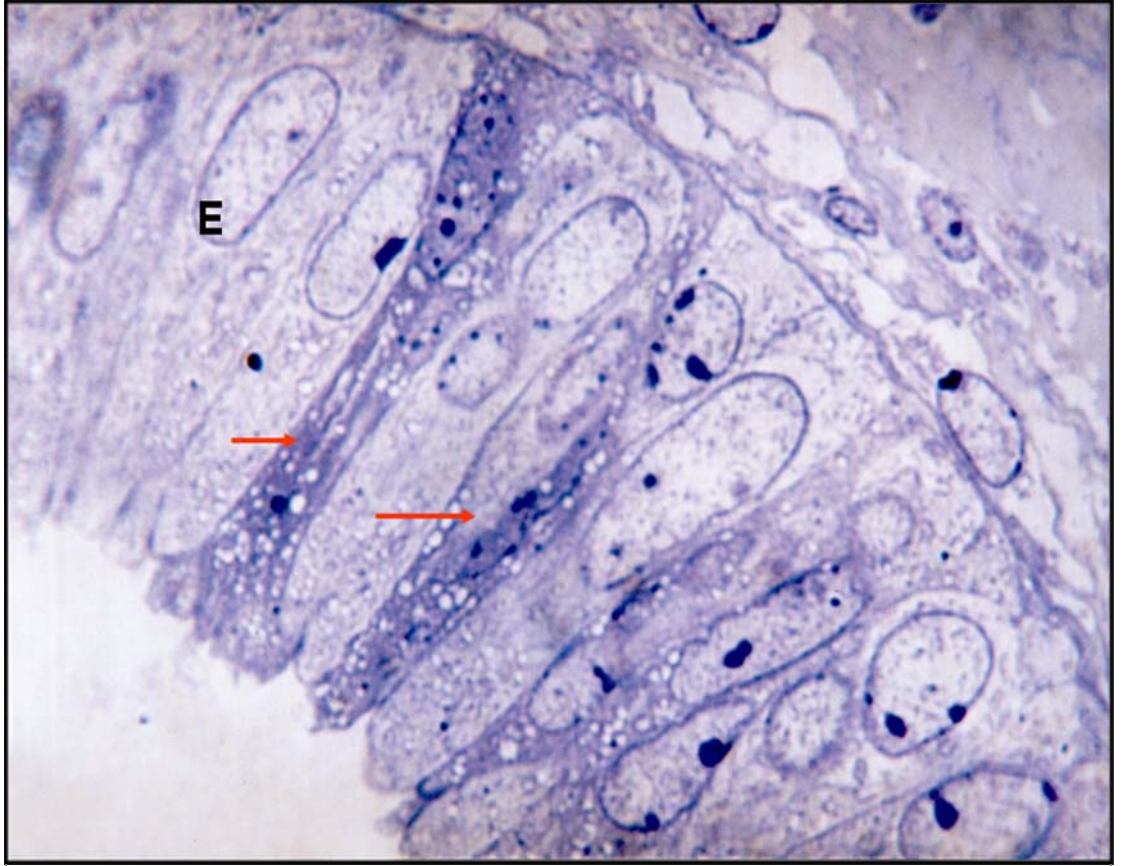
Resim 8: Fito-500. Transmission elektronmikroskopik olarak normal görünümde endometriyum yüzey epiteli (E), mitokondrial kristalizis (mavi oklar). stroma (S), epitel bağ doku geçişi (→), Uranil asetat-kurşun sitrat X9000.



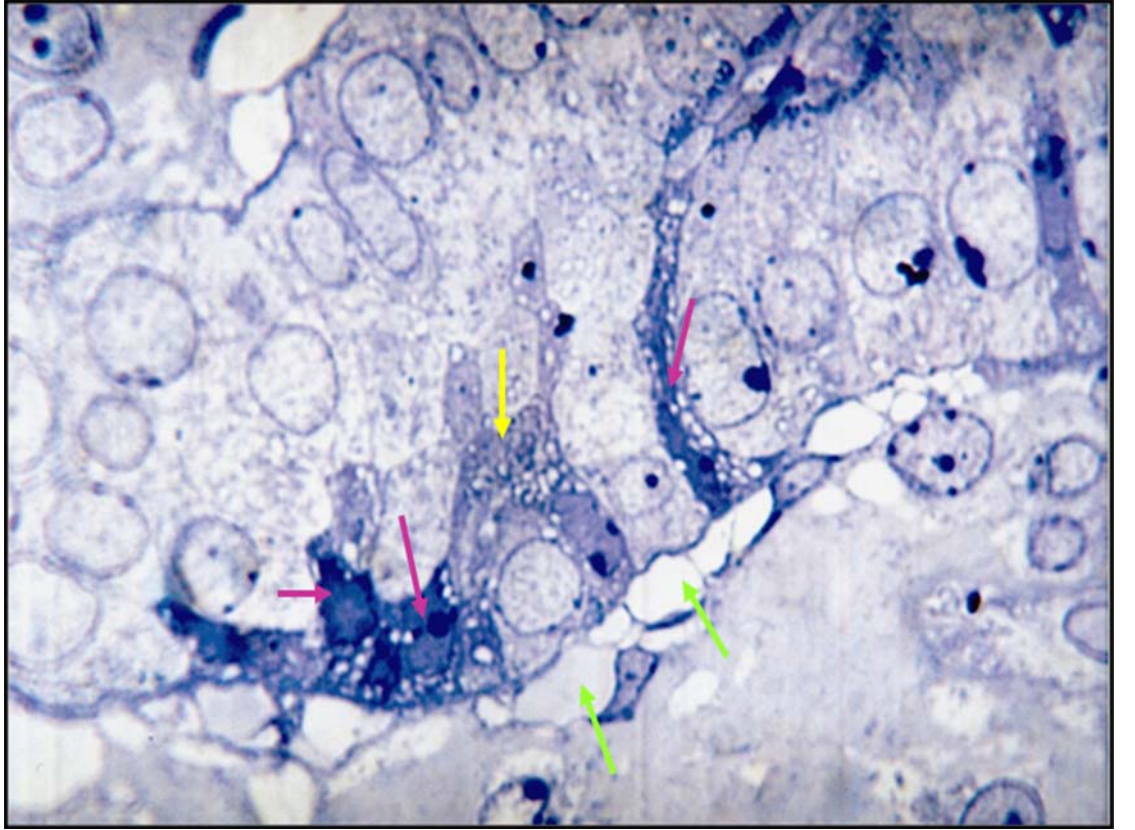
Resim 9: Fito-500. Ultrastrüktürel özellikleri gözlenemeyen elektron dens epitel hücre (kırmızı ok). Uranil asetat-kurşun sitrat X9000.



Resim 10: Fito-500. Endometriyum yüzey epiteli (E), pinopodlar (yeşil oklar) X3.88 KX.



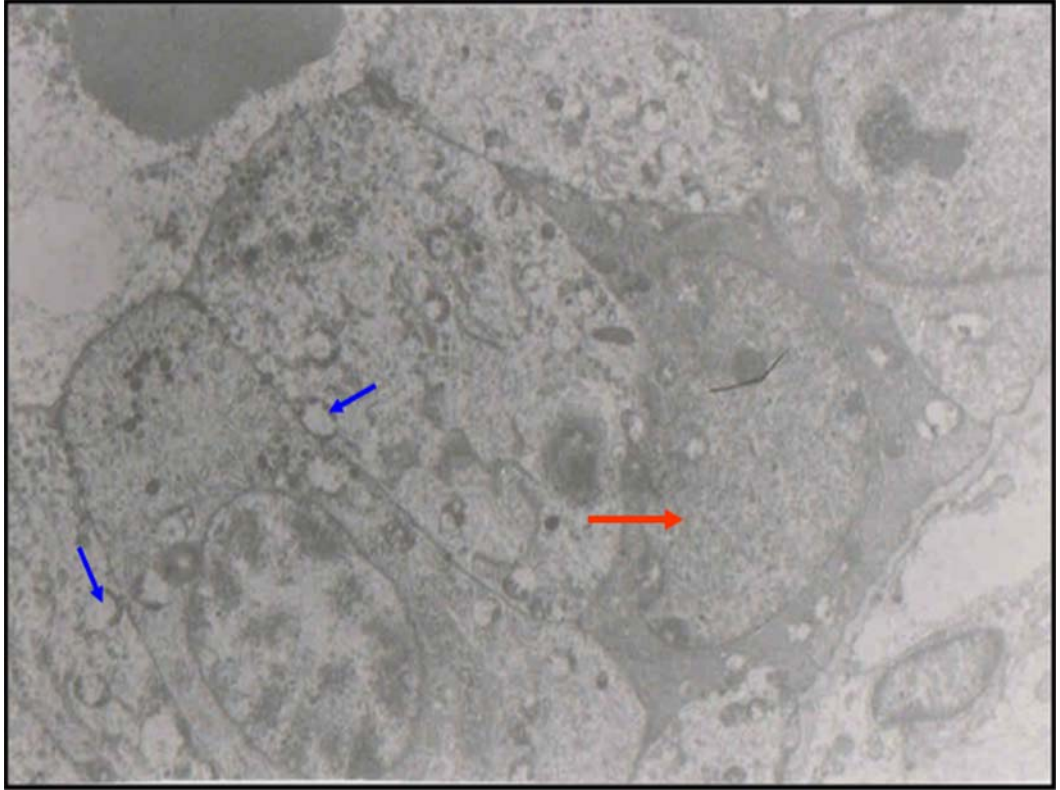
Resim 11: Fito-1000.Yüzey epiteli (E), koyu boyanan yüzey epitel hücreleri (kırmızı oklar). Toluidin mavisi X1000



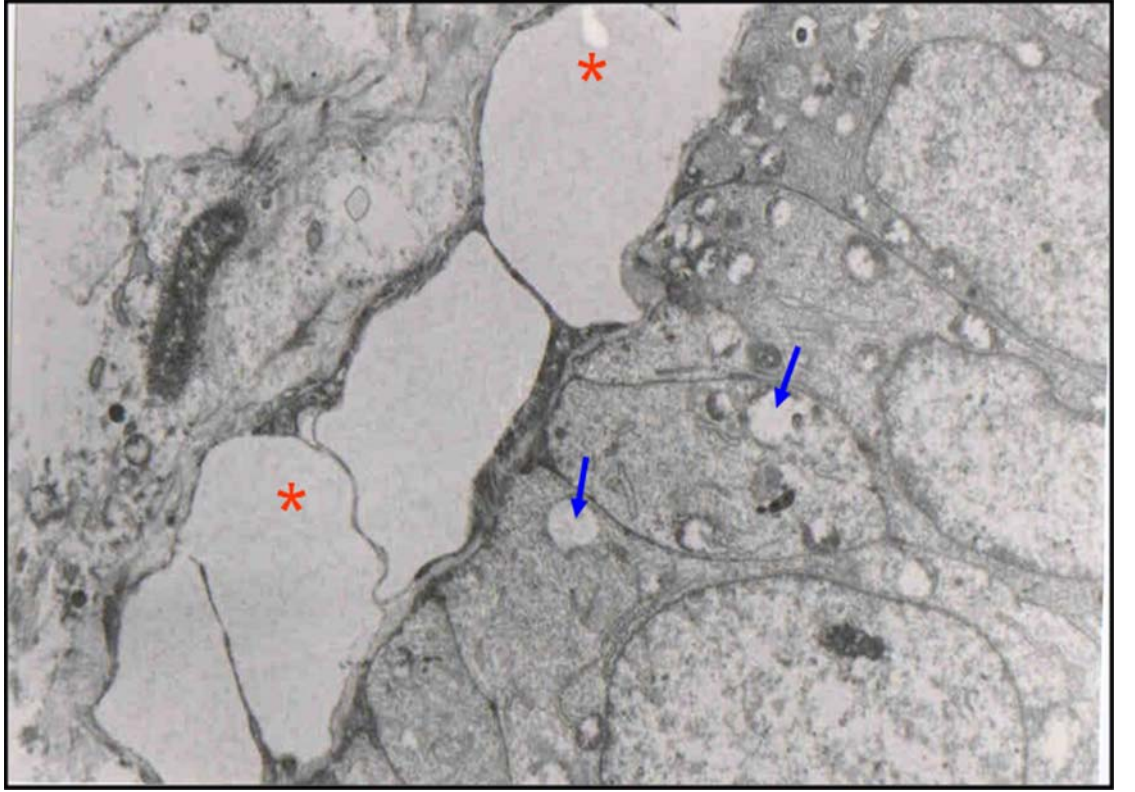
Resim 12: Fito-1000. Endometrial bez epitelinde yer alan apoptotik hücreler (pembe oklar), proapoptotik hücre (sarı oklar), endometriyum bağ doku geçişinde ödematöz alanlar (yeşil oklar). Toluidin mavisi X1000



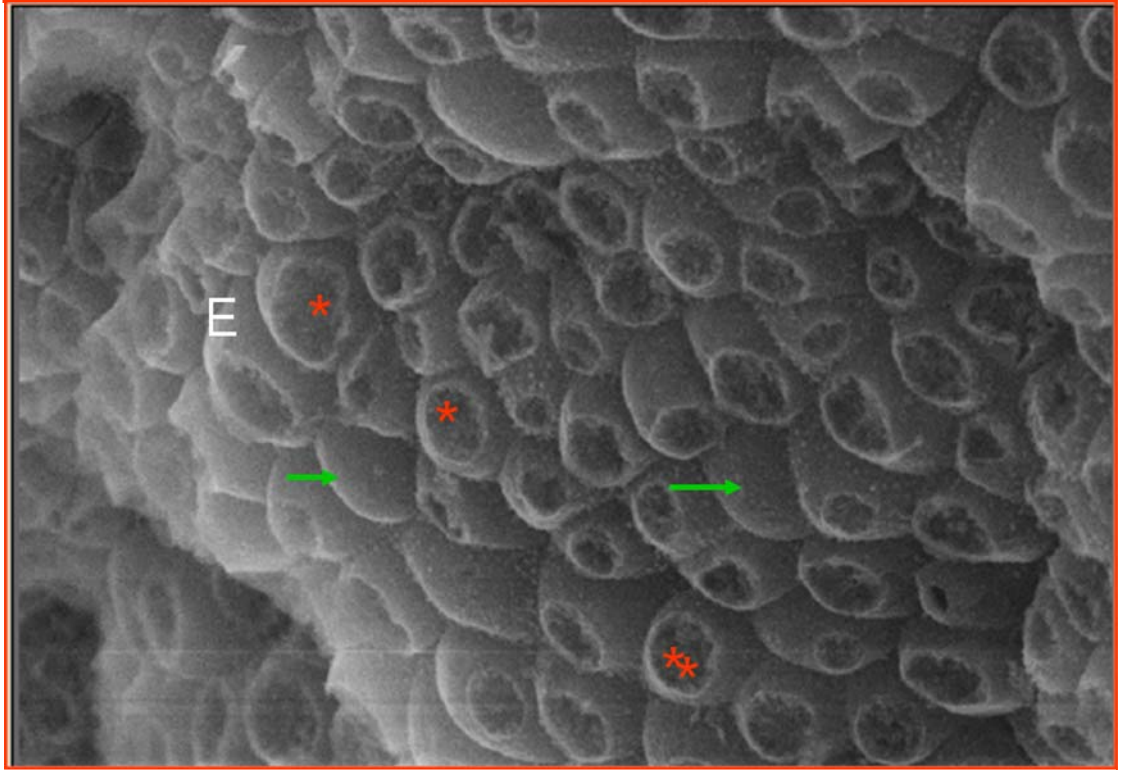
Resim 13: Fito 1000. Endometrial bezlerde yer alan eşlektron dens apoptotik hücre (kırmızı ok). Uranil asetat-kurşun sitrat, X9000.



Resim 14: Fito-1000. Yüzey endometrial epitelde apoptotik hücre (kırmızı ok), mitokondrial şişme ve kristalizis (mavi oklar). Uranil asetat-kurşun sitrat X9000.



Resim 15: Fito-1000. Epitel bağ doku bileşkesinde ödematöz alanlar (*), mitokondrial swelling ve kristalizis (mavi oklar). Uranil asetat-kurşun sitrat X9000.



Resim 16: Fito-1000. Yüzey endometriyum epiteli (E) , Sekresyon aktivitesindeki endometrial hücreler (*), pinopodlar (yeşil oklar) X 6.98 KX.

V. TARTIŞMA VE SONUÇ

Literatürde fitoöstrojenlerin çeşitli hastalıklar ve dokular üzerine olan etkilerini araştıran çok sayıda çalışma bulunmaktadır.

Primatlarda östrojen eksikliğine bağlı olarak aterosklerozis gelişiminin arttığı belirtilmektedir.⁹⁰ Fitoöstrojenden zengin beslenmenin ise vasküler hareketi arttırarak aterosklerozis oluşumunu engellediği ve kolesterolü düşürdüğü bildirilmiştir.^{90,91,92,93}

Fitoöstrojenlerin menopoş döneminde östrojen seviyesindeki azalmaya bağlı olarak meydana gelen menopoş şikayetlerini azalttığı, östrojen azalmasına bağlı osteoporoz ve kalp damar hastalıklarına karşı koruyucu etkisi olduğu bir çok çalışmada gösterilmiştir.^{81,82,83,84,85,86,87,88}

Son yıllarda menopoş döneminde kullanılan östrojen replasman tedavisi yerine fitoöstrojen kaynaklı besinlerin kullanımının etkileri gündeme gelmiştir. Menopoş ve menopoş sonrası dönemde görülen sıcak basmaları, gece terlemeleri gibi vazomotor semptomların azalmasında fitoöstrojenlerin etkili olduğunu gösteren çalışmalar bulunmaktadır. Albertazi ve arkadaşları menopoş sonrası kadınlarda günde 76 mg fitoöstrojen diyetinin sıcak basması oranını yarıya indirdiğini bildirmişlerdir⁸¹

Menopoş dönemindeki kadınlarda diyetle alınan fitoöstrojenlerin etkilerinin araştırıldığı diğer bir çalışmada ise, kırmızı yonca içeren fitoöstrojen tabletlerinin kullanımının sıcak basması şikayetlerinde etkili olmadığı fitoöstrojenlerin etkinliğinin, bitki türündeki fitoöstrojen içeriğine göre farklı olduğu gösterilmiştir.^{86,89}

Fitoöstrojenlerin, östrojenik etkileri ile ilgili çalışmalar genellikle üreme organlarında yapılmıştır. Fitoöstrojenlerin, meme, vajina ve uterus üzerine olan etkileri insan ve hayvan çalışmalarında incelenmiştir.

Ross ve arkadaşları yaptıkları çalışmada ovaryumu çıkarılmış sıçanlarda diyetle genistein uygulamasının 375 µg/g gibi düşük dozlarda uterotrofik etki gösterdiği, 750 µg/g gibi yüksek dozlarının ise hipotalmik ve mamotrofik etkileri olabileceğini bildirmişlerdir.⁶⁷

Delclos ve arkadaşları yüksek dozda soya ile beslenen erkek ve dişi deneklerde meme bezlerinde hiperplazi ve hipertrofi gözlemlemişlerdir. Yüksek dozda genistein kullanımında dişi deneklerin vajinal hücrelerinde anormal gelişmeler gözlemlendiğini bildirmişlerdir.⁹⁴

Literatürde fitoöstrojenlerin uterus üzerine olan etkilerini inceleyen çalışmalar gün geçtikçe artmaktadır.

Fitoöstrojenler östrojen reseptörlerine bağlanarak östrojenik veya antiöstrojenik aktivite gösterirler. Etkileri 17-β-östradiol veya ethinylestradiol gibi endojen veya sentetik östrojenlere kıyasla daha düşüktür.⁹⁵ Fitoöstrojenlerin ERβ'ya bağlanma affinitesi, ERα'ya bağlanma affinitesinden daha fazladır.⁹⁶

Staar S ve arkadaşları, menopoz öncesi kadınlarda fitoöstrojenlerin östrojen reseptörlerinin ekspresyonlarını etkilediğini inceleyen bir çalışma yapmışlar. Fitoöstrojenlerin, ERα'nın fazla ekspresyonlarında anti östrojenik, ERβ ekspresyonunda ise östrojenik etki gösterdiğini bildirmişlerdir. Endometriyum bez hücreleri tek doz genistein ve daidzein ile uyarılmış, zaman ve doza bağlı olarak ERα-mRNA ekspresyonunun azaldığı, ERβ mRNA ekspresyonunun ise arttığı gözlenmiştir.⁹⁷

Michelle ve arkadaşları, yaptıkları çalışmada genisteinin rat uterusunda sex steroid reseptörlerini farmakolojik olarak düzenlediği fakat fizyolojik olarak etkilemediğini bildirmişlerdir. 21 günlük ratlarda 500mg/g genisteinin farmakolojik olarak enjekte edilmesinin ardından döngüsel östrojenin arttığı, progesteron konsantrasyonunun azaldığı, uterusu ERα ve AR (Androjen Reseptörü) proteinlerinin ve ERα m-RNA ekspresyonunun, PR (Progesteron Reseptörü) proteininin arttığını

bildirmişlerdir. 250mg/kg genistein içeren AIN 76 diyeti ile beslenmenin ardından uterus ER α , AR ve PR seviyelerinde önemli bir değişiklik olmadığı belirtilmiştir.⁹⁸

Bu çalışmada da düşük doz grubumuz olan Fito-500 grubunda elde edilen ince yapı bulguları Fito-0 grubuna ait bulgulara daha yakın olarak gözlendi.

Fitoöstrojenler; östrojen reseptörü pozitif olan hücrelerin büyümelerini, uterusu ağırlık artışını, östrus döngüsünün düzenlenmesini, östrojen reseptörlerine bağlanmada östradiol ile rekabeti ve östrojen reseptörü bağımlı taşıyıcı genlerin aktivitelerini uyarırlar^{57,99,100,101}.

Yapılan bir çalışmada, doğal diyetle bulunan %0,01 ila %0,1 oranındaki yüksek coumestrol dozlarının 90 saatlik kısa periyotta östrojenik etki göstererek uterus büyümesini indüklediği, daha düşük konsantrasyonlarının (%0,005) ise kısa periyotta aktif olmadığı, 180 saatte aktive olup uterus büyümesini indüklediği bildirilmiştir. Coumestrol tarafından indüklenmiş uterus büyümesi, reseptör sayısına bağlı olarak sitozolik progestin reseptörlerinin indüklenmesi ve nükleer östrojen bağlanmasındaki artışla açıklanmıştır.¹⁰¹

Diel ve arkadaşları, genisteinin uterus ve vajinada zayıf östrojen reseptör (ER) agonisti olduğunu, normal ve malign uterus dokularında SERM (selective estrogen receptor modulator) benzeri etki gösterdiğini bildirmişlerdir. Ovaryumları çıkarılmış ratlarda 25, 50, 100 mg/kg genistein dozlarının 3 gün ağızdan uygulamasının ardından, ethynil östradiol ile karşılaştırıldığında, doza bağlı olarak uterus ağırlığında, uterus ve vajina epitel yüksekliklerinde artış olduğunu ve östrojen bağımlı gen ekspresyonlarının arttığını bildirmişlerdir. Genisteinin malign rat uterus dokularındaki etkilerini incelemek için ise RUCA-I endometrial adenokarsinoma hücrelerine 28 gün (50mg/kg/gün) genistein uygulaması yapılmış, genisteinin invitro tümör büyümesini inhibe etmediği fakat

östrojene duyarlı genlerin ekspresyonunu arttırarak östrojen gibi davrandığı bildirilmiştir.¹⁰²

Cline ve arkadaşları, diyetle alınan soya isoflavonunun dişilerde endometritis (mukoza inflamasyonu), vajina epitelinde keratinizasyon, uterus büyümesinde, endometriyum yüzey epitel yüksekliklerinde artış ve uterusta squamous metaplazi gibi östrojenik uyarıları olduğunu bildirmişlerdir.¹⁰³

Memeli türünde hormon tedavilerinde östrojenlerin tek başına uygulanması endometriyum ve miyometriyumda proliferasyona yol açar. Dokuda sıvı Emilimi ardından endometriyum ve miyometriyum hücrelerinde proliferasyon oluşumu, uterus ağırlığının artmasıyla sonuçlanır.^{104,105} Kadınlarda hormon tedavilerinde kullanılan sentetik östrojenler endometriyumda hiperplaziye neden olmakta ve sonuçta bu organda kanser riski 10 kat artmaktadır.¹⁰⁴ Progestinler östrojen ile kombine edildiğinde ise kanser riski artacağına azalmaktadır.¹⁰⁶ Östrojen tedavisinin bu etkileri soya izoflavonlarının endometriyumda güvenilirliği ile ilgili soruları gündeme getirmiştir.⁷⁹

Literatürdeki hayvan deneyleri ve klinik çalışmalar izoflavonların endometriyumu etkilediğini fakat tehlikeye atmadığını bildirmiştir. Bu nedenle birçok besin desteği 50-100 mg izoflavon içermektedir. Bu doz ratlarda 5-10mg olarak belirlenmiştir. Bu dozların uterusta etkili olmadığını bildiren çalışmalar bulunmaktadır.^{107,108} Bunun yanında diğer çalışmalar 3-6 kat daha yüksek dozlardaki izoflavonun, ratlarda uterus büyümesini arttırdığını göstermiştir.^{109,110,111,112} Bu nedenle izoflavonların güvenlik sınırları çok geniş değildir. Ratlar üzerinde yapılan bir çalışmada genisteinin östrojen uyarımlı uterus parametrelerini inhibe edici etkisi gösterilmiştir.¹¹² Bu verilere dayanılarak izoflavonların yüksek dozları menopoz sonrası kadınlarda uterus parametrelerini uyardığı sonucuna varılmıştır.⁵⁸

Unfer ve arkadaşları yaptıkları uzun süreli klinik çalışmada, 5 yıl boyunca günde 150 gr soya içeren tablet kullanımında menopoza sonrası kadınlarda endometriyal hiperplazi meydana geldiğini, placebo kullanan grupta ise hiperplazi gözlenmediğini bildirmiş ve soya fitoöstrojenleri ile uzun süre tedavinin endometriyal hiperplazi oluşumunu arttırdığı sonucuna varmışlardır.¹⁷

Unfer ve arkadaşları yaptıkları diğer çalışmada, intrauterin inseminasyon sırasında Clomiphene Citratla birlikte yüksek dozda verilen fitoöstrojenlerin, östrojen benzeri etki göstererek Clomiphene Citrat'ın endometrium kalınlığını azaltıcı etkilerini değiştirdiğini bildirmişlerdir. Clomiphene Citratla birlikte fitoöstrojen kullanılan grupta, sadece Clomiphene Citrat kullanan gruba göre endometriumun daha kalın olduğu, düşük yapma oranının daha az olduğu ve gebelik oranlarının daha yüksek olduğu bildirilmiştir.¹¹³

Chang MJ ve arkadaşları, isoflavonların juvenil ratlarda endometrium hücrelerinde histolojik olarak fenotipi değiştirmediğini fakat erişkin ratlarda endometriyumda hiperplaziye neden olduğunu bildirmişlerdir.¹¹⁴

Palacios ve arkadaşları, 12 ay boyunca Standart soya özü (70mg/gün) ile tedavi edilmiş menopoza sonrası kadınlardan alınan endometrium biyopsilerinde, endometrium uyarımının olmadığını, endometrium kalınlığında artış gözlenmediğini, hiperplazi ve tümörleşme oluşmadığını, ayrıca alınan biyopsilerden %99.67 sinin aktif olmayan endometrium, %0,33' ünün ise proliferatif endometrium olduğunu bildirmişlerdir.¹¹⁵

D'Anna ve arkadaşları, 12 ay boyunca saf genistein uygulamasının menopoza sonrası kadınlarda sıcak basmaları, gece terlemeleri gibi vazomotor belirtilerin azalmasında etkili olduğunu, fakat endometrium kalınlığını ve olgunlaşma değerlerini etkilemediğini bildirmişlerdir.¹¹⁶

Judith L. ve arkadaşları, yaptıkları çalışmada HRT (Hormon Replasman Tedavisi) almayan menopoz sonrası kadınlarda fitoöstrojen uygulamasının endometriyum uyarımı ve hücresel proliferasyon meydana getirmediği bildirilmiştir. Biyopsi örneklerinin atrofik ve inaktif endometriyumla uyumlu olduğu gözlenmiştir.¹¹⁷

Kayıslı ve arkadaşları ise, genistein, genistin, daidzein, ve daidzin isoflavonlarının doza bağlı olarak, endometriyum stroma ve bez hücrelerinin proliferasyonunu indüklediğini bildirmişlerdir. Proliferatif etkileri yüksek izoflavon konsantrasyonlarında ve östradiolün proliferasyonu indükleme etkisinden %8-15 daha düşük olduğu bildirilmiştir. Endometriyal bez ve stroma hücrelerinde tek başlarına zayıf östrojenik etkiye sahip olan isoflavonların östrojen varlığında antiöstrojenik etki gösterdikleri ve hücre proliferasyonunu PCNA (Proliferating Cell Nuclear Antigen) ekspresyonunu etkileyerek düzenlediği sonucuna varılmıştır.¹¹⁸

Kısırlaştırılmış erişkin ratlarda 21 gün soya ekstraktı ile tedavide, günde 100mg/kg ve üzerindeki konsantrasyonlarda endometriyum ve miyometriyumda proliferasyon gözlenmiştir.¹¹⁹

Bu çalışmada uterus endometriyum kalınlıkları morfometrik olarak değerlendirilmiş. Fito 1000 grubunda çok sayıda apoptotik hücre gözlenmesine rağmen gruplar arasında morfometrik olarak anlamlı fark bulunmamıştır.

Gui-hua Sha ve arkadaşları yaptıkları çalışmada, invitro endometriyal kanser (HEC1-B) hücreleri ve insan endometriyal endotel hücrelerinin (HEEC) kültürlerinde genisteinin hücre proliferasyonunu doza bağımlı şekilde inhibe ettiğini ayrıca 17 β -östradiol' ün endotel hücrelerinin proliferasyonunda genisteinin etkilerini baskılamadığını gözlemlemişlerdir. 200 μ m/l genistein dozunun HEEC ve endometriyal bez epitel hücre

proliferasyonunu eş zamanlı olarak invitro ortamda inhibe ettiği gözlenmiştir.¹²⁰

Epidemiyolojik çalışmalar, fitoöstrojenden zengin beslenmenin meme ve prostat kanseri gibi östrojene bağlı kanserleri koruyucu olabileceğini göstermiştir.^{121,122} Bu koruyucu etkilerini, östrojen reseptörlerine bağlanıp, östradiol ve diğer östrojenlerin bağlanmasını engelleyerek gösterirler. Fitoöstrojenler düşük östrojenik potansiyellerinden dolayı güçlü östrojenik cevap gösteremezler ve sonuçta sahip oldukları antiöstrojenik etkileriyle östrojene bağlı kanser hücrelerinin büyümesini ve proliferasyonunu engellerler.⁶⁷

Fitoöstrojenden zengin diyetin endometriyum kanseri üzerine olan direk etkisinin incelendiği bir çalışmada, soya ürünleri tüketiminin, endometriyum kanser riskini %50'den daha fazla oranda azalttığı, kanser riskindeki azalmanın hiç doğum yapmamış ve östrojen replasman tedavisi almamış kadınlarda daha güçlü olduğu bildirilmiştir.¹⁶

Fitoöstrojenler düşük endojen, östrojen seviyeleri ve östrojen reseptörlerine bağlanmalarının yanında, yağ dokuda androsteneidon'un östrona dönüşümünden sorumlu olan aromataz enzimini inhibe ederek de endometriyum kanser riskini etkilerler.^{6,67,123,124}

Bununla birlikte yüksek plazma östron seviyelerinin obezite ve endometriyum kanseri ilişkisinde önemli olduğu bilinmektedir¹²⁵. Obezite ile menopoz sonrası kadınlarda oluşan endometriyum kanseri riski arasındaki ilişki yağ dokudaki androsteneidonun östrona yüksek dönüşümü ile açıklanabilir. Fitoöstrojen diyeti ile aromataz enzimi inhibe edilerek kanser riski düşürülebilmektedir.

2009 yılında yapılan çalışmada, zayıf kadınlarda kuersetin ve isoflavon tüketiminin endometriyum kanser riskini azalttığı belirtilmiştir.¹²⁶

Bunun aksine Edmunds KM ve arkadaşları yaptıkları çalışmada genisteinin enzim ekspresyonunu artırma yoluyla endometriyum stroma hücrelerinde aromataz aktivitesini uyararak kanser riskini arttırabileceğini bildirilmişlerdir.¹²⁷

Yenidoğan farelerde cilt altı genistein uygulaması uterus adenokarsinomlarının görülme sıklığını arttırırken^{21,99}, aynı yolla verilen genistein bir başka çalışmada östrojen etkisiyle oluşan endometriyum kanserine karşı koruyucu etki göstermiştir.¹²⁸

Miguel Angel ve arkadaşları, genisteinin östrojeni tükenmiş fare uteruslarında kısmi agonist özelliği gösterdiği ve bez hücrelerinde apoptoz ve çeşitli atipiaları indüklediği belirtmiştir.¹²⁹

Renea R. ve arkadaşları, hayat boyu soya besinine maruz kalan genç erişkin ratlarda genisteinin uterus endometrial bezlerinde apoptozu arttırırken, lümen epiteli ve stromal hücrelerde arttırmadığını ve uterus fenotipini değiştirmediğini bildirmişlerdir.¹³⁰

Bizim çalışmamızda da ışık mikroskopik ve elektron mikroskopik olarak fito 500 grubunda endometrial bezlerde ve stromada çok az sayıda proapoptotik ya da apoptotik hücreler gözlenirken, fito 1000 grubunda çok sayıda proapoptotik ve apoptotik hücreler tespit edildi. Ancak literatür bilgilerinin aksine fito 1000 grubunda yüzey epitel hücrelerinde de yoğun apoptotik hücrelerin varlığı tespit edildi. Stromada az sayıda proapoptotik hücre vardı.

Yapılan çalışmaların bir bölümünde genistein anormal ve normal mitotik hücrelerin neden olurken endometriyum hücre çekirdeklerinin dev boyutlara ulaşmış olduğu gözlenmiştir.¹²⁹

Bu çalışmadaki doku örnekleri incelendiğinde yüzey ve bez epiteli hücrelerinde ve stromal hücrelerde dikkati çekecek sayıda mitotik görünümlü hücrelere ve dev çekirdeklere rastlanmadı.

Endometriyumda embriyo implantasyonunun gerçekleştiği “implantasyon penceresi” sürecinde yüzey epitel hücrelerinin apikalinde düzgün, pürüzsüz yüzeyli, balon ya da mantar görünümlü 3-6 m çapında çıkıntı şeklinde yapılar gelişir, hücre yüzeyini kaplayan bu yapılar pinopod adını alır.^{131,132}

İnsanlarda mestruel siklusun luteal fazında pinopod morfolojisinde değişiklikler olmaktadır. Pinopodların gelişiminde üç aşama bildirilmiştir. Bunlar gelişmekte olan pinopodlar, olgun pinopodlar ve gerilemiş pinopodlardır.¹³²

Pinopodların endometriyumda kalış süreleri ile ilgili yapılan çalışmalarda çelişkili raporlar bulunmaktadır. Bazı çalışmalarda pinopodların orta sekretuar fazda 48 saatten az durduğu belirtilmiştir^{132,141}. Bazı çalışmalarda ise pinopodların ovulasyondan hemen sonra oluşmaya başladıkları ve sekretuar fazın sonuna kadar varlıklarını sürdürdükleri bildirilmiştir^{133,134,135}.

Creus ve arkadaşları yaptıkları çalışmada sekretuar fazda alınan biyopsilerin %50 sinden fazlasında pinopodların LH+7 ile LH+11 günler arasında gözlendiği bildirilmiştir.¹³⁶

Acosta ve arkadaşları yaptıkları çalışmada pinopodların menstrual siklusun 20.-21. Günleri arasında görülmeye başladığını ve 28. Güne kadar varlıklarını sürdürdüklerini bildirmişlerdir.¹³⁷

Rat endometriyumunda pinopodların döllenmenin 4. gününde (İmplantasyon ncesi) sayılarının artmaya başladığını, implantasyon günü olan 5. günde pinopodların tam gelişmiş olduğu ve 6. günde (implantasyondan sonrası) hızla yok olduklarını gösteren çalışmalar vardır.^{138,139}

Yapılan çalışmalarda pinopodların salgı aktivitesinin olduğu ve LIF (Leukemia Inhibitory Factor) ile dolu salgı veziküllerinin uterus lümenine salındığı gözlenmiştir.¹⁴⁰

LIF ve LIF reseptörlerinin ekspresyon zamanlarıyla pinopod oluşumu arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışmalarda pinopodların erken sekretuar evrede oluşmaya başladığı, orta sekretuar evrede tam geliştiği ve salgı aktivitelerini tamamlamış olan pinopodların geç sekretuar evrede geriledikleri bildirilmiştir.^{141,135}

Bu çalışmada da fito-0 grubundan alınan endometrial örneklerde az sayıda pinopod gözlendi endometriyumun orta sekretuar evrede olduğu düşünüldü. Fito 500 grubunda ise aynı evrede alınan endometrial örneklerde daha çok sayıda pinopod gözlendi. Orta sekretuar evrede gözlenen bu bulgular fitoöstrojenin 500 l k uygulamasının endometriyumun sekresyon evrelerini hızlandırdığı şeklinde yorumlandı. Fito-1000 grubu örnekler fito-0 ve fito-500 grubu ile karşılaştırıldığında ise pinopodların hemen hiç gözlenmediği dikkati çekti. Tüm yüzey epitel hücrelerinin apikalinde pinopodların yerinde krater benzeri yapılar gözlendi. Bu görünüm literatürlerde tanımlanan geç sekretuar evredeki endometriyum yapısı ile  zdeşti. Fito 1000 uygulaması ile salgılayanın erken aktive edildiği düşünüldü.

Bu çalışmada erişkin farelerde düşük doz fitoöstrojen uygulamasının endometriyum dokusunda ince yapı düzeyinde önemli bir değişiklik oluşturmadığı ancak sekretuar evreyi hızlandırdığı belirlendi. Ancak yüksek doz fitoöstrojen uygulamasının endometriyumda apoptozu indüklediği ve hücresel dejenerasyonlara neden olduğu ve endometriyumu erken dönemde geç sekretuar evreye ulaştırdığı saptandı.

Sonuç olarak, bu çalışmada yüksek doz fitoöstrojen uygulaması sonucu elde edilen ince yapı düzeyindeki dejeneratif etkiler fitoöstrojenlerin olumsuz etkilerini ortaya koyan az sayıda çalışmayı destekler niteliktedir.

Ayrıca, yüksek doz fitoöstrojen uygulaması nedeniyle ovulasyonla eş zamanlı olaylanması beklenen geç sekretuar evrenin erken oluşması sonucu fertilitenin etkilenebileceği düşünülmektedir.

VI. ÖZET

Fitoöstrojenler, bitki türlerinde bulunan ve östrojen benzeri etkiler gösteren bitkisel östrojenlerdir. Diyetsetel fitoöstrojenlerin menopoz döneminde oluşan şikayetleri, hormona bağlı kanserleri ve birçok kronik hastalığı azaltmada yararlı etkileri olduğu gibi doza bağlı olarak olumsuz yan etkileri de olabilmektedir.

Bu çalışmanın amacı, diyetle alınan fitoöstrojenlerin doza bağlı olarak uterus endometriyumu üzerine olan etkilerini ince yapı düzeyinde incelemektir.

Çalışmamızda denek olarak kullanılan farelere doğumdan sonraki 21. günden itibaren genistein ve daidzein içeren fitoöstrojen diyeti uygulandı. 3 gruba ayrılan denekler fitoöstrojen içermeyen Fito-0 diyeti, 500 µg/g fitoöstrojen içeren Fito-500 diyeti ve 1000 µg/g fitoöstrojen içeren Fito-1000 diyeti ile 6 hafta boyunca beslendiler. 63. günde cinsel olgunluklarını tamamlayan farelerin uterusları anestezi altındayken perfüzyonla tespit edildiler. Çıkarılan uterus doku örneklerinden elde edilen yarı ince kesitler ışık mikroskobunda, ince kesitler transmission, altın kaplı örnekler scanning elektron mikroskobunda incelendiler.

Fito-0 kontrol grubunda, endometriyumun normal yapıda olduğu ve az sayıda hücrede erken sekretuar evre bulgusu olan pinopod ve pinopod öncülü apikal şişkinliklerin olduğu gözlemlendi. Fito-500 grubunda ise apoptotik ve proapoptotik olduğu düşünölen az sayıda koyu boyanan hücreler gözlemlendi. Pinopodların sayıca arttığı ve endometrial hücrelerde mitokondriyal şişme ve krista kaybı oluştuğu gözlemlendi. Fito 1000 grubunda ise bağ dokuda ödematöz alanların varlığı tespit edildi. Diğer gruplarla karşılaştırıldığında yüzey epitel hücrelerinin hemen hepsinde pinopodların kaybolduğu ve yerlerinde apikal çöküntüler oluştuğu gözlemlendi. Bu grupta proapoptotik ve apoptotik hücre sayılarında belirgin artış saptandı Epitel hücrelerinde ultrastrüktörel dejenerasyonlar gözlemlendi.

Sonuç olarak, yüksek dozda fitoöstrojenin uterus endometriyumunda dejeneratif etkilere neden olduđu ve endometriyumun geç sekretuar evreye daha erken girmesini saėlayarak fertilitayı etkileyebileceėi dűşünűlműştűr.

VII. SUMMARY

Phytoestrogens are plant derived estrogens which shows typical estrogenic effects. Dietary phytoestrogens have positive effects such as decreasing the menopause symptoms and the hormone related carcinoma and preventing many chronic diseases and also have some adverse effects depending on the dosage. The aim of this study is to examine the phytoestrogen diet which depend on dosage on ultrastructure of uterus endometrium in mice.

In this study, genistein and daidzein containing phytoestrogen diet was administered to mice starting from the postnatal day 21. guinea pigs were divided into 3 different groups which were fed with 3 different diets for 6 weeks: Phytoestrogen free diet (Phyto-0), a diet containing 500 µg/g phytoestrogen (Phyto-500) and a diet containing 1000 µg/g phytoestrogen (Phyto-1000). After completing their sexual maturity on 63rd day, uterus of test animals were fixed by perfusion. Semi-thin sections of uterus tissue samples were examined under light microscope, thin sections were examined under transmission microscope and gold particules covered sections were examined under scanning electron microscope.

In Phyto-0 control group, endometrium was having its normal structure and only a few cells had pinopodes or apical protrusions (Pinopod precursor) which are the markers of early secretory phase. In Phyto-500, a few numbers of electron dense cells were obtained, which are considered as apoptotic and proapoptotic cells. Pinopod amount were increased and mitochondrial swelling and cristalysis had observed in endometrial cells. In Phyto-1000 group, edematous areas were observed on connective tissues and on almost each epithelial cell, pinopods were disappeared and instead of them apical ruptures has been seen when compared to the other 2 groups. There was a distinct increase in

proapoptotic and apoptotic cells amount, and ultrastructural degenerations were seen in epithelial cells.

In conclusion, the findings of this study indicate that a high dose of phytoestrogen consumption may cause degenerative effect on uterus endometrium and it might effect the fertility by starting the late-secretory phase earlier than the expected time.

VIII. ÖZGEÇMİŞ

Adı : Elif Gülçiçek

Soyadı : Abbasoğlu Topa

Doğum Yeri ve Tarihi : 05.11.1978

Eğitimi : Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Yüksek
Lisansı 2009

Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji
Bölümü Lisans 2000

Ankara Lisesi 1995

Sertifikalar : Sağlık Bakanlığı ÜYTE (Üremeye Yardımcı
Teknikle Eğitimi) Sertifikası 2002

IX. KAYNAKLAR

1. Bickoff EM, Livingston AL, et al. Relative potencies of several estrogen-like compounds found in forages. J. Agric. Food Chem 1962; 10: 10-412.
2. Farmakalidis E, Murphy PA. Oestrogenic potency of genistin and daidzin in mice. Food Chem. Toxicol.1985; 23: 741-45.
3. Farmakalidis E, Murphy PA. Isolation of 6''-o-acetylgenistin and 6''-o-acethyldaidzin from toasted defatted soyflakes. J.Agric. food Chem. 1985; 33: 385-89.
4. Setchell KDR, Adlercreutz H. Mammalian lignans and phytoestrogens: recent studies on their formation, metabolism and biological role in health and disease. In I. Rowland (ed.) role of the gut flora in toxicity and cancer. London: Academic Press. Ltd; 1988. p.315-45.
5. Adlercreutz H, Markkanen H, Watanabe S. Plasma concentrations of phyto-oestrogens in Japanese men. Lancet. 1993; 342: 1209-10.
6. Adlercreutz H, Goldin BR, et al. Soybean phytoestrogen intake and cancer risk. J.Nutr. 1995; 125:757-770S.
7. Kurzer MS, XU X. Dietary phytoestrogens. Annu. Rev. Nutr. 1997; 17:353-81.
8. Thigpen JE, Setchell KDR, et.al. Phytoestrogen content of purified, open-and closed-formula laboratory animal diets. Laboratory Animal Science 1999; 49(5).

9. Day KJ, Bauer AM, desBORDES C, et al. Genistein alters methylation patterns in mice. *J. Nutr* 2002; 132: 2419S-2423S.
10. Adlercreutz H, Manzur W. Phytoestrogens and Western diseases. *Annals Med* 1997; 29: 95-120.
11. Messina M, Barnes S. The role of soy product in reducing risk of cancer. *J.Natl. Cancer Inst* 1991; 83: 541-46.
12. Setchell KDR, Cassidy A. Dietary isoflavones: Biological effects and relevance to human health. *J Nutr.* 1999; 129: 758S-767S.
13. Li S, Washburn KA, et al. Developmental exposure to diethylstilbestrol elicits demethylation of estrogen-responsive lactoferrin gene in mouse uterus. *Cancer Res.* 1997; 57: 4356-59.
14. Adlercreutz H, Manzur W, Bartels P, Elooma V, Watanabe S, Wahala K, et al. Phytoestrogens and prostate disease. *Journal of Nutrition* 2000; 130: 658S-659S.
15. Weber KS, Setchell KDR, Stocco DM, Lephart ED. Dietary soy-phytoestrogens decrease testosterone levels and prostate weight without altering LH, prostate 5 α -reductase or testicular steroidogenic acute regulatory peptide levels in adult male Sprague –Dawley rats. *Journal of Endocrinolgy* 2001; 170: 591-599.
16. Goodman MT, Wilkens LR, Hankin JH, Lyu LC, Wu AH, Kolonel LN. Association of soy and fiber consumption with the risk of endometrial cancer. *Am J Epidemiol* 1997; 146: 294-306

17. Unfer V, Casini ML, Costabile L, Mignosa M, Gerli S, Di Renzo GC. Endometrial effects of long-term treatment with phytoestrogens: a randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Fertil Steril* 2004; 82(1): 145-148
18. Barret J. Phytoestrogens: Friends or foes?. *EHP*. 1996; 104(5): 478-82.
19. Anderson JB, Garner SC. Phytoestrogen in bone. *Baillierre's Clin Endocrinol Metab*. 1998; 12: 543-57.
20. Cederroth CR, Nef S. Soy, phytoestrogens and metabolism: A review. *Mol Cell Endocrinol* 2009; 304(1-2): 30-42.
21. Newbold RR, Banks EP, Bullock B, Jefferson WN. Uterine adenocarcinoma in mice treated neonatally with genistein. *Cancer Res*. 2001; 61: 4325-28.
22. Awoniyi CA, Roberts D, Veeramachaneni DN, Hurst BS, Tucker KE, Schlaff WD. Reproductive sequelae in female rats after in utero and neonatal exposure to the phytoestrogen genistein. *Fertil Steril* 1998; 70: 440-447.
23. Moore KL, Persaud TVN. Klinik Yönleriyle İnsan Embriyolojisi. Dalçık H, Yıldırım M (Çev), 8. İngilizce baskıdan çeviri, İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 2009. s. 263-71.
24. Şeftalioğlu A. Genel ve Özel İnsan Embriyolojisi. 3. Baskı. Ankara: Tıp & Teknik Yayıncılık; 1998.

25. Sadler TW. Longman's Medical Embriyology. 7. Baskı Ankara: Palme Yayıncılık; 1996. s. 272-85.
26. Ross HM, Kaye IG. Histology, A Text and Atlas. 4 th ed. Baltimore: Lippincott Williams and Wilkins; 2003
27. Cunningham GF, Gant FN, Leveno JK, Gilstrap CL, Hauth CJ, Wenstram DK. Williams Obstetrics. 21. st ed. North America: Medical Publishing Division, Mc Graw-Hill Companies; 2001. p. 39-83.
28. Snell S. Clinic Anatomy. 5. Baskı. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 1998. s. 323-326.
29. Arıncı K, Elhan A. Anatomi. I. cilt. Ankara: Güneş Kitabevi; 1995. s. 428-437.
30. Banister, Berry, Collins, Dyson, Dussek, Ferguson. Gray's Anatomy. 38. Edition. England: Churchill Livingstone; 1995
31. Sancak B, Cumhuri M. Fonksiyonel Anatomi, Baş Boyun ve İç Organlar. 1. Baskı. Ankara: ODTÜ Geliştirme Vakfı Yayıncılık ve İletişim A.Ş.; 1999. s. 333-338.
32. Erdoğan D, Hatiboğlu MT, Görgün M, Ilgaz C. Özel Histoloji. 1. Baskı. Ankara: SBAD Yayınları; 1996. s. 179-186
33. Abraham L, Kierszenbaum. Histoloji ve Hücre Biyolojisi Patolojiye Giriş. Ankara: Palme Yayıncılık; 2006. s. 578-581

34. Junqueira CL, Carneiro J. Basic Histology. 11 th Edition. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 2009. s. 444-451
35. Tekelioğlu M. Özel Histoloji İnce Yapı ve Geliştirme. Ankara: Antıp Tıp Kitapları ve Bilimsel Yayınları; 2002
36. Gartner LP, Hiatt JL. Color textbook of Histology. 3 rd Edition. Baltimore: W.B.Saunders Company; 2007. p. 463-489
37. Eroschenko VP. diFiore Histoloji Atlası Fonksiyonel ilişkileriyle. 10. Baskıdan Çeviri. Ankara: Palme Yayıncılık; 2008. s. 391-397
38. Fawcett DV. A Textbook of Histology. 12 th. Ed. New York: Chapman and Hall; 1994.p.838-856.
39. Sternberg SS. Histology for Pathologists. 2 nd. Ed. New York: Lipincott-Raven; 1997.p.879-929
40. Dickersin RG. Diagnostic Electron Microscopy A Text/Atlas. 2 nd ed. New York: Springer; 2000.p.406-417.
41. Stevens A, Lowe J. Human Histology. 2 nd. Edition. Barcelona: 1997.p. 330-355.
42. Corona R, Harley JP, Noback RC. Human Anatomy & Physiology. 2 nd Edition. USA: 1992. p. 920-21.
43. Guyton CA, Hall EJ. Tıbbi Fizyoloji. 1. Baskı. İstanbul: Yüce Yayınları; 2001.

44. Ganong WF. Review of Medical Physiology. 19 th. Edition. USA: Appleton & Lange; 1999.
45. Costanzo LS. Saunders Text and Review Series Physiology. 9 th. Edition. Philadelphia: W.B.Saunders Company; 1998.
46. Kayaalp SO. Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji. 7. Baskı 3. Cilt. Ankara: Feryal Matbaacılık San ve Tic. Ltd. Şti.; 1997.
47. Dökmeci İ. Farmakoloji Temel Kavramlar. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 2000.
48. Kuiper GG, Enmark E, Peltö-Huikko M, Nilsson S, Gustafsson JA. Cloning of a Novel Receptor Expressed in Rat Prostate and Ovary. Proc. Natl. Acad. Sci U.S.A.; 1996; 93: 5925-30.
49. Saji S, Jensen EV, Nilsson S, Rylander T, Warner M, Gustafsson JA. Estrogen receptors alpha and beta in the rodent mammary gland. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 2000; 97: 337–42.
50. Warner M, Saji S, Gustafsson JA. The normal and malignant mammary gland: a fresh look with ER beta onboard. J. Mammary Gland Biol. Neoplasia 2000; 5: 289–294.
51. Platet N, Cathiard AM, Gleizes M, et al. Estrogens and their receptors in breast cancer progression: a dual role in cancer proliferation and invasion. Crit. Rev. Oncol. Hematol 2004; 51: 55–67.
52. Carley ME, et.al. Distribution of estrogen receptors alpha and beta mRNA in mouse urogenital tissues and their expression after

oophorectomy and estrogen replacement. *Int Urogynecol J Pelvic Floor Dysfunct* 2003; 14(2): 141-5.

53. Uçan B. Ooforektomi ve eksojen östrojen replasmanının tıkanma sarılığında oluşan karaciğer hasarı üzerine etkisi. Uzmanlık Tezi. Ankara: Gazi Üniv. Genel Cerrahi Anabilim Dalı; 2000.

54. Imamov O, Shim GJ, Warner M, Gustafsson JA. Estrogen receptor beta in health and disease. *Biol. Reprod.* 2005; 73: 866–871.

55. Makela S, Santti R, Salo L, Mclachlan JA. Phytoestrogens are partial estrogen against in the adult male mouse. *Environ. Health Perspect.* 1995; 103: 123-27.

56. Weihua Z, Andersson S, Cheng G, Simpson ER, Warner M, Gustafsson JA. Update on estrogen signalling. *FEBS Lett.* 2003; 546: 17–24.

57. Markaverich BM, Webb B, Densmore CL, Gregory RR. Effects of coumesterol on estrogen receptor fuction and uterine growth in avariectomized rats. *Environ. Health Persp.* 1995; 103: 574-81.

58. Wuttke W, Jarry H, Seidlova – Wuttke D. Isoflavones – safe food additives or dangerous drugs? *Ageing Res. Rev.* 2007; 6(2): 150-88.

59. Martucci CP, Fishman J. P450 enzymes of estrogen metabolism. *Pharmacol Ther.* 1993; 57: 237-57

60. Vaya J, Tamir S. The relation between the chemical structure of flavonoids and their estrogen-like activities. *Curr. Med. Chem.* 2004; 11: 1333–1343.
61. Zava DT, Duwe G. Estrogenic and antiproliferative properties and other flavonoids in human breast cancer cells in vivo. *Nutr Cancer* 1997; 27: 31-40.
62. Miksicek RJ. Interactions of naturally occurring nonsteroidal estrogens with expressed recombinant human estrogen receptor. *J Steroid Biochem Mol Biol* 1994; 49: 153-60.
63. Santell RC, Cheng YC, Nair Mg, et al. Dietary genistein exerts estrogenic effects upon the uterus mammary gland and the hypothalamic/pituitary axis in rats. *J Nutr.* 1997;127: 263-69.
64. Setchell KD. Phytoestrogens: The biochemistry, physiology and implications for human health of soy isoflavones. *Am. J. Clin. Nutr.* 1998; 68: 1333S-1346S.
65. Atkinson C, Frankenfeld CL, Lampe JW. Gut bacterial metabolism of the soy isoflavone daidzein: exploring the relevance to human health. *Exp. Biol. Med.* 2005; 230: 155–170.
66. Knight DC, Eden JA. A review of the clinical effects of phytoestrogens. *Obstet Gynecol* 1996; 87: 897-904.

67. Horn Ross PL, John EM, Canchola AJ, Stewart SL, Lee MM. Phytoestrogen intake and endometrial cancer risk. *J. Nat. Cancer Inst.* 2003; 95: 1158-64.
68. Velasquez MT, Bhathena SJ. Role of dietary soy protein in obesity. *Int J. Med. Sci.* 2007; 4: 72-82.
69. Wayne AF, Wang J, et al. Dietary genistein regulates androgen and estrogen receptor expression in the rat prostate. *Mol. Cell. Endocrinol* 2002; 186: 89-99.
70. Day KJ, Bauer AM, desbordes C, et al. Genistein alters methylation patterns in mice. *J Nutr.* 2002; 132: 2419S-2423S.
71. Fujitomo WY, Lenonetti DL, Kinyoun JL, Stalow WC, Wahl PW. Glucose intolerance and diabetic complications among Japanese-American women. *Diabetes Res. Clin. Pract.* 1991; 13: 119-29.
72. Guthrie JR, Ball M, Murkies A, Dennerstein L. Dietary phytoestrogen intake in mid-life Australian-born women: relationship to health variables. *Climacteric* 2000; 3: 254-261.
73. Goddman-Gruen D, Kritz-Silverstein D. Usual dietary isoflavone intake and body composition in postmenopausal women. *Menopause* 2003; 10: 427-432.
74. Gardner CD, Newell KA, Cherin R, Haskell WL. The effect of soy protein with or without isoflavones relative to milk protein on plasma lipids

in hypercholesterolemic postmenopausal women. AM. J. Clin. Nutr. 2001; 73: 728-735.

75. Kushi M. The macrobiotic way: The complete macrobiotic diets & exercise book. 2 nd Edition: Publisher Avery Penguin Putnam; 1993.

76. Setchell K. Soy isoflavones-Benefits and risks from nature's selective estrogen receptor modulators. (SERMs). J. AM. Coll. Nutr. 1997; 20(5): 95-120.

77. Davis S, Dalais F, Simpson E, Murkies A. Phytoestrogens in health and disease. Recent Progress in Hormone Res. 1999; 54: 185-211.

78. Fitz Patrick LA. Selective estrogen receptor modulators and phytoestrogens: New therapies for the postmenopausal women. Mayo Clin. Proc. 1999; 74: 601-7.

79. Hill HA, Austin H. Nutrition and endometrial cancer. Cancer Causes Control.1996; 7: 19-32

80. Bancraft JD, Gamble M. Theory and practice of histological techniques. Electron Microscopy: The preparative techniques. 5 th. Edition. USA: Churchill Livingstone; 2002. p. 679-701.

81. Albertazzi P, Pansini F, et al. The effects of soy supplementation on hot flushes, Obstet. Gynecol. 1998; 91: 6-11.

82. Mukies AL, Lombard C, Strauss BJG, et al. Dietary flower supplementation decreases post-menopausal hot flushes, effect of soy and wheat. Maturitas 1995; 21: 189-95.

83. Brezinski A, Adlercreutz H, Shaoul R, et al. Short-term effects of phytoestrogen-rich diet on postmenopausal women. *Menopause* 1997; 4: 89-94
84. Quella SK, Loprinzi CL, Barton DL, et al. Evaluation of soy phytoestrogens for the treatment of hot flushes in breast cancer survivors: a north central cancer treatment group trial. *J. Clin. Oncol.* 200; 18: 1068-74.
85. Washburn S, Burke GL, Mirgan T, Antony M. Effect of soy protein supplementation on serum lipoproteins, blood pressure and menopausal symptoms in perimenopausal women. *Menopause* 1999; 6: 7-13.
86. Dalais FS. Effect of dietary phytoestrogens in menopausal women. *Climacteric* 1998; 1: 124-9.
87. Germain AS, Peterson CT, Robinson JG, Aleker L. Isoflavone-rich or isoflavone-poor soy protein does not reduce menopausal symptoms during 24 weeks of treatment. *Menopause* 2001; 8: 17-26
88. Kotsopoulos D, Dalais FS, Liang YL, Mcgrath PB, Teede HJ. The effects of soy protein contain phyoestrogens on menopausal symptoms on postmenopausal women. *Climacteric* 2000; 316: 161-7.
89. Baber RJ, Templeman C, Morton T, Kelly GE, West L. Randomized placebo-controlled trial of an isoflavone supplement and menopausal symptoms in women. *Climacteric* 1999; 2: 85-92.

90. Mikkola TS, Clarkson TB: Estrogen replacement therapy, atherosclerosis, and vascular function. *Cardiovasc Res.* 2002; 53(3): 605-19.
91. Beaglehole R: International trends in coronary heart disease mortality, morbidity and risk factors. *Epidemiol Rev.* 1990; 12: 1-15.
92. Honore EK, Williams JK, Antony MS, Clarkson TB.: Soy isoflavones enhance coronary vascular reactivity in atherosclerotic female macaques. *Fertil Steril* 1997; 67: 148-54.
93. Thom TJ, Epstein FH, Feldman JJ, Leaveton PE, Wolz M. Total Mortality from Heart Disease, Cancer and Stroke from to 1987 in 27 Countries, National Institute of Health publication number 02-3088, Bethesda, MD. National Institute of Health, National Heart, Lung and Blood Institute. (1951)
94. Delclos KB, Bucci TJ, Lomax LG, Latendresse JR. Effect of dietary genistein exposure during development on male and female CD rats. *Reproductive Toxicology* 2001; 15: 647-663.
95. Adlercreutz H, Fotsis T, Heikkinen R, Dwyer JT, Woods M, Goldin BR, Gorbach SL. Excretion of the lignans enterolactone and enterodiol and of equal in omnivorous and vegetarian postmenopausal women in women with breast cancer. *Lancet* 1982; 2: 1295-99.

96. Kurperr GG. Comparison of the ligand binding specificity and transcript tissue distribution of estrogen receptors α and β . *Endocrinology* 1997; 138: 863-869.
97. Staar S, Richter DU, Makovitzky J, Briesse V, Bergemann C. Stimulation of endometrial glandular cells with genistein and daidzein and their effects on ERalpha- and ERbeta-mRNA and protein expression. *Anticancer Res.* 2005; 25(3A): 1713-8
98. Cotroneo MS, Wang J, Eltoum IA, Lamartiniere CA. Sex steroid receptor regulation by genistein in the prepubertal rat uterus. *Mol Cell Endocrinol.* 2001; 173: 135-145.
99. Jefferson WN, Podillar Banks E, Clark G, Newbold RR. Assessing estrogenic activity of phytochemicals using transcriptional activation and immature mouse uterotrophic responses. *J. Chromatogr. B. Analyt. Technol. Biomed Life Sci.* 2002; 777: 179-89.
100. Albertazi P, Purdie DW. The nature and utility of the phytoestrogens: a review of the evidence. *Maturitas* 2002; 42: 173-285.
101. Whitten PL, Russell E, Naftolin F. Effects of a normal, human-concentration, phytoestrogen diet on rat uterine growth. *Steroids* 1992; 57: 98-106
102. Diel P, Smolnikar K, Schulz T, Leschowski UL, Michna H, Vollmer G. Phytoestrogens and carcinogenesis-differential effects of genistein in

experimental models of normal and malignant rat endometrium. Hum. Reprod. 2001; 16(5): 997-1006.

103. Cline JM, Franke AA, Register TC, Golden TI, Adams MR. Effects of dietary isoflavone aglycones on the reproductive tract of male and female mice. Toxicol Pathol 2004; 32: 91- 9.

104. Archer DF. Neoplasia of the female reproductive tract: effects of hormone therapy. Endocrine 2004; 24: 259–263.

105. Seidlova-Wuttke D, Becker T, Christoffel V, Jarry H, Wuttke W. Silymarin is a selective estrogen receptor beta (ERbeta) agonist and has estrogenic effects in the metaphysis of the femur but no or antiestrogenic effects in the uterus of ovariectomized (ovx) rats. J. Steroid. Biochem. Mol. Biol. 2003; 86: 179–188.

106. Davis SR, Dinatale I, Rivera-Woll L, Davison S. Postmenopausal hormone therapy: from monkey glands to transdermal patches. J.Endocrinol 2005; 185: 207–222.

107. Wade MG, Lee A, McMahon A, Cooke G, Curran I. The influence of dietary isoflavone on the uterotrophic response in juvenile rats. Food Chem. Toxicol. 2003; 41: 1517–1525.

108. Seidlova-Wuttke D, Jarry H, Becker T, Christoffel V, Wuttke W. Pharmacology of Cimicifuga racemosa extract BNO 1055 in rats: bone, fat and uterus. Maturitas 2003; 44 (Suppl. 1): S39–S50.

109. Diel P, Geis RB, Caldarelli A, Schmidt S, Leschowsky UL, Voss A, Vollmer G. The differential ability of the phytoestrogen genistein and of estradiol to induce uterine weight and proliferation in the rat is associated with a substance specific modulation of uterine gene expression. *Mol. Cell Endocrinol* 2004; 221: 21–32.
110. Diel P, Schmidt S, Vollmer G, Janning P, Upmeier A, Michna H, Bolt HM, Degen GH. Comparative responses of three rat strains (DA/Han Sprague–Dawley and Wistar) to treatment with environmental estrogens. *Arch. Toxicol.* 2004; 78: 183–193.
111. Kim HS, Kang TS, Kang IH, Kim TS, Moon HJ, Kim IY, Ki H, Park KL, Lee BM, Yoo SD, Han SY. Validation study of OECD rodent uterotrophic assay for the assessment of estrogenic activity in Sprague–Dawley immature female rats. *J. Toxicol. Environ. Health* 2005; A 68: 2249–2262.
112. Erlandsson MC, Islander U, Moverare S, Ohlsson C, Carlsten H. Estrogenic agonism and antagonism of the soy isoflavone genistein in uterus, bone and lymphopoiesis in mice. *APMIS* 2005; 113: 317–323.
113. Unfer V, Casini ML, Costabile L, et al. High dose of phytoestrogens can reverse the antiestrogenic effects of clomiphene citrate on the endometrium in patients undergoing intrauterine insemination: A randomized trial. *J Soc Gynecol Investig* 2004; 11(5): 323–328

114. Chang MJ, Nam HK, Myong N, Kim SH. Age-related uterotrophic response of soy isoflavone intake in rats. *J. med. Food* 2007; 10(2): 300-7.
115. Palacios S, Pornel B, Bergeron C, Chantre P, Nogales F, Aubert L, Vazquez F, Eden J, Mares P. Endometrial safety assessment of a specific and standardized soy extract according to international guidelines. *Menopause* 2007; 14(6): 976-7.
116. D'Anna R, Cannata ML, Atteritano M, et al. Effects of the phytoestrogen genistein on hot flushes, endometrium, and vaginal epithelium in postmenopausal women: a 1- year randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Menopause* 2007; 14(4): 1-8.
117. Balk JL, Whiteside DA, Naus G, DeFerrari E, Robert JM. A pilot study of the effects of Phytoestrogen supplementation on postmenopausal endometrium. *J. Soc. Gynecol. Investig* 2002; 9(4): 238-242.
118. Kayıslı UA, Aksu CAH, Berkkanoğlu M, Arici A. Estrogenicity of isoflavones on human endometrial stromal and glandular cells. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2002; 87(12): 5539-44.
119. Mosquette R, Simoes M, Da Silva I, et al. The effects of soy extract on the uterus of castrated adult rats. *Maturitas* 2007; 56(2): 173-183.
120. Sha GH, Lin SQ. Genistein inhibits proliferation of human endometrial endothelial cell in vitro. *Chin. Med. Sci. J.* 2008; 23(1): 49-53.

121. Adlercreutz H. Phytoestrogens and cancer. *Lancet Oncol.* 2002; 3: 364-73
122. Barnes S, Petersen TG, Coword L. Rationale for the use of genistein-containing soy matrices in chemoprevention trials for breast and prostate cancer. *J Cell Biochem Suppl.* 1995; 22: 181-7.
123. Rose DP. Dietary fiber, phytoestrogens and breast cancer. *Nutr.* 1992; 8: 45-51.
124. Brueggemeier RW, Gu X, Moble Ja, et al. Effects of phytoestrogens and synthetic combinatorial libraries on aromatase, estrogen biosynthesis and metabolism. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 2001; 13: 261-272.
125. Ballard-Barbash R, Swanson CA. Body weight: estimation of risk for breast and endometrial cancers. *Am. J. Clin. Nutr.* 1996; 63: 437S-441S.
126. Bandera EV, Williams MG, Sima C, et al. Phytoestrogen consumption and endometrial cancer risk: a population-based case-control study in New Jersey. *Cancer Causes Control* 2009; 20: 1117-27.
127. Edmunds KM, Holloway AC, Crankshaw DJ, et al. The effects of dietary phytoestrogens on aromatase activity in human endometrial stromal cells. *Reprod. Nutr. Dev.* 2005; 45 (6): 709-20.
128. Lian Z, Niwa K, Togami K, Hashimoto M, Gao J, et al. Preventive effects of isoflavones, genistein and daidzein on estradiol-17 β - related

- endometrial carcinogenesis in mice. *Jpn. J. Cancer Res.* 2001; 92: 726-34.
129. Garcia-Perez et al. Comparative effects of estradiol, raloxifene, and genistein on the uterus of ovariectomized mice. *AM. Soc. Reprod. Medicine* 2006; 86(4): 1003-5.
130. Eason RR, Till SR, Velarde MC, et al. Uterine phenotype of young adult rats exposed to dietary soy or genistein during development. *J. Nutr Biochem.* 2005; 16: 625-632.
131. Nilsson O. Ultrastructure of the process of secretion in the rat uterine epithelium at preimplantation. *J Ultrastruct Res* 1972;40:572–580.
132. Nikas G, Makrigiannakis A, Hovatta O, Jones HW Jr. Surface morphology of the human endometrium. Basic and clinical aspects. *Ann N Y Acad Sci* 2000; 900:316–324.
133. Ordi J, Creus M, Casamitjana R, Cardesa A, Vanrell JA, Balasch J. Endometrial pinopode and α v β 3 integrin expression is not impaired in infertile patients with endometriosis. *J Assist Reprod Genet* 2003a; 20: 465–473.
134. Ordi J, Creus M, Quinto L, Casamitjana R, Cardesa A, Balasch J. Within-subject between-cycle variability of histological dating, α v β 3 integrin expression, and pinopod formation in the human endometrium. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88: 2119–2125.

135. Quinn C, Ryan E, Claessens EA, Greenblatt E, Hawrylyshyn P, Cruickshank B, Hannam T, Dunk C, Casper RF. The presence of pinopodes in the human endometrium does not delineate the implantation window. *Fertil Steril* 2007a; 87: 1015–1021.
136. Creus M, Ordi J, Fabregues F, Casamitjana R, Ferrer B, Coll E, Vanrell JA, Balasch J. $\alpha 3$ integrin expression and pinopod formation in normal and out-of-phase endometria of fertile and infertile women. *Hum Reprod* 2002; 17: 2279–2286.
137. Acosta AA, Elberger L, Borghi M, Calamera JC, Chemes H, Doncel GF, Kliman H, Lema B, Lustig L, Papier S. Endometrial dating and determination of the window of implantation in healthy fertile women. *Fertil Steril* 2000; 73: 788–798.
138. Singh MM, Chauhan SC, Trivedi RN, Maitra SC, Kamboj VP. Correlation of pinopod development on uterine luminal epithelial surface with hormonal events and endometrial sensitivity in rat. *Eur J Endocrinol* 1996; 135: 107–117.
139. Quinn CE, Detmar J, Casper RF. Pinopodes are present in *Lif* null and *Hoxa10* null mice. *Fertil Steril* 2007b; 88(Suppl. 4): 1021–1028.
140. Kabir-Salmani M, Nikzad H, Shiokawa S, Akimoto Y, Iwashita M. Secretory role for human uterodomes (pinopods): secretion of LIF. *Mol Hum Reprod* 2005; 11: 553–559.

141. Aghajanova L, Stavreus-Evers A, Nikas Y, Hovatta O, Landgren BM. Coexpression of pinopodes and leukemia inhibitory factor, as well as its receptor, in human endometrium. *Fertil Steril* 2003; 79(Suppl. 1): 808–814.