

**T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

DOKTORA TEZİ

**ENDOMETRİOZİS OLGULARINDA SERUM VASCULAR
ENDOTHELIALGROWTH FAKTÖR (VEGF)
DÜZEYLERİ VE GEN POLİMORFİZMLERİNİN
İNCELENMESİ**

N.ERKUT ATTAR

**DANIŞMAN
PROF. DR. TURGAY İSBİR**

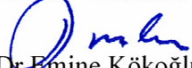
**MOLEKÜLER TIP ANABİLİM DALI /
MOLEKÜLER TIP PROGRAMI**

İSTANBUL-2008

TEZ ONAYI

Aşağıda tanıtımı yapılan tez, jüri tarafından başarılı bulunarak Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

25/07/2008


Prof. Dr. Emine Kökoğlu
Enstitü Müdürü

Kurum : İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Program Adı : Moleküler Tıp

Programın seviyesi: Yüksek Lisans () Doktora (X)

Anabilim Dalı: Moleküler Tıp AD

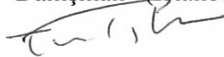
Tez Sahibi : N.Erkut Attar

Tez Başlığı : ENDOMETRİOZİS OLGULARINDA SERUM VASCULAR ENDOTHELIAL GROWTH FAKTÖR (VEGF) DÜZEYLERİ VE GEN POLİMORFİZMLERİNİN İNCELENMESİ


Sınav Yeri : Moleküler Tıp AD


Sınav Tarihi : 22.05.2008

Tez Sınav Jürisi

1. Prof. Dr. Turgay İsbir -Danışman (İstanbul Üniversitesi, Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü, Moleküler Tıp AD) 

2. Prof. Dr. Nesrin Emekli (Marmara Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi, Biyokimya AD) 

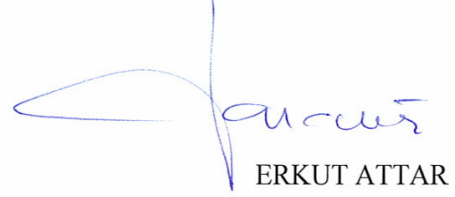
3. Prof. Dr. Vildan Yasasever (İstanbul Üniversitesi, Onkoloji Enstitüsü) 

4. Prof. Dr. Yaman Tekant (İstanbul Üniversitesi, İTF, Genel Cerrahi AD) 

5. Prof. Dr. Sinan Berkman (İstanbul Üniversitesi, İTF, Kadın Hastalıkları ve Doğum AD) 

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmayla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığı beyan ederim.



ERKUT ATTAR

İTHAF

Bu tezimi Anneme, Babama ve Eşime ithaf ediyorum.

TEŞEKKÜR

Başta İstanbul Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü (DETAE), Moleküler Tıp Anabilim Dalı Başkanı ve tez danışmanım Prof. Dr. Turgay İSBİR olmak üzere, doktora sürecinde gerek projeme gerekse tezimin hazırlanmasında katkıda bulunan başta Doç. Dr. İlhan Yaylım olmak üzere tüm öğretim üyelerine, Prof. Dr. Nesrin Emekli'ye, Prof. Dr. Vildan Yasasever'e ve akademik hayatım boyunca desteğini ve varlığını her zaman hissettiğim değerli eşim Y.Doç.Dr. Rukset Attar' a teşekkürü borç bilirim.

Deneyselerimin yapılması esnasında katkı ve yardımlarını esirgemeyen Dr. Arzu Ergen'e, doktora öğrencisi Sibel Bulgurcuoğlu'na ve yüksek lisans öğrencisi Bahar Toptaş'a ayrıca teşekkürlerimi ifade etmek isterim. Ayrıca Moleküler Tıp Anabilim Dalı ailesinin diğer tüm öğrencileri, eleman ve çalışanlarına bölüm içerisinde bulunduğum süre boyunca gösterdikleri ilgi, samimiyet ve sevgilerinden ötürü teşekkür ederim

ERKUT ATTAR

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI	İİ
BEYAN.....	İİİ
İTHAF.....	İV
TEŞEKKÜR.....	V
İÇİNDEKİLER	VI
TABLolar LİSTESİ.....	Vİİ
ŞEKİLLER LİSTESİ	Vİİİ
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ.....	İX
ÖZET	X
ABSTRACT.....	Xİ
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2 . GENEL BİLGİLER.....	4
3. GEREÇ VE YÖNTEM	14
4. BULGULAR.....	22
5. TARTIŞMA	28
KAYNAKLAR	35
HAM VERİLER	49
FORMLAR	73
ETİK KURUL KARARI.....	74
ÖZGEÇMİŞ	75

TABLolar LİSTESİ

Tablo 1: Çalışma gruplarına ait bilgiler.....	22
Tablo 2: VEGF Genotip ve allel Frekanslarının Hasta ve Kontrol Gruplarında Dağılımı.....	23
Tablo 3: Endometriyozisli Hasta Grubunda VEGF 405 polimorfizminin serum VEGF düzeylerine ve Endometriyozis evresi üzerine etkisi.....	24
Tablo 4: VEGF 460 genotip ve Allel Frekanslarının Hasta ve Kontrol Gruplarında Dağılımı.....	25
Tablo 5: Endometriyozisli Hasta Grubunda VEGF 460 Polimorfizminin serum VEGF Düzeylerine etkisi.....	25
Tablo 6: Hasta Grubunda Endometriyozis evrelerinde serum VEGF Düzeylerinin karşılaştırılması.....	26
Tablo 7: Hasta Grubunda Endometriyozis evresi ve yaş kriterlerine göre serum VEGF düzeylerinin karşılaştırılması.....	26
Tablo 8: VEGF + 405 (G-C) ve - 460 (C- T) Allelerinin Hasta ve Kontrol grupları arasında serum VEGF Düzeylerine etkisinin karşılaştırılması.....	27

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1: Uyarılım Kuramı.....	5
Şekil 2: Endometriyozisin Hormonal Mekanizmaları.....	8
Şekil 3: Dismenore ve Anjiyogenezin arasındaki ilişki.....	10
Şekil 4: Apoptozis ve endometriyozis	11
Şekil 5: Endometriyozisin etiyopatolojisine güncel yaklaşım.....	12

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

GALT: Galaktoz – 1 fosfat üridil transferaz

GST : Glutasyon – s – transferaz

MI : Miyokardial enfarktüs

NAT: N-asetil transferaz

CYP: Sitokrom P450

VEGF: Vasküler endotelial büyüme faktörü

StAR: Steroidenik akut düzenleyici protein

PGE2: Prostaglandin E2

SF-1: Steroidejenik faktör-1

ICAM:Hücre içi adezyon molekülü

IL-B1: İnterlökin-B1

IL-G: İnterlökin-G

TNF: Tümör nekrozu faktörü

EGF:Epidermal büyüme faktörü

MCP-I:Monosit kemotaktik protein

SNP: Tek nükleotid değişimi

ÖZET

ATTAR E. ENDOMETRİOZİS OLGULARINDA VAZOAKTİF ENDOTELYAL GROWTH FAKTÖR (VEGF) SERUM KONSANTRASYONLARI VE GEN POLİMORFİZMLERİNİN İNCELENMESİ

İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Moleküler Tıp ABD. Doktora Tezi. İstanbul (2008)

Bu tez çalışmasında VEGF -460C>T ve +405G>C gen polimorfizmlerinin ve serum VEGF düzeylerinin endometriozis etiopatogenezi üzerindeki etkisi araştırılması amaçlanmaktadır. Endometriosisli hastalar ve kontrol grubundan alınan örnekler için DNA'lar hazırlanmış, saflık tayinleri yapılmış ve DNA polimorfizimleri RF-LP yöntemi ile saptanmıştır. Bu kademelerdeki çalışmalar tamamlandıktan sonra VEGF Gen bölgesinin polimorfizmler incelenmiş ve bu örnekler için serumlarda ELISA ile VEGF düzeyleri ölçülmüştür. Çalışmamızda VEGF 405 gen polimorfizmi dağılımları açısından anlamlı fark gözlenmemiştir. Endometriozis grubunda CC genotipi kontrole göre yüksek bulunmuştur ($\chi^2= 2.91$, $p=0.08$). CC genotipini taşımanın endometriozis riskini 1.61 kat arttırdığı saptanmıştır (ODDs ratio= 1.612, %95 CI: 0.893-2.913). Endometriozis hasta grubunda GC genotipi kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı olmamakla beraber düşük frekansta bulunmuştur ($\chi^2= 2.69$, $p= 0.101$). GC genotipine sahip olma endometriozis riskini 1.395 kat azaltmaktadır. VEGF 405 C alleli hasta grubunda kontrole yüksek olup, istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ($\chi^2= 0.027$, $P=0.870$). VEGF 460 polimorfizmi çalışmasında ise genotip ve allellerinin VEGF düzeyleri üzerinde önemli bir etkisi gözlenmemiştir. VEGF 405 polimorfizminin endometriozis evresi üzerindeki etkisi incelendiğinde ise ileri evredeki hastalarda G alleli frekansı erken evredeki hastalara göre daha yüksek gözlenmiştir. Ancak istatistiksel olarak anlamlı farklılık elde edilememiştir ($p=0,302$).

Anahtar Kelimeler : Endometriyozis, Vasküler endotelial büyüme faktörü, Gen polimorfizmi, Vazoaktif endotelial büyüme faktör düzeyi, Elisa

Bu Çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No:T-408/08032004

ABSTRACT

ATTAR E. INVESTIGATION OF VASOACTIVE ENDOTHELIAL GROWTH FACTOR(VEGF) GENE POLYMORPHISM AND SERUM CONCENTRATION IN ENDOMETRIOSIS

Istanbul University Institute of Health Sciences, PhD Tesis of Department of Molecular Medicine, Istanbul, (2008).

In this thesis, we aimed to investigate the roles of VEGF -460>T and +405>C polymorphisms and serum VEGF levels on etiopathogenesis of endometriosis. The DNA materials of endometriosis cases and control group were purified and polymorphism analysis was performed by PCR-RFLP method, serum VEGF levels were measured by ELISA method. as a result of this investigation, there was no difference in VEGF 405 gene polymorphism aspect. CC genotype was increased in patient group compared to control group ($\chi^2= 2.91$, $p=0.08$). CC genotype increased endometriosis risk 1,61 times(ODDs ratio= 1.612, %95 CI: 0.893-2.913). there was an istatistically insignificant increment of GC genotype in endometriosis patient group than in control group($\chi^2= 2.69$, $p= 0.101$). GC genotype increases endometriosis risk 1,395 times. VEGF 405 C allel was higher in patient group than in control group, but this was statistically not significant ($\chi^2= 0.027$, $P=0.870$). VEGF 405 G allel frequency is higher in advanced cases than in early ones, but this is also not statistically significant ($p=0,302$).

Key Words: Endometriosis, Vascular Endothelial Growth Factor, Gene Polymorphism, Vascular Endothelial Growth Factor Levels, Elisa

The present work was supported by the Research Fund of Istanbul University. Project No:T-408/08032004

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Endometriozis endometrium dokusunun uterus kavitesi dışında ektopik olarak bulunması ile tanımlanan bir hastalıktır. Endometriozis üretken çağdaki yaklaşık 7 kadından 1 tanesini etkilemekte ve infertil çiftlerin yaklaşık % 30'unda neden olarak karşımıza çıkmaktadır (1). Yapılan yoğun araştırmalara rağmen hastalığın etiopatogenezi tam olarak açıklanamamıştır. Endometrial hücrelerin ektopik olarak dağılımı ve yerleşmesi endometriozis etiopatogenezinde temel bir özelliktir (2, 3). Günümüzde, endometriozis etiopatogenezi üzerindeki araştırmalar genel olarak 4 konuyu içermektedir: 1) Genetik 2) Çevresel Faktörler; 3) Kanser Biyolojisi; 4) İmmunoloji. Genetik duyarlılığın endometriozise yol açtığı konusunda elimizde klinik ve deneysel veriler bulunmaktadır. Klinik veriler, olgu sunumları, birinci derecede akrabalık ve ikiz çalışmalarına ait sonuçlardır. Ailesel yatkınlık ile ilgili yapılan çalışmalar endometriozisin genetik ile ilişkisi konusunda bir temel oluşturmuştur (4, 5). Monozigotik ikizlerde de endometriozis açısından birliktelik göze çarpmaktadır (6). Yaş ve ağrı başlangıcı açısından kız kardeşler arasında ortak bir benzerliktir (6,7). Endometriozisin şeker hastalığı, yüksek tansiyon ve astım gibi karmaşık bir genetik geçiş gösterdiği düşünülmektedir. Bu tablo, hastalığın çevresel faktörlerin ve çoğul genlerin bir etkileşimi sonucunda ortaya çıktığı görüşünü kuvvetlendirmektedir. Çoğul genler sadece çevre ile değil birbiriyle de etkileşme özelliğine sahiptirler. Bu etkileşimde fenotipin oluşturulması esası bilinen Mendel yasaları ile benzerlik göstermediği açıklanmıştır. Deneysel çalışmalar ise rhesus maymunları üzerinde yapılan araştırmaları içermektedir. Rhesus türü maymunlarda meydana gelen endometriozis klinik ve histolojik açıdan insana benzerlik göstermektedir (8). Rhesus maymun kolonilerinde spontan endometriozisin kuşaklar boyunca incelenmesi hastalığın epidemiyolojisine ve genetik geçişine bir ışık tutabilir (9). Karmaşık geçişlerde sadece linkage incelemesi yapılarak şüpheli genlerin saptanması yeterli değildir. Bu açıdan bakıldığında, ek bir yaklaşım olarak, kontrol gruplarında ve endometriozis hastalarında aday genlerin de saptanmasına gereksinim duyulmaktadır. Günümüzde endometriozis ile ilişkili aday genler bildirilmiştir. Bunlar arasında galaktoz metabolizması ile ilgili galaktoz-1-fosfat uridil transferaz (GALT) (10), detoksifikasyon genleri olarak bilinen

glutasyon S-transferaz (GST) M1, T1, N-acetyl transferase 2 (NAT 2) ve cytochrome P450 (CYP) 1A1 MspI gösterebiliriz. Bu genlere ait polimorfizm ve null mutasyonların endometriozise yol açabileceği üzerinde durulmuştur (11-13) IL-10 promoter polimorfizminde ise karbonik anhidraz II antikollarının (anti-CA II ab) ortaya çıkmasının endometriozis olgularında genetik bir yatkınlığa neden olabileceği öne sürülmüştür (14).

Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü (VEGF), 6. kromozomun kısa koluna (6p12) yerleşim gösteren, molekül ağırlığı 45 kDA (kilo dalton) olan bir sitokindir. Dokularda mitojenik etkisi sayesinde angogenezisi uyarabilmekte ve vasküler geçirgenliği artırabilme özelliğine sahiptir (15). Kaynakçada bu faktör VPG (Vasküler permeabilite faktörü) veya Vaskülotropin olarak da isimlendirilmekte olup (15) ilk olarak tümör hücrelerinde yapılan ve kılcal damarların kapillerlerin proteinlere geçirgenliğini artıran bir protein olarak tanımlanmıştır (15). Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü (VEGF)' in seçici olarak endotel hücrelerindeki mitojenik etkisi sayesinde angiogenezisi uyarmasının yanı sıra morfogenezis ve kemotaksisde de önemli roller üstlendiği bilinmektedir (15).

Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü (VEGF) epitel hücrelerinde, mezenkimal hücrelerde ve özellikle de tümör hücrelerinde fazla miktarda yapılmaktadır. VEGF'in insanda 121, 165, 189 ve 206 aminoasit içeren formları olup, çoğu sistemlerde VEGF-121 ve 165 asıl formlardır. Çok kısa bir süre önce VEGF ile ilişkili VEGF B, C, D, E olarak belirtilen genler ve plasental büyüme faktörü tanımlanmıştır. Bunların her biri özgün işlevlere sahiptir (16).

Vascular endothelial growth factor (VEGF) angiogenezi düzenleyen ve mitozu uyaran temel sitokinlerden bir tanesidir. Organizmada morfogenezde, kemoatraksiyonda ve damar geçirgenliğinde önemli işlevler görülmektedir. VEGF angiogenezisin gerek normal gerekse patolojik sürecinde yer alır (15, 17). Endometriozis implantları tümör benzeri bir gelişme göstermektedirler; dolayısıyla hastalığın patogenezinde neovaskülarizasyon ve angiogenesis önemli bir yer tutmaktadır. VEGF'in endometriozis olgularında periton sıvısında ve foliküler sıvıda artış gösterdiği değişik çalışmalarda bildirilmiştir (18). Bazı tümör tiplerinde de serum VEGF düzeyleri yükselmektedir.

Endometriozisi tek bir hastalık gibi düşünmek ve hastalığın etiopatogenezini tek bir kuram veya nedene dayandırmak olanaksızdır. Çağdaş bilgiler doğrultusunda

endometriozis etiyopatogenezi farklı kuramların değil, farklı nedenlerin bir bütünü olarak ele alınmalıdır.

Endometriozis etiyopatogenezi ait bilgiler gözden geçirildiğinde klasik bazı kuramlarla karşılaşılır. Bu kuramlar günümüzde geçerliliğini kısmen veya tamamen yitirmiştir. Ancak, gerek endometriozis etiyopatogenezi ait tarihsel sürecin bilinmesinde, gerekse pelviste yerleşim gösteren endometriozisin oluşumunun açıklanmasına katkıda bulunması bakımından bu kuramlardan söz etmek yararlı olacaktır.

Son yıllarda yapılan çalışmalarda, VEGF geni translyasyona uğramayan bölgesinde bulunan -460C>T ve +405G>C gen polimorfizmlerinin endometriozis patofizyolojisinde önemli rol oynadığı bildirilmiştir. Ayrıca, +405G>C gen polimorfizminin VEGF proteininin üretimi üzerinde önemli etkisi olduğu gösterilmiştir (19, 20)

Bu bilgilerin ışığı altında çalışmamızda VEGF -460C>T ve +405G>C gen polimorfizmlerinin ve serum VEGF düzeylerinin endometriozis etiyopatogenezi üzerindeki etkisi araştırılması amaçlanmaktadır.

2. GENEL BİLGİLER

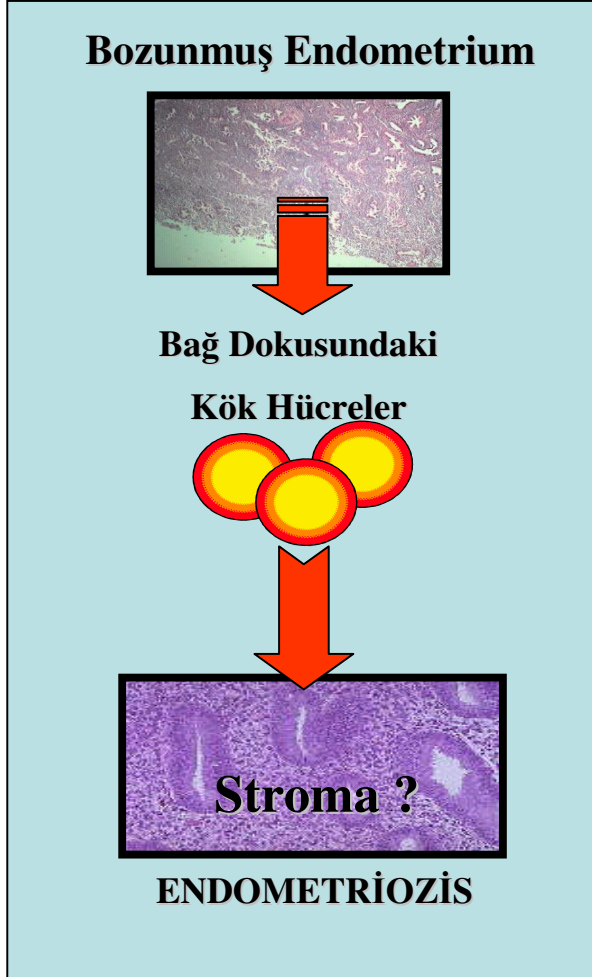
Endometriozisin bulunduğu yerden kaynaklaması (in-situ gelişme):

Endometriozisin bulunduğu yerden kaynaklaması konusunda öne sürülen Müller veya Wolf kanalı artıklarından endometriozis geliştiği yolundaki kuram artık neredeyse bütünüyle reddedilmektedir. Barsakların serozasında görülebilen endometriozisi sadece embriyonik kaynaklı endometriozis kuramı açıklayamamaktadır. Lauchlan Müller kanalı epitelyum hücrelerinin Müller Kanalı dışında da olabileceği şeklinde bir düşünce öne sürmüştür (21). Ancak endometriozis odaklarında hem seröz hem de müsinöz hücreler bulunması bu düşünceyi de tartışılır duruma getirmiştir.

Metaplazi normal bir dokunun diğer normal bir dokuya dönüşmesi anlamına gelmektedir. Meyer tarafından 1919 yılında öne sürülen kölom epiteli metaplazisi kuramı (22) puberta öncesinde, menopoz döneminde ve kanser tedavisi nedeniyle östrojen kullanımına bağlı olarak ortaya çıkan nadir endometriozis olgularını açıklamaya yöneliktir. Bu kuram, etiyopatogenezisi periton boşuğunu döşeyen hücrelerin hormonlar veya yangı gibi uyaranlar sonucunda endometrium hücrelerine dönüşmesi ile açıklamaya çalışmaktadır. Kölom epiteli metaplazisi kuramı endometriozisin özel durumlar dışında sadece kadınlarda olduğunu, pelviste ve üretken dönemde daha sık görülmesini açıklayamamaktadır. Endometriozisin yerinde oluşumu kuramı deneysel veya klinik olarak ispatlanamamıştır.

Uyarılım (İndüksiyon) Kuramı

Levander ve Normann 1955 yılında uyarılım kuramını öne sürmüşlerdir (23). Şekil (1)



Şekil 1. Uyarılım kuramı (23)

Bu kuram bozunmuş endometriumda bulunan bazı özgün maddelerin bağ dokusundaki kök hücreleri endometrium hücrelerine dönüştürdüğü temeli üzerine oturur. Merill'in tavşanlar üzerinde yaptığı araştırmalar bu kuramı desteklemektedir (24). Ancak, bu deneylerde endometrial stromaya rastlanmadığı için bu açıklama değer kazanmamıştır.

Endometriozis Nedenleri

Etiyopatogeneizde bu güne kadar bizi yanıltan nokta endometriozisin her zaman tek bir hastalık gibi düşünülmesi ve bu şekilde açıklanmıştır. Derin ve yüzeysel endometriozis birbirinden farklı hastalıklar olabilir. Hastalığın etiyopatogenezini, ayrı ayrı kuramlarla açıklamaya kalkışmaksızın, çağdaş bir yaklaşımla bir nedenler bütünü olarak ele alabilir ve bu nedenleri çeşitli gruplarda toplayabiliriz. Endometriozis gibi kuramlara boğulmuş bir hastalığın etiyopatogenezi açıklanırken nedenlere yönelik bir gruplama yapılması gerek çağ gibi artan bilgi birikiminin karmaşaya yol açmaması gerekse kolaylık sağlaması bakımından da akılcı bir yaklaşımdır. Doğal olarak, bu grupların arasına kesin çizgiler veya sınırlar koyabilmek olanaksızdır. Özellikle genetik biliminin geniş kapsamı ve son yıllarda kazandığı ivme diğer konularla da örtüşmesine neden olmaktadır. Hastalığın özelliğine göre bu grupların biraraya getirilmesi etiopatogeneze farklı açılardan bakabilmemizi kolaylaştıracak ve konuya yeni bir bakış getirecektir.

Güncel bilgiler doğrultusunda endometriozis konusunda aşağıdaki şekilde bir nedenler grubu oluşturabiliriz:

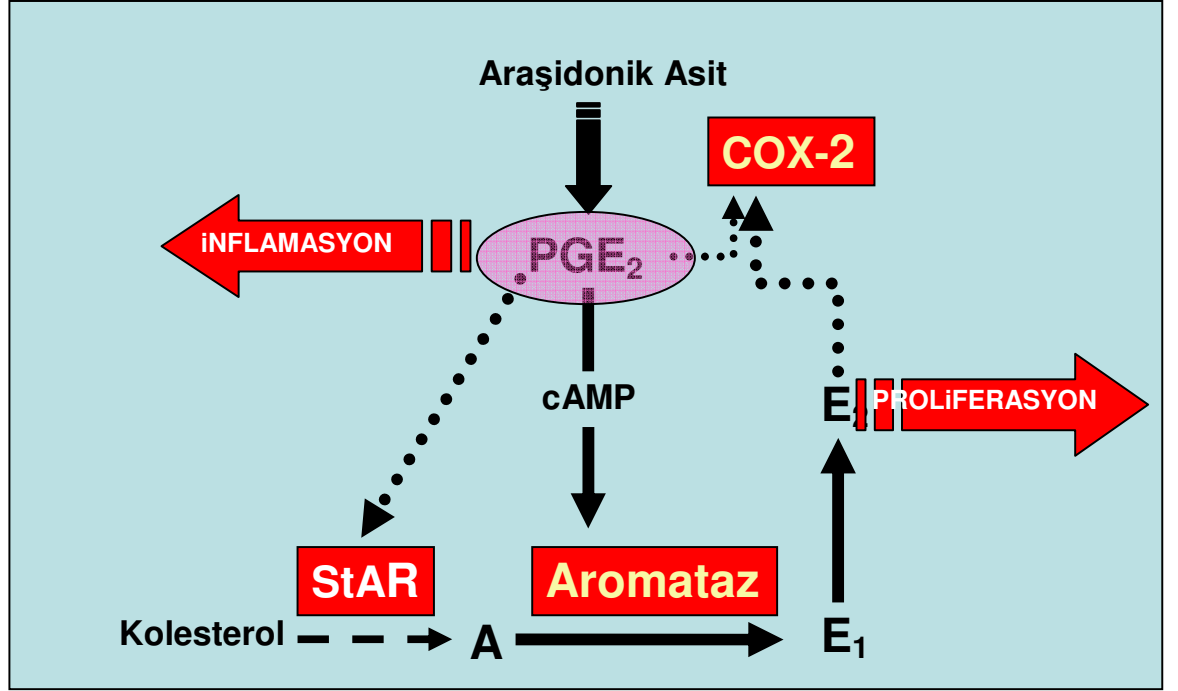
- a. Hormonal Faktörler**
- b. Genetik faktörler**
- c. Bağışıklık sistemi**
- d. Kanser biyolojisi**
- e. Çevresel faktörler**

Hormonal Faktörler

Endometrial hücrenin yaşayıp gelişebilme kabiliyetinde olması için yüzeye yapışması, bölünmesi ve endometrium dışında yaşamını devam ettirebilmesi ile mümkün olmaktadır. Bunun gerçekleşebilmesi için birçok faktörün hücre poliferasyonunu ve doku gelişimini desteklemesi gerekir. Endometriozis östrojen bağımlı bir hastalıktır. Endometriotik dokuların istilasından veya gelişmesinden sadece over veya adrenal kaynaklı östrojen sorumlu değildir. Bulun ve ark. Çeşitli araştırmalar tarafından yapılan çalışmalarda endometriotik dokularda yüksek miktarda östrojen üretildiği gösterilmiştir. (25-30). Östrojen üretiminde StAR (steroidogenic acute regulatory protein) ve aromataz iki önemli basamakta yer alırlar. StAR kolesterolün sitozolden mitokondri içerisine girmesini kolaylaştırmaktadır (31). P450 aromataz ise steroid sentezinin son basmağını katalize eder. Bu nedenle enziminin bu özelliği inhibitörlerinin endometriozis tedavisinde etkin bir şekilde kullanılmasını sağlamıştır.

Endometrioziste aromataz gerek ektopik gerekse ötopik endometrial dokularda stroma hücreleri tarafından üretilmektedir. Normal endometriumda ise aromataz bulunmadığından normal endometriumda östrojen sentezi yapma özelliğine sahip değildir. Endometriozisli hastaların endometriumunda ve endometriotik dokularında aromataz sentezinde rol oynayan transkripsiyon faktörleri de bulunurlar. Ancak normal endometriumda bu faktörler mevcut değildir. Örneğin, steroidogenic factor-1 (SF-1) endometriozisli hastaların endometriumunda ve özellikle endometriotik dokularda bulunan bir transkripsiyon faktörüdür. Normal endometriumda ise SF-1 üretimi yoktur (32).

Östrojen üretimi ile inflamasyon arasındaki bağlantı konusunda son 10 yıl içerisinde yoğun araştırmalar yapılmıştır (29). Endometrioziste prostoglandin ve sitokinler ağrı ve inflamasyondan sorumludurlar (33, 34). Endometriotik dokudaki bu inflamasyon steroid üretiminden sorumlu StAR, aromataz ve COX-2 ekspresyonunu, yerel östradiol ve PGE₂ üretimini içine alan bir döngü sonucunda gerçekleştirmektedir (Şekil 2) (35-37). Endometriotik dokularda bulunan SF-1 özellikle aromataz ve StAR olmak üzere steroidogenezden sorumlu genleri PGE₂ ve cAMP bağımlı olarak harekete geçirdiği açıklanmıştır (25).



Şekil 2. Endometriozisin hormonal mekanizmaları

Kanser Biyolojisi Ve Endometriozis

Malign bir hastalık olmamasına rağmen endometriozis hücre üremesi ve invazyon gösteren bir hastalıktır. Bu yönüyle tümör gelişmesi ve metastazı ile ortak noktalara sahiptir (38). Tümör biyolojisi kapsamındaki çalışmalar günümüzde endometriozis etiopatogenezine ışık tutmaktadır.

Endometriozisli hastalarda pelviste kötü huylu ur riski artmaktadır (39, 40). Endometrioid, berrak hücreli kanserler ve over kanserlerinin karışık olan tiplerinde yüksek oranlarda endometriozise rastlanmaktadır (41). Dolayısıyla, endometriozis uterus dışındaki endometrial ve berrak hücreli karsinomların öncüsü de olabilir görüşü hakimdir (42). Endometriozis hastalarında over kanseri gelişme oranlarının daha net olarak saptanması gereklidir. Yirmibeş yıllık bir süre içerisinde endometriozis tanısı alan 20,876 kadında over, Hodgkin dışı lenfoma ve meme kanseri sıklığında artış olduğu rapor edilmiştir (43). Herşeye rağmen endometriozis hastalarında meme

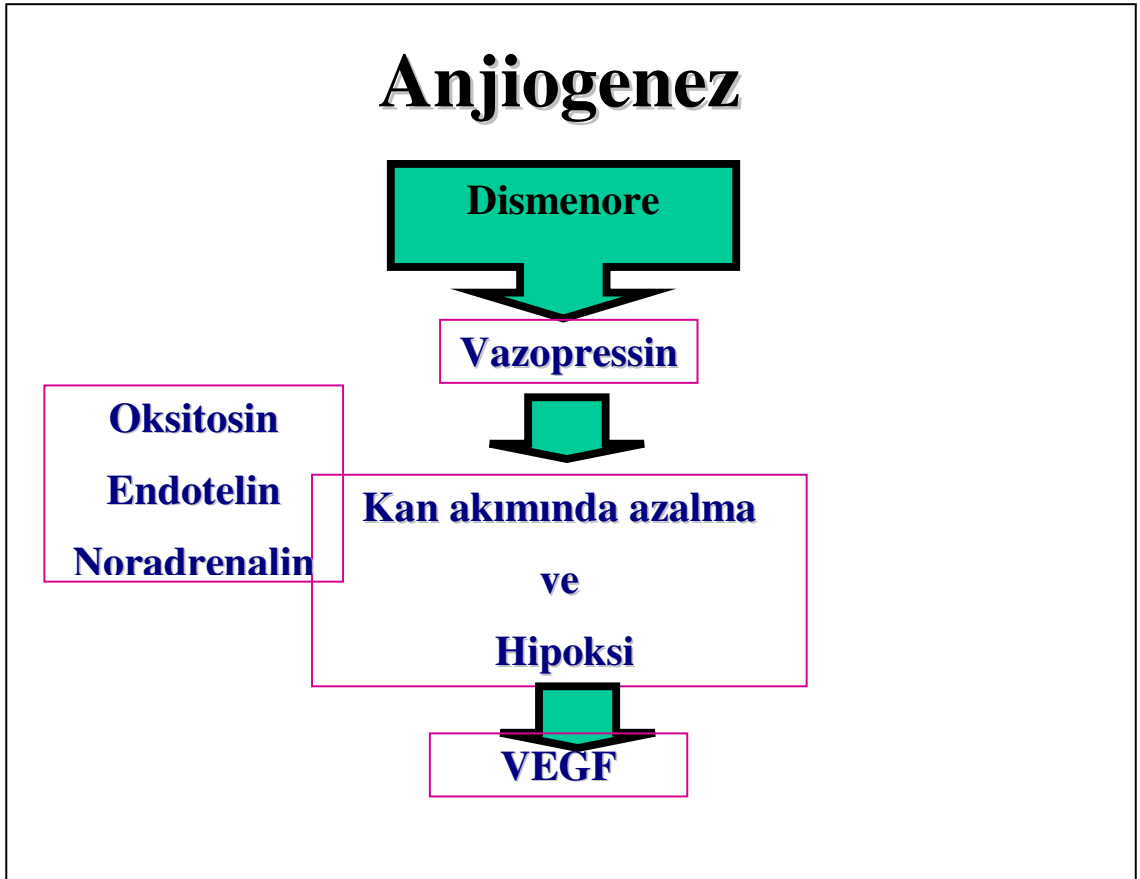
kanserinde risk artışı olduğu hakkında kesin bir bilgiye sahip olunamayacağı savı ileri sürülmektedir (44). Bir diğer çalışmada ise melanom ile meme kanseri arasında bir ilişki olabileceği bildirilmiştir (45, 46). Bu konuda ciddi epidemiyolojik çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Çeşitli kanser tiplerinde görülen genetik değişikliklere endometriozisli hastalarda da rastlanmaktadır (47,48). Endometriotik proliferasyon kısmen onkojenlerin mutasyonu veya tümör baskılayıcı genlerin delesyonu sonucunda gelişebilir (49). Meydana gelen genetik değişiklikler onkojenler veya tümör baskılayıcı genler ile dolaylı olarak da ilişkili olabileceği gösterilmiştir (50, 51). Atipik endometriozis ve over kanserleri ile birlikte görülen endometrioziste p53 tümör baskılayıcı gende yüksek oranda mutasyonlar olduğu saptanmıştır (52). Bu tür bir dönüşüm özellikle PTEN/MMAC/TEP1 gibi tümör baskılayıcı genlerde heterozigot yapı kaybı ve somatik mutasyonlara bağlı olabileceği görüşü çeşitli araştırmacılar tarafından ileri sürülmüştür (53-57). Endometriotik kistlerde de benzer şekilde heterozigot yapı kaybı ve kromozom 9, 11 ve 22'de kısmi delesyonlar görülmektedir (53). Bu değişiklikler çevresel faktörlerle ilişkisi olduğu düşünülen detoksifikasyon genlerini de kapsayabilmektedir (48, 49). Klon oluşturma özelliği ve yüksek anöploid oranı endometriotik lezyonların özellikle endometrioid ve berrak hücreli over kanserlerine dönüşme eğilimini artırır (58,-60). Sonuç olarak, topluca ele alındığında, çevresel faktörlerle birlikte veya bağımsız olarak tümör baskılayıcı ve onkojenlerin ektoptik dokuların implantasyonunda ve aktivitelerinin sürdürülmesinde rolü olabilir görüşü taraftar toplamaya başlamıştır.

Endometriozis yeniden damarlanma (anjiogenezis) ile seyreden hastalıklar ailesi içerisinde yer almaktadır. Endometrioziste implante olan endometrial doku kendi damarlarını geliştirmektedir. Bu yönüyle de endometriozis kanserde görülen metastazların implantasyonuna benzer bir davranış göstermektedir (61).

Endometrium angiogenezisi uyaran faktörler açısından zengin bir dokudur. FGF1 (Fibroblast Growth factor), FGF2 ve vascular endometrial growth factor (VEGF) gibi anjiogenezisten sorumlu birçok sitokin endometriumda bulunur (61-64). Kanserli dokularında ve metastatik odaklarda olduğu gibi VEGF, IL-8, MCP-1, EGF gibi çeşitli büyüme faktörleri endometrioziste de hücre üremesinde ve yeniden damarlanmada önemli sorumluluklar yüklenmektedirler (18,65, 66). Endometrioziste dismenore de angiogenezise katkıda bulunmaktadır. Dismenore ile angiogenezis arasındaki olası ilişki şekil 3'te gösterilmiştir.

Endometriozis hastalarında hücre dışındaki gözenekli (ekstrasellüler matriks) dokunun dinamiğinin bozulduğu yolunda bulgular vardır (67). Bu bulgular tümör biyolojisi üzerinde yapılan çalışmaların sonuçlarıyla benzerlik göstermektedir. Yapılan çalışmalar Matriks metaloproteinazları olarak adlandırılan bir grup proteinin (MMP) endometrial hücrelerin implantasyonunda rol aldığını düşündürmektedir. Matriks metaloproteinazları, yukarıda sözü edilen tümör supressör ve onkojen genler tarafından düzenlenmektedir. MMP baskılanmasının ektopik endometrium dokularının oluşumunu engellediği gösterilmiştir (68). MMP-1 ekspresyonunun endometrial doku invazyonunda rol aldığını gösteren çalışmalar vardır (69).



Şekil 3. : Dismenore ve Anjiyogenezin arasındaki ilişki

Endometriumun döngüsel değişikliklerinde programlı hücre ölümü (apoptozis) rol oynar. Kanser biyolojisinde görüldüğü gibi endometrium dokusunda apoptozise olan duyarlılığın azalması endometriozis etiyopatogenezinde görev aldığı görüşü hakimdir

(70) (Şekil 4). Endometriozis olgularında Bcl-2 pozitif makrofaj sayılarında artış görülmektedir (71, 72). Aktif olan bu hücrelerin yaşamlarını apoptozise direnç göstererek yaşamlarına devam etmeleri ektopik dokunun proliferasyonunda önemli bir etken olabilir. Bu noktada genetikle tümör biyolojisi bir kez daha örtüşmektedir.



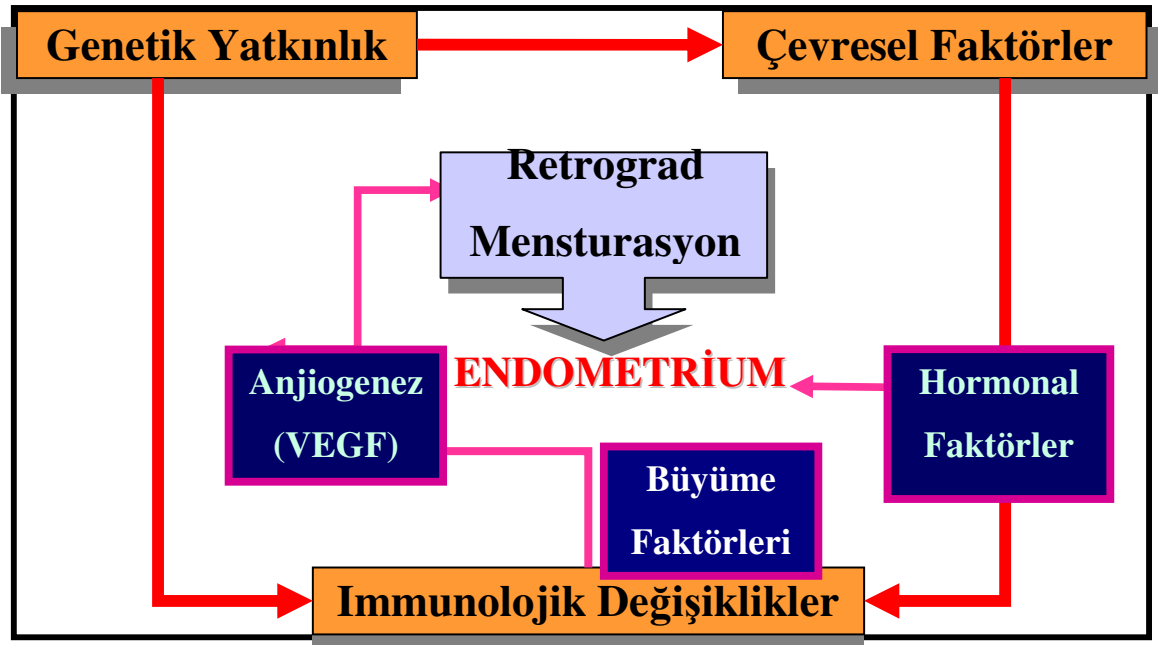
Şekil 4. Apotozis ve endometriozis

Bütün bu veriler birlikte değerlendirildiğinde endometriozisin kanser ve kanser metastazları ile benzer özellikler gösterdiği açıkça görülmektedir. Dolayısıyla, endometriozis etiyopatogenezinin anlaşılmasında kanser araştırmaları önemli ölçüde ışık tutacaktır.

Çevresel Faktörler Ve Endometriozis

Endometriozisin çevresel faktörlerle ve özellikle of 2,3,7,8-Tetraklorodibenzo-p-dioksin (dioksin) ile ilişkisi hastalığın etiyopatogenezi konusunda yeni bir bakış açısı oluşturmuştur. Güçlü bir kimyasal zehir olan dioksinin rhesus maymunlarında endometriozise yol açtığı gözlenmiştir (73). Dioksinin hedef genleri sitokrom p450, plazminojen aktivatör inhibitör-2 ve interlökin 1-beta gibi inflamasyon ve farklılaşma ile ilgili düzenleyici genlerdir (74, 75). Aday genler olarak ortaya sürülen Glutasyon S-transferaz ailesine ait enzimler dioksinin detoksifikasyonunda rol almaktadır (76). Bu özellik çevresel faktörler ve genetik arasında dolaylı bir bağ olarak karşımıza çıkmaktadır.

Endometriozis çok sayıda gen ile çevresel faktörlerin etkileşimde bulunduğu çok nedenli bir hastalık olarak tanımlanmaktadır. Bağışıklık sistemindeki değişiklikler ise hastalığın nedeni veya sonucu olabilir ve bu değişiklikler genetik nedenlerden kaynaklanabilir. Dioksin gibi çevresel faktörler endometriozis hastalarında bağışıklık sisteminde baskılayıcı etkilere yol açabilirler veya hormonal özellikler gösterebilirler. Dioksin steroid reseptör düzeylerinde değişmelere yol açarak hormonların dokuya özel etkilerini etkileyebilir. Bu tür maddelerin vücuttan temizlenmesinde rol oynayan genlerdeki mutasyonlar çevresel faktörlerle genetik arasındaki ilişkiyi açıklayabilecek bir örnek oluşturur. Hormonal değişikliklerle beraber bağışıklık sistemi üzerindeki süregelen baskı peritona ulaşmış endometrial dokunun implantasyonunda ve kalıcı hale gelmesinde rol oynayabilir. Endometriozis ile kanser arasında yakın bir ilişki söz konusudur. Overlere ait ve endometrioid kanserlerde endometriozis kanser öncesi bir lezyon olabilir. Diğer taraftan, kanser araştırmalarından elde edilen sonuçlar endometriozisin etiopatogenezine de ışık tutmaktadır. Bu çalışmaların endometriozis ile olan ilişkilerini bilmek ve izlemek hastalığın sadece etiopatogenezinin anlaşılmasına değil, tedavisine de katkıda bulunacaktır. İlerleyen yıllarda kanser tedavisi için geliştirilen hücre ve gen tedavisi yöntemleri endometrioziste tedavi seçeneği olarak karşımıza çıkacaktır. Endometriozis endokrin, immunolojik, genetik ve çevresel elemanların birbirleriyle etkileşimleri sonucunda ortaya çıkmaktadır (Şekil 5).



Şekil 5. Endometriozis etiopatogenezini: Güncel yaklaşım

Endometriozis Tanısı ve Tedavisi

Endometriozis karın ağrısı, dismenore, disparoni ve işlev bozukluğu sonucunda oluşan adet kanaması ve kısırlık gibi bir dizi bulgular gösterir. Bu bulguların hiçbiri hastalığa özgün değildir. En sık görülen bulgu ağrıdır. Ağrı yetişkinlerin % 30-70'inde, adölesanların ise % 45-58'inde görülmektedir. Yetişkinlerin % 50'sinden fazlasında ve adölesanların ise yaklaşık %75'inde dismenore görülmektedir. Kısırlık ise hastaların % 30'nda görülen bir bulgudur. Hastalığın kesin tanısı laparaskopi veya laparotomi ile lezyonları görülmesi ve patolojik inceleme sonucunda konulabilir. Tedavi hastanın gebelik isteğine bağlı olarak düzenlenir.

Kısırlığın düzeltilmesinde tıbbi tedavinin yeri yoktur (77). Tam tersine tıbbi tedavi ovulasyonu baskılamakta ve gebeliği geciktirmektedir. Cerrahi tedavinin ise her evrede gebelik oranlarına katkısı vardır (78). Evre I ve II olgularda yapılan laparoskopik cerrahi tedavinin gebelik oranlarını artırdığı gösterilmiştir (79). Cerrahi tedaviye eklenen tıbbi tedavinin gebelik oranları üzerine etkisi gösterilememiştir (80-83). Kısırlık tedavisinde aşılama ve tüp bebek yöntemlerinin etkili olduğu gösterilmiştir. (84,-86).

Günümüzde bilinen ağrı tedavisi östrojen düzeylerinin düşürülmesine yöneliktir. Bu amaçla östrojen- -progesteron bileşimleri, progestojenler, danazol, and gonadotropin-releasing hormon agonistleri (GnRHa) kullanılmaktadır. Bu ilaçlar ağrı tedavisinde eşit derecede etki gösterirler (82,87,88). Ancak, bu tedaviler bir ölçüde başarılı olabilmektedir. Ağrının giderilmesinde çeşitli deneysel tedavilerle oldukça başarılı sonuçlar elde edilmiştir. Bu tedaviler aromataz inhibitörleri (AIs) yaygın olarak kullanılmaktadır (89-94).

Ağrının giderilmesinde cerrahi tedavilerin de etkinliği gösterilmiştir. Cerrahi tedavi koruyucu ve köktenci tedavi olarak iki şekilde yapılmaktadır. Koruyucu tedaviler daha ziyade kısırlık olgularında tercih edilmektedir. Laparaskopi ile yapılan koruyucu tedavilerde yaklaşık % 70 oranında fayda sağlanabilmektedir. Ancak, tedaviden sonraki her yıl içerisinde %10 olarak artan şekilde astaların ağrı yakınması tekrar etmektedir. Laparaskopiye ek olarak yapılan sinir kesileri gibi diğer yardımcı cerrahi işlemlerin ağrının giderilmesinde yararlılığı gösterilememiştir. (95,96). Rahim ve yumurtalıkların çıkartıldığı radikal cerrahi de kesin bir tedavi olarak kabul görülmemektedir.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Projede belirlenen polimorfizmlerin saptanması için ilk kademedede aşağıda belirlenen klinik kriterlere dayanılarak olguların tanımı yapılmıştır. Çalışmanın ikinci kademesinde ise bu örneklerle ait DNA'lar hazırlanmış, saflık tayinleri yapılmış ve DNA polimorfizimleri RFLP yöntemi ile saptanmıştır. Bu kademelerdeki çalışmalar tamamlandıktan sonra VEGF Gen bölgesinin polimorfizmler incelenmiş ve bu örneklerle ait serumlarda ELISA ile VEGF düzeyleri ölçülmüştür.

3.1. Seçilen Örneklerin Tanımı

Bu çalışmada iki örnek grubu kullanılmıştır. Birinci grupta İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı Jinekoloji Polikliniğine başvuran endometriosisli hastalar ele alınmıştır. İkinci grup ise kontrol grubudur

3.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Agaroz (Prona), Amonyum asetat (Sigma A-8920), Amonyum klorid (Sigma A-5666), Asetik asit (MECK K-04134156), Borik asit (Sigma B-6768), Hidroklorik asit (% 37 Merck K-13190114), Brom fenol blue (Sigma B-6896), dNTP seti (MBI Fermentas), EDTA (dihidrat) (Merck K-90602121), Etanol (%99 Tekel), Etidium bromid (Sigma E-8751), Hidrojen peroksit (%35 Merck K-22035097), Mineral yağ (Sigma M-5904), Potasyum bikarbonat (Merck K-126223552), Sodium doedocyl (lauryl) sulfat (Sigma L-5750), Sodyum hidroksit (Merck C754962), Kalium dihidrogen fosfat (A 741071 Merck), Sodyum klorür (Carlo Erba 368257), Trizma baz (Sigma T-1503), Taq polimeraz (MBI Fermentas), Xylene cyanol (Sigma X-4126), Ficoll 400 (Sigma F-9378), Proteinaz K (Merck), Potasyum hidroksit (Sigma P 1767), Triton X-100 (Sigma T-9284), Mercuric klorür (Sigma) Amonyum sülfat (Sigma A 5132), Xylene orange (Sigma X 0127), İzopropanol (Sigma 405-7), DNA size marker (100 bp DNA ladder, 100 bp DNA ladder plus, pUC 19 DNA/Msp1 marker) (MBI Fermentas), BsmFI, BsrUI, primerler (MBI Fermentas).

3.3. Kullanılan Gereçler

Elektroforez için güç kaynağı, Hassas terazi, Polaroid kamera (DS34 Direct screen instant camera), Isıtıcıli manyetik karıştırıcı (Electromag), Mikrodalga fırın (Philco), Mikrosantrifüj (TDX), PCR aleti, pH metre (HANNA), Pipet takımı, (Eppendorf) Falkon santrifüj (Hereaus), soğutmalı santrifüj, (Hettich, Universal 32 R), Spektrofotometre (Shimadzu UV-1208), Su banyosu (Elektromag), UV transilluminator (Strategene UV/White light transilluminator), Vorteks (Nuve mix), Elektroforez Sistemi, ELISA cihazı

Çalışmamızda kullanılan primerler

VEGF +405 (G/C) polymorphism sense: 5'-ATTTATTTTTGCTTGCCATT-3'

VEGF +405 (G/C) polymorphism antisense: 5'-GTCTGTCTGTCTGTCCGTCA-3'

VEGF -460 (C/T) polymorphism sense: 5'-TGTGCGTGTGGGGTTGAGCG-3'

VEGF -460 (C/T) polymorphism antisense: 5'-TACGTGCGGACAGGGCCTGA-3'

3.4. KULLANILAN ÇÖZELTİLERİN HAZIRLANMASI

3.4.1. DNA İzolasyonunda Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması:

Eritrosit Parçalama Tamponu (Lysis Buffer)

8.74 gram Amonyum klorür, 1 gram Potasyum bikarbonat , 200 µl 0.5 molarlık Etilen diamine tetra asetat (EDTA)'nın tartımları yapılarak erlen içine alındı. 900 mililitre ddH₂O eklendi ve çözeltinin pH'sı 1 normal NaOH ile 7.4'e ayarlandı. Daha sonra balon joje içine alınarak 1 litreye tamamlandı. Çözelti ısıya dayanıklı cam şişelere aktarılarak 120⁰C'de 15 dakika otoklavlandı ve +4⁰C'de saklandı.

µ 0.5 M Disodium Etilen Diamin Tetra Asetat (EDTA) (pH 8.0)

186.1 gram Etilen diamin tetra asetat (EDTA) tartılarak beher içine alındı ve 800

ml ddH₂O eklendi. Manyetik karıştırıcı yardımıyla çözündürüldü ve pH'sı sodyum hidroksid çözeltisi ile 8.0'e ayarlanarak ddH₂O ile 1 litreye tamamlandı. 120⁰C'de 15 dakika otoklavlanarak sterilize edildi.

4 Molar Sodyum Klorür (NaCl)

233.6 gram Sodyum klorür tartılarak erlene alındı. Üzerine 800 mililitre ddH₂O ilave edildi ve manyetik karıştırıcı yardımıyla iyice çözündürüldü. Balon jojeye aktarılarak 1 litreye tamamlandı. 120⁰C'de 15 dakika otoklavlanarak sterilize edildi.

Lökositleri Parçalama Tamponu (White Blood Cell Buffer-WBL)

25 mililitre 4 molar sodyum klorür ve 50 mililitre 0,5 molar 50 mililitre Etilen diamin tetra asetat (EDTA) direk balon jojeye konularak 1 litreye tamamlandı. 120⁰C'de 15 dakika otoklavlanarak sterilize edildi. Oda ısısında saklandı.

1 Molar Tris tamponu (stok)

121.1 gram Tris baz tartılarak ve bir behere alındı. Üzerine 42 mikrolitre hidroklorik asit ile yaklaşık 800 mililitre ddH₂O eklenerek manyetik karıştırıcı yardımıyla iyice çözündürüldü. Daha sonra balon jojeye aktarıldı ve 1 litreye tamamlandı. 120⁰C'de 15 dakika otoklavlanarak sterilize edildi.

9,5 Molar Amonyum asetat

73.22 gram amonyum asetat tartılarak beher içine alındı. Üzerine 80 mililitre ddH₂O eklenerek manyetik karıştırıcıda çözündürüldü. Balon jojeye aktarıldı ve ddH₂O ile 100 mililitreye tamamlandı. 0.22 mikronluk filtreden geçirilerek sterilize edildi ve +4⁰C'de saklandı.

%10'luk Sodyum dodesil sülfat (SDS)

10 gr sodyum dodesil sülfat tartıldı. SDS tozlarını kaldırmamaya dikkat ederek

beher içine alındı ve üzerine 80 mililitre ddH₂O eklendi. Manyetik karıştırıcı yardımı ile çözüldürüldü ve pH'sı 7.2'ye ayarlandı. 0.22 mikronluk filtreden geçirilerek sterilize edildi ve oda ısısında saklandı.

Proteinaz K (20 mg/ml)

20 miligram proteinaz K tartılarak steril bir gode içinde steril ddH₂O ile 1 mililitreye tamamlandı. -20 °C'de saklandı.

3.4.2. Agaroz Jel Elektroforezi'nde Kullanılan Çözeltiler

Etidyum Bromür(10 mg/ml)

10 gram etidyum bromür tartılarak steril ddH₂O ile 10 mililitreye tamamlandı.

Agaroz Jel Yükleme Tamponu (5x)

20 gram Ficoll 400, 1 gram SDS, 0.2 mililitre 0.5 molarlık Etilen diamin tetraasetat, 1 mililitre 1 molarlık Tris (pH 8.0), 200 miligram Brom fenol blue, 200 miligram Xylen cyanol tartılarak steril ddH₂O ile 100 mililitreye tamamlandı. Oda ısısında saklandı.

5x Tris-Borik asit-Etilen diamin tetraasetat (TBE)

54 gram Tris baz ve 27,5 gram Borik asit tartılarak beher içine aktarıldı.Üzerine 20 mililitre 0.5 molarlık EDTA (pH'sı 8.0) ve 800 ml ddH₂O ilave edilerek manyetik karıştırıcıda çözüldürüldü. Çözelti balon jojeye aktarılarak 1 litreye tamamlandı ve 120 °C'de 15 dakika otoklavlanarak sterilize edildi. Oda ısısında saklandı.

3.5. KULLANILAN YÖNTEMLER

3.5.1. Periferik kandan DNA İzolasyonu

DNA izolasyonu için kan örnekleri steril EDTA'lı tüplere alınmış ve en geç bir

gün içinde çalışmak üzere oda ısısında saklanmıştır. 10 ml periferik kan örneği steril EDTA'lı tüplere alındıktan sonra çalışma için falkon tüpüne aktarıldı. Üzerine 1:3 oranında (30ml) eritrosit parçalama çözeltisi eklenerek karıştırıldı ve +4°C'de 15 bekletildi. +4°C'den çıkarılan örneklerin 1500 rpm'de 10 dakika santrifüj edilerek süpernatant kısımları atıldı ve pelletleri tamamen süspanse edilerek üzerlerine tekrar 15-20 ml eritrosit parçalama çözeltisi eklendi. Örnekler +4°C'de 15 dakika bekletildikten sonra 1500 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi ve süpernatantları atılarak pelletleri süspanse edildi. Süspanse olan pellet üzerine 500 µl %10'luk SDS 50µl proteinaz K (20 mg/ml) ve 9.4 ml lökosit parçalama çözeltisi eklenerek 56°C su banyosunda 1 gece inkübe edildi. İnkübasyon sonrası her 1 ml örnek başına 0.37 ml 9.5 M 'lık amonyum asetat çözeltisi eklendikten sonra yavaşça karıştırıldı ve 3000 rpm'de 25 dakika santrifüj edilerek proteinler çöktürüldü. Santrifüj sonrası süpernatant kısmı temiz bir falkona aktarılarak üzerine 1:2 oranında %99'luk absolü alkol eklendi ve böylece DNA'nın presipitasyonu sağlandı. Yoğunlaşan DNA'nın alkol yüzeyine çıkması beklendi ve DNA steril bir mikropipet ucuyla alındı. DNA %70'lik alkolde yıkanarak ve korunmak üzere Tris-EDTA çözeltisi içinde çözündürüldü. DNA örnekleri +4°C'de muhafaza edildi (97).

3.5.2. DNA Saflık Tayini:

DNA örnekleri Tris-EDTA çözeltisi ile 1/100 oranında sulandırıldı. 260 nm'de DNA'nın ve 280 nm'de RNA ve proteinin vermiş olduğu absorbans Tris EDTA çözeltisi ile spektrofotometre sıfırlanarak ölçüldü.

260 nm'de okunan absorbans / 280 nm'de okunan absorbans oranından DNA saflığı saptandı. O.D.₂₆₀ / O.D.₂₈₀ oranı 1,7-1,8 olan DNA'lar temiz olarak kabul edildi. Bu oranın altında bir değere sahip olan DNA'lara temizleme işlemi uygulandı.

3.5.3. DNA Konsantrasyonlarının Hesaplanması:

Çift iplikli DNA'nın 260 nm'de vermiş olduğu 1 absorbans 50 µg/ml (50ng/µl)'dir. Bu temel bilgiden faydalanarak DNA formülü aşağıdaki formüle göre hesaplandı.

DNA Konsantrasyonu (ng/µl): Sulandırma katsayısı (100) x A₂₆₀ x 50

3.5.4. PCR yöntemiyle DNA'da VEGF +405 Gen bölgesinin çoğaltılması:

DNA örneklerinden 50µl hacminde PCR örnekleri hazırlanır. 1 ünite Taq polimeraz enzimi, Taq polimerazın çalışması için gerekli olan 10x reaksiyon çözeltisi, VEGF +405 bölgesine özgü primer çifti (sense 5'-ATTTATTTTTGCTTGCCATT-3' ve antisense 5'-GTCTGTCTGTCTGTCCGTCA-3'), 50mM KCl, 10mM Tris-HCl, 4mM MgCl₂, 0.1mM dNTP ve ddH₂O kullanılarak PCR ortamı hazırlanır ve DNA örnekleri yaklaşık 500ng olacak şekilde PCR karışımlarına eklenir.

Buharlaştırmanın engellenmesi için karışımın üzerine 50 µl mineral yağ damlatılarak örneklerin Stratagene Mini Thermal Cycler'da PCR'ları yapıldı

VEGF +405 Gen bölgesi için kullanılan amplifikasyon koşulu:

94 derecede 1 dakika sonrasında 94 derecede 1 dak, 55 derecede 1 dak, 72 derecede 1 dak, 72 derecede 10 saniye prosedürü 35 döngü olarak gerçekleştirilmiştir.

Agaroz Jel Elektroforezi

PCR sonrası oluşan amplifikasyon ürünlerinin incelenmesi için %2lik agaroz jel hazırlanır ve örnekler bu jele yüklenerek 100 volt'luk elektrik akımında yürütüldü.

VEGF +405 Gen Bölgesi Amplifikasyon Ürünlerinde GC Gen Polimorfizminin Tespiti

Amplifiye olan PCR ürünleri BsmFI Restriksiyon Endonükleaz enzimi ile kesildi. Kesim işleminde bir örnek için 10 µl PCR amplifikasyon ürünü, 1,5 µl didistile su, 0,7 µl 10X NEBuffer 4, 0,7 µl 100X BSA, 0,3µl BsmFI Restriksiyon Endonükleaz enzimi kullanıldı (98).

Kesim işlemi için karışım hazırlandıktan sonra örnekler 65 °C su banyosunda 1 saat inkübe edildi. Kesim ürünleri% 2'lik agaroz'da 1xTBE çözeltisi içinde, 120 volt'luk elektrik akımında, 30 dakika yürütüldü. Elektroforez tamamlandıktan sonra jel UV altında incelendi ve Polaroid kamera ile fotoğrafı çekildi.

3.5.2. PCR yöntemiyle DNA'da VEGF-460 Gen bölgesinin çoğaltılması:

DNA örneklerinden 50µl hacminde PCR örnekleri hazırlanır. 1 ünite Taq polimeraz enzimi, Taq polimerazın çalışması için gerekli olan 10x reaksiyon çözeltisi, beta adrenerjik reseptör gen bölgesine özgü primer çifti (sense 5'-TGTGCGTGTGGGGTTGAGCG-3' ve antisense 5'-TACGTGCGGACAGGGCCTGA-3'), 50mM KCl, 10mM Tris-HCl, 1,5mM MgCl₂, 50nMol dNTP,%001 W/V jelatin ve ddH₂O kullanılarak PCR ortamı hazırlanır ve DNA örnekleri yaklaşık 50ng olacak şekilde PCR karışımlarına eklenir.

Buharlaştırmanın engellenmesi için karışımın üzerine 50 µl mineral yağ damlatılarak örneklerin Stratagene Mini Thermal Cycler'da PCR'ları yapıldı.

VEGF-460 Gen bölgesi için kullanılan amplifikasyon koşulu:

DNA amplifikasyonu 94 derecede 5 dak sonrası, 94 derecede 30 saniye, 59 derecede 30 saniye, 72 derecede 45 saniye, 72 derecede 5 dakika prosedürünün 38 siklüs boyunca uygulanması sonrasında gerçekleşir.

Agaroz Jel Elektroforezi

PCR sonrası oluşan amplifikasyon ürünlerinin incelenmesi için %2lik agaroz jel hazırlandı. Örnekler agaroz jel elektroforezinde hazırlanmış olan jele tatbik edilerek 100 volt'luk elektrik akımında yürütüldü.

VEGF-460 Gen Bölgesi Amplifikasyon Ürünlerinde CT Gen Polimorfizminin Tespiti

Amplifiye olan PCR ürünleri BsrUI Restriksiyon Endonükleaz enzimi ile kesildi. Kesim işleminde bir örnek için 10 µl PCR amplifikasyon ürünü, 1,5 µl didistile su, 0,3 µl BsrUI Restriksiyon Endonükleaz enzimi kullanıldı (99).

Kesim işlemi için karışım hazırlandıktan sonra örnekler 37 °C'de bir saat inkübe

edildi. Kesim ürünleri% 2'lik agaroz'da 1xTBE çözeltisi içinde, 120 volt'luk elektrik akımında, 30 dakika yürütüldü. Elektroforez tamamlandıktan sonra jel UV altında incelendi ve Polaroid kamera ile fotoğrafı çekildi.

3.6. Sonuçların Değerlendirilmesinde Kullanılan İstatiksel Yöntemler

Bu çalışmanın istatistiksel analizleri SSPS 8.0 paket programı kullanılarak yapılmıştır. İstatistiksel anlamlılık sınırı $p<0.05$ olarak alınmıştır.

Genotip ve allelerin görülme sıklığının gruplararası farklılıklarının değerlendirilmesinde Ki kare ve Fisher testi kullanılmıştır. Genotip ve allelerinin lipid profili üzerindeki etkilerinin belirlenmesi için Student's t testi kullanılmıştır. Allel frekansları gen sayma metoduna göre yapılmıştır.

4. BULGULAR

Çalışmamızda kullanılan sağlıklı kontrol grubu ve endometriozis olgularına ait yaş ortalamaları Tablo 1’de gösterilmiştir.

Tablo 1: Çalışma Gruplarına Ait Bilgiler

	Gruplar	
	Kontrol	Endometriozis
Örnek Sayısı (n)	26	52
Yaş Ortalamaları (X±SD)	31.46 ± 4.79	30.71± 8.82
VEGF (X±SD)	84.39± 35.07	52.76±28.58 *
Endometriozis evresi		
Erken evre/ İleri evre (n,%)	-	11,%21.2 / 41, %78.8

VEGF:Vasküler endotelyal büyüme faktörü, *p<0.001

Yapılan istatistiksel incelemede hasta grubunda serum VEGF düzeyleri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında çok ileri derecede anlamlı olarak yüksek gözlenmiştir (p<0.001). Yaş ortalamaları açısından ise hasta ve kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmemiştir (p>0.05).

Tablo 2 'de VEGF 405 gen polimorfizmine ait genotip ve allel frekanslarının hasta ve kontrol gruplarında dağılımı verilmiştir. Hasta ve kontrol grubu arasında VEGF 405 gen polimorfizmi dağılımları açısından anlamlı fark saptanmamıştır. Endometriozis grubunda CC genotipi kontrole oranla istatistiksel açıdan yüksek bulunmuştur ($\chi^2= 2.91$, p=0.08). CC genotipini taşımanın endometriozis riskini 1.61 kat arttırdığı saptanmıştır (ODDs ratio= 1.612, %95 CI: 0.893-2.913). Endometriozis hasta grubunda GC genotipi kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı olmamakla beraber düşük frekansta gözlenmektedir ($\chi^2= 2.69$, p= 0.101). GC genotipine sahip olma

endometriozis riskini 1.395 kat azaltmaktadır. VEGF 405 C alleli hasta grubunda kontrole yüksek olup, istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ($\chi^2= 0.027$, $P=0.870$).

Tablo 2. VEGF genotip ve Allel Frekanslarının Hasta ve Kontrol Gruplarında Dağılımı

GRUP	KONTROL	ENDOMETRİOZİS
GENOTİP		
CC	9 (%34.6)	24 (%55.8)
GC	13 (%50)	13 (%30.2)
GG	4 (%15.4)	6 (%14)
ALLEL		
C	31 (%59.61)	61 (% 70.93)
G	21 (%40.39)	25 (%29.07)

Tablo 3 'de Endometriozis hasta grubunda VEGF 405 polimorfizminin serum VEGF düzeyleri ve endometriozis evresi üzerindeki etkisinin incelemesine ait veriler gösterilmiştir. VEGF 460 polimorfizmi genotip ve allellerinin VEGF düzeyleri üzerinde önemli bir etkisi saptanmamıştır. VEGF 405 polimorfizminin endometriozis evresi üzerindeki etkisi incelendiğinde ise ileri evredeki hastalarda G alleli frekansı erken evredeki hastalara göre istatistiksel olarak yüksek olabileceği açıklanmıştır. Ancak istatistiksel olarak anlamlı farklılık elde edilememiştir ($p=0,302$).

Tablo 3. Endometriozisli hasta grubunda VEGF 405 polimorfizminin serum VEGF düzeylerine ve endometriozis evresi üzerindeki etkisi

VEGF 405	VEGF (mg/dl) (X ± SD)	Endometriozis evresi	
		(n,%)	
Genotip		Erken Evre	İleri Evre
CC(n=18)	49,23± 26,37	7 (%70)	17 (%51,5)
GC (n=11)	48,53± 27,76	1 (%10)	12 (%36,4)
GG (n=4)	45,40± 18,51	2 (%20)	4 (%12,1)
Allel			
C (n=29)	48,96± 26,41	8 (%80)	29 (%87,9)
G (n=15)	47,70± 25,02	3(%30)	16 (%48,5)

VEGF: Vasküler endotelial büyüme faktörü ,n= örnek sayısı. *:p<0.05

Tablo 4 'de VEGF 460 gen polimorfizmine ait genotip ve allel frekanslarının hasta ve kontrol gruplarında dağılımı verilmiştir. Hasta ve kontrol grubu arasında VEGF 460 gen polimorfizmi dağılımları açısından anlamlı fark gözlenmemiştir. Endometriozis grubunda 460 T alleli kontrole göre yüksek bulunmuştur ($\chi^2= 0.610$, p=0.435). CT genotipini taşımanın endometriozis riskini 1.397 kat arttırdığı saptanmıştır (ODDs ratio= 1.397, %95 CI, 0.447-4.365). Endometrioziste CC genotipi kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı olmamakla beraber düşük frekansta bulunmuştur ($\chi^2= 0.610$, p= 0.435). CC genotipine sahip olma endometriozis riskini 1.143 kat azaltmaktadır. VEGF 405 C alleli hasta grubunda kontrole düşük olup, istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($\chi^2= 0.026$, P=0.871).

Tablo 4. VEGF 460 genotip ve Allel Frekanslarının Hasta ve Kontrol Gruplarında Dağılımı

GRUP	KONTROL	ENDOMETRİOZİS
GENOTİP		
TT	8 (%50)	22 (%52.4)
CT	3 (%18.8)	11 (%26.2)
CC	5 (%31.3)	9 (%21.4)
ALLEL		
C	13 (%40.62)	29 (%34.52)
T	21 (%59.38)	25 (%65.48)

Tablo 5'te Endometriozis hasta grubunda VEGF 460 polimorfizminin serum VEGF düzeyleri ve endometriozis evresi üzerindeki etkisinin incelemesine ait veriler gösterilmiştir. VEGF 460 polimorfizmi genotip ve allellerinin VEGF düzeyleri üzerinde önemli bir etkisi gözlenmemiştir.

Tablo 5. Endometriozisli hasta grubunda VEGF 460 polimorfizminin serum serum VEGF düzeylerine etkisi

VEGF 460	VEGF (mg/dl) (X ± SD)	Endometriozis evresi	
		(n,%)	
Genotip		Erken Evre	İleri Evre
TT(n=17)	54,12± 32,44	4 (%44,4)	18 (%54,5)
CT (n=9)	50,85± 24,45	2 (%22,2)	9 (%27,3)
CC (n=5)	50,18± 29,01	3 (%33,3)	6 (%18,2)
Allel			
T (n=26)	52,99± 29,45	6 (%66,7)	27 (%81,8)
C (n=15)	47,70± 25,02	5 (%55,6)	15 (45,5)

VEGF: Vasküler endotelial büyüme faktörü ,n= örnek sayısı. *:p<0.05

Hasta grubunda serum VEGF düzeyleri endometriozis evresine göre değerlendirildiğinde (Tablo 6), VEGF düzeyi ileri evredeki hastalarda erken evredeki hastalara göre daha yüksek gözlenmiştir. Aradaki farklılık istatistiksel olarak anlamlı değildir (p=0,687).Endometriozis ileri evre hasta grubunda yaş ortalaması erken evredeki hastalara göre daha yüksektir (p<0,05).

Tablo 6. Hasta grubunda endometriozis evrelerinde Serum VEGF düzeylerinin karşılaştırılması

Endometriozis evresi	VEGF düzeyi (X± SD)	Yaş (yıl)(X± SD)
Erken evre	49,08± 21,67	26,00± 5,34
İleri evre	53,77± 30,46	31,97± 9,18*

*, p=0,045

Tablo 7’de hasta grubu 30 yaşından büyük / küçük ve endometriozis erken/ileri evre olarak gruplandırıldığında, serum VEGF düzeylerinin 30 yaşından büyük ve ileri evredeki hastalarda 30 yaşından küçük ve erken evredeki hastalara göre daha yüksek olduğu gözlenmiş ancak istatistiksel olarak anlamlı fark elde edilememiştir.

Tablo 7. Hasta grubunda endometriozis evresi ve yaş kriterlerine göre serum VEGF düzeylerinin karşılaştırılması

Yaş/Endometriozis evresi	VEGF düzeyi (X± SD)
Yaş≥30/ İleri evre (n=31)	53,80± 29,98
Yaş<30/ Erken evre (n=6)	47,40± 21,16

Tablo 8’de hasta ve kontrol grupları arasında VEGF +405 G→C ve -460 C→T allellerinin serum VEGF düzeylerine etkisi karşılaştırılmıştır. Hasta grubunda VEGF +405 G, +405 C ve -460 T allelleri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel

olarak anlamlı seviyede daha düşük serum VEGF düzeyleri ile ilişkili bulunmuştur. VEGF -460 C allelindedede aynı doğrultuda gözlenen bulgu istatistiksel anlamlılık düzeyinde değildir. Hasta ve kontrol gruplarında VEGF allellerine göre serum VEGF düzeyinde belirlenen en belirgin farklılık mutant +405 C Alleline sahip olanlarda gözlenmiştir (p=0,004). Mutant -460 T alleli de daha düşük VEGF düzeyleri ile ilişkilidir (p=0,021).

Tablo 8. VEGF +405 G→C ve -460 C→T Allellerinin hasta ve kontrol grupları arasında serum VEGF düzeylerine etkisinin karşılaştırılması

	Endometriozis	Kontrol	P değeri
VEGF +405 G Alleli	47,70± 25,02 (n=15)	81,02± 42,18 (n=12)	0,017
VEGF +405 C Alleli	48,96± 26,41 (n=29)	85,23± 40,86 (n=16)	0,004
VEGF -460 C Alleli	50,61± 25,04 (n=14)	65,08± 30,62 (n=6)	0,282
VEGF -460 T Alleli	52,99± 29,45 (n=26)	80,54± 33,52 (n=10)	0,021

5.TARTIŞMA

Endometriozis hormon–responsif uterus boşluğu dışında endometrial benzeri doku gelişimiyle karakterize kronik jeolojik bir hastalıktır.Kadınlarda reproduktif yaşı %10’a kadar etkileyebilir.Etkilenmiş kadın genellikle bir veya daha fazla ağrı semptomlarına ve/veya gebe kalma güçlüğüne sahip olmasına rağmen klinik prezentasyon değişir. İmplantasyon kuramı Sampson tarafından tarif edilen ve günümüze kadar da geçerliliğini kısmen koruyan bir kuramdır (1). Uterus şekil bozuklukları, serviks darlığı, vagina atrezisi veya “hymen imperforatus” gibi adet kanının akışına engel oluşturabilen durumlarda endometriozisin fazla görüldüğü bir gerçektir. Bunun dışında adet döngüsü kısa olan ve adet kanaması uzun süren hastalarda da endometriozis görülme sıklığı daha yüksektir (100). Ancak, bu kuram sadece pelvise ait endometirozisi açıklamakla sınırlı kalması bakımından günümüzde bir alt kuram olarak ele alınmalıdır. Bir diğer önemli unsur, kadınların %70-80’inde endometrial hücrelerin ters akım yoluyla karın boşluğuna ulaştığı gösterilmesine karşın yaklaşık %7’inde endometriozis görülmesidir (101). Değişik araştırmacılar tarafından yapılan çalışmalar bu verileri desteklemektedir (3, 102). Dolayısıyla, hastalığın başka nedenleri olabileceği düşünülmüş ve karın boşluğu dışında gelişen endometriozis olgularını da açıklayacak başka kuramlar öne sürülmüştür. Beyin ve akciğerler gibi uzak yerleşimler Halban tarafından ortaya atılan, lenfatik ve kan damarları yoluyla yayılım kuramıyla açıklanmaya çalışılmıştır. Herşeye rağmen, adet kanı ters akım kuramı pelviste endometiozis gelişiminde kısmen rol oynamaktadır. Bu nedenle, implantasyon kuramı hastalığın özelliğine göre öne sürülen güncel kuram ve nedenlerin merkezinde yer alabilir

Retrograde menstrüasyon yoluyla pelvik peritonu üzerinde Sampson’un endometrial doku transplantasyonu teşhisi hastalığın gelişiminde en çok kabul edilen açıklaması getirmesine karşın sorumlu hücrel ve moleküler mekanizmalar belirsiz kalmıştır.Hastalık gelişiminde çevresel, immunolojik endokrin ve genetik etmenlerin yer aldığı multifaktöriyel bir patolojidir (103). Çeşitli çalışmalarda çok sayıda gende bazı mutasyonları ve tek nükleotid polimorfizmleri (SNP’ler) endometriozise yatkınlıkla ilişkilendirilmiş ancak bunların kesin rolü belirlenememiştir.

Histolojik olarak endometriozis benin bir hastalık olarak kabul edilmiştir. Ancak gelişme ve diğer dokulara infiltre olma ve yapışma (bağlanma) bakımaından maliniteye benzer (104). Endometriyotik bir lezyona gelişmesi ve hayatta kalması için ektopik yeni doku oluşumunu ve vasküler sistemle bağlantısını sağlamalıdır (69, 105)

Endometriozisin genetik temeli konusundaki deneysel çalışmalar ise rhesus maymunları üzerinde yapılan araştırmaları içermektedir. Rhesus türü maymunlarda meydana gelen endometriozis klinik ve histolojik açıdan insana benzerlik göstermektedir (8). Rhesus maymun kolonilerinde spontan endometriozisin kuşaklar boyunca incelenmesi hastalığın epidemiyolojisine ve genetik geçişine bir ışık tutabilir (9). California Regional Primate Research Center (CRPRC) ve Wisconsin Regional Primate Research Center (WRPRC) bu amaçlı çalışmaların yürütüldüğü merkezlerdir. Her iki merkezde yapılan çalışmalarda insandaki sonuçlara benzer şekilde, hastalığın etiolojisinde genetik geçişin önem taşıdığını gösteren sonuçlara ulaşılmıştır. Bu çalışmalar endometriozisin diabet, yüksek tansiyon ve astım gibi karmaşık bir genetik geçiş gösterdiğini ve fenotipin sorumlu olabilecek genelerdeki değişik allellerin birbirleriyle ve çevreyle etkileşimden kaynaklanabileceğini ortaya koymuştur. Bu etkileşimde fenotipin oluşturulması esası bilinen Mendel yasaları ile benzerlik göstermez. Genetik faktörler ile çevresel faktörlerin göreceli olarak ve birbirleriyle etkileşimi konusunda ise elde edilen bilgiler doğrultusunda bir yorum yapabilmek olanaksızdır. Bu yorumu yapabilmek için uzun zamana yayılmış ileriye dönük çalışmalara gereksinim vardır.

Sorumlu olan genleri saptayabilmek için doku üzerinde çeşitli moleküler uygulamalar yapılmaktadır. Genomik DNA analizi gibi yöntemlere de hastalıktan sorumlu genler saptanmaya çalışılmaktadır. Bu yaklaşımlar hastalığın düzeneğini aydınlatmakla kalmayıp, ileride hastalığın tedavisine de yeni bir boyut getirecektir. Niceliksel gen analizi bütün genomda herhangi bir gen bölgesinin özel bir dizilim gösterebileceği temeline dayanmaktadır. Bu yöntemle göre bütün genomu kapsayacak şekilde insanda bulunan toplam 30,000–40,000 genin taranmasının etkili bir yaklaşım olduğu öne sürülmektedir. Bu tür bir yaklaşımda akrabalık ilişkisi bulunan endometriozis hastalarında hastalıktan sorumlu olabilecek belirli bir gen bölgesinin kalıtılma şansının daha fazla olması beklenir. Bu konuda yürütülen çalışmalarda sınıflama hataları, yetersiz örnek sayısı ve özellikle etnik gruplamalar gibi çeşitli sorunlarla karşılaşıldığı rapor edilmiştir (106, 107). Özellikle son grupta DNA

polimorfizmi hastalıkla ilgili olmayıp tamamen bir etnik guruplama sorununu yansıtabilir. Endometrioziste ve diğer jinekolojik sorunlarda farmakogenomik ve polimorfizm ile ilgili geniş bir derleme yakın zamanda yayınlanmıştır (108).

Karmaşık geçişlerde sadece bağlantı analizi yapılarak şüpheli genlerin saptanması yeterli olamayacağı açıklanmıştır. Bu açıdan bakıldığında, ek bir yaklaşım olarak, kontrol guruplarında ve endometriozis hastalarında aday genlerin de saptanmasına gereksinim duyulabileceği izlenim elde edilmiştir. Günümüzde endometriozis ile ilişkili aday genler bildirilmiştir. Bu genlere ait polimorfizm ve null mutasyonların endometriozise yol açabileceği üzerinde durulmuştur (11-13). Bunlar arasında galaktoz metabolizması ile ilgili galaktoz-1-fosfat uridil transferaz (GALT)(10), Faz I detoksifikasyon genleri (Ah Reseptör, CYP1A1, N-acetyl transferase 2 (NAT1), Faz II detoksifikasyon genleri (glutasyon S-transferaz GSTs, N-acetyl transferase 2 NAT2), steroid-ilişkili genler: Östrojen reseptör, Aromataz (CYP19), hücre içi adezyon genleri (ICAM-1), matriks metalloproteinazları, angiojenik faktörler, sitokinler ve kemokinler bulunmaktadır. Kemokinler arasında VEGF, RANTES (regulated-onactivation, normal T-cell-expressed, and normal T-cell-secreted I gen) ve MCP-1 (monocyte chemotactic protein 1) konsantrasyonlarının endometriozisli hastaların periton sıvılarında arttığı gösterilmiştir. İnterlökin-10 (IL-10) promoter polimorfizminde ise karbonik anhidraz II antikörlerinin (anti-CA II ab) ortaya çıkmasının endometriozis olgularında genetik bir yatkınlığa neden olabileceği öne sürülmüştür (14).

Endometriozis kanser ile benzer özellikler göstermektedir ve kanser bağımlı genlerin etkileşimi sonucunda ortaya çıkabilir (109, 110). Kanser olgularında uygun görülmesi durumunda tümör baskılayıcı genlerde heterozigot yapının kaybolması klinik olarak araştırılmaktadır. Benzer şekilde endometrioziste de tümör baskılayıcı genlerde ve DNA hatalı eşleşme (mismatch) onarım genlerinde heterozigot yapı kaybı olabilir (111). Endometriozisin malign dönüşümünde hMLH1, p16(INK41) ve PTEN genlerinin etkisi olabileceğini gösteren bulgular mevcuttur.

Moleküler tıptaki gelişmeler sonucunda microarray kullanılarak gen ekspresyonu seviyelerine bakılması endometrioziste yürütülen diğer genetik çalışmalar arasında yer almaktadır. Endometriozis konusunda bilgi üretmesine rağmen henüz kesin bir sonuca ulaşamamıştır. Burada temel sorun microarreylerin ticari olarak üretilmesi ve buna yönelik bir gen havuzunu içermelerinden kaynaklanır. Eyster ve ark. üç hastadan elde ettikleri örneklerde ektopik ve ötopik endometriumda gen ekspresyonunun değişiklik

gösterdiğini bildirmişlerdir (112). Bu çalışmada 4133 gen gözden geçirilmiş ve 8 genin ektopik odaklarda ötopik odaklara göre daha yüksek seviyelerde ifade edildiği gösterilmiştir. Bu genlerin bir kısmı hücre iskelet sisteminde rol oynayan vimentin, β -actin gibi genlerdir. Diğerleri kompleman, ve immunoglobulin hafif ve ağır zincirlerini içeren bağışıklık sistemi işlevi ile ilgilidir.

Tam uzunlukta 12,000 insan geni veya ifade edilmiş bütün genomun taranma gerekliliğini ortadan kaldıran tag dizileri içeren Affymetrix Hu95A microarray kullanılarak yapılan değerlendirmelerde 91 genin aşırı ifade edildiği, 115 genin ise ifadesinin azaldığı gösterilmiştir. Bunlar arasında glycodelin ifadesi azalmış, growth-response gen-1 ifadesi ise artmıştır. Growth-response gen-1'in endometriozis etiopatogenzinde rol aldığı düşünülen E2, IL-1 β , IL-g, TNF, and VEGF gibi genlerle etkileşim gösterdiğine inanılmaktadır. Kao ve ark. implantasyon penceresi döneminde alınan 8 tanesi endometriozis hastalarından 7 tanesi ise normal kadınlardan alınmış 15 biyopsi örneği üzerinde yaptıkları incelemelerde 12000 üzerinde geni incelemişlerdir (113). Bu microarray çalışması endometriozisli hastaların endometriumlarında hücre adezyon moleküllerinde, daha önce endometriozisle ilgisi bilinmeyen endometrial epitelyal proteinleri kodlayan genlerde ifade artışı olduğunu göstermiştir. Doku microarray (TMA) analizi veya proteomik ile ilgili çalışma sonuçları henüz yayınlanmamıştır (114, 105).

Neoangiogeneziste anahtar mediatör endotelial hücre proliferasyonunu ve migrasyonu stimule etmesi permeabilityyi arttırması nedeniyle vaskküler endotelial büyüme faktörü (VEGF)'dür, (115). VEGF bu özelliklerinden dolayı tümör invazyonu metastazın bir belirteci olarak kabul edilir. VEGF geninde bir kısmı fonksiyonel öneme sahip olan SNP'ler tanımlanmıştır. Örneğin 5'- proteine çevrilmeyen bölgede +405G>C polimorfizmi VEGF protein üretimi üzerinde önemli bir etkiye sahiptir (116,117) Vaka- kontrol çalışmalarında VEGF polimorfizmlerinin diabetk retinopati (118) prostat kanseri (119) ve meme kanseri (120) gibi hastalıklarla ilişkili olduğu bildirilmiştir.

VEGF aşağıda belirtilen nedenlerden ötürü endometriozisin gelişiminde ve progresyonunda hayati bir role sahip olabilir.

a- VEGF , insan uterus epitelyal ve stromal hücrelerinde eksprese edilir ve östrojen tarafından regüle edilir (121,122).

- b- VEGF endometriotik implantların epitelyumunda özellikle kırmızı lezyonlarda lokalizedir (123,124) .
- c- VEGF düzeyleri endometriozisli hastaların peritonal sıvılarında ve serumlarda yüksektir (125).

Bu nedenle VEGF düzeyleri endometrioziste diagnostik ve t ropatik bir hedef olarak önerilmektedir (126).

Kim ve ark.(2005) (127), endmetrizis grubunda -460 C/T polimorfizmine ait allel frekansları ve genotip dağılımları kontrol grubundan farklı değildi. 405C /G polimorfizminin genotip dağılımı endometriozisli hastalarda anlamlı derecede farklıydı. Endometriozisli hastalarda 405 CC genotipi kontrole göre daha yüksek sıklıkta bulunmuştur.

Hsieh ve ark. (2004) (128), -460 C/T polimorfizmi ve endometriozise yarkınlık arasında anlamlı bir ilişki göstermiŐ olup, bu çalışmalarında 460 CC genotipli kontrol bireylere hiç rastlamamıŐ olduklarını bildirmişlerdir.

Han ve ark. (2004) (129), çalışmalarında 405 CC genotip frekansını kontrol grubunda yine oldukça d Őuk olarak (%13,2) saptamıŐlardır. Bu değer Japon populasyonunda Awata ve arkadaşlarının çalışmalarında da (2002) (130), %10,3 olarak bildirilmiştir. Çalışmamızda da VEGF 405 CC genotipi hasta grubuna oranla (%55.8), kontrol grubunda (%34.6) d Őuk olarak saptanmıştır.

Kim ve ark. alıŐmasında Kore populasyonuna ait çok az veri olmasına rağmen 405 CC genotip frekansının kontrol bireylerde genel populasyondan fark olmadığı rapor edilmiştir.

VEGF geninin ‘untranslated’ bölgesindeki polimorfizmlerin protein üretimini nasıl etkilediği açık olmamasına rağmen, VEGF geni SNP’lerinin VEGF sentezi ile ilişkili olduğunu bildiren çalışmalar literatürde yer almıŐtır. Watson ve ark. (2002) (131), çalışmalarında VEGF geninde 405 polimorfizmine ait genotiplerin uyarılmıŐ periferel kan mononükleer hücrelerinden VEGF  retimi ile anlamlı bir Şekilde korele olduğunu göstermiŐlerdir.

Awata ve ark. (2002) (130), normal Japon populasyonunda 405 CC genotipi ile daha yüksek VEGF konsantrasyonları arsındaki ilişkiyi göstermiŐlerdir.

Güncel bir çalışmada (132), ise 405 bölge polimorfizminin kanser hücrelerinde VEGF protein ekspresyonu ve tümör anjiogenik aktivite ile korele olduğunu öne sürmüşlerdir.

VEGF geninin spesifik nükleotid polimorfizmine sahip bireylerin çeşitli hücrelerde VEGF'nin artmış ekspresyonu aracılığıyla endometriozis gelişiminde daha yüksek risk ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir.

VEGF'nin artmış serum seviyelerinin 450CC genotipli bireylerde artmış endometriozis ilişkisine dayanan bulgulara karşın dolaşan VEGF'nin endometriozişte regüle edilip edilmediği konusunda karşıt literatürler mevcuttur.

Gagne ve ark (133), çalışmalarında endometriozisli hasta grubu ve kontrol grubu arasında VEGF düzeyleri incelendiğinde hasta grubunda istatistiksel olarak anlamlı düşük VEGF düzeyleri saptanmıştır.

Kim ve ark. yaptıkları çalışmada 3. evre endometriozis hastalarda 405 C/G allel frekansları ve genotip dağılımlarının 4. evre endometriozisli hastalardan farklı olmadığını bildirmişlerdir.

Çalışmamızda VEGF düzeyleri endometriozis evresine göre değerlendirildiğinde ileri evredeki hastalarda erken evredekilere göre daha yüksek olarak saptanmış ancak fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

Serum VEGF düzeyleri üzerine VEGF 405 polimorfizminin etkisi incelendiğinde ise ileriki evredeki hastalara göre 405 G alleli daha yüksek olarak saptanırken fark istatistiksel anlamlılık sınırına ulaşmamıştır. VEGF 460 polimorfizmine ait genotip frekansları ise serum VEGF değerleri üzerinde kaydadeğer bir etki göstermediği saptanmıştır. Mutant 460 allelinin daha düşük VEGF düzeyleriyle ilişkili olduğu istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur.

Awata ve ark. çalışmasında 64 sağlıklı insanda VEGF C(634)G polimorfizmi ve VEGF serum düzeyleri değerlendirilmiş olup, CC genotipli sağlıklı bireylerde açık serum VEGF düzeyleri istatistiksel anlamlı bir şekilde yüksek bulunmuştur. CG ve GG genotipleri açısından ise böyle bir ilişkiye rastalanmamıştır.

Sonuç olarak bu çalışmada;

VEGF 405 gen polimorfizmi CC genotipi taşımanın Endometriozis riskini 1.61 kat arttırdığı gözlemlenmiştir.

VEGF 405 gen polimorfizmi GC genotipi taşımanın Endometriozis riskini 1.395 kat azalttığı gözlemlenmiştir.

VEGF 405 C alleli görülme sıklığı hasta grubunda kontrol grubuna göre yüksek olup, istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($\chi^2 = 0.027$, $P=0.870$).

İleri evre Endometriozis hastalarında VEGF 405 G alleli frekansının erken evredeki hastalara göre daha yüksek olduğu saptanmış ancak fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

VEGF 460 gen polimorfizmi genotip ve allellerin VEGF düzeyleri üzerinde anlamlı bir etkisi gözlenmemiştir.

Endometriozis grubunda 460 T alleli kontrole göre yüksek bulunmuştur ($\chi^2 = 0.610$, $p=0.435$). 460 CT genotipi taşımanın Endometriozis riskini 1,39 kat arttırdığı, CC genotipi taşımanın ise Endometriozis riskini 1,14 kat azalttığı gözlenmiştir.

KAYNAKLAR

1. Sampson, JA. Peritoneal endometriosis due to the menstrual dissemination of endometrial tissue into the peritoneal cavity. *American Journal of Obstetrics and Gynecology* 1927; **14**: 422-425.
2. Halme, J, Hammond, MG, Hulka, JF, Raj, SG and Talbert, LM. Retrograde menstruation in healthy women and in patients with endometriosis. *Obstetrics and Gynecology* 1984; **64**: 151-154.
3. Kliman HJ, AA, Olive D, Meaddough EL, Ahn KS, Comite F, Attar E. Endometrial glandular cells are found equally in the peritoneal fluid of women with or without endometriosis. *in American Society for Reproductive Medicine* 1995. Seattle, WA.
4. Kennedy, S, Mardon, H and Barlow, D. Familial endometriosis. *J Assist Reprod Genet* 1995; **12**: 32-4.
5. Kennedy, S, Hadfield, R, Mardon, H and Barlow, D. Age of onset of pain symptoms in non-twin sisters concordant for endometriosis. *Hum Reprod* 1996; **11**: 403-5.
6. Moen, MH, Endometriosis in monozygotic twins. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1994; **73**: 59-62.
7. Hadfield, RM, Mardon, HJ, Barlow, DH and Kennedy, SH. Endometriosis in monozygotic twins. *Fertil Steril* 1997; **68**: 941-2.
8. MacKenzie, WF and Casey, HW. Animal model of human disease. Endometriosis. Animal model: endometriosis in rhesus monkeys. *Am J Pathol* 1975; **80**: 341-4.
9. Zondervan, K, Cardon, L, Desrosiers, R, Hyde, D, Kemnitz, J, Mansfield, K, Roberts, J, Scheffler, J, Weeks, DE and Kennedy, S. The genetic epidemiology of spontaneous endometriosis in the rhesus monkey. *Ann N Y Acad Sci* 2002; 955: **233-8**: discussion 293-5, 396-406.
10. Cramer, DW, Hornstein, MD, Ng, WG and Barbieri, RL. Endometriosis associated with the N314D mutation of galactose-1-phosphate uridyl transferase (GALT). *Mol Hum Reprod* 1996; **2**: 149-52.

11. Baranova, H, Bothorishvilli, R, Canis, M, Albuisson, E, Perriot, S, Glowaczower, E, Bruhat, MA, Baranov, V and Malet, P. Glutathione S-transferase M1 gene polymorphism and susceptibility to endometriosis in a French population. *Mol Hum Reprod* 1997; **3**: 775-80.
12. Baranov, VS, Ivaschenko, T, Bakay, B, Aseev, M, Belotserkovskaya, R, Baranova, H, Malet, P, Perriot, J, Mouraire, P, Baskakov, VN, Savitskyi, GA, Gorbushin, S, Deyneka, SI, Michnin, E, Barchuck, A, Vakharlovsky, V, Pavlov, G, Shilko, VI, Guembitzkaya, T and Kovaleva, L. Proportion of the GSTM1 0/0 genotype in some Slavic populations and its correlation with cystic fibrosis and some multifactorial diseases. *Hum Genet* 1996; **97**: 516-20.
13. Nakago, S, Hadfield, RM, Zondervan, KT, Mardon, H, Manek, S, Weeks, DE, Barlow, D and Kennedy, S. Association between endometriosis and N-acetyl transferase 2 polymorphisms in a UK population. *Mol Hum Reprod* 2001; **7**: 1079-83.
14. Kitawaki, J, Obayashi, H, Ohta, M, Kado, N, Ishihara, H, Koshiba, H, Kusuki, I, Tsukamoto, K, Hasegawa, G, Nakamura, N, Yoshikawa, T and Honjo, H. Genetic contribution of the interleukin-10 promoter polymorphism in endometriosis susceptibility. *Am J Reprod Immunol* 2002; **47**: 12-8.
15. Fraser, HM and Lunn, SF. Angiogenesis and its control in the female reproductive system. *Br Med Bull* 2000; **56**: 787-97.
16. Neufeld G, CT. Poltorak Z Vegf & its receptors FASEB,1999;**13**:9-22.
17. Ferrara, N, Chen, H, Davis-Smyth, T, Gerber, HP, Nguyen, TN, Peers, D, Chisholm, V, Hillan. KJ and Schwall, RH, Vascular endothelial growth factor is essential for corpus luteum angiogenesis. *Nat Med* 1998; **4**: 336-40.
18. Attar, E, Genc, S, Bulgurcuoglu, S, Topuz, S and Serdaroglu, H. Increased concentration of vascular endothelial growth factor in the follicular fluid of patients with endometriosis does not affect the outcome of in vitro fertilization-embryo transfer. *Fertil Steril* 2003; **80**: 1518-20.
19. Brogan, IJ, Khan, N, Isaac, K, Hutchinson, JA, Pravica, V and Hutchinson, IV. Novel polymorphisms in the promoter and 5' UTR regions of the human vascular endothelial growth factor gene. *Hum Immunol* 1999; **60**: 1245-9.

20. Hsieh, YY, Chang, CC, Tsai, FJ, Yeh, LS, Lin, CC and Peng, CT. T allele for VEGF gene-460 polymorphism at the 5'-untranslated region: association with a higher susceptibility to endometriosis. *J Reprod Med* 2004; **49**: 468-72.
21. Lauchlan, SC. The secondary Mullerian system. *Obstet Gynecol Surv* 1972; **27**: 133-46.
22. Meyer, R. Sber den stand der frage der adenomyositis und adenomyome im allgemeinen und insbesondere ober adenomyositis seroepithelialis und adenomyometritis sarcomatosa. 1919; **36**: 745-750.
23. Levander, G and Normann, P. The pathogenesis of endometriosis; an experimental study. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1955; **34**: 366-98.
24. Merrill, JA. Endometrial induction of endometriosis across Millipore filters. *Am J Obstet Gynecol* 1966; **94**: 780-90.
25. Zeitoun, K, Takayama, K, Michael, MD and Bulun, SE. Stimulation of aromatase P450 promoter (II) activity in endometriosis and its inhibition in endometrium are regulated by competitive binding of SF-1 and COUP-TF to the same cis-acting element. *Molecular Endocrinology* 1999; **13**: 239-253.
26. Yang, S, Fang, Z, Takashi, S, Hironobu, S, Jianfeng, Z, Gurates, B, Tamura, M, Ferrer, K and Bulun, SE. Regulation of aromatase P450 expression in endometriotic and endometrial stromal cells by CCAT/enhancer binding proteins: decreased C/EBPbeta in endometriosis is associated with overexpression of aromatase. *J. Clin Endocrinol Metab.* 2002; **87**: 2336-2345.
27. Gurates, B, Sebastian, S, Yang, S, Zhou, J, Tamura, M, Fang, Z, Suzuki, T, Sasano, H and Bulun, SE. WT1 and DAX-1 inhibit aromatase P450 expression in human endometrial and endometriotic stromal cells. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; **87**: 4369-4377.
28. Fang, ZJ, Yang, S, Gurates, G, Tamura, M, Simpson, ER, Evans, D and Bulun, SE. Genetic or enzymatic disruption of aromatase inhibits the growth of ectopic uterine tissue. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2002; **87**: 3460-3466..
29. Bulun, SE, Yang, S, Fang, Z, Gurates, B, Tamura, M, Zhou, J and Sebastian, S. Role of aromatase in endometrial disease. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2001; **79**: 19-25.
30. Kitawaki, J, Noguchi, T, Amatsu, T, Maeda, K, Tsukamoto, K, Yamamoto, T, Fushiki, S, Osawa, Y and Honjo, H. Expression of aromatase cytochrome P450

- protein and messenger ribonucleic acid in human endometriotic and adenomyotic tissues but not in normal endometrium. *Biology of Reproduction* 1997; **57**: 514-519.
31. Stocco, DM, Wang, X, Jo, Y and Manna, PR. Multiple Signaling Pathways Regulating Steroidogenesis and StAR Expression: More Complicated Than We Thought. *Mol Endocrinol* 2005.
 32. Attar, E and Bulun, SE. Aromatase and other steroidogenic genes in endometriosis: translational aspects. *Hum Reprod Update* 2005.
 33. Ryan, IP and Taylor, RN. Endometriosis and infertility: new concepts. *Obstetrical and Gynecological Survey* 1997; **52**: 365-371.
 34. Bruner, KL, Matrisian, LM, Rodgers, WH, Gorstein, F and Osteen, KG. Suppression of matrix metalloproteinases inhibits establishment of ectopic lesions by human endometrium in nude mice. *Journal of Clinical Investigation* 1997; **99**: 2851-2857.
 35. Noble, LS, Takayama, K, Putman, JM, Johns, DA, Hinshelwood, MM, Agarwal, VR, Zhao, Y, Carr, BR and Bulun, SE. Prostaglandin E2 stimulates aromatase expression in endometriosis-derived stromal cells. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 1997; **82**: 600-606.
 36. Tsai, SJ, Wu, MH, Lin, CC, Sun, HS and Chan, HM. Regulation of steroidogenic acute regulatory protein expression and progesterone production in endometriotic stromal cells. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 2001; **86**: 5765-5773.
 37. Sun, HS, Hsiao, KY, Hsu, CC, Wu, MH and Tsai, SJ. Transactivation of steroidogenic acute regulatory protein in human endometriotic stromal cells is mediated by the prostaglandin EP2 receptor. *Endocrinology* 2003; **144**: 3934-3942.
 38. Starzinski-Powitz, A, Gaetje, R, Zeitvogel, A, Kotzian, S, Handrow-Metzmacher, H, Herrmann, G, Fanning, E and Baumann, R. Tracing cellular and molecular mechanisms involved in endometriosis. *Hum Reprod Update* 1998; **4**: 724-9.
 39. Blumenfeld, Z. Hormonal suppressive therapy for endometriosis may not improve patient health. *Fertil Steril* 2004; **81**: 487-92.
 40. Van Gorp, T, Amant, F, Neven, P, Vergote, I and Moerman, P. Endometriosis

- and the development of malignant tumours of the pelvis. A review of literature. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol* 2004; **18**: 349-71
41. Vercellini, P, Parazzini, F, Bolis, G, Carinelli, S, Dindelli, M, Vendola, N, Luchini, L and Crosignani, PG. Endometriosis and ovarian cancer. *Am J Obstet Gynecol* 1993; **169**: 181-2.
 42. Martini, M, Ciccarone, M, Garganese, G, Maggiore, C, Evangelista, A, Rahimi, S, Zannoni, G, Vittori, G and Larocca, LM. Possible involvement of hMLH1, p16(INK4a) and PTEN in the malignant transformation of endometriosis. *Int J Cancer* 2002; **102**: 398-406.
 43. Brinton, LA, Gridley, G, Persson, I, Baron, J and Bergqvist, A. Cancer risk after a hospital discharge diagnosis of endometriosis. *Am J Obstet Gynecol* 1997; **176**: 572-9
 44. Weiss, HA, Brinton, LA, Potischman, NA, Brogan, D, Coates, RJ, Gammon, MD, Malone, KE and Schoenberg, JB. Breast cancer risk in young women and history of selected medical conditions. *Int J Epidemiol* 1999; **28**: 816-23.
 45. Wyshak, G, Frisch, RE, Albright, NL, Albright, TE and Schiff, I. Reproductive factors and melanoma of the skin among women. *Int J Dermatol* 1989; **28**: 527-30.
 46. Hornstein, MD, Thomas, PP, Sober, AJ, Wyshak, G, Albright, NL and Frisch, RE. Association between endometriosis, dysplastic naevi and history of melanoma in women of reproductive age. *Hum Reprod* 1997; **12**: 143-5.
 47. Baxter, SW, Thomas, EJ and Campbell, IG. GSTM1 null polymorphism and susceptibility to endometriosis and ovarian cancer. *Carcinogenesis* 2001; **22**:635.
 48. Obata, K and Hoshiai, H. Common genetic changes between endometriosis and ovarian cancer. *Gynecol Obstet Invest* 2000; (**50**) 1: 39-43.
 49. Goumenou, AG, Arvanitis, DA, Matalliotakis, IM, Koumantakis, EE and Spandidos, DA. Microsatellite DNA assays reveal an allelic imbalance in p16(Ink4), GALT, p53, and APOA2 loci in patients with endometriosis. *Fertil Steril* 2001; **75**: 160-5.
 50. Thomas, EJ and Campbell, IG. Molecular genetic defects in endometriosis. *Gynecol Obstet Invest* 2000; (**50**) 1: 44-50.
 51. Gogusev, J, Bouquet de Joliniere, J, Telvi, L, Doussau, M, Stojkoski. A and

- Levardon, M, Cellular and genetic constitution of human endometriosis tissues. *J Soc Gynecol Investig* 2000; **7**: 79-87.
52. Sainz de la Cuesta, R, Izquierdo, M, Canamero, M, Granizo, JJ and Manzarbeitia, F. Increased prevalence of p53 overexpression from typical endometriosis to atypical endometriosis and ovarian cancer associated with endometriosis. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2004; **113**: 87-93
53. Jiang, X, Hitchcock, A, Bryan, EJ, Watson, RH, Englefield, P, Thomas, EJ and Campbell, IG. Microsatellite analysis of endometriosis reveals loss of heterozygosity at candidate ovarian tumor suppressor gene loci. *Cancer Res* 1996; **56**: 3534-9.
54. Jimbo, H, Yoshikawa, H, Onda, T, Yasugi, T, Sakamoto, A and Taketani, Y. Prevalence of ovarian endometriosis in epithelial ovarian cancer. *Int J Gynaecol Obstet* 1997; **59**: 245-50.
55. Obata, K, Morland, SJ, Watson, RH, Hitchcock, A, Chenevix-Trench, G, Thomas, EJ and Campbell, IG. Frequent PTEN/MMAC mutations in endometrioid but not serous or mucinous epithelial ovarian tumors. *Cancer Res* 1998; **58**: 2095-7.
56. Toki, T and Nakayama, K. Proliferative activity and genetic alterations in TP53 in endometriosis. *Gynecol Obstet Invest* 2000; **50(1)**: 33-8.
57. Swiersz, LM, Role of endometriosis in cancer and tumor development. *Ann N Y Acad Sci* 2002; **955**: 281-92.
58. Jimbo, H, Hitomi, Y, Yoshikawa, H, Yano, T, Momoeda, M, Sakamoto, A, Tsutsumi, O, Taketani, Y and Esumi, H. Evidence for monoclonal expansion of epithelial cells in ovarian endometrial cysts. *Am J Pathol* 1997; **150**: 1173-8.
59. Tamura, M, Fukaya, T, Murakami, T, Uehara, S and Yajima, A. Analysis of clonality in human endometriotic cysts based on evaluation of X chromosome inactivation in archival formalin-fixed, paraffin-embedded tissue. *Lab Invest* 1998; **78**: 213-8.
60. Omori, S, Yoshida, S, Kennedy, SH, Negoro, K, Hamana, S, Barlow, DH and Maruo, T. Polymorphism at codon 72 of the p53 gene is not associated with endometriosis in a Japanese population. *J Soc Gynecol Investig* 2004; **11**: 232-6.
61. Healy, DL, Rogers, PA, Hii, L and Wingfield, M. Angiogenesis: a new theory for endometriosis. *Hum Reprod Update* 1998; **4**: 736-40.

62. Charnock-Jones, DS, Sharkey, AM, Rajput-Williams, J, Burch, D, Schofield, JP, Fountain, SA, Boocock, CA and Smith, SK. Identification and localization of alternately spliced mRNAs for vascular endothelial growth factor in human uterus and estrogen regulation in endometrial carcinoma cell lines. *Biol Reprod* 1993; **48**: 1120-8.
63. Sangha, RK, Li, XF, Shams, M and Ahmed, A. Fibroblast growth factor receptor-1 is a critical component for endometrial remodeling: localization and expression of basic fibroblast growth factor and FGF-R1 in human endometrium during the menstrual cycle and decreased FGF-R1 expression in menorrhagia. *Lab Invest* 1997; **77**: 389-402.
64. Ferriani, RA, Charnock-Jones, DS, Prentice, A, Thomas, EJ and Smith, SK. Immunohistochemical localization of acidic and basic fibroblast growth factors in normal human endometrium and endometriosis and the detection of their mRNA by polymerase chain reaction. *Hum Reprod* 1993; **8**: 11-6.
65. Arici, A, Oral, E, Attar, E, Tazuke, SI and Olive, DL. Monocyte chemotactic protein-1 concentration in peritoneal fluid of women with endometriosis and its modulation of expression in mesothelial cells. *Fertil Steril* 1997; **67**: 1065-72
66. Arici, A, Tazuke, SI, Attar, E, Kliman, HJ and Olive, DL. Interleukin-8 concentration in peritoneal fluid of patients with endometriosis and modulation of interleukin-8 expression in human mesothelial cells. *Mol Hum Reprod* 1996; **2**: 40-5.
67. Sillem, M, Prifti, S, Neher, M and Runnebaum, B. Extracellular matrix remodelling in the endometrium and its possible relevance to the pathogenesis of endometriosis. *Hum Reprod Update* 1998; **4**: 730-5.
68. Bruner, KL, Matrisian, LM, Rodgers, WH, Gorstein, F and Osteen, KG. Suppression of matrix metalloproteinases inhibits establishment of ectopic lesions by human endometrium in nude mice. *J Clin Invest* 1997; **99**: 2851-7.
69. Kokorine, I, Nisolle, M, Donnez, J, Eeckhout, Y, Courtoy, PJ and Marbaix, E. Expression of interstitial collagenase (matrix metalloproteinase-1) is related to the activity of human endometriotic lesions. *Fertil Steril* 1997; **68**: 246-51.
70. Dmowski, WP, Ding, J, Shen, J, Rana, N, Fernandez, BB and Braun, DP. Apoptosis in endometrial glandular and stromal cells in women with and without endometriosis. *Hum Reprod* 2001; **16**: 1802-8.

71. Dmowski, WP, Gebel, H and Braun, DP. Decreased apoptosis and sensitivity to macrophage mediated cytolysis of endometrial cells in endometriosis. *Hum Reprod Update* 1998; **4**: 696-701.
72. McLaren, J, Prentice, A, Charnock-Jones, DS, Sharkey, AM and Smith, SK. Immunolocalization of the apoptosis regulating proteins Bcl-2 and Bax in human endometrium and isolated peritoneal fluid macrophages in endometriosis. *Hum Reprod* 1997; **12**: 146-52.
73. Rier, SE, Martin, DC, Bowman, RE, Dmowski, WP and Becker, JL. Endometriosis in rhesus monkeys (*Macaca mulatta*) following chronic exposure to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin. *Fundam Appl Toxicol* 1993; **21**: 433-41.
74. Whitlock, JP, Jr. Genetic and molecular aspects of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin action. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 1990; **30**: 251-77.
75. Sutter, TR, Guzman, K, Dold, KM and Greenlee, WF. Targets for dioxin: genes for plasminogen activator inhibitor-2 and interleukin-1 beta. *Science* 1991; **254**: 415-8
76. Hadfield, RM, Manek, S, Weeks, DE, Mardon, HJ, Barlow, DH and Kennedy, SH. Linkage and association studies of the relationship between endometriosis and genes encoding the detoxification enzymes GSTM1, GSTT1 and CYP1A1. *Mol Hum Reprod* 2001; **7**: 1073-8.
77. Hughes, E, Fedorkow, D, Collins, J and Vandekerckhove, P. Ovulation suppression for endometriosis. *Cochrane Database Syst Rev* 2003: **CD000155**.
78. Olive, DL and Lee, KL. Analysis of sequential treatment protocols for endometriosis-associated infertility. *Am J Obstet Gynecol* 1986; **154**: 613-9.
79. Marcoux, S, Maheux, R and Berube, S. Laparoscopic surgery in infertile women with minimal or mild endometriosis. Canadian Collaborative Group on Endometriosis. *N Engl J Med* 1997; **337**: 217-22.
80. Parazzini, F, Fedele, L, Busacca, M, Falsetti, L, Pellegrini, S, Venturini, PL and Stella, M.. Postsurgical medical treatment of advanced endometriosis: results of a randomized clinical trial. *Am J Obstet Gynecol* 1994; **171**: 1205-7.
81. Bianchi, S, Busacca, M, Agnoli, B, Candiani, M, Calia, C and Vignali, M. Effects of 3 month therapy with danazol after laparoscopic surgery for stage III/IV endometriosis: a randomized study. *Hum Reprod* 1999; **14**: 1335-7.

82. Vercellini, P, Crosignani, PG, Fadini, R, Radici, E, Belloni, C and Sismondi, P. Gonadotrophin-releasing hormone agonist compared with expectant management after conservative surgery for symptomatic endometriosis. *Br J Obstet Gynaecol* 1999; **106**: 672-7.
83. Busacca, M, Somigliana, E, Bianchi, S, De Marinis, S, Calia, C, Candiani, M and Vignali, M. Post-operative GnRH analogue treatment after conservative surgery for symptomatic endometriosis stage III-IV: a randomized controlled trial. *Hum Reprod* 2001; **16**: 2399-402.
84. Fedele, L, Bianchi, S, Marchini, M, Villa, L, Brioschi, D and Parazzini, F. Superovulation with human menopausal gonadotropins in the treatment of infertility associated with minimal or mild endometriosis: a controlled randomized study. *Fertility and Sterility* 1992; **58**: 28-31.
85. Deaton, JL, Gibson, M, Blackmer, KM, Nakajima, ST, Badger, GJ and Brumsted, JR. A randomized, controlled trial of clomiphene citrate and intrauterine insemination in couples with unexplained infertility or surgically corrected endometriosis. *Fertil Steril* 1990; **54**: 1083-8.
86. Tummon, IS, Asher, LJ, Martin, JS and Tulandi, T. Randomized controlled trial of superovulation and insemination for infertility associated with minimal or mild endometriosis. *Fertil Steril* 1997; **68**: 8-12.
87. Vercellini, P, De Giorgi, O, Mosconi, P, Stellato, G, Vicentini, S and Crosignani, PG. Cyproterone acetate versus a continuous monophasic oral contraceptive in the treatment of recurrent pelvic pain after conservative surgery for symptomatic endometriosis. *Fertil Steril* 2002; **77**: 52-61.
88. Vercellini, P, Cortesi, I and Crosignani, PG. Progestins for symptomatic endometriosis: a critical analysis of the evidence. *Fertil Steril* 1997; **68**: 393-401.
89. Takayama, K, Zeitoun, K, Gunby, RT, Sasano, H, Carr, BR and Bulun, SE. Treatment of severe postmenopausal endometriosis with an aromatase inhibitor. *Fertility and Sterility* 1998; **69**: 709-713.
90. Soysal, S, Soysal, M, Ozer, S, Gul, N and Gezgin, T. The effects of post-surgical administration of goserelin plus anastrozole compared to goserelin alone in patients with severe endometriosis: a prospective randomized trial. *Hum Reprod* 2004; **19**: 160-167.

91. Ailawadi, R, Jobanputra, S, Kataria, M, Gurates, B and Bulun, S, Treatment of endometriosis and chronic pelvic pain with letrozole and norethindrone acetate: a pilot study. *Fertility and Sterility* 2004; (81) 2 : 290 - 296.
92. Amsterdam L, GW, Rubin S, Jobanputra S, Bulun SE. Treatment of endometriosis-related pelvic pain with a combination of an aromatase inhibitor (anastrozole) plus a combination oral contraceptive: a novel approach. *Proceedings of the 85th Annual Endocrine Society Meeting* 2003; **1**: 360.
93. Razzi, S, Fava, A, Sartini, A, De Simone, S, Cobellis, L and Petraglia, F. Treatment of severe recurrent endometriosis with an aromatase inhibitor in a young ovariectomised woman. *BJOG* 2004; **111**: 182-184.
94. Shippen, E and West, WJ. Successful treatment of severe endometriosis in two premenopausal women with an aromatase inhibitor. *Fertil Steril* 2004; **81**: 1395-1398.
95. Wilson, ML, Farquhar, CM, Sinclair, OJ and Johnson, NP. Surgical interruption of pelvic nerve pathways for primary and secondary dysmenorrhoea. *Cochrane Database Syst Rev* 2000: **CD001896**.
96. Vercellini, P, Aimi, G, Busacca, M, Apolone, G, Uglietti, A and Crosignani, PG, Laparoscopic uterosacral ligament resection for dysmenorrhea associated with endometriosis: results of a randomized, controlled trial. *Fertil Steril* 2003; **80**: 310-9.
97. Miller SA, dykes DD, Polesky HS. Simple salting out procedure for extracting DNA from Human nucleated cells. *Nucleic Acid Res.* 1998;**16/3**:1215
98. Sung Hoon Kim, Young Min Choi, Seon Ha Choung, Jong Kwan jun, Jung Gu Kim, Shin Young Moon. Vascular endothelial growth factor gene +405 c/g polymorphism is associated with susceptibility to advanced stage endometriosis. *Human reproduction* 2005; 2904-2908 .
99. Carolyn J. Watson, Nicholas J. A. Webb, Martyn J., Bottomley Paul E. C. Brenchley. Identification of polymorphisms within the vascular endothelial growth factor in VEGF protein production. *Cytokine* 2000;1232-1235.
100. Cramer, DW, Wilson, E, Stillman, RJ, Berger, MJ, Belisle, S, Schiff, I, Albrecht, B, Gibson, M, Stadel, BV and Schoenbaum, SC. The relation of endometriosis to menstrual characteristics, smoking, and exercise. *Jama* 1986; **255**: 1904-8.

101. Halme, J, Hammond, MG, Hulka, JF, Raj, SG and Talbert, LM. Retrograde menstruation in healthy women and in patients with endometriosis. *Obstet Gynecol* 1984; **64**: 151-4.
102. Koninckx, PR, Kennedy, SH and Barlow, DH. Pathogenesis of endometriosis: the role of peritoneal fluid. *Gynecol Obstet Invest* 1999; **47**: 23-33.
103. Olive DL, Schwartz LB. Endometriosis. *N Engl J Med* 1993 ;**328(24)**:1759-69.
104. Varma R, Rollason T, Gupta JK, Maher ER.. Endometriosis and the neoplastic process. *Reproduction* 2004;**127(3)**:293-304.
105. Taylor, RN, Lebovic, DI and Mueller, MD. Angiogenic factors in endometriosis. *Ann N Y Acad Sci* 2002; **955**: 89-100.
106. Simpson, JL and Bischoff, FZ, Heritability and molecular genetic studies of endometriosis. *Ann N Y Acad Sci* 2002; **955**: 239-51.
107. Bischoff, FZ and Simpson, JL, Heritability and molecular genetic studies of endometriosis. *Hum Reprod* 2000; **6**: 37-44.
108. Tempfer, CB, Schneeberger, C and Huber, JC. Applications of polymorphisms and pharmacogenomics in obstetrics and gynecology. *Pharmacogenomics* 2004; **5**: 57-65.
109. Bischoff, F and Simpson, JL. Genetics of endometriosis: heritability and candidate genes. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol* 2004; **18**: 219-32.
110. Simpson, JL and Bischoff, F, Heritability and candidate genes for endometriosis. *Reprod Biomed Online* 2003; **7**: 162-9.
111. Goumenou, AG, Arvanitis, DA, Matalliotakis, IM, Koumantakis, EE and Spandidos, DA, Microsatellite DNA assays reveal an allelic imbalance in p16(Ink4), GALT, p53, and APOA2 loci in patients with endometriosis. *Fertil Steril* 2001; **75**:160-5.
112. Eyster, KM, Boles, AL, Brannian, JD and Hansen, KA, DNA microarray analysis of gene expression markers of endometriosis. *Fertil Steril* 2002; **77**: 38-42.
113. Kao, LC, Germeyer, A, Tulac, S, Lobo, S, Yang, JP, Taylor, RN, Osteen, K, Lessey, BA and Giudice, LC. Expression profiling of endometrium from women with endometriosis reveals candidate genes for disease-based implantation failure and infertility. *Endocrinology* 2003; **144**: 2870-81.

114. Bubendorf L, Nocito, A, Moch, H and Sauter, G, Tissue microarray (TMA) technology: miniaturized pathology archives for high-throughput in situ studies. *J Pathol* 2001; **195**: 72-9.
115. Ferrara N, Alitalo K. Clinical applications of angiogenic growth factors and their inhibitors. *Nat Med.* 1999; **5(12)**:1359-64.
116. Iain J. Brogan, Naem Khan, Kevin Isaac, James A. Hutchinson, Vera Pravica, Ian V. Hutchinson Novel polymorphisms in the promoter and 5' UTR regions of the human vascular endothelial growth factor gene. *Human Immunology* 1999; **60**: 1245-1249.
117. Bottomley MJ, Webb NJ, Watson CJ, Holt L, Bukhari M, Denton J, Freemont AJ, Brenchley PE. Placenta growth factor (PlGF) induces vascular endothelial growth factor (VEGF) secretion from mononuclear cells and is co-expressed with VEGF in synovial fluid. *Immunology Research* 2000 ;**119(1)**:182-188.
118. Ray D, Mishra M, Ralph S, Read I, Davies R, Brenchley P, Association of the VEGF gene with proliferative diabetic retinopathy but not proteinuria in *Diabetes.* 2004 , **53(3)**:861-4.
119. Lin CC, Wu HC, Tsai FJ, Chen HY, Chen WC. Vascular endothelial growth factor gene-460 C/T polymorphism is a biomarker for prostate cancer. *Urology* 2003 ; **62(2)**:374-7.
120. Krippel P, Langsenlehner U, Renner W, Yazdani- Biuki B, Wolf G, Wascher TC, Paulweber B, Haas J, Samonigg H.. A common 936 C/T gene polymorphism of vascular endothelial growth factor is associated with decreased breast cancer risk *Int J Cancer* 2003 ;**106(4)**:468-71.
121. Hyder SM, Stancel GM, Chiappetta C, Murthy L, Boettger- Tong HL, Makela S. Uterine expression of vascular endothelial growth factor is increased by estradiol and tamoxifen. *Cancer Res.* 1996 ;**56(17)**:3954-60.
122. Mueller MD, Vigne JL, Minchenko A, Lebovic DL, Leitman DC, Taylor RN, Regulation of vascular endothelial growth factor (VEGF) gene transcription by estrogen receptors alpha and beta. *Proc Natl Acad Sci* 2000; **26;97(20)**:109727.
123. Donnez J, Smoes P, Gillerot S, Casanas-Roux F, Nisolle M. Vascular endothelial growth factor (VEGF) in endometriosis. *Hum. Reprod.* 1998;**13(6)**:1686-90.

124. Nagy JA, Vasile E, Feng D, Sundberg C, Brown LF, Detmar MJ, Lawitts JA, Benjamin L, Tan X, Manseau EJ, Dvorak AM, Dvorak HF. Vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor induces lymphangiogenesis as well as angiogenesis. *J Exp Med.* 2002;**196(11)**:1497-506.
125. Taylor CM, Stevenes H, Anthony FW, Wheeler T. Influence of hypoxia on vascular endothelial growth factor and chorionic gonadotrophin production in the trophoblast-derived cell lines *Placenta.* 1997 ;**18** :(5- 6):451-8.
126. Hull ML, Charnock-jones DS, Chan CL, Bruner-Tran KL, Osteen KG, Tom BD, Fan TP, Smith SK. Antiangiogenic agents are effective inhibitors of endometriosis. *J Clin Endocrinol Metab.* 2003; **88(6)**:2889-99.
127. Kim SH,Choi YM, Choung SH, Jun JK, Kim JG, Moon SY. Vascular endothelial growth factor gene +405 C/G polymorphism is associated with susceptibility to advanced stage endometriosis. *Hum Reprod.* 2005 ; **20(10)**:2904-8.
128. Hsieh YY, Chang CC, Tsai FJ, Yeh LS, Lin CC, Peng CT. T allele for VEGF gene-460 polymorphism at the 5'-untranslated region: association with a higher susceptibility to endometriosis. *Reprod Med.* 2004; **49(6)**:468-72.
129. Hog KH, Ryu J, Han KH. Monocyte chemoattractant protein-1-induced angiogenesis is mediated by vascular endothelial growth factor-A. *Blood* 2005 ; **105(4)**:1405-7.
130. Awata T, Inoune K, Kuribara S, Ohkubo T, Watanabe M, Inukai K, Inoue I, Katayama S, A. Common polymorphism in the 5'-untranslated region of the VEGF gene is associated with diabetic retinopathy in type 2 diabetes. *Diabetes* 2002 ; **51(5)**:1635-9.
131. Ruhrberg C, Gerhardt H, Golding M, Watson R, Ioannidou S, Fujisawa H, Betsholtz C, Shima DT. Spatially restricted patterning cues provided by heparin-binding VEGF-A control blood vessel branching morphogenesis. *Genes Dev* 2002 ;**16(20)**:2684-98.

132. Koukourakis MI, Papazoglu D, Giatromanolaki A, Bougioukas G, Maltezos E, Sivridis E. VEGF gene sequence variation defines VEGF gene expression status and angiogenic activity in non-small cell lung cancer. *Lung Cancer* 2004; **46(3)**:293-8.
133. D.Gagne A, M.Page A, G.Robitaille, P.Hugo and D.Gosselin, Levels of vascular endothelial growth factor (VEGF) in serum of patients with endometriosis. *Human Reproduction* 2003; **18(8)**: 1674-1680.

HAM VERİLER

T-Test

Group Statistics

hastagrup	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
VEGF endometriozis	37	52,7649	28,58524	4,69938
kontrol	24	84,3958	35,07275	7,15920
Yas endometriozis	52	30,7115	8,82140	1,22331
kontrol	32	31,4688	4,79236	,84718

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means							
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference		
										Lower	Upper
VEGF	Equal variances assumed	1,609	,210	-3,859	59	,000	-31,63097	8,19694	-48,03302	-15,22892	
	Equal variances not assumed			-3,694	42,097	,001	-31,63097	8,56378	-48,91219	-14,34975	
Yas	Equal variances assumed	4,781	,032	-,446	82	,657	-,75721	1,69750	-4,13407	2,61965	
	Equal variances not assumed			-,509	80,999	,612	-,75721	1,48802	-3,71790	2,20348	

Crosstabs

hastagrup * genotype405

Crosstab

			genotype405			Total
			CC	GC	GG	
hastagrup	endometriozis	Count	24	13	6	43
		% within hastagrup	55,8%	30,2%	14,0%	100,0%
kontrol	kontrol	Count	9	13	4	26
		% within hastagrup	34,6%	50,0%	15,4%	100,0%
Total	Total	Count	33	26	10	69
		% within hastagrup	47,8%	37,7%	14,5%	100,0%

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)
Pearson Chi-Square	3,226 ^a	2	,199
Likelihood Ratio	3,246	2	,197
Linear-by-Linear Association	1,597	1	,206
N of Valid Cases	69		

a. 1 cells (16,7%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 3,77.

hastagrup * c+ 405

Crosstab

			c+ 405		Total
			c- 405	c+ 405	
hastagrup	endometriozis	Count	6	37	43
		% within hastagrup	14,0%	86,0%	100,0%
	kontrol	Count	4	22	26
		% within hastagrup	15,4%	84,6%	100,0%
Total		Count	10	59	69
		% within hastagrup	14,5%	85,5%	100,0%

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	,027 ^b	1	,870		
Continuity Correction ^a	,000	1	1,000		
Likelihood Ratio	,027	1	,870		
Fisher's Exact Test				1,000	,566
Linear-by-Linear Association	,026	1	,871		
N of Valid Cases	69				

a. Computed only for a 2x2 table

b. 1 cells (25,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 3,77.

Risk Estimate

	Value	95% Confidence Interval	
		Lower	Upper
Odds Ratio for hastagrup (endometriozis / kontrol)	,892	,226	3,513
For cohort c+ 405 = c- 405	,907	,282	2,916
For cohort c+ 405 = c+ 405	1,017	,830	1,246
N of Valid Cases	69		

hastagrup * g+ 405

Crosstab

			g+ 405		Total
			g- 405	g+ 405	
hastagrup	endometriozis	Count	24	19	43
		% within hastagrup	55,8%	44,2%	100,0%
	kontrol	Count	9	17	26
		% within hastagrup	34,6%	65,4%	100,0%
Total		Count	33	36	69
		% within hastagrup	47,8%	52,2%	100,0%

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	2,918 ^b	1	,088		
Continuity Correction ^a	2,130	1	,144		
Likelihood Ratio	2,954	1	,086		
Fisher's Exact Test				,135	,072
Linear-by-Linear Association	2,876	1	,090		
N of Valid Cases	69				

a. Computed only for a 2x2 table

b. 0 cells (.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 12,43.

Risk Estimate

	Value	95% Confidence Interval	
		Lower	Upper
Odds Ratio for hastagrup (endometriozis / kontrol)	2,386	,871	6,534
For cohort g+ 405 = g- 405	1,612	,893	2,913
For cohort g+ 405 = g+ 405	,676	,436	1,046
N of Valid Cases	69		

hastagrup * cc+ 405

Crosstab

			cc+ 405		Total
			cc- 405	cc+ 405	
hastagrup	endometriozis	Count	19	24	43
		% within hastagrup	44,2%	55,8%	100,0%
	kontrol	Count	17	9	26
		% within hastagrup	65,4%	34,6%	100,0%
Total		Count	36	33	69
		% within hastagrup	52,2%	47,8%	100,0%

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	2,918 ^b	1	,088		
Continuity Correction ^a	2,130	1	,144		
Likelihood Ratio	2,954	1	,086		
Fisher's Exact Test				,135	,072
Linear-by-Linear Association	2,876	1	,090		
N of Valid Cases	69				

a. Computed only for a 2x2 table

b. 0 cells (.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 12,43.

Risk Estimate

	Value	95% Confidence Interval	
		Lower	Upper
Odds Ratio for hastagrup (endometriozis / kontrol)	,419	,153	1,148
For cohort cc+ 405 = cc- 405	,676	,436	1,046
For cohort cc+ 405 = cc+ 405	1,612	,893	2,913
N of Valid Cases	69		

hastagrup * gg+ 405

Crosstab

			gg+ 405		Total
			gg- 405	gg+ 405	
hastagrup	endometriozis	Count	37	6	43
		% within hastagrup	86,0%	14,0%	100,0%
	kontrol	Count	22	4	26
		% within hastagrup	84,6%	15,4%	100,0%
Total		Count	59	10	69
		% within hastagrup	85,5%	14,5%	100,0%

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	,027 ^b	1	,870		
Continuity Correction ^a	,000	1	1,000		
Likelihood Ratio	,027	1	,870		
Fisher's Exact Test				1,000	,566
Linear-by-Linear Association	,026	1	,871		
N of Valid Cases	69				

a. Computed only for a 2x2 table

b. 1 cells (25,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 3,77.

Risk Estimate

	Value	95% Confidence Interval	
		Lower	Upper
Odds Ratio for hastagrup (endometriozis / kontrol)	1,121	,285	4,416
For cohort gg+ 405 = gg- 405	1,017	,830	1,246
For cohort gg+ 405 = gg+ 405	,907	,282	2,916
N of Valid Cases	69		

hastagrup * gc+ 405

Crosstab

			gc+ 405		Total
			gc- 405	gc+ 405	
hastagrup	endometriozis	Count	30	13	43
		% within hastagrup	69,8%	30,2%	100,0%
	kontrol	Count	13	13	26
		% within hastagrup	50,0%	50,0%	100,0%
Total		Count	43	26	69
		% within hastagrup	62,3%	37,7%	100,0%

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	2,696 ^b	1	,101		
Continuity Correction ^a	1,920	1	,166		
Likelihood Ratio	2,676	1	,102		
Fisher's Exact Test				,127	,083
Linear-by-Linear Association	2,657	1	,103		
N of Valid Cases	69				

a. Computed only for a 2x2 table

b. 0 cells (,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 9,80.

Risk Estimate

	Value	95% Confidence Interval	
		Lower	Upper
Odds Ratio for hastagrup (endometriozis / kontrol)	2,308	,843	6,319
For cohort gc+ 405 = gc-405	1,395	,906	2,149
For cohort gc+ 405 = gc+405	,605	,334	1,096
N of Valid Cases	69		

hastagrup * genotype460

Crosstab

			genotype460			Total
			TT	CT	CC	
hastagrup	endometriozis	Count	22	11	9	42
		% within hastagrup	52,4%	26,2%	21,4%	100,0%
	kontrol	Count	8	3	5	16
		% within hastagrup	50,0%	18,8%	31,3%	100,0%
Total		Count	30	14	14	58
		% within hastagrup	51,7%	24,1%	24,1%	100,0%

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)
Pearson Chi-Square	,741 ^a	2	,690
Likelihood Ratio	,732	2	,694
Linear-by-Linear Association	,248	1	,618
N of Valid Cases	58		

a. 2 cells (33,3%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 3,86.

hastagrup * t+ 460

Crosstab

			t+ 460		Total
			t- 460	t+ 460	
hastagrup	endometriozis	Count	9	33	42
		% within hastagrup	21,4%	78,6%	100,0%
	kontrol	Count	5	11	16
		% within hastagrup	31,3%	68,8%	100,0%
Total		Count	14	44	58
		% within hastagrup	24,1%	75,9%	100,0%

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	,610 ^b	1	,435		
Continuity Correction ^a	,192	1	,661		
Likelihood Ratio	,590	1	,443		
Fisher's Exact Test				,500	,323
Linear-by-Linear Association	,600	1	,439		
N of Valid Cases	58				

a. Computed only for a 2x2 table

b. 1 cells (25,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 3,86.

Risk Estimate

	Value	95% Confidence Interval	
		Lower	Upper
Odds Ratio for hastagrup (endometriozis / kontrol)	,600	,165	2,177
For cohort t+ 460 = t- 460	,686	,271	1,737
For cohort t+ 460 = t+ 460	1,143	,792	1,648
N of Valid Cases	58		

hastagrup * c+ 460

Crosstab

			c+ 460		Total
			c- 460	c+ 460	
hastagrup	endometriozis	Count	22	20	42
		% within hastagrup	52,4%	47,6%	100,0%
	kontrol	Count	8	8	16
		% within hastagrup	50,0%	50,0%	100,0%
Total		Count	30	28	58
		% within hastagrup	51,7%	48,3%	100,0%

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	,026 ^b	1	,871		
Continuity Correction ^a	,000	1	1,000		
Likelihood Ratio	,026	1	,871		
Fisher's Exact Test				1,000	,552
Linear-by-Linear Association	,026	1	,872		
N of Valid Cases	58				

a. Computed only for a 2x2 table

b. 0 cells (0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 7,72.

Risk Estimate

	Value	95% Confidence Interval	
		Lower	Upper
Odds Ratio for hastagrup (endometriozis / kontrol)	1,100	,348	3,481
For cohort c+ 460 = c- 460	1,048	,593	1,850
For cohort c+ 460 = c+ 460	,952	,531	1,707
N of Valid Cases	58		

hastagrup * tt+ 460

Crosstab

			tt+ 460		Total
			tt- 460	tt+ 460	
hastagrup	endometriozis	Count	20	22	42
		% within hastagrup	47,6%	52,4%	100,0%
	kontrol	Count	8	8	16
		% within hastagrup	50,0%	50,0%	100,0%
Total		Count	28	30	58
		% within hastagrup	48,3%	51,7%	100,0%

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	,026 ^b	1	,871		
Continuity Correction ^a	,000	1	1,000		
Likelihood Ratio	,026	1	,871		
Fisher's Exact Test				1,000	,552
Linear-by-Linear Association	,026	1	,872		
N of Valid Cases	58				

a. Computed only for a 2x2 table

b. 0 cells (,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 7,72.

Risk Estimate

	Value	95% Confidence Interval	
		Lower	Upper
Odds Ratio for hastagrup (endometriozis / kontrol)	,909	,287	2,877
For cohort tt+ 460 = tt- 460	,952	,531	1,707
For cohort tt+ 460 = tt+ 460	1,048	,593	1,850
N of Valid Cases	58		

hastagrup * ct+ 460

Crosstab

			ct+ 460		Total
			ct- 460	ct+ 460	
hastagrup	endometriozis	Count	31	11	42
		% within hastagrup	73,8%	26,2%	100,0%
	kontrol	Count	13	3	16
		% within hastagrup	81,3%	18,8%	100,0%
Total		Count	44	14	58
		% within hastagrup	75,9%	24,1%	100,0%

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	,350 ^b	1	,554		
Continuity Correction ^a	,062	1	,804		
Likelihood Ratio	,363	1	,547		
Fisher's Exact Test				,736	,413
Linear-by-Linear Association	,344	1	,557		
N of Valid Cases	58				

a. Computed only for a 2x2 table

b. 1 cells (25,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 3,86.

Risk Estimate

	Value	95% Confidence Interval	
		Lower	Upper
Odds Ratio for hastagrup (endometriozis / kontrol)	,650	,155	2,722
For cohort ct+ 460 = ct- 460	,908	,675	1,222
For cohort ct+ 460 = ct+ 460	1,397	,447	4,365
N of Valid Cases	58		

hastagrup * cc+ 460

Crosstab

			cc+ 460		Total
			cc- 460	cc+ 460	
hastagrup	endometriozis	Count	33	9	42
		% within hastagrup	78,6%	21,4%	100,0%
	kontrol	Count	11	5	16
		% within hastagrup	68,8%	31,3%	100,0%
Total		Count	44	14	58
		% within hastagrup	75,9%	24,1%	100,0%

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	,610 ^b	1	,435		
Continuity Correction ^a	,192	1	,661		
Likelihood Ratio	,590	1	,443		
Fisher's Exact Test				,500	,323
Linear-by-Linear Association	,600	1	,439		
N of Valid Cases	58				

a. Computed only for a 2x2 table

b. 1 cells (25,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 3,86.

Risk Estimate

	Value	95% Confidence Interval	
		Lower	Upper
Odds Ratio for hastagrup (endometriozis / kontrol)	1,667	,459	6,047
For cohort cc+ 460 = cc-460	1,143	,792	1,648
For cohort cc+ 460 = cc+ 460	,686	,271	1,737
N of Valid Cases	58		

hastagrup * callel405 = 1 | tallel460 = 1 (FILTER)

Crosstab

			callel405 = 1 tallel460 = 1 (FILTER)		Total
			c405/t460 -	c405/t460+	
hastagrup	endometriozis	Count	2	49	51
		% within hastagrup	3,9%	96,1%	100,0%
	kontrol	Count	1	28	29
		% within hastagrup	3,4%	96,6%	100,0%
Total		Count	3	77	80
		% within hastagrup	3,8%	96,3%	100,0%

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	,011 ^b	1	,915		
Continuity Correction ^a	,000	1	1,000		
Likelihood Ratio	,012	1	,914		
Fisher's Exact Test				1,000	,704
Linear-by-Linear Association	,011	1	,915		
N of Valid Cases	80				

a. Computed only for a 2x2 table

b. 2 cells (50,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 1,09.

Risk Estimate

	Value	95% Confidence Interval	
		Lower	Upper
Odds Ratio for hastagrup (endometriozis / kontrol)	1,143	,099	13,177
For cohort callel405 = 1 tallel460 = 1 (FILTER) = c405/t460 -	1,137	,108	12,006
For cohort callel405 = 1 tallel460 = 1 (FILTER) = c405/t460+	,995	,911	1,087
N of Valid Cases	80		

T-Test

HASTA

Group Statistics

genotype405		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
VEGF	CC	18	49,2333	26,37570	6,21681
	GC	11	48,5364	27,76531	8,37156

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
VEGF	Equal variances assumed	,024	,878	,068	27	,947	,69697	10,29434	-20,42527	21,81921
	Equal variances not assumed			,067	20,418	,947	,69697	10,42745	-21,02580	22,41974

T-Test

Group Statistics

genotype405		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
VEGF	CC	18	49,2333	26,37570	6,21681
	GG	4	45,4000	18,51252	9,25626

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
VEGF	Equal variances assumed	1,495	,236	,274	20	,787	3,83333	14,01394	-25,39924	33,06591
	Equal variances not assumed			,344	6,098	,743	3,83333	11,15021	-23,34428	31,01094

T-Test

Group Statistics

genotype405		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
VEGF	GC	11	48,5364	27,76531	8,37156
	GG	4	45,4000	18,51252	9,25626

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
VEGF	Equal variances assumed	,765	,398	,207	13	,839	3,13636	15,13685	-29,56480	35,83753
	Equal variances not assumed			,251	8,258	,808	3,13636	12,48044	-25,48804	31,76077

T-Test

Group Statistics

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
VEGF	c+ 405	29	48,9690	26,41628	4,90538
	c- 405	4	45,4000	18,51252	9,25626

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
VEGF	Equal variances assumed	1,247	,273	,260	31	,797	3,56897	13,73832	-24,45053	31,58846
	Equal variances not assumed			,341	4,880	,748	3,56897	10,47574	-23,55934	30,69727

T-Test

Group Statistics

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
VEGF	g+ 405	15	47,7000	25,02302	6,46092
	g- 405	18	49,2333	26,37570	6,21681

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
VEGF	Equal variances assumed	,281	,600	-,170	31	,866	-1,53333	9,01053	-19,91043	16,84376
	Equal variances not assumed			-,171	30,438	,865	-1,53333	8,96617	-19,83366	16,76699

T-Test

Group Statistics

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
VEGF	genotype460				
	TT	17	54,1294	32,44682	7,86951
	CT	9	50,8556	24,45895	8,15298

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
VEGF	Equal variances assumed	,910	,350	,265	24	,794	3,27386	12,37571	-22,26836	28,81607
	Equal variances not assumed			,289	20,816	,776	3,27386	11,33139	-20,30371	26,85143

T-Test

Group Statistics

genotype460		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
VEGF	TT	17	54,1294	32,44682	7,86951
	CC	5	50,1800	29,01977	12,97804

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
VEGF	Equal variances assumed	,095	,761	,244	20	,810	3,94941	16,17356	-29,78805	37,68688
	Equal variances not assumed			,260	7,238	,802	3,94941	15,17757	-31,70233	39,60115

T-Test

Group Statistics

genotype460		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
VEGF	CT	9	50,8556	24,45895	8,15298
	CC	5	50,1800	29,01977	12,97804

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
VEGF	Equal variances assumed	,285	,603	,046	12	,964	,67556	14,54006	-31,00450	32,35562
	Equal variances not assumed			,044	7,218	,966	,67556	15,32647	-35,34495	36,69606

T-Test

Group Statistics

t+ 460		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
VEGF	t+ 460	26	52,9962	29,45758	5,77711
	t- 460	5	50,1800	29,01977	12,97804

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
VEGF	Equal variances assumed	,003	,956	,196	29	,846	2,81615	14,35558	-26,54431	32,17661
	Equal variances not assumed			,198	5,706	,850	2,81615	14,20579	-32,38225	38,01456

T-Test

Group Statistics

	c+ 460	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
VEGF	c+ 460	14	50,6143	25,04761	6,69426
	c- 460	17	54,1294	32,44682	7,86951

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
VEGF	Equal variances assumed	,823	,372	-,332	29	,742	-3,51513	10,59667	-25,18776	18,15751
	Equal variances not assumed			-,340	28,905	,736	-3,51513	10,33161	-24,64865	17,61840

T-Test

Group Statistics

	Evreseviye	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
VEGF	erken evre	8	49,0875	21,67800	7,66433
	ileri evre	29	53,7793	30,46578	5,65735
Yas	erken evre	11	26,0000	5,34790	1,61245
	ileri evre	41	31,9756	9,18283	1,43412

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
VEGF	Equal variances assumed	,771	,386	-,406	35	,687	-4,69181	11,55033	-28,14024	18,75662
	Equal variances not assumed			-,493	15,552	,629	-4,69181	9,52615	-24,93376	15,55014
Yas	Equal variances assumed	1,612	,210	-2,057	50	,045	-5,97561	2,90475	-11,80996	-,14126
	Equal variances not assumed			-2,769	27,739	,010	-5,97561	2,15794	-10,39782	-1,55340

Evreseviye * genotype405

Crosstab

			genotype405			Total
			CC	GC	GG	
Evreseviye	erken evre	Count	7	1	2	10
		% within Evreseviye	70,0%	10,0%	20,0%	100,0%
	ileri evre	Count	17	12	4	33
		% within Evreseviye	51,5%	36,4%	12,1%	100,0%
Total		Count	24	13	6	43
		% within Evreseviye	55,8%	30,2%	14,0%	100,0%

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)
Pearson Chi-Square	2,576 ^a	2	,276
Likelihood Ratio	2,978	2	,226
Linear-by-Linear Association	,161	1	,688
N of Valid Cases	43		

a. 3 cells (50,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 1,40.

Evreseviye * c+ 405

Crosstab

			c+ 405		Total
			c- 405	c+ 405	
Evreseviye	erken evre	Count	2	8	10
		% within Evreseviye	20,0%	80,0%	100,0%
	ileri evre	Count	4	29	33
		% within Evreseviye	12,1%	87,9%	100,0%
Total		Count	6	37	43
		% within Evreseviye	14,0%	86,0%	100,0%

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	,397 ^b	1	,529		
Continuity Correction ^a	,012	1	,913		
Likelihood Ratio	,370	1	,543		
Fisher's Exact Test				,611	,429
Linear-by-Linear Association	,388	1	,534		
N of Valid Cases	43				

a. Computed only for a 2x2 table

b. 2 cells (50,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 1,40.

Risk Estimate

	Value	95% Confidence Interval	
		Lower	Upper
Odds Ratio for Evreseviye (erken evre / ileri evre)	1,813	,280	11,750
For cohort c+ 405 = c- 405	1,650	,353	7,719
For cohort c+ 405 = c+ 405	,910	,651	1,272
N of Valid Cases	43		

Evreseviye * g+ 405

Crosstab

		g+ 405		Total	
		g- 405	g+ 405		
Evreseviye	erken evre	Count	7	3	10
		% within Evreseviye	70,0%	30,0%	100,0%
	ileri evre	Count	17	16	33
		% within Evreseviye	51,5%	48,5%	100,0%
Total		Count	24	19	43
		% within Evreseviye	55,8%	44,2%	100,0%

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	1,063 ^b	1	,302		
Continuity Correction ^a	,446	1	,504		
Likelihood Ratio	1,093	1	,296		
Fisher's Exact Test				,470	,254
Linear-by-Linear Association	1,039	1	,308		
N of Valid Cases	43				

a. Computed only for a 2x2 table

b. 1 cells (25,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 4,42.

Risk Estimate

	Value	95% Confidence Interval	
		Lower	Upper
Odds Ratio for Evreseviye (erken evre / ileri evre)	2,196	,483	9,991
For cohort g+ 405 = g- 405	1,359	,805	2,294
For cohort g+ 405 = g+ 405	,619	,225	1,699
N of Valid Cases	43		

Evreseviye * cc+ 405

Crosstab

		cc+ 405		Total	
		cc- 405	cc+ 405		
Evreseviye	erken evre	Count	3	7	10
		% within Evreseviye	30,0%	70,0%	100,0%
	ileri evre	Count	16	17	33
		% within Evreseviye	48,5%	51,5%	100,0%
Total		Count	19	24	43
		% within Evreseviye	44,2%	55,8%	100,0%

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	1,063 ^b	1	,302		
Continuity Correction ^a	,446	1	,504		
Likelihood Ratio	1,093	1	,296		
Fisher's Exact Test				,470	,254
Linear-by-Linear Association	1,039	1	,308		
N of Valid Cases	43				

a. Computed only for a 2x2 table

b. 1 cells (25,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 4,42.

Risk Estimate

	Value	95% Confidence Interval	
		Lower	Upper
Odds Ratio for Evreseviye (erken evre / ileri evre)	,455	,100	2,072
For cohort cc+ 405 = cc-405	,619	,225	1,699
For cohort cc+ 405 = cc+405	1,359	,805	2,294
N of Valid Cases	43		

Evreseviye * gg+ 405

Crosstab

			gg+ 405		Total
			gg- 405	gg+ 405	
Evreseviye	erken evre	Count	8	2	10
		% within Evreseviye	80,0%	20,0%	100,0%
	ileri evre	Count	29	4	33
		% within Evreseviye	87,9%	12,1%	100,0%
Total		Count	37	6	43
		% within Evreseviye	86,0%	14,0%	100,0%

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	,397 ^b	1	,529		
Continuity Correction ^a	,012	1	,913		
Likelihood Ratio	,370	1	,543		
Fisher's Exact Test				,611	,429
Linear-by-Linear Association	,388	1	,534		
N of Valid Cases	43				

a. Computed only for a 2x2 table

b. 2 cells (50,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 1,40.

Risk Estimate

	Value	95% Confidence Interval	
		Lower	Upper
Odds Ratio for Evreseviye (erken evre / ileri evre)	,552	,085	3,577
For cohort gg+ 405 = gg-405	,910	,651	1,272
For cohort gg+ 405 = gg+405	1,650	,353	7,719
N of Valid Cases	43		

Evrreseviye * gc+ 405

Crosstab

			gc+ 405		Total
			gc- 405	gc+ 405	
Evrreseviye	erken evre	Count	9	1	10
		% within Evreseviye	90,0%	10,0%	100,0%
	ileri evre	Count	21	12	33
		% within Evreseviye	63,6%	36,4%	100,0%
Total		Count	30	13	43
		% within Evreseviye	69,8%	30,2%	100,0%

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	2,529 ^b	1	,112		
Continuity Correction ^a	1,433	1	,231		
Likelihood Ratio	2,939	1	,086		
Fisher's Exact Test				,237	,113
Linear-by-Linear Association	2,470	1	,116		
N of Valid Cases	43				

a. Computed only for a 2x2 table

b. 1 cells (25,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 3,02.

Risk Estimate

	Value	95% Confidence Interval	
		Lower	Upper
Odds Ratio for Evreseviye (erken evre / ileri evre)	5,143	,579	45,693
For cohort gc+ 405 = gc-405	1,414	1,016	1,968
For cohort gc+ 405 = gc+405	,275	,041	1,863
N of Valid Cases	43		

Evreseviye * genotype460

Crosstab

			genotype460			Total
			TT	CT	CC	
Evreseviye	erken evre	Count	4	2	3	9
		% within Evreseviye	44,4%	22,2%	33,3%	100,0%
	ileri evre	Count	18	9	6	33
		% within Evreseviye	54,5%	27,3%	18,2%	100,0%
Total		Count	22	11	9	42
		% within Evreseviye	52,4%	26,2%	21,4%	100,0%

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)
Pearson Chi-Square	,964 ^a	2	,617
Likelihood Ratio	,894	2	,639
Linear-by-Linear Association	,685	1	,408
N of Valid Cases	42		

a. 3 cells (50,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 1,93.

Evreseviye * t+ 460

Crosstab

			t+ 460		Total
			t- 460	t+ 460	
Evreseviye	erken evre	Count	3	6	9
		% within Evreseviye	33,3%	66,7%	100,0%
	ileri evre	Count	6	27	33
		% within Evreseviye	18,2%	81,8%	100,0%
Total		Count	9	33	42
		% within Evreseviye	21,4%	78,6%	100,0%

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	,964 ^b	1	,326		
Continuity Correction ^a	,274	1	,600		
Likelihood Ratio	,894	1	,344		
Fisher's Exact Test				,375	,288
Linear-by-Linear Association	,941	1	,332		
N of Valid Cases	42				

a. Computed only for a 2x2 table

b. 1 cells (25,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 1,93.

Risk Estimate

	Value	95% Confidence Interval	
		Lower	Upper
Odds Ratio for Evreseviye (erken evre / ileri evre)	2,250	,435	11,647
For cohort t+ 460 = t- 460	1,833	,567	5,929
For cohort t+ 460 = t+ 460	,815	,500	1,329
N of Valid Cases	42		

Evreseviye * c+ 460**Crosstab**

			c+ 460		Total
			c- 460	c+ 460	
Evreseviye	erken evre	Count	4	5	9
		% within Evreseviye	44,4%	55,6%	100,0%
	ileri evre	Count	18	15	33
		% within Evreseviye	54,5%	45,5%	100,0%
Total		Count	22	20	42
		% within Evreseviye	52,4%	47,6%	100,0%

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	,289 ^b	1	,591		
Continuity Correction ^a	,026	1	,872		
Likelihood Ratio	,289	1	,591		
Fisher's Exact Test				,714	,435
Linear-by-Linear Association	,282	1	,595		
N of Valid Cases	42				

a. Computed only for a 2x2 table

b. 2 cells (50,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 4,29.

Risk Estimate

	Value	95% Confidence Interval	
		Lower	Upper
Odds Ratio for Evreseviye (erken evre / ileri evre)	,667	,151	2,936
For cohort c+ 460 = c- 460	,815	,368	1,803
For cohort c+ 460 = c+ 460	1,222	,611	2,446
N of Valid Cases	42		

Evreseviye * tt+ 460

Crosstab

			tt+ 460		Total
			tt- 460	tt+ 460	
Evreseviye	erken evre	Count	5	4	9
		% within Evreseviye	55,6%	44,4%	100,0%
	ileri evre	Count	15	18	33
		% within Evreseviye	45,5%	54,5%	100,0%
Total		Count	20	22	42
		% within Evreseviye	47,6%	52,4%	100,0%

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	,289 ^b	1	,591		
Continuity Correction ^a	,026	1	,872		
Likelihood Ratio	,289	1	,591		
Fisher's Exact Test				,714	,435
Linear-by-Linear Association	,282	1	,595		
N of Valid Cases	42				

a. Computed only for a 2x2 table

b. 2 cells (50,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 4,29.

Risk Estimate

	Value	95% Confidence Interval	
		Lower	Upper
Odds Ratio for Evreseviye (erken evre / ileri evre)	1,500	,341	6,607
For cohort tt+ 460 = tt- 460	1,222	,611	2,446
For cohort tt+ 460 = tt+ 460	,815	,368	1,803
N of Valid Cases	42		

Evreseviye * ct+ 460

Crosstab

			ct+ 460		Total
			ct- 460	ct+ 460	
Evreseviye	erken evre	Count	7	2	9
		% within Evreseviye	77,8%	22,2%	100,0%
	ileri evre	Count	24	9	33
		% within Evreseviye	72,7%	27,3%	100,0%
Total		Count	31	11	42
		% within Evreseviye	73,8%	26,2%	100,0%

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	,093 ^b	1	,760		
Continuity Correction ^a	,000	1	1,000		
Likelihood Ratio	,096	1	,757		
Fisher's Exact Test				1,000	,564
Linear-by-Linear Association	,091	1	,763		
N of Valid Cases	42				

a. Computed only for a 2x2 table

b. 1 cells (25,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 2,36.

Risk Estimate

	Value	95% Confidence Interval	
		Lower	Upper
Odds Ratio for Evreseviye (erken evre / ileri evre)	1,313	,228	7,540
For cohort ct+ 460 = ct- 460	1,069	,712	1,607
For cohort ct+ 460 = ct+ 460	,815	,213	3,122
N of Valid Cases	42		

Evreseviye * cc+ 460**Crosstab**

			cc+ 460		Total
			cc- 460	cc+ 460	
Evreseviye	erken evre	Count	6	3	9
		% within Evreseviye	66,7%	33,3%	100,0%
	ileri evre	Count	27	6	33
		% within Evreseviye	81,8%	18,2%	100,0%
Total		Count	33	9	42
		% within Evreseviye	78,6%	21,4%	100,0%

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	,964 ^b	1	,326		
Continuity Correction ^a	,274	1	,600		
Likelihood Ratio	,894	1	,344		
Fisher's Exact Test				,375	,288
Linear-by-Linear Association	,941	1	,332		
N of Valid Cases	42				

a. Computed only for a 2x2 table

b. 1 cells (25,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 1,93.

Risk Estimate

	Value	95% Confidence Interval	
		Lower	Upper
Odds Ratio for Evreseviye (erken evre / ileri evre)	,444	,086	2,301
For cohort cc+ 460 = cc- 460	,815	,500	1,329
For cohort cc+ 460 = cc+ 460	1,833	,567	5,929
N of Valid Cases	42		

Evreseviye * callel405 = 1 | tallel460 = 1 (FILTER)

Crosstab

			callel405 = 1 tallel460 = 1 (FILTER)		Total
			c405/t460 -	c405/t460+	
Evreseviye	erken evre	Count	0	11	11
		% within Evreseviye	,0%	100,0%	100,0%
	ileri evre	Count	2	38	40
		% within Evreseviye	5,0%	95,0%	100,0%
Total		Count	2	49	51
		% within Evreseviye	3,9%	96,1%	100,0%

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	,572 ^b	1	,449		
Continuity Correction ^a	,000	1	1,000		
Likelihood Ratio	,994	1	,319		
Fisher's Exact Test				1,000	,612
Linear-by-Linear Association	,561	1	,454		
N of Valid Cases	51				

a. Computed only for a 2x2 table

b. 2 cells (50,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is ,43.

Risk Estimate

	Value	95% Confidence Interval	
		Lower	Upper
For cohort callel405 = 1 tallel460 = 1 (FILTER) = c405/t460+	1,053	,980	1,130
N of Valid Cases	51		

T-Test KONTROL

Group Statistics

genotype405		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
VEGF	CC	7	84,5857	32,44695	12,26380
	GC	9	85,7333	48,38990	16,12997

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
VEGF	Equal variances assumed	2,787	,117	-,054	14	,958	-1,14762	21,31695	-46,86794	44,57270
	Equal variances not assumed			-,057	13,782	,956	-1,14762	20,26269	-44,67138	42,37614

T-Test

Group Statistics

genotype405		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
VEGF	CC	7	84,5857	32,44695	12,26380
	GG	3	66,9000	4,48442	2,58908

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means							
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference		
										Lower	Upper
VEGF	Equal variances assumed	9,683	,014	,909	8	,390	17,68571	19,45240	-27,17159	62,54302	
	Equal variances not assumed			1,411	6,508	,204	17,68571	12,53411	-12,41311	47,78454	

T-Test

Group Statistics

genotype405		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
VEGF	GC	9	85,7333	48,38990	16,12997
	GG	3	66,9000	4,48442	2,58908

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means							
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference		
										Lower	Upper
VEGF	Equal variances assumed	11,053	,008	,652	10	,529	18,83333	28,88512	-45,52673	83,19339	
	Equal variances not assumed			1,153	8,395	,281	18,83333	16,33644	-18,53206	56,19872	

T-Test

Group Statistics

c+ 405		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
VEGF	c+ 405	16	85,2313	40,86945	10,21736
	c- 405	3	66,9000	4,48442	2,58908

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means							
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference		
										Lower	Upper
VEGF	Equal variances assumed	9,272	,007	,758	17	,459	18,33125	24,17266	-32,66860	69,33110	
	Equal variances not assumed			1,739	16,479	,101	18,33125	10,54029	-3,96055	40,62305	

T-Test

Group Statistics

	g+ 405	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
VEGF	g+ 405	12	81,0250	42,18029	12,17640
	g- 405	7	84,5857	32,44695	12,26380

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means							
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference		
										Lower	Upper
VEGF	Equal variances assumed	,587	,454	-,192	17	,850	-3,56071	18,55923	-42,71727	35,59584	
	Equal variances not assumed			-,206	15,464	,839	-3,56071	17,28194	-40,30035	33,17892	

T-Test

Group Statistics

	genotype460	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
VEGF	TT	7	87,8286	30,50518	11,52987
	CT	3	63,5333	40,58785	23,43340

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means							
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference		
										Lower	Upper
VEGF	Equal variances assumed	,456	,519	1,057	8	,321	24,29524	22,98827	-28,71582	77,30629	
	Equal variances not assumed			,930	3,026	,420	24,29524	26,11632	-58,40908	106,99955	

T-Test

Group Statistics

	genotype460	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
VEGF	TT	7	87,8286	30,50518	11,52987
	CC	3	66,6333	26,26810	15,16590

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
VEGF	Equal variances assumed	,158	,701	1,041	8	,328	21,19524	20,35901	-25,75273	68,14320
	Equal variances not assumed			1,113	4,481	,322	21,19524	19,05105	-29,53303	71,92351

T-Test

Group Statistics

genotype460	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
VEGF CT	3	63,5333	40,58785	23,43340
CC	3	66,6333	26,26810	15,16590

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
VEGF	Equal variances assumed	1,395	,303	-,111	4	,917	-3,10000	27,91288	-80,59858	74,39858
	Equal variances not assumed			-,111	3,425	,918	-3,10000	27,91288	-86,00539	79,80539

T-Test

Group Statistics

t+ 460	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
VEGF t+ 460	10	80,5400	33,52890	10,60277
t- 460	3	66,6333	26,26810	15,16590

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
VEGF	Equal variances assumed	,900	,363	,653	11	,527	13,90667	21,28239	-32,93556	60,74889
	Equal variances not assumed			,752	4,209	,492	13,90667	18,50468	-36,47817	64,29150

T-Test

Group Statistics

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
VEGF	c+ 460	6	65,0833	30,62414	12,50225
	c- 460	7	87,8286	30,50518	11,52987

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
VEGF	Equal variances assumed	,075	,790	-1,338	11	,208	-22,74524	17,00163	-60,16557	14,67509
	Equal variances not assumed			-1,337	10,682	,209	-22,74524	17,00718	-60,31400	14,82353

FORMLAR**HASTA ARAŞTIRMA FORMU**

Form No:	Protokol No :	Tarih :
Adı Soyadı :	Yaş :	Cinsiyet :
Boy / Kilo :	Meslek :	Kan Grubu:
Memleket:	Yaşadığı yer:	

Öyküsü:**Öz geçmişi:**

Sigara tüketimi (süre, miktar)
İlaç kullanımı
Transfüzyon

İskemik kalp hastalığı	Diabetes Mellitus
Kronik Böbrek Yetersizliği	Malign hastalık
Steroid kullanımı	Kemoterapi
Kronik Karaciğer Hastalığı	Radyoterapi
Diğer	

Meyve tüketimi	az	orta	bol
Sebze tüketimi	az	orta	bol

Öz geçmişinde hastalığı ile ilgili yakınma / daha önce geçirilen ilişkili hastalık:**Soy geçmişi:**

malign hastalıklar
Diabetes Mellitus
Kronik Karaciğer Hastalığı

Ameliyat öncesi Kan Biyokimyası:

Glukoz	BUN	Prot	Alb
ALT	AST	ALP	GGT
LDH	T Kolest	Trig	
LDL	HDL	Ca	P
Hb	Htc	Löko	Tromb

Ameliyat öncesi tanı :**Yapılan Ameliyat :****Ek Belgeler (patoloji , klinik bilgiler ve belgeler)**

ETİK KURUL KARARI

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	N.Erkut	Soyadı	Attar
Doğ.Yeri	Mucur	Doğ.Tar.	11.03.1961
Uyruğu	TC	TC Kim No	31324833906
Email	attar@superonline.com	Tel	0216 327 32 45

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mez. Yılı
Doktora	Moleküler Tıp	2001-
Yük.Lis.	-	
Lisans	İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi	1986
Lise	Özel Şişli Lisesi	1977

İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

	Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
1.	Prof.Dr.	İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi	2006
2.	Doç.Dr.	İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi	2000-2006
3.	Uzman Dr	Zeynep Kamil Hastanesi	1992-93

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama*	Konuşma*	Yazma*	KPDS/ÜDS Puanı	(Diğer) Puanı
İngilizce	Çok iyi	Çok iyi	Çok iyi	86	

*Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
LES Puanı	53,911	56,69	59,38
(Diğer) Puanı			