

T.C.

KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**ENDOMETRİYOZİSTE ENDOMETRİYAL KÖK HÜCRELERİN
ENDOPLAZMİK RETİKULUM (ER) STRESİNİN ARAŞTIRILMASI**

Selenay Hümeysra FURAT RENÇBER

Kocaeli Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetmeliğinin
Histoloji ve Embriyoloji Programı için Öngördüğü
DOKTORA TEZİ
Olarak Hazırlanmıştır

KOCAELİ
2022

T.C.
KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**ENDOMETRİYOZİSTE ENDOMETRİYAL KÖK HÜCRELERİN
ENDOPLAZMİK RETİKULUM (ER) STRESİNİN ARAŞTIRILMASI**

Selenay Hümeysra FURAT RENÇBER

Kocaeli Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetmeliğinin
Histoloji ve Embriyoloji Programı için Öngördüğü
DOKTORA TEZİ
Olarak Hazırlanmıştır

Danışman: Prof. Dr. Yusufhan YAZIR

Bu Tez Çalışması Kocaeli Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi ve TÜBİTAK
(1002 Hızlı Destek Programı) Tarafından Desteklenmiştir

KOÜ BAP Proje Numarası: TDK- 2020-2223

TÜBİTAK Proje Numarası: 321S003

Etik Kurul Karar Numarası: KÜ GOKAEK 2020/4.01 Proje Numarası: 2020/55

KOCAELİ
2022

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ'NE

Tez Adı: Endometriyoziste Endometriyal Kök Hücrelerin Endoplazmik Retikulum (ER) Stresinin Araştırılması

Tez Yazarı: Selenay Hümeysra FURAT RENÇBER

Tez Savunma Tarihi: 22.12.2022

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Yusufhan YAZIR

Bu çalışma, sınav kurulumuz tarafından Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalında DOKTORA tezi olarak kabul edilmiştir.

SINAV KURULU ÜYELERİ		
ÜNVANI	ADI SOYADI	İMZA
BAŞKAN (ÜYE)	Prof. Dr. Süreyya CEYLAN	
DANIŞMAN	Prof. Dr. Yusufhan YAZIR	
ÜYE	Prof. Dr. Melda YARDIMOĞLU YILMAZ	
ÜYE	Prof. Dr. E. Elif GÜZEL MEYDANLI	
ÜYE	Prof. Dr. Ahmet Çevik TUFAN	
ÜYE	Doç. Dr. Gökhan DURUKSU	

Onay

Bu tez Kocaeli Üniversitesi Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri tarafından uygun bulunmuş ve Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu kararıyla onaylanmıştır.

.... / /20...

Prof. Dr. Sema Aşkın KEÇELİ
KOÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

ÖZET

ENDOMETRİYOZİSTE ENDOMETRİYAL KÖK HÜCRELERİN ENDOPLAZMİK RETİKULUM (ER) STRESİNİN ARAŞTIRILMASI

Amaç: İnsan endometriyumu yaklaşık 400-500 kez proliferasyon, farklılaşma, dökülme ve onarım döngüleri geçirdiği için rejenerasyon kapasitesi oldukça yüksek bir organdır. Bu kapasiteden kök/progenitör hücreler sorumludur. Glandular epitelyal kök hücreler proliferasyon ve migrasyonla luminal epitel hücrelerini oluştururken, mezenkimal kök hücreler (MKH) ise farklılaşarak stromal hücreleri meydana getirir. MKH'ler ayrıca mezenkimal-epitelyal dönüşüme de uğrayarak luminal epitelin oluşumuna katkıda bulunurlar. Bu kök hücrelerin endometriyumdaki rejenerasyon görevlerinin yanı sıra, embriyo implantasyonu ve plasental gelişim için gerekli olan immünmodulasyon, immüntolerans, steroid hormonlara yanıt ve inflamasyonda rol oynadıkları rapor edilmiştir. Endometriyozis, sıklıkla uterus dışında, reaktif fibrozis ile birlikte disfonksiyonel endometriyal-benzeri bezlerin ve stromanın varlığı ve büyümesini içeren, yaygın, inflamatuvar, iyi huylu (benign), jinekolojik bir hastalıktır. Milyonlarca kadını etkileyen bu hastalık, infertilite ve pelvik ağrının en önemli nedenidir ve üreme çağındaki kadınların yaklaşık %10'unda, infertil kadınların ise %20-50'sinde görülmektedir. Kadınlar arasında yaygın olarak görülmesine rağmen hastalığın etiyojisi ve patofizyolojisi tam olarak bilinmemektedir. Son dönemde yapılan çalışmalarla birlikte gelişen hipotezler kök hücrelerin endometriyozis patolojisine yol açtığı yönündedir. Endoplazmik retikulum (ER); sentez, katlanma, modifikasyon, protein trafiği, Ca^{+2} deposu olmak üzere hücrede hayati fonksiyonları yerine getirmekle yükümlü membrana-bağlı bir organdır. Fizyolojik ve patolojik şartlar altında katlanmayan proteinler ER'de birikir ve ER homeostazını bozar ve ER stresine neden olur. Hücre ER stresine ile başa çıkabilmek için kendini kurtarma mekanizması olan katlanmamış protein cevabı (UPR) aktive eder. Bu protein homeostazındaki bozulmaların endometriyozis dahil çeşitli hastalıkların patogeneğinde rol oynadığı tespit edilmiştir.

Bu çalışmanın amacı, endometriyozis patogeneğinde, endometriyal MKH'lerdeki olası ER stresini araştırmak ve hastalığın altında yatan mekanizmayı aydınlatmaya yönelik bulgular ortaya koymaktır.

Yöntem: Bu amaçla, sağlıklı (kontrol) ve endometriyozisli (ötopik ve ektopik) kadınlardan proliferatif ve sekretuar evrede örnekler toplanmıştır. *In vitro* çalışmalarda, bu örneklerden endometriyal MKH'lerin (eMKH) izolasyonu ve flow sitometri ile karakterizasyonu sağlanmış, daha sonra bu hücrelerde ER stres proteinleri proteomiks analiziyle belirlenmiştir. İkinci aşamada bu proteinler western blot ve immunofloresan metod ile; onları kodlayan genler ise RT-qPCR ile analiz edilmiştir. Ayrıca bu hücrelerdeki ER stresi Geçirimli Elektron Mikroskobu (TEM) ile ultrastrüktürel olarak incelenmiştir. *In vivo* çalışmada ise histolojik değerlendirme için H&E boyaması gerçekleştirilmiştir. Bunun yanı sıra endometriyal dokulardaki SUS2+ eMKH'lerde ER stres belirteçleri immunofloresan yöntemle işaretlenmiş ve konfokal mikroskopta görüntülenmiştir. SPSS programı ile istatistiksel analiz gerçekleştirilmiştir.

Bulgular: Kontrol, ötopik ve ektopik endometriyal doku örneklerinden eMKH'ler başarılı bir şekilde izole edilmiştir. Proteomiks analizi sonucunda kontrol grubuna göre seviyesi anlamlı derecede değişen ER stresi-ilişkili proteinler (DDRGK1, RTN3, ERp44, TMED2, TMEM33, TMX3) ortaya konmuştur. Western blot analizi ve immunofloresan boyama sonuçları protein seviyesinde; RT-qPCR ise gen seviyesinde bu bulguları desteklemiştir. TEM analizleri de endometriyozis gruplarında (ötopik ve ektopik) ER stresinin varlığını ultrastrüktürel olarak göstermiştir.

Sonuç: Sonuç olarak, endometriyozis patogeneğinde, endometriyal MKH'lerdeki ER stresinin varlığı çeşitli moleküler yöntemler kullanılarak ortaya konmuştur. Çalışmamızdan elde edilen bulguların, endometriyozis patolojisinin aydınlatılmasına katkı sağlayarak hastalığın non-invaziv tanısında ve potansiyel tedavisinde etkili olabilecek yolların tanımlanmasında büyük imkanlar sunacağını düşünmekteyiz. Böylece toplumda giderek artan bir sorun olan infertilitenin önlenmesine yönelik bir yaklaşımın geliştirilmesine olanak sağlanacaktır.

Anahtar Kelimeler: Endometriyozis, Endoplazmik retikulum stresi, Kök hücreler

ABSTRACT

INVESTIGATION OF ENDOPLASMIC RETICULUM (ER) STRESS OF ENDOMETRIAL STEM CELLS IN ENDOMETRIOSIS

Objective: The human endometrium has a very high regeneration capacity that undergoes approximately 400-500 cycles of proliferation, differentiation, shedding and repair. Stem/progenitor cells are responsible for this capacity. While glandular epithelial stem cells (gEpSCs) form luminal epithelial cells by proliferation and migration, mesenchymal stem cells (MSCs) differentiate and form stromal cells. MSCs also contribute to the formation of the luminal epithelium by undergoing mesenchymal-epithelial transition. In addition to regeneration functions, these stem cells play a role in immunomodulation, immuntolerance, response to steroid hormones and inflammation, which are necessary for embryo implantation and placental development. Endometriosis is a common, inflammatory, benign, gynecological disease involving the presence and growth of dysfunctional endometrial-like glands and stroma with reactive fibrosis and often seen outside of the uterus. This disease affects millions of women and is the most important cause of infertility and pelvic pain, seen in approximately 10% of women of reproductive age and 20-50% of infertile women. Despite prevalence among women, the etiology and pathophysiology of endometriosis remain unknown. Hypotheses developed in line with recent studies indicate that stem cells cause the pathology of endometriosis. The endoplasmic reticulum (ER) is a membrane-bound organelle responsible for performing vital functions in the cell, including synthesis, folding, modification, protein trafficking, and Ca^{+2} storage. Under physiological and pathological conditions, unfolded proteins will accumulate in the ER and disrupt ER homeostasis, leading to ER stress. To cope with ER stress, cells trigger self- adaptive mechanisms called unfolded protein response (UPR). Disruptions in this protein homeostasis have been found to play a role in the pathogenesis of various diseases, including endometriosis.

The aim of this study is to investigate the possible ER stress in endometrial MSCs in the pathogenesis of endometriosis and to reveal findings to elucidate the underlying mechanism of the disease.

Method: For this purpose, samples were collected from healthy (control) and women with endometriosis (eutopic and ectopic) in the proliferative and secretory stages. In in vitro studies, endometrial MSCs (eMSCs) were isolated from these samples and characterized by flow cytometry, and then ER stress proteins in these cells were determined by proteomics analysis. In the second step, these proteins were determined by western blot and immunofluorescence method and encoding genes were analyzed by RT-qPCR. Also ER stress in these cells was examined ultrastructurally with TEM. In the in vivo study, H&E staining was performed for histological evaluation. Besides, ER stress markers was detected by immunoflorescence staining in SUSD2+ eMSCs in tissues and screened on confocal microscope. Statistical analysis was performed with the SPSS program.

Results: eMSCs have been successfully isolated from control, eutopic, and ectopic endometrial tissue samples. As a result of proteomics analysis, ER stress-related proteins (DDRGK1, RTN3, ERp44, TMED2, TMEM33, TMX3) whose levels were significantly different compared to the control group were revealed. Western blot analysis and immunofluorescence staining results at protein level; RT-qPCR supported these findings at the gene level. TEM analyzes also showed ultrastructural presence of ER stress in endometriosis (eutopic and ectopic) groups.

Conclusions: In conclusion, the presence of ER stress in endometrial MSCs in the pathogenesis of endometriosis has been demonstrated using various molecular methods. We suggest that the findings obtained from our study will contribute to the elucidation of the pathology of endometriosis and provide great opportunities in defining the pathways that may be effective in non-invasive diagnosis and potential treatment of the disease. Thus, it will be possible to develop an approach to prevent infertility, which is an increasing problem in society.

Keywords: Endometriosis, Endoplasmic reticulum stress, Stem cells

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimimin her aşamasında engin bilgi ve tecrübeleriyle bana ışık tutan ve hiçbir konuda desteğini esirgemeyen, bugüne gelmemde büyük emeği olan kıymetli danışman hocam, Sayın Prof. Dr. Yusufhan YAZIR'a,

Lisansüstü eğitimim boyunca bilgi ve deneyimlerini aktararak gelişmemde katkıları bulunan saygıdeğer hocalarım Prof. Dr. Fatma Süreyya CEYLAN'a, Prof. Dr. Melda YARDIMOĞLU YILMAZ'a, Prof. Dr. Serdar FİLİZ'e ve Prof. Dr. Süheyla GONCA'ya,

Tezimin elektron mikroskopik incelemesinde bilgisi ve engin deneyimi ile bana yol gösteren, üzerimde büyük emeği olan kıymetli hocam Prof. Dr. Emine Elif GÜZEL MEYDANLI'ya,

Tezimin vaka örneklerini sağlayan ve örneklerin uygunluğunun değerlendirilmesinde yol gösteren Prof. Dr. Aydın ÇORAKÇI'ya ve Uzm.Dr. Zeynep Ece UTKAN KORUN'a,

Tezimin her aşamasında bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşan değerli hocam Doç.Dr. Gökhan DURUKSU'ya ve başta Araş.Gör. Ahmet ÖZTÜRK, Mol.Bio. Candan ALTUNTAŞ, Mol.Bio. Deren ARSLAN, Mol.Bio. Hilal ÇAĞLAYAN ve Mol.Bio. Onur ÖZCAN olmak üzere tezimi gerçekleştirirken ilgi ve destekleriyle her zaman yanımda olan KÖGEM ailesine,

Laboratuvarlarının kapılarını açarak tezimin proteomiks ve western blot deneylerini gerçekleştirmemi sağlayan, kıymetli hocalarım Prof. Dr. Murat KASAP ve Doç. Dr. Gürler AKPINAR ile bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşan Araş. Gör. Mehmet SARIHAN'a,

İlgi ve destekleriyle her zaman yanımda olan Araş. Gör. Dr. Sema KURNAZ ÖZBEK'e, Araş. Gör. Dr. Özgür Doğa ÖZSOY'a, Araş. Gör. Dr. Sabriye KARADENİZLİ TAŞKIN'a ve Dr. Öğr. Üyesi Müge SARPER KAHVECİ'ye,

Lisansüstü eğitim yolculuğuna birlikte başladığım, manevi desteklerini her zaman yanımda hissettiğim canım arkadaşlarım Araş. Gör. Zehra SEZER'e ve Uzm. Bio. Kübra KAVRAM SARIHAN'a,

Aldığım tüm kararlarda beni destekleyen ve her koşulda sevgi ve ilgileriyle yanımda olan, iki çocuklu bir bilim insanı olma yolunda yükümü hafifleterek bu süreci daha kolay yönetmemi sağlayan biricik aileme ve sevgili eşime; gülüşleriyle içimi ısıtan ve hayata pozitif bakmamı sağlayan 'iyi ki' lerim Kaan ve Gökçe'me,

Doktora sürecinde, BİDEB 2211-A Genel Yurtiçi Doktora Burs Programı ve ARDEB 1002 Hızlı Destek Programı aracılığıyla projeme maddi destek sağlayan TÜBİTAK'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Selenay Hümeýra FURAT RENÇBER

Kocaeli, Aralık 2022

ORİJİNALLİK BİLDİRİMİ

Kocaeli Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne,

Doktora tezi olarak hazırlayıp sunduğum “Endometriyoziste Endometriyal Kök Hücrelerin Endoplazmik Retikulum (ER) Stresinin Araştırılması” başlıklı tezimde başka kaynaklardan yararlanılarak kullanılan yazı, bilgi, şekil, tablo ve diğer malzemeler kaynakları gösterilerek verilmiştir. Tezimde yer alan deneysel çalışmalar/araştırmalar bilimsel ahlak ve değere uygun olarak tarafımdan yapılmıştır. Tezimin fikir / hipotezi tümüyle tez danışmanım ve bana aittir.

Yukarıda belirtilen hususlar bir intihal programı (Turnitin vb.) kullanılarak test edilmiş olup, doğruluğunu beyan ederim.

07 / 12 / 2022

Selenay Hümeysra FURAT RENÇBER

İÇİNDEKİLER

ÖZET	iv
ABSTRACT.....	vi
TEŞEKKÜR	viii
ORJİNALLİK BİLDİRİMİ	ix
İÇİNDEKİLER.....	x
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xv
ŞEKİLLER.....	xviii
TABLOLAR.....	xxiii
1. GİRİŞ.....	1
1.1. Uterus	1
1.1.1. Uterusun Embriyolojisi	1
1.1.2. Uterusun Anatomisi.....	4
1.1.2.1. Uterusun Pozisyonu	4
1.1.2.2. Uterusun Kan Damarları, Lenf Damarları, Sinirleri Ve Destekleri.....	5
1.1.3. Uterusun Histolojisi.....	9
1.1.3.1. Uterusun Histofizyolojisi.....	12
1.1.3.1.1. Menstrual siklus sırasındaki siklik değişimler	13
1.2. Endometriyozis.....	16
1.2.1. Sıklık.....	18
1.2.2. Endometriyozisin Sınıflandırılması ve Lokalizasyonu	18
1.2.2.1. Sınıflama Sistemi.....	18
1.2.2.2. Anatomik Yerleşim	19
1.2.3. Semptomlar.....	20
1.2.3.1. Ağrı.....	20
1.2.3.2. Dismenore.....	21
1.2.3.3. Disparöni	21
1.2.3.4. Dizüri	21
1.2.3.5. Ağrılı Dışkılama	21
1.2.3.6. Sıklık Olmayan Ağrı.....	21
1.2.4. Endometriyozisin Tanısı.....	22
1.2.4.1. Fiziksel Muayene.....	22
1.2.4.1.1. İnspeksiyon.....	22
1.2.4.1.2. Spekulum Muayenesi	22

1.2.4.1.3. Bimanuel Muayene.....	22
1.2.4.2. Görüntüleme Yöntemleri.....	23
1.2.4.3. Laboratuvar Testleri	26
1.2.5. Endometriyozis ve İnfertilite	27
1.2.5.1. Folikülogenez ve Embriyogeneze Etkileri	27
1.2.5.2. Endometriyal Değişiklikler	28
1.2.5.3. Diğer Faktörler	28
1.2.6. Endometriyozis Patogenezinde Rol Alan Etmenler	28
1.2.6.1. Endometriyozis ve Hiperöstrojenite	28
1.2.6.2. Endometriyozis ve Progesteron Direnci	29
1.2.6.3. Endometriyozis ve İnflamasyon	29
1.2.6.3.1. İmmün sistemin rolü.....	30
1.2.6.4. Endometriyozis ve Oksidatif Stres	31
1.2.7. Endometriyozis Oluşum Teorileri	31
1.2.7.1. In Situ Teorisi	32
1.2.7.1.1. Lenfatik veya vasküler yayılım	32
1.2.7.1.2. Çölemik metaplazi.....	32
1.2.7.1.3. İndüksiyon teorisi	32
1.2.7.2. Transplantasyon Teorisi	33
1.2.7.2.1. Retrograd menstruasyon teorisi.....	33
1.2.7.2.2. Kök hücre teorisi	34
1.3. Endometriyal Kök Hücreler.....	36
1.4. Endoplazmik Retikulum Stresi.....	37
1.4.1. ER Stresi İle İlişkili Proteinler	41
1.4.1.1. ER resident protein 44 (ERp44) (TXNDC4).....	41
1.4.1.2. Retikülon-3 (RTN3)	41
1.4.1.3. The Transmembrane emp24 Domain/p24-2 (TMED2) (RNP24)	42
1.4.1.4. Transmembrane Protein 33 (TMEM33) (DB83).....	42
1.4.1.5. Thioredoxin-Related Transmembrane Protein 3 (TMX3) (TXNDC10) .	43
1.4.1.6. DDRGK Domain- Containing Protein 1 (DDRGK1) (UFBP1).....	43
2. AMAÇ.....	45
3. YÖNTEM.....	46
3.1. Deney Gruplarının Oluşturulması ve Deney Planı	46
3.2. In vitro Yöntemler	47

3.2.1. Kriterlere Uygun Hasta Örneklerinin Toplanması	48
3.2.2. Endometriyal ve Endometriyotik eMKH'lerin İzolasyonu	49
3.2.3. eMKH'lerin Flow Sitometri Analizi	49
3.2.4. eMKH'lerin Farklılaştırma Deneyleri	50
3.2.4.1. Osteojenik Farklılaştırma	50
3.2.4.1.1. Alizarin Red S boyaması	50
3.2.4.2. Adipojenik Farklılaştırma.....	51
3.2.4.2.1. Oil Red O boyaması	51
3.2.4.3. Kondrojenik Farklılaştırma.....	51
3.2.4.3.1. Alcian Blue boyaması.....	52
3.3. eMKH'lerin Proteomiks Analizi	52
3.3.1. Proteinlerin Kütle Spektrometre Analizine Hazırlanması	52
3.3.2. LC-Parametreleri	53
3.3.3. Data-Bağımlı Veri Toplama	54
3.3.4. Protein ve Peptit Tanımlama	55
3.4. eMKH'lerin İmmunofloresan Boyaması	55
3.5. Western Blotting Analizi	56
3.5.1. eMKH'lerden Protein İzolasyonu.....	56
3.5.2. Protein Örneklerin Konsantrasyon Tayini	56
3.5.3. Protein Örneklerin Jel Elektroforezi.....	56
3.5.4. Proteinlerin Jelden Nitroselülöz Membrana Aktarılması	56
3.5.5. Membranda İlgili Proteinlerin Görüntülenmesi	56
3.6. eMKH'lerin RT-qPCR Analizi.....	58
3.7. eMKH'lerin Ultrastrüktürel Analizi	59
3.8. In Vivo Yöntemler.....	60
3.8.1. Doku takibi	60
3.8.2. Hematoksilen & Eozin (H&E) Boyaması	60
3.8.3. Endometriyal Örneklerin İkili İmmunofloresan Boyaması.....	61
3.9. İstatistiksel Analiz	62
3.10. Kullanılan Malzemeler ve Cihazlar	62
3.10.1. Kimyasal Malzemeler.....	62
3.10.1.1. Antikorlar	63
3.10.2. Alet, Teçhizat ve Cihazlar	63
4. BULGULAR	65

4.1. In Vitro Bulgular	65
4.1.1.Endometriyal ve Endometriyotik Dokulardan eMKH' lerin İzolasyonu	65
4.1.2.eMKH' lerin Flow Sitometri Analizi.....	66
4.1.3.eMKH' lerin Farklılaştırma Deneyleri	67
4.1.3.1.Osteojenik Farklılaştırma	67
4.1.3.2.Adipojenik Farklılaştırma.....	68
4.1.3.3.Kondrojenik Farklılaştırma	68
4.2.eMKH' lerin Proteomiks Analizi	69
4.2.1. SDS-PAGE Analizi	69
4.2.2. LC-MS/MS Analizi	70
4.3.eMKH' lerin İmmüno Floresan Analizi	77
4.3.1. GRP78 İmmüno Floresan Analizi	77
4.3.2. ERp44 İmmüno Floresan Analizi.....	78
4.3.3. RTN3 İmmüno Floresan Analizi	80
4.3.4. TMED2 İmmüno Floresan Analizi.....	82
4.3.5. TMEM33 İmmüno Floresan Analizi	84
4.3.6. DDRGK1 İmmüno Floresan Analizi.....	86
4.4. eMKH' lerin Western Blot Analizi	88
4.4.1. GRP78 Western Blot Sonuçlarının Analizi.....	88
4.4.2. ERp44 Western Blot Sonuçlarının Analizi.....	89
4.4.3. RTN3 Western Blot Sonuçlarının Analizi.....	90
4.4.4. TMED2 Western Blot Sonuçlarının Analizi.....	91
4.4.5. DDRGK1 Western Blot Sonuçlarının Analizi.....	92
4.5. eMKH' lerin RT-qPCR Analizi.....	93
4.6. eMKH' lerin Ultrastrüktürel Analizi.....	97
4.7. In Vivo Bulgular	107
4.7.1. Hematoksilen & Eozin (H&E) Boyaması.....	107
4.7.2. Dokudaki eMKH'lerde ER Stresi ilişkili Proteinlerin İmmüno Floresan Yöntemle Gösterilmesi.....	111
4.7.2.1. SUSD2-ERp44 İmmüno Floresan Analizi	111
4.7.2.2. SUSD2-RTN3 İmmüno Floresan Analizi	113
4.7.2.3. SUSD2-TMED2 İmmüno Floresan Analizi	115
4.7.2.4. SUSD2-TMEM33 İmmüno Floresan Analizi.....	117
4.7.2.5. SUSD2-DDRGK1 İmmüno Floresan Analizi	119

5. TARTIŞMA.....	121
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....	131
7. KAYNAKLAR	132
8. ÖZGEÇMİŞ.....	147
EKLER.....	155



SİMGELER ve KISALTMALAR

AMH: Antimüllerian hormon

ASK1: Apoptoz sinyal-düzenleyici kinaz-1

ASRM: Amerikan Üreme Tıbbı Derneği

ATF6: Activating transcription factor-6

ATL3: Atlantin 3

BCL-2: B hücreli lenfoma-2

CA125: Kanseri antijeni 125

CHOP: C/EBP homolog proteini / DNA damage-inducible transcript 3

CRT: Kalretikulin

CT: Bilgisayarlı tomografi

DDRGK1: DDRGK domain-içeren protein 1

eMKH: Endometriyal mezenkimal kök hücre

EMT: Epitelyal mezenkimal geçiş

EpCAM: Epitelyal hücre adezyon molekülü

ER: Endoplazmik retikulum

ER- α : Östrojen reseptörü- α

ERAD: Endoplazmik retikulum-ilişkili degradasyon

ERLAD: Endoplazmik retikulum-lizozom ilişkili degradasyon

ERp44: Endoplazmik retikulum-rezident protein 44

eSF: Endometriyal stromal fibroblast

FAM134B: Family with sequence similarity 134 member B

FSH: Folikül uyarıcı hormon

GABARAP: Gamma-aminobütirik asit reseptör-ilişkili protein

gEpKH: Glandular epitelyal kök hücre

GRP78: Glukoz-regulated protein 78

IL: İnterlökin

IRE1: Inositol-requiring enzyme 1

IVF: In vitro fertilizasyon

IκB: Nuclear factor of kappa light polypeptide gene enhancer in B-cells inhibitor

JNK: c-Jun N-terminal kinaz

MET: Mezenkimal epitelyal geiş

MRG: Magnetik rezonans görüntüleme

NK: Natural killer / Doğal öldürücüler

NFκB: Nuclear factor kappa B

NUK: Neonatal uterin kanama

OS: Oksidatif stres

PBS: Fosfat ile tamponlanmış salin

PDGFRβ: Platelet-kökenli büyüme faktörü reseptörü-β

PDI: Protein disülfid izomeraz

PERK: Protein kinaz R (PKR)-benzeri endoplazmik retikulum kinaz

PGE2: Prostaglandin E2

PP14: Plasental protein 14

PR: Progesteron reseptörü

ROS: Reaktif oksijen türevleri

RTN3: Retikulon-3

SSEA-1: Stage-spesifik embriyonik antijen-1

SUSD2: Sushi domain containing-2

TBS: Tris ile tamponlanmış salin

TBS-T: TBS-Tween 20

TEM: Geçirimli elektron mikroskobu

TEX264: Testis-expressed protein 264

TMED2: Transmembran emp24 domain/p24-2

TNF- α : Tümör nekroz faktörü- α

Ufm1: Ubiquitin-fold modifier-1

UPR: Katlanmamış protein yanıt

VEGF: Vasküler endotelyal büyüme faktörü

ŞEKİLLER

Şekil 1.1. 7. Haftada dişi genital sistemin gelişimi	1
Şekil 1.2.A. İkinci ayın sonunda dişi genital kanalın şematik görünümü. B. Genital kanalların overlerin inişinden sonraki hali	2
Şekil 1.3.Uterus ve vajenin oluşumu.....	3
Şekil 1.4.Uterus, ovaryum ve uterin tüpler. Anterior görünüm.	3
Şekil 1.5. Dişi pelvis, median kesit.	5
Şekil 1.6. Dişi iç genital organların arterleri.	6
Şekil 1.7. Uterin arterler (sağ taraftan, anterior görüntü).	6
Şekil 1.8. Dişi iç genital organların venleri, şematik çizim.	7
Şekil 1.9. Dişi genital sistemin lenf drenajı; anterior görünüm.....	8
Şekil 1.10. Dişi üreme sisteminin innervasyonu.	9
Şekil 1.11. İnsan uterusunun sagittal kesitinin fotomikrografı	12
Şekil 1.12. Menstrual siklus esnasında morfolojik ve fizyolojik olaylar arasındaki ilişki..	16
Şekil 1.13. Endometriyoma.	17
Şekil 1.14. Amerikan Üreme Tıbbı Derneği yenilenmiş endometriyozis sınıflaması.....	19
Şekil 1.15. Batın ve pelviste endometriyozisin olası yerleşimleri	20
Şekil 1.16. Laparoskopi esnasında endometriyozis tanısı.....	24
Şekil 1.17. Ovaryan endometriyomanın trans-vajinal sonogramı.....	25
Şekil 1.18. Rektumun lateralinde endometriyomanın manyetik rezonans görüntüsü.....	26
Şekil 1.19. Endometriyozis ve retrograd menstruasyon teorisi.....	34
Şekil 1.20. ER stresinde aktive olan UPR yolakları ve ilişkili hücresel süreçler.....	41
Şekil 3.1. Deney planı. Biorender (www.biorender.com/) kullanılarak oluşturulmuştur. ..	47
Şekil 3.2. Endometriyal ve endometriyotik dokudan eMKH izolasyonu.....	49
Şekil 3.3. eMKH'lerin adipojenik, osteojenik ve kondrojenik farklılaştırma deneyleri.. ...	52
Şekil 3.4. Proteinlerin SDS-PAGE analizi (A) ve nitroselülöz membrana aktarılması (B-C)	57
Şekil 3.5. Membrana aktarılan proteinlerin Ponceau S ile boyanması.....	58
Şekil 4.1. Kontrol-P (A) ve Kontrol-S (B) endometriyum gruplarına ait örneklerden izole edilen eMKH'lere ait hücre kültürü fotomikroagrafları.....	65
Şekil 4.2. Ötopik-P (A) ve Ötopik-S (B) endometriyum gruplarına ait örneklerden izole edilen eMKH'lere ait hücre kültürü fotomikroagrafları.....	65

Şekil 4.3. Ektopik-P (A) ve Ektopik-S (B) endometriyum gruplarına ait örneklerden izole edilen eMKH'lere ait hücre kültürü fotomikrographları.....	66
Şekil 4.4. Ötopik endometriyumdan izole edilen eMKH'lerde Kontrol (A) ve Deney/Osteojenik farklılaştırma (B) gruplarına ait Alizarin Red S boyamasını gösteren fotomikrograph.....	68
Şekil 4.5. Ötopik endometriyumdan izole edilen eMKH'lerde Kontrol (A) ve Deney/Adipojenik farklılaştırma (B) gruplarına ait Oil Red O boyamasını gösteren fotomikrograph.....	68
Şekil 4.6. Endometriyumdan izole edilen eMKH'lerde Kontrol (A) ve Deney/Kondrojenik farklılaştırma (B) gruplarına ait Alcian blue boyamasını gösteren fotomikrograph.....	69
Şekil 4.7. Gruplara ait protein özütlerinin SDS-PAGE Analizi.....	70
Şekil 4.8. nLC-MS/MS analizleri sonucunda proliferatif (A) ve sekretuar (S) evrelere ait gruplardan elde edilen protein ekspresyon profillerinin PCA (Principal Component Analysis) analizi.	71
Şekil 4.9. nLC-MS/MS (ER proteom) analizleri sonucunda proliferatif evreye ait kontrol, ötopik ve ektopik endometriyum gruplarında GRP78, TMEM33, Erp44, RTN3, TMX3 ve TMED2 protein yoğunluklarına ait grafikler.....	73
Şekil 4.10. nLC-MS/MS (ER proteom) analizleri sonucunda sekretuar evreye ait kontrol, ötopik ve ektopik endometriyum gruplarında GRP78, TMEM33, Erp44, RTN3, TMX3, TMED2 ve DDRGK1 protein yoğunluklarına ait grafikler.....	75
Şekil 4.11. Proliferatif ve sekretuar fazlara ait endometriyozis gruplarında (ötopik ve ektopik) upregüle olan proteinlerin ER proteom string analizi.	76
Şekil 4.12. Proliferatif ve sekretuar fazlara ait endometriyozis gruplarında (ötopik ve ektopik) downregüle olan proteinlerin ER proteom string analizi.	76
Şekil 4.13. Proliferatif ve sekretuar fazlara ait ötopik endometriyum grubunda upregüle ve downregüle olan proteinlerin ER proteom string analizi.....	77
Şekil 4.14. Proliferatif (A) ve sekretuar (B) fazlara ait eMKH'lerde GRP78 ekspresyonu.	78
Şekil 4.15. Proliferatif evreye ait Kontrol, Ötopik ve Ektopik endometriyum gruplarında Erp44 ekspresyonu..	79
Şekil 4.16. Proliferatif evreye ait Kontrol, Ötopik ve Ektopik endometriyum gruplarında RTN3 ekspresyonu.	81
Şekil 4.17. Proliferatif evreye ait Kontrol, Ötopik ve Ektopik endometriyum gruplarında TMED2 ekspresyonu.	83

Şekil 4.18. Proliferatif evreye ait Kontrol, Ötopik ve Ektopik endometriyum gruplarında TMEM33 ekspresyonu.	85
Şekil 4.19. Sekretuvar evreye ait Kontrol, Ötopik ve Ektopik endometriyum gruplarında DDRGK1 ekspresyonu.	87
Şekil 4.20. GRP78 protein miktarının gösterilmesi	89
Şekil 4.21. Erp44 protein miktarının gösterilmesi	90
Şekil 4.22. RTN3 protein miktarının gösterilmesi.	91
Şekil 4.23. TMED2 protein miktarının gösterilmesi.	92
Şekil 4.24. DDRGK1 protein miktarının gösterilmesi.	93
Şekil 4.25. Kontrol grubuna ait eMKH’lerde proliferatif evreye ait elektron mikroskopik fotomikrograflar.....	98
Şekil 4.26. Kontrol grubuna ait eMKH’lerde proliferatif evreye ait elektron mikroskopik fotomikrograflar.....	98
Şekil 4.27. Kontrol grubuna ait eMKH’lerde sekretuvar evreye ait elektron mikroskopik fotomikrograflar.....	99
Şekil 4.28. Kontrol grubuna ait eMKH’lerde sekretuvar evreye ait elektron mikroskopik fotomikrograflar.....	99
Şekil 4.29. Kontrol grubuna ait eMKH’lerde sekretuvar evreye ait elektron mikroskopik fotomikrograflar.....	100
Şekil 4.30. Ötopik endometriyum grubuna ait eMKH’lerde proliferatif evreye ait elektron mikroskopik fotomikrograflar	100
Şekil 4.31. Ötopik endometriyum grubuna ait eMKH’lerde proliferatif evreye ait elektron mikroskopik fotomikrograflar	101
Şekil 4.32. Ötopik endometriyum grubuna ait eMKH’lerde proliferatif evreye ait elektron mikroskopik fotomikrograflar	101
Şekil 4.33. Ötopik endometriyum grubuna ait eMKH’lerde sekretuvar evreye ait elektron mikroskopik fotomikrograflar.	102
Şekil 4.34. Ötopik endometriyum grubuna ait eMKH’lerde sekretuvar evreye ait elektron mikroskopik fotomikrograflar	103
Şekil 4.35. Ötopik endometriyum grubuna ait eMKH’lerde sekretuvar evreye ait elektron mikroskopik fotomikrograflar.	104
Şekil 4.36. Ektopik endometriyum grubuna ait eMKH’lerde proliferatif evreye ait elektron mikroskopik fotomikrograflar	104

Şekil 4.37. Ektopik endometriyum grubuna ait eMKH’lerde proliferatif evreye ait elektron mikroskopik fotomikrograflar.	105
Şekil 4.38. Ektopik endometriyum grubuna ait eMKH’lerde sekretuar evreye ait elektron mikroskopik fotomikrograflar	106
Şekil 4.39. Ektopik endometriyum grubuna ait eMKH’lerde sekretuar evreye ait elektron mikroskopik fotomikrograflar	106
Şekil 4.40. Kontrol grubunda proliferatif evreye ait endometriyal doku kesitlerinin H&E fotomikrografları	107
Şekil 4.41. Kontrol grubunda sekretuar evreye ait endometriyal doku kesitlerinin H&E fotomikrografları	108
Şekil 4.42. Ötopik endometriyum grubunda proliferatif evreye ait endometriyal doku kesitlerinin H&E fotomikrografları.	109
Şekil 4.43. Ötopik endometriyum grubunda sekretuar evreye ait endometriyal doku kesitlerinin H&E fotomikrografları	110
Şekil 4.44. Ektopik endometriyum grubuna ait endometriyotik kist kesitlerinin H&E fotomikrografları	111
Şekil 4.45. Proliferatif evreye ait Kontrol, Ötopik ve Ektopik endometriyum gruplarında Erp44 ekspresyonu..	112
Şekil 4.46. Sekretuar evreye ait Kontrol, Ötopik ve Ektopik endometriyum gruplarında Erp44 ekspresyonu..	113
Şekil 4.47. Proliferatif evreye ait Kontrol, Ötopik ve Ektopik endometriyum gruplarında RTN3 ekspresyonu..	114
Şekil 4.48. Sekretuar evreye ait Kontrol, Ötopik ve Ektopik endometriyum gruplarında RTN3 ekspresyonu..	115
Şekil 4.49. Proliferatif evreye ait Kontrol, Ötopik ve Ektopik endometriyum gruplarında TMED2 ekspresyonu..	116
Şekil 4.50. Sekretuar evreye ait Kontrol, Ötopik ve Ektopik endometriyum gruplarında TMED2 ekspresyonu.	117
Şekil 4.51. Proliferatif evreye ait Kontrol, Ötopik ve Ektopik endometriyum gruplarında TMEM33 ekspresyonu.	118
Şekil 4.52. Sekretuar evreye ait Kontrol, Ötopik ve Ektopik endometriyum gruplarında TMEM33 ekspresyonu.	119
Şekil 4.53. Proliferatif evreye ait Kontrol, Ötopik ve Ektopik endometriyum gruplarında DDRGK1 ekspresyonu.	120

Şekil 4.54. Sekretuvar evreye ait Kontrol, Ötopik ve Ektopik endometriyum gruplarında DDRGK1 ekspresyonu.....	120
--	-----



TABLÖLER

Tablo 3-1. Deney Grupları.....	48
Tablo 3-2. nHPLC’de analitik kolona uygulanacak olan mobil fazların gradientleri.....	54
Tablo 3-3. RT-qPCR’da kullanılan genlere ait primer baz dizilimleri	59
Tablo 4-1. Kontrol grubuna ait eMKH’lerin flow sitometri ile karakterizasyonu.....	66
Tablo 4-2. Ötopik endometriyum grubuna ait eMKH’lerin flow sitometri ile karakterizasyonu	67
Tablo 4-3. Ektopik endometriyum grubuna ait eMKH’lerin flow sitometri ile karakterizasyonu	67
Tablo 4-4. nLC-MS/MS analizleri sonucunda proliferatif evreye ait kontrol ve ötopik endometriyum grupları arasında ER proteomu açısından anlamlı derecede artan ve azalan proteinlerin listesi	72
Tablo 4-5. nLC-MS/MS analizleri sonucunda proliferatif evreye ait kontrol ve ektopik endometriyum grupları arasında ER proteomu açısından anlamlı derecede artan ve azalan proteinlerin listesi	72
Tablo 4-6. nLC-MS/MS analizleri sonucunda proliferatif evreye ait ötopik ve ektopik endometriyum grupları arasında ER proteomu açısından anlamlı derecede artan ve azalan proteinlerin listesi	73
Tablo 4-7. nLC-MS/MS analizleri sonucunda sekretuar evreye ait kontrol ve ötopik endometriyum grupları arasında ER proteomu açısından anlamlı derecede artan ve azalan proteinlerin listesi	74
Tablo 4-8. nLC-MS/MS analizleri sonucunda sekretuar evreye ait kontrol ve ektopik endometriyum grupları arasında ER proteomu açısından anlamlı derecede artan ve azalan proteinlerin listesi	74
Tablo 4-9. nLC-MS/MS analizleri sonucunda sekretuar evreye ait ötopik ve ektopik endometriyum grupları arasında ER proteomu açısından anlamlı derecede artan ve azalan proteinlerin listesi	75
Tablo 4-10. Proliferatif (A) ve sekretuar (B) evrelere ait kontrol, ötopik ve ektopik endometriyum gruplarında GRP78 ekspresyon grafiği	78
Tablo 4-11. Proliferatif evreye ait kontrol, ötopik ve ektopik endometriyum gruplarında ERp44 ekspresyon grafiği.....	80
Tablo 4-12. Proliferatif evreye ait kontrol, ötopik ve ektopik endometriyum gruplarında RTN3 ekspresyon grafiği	82

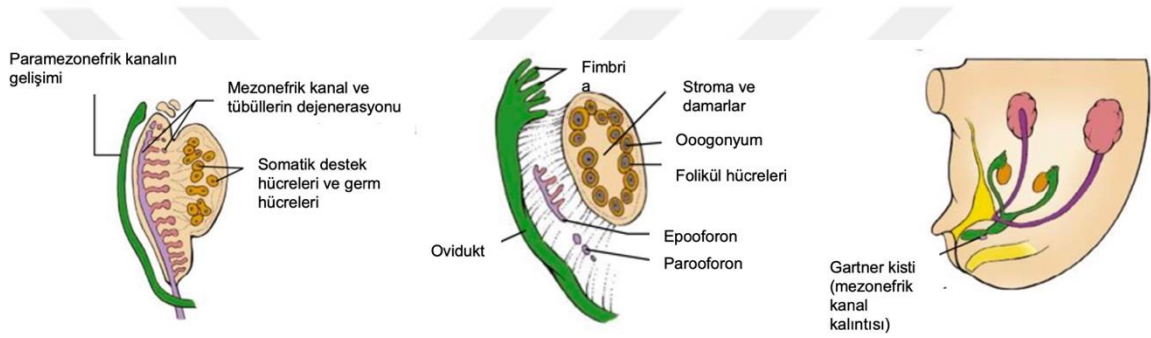
Tablo 4-13. Proliferatif evreye ait kontrol, ötopik ve ektopik endometriyum gruplarında TMED2 ekspresyon grafiği.....	84
Tablo 4-14. Proliferatif evreye ait kontrol, ötopik ve ektopik endometriyum gruplarında TMEM33 ekspresyon grafiği	86
Tablo 4-15. Sekretuar evreye ait kontrol, ötopik ve ektopik endometriyum gruplarında DDRGK1 ekspresyon grafiği.....	88
Tablo 4-16. Kontrol, Ötopik ve Ektopik endometriyum gruplarında proliferatif evreye ait DDRGK1, RTN3, GRP78 ve IRE1a gen ifadelerini gösteren grafik. (Kontrol-P'ye göre karşılaştırma yapılmıştır). *; Kontrol-P ile kıyaslandığında $p<0,05$ seviyesinde anlamlılığı ifade etmektedir.	94
Tablo 4-17. Kontrol, Ötopik ve Ektopik endometriyum gruplarında proliferatif evreye ait TMX3, TMEM33, TMED2, PERK, ATF6 ve ERp44 gen ifadelerini gösteren grafik. (Kontrol-P grubuna göre karşılaştırma yapılmıştır). *; Kontrol-P ile kıyaslandığında $p<0,05$ seviyesinde anlamlılığı ifade etmektedir. +; Ötopik-P ile kıyaslandığında $p<0,05$ seviyesinde anlamlılığı ifade etmektedir.....	95
Tablo 4-18. Kontrol, Ötopik ve Ektopik endometriyum gruplarında sekretuar evreye ait DDRGK1, RTN3, GRP78 ve IRE1a gen ifadelerini gösteren grafik. (Kontrol-S'ye göre karşılaştırma yapılmıştır). *; Kontrol-S ile kıyaslandığında $p<0,05$ seviyesinde anlamlılığı ifade etmektedir.	96
Tablo 4-19. Kontrol, Ötopik ve Ektopik endometriyum gruplarında sekretuar evreye ait TMX3, TMEM33, TMED2, PERK, ATF6 ve ERp44 gen ifadelerini gösteren grafik. (Kontrol-S'ye göre karşılaştırma yapılmıştır). *; Kontrol-S ile kıyaslandığında $p<0,05$ seviyesinde anlamlılığı ifade etmektedir. +; Ötopik-S ile kıyaslandığında $p<0,05$ seviyesinde anlamlılığı ifade etmektedir.....	97

1. GİRİŞ

1.1. Uterus

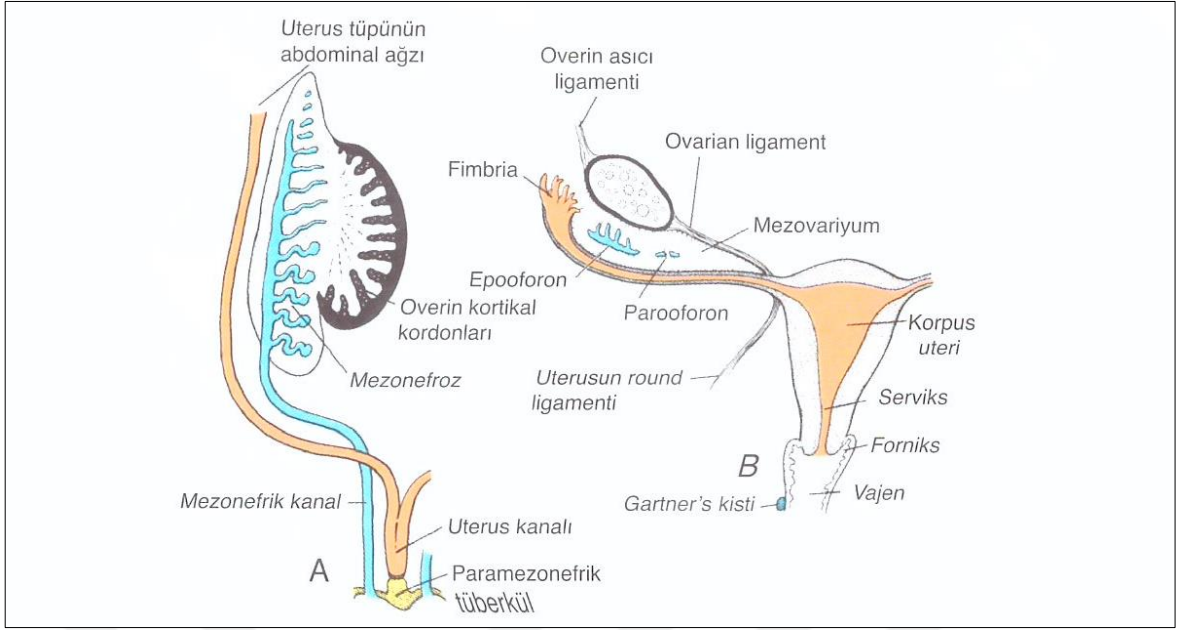
1.1.1. Uterusun Embriyolojisi

Embriyonel dönemde, dişi genital sistemin gelişimi incelendiğinde, **mezonefrik kanalların** (Wolffian kanalı) birkaç kalıntı dışında gerilediği; **paramezonefrik kanalların** (Mülleryan kanal) ise ana genital kanalları oluşturduğu görülmektedir. Gonadlar ise, abdominal duvarı döşeyen **mezotel**, altında yer alan **mezenşim** ve **primordiyal germ hücrelerinden** köken almaktadır (Moore ve Dalley, 1999).



Şekil 1.1. 7. haftada dişi genital sistemin gelişimi. Schoenwolf ve ark. (2009)'dan alınmıştır.

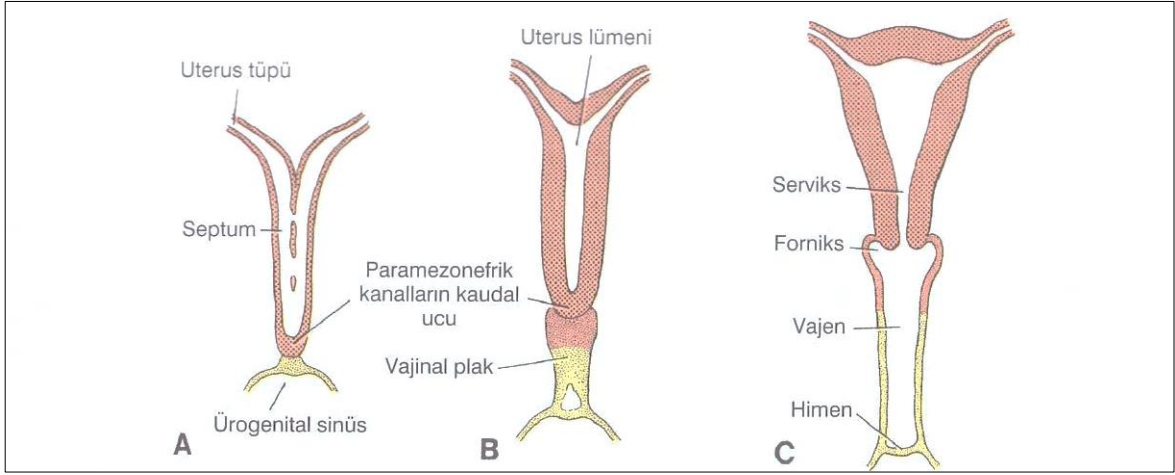
Paramezonefrik kanallar, gonadların ve mezonefrik kanalların lateralinde gelişirler ve mezotelin longitudinal invajinasyonlarından oluşurlar. Daha sonra invajinasyonların kenarları birbirleriyle kaynaşır ve paramezonefrik kanallar meydana gelirler (Moore ve Dalley, 1999). Bu paramezonefrik kanalların üç belirgin bölümü bulunmaktadır: a. periton boşluğuna açılan **kraniyal vertikal kısım**, b. mezonefrik kanalları çaprazlayan **horizontal kısım** ve c. karşı taraftan gelen eşyle birleşen **kaudal vertikal kısım** (Langman ve ark., 2009).



Şekil 1.2.A. İkinci ayın sonunda dişi genital kanalın şematik görünümü. **B.** Genital kanalların overlerin inişinden sonraki hali. Mezonefrik sistem birkaç kalıntı dışında gerilemiş ve paramezonefrik kanallar dişi genital sistemi meydana getirmiştir Langman ve ark., (2009)'dan alınmıştır.

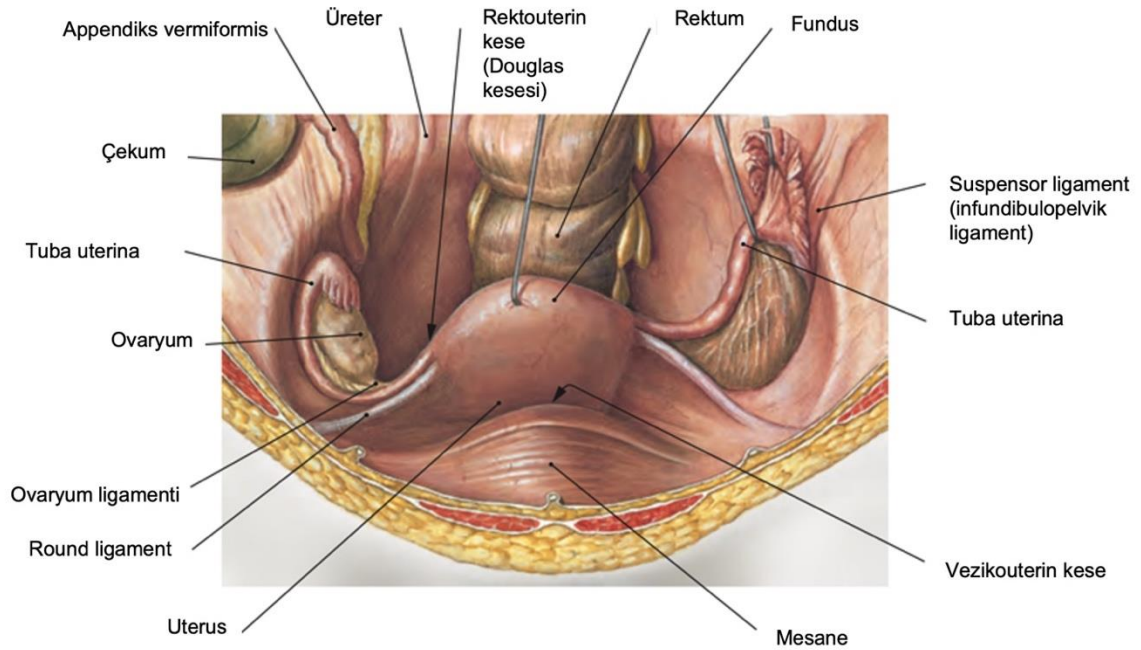
Overlerin aşağıya inişiyle birlikte, paramezonefrik kanalların kranial ve horizontal kısımlarından (birleşmemiş) tuba uterina'lar; kaudal kısımlarından (birleşmiş) ise uterovajinal primordiyum oluşmaktadır. Bu yapı, adından da anlaşılacağı gibi, uterus ve vajina'yı (vajinanın superior kısmı) meydana getirmektedir (Langman ve ark., 2009).

Endometriyumun stroması ile **miyometriyum** tabakaları ise komşu splanknik mezodermden gelişen yapılardır (Moore ve Dalley, 1999).



Şekil 1.3. Uterus ve vajenin oluşumu. A. 9. Hafta. Uterus septumu kaybolmaktadır. B. 3. ayın sonu. Sinovajinal bulbuslara ait doku. C. Yenidoğan. Vajenin üst parçası ve forniksler parametonefrik dokunun, alt kısım ise sinovajinal bulbusların vakuolizasyonu ile oluşur. Langman ve ark., (2009)'dan alınmıştır.

Parametonefrik kanalların birleşmesiyle eş zamanlı olarak, iki peritoneal katlantının birleşmesiyle **ligamentum latum uteri** (broad ligament) ve peritoneal kompartmanlar olan **rektouterin ve vezikouterin çukurların** oluşumu gerçekleşir. Uterus uzunluğu boyunca mezenşimal doku ligamentum latum uteri arasında prolifer ve diferansiye olarak düz kas ve gevşek bağ dokusundan oluşan **parametriyum** meydana getirmektedir (Moore ve Dalley, 1999).



Şekil 1.4. Uterus, ovaryum ve uterin tüpler. Anterior görünüm. Hombach-Klonisch ve ark., (2019)'dan alınmıştır.

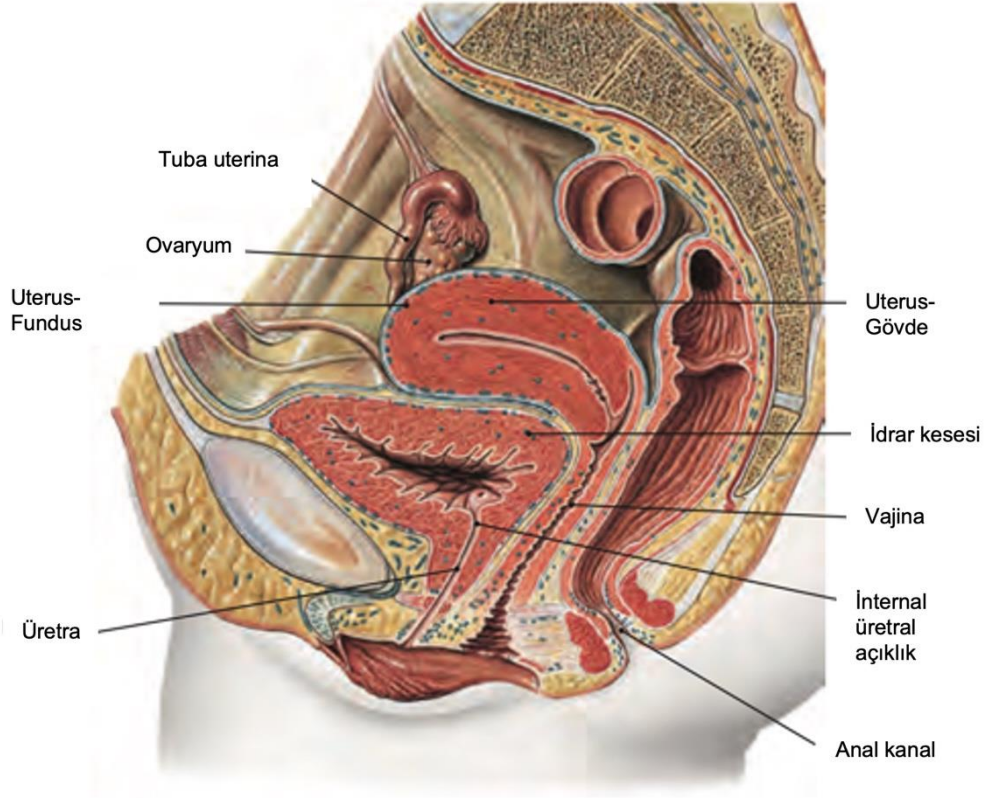
1.1.2. Uterusun Anatomisi

Uterus, pelviste mesane ile rektum arasında yer alan, kalın kas duvarları olan, içi boş, armut biçimli bir organdır. Nullipar bir yetişkinde, 30-40 gr ağırlığında, 8 cm uzunluğunda, 5 cm genişliğinde ve 2,5 cm kalınlığındadır. Uterus, superiorda tuba uterinalarla, inferiorda ise vajina ile devam eder (Snell, 2013).

Uterus, anatomik olarak gövde ve serviks olmak üzere iki bölüme ayrılır: **Gövde**, uterusun büyük üst kısmıdır. Anteriyor yüzeyi neredeyse düzken, posteriyor yüzeyi konvektir. Uterusun gövdesi, anteriyorda uterovezikal kese ve mesanenin üst yüzeyi ile; posteriyorda rektouterin keseyle (Douglas kesesi); lateralde ise broad ligament, uterin arter ve ven ile ilişkilidir. Uterus, anteriyor kısım dışında, periton ile kaplıdır. Gövdenin tuba uterina bağlantısının üstünde genişleyen yuvarlak parçası fundus adını almaktadır. **Serviks**, uterusun altta yer alan silindir şeklindeki kısmıdır ve uterusun gövdesinden istmus tabakası ile ayrılmaktadır. Servikal kanalın uterin kaviteye açılan ucunda internal os; vajinaya açılan ucunda ise eksternal os adı verilen dar açıklıklar bulunmaktadır (Ross ve Pawlina, 2011).

1.1.2.1. Uterusun Pozisyonu

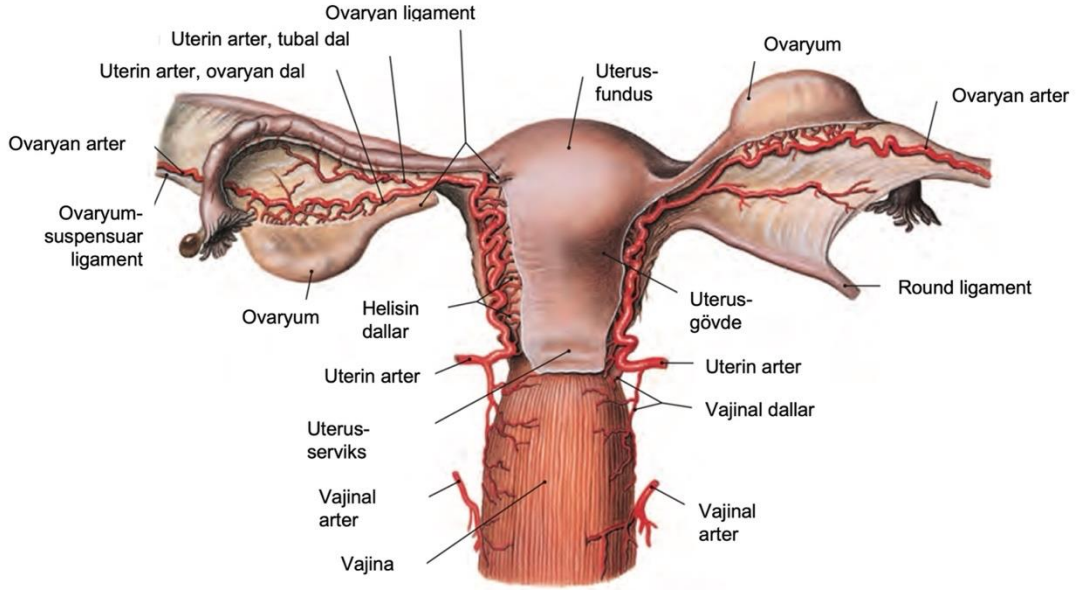
Çoğu kadında, uterusun uzun eksen, vajinanın uzun eksen üzerinde öne doğru bükülür. Bu pozisyon uterus anteversiyonu olarak adlandırılmaktadır. Ayrıca uterus gövdesinin uzun eksen, serviksin uzun eksen ile internal os seviyesinde öne doğru bükülür. Bu pozisyona uterusun antefleksiyonu denir. Böylece, dik pozisyonda ve mesane boşken, uterus neredeyse yatay bir düzlemde uzanır (Snell, 2013).



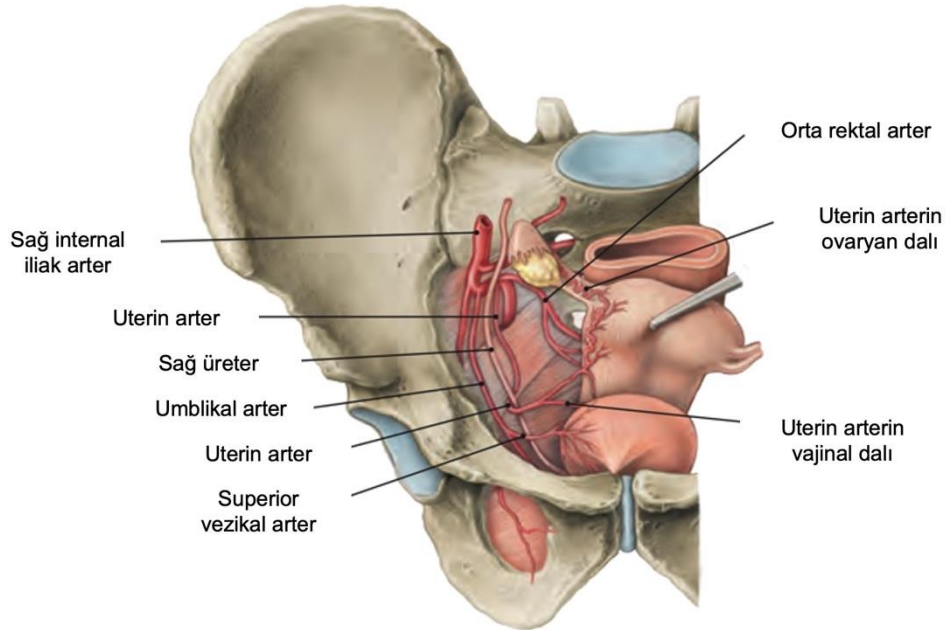
Şekil 1.5. Dişi pelvis, median kesit; uterus idrar kesesinin üstünde yer almaktadır. Fundus ve gövde periton ile kaplıdır. Hombach-Klonisch ve ark., (2019)’dan alınmıştır.

1.1.2.2. Uterusun Kan Damarları, Lenf Damarları, Sinirleri ve Destekleri

Uterusun arteriyel beslenmesi esas olarak internal iliak arterin bir dalı olan uterin arterden sağlanır. Bu arter, broad ligamentin tabanında medial olarak ilerleyerek uterusu ulaşır. Üreterin üzerinden dik açıyla geçer ve internal os seviyesinde servikse ulaşır. Arter daha sonra broad ligamentle birlikte uterusun lateral kenarı boyunca yükselir ve uterusu beslemeye yardımcı olan ovaryan arter ile anastomoz yaparak sona erer. Uterus arteri, serviks ve vajinayı besleyen küçük bir inen dal verir (Snell, 2013).

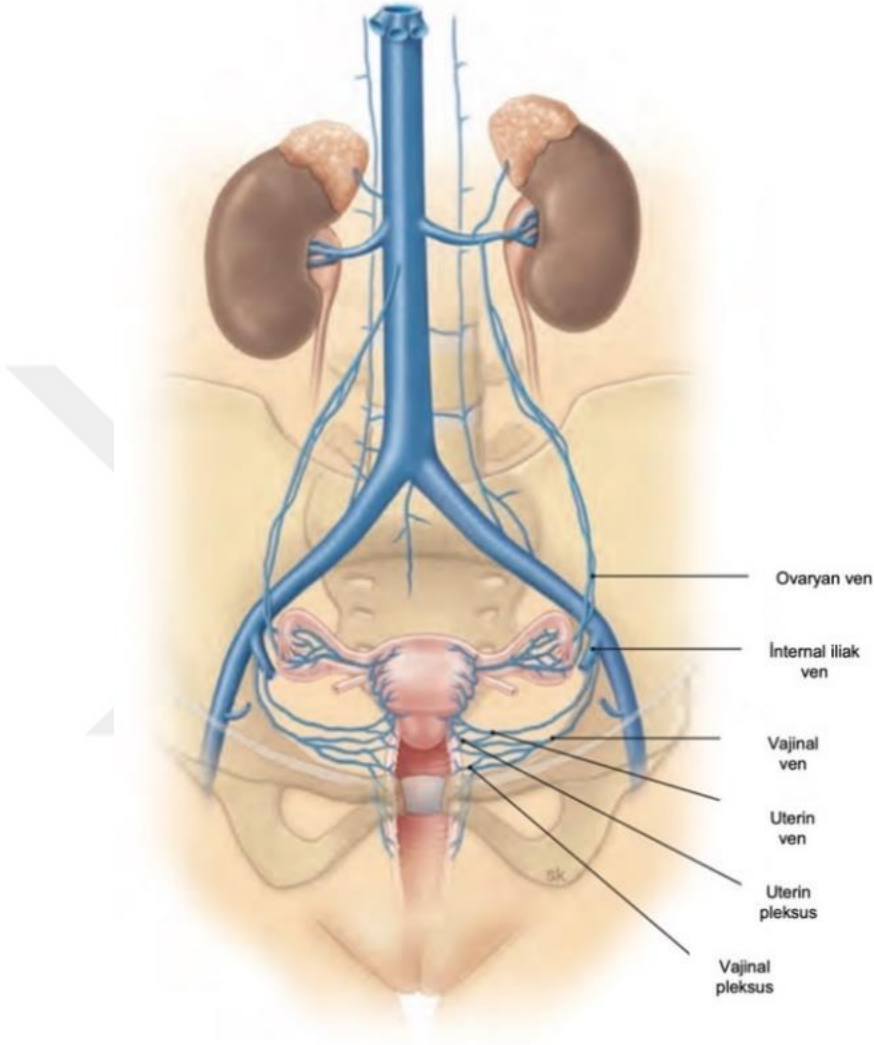


Şekil 1.6. Dişi iç genital organların arterleri. Hombach-Klonisch ve ark., (2019)'dan alınmıştır.



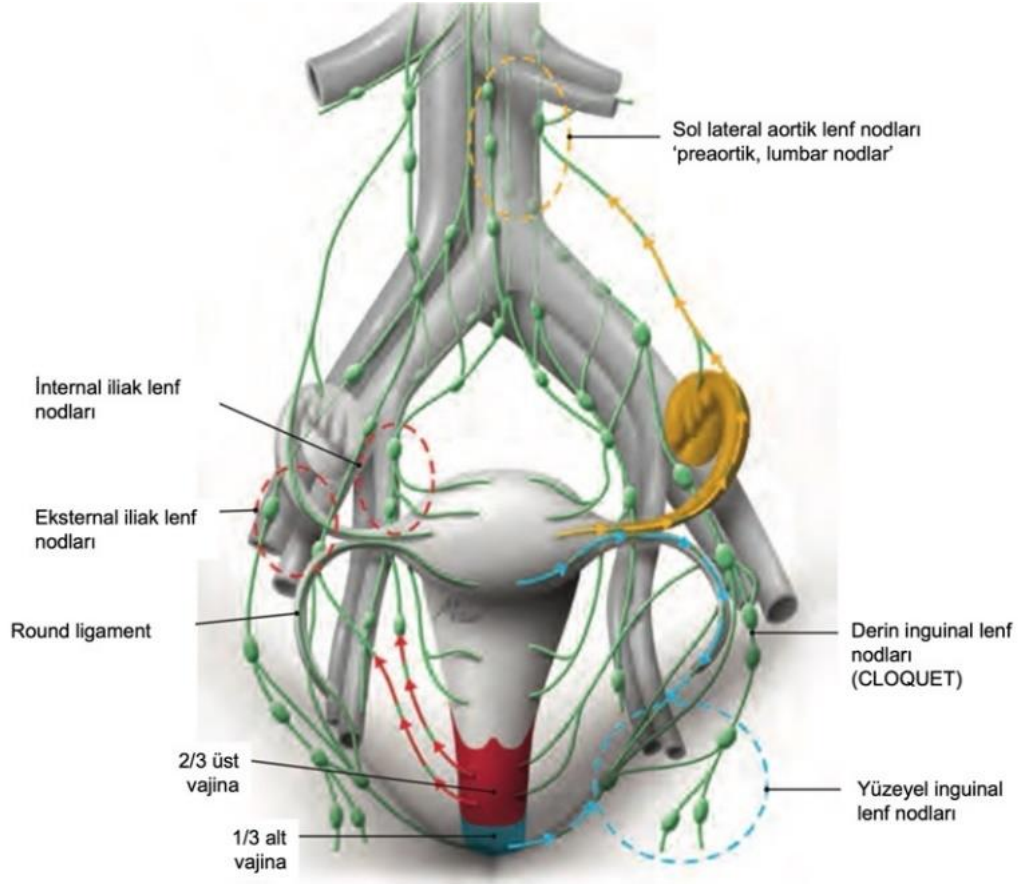
Şekil 1.7. Uterin arterler (sağ taraftan, anterior görüntü). Uterin arter direkt olarak umbilikal arterden veya internal iliak arterin anterior bölünmesiyle oluşur. Broad ligamenti takip ederek gövde-serviks geçişinde uterusu ulaşır. Fundusa doğru çıkarak tubal ve ovaryan dallanma gerçekleştirir. Hombach-Klonisch ve ark., (2019)'dan alınmıştır.

Uterin ven, uterin arteri takip eder ve internal iliak vene drene olur.



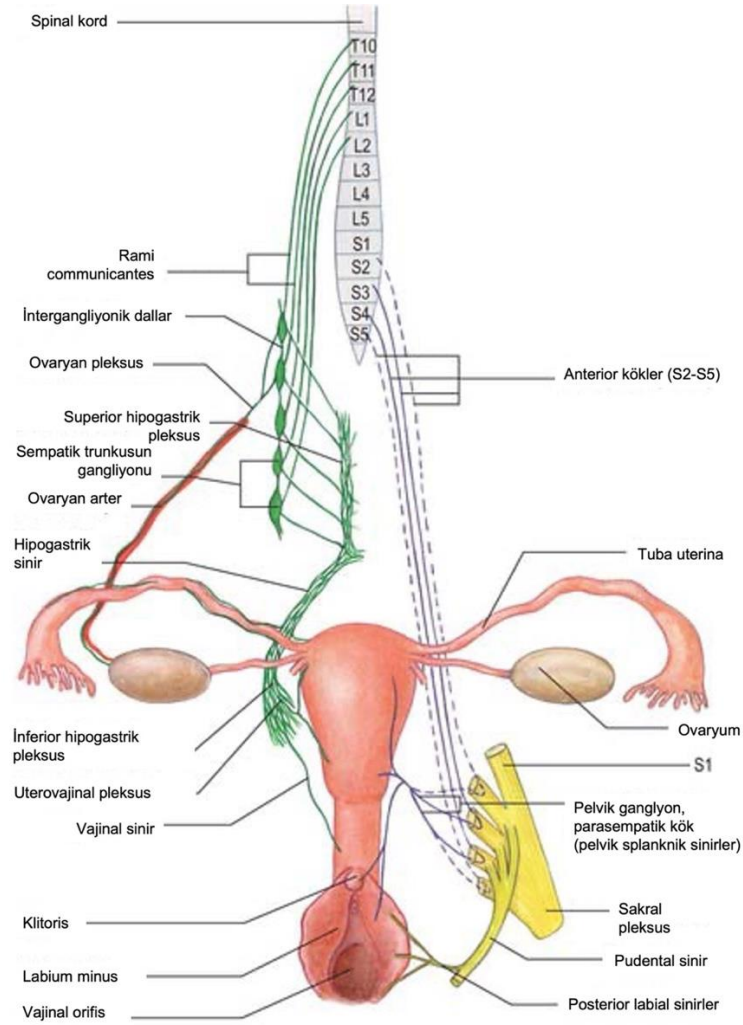
Şekil 1.8. Dişi iç genital organların venleri, şematik çizim. Hombach-Klonisch ve ark., (2019)'dan alınmıştır.

Uterusun fundusundan gelen lenf damarları ovaryan artere eşlik eder ve birinci lomber vertebra seviyesinde para-aortik düğümlere drene olur. Vücuttan ve serviksten gelen damarlar, iç ve dış iliak lenf düğümlerine drene olur. Birkaç lenf damarı, round ligamenti inguinal kanal boyunca takip eder ve yüzeysel inguinal lenf düğümlerine drene olur (Snell, 2013).



Şekil 1.9. Dişi genital sistemin lenf drenajı; anterior görünüm. Hombach-Klonisch ve ark., (2019)'dan alınmıştır. Pelvik (İç iliak; sakral) lenf nodları: vajina üst 2/3 vajina; fundusun bir kısmı, gövde ve serviks. Lumbur (preaortik) lenf nodları: ovaryum, tuba uterina, fundusun bir kısmı. Superfizyal inguinal lenf nodları: vajina alt 1/3, Fundus ve gövde (round ligament aracılığıyla), superfizyal ve derin inguinal nodlar, eksternal iliak nodlara drene olur. Eksternal ve internal inguinal nodlar lateral aortik nodlara drene olur.

Alt hipogastrik pleksusların dallarından sempatik ve parasempatik sinirler tarafından sinir desteği sağlanır.



Şekil 1.10. Dişi üreme sisteminin innervasyonu. (<https://clinicalgate.com/female-reproductive-system/>).

Uterus esas olarak levatores ani kaslarının tonusu ve pelvik fasyanın kondensasyonu tarafından desteklenir (Snell, 2013).

1.1.3. Uterusun Histolojisi

Uterusun duvarı histolojik olarak üç tabakadan oluşmaktadır. Bu tabakalar lümeninden dışa doğru şu şekildedir:

Endometriyum, uterusun mukozasıdır. Üreme çağındaki kadınlarda endometriyum tabakası kendisini embriyo implantasyonu ve fetal gelişim olaylarına hazırlamak üzere her ay siklik değişimlere uğrar. Siklus sırasında endometriyumun salgı aktivitesindeki değişimlerle eş zamanlı olarak ovaryan foliküller de olgunlaşma gösterirler. Her siklusun sonunda, fertilizasyon ve implantasyon gerçekleşmemişse, mukozal damarlar kanar ve endometriyumun bir kısmı yıkılarak dökülür. Kanın ve dokunun vajinadan genellikle 3-5 gün süren boşaltılması menstruasyon ya da menstrual kanama olarak adlandırılmaktadır. Menstrual siklus, menstrual kanamanın başladığı gün başlar.

Endometriyum tabakası yapısal ve fonksiyonel olarak farklı iki kısımdan oluşur:

Stratum fonksiyonale (fonksiyonel tabaka), endometriyal kaviteye yakın olan kalın parçadır ve menstruasyonla dökülür.

Stratum basale (bazal tabaka), fonksiyonel tabakanın altında yer alan ve yeniden oluşumu için gerekli kök hücreleri içeren; menstruasyon esnasında korunan alttaki tabakadır

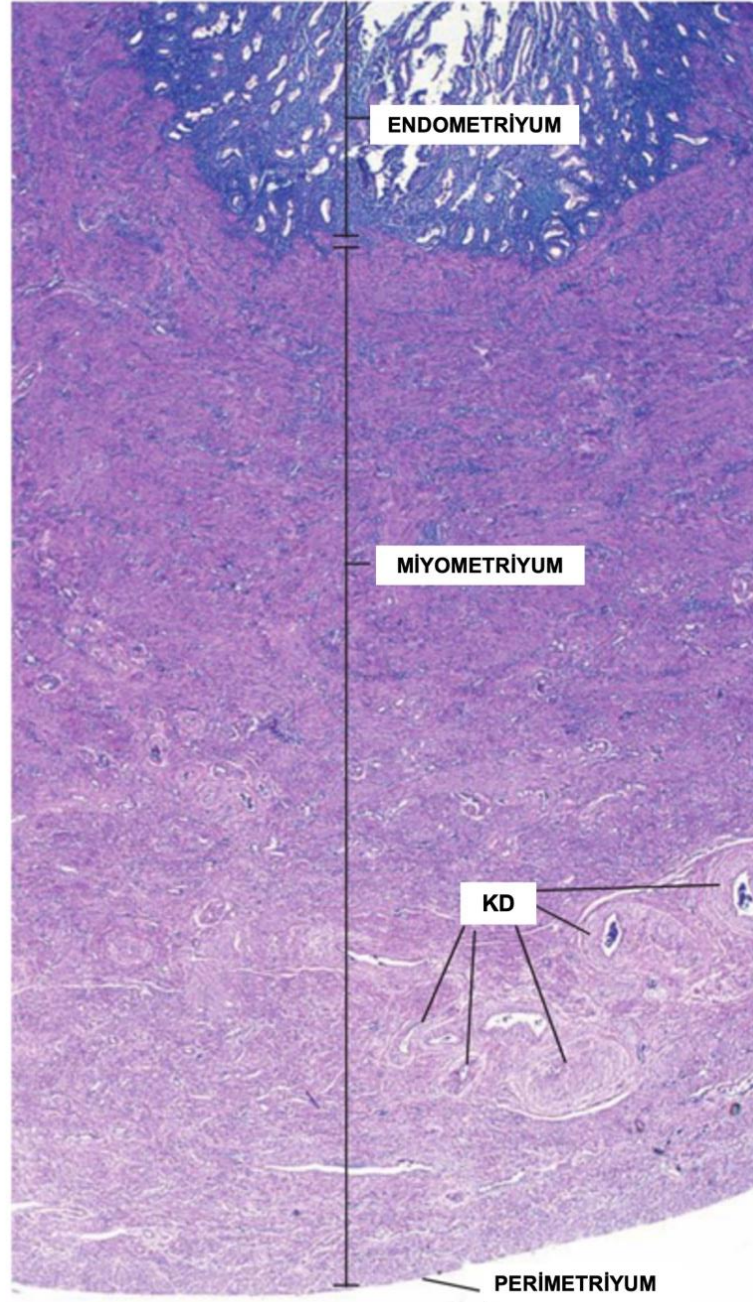
Endometriyum tabakası histolojik olarak değerlendirildiğinde; salgı ve silyumlu hücreleri içeren tek katlı prizmatik epitel ile altında yer alan stromal tabakadan (lamina propria) oluştuğu görülmektedir ve bu iki tabakanın total kalınlığı siklus boyunca 1-6 mm arasında değişmektedir. Epitel hücreleri endometriyal stromaya doğru invajine olarak uterin bezleri oluşturur ve böylece oluşan basit tübüler yapıdaki bu bezler, endometriyumun derin kısımlarına doğru dallanırlar. Endometriyal stroma yüksek düzeyde hücre ve hücreler arası madde içermektedir. Endometriyum ve miyometriyum tabakaları arasında submukoza tabakası bulunmamaktadır.

Endometriyum eşsiz bir kan damarı ağına sahiptir. Uterin arterden, miyometriyumda anastomoz yapan 6-10 arkuat arter çıkar. Arkuat arterlerin dalları olan radial arterler, endometriyumun bazalis tabakasına girerek ve burada küçük düz arterleri oluştururlar. Radial arterin ana kolu ise yukarı doğru devam ederek yüksek seviyede sarmal hale gelir ve spiral arter olarak adlandırılır. Spiral arterden çıkan çok sayıda arteriyoller anastomozlaşarak kapiller ağı desteklerler. Kapiller yatak, laküna adı verilen ince duvarlı dilate segmentler içermektedir. Endometriyumu drene eden venöz sistemde de laküna bulunabilmektedir. Menstrual siklus sırasında düz arterler ve spiral arterlerin proksimal parçaları değişime uğramaz. Östrojenlerin ve progesteronun etkisi altında spiral arterlerin distal parçaları her menstrual siklusa dejenerasyona ve rejenerasyona uğrar.

Miyometriyum, kalın kas tabakasıdır ve uterus duvarının en kalın tabakasıdır. Tuba uterina'nın ve vajinanın kas tabakası ile devamlılık gösterir. Düz kas lifleri uterusu bağlı

ligamentlere de uzanmaktadır. Bu düz kas lifleri birbirinden ayırt edilemeyen 3 tabakadan oluşmaktadır. Ortada yer alan kas tabakası çok sayıda venöz pleksuslar (büyük kan damarları) ve lenfatik damarlar içermektedir ve bu nedenle stratum vaskulare adını almaktadır. En kalın tabakadır ve sirküler ya da spiral örüntü ile hizalanmış iç içe geçen düz kas demetlerine sahiptir. İç ve dış tabakalarda bulunan düz kas demetleri uterusun uzun eksenine paralel şekilde oryante olmuşlardır. Uterusun kontraksiyon sırasında miyometriyumun her üç tabakası fonksiyonel bir sinsityum gibi birlikte çalışır ve lümen içeriğini dar ağza doğru atar.

Perimetrium, en dışta yer alan seröz tabakadır. Abdominal ve pelvik periton ile devam eder. Mezotelyumdan ve ince bir gevşek bağ dokusu tabakasından meydana gelmektedir. Mezotelyumun altında bir elastik doku tabakası belirgindir. Perimetrium anterior yüzeyin bir kısmını kaplarken posterior yüzeyin tamamını kaplar. Anterior yüzeyin kalan kısmı bağ dokusu ya da adventisya ile kaplıdır.



Şekil 1.11. İnsan uterusunun sagital kesitinin fotomikrografı. KD: kan damarı. Ross ve Pawlina (2011)’den alınmıştır.

1.1.3.1. Uterusun Histofizyolojisi

İnsan endometriyumu, bir kadının üreme yaşamı boyunca yaklaşık 400 kez proliferasyon, farklılaşma, bozulma, dökülme ve onarım döngüleri geçiren dikkate değer bir dokudur (Cervello ve ark., 2010; Gargett, 2007). Endometriyumun büyümesi ve farklılaşması, menstrual siklusun proliferatif ve sekretuar fazları sırasında sırasıyla ovaryan steroidleri olan östrojen ve progesteron hormonları tarafından sıkı bir şekilde düzenlenir (Cervello ve

ark., 2010). Gebelik oluşmadığında, endometriyumun üst fonksiyonel tabakası parçalanır ve vajinadan akmadan önce menstruasyon sırasında uterus boşluğuna dökülür.

Endometriyal onarım, endometriyal dökülme ile eşzamanlı olarak gerçekleşirken, dolaşımdaki östrojen seviyeleri düşüktür ve epitel hücrelerinde östrojen reseptörü-alfa (ER- α) yoktur (Jabbour ve ark., 2006). Endometriyumun yeniden epitelizasyonu ve onarımı, dökülme başlangıcından itibaren 48 saat içinde tamamlanan hızlı ve skarsız işlemdir (Brenner ve Slayden, 2012). Yeni luminal epitel hücreleri, kalan bezlerin epitel hücrelerinden ortaya çıkar ve göç eder (Slayden ve Brenner, 2006; Fleischer, 1999). Buna ek olarak, stromal hücreler mezenkimalden epitelyal geçişe uğrar ve yüzey epitelinin oluşumuna katkıda bulunur (Brenner ve Slayden, 2012; Fleischer, 1999; Gargett, 2006; Tresserra ve ark., 1999). Yeniden epitelizasyondan sonra, endometriyum postmenstruasyon evresinde 2 mm kalınlığında iken, erken proliferatif fazda 7 mm (Gimpelson, 2014; Muller ve ark., 2015) ve sekretuar fazda 10 mm kalınlığa ulaşır (Prianishnikov, 1978; Chan ve ark., 2004). Yeni fonksiyonals tabakası, tekrarlayan rejenerasyonu desteklemek için gerekli progenitor hücreleri içeren altındaki bazal tabakadan kökenlenir (Tempest ve ark., 2018).

Proliferatif fazda artan östrojen konsantrasyonu, glandular epitelyal hücre proliferasyonunu tetikler ve eşzamanlı olarak genişleyen dokuya artan angiogenezle birlikte glandular dokuyu desteklemek üzere oksijen (Valentijn ve ark., 2013) ve stromal büyüme sağlar. Sekretuar fazda ise progesteron, fonksiyonals tabakasındaki stromal hücrelerin desidualizasyonunu tetikler ve blastosist implantasyonuna hazırlanmak için farklılaşan glandular epitelyal hücrelerin salgı moleküllerini üretmesini teşvik eder (Fayazi ve ark., 2016). Blastosistin yokluğunda, dolaşımdaki progesteron seviyesi düşer ve bu süreç endometriyal hücre apoptozu ve menstruasyonla sonuçlanır.

1.1.3.1.1. Menstrual siklus sırasındaki siklik değişimler

Menstrual siklus, endometriyumun stratum fonksiyonalesindeki gelişimsel evrelerin arka arkaya devam etmesiyle meydana gelen süreçtir. Hipofiz bezinin Pars distalis'inden salgılanan gonadotropinler, ovaryumun steroid hormon salgılarını düzenleyerek fonksiyonel tabakadaki siklus boyunca meydana gelen gelişimsel evreleri kontrol etmektedirler. 28 gün süren menstrual siklus üç ardışık fazdan oluşmaktadır:

Proliferasyon fazı, foliküler maturasyon ile aynı anda gerçekleşir ve ovaryan östrojen salgılanmasından etkilenir. Menstrual fazın sonunda endometriyum yaklaşık 1 mm kalınlığında ince bağ dokusundan meydana gelir ve bu bağ dokusu uterus bezlerinin bazal kısımları ile spiral arterlerin alt kısımlarını içerir. Bu tabaka stratum bazealdir. Dökülmüş

olan tabaka ise stratum fonksiyonaledir. Östrojenlerin etkisi altında, prolifasyon fazı başlar. Stratum bazaledeki stromal, endotelial ve epitelyal hücreler hızla prolifer olurlar ve şu değişimler meydana gelir: Bezlerin bazal bölgesindeki epitelyal hücreler bezleri yeniden yapılandırılır ve dökülmüş olan endometriyal yüzeye göç ederek orayı kaplarlar. Stromal hücreler çoğalır ve kollajen ile ekstraselüler matriksi salgılarlar. Endometriyum yeniden oluşurken spiral arterler uzar. Bu arterler hafifçe sarmallaşır ve endometriyumun üst üçte birlik kısmına uzanmazlar.

Prolifasyon fazı, ovulasyondan bir gün sonrasına kadar devam eder. Ovulasyon 28 günlük siklusun yaklaşık 14. gününde gerçekleşir. Prolifasyon fazının sonunda endometriyum yaklaşık 3 mm kalınlığa ulaşmıştır. Bezler dar lümenle sahiptirler ve nispeten düz olsalar da hafif dalgalı görünümündedirler. Epitelyal hücrelerin bazal kısımlarında glikojen birikimleri bulunur.

Sekretuar faz, korpus luteumun fonksiyonel aktivitesiyle aynı zamana denk gelir ve primer olarak progesteron salgısından etkilenir. Ovulasyondan bir ya da iki gün sonra progesteron hormonunun etkisi altında stratum fonksiyonale’de belirgin değişimler meydana gelmeye başlar. Endometriyum ödematöz hale gelir ve yaklaşık 5-6 mm kalınlığa ulaşır. Bezler büyüyerek tırbüşon şeklini alır, lümenleri salgı ürünleri ile dolduğu için kesecikli bir görünüm alır. Mukoid yapıdaki bu salgı ürünleri başta glikojen olmak üzere besin bakımından oldukça zengindir ve implantasyonun gerçekleşmesi halinde gelişimi desteklemek üzere önem arz etmektedir. Mitotik aktivite artık nadirdir. Bu aşamada görülen büyüme, epitelyal hücrelerin hipertrofisi, vasküleritenin artması ve endometriyumun ödeminin sonucudur. Bununla birlikte spiral arterler uzar ve daha fazla sarmal hale gelirler. Hemen hemen endometriyumun yüzeyine kadar uzanırlar.

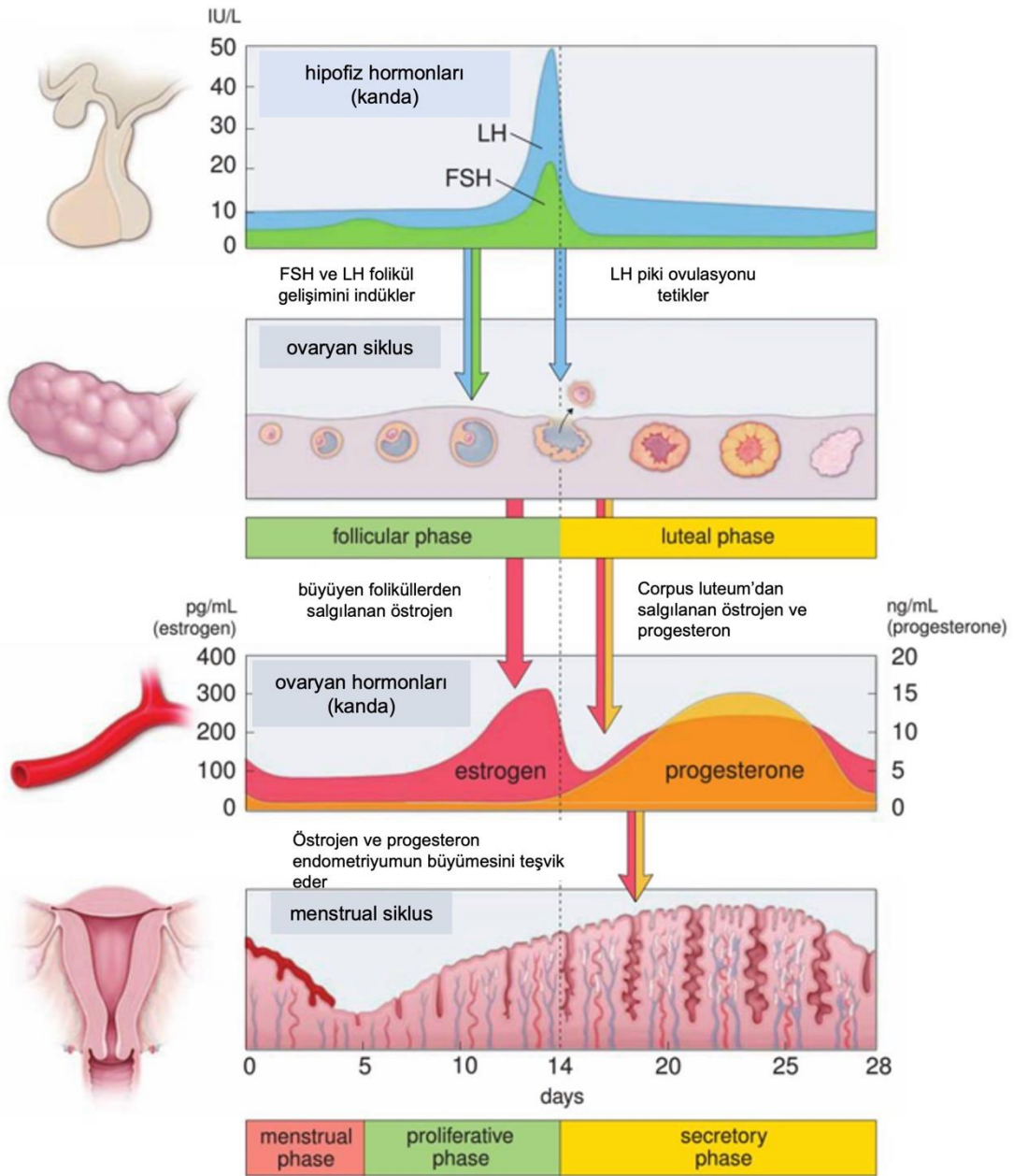
Östrojenlerin ve progesteronun ardışık etkileri ile stromal hücrelerin desidual hücrelere dönüşümü mümkün hale gelir. Dönüşüm için gereken stimülasyon, blastokistin implantasyonudur. Bu dönüşümün sonucunda büyük, soluk ve glikojen bakımından zengin hücreler ortaya çıkar. Bu hücrelerin kesin fonksiyonları bilinmemekle birlikte, embriyonun beslenmesi için gerekli ortamı sağladıkları gebeliğin sonlanması sırasında plasentanın uterusun duvarından ayrılmasını kolaylaştıran özelleşmiş bir tabaka oluşturdukları düşünülmektedir.

Menstrual faz, korpus luteumun dejenerasyonu nedeniyle ovaryumun hormon üretiminin azalmasıyla başlar. Fertilizasyonun gerçekleşmemesi sonucu korpus luteum yaklaşık 10 gün daha aktif olarak hormon üretir. Sonrasında hormon düzeylerinin ani düşüşüyle fonksiyonel tabakaya kan desteğinde değişimler meydana gelir. İlk olarak spiral

arterlerin duvarları birkaç saat boyunca periyodik olarak kasılır ve fonksiyonel tabaka iskemik hale gelir. Bezlerin salgılaması durur ve stromadaki ödemin azalması ile endometriyum yükseklik olarak büzüşür. Yaklaşık iki gün sonra uzun süreli arteriyal kontraksiyon ve kısa süreli kan akımı nedeniyle yüzey epitelinde bozulma ve kan damarlarında rüptür meydana gelir. Spiral arterler kapandığında kan stratum fonksiyonaleye değil stratum bazaleye akar. Kan, uterin sıvı ve stratum fonksiyonaleden dökülen stromal ve epitelyal hücreler vajinal akıntıyı oluşturur. Endometriyumdan doku yamalar halinde ayrıldıkça venlerin, arterlerin ve bezlerin kopmuş uçları ortaya çıkar. Bu deskuamasyon, sadece stratum bazale kalana kadar devam eder. Menstrual kanama periyodunda kanın pıhtılaşması inhibe edilir. Arteriyal kan akımı spiral arterlerin duvarlarının gevşediği kısa periyotlar dışında sınırlandırılmıştır. Venlerin açık uçlarından devamlı olarak kan sızar. Menstrual kanama periyodu normalde yaklaşık 5 gün sürer. Menstrual fazda ortalama 35-50 ml kan kaybedilir. Düz arterlerden sağlanan kan akımı bazal tabakayı korur.

Ovulasyon olmadığında korpus luteum oluşmaz ve progesteron üretilmez. Progesteron yokluğunda endometriyum sekretuar faza geçemez ve menstruasyona kadar proliferasyon fazında kalır. İnfertilite olgularında endometriyum biyopsisi ovaryum ve endometriyumla ilgili bozuklukların tanımlanmasında kullanılabilir.

Bütün bu fazlar devamlı bir sürecin parçasıdır ve birinden diğerine ani geçişler olmaz (Ross ve Pawlina, 2011).

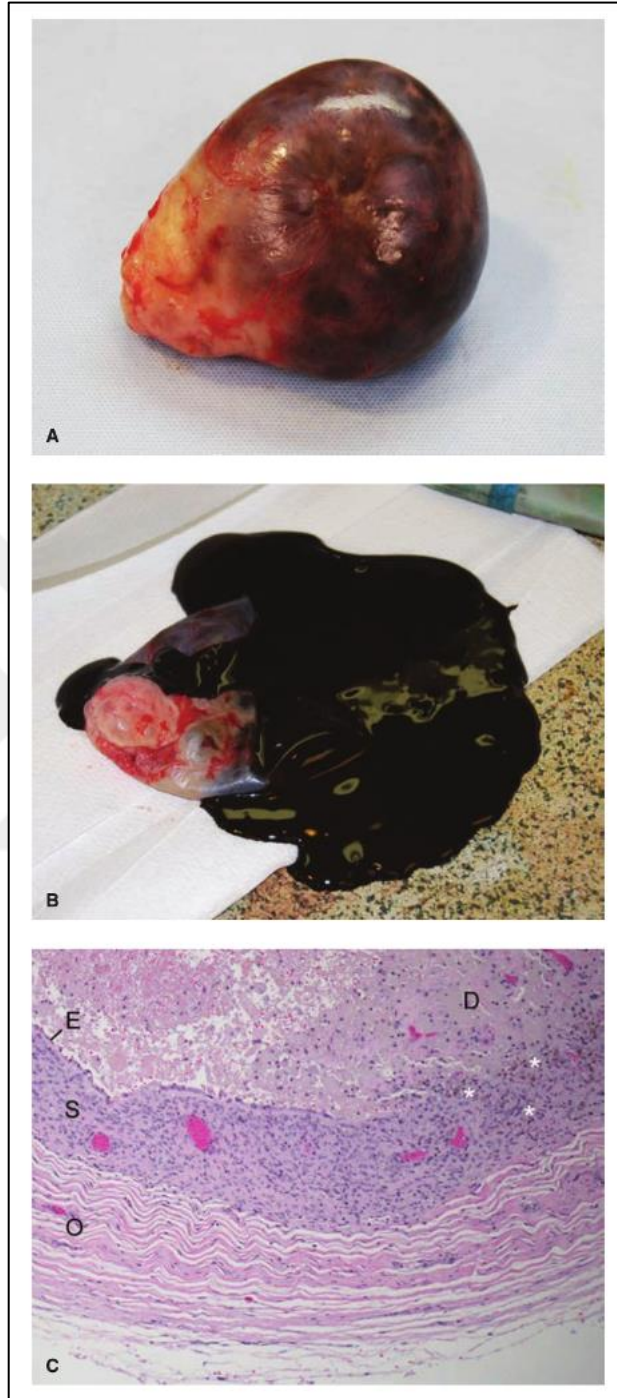


Şekil 1.12. Menstrual siklus esnasında morfolojik ve fizyolojik olaylar arasındaki ilişki., Ross ve Pawlina (2011)’dan alınmıştır.

1.2. Endometriyozis

Endometriyozis, sıklıkla uterus dışında, reaktif fibrozis ile birlikte disfonksiyonel endometriyal-benzeri bezlerin ve stromanın varlığı ve büyümesini içeren, yaygın, inflamatuvar, iyi huylu (benign), jinekolojik bir hastalıktır (Clement, 2007). Milyonlarca kadını etkileyen bu hastalık, infertilite ve pelvik ağrının en önemli nedenidir (Lessey ve Kim, 2017) ve üreme çağındaki kadınların yaklaşık %10’unda, infertil kadınların ise %20-50’sinde görülmektedir. Endometriyotik lezyonlar daha çok pelvik peritonda ve ovaryumda

görölmekle birlikte nadiren de olsa perikardiyum, plevra, akciğer parankiması ve beyinde de tespit edilmiştir (Hufnagel ve ark., 2015).



Şekil 1.13. Endometriyoma. A, endometriyoma içeren ovaryumun cerrahi örneği. B, koyu, çikolata-benzeri sıvı kisti doldurmaktadır. C, ovaryan endometriyomanın histolojik görüntüsü. E: Endometriyal-tip epitel; S: Stroma; O: Ovaryan stroma; Yıldız: Hemosiderin; D: Hücre debris. (Hoffman ve ark., 2016)’dan alınmıştır.

1.2.1. Sıklık

Endometriyozis sıklığının belirlenmesi zordur, çünkü kadınların çoğu sıklıkla asemptomatiktir ve görüntüleme yöntemlerinin tanıdaki duyarlılıkları düşüktür. Primer tanı yöntemi histolojik tanı için yapılan biyopsili veya biyopsisiz laparoskopidir (Kennedy ve ark., 2005; Marchino ve ark., 2005b). Prevalansı infertil kadınlarda yüzde %20–50, pelvik ağrısı olanlarda ise, %40–50 olarak bildirilmiştir (Balasch ve ark., 1996; Eskenazi ve ark., 2001; Meuleman, 2009).

1.2.2. Endometriyozisin Sınıflandırılması ve Lokalizasyonu

1.2.2.1. Sınıflama Sistemi

Endometriyozisin primer tanı yöntemi histolojik tanı için biyopsi yapılsa da yapılmassa da, laparoskopik olarak lezyonun görülmesidir. Endometriyozis kişiler arasında farklılık gösterdiği için yayılımın objektif sınıflandırılması için çalışmalar yapılmaktadır. Tekrarlayan revizyonlardan sonra Amerikan Üreme Tıbbı Derneği (ASRM), 1997’de yeni bir sınıflandırma yapmış; hastalığın tanımlanmasına, yüzeysel ve invaziv olarak ayırımına ve cerrahi ile klinik değerlendirme arasındaki bağlantının ortaya konmasına ve morfolojik olarak lezyonun beyaz, kırmızı ya da siyah olarak tanımlanmasına olanak sağlamışlardır. Lezyon içerisindeki biyokimyasal aktivite ve morfoloji, lezyonun prognozu hakkında bilgi verebilmektedir (Vernon ve ark., 1986). Ancak bu sistemin kısıtlılıkları vardır ve tedavi sonrası gebeliğin iyi bir belirteci değildir ve ağrı semptomları ile iyi uyum göstermez (Amerikan Obstetrik ve Jinekoloji Derneği, 1999). Bu sistemde endometriyozis evre 1 (minimal), evre 2 (hafif), evre 3 (orta), evre 4 (ciddi) olarak sınıflandırılmıştır. Bu yeni sistem bağırsak gibi bazı endometriyozis yerleşimlerini içermemektedir.



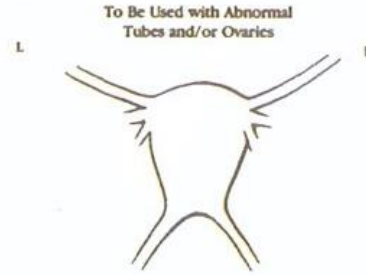
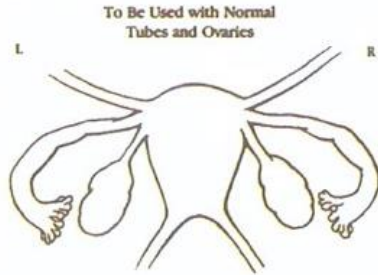
AMERICAN SOCIETY FOR REPRODUCTIVE MEDICINE
REVISED CLASSIFICATION OF ENDOMETRIOSIS

Patient's Name _____ Date _____
 Stage I (Minimal) - 1-5 Laparoscopy _____ Laparotomy _____ Photography _____
 Stage II (Mild) - 6-15 Recommended Treatment _____
 Stage III (Moderate) - 16-40 Prognosis _____
 Stage IV (Severe) - > 40
 Total _____

PERITONEUM	ENDOMETRIOSIS	< 1cm	1-3cm	> 3cm
	Superficial	1	2	4
OVARY	Deep	2	4	6
	R Superficial	1	2	4
	Deep	4	16	20
	L Superficial	1	2	4
POSTERIOR CULDESAC OBLITERATION	Partial	4	40	
	Complete			
OVARY	ADHESIONS	< 1/3 Enclosure	1/3-2/3 Enclosure	> 2/3 Enclosure
	R Filmy	1	2	4
	Dense	4	8	16
	L Filmy	1	2	4
TUBE	Dense	4	8	16
	R Filmy	1	2	4
	Dense	4*	8*	16
	L Filmy	1	2	4
TUBE	Dense	4*	8*	16

* If the fimbriated end of the fallopian tube is completely enclosed, change the point assignment to 16.
 Denote appearance of superficial implant types as red (R), red, red-pink, flame-like, vesicular blobs, clear vesicles), white (CW), opacifications, peritoneal defects, yellow-brown), or black (B) black, hemosiderin deposits, blue). Denote percent of total described as R __%, W __%, and B __%. Total should equal 100%.

Additional Endometriosis: _____ Associated Pathology: _____

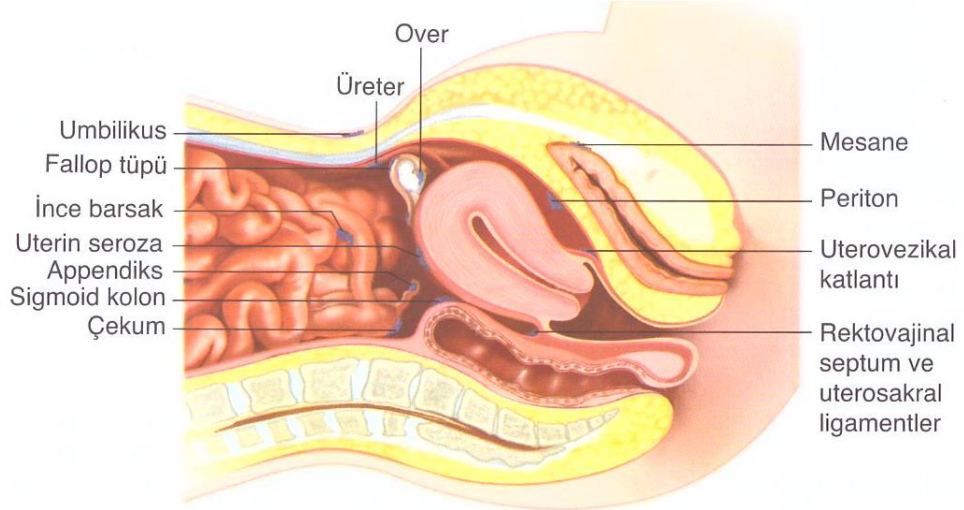


Şekil 1.14. Amerikan Üreme Tıbbı Derneği yenilenmiş endometriyozis sınıflaması. (Amerikan Üreme Tıbbı Derneği (1997)'dan alınmıştır.

1.2.2.2. Anatomik Yerleşim

Endometriyozis, pelvis içinde ve diğer pelvis dışı periton yüzeylerinin herhangi bir yerinde görülebilir. Endometriyozis en sık pelvisin bağlı alanlarında bulunur. Over, pelvik periton, anterior ve posterior kul-de-sak ve uterosakral ligamentler sıklıkla tutulur (Şekil 1.14). Ayrıca, üreter ve rektovajinal septumun yanı sıra, nadir olarak mesane, perikard,

cerrahi skarlar ve plevra da görülebilir. Bir patoloji derlemesinde dalak dışında tüm organlarda endometriyozis saptandığı bildirilmiştir (Markham ve ark., 1989). Endometriyozisin nadir görüldüğü yerler, atipik siklik semptomlarla ortaya çıkabilmektedir. Örneğin, üriner sistem tutulumu olan kadınlar siklik dizüri veya hematüriden; rektosigmoid tutulumu olanlar, siklik rektal kanamadan; plevral tutulumu olanlar ise siklik pnömotoraks ya da hemoptiziden şikayetçidirler (Price ve ark., 1996; Roberts ve ark., 2003; Ryu ve ark., 2007; Sciume ve ark., 2004).



Şekil 1.15. Batın ve pelviste endometriyozisin olası yerleşimleri. (Hoffman ve ark., 2016)’dan alınmıştır.

1.2.3. Semptomlar

Endometriyozisli kadınlar sıklıkla kronik pelvik ağrı ve infertiliteden yakınsalar da, nadiren asemptomatik de olabilirler.

1.2.3.1. Ağrı

Endometriyozis, pelvik ağrının en sık nedenlerinden biridir ve endometriyozis hastalarında ağrı oldukça değişken olup, siklik veya kronik olabilir (Mathias, 1996). Ağrının altında yatan mekanizma net olarak bilinmemekle birlikte, endometriyal implantlardan periton sıvısına geçen proinflatuvar sitokin ve prostaglandinlerin salınımının kaynak olabileceği düşünülmektedir (Giudice ve Kao, 2004). Ayrıca, ağrının invazyon derinliği ile ilişkisi olduğuna dair kanıtlar vardır ve ağrının yeri lezyonun yerleşimini göstermektedir (Chapron ve ark., 2003; Koninckx ve ark., 1991). Son veriler endometriyozis ağrısının, endometriyotik implantların nöronal invazyonundan kaynaklandığını ileri sürer ve sonuçta duysal ve sempatik sinir ağı sentral sensitizasyona uğrar. Bu, nöronların sürekli aşırı uyarılmasına neden olur ve sonuçta cerrahi eksizyona rağmen sürekli ağrı oluşur. İntestinal derin infiltratif endometriyozisin hiperinnervasyonu niçin bu lezyon tipinin şiddetli ağrıya

neden olduğunu açıklayabilir (Wang ve ark., 2009). Nedeni ne olursa olsun, klinik olarak endometriyozisi olan kadınlar, ağrının farklı şekillerini yaşayabilirler.

1.2.3.2. Dismenore

Endometriyozisli kadınlarda menstruasyonla birlikte siklik ağrı sıklıkla görülür. Endometriyozise bağlı tipik dismenore, menstruasyondan 24 ile 48 saat önce başlar ve non-steroid antiinflamatuar ilaçlara (NSAİİ) ve kombine doğum kontrol haplarına (OKS) daha az yanıt verir. Bu ağrı, primer dismenorenin şiddeti ile endometriyozis riski arasında pozitif ilişki göstermiştir. Ayrıca, periton yüzeyinin altında yaklaşık 5 mm yayılan hastalık, dismenorenin şiddeti ile pozitif ilişkilidir (Chapron ve ark., 2003).

1.2.3.3. Disparöni

Endometriyozise bağlı disparöni sıklıkla rektovajinal septum ya da uterosakral ligament tutulumu ile, daha az sıklıkta ise over tutulumu ile ilişkilidir (Murphy, 2002; Vercellini, 1996b). İlişki sırasında uterosakral bağlardaki gerilme ağrısı tetikleyebilir (Fauconnier, 2002). İlk cinsel ilişki ile ortaya çıkan disparini endometriyozisi düşündürse de, ağrısız geçen ilişki döneminden sonra ortaya çıkan disparönide de endometriyozis düşünülmelidir (Ferrero, 2004). Buna rağmen ağrının derecesi, hastalığın şiddetinden bağımsız görünmektedir (Fedele, 1992).

1.2.3.4. Dizüri

Endometriyozisin daha az görünen yakınması olsa da etkilenen kadınlar ağrılı işeme, sıklık pollaküri, ani sıkışma hissi gibi semptomlar gösterebilirler. Bu yakınmalar negatif idrar kültürü ile bir arada olduğunda endometriyozisten kuşkulandırılmalıdır (Vercellini, 1996a). Hematüri ya da önemli mesane semptomları varsa, ayrıntılı değerlendirme ve tanıyı doğrulamak için sistoskopi kullanılabilir.

1.2.3.5. Ağrılı Dışkılama

Ağrılı dışkılama, pelvik ağrının diğer belirtilerinden daha az sıklıkta görülür ve tipik olarak endometriyotik implantların retrosigmoid tutulumunu gösterir (Azzena, 1998). Semptomlar kronik ya da siklik olabilir ve konstipasyon, diyare ya da siklik hematokezya ile birlikte olabilir (Remorgida, 2007).

1.2.3.6. Siklik Olmayan Ağrı

Kronik pelvik ağrı, endometriyozis ile ilişkili en sık yakınmadır. Kronik pelvik ağrısı olanların yaklaşık %40 ile %60'ında, laparoskopi sırasında endometriyozis olduğu görülür

(Eskenazi, 1997). Bazı çalışmalar, ileri evre hastalık ile ağrı şiddeti arasında bağlantı olduğunu gösterirken, bazı çalışmalar gösterememiştir (Fedele, 1992; Muzii, 1997).

Ağrı odağı değişken olabilir. Rektovajinal septum ya da uterosakral ligament tutulumu varsa, ağrı rektum ya da bele yayılabilir. Bundan başka, bacağı doğru yayılan ve siklik siyatik ağrısına neden olan ağrı posterior peritoneal endometriyozis veya doğrudan siyatik tutulumu gösterebilir (Possover, 2007; Vercellini, 2003b; Vilos, 2002).

Karın ağrısı yakınması olan bazı kişiler de abdominal duvar endometriyozisine sahiptir. Bazı olgularda uterin cerrahi ya da sezaryen gibi cerrahi işlemlerden sonra abdominal skarda endometriyozis gelişirken, bazıları cerrahi ile ilişkili değildir ve kendiliğinden gelişir (Papavramidis, 2009; Steck, 1996).

1.2.4. Endometriyozisin Tanısı

1.2.4.1. Fiziksel Muayene

1.2.4.1.1. İnspeksiyon

Endometriyozis çoğunlukla pelvisle sınırlı bir hastalıktır. Bu nedenle inspeksiyonda anormallik görmek pek olanaklı değildir. Bazı istisnalar, epizyotomi, cerrahi skar ve pfannenstiel insizyonlardaki endometriyozistir (Koger, 1993; Zhu, 2002). Nadir olarak endometriyozis perine veya perianal bölgede de kendiliğinden gelişebilir (Watanabe, 2003).

1.2.4.1.2. Spekulum Muayenesi

Vajen ve serviksin muayenesi genelde bir ipucu vermez. Zaman zaman serviks veya arka fornikte mavimsi veya kırmızı noktasal lezyonlar görülebilmektedir. Bu lezyonlar hassas olabilir, temas ile kanayabilir. Bir çalışmada derin endometriyozis tanısı olan hastaların %14'ünde spekulum muayenesinde endometriyozis bulunmuştur (Chapron ve ark., 2002).

1.2.4.1.3. Bimanuel Muayene

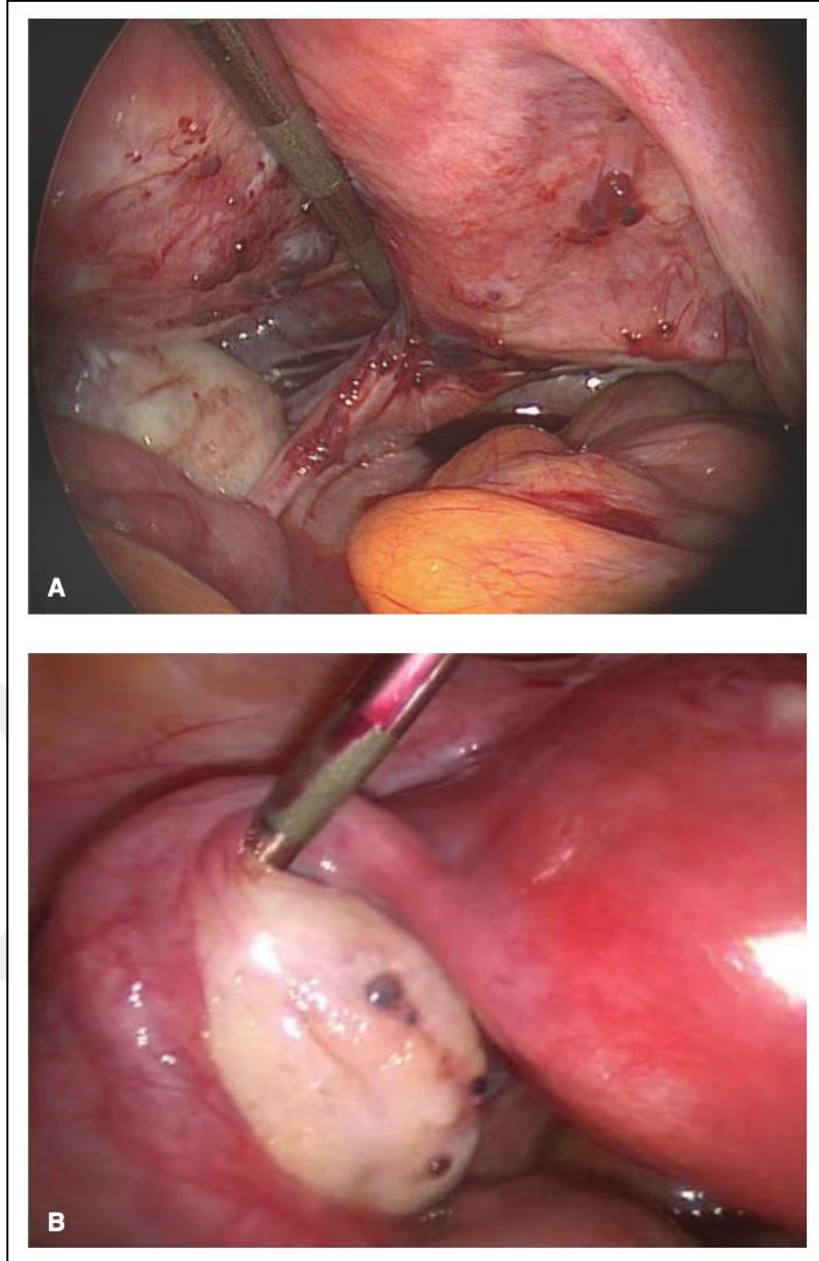
Pelvik organ palpasyonu, sıklıkla endometriyozisi çağrıştıran anatomik anormallikler gösterir. Uterosakral ligamentteki nodülerite ve hassasiyet, aktif hastalığı veya ligament boyunca skarlaşmayı gösterir. Mobil adneksiyal kitle olarak ortaya çıkabilen over endometriyomaları, büyük kistik kitleler halinde pelvik organlara yapışık da olabilirler. Bimanuel muayene, retrovert fıkse, hassas ya da sert bir uterusu gösterdiği gibi, fıkse arka kul-de-sak'ı da gösterebilir. Eğer lezyon ekstragenital ise bimanuel değerlendirme yanlış yönlendirebilmektedir.

Pelvik organ palpasyonu tanıya yardımcı olabilse de, fokal pelvik hassasiyetin duyarlılığı %36-90, özgüllüğü ise %32-92 arasındadır (Chapron ve ark., 2002; Eskenazi, 2001; Koninckx ve ark., 1996; Ripps ve Martin, 1992). Örneğin, Chapron ve arkadaşları (2002).

Derin infiltratif endometriyozisli kadınların %43'ünde ele gelen nodül, palpe etmişlerdir. Kronik pelvik ağrısı ve cerrahi olarak tespit edilmiş endometriyozisi olan 91 olgunun incelendiği bir çalışmada, hastaların %47'sinde bimanuel muayene normal olarak bulunmuştur (Nezhat ve ark., 1994). Bir çalışmada, endometriyozise sekonder gelişen pelvik nodüllerin, menstruel dönemde yapılan bimanuel muayene ile rahatlıkla saptanabileceği ileri sürülmüştür (Koninckx ve ark., 1996).

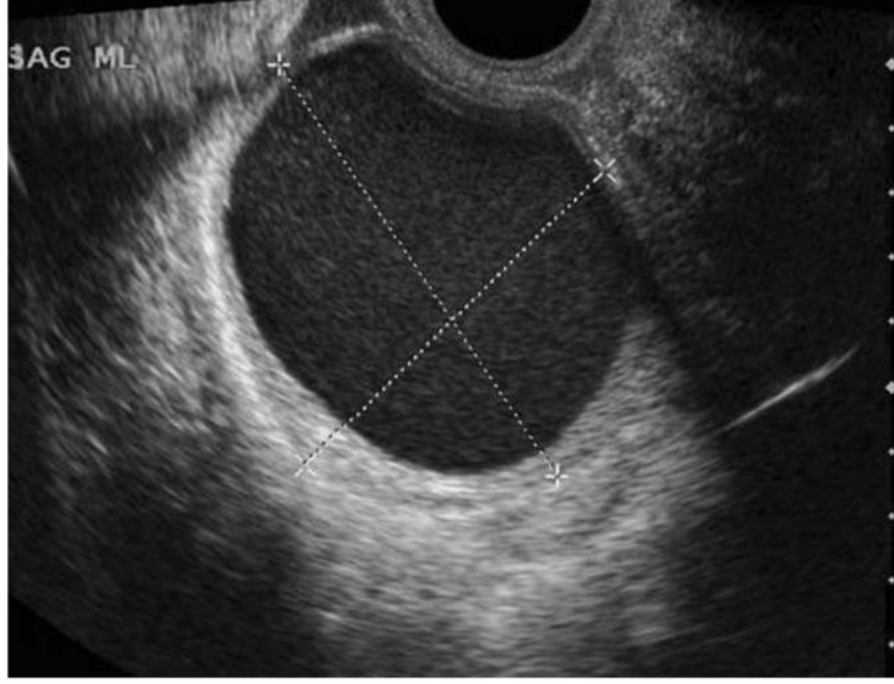
1.2.4.2. Görüntüleme Yöntemleri

Endometriyozis tanısı için “altın standart” test, tanısal laparoskopidir. Bu cerrahi işlem, hasta için genel anestezi gerektirir ve peritoneal kavite CO₂ gazı ile şişirildikten sonra umbilikal port yerinden pelvisin panoramik bir görüntüsünü sağlar. Bugün için mevcut başka hiçbir test, bu yöntemin tanısal doğruluğuna yaklaşamamaktadır ve pelvisin laparoskopi ile görüntülenmesi yapılmadan, muhtemel tüm intraperitoneal bölgelerdeki endometriyozis dışlanamaz.



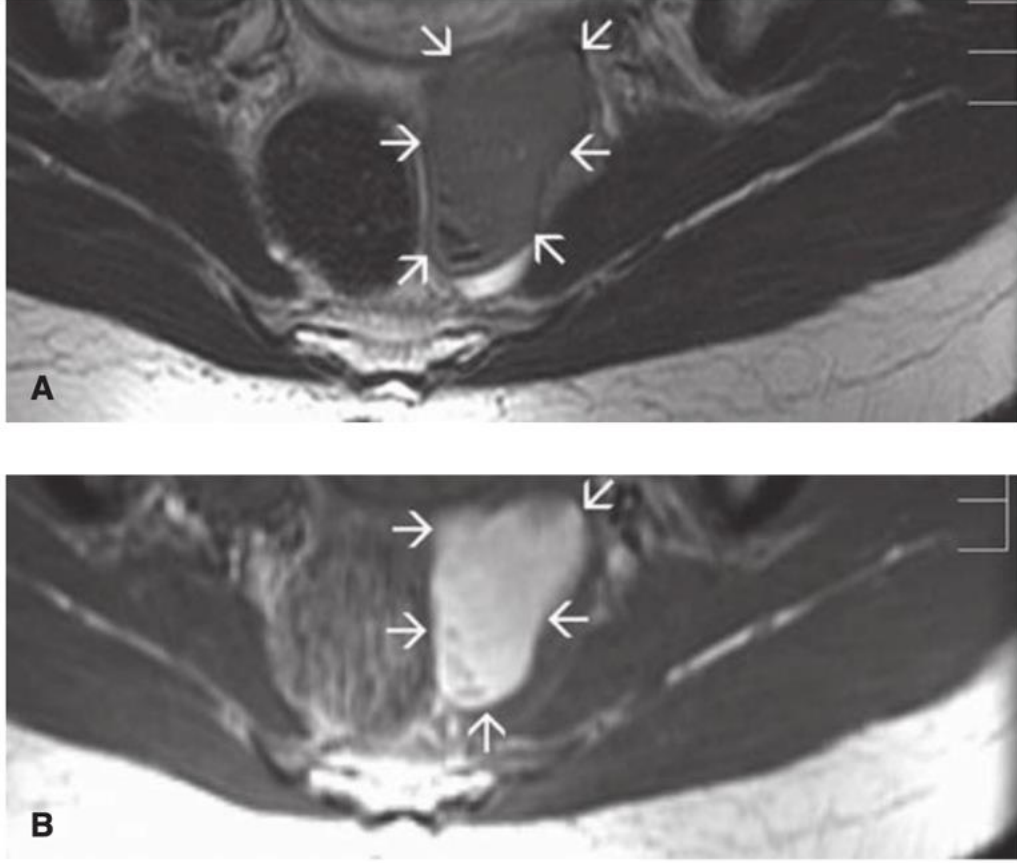
Şekil 1.16. Laparoskopi esnasında endometriyozis tanısı. A, posterior kul-de-sak'ın pelvik peritonunda kırmızı ve temiz endometriyotik lezyonlar görülmektedir. B, ovaryum yüzeyinde kahverengi-siyah lezyonlar görülmektedir. (Hoffman ve ark., 2016)'dan alınmıştır.

Trans Vajinal Ultrasonografi (TVS), kolay ve maliyeti düşük bir yöntemdir ve endometriyoziste ilk başvuru görüntüleme araçlarından biridir. 20 mm ve daha büyük çapta endometriomaları teşhis edilebilir. TVS'nin endometriomaları teşhis etmedeki duyarlılığı %64-90; özgüllüğü ise %22-100 arasında değişmektedir (Moore ve Dalley, 1999). Ancak bu yöntem yüzeysel endometriyozis veya endometriyotik adezyonları görüntülemeye yetersiz kalmaktadır.



Şekil 1.17. Ovaryan endometriyomanın trans-vajinal sonogramı. (Hoffman ve ark., 2016)’dan alınmıştır.

Ovarian endometriomaların tanısında ultrason, görüntüleme yöntemleri içinde ilk tercihtir ama overdeki kitlenin özelliklerinin ultrasonda yorumlanması zorsa Manyetik Rezonans Görüntüleme (MRG) yöntemi tercih edilir. Kist duvarındaki düzensizlikler malignensi şüphesine neden olabilir. Hem T1 hem T2 ağırlıklı görüntülerdeki karakteristik hiperintensiteye (‘çikolata kisti’ içindeki eski kandan dolayı) bağlı olarak MRG endometriomaları belirleyebilir ve yağ-baskılanmış T1 görüntülerin kullanımı bunu kistik teratomdan ayırt ettirir. Endometriomaların MRG tanısı %90 sensitivite ve %98 spesifisite göstermektedir ancak bu sonuçlar büyük ölçüde uygulayıcı bağımlı olabilir.



Şekil 1.18. Rektumun lateralinde endometriyomanın manyetik rezonans görüntüsü. T2’de düşük-yoğunluklu sinyaller, T1’de yüksek-yoğunluklu sinyaller görülmektedir. (Hoffman ve ark., 2016)’dan alınmıştır.

Bilgisayarlı Tomografi (BT) ile inceleme, akciğer endometriomaları ve batin duvarı cerrahi skarlarındaki endometriomaların tanısında yararlı olmakla birlikte, genel olarak endometriyozisin değerlendirilmesinde sınırlı bir role sahiptir. Ovaryan endometriomalarda, yumuşak dokudaki farklılıkları ayırıcı yeteneği zayıf olduğundan, BT incelemenin faydası azdır. Günümüzde peritoneal endometriyozis için ise hiç kullanımı yoktur. Peritoneal yüzeydeki endometriyozis lezyonlarının çoğu BT inceleme ile tespit edebilmek için çok küçüktürler (Garcia-Velasco, 2010).

1.2.4.3. Laboratuvar Testleri

Pelvik ağrının diğer nedenlerini dışlamak için kullanılır. Başlangıçta, tam kan sayımı, kanda ya da idrarda bakılan human koryonik gonadotropin, idrar analizi ve idrar kültürü ve vajina kültürleri, servikal sürüntü enfeksiyon ve gebelik komplikasyonlarını dışlamak için kullanılabilir.

CA125, uterin tüplerin epiteli, endometriyum, endoserviks, periton ve plevra gibi birçok dokuda tanımlanmıştır. Bu belirteç over kanseri değerlendirmesinde ve izleniminde

kullanılmaktadır. Artmış CA125 düzeylerinin endometriyozisin şiddeti ile pozitif ilişkili olduğu rapor edilmiştir (Hornstein ve ark., 1995a). Ancak, yeterli özgüllük göstermesine rağmen, hafif endometriyoziste duyarlılığı düşüktür. Endometriyozis tanısında CA125'i değerlendiren metaanalizlerde, duyarlılığı %28, özgüllüğü %90 olarak göstermiştir (Mol ve ark., 1998). Bu belirteç evre 3 ve 4 endometriyozis tanısında daha iyi görünmektedir. Klinik kullanımda bu testin rolü belirsiz olsa da, sonografik olarak saptanmış over kisti varlığında yararlı olabilir.

Diğer antijenik glikoprotein kanser antijeni 19-9 (CA 19-9), endometriyozis şiddeti ile pozitif korelasyon gösteren bir serum belirteçidir (Harada ve ark., 2002). Serum plasental protein 14'ün (PP14; glikodelin-A) duyarlılığının yeterli olduğu gösterilmiş (%59), fakat bu durum diğer çalışmalarla desteklenmemiştir (Telimaa ve ark., 1989).

1.2.5. Endometriyozis ve İnfertilite

Subfertilitesi olan kadınlarda endometriyozis sıklığı %20-30 arasındadır (Waller ve ark., 1993). Ayrıca, geniş değişkenlik gösterse de, infertil hastalarda, kontrol grubundaki fertil kadınlara göre daha fazla endometriyozis saptanmıştır (%13-33'e karşı % 4-8) (D'Hooghe ve ark., 2003; Strathy ve ark., 1982). Ayrıca, Matorras ve arkadaşları (2001), infertil kadınlarda ileri evre endometriyozis prevalansının daha fazla olduğunu bildirmişlerdir. Bu, endometriyozisin neden olduğu adezyonlardan kaynaklanabilir ve normal oosit tutulumunu ve fallop tüplerindeki transportu bozabilir. Ovulasyon ve fertilizasyondaki mekanik bozukluğun yanı sıra daha zor anlaşılır bozukluklar da endometriyozisli kadınlarda infertilitenin patogenezinde yer alır. Bu bozukluklar, over ve immün fonksiyonun yanı sıra implantasyon düzensizliğini de içerir.

1.2.5.1. Folikülogenez ve Embriyogeneze Etkileri

Bazı araştırmacılar endometriyozisli kadınlarda folikülogenezin bozulduğunu öne sürmüştür. IVF'e giden endometriyozisli kadınlardaki embriyo gelişimi ve niteliği, tubal faktöre bağlı infertilitesi olan kadınlardan gelen embriyolar ile karşılaştırıldığında; endometriyozisli grupta, embriyo başına daha az blastomer oluştuğu ve embriyonik gelişimin daha fazla sekteye uğradığı tespit edilmiştir. Bu durum, endometriyozisli kadınların oositlerinin gelişimsel yeteneğinin azalmış olabileceğini düşündürmüştür (Pellicer ve ark., 1995). Başka bir çalışma ise endometriyozisli kadınlarda oosit sayısının azalmış olabileceğini rapor etmiştir (Suzuki ve ark., 2005).

1.2.5.2. Endometriyal Değişiklikler

Endometriyozisli kadınlarda endometriyum gelişimindeki anormallikler, endometriyozisle ilişkili subfertilitede implantasyon bozukluklarının sorumlu olabileceği olasılığını destekler. Örneğin araştırmacılar, endometriyozisli kadınlardan alınan ötopik endometriyumda, endometriyozisi olmayan kadınlarla karşılaştırıldığında gen ekspresyon profillerinde anormallik saptamışlardır (Kao ve ark., 2003). Spesifik olarak, endometriyozisli kadınların preimplantasyon endometriyumlarında, yetersiz avb3 integrin ekspresyonu gösterilmiştir ve bu durumun azalmış uterin reseptivite ile ilişkili olabileceği rapor edilmiştir (Lessey ve ark., 1994).

1.2.5.3. Diğer Faktörler

Endometriyozisli kadınlarda inflamasyon ve sitokin etkinliğindeki anormallikler, endometriyozise bağlı infertilitede rol oynayabilir. Endometriyozisli kadınlarda sperm fonksiyonları etkilenmiş olabilir ve makrofajların fagositozuna bağlı sperm sayısı düşebilmektedir (Haney ve ark., 1981; Muscato ve ark., 1982). Ayrıca zona pellusidaya sperm bağlanması olumsuz etkilenmiştir (Qiao ve ark., 1998).

1.2.6. Endometriyozis Patogenezinde Rol Alan Etmenler

1.2.6.1. Endometriyozis ve Hiperöstrojenite

Hastalığın patolojisi incelendiğinde, östrojen ve reseptörünün önemli bir rol oynadığı görülmektedir (Gurates ve Bulun, 2003). Aromataz, andrositenodionu östrona; 17 β -hidroksisteroid dehidrogenaz tip I (17 β -HSD tip I) ise östronu, östrodiolü dönüştürmektedir. Androjenleri östrojene dönüştüren Aromataz P450 enzimi, sağlıklı insanlarda genellikle ovaryumda ve yağ dokusunda eksprese edilirken, endometriyozisli hastalarda buna ek olarak hem ötopik (ötopik) hem de ektopik endometriyumda eksprese edilmektedir (Noble ve ark., 1996; Noble ve ark., 1997). Aromataz enziminin yanı sıra endometriyotik implantların 17 β -hidroksisteroid dehidrogenaz tip1 eksprese ettiği de gösterilmiştir. Ayrıca endometriyozisli kadınlarda güçlü 17 β -estradiolü, zayıf östrona dönüştüren 17 β -HSD tip II eksikliği görülmüştür (Kitawaki ve ark., 1997; Zeitoun ve ark., 1998). Ayrıca, endometriyotik lezyonlarda lokal olarak üretilen östrojenler, biyolojik etkilerini aynı doku ya da üretildikleri hücre üzerinde gösterirler. Bu süreç intrekrinoloji olarak adlandırılır.

Tersine normal endometriyum aromataz eksprese etmez ve progesterona cevap olarak 17 β -hidroksisteroid dehidrogenaz tip2 düzeylerini artırır (Satyaswaroop ve ark., 1982). Bunun sonucunda menstrual siklusun luteal fazında progesteron, östrojenin etkilerini

antagonize eder. Ancak, endometriyozisin östrojen uyarısını azaltmasını engelleyen, göreceli progesteron direnci de gözlemlenir (Attia ve ark., 2000).

Prostaglandin E2 (PGE2), endometriyumun stromal hücrelerinde prostaglandin EP2 alt tipi üzerinden etki gösteren en güçlü aktivatördür (Noble ve ark., 1997; Zeitoun ve ark., 1999). Bunun sonucunda, artmış aromataz aktivitesine yanıt olarak üretilen östradiol, uterus endotel hücrelerinde COX-2 enzimini uyararak PGE2 üretimini artırır (Bulun ve ark., 2002; Gurates ve Bulun, 2003). Bu durum, pozitif feedback döngüsü sağlayarak östrojenik etki ile endometriyozisin çoğalmasını sağlar. Endometriyoziste lokal olarak üretilen östrojenler ve intrakrin östrojenlerin etkili olduğuna dair görüş, standart tedaviye dirençli olgularda aromataz etkinliğinin farmakolojik olarak baskılanmasının temelini oluşturur.

1.2.6.2. Endometriyozis ve Progesteron Direnci

Endometriyoziste, birbirini besleyen inflamatuvar ve hiperöstrojenik (östrojen ve reseptörünün fazla sentezlenmesi) çevrenin oluşumuyla eş zamanlı olarak, hastalarda progesteron direnci de gelişmektedir (Lessey ve Kim, 2017). Endometriyozisli hastalarda progesteron reseptör (PR) ekspresyonunun azaldığı (Attia ve ark., 2000), PR-B'nin hipermetile olduğu (Wu ve ark., 2006) ve bunların da progesteron direncine yol açtığı rapor edilmiştir (Lagana ve ark., 2019). Sağlıklı insanlarda PR-B (Patel ve ark., 2018) ve progesteron, inflamasyonu azaltıcı etki göstermektedir; ancak endometriyozisli hastalarda progesterona karşı duyarsızlık olduğu ve PR-B ekspresyonu azaldığı için proinflamatuvar bir mikroçevre oluşmaktadır. (Patel ve ark., 2015, Patel ve ark., 2017, Patel ve ark., 2018). Sonuç olarak endometriyozis patolojisinde östrojen dominansı nedeniyle proliferatif ve anti-apoptotik süreçler etkin olurken; antiproliferatif progesteron yolları bloke olmaktadır. Oluşan progesteron direnci, östrojene karşı antagonist çalışmak için yetersiz kalmakta ve bu durum stromal farklılaşmada bozukluklar ve artan inflamasyonla sonuçlanmaktadır. Bu etmenler hep birlikte duyarsız (non-reseptif) endometriyuma sebebiyet vermektedir (Lessey ve Kim, 2017).

1.2.6.3. Endometriyozis ve İnflamasyon

Endometriyoziste artan östrojenik mikroçevre, peritondaki makrofajları aktive etmekte ve makrofajlardan TNF- α ile IL-1 β salgılanmasına neden olmaktadır, bu sitokinlerin salgılanması da NF κ B'nin aktivasyonunu indüklemektedir (Lagana ve ark., 2019). NF κ B, inaktif formda iken inhibitörü olan I κ B'ye bağlıdır; aktive olduğunda ise nükleusa transloke olur. NF κ B- κ B-I κ B kompleksinin endometriyoziste IL-6 ve IL-8 gibi inflamatuvar medyatörlerin salınımını (Kim ve ark., 2012) ve hücre proliferasyonunu arttırdığı (Samimi

ve ark., 2018), anti-apoptotik BCL-2 aktivasyonunu stimüle ettiği rapor edilmiştir (Lagana ve ark., 2019). Bu apoptotik direnç, endometriyotik hücrelerin immün sistemden kaçmasını sağlamaktadır (Vetvicka ve ark., 2016). Endometriyozisli hastalarda endometriyotik hücrelerin apoptoz ve fagositoza karşı dirençli oldukları, doğal öldürücülerin sitotoksitesini inhibe ettikleri ve dolayısıyla bu hastalarda kusurlu immün denetim olduğu farklı bir çalışmada da rapor edilmiştir (Patel ve ark., 2018). Östrojenin inflamasyon üzerindeki etkisine benzer bir biçimde inflamasyon da östrojen üretimini tetiklemektedir. Endometriyozisli hastaların kanında yüksek konsantrasyonlarda bulunan IL-17'nin; COX2, IL-6, IL-8 ve aromataz ekspresyonunu arttırdığı bildirilmiştir (Ahn ve ark., 2015; Hirata ve ark., 2011).

1.2.6.3.1. İmmün sistemin rolü

Çoğu kadında retrograd menstruasyon implantların yerleşim ve yayılımında yer alsa da, az bir kısmında endometriyozis gelişir. Peritoneal kaviteye kaçan menstrual doku ve endometriyum, immün sistem hücreleri olan makrofajlar, doğal öldürücüler ve lenfositler tarafından temizlenir. Bu nedenden dolayı, immün sistem bozukluğu olan olgularda retrograd menstruasyon ile birlikte endometriyozis oluşabilir (Seli ve Arici, 2003). Endometriyotik dokularda bozulmuş hücreler ile humoral immünite ile değişmiş büyüme faktörü ve sitokin sinyalleri saptanmıştır.

Makrofajlar çeşitli dokularda çöpçü hücre görevi görürler ve endometriyozisli kadınların periton boşluğunda sayıları artmıştır (Haney ve ark., 1981; Olive ve ark., 1985B). Bu artışın endometriyal proliferasyon üzerine baskılayıcı etkisi olması beklenirken, endometriyotik doku üzerine uyarıcı etkileri vardır. Yapılan bir çalışmada endometriyozisli kadınların dolaşımından elde edilen monositler, endometriyum hücre kültüründe in vitro proliferasyonu arttırırken, endometriyozisi olmayan kadınlardan alınan monositlerin ters etki yaptıkları gösterilmiştir (Braun ve ark., 1994). Bu durum göstermiştir ki, makrofajların sayısı değil, bozulmuş fonksiyonları endometriyum dokusunun proliferasyonuna neden olmaktadır.

İmmün sistem hücresi olan natural killer hücreleri, yabancı hücelere karşı sitotoksik aktivite kullanırlar. Ancak, endometriyozisli kadınların periton sıvısında NK hücrelerinin sayısı değişmese de, endometriyuma karşı azalmış NK hücre sitotoksitesi gösterilmiştir (Ho ve ark., 1995; Wilson ve ark., 1994). NK hücre aktivitesinin endometriyozisli kadınların periton sıvılarında spesifik olarak baskılandığı bulunmuş ve bu durum üzerinde çözünebilir faktörlerin rol oynadığı düşünülmüştür (Oosterlynck ve ark., 1993).

Endometriyozis hastalarında hücrel immünite bozuktur ve T lenfositleri de kapsamaktadır. Örneğin, hastalıktan etkilenmemiş kadın ile endometriyozisli kadın

karşılaştırıldığında, toplam lenfosit sayısı veya helper / supresör alt grup oranı, periferik kanda farklı değildir, fakat periton sıvısında lenfosit sayısı artmıştır (Steele ve ark., 1984). Endometriyozisli kadınlarda, T lenfositlerinin otolog endometriyuma karşı sitotoksik etkinliği bozulmuştur (Gleicher ve ark., 1984).

Humoral bağışıklığın endometriyozisli olgularda değiştiği gösterilmiş olup, endometriyozis gelişiminde rol oynadığı öne sürülmüştür. Endometriyozisli kadınların serumlarında IgG sınıfı endometriyum antikorlarına daha fazla saptanmıştır (Odukoya ve ark, 1995). Yapılan bir çalışmada, etkilenen kadınların serum, serviks, vajina salgılarında endometriyum ve overlere karşı IgG ve IgA otoantikorları saptanmıştır (Mathur ve ark., 1983). Bu sonuçlar endometriyozisin kısmen otoimmün bir hastalık olabileceğini göstermektedir. Bu durum, endometriyozisli olgularda düşük gebelik ve in vitro fertilizasyon oranlarını etkileyen bazı faktörleri açıklayabilir (Dmowski ve Radwanska, 1994).

Sitokinler, diğer immün hücrelerin otokrin ve parakrin sinyallerini içeren küçük, çözünebilir bağışıklık faktörleridir. Çok sayıda sitokin özellikle interlökinler, endometriyozis patogeneğinde rol oynar. Endometriyozislilerin endometriyal sıvılarında interlökin-1 β (IL-1 β) seviyeleri artmıştır (Mori ve ark, 1991). Ayrıca, etkilenmiş kadınların endometriyal stromal hücrelerinde IL-6 seviyesi artmıştır (Tseng, 1996).

Benzer şekilde IL-8'in peritoneal sıvıdaki düzeyi artmıştır ve endometriyal stromal hücrelerin proliferasyonunu uyarır (Arici ve ark., 1996, 1998; Ryan ve ark., 1995). Bu faktörlerin test edilmesi temel olarak bir araştırma aracıdır; endometriyozis tanısında klinik olarak kullanılmamaktadır.

1.2.6.4. Endometriyozis ve Oksidatif Stres

Östrojen konsantrasyonunda artış, inflamasyon ve progesteron direncinin yanı sıra hastalığın patolojisinde yer alan en önemli faktörlerden biri de reaktif oksijen türleri (ROS) ve antioksidanlar arasındaki dengenin bozulmasıyla ortaya çıkan oksidatif stres (OS)'dir. Endometriyoziste yüksek ROS konsantrasyonunun, NF κ B ve proinflamatuvar moleküllerin ekspresyonunu arttırdığı rapor edilmiştir (Samimi ve ark., 2018).

1.2.7. Endometriyozis Oluşum Teorileri

Bu konuyla ilgili öne sürülen hipotezler iki ana başlık altında toplanmaktadır: In situ teorisi ve transplantasyon teorisi (Lagana ve ark., 2019).

1.2.7.1. In Situ Teorisi

1.2.7.1.1. Lenfatik veya vasküler yayılım

Kanıtlar, endometriyozisin endometriyal dokunun lenf veya damar yoluyla yayıldığı düşüncesini de destekler (Ueki, 1991). Endometriyozisin perine veya kasık gibi alışılmadık yerleşimleri bu teoriyi destekler (Mitchell ve ark., 1991; Pollack ve ark., 1990). Retroperitoneal bölgenin lenfatik dolaşımı fazladır. Dolayısıyla, peritoneal implantları bulunmayan, yalnızca izole retroperitoneal lezyon saptanan olgular bu lenfatik yayılım düşüncesini destekler (Moore ve ark., 1988). Ayrıca, endometriyal adenokarsinomun lenfatik yolla yayılma eğilimi, endometriyal dokunun bu yolla kolaylıkla taşındığını gösterir (McMeekin ve Tillmann, 2003). Bu teori ilgi çekici olsa da bu yayılımla ilgili az miktarda deneysel çalışma vardır.

1.2.7.1.2. Çölemik metaplazi

Çölemik Metaplazi teorisi, pariyetal peritonun plöripotansiyel bir doku olduğunu ve histolojik olarak normal endometriyumdan ayırt edilemeyecek şekilde metaplastik dönüşüme uğradığını öne sürer. Over, endometriyumun öncül hücreleri ve mülleryen kanal çölemik epitelden farklılaştıkları için bu teori ovaryan endometriyozisi açıklayabilir. Ayrıca bu teori, periton mezotelyumunun çoğalma ve farklılaşma potansiyeli nedeniyle peritonu içerecek şekilde genişletilmiştir. Bu teori, premenarş, postmenapozal kadınlar ve östrojenle tedavi edilen ve prostat kanseri nedeniyle orşiektomi yapılan erkeklerde olduğu gibi menstruasyonun olmadığı olgularda ilgi çekicidir (Dictor ve ark., 1988; Pinkert ve ark., 1979). Ancak, çölemik epitelden köken alan diğer dokularda endometriyozis gelişmemesi bu teoriye karşıtlık oluşturur.

1.2.7.1.3. İndüksiyon teorisi

İndüksiyon teorisinde, bazı hormonal ve biyolojik faktörlerin etkisiyle farklılaşmamış hücrelerin, endometriyum dokusuna farklılaşmasına neden olduğunu öne sürer (Vinatier ve ark., 2001). Bu maddeler ekzojen olabilir ya da doğrudan endometriyumdan salınabilir (Bontis ve Vavilis, 1997). İn vitro çalışmalar, over yüzey epitelinin östrojene yanıt olarak endometriyotik lezyon oluşturmak için dönüşüme uğrama potansiyelini göstermiştir (Matsuura ve ark., 1999). Birçok faktör tanımlansa da, bu duruma bazı kadınların eğilimi olup, bazılarının olmaması, bu hastalığın hala tanımlanamamış etiyolojilerinin olduğunu gösterir.

In situ kategorisine ait tüm hipotezler, endometriyozis dokusunun (stroma ve bezlerin), metaplaziyle veya embriyolojik kökenli yerel dokulardan in situ olarak kökenlendiği esasına

dayanmaktadır. Bu hipotez ilk olarak 1870’de Waldeyer tarafından ovaryumun germinal epitelinden metaplazi ile endometriyozisin geliştiği şeklinde ortaya atılmıştır (Waldeyer, 1870). Daha sonra 1895’te Recklinghausen embriyolojik orjin olarak mezonefrik/Wolffian kanalı kalıntılarının ve 1899’da Russel Müllerian kalıntıların endometriyozise neden olabileceği görüşünü ileri sürmüşlerdir (van der Linden, 1996). Ancak çeşitli faktörler, in situ teorisini desteklememektedir: Peritoneal hücreler kolayca metaplastik transformasyona uğrayabiliyorsa, endometriozisin erkeklerde, torasik boşlukta ve peritonda düzgün bir dağılımla daha sık görülmesi gerekmektedir.

1.2.7.2. Transplantasyon Teorisi

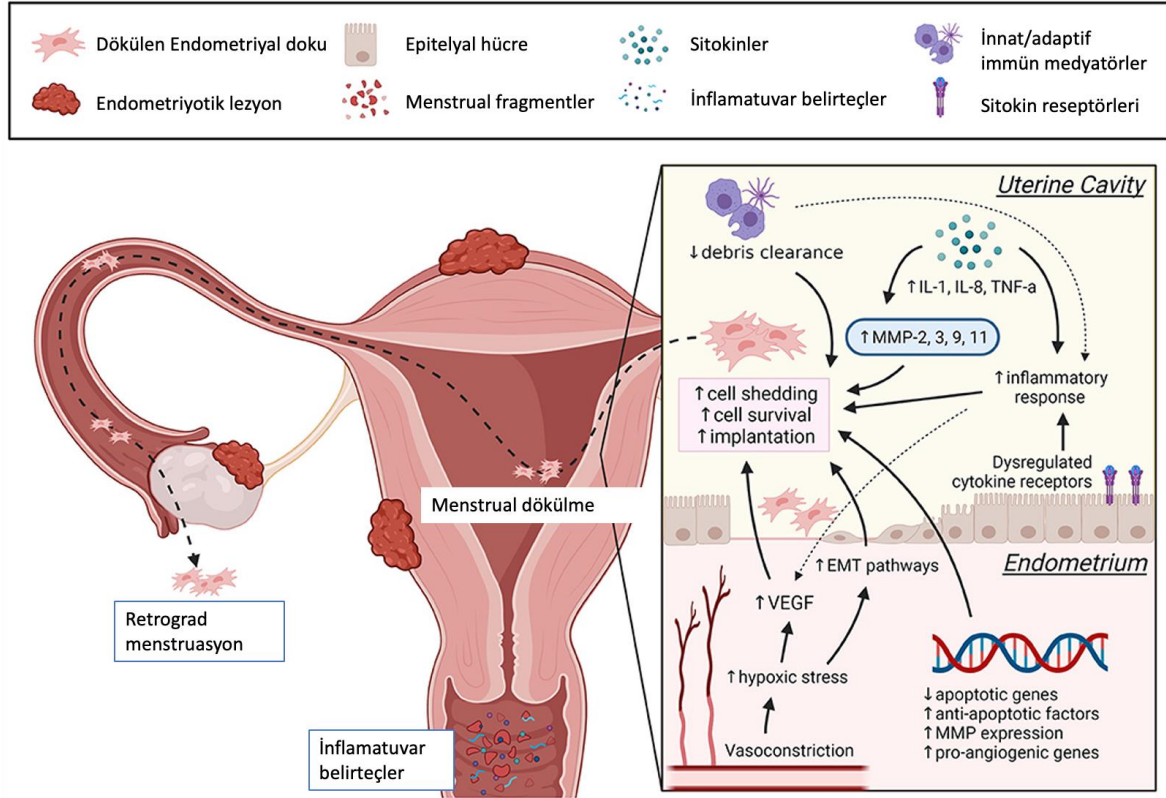
Transplantasyon teorisi kategorisindeki hipotezler ise endometriyotik bez ve stromanın kökeninin ötopik endometriyum olduğu temeline dayanmaktadır. Bu hipotezlere göre endometriozis, uterus kavitesinden farklı yollar aracılığıyla vücuttaki başka bir yere göç eden ötopik endometriyal hücrelerin iyi huylu metastazı olarak düşünülmektedir.

1.2.7.2.1. Retrograd menstruasyon teorisi

Endometriyal veya endometriyotik hücrelerin hematojen, lenfatik ve iyatrojenik yayılımı, nadir görülen tüm ekstrapitoneal yerleri açıklamaktadır (Javert, 1949). Bununla birlikte, en popüler teori 1927’de Sampson tarafından klinik ve anatomik gözlemlere dayanarak oluşturulmuştur. Sampson’un ortaya attığı teoride, ötopik endometriyal fragmentler menstruasyonla uterin kaviteye döküldükten sonra, retrograd menstruasyonla fallop tüplerinden geçerek endometriyum dışında bir yere implante olması sonucu periton ve ovaryumda endometriyozis görülmektedir (Sampson, 1921; Sampson, 1927; Sampson, 1940). Endometriyozisli kadınların uteruslarında meydana gelen artmış ve düzensiz peristaltizm, artmış endometriyal reflüye neden olmaktadır (Leyendecker ve ark., 2004). Ayrıca, D’Hooghe (1997), babunlarda serviksin cerrahi olarak kapatılmasının endometriyozise neden olduğunu göstermiştir. Aynı şekilde uterin çıkış yolu tıkanıklığına bağlı amenoresi olan kadınlarda endometriyozis oranı yüksektir ve sıklıkla tıkanıklığın düzeltilmesinden sonra geriler (Sanfilippo ve ark., 1986).

Ancak bu teorinin de eksik yönleri bulunmaktadır. Yapılan çalışmalara göre kadınların büyük çoğunluğu retrograd menstruasyon geçirirken, sadece %10’ununda endometriyozis gelişmektedir (Giudice ve Kao, 2004). Ayrıca histerektomi geçiren kadınlarda, peritonla ilişkisi olmayan daha uzak organlarda (örneğin, beyin, akciğer, burun) ve erkeklerde (menstruasyon geçirmediikleri ve endometriyal progenitör hücre içermediikleri halde) de

endometriyozis görülebilmektedir (Hufnagel ve ark., 2015). Bu nedenle geleneksel teoriler endometriyozisin tam etiyolojisini açıklamak için yetersizdir.



Şekil 1.19. Endometriyozis ve retrograd menstruasyon teorisi. Kuan ve ark., (2021)’den alınmıştır.

1.2.7.2.2. Kök hücre teorisi

Son zamanlarda öne sürülen teori ise endometriyal kök hücrelerin, endometriyozis patolojisinin ana nedenlerinden olabileceği yönündedir. Endometriyal kök hücreler menstrual kanda (Sasson ve Taylor, 2008) ve ektopik lezyonlarda tespit edilmiştir (Chan ve ark., 2011; Kao ve ark., 2011; Moggio ve ark., 2012), bu da onların lezyonların oluşması ve ilerlemesindeki rollerini desteklemektedir. Menstrual evre eMKH’leri proliferatif ve sekretuar evre eMKH’lerine göre daha yuvarlak ve kendini yenileme kapasitesine sahiptir; bu da onların lezyon başlatıcı hücreler olduklarını düşündürmektedir (Shan ve ark., 2017). Endometriyozisli kadınların menstrual kanında, sağlıklı kadınlara göre artan sayıda bazalis fragmentleri (kök hücrelerin daha yoğun olarak bulunduğu tabaka) tespit edilmiştir (Leyendecker ve ark., 2009). Ayrıca dökülen bu hücrelerin kalitesinden ziyade, sayısının ve kök hücre tipinin endometriyozis patolojisinde etkili olabileceği düşünülmektedir. Menstrual kan, 385 adet hücre proliferasyonu, migrasyonu, apoptozu ve hematopoeziyle ilgili benzersiz protein içermektedir (Yang ve ark., 2012). Bu nedenle menstrual kanın kendisi de endometriyozis patolojisi içerisinde yer almaktadır (Cousins ve ark., 2018).

eMKH'lerin endometriyozisli kadınların infertilitesine katkıda bulunan endometriyal stromal fibroblastların progesteron-dirençli fenotipinde de rolü olduğu gösterilmiştir (Gargett ve Gurung, 2016). Endometriyozisli kadınlardan elde edilen saflaştırılmış endometriyal stromal fibroblast (eSF) (CD146-, PDGFRb+) ve eMKH (CD146+, PDGFR β +) kültürleri, progesteron ve cAMP'ye yanıt olarak desidualizasyonda başarısızlığa uğramıştır. Taze izole edilmiş ve kültüre edilmiş bu hücrelerin gen microarray profilleri incelendiğinde, bu progesteron direncinin eSF'lere eMKH'lerden geçtiği görülmüştür (Barragan ve ark., 2016). Bu durum desidual diferansiyasyondaki bozukluğun temelinin eMKH'lerden kaynaklandığını düşündürmektedir (Gargett ve Gurung, 2016).

Son zamanlarda yapılan çalışmalar ötopik endometriyum ile ektopik lezyonlar arasında karşılıklı iletişimin olduğunu göstermiştir (Santamaria ve ark., 2012). Endometriyotik lezyondan uterusu geçen mezenkimal kök hücre popülasyonu tanımlanmıştır. Bu hücreler esas olarak endometriyumun bazal tabakasında, kan damarlarının yakınında lokalize olmuştur. Lümen epitelinde ya da bezlerde bulunmamaktadır. Ötopik endometriyumla karşılaştırıldığında farklı gen ekspresyon profilleri sergilemektedirler ve uterus reseptivitesini değiştirebilecek faktörler salgılamaktadırlar. Bu hücreler endometriyotik dokudan ötopik endometriyum stromasına geçtiklerinde, epitelde bulunmamalarına rağmen epitelyal kimlik kazanırlar. Disfonksiyonel endometriyotik kök hücrelerin ötopik endometriyumdaki anormal varlığı, epitelyal-stromal polariteyi bozmakta ve endometriyozisli hastaların endometriyal reseptivitesinin azalmasına yol açmaktadır (Macer ve Taylor, 2012). Ayrıca endometriyotik dokunun/ektopik lezyonların bir sünger gibi MKH'lerin uterusu gitmesini engellemesi ve kendine çekmesi, disfonksiyonel endometriyuma yol açmaktadır (Hufnagel ve ark., 2015). Ektopik Wnt sinyali de, optimum endometriyal gelişme ve reseptivite için gerekli olan epitelyal stromal diyalogu büyük olasılıkla bozar. Kök hücrelerin bu hatalı trafiği hastalığın mekanizmasının aydınlatılmasında önemli bir rol oynamaktadır (Figueira ve ark., 2011).

Kök hücrelerin endometriyozis patalojisine dahil olması çocuklarda görülen endometriyozisi de açıklamaktadır. Son dönemlere kadar, kız çocuklarında menarştan önce veya menarş sırasında nasıl endometriyozis geliştiği açıklanamıyordu. Geriye dönük literatür çalışmaları, neonatal uterin kanamanın (NUK) buna neden olabileceğini savunmaktadır (Brosens ve Benagiano, 2013). NUK, doğumla birlikte maternal progesteronun kesilmesi sonucu neonatal yaşamın ilk haftasında görülen ilk menstruasyondur (Brosens ve ark., 2013). Bu teoriye göre, kanama sonucu dökülen endometriyal kök/progenitör hücrelerin neonatal pelvik kaviteye geçtiğini ve mezoteli istila

ederek östrojen seviyesi yükselene kadar dormanside kaldıklarını öne sürmektedir. Telarş ve menarşta östrojen seviyesinin yükselmesiyle aktive olan bu hücreler proliferasyon olarak endometriyozisi oluşturmaktadır (Gargett ve ark., 2014).

1.3. Endometriyal Kök Hücreler

İnsan endometriyumu yaklaşık 400-500 kez proliferasyon, farklılaşma, dökülme ve onarım döngüleri geçiren, rejenerasyon kapasitesi oldukça yüksek bir organdır (Cousins ve ark., 2018; Liu ve ark., 2020). Endometriyumun bu dikkat çekici rejenerasyonuna, hem stromal hem de epitelyal hücre bölümlerinin çoğalmasını ve onarımını destekleyen kök/progenitör hücreler aracılık eder (Gargett, 2007; Gargett ve ark., 2016; Kim ve ark., 2005). Endometriyumda kök hücre popülasyonlarının olduğu ilk defa Prianishnikov tarafından 1978’de ortaya atılmıştır (Prianishnikov, 1978). Kök hücrelerin endometriyal rejenerasyona katıldığına anlaşılmaması ise 2004 yılında olmuştur (Taylor, 2004; Lapidot ve Petit, 2002). Yapılan çalışmalar, endometriyal epitelyal hücrelerin %0.22’sinin ve stromal hücrelerin %1.25’inin kök hücre içerdiğini rapor etmiştir (Chan ve ark., 2004; Du ve Taylor, 2009).

Endometriyumda tanımlanmış kök hücre gruplarından glandular epitelyal kök hücre (gEpKH)’ler proliferasyon ve migrasyonla luminal epitel hücrelerini oluştururken, endometriyal mezenkimal kök hücre (eMKH)’ler ise farklılaşarak stromal hücreleri meydana getirirler. eMKH’ler ayrıca mezenkimal-epitelyal dönüşüme de uğrayarak luminal epitelin oluşumuna katkıda bulunurlar (Cousins ve ark., 2018).

Endometriyumda tanımlanmış kök hücre popülasyonları şu şekildedir:

gEpKH’ler; bazalis ve derin fonksiyonalis tabakasında yer alan bezlerin bazal kısımlarında bulunurlar ve SSEA1+ ve/veya N-kadherin+ yüzey fenotipi sergilerler. Stage-specific embryonic antigen-1 (SSEA-1 ya da CD15), insan endometriyal bazalis epitelinin (Endometriyal epitelyal progenitör hücreler) belirteci olarak kullanılmaktadır. Son zamanlarda N-kadherin de bu spesifik belirteçlerin arasına girmiştir. SSEA-1 hücreler, N-kadherin+ hücrelerle karşılaştırıldığında miyometriyuma göre daha distalde bulunmaktadır ve ER- α eksprese etmeyen bu hücreler derin fonksiyonalis tabakasında yer almaktadır (Valentijn ve ark., 2013).

eMKH’ler ise hem bazalis hem de fonksiyonalis tabakasında yer alan, multipotent karakterde, kendi kendini yenileyebilen, perivasküler lokalizasyonlu erişkin kök hücrelerdir. Kemik iliği kökenli MKH’ler gibi CD29+, CD44+, CD73+, CD90+, CD105+, CD31-, CD34-, CD45- yüzey fenotipi sergilerler. Bunun yanı sıra son dönemlerde CD146+PDGFRB+ ya da SUSD2+(W5C5) yüzey belirteçleri de MKH’leri tek başlarına

tanımlamak için yeterli görülmektedir (Gurung ve ark., 2015; Gargett ve ark., 2016). Bu belirteçler, eMKH'leri bazaliste perisitler ve fonksiyonaliste perivasküler hücreler olarak tanımlar (Cousins ve ark., 2018). eMKH'ler hayatta kalmak için östrojene ihtiyaç duymazlar ve uzun süre dormanside kalabilirler. Birçok çalışmada eMKH'lerin kondrojenik, osteojenik, adipojenik farklılaşmaya gittiği; ayrıca düz kas hücrelerine, insülin üreten hücrelere, fibroblastlara ve dopamin üreten hücrelere de dönüşebildiği kanıtlanmıştır (Pluchino ve Taylor, 2016). Bu kök hücrelerin endometriyumdaki rejenerasyon görevlerinin yanı sıra, embriyo implantasyonu ve plasental gelişim için gerekli olan immünmodulasyon, immüntolerans, steroid hormonlara yanıt ve inflamasyonda rol oynadıkları rapor edilmiştir (Gargett ve ark., 2016). eMKH'ler, in vitro multilineage farklılaşma (osteosit, adiposit, düz kas hücresi ve kondrosit) açısından endometriyal stromal fibroblastlarla benzerlik gösterse de (Masuda ve ark., 2012), klonojenik olmaları, geniş koloniler oluşturmaları, yüksek proliferasyon potansiyeline sahip olmaları ve ER- α eksprese etmemeleri yönüyle bu hücrelerden ayrılırlar (Barragan ve ark., 2016).

Yan popülasyon hücreleri, epitelyal, stromal ve endotelyal hücrelerin karışık popülasyonunu içeren erişkin kök hücrelerdir ancak çoğunlukla endotelyal hücreleri içermektedir (Masuda ve ark. 2010; Miyazaki ve ark., 2012). Spesifik belirteçler kullanılarak yüzey fenotipinin karakterizasyonu yapıldığında, yan popülasyonun %27 EpCAM+ epitelyal, %14 CD10+ stromal, %51 endotelyal ve %25 CD146+ endotelyal/eMKH içerdiği tespit edilmiştir (Miyazaki ve ark., 2012). In vitro, epitelyal ve stromal yan popülasyon hücreleri tipik MKH özellikleri gösterir (Cervello ve ark., 2010) ve desidual hücrelere diferansiye olabilir (Tsuji ve ark. 2008).

MKH'ler ayrıca menstrual kandan da izole edilmiştir (Meng ve ark., 2007). Bu hücreler CD9, CD29, CD41a, CD44, CD59, CD73, CD90, CD105, OCT-4, ve hTERT (telomeraz) eksprese ederken; CD14, CD34, CD38, CD45, CD133 ve STRO-1'i eksprese etmezler. Bu hücrelerin multipotent kapasitesi endotelyal, pankreatik, hepatik, kardiyomiyositik, osteogenik, adipositik ve nörositik hücrelere dönüşebilmeleriyle in vitro çalışmalar sayesinde gösterilmiştir (Wolff ve ark., 2011).

1.4. Endoplazmik Retikulum Stresi

Ökaryotik hücrelerin sitoplazması, yassılaştırmış keselerden ve dallanan membranöz tübüllerden oluşan labirentler şeklinde ER içerir (Porter ve ark., 1945) ve bu organel nüklear membranla devamlılık gösterir. Esasen nüklear zardan kopan parçalarla ya da plazma membranının invajinasyonu ile oluşan bu organel (Simonyi ve ark., 1975; Wischnitzer, 1974), total hücre membran hacminin %15-60'ını oluşturmakla birlikte; sentez, katlanma,

modifikasyon, sekretuar ve membran proteinlerinin trafiği gibi çeşitli hayati görevleri de kontrol eder. Bu görevlerinin yanı sıra ER, major intraselüler Ca^{+2} depo organelidir (Krebs ve ark., 2015; Kaufman ve ark., 2002).

Kaba endoplazmik retikulum tipinde, organel üzerinde bol miktarda ribozom bulunur. Proteinler linear polipeptit zincirleri şeklinde sentezlendikten sonra glikozillenir, son yapısal ve fonksiyonel konformasyonlarına ulaşmadan önce katlanırlar. Hücrede sentezlenen proteinlerin 1/3'i ER'de sentezlenir (Guzel ve ark., 2017). Sitoplazma ile karşılaştırıldığında ER lümeni daha yüksek oksidatif kapasiteye sahiptir ve daha yüksek Ca^{+2} seviyesi içerir. Bu ekstra oksidatif ve hiperkalsemik ER mikroçevresi, protein sentezi ve katlanması esnasında önemli bir role sahiptir (Kaufman ve ark., 2002; Dill ve ark., 2008). ER'de protein sentezinde çeşitli moleküler denetçiler, sentezlenen proteinlerin kalitesini, sayısını ve düzgün katlanıp katlanmadıklarını değerlendirir (Bukau ve ark., 2006). Katlanmayan/yanlış katlanan proteinlerin ER lümende aşırı birikimi **katlanmamış protein yanıt (UPR)**'ı aktive eder. Çeşitli çalışmalar ER'de meydana gelen protein homeostazındaki bu bozukluğun çeşitli hastalıkların patogenezinde rol oynadığını göstermiştir (Cao ve ark., 2016; Khan ve ark., 2015; Yang ve ark., 2015; Yalcin ve Hotamisligil, 2013; Buhimschi ve ark., 2014).

ER homeostazı, glucose-regulated protein 78 (GRP78), GRP94, calreticulin (CRT) ve protein disülfid izomeraz (PDI) gibi şaperon proteinler tarafından devam ettirilir (Lee, 2005; Lievremont ve ark., 1997; Luo ve Lee, 2013). Bunlar arasında GRP78, uygun protein katlanmasını kolaylaştırmak, proteinleri katlanmış durumda tutmak, protein katlanması sırasında ara maddelerinin birikmesini önlemek ve katlanmamış ve/veya yanlış katlanmış proteinleri UPR'yi aktive ederek (Guzel ve ark., 2017) 'ER ile ilişkili degradasyon' (ERAD)'a yönlendirmede önemli rol oynar (Lee, 2005; Hartl, 1996; Kaufman, 1999; Kim ve Arvan, 1998). Bazı durumlarda ise ERAD yerine otofajinin bir türü olan ER-faji mekanizması devreye girmektedir (Ferro-Novick ve ark., 2022).

UPR; ATF6, PERK ve IRE1 adı verilen 3 adet sinyal yolağından oluşur. Fizyolojik durumda bu indükleyiciler GRP78'e bağlanır ve ER'yi stabil tutar. Stres durumunda, katlanmayan/yanlış katlanan proteinlerin birikimi GRP78'i, ATF6, PERK ve IRE1'den ayırır. GRP78'in UPR sinyal kaskadını başlatmasını sağlar (Guzel ve ark., 2017).

GRP78'in endometriyumdaki tam görevi belli olmasa da, menstrual siklus boyunca hem glandular hem de stromal hücrelerde GRP78 ekspresyonu, endometriyumda protein katlanması, intraselüler Ca^{+2} dengesi ve katlanmayan/yanlış katlanan proteinlerin degradasyonu gibi hücresel olayların içerisinde yer aldığını göstermektedir. Bu eylemler sırayla UPR sinyal kaskadının ve hücresel stresin aktivasyonunu önler ve endometriyal doku

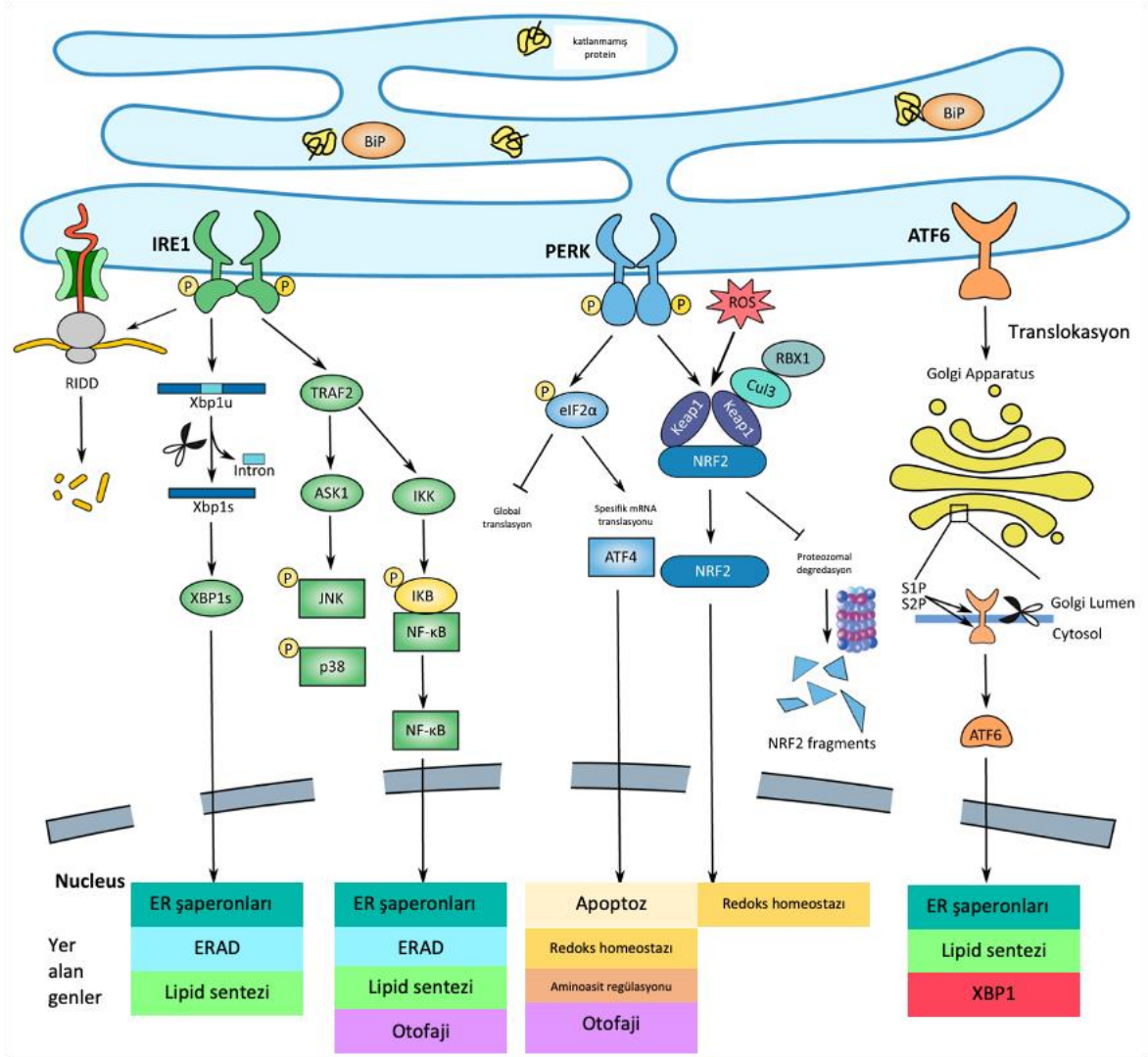
büyümesi ve homeostazın korunmasına katkı sağlar (Guzel ve ark., 2011). Ektopik endometriyumda yüksek GRP78 ekspresyonu, lokal E2 üretimi, anormal seks steroidlerinin üretimi, progesteron direnci ve artan inflamatuvar durumun sonucu olabilir. Bu şiddetli / uzun süreli koşullar, VEGF ekspresyonunu arttırmak ve endometriotik doku büyümesi için gerekli olan anjiyogenezi indüklemek için ER stresi / UPR sinyal kaskadını aktive edebilir. Ayrıca, şiddetli ER stresi durumunda östrojenik yanıtta önemli azalma, endometriyotik dokularda anormal steroid yanıtı katkıda bulunabilir (Guzel ve ark., 2017). E2 ve UPR sinyal yolları arasında negatif iki yönlü etkileşim bulunmaktadır (Guzel ve ark., 2011).

Son çalışmalarda, pelvik endometriyozisin patogenezinde epitelyal-mezenkimal geçiş (EMT) benzeri ve mezenkimal-epitelyal geçiş (MET) benzeri hücresel süreçlerin yanı sıra artmış oksidatif ve ER stres mekanizmalarının etkili olduğu bildirilmiştir (Guzel ve ark., 2011; Matsuzaki ve Darcha, 2012; Guzel ve ark., 2010). GRP78'in endometriyozisteki rolünü belirlemek için endometriyal ve endometriyotik dokularda in situ GRP78 ekspresyonuna bakılmıştır. Sonuç olarak ektopik epitelyal hücrelerde ötopik endometriyuma göre artan GRP78 ekspresyonu ve dolayısıyla ektopik implantta UPR sinyal kaskadının aktivasyonu tespit edilmiştir (Guzel ve ark., 2010). Bunun yanı sıra Taylor ve ark., kültüre edilmiş endometriyal stromal hücrelere tunikamisin uygulayarak ER stresini arttırmış, bu durum VEGF ekspresyonunu arttırmış ve sonuç olarak ektopik implantlarda UPR'nin angiogenezdeki rolü gösterilmiştir. Özetle ER stresi, angiogenezi, hücre sağkalımını ve doku büyümesini destekleyerek endometriyozis patolojisine katkıda bulunmaktadır (Taylor ve ark., 2009).

IRE-1 aracılı UPR sinyal yolağında, GRP78'in ayrılmasıyla IRE-1 molekülleri birbirine yaklaşarak homodimerize olur. Bu dimerler hem serin/treonin kinaz hem de endoribonükleaz aktivitesi gösterir. Endoribonükleaz aktivite sayesinde sitoplazmada bulunan xBP1 mRNA, spliced xBP1 (sxBP1) mRNA'ya dönüşür. Oluşan bu molekül, ER şaperonlarının ekspresyonlarını artırır ve transkripsiyon faktörü olarak görev yaparak, yanlış katlanan proteinlerin degradasyonunda rol alır. Serin/treonin kinaz aktivitesinde ise IRE-1 molekülleri kendilerini otofosforile eder ve sitoplazmada bulunan bir adaptör protein olan TRAF2 ile kompleks oluşturur. Bu kompleks ASK1'i, ASK1 ise JNK molekülünü aktive eder. IRE-1-TRAF2-ASK1-JNK sinyal yolağının NFκB'yi içeren sinyal yollarını aktive ettiği, ROS üretimini arttırdığı ve otofajiyi indüklediği rapor edilmiştir (Kabir ve ark., 2018). Farklı çalışmalarda JNK molekülünün proapoptotik olduğu (Yang ve ark., 2015) ve endometriyozis patolojisinde yer aldığı bildirilmiştir (Liang ve ark., 2017).

PERK (tirozin kinaz) aracılı UPR sinyal yolağında, GRP78'den ayrılan PERK, eIF2- α 'yı fosforile eder ve bu sayede hücredeki protein translasyonu genel olarak durur. Eğer hücre kronik ya da ciddi bir ER stresi altındaysa eIF2- α , ATF4'ü aktive eder. ATF4 de CHOP ekspresyonunu artırır ve sonuçta CHOP-aracılı apoptoz gerçekleşir. Ayrıca PERK molekülünün, mitokondriye Ca^{+2} girişinde anahtar yapı olan mitokondri-ilişkili ER membranı (MAM) ile ilişkili olduğu ve OS üzerinden mitokondriyal stresi teşvik ettiği düşünülmektedir (Dandekar vd., 2015). Endometriyotik hücre hattı ile yapılan bir çalışmada indüklenen ER stresinin GRP78, PERK ve eIF2- α yolağını aktive ettiği rapor edilmiştir (Ryu vd., 2019).

ATF6 aracılı UPR sinyal yolağında; GRP78'in ayrılmasıyla ER membranına tutunur vaziyette bulunan ATF6, Golgi'ye transloke olur. Golgi aygıtında bu proteinin sitozolik kısmı site-1 ve site-2 proteazlar tarafından parçalanır. Bu şekilde aktive olan ATF6 transkripsiyon faktörü olarak nukleusa gider ve sXBP1 ile GRP78 ekspresyonlarını artırır (Dandekar vd., 2015).



Şekil 1.20. ER stresinde aktive olan UPR yolları ve ilişkili hücresel süreçler. (Xiong ve ark., 2021)

1.4.1. ER Stresi İle İlişkili Proteinler

1.4.1.1. ER resident protein 44 (ERp44) (TXNDC4)

ER lümeninde protein katlanması, glikozilasyon, Golgi aygıtına hareket ve hücre dışı matrise katılan yüzlerce moleküler şaperon ve katlama enzimi vardır.

ER'de yerleşik bir protein olan ERp44, ilk defa HeLa hücrelerinde Ero1-La ile birlikte tioredoksin ailesinin ER şaperonu olarak tanımlanmıştır. ERp44, özellikle ER lümeninde, Golgi aparatının bir kısmında ve MAM'de eksprese edilmektedir.

1.4.1.2. Retikülön-3 (RTN3)

Memelilerde ER, kılıf benzeri yapılar (sisterna) ve retiküler ER içerir. ER sisternaları, poligonal tübül ağı tarafından plazma membranına bağlanır. Memeli hücrelerinde, tübüler ER'nin oluşumu ve devamlılığı için, retikülönlar, DP1/Yop1 (oldukça kavisli tübüler ER yapısının stabilizasyonu için gerekli), Atlantin/Sey1 (dinamin-ilişkili GTPaz ailesinin

üyeleri) ve Lunapark1 (antagonistik proteinler) gibi proteinler gerekmektedir (Pina ve ark., 2016).

Retikülon 3 (RTN3), ilk olarak retinadan izole edilmiştir ve başta beyin olmak üzere, insan dokularında yaygın olarak eksprese edilen ve ağırlıklı olarak ER'de lokalize olan retikülon ailesinin bir üyesidir. Önceki çalışmalarda, sitoplazmadaki Ca^{+2} artışının otofajiyi tetiklediği, RTN3'ün ER'deki Ca^{+2} seviyesini düzenlediği, RTN3 ve Bcl-2 arasında ilişki olduğu ve Bcl-2'nin Beclin 1'e bağlanarak otofajiyi inhibe ettiği ve sonuç olarak RTN3'ün ER stresi altında otofajiyi düzenleyebileceği rapor edilmiştir. ER stresi altında RTN3 geni susturulduğunda, otofajinin indüklendiği gösterilmiştir (Chen ve ark., 2011).

Başka bir çalışmada, RTN3'ün ER stresine yanıt olarak aktive olduğu ve sonucunda Bcl-2'nin mitokondriye translokasyonuna ve burada birikimine neden olduğu rapor edilmiştir. Ayrıca, RTN3, ER stresi altında Bcl-2'nin anti-apoptotik aktivitesi için gerekli bir moleküldür. Bu bulgular ışığında, RTN3'ün ER stresine yanıt olarak önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir. Diğer yandan, RTN3'ün aşırı ekspresyonunun, caspase-8 kaskadını aktive ederek apoptozu indüklediği rapor edilmiştir. (Wan ve ark., 2007).

1.4.1.3. Transmembrane emp24 Domain/p24-2 (TMED2) (RNP24)

Fare ve insanlarda 10 adet TMED proteini, dizi benzerliğine göre 4 alt familyaya ayrılmaktadır. TMED 4, 9 ve 11, α alt familyasına; TMED2, β alt familyasına; TMED 1, 3, 5, 6 ve 7, χ alt familyasına ve TMED10 ise δ alt familyasına aittir. Omurgalı TMED β alt ailesinin tek üyesi olan TMED2, embriyolarda ve gelişen plasentada spesifik ekspresyon paterni sergiler, ancak tüm yetişkin organlarda eksprese edilir.

TMED proteinlerinin monomerler, dimerler ve heterodimerler oluşturduğu ve birbirlerinin stabilitesini düzenlediği rapor edilmiştir. Bu nedenle, bir alt ailenin bir üyesinin kaybı, diğer alt ailelerde TMED proteinlerinin kaybına neden olmaktadır. TMED ailesinin üyeleri, ER'den Golgi'ye anterograd transportta, ER lümen proteinlerinin COP II kaplı veziküllere seçilmesi ve paketlenmesinde yer alan kargo reseptörleri olarak görev almaktadır. Maya ve Drosophila'da TMED genlerinin delesyonu veya mutasyonunun, ER stresi ve UPR aktivasyonu ile sonuçlandığı rapor edilmiştir (Hou ve ark., 2017).

1.4.1.4. Transmembrane Protein 33 (TMEM33) (DB83)

TMEM33, ER stresi ile indüklenebilen transmembran ER proteindir ve son dönemlerde yapılan çalışmalar UPR ana yollarından olan PERK ve IRE1 α 'nın düzenleyicisi olduğunu rapor etmektedir. Meme kanseri hücrelerinde TMEM33'ün aşırı ekspresyonunun hem pEIF2 α hem de pIRE1 α 'nın ekspresyonunu arttırdığı tespit edilmiştir. Yine bu hücrelerde

TMEM33'ün aşırı ekspresyonu, CHOP, ATF4, XBP1-S, aktif kaspaz-7 ve otofagozom belirteci olan LC3II'nin ekspresyonunun artışına neden olmuştur (Sakabe ve ark., 2015).

1.4.1.5. Thioredoxin-Related Transmembrane Protein 3 (TMX3) (TXNDC10)

Ökaryotlarda proteomun yaklaşık 1/3'i membran ve sekretuar proteinlerden oluşmaktadır. Bu proteinlerin üretimi ve maturasyonu ER içerisinde, protein disülfid izomeraz (PDI) ailesi gibi katlanma enzimleri ve çeşitli şaperonlar sayesinde gerçekleşir. PDI, proteinler arasında disülfid bağlarının oluşumunu katalizler ve yapısal hataları düzeltir. Bu zamana kadar 20'den fazla PDI ailesine ait üye tanımlanmıştır. Birkaç membran bağlı protein dışında çoğu PDI üyesi ER lümeninde çözülebilir formdadır. TMX ailesi, membrana bağlı 5 üyeden oluşmaktadır (TMX1-5).

Bu ailenin en çok çalışılan ve karakterize edilmiş üyesi TMX1'dir. TMX1, yanlış katlanan proteinlerle etkileşime girmektedir (Guerra ve ark., 2020). TMX3, kalp ve iskelet kası başta olmak üzere çeşitli dokularda eksprese edilmektedir. TMX3'ün hücrelerdeki kesin rolü henüz bilinmemektedir. Ancak stres durumunu azaltarak nöronal atrofiye karşı hücreleri koruduğu rapor edilmiştir (Fox ve ark., 2016). Bunun yanı sıra TMX3 genindeki mutasyon ve delesyonların koroner arter hastalıklarına (Li ve ark., 2018), mikroftalmiye (Chao ve ark., 2010) ve göz gelişiminin yavaşlamasına (Verma ve Fitzpatrick, 2007) neden olduğu çeşitli çalışmalarda belirtilmiştir.

1.4.1.6. DDRGK Domain- Containing Protein 1 (DDRGK1) (UFBP1)

ER, kalsiyumun depolanması, lipidlerin biyosentezi ve salgı ve zar proteinlerinin olgunlaşması ve taşınması gibi sayısız hücresel işlevde kritik bir rol oynar. ER, ERAD ve ER'den Lizozomla İlişkili Bozunma (ERLAD) gibi çoklu kalite kontrol mekanizmaları tarafından sıkı bir şekilde düzenlenir. ER-fajisi sırasında, FAM134B, RTN3L, TEX264 ve ATL3 dahil olmak üzere birçok ER yüzey proteini, LC3/GABARAP etkileşimli bölgeler (LIR'ler/GIM'ler) aracılığıyla spesifik reseptörler olarak görev alırlar. ER-faji için ubiquitin-benzeri bir post-translasyonel modifikasyon olan UFMilasyon gereklidir ve ufimilasyon ER stresi altında indüklenir. UFMilasyona bağlı ER-faji, yanlış katlanmış proteinlerin birikmesine yol açar ve IRE1a sinyal yolağıyla UPR'yi indükler (Liang ve ark., 2020).

DDRGK1, ER stresi tarafından indüklenen, yeni tanımlanmış ER-ilişkili proteindir ve ufimilasyonda görev almaktadır. Aynı zamanda LIR/GIM reseptörleri aracılığıyla ER-faji için özel olarak gerekli bir moleküldür. Son zamanlarda yapılan çalışmalar DDRGK1'in,

ER α transaktivasyonu ve meme kanseri ilerleyişini hedef alan Ufm1 (ubiquitin-fold modifier 1) sisteminin önemli bir bileşeni olduğunu rapor etmiştir (Liu ve ark., 2016).



2. AMAÇ

Yukarıdaki bilgileri özetlemek gerekirse, endometriyozisin patolojisi üzerine yapılan çalışmalar daha çok endometriyumda bulunan matür hücreler üzerinde yoğunlaşmıştır, ancak bugüne kadar bu patolojinin altında yatan mekanizma tam olarak açıklanamamıştır. Özellikle son yıllarda endometriyal kök hücrelerin endometriyozis etiyolojisine neden olduğu yönünde bulgular ortaya konmakla birlikte bu hücrelerin neden ve hangi mekanizmalarla bu hastalıkta rol oynadığı tam olarak aydınlatılamamıştır. Ayrıca endometriyozis patolojisinde görülen bozulmuş apoptotik yollar, artan proliferasyon, OS ve inflamasyon gibi bulgulara da eMKH'lerin rolü bilinmemektedir. Bu patogenezi mekanizmasını aydınlatmak amacıyla özellikle kök hücrelerin üzerinde durulması gerekmektedir. Yine literatürde bazı hastalıkların etiyopatogenezinde ER stresinin rol oynadığı görülmektedir.

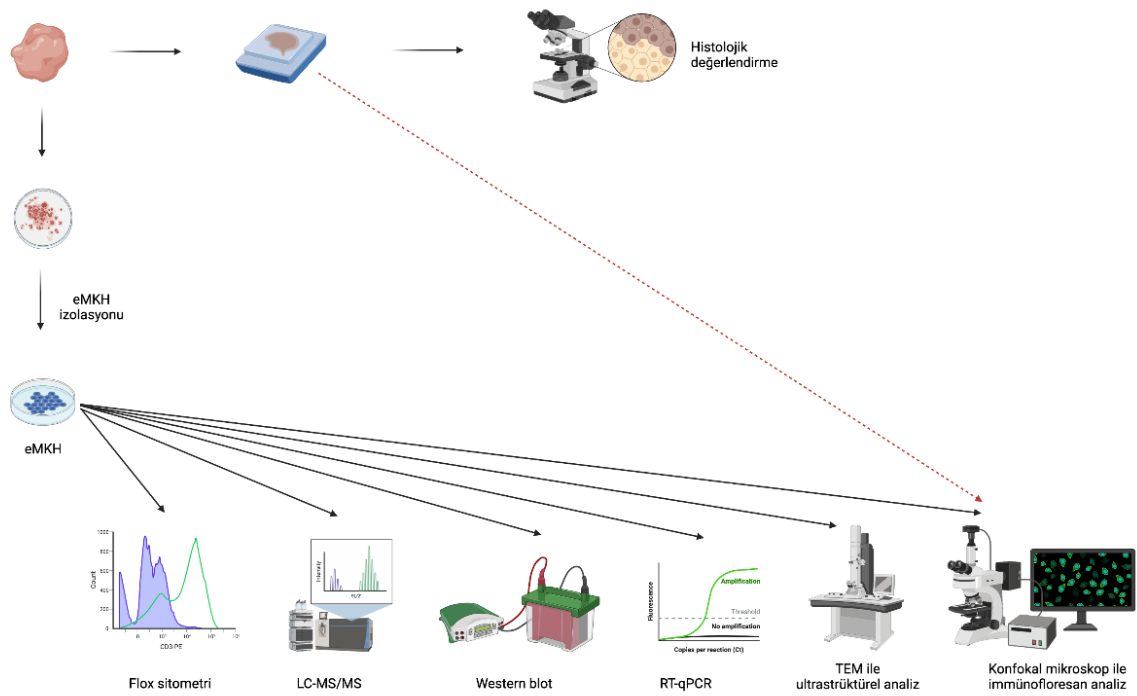
Bizim bu çalışmadaki amacımız; endometriyozisli hastaların ötopik ve ektopik endometriyumundan örnek alarak, buradaki kök hücreleri izole etmek ve kök hücrelerdeki olası ER stresini araştırarak, ilişkili protein ve genlerin hücresel süreçlerle ilişkisini ortaya koymaktır. Bu sayede endometriyozis patolojisinin altında yatan mekanizmanın açığa çıkartılmasına yardımcı olarak; endometriyal reseptivite, desidualizasyon ve bu süreçlerdeki bozukluklarla ilişkili birçok hastalığa da ışık tutmayı hedeflemekteyiz.

3. YÖNTEM

Çalışma için Kocaeli Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan 2020/551 no'lu proje için "KU GOKAEK 2020/4.01 sayılı karar numarası ile onay alındı, tüm çalışmalar etik kurul ilkelerine uygun olarak gerçekleştirildi.

3.1. Deney Gruplarının Oluşturulması ve Deney Planı

İlk olarak hasta kriterlerine uygun doku örnekleri toplanmıştır. In vitro deneylerde, örneklerden eMKH izolasyonu yapılmıştır (Dominici ve ark., 2006). İzole edilip çoğaltılarak Pasaj 3'e getirilen hücrelerin flow sitometri yöntemiyle karakterizasyonu yapılmıştır. Karakterizasyonda eMKH belirteçleri olan (CD29, CD44, CD73, CD90, CD105, CD146, PDGFR- β)⁺ ve (CD31, CD34, CD45)⁻ ekspresyonları değerlendirilmiştir (Gargett vd., 2016). İzole edilen hücrelerin mezenkimal kök hücre olduğunu kanıtlamak için farklılaştırma deneyleri yapılmıştır. Bu amaçla, hücreler farklılaştırma besiyerlerinin etkisiyle osteojenik, kondrojenik ve adipojenik farklılaşmaya yönlendirilmiştir (Zuk ve ark., 2002). Daha sonra, farklılaşan hücrelerde osteogenezi göstermek için Alizarin Red S, kondrogenez için Alcian blue ve adipogenez için Oil Red O boyamaları yapılmıştır (Ciuffreda ve ark., 2016). İzole edilen hücrelerin MKH olduğu kanıtlandıktan sonra, ER stresinin varlığını ve gruplar arasındaki farklılığını doğrulamak üzere, en iyi tanımlanmış ER şaperon proteini olan GRP78 (İbrahim ve ark., 2019) ekspresyonu, immünofloresan yöntemle incelenmiştir ve sonrasında proteomiks yöntemiyle kontrol grubuna göre transkripsiyon seviyesi değişen ER stres-ilişkili proteinler belirlenmiştir. Western blotting yöntemiyle bu proteinlerin miktarı gösterilmiş ve bu proteinleri kodlayan genlerin seviyeleri RTq-PCR yöntemiyle analiz edilmiştir. Ayrıca bu hücrelerde, proteomiks analizi sonucu tespit edilen ER stresi ile ilişkili proteinler de yine immünofloresan yöntemle incelenmiş ve konfokal mikroskop ile görüntülenmiştir. Bunun yanı sıra eMKH'lerin morfolojisi ve organelleri (özellikle ER) ultrastrüktürel olarak geçirimli elektron mikroskopunda değerlendirilmiştir. Her ne kadar literatür incelemesinde buna ilişkin bir veriye rastlamasak da, in vitro deneylerde hücre pasajlaması sırasında ortamın, ER stresini azaltıcı yönde etki gösterebileceği ihtimali değerlendirilerek, sağlıklı, ötopik ve ektopik endometriyum dokularında, tek başına eMKH belirteci olarak gösterilen SUSD2 ile proteomiks analizi sonucu transkripsiyonu artmış olan ER stres proteinlerinin immünofloresan yöntemle ikili boyaması gerçekleştirilmiştir. Bu sayede eMKH'lerdeki ER stresi ile ilgili proteinlerin ekspresyonu hücre kültürünün yanı sıra dokuda da gösterilmiştir.



Şekil 3.1. Deney planı. Biorender (www.biorender.com/) kullanılarak oluşturulmuştur.

3.2. *In vitro* Yöntemler

Kontrol grubuna ait sağlıklı endometriyum dokuları (n=13); endometriyozis, adenomyozis veya hiperplastik endometriyal hastalığı olmayan, düzenli menstrual siklusa sahip ve önceki 3 ayda hormonal veya immünomodülatör tedavi almayan benign jinekolojik durumlar için laparoskopi veya histerektomi uygulanmış sağlıklı, fertil kadınlardan alınmıştır. Çalışmaya katılacak gönüllülerin menstrual siklus fazları tespit edilmiş, östrojen ve progesteron hormonlarının eMKH'ler üzerindeki etkisini görmek için hem proliferatif (1-14. günler) hem de sekretuar fazlara (15-28. günler) ait hasta örnekleri toplanmıştır (Choi ve ark., 2018).

Deney grubuna ait endometriyum örnekleri (ötopik n=7; ektopik n=13), laparoskopik ve patolojik inceleme sonucu endometriyozis teşhisi konmuş ve son 3 ayda hormonal veya immünomodülatör tedavi almamış hastaların ötopik ve ektopik endometriyumundan oluşmaktadır. Kontrol grubunda olduğu gibi hem proliferatif hem sekretuar fazlara ait hasta örnekleri toplanmıştır.

Örnekler, Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Poliklinikler'inde yapılan operasyonlardan temin edilmiştir. Ektopik endometriyal örnekler laparoskopi ile, ötopik endometriyal örnekler ise kontrol grubunda laparoskopi veya

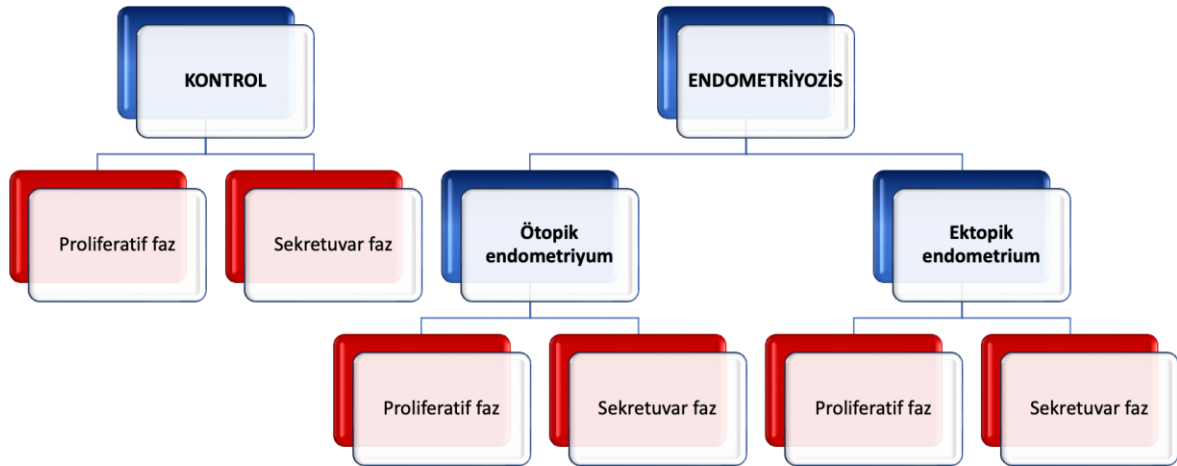
histerektomi ile, endometriyozisli hasta grubunda ise biyopsi küreti ile elde edilmiştir. Elde edilen örnekler ikiye ayrılmıştır. *In vitro* deneylerde kullanılacak olanlar Hank'ın dengelenmiş tuz solusyonu (HBSS) içerisine alınarak hızla Kocaeli Üniversitesi Kök Hücre ve Gen Tedavileri Araştırma ve Uygulama Merkezi (KÖGEM) laboratuvarlarına transfer edilmiştir (Choi ve ark., 2019). Histokimya ve immünohistokimya deneyleri için kullanılacak olan örnekler ise doku takibi yapılmak üzere %10'luk nötral tamponlanmış formalin solüsyonu içerisine alınarak fikse edilmiştir.

3.2.1. Kriterlere Uygun Hasta Örneklerinin Toplanması

Kontrol grubuna ait sağlıklı endometriyum dokuları; endometriyozis, adenomyozis veya hiperplastik endometriyal hastalığı olmayan, düzenli menstrual siklusa sahip ve önceki 3 ayda hormonal veya immünomodülatör tedavi almamış, benign jinekolojik durumlar için laparoskopi veya histerektomi uygulanmış, sağlıklı, fertil kadınlardan elde edilmiştir. Çalışmaya katılacak gönüllülerin menstrual siklus fazları tespit edilmiş, östrojen ve progesteron hormonlarının eMKH'ler üzerindeki etkisini görmek için hem proliferatif (1-14. günler) hem de sekretuar fazlara (15-28. günler) ait (ayrı hastalardan alınmış) örnekler toplanmıştır (Choi ve ark., 2018).

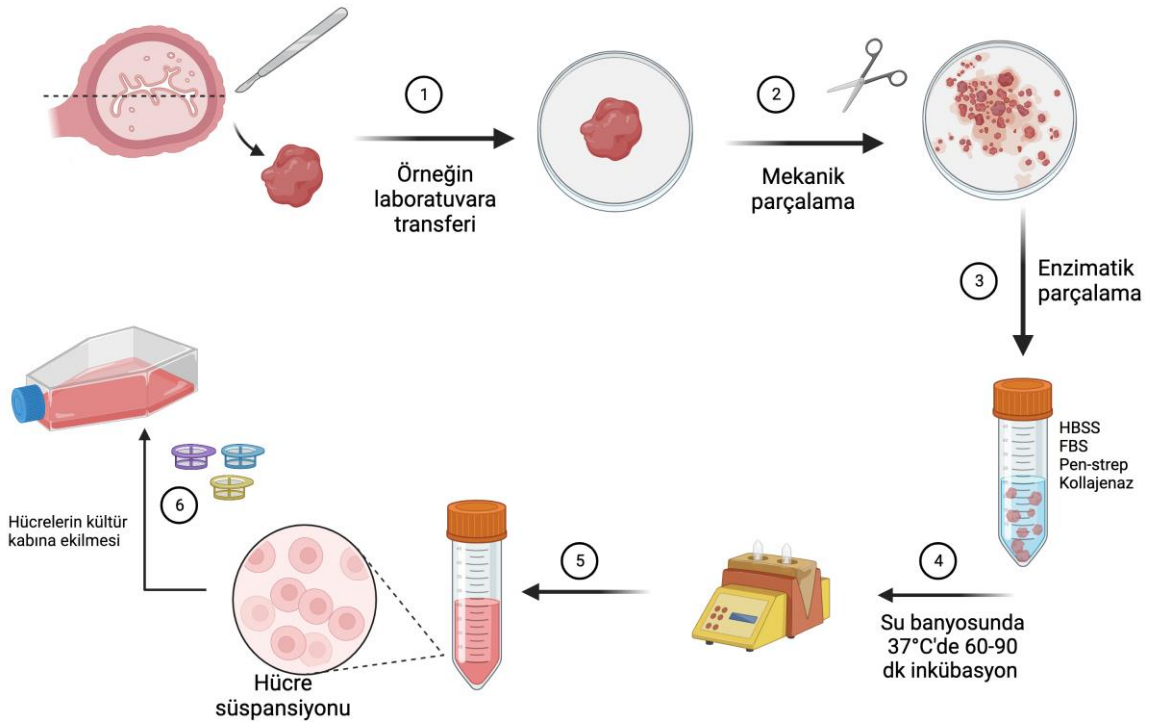
Deney grubuna ait endometriyum örnekleri, laparoskopik ve patolojik inceleme sonucu endometriyozis teşhisi konmuş ve son 3 ayda hormonal veya immünomodülatör tedavi almamış hastaların ötopik ve/veya ektopik endometriyumundan elde edilmiştir. Kontrol grubunda olduğu gibi hem proliferatif hem sekretuar fazlara ait hasta örnekleri toplanmıştır.

Tablo 3-1. Deney Grupları



3.2.2. Endometriyal ve endometriyotik eMKH'lerin İzolasyonu

Sağlıklı, ötopik ve ektopik endometriyal doku örnekleri, mekanik olarak 1-2 mm³'lük parçalara ayrıldıktan sonra; Hank's Balanced Salt Solution (HBSS), Fetal Bovine Serum (FBS), penisilin-streptomisin ve kollajenaz enzimi içeren solüsyon içerisinde, 37°C'lik su banyosunda, 60-90 dk inkübe edilmiştir. Ardından sırasıyla, 100-, 70-, 40- µm por çaplı filtrelerden geçirilerek hücre agregatları ve epitelyal hücrelerin ortamdan uzaklaştırılması sağlanmıştır. Elde edilen endometriyal hücreler, kültür kaplarında, Dulbecco's Modified Eagle Medium: Nutrient Mixture F-12 (DMEM/F12), %10 FBS ve %1 penisilin-streptomisin (10.000c U/ml) içeren besi ortamına ekilerek çoğaltılmıştır. Hücreler 37°C'de %5 CO₂ içeren ortamda inkübe edilmiştir. Hücrelerin besi ortamı, iki ila üç günde bir PBS ile yıkandıktan sonra yeni besi ortamı ile değiştirilmiştir. Hücreler kültür kabınının %70 ila %80'ini doldurduklarında %0,25 Trypsin/EDTA ile kaldırılarak pasajı yapılmıştır. Pasaj 3'te hücrelerin flow sitometri yöntemiyle karakterizasyonu yapılmıştır.



Şekil 3.2. Endometriyal ve endometriyotik dokudan eMKH izolasyonu. Biorender (www.biorender.com/) kullanılarak oluşturulmuştur.

3.2.3. eMKH'lerin Flow Sitometri Analizi

Pasaj 3'e getirilen hücreler, %0,25 Trypsin-EDTA solüsyonu ile muamele edilerek kaldırılmış, 1600 rpm'de 5 dk sentrifüj edildikten sonra 2ml PBS tampon çözeltisi ile iki kez

yıkanmıştır. 1×10^6 hücre/ml olacak şekilde PBS içerisinde süspanse edilen hücreler flow sitometri tüplerine 100'er µl dağıtılmış, üzerine üreticinin belirttiği miktarda floresan işaretli monoklonal antikorlar [CD45 FITC (BD 55482; BD Biosciences, USA), HLA-DR FITC (BD 340688; BD Biosciences, USA), CD 44 FITC (BD555478; BD Biosciences, USA), CD34 PE (BD 345802; BD Biosciences, USA), CD29 PE (BD 555443; BD Biosciences, USA), CD73 PE (BD 550257; BD Biosciences, USA), CD140b PE (BD558821; BD Biosciences, USA), CD146 PE (BD 550315; BD Biosciences, USA), CD 105 PE (BD 560839; BD Biosciences, USA), CD90 (555596; BD Biosciences, USA), CD31(555446; BD Biosciences, USA)] eklenerek 30 dk oda sıcaklığında karanlık ortamda inkübe edilmiştir. Süre sonunda hücreler 2 ml PBS ile yıkanarak 1600 rpm de santrifüj edilmiştir. Hücre pelleti 0,5 ml PBS ile süspansiyon haline getirilerek Becton Dickinson FACS Calibur akım sitometri cihazında okutulmuştur. Analizler, Cell Quest Pro yazılımı ile yapılmıştır.

3.2.4. eMKH'lerin Farklılaştırma Deneyleri

İzole edilen ve flow sitometri ile karakterizasyonu yapılan hücrelerin kök hücre olduğunu kanıtlamak için osteojenik, adipojenik ve kondrojenik farklılaştırma deneyleri gerçekleştirilmiştir.

3.2.4.1. Osteojenik Farklılaştırma

Pasaj 3'ten sonra flow sitometri ile karakterizasyonu yapılmış olan kök hücreler, kültür kabının 1 cm^2 'sinde yaklaşık olarak 3×10^3 adet hücre olacak şekilde, normal besiyeri kullanılarak yuvarlak cam lamel üzerine ekilmiştir. Sonrasında hücreler, 28 gün boyunca, osteojenik farklılaşmayı indükleyen eklentiler [(100 nM dexamethasone, 0,05 µM ascorbate-2-phosphate, 10 mM β-glycerophosphate, %1 penisilin-streptomisin] ve %10 FBS eklenmiş DMEM-F12 ile kültüre edilmiştir. 28 gün sonunda hücrelerin farklılaşmasını tespit etmek için Alizarin Red S boyaması yapılarak ve ışık mikroskopunda görüntüleme gerçekleştirilmiştir (Karaoz ve ark., 2009).

3.2.4.1.1. Alizarin Red S boyaması

Alizarin Red S boyaması kit protokolüne uygun olarak gerçekleştirilmiştir (Alizarin Red Staining Kit, ScienCell, Cat #0223). Kültür medyumunu aspire edildikten sonra hücreler 1 ml PBS ile yıkanmıştır. Ardından %4 PFA ile 15 dk oda sıcaklığında fiksasyon gerçekleştirilmiştir. Fiksatif ortamdan uzaklaştırıldıktan sonra 3 kez deiyonize su (diH_2O) ile yıkama yapılmıştır. Deiyonize su nazıkçe çekildikten sonra, yavaşça 1 ml %2 'lik Alizarin Red S solüsyonu hücrelerin bulunduğu kuyucuklara eklenmiştir. Solüsyon içerisinde, 30 dk oda sıcaklığında bekletildikten sonra, boya ortamdan uzaklaştırılmış ve 3-

5 kez diH₂O ile kuyucuklar yıkanmıştır. 1 ml diH₂O içerisinde örneklerin kurumaması sağlanarak görüntüleme gerçekleştirilmiştir.

3.2.4.2. Adipojenik Farklılaştırma

Pasaj 3'ten sonra flow sitometri ile karakterizasyonu yapılmış olan kök hücreler, kültür kabının 1 cm²'sinde yaklaşık olarak 3x10³ adet hücre olacak şekilde normal besiyeri kullanılarak yuvarlak cam lamel üzerine ekilmiştir. Sonrasında hücreler, üç hafta boyunca adipojenik farklılaşmayı indükleyen eklentiler [(1mM deksametazon, 0,5mM isobutilmetilksantin (IBMX), 50µM indometazin), %1 penisilin-streptomisin] ve %10 FBS içeren DMEM-F12 besi ortamında kültüre edilmiştir. 21 günün sonunda lameller kültür ortamından alınıp, üç kez PBS ile yıkanıp, boyama kiti içerisinde yer alan fiksatifle fiks edilmiştir. Ardından hücre içerisindeki yağ veziküllerinin görünmesini sağlayan Oil Red O boyası ile boyanarak ışık mikroskopunda görüntülenmiştir (Karaoz ve ark., 2009).

3.2.4.2.1. Oil Red O boyaması

Oil Red O boyaması kit protokolüne uygun olarak gerçekleştirilmiştir (Oil Red O Staining Kit, ScienCell, Cat #0843). Boyama işlemine başlamadan önce Oil Red O Stok-diH₂O (3:2 oranında) ile hazırlanan çalışma solüsyonu filtreden geçirilerek kullanıma hazır hale getirilmiştir.

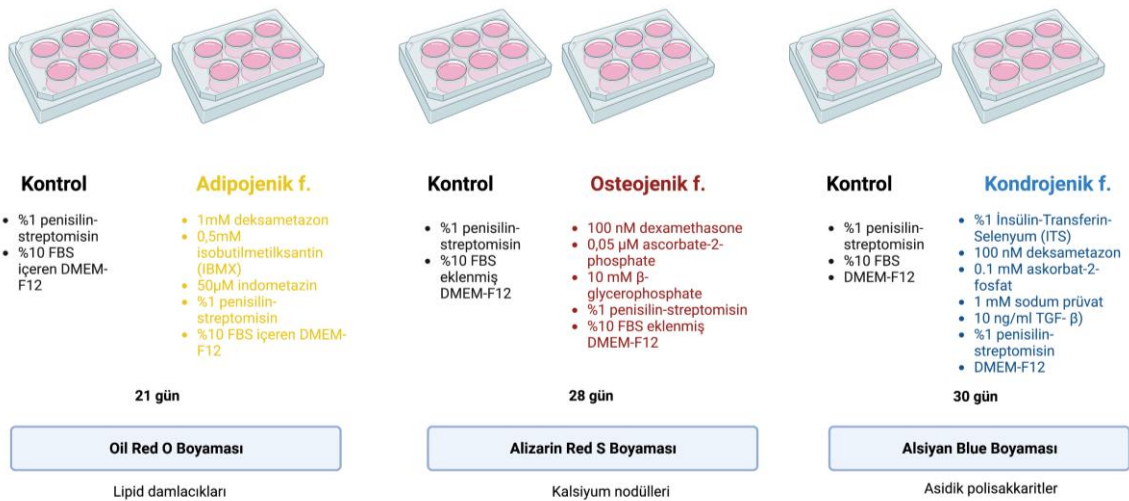
Kültür medyumunu aspire edildikten sonra hücreler 1 ml PBS ile yıkanmıştır. Ardından kit içerisinde yer alan fiksatif ile 15 dk oda sıcaklığında fiksasyon gerçekleştirilmiştir. Fiksatif ortamdan uzaklaştırıldıktan sonra 3 kez diH₂O ile yıkama yapılmıştır. Deiyonize su nazıkçe çekildikten sonra, taze hazırlanmış, Oil Red O içeren çalışma solüsyonu hücrelerin bulunduğu kuyucuklara yeterli miktarda eklenmiştir. Hücreler, solüsyon içerisinde, 15 dk oda sıcaklığında bekletildikten sonra, boya ortamdan uzaklaştırılmış ve 5 kez diH₂O ile kuyucuklar yıkanmıştır. 1 ml diH₂O içerisinde örneklerin kurumaması sağlanarak ışık mikroskopunda görüntüleme gerçekleştirilmiştir.

3.2.4.3. Kondrojenik Farklılaştırma

Pasaj 3'ten sonra flow sitometri ile karakterizasyonu yapılmış olan kök hücreler, kültür kabının 1 cm²'sinde yaklaşık olarak 3x10³ adet hücre olacak şekilde normal besiyeri kullanılarak yuvarlak cam lamel üzerine ekilmiştir. Sonrasında hücreler bir ay boyunca kondrojenik farklılaşmayı indükleyen eklentiler [%1 İnsülin-Transferin-Selenyum (ITS), 100 nM deksametazon, 0.1 mM askorbat-2-fosfat, 1 mM sodum prüvat ve 10 ng/ml TGF-β] ve %1 penisilin-streptomisin] içeren DMEM-F12 besi ortamında kültüre edildi. 30. günün sonunda hücreler Alcian blue ile boyanarak ışık mikroskopunda görüntülenmiştir.

3.2.4.3.1. Alcian Blue boyaması

Alcian blue boyaması kit protokolüne uygun olarak gerçekleştirilmiştir (Alcian Blue pH 2.5, Atom Scientific, RRSK400-100). Kültür medyumunu aspire edildikten sonra hücreler 1 ml PBS ile yıkanmıştır. Ardından %4 PFA ile 15 dk oda sıcaklığında fiksasyon gerçekleştirilmiştir. Fiksatif ortamdan uzaklaştırıldıktan sonra 3 kez diH₂O ile yıkama yapılmıştır. Deiyonize su nazıkçe çekildikten sonra, %1'lik Alcian blue solüsyonu hücrelerin bulunduğu kuyucuklara eklenmiştir. Solüsyon içerisinde, 30 dk inkübasyonun ardından %0,5 neutral red ile 5 dk boyama gerçekleştirilmiştir. Boya ortamdan uzaklaştırıldıktan sonra ve 3-5 kez diH₂O ile kuyucuklar yıkanmıştır. Yükselen alkol serilerinden geçirilen cam lameller tolüen içerisinde alınmış ve kapatma işleminin ardından ışık mikroskopunda incelenmiştir. Nükleus ve sitoplazma kırmızı renkte boyanırken, glikozaminoglikanlar gibi asidik polisakkaritler ve bazı siyalomusin yapıları mavi-yeşil renkte boyanmaktadır (Karaoz ve ark., 2009).



Şekil 3.3. eMKH'lerin adipojenik, osteojenik ve kondrojenik farklılaştırma deneyleri. Biorender (www.biorender.com/) kullanılarak oluşturulmuştur.

3.3. eMKH'lerin Proteomiks Analizi

Çalışmada, sağlıklı ve endometriyozisli kadınlardan elde edilen dokulardan izole edilen eMKH'lerde ER stresi ile ilgili miktarı değişen proteinleri daha detaylı ve kapsamlı incelemek amacıyla proteomiks analizi yapılmıştır. Proteomiks analizi için uygulanacak basamaklar şu şekildedir:

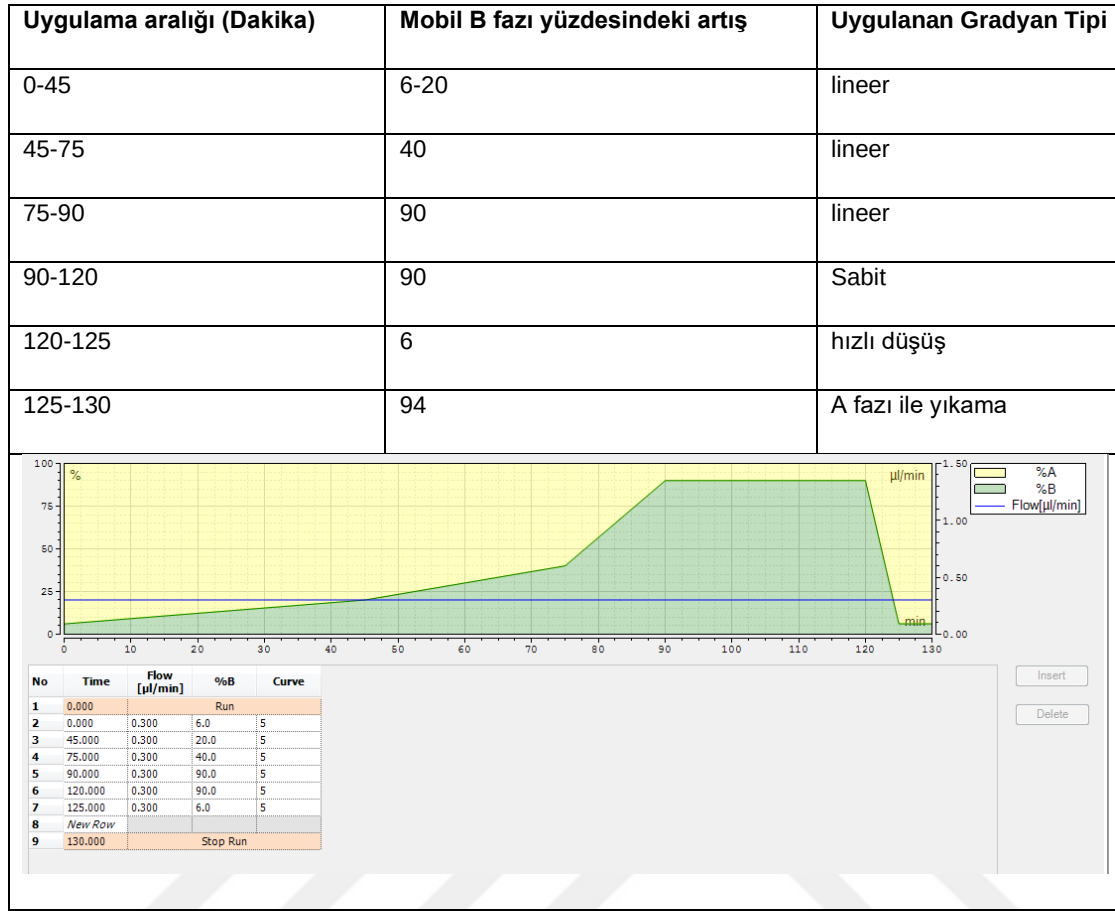
3.3.1. Proteinlerin Kütle Spektrometre Analizine Hazırlanması

Proteinlerin kütle spektrometresine hazırlığında FASP protokolü kullanılmıştır. FASP protokolü özetle şu şekilde uygulanmıştır: İçeriği %4 (w/v) SDS, 100 mM Tris-HCl, 0.1 M

DTT'den oluşan SDT liziz tampon, hücre pellet ağırlığının 10 katı olacak şekilde örnek üzerine eklenmiştir. Sonrasında örnekler 95°C'de 10 dk aralıklı olarak vorteksenerek ısıtılmıştır. Isıtma işlemi sonrasında sonikasyonlu su banyosunda 5 dk boyunca sonikasyona tabi tutulan örnekler 15000 xg'de, 4°C'de 15 dk santrifüj edildikten sonra elde edilen supernatan temiz bir tüpe aktarılmıştır. Temizlenmiş bu protein örneği protokole tarif edildiği gibi triptik kesim işlemine tabi tutulmuş ve peptit konsantrasyonu uygun bir ölçüm yapılarak değerlendirilmiştir.

3.3.2. LC-Parametreleri

Peptitlerin sayırımı Thermo Scientific Dionex Ultimate 3000 Series RSLC marka bir nano-pompa ile gerçekleştirilmiştir. Bu nano pompa Thermo Scientific Ultimate 3000 Series TCC-3000RS kolon kompartmanları ile donatılmış olup yine Thermo Fisher Scientific marka Dionex UltiMate 3000 Series RS oto-örnekleme ünitesine bağlıdır. Sistemin tamamı Xcalibur 4.0 (Thermo Fisher Scientific, US) yazılımı ile kontrol edilmiştir. Her bir analiz öncesinde örnekler 5mm × 300 µm i.d., 5 µm, 100 Å (Thermo Scientific, US) boyutlarındaki bir C18 materyali içeren yakalama kolununa dakikada 5 mikrolitre hızla ve %0.05 (hacim/hacim) trifloroasetik asit ve %1 asetonitril içeren çözelti yardımı ile yüklenmişlerdir. Örnek, yakalama kolonu sonrasında boyutları 15 cm × 75 µm olan ve 2 µm, 100 Å çapında C18 materyali ile paketlenmiş Acclaim PepMap RSLC (Thermo Scientific, US) marka analitik bir kolona aktarılmış ve peptit elüsyonu iki farklı mobil faz (A ve B) kullanılarak yapılmıştır. Mobil faz A HPLC kalitesinde su ile hazırlanmış %0.1 (hacim/hacim)'lik formik asit içerirken mobil faz B HPLC kalitesinde su ile hazırlanmış %0.1 (hacim/hacim)'lik asetonitril içermektedir. Peptitler 130 dk süreyle ve dakikada 0.3 mikrolitre akış hızıyla ayrıştırılarak Thermo Q-exactive marka kütle spektrometresine gönderilmişlerdir. Elüsyon için uygulanacak gradyan adımları Tablo 3.2'de verilmiştir.

Tablo 3-2. nHPLC’de analitik kolona uygulanacak olan mobil fazların gradiyentleri

Kolon sıcaklığı 40°C’de tutulmuş ve her analizde 2 mikrolitre örnek enjeksiyonu yapılmıştır. Peptitlerin pozitif yük okuma modunda iyonizasyonunu sağlayabilmek için ısıtılmış bir elektrospray iyonizasyon kaynağı (HESI) kullanılmıştır. Kullanılan cihazın parametreleri şu şekildedir: +2.3 kV voltaj; 300°C kapiler sıcaklığı, sheet gaz ve auxiliary gaz akışı 50 ve 30 ünite civarında tutulmuş; S ve RF lens seviyeleri 50’ye set edilmiştir.

3.3.3. Data-Bağımlı Veri Toplama

Data bağımlı veri toplama işlemi Q-exactive cihazı ile yapılmıştır. Tarama işlemi başlangıçta Full MS spektrum modunda şu parametrelerde kullanılmıştır: Çözünürlük 70.000, tarama aralığı 400-200 m/z, 3×10^6 hedef otomatik kazanım kontrolü (AGC), 60ms maksimum enjeksiyon zamanı ve sentroid data tipi. MS/MS analizi için MS sonucuna bağlı olarak en yüksek 10 prekürsör iyon seçilmiş (TOP10) ve bu iyonlar yüksek enerjili kollizyon ayırımı (HCD) sonrası okutulmuştur. HCD parametreleri şu şekilde olacaktır: Çözünürlük 17.500, 1×10^5 AGC, 100 ms maksimum enjeksiyon zamanı, 2 m/z izolasyon penceresi, NCE 27 ve sentroid spekturm data tipi olarak toplama. Cihazın kalibrasyonu pozitif moda her bir enjeksiyon öncesi standart pozitif kalibrant (LTQ Velos ESI Positive Ion Calibration

Solution 88323, Pierce, US) kullanılarak yapılmıştır. Eşleştirilmemiş ve tek yüklü iyonlar MS/MS analizinden çıkartılmış ve dinamik dışlama otomatik olarak yapılmıştır.

3.3.4. Protein ve Peptit Tanımlama

LC-MS/MS analizi sonucunda elde edilen işlenmemiş veriler protein tanımlama amaçlı Proteom Discoverer 2.2 (Thermo Scientific, ABD) yazılımı ile analiz edilmiştir. Bu amaçla şu parametreler kullanılmıştır: Peptid kütle toleransı 10ppm, MS/MS kütle toleransı 0.2Da, kütle doğruluğu 2ppm, tolere edilen yanlış kesim 1, minimum peptid uzunluğu 6 amino asit, sabitlenmiş değişimler sisteyinin karbamidometilasyon, sabit olmayan değişimler metiyonin oksidasyonu ve asparajinin deaminasyonu. Her bir protein için tanımlanan minimum peptid sayısı 2 olarak kabul edilmiştir ve veriler uniprot/swissprote data bankasında bulunan organizma özel verilerine göre araştırılmıştır.

Proteinlerin LC-MS/MS analizleri sonucunda elde edilen datalar kullanılarak yapılan label-free kuantifikasyon yöntemi sonucunda, kontrol grubuna göre protein seviyesindeki artış veya azalışlar belirlenmiş; proteinlerdeki kat artışı veya azalışı açısından 5 üzeri ve 0,2 altı kat değişimi anlamlı olarak kabul edilmiştir.

3.4. eMKH'lerin İmmunofloresan Boyaması

Flow sitometri ile karakterizasyonu yapılmış olan eMKH'ler, yuvarlak cam lamel üzerine ekilmiştir. Yapışan hücreler % 4'lük PFA ile fiks edildikten sonra PBS ile yıkanmıştır. %0.2 Triton X ile permeabilizasyon işleminin ardından tekrar PBS ile yıkama işlemi gerçekleştirilmiştir. Spesifik olmayan bağlanmaları engellemek için blocking solüsyonu ile muamele edilen hücreler, ardından +4°C'de primer antikorlar (TMEM33 rabbit polyclonal antibody, NBP3-17553, Novus Biologicals, 1:200 dilüsyon; TMED2 rabbit polyclonal antibody, NBP1-80963, Novus Biologicals, 1:200 dilüsyon; DDRGK1 rabbit polyclonal antibody, 21445-1-AP, Proteintech, 1:50 dilüsyon; TXNDC4 rabbit polyclonal antibody, 16016-1-AP, Proteintech, 1:50 dilüsyon; RTN3 rabbit polyclonal antibody; 12055-2-AP, Proteintech, 1:100 dilüsyon; TMX3 mouse monoclonal antibody, sc515248, SantaCruz Biotechnology) ile ayrı ayrı overnight inkübe edilmiştir. Sonrasında PBS ile yıkanan hücrelere karanlıkta, oda sıcaklığında sekonder antikor uygulanmıştır. Tekrar PBS ile yıkama işleminden sonra DAPI içeren medyum ile kapatma işlemi gerçekleştirilmiştir. Örnekler lazer taramalı konfokal mikroskopta (Leica TCS SP8), LAS X (Leica Application Suite for Advanced Fluorescence) programı ile incelenmiştir. İlgili belirteçlerin ekspresyon şiddeti ImageJ programı ile analiz edilmiştir.

3.5. Western Blotting Analizi

3.5.1. eMKH'lerden Protein İzolasyonu

Hücreler, proteaz inhibitör kokteyli eklenen RIPA (Radioimmunoprecipitation) tamponu ile lizis işlemine tabi tutulduktan sonra 0,2-0,5 mm'lik beadlerle birlikte santrifüj edilmiş ve elde edilen supernatantlar temiz tüplere aktarılmıştır.

3.5.2. Protein Örneklerin Konsantrasyon Tayini

Elde edilen örneklerin protein konsantrasyonu Bradford yöntemi kullanılarak ölçülmüştür. Bu yöntemde, 1 µl protein örneğinin üzerine 19 µl 2D buffer ve 980 µl Bradford boyası eklenerek NanoDrop 1000 3.8.1 cihazı ile protein konsantrasyonlarının ölçümü yapılmıştır. Sonrasında, her grup için, o grupta yer alan tüm örnekler birleştirilerek havuz oluşturulmuştur.

3.5.3. Protein Örneklerin Jel Elektroforezi

Protein konsantrasyonlarının doğru ölçülüp ölçülmediğini ve protein kalitesinin doğruluğunu belirlemek için SDS-PAGE (Sodyum Dodesil Sülfat– Poliakrilamid Jel Elektroforezi) (1D) yapılmıştır. Yürütme (%12'lik) ve yükleme (%4'lük) jelleri hazırlandıktan sonra, 95 °C' de 5 dk kaynatılarak denaturasyonları sağlanan protein örneklerden, her kuyucuğa 20 µg örnek yüklenmiştir. Yüklenen örnekler Tetracell (BioRad) cihazında 180 V'de 1 saat yürütülmüştür. Uygun bantlar elde edildikten sonra yeniden 1 mm kalınlığında jel (yükleme ve yürütme) dökme işlemi gerçekleştirilmiştir. Her jelin ilk kuyucuğuna protein ladder yüklenmiş; diğer kuyucuklara ise her gruba ait havuzdan ayrı ayrı 20'şer µg örnek yüklenmiştir. 180 V'de 1 saat jelde yürütme işlemi gerçekleştirilmiştir.

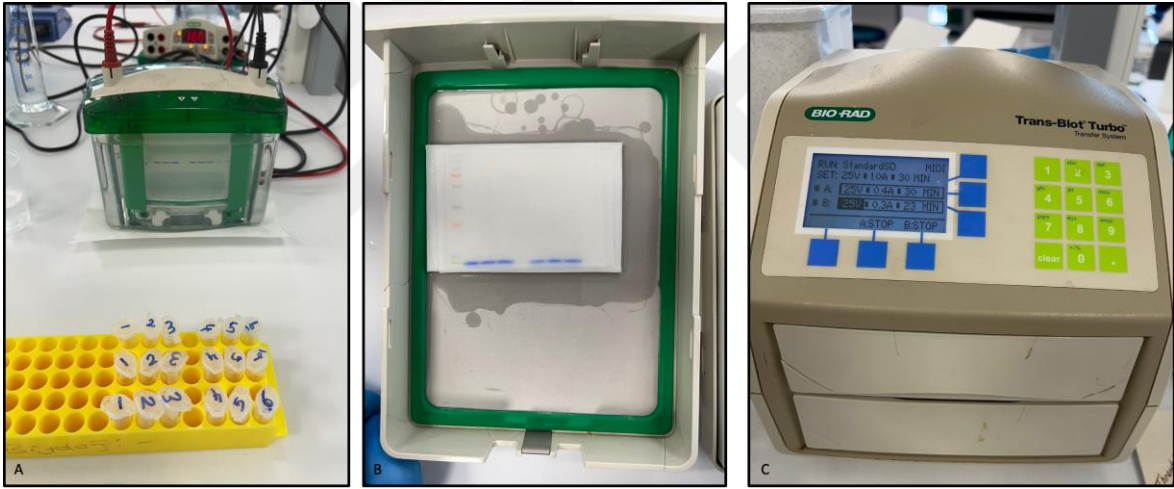
3.5.4. Proteinlerin Jelden Nitroselülöz Membrana Aktarılması

Yürütme işleminin ardından jeller nazıkçe kasetlerden çıkartılmıştır. Sırasıyla; whatman kağıdı-nitroselülöz membran-jel-whatman kağıdı üst üste sandviç şeklinde dizilerek Trans-blott SD Semi-Dry Turbo (BioRad) cihazına yerleştirilmiş ve 20V'de 30 dk boyunca proteinlerin jelden membrana transferi sağlanmıştır. Transferin gerçekleştiğini saptamak için, nitroselülöz membran Ponceau-S ile boyanmış; bantlar görüldükten sonra membran distile su ile yıkanmıştır.

3.5.5. Membranda İlgili Proteinlerin Görüntülenmesi

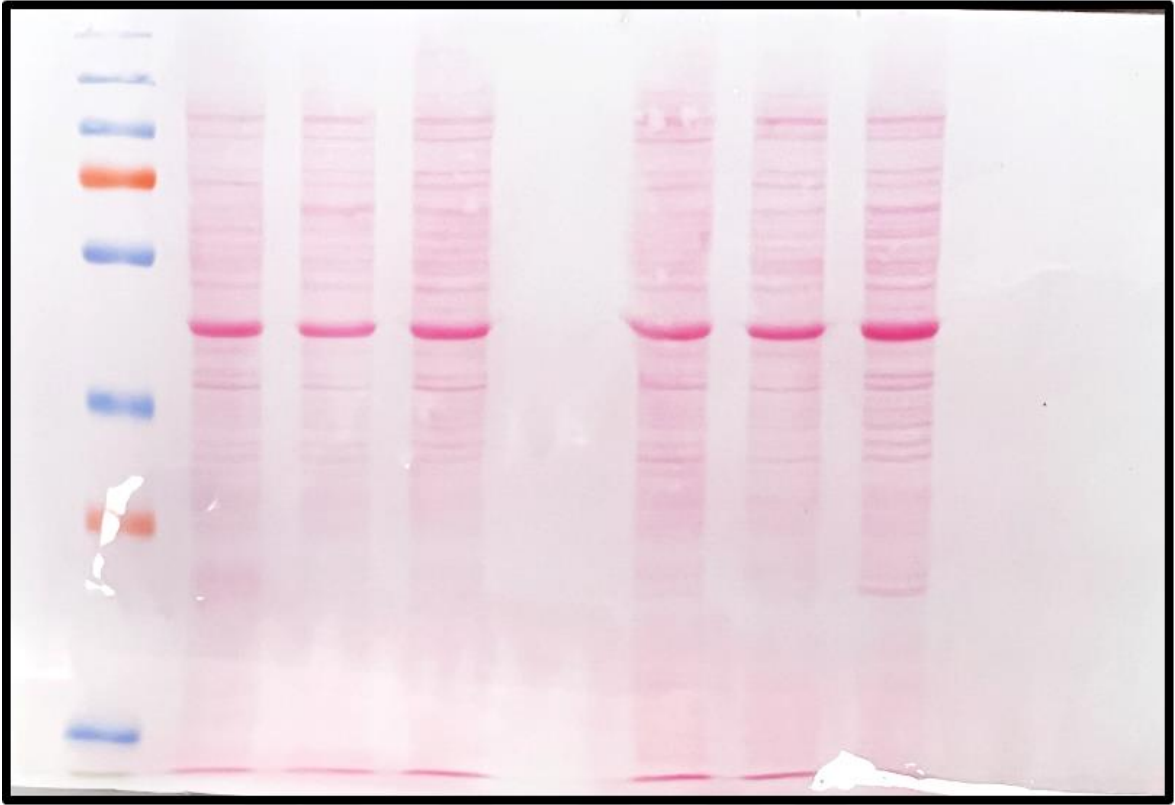
Membranda antikorların non-spesifik bağlanmasını engellemek amacıyla ilk olarak protein bloking işlemi yapılmıştır. Sonrasında TBS-T (% 0,1 Tween 20 içeren Tris buffer saline) ile yıkanan membranlar; GRP78 (Dilüsyon oranı 1:500), DDRGK1 (Dilüsyon oranı 1:2000), TMED2 (Dilüsyon oranı 1:500), RTN3 (Dilüsyon oranı 1:400) ve ERp44

(Dilüsyon oranı 1:1000) primer antikorlarıyla +4 °C’de overnight inkübe edildi. TBS-T ile yıkama işleminin ardından membranlar, sekonder antikor [Goat anti-rabbit IgG (H+L)(peroxidase), E-AB-1003, Elabscience® (Dilüsyon oranı 1:500); Goat anti-mouse HRP conjugate, cat# 170-5047, BioRad (Dilüsyon oranı 1:500)] içeren solüsyonda 1 saat boyunca oda sıcaklığında bekletilmiştir. Sekonder antikorun uzaklaştırılması için yeniden TBS-T ile yıkanan membranlara karanlık ortamda ECL-Kemilüminesans substrat eklenerek ilgili bantların ışıması sağlanmış ve PDQuest Advanced 2-D Analysis (BioRad) Software’de ile görüntüleme gerçekleştirilmiştir. Bu işlemlerin ardından membranlar TBS-T ile yıkanmış ve stripping solüsyonu içerisine alınmıştır. Aynı işlemler β -aktin primer antikor (dilüsyon oranı: 1/2000) için yeniden gerçekleştirilmiştir. Daha sonra ilgili protein bantlarının yoğunlukları Quantity One (BioRad) programı kullanılarak hesaplanmıştır. Çıkan sonuçlar, normalizasyonu yapılan aktin bantlarına oranlanarak SPSS programında analiz edilmiştir.



Şekil 3.4. Proteinlerin SDS-PAGE analizi (A) ve nitroselülöz membrana aktarılması (B-C)

Proteinlerin membrana düzgün bir şekilde aktarıldığını kontrol etmek için Ponceau S boyaması gerçekleştirilmiştir. Bu sayede proteinlerin eşit miktarda ve düzgün bir biçimde yüklendiği tespit edilmiştir.



Şekil 3.5. Membrana aktarılan proteinlerin Ponceau S ile boyanması

3.6. eMKH'lerin RT-qPCR Analizi

Kontrol ve endometriyozis gruplarına ait dokulardan izole edilen eMKH'lerde, proteomiks yöntemi ile kontrol grubuna göre translasyonu anlamlı derecede değişmiş olan proteinleri kodlayan genlerin ekspresyon seviyeleri RT-qPCR yöntemi ile analiz edilmiştir. eMKH'lerin RNA izolasyonu, Total RNA İzolasyon Kiti kullanılarak üretici firmanın verdiği protokol ile gerçekleştirilmiştir. RNA miktar tayini (ng/µl) 260 nm'de spektrofotometrede okutulmuştur. Total RNA miktarının 2 µg'ına, Reverse Transkriptaz kiti kullanılarak cDNA sentezlenmiştir. Hedef genlerin ekspresyon analizi 'Kantitatif ters transkripsiyon-polimeraz zincir reaksiyonu (RTq-PCR) ile yapılmıştır. mRNA seviyesinin ölçümü firma protokolüne bağlı kalınarak yapılmış ve normalize etmek için gliseraldehit 3-fosfat dehidrogenaz (GAPDH) kullanılmıştır. Real Time PCR yapılırken SYBR Green master karışımı (A.B.T.TM, Atlas Biyoteknoloji) ve proteomiks analizi sonucuna göre anlamlı farklılık gösteren ER stres-ilişkili proteinleri kodlayan genlerin primerleri ile elde edilen cDNA'lar karıştırılarak reaksiyon kurulmuş ve 480/510 nm dalga boyunda okutma işlemi yapılmıştır. 96 kuyucuklu beyaz plakalarda kit prosedürüne göre cDNA, SYBR Green karışımı, primer ve su oranları karıştırılarak 95°C, 10 dakika aktivasyon; 95°C, 15 saniye denatürasyon ve 60°C'de bağlanma ve uzama işlemleri için 1 dakika koşullarını

sağlayan Lightcycler 480_II cihazında ilgili genlerin çoğalmaları kaydedilmiştir. Ct yerine cihazın hesapladığı Cp sonuçları doğrultusunda analizler LightCycler 480-II cihazıyla birlikte gelen programla yapılmıştır. Housekeeping gen ekspresyonu ve kontrol grubuna göre $\rho\rho2cp$ hesaplamasıyla kat oranlar belirlenmiştir.

Tablo 3-3. RT-qPCR’da kullanılan genlere ait primer baz dizilimleri

Primerler	Kodu	Baz Dizilimi (5’-3’)
GRP78-F	NM_005347.5	F: GACAAGAAGGAGGACGTGGG
GRP78-R		R: GCATCGCCAATCAGACGTTC
PERK -F	NM_004836.7	F: AGAGAGAGGAGCGTGTGTCT
PERK-R		R: TCCTGGTCCATTGCAGTCAC
IRE1a-F	NM_001433.5	F: AAAACTACGCCTCCCCTGTG
IRE1a-R		R: CTTGGCCTCTGTCTCCTTGG
ATF6-F	NM_007348.4	F: CCTAGTGTGAGCCCTGCAAA
ATF6-R		R: TTAGGGGCTGACAAGGAGGT
DDRGK1-F	NM_023935	F: AGGAGGAGCAGAAGGAGGAG
DDRGK1-R		R: GCACAACCTTGGACTGCTTG
RTN3-F	NM_006054	F: GGGTTTGTCTTTGGCACCAC
RTN3-R		R: TGGCCTTCTTCTGACTTCTGT
TMEM33-F	NM_018126.3	F: GCAATGTGGCTTTCTCGCTT
TMEM33-R		R: GGCCAGGAATGCTCTGCTTA
TMED2-F	NM_006815.4	F: TGCTGCTCACATGGATGGAA
TMED2-R		R: TACAGCTGTCATCGCCACTG
ERp44-F	NM_015051.3	F: GGGGTCAGCGATCAGTGAAA
ERp44-R		R: TGTCCGAGTCCTTTTGCTCA
TMX3-F	NM_019022.5	F: ATGCAGAAGAGACACCGTGT
TMX3-R		R: GGAACCACTTCTTCTGAGGCA

3.7. eMKH’lerin Ultrastrüktürel Analizi

Hücrelerin içerisinde bulunduğu besiyeri ortamdan uzaklaştırılmış ve PBS ile yıkamanın ardından tripsin ile hücreler kaldırılmıştır. İnaktivasyon medyumunu eklendikten sonra

hücreler 1200 rpm’de 5 dk, +4°C’de santrifüj edildikten sonra supernatant atılmıştır. Pelletin üzerine 1.5 ml %2.5’lik glutaraldehit solüsyonu eklenerek, +4°C’de 1 saat fiksasyon sağlandıktan sonra hücre süspansiyonu 1200 rpm’de 5 dk +4°C’de santrifüj edilmiş; supernatant uzaklaştırılmış ve hücre pelletinin üzerine PBS eklenmiştir. 1200 rpm’de 10 dk +4°C’de tekrar santrifüjlemenin ardından pellete 1 ml %1’lik osmiyum tetroksit eklenerek 30 dk boyunca sekonder fiksasyon sağlanmıştır. Osmiyum tetroksit ile fiksasyonun son 10 dk’sında 1200 rpm’de tekrar santrifüj işlemi gerçekleştirilmiş ve pelletin üzerine 1.5 ml Millionig tamponu eklenerek 1200 rpm’de 10 dk +4°C’de santrifüj işlemi yapılmıştır. Kalan hücre pelleti %2’ lik agar ile karıştırılmış ve agar-hücre karışımı bistüri ile kesilerek eppendorflara koyulmuştur. Sırasıyla %50, %70, %80, %90, %96, %100 ve %100 alkol serilerinde 10’ar dk bekletildikten sonra hücrelerin üzerine 2x15 dk propilen oksit koyulmuştur. Önceden hazırlanmış olan 1:3 araldit-propilen oksit karışımında 1 saat; 1:1 araldit-propilen oksit karışımında 1 saat; 3:1 araldit-propilen oksit karışımında +4°C’de 1 gece beklemenin ardından, ertesi gün eppendorf içindeki saf aralditte 4 saat inkübe edilen örnekler film kapaklardaki saf araldite alınmış ve 60°C’de 2 gece etüvde bekletilerek polimerazyonları sağlanmıştır. Soğutularak kesime hazır hale getirilen örneklerden, Reichert UM3 mikrotomla 40-50 nm kalınlığında ince kesitler alınmış ve bakır grid üzerine yapıştırılmıştır. Gridlerdeki kesitler %70’lik etanol ile hazırlanmış doymuş uranil asetat solüsyonu ile 45 dk, ardından Reynol’un kurşun sitratı ile 15 dk boyanmıştır. Jeol Jem-1011 model elektron mikroskobunda incelen kesitlerin fotoğrafları Olympus Veleta TEM CCD kamera ile çekilmiştir.

3.8. In Vivo Yöntemler

3.8.1. Doku takibi

Kontrol, ötopik ve ektopik endometriyum gruplarına ait örnekler, ışık mikroskopik takip uygulamak üzere fosfat tamponlu %10’luk formalin solüsyonuna konularak fikse edilmiş ve ardından yükselen dereceli etanol serilerinde (sırasıyla %70, %90, %96 ve %100) 2’şer saat tutularak dehidrate edilmiştir. Toluol ile 30 dk muamele edilen dokular, ilk olarak 56°C’deki etüvde 1:1 oranında hazırlanan toluol-parafin karışımında; ardından saf sıvı parafin içinde 45 dk bekletilmiş; sonrasında parafin bloklara gömülmüştür. Bu bloklardan mikrotom ile 4 µm kalınlığında kesitler alınmıştır.

3.8.2. Hematoksilen & Eozin (H&E) Boyaması

Çalışmaya katılan gönüllülerin ve Kadın Doğum Uzmanı’nın gönüllülere ait son adet tarihi (SAT) beyanlarına ek olarak, H&E boyaması yapılmış; hem morfolojik inceleme hem

de menstrual faz tayini (proliferatif-sekretuvar) gerçekleştirilmiştir.

Parafin kesitler 1 gece boyunca 56°C'lık etüvde bekletilmiştir. Ertesi gün toluen (2 saat) yardımı ile kesitler parafinden arındırılmış; azalan alkol serisinden (100°, 96°, 90°, 70°) geçirilerek saf suya alınmıştır. Ardından Mayer Hematoksilen'de 5 dk tutulan kesitler mavileştirme solüsyonunda 10-15 saniye (sn) bekletilmiş ve tekrar saf suya alınmıştır. Daha sonra %100 etanolden hızlıca geçirilen kesitler sitoplazmik boyanma için Eozin Y solüsyonunda 3 dk tutulmuş ve tekrar %100 etanole alınmıştır. 3 kez %100 etanol serisinden geçen kesitler toluende ikişer kez 15'er dk bekletilerek şeffaflaştırılmış ve entellan ile kapama işlemi gerçekleştirilmiştir.

3.8.3. Endometriyal Örneklerin İkili İmmunofloresan Boyaması

Dokuda eMKH'lerdeki ER-stresi ilişkili proteinlerin ekspresyonunu değerlendirmek için, tek başına eMKH belirteci olarak yeterli görülen SUSD2 ile birlikte proteomiks analizi sonucu belirlenen proteinlerin ikili boyaması gerçekleştirilmiştir (SUSD2-DDRGK1, SUSD2-ERp44, SUSD2-TMEM33, SUSD2-TMED2, SUSD2-RTN3, SUSD2-TMX3). 4 µm kalınlığındaki kesitler etüvde deparafinize edildikten sonra 2x15 dk tolüende bekletilmiştir. Sırasıyla azalan alkol serilerinde 10 dk tutularak rehidrasyonu sağlanan örnekler, TBS'te 5 dk bekletilmiştir. Sitrat tampon ile mikrodalgada antijen iyileştirme işleminin ardından TBS ile 2 kez yıkanan örnekler, %3'lük hidrojen peroksit solüsyonunda 10 dk inkübe edilmiştir. TBS ile yeniden yıkanan örnekler Pap-penle çevrelenerek hidrofobik bir havuz oluşturulması sağlanmıştır. Protein blok aşamasından sonra primer antikorlar (SUSD2 mouse monoclonal antibody, NBP3-09108, Novus Biologicals, 1:600 dilüsyon; TMEM33 rabbit polyclonal antibody, NBP3-17553, Novus Biologicals, 1:200 dilüsyon; TMED2 rabbit polyclonal antibody, NBP1-80963, Novus Biologicals, 1:200 dilüsyon; DDRGK1 rabbit polyclonal antibody, 21445-1-AP, Proteintech, 1:50 dilüsyon; TXNDC4 rabbit polyclonal antibody, 16016-1-AP, Proteintech, 1:50 dilüsyon; RTN3 rabbit polyclonal antibody; 12055-2-AP, Proteintech, 1:100 dilüsyon; TMX3 mouse monoclonal antibody, sc515248, SantaCruz Biotechnology) ile +4°C'de overnight inkübasyon gerçekleştirilmiştir. TBS-T ile 3x5 dk yıkamanın ardından, sekonder antikorlar (ab150113 goat-anti Mouse IgG H&L, Alexa Fluor 488®, Abcam, 1:600 dilüsyon; ab150079, goat anti rabbit IgG H&L Alexa Fluor® 647, Abcam, 1:600 dilüsyon) ile karanlıkta, oda sıcaklığında 2 saat inkübe edilen örnekler DAPI içeren kapama medyumunu ile kapatılmıştır. Örnekler lazer taramalı konfokal mikroskopta (Leica TCS SP8), LAS X (Leica Application Suite for Advanced Fluorescence) programı ile incelenmiştir.

3.9. İstatistiksel Analiz

Tüm veriler IBM SPSS Statistic 25.0 paket programı ile yapılmıştır. Elde edilen tüm verilere Normality Test değerleri Shapiro Wilk sonuçları üzerinden incelenmiştir. Normal dağılım gösteren verilere One Way ANOVA testi uygulanmıştır. Gruplar arası anlamlı farklılık gösteren verilerde farklılığın hangi gruplardan kaynaklandığını belirlemek üzere ileri Post-Hoc analizi olan Tukey testi uygulanmıştır. Normal dağılım göstermeyen verilere ise non-parametrik testlerden Kruskal Wallis testi uygulanmıştır. Gruplar arası anlamlı farklılık gösteren verilerde farklılığın hangi gruplardan kaynaklandığını belirlemek üzere ileri Post-Hoc analizi olan Bonferroni testi uygulanmıştır. $p < 0,05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

3.10. Kullanılan Malzemeler ve Cihazlar

3.10.1. Kimyasal Malzemeler

Absolute ethanol (Merck Millipore)
Araldite M (Fluka Analytical: 10951)
Araldite M 960 (Fluka Analytical: 10952)
Araldite M 964 (Fluka Analytical: 10953)
BSA / sığır serum albümin (Sigma A4563)
DMEM-F12 Medyum (GIBCO)
Entellan (Merck Millipore: 107961)
FBS/fetal bovine serum (GIBCO)
Gluteraldehit (Merck Millipore: 104239)
Methanol (Sigma: 24229)
Osmium tetroxide (EMS: 19134)
Parafin (Merck Millipore)
PBS 1X, pH 7.4, w/o calcium and magnesium
Penisilin-Streptoycin (10.000 U/ml) (GIBCO)
Propilen oksit (Merck: 8.07027.1000)
Toluol (Merck Millipore)
Isobutyl-methylxanthine (Sigma-Aldrich, St Louis, MO, USA)
Ascorbate-2-phosphate (Wako Chemicals, Richmond, VA, USA)
TGF- β 1 (Biosource PHG0021)
Sodium pyruvate (Sigma-Aldich, St. Louis, MO, USA)
Dexamethazone (Sigma-Aldich, Fluka Chemie AG, Buchs, Switzerland)

Proline (Merck, Darmstadt, Germany)
ITS premix (BD-Biosciences, Bedford, MA)
 β -glycerophosphate (Sigma-Aldrich)
İnsulin (Invitrogen, GIBCO)

3.10.1.1. Antikorlar

SUSD2 mouse monoclonal primary antibody (NBP3-09108, Novus Biologicals)
SUSD2 mouse monoclonal primary antibody (MAB9056-SP, R&D)
TMEM33 rabbit polyclonal primary antibody (NBP3-17553, Novus Biologicals)
TMED2 rabbit polyclonal primary antibody (NBP1-80963, Novus Biologicals)
DDRKG1 rabbit polyclonal primary antibody (21445-1-AP, Proteintech)
TXNDC4 rabbit polyclonal primary antibody (16016-1-AP, Proteintech)
RTN3 rabbit polyclonal primary antibody (12055-2-AP, Proteintech)
TMX3 mouse monoclonal primary antibody (sc515248, SantaCruz Biotechnology)
GRP78 mouse monoclonal primary antibody (sc376768, SantaCruz Biotechnology)
Goat Anti-Rabbit IgG H&L (Alexa Fluor® 488, ab150077, Abcam)
Goat Anti-Mouse IgG H&L (Alexa Fluor® 647, ab150115, Abcam)
Goat anti-rabbit IgG (H+L) (peroxidase) (E-AB-1003, Elabscience®)
Goat anti-mouse HRP conjugate (cat# 170-5047, BioRad)

3.10.2. Alet, Teçhizat ve Cihazlar

Hassas terazi, 0,1 mg hassasiyetli (Shimadzu AW120)
Vorteks 4S (FINEPCR FINEVORTEX 4S)
Mikrodalga fırın (Luxell)
Etüv (Elektro-mag)
Mikrotom (Leica SM 200R)
Ultramikrotom (Reichert UM2- Reichert UM3)
Işık mikroskobu (Leica DM 1000)
İnvert mikroskop (Leica DMIL, Leica DMI400, Olympus CKX41A, IX71)
Binoküler mikroskop (Leica CME)
Konfokal mikroskop (Leica DMI8 Laser Scanning Confocal Microscope)
Geçirimli elektron mikroskobu (Jeol Jem 1011) ve kamera Olympus Veleta TEM CCD
Laminar Kabin, Class II Tip (Heraus KS12)
Soğutmalı santrifüj (Sigma 2-16K ve Hettich Universal 320R)

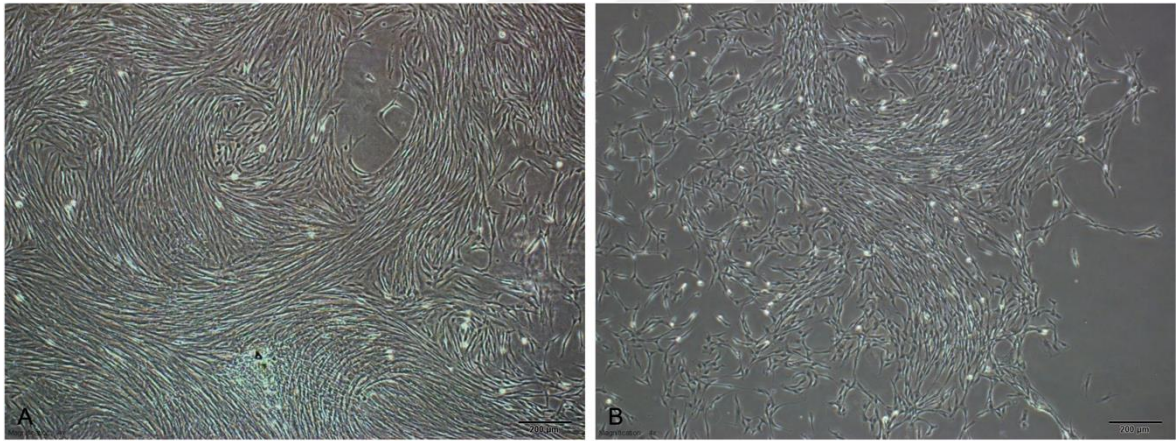
Mikrosantrifüj (Sigma 1-14 ve Hettich Micro 120)
Derin dondurucu, -86°C (Sanyo MDF-U5386S)
Derin dondurucu, -20°C (Beko D7210)
CO₂ İnkübatör, 240 L (Sanyo MCO-20AIC)
Çalkalamalı su banyosu (Nüve ST 402)
Isıtmalı manyetik karıştırıcı (HEIDOLPH MR Hei-Standard)
Buzdolabı (No-frost 435 lt) (Beko BK-9551)
Buz makinesi (Scotsman AF 80)
Bidistile su cihazı (GFL 2104)
PH metre (WTW Inolab PH720 Set)
Sıvı azot tankı (MVE Chart Lab20)
Sıvı azot transfer tankı (TP60)

4. BULGULAR

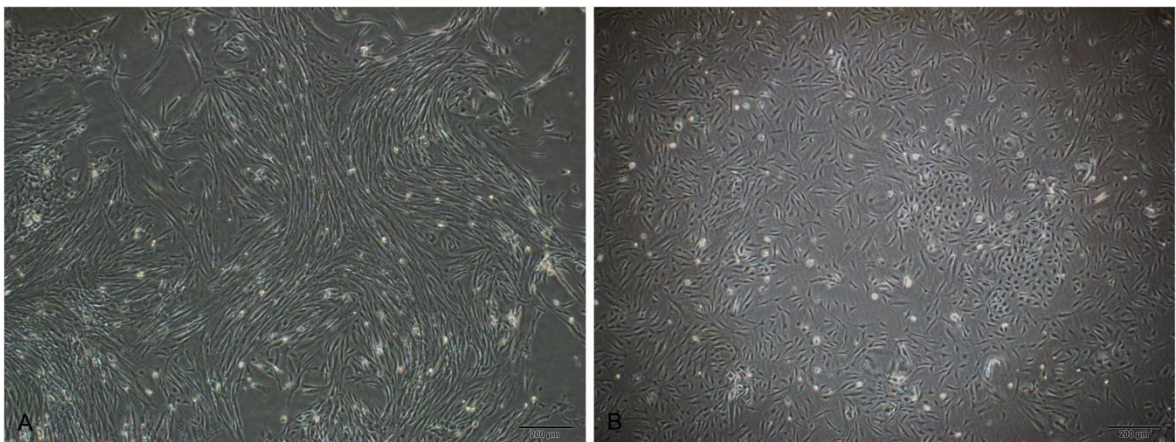
4.1. *In Vitro* Bulgular

4.1.1. Endometriyal ve Endometriyotik Dokulardan eMKH'lerin İzolasyonu

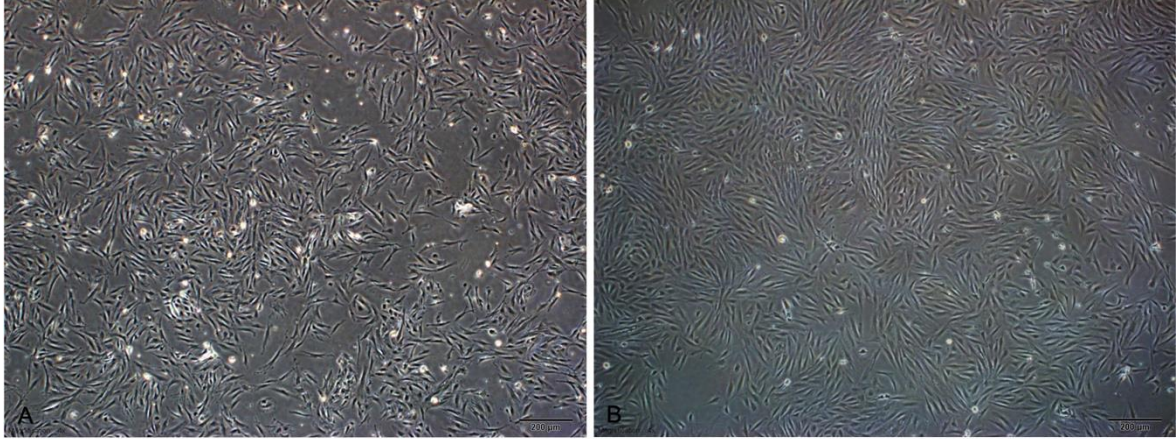
Proliferatif ve sekretuar fazlarda toplanmış endometriyal (kontrol ve ötopik) ve endometriyotik (ektopik) doku örneklerinden mekanik ve kimyasal sindirim işlemi ile mezenkimal kök hücre izolasyonu sağlanmıştır. İzole edilen eMKH'lerin faz-kontrast mikroskopik incelemesinde, mezenkimal kök hücre karakteristiği olan iğsi, ince ve uzun hücre morfolojisi gösterdikleri tespit edilmiştir (Şekil 4.1, Şekil 4.2 ve Şekil 4.3). Uygun besiyerleri ile çoğaltılan hücreler, %70 konfluense ulaştıklarında pasajlama işlemi gerçekleştirilmiştir. Her grupta, Pasaj 3'e getirilen hücrelerin bir kısmı, karakterizasyonları yapılmak üzere flow sitometri analizine alınmıştır.



Şekil 4.1. Kontrol-P (A) ve Kontrol-S (B) endometriyum gruplarına ait örneklerden izole edilen eMKH'lere ait hücre kültürü fotomikroagrafları. Ölçü çubuğu: 200 µm



Şekil 4.2. Ötopik-P (A) ve Ötopik-S (B) endometriyum gruplarına ait örneklerden izole edilen eMKH'lere ait hücre kültürü fotomikroagrafları. Ölçü çubuğu: 200 µm

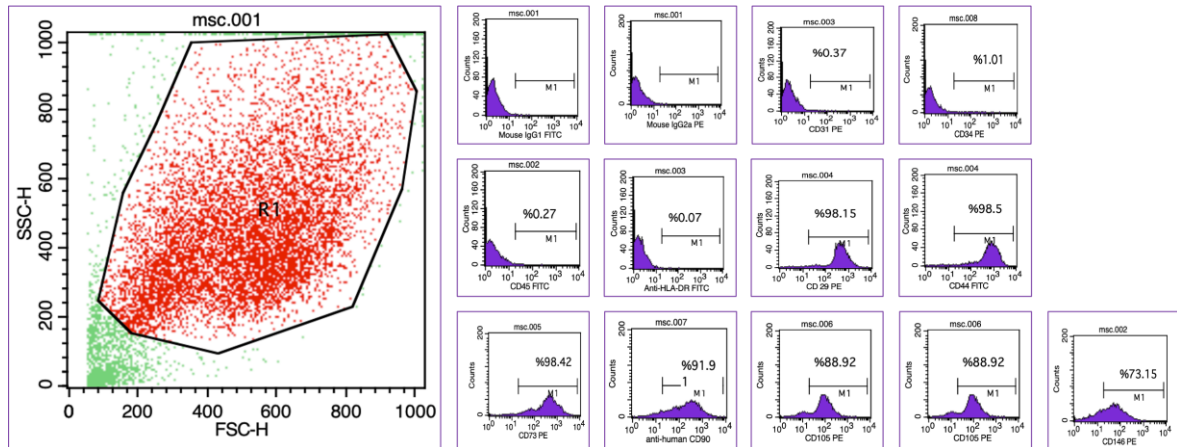


Şekil 4.3. Ektopik-P (A) ve Ektopik-S (B) endometriyum gruplarına ait örneklerden izole edilen eMKH'lere ait hücre kültürü fotomikrografları. Ölçü çubuğu: 200 µm

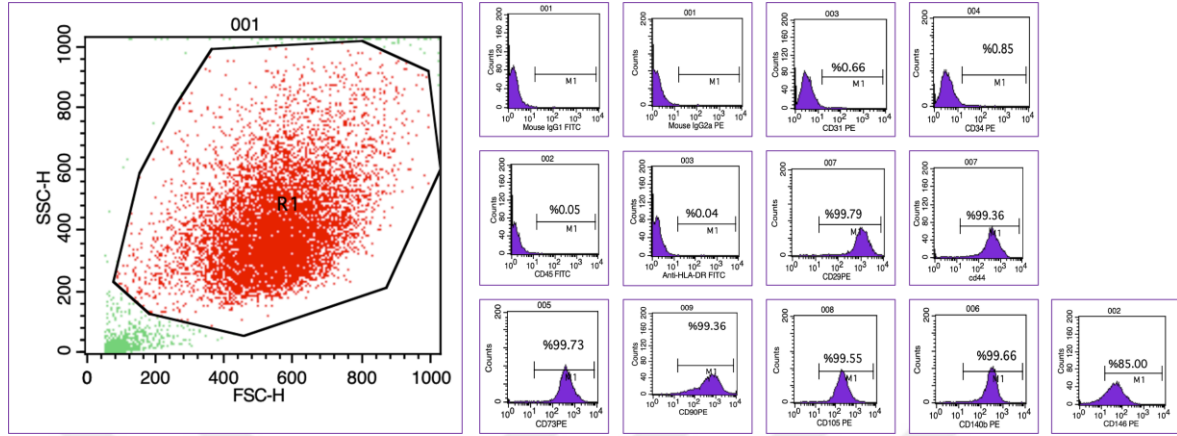
4.1.2. eMKH'lerin Flow Sitometri Analizi

Tüm gruplarda, Pasaj 3'e getirilen eMKH'lerin flow sitometri analizi ile immünofenotipik karakterizasyonları gerçekleştirilmiştir. Populasyondaki hücreler, endotelial ve hematopoetik belirteçler olan CD31, CD34, CD45 ve HLA-DR yönünden negatif; endometriyal mezenkimal kök hücre belirteçleri olan CD29, CD44, CD73, CD90, CD105, CD140b ve CD146 yönünden ise pozitif olarak değerlendirilmiştir (Tablo 4-1, Tablo 4-2, Tablo 4-3)

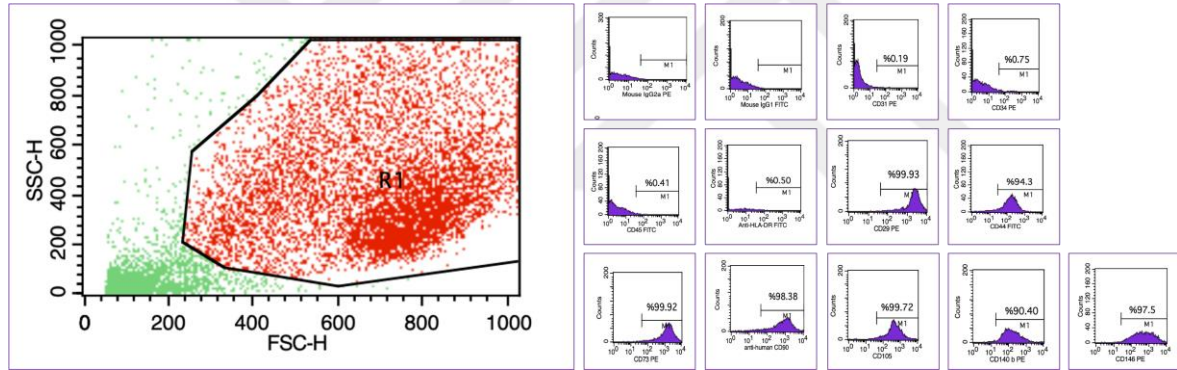
Tablo 4-1. Kontrol grubuna ait eMKH'lerin flow sitometri ile karakterizasyonu



Tablo 4-2. Ötopik endometriyum grubuna ait eMKH'lerin flow sitometri ile karakterizasyonu



Tablo 4-3. Ektopik endometriyum grubuna ait eMKH'lerin flow sitometri ile karakterizasyonu

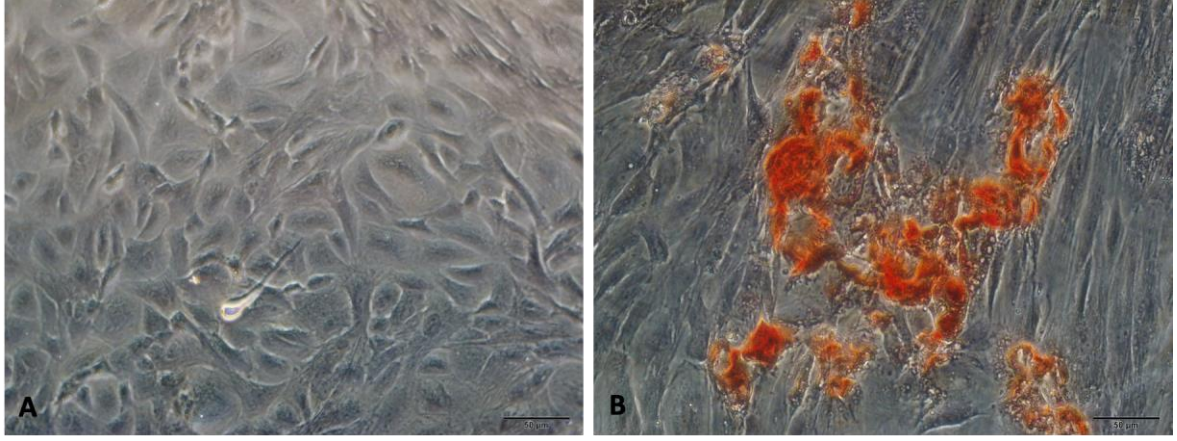


4.1.3. eMKH'lerin Farklılaştırma Deneyleri

Flow sitometri analizinin yanı sıra, endometriyum dokusundan izole edilen hücrelerin kök hücre olup olmadığını kanıtlamak için, osteojenik, adipojenik ve kondrojenik farklılaştırma deneyleri yapılmıştır. Sonrasında ise uygun histokimyasal boyalarla boyanarak farklılaşmanın gerçekleşip gerçekleşmediği kontrol edilmiştir.

4.1.3.1. Osteojenik Farklılaştırma

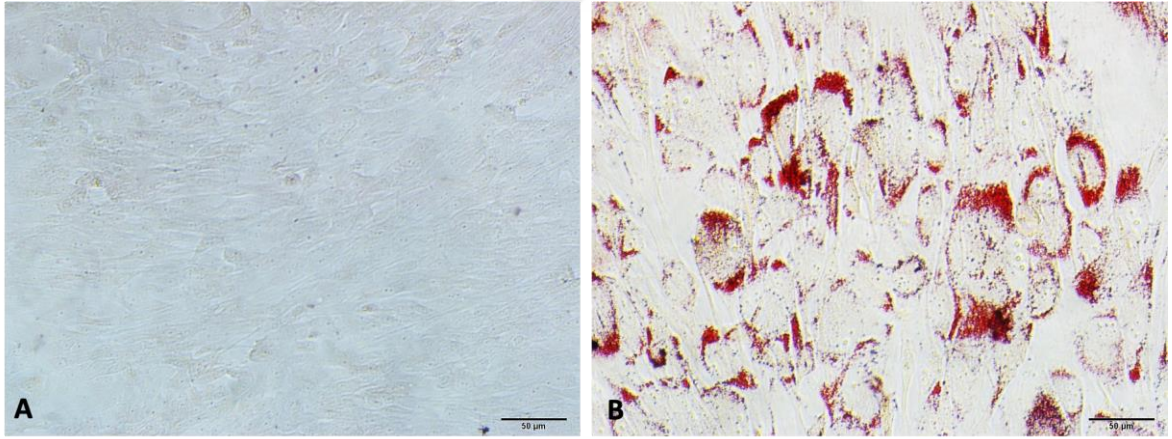
Osteojenik farklılaştırma için kontrol ve deney olmak üzere iki grup oluşturulmuş; kontrol grubundaki hücrelere normal besiyeri verilirken, deney grubundaki hücrelere osteojenik farklılaştırma eklentileri içeren besiyeri verilmiştir. 28. günün sonunda Alizarin Red S ile boyanan hücrelerde kalsiyum nodüllerinin kırmızı renkte boyandığı tespit edilmiştir (Şekil 4.4B).



Şekil 4.4. Ötopik endometriyumdan izole edilen eMKH’lerde Kontrol (A) ve Deney/Osteojenik farklılaştırma (B) gruplarına ait Alizarin Red S boyamasını gösteren fotomikrograf. Ölçü çubuğu:50 µm.

4.1.3.2. Adipojenik Farklılaştırma

Adipojenik farklılaştırma için kontrol ve deney olmak üzere iki grup oluşturulmuş; kontrol grubundaki hücrelere normal besiyeri verilirken, deney grubundaki hücrelere adipojenik farklılandırma eklentileri içeren besiyeri verilmiştir. 21. günün sonunda Oil Red O ile boyanan hücrelerde lipid damlacıkları içeren bölgeler kırmızı renkte görülmüştür (Şekil 4.5B ve 4.5C).

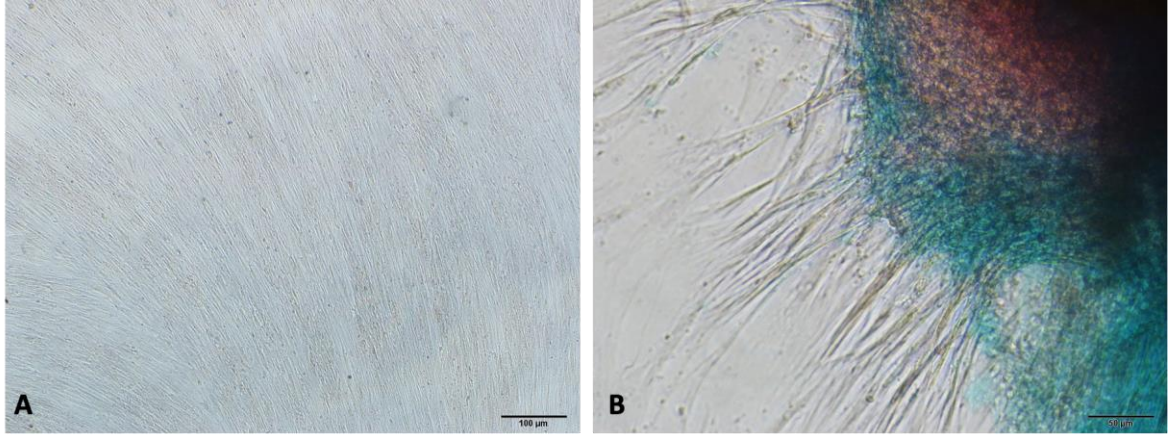


Şekil 4.5. Ötopik endometriyumdan izole edilen eMKH’lerde Kontrol (A) ve Deney/Adipojenik farklılaştırma (B) gruplarına ait Oil Red O boyamasını gösteren fotomikrograf. Ölçü çubuğu: 50 µm.

4.1.3.3. Kondrojenik Farklılaştırma

Kondrojenik farklılaştırma için kontrol ve deney olmak üzere iki grup oluşturulmuş; kontrol grubundaki hücrelere normal besiyeri verilirken, deney grubundaki hücrelere kondrojenik farklılandırma eklentileri içeren besiyeri verilmiştir. 30. günün sonunda Alcian

blue ile boyanan hücrelerde nukleusun kırmızı renkte; kondrojenik ekstraselüler matriksin ise mavimsi-yeşil renkte boyandığı tespit edilmiştir (Şekil 4.6B ve 4.6C).



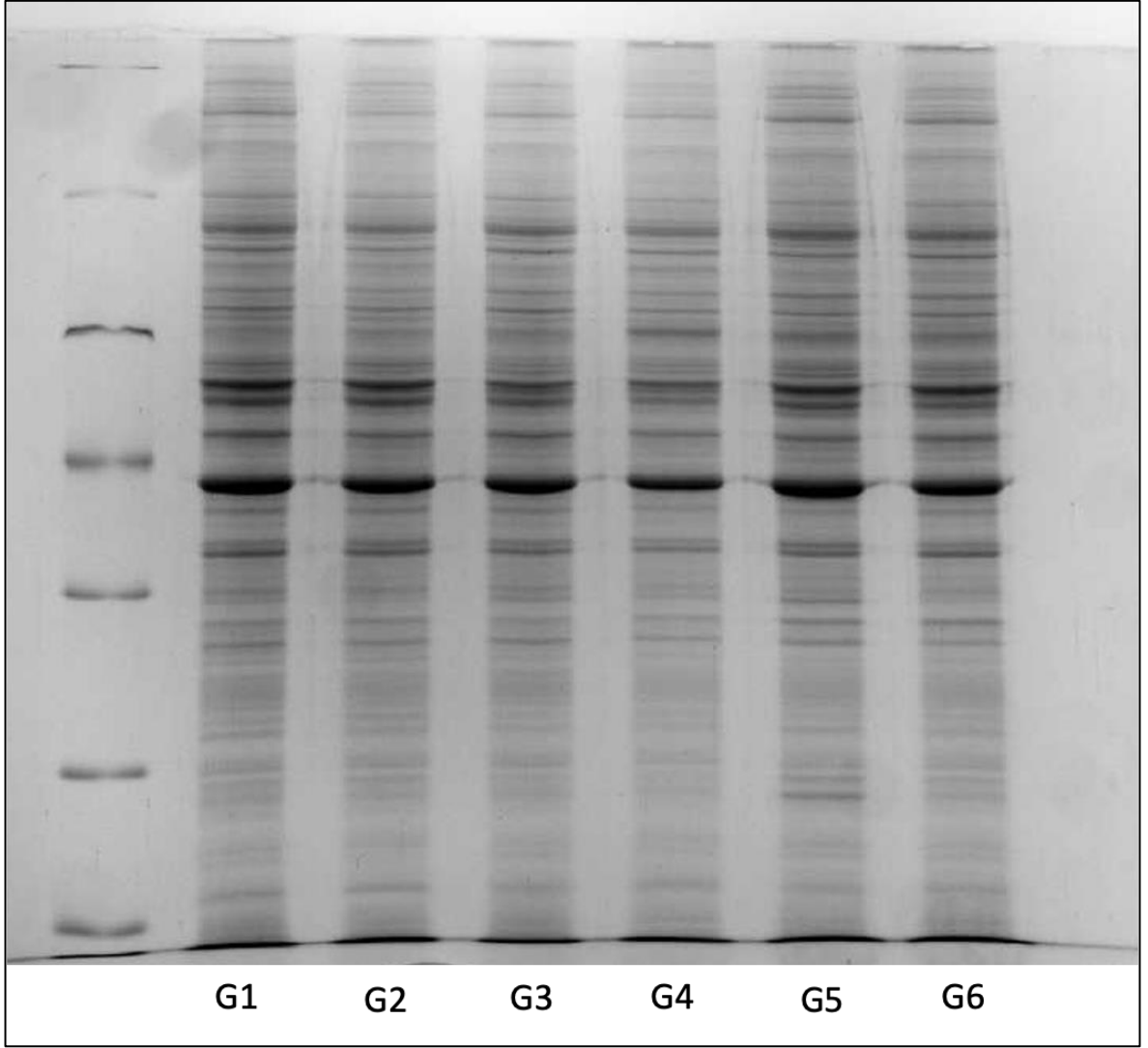
Şekil 4.6. Endometriyumdan izole edilen eMKH’lerde Kontrol (A) ve Deney/Kondrojenik farklılaştırma (B) gruplarına ait Alcian blue boyamasını gösteren fotomikrograf. Ölçü çubuğu A:100 µm; B: 50 µm.

4.2. eMKH’lerin Proteomiks Analizi

Flow sitometri analizi ve farklılaştırma deneyleri sonucunda kök hücre oldukları kanıtlanan eMKH’lerde ER stresi ile ilgili miktarı değişen proteinleri daha detaylı ve kapsamlı incelemek amacıyla proteomiks analizi gerçekleştirilmiştir. Analiz öncesi aynı gruba ait hasta örnekleri birleştirilerek örnek havuzu oluşturulmuştur.

4.2.1. SDS-PAGE Analizi

Tüm gruplarda, eMKH’lerden izole edilen proteinlerin kalitesinin değerlendirilmesi için SDS-PAGE analizi yapılmıştır. Bunun için kuyucuklara eşit miktarda protein yüklenmiş ve jelde yürütülmüştür. Bant kalitesinin ve kantitesinin ileriki analizler için uygun olduğu görülmüştür (Şekil 4.7).

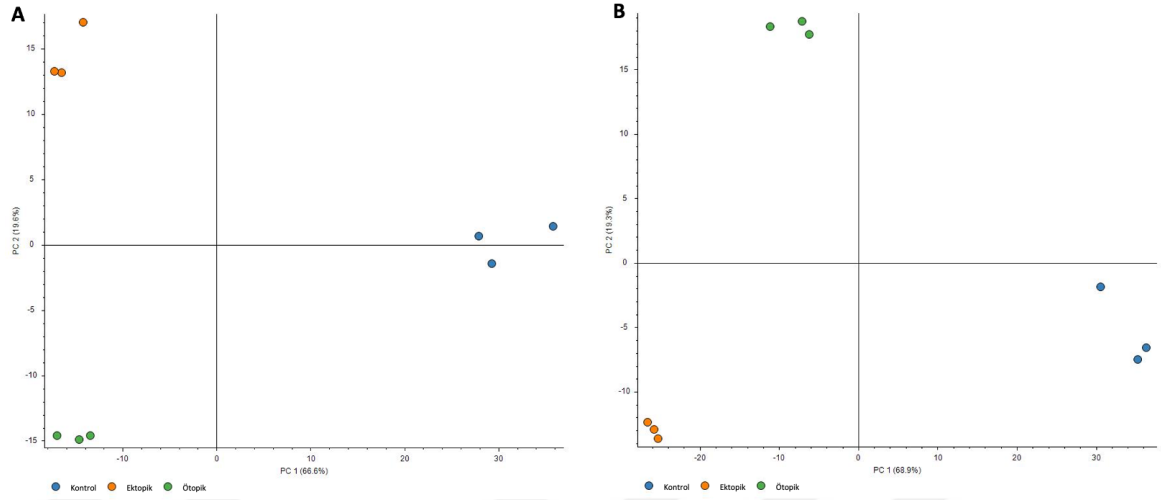


Şekil 4.7. Gruplara ait protein özütlerinin SDS-PAGE Analizi. G1: Kontrol-S; G2: Kontrol-P; G3: Ötopik-S; G4: Ötopik-P; G5: Ektopik-S; G6: Ektopik-P.

4.2.2. LC-MS/MS Analizi

FASP protokolü ile kütle spektrometresine hazırlanan proteinlerin, triptik kesim işleminin ardından peptit konsantrasyonlarının ölçümü gerçekleştirilmiştir. Peptitler ayrıştırılarak Thermo Q-exactive marka kütle spektrometresine gönderilmiş ve data-bağımlı veri toplama işlemi bu cihazda gerçekleştirilmiştir. Eşleştirilmemiş ve tek yüklü iyonlar MS/MS analizinden çıkartılmış ve dinamik dışlama otomatik olarak yapılmıştır. LC-MS/MS analizi sonucunda işlenmemiş veriler protein tanımlama amaçlı Proteom Discoverer 2.2 (Thermo Scientific, ABD) ile analiz edilmiştir. Her bir protein için tanımlanan minimum peptit sayısı iki olarak kabul edilmiştir ve veriler UniProt/SwissProte data bankasında bulunan organizma özel verilere göre araştırılmıştır. Proteom datasının çok fazla veri

içermesi ve hipotezin eMKH’lerdeki ER stresi üzerine olması sebebiyle, daha çok ER proteom analizi üzerinde durulmuştur.



Şekil 4.8. nLC-MS/MS analizleri sonucunda proliferatif (A) ve sekretuvar (S) evrelere ait gruplardan elde edilen protein ekspresyon profillerinin PCA (Principal Component Analysis) analizi. Elde edilen analizler sonucunda; kontrol, 71ktopi ve 71ktopik örneklerle ait okumalar 3 farklı grup olarak kümeleşmiştir.

Proteinlerin LC-MS/MS analizi sonucunda elde edilen datalar kullanılarak yapılan label-free kuantifikasyon yöntemi sonucunda, kontrol grubuna göre deney gruplarındaki proteinlerde artış ve azalışlar tespit edilmiştir. Proteinlerdeki kat artışı veya azalışı açısından 5 üzeri ve 0,2 altı kat değişimi anlamlı olarak kabul edilmiştir. ER stres yolağıyla ilişkili, kontrol grubuna göre anlamlı farklılık gösteren 6 protein (ERp44, RTN3, TMED2, TMEM33, TMX3, DDRGK1) sonraki analizlerde araştırılmıştır.

Proliferatif faza ait Kontrol ve Ötopik endometriyum grupları arasında anlamlı farklılık gösteren ER stresi-ilişkili proteinler incelendiğinde; ERp44, TMED2 ve RTN3’ün ötopik endometriyumda artış gösterdiği; TMX3 ve TMEM33’ün ise azalış gösterdiği tespit edilmiştir. Kontrol ve Ektopik endometriyum grupları kendi içerisinde karşılaştırıldığında, ektopik endometriyumda TMED2 ve RTN3’ün artış gösterdiği; TMX3’ün ise azalış gösterdiği belirlenmiştir. Ötopik ve ektopik endometriyum grupları kıyaslandığında ise ötopik endometriyumda ERp44’ün arttığı; RTN3 ve TMEM33’ün ise azaldığı tespit edilmiştir. (Tablo 4.4, Tablo 4.5, Tablo 4.6, Şekil 4.11, Şekil 4.12 ve Şekil 4.13).

Tablo 4-4. nLC-MS/MS analizleri sonucunda proliferatif evreye ait kontrol ve ötopik endometriyum grupları arasında ER proteomu açısından anlamlı derecede artan ve azalan proteinlerin listesi

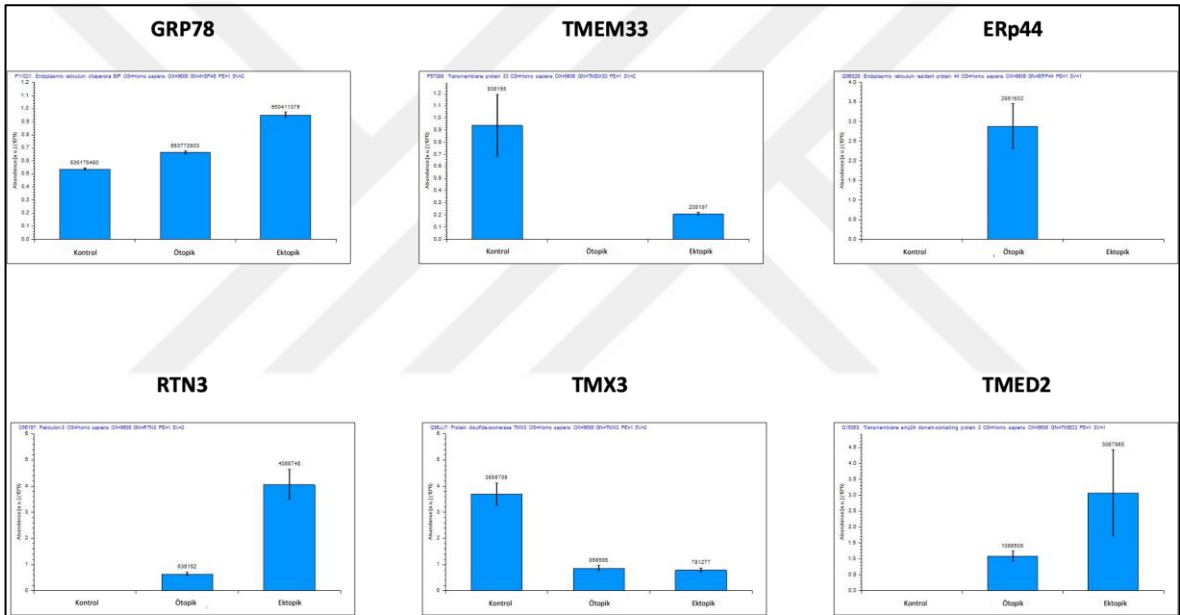
Upregüle	Protein Tanımı	Peptitler	Unique Peptitler	MW [kDa]	Score	Sequest HT: Sequest HT	Protein Yoğunluk Oranı: (Ötopik) / (Kontrol)
Accession no							
Q9NP58	ATP-binding cassette sub-family B member 6 OS=Homo sapiens OX-9606 GN=ABCB6 PE=1 SV=1	1	1	93,8	1,76		1000
Q9B526	Endoplasmic reticulum resident protein 44 OS=Homo sapiens OX-9606 GN=ERP44 PE=1 SV=1	2	2	46,9	0		1000
P63241	Eukaryotic translation initiation factor 5A-1 OS=Homo sapiens OX-9606 GN=EIF5A PE=1 SV=2	2	2	16,8	0		1000
Q96H92	Adenosylhomocysteinase 3 OS=Homo sapiens OX-9606 GN=AHCL2 PE=1 SV=1	1	1	66,7	0		1000
Q15363	Transmembrane emp24 domain-containing protein 2 OS=Homo sapiens OX-9606 GN=TMED2 PE=1 SV=1	1	1	22,7	0		1000
O95197	Reticulon-3 OS=Homo sapiens OX-9606 GN=RTN3 PE=1 SV=2	1	1	112,5	3,32		1000
P36956	Sterol regulatory element-binding protein 1 OS=Homo sapiens OX-9606 GN=SREBF1 PE=1 SV=2	1	1	121,6	0		256,557
Downregüle							
Accession no							
Q8NB59	Thioredoxin domain-containing protein 5 OS=Homo sapiens OX-9606 GN=TXNDC5 PE=1 SV=2	7	7	47,6	9,41		0,2
Q96IJ7	Protein disulfide-isomerase TMX3 OS=Homo sapiens OX-9606 GN=TMX3 PE=1 SV=2	1	1	51,8	3,34		0,199
P01889	HLA class I histocompatibility antigen, B alpha chain OS=Homo sapiens OX-9606 GN=HLA-B PE=1 SV=3	5	2	40,4	76,95		0,193
P51571	Translocin-associated protein subunit delta OS=Homo sapiens OX-9606 GN=TSRA PE=1 SV=1	2	2	19	3,95		0,193
P13657	Protein disulfide-isomerase A4 OS=Homo sapiens OX-9606 GN=PDIA4 PE=1 SV=2	2	2	72,9	4,19		0,192
Q9P2E9	Ribosome-binding protein 1 OS=Homo sapiens OX-9606 GN=RRBP1 PE=1 SV=5	12	12	152,4	29,44		0,19
P80303	Nucleobindin-2 OS=Homo sapiens OX-9606 GN=NUCB2 PE=1 SV=3	3	3	50,2	1,98		0,176
O60568	Multifunctional procollagen lysine hydroxylase and glycosyltransferase LH3 OS=Homo sapiens OX-9606 GN=PLOD3 PE=1 SV=1	1	1	84,7	2,33		0,175
Q12797	Asparaginyl beta-hydroxylase OS=Homo sapiens OX-9606 GN=ASPH PE=1 SV=3	3	3	85,8	0		0,175
Q8TC12	Retinol dehydrogenase 11 OS=Homo sapiens OX-9606 GN=RDH11 PE=1 SV=2	1	1	35,4	4,06		0,172
Q96AG4	Leucine-rich repeat-containing protein 59 OS=Homo sapiens OX-9606 GN=LRRCS9 PE=1 SV=1	3	3	34,9	13,43		0,163
P10321	HLA class I histocompatibility antigen, C alpha chain OS=Homo sapiens OX-9606 GN=HLA-C PE=1 SV=3	5	1	40,6	53,33		0,162
Q96H77	ERD1-like protein alpha OS=Homo sapiens OX-9606 GN=ERO1A PE=1 SV=2	2	2	54,4	1,77		0,158
P46778	60S ribosomal protein L21 OS=Homo sapiens OX-9606 GN=RPL21 PE=1 SV=2	1	1	18,6	4,76		0,148
O60506	Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein Q OS=Homo sapiens OX-9606 GN=SYNCRIP PE=1 SV=2	4	2	69,6	16,78		0,117
P49207	60S ribosomal protein L34 OS=Homo sapiens OX-9606 GN=RPL34 PE=1 SV=3	2	2	13,3	8,54		0,096
Q13501	Sequestosome-1 OS=Homo sapiens OX-9606 GN=SQSTM1 PE=1 SV=1	1	1	47,7	0		0,085
O75915	PRA1 family protein 3 OS=Homo sapiens OX-9606 GN=ARL6IP5 PE=1 SV=1	1	1	21,6	0		0,001
P57088	Transmembrane protein 33 OS=Homo sapiens OX-9606 GN=TMEM33 PE=1 SV=2	1	1	28	3,79		0,001
Q86UE4	Protein LYRIC OS=Homo sapiens OX-9606 GN=MTDH PE=1 SV=2	1	1	63,8	0		0,001
Q9Y394	Dehydrogenase/reductase SDR family member 7 OS=Homo sapiens OX-9606 GN=DHR57 PE=1 SV=1	1	1	38,3	0		0,001
P62857	40S ribosomal protein S28 OS=Homo sapiens OX-9606 GN=RP528 PE=1 SV=1	2	2	7,8	5,74		0,001
Q70UQ0	Inhibitor of nuclear factor kappa-B kinase-interacting protein OS=Homo sapiens OX-9606 GN=IKBIP PE=1 SV=1	1	1	39,3	0		0,001
Q02809	Procollagen-lysine,2-oxoglutarate 5-dioxygenase 1 OS=Homo sapiens OX-9606 GN=PLOD1 PE=1 SV=2	1	1	83,5	0		0,001
Q9P2X0	Dolichol-phosphate mannosyltransferase subunit 3 OS=Homo sapiens OX-9606 GN=DPM3 PE=1 SV=2	1	1	10,1	2,33		0,001
P46977	Dolichyl-diphosphooligosaccharide-protein glycosyltransferase subunit 3 OS=Homo sapiens OX-9606 GN=STT3A PE=1 SV=2	1	1	80,5	1,76		0,001
Q8NB17	Inactive C-alpha-formylglycine-generating enzyme 2 OS=Homo sapiens OX-9606 GN=SUMP2 PE=1 SV=2	1	1	33,8	1,69		0,001
Q9UNL2	Translocin-associated protein subunit gamma OS=Homo sapiens OX-9606 GN=TSR3 PE=1 SV=1	1	1	21,1	8,28		0,001

Tablo 4-5. nLC-MS/MS analizleri sonucunda proliferatif evreye ait kontrol ve ektopik endometriyum grupları arasında ER proteomu açısından anlamlı derecede artan ve azalan proteinlerin listesi

Upregüle	Protein Tanımı	Peptitler	Unique Peptitler	MW [kDa]	Score	Sequest HT: Sequest HT	Protein Yoğunluk Oranı: (Ektopik) / (Kontrol)
Accession no							
Q9NP58	ATP-binding cassette sub-family B member 6 OS=Homo sapiens OX-9606 GN=ABCB6 PE=1 SV=1	1	1	93,8	1,76		1000
Q96H92	Adenosylhomocysteinase 3 OS=Homo sapiens OX-9606 GN=AHCL2 PE=1 SV=1	1	1	66,7	0		1000
Q15363	Transmembrane emp24 domain-containing protein 2 OS=Homo sapiens OX-9606 GN=TMED2 PE=1 SV=1	1	1	22,7	0		1000
O95197	Reticulon-3 OS=Homo sapiens OX-9606 GN=RTN3 PE=1 SV=2	1	1	112,5	3,32		1000
P55084	Trifunctional enzyme subunit beta, mitochondrial OS=Homo sapiens OX-9606 GN=HADHB PE=1 SV=3	1	1	51,3	0		1000
P22307	Sterol carrier protein 2 OS=Homo sapiens OX-9606 GN=SCP2 PE=1 SV=2	1	1	59	0		1000
P61803	Dolichyl-diphosphooligosaccharide-protein glycosyltransferase subunit DAD1 OS=Homo sapiens OX-9606 GN=DAD1 PE=1 SV=3	2	2	12,5	13,18		1000
P36956	Sterol regulatory element-binding protein 1 OS=Homo sapiens OX-9606 GN=SREBF1 PE=1 SV=2	1	1	121,6	0		215,311
Q15084	Protein disulfide-isomerase A6 OS=Homo sapiens OX-9606 GN=PDIA6 PE=1 SV=1	8	8	48,1	132,61		5,996
P23284	Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase B OS=Homo sapiens OX-9606 GN=PPIB PE=1 SV=2	7	7	23,7	96,34		5,786
Downregüle							
Accession no							
P60468	Protein transport protein Sec61 subunit beta OS=Homo sapiens OX-9606 GN=SEC61B PE=1 SV=2	1	1	10	3,81		0,2
Q03518	Antigen peptide transporter 1 OS=Homo sapiens OX-9606 GN=TAP1 PE=1 SV=3	1	1	80,9	1,97		0,192
P00367	Glutamate dehydrogenase 1, mitochondrial OS=Homo sapiens OX-9606 GN=GLUD1 PE=1 SV=2	5	5	61,4	10,46		0,19
P46778	60S ribosomal protein L21 OS=Homo sapiens OX-9606 GN=RPL21 PE=1 SV=2	1	1	18,6	4,76		0,185
Q96IJ7	Protein disulfide-isomerase TMX3 OS=Homo sapiens OX-9606 GN=TMX3 PE=1 SV=2	1	1	51,8	3,34		0,18
Q96AG4	Leucine-rich repeat-containing protein 59 OS=Homo sapiens OX-9606 GN=LRRCS9 PE=1 SV=1	3	3	34,9	13,43		0,178
Q12907	Vesicular integral-membrane protein VIP36 OS=Homo sapiens OX-9606 GN=LMAN2 PE=1 SV=1	2	2	40,2	11,11		0,174
Q16N212	Caveolae-associated protein 1 OS=Homo sapiens OX-9606 GN=CAVIN1 PE=1 SV=1	9	9	43,5	104,66		0,165
Q98TV4	Transmembrane protein 43 OS=Homo sapiens OX-9606 GN=TMEM43 PE=1 SV=1	1	1	44,8	2,21		0,117
P62266	40S ribosomal protein S23 OS=Homo sapiens OX-9606 GN=RP523 PE=1 SV=3	2	2	15,8	19,58		0,101
Q13501	Sequestosome-1 OS=Homo sapiens OX-9606 GN=SQSTM1 PE=1 SV=1	1	1	47,7	0		0,032
P60059	Protein transport protein SecE1 subunit gamma OS=Homo sapiens OX-9606 GN=SEC61G PE=1 SV=1	1	1	7,7	2,23		0,001
O75915	PRA1 family protein 3 OS=Homo sapiens OX-9606 GN=ARL6IP5 PE=1 SV=1	1	1	21,6	0		0,001

Tablo 4-6. nLC-MS/MS analizleri sonucunda proliferatif evreye ait ötopik ve ektopik endometriyum grupları arasında ER proteomu açısından anlamlı derecede artan ve azalan proteinlerin listesi

Upregüle	Protein Tanımı	Peptitler	Unique Peptitler	MW (kDa)	Score	Sequest HT: Sequest HT	Protein Yoğunluk Oranı: (Ötopik) / (Ektopik)
Q9526	Endoplasmic reticulum resident protein 44 OS=Homo sapiens OX=9606 GN=ERP44 PE=1 SV=1	2	2	46,9	0	1000	0,17
P63241	Eukaryotic translation initiation factor 5A-1 OS=Homo sapiens OX=9606 GN=EIF5A PE=1 SV=2	2	2	16,8	0	1000	0,107
P60059	Protein transport protein Sec61 subunit gamma OS=Homo sapiens OX=9606 GN=SEC61G PE=1 SV=1	1	1	7,7	2,23	1000	0,058
Downregüle	Protein Tanımı	Peptitler	Unique Peptitler	MW (kDa)	Score	Sequest HT: Sequest HT	Protein Yoğunluk Oranı: (Ötopik) / (Ektopik)
Q95197	Reticulon-3 OS=Homo sapiens OX=9606 GN=RTN3 PE=1 SV=2	1	1	112,5	3,32	0,001	0,001
Q9NQC3	Reticulon-4 OS=Homo sapiens OX=9606 GN=RTN4 PE=1 SV=2	4	4	129,9	7,84	0,001	0,001
Q12797	Aspartyl/asparaginyl beta-hydroxylase OS=Homo sapiens OX=9606 GN=ASPH PE=1 SV=3	3	3	85,8	0	0,001	0,001
P55084	Trifunctional enzyme subunit beta, mitochondrial OS=Homo sapiens OX=9606 GN=HADHB PE=1 SV=3	1	1	51,3	0	0,001	0,001
P22307	Sterol carrier protein 2 OS=Homo sapiens OX=9606 GN=SCP2 PE=1 SV=2	1	1	59	0	0,001	0,001
P61803	Dolichyl-diphosphooligosaccharide-protein glycosyltransferase subunit DAD1 OS=Homo sapiens OX=9606 GN=DAD1 PE=1 SV=3	2	2	12,5	13,18	0,001	0,001
P62857	40S ribosomal protein S28 OS=Homo sapiens OX=9606 GN=RP528 PE=1 SV=1	2	2	7,8	5,74	0,001	0,001
Q86UE4	Protein LYRIC OS=Homo sapiens OX=9606 GN=MTDH PE=1 SV=2	1	1	63,8	0	0,001	0,001
Q9JUL2	Translucos-associated protein subunit gamma OS=Homo sapiens OX=9606 GN=SSR3 PE=1 SV=1	1	1	21,1	8,28	0,001	0,001
Q9P2X0	Dolichol-phosphate mannosyltransferase subunit 3 OS=Homo sapiens OX=9606 GN=DPM3 PE=1 SV=2	1	1	10,1	2,33	0,001	0,001
Q8NB17	Inactive C-alpha-formylglycine-generating enzyme 2 OS=Homo sapiens OX=9606 GN=SUMF2 PE=1 SV=2	1	1	33,8	1,69	0,001	0,001
Q7U0Q0	Inhibitor of nuclear factor kappa-B kinase-interacting protein OS=Homo sapiens OX=9606 GN=IKBIP PE=1 SV=1	1	1	39,3	0	0,001	0,001
Q02809	Procollagen-llysine,2-oxoglutarate 5-dioxygenase 1 OS=Homo sapiens OX=9606 GN=PLOD1 PE=1 SV=2	1	1	83,5	0	0,001	0,001
P46977	Dolichyl-diphosphooligosaccharide-protein glycosyltransferase subunit STT3A OS=Homo sapiens OX=9606 GN=STT3A PE=1 SV=2	1	1	80,5	1,76	0,001	0,001
Q9Y394	Dehydrogenase/reductase SDR family member 7 OS=Homo sapiens OX=9606 GN=DHR57 PE=1 SV=1	1	1	38,3	0	0,001	0,001
P57088	Transmembrane protein 33 OS=Homo sapiens OX=9606 GN=TMEM33 PE=1 SV=2	1	1	28	3,79	0,001	0,001



Şekil 4.9. nLC-MS/MS (ER proteom) analizleri sonucunda proliferatif evreye ait kontrol, ötopik ve ektopik endometriyum gruplarında GRP78, TMEM33, ERp44, RTN3, TMX3 ve TMED2 protein yoğunluklarına ait grafikleri

Sekretuar faza ait Kontrol, Ötopik ve Ektopik endometriyum grupları arasında anlamlı farklılık gösteren ER stresi-ilişkili proteinler incelendiğinde; DDRGK1'in ötopik ve ektopik endometriyum gruplarında kontrol grubuna göre azalış gösterdiği tespit edilmiştir (Tablo 4.7, Tablo 4.8, Tablo 4.9, Şekil 4.11, Şekil 4.12 ve Şekil 13).

Tablo 4-7. nLC-MS/MS analizleri sonucunda sekretuar evreye ait kontrol ve ötopik endometriyum grupları arasında ER proteomu açısından anlamlı derecede artan ve azalan proteinlerin listesi

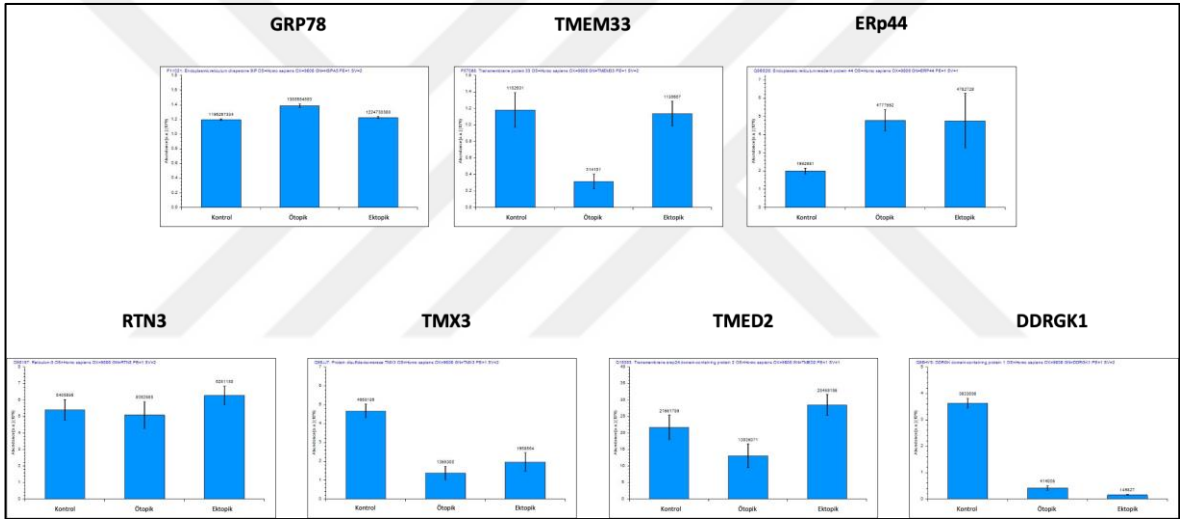
Upregüle	Protein Tanımı	Peptitler	Unique Peptitler	MW [kDa]	Score	Sequest HT: Sequest HT	Protein Yoğunluk Oranı: (Ötopik) / (Kontrol)
Q8IVL5	Prolyl 3-hydroxylase 2 OS=Homo sapiens OX-9606 GN=P3H2 PE=1 SV=1	2	1	80,9	1,75		1000
P67812	Signal peptidase complex catalytic subunit SEC11A OS=Homo sapiens OX-9606 GN=SEC11A PE=1 SV=1	1	1	20,6	1,69		1000
Q16647	Prostaglandin synthase OS=Homo sapiens OX-9606 GN=PTGIS PE=1 SV=1	9	9	57,1	17,76		1000
O95793	Double-stranded RNA-binding protein Staufen homolog 1 OS=Homo sapiens OX-9606 GN=STAU1 PE=1 SV=2	1	1	63,1	0		1000
Q9UL25	Ras-related protein Rab-21 OS=Homo sapiens OX-9606 GN=RAB21 PE=1 SV=3	1	1	24,3	0		6,598
Downregüle							
Accession no	Protein Tanımı	Peptitler	Unique Peptitler	MW [kDa]	Score	Sequest HT: Sequest HT	Protein Yoğunluk Oranı: (Ötopik) / (Kontrol)
Q12797	Aspartyl/asparaginyl beta-hydroxylase OS=Homo sapiens OX-9606 GN=ASPH PE=1 SV=3	2	2	85,8	0		0,171
Q96HY6	DORIGK domain-containing protein 1 OS=Homo sapiens OX-9606 GN=DORIGK1 PE=1 SV=2	1	1	35,6	0		0,122
P62266	40S ribosomal protein S23 OS=Homo sapiens OX-9606 GN=RP523 PE=1 SV=3	2	2	15,8	30,45		0,118
P51571	Translocin-associated protein subunit delta OS=Homo sapiens OX-9606 GN=SSR4 PE=1 SV=1	3	3	19	9,08		0,001
P00167	Cytochrome b5 OS=Homo sapiens OX-9606 GN=CYB5A PE=1 SV=2	1	1	15,3	0		0,001
Q5VYK3	Proteasome adapter and scaffold protein ECM29 OS=Homo sapiens OX-9606 GN=ECPAS PE=1 SV=2	1	1	204,2	0		0,001
P63241	Eukaryotic translation initiation factor 5A-1 OS=Homo sapiens OX-9606 GN=EIF5A PE=1 SV=2	2	2	16,8	4,84		0,001
Q9NZ01	Very-long-chain enoyl-CoA reductase OS=Homo sapiens OX-9606 GN=TECR PE=1 SV=1	1	1	36	1,63		0,001
Q9NP58	ATP-binding cassette sub-family B member 8 OS=Homo sapiens OX-9606 GN=ABC8 PE=1 SV=1	1	1	93,8	2		0,001

Tablo 4-8. nLC-MS/MS analizleri sonucunda sekretuar evreye ait kontrol ve ektopik endometriyum grupları arasında ER proteomu açısından anlamlı derecede artan ve azalan proteinlerin listesi

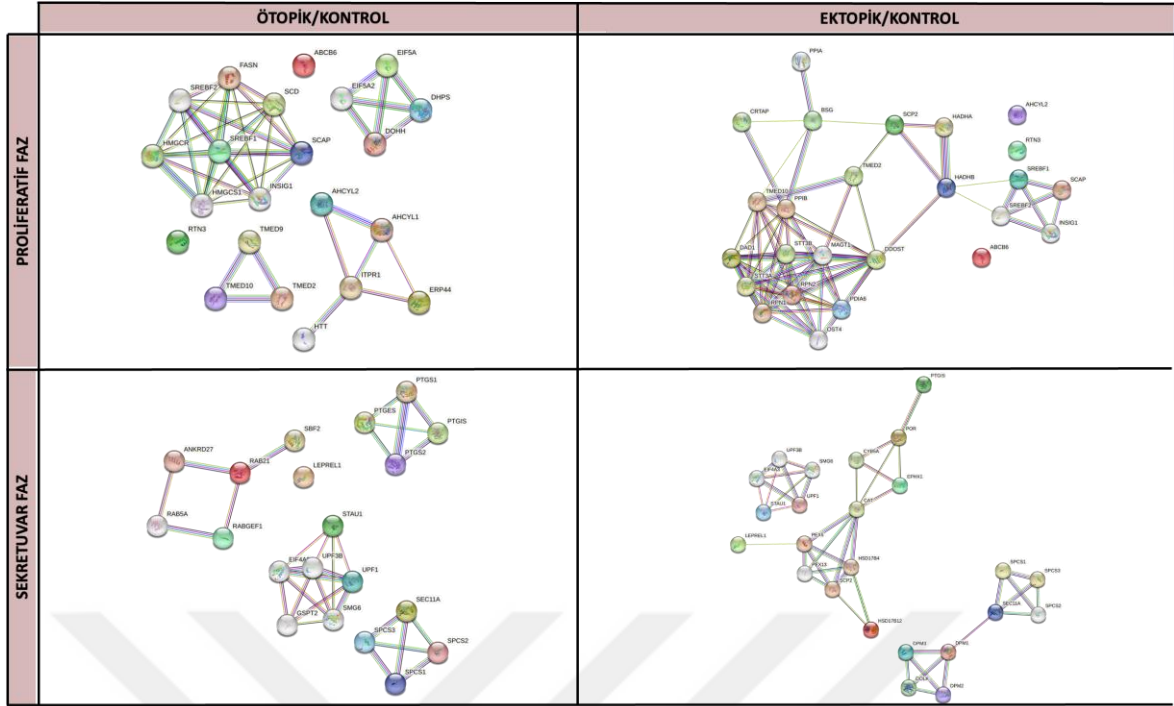
Upregüle	Protein Tanımı	Peptitler	Unique Peptitler	MW [kDa]	Score	Sequest HT: Sequest HT	Protein Yoğunluk Oranı: (Ektopik) / (Kontrol)
Q8IVL5	Prolyl 3-hydroxylase 2 OS=Homo sapiens OX-9606 GN=P3H2 PE=1 SV=1	2	1	80,9	1,75		1000
P67812	Signal peptidase complex catalytic subunit SEC11A OS=Homo sapiens OX-9606 GN=SEC11A PE=1 SV=1	1	1	20,6	1,69		1000
Q16647	Prostaglandin synthase OS=Homo sapiens OX-9606 GN=PTGIS PE=1 SV=1	9	9	57,1	17,76		1000
O95793	Double-stranded RNA-binding protein Staufen homolog 1 OS=Homo sapiens OX-9606 GN=STAU1 PE=1 SV=2	1	1	63,1	0		1000
P22307	Sterol carrier protein 2 OS=Homo sapiens OX-9606 GN=SCP2 PE=1 SV=2	1	1	59	1,74		1000
Q53GQ0	Very-long-chain 3-oxoacyl-CoA reductase OS=Homo sapiens OX-9606 GN=HSD17B12 PE=1 SV=2	1	1	34,3	0		1000
Q9P2X0	Dolichol-phosphate mannosyltransferase subunit 3 OS=Homo sapiens OX-9606 GN=DPM3 PE=1 SV=2	1	1	10,1	0		1000
P07099	Epoxide hydrolase 1 OS=Homo sapiens OX-9606 GN=EPHX1 PE=1 SV=1	1	1	52,9	0		1000
P16435	NADPH-cytochrome P450 reductase OS=Homo sapiens OX-9606 GN=POR PE=1 SV=2	1	1	76,6	1,79		1000
Downregüle							
Accession no	Protein Tanımı	Peptitler	Unique Peptitler	MW [kDa]	Score	Sequest HT: Sequest HT	Protein Yoğunluk Oranı: (Ektopik) / (Kontrol)
Q92734	Protein TFG OS=Homo sapiens OX-9606 GN=TFG PE=1 SV=2	1	1	43,4	0		0,199
O75340	Programmed cell death protein 6 OS=Homo sapiens OX-9606 GN=PDCD6 PE=1 SV=1	1	1	21,9	0		0,198
Q5JPE7	Nodal modulator 2 OS=Homo sapiens OX-9606 GN=NOMO2 PE=1 SV=1	1	1	139,4	2,33		0,196
Q5VYK3	Proteasome adapter and scaffold protein ECM29 OS=Homo sapiens OX-9606 GN=ECPAS PE=1 SV=2	1	1	204,2	0		0,194
O76024	Wolframin OS=Homo sapiens OX-9606 GN=WFS1 PE=1 SV=2	2	2	100,2	0		0,192
Q9P0L0	Vesicle-associated membrane protein-associated protein A OS=Homo sapiens OX-9606 GN=VAPA PE=1 SV=3	4	4	27,9	2,28		0,179
P17302	Gap junction alpha-1 protein OS=Homo sapiens OX-9606 GN=GJA1 PE=1 SV=2	3	3	43	2,23		0,168
Q5BIH7	Protein YIF18 OS=Homo sapiens OX-9606 GN=YIF18 PE=1 SV=1	1	1	34,4	6,27		0,161
Q8NBJ5	Procollagen galactosyltransferase 1 OS=Homo sapiens OX-9606 GN=COLGALT1 PE=1 SV=1	1	1	71,6	0		0,161
Q96G23	Ceramide synthase 2 OS=Homo sapiens OX-9606 GN=CERS2 PE=1 SV=1	1	1	44,8	0		0,158
O94979	Protein transport protein Sec31A OS=Homo sapiens OX-9606 GN=SEC31A PE=1 SV=3	6	6	132,9	22,73		0,152
P62857	40S ribosomal protein S28 OS=Homo sapiens OX-9606 GN=RP528 PE=1 SV=1	2	2	7,8	4,33		0,149
O43390	Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein R OS=Homo sapiens OX-9606 GN=HNRNPR PE=1 SV=1	6	4	70,9	25,73		0,148
P62854	40S ribosomal protein S26 OS=Homo sapiens OX-9606 GN=RP526 PE=1 SV=3	2	2	13	7,71		0,137
Q07020	60S ribosomal protein L18 OS=Homo sapiens OX-9606 GN=RPL18 PE=1 SV=2	5	5	21,6	64,68		0,135
P49207	60S ribosomal protein L34 OS=Homo sapiens OX-9606 GN=RPL34 PE=1 SV=3	2	2	13,3	8,88		0,131
O43681	ATPase GET3 OS=Homo sapiens OX-9606 GN=GET3 PE=1 SV=2	1	1	38,8	1,75		0,125
P07996	Thrombospondin-1 OS=Homo sapiens OX-9606 GN=THBS1 PE=1 SV=2	13	13	129,3	56,83		0,107
P61353	60S ribosomal protein L27 OS=Homo sapiens OX-9606 GN=RPL27 PE=1 SV=2	6	6	15,8	45,46		0,106
Q02878	60S ribosomal protein L6 OS=Homo sapiens OX-9606 GN=RPL6 PE=1 SV=3	11	11	32,7	79,59		0,105
Q9P2E9	Ribosome-binding protein 1 OS=Homo sapiens OX-9606 GN=RIBP1 PE=1 SV=5	17	17	152,4	69,54		0,102
P11689	DnaJ homolog subfamily A member 1 OS=Homo sapiens OX-9606 GN=DNAJA1 PE=1 SV=2	2	2	44,8	0		0,102
O95573	Fatty acid CoA ligase AC3L3 OS=Homo sapiens OX-9606 GN=ACSL3 PE=1 SV=3	1	1	80,4	0		0,099
Q96N66	Lysophospholipid acyltransferase 7 OS=Homo sapiens OX-9606 GN=MBOAT7 PE=1 SV=2	2	2	52,7	0		0,07
P46778	60S ribosomal protein L21 OS=Homo sapiens OX-9606 GN=RPL21 PE=1 SV=2	3	3	18,6	17,53		0,067
Q6NZI2	Caveolae-associated protein 1 OS=Homo sapiens OX-9606 GN=CAVIN1 PE=1 SV=1	11	11	43,5	136,98		0,064
Q9NZ01	Very-long-chain enoyl-CoA reductase OS=Homo sapiens OX-9606 GN=TECR PE=1 SV=1	1	1	36	1,63		0,061
P62266	40S ribosomal protein S23 OS=Homo sapiens OX-9606 GN=RP523 PE=1 SV=3	2	2	15,8	30,45		0,06
P52292	Importin subunit alpha-1 OS=Homo sapiens OX-9606 GN=IPNA2 PE=1 SV=1	2	2	57,8	3,66		0,052
Q8WU16	Extracellular sulfatase Sulf-1 OS=Homo sapiens OX-9606 GN=SULF1 PE=1 SV=1	1	1	101	0		0,051
Q96HY6	DORIGK domain-containing protein 1 OS=Homo sapiens OX-9606 GN=DORIGK1 PE=1 SV=2	1	1	35,6	0		0,046
Q9NQC3	Reticulon-4 OS=Homo sapiens OX-9606 GN=RTN4 PE=1 SV=2	4	4	129,9	63,05		0,044
Q15738	Sterol-4-alpha-carboxylate 3-dehydrogenase, decarboxylating OS=Homo sapiens OX-9606 GN=NSDHL PE=1 SV=2	2	2	41,9	0		0,001
O76094	Signal recognition particle subunit SRP72 OS=Homo sapiens OX-9606 GN=SRP72 PE=1 SV=3	1	1	74,6	0		0,001
Q5E852	Mesoderm-specific transcript homolog protein OS=Homo sapiens OX-9606 GN=MEST PE=1 SV=2	1	1	38,8	1,92		0,001
P27695	DNA-(apurinic or apyrimidinic site) endonuclease OS=Homo sapiens OX-9606 GN=APEX1 PE=1 SV=2	1	1	35,5	0		0,001
Q86U14	Protein LYRIC OS=Homo sapiens OX-9606 GN=MTDH PE=1 SV=2	1	1	63,8	0		0,001
P63241	Eukaryotic translation initiation factor 5A-1 OS=Homo sapiens OX-9606 GN=EIF5A PE=1 SV=2	2	2	16,8	4,84		0,001

Tablo 4-9. nLC-MS/MS analizleri sonucunda sekretuvar evreye ait ötopik ve ektopik endometriyum grupları arasında ER proteomu açısından anlamlı derecede artan ve azalan proteinlerin listesi

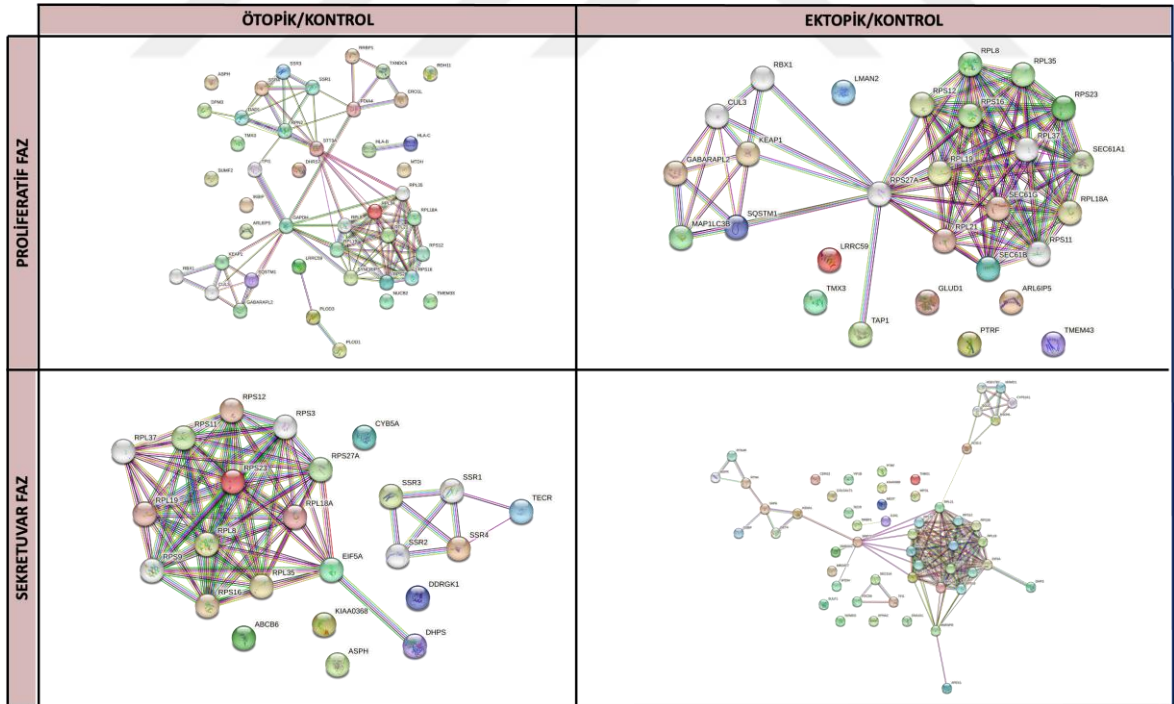
Upregüle	Protein Tanımı	Peptitler	Unique Peptitler	MW [kDa]	Score	Sequest HT: Sequest HT	Protein Yoğunluk Oranı: (Ötopik) / (Ektopik)
Q15738	Sterol-4-alpha-carboxylate 3-dehydrogenase, decarboxylating OS=Homo sapiens OX=9606 GN=NSDHL PE=1 SV=2	2	2	41,9	0		1000
O76094	Signal recognition particle subunit SRP72 OS=Homo sapiens OX=9606 GN=SRP72 PE=1 SV=3	1	1	74,6	0		1000
Q5E852	Mesoderm-specific transcript homolog protein OS=Homo sapiens OX=9606 GN=MEST PE=1 SV=2	1	1	38,8	1,92		1000
P27695	DNA-(apurinic or apyrimidinic site) endonuclease OS=Homo sapiens OX=9606 GN=APEX1 PE=1 SV=2	1	1	35,5	0		1000
Q86UE4	Protein LYRIC OS=Homo sapiens OX=9606 GN=MTDH PE=1 SV=2	1	1	63,8	0		1000
P52292	Importin subunit alpha-1 OS=Homo sapiens OX=9606 GN=KPNA2 PE=1 SV=1	2	2	57,8	3,66		10,151
Q8RIU6	Extracellular sulfatase Sulf-1 OS=Homo sapiens OX=9606 GN=SULF1 PE=1 SV=1	1	1	101	0		9,8
Q9YSM8	Signal recognition particle receptor subunit beta OS=Homo sapiens OX=9606 GN=SRPRB PE=1 SV=3	2	2	29,7	0		8,369
Q9P2E9	Ribosome-binding protein 1 OS=Homo sapiens OX=9606 GN=RRBP1 PE=1 SV=5	17	17	152,4	69,54		5,854
Downregüle	Protein Tanımı	Peptitler	Unique Peptitler	MW [kDa]	Score	Sequest HT: Sequest HT	Protein Yoğunluk Oranı: (Ötopik) / (Ektopik)
O00469	Procollagen-lysine,2-oxoglutarate 5-dioxygenase 2 OS=Homo sapiens OX=9606 GN=PLOD2 PE=1 SV=2	12	12	84,6	70,8		0,134
P23307	Sterol carrier protein 2 OS=Homo sapiens OX=9606 GN=SCP2 PE=1 SV=2	1	1	59	1,74		0,001
Q53C20	Very-long-chain 3-oxoacyl-CoA reductase OS=Homo sapiens OX=9606 GN=HSD17B12 PE=1 SV=2	1	1	34,3	0		0,001
Q9P2X0	Dolichol-phosphate mannosyltransferase subunit 3 OS=Homo sapiens OX=9606 GN=DPM3 PE=1 SV=2	1	1	10,1	0		0,001
P07099	Epoxide hydrolase 1 OS=Homo sapiens OX=9606 GN=EPHX1 PE=1 SV=1	1	1	52,9	0		0,001
P16435	NADPH-cytochrome P450 reductase OS=Homo sapiens OX=9606 GN=POR PE=1 SV=2	1	1	76,6	1,79		0,001
P00167	Cytochrome b5 OS=Homo sapiens OX=9606 GN=CYB5A PE=1 SV=2	1	1	15,3	0		0,001
Q9NP58	ATP-binding cassette sub-family B member 6 OS=Homo sapiens OX=9606 GN=ABCB6 PE=1 SV=1	1	1	93,8	2		0,001
P51571	Translocin-associated protein subunit delta OS=Homo sapiens OX=9606 GN=SSR4 PE=1 SV=1	3	3	19	9,08		0,001
Q5VYK3	Proteasome adapter and scaffold protein ECM29 OS=Homo sapiens OX=9606 GN=ECPAS PE=1 SV=2	1	1	204,2	0		0,001
Q9NZ01	Very-long-chain enoyl-CoA reductase OS=Homo sapiens OX=9606 GN=TECR PE=1 SV=1	1	1	36	1,63		0,001



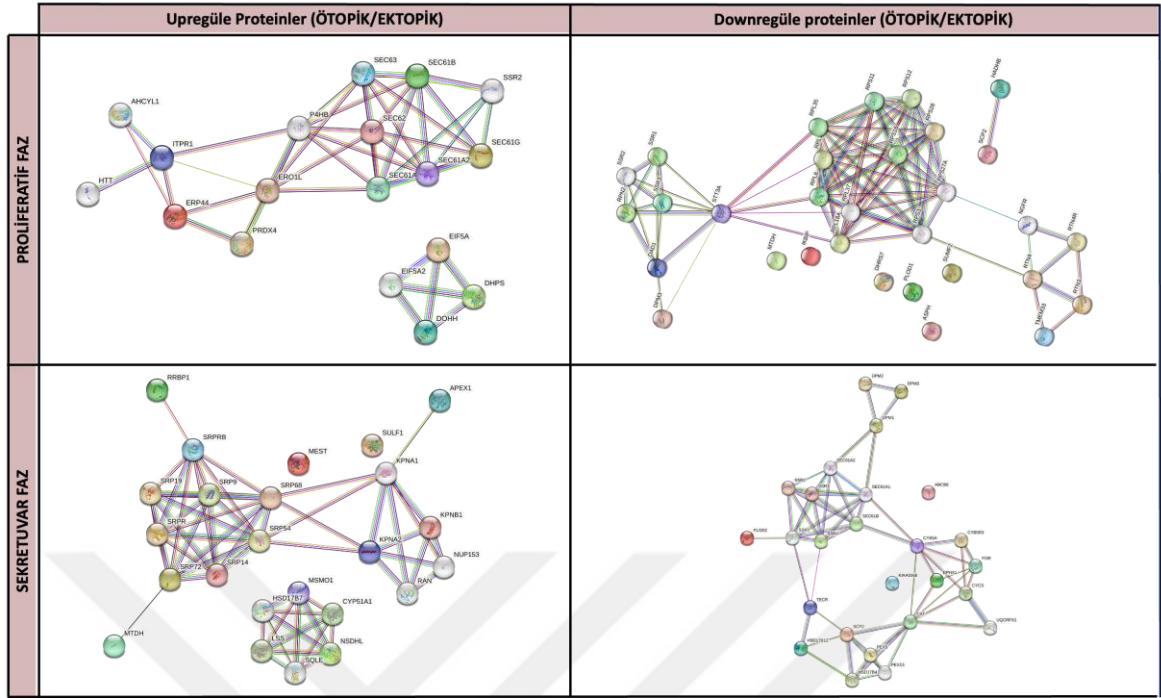
Şekil 4.10. nLC-MS/MS (ER proteom) analizleri sonucunda sekretuvar evreye ait kontrol, ötopik ve ektopik endometriyum gruplarında GRP78, TMEM33, ERp44, RTN3, TMX3, TMED2 ve DDRGK1 protein yoğunluklarına ait grafikler



Şekil 4.11. Proliferatif ve sekretuar fazlara ait endometriyozis gruplarında (ötopik ve ektopik) upregüle olan proteinlerin ER proteom string analizi.



Şekil 4.12. Proliferatif ve sekretuar fazlara ait endometriyozis gruplarında (ötopik ve ektopik) downregüle olan proteinlerin ER proteom string analizi.

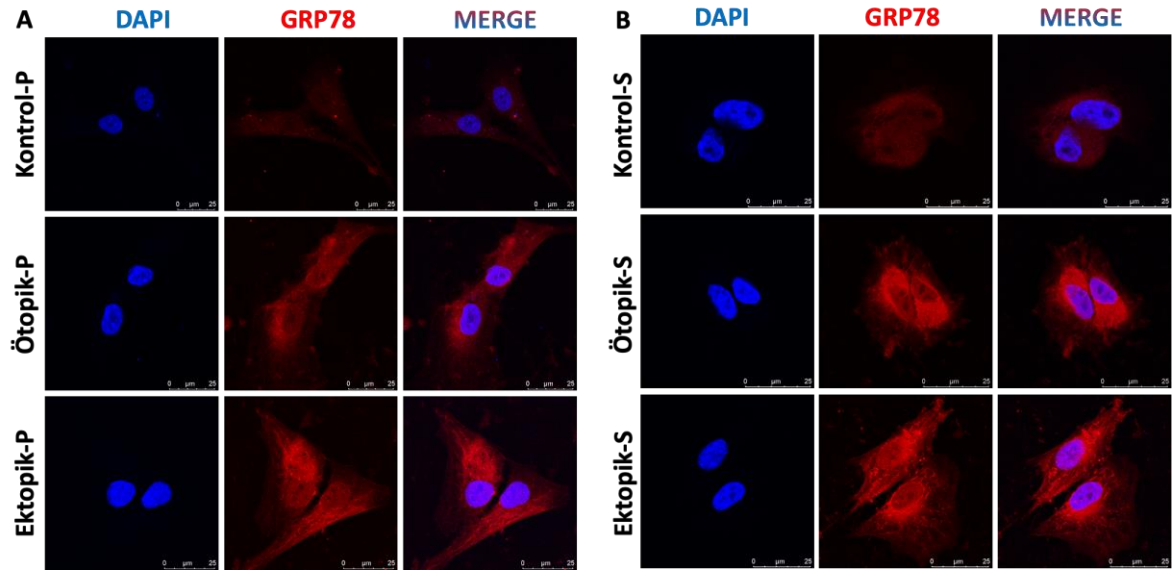


Şekil 4.13. Proliferatif ve sekretuar fazlara ait ötopik endometriyum grubunda upregüle ve downregüle olan proteinlerin ER proteom string analizi.

4.3. eMKH' lerin İmmüno Floresan Analizi

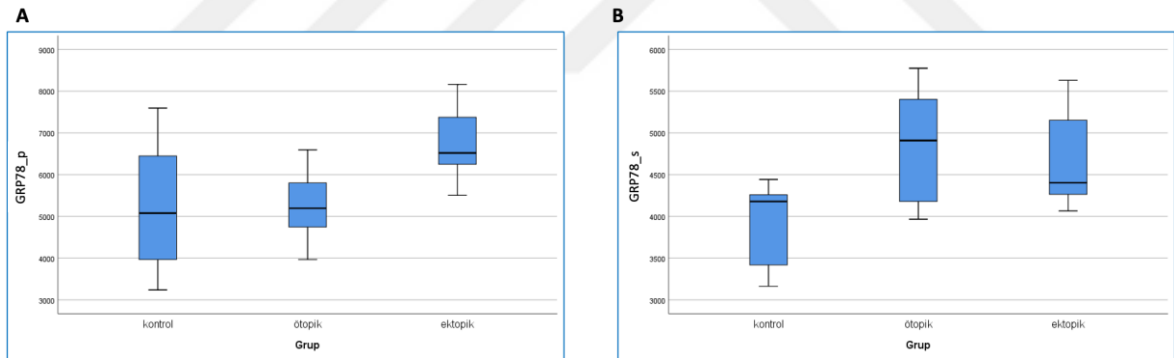
4.3.1. GRP78 İmmüno Floresan Analizi

Proliferatif ve sekretuar fazlara ait kontrol, ötopik ve ektopik endometriyum gruplarında eMKH'lere ait GRP78 ekspresyonu incelendiğinde; ötopik ve ektopik endometriyum gruplarında kontrole göre artan GRP78 ekspresyonu gözlemlense de, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır. (Şekil 4.14. ve Tablo 4.10).



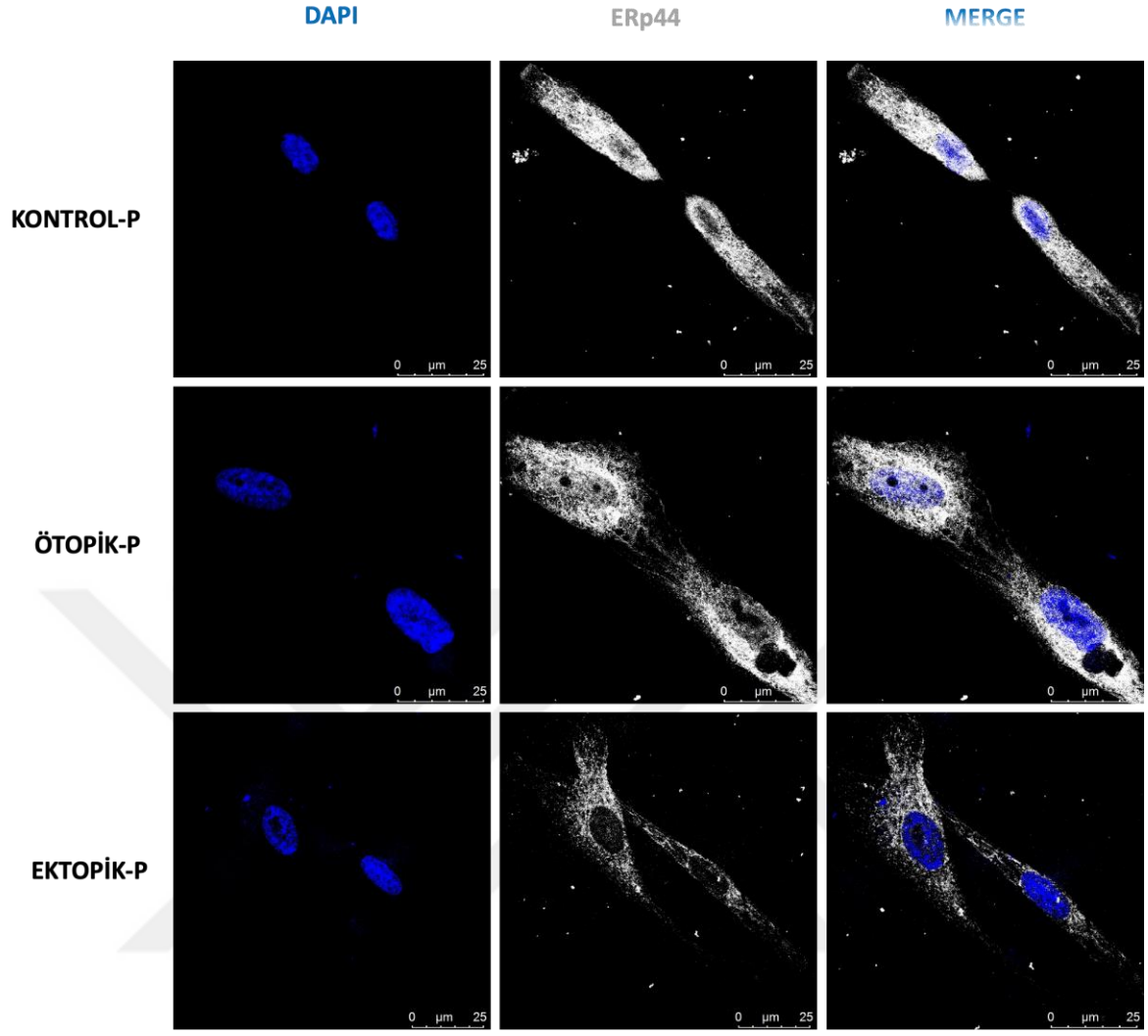
Şekil 4.14. Proliferatif (A) ve sekretuvar (B) fazlara ait eMKH'lerde GRP78 ekspresyonu. Ölçü çubuğu: 25 µm.

Tablo 4-10. Proliferatif (A) ve sekretuvar (B) evrelere ait kontrol, ötopik ve ektopik endometriyum gruplarında GRP78 ekspresyon grafiği



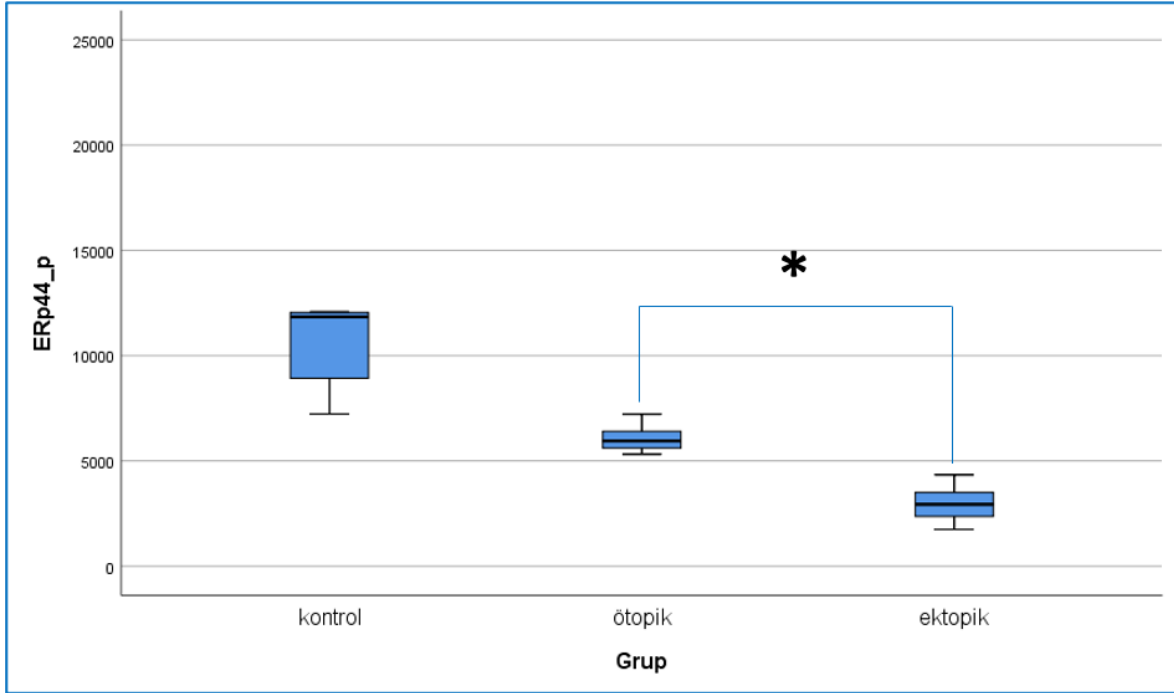
4.3.2. ERp44 İmmüno Floresan Analizi

Proliferatif evreye ait kontrol, ötopik ve ektopik endometriyum grupları karşılaştırıldığında; ektopik endometriyumdan izole edilen eMKH'lerde ERp44 ekspresyonunun; ötopik endometriyum grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı ölçüde azaldığı tespit edilmiştir ($p=0,000$) (Şekil 4.15 ve Tablo 4.11).



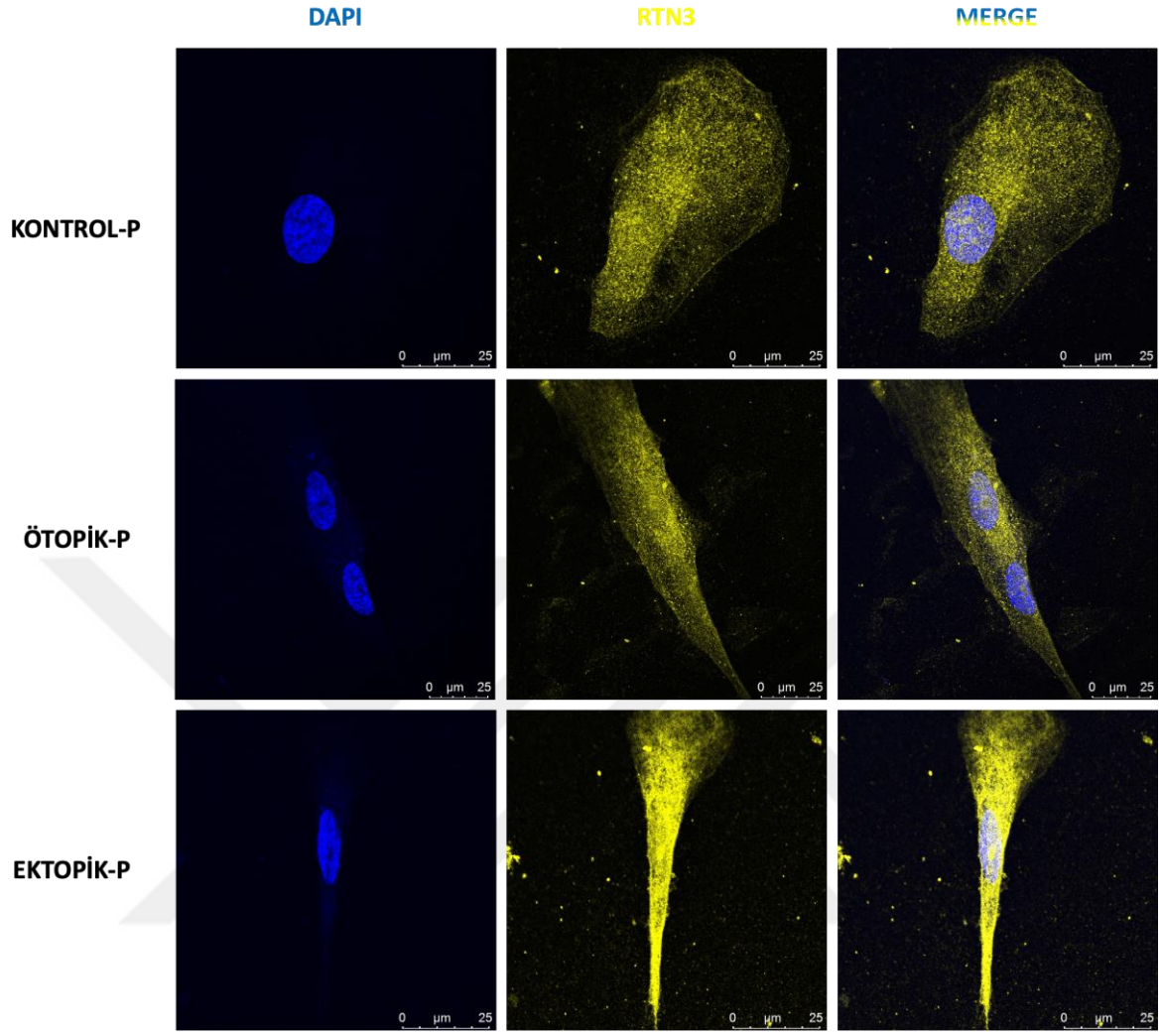
Şekil 4.15. Proliferatif evreye ait Kontrol, Ötopik ve Ektopik endometriyum gruplarında ERp44 ekspresyonu. Ölçü çubuğu: 25 μ m.

Tablo 4-11. Proliferatif evreye ait kontrol, ötopik ve ektopik endometriyum gruplarında ERp44 ekspresyon grafiği



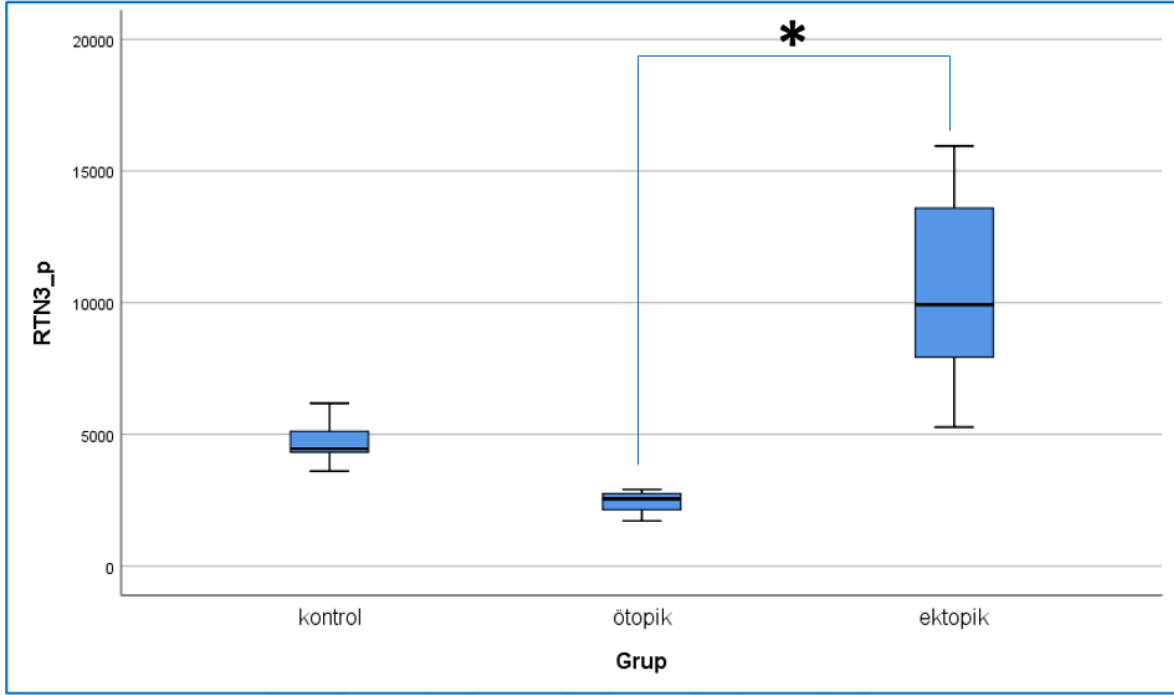
4.3.3. RTN3 İmmüno Floresan Analizi

Proliferatif evreye ait kontrol, ötopik ve ektopik endometriyum grupları karşılaştırıldığında; ektopik endometriyumdan izole edilen eMKH'lerde RTN3 ekspresyonunun, ötopik gruptan izole edilen eMKH'lere göre istatistiksel olarak anlamlı artış gösterdiği tespit edilmiştir ($p=0,000$) (Şekil 4.16 ve Tablo 4.12).



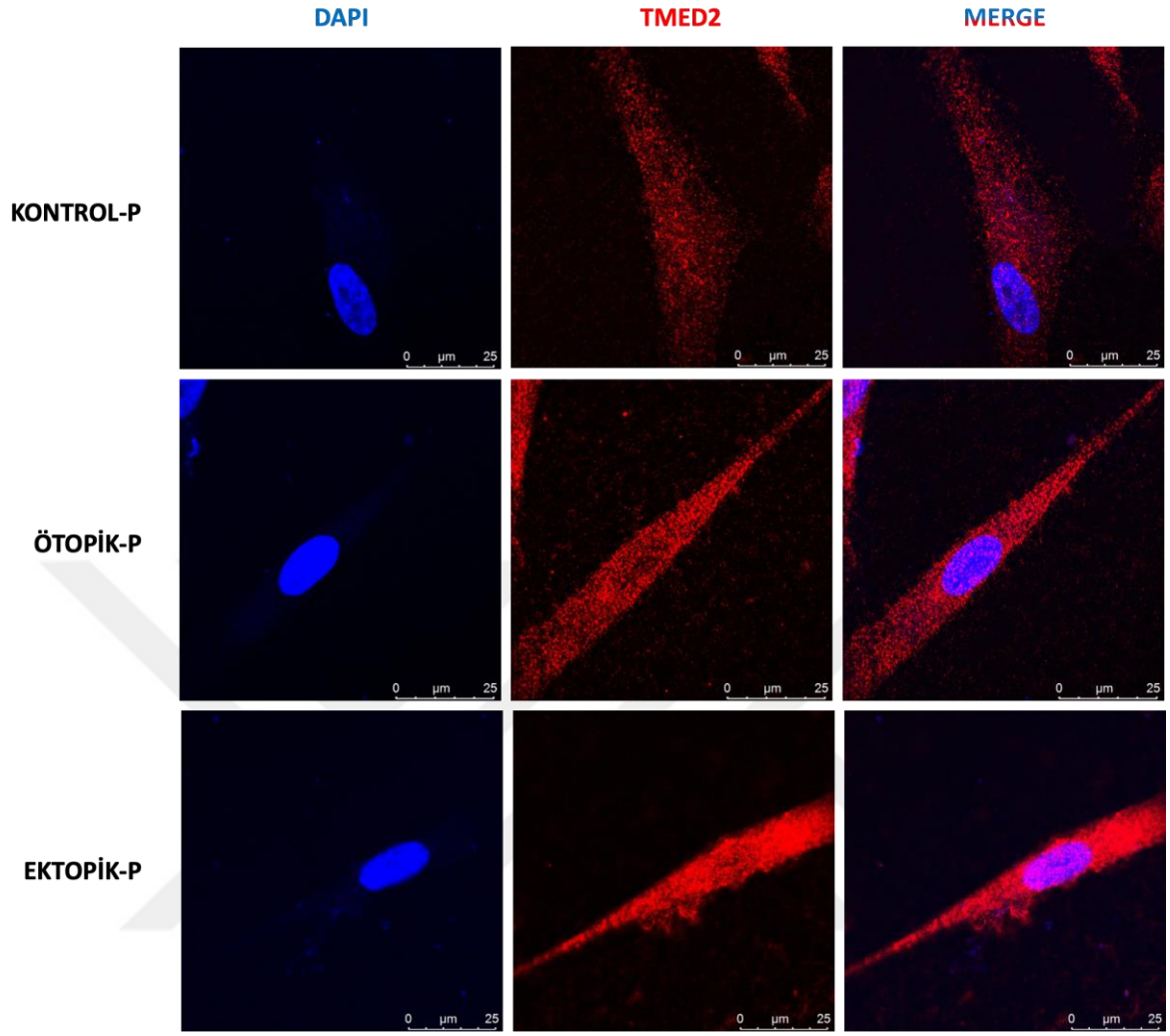
Şekil 4.16. Proliferatif evreye ait Kontrol, Ötopik ve Ektopik endometriyum gruplarında RTN3 ekspresyonu. Ölçü çubuğu: 25 µm

Tablo 4-12. Proliferatif evreye ait kontrol, ötopik ve ektopik endometriyum gruplarında RTN3 ekspresyon grafiği



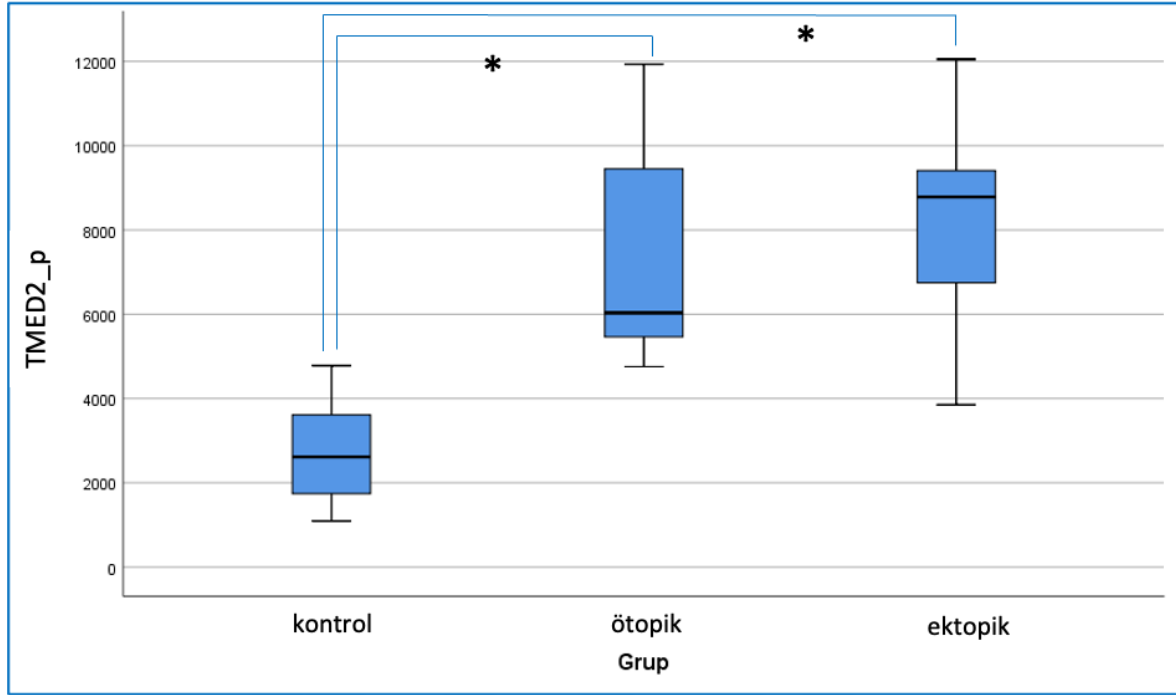
4.3.4. TMED2 İmmünofloresan Analizi

Proliferatif evreye ait kontrol, ötopik ve ektopik endometriyum grupları karşılaştırıldığında; ötopik ve ektopik endometriyumdan izole edilen eMKH'lerde TMED2 ekspresyonunun, kontrol grubundan izole edilenlere kıyasla istatistiksel olarak anlamlı artış gösterdiği tespit edilmiştir ($p=0,018$ ve $p=0,004$) (Şekil 4.17 ve Tablo 4.13).



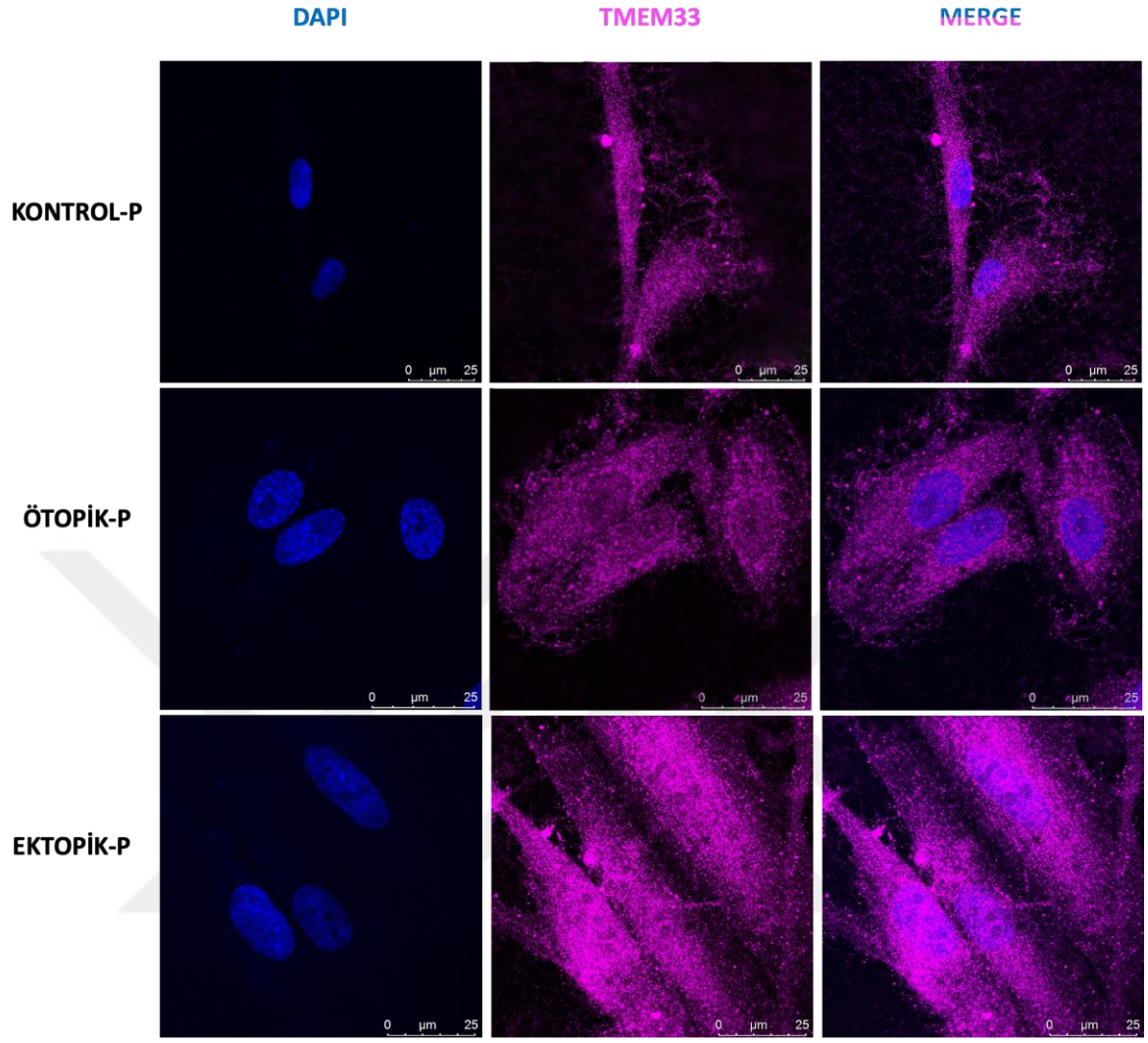
Şekil 4.17. Proliferatif evreye ait Kontrol, Ötopik ve Ektopik endometriyum gruplarında TMED2 ekspresyonu. Ölçü çubuğu: 25 µm

Tablo 4-13. Proliferatif evreyeye ait kontrol, ötopik ve ektopik endometriyum gruplarında TMED2 ekspresyon grafiği



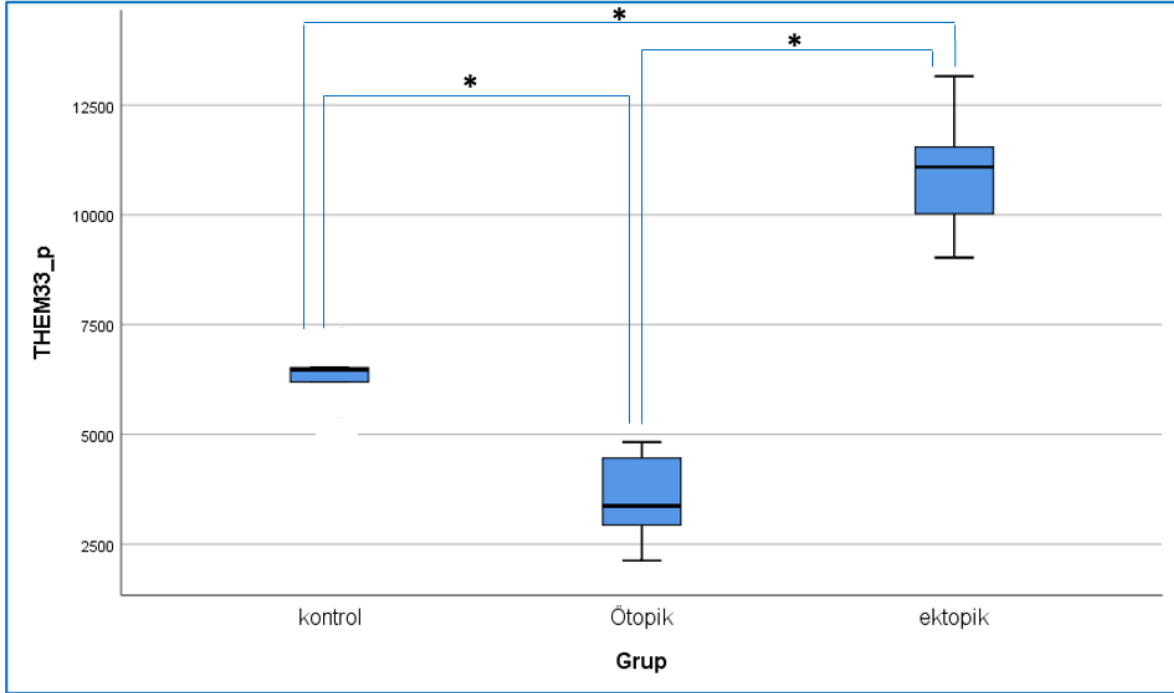
4.3.5. TMEM33 İmmüno Floresan Analizi

Proliferatif evreyeye ait kontrol, ötopik ve ektopik endometriyum grupları karşılaştırıldığında; ektopik endometriyumdan izole edilen eMKH'lerdeki TMEM33 ekspresyonunun, kontrol ve ötopik endometriyumdan izole edilenlerdekine göre istatistiksel olarak anlamlı artış gösterdiği tespit edilmiştir ($p=0,000$). Ötopik endometriyum grubundaki TMEM33 ekspresyonu da kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulunmuştur ($p=0,010$) (Şekil 4.18 ve Tablo 4.14).



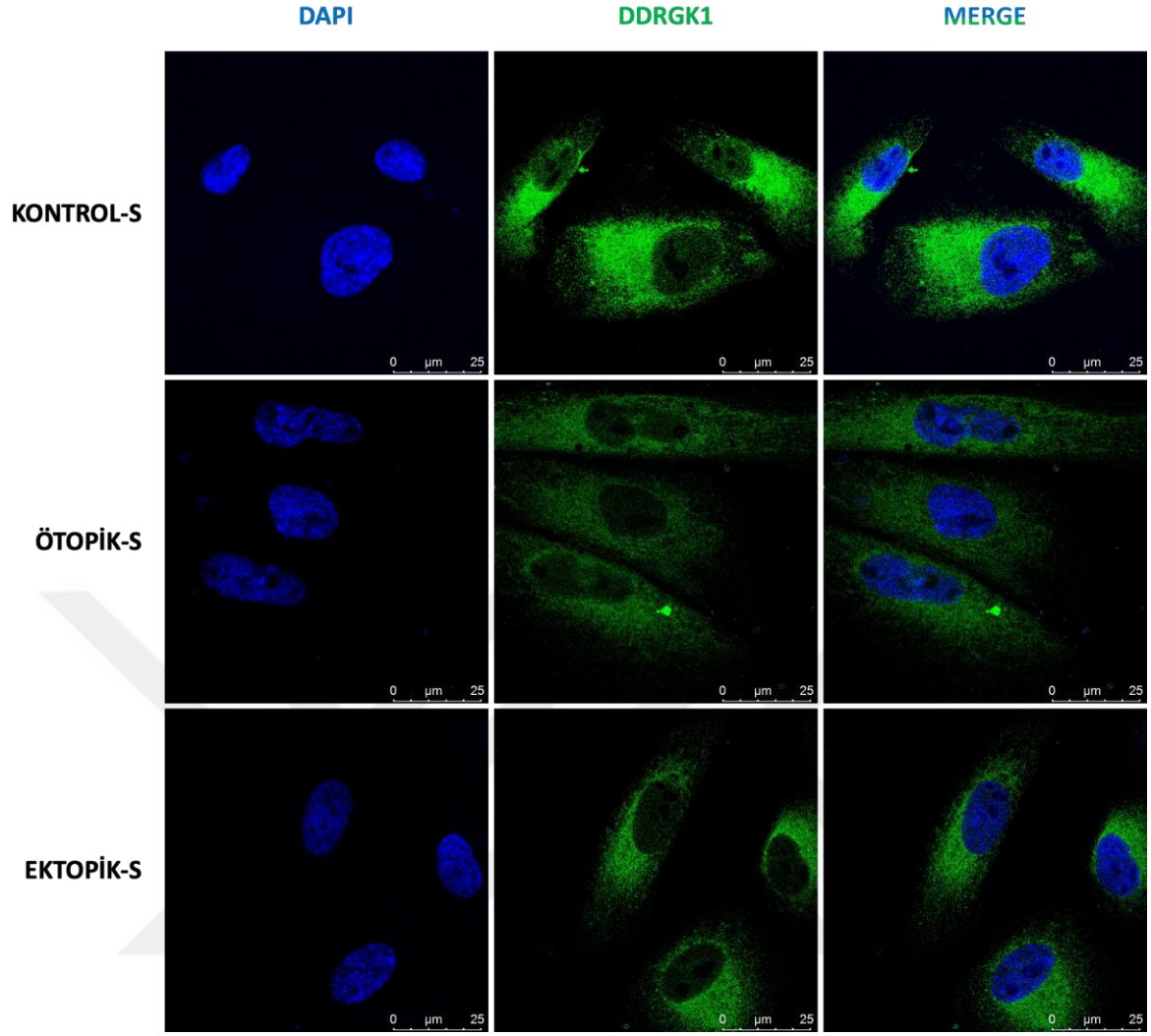
Şekil 4.18. Proliferatif evreye ait Kontrol, Ötopik ve Ektopik endometriyum gruplarında TMEM33 ekspresyonu. Ölçü çubuğu: 25 µm

Tablo 4-14. Proliferatif evreye ait kontrol, ötopik ve ektopik endometriyum gruplarında TMEM33 ekspresyon grafiği



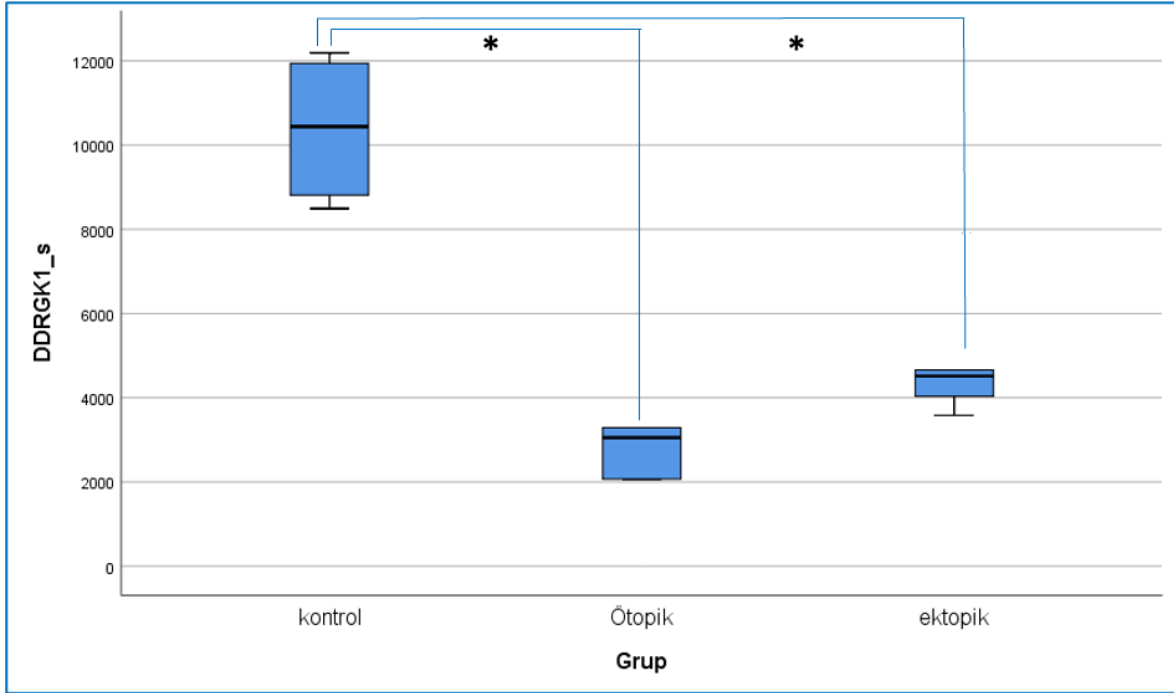
4.3.6. DDRGK1 İmmüno Floresan Analizi

Sekretuvar evreye ait kontrol, ötopik ve ektopik endometriyum grupları karşılaştırıldığında; ötopik ve ektopik endometriyumdan izole edilen eMKH'lerdeki DDRGK1 ekspresyonunun, kontrol grubundan izole edilen eMKH'lerdekine oranla istatistiksel olarak anlamlı ölçüde azaldığı tespit edilmiştir ($p=0,000$) (Şekil 4.19 ve Tablo 4.15).



Şekil 4.19. Sekretuar evreye ait Kontrol, Ötopik ve Ektopik endometriyum gruplarında DDRGK1 ekspresyonu. Ölçü çubuğu: 25 µm

Tablo 4-15. Sekretuvar evreye ait kontrol, ötopik ve ektopik endometriyum gruplarında DDRGK1 ekspresyon grafiği

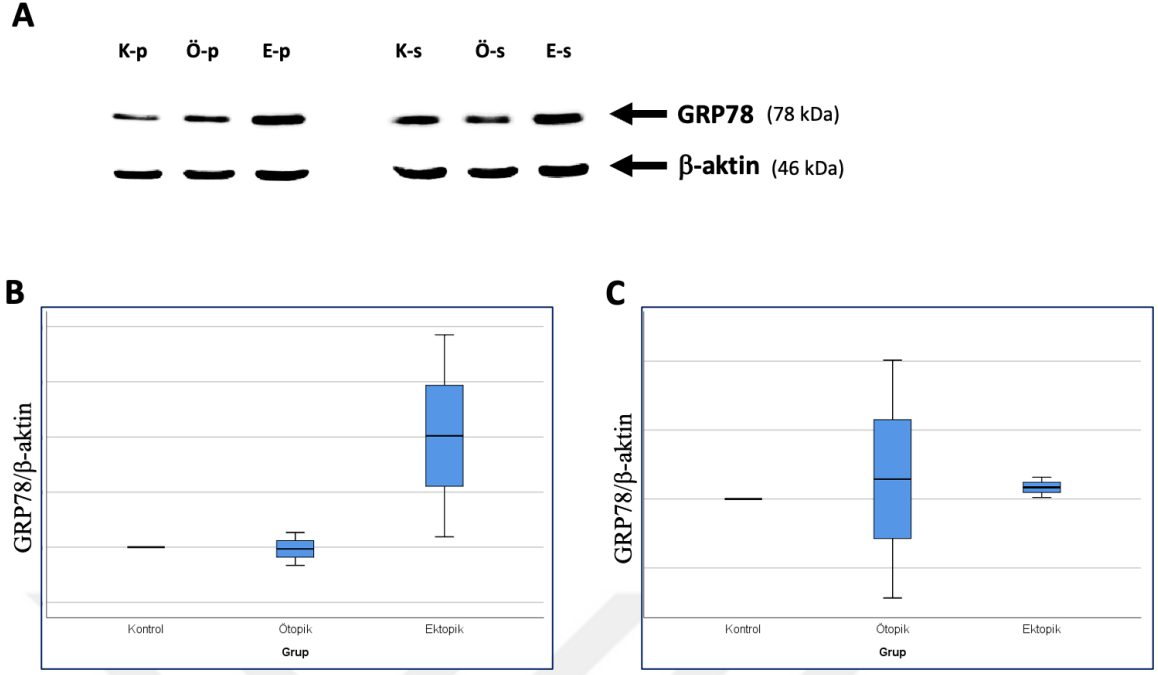


4.4. eMKH' lerin Western Blot Analizi

Proteomiks analizi sonucu belirlenen 6 adet protein ve en çok bilinen ER stres şaperon belirteçlerinden olan GRP78'in western blot analizi gerçekleştirilmiştir.

4.4.1. GRP78 Western Blot Sonuçlarının Analizi

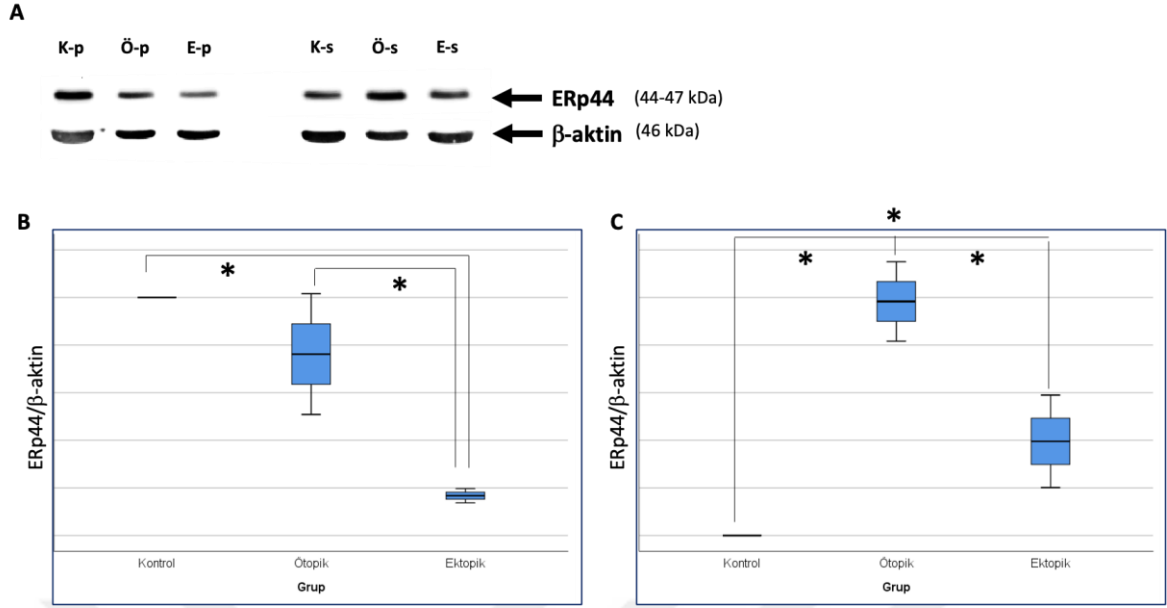
GRP78'e ait protein bantları değerlendirildiğinde; proliferatif ve sekretuvar evrelere ait ektopik endometriyum gruplarında kendi kontrolleri ile kıyaslandığında artış gözlemlense de; gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır. (Şekil 4.20).



Şekil 4.20. GRP78 protein miktarının gösterilmesi. A. Gruplara ait GRP78 ve β-aktin bantları. B. Proliferatif evreye ait kontrol, ötopik ve ektopik endometriyum gruplarında GRP78 protein miktarı. C. Sekretuar evreye ait kontrol, ötopik ve ektopik endometriyum gruplarında GRP78 protein miktarı. K-p: Kontrol-proliferatif, Ö-p: Ötopik-proliferatif, E-p: Ektopik-proliferatif, K-s: Kontrol-sekretuar, Ö-s: Ötopik-sekretuar, E-s: Ektopik-sekretuar.

4.4.2. ERp44 Western Blot Sonuçlarının Analizi

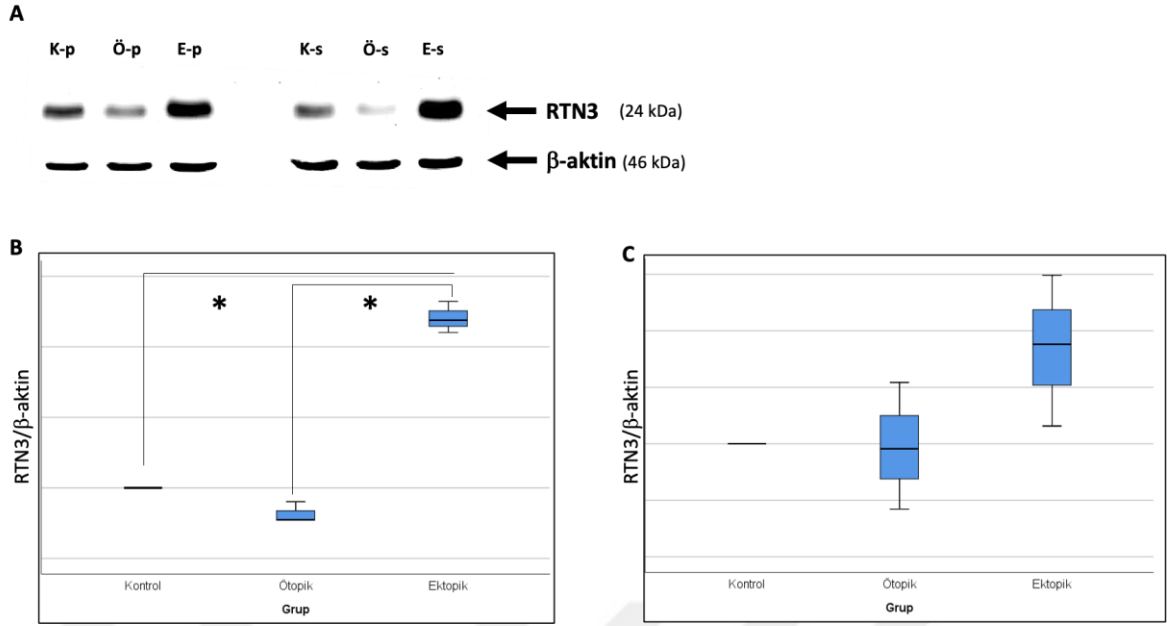
ERp44'e ait protein bantlarının β-aktin bantlarına oranlanması sonucunda; proliferatif evreye ait ötopik ve ektopik endometriyum gruplarında ERp44 protein miktarının kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı azaldığı tespit edilmiştir ($p=0,001$ ve $p=0,006$). Sekretuar evreye ait örneklerde ise tüm gruplar arasında anlamlı farklılık bulunmuştur (kontrol-ötopik $p=0,000$; kontrol-ektopik $p=0,039$; ötopik-ektopik $p=0,007$) (Şekil 4.21).



Şekil 4.21. ERp44 protein miktarının gösterilmesi. A. Gruplara ait ERp44 ve β-aktin bandları. B. Proliferatif evreye ait kontrol, ötopik ve ektopik endometriyum gruplarında ERp44 protein miktarı. C. Sekretuvar evreye ait kontrol, ötopik ve ektopik endometriyum gruplarında ERp44 protein miktarı. *; $p < 0,05$ seviyesinde anlamlılığı ifade etmektedir. K-p: Kontrol-proliferatif, Ö-p: Ötopik-proliferatif, E-p: Ektopik-proliferatif, K-s: Kontrol-sekretuvar, Ö-s: Ötopik-sekretuvar, E-s: Ektopik-sekretuvar.

4.4.3. RTN3 Western Blot Sonuçlarının Analizi

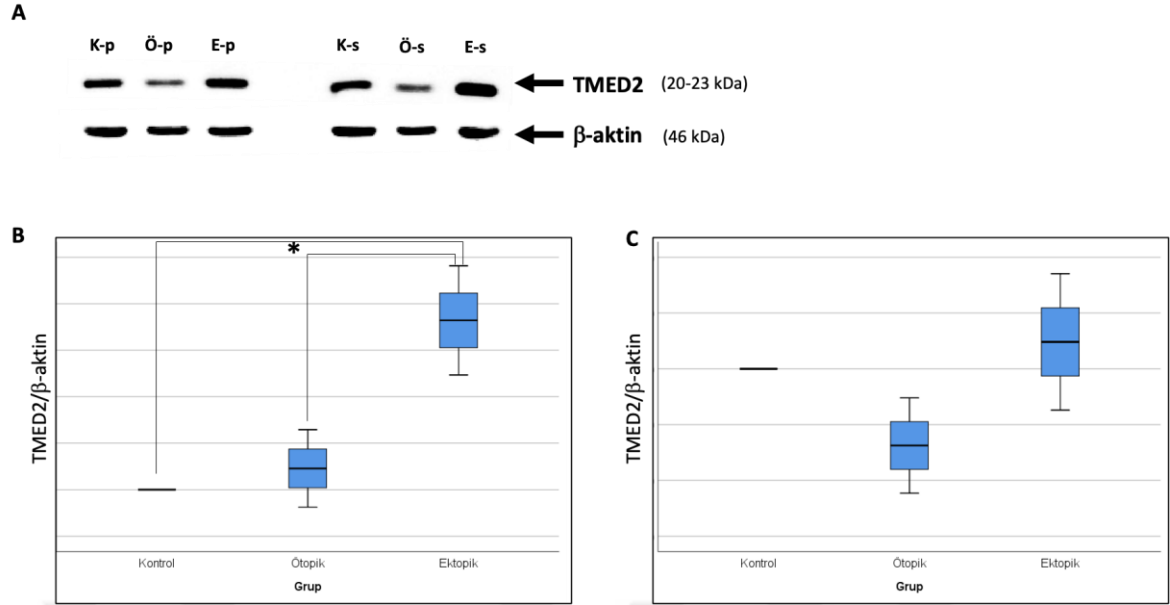
RTN3'e ait protein bantlarının β-aktin bantlarına oranlanması sonucunda; proliferatif evreye ait ektopik endometriyum grubunda RTN3 protein miktarının kontrol ve ötopik endometriyum grupları ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı arttığı tespit edilmiştir ($p=0,000$). Sekretuvar evreye ait kontrol, ötopik ve ektopik endometriyum grupları karşılaştırıldığında ise istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmemiştir (Şekil 4.22).



Şekil 4.22. RTN3 protein miktarının gösterilmesi. A. Gruplara ait RTN3 ve β-aktin bandları. B. Proliferatif evreye ait kontrol, ötopik ve ektopik endometriyum gruplarında RTN3 protein miktarı. C. Sekretuar evreye ait kontrol, ötopik ve ektopik endometriyum gruplarında RTN3 protein miktarı. *; $p < 0,05$ seviyesinde anlamlılığı ifade etmektedir. K-p: Kontrol-proliferatif, Ö-p: Ötopik-proliferatif, E-p: Ektopik-proliferatif, K-s: Kontrol-sekretuar, Ö-s: Ötopik-sekretuar, E-s: Ektopik-sekretuar.

4.4.4. TMED2 Western Blot Sonuçlarının Analizi

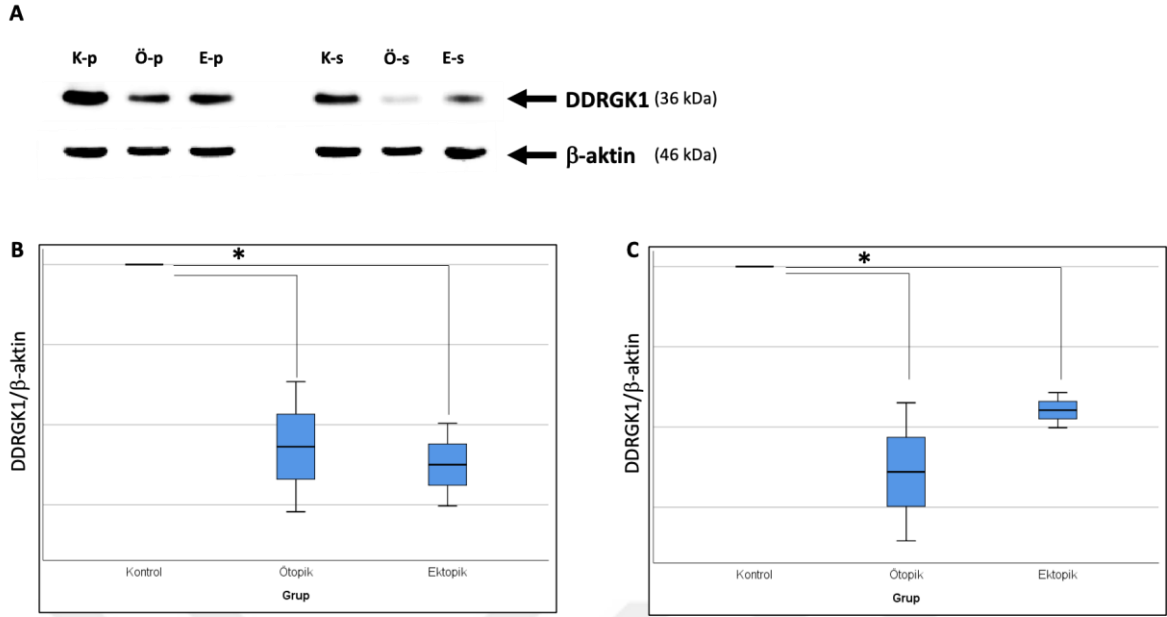
TMED2'ye ait protein bantlarının β-aktin bantlarına oranlanması sonucunda; proliferatif evreye ait ektopik endometriyum grubunda TMED2 protein miktarının kontrol ve ötopik endometriyum grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı artış gösterdiği tespit edilmiştir ($p=0,004$ ve $p=0,008$) (Şekil 4.23). Kontrol ve ötopik endometriyum arasında anlamlı farklılık bulunmamıştır. Sekretuar evrede TMED2 miktarı kontrol grubuna göre ötopik endometriyum grubunda azalmış, ektopik endometriyum grubunda ise artmıştır. Ancak bu farklılıklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.



Şekil 4.23. TMED2 protein miktarının gösterilmesi. A. Gruplara ait TMED2 ve β-aktin bantları. B. Proliferatif evreye ait kontrol, ötopik ve ektopik endometriyum gruplarında TMED2 protein miktarı. C. Sekretuar evreye ait kontrol, ötopik ve ektopik endometriyum gruplarında TMED2 protein miktarı. *; $p < 0,05$ seviyesinde anlamlılığı ifade etmektedir. K-p: Kontrol-proliferatif, Ö-p: Ötopik-proliferatif, E-p: Ektopik-proliferatif, K-s: Kontrol-sekretuar, Ö-s: Ötopik-sekretuar, E-s: Ektopik-sekretuar.

4.4.5. DDRGK1 Western Blot Sonuçlarının Analizi

DDRGK1'e ait protein bantlarının β-aktin bantlarına oranlanması sonucunda; hem proliferatif hem de sekretuar evreye ait ötopik ve ektopik endometriyum gruplarındaki DDRGK1 ekspresyonunun, kendi kontrolleri ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı ölçüde azaldığı tespit edilmiştir ($p=0,006$ ve $p=0,004$; $p=0,002$ ve $p=0,012$). Ötopik ve ektopik endometriyum grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmamıştır (Şekil 4.24).



Şekil 4.24. DDRGK1 protein miktarının gösterilmesi. A. Gruplara ait DDRGK1 ve β -aktin bandları. B. Proliferatif evreye ait kontrol, ötopik ve ektopik endometriyum gruplarında DDRGK1 protein miktarı. C. Sekretuvar evreye ait kontrol, ötopik ve ektopik endometriyum gruplarında DDRGK1 protein miktarı. *: $p < 0,05$ seviyesinde anlamlılığı ifade etmektedir. K-p: Kontrol-proliferatif, Ö-p: Ötopik-proliferatif, E-p: Ektopik-proliferatif, K-s: Kontrol-sekretuvar, Ö-s: Ötopik-sekretuvar, E-s: Ektopik-sekretuvar.

4.5. eMKH'lerin RT-qPCR Analizi

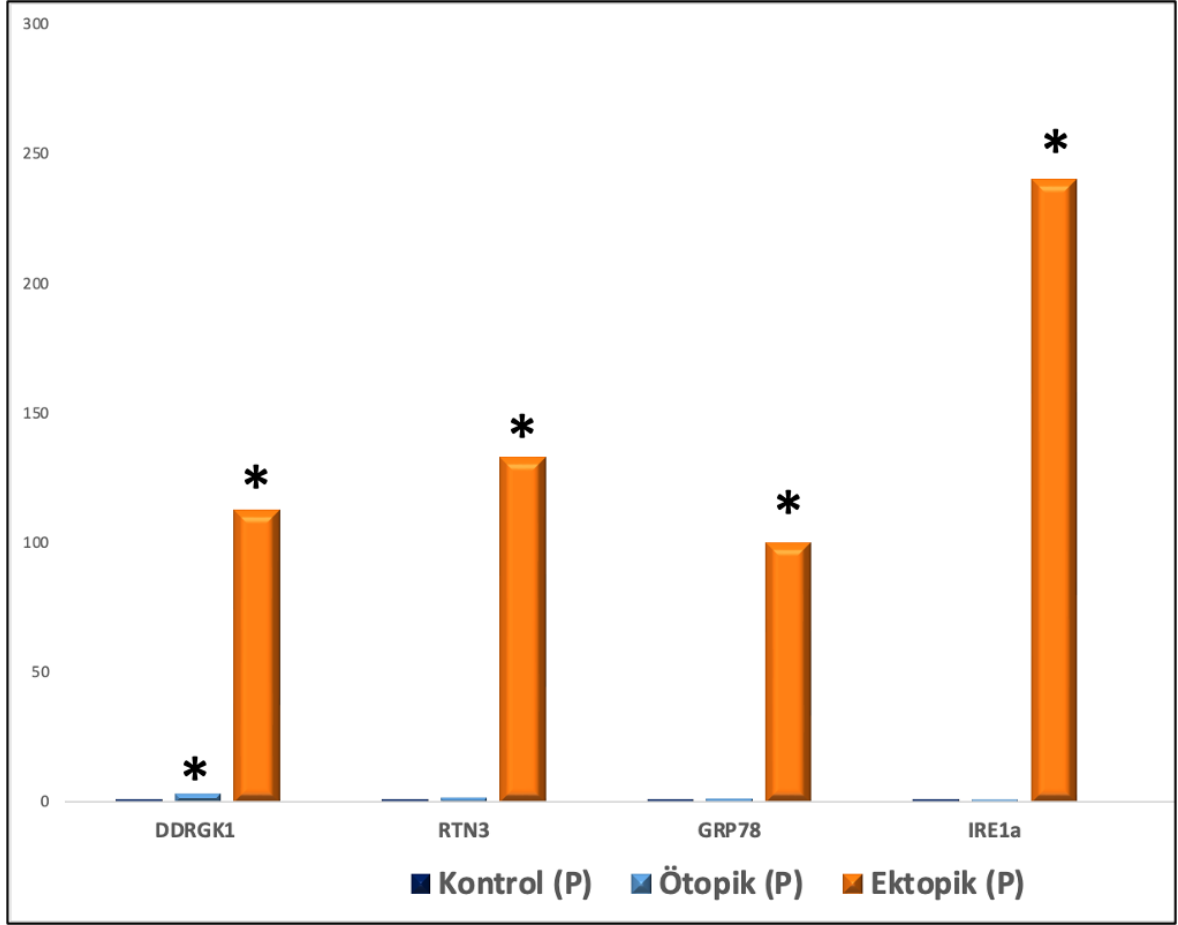
eMKH'lerin RT-qPCR analizinde; en iyi bilinen ER şaperon protein olan GRP78; UPR yolağının üç temel proteini olan IRE1a, PERK ve ATF6 ile proteomiks analizi sonucunda belirlenen 6 protein (DDRGK1, RTN3, ERp44, TMED2, TMEM33, TMX3) gen düzeyinde analiz edilmiştir.

Proliferatif evreye ait kontrol, ötopik ve ektopik endometriyum gruplarındaki eMKH'lerin gen ekspresyon analizi yapıldığında; ektopik gruptaki GRP78, DDRGK1, RTN3 ve IRE1a gen ekspresyonunun kontrol ve ötopik endometriyumdan izole edilen eMKH'lerdekine oranla istatistiksel olarak anlamlı artış gösterdiği tespit edilmiştir. Kontrol ve ötopik endometriyum grupları kendi arasında değerlendirildiğinde; sadece DDRGK1'in ötopik endometriyumda kontrol grubuna göre anlamlı artış gösterdiği belirlenmiştir (Tablo 4.16).

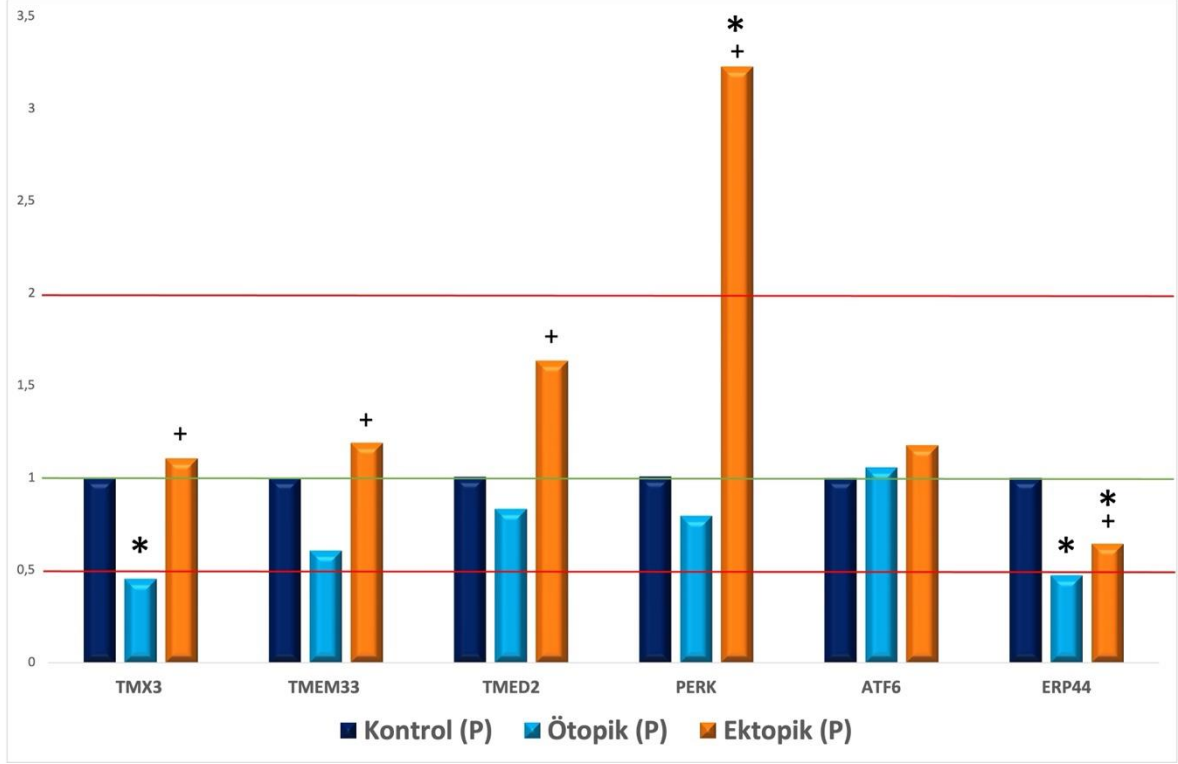
Proliferatif evreye ait kontrol, ötopik ve ektopik endometriyum gruplarındaki eMKH'lerin gen ekspresyon analizinde; TMX3, TMEM33, TMED2, PERK, ATF6 ve ERp44 gen ekspresyonu incelendiğinde; kontrol grubuyla kıyaslandığında ötopik endometriyumdan izole edilen eMKH'lerdeki ERp44'ün istatistiksel olarak anlamlı ölçüde azaldığı; ektopik endometriyumdan izole edilen eMKH'lerdeki PERK'in ekspresyonunun

arttığı ve ERp44'ün ekspresyonunun azaldığı tespit edilmiştir. Ötopik ve ektopik endometriyum grupları kendi içerisinde karşılaştırıldığında; ATF6 dışındaki tüm genlerin ötopik gruba göre istatistiksel olarak anlamlı artış gösterdiği tespit edilmiştir (Tablo 4.17).

Tablo 4-16. Kontrol, Ötopik ve Ektopik endometriyum gruplarında proliferatif evreye ait DDRGK1, RTN3, GRP78 ve IRE1a gen ifadelerini gösteren grafik. (Kontrol-P'ye göre karşılaştırma yapılmıştır). *; Kontrol-P ile kıyaslandığında $p < 0,05$ seviyesinde anlamlılığı ifade etmektedir.



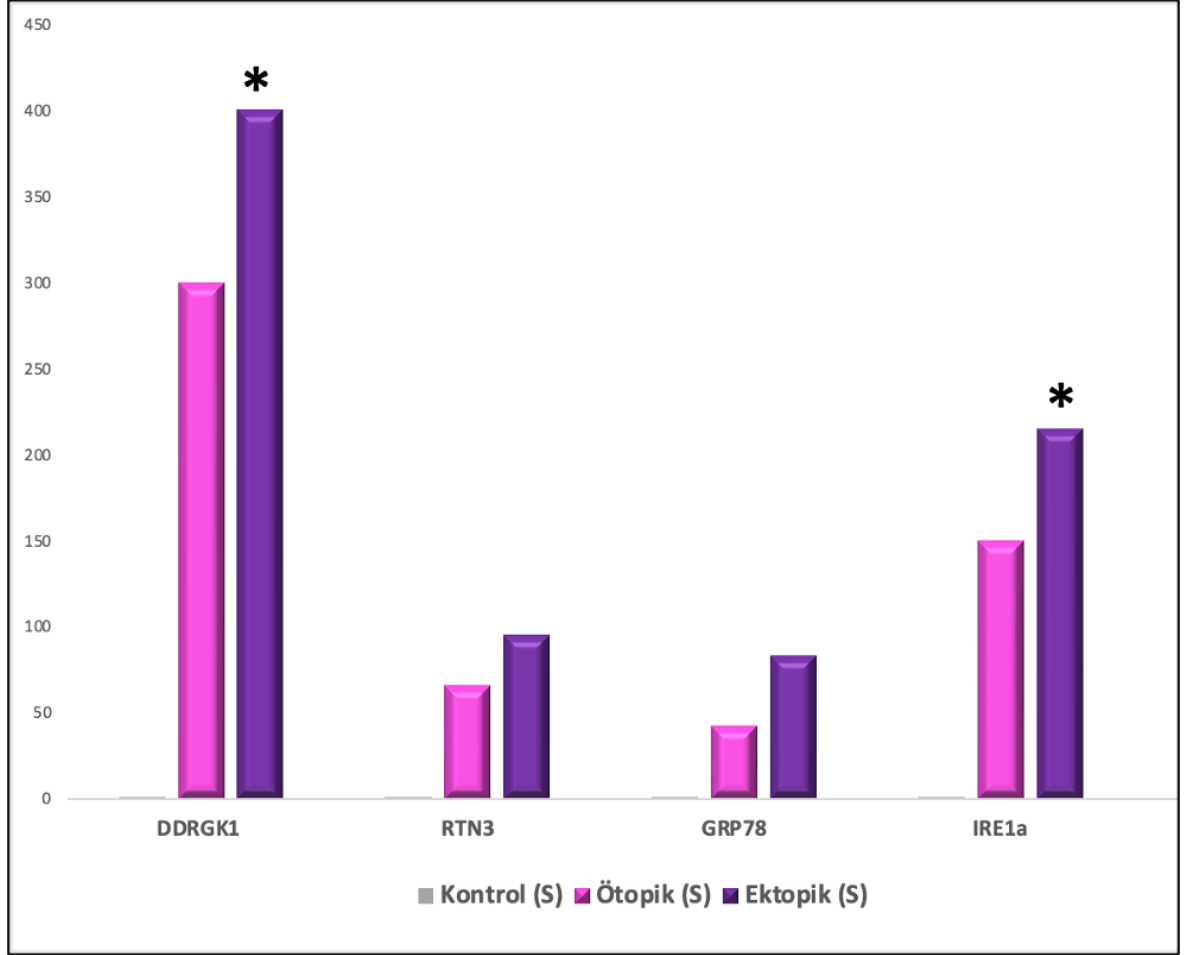
Tablo 4-17. Kontrol, Ötopik ve Ektopik endometriyum gruplarında proliferatif evreye ait TMX3, TMEM33, TMED2, PERK, ATF6 ve ERp44 gen ifadelerini gösteren grafik. (Kontrol-P grubuna göre karşılaştırma yapılmıştır). *; Kontrol-P ile kıyaslandığında $p<0,05$ seviyesinde anlamlılığı ifade etmektedir. +; Ötopik-P ile kıyaslandığında $p<0,05$ seviyesinde anlamlılığı ifade etmektedir.



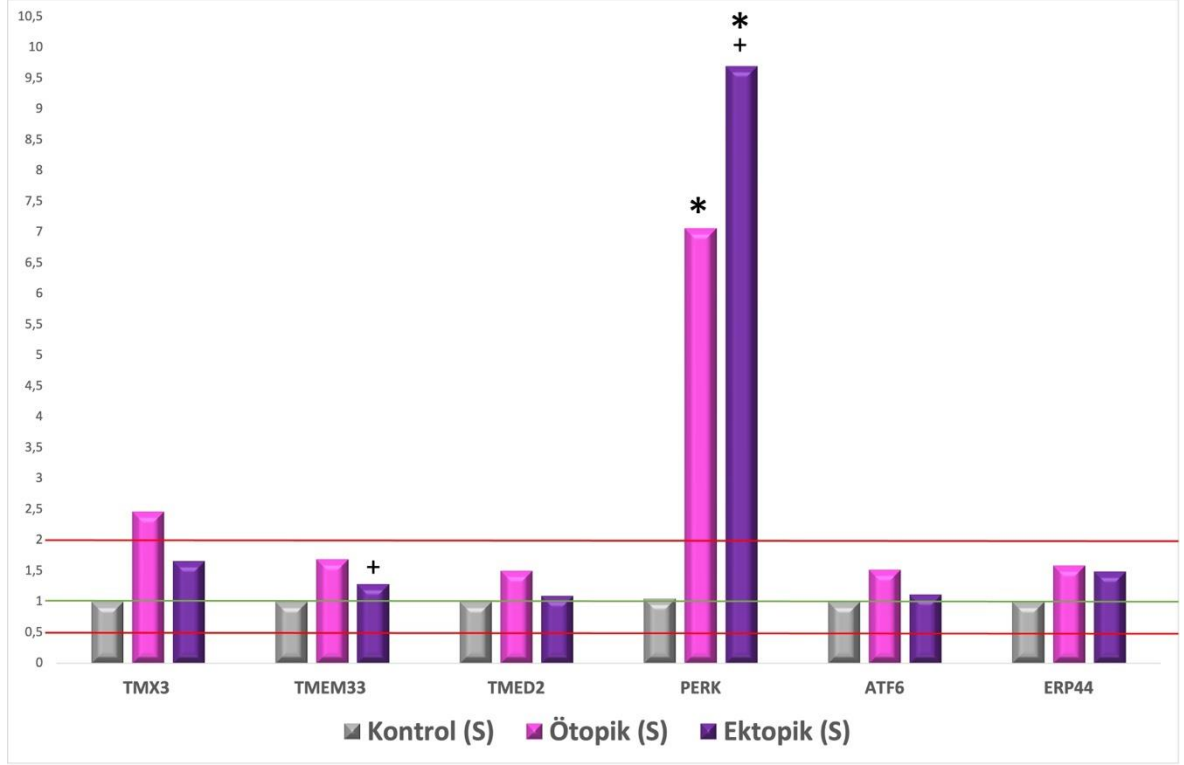
Sekretuar evreye ait kontrol, ötopik ve ektopik endometriyum gruplarındaki eMKH'lerin gen ekspresyon analizi yapıldığında; ektopik endometriyum grubundaki DDRGK1 ve IRE1a gen ekspresyon seviyelerinin kontrol grubuna göre anlamlı artış gösterdiği tespit edilmiştir (Tablo 4.18).

Sekretuar evreye ait kontrol, ötopik ve ektopik endometriyum gruplarındaki eMKH'lerin gen ekspresyon analizi yapıldığında; ektopik gruptaki PERK ekspresyonunun hem kontrol hem de ötopik endometriyum grubuna göre anlamlı artış gösterdiği tespit edilmiştir. Ötopik endometriyum grubundaki PERK gen ekspresyonu da kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı artış göstermiştir. TMEM33 gen ekspresyon seviyesi ektopik endometriyum grubunda kontrole göre anlamlı artış göstermiştir (Tablo 4.19).

Tablo 4-18. Kontrol, Ötopik ve Ektopik endometriyum gruplarında sekretuvar evreye ait DDRGK1, RTN3, GRP78 ve IRE1a gen ifadelerini gösteren grafik. (Kontrol-S'ye göre karşılaştırma yapılmıştır). *; Kontrol-S ile kıyaslandığında $p < 0,05$ seviyesinde anlamlılığı ifade etmektedir.

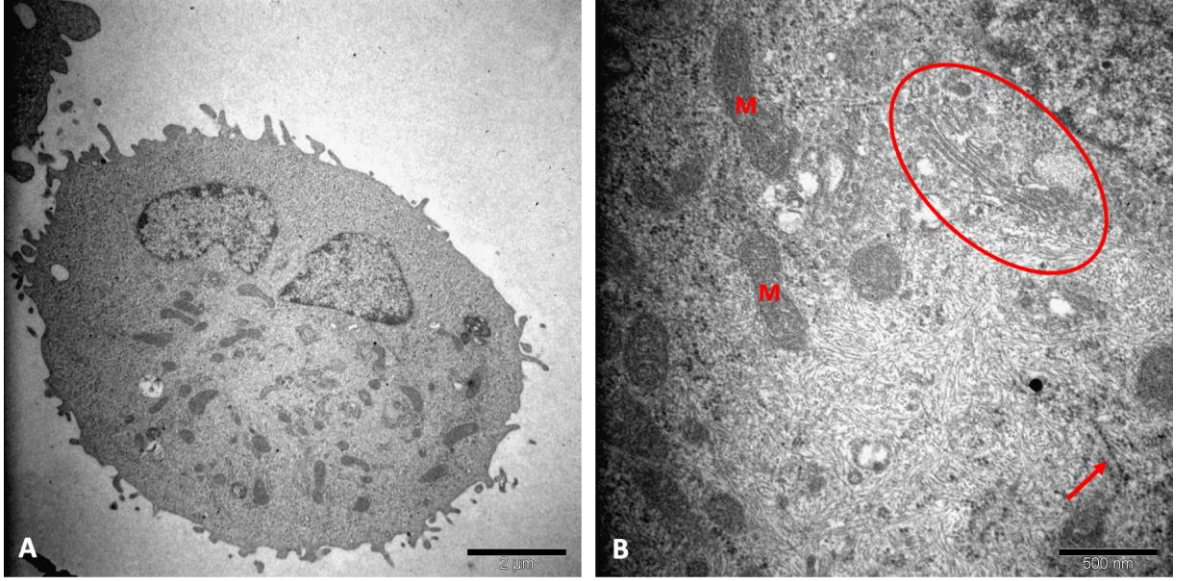


Tablo 4-19. Kontrol, Ötopik ve Ektopik endometriyum gruplarında sekretuar evreye ait TMX3, TMEM33, TMED2, PERK, ATF6 ve ERp44 gen ifadelerini gösteren grafik. (Kontrol-S'ye göre karşılaştırma yapılmıştır). *; Kontrol-S ile kıyaslandığında $p<0,05$ seviyesinde anlamlılığı ifade etmektedir. +; Ötopik-S ile kıyaslandığında $p<0,05$ seviyesinde anlamlılığı ifade etmektedir.

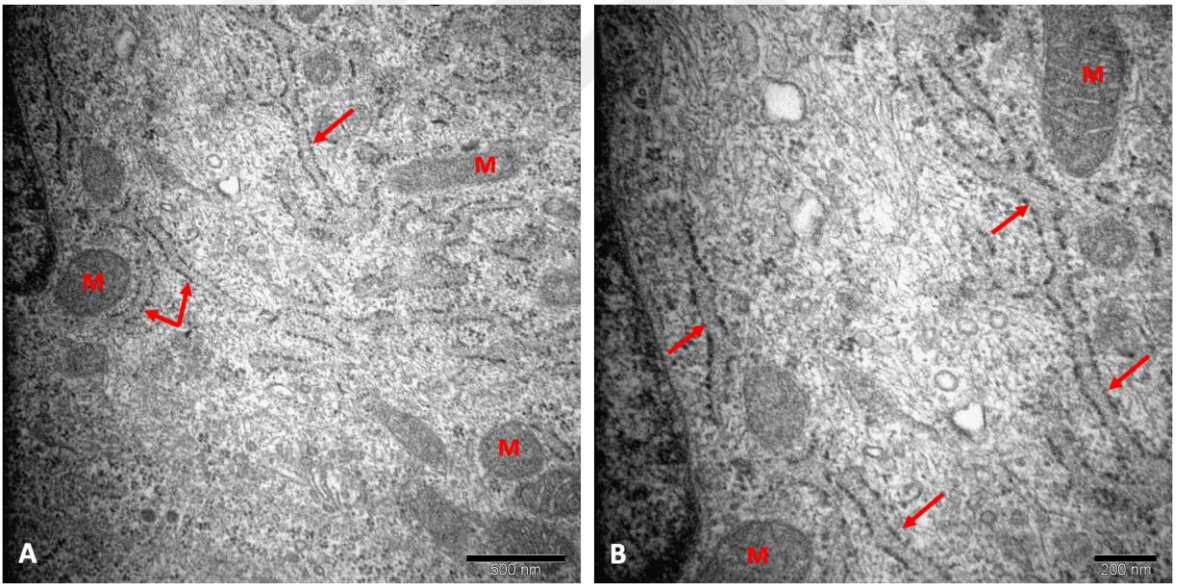


4.6. eMKH'lerin Ultrastrüktürel Analizi

Proliferatif evreye ait kontrol grubu eMKH'leri ultrastrüktürel açıdan incelendiğinde; sağlıklı mitokondriyonlar ve normal morfoloji gösteren gER ve Golgi aygıtı gözlemlenmiştir (Şekil 4.25 ve 4.26).

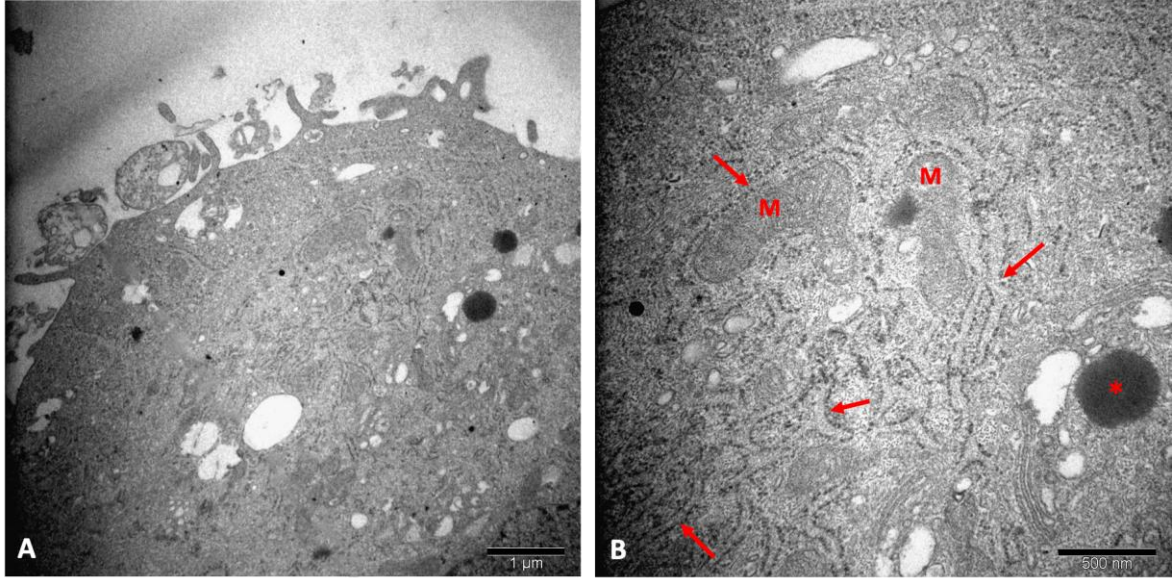


Şekil 4.25. Kontrol grubuna ait eMKH’lerde proliferatif evreye ait elektron mikroskopik fotomikrograflar. Kırmızı ok: gER; M: Mitokondriyon. Kırmızı halka içerisine alınan alan Golgi aygıtını göstermektedir. Uranil asetat ve kurşun sitrat. Ölçü çubuğu; A: 2 μ m ve B: 500 nm.

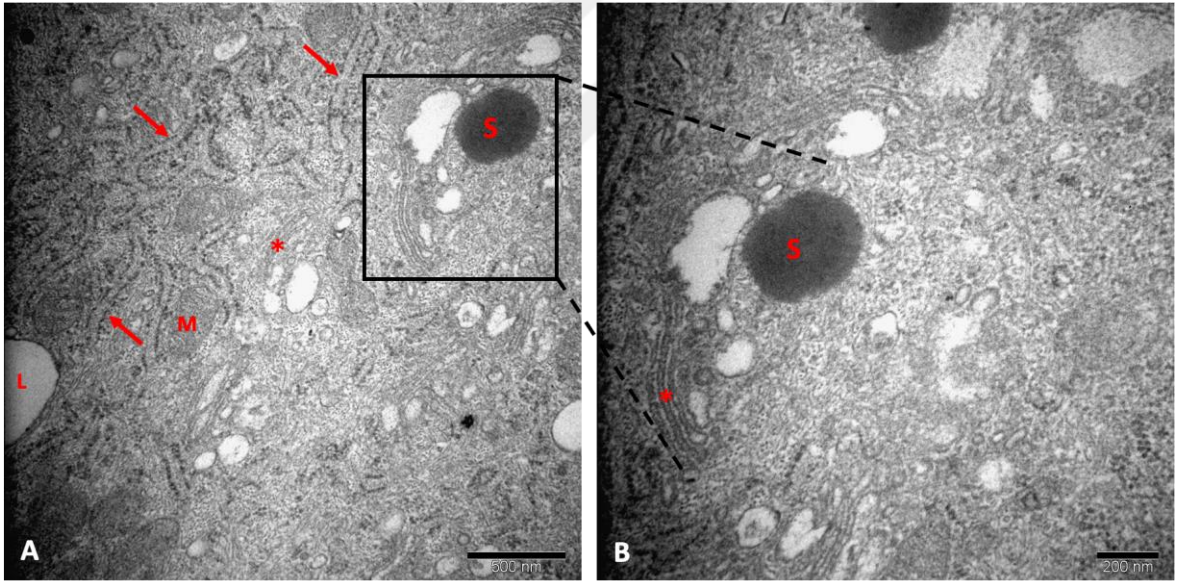


Şekil 4.26. Kontrol grubuna ait eMKH’lerde proliferatif evreye ait elektron mikroskopik fotomikrograflar. Kırmızı ok: gER; M: Mitokondriyon. Uranil asetat ve kurşun sitrat. Ölçü çubuğu; A: 500 nm ve B: 200 nm.

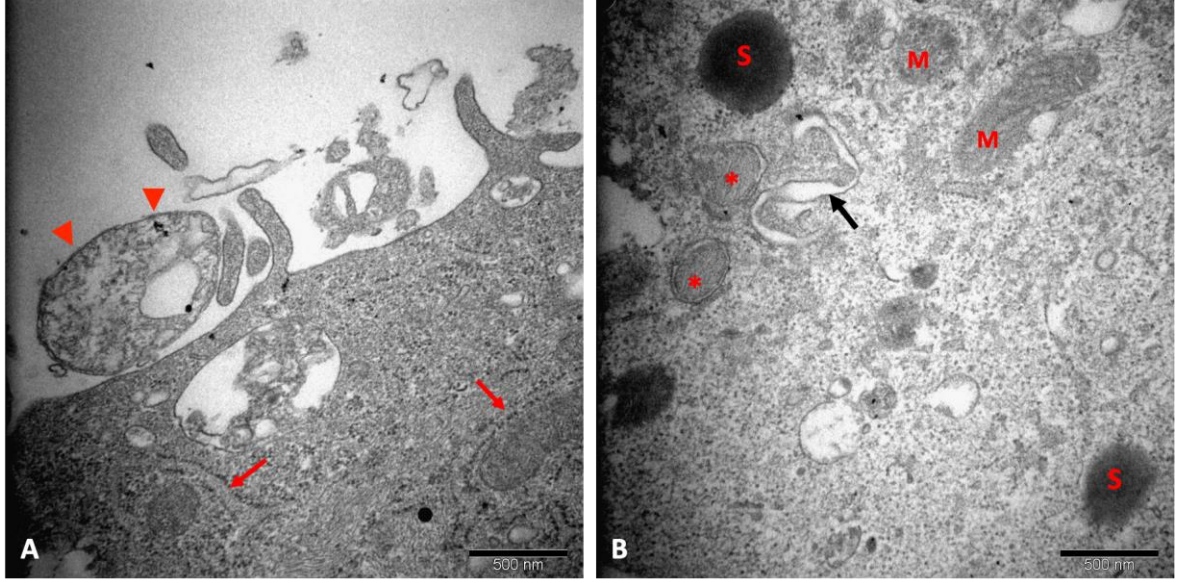
Sekretuar evreye ait kontrol grubu eMKH’leri incelendiğinde; sağlıklı mitokondriyonlar ve normal morfoloji gösteren gER ve Golgi aygıtı ile salgı vezikülleri gözlemlenmiştir (Şekil 4.27 ve 4.28). Salgı veziküllerinin yanı sıra ekzositotik vezikül ve dER yapıları da gözlemlenmiştir (Şekil 4.29).



Şekil 4.27. Kontrol grubuna ait eMKH’lerde sekretuvar evreye ait elektron mikroskobik fotomikrograflar. Kırmızı ok: gER; M: Mitokondriyon; Yıldız: Salgı vezikülü. Uranil asetat ve kurşun sitrat. Ölçü çubuğu; A: 1µm ve B: 500 nm.

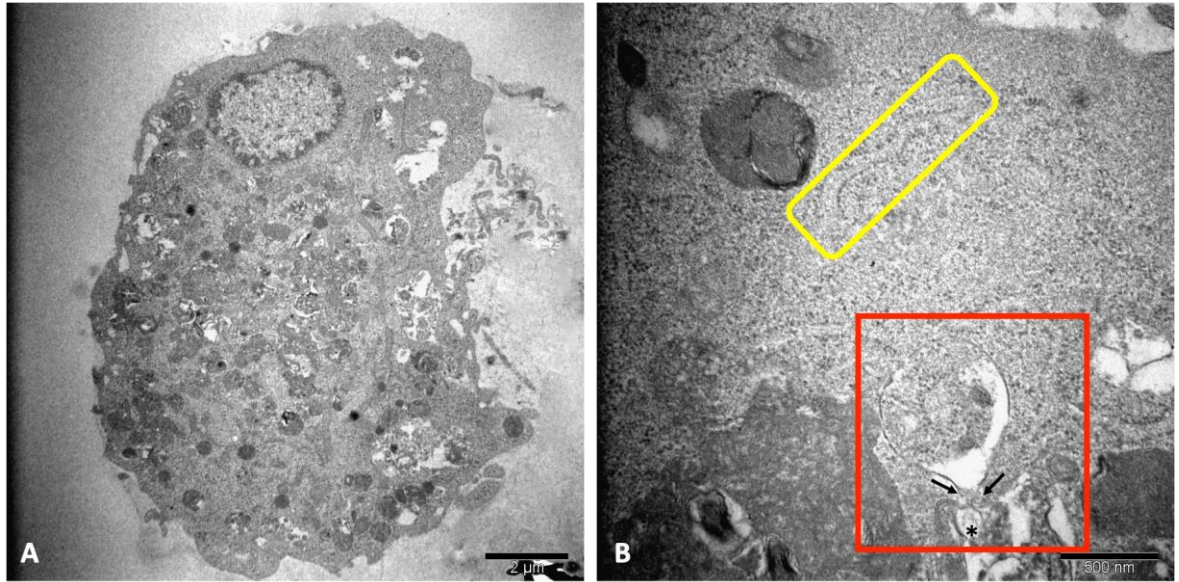


Şekil 4.28. Kontrol grubuna ait eMKH’lerde sekretuvar evreye ait elektron mikroskobik fotomikrograflar. Şekil 4.28A’da çerçeve içerisine alınan alan 28B’de büyütülmüştür. Kırmızı ok: gER; M: Mitokondriyon; S: Salgı vezikülü; Yıldız: Golgi aygıtı. Uranil asetat ve kurşun sitrat. Ölçü çubuğu; A:500 nm ve B: 200 nm.

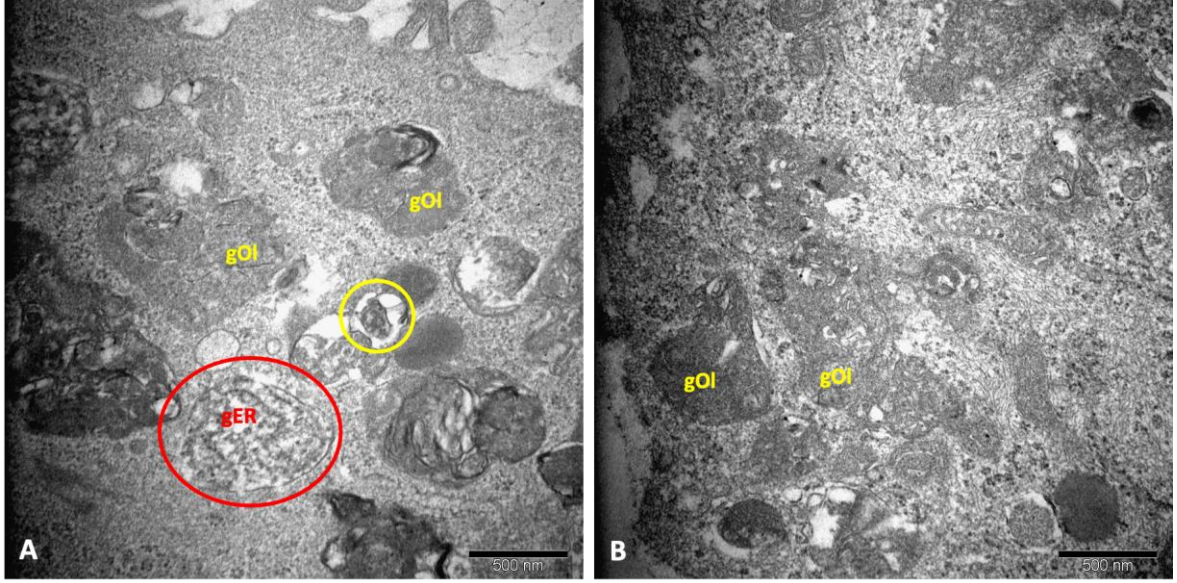


Şekil 4.29. Kontrol grubuna ait eMKH’lerde sekretuvar evreye ait elektron mikroskopik fotomikrograflar. Kırmızı ok: gER; Siyah ok: dER; Kırmızı ok başı: Ekzositoz; M: Mitokondriyon; S: Salgı vezikülü; Yıldız: Çift membranlı otofagozom. Uranil asetat ve kurşun sitrat. Ölçü çubuğu: 500 nm.

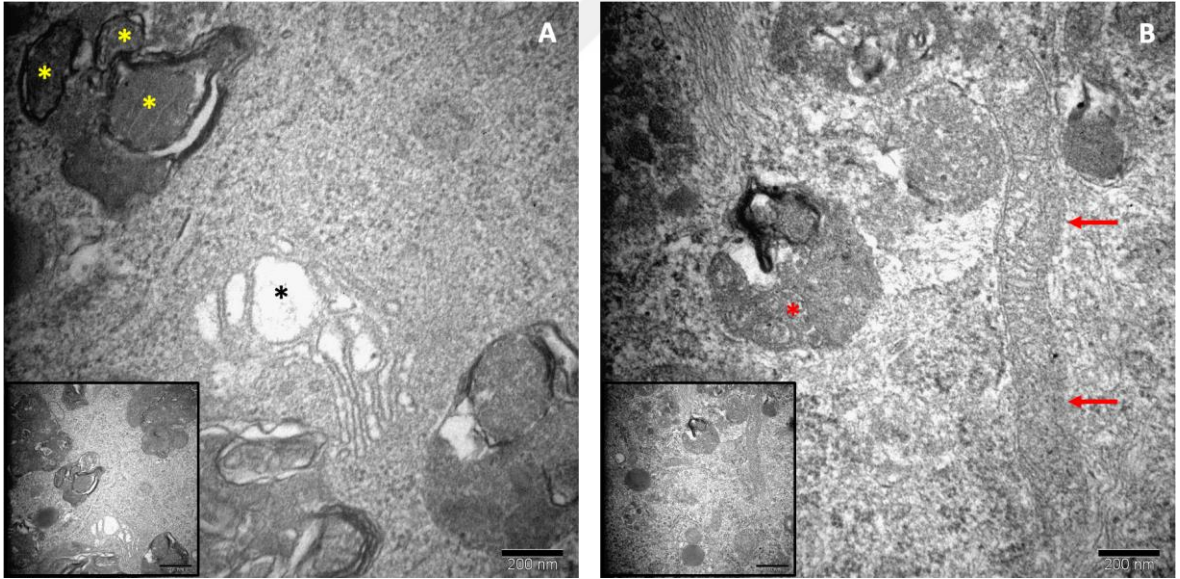
Proliferatif evreye ait ötopik grup eMKH’leri incelendiğinde; gER içeren otofagozom yapıları, uzamış mitokondriyon, geç otolizozomlar ve genişlemiş Golgi kesecikleri gözlemlenmiştir (Şekil 4.30, Şekil 4.31 ve Şekil 4.32).



Şekil 4.30. Ötopik endometriyum grubuna ait eMKH’lerde proliferatif evreye ait elektron mikroskopik fotomikrograflar. Şekil 4.30B’de kırmızı çerçeve, gER içeren otofagozomun lizozom ile kaynaşmasını (ERfaji); sarı çerçeve içerisine alınan alan ise dER’i göstermektedir. Uranil asetat ve kurşun sitrat. Ölçü çubuğu: A:2 µm ve B:500 nm.

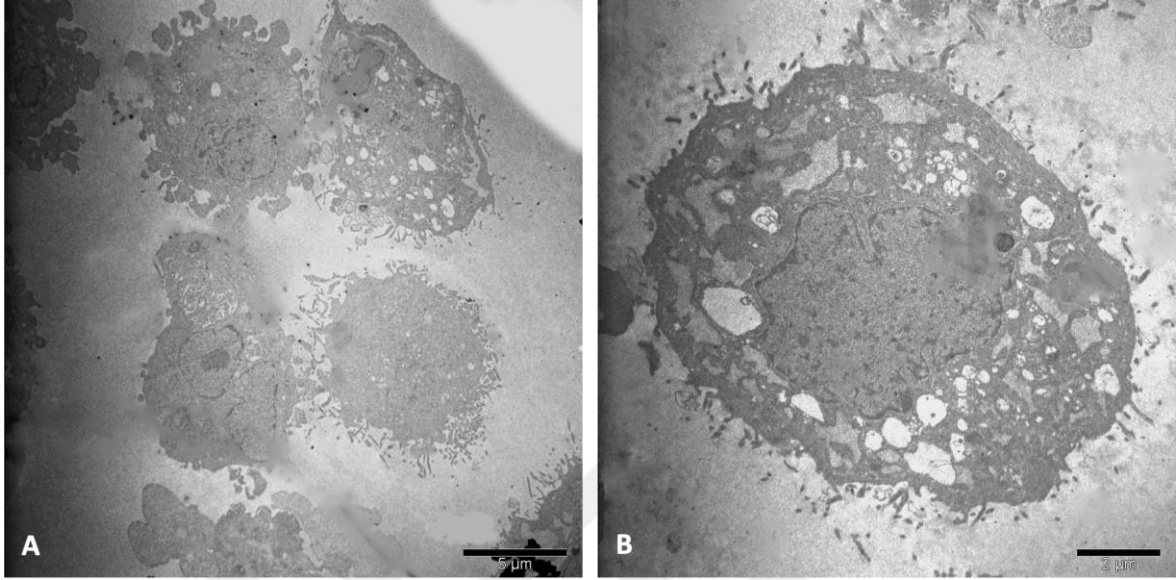


Şekil 4.31. Ötopik endometriyum grubuna ait eMKH’lerde proliferatif evreye ait elektron mikroskopik fotomikrograflar. Kırmızı halka içerisine alınan alan, gER içeren geç otolizozom yapısını (ERfaji); sarı halka içerisine alınan alan ise erken otolizozomu göstermektedir. gOl: Geç otolizozom; gER: Granüllü endoplazmik retikulum. Uranil asetat ve kurşun sitrat. Ölçü çubuğu: 500 nm.

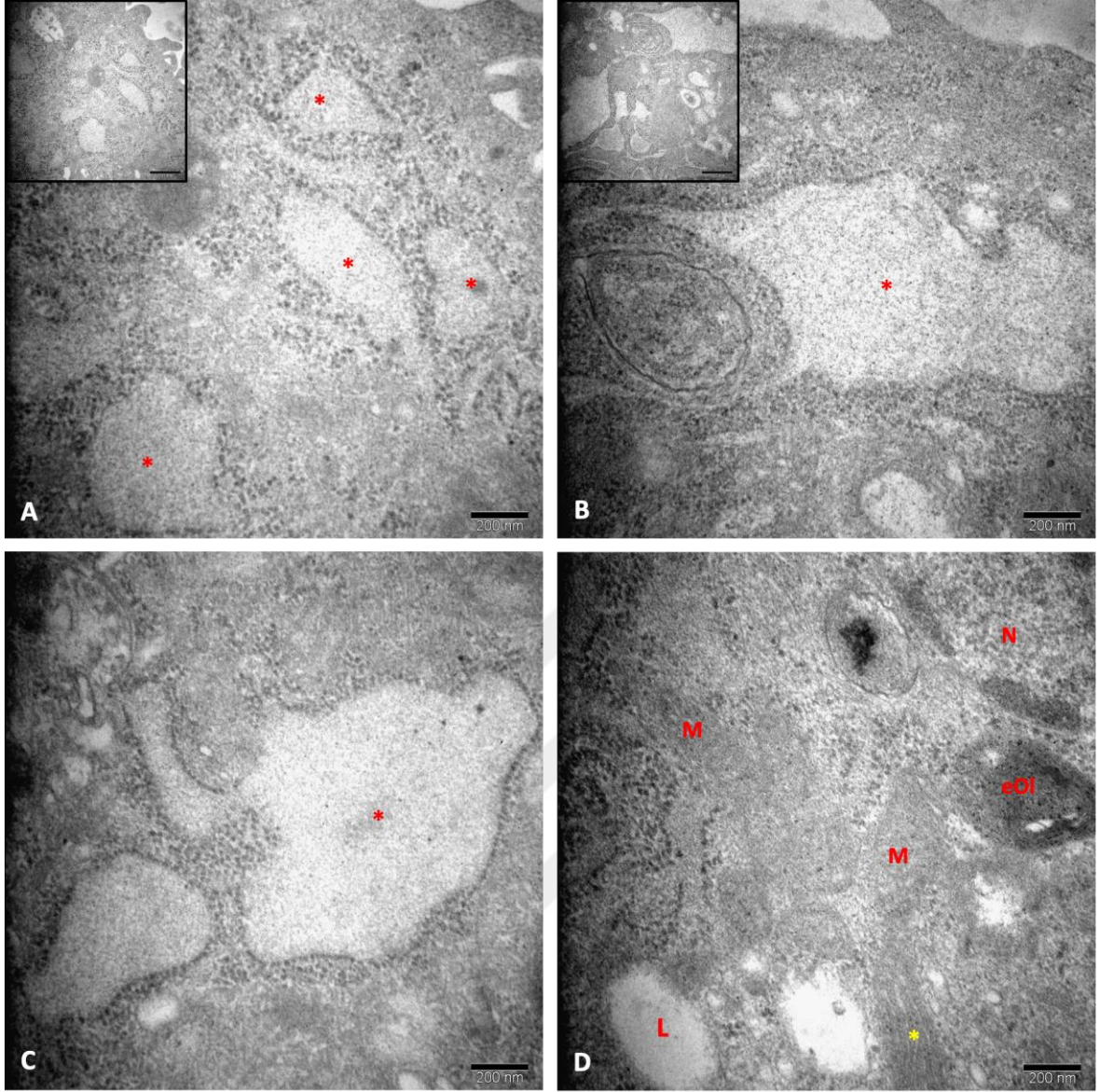


Şekil 4.32. Ötopik endometriyum grubuna ait eMKH’lerde proliferatif evreye ait elektron mikroskopik fotomikrograflar. Sarı yıldız: çift membranlı otolizozom; siyah yıldız: genişlemiş Golgi kesecikleri; kırmızı ok: Uzamış mitokondriyon; kırmızı yıldız: geç otolizozom. Uranil asetat ve kurşun sitrat. Ölçü çubuğu: 500 nm.

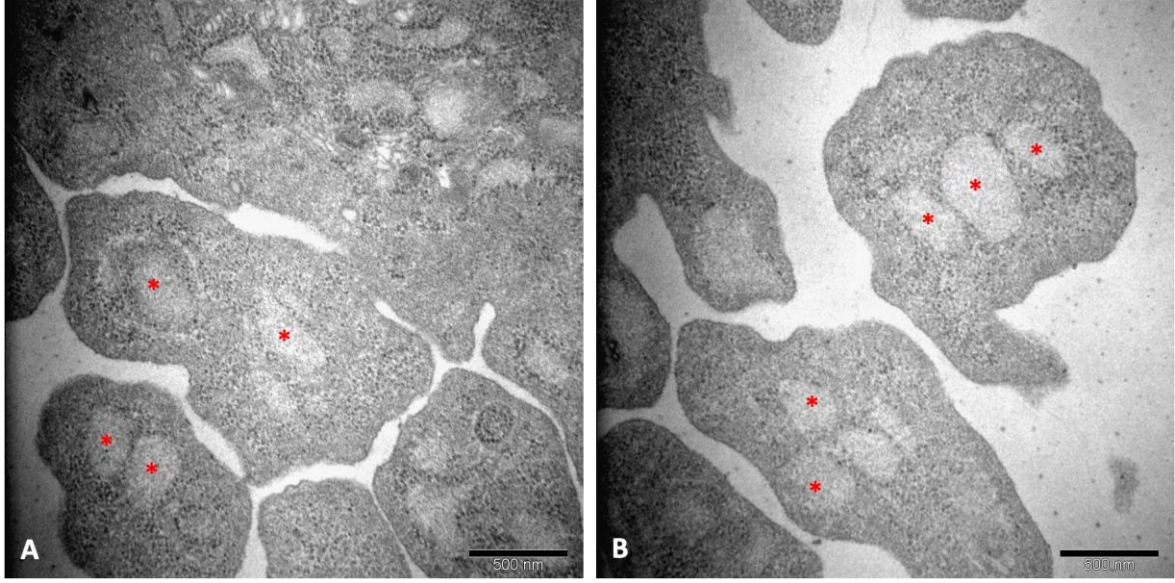
Sekretuvar evreye ait ötopik grup eMKH'leri incelendiğinde; genişlemiş gER keseleri/lümeni, genişlemiş gER içeren apoptotik cisimler, fazla miktarda lizozom ve otolizozom yapıları görülmüştür (Şekil 4.33, Şekil 4.34, Şekil 4.35).



Şekil 4.33. Ötopik endometriyum grubuna ait eMKH'lerde sekretuvar evreye ait elektron mikroskopik fotomikrograflar. Uranil asetat ve kurşun sitrat. Ölçü çubuğu, A: 5 µm ve B: 2 µm.

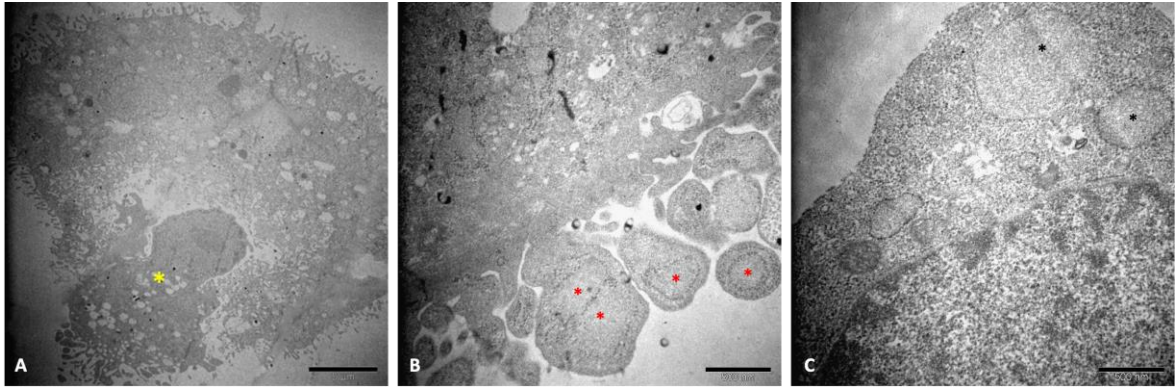


Şekil 4.34. Ötopik endometriyum grubuna ait eMKH’lerde sekretuar evreye ait elektron mikroskopik fotomikrograflar. Kırmızı yıldız: Genişlemiş gER keseleri; M: Mitokondriyon; L: Lizozom; Sarı yıldız: Golgi aygıtı; eOl: Erken otolizozom. Uranil asetat ve kurşun sitrat. Ölçü çubuğu, 200 nm.

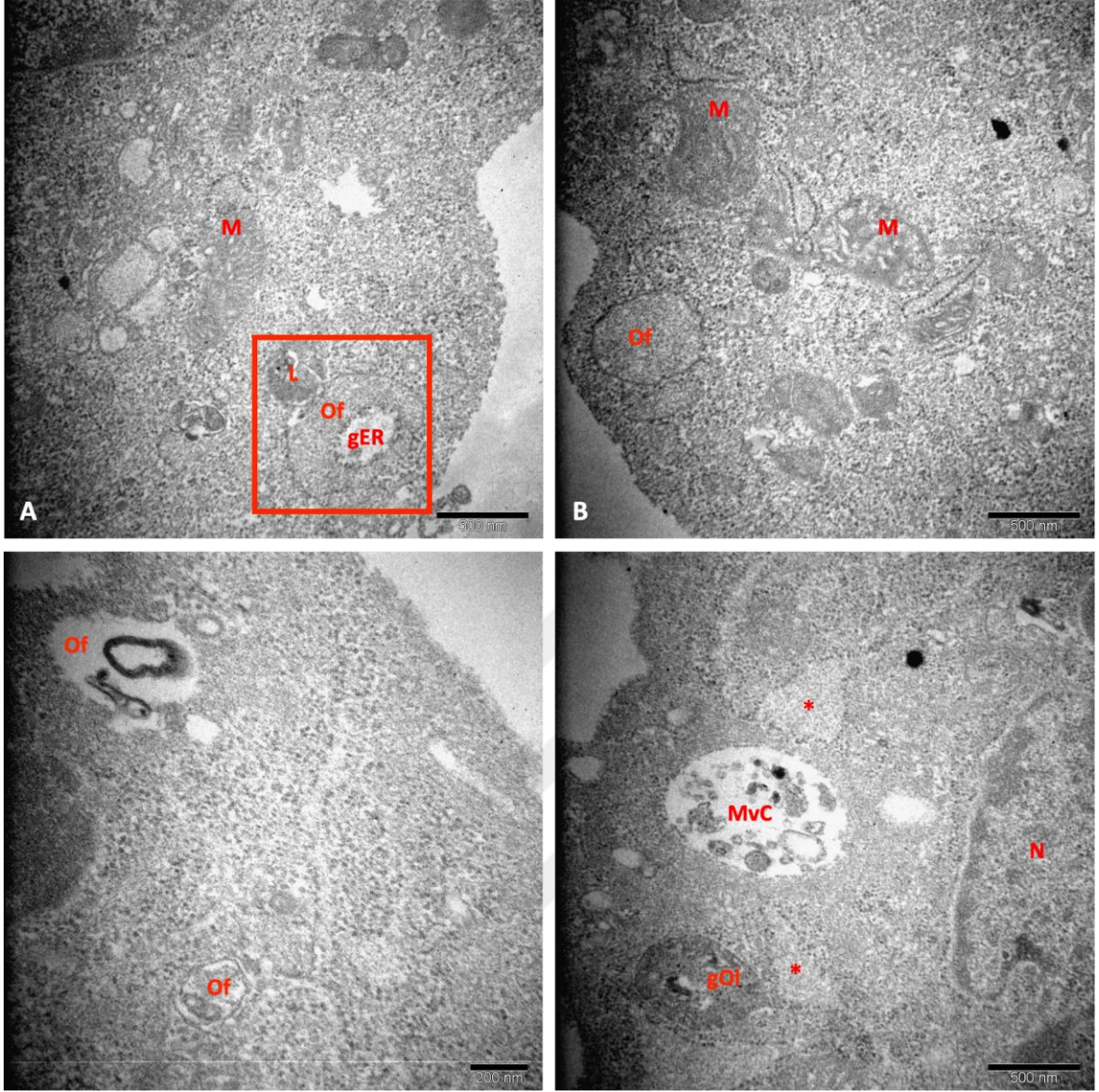


Şekil 4.35. Ötopik endometriyum grubuna ait eMKH’lerde sekretuar evreye ait elektron mikroskopik fotomikrograflar. İçerisinde genişlemiş gER keseleri (kırmızı yıldız) içeren apoptotik cisimler görülmektedir. Uranil asetat ve kurşun sitrat. Ölçü çubuğu, 500 nm.

Proliferatif evreye ait ektopik grup eMKH’leri incelendiğinde; genişlemiş gER keseleri içeren apoptotik cisimler, genişlemiş gER lümeni, krista yapısı bozulmuş mitokondriyon, otolizozom ve otofagolizozom yapıları ve multiveziküler cisimler görülmüştür (Şekil 4.36 ve Şekil 4.37).

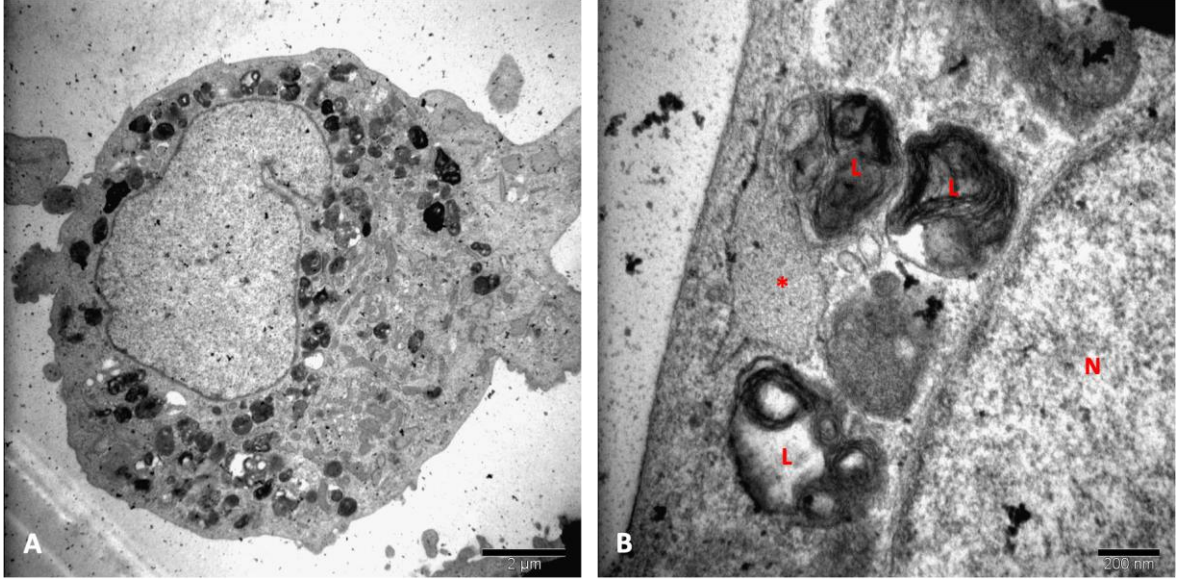


Şekil 4.36. Ektopik endometriyum grubuna ait eMKH’lerde proliferatif evreye ait elektron mikroskopik fotomikrograflar. Sarı yıldız: Apoptotik cisimler; kırmızı yıldız: Genişlemiş gER keseleri içeren apoptotik cisimler; siyah yıldız: Genişlemiş gER kesesi. Uranil asetat ve kurşun sitrat. Ölçü çubuğu, A:5 µm; B ve C: 500 nm.

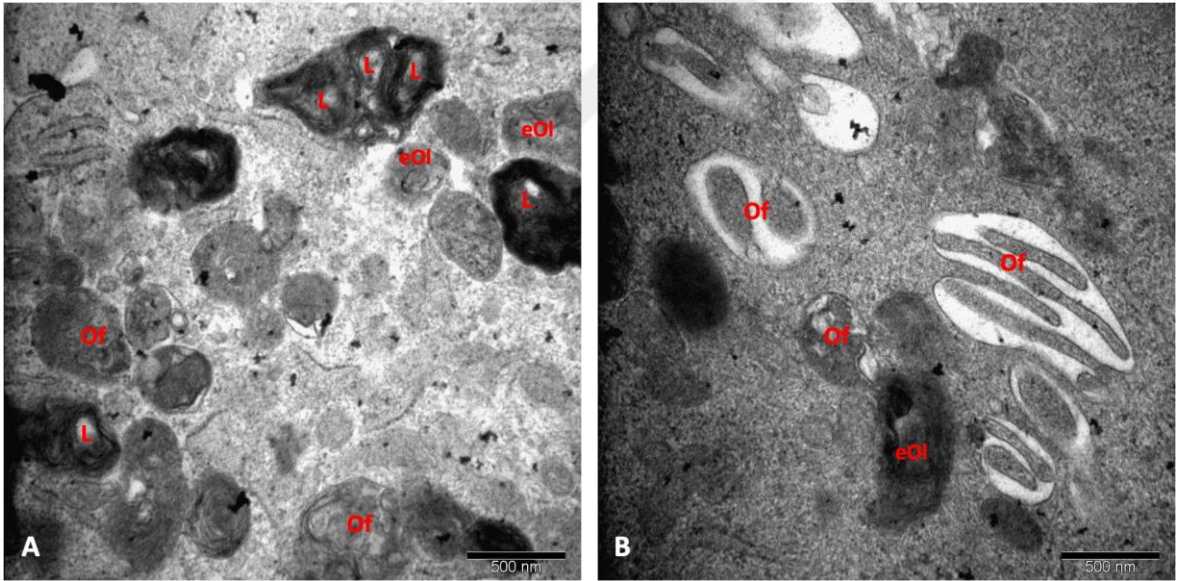


Şekil 4.37. Ektopik endometriyum grubuna ait eMKH’lerde proliferatif evreye ait elektron mikroskopik fotomikrograflar. Kırmızı çerçeve içerisine alınan alanda, gER içeren otofagozom ile lizozomun kaynaşması görülmektedir. M: Mitokondriyon; N: Nukleus; Of: Otofagozom; gOl: Geç otolizozom; MvC: Multiveziküler cisim; Kırmızı yıldız: Genişlemiş gER. Uranil asetat ve kurşun sitrat. Ölçü çubuğu, A, B ve D: 500 nm; C: 200 nm.

Sekretuar evreye ait ektopik grup eMKH’leri incelendiğinde; fazla miktarda lizozom yapıları, genişlemiş gER keseleri, otofagozom ve otolizozom yapıları görülmüştür (Şekil 4.38 ve Şekil 4.39).



Şekil 4.38. Ektopik endometriyum grubuna ait eMKH’lerde sekretuar evreye ait elektron mikroskopik fotomikrograflar. L: Lizozom; Kırmızı yıldız: Genişlemiş gER; N: Nukleus. Uranil asetat ve kurşun sitrat. Ölçü çubuğu, A: 2 µm ve B: 200 nm.



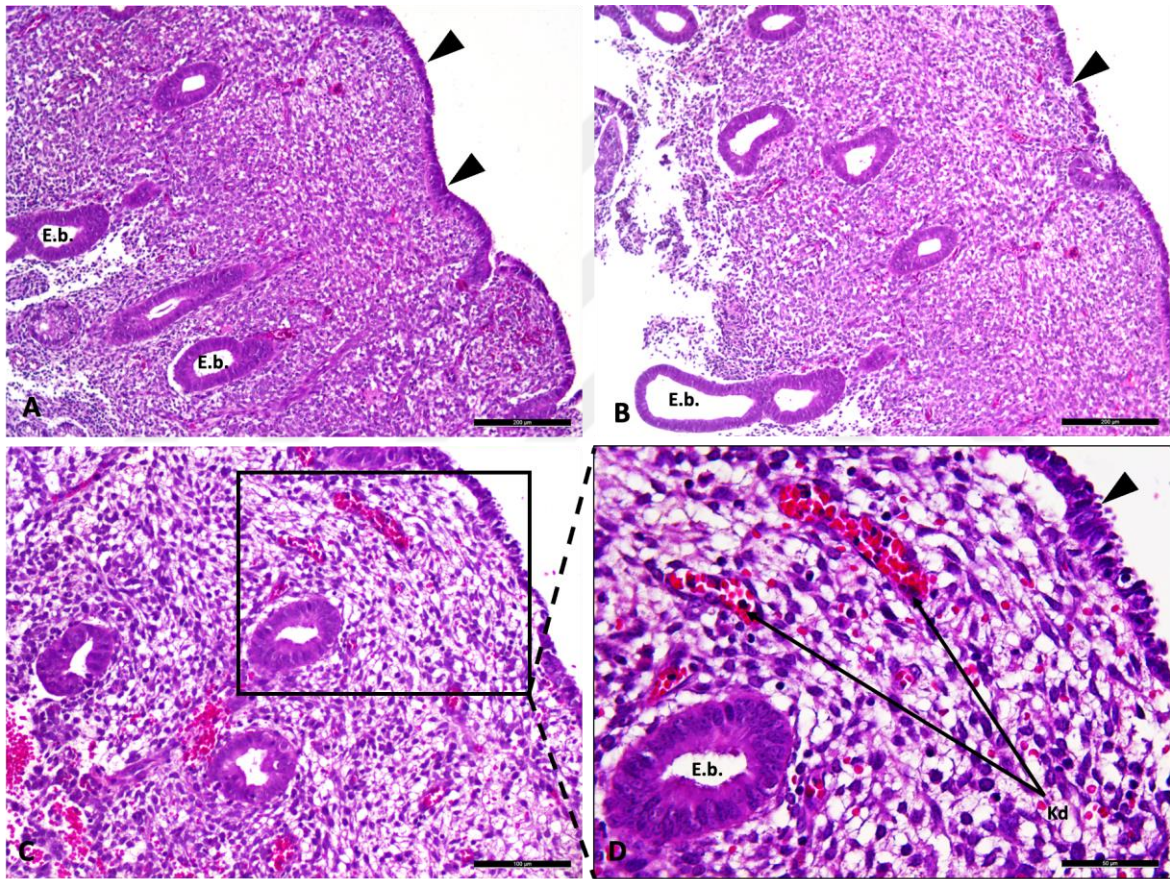
Şekil 4.39. Ektopik endometriyum grubuna ait eMKH’lerde sekretuar evreye ait elektron mikroskopik fotomikrograflar. L: Lizozom; Of: Otofagozom; eOl: Erken otolizozom. Uranil asetat ve kurşun sitrat. Ölçü çubuğu: 500 nm.

4.7. In Vivo Bulgular

4.7.1. Hematoksilen & Eozin (H&E) Boyaması

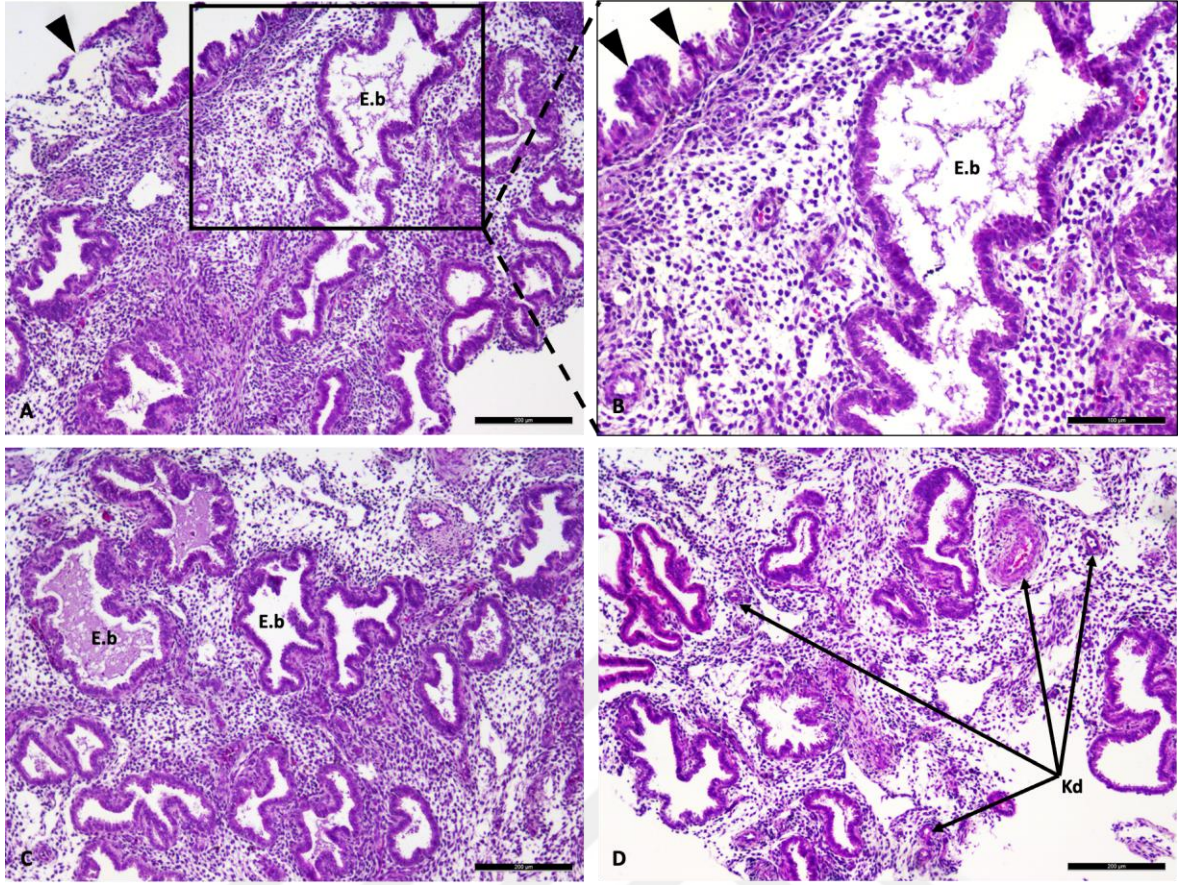
Tüm gruplarda alınan örneklerin menstrual siklusun hangi evresine ait olduğu, Kadın Doğum Uzmanı ve hasta beyanının yanı sıra H&E kesitleri ile de desteklenmiş ve doğrulanmıştır.

Proliferatif evreye ait kontrol grubu endometriyal örneklerin H&E kesitleri incelendiğinde; endometriyal bez ve epitel yapıları görülmüş; bezlerin yuvarlak veya tübüler tipte yapısı ile stromanın intakt görüntüsü, örneğin proliferatif evreye ait olduğunu göstermiştir (Şekil 4.40).



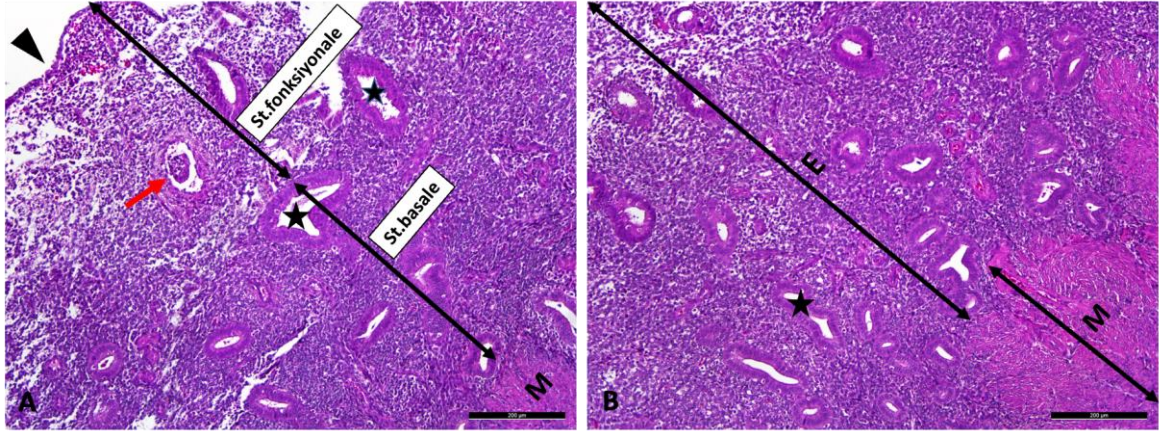
Şekil 4.40. Kontrol grubunda proliferatif evreye ait endometriyal doku kesitlerinin H&E fotomikrografları. E.b: Endometriyal bez, K.d: Kan damarı, Okbaşı: Endometriyum epiteli. Şekil 4.40C’de siyah çerçeve içerisine alınan alan 40D’de büyütülerek gösterilmiştir. H&E. A ve B, 100X; C, 200X ve D, 400X magnifikasyon.

Sekretuar evreye ait kontrol grubu endometriyal örneklerin H&E kesitleri incelendiğinde; endometriyal bez ve epitel yapıları görülmüş; tirbüşon şeklinde kıvrımlı bez yapıları ve ödematöz stromanın varlığına bakılarak, örneğin sekretuar evreye ait olduğu tayin edilmiştir (Şekil 4.41).



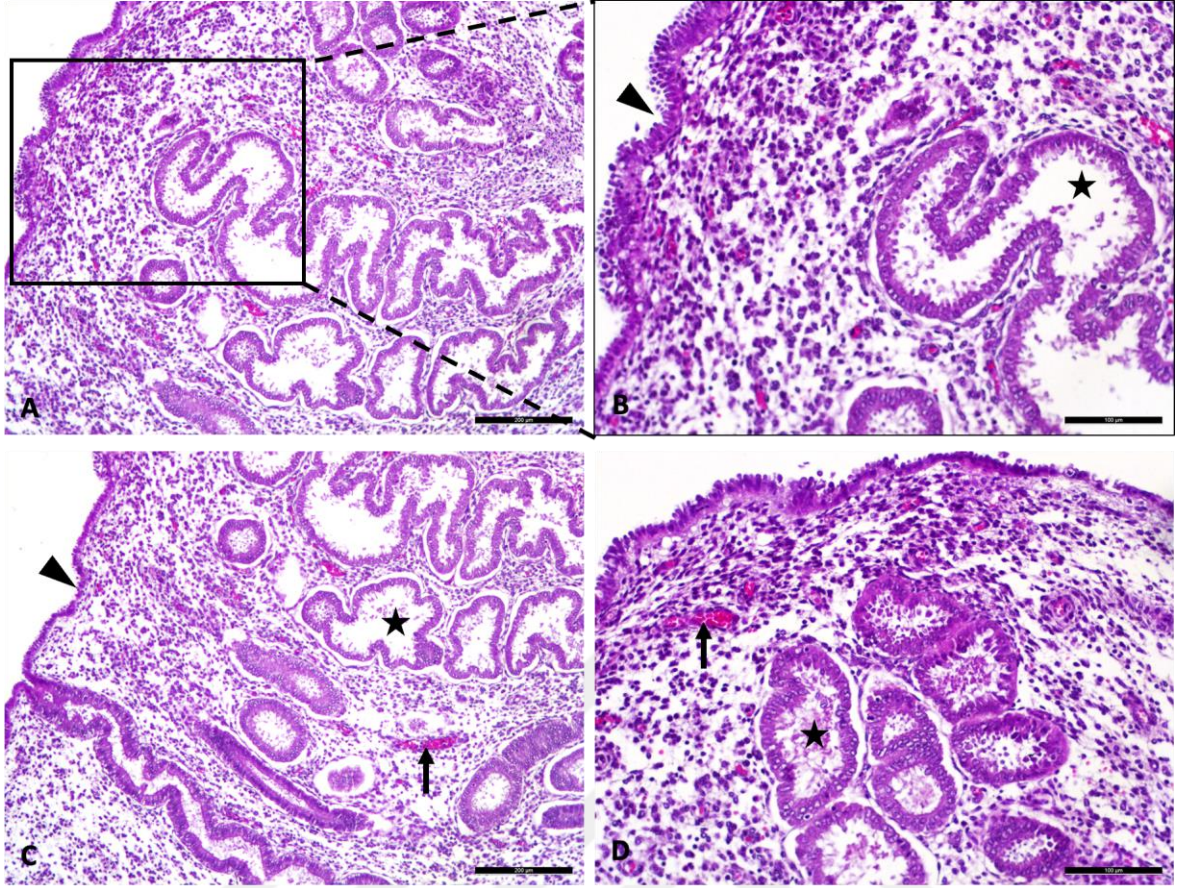
Şekil 4.41. Kontrol grubunda sekretuar evreye ait endometriyal doku kesitlerinin H&E fotomikrografları. E.b: Endometriyal bez, K.d: Kan damarı, Okbaşı: Endometriyum epiteli. Şekil 4.41A’da siyah çerçeve içerisine alınan alan 41B’de büyütülerek gösterilmiştir. H&E. A, C, D, 100X; B, 200X magnifikasyon

Proliferatif evreye ait ötopik grup endometriyal örneklerin H&E kesitleri incelendiğinde; endometriyal bez ve epitel yapıları görülmüş; bezlerin yuvarlak veya tübüler tipte yapısı ile stromanın intakt görüntüsü, örneğin proliferatif evreye ait olduğunu göstermiştir (Şekil 4.42).



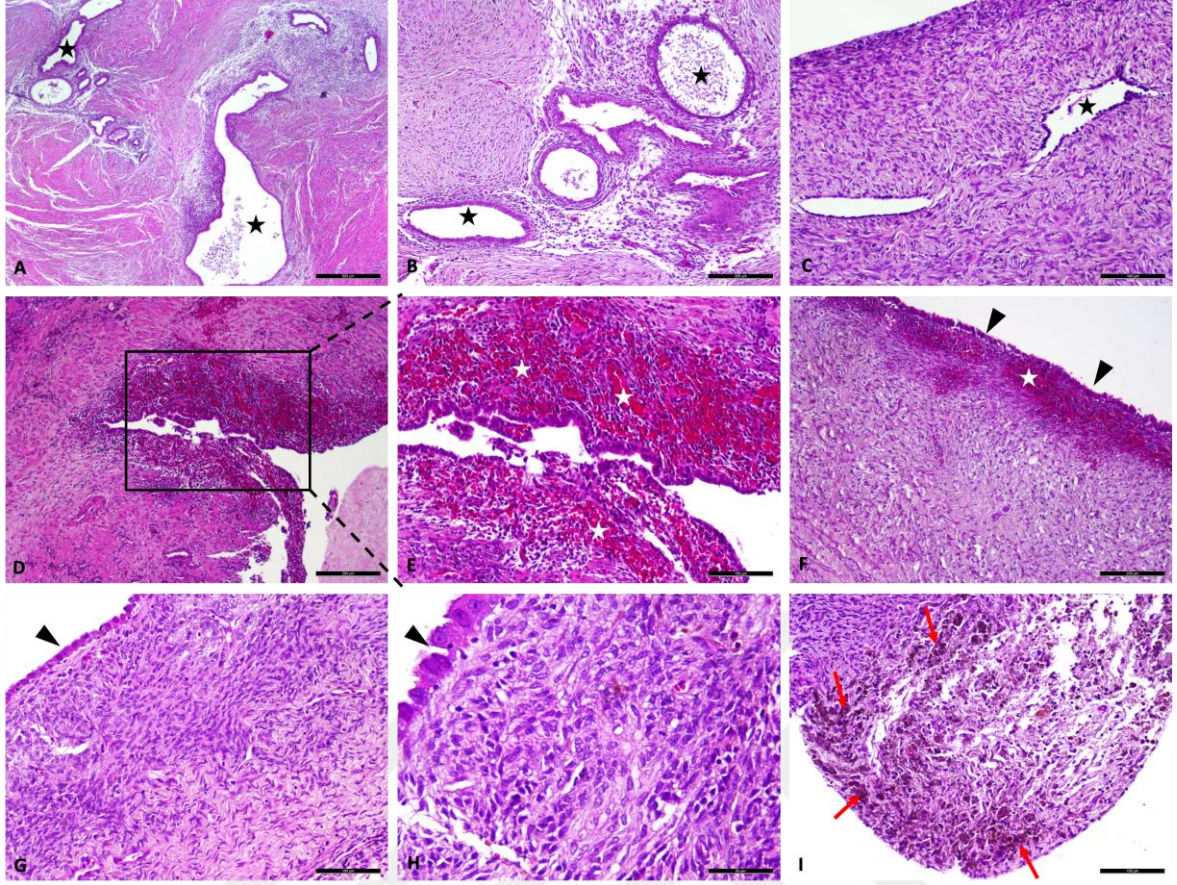
Şekil 4.42. Ötopik endometriyum grubunda proliferatif evreye ait endometrial doku kesitlerinin H&E fotomikrografları. Yıldız: Endometrial bez, Kırmızı ok: Kan damarı, Okbaşı: Endometriyum epiteli, E: Endometriyum, M: Miyometriyum, St. fonksiyonale: Stratum fonksiyonale, St. basale: Stratum basale. H&E. 100X magnifikasyon.

Sekretuar evreye ait ötopik grup endometrial örneklerin H&E kesitleri incelendiğinde; endometrial bez ve epitel yapıları görülmüş; tirbüşon şeklinde kıvrımlı bez yapıları ve ödematöz stromanın varlığına bakılarak, örneğin sekretuar evreye ait olduğu tayin edilmiştir (Şekil 4.43).



Şekil 4.43. Ötopik endometriyum grubunda sekretuar evreye ait endometriyal doku kesitlerinin H&E fotomikrografları. Yıldız: Endometriyal bez, Siyah ok: Kan damarı, Okbaşı: Endometriyum epiteli. Şekil 4.43A'da siyah çerçeve içerisinde alınan alan 43B'de büyütülerek gösterilmiştir. H&E. A, C, 100X; B, D, 200X magnifikasyon.

Ektopik gruba ait endometriyotik örneklerin H&E kesitleri incelendiğinde; endometriyum-benzeri bez ve stroma yapıları, endometriyotik kisti çevreleyen epitel, hemoraji ve hemosiderin granülleri gözlemlenmiştir (Şekil 4.44).



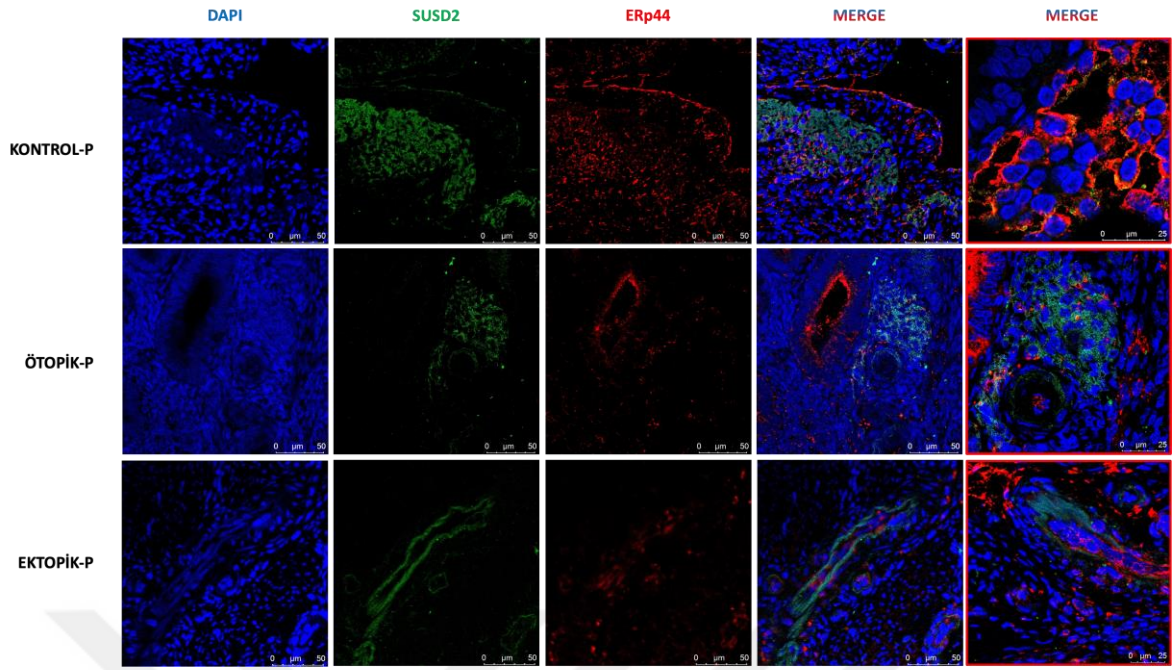
Şekil 4.44. Ektopik endometriyum grubuna ait endometriyotik kist kesitlerinin H&E fotomikrografları. Siyah yıldız: Endometriyum-benzeri bez, Kırmızı yıldız: Endometriyum-benzeri stroma, Beyaz yıldız: Hemoraji, Ok başı: Epitel, Kırmızı ok: Hemosiderin granülleri. Şekil 4.44D’de siyah çerçeve içerisinde alınan alan 44E’de büyütülerek gösterilmiştir. A, 40X; B, D, F, 100X; C, E, G, 200X; H, 400X magnifikasyon. H&E.

4.7.2. Dokudaki eMKH’lerde ER Stresi ilişkili Proteinlerin İmmüno Floresan Yöntemle Gösterilmesi

Kontrol, ötopik ve ektopik endometriyum gruplarından izole edilen eMKH’lerde ER-stresi ilişkili belirteçlerin ekspresyon analizlerinin yanı sıra, direkt dokudaki eMKH’lerde de bu belirteçlerin ekspresyonu değerlendirilmiştir. Bunun için tek başına eMKH belirteci olarak kabul edilen SUS2 ile birlikte, proteomiks analizi sonucu belirlenen 6 proteinin ikili boyaması gerçekleştirilmiştir.

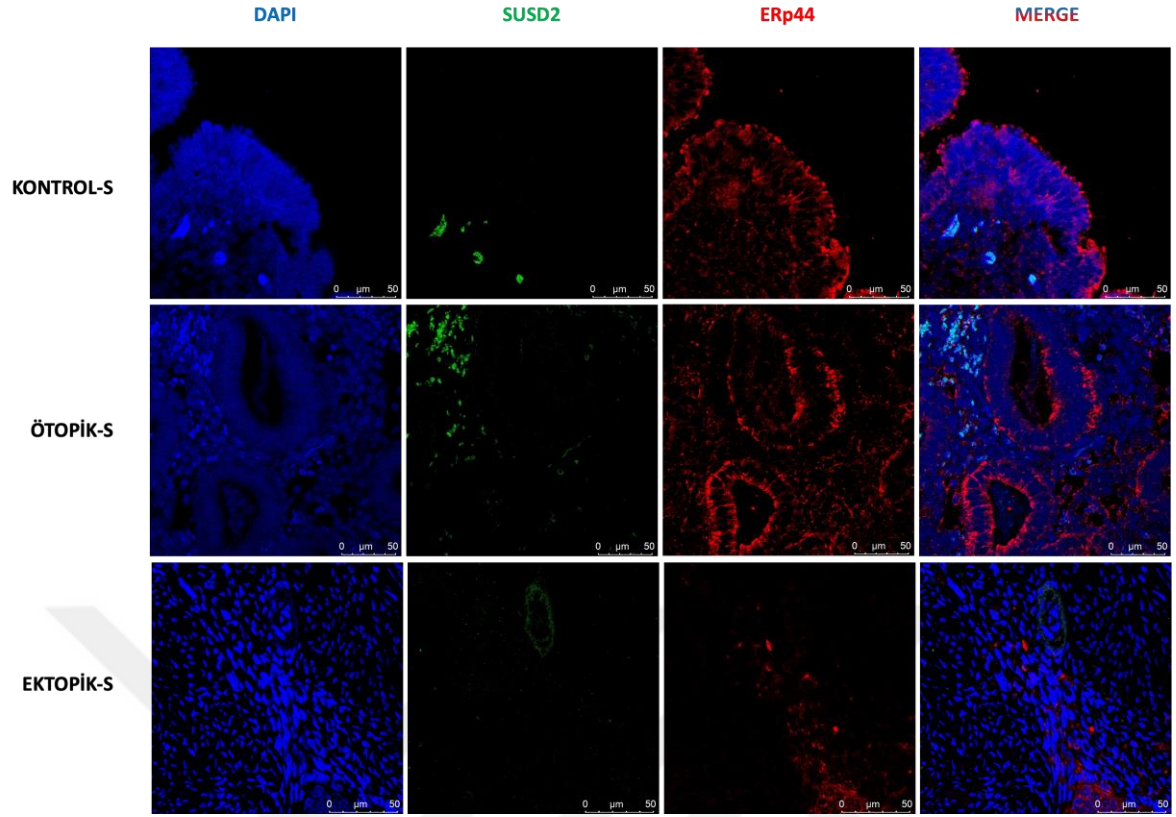
4.7.2.1. SUS2-ERp44 İmmüno Floresan Analizi

Proliferatif evreye ait ERp44 ekspresyonunun; ötopik ve ektopik endometriyum dokusundaki eMKH’lerde, kontrol grubuna göre azaldığı tespit edilmiştir (Şekil 4.45).



Şekil 4.45. Proliferatif evreye ait Kontrol, Ötopik ve Ektopik endometriyum gruplarında ERp44 ekspresyonu. Ölçü çubuğu: 50 µm. Kırmızı çerçeve içerisine alınan fotomikrograflar, ilgili gruba ait daha büyük büyütmedeki görselleri içermektedir (Ölçü çubuğu: 25 µm).

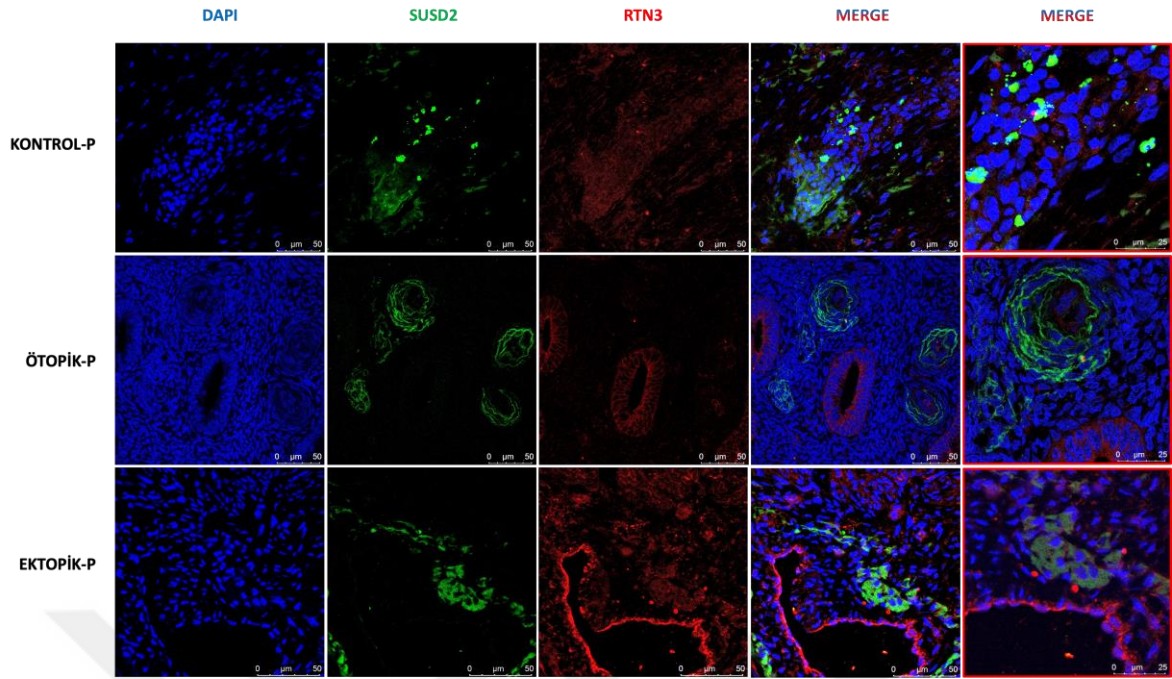
Sekretuar evreye ait ERp44 ekspresyonunun; ötopik ve ektopik endometriyum dokusundaki eMKH’lerde, kontrol grubuna göre artış gösterdiği tespit edilmiştir. Ötopik endometriyum dokusundaki endometriyal bezlerde de ERp44 ekspresyonu gözlemlenmiştir (Şekil 4.46).



Şekil 4.46. Sekretuar evreye ait Kontrol, Ötopik ve Ektopik endometriyum gruplarında ERp44 ekspresyonu. Ölçü çubuğu: 50 µm.

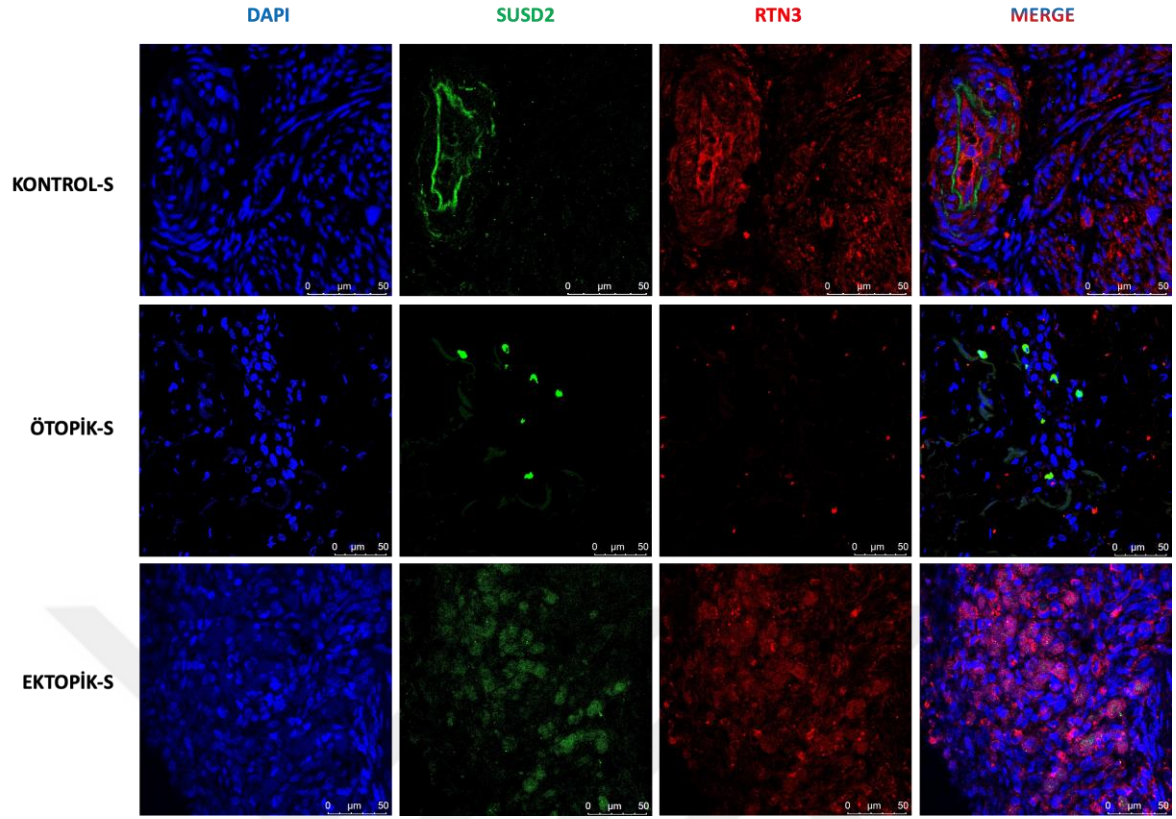
4.7.2.2. SUSP2-RTN3 İmmüno Floresan Analizi

Proliferatif evreye ait RTN3 ekspresyonunun; ektopik endometriyum dokusundaki eMKH’lerde, kontrol ve ötopik gruptakilere kıyasla arttığı tespit edilmiştir. Ötopik endometriyumdaki eMKH’lerde RTN3 ekspresyonu az olmakla birlikte, endometriyal bezlerdeki belirgin RTN3 ekspresyonu dikkati çekmiştir (Şekil 4.47).



Şekil 4.47. Proliferatif evreye ait Kontrol, Ötopik ve Ektopik endometriyum gruplarında RTN3 ekspresyonu. Ölçü çubuğu: 50 µm. Kırmızı çerçeve içerisine alınan fotomikrograflar, ilgili gruba ait daha büyük büyütmedeki görselleri içermektedir (Ölçü çubuğu: 25 µm).

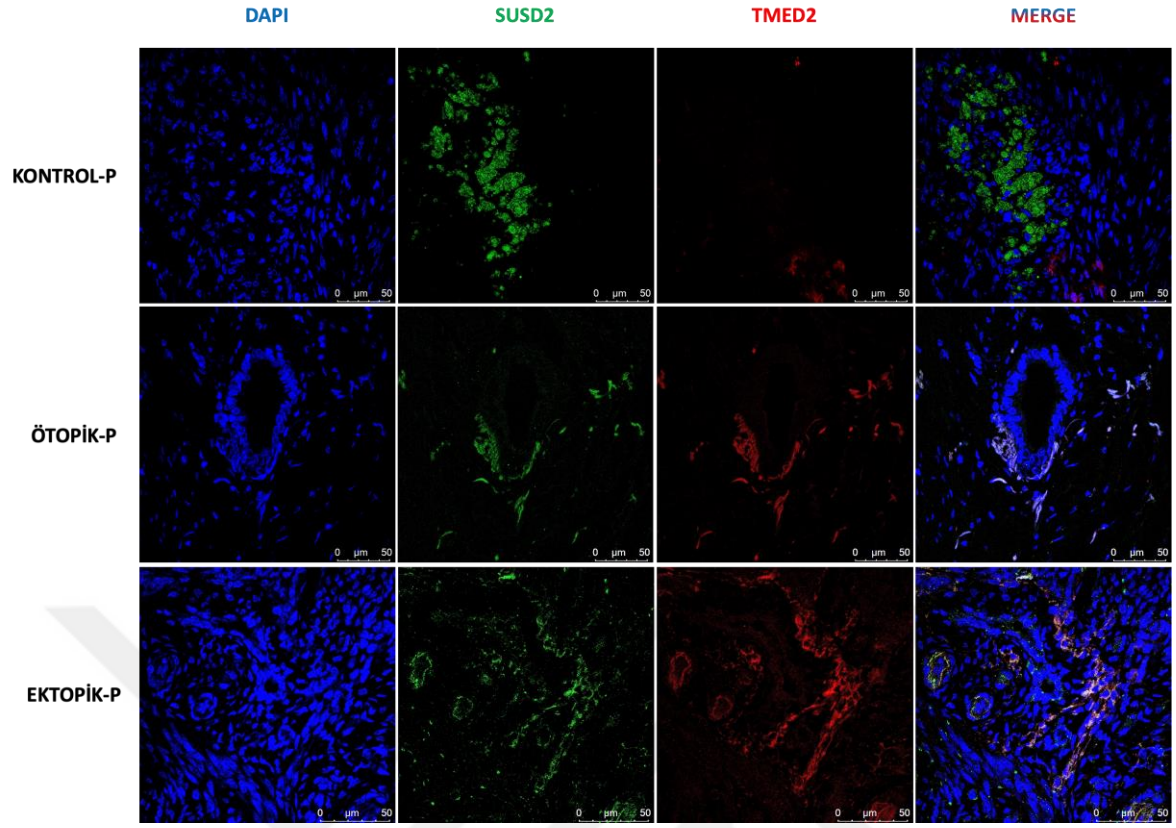
Sekretuar evrede ise, kontrol ve ektopik endometriyum dokularındaki eMKH'lerde RTN3 ekspresyonunun ötopik endometriyumdakilere göre arttığı tespit edilmiştir (Şekil 4.48).



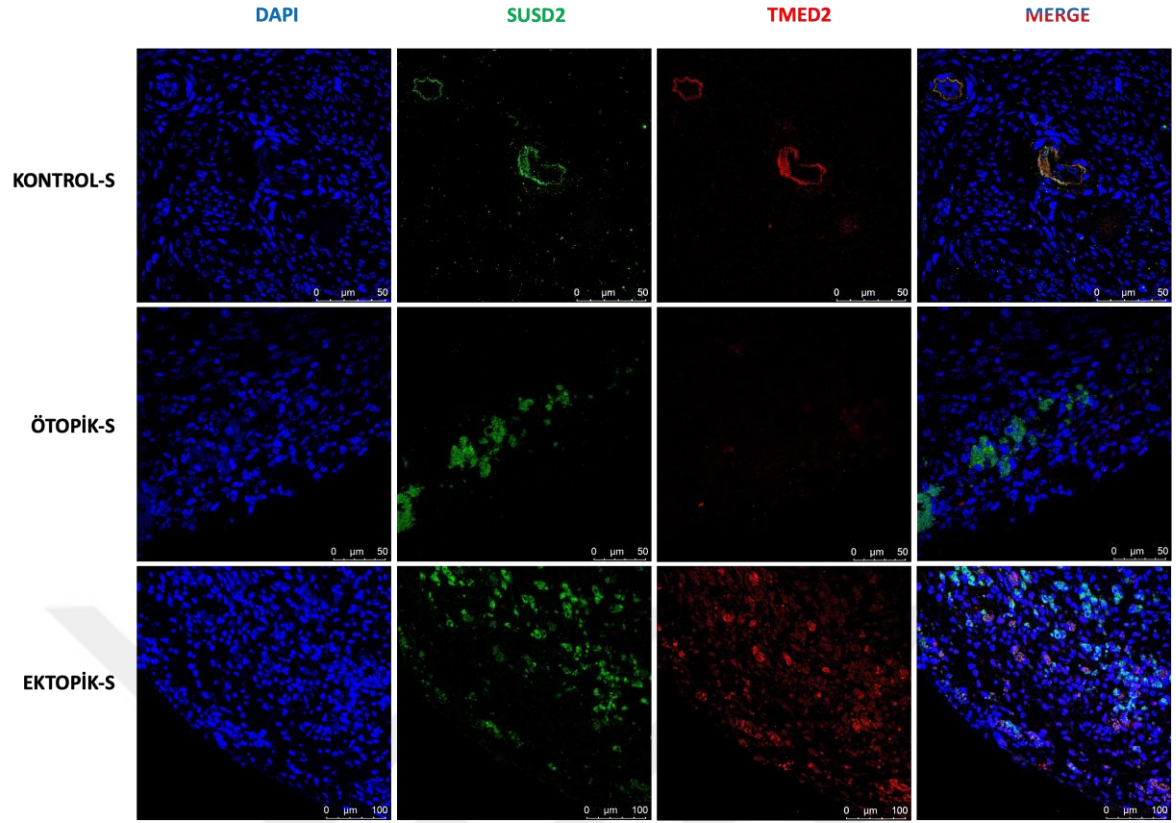
Şekil 4.48. Sekretuar evreye ait Kontrol, Ötopik ve Ektopik endometriyum gruplarında RTN3 ekspresyonu. Ölçü çubuğu: 50 µm.

4.7.2.3. SUSD2-TMED2 İmmüno Floresan Analizi

Proliferatif evreye ait kontrol, ötopik ve ektopik endometriyum dokularındaki eMKH’lerde TMED2 ekspresyonu incelendiğinde; ötopik ve ektopik endometriyum gruplarında TMED2 ekspresyonunun kontrol grubuna göre artış gösterdiği gözlemlenmiştir (Şekil 4.49). Sekretuar evreye ait gruplarda TMED2 ekspresyonu incelendiğinde ise, ektopik endometriyumdaki eMKH’lerde TMED2 ekspresyonunun ötopik gruba göre daha fazla olduğu gözlemlenmiştir (Şekil 4.50).



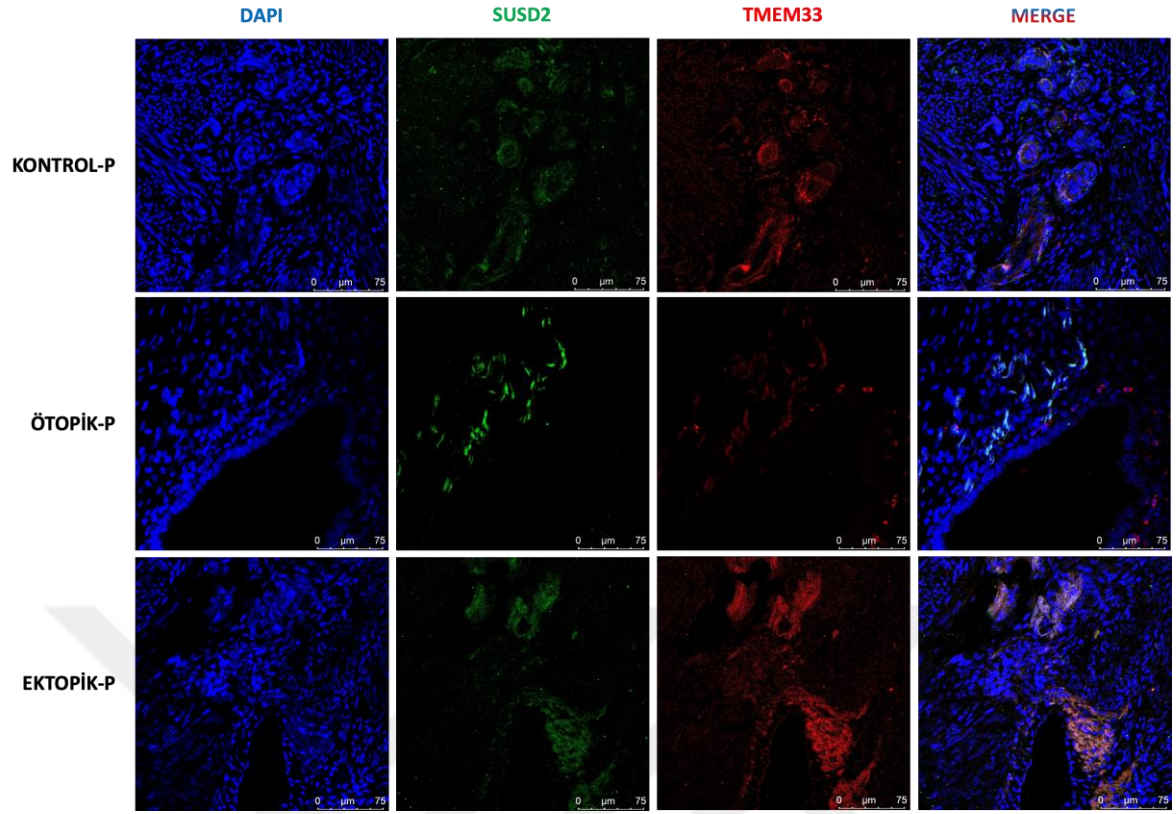
Şekil 4.49. Proliferatif evreye ait Kontrol, Ötopik ve Ektopik endometriyum gruplarında TMED2 ekspresyonu. Ölçü çubuğu: 50 µm.



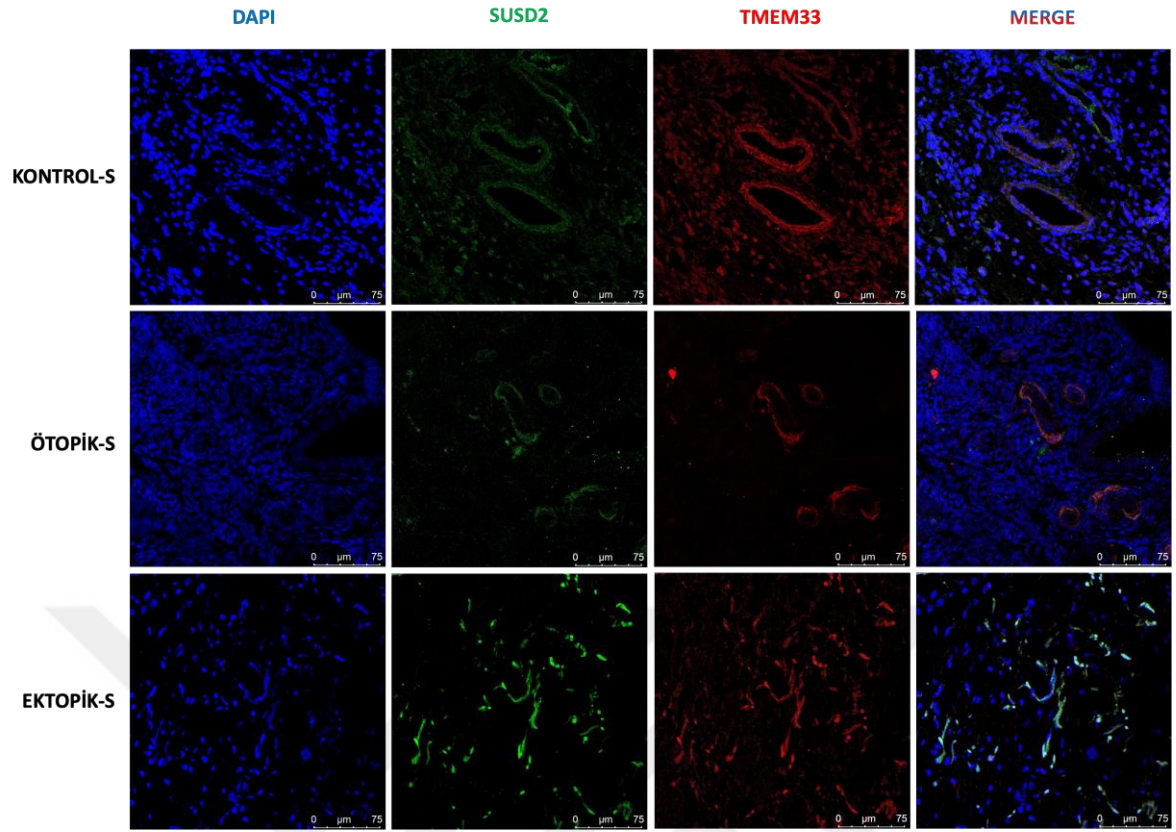
Şekil 4.50. Sekretuar evreye ait Kontrol, Ötopik ve Ektopik endometriyum gruplarında TMED2 ekspresyonu. Ölçü çubuğu: 50 µm.

4.7.2.4. SUSD2-TMEM33 İmmüno Floresan Analizi

Proliferatif ve sekretuar evrelere ait TMEM33 ekspresyonunu değerlendirildiğinde; kontrol grubuna kıyasla ötopik endometriyum grubunda azalış; ektopik endometriyum grubunda ise artış gösterdiği tespit edilmiştir (Şekil 4.51 ve Şekil 4.52).



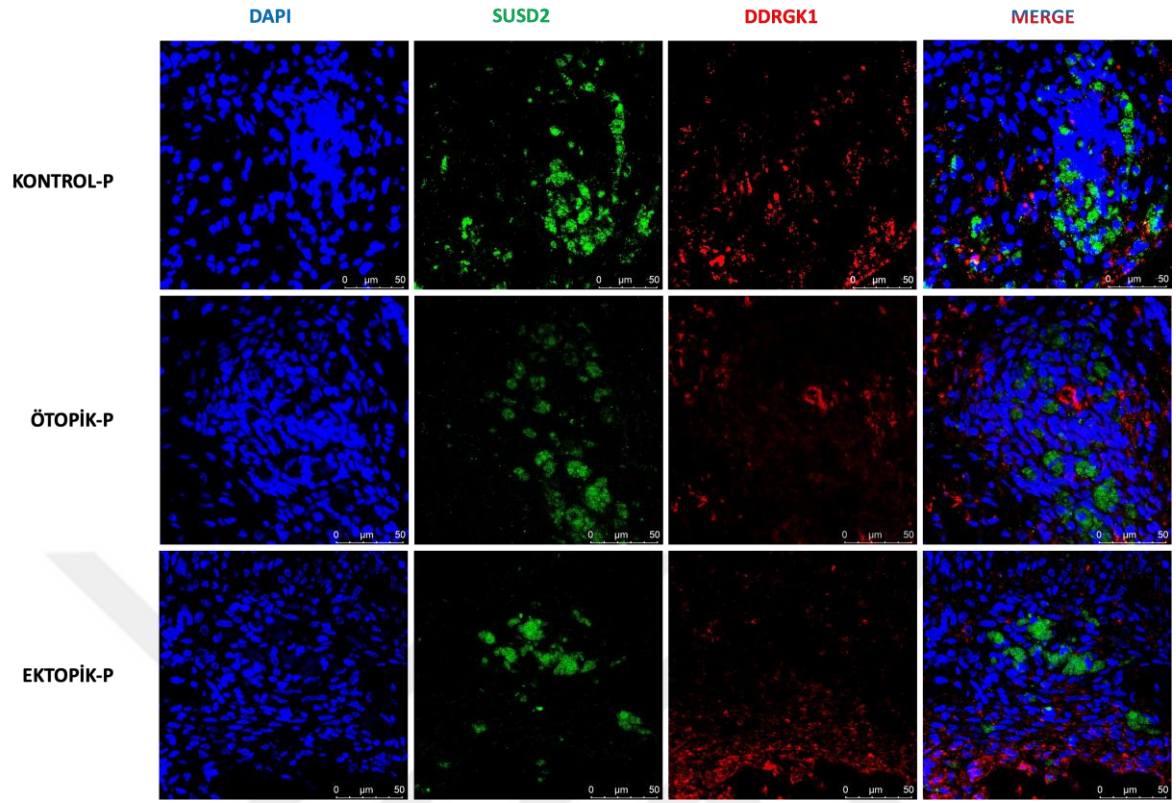
Şekil 4.51. Proliferatif evreye ait Kontrol, Ötopik ve Ektopik endometriyum gruplarında TMEM33 ekspresyonu. Ölçü çubuğu: 75 µm.



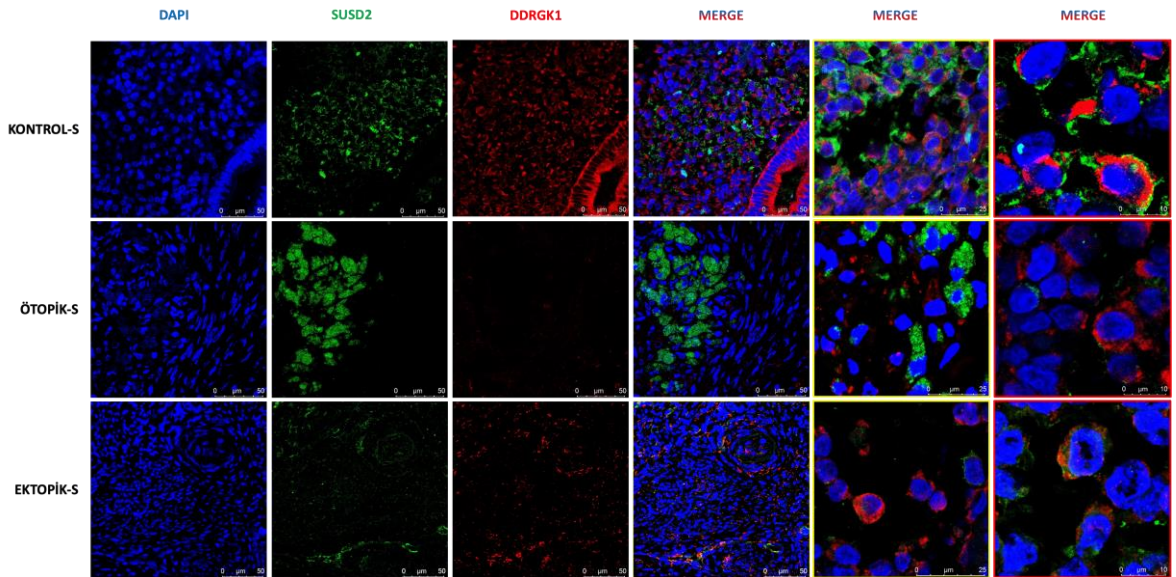
Şekil 4.52. Sekretuvar evreye ait Kontrol, Ötopik ve Ektopik endometriyum gruplarında TMEM33 ekspresyonu. Ölçü çubuğu: 75 µm.

4.7.2.5. SUS2-DDRGK1 İmmüno Floresan Analizi

Proliferatif evreye ait DDRGK1 ekspresyonu incelendiğinde; ötopik ve ektopik endometriyum gruplarında DDRGK1 seviyesinin kontrol grubuna göre belirgin ölçüde azaldığı gözlemlenmiştir (Şekil 4.53). Benzer şekilde sekretuvar evreye ait DDRGK1 ekspresyonunun da ötopik ve ektopik endometriyumdaki eMKH'lerde kontrol grubundakilere kıyasla belirgin ölçüde azaldığı tespit edilmiştir (Şekil 4.54).



Şekil 4.53. Proliferatif evreye ait Kontrol, Ötopik ve Ektopik endometriyum gruplarında DDRGK1 ekspresyonu. Ölçü çubuğu: 50 µm.



Şekil 4.54. Sekretuar evreye ait Kontrol, Ötopik ve Ektopik endometriyum gruplarında DDRGK1 ekspresyonu. Ölçü çubuğu: 50 µm. Sarı ve kırmızı çerçeve içerisine alınan fotomikrograflar, ilgili gruba ait daha büyük büyütmedeki görselleri içermektedir (Ölçü çubukları sırasıyla: 25 µm ve 10 µm).

5. TARTIŞMA

Endometriyumun bez ve stromasının normal yerleşiminin dışında bulunması olarak tanımlanan endometriyozis, yaygın bir benign jinekolojik hastalıktır. İlk olarak 19. Yüzyılın ortalarında tanımlanan endometriyozis, en sık pelvik periton üzerinde bulunur; hormon bağımlı bir hastalıktır ve en çok üreme çağındaki kadınlarda görülür (Guidice, 2004).

Hastalığın tedavisinde ise güncel yaklaşımlar etkili değildir ve lezyon/lar alındıktan sonra ilk 5 yıl içerisinde tekrar etme oranı yaklaşık %50'dir (He ve ark., 2016). Dolaşımdaki östrojen seviyesini azaltmak için selektif östrojen reseptör modülatörleri (Pluchino ve ark., 2016), GnRH agonistleri (Ham ve ark., 2018), aromataz inhibitörleri ya da progestinler kullanılmaktadır ancak azalan östrojenin fertilitateye olası zararları, aromataz inhibitörlerinin osteoporoz ve osteopeni gibi çeşitli hastalıklara neden olması ve progesteron direncinden dolayı bazı hastaların progestinlere cevap vermemesi (Patel ve ark., 2018) göz önüne alındığında, hastalığın esas oluşum mekanizmasını açığa çıkararak daha efektif ve yan etkileri minimuma indirilmiş tedavilerin geliştirilmesine gereksinim duyulmaktadır.

Hastalığın teşhisi için en yaygın uygulanan yöntem laparoskopidir ancak bu yöntemin dezavantajları bulunmaktadır. Hastada oluşan travma, işlemin yüksek maliyetli oluşu, anestezi sonrası potansiyel riskler, visseral doku ve vasküler yaralanmalar bu dezavantajlardan bazılarıdır. Ayrıca bu yöntem derinde veya görülmeyen lezyonları tespit etmekte yetersiz kalmaktadır. Dolayısıyla hem hasta hem de doktor tarafından daha çok tercih edilen non-invaziv serolojik testlere ihtiyaç duyulmaktadır. Ancak günümüzde endometriyozis tanısı için efektif ve tek başına yeterli bir serolojik test bulunmamaktadır (Liu ve ark., 2020). Bu nedenle hastalığın etiyolojisine inerek, elde edilen bulgular ışığında yeni potansiyel belirteçlerin oluşturulması gerekmektedir.

Hastalığın etiyolojisine dair öne atılan teoriler incelendiğinde; endometriyal dokunun fallop tüplerinden peritoneal boşluğa yayılımını tanımlayan retrograd menstruasyon teorisi, ilk ve en çok kabul gören teoridir (Sampson, 1927). Bu teoriye göre, tubalardan batin boşluğuna geçen endometriyal doku parçaları, peritoneal mezotelyuma yapışarak invaze ettikten sonra canlılıklarını sürdürmek ve büyümek için kan damarlarını geliştirirler (Giudice ve Kao, 2004). Ancak bu teori kadınların %76-90'ı menstruasyon geçirdiği halde neden %10'unda endometriyozis geliştiğini ve erkekler (Rei ve ark., 2018) ile peritonla ilişkisi olmayan uzak organlarda görülen endometriyozisi açıklayamamaktadır (Lagana ve ark., 2019). Dolayısıyla retrograd menstruasyon teorisi tek başına patogenezi açıklamak için yetersiz kalmaktadır. Son dönemlerde yapılan çalışmalar doğrultusunda gelişen hipotezler,

endometriyozis patolojisine kök hücrelerin neden olduğunu belirtmektedir (Pluchino ve Taylor, 2016). Bu hipoteze göre, ötopik endometriyumdan menstruasyonla dökülen eMKH'ler retrograd menstruasyonla periton veya peritonla ilişkili bölgelere; kemik iliği kökenli kök hücreler ise vasküler yollarla peritonla ilişkili olmayan distal organlara giderek orada endometriyotik hücrelere dönüşüp endometriyum benzeri lezyonları oluşturmaktadır. Endometriyozisli kadınların, endometriyozis olmayanlara göre menstruasyonda daha fazla bazalis fragmenti dökmesi (kök hücrelerin daha yoğunlukta olduğu tabaka) (Hufnagel ve ark., 2015; Cousins ve ark., 2018; Liu ve ark., 2020), menstrual kanda endometriyal kök hücrelerin bulunması (Liu ve ark., 2020), endometriyotik lezyonlarda eMKH'lerin varlığının kanıtlanması ve bu lezyonlarda OCT4, SOX2, NANOG, Musashi ve c-KIT gibi kök hücre genlerinin tespit edilmesi ve ektopik eMKH'lerin ötopik olanlara göre daha fazla proliferasyon, migrasyon, invazyon ve anjiyogenez aktivitesi göstermesi (Gargett ve ark., 2016) bu hipotezi oldukça desteklemektedir. Ayrıca ektopik MKH'lerin sağlıklı ötopik MKH'lerden farklı immünofenotipik özellikler gösterdiği; toll-benzeri reseptör, kolektin, proinflamatuvar faktörler, angiogenez ve migrasyonla ilgili faktörlerin ekspresyonunun bu hücrelerde arttığı tespit edilmiştir (Liu ve ark., 2020). Bu bulgulara ek olarak, gen microarray çalışmalarında endometriyoziste görülen progesteron direncinin endometriyal stromal fibroblastlara eMKH'lerden geçtiği rapor edilmiştir (Barragan ve ark., 2016). Bu durum desidual diferansiyasyondaki bozukluğun temelinin eMKH'lerden kaynaklandığını düşündürmektedir (Cousins ve ark., 2018). İnflamatuvar sitokinler ve ROS'un neden olduğu hücresel hasarlar, lokal östrojen üretimini indükleyen endometriyal kök hücrelerin aktivasyonunu tetiklemektedir. Bu nedenle endometriyal kök hücrelerin, endometriyozis, endometriyal hiperplazi ve endometriyal kanser gibi benign ve malign hastalıkların etiopatolojisinde rol aldığı düşünülmektedir. Bu hücreler DNA hasarını onarmak için anti-apoptotik Bcl-2 ekspresyonunu, Wnt-beta katenin yolağını, hücre siklusu regülatör genlerinin ekspresyonunu arttırmaktadırlar (Maruyama ve Yoshimura, 2012; Masuda ve ark., 2010).

Son yıllarda Santamaria ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada mezenkimal kök hücre popülasyonunun endometriyotik lezyondan uterusu göç ettiği tespit edilmiştir (Santamaria ve ark., 2012). Bu hücreler bazalis tabakasında damarlara yakın lokalize olmuşlardır, bezlerde ve luminal epitelde görülmemişlerdir. Buraya göç eden hücreler ötopik endometriyumdan farklı gen ekspresyon profili sergilemiştir ve uterus reseptivitesini değiştirecek faktörler salgılamışlardır. Uterin gelişimde ve epitelyal-mezenkimal geçişle ilişkili olan SNAI1, SNAI3 ve goosecoidin ekspresyonu artarken, ZEB2'nin ekspresyonu

düşmüştür. Bu hücreler uterin stromaya geldiklerinde, epitelde lokalize olmamalarına rağmen epitelyal kimlik kazanmışlardır. Sonuç olarak, bu disfonksiyonel endometriyotik kök hücrelerin ötopik endometriyumdaki anormal varlığının epitelyal-stromal polariteyi bozarak endometriyozisli hastalarda endometriyal reseptivitenin azalmasına yol açmış olabileceği rapor edilmiştir (Macer ve Taylor, 2012). Ayrıca endometriyotik lezyonların, dolaşımında zaten az sayıda olan kök hücreleri bir sünger gibi kendine doğru çekmesi uterusun kök hücre rezervini azaltmakta ve bu durum da endometriyal defektlerin oluşumunu etkilemektedir (Pluchino ve Taylor, 2016). Tüm bu bulgular göz önünde bulundurulduğunda kök hücrelerin endometriyozis etiyopatolojisinde yer aldığı ve hatta patolojiyi oluşturan esas etmenlerden biri olduğu ve hastalığın orijinini oluşturan bu kök hücrelerin üzerinde yoğunlaşılması gerektiği çıkarımı yapılmaktadır.

ER stresi, hücrelerin stres koşulları altında hücreyi kurtarmak için başvurduğu bir koruma mekanizmasıdır. Hücre, ER stresi ile başa çıkmak için, ER şaperonlarının ekspresyonunun arttığı, genel proteinlerin translasyon seviyesinin azaldığı ve yanlış katlanmış proteinlerin degrade olduğu UPR'yi başlatır. ER stresi uzadığında, ER stresi aracılı apoptoz başlatılır. Ekstrinsik, intrinsik ve perforin/granzim yolağı olmak üzere toplam üç tane iyi bilinen apoptotik yolak vardır. İntrinsik yolakta PERK, CHOP'u aktive eder ve B hücreli lenfoma-2 (Bcl-2) negatif olarak düzenlenir. Ayrıca ASK1 ve JNK yolağı IRE1 tarafından tetiklenir. Son olarak, salınan sitokrom C, apoptozom oluşumunu başlatır ve kaspaz-9'un aktivasyonu ve kaspaz kaskadı ile sonuçlanır. ER stresi ilişkili cevapların endometriyozis dahil olmak üzere çeşitli hastalıkların patolojisinde rol aldığı birçok çalışmada gösterilmiştir. Endometriyoziste ER stresi ile ilgili sınırlı sayıda da olsa bazı çalışmalar vardır ancak bu çalışmalar matür (somatik) stromal ya da epitelyal hücreler üzerinedir. Literatür taramalarında, endometriyozis olgularında eMKH'lerde ER stresinin araştırıldığı bir çalışmaya rastlanmamıştır. Çalışmamızda sağlıklı ve endometriyozisli dokulardan elde edilen eMKH'ler proteomiks analiziyle ilk defa kıyaslanarak, bu hücrelerdeki ER stresinde etkili olan proteinler ortaya koyulmuştur. Böylece tez projesi, literatürde somatik hücreler için belirlenmiş (ki bunlar kök hücrelerde araştırılmamıştır) proteinler üzerinden kurgulanmak yerine, proteomiks analizi ile gruplar arasında farklılığı belirlenmiş moleküller üzerine kurulmuştur.

Çalışmadan elde edilen bulgular değerlendirildiğinde; sağlıklı ve hasta gruplarındaki endometriyal ve endometriyotik dokudan izole edilen eMKH'lerin; osteojenik, adipojenik ve kondrojenik farklılaştırma bulgularının yanı sıra, flow sitometri ile karakterizasyon

sonuçları başarılı bir eMKH izolasyonu gerçekleştirildiğini kanıtlamaktadır (Dominici ve diğ. 2006; Ciuffreda ve ark., 2016; Gargett ve diğ. 2016).

Proteomiks analizi sonucunda, proliferatif faza ait ötopik ve ektopik endometriyum grupları kontrol grubuyla kıyaslandığında; ERp44, RTN3 ve TMED2'nin ötopik grupta artış gösterdiği; RTN3 ve TMED2'nin ektopik grupta artış gösterdiği; ERp44'ün ise ötopik grupta ektopik gruba oranla daha fazla eksprese edildiği tespit edilmiştir. Bu bulguların yanı sıra; kontrol grubu ile kıyaslandığında TMEM33 ve TMX3 ötopik grupta; TMX3 ise ektopik grupta azalma göstermiştir. Ötopik ve ektopik grup kendi arasında kıyaslandığında ise TMEM33 ve RTN3'ün ötopik grupta ektopik gruba oranla azalma gösterdiği tespit edilmiştir.

ERp44, PDI ailesine bağlı multifonksiyonel şaperon aktivitesi sergileyen bir moleküldür. Disülfid bağlarının oluşumu, çoğu salgı ve membran proteinin katlanması ve biyolojik aktivitesi için gereklidir (Anella ve ark., 2002). Bunun yanı sıra ERp44, hücre içi Ca^{+2} salınımı (Higo ve ark., 2005), ER içindeki salgı proteinlerinin olgunlaşması, kardiyak gelişim (Wang ve ark., 2014), kan basıncının kontrolü (Hisatsune ve ark. 2015) ve ER stres aktivasyonu gibi diğer aktivitelere katıldığı gösterilen bir proteindir. Ancak literatürde, endometriyoziste ER stresi ile ilişkili olarak; epitelyal, stromal veya kök hücrelerde ERp44'ün araştırıldığı bir çalışmaya rastlanmamıştır. Pang ve ark., diyabetik nefropatide ERp44 yokluğunun ER stresini şiddetlendirdiğini rapor etmiştir (Pang ve ark., 2018). Chang ve ark. ise yaptığı çalışmada, ERp44 susturulduğunda ER stresinin aktive olarak hücre apoptozuna neden olduğunu rapor etmiştir (Chang ve ark., 2015). Çalışmamızdan elde edilen proteom verileri değerlendirildiğinde, ERp44'ün en fazla proliferatif fazdaki ötopik endometriyumda eksprese edildiği tespit edilmiştir. ERp44'ün protein katlanmasındaki önemli rolü göz önüne alındığında; ER stresinin arttığı ve katlanma proteinlerine daha çok ihtiyacın duyulduğu endometriyozis grubunda translasyonunun artması beklenen bir sonuçtur. ER stresinin görüldüğü diğer bir grup olan ektopik endometriyum grubunda ERp44'ün ötopik gruba göre anlamlı ölçüde düşüşü ve kontrol grubuyla arasında anlamlı farkın olmaması; ektopik endometriyumdaki stres yolağında ERp44'ün görevli olmadığını düşündürmektedir. Bu bulgular, immüno Floresan ve western blot analiz sonuçlarıyla da örtüşmektedir. ERp44'ün gen ekspresyon analizi değerlendirildiğinde ise kontrol grubuna kıyasla ötopik ve ektopik endometriyum gruplarında azaldığı tespit edilmiştir. Gen seviyesindeki bu azalmanın nedeni, ötopik endometriyumda ERp44'de negatif feedback mekanizmasının etkili olarak, translasyonu artan ERp44'ün, kendi mRNA transkripsiyonunu azaltmasından kaynaklanıyor olabilir.

RTN3'e ait proteomiks analizi incelendiğinde; özellikle ektojik grupta olmak üzere RTN3 ekspresyonunun endometriyozis gruplarında kontrole göre artış gösterdiği tespit edilmiştir. Western blot ve imüno floresan analiz sonuçları ile gen ekspresyon analizi de ektojik endometriyum grubundaki RTN3 protein artışını doğrulamaktadır. RTN3'ün otofajik yolda selektif reseptör olarak görev yaptığı, LC3 ile etkileşime girerek ER fragmentlerinin lizozomal degradasyonunda görev aldığı rapor edilmiştir (Grumati ve ark., 2017). Bunun yanı sıra RTN3'ün ER stresi altında aktive olduğu ve Bcl-2 ile etkileşime girerek Beclin-1 bağımlı otofajiyi arttırdığı rapor edilmiştir. (Chen ve ark., 2011). Bizim çalışmamızda da ektojik endometriyum grubunda görülen otofagolizozom yapıları (Şekil 4.35), yukarıda yer alan literatür bulguları ile uyumludur ve ER stresi ile otofaji ilişkisini ortaya koymaktadır.

ER, birbirine bağlı iki kalite kontrol yolağı içerir: UPR ve ERAD. UPR aktivasyonu, ER'nin katlama kapasitesini arttırırken, ERAD sistemi, yanlış katlanmış proteinleri tanıyarak ve ubiquitin-proteazom sistemi tarafından parçalandıkları sitoplazmaya retro-translokasyonlarını kolaylaştırır. ER ayrıca, hücrenin sekonder ana parçalayıcı sisteminde aktif olarak rol alır: Otofaji-lizozom yolağı. Otofaji, sitozolik kısımları (protein kümeleri ve organeller gibi) içine alan ve onları lizozoma ileten, otofagozom adı verilen çift zarlı bir yapının oluşumu ile karakterize, katabolik bir süreçtir. En büyük membranlı organel olan ER, otofagozom oluşumu için ana membran kaynağı olarak işlev görür (Grumati ve ark., 2017). ERAD yolağında yanlış katlanmış proteinler Sec61 aracılığıyla sitoplazmaya geçer ve burada ubiquitinlenerek 26S proteozomlar tarafından degrade edilir. Otofajini bir çeşidi olan ERfaji/retikülofaji'de ise FAM134B, SEC62 ve RTN3 gibi reseptörler görev almaktadır (Bhardwaj ve ark., 2020). Çalışmamızda, proliferatif evreye ait string analizi değerlendirildiğinde, ektojik grupta ERfaji ilişkili RTN3'ün ekspresyonunun arttığı (Şekil 4.9); ERAD ilişkili Sec61 ve 26S proteazom ekspresyonunun ise azaldığı görülmektedir (EK 3.2). Bu durum da endometriyoziste ER stresinde ERAD yerine ERfaji yolağının kullanıldığını düşündürmektedir. Proliferatif evreye ait ötopik ve ektojik endometriyum gruplarında görülen ERfaji (Şekil 4.28B), otofagolizozom ve multiveziküler body (Fader ve Colombo 2009) yapıları da (Şekil 4.35) ultrastrüktürel düzeyde bu bulguları desteklemektedir.

TMED2, kargo proteinlerinin transportunu düzenleyen bir moleküldür. Bu molekülün anormal ekspresyonu, kontrolsüz protein transportuna neden olmaktadır (Spano ve Colanzi 2022). TMED2'nin ovaryan kanser hücrelerinin migrasyonu ve invazyonunu arttırdığı rapor edilmiştir (Shi-Peng ve ark., 2017). Çalışmamızdan elde edilen proteom bulgularında,

proliferatif evrede ötopik ve ektopik endometriyum gruplarında TMED2 ekspresyonunun kontrol grubuna göre anlamlı ölçüde arttığı; immüno floresan, western blot ve RT-qPCR analizinde bu artışın istatistiksel olarak ektopik grupta anlamlı olduğu tespit edilmiştir. Ovaryan kanser hücrelerin davranışına benzer olarak, endometriyoziste ektopik eMKH'lerin ötopik eMKH'lere göre invazyon ve migrasyon kapasitesinin yüksek olmasında (Gargett ve ark., 2016) TMED2 rol oynuyor olabilir. Ayrıca TMED2'nin anormal ekspresyonunun kontrolsüz protein transportuna neden olması, ER stresine yol açabileceğini düşündürmekte; bu durum da özellikle ektopik olmak üzere endometriyozis gruplarındaki artmış TMED2 ekspresyonuyla örtüşmektedir. Literatürde TMED2 ile ER stresinin araştırıldığı kısıtlı sayıdaki çalışmada, maya ve Drosophila'larda TMED genlerinin delesyonu veya mutasyonunun, ER stresi ve UPR aktivasyonu ile sonuçlandığı rapor edilmiştir (Hou ve ark., 2017). TMED2 kargo proteini olduğu için bizim çalışmamızda ER stresi altında ekspresyonunun artmış olması beklenen bir sonuçtur. Ancak Hou ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada delesyon veya mutasyon sonucunda protein transportunda görevli moleküllerden biri olan TMED2'nin yokluğu/bozukluğu nedeniyle ER stresi gelişmektedir. Dolayısıyla TMED2'nin aşırı ekspresyonunun veya hiç eksprese edilmemesinin ER stresi ile ilişkili olduğu varsayımı çıkarılabilir.

TMEM33 (diğer adıyla DB83) transmembran bir proteindir ve son dönemde yapılan çalışmalar hücrede ER stresi ile indüklenen bu proteinin PERK ve IRE1 α 'nın regülasyonunda görevli olduğunu rapor etmiştir (Sakabe ve ark., 2015). Çalışmamıza ait proliferatif evre TMEM33 proteomiks verileri değerlendirildiğinde; ötopik grupta, kontrol ve ektopik gruba göre anlamlı azalma tespit edilmiştir. İmmüno floresan analiz sonuçları, proteom datasını desteklerken, gen ekspresyon analizinde sadece ektopik endometriyum grubundaki TMEM33'ün ötopik gruba göre artışı anlamlı bulunmuştur. Meme kanseri hücrelerinde TMEM33'ün aşırı ekspresyonunun hem p $\text{eIF2}\alpha$ hem de pIRE1 α 'nın ekspresyonunu arttırdığı tespit edilmiştir. Yine bu hücrelerde TMEM33'ün aşırı ekspresyonu, CHOP, ATF4, XBP1-S, aktif kaspaz-7 ve otofagozom belirteci olan LC3II'nin ekspresyonunun artışına neden olmuştur (Sakabe ve ark., 2015). Çalışmamızda; proliferatif evreye ait ektopik endometriyum grubunda TMEM33 protein seviyesiyle eş zamanlı olarak artan PERK ve IRE1 α gen ekspresyon seviyesi, yukarıda yer alan literatür bilgisiyle uyushmaktadır. Benzer şekilde, çalışmamıza ait ultrastrüktürel incelemede endometriyozis gruplarında artan otofagozom sayısı literatürdeki LC3II artışıyla; ER stresinin morfolojik belirteçlerinden biri olan genişlemiş gER keselerinin görülmesi ise bu hücrelerde ER

stresinin varlığı (Akiyama ve ark. 2009; Liu ve ark. 2019) ve bu stresle indüklenen TMEM33'ün artışıyla paralellik göstermektedir (Sakabe ve ark., 2015).

PDI ailesine ait TMX3'ün hücrelerdeki rolü kesin olarak bilinmemekle birlikte, ER stresinin tetiklendiği Huntington hastalık modelinde hücreleri nöronal atrofiye karşı koruyarak stres durumunu azalttığı rapor edilmiştir (Fox ve ark., 2016). Çalışmamızda, TMX3 ekspresyonu proliferatif evrede gen seviyesinde analiz edildiğinde; ötopik grupta kontrol grubuna göre anlamlı ölçüde azalma tespit edilmiştir. Bu bulgu proteom datasıyla uyusmaktadır. Ancak gen analizinde ektopik grupta artış görülürken proteomik analizinde azalma görülmüştür. Ötopik endometriyumda görülen, kontrole göre azalmış TMX3 protein ve mRNA seviyesi, bu grupta ER stresi ile başa çıkmada TMX3'ün etkili olmayabileceği düşüncesini doğurmuştur. Ancak ektopik endometriyum grubuna bakıldığında gen ifadesinin yüksek ancak protein ifadesinin düşük olması; post-transkripsiyonel veya post-translasyonel aşamada bozulan mekanizmalara işaret etmektedir. Ancak daha kesin yorumlar yapılabilmesi için immüno Floresan ve western blot analiz sonuçlarına da ihtiyaç duyulmaktadır.

DDRGK1 molekülüne ait veriler incelendiğinde; hem proliferatif hem de sekretuar evrede ötopik ve ektopik endometriyum gruplarında, kendi kontrollerine kıyasla western blot, immüno Floresan ve RT-qPCR analizinde anlamlı farklılık tespit edilmiştir. Proteom datasında ise bu anlamlılık sadece sekretuar evrede görülmüştür. Proliferatif evreye ait gruplar incelendiğinde; kontrol grubuna göre ötopik ve ektopik endometriyum gruplarında anlamlı azalma gösteren DDRGK1'in, western blot ve immüno Floresan analiz sonuçları birbiriyle paralellik göstermektedir. RT-qPCR analizi ise bu sonuçların tam tersini ifade etmektedir. Proliferatif evrede ötopik ve ektopik endometriyum gruplarında kontrole göre artan DDRGK1 gen ekspresyonu tespit edilmiştir. Bu durum negatif feedback mekanizmasının etkinliğinden kaynaklanıyor olabilir.

Sekretuar faza ait kontrol, ötopik ve ektopik endometriyum grupları incelendiğinde, DDRGK1'in ötopik ve ektopik grupta kontrol grubuna göre anlamlı azalma gösterdiği tespit edilmiştir. Aynı şekilde western blot ve immüno Floresan analizler bu bulguyu protein seviyesinde desteklerken, bu bulgu gen ifadesi seviyesinde desteklenmemektedir. Sekretuar evreye ait ektopik endometriyum grubunda kontrole göre artan DDRGK1 gen ekspresyonu tespit edilmiştir. Proliferatif evre sonuçlarıyla benzerlik gösteren bu data, DDRGK1'in protein ve gen düzeyi arasında negatif feedback ilişkisi olduğu çıkarımını yaptırmaktadır. Yapılan çalışmalar, DDRGK1 deplesyonunun UPR-IRE1a sinyalizasyonunu baskıladığını, UPR-PERK apoptotik yolağını aktive ettiği rapor edilmiştir.

Bu sonucu destekler nitelikte p-eIF2 α ve CHOP ekspresyonu da artmıştır (Liu ve ark., 2016). Ayrıca DDRGK1'in, meme kanseri hücre hattında, IRE1 α protein stabilizasyonunu ufimilasyon-bağımlı protein-protein etkileşimi aracılığıyla düzenlediği; ER homeostazisinin devamlılığında önemli role sahip olduğu tespit edilmiştir. Yine bu hücrelerde DDRGK1 geni susturulduğunda total IRE1 α seviyesinin azaldığı ancak fosforillenmiş IRE1 α (p-IRE1 α)'nın çok az azaldığı tespit edilmiştir. ATF6 ya da yarıklanmış ATF6'nın seviyesi değişmemiş; total PERK seviyesi değişmemiş ancak p-PERK ve GRP78 seviyesi artmıştır (Stephani ve ark., 2020). Literatür bulgularına benzer olarak proliferatif evreye ait ektopik endometriyum grubunda GRP78, PERK ve IRE1 α gen ifadesinde artış görülürken ATF6 seviyesinde anlamlı farklılık gözlemlenmemiştir. İmmüno Floresan ve western blot analizlerinde kontrole göre ektopik GRP78 ekspresyonunda artış görülse de, bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Sekretuar evre incelendiğinde ise sadece IRE1 α ve PERK'in ektopik endometriyum grubunda kontrole göre artış gösterdiği tespit edilmiştir.

DDRGK1, retikülofajide ufimilasyonda görev alan bir moleküldür. Ufimilasyon-bağımlı retikülofaji ERN1/IRE1 α stabilizasyonunu düzenleyerek UPR yolağını inhibe eder. Bu molekülün endometriyozis gruplarındaki seviyesinin azalması UPR yolağını inhibe edemediğini göstermektedir. RT-qPCR analizinde ektopik gruptaki artan IRE1 α gen ifadesi de bu bulguyu desteklemektedir.

Hücre, ER stresi ile başa çıkmak için, ER şaperonlarının ekspresyonunun arttığı, genel proteinlerin translasyon seviyesinin azaldığı ve yanlış katlanmış proteinlerin degrade olduğu UPR'yi başlatır. ER stresi uzadığında, ER stresi aracılı apoptoz başlatılır. Ekstrinsik, intrinsik ve perforin/granzim yolağı olmak üzere toplam üç tane iyi bilinen apoptotik yol vardır. İntrinsik yolda PERK, CHOP'u aktive eder ve B hücreli lenfoma-2 (Bcl-2) negatif olarak düzenlenir. Ayrıca ASK1 ve JNK yolağı IRE1 tarafından tetiklenir. Son olarak, salınan sitokrom C, apoptozom oluşumunu başlatır ve kaspaz-9'un aktivasyonu ve kaspaz kaskadı ile sonuçlanır. Çalışmamızda proteom, immüno Floresan ve western blot datalarına bakıldığında GRP78 ve UPR'de görevli üç ana molekülde protein seviyesinde anlamlı farklılık görülmemiştir. Ancak gen seviyesinde bakıldığında, hem proliferatif hem de sekretuar fazlarda özellikle ektopik endometriyumda artan PERK ve IRE1 α ifadesi görülmüştür. Ancak her iki evrede de ATF6 açısından anlamlı bir farklılık görülmemiştir. Bu durum da endometriyoziste görülen ER stresinin daha çok PERK ve IRE1 α yolağı üzerinden etkili olduğunu düşündürmektedir. Bu moleküllerin gen seviyesinde istatistiksel olarak anlamlı artışının protein seviyesine yansımaması (GRP78 açısından), proteinlerin

yarılanma ömrünün kısa olabileceğinden, hücrelerin kültür ortamında stresinin azalabileceğinden veya post-transkripsiyonel veya post-translasyonel seviyede meydana gelen bozukluklardan kaynaklanmış olabilir. Literatürde endometriyozisteki ER stresi üzerine eMKH'lerde yapılmış bir çalışma bulunmamakla birlikte stromal hücrelerle yapılmış çalışmalar mevcuttur. Bu çalışmalar daha çok ana UPR yolağı üzerinde durmuştur. UPR moleküllerinin ve apoptozla ilişkili moleküllerin endometriyozisle ilişkisi incelendiğinde; Bcl-2 ve Bcl-xL ekspresyonunun ektopik endometriyumda ötopik ve sağlıklı endometriyuma göre daha fazla olduğu (Delbandhi ve ark., 2020), GRP78 ve CHOP ekspresyonunun geç sekretuvar evrede sağlıklı endometriyuma göre daha az olduğu (Choi ve ark., 2019), sağlıklı ve ötopik endometriyumda ektopik endometriyuma göre GRP78 ve xBP1 ekspresyonunun daha fazla olduğu, CHOP ekspresyonunun değişiklik göstermediği, ATF6'nın ise ötopik ve ektopik endometriyumda sağlıklı endometriyuma göre daha fazla eksprese edildiği rapor edilmiştir (Ciavattini ve ark., 2018). Ayrıca IKK'nın Bcl-2 antagonisti olan Bad'ı fosforilleyerek endometriyotik hücrelerde apoptozu baskıladığı bildirilmiştir (Kocbek ve ark., 2016). Liang ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise endometriyotik stromal hücrelerde proliferasyonun baskılanması ve apoptozun artmasının JNK aktivasyonuna bağlı olduğu rapor edilmiştir (Liang ve ark., 2017).

Bizim çalışmamızda farklı olarak proteomiks analizi sonucu belirlenen ER stresi ilişkili proteinler çalışılmıştır. Literatürde endometriyoziste proteom analizinin değerlendirildiği çalışmalar mevcut olmakla birlikte, bu çalışmalar serum, peritoneal sıvı ve endometriyum dokusu gibi örneklerden protein izolasyonuna dayalı olup, herhangi bir şekilde epitelyal, stromal veya kök hücre ayrımı yapılmamıştır (Zhang ve ark., 2006; Ab ve ark., 2014). İlgili çalışmalarda anlamlı bulunan proteinler de bizim çalışmamızda elde ettiğimiz verilerden farklılık göstermektedir.

İncelediğimiz proteinler dışında proteom datasını değerlendirdiğimizde; proliferatif evrede ötopik endometriyumda, ER'deki ROS birikimini engelleyen ERO-1 benzeri alfa proteininin kontrol grubuna göre anlamlı azaldığı tespit edilmiştir. Antioksidan aktivite belirteci olan SOD ise ektopik endometriyum grubunda kontrole göre azalma göstermiştir. Bu durum, endometriyoziste görülen artmış OS seviyeleri ile örtüşmektedir. Yine bu gruplarda görülen, apoptozun pozitif yönde düzenleyicisi PRA-1 ailesi protein 3' ün azalan ekspresyonunun, endometriyoziste östrojen dominansisi ve gelişen progesteron direnci kaynaklı oluşan bozulmuş apoptotik yolaklarla ilişkisi olabileceğini düşündürmektedir. Kontrol grubuyla kıyaslandığında, hücreleri apoptozdan koruyan HSP27 molekülünün ektopik endometriyum grubunda; programlı hücre ölümü proteinlerinden olan PDCD6IP'in

ise ötopik endometriyum grubunda anlamlı ölçüde azalması, yine endometriyoziste görülen bozulmuş apoptotik yollarla ilişkili olabilir.

Sonuç olarak, özellikle proliferatif evreye ait ötopik ve ektopik endometriyozis gruplarındaki eMKH'lerde, ER stresi ile ilişkili proteinlerde kontrole göre anlamlı farklılık olduğu tespit edilmiş, bu hücrelerin ER stresi ile ilişkili otofajik yollarla ilişkisi ortaya konmuştur. Protein ve gen seviyesinde değerlendirilen bu bulgular, ultrastrüktürel incelemede görülen dilate/genişlemiş gER keseleri ve retikülofaji yapıları ile de desteklenmiştir.

Çalışmamıza ait finansal limitasyonlar değerlendirildiğinde, geniş proteom verisini doğrulamak üzere daha çok sayıda proteinin western blot, immüno Floresan ve RT-qPCR analizinin yapılması; gruplara ait hasta sayısının artırılarak örneklem havuzunun genişletilmesi ve gen susturma deneyleri gibi moleküler analizlerin ileriki çalışmalara dahil edilmesi, bu patolojinin aydınlatılmasına daha büyük katkı sağlayacaktır.

6. SONUÇLAR ve ÖNERİLER

Yukarıda verilen literatür bilgilerinden özetle; endometriyozis, östrojen ve reseptörünün fazla eksprese edildiği, progesteron direncinin görüldüğü, apoptotik yolların bloke olduğu, OS'nin arttığı inflamatuvar bir hastalıktır ve infertil kadınların yaklaşık %50'sinde görülmektedir. Endometriyumun menstrual döngülere bağlı olarak fizyolojisini devam ettirebilmesi ve embriyo implantasyonu için gerekli endometrial diferansiyasyon ve reseptiviteyi sağlayabilmesi için endometrial kök hücrelere ihtiyaç vardır. Endometriyozisin etiyolojisi incelendiğinde, endometrial kök hücrelerin bu hastalığın patofizyolojisinde önemli rol oynadığı tespit edilmiştir.

ER stresi, hücrelerin stres koşulları altında hücreyi kurtarmak için başvurduğu bir koruma mekanizmasıdır, ancak homeostaz geri döndürülemediğinde hücre apoptoza veya Otofaji yollarına yönelir. ER stresi ilişkili cevapların endometriyozis dahil olmak üzere çeşitli hastalıkların patolojisinde rol aldığı birçok çalışmada gösterilmiştir.

Endometriyoziste ER stresi ile ilgili sınırlı sayıda da olsa bazı çalışmalar vardır ancak bu çalışmalar erişkin hücreler ya da farklı tip hücreler üzerinedir. Proje konusu ve hipotezi belirlenirken yapılan literatür taramalarında endometriyozis olgularında eMKH'lerde ER stresinin araştırıldığı bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu proje ile hem endometriyoziste eMKH'lerdeki olası ER stresi ilk defa araştırılmış hem de ER stresinin eMKH'lerde hangi yolları tetikleyerek bu patolojide etkili olabileceği ilk defa ortaya konmuştur. Çalışmamızda, ER stresi-ilişkili proteinlerin endometriyozis etiyopatogenezine dahil olduğu gösterilmiştir. Elde edilen bu bulguların literatüre sunulmasıyla endometriyozisin non-invaziv tanı ve tedavisine yönelik yeni çalışmalar planlanabilecektir. Böylece toplumda giderek artan bir sorun haline gelen infertilitenin önlenmesine yönelik bir yaklaşımın geliştirilmesine olanak sağlanacaktır. Ayrıca bu çalışma sayesinde, endometriyoziste eMKH'lerdeki tüm proteinleri ortaya koyan proteomiks analizi ile ER stresi ilişkili proteinlerin dışındaki moleküller de belirlenmiştir. Bu sayede çalışmamız, endometrial reseptivite, desidualizasyon ve bu süreçlerdeki bozukluklarla ilgili hastalıkların altında yatan mekanizmaya ışık tutmak üzere yapılacak olan ileriki çalışmalar için potansiyel referans niteliği taşımaktadır.

7. KAYNAKLAR

- Ab, S., Srivastava, P., & Shivaji, S. (2014). Understanding the pathogenesis of endometriosis through proteomics: recent advances and future prospects. *PROTEOMICS–Clinical Applications*, 8(1-2), 86-98.
- Ahn, S. H., Edwards, A. K., Singh, S. S., Young, S. L., Lessey, B. A., & Tayade, C. (2015). IL-17A contributes to the pathogenesis of endometriosis by triggering proinflammatory cytokines and Angiogenic growth factors. *The Journal of Immunology*, 195(6), 2591-2600. doi:10.4049/jimmunol.1501138
- Akiyama, M., Hatanaka, M., Ohta, Y., Ueda, K., Yanai, A., Uehara, Y., ... & Tanizawa, Y. (2009). Increased insulin demand promotes while pioglitazone prevents pancreatic beta cell apoptosis in Wfs1 knockout mice. *Diabetologia*, 52(4), 653-663.
- American Society for Reproductive Medicine: Revised American Society for Reproductive Medicine classification of endometriosis: 1996. *Fertil Steril* 67:817, 1997.
- American College of Obstetricians and Gynecologists: Medical management of endometriosis. Practice Bulletin No.11, December 1999.
- Anelli, T. (2002). ERp44, a novel endoplasmic Reticulum folding assistant of the thioredoxin family. *The EMBO Journal*, 21(4), 835-844. doi:10.1093/emboj/21.4.835
- Arici, A., Oral, E., Attar, E., Tazuke, S. I., & Olive, D. L. (1997). Monocyte chemotactic protein-1 concentration in peritoneal fluid of women with endometriosis and its modulation of expression in mesothelial cells. *Fertility and Sterility*, 67(6), 1065-1072. doi:10.1016/s0015-0282(97)81440-9
- Arici, A., Seli, E., Zeyneloglu, H. B., Senturk, L. M., Oral, E., & Olive, D. L. (1998). Interleukin-8 induces proliferation of endometrial Stromal cells: A potential Autocrine growth Factor1. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 83(4), 1201-1205. doi:10.1210/jcem.83.4.4743
- Attia, G. R., Zeitoun, K., Edwards, D., Johns, A., Carr, B. R., & Bulun, S. E. (2000). Progesterone receptor Isoform a but not B is expressed in Endometriosis1. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 85(8), 2897-2902. doi:10.1210/jcem.85.8.6739
- Azzena, A., Litta, P., Ferrara, A., Perin, D., Brotto, M., Chiarelli, S., & Sandei, F. (1998). Rectosigmoid endometriosis: diagnosis and surgical management. *Clinical and Experimental Obstetrics & Gynecology*, 25(3), 94-96.
- Balasch, J., Creus, M., Fabregues, F., Carmona, F., Ordi, J., Martinez-Roman, S., & Vanrell, J. A. (1996). Visible and non-visible endometriosis at laparoscopy in fertile and infertile women and in patients with chronic pelvic pain: a prospective study. *Human reproduction*, 11(2), 387-391.
- Barragan, F., Irwin, J. C., Balayan, S., Erikson, D. W., Chen, J. C., Houshdaran, S., ... Giudice, L. C. (2016). Human endometrial fibroblasts derived from Mesenchymal progenitors inherit progesterone resistance and acquire an inflammatory phenotype in the endometrial niche in Endometriosis1. *Biology of Reproduction*, 94(5). doi:10.1095/biolreprod.115.136010
- Bhardwaj, M., Leli, N. M., Koumenis, C., & Amaravadi, R. K. (2020, November). Regulation of autophagy by canonical and non-canonical ER stress responses. In *Seminars in cancer biology* (Vol. 66, pp. 116-128). Academic Press.
- Bontis, J. N., & Vavilis, D. T. (1997). Etiopathology of endometriosis. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 816, 305-309.
- Braun, D. P., Muriana, A., Gebel, H., Rotman, C., Rana, N., & Dmowski, W. P. (1994). Monocyte-mediated enhancement of endometrial cell proliferation in women with endometriosis. *Fertility and Sterility*, 61(1), 78-84. doi:10.1016/s0015-0282(16)56456-5

- Brenner, R. M., & Slayden, O. D. (2012). Molecular and functional aspects of menstruation in the macaque. *Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders*, 13(4), 309-318. doi:10.1007/s11154-012-9225-5
- Brosens, I., & Benagiano, G. (2013). Is neonatal uterine bleeding involved in the pathogenesis of endometriosis as a source of stem cells? *Fertility and Sterility*, 100(3), 622-623. doi:10.1016/j.fertnstert.2013.04.046
- Brosens, I., Gargett, C. E., Guo, S., Puttemans, P., Gordts, S., Brosens, J. J., & Benagiano, G. (2016). Origins and progression of adolescent endometriosis. *Reproductive Sciences*, 23(10), 1282-1288. doi:10.1177/1933719116637919
- Buhimschi, I. A., Nayeri, U. A., Zhao, G., Shook, L. L., Pensalfini, A., Funai, E. F., ... Buhimschi, C. S. (2014). Protein misfolding, congophilia, oligomerization, and defective amyloid processing in preeclampsia. *Science Translational Medicine*, 6(245). doi:10.1126/scitranslmed.3008808
- Bukau, B., Weissman, J., & Horwich, A. (2006). Molecular chaperones and protein quality control. *Cell*, 125(3), 443-451. doi:10.1016/j.cell.2006.04.014
- Bulun, S. E., Yang, S., Fang, Z., Gurates, B., Tamura, M., & Sebastian, S. (2002). Estrogen production and metabolism in endometriosis. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 955(1), 75-85.
- Cao, S. S., Luo, K. L., & Shi, L. (2015). Endoplasmic Reticulum stress interacts with inflammation in human diseases. *Journal of Cellular Physiology*, 231(2), 288-294. doi:10.1002/jcp.25098
- Cervelló, I., Gil-Sanchis, C., Mas, A., Delgado-Rosas, F., Martínez-Conejero, J. A., Galán, A., ... Simón, C. (2010). Human endometrial side population cells exhibit genotypic, phenotypic and functional features of somatic stem cells. *PLoS ONE*, 5(6), e10964. doi:10.1371/journal.pone.0010964
- Chan, R. W., Ng, E. H., & Yeung, W. S. (2011). Identification of cells with colony-forming activity, self-renewal capacity, and Multipotency in ovarian endometriosis. *The American Journal of Pathology*, 178(6), 2832-2844. doi:10.1016/j.ajpath.2011.02.025
- Chan, R. W., Schwab, K. E., & Gargett, C. E. (2004). Clonogenicity of human endometrial epithelial and Stromal Cells1. *Biology of Reproduction*, 70(6), 1738-1750. doi:10.1095/biolreprod.103.024109
- Chang, Y., Wu, Y., Liu, W., & Ji, G. (2015). Knockdown of ERp44 leads to apoptosis via activation of ER stress in Hela cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 463(4), 606-611. doi:10.1016/j.bbrc.2015.05.106
- Chao, R., Nevin, L., Agarwal, P., Riemer, J., Bai, X., Delaney, A., ... Slavotinek, A. (2010). A male with unilateral Microphthalmia reveals a role for TMX3 in eye development. *PLoS ONE*, 5(5), e10565. doi:10.1371/journal.pone.0010565
- Chapron, C., Dubuisson, J., Pansini, V., Vieira, M., Fauconnier, A., Barakat, H., & Dousset, B. (2002). Routine clinical examination is not sufficient for diagnosing and locating deeply infiltrating endometriosis. *The Journal of the American Association of Gynecologic Laparoscopists*, 9(2), 115-119. doi:10.1016/s1074-3804(05)60117-x
- Chapron, C., Fauconnier, A., Vieira, M., Barakat, H., Dousset, B., Pansini, V., ... & Dubuisson, J. B. (2003). Anatomical distribution of deeply infiltrating endometriosis: surgical implications and proposition for a classification. *Human reproduction*, 18(1), 157-161.
- Chen, R., Jin, R., Wu, L., Ye, X., Yang, Y., Luo, K., ... Xiao, G. (2011). Reticulon 3 attenuates the clearance of cytosolic prion aggregates via inhibiting autophagy. *Autophagy*, 7(2), 205-216. doi:10.4161/auto.7.2.14197
- Choi, J., Jo, M., Lee, E., Lee, D.Y., Choi, D. 2019. "Involvement of endoplasmic reticulum stress in regulation of endometrial stromal cell invasiveness: possible role in pathogenesis of endometriosis". *Molecular Human Reproduction*, 25,101–110.

- Ciavattini, A., Delli Carpini, G., Serri, M., Tozzi, A., Leoni, F., Di Loreto, E., Saccucci, F. 2018. "Unfolded protein response, a link between endometrioid ovarian carcinoma and endometriosis: A pilot study". *Oncology Letters*, 16, 5449–5454.
- Ciuffreda, M. C., Malpasso, G., Musarò, P., Turco, V., Gnecchi, M. 2016. Sayfa 149–158. "Protocols for in vitro differentiation of human mesenchymal stem cells into osteogenic, chondrogenic and adipogenic lineages in Mesenchymal Stem Cells". *Methods in Molecular Biology*. Editör: Gnecchi M. New York, NY, USA: Humana Press.
- Clement, P. B. (2007). The pathology of endometriosis. *Advances in Anatomic Pathology*, 14(4), 241-260. doi:10.1097/pap.0b013e3180ca7d7b
- Cousins, F. L., O, D. F., & Gargett, C. E. (2018). Endometrial stem/progenitor cells and their role in the pathogenesis of endometriosis. *Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynaecology*, 50, 27-38. doi:10.1016/j.bpobgyn.2018.01.011
- Cousins, F. L., O, D. F., & Gargett, C. E. (2018). undefined. *Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynaecology*, 50, 27-38. doi:10.1016/j.bpobgyn.2018.01.011
- Dandekar, A., Mendez, R., Zhang, K. 2015. "Cross talk between ER stress, oxidative stress, and inflammation in health and disease". *Methods in Molecular Biology*, 1292, 205–214.
- D'Hooghe, T. M. (1997). Clinical relevance of the baboon as a model for the study of endometriosis. *Fertility and sterility*, 68(4), 613-625.
- D'Hooghe, T. M. D., Bambra, C. S., Raeymaekers, B. M., & Koninckx, P. R. (1996). Endometriosis: Increased prevalence and recurrence of retrograde menstruation in baboons with spontaneous endometriosis. *Human reproduction*, 11(9), 2022-2025.
- D'Hooghe, T. M., Debrock, S., Hill, J. A., & Meuleman, C. (2003). Endometriosis and subfertility: is the relationship resolved?. In *Seminars in reproductive medicine* (Vol. 21, No. 02, pp. 243-254). Copyright© 2003 by Thieme Medical Publishers, Inc., 333 Seventh Avenue, New York, NY 10001, USA. Tel.: + 1 (212) 584-4662.
- Dictor, M., Nelson, C. E., & Uvelius, B. (1988). Priapism in a Patient with Endometrioid Prostatic Carcinoma. *Urologia Internationalis*, 43(4), 245-247.
- Dill, K. A., Ozkan, S. B., Shell, M. S., & Weikl, T. R. (2008). The protein folding problem. *Annual Review of Biophysics*, 37(1), 289-316. doi:10.1146/annurev.biophys.37.092707.153558
- Dmowski, W. P., & Radwanska, E. (1984). Endometriosis and infertility. *Acta Obstetrica et Gynecologica Scandinavica*, 63(s123), 73-79. doi:10.3109/00016348409156987
- Dominici, M. L. B. K., Le Blanc, K., Mueller, I., Slaper-Cortenbach, I., Marini, F. C., Krause, D. S., ... & Horwitz, E. M. (2006). Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement. *Cytotherapy*, 8(4), 315-317.
- Du, H., & Taylor, H. S. (2009). Stem cells and female reproduction. *Reproductive Sciences*, 16(2), 126-139. doi:10.1177/1933719108329956
- Endometriosis and pelvic pain: Relation to disease stage and localization. (1996). *International Journal of Gynecology & Obstetrics*, 54(2), 210-210. doi:10.1016/0020-7292(96)83033-5
- Endometriosis and subfertility: Is the relationship resolved? (2003). *Seminars in Reproductive Medicine*, 21(2), 243-254. doi:10.1055/s-2003-41330
- Endometriosis: Interaction of immune and endocrine systems. (2003). *Seminars in Reproductive Medicine*, 21(2), 135-144. doi:10.1055/s-2003-41320

- Endometriosis: The ultimate hormonal disease. (2003). *Seminars in Reproductive Medicine*, 21(2), 125-134. doi:10.1055/s-2003-41319
- Eskenazi, B., & Warner, M. L. (1997). Epidemiology of endometriosis. *Obstetrics and gynecology clinics of North America*, 24(2), 235-258.
- Eskenazi, B., Warner, M., Bonsignore, L., Olive, D., Samuels, S., & Vercellini, P. (2001). Validation study of nonsurgical diagnosis of endometriosis. *Fertility and Sterility*, 76(5), 929-935. doi:10.1016/s0015-0282(01)02736-4
- Fader, C. M., & Colombo, M. I. (2009). Autophagy and multivesicular bodies: two closely related partners. *Cell Death & Differentiation*, 16(1), 70-78.
- Fauconnier, A., Chapron, C., Dubuisson, J. B., Vieira, M., Dousset, B., & Bréart, G. (2002). Relation between pain symptoms and the anatomic location of deep infiltrating endometriosis. *Fertility and sterility*, 78(4), 719-726.
- Fayazi, M., Salehnia, M., Ziaei, S.(2016). Characteristics of human endometrial stem cells in tissue and isolated cultured cells: An immunohistochemical aspect. *Iran. Biomed. J.* 20, 109–116.
- Fedele L, Bianchi S, Bocciolone L, ve ark.(1992). ‘Pain symptoms associated with endometriosis’. *Obstet Gynecol* 79:767.
- Ferrero, S., Esposito, F., Abbamonte, L. H., Anserini, P., Remorgida, V., & Ragni, N. (2005). Quality of sex life in women with endometriosis and deep dyspareunia. *Fertility and Sterility*, 83(3), 573-579. doi:10.1016/j.fertnstert.2004.07.973
- Ferro-Novick, S., Reggiori, F., & Brodsky, J. L. (2021). Er-phagy, ER homeostasis, and ER quality control: Implications for disease. *Trends in Biochemical Sciences*, 46(8), 630-639.
- Figueira, P. G., Abrão, M. S., Krikun, G., & Taylor, H. (2011). Stem cells in endometrium and their role in the pathogenesis of endometriosis. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1221(1), 10-17. doi:10.1111/j.1749-6632.2011.05969.x
- Fleischer, A. C. (1999). Sonographic assessment of endometrial disorders. *Seminars in Ultrasound, CT and MRI*, 20(4), 259-266. doi:10.1016/s0887-2171(99)90071-9
- Fox, J., Lu, Z., & Barrows, L. (2016). Thiol-disulfide Oxidoreductases TRX1 and TMX3 decrease neuronal atrophy in a Lentiviral mouse model of Huntington’s disease. *PLoS Currents*. doi:10.1371/currents.hd.b966ec2eca8e2d89d2bb4d020be4351e
- Garcia-Velasco JA ve Rizk RMBB.(2010). Endometriyozis Güncel Yönetim ve Gelecek Akımlar. 1.baskı. Jaypee brothers medical publishers.
- Gargett, C. (2006). Uterine stem cells: What is the evidence? *Human Reproduction Update*, 13(1), 87-101. doi:10.1093/humupd/dml045
- Gargett, C., Deane, J., & Schwab, K. (2016). Reply: An update on endometrial stem cells and progenitors by Deepa Bhartiya. *Human Reproduction Update*, 22(4), 530-531. doi:10.1093/humupd/dmw011
- Gargett, C. E. (2006). Identification and characterisation of human endometrial stem/progenitor cells. *The Australian and New Zealand Journal of Obstetrics and Gynaecology*, 46(3), 250-253. doi:10.1111/j.1479-828x.2006.00582.x
- Gargett, C. E., & Gurung, S. (2016). Endometrial Mesenchymal stem/Stromal cells, their fibroblast progeny in endometriosis, and More1. *Biology of Reproduction*, 94(6). doi:10.1095/biolreprod.116.141325
- Gargett, C. E., Schwab, K. E., Brosens, J. J., Puttemans, P., Benagiano, G., & Brosens, I. (2014). Potential role of endometrial stem/progenitor cells in the pathogenesis of early-onset endometriosis. *Molecular Human Reproduction*, 20(7), 591-598. doi:10.1093/molehr/gau025

- Gimpelson, R. (2014). Ten-year literature review of global endometrial ablation with the NovaSure[®] device. *International Journal of Women's Health*, 269. doi:10.2147/ijwh.s56364
- Giudice, L. C., & Kao, L. C. (2004). Endometriosis. *The Lancet*, 364(9447), 1789-1799. doi:10.1016/s0140-6736(04)17403-5
- Gleicher, N., Dmowski, W. P., Siegel, I., Friberg, J., Radwanska, E., & Toder, V. (1984). Lymphocyte Subsets In Endometriosis. *Obstetrics & Gynecology*, 63(4), 463-466.
- Grumati, P., Morozzi, G., Hölper, S., Mari, M., Harwardt, M. I., Yan, R., ... Dikic, I. (2017). Author response: Full length RTN3 regulates turnover of tubular endoplasmic Reticulum via selective autophagy. doi:10.7554/elife.25555.039
- Guerra, C., & Molinari, M. (2020). undefined. *Cells*, 9(9), 2000. doi:10.3390/cells9092000
- Gurates, B., & Bulun, S. E. (2003). Endometriosis: the ultimate hormonal disease. In *Seminars in reproductive medicine* (Vol. 21, No. 02, pp. 125-134). Copyright© 2003 by Thieme Medical Publishers, Inc., 333 Seventh Avenue, New York, NY 10001, USA. Tel.: + 1 (212) 584-4662.
- Guzel, E., Arlier, S., Guzeloglu-Kayisli, O., Tabak, M., Ekiz, T., Semerci, N., ... Kayisli, U. (2017). Endoplasmic Reticulum stress and homeostasis in reproductive physiology and pathology. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(4), 792. doi:10.3390/ijms18040792
- Guzel, E., Basar, M., Ocak, N., Arici, A., & Kayisli, U. A. (2011). Bidirectional interaction between unfolded-protein-Response key protein HSPA5 and estrogen signaling in human Endometrium1. *Biology of Reproduction*, 85(1), 121-127. doi:10.1095/biolreprod.110.089532
- Guzel, E., Ocak, N., Basar, M., Bozkurt, I., Arici, A., & Kayisli, U. (2010). Bidirectional regulation of unfolding protein response in human endometrium and endometriosis. *Fertility and Sterility*, 94(4), S216. doi:10.1016/j.fertnstert.2010.07.837
- Harada, T., Kubota, T., & Aso, T. (2002). Usefulness of CA19-9 versus CA125 for the diagnosis of endometriosis. *Fertility and sterility*, 78(4), 733-739.
- Haney, A., Muscato, J. J., & Weinberg, J. B. (1981). Peritoneal fluid cell populations in infertility patients. *Fertility and Sterility*, 35(6), 696-698. doi:10.1016/s0015-0282(16)45567-6
- Hartl, F. U. (1996). Molecular chaperones in cellular protein folding. *Nature*, 381(6583), 571-580. doi:10.1038/381571a0
- Higo, T., Hattori, M., Nakamura, T., Natsume, T., Michikawa, T., & Mikoshiba, K. (2005). Subtype-specific and ER luminal environment-dependent regulation of inositol 1,4,5-Trisphosphate receptor type 1 by ERp44. *Cell*, 120(1), 85-98. doi:10.1016/j.cell.2004.11.048
- Hirata, T., Osuga, Y., Takamura, M., Saito, A., Hasegawa, A., Koga, K., ... Taketani, Y. (2011). Interleukin-17F increases the secretion of interleukin-8 and the expression of cyclooxygenase 2 in endometriosis. *Fertility and Sterility*, 96(1), 113-117. doi:10.1016/j.fertnstert.2011.04.060
- Hisatsune, C., Ebisui, E., Usui, M., Ogawa, N., Suzuki, A., Mataga, N., ... Mikoshiba, K. (2015). ERp44 exerts redox-dependent control of blood pressure at the ER. *Molecular Cell*, 58(6), 1015-1027. doi:10.1016/j.molcel.2015.04.008
- Ho, H., Chao, K., Chen, H., Wu, M., Yang, Y., & Lee, T. (1995). Peritoneal natural killer cytotoxicity and CD25+CD3+ lymphocyte subpopulation are decreased in women with stage III-IV endometriosis. *Human Reproduction*, 10(10), 2671-2675. doi:10.1093/oxfordjournals.humrep.a135765
- Hoffman, B. L., Schorge, J. O., Bradshaw, K. D., Halvorson, L. M., Schaffer, J. I., & Corton, M. M. (2016). *Williams gynecology* (3rd ed.). McGraw Hill Professional.

- Hombach-Klonisch S., Klonisch T., Peeler J. (2019) *Sobotta Clinical Atlas of Human Anatomy*. 1th edition. (enhanced digital version included). Elsevier.
- Hornstein, M. D., Yuzpe, A. A., Burry, K. A., Heinrichs, L. R., Buttram, V. L., & Orwoll, E. S. (1995). Prospective randomized double-blind trial of 3 versus 6 months of nafarelin therapy for endometriosis associated pelvic pain. *Fertility and Sterility*, 63(5), 955-962. doi:10.1016/s0015-0282(16)57530-x
- Hou, W., Gupta, S., Beauchamp, M., Yuan, L., & Jerome-Majewska, L. A. (2017). Non-alcoholic fatty liver disease in mice with heterozygous mutation in TMED2. *PLOS ONE*, 12(8), e0182995. doi:10.1371/journal.pone.0182995
- Hufnagel, D., Li, F., Cosar, E., Krikun, G., & Taylor, H. (2015). The role of stem cells in the etiology and pathophysiology of endometriosis. *Seminars in Reproductive Medicine*, 33(05), 333-340. doi:10.1055/s-0035-1564609
- Ibrahim, I. M., Abdelmalek, D. H., & Elfiky, A. A. (2019). GRP78: A cell's response to stress. *Life sciences*, 226, 156-163.
- Jabbour, H. N., Kelly, R. W., Fraser, H. M., & Critchley, H. O. (2005). Endocrine regulation of menstruation. *Endocrine Reviews*, 27(1), 17-46. doi:10.1210/er.2004-0021
- Javert, C. T. (1949). Pathogenesis of endometriosis based on endometrial homeoplasia, direct extension, exfoliation and implantation, lymphatic and hematogenous metastasis. Including five case reports of endometrial tissue in pelvic lymph nodes. *Cancer*, 2(3), 399-410. doi:10.1002/1097-0142(194905)2:33.0.co;2-l
- Kabir, M. F., Kim, H. R., Chae, H. J. (2018). "Endoplasmic reticulum stress and autophagy". Intech, 81381.
- Kamiyama, G., Yamazaki, K., Hiratsuka, K., Takata, M., Tsunoda, A., Shibusawa, M., ... Watanabe, M. (2003). Anal Endosonography in the diagnosis and management of Perianal endometriosis: Report of a case. *Surgery Today*, 33(8), 630-632. doi:10.1007/s00595-003-2545-z
- Kao, L. C., Germeyer, A., Tulac, S., Lobo, S., Yang, J. P., Taylor, R. N., ... & Giudice, L. C. (2003). Expression profiling of endometrium from women with endometriosis reveals candidate genes for disease-based implantation failure and infertility. *Endocrinology*, 144(7), 2870-2881.
- Kao, A., Wang, K., Chang, C., Lee, J., Long, C., Chen, H., ... Tsai, E. (2011). Comparative study of human eutopic and ectopic endometrial mesenchymal stem cells and the development of an in vivo endometriotic invasion model. *Fertility and Sterility*, 95(4), 1308-1315.e1. doi:10.1016/j.fertnstert.2010.09.064
- Karaoz, E., Aksoy, A., Ayhan, S., Sarıboyacı, A.E., Kaymaz, F. (2009). Characterization of mesenchymal stem cells from rat bone marrow: ultrastructural properties, differentiation potential and immunophenotypic markers. *Histochemistry and Cell Biology*. 132(5), 533. doi: 10.1007/s00418-009-0629-6
- Kaufman, R. J. (1999). Stress signaling from the lumen of the endoplasmic Reticulum: Coordination of gene transcriptional and translational controls. *Genes & Development*, 13(10), 1211-1233. doi:10.1101/gad.13.10.1211
- Kaufman, R. J., Scheuner, D., Schröder, M., Shen, X., Lee, K., Liu, C. Y., & Arnold, S. M. (2002). The unfolded protein response in nutrient sensing and differentiation. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 3(6), 411-421. doi:10.1038/nrm829
- Kennedy, S., Bergqvist, A., Chapron, C., D'Hooghe, T., Dunselman, G., Greb, R., ... & Saridogan, E. (2005). ESHRE guideline for the diagnosis and treatment of endometriosis. *Human reproduction*, 20(10), 2698-2704.
- Kim, J. Y., Tavaré, S., & Shibata, D. (2005). Counting human somatic cell replications: Methylation mirrors endometrial stem cell divisions. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 102(49), 17739-17744. doi:10.1073/pnas.0503976102

- Kim, K., Lee, E. N., Park, J. K., Lee, J., Kim, J., Choi, H., ... Yoon, S. (2011). Curcumin attenuates TNF- α -induced expression of intercellular adhesion molecule-1, vascular cell adhesion molecule-1 and proinflammatory cytokines in human Endometriotic Stromal cells. *Phytotherapy Research*, 26(7), 1037-1047. doi:10.1002/ptr.3694
- Kim, P. S., & Arvan, P. (1998). Endocrinopathies in the family of endoplasmic Reticulum (ER) storage diseases: Disorders of protein trafficking and the role of ER molecular chaperones*. *Endocrine Reviews*, 19(2), 173-202. doi:10.1210/edrv.19.2.0327
- Kitawaki, J., Noguchi, T., Amatsu, T., Maeda, K., Tsukamoto, K., Yamamoto, T., ... Honjo, H. (1997). Expression of Aromatase cytochrome P450 protein and Messenger ribonucleic acid in human Endometriotic and Adenomyotic tissues but not in normal Endometrium1. *Biology of Reproduction*, 57(3), 514-519. doi:10.1095/biolreprod57.3.514
- Kocbek, V., Grandi, G., Blank, F., Wotzkow, C., Bersinger, N. A., Mueller, M. D., Kyo, S., McKinnon, B. D. 2016. "TNF α -induced IKK β complex activation influences epithelial, but not stromal cell survival in endometriosis". *Molecular Human Reproduction*, 22, 768–777.
- Koger, K. E., Shatney, C. H., Hodge, K., & McClenathan, J. H. (1993). Surgical scar endometrioma. *Surgery, gynecology & obstetrics*, 177(3), 243-246.
- Koninckx, P. R., Meuleman, C., Demeyere, S., Lesaffre, E., & Cornillie, F. J. (1991). Suggestive evidence that pelvic endometriosis is a progressive disease, whereas deeply infiltrating endometriosis is associated with pelvic pain. *Fertility and sterility*, 55(4), 759-765.
- Koninckx, P. R., Meuleman, C., Oosterlynck, D., & Cornillie, F. J. (1996). Diagnosis of deep endometriosis by clinical examination during menstruation and plasma CA-125 concentration. *Fertility and Sterility*, 65(2), 280-287. doi:10.1016/s0015-0282(16)58086-8
- Krebs, J., Agellon, L. B., & Michalak, M. (2015). Ca²⁺ homeostasis and endoplasmic Reticulum (ER) stress: An integrated view of calcium signaling. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 460(1), 114-121. doi:10.1016/j.bbrc.2015.02.004
- Kuan, K., K., Gibson, D. A., Whitaker, L. H., & Horne, A. W. (2021). Menstruation dysregulation and endometriosis development. *Frontiers in Reproductive Health*, 3, 756704.
- Lagana, A. S., Garzon, S., Götte, M., Viganò, P., Franchi, M., Ghezzi, F., & Martin, D. C. (2019). The pathogenesis of endometriosis: Molecular and cell biology insights. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(22), 5615. doi:10.3390/ijms20225615
- Lagana, A. S., Garzon, S., Götte, M., Viganò, P., Franchi, M., Ghezzi, F., & Martin, D. C. (2019). The pathogenesis of endometriosis: Molecular and cell biology insights. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(22), 5615. doi:10.3390/ijms20225615
- Langman, G. C., Bleyl, S. B., Brauer, P. R., & Francis-West, P. H. (2009). *Larsen's human embryology*. 5th edition. Elsevier
- Lapidot, T., & Petit, I. (2002). Current understanding of stem cell mobilization. *Experimental Hematology*, 30(9), 973-981. doi:10.1016/s0301-472x(02)00883-4
- Lee, A. S. (2005). The ER chaperone and signaling regulator GRP78/BiP as a monitor of endoplasmic Reticulum stress. *Methods*, 35(4), 373-381. doi:10.1016/j.ymeth.2004.10.010
- Lessey, B. A., Castelbaum, A. J., Sawin, S. W., Buck, C. A., Schinnar, R., Bilker, W., & Strom, B. L. (1994). Aberrant integrin expression in the endometrium of women with endometriosis. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 79(2), 643-649.
- Lessey, B. A., & Kim, J. J. (2017). Endometrial receptivity in the eutopic endometrium of women with endometriosis: It is affected, and let me show you why. *Fertility and Sterility*, 108(1), 19-27. doi:10.1016/j.fertnstert.2017.05.031

- Leyendecker, G., Kunz, G., Herbertz, M., Beil, D., Huppert, P., Mall, G., ... & Wildt, L. (2004). Uterine peristaltic activity and the development of endometriosis. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1034(1), 338-355.
- Leyendecker, G., Wildt, L., & Mall, G. (2009). The pathophysiology of endometriosis and adenomyosis: Tissue injury and repair. *Archives of Gynecology and Obstetrics*, 280(4), 529-538. doi:10.1007/s00404-009-1191-0
- Li, M., Wen, Y., Wen, H., Gui, C., Huang, F., & Zeng, Z. (2018). Discovery of PPP2R3A and TMX3 pathogenic variants in a Zhuang family with coronary artery disease using whole-exome sequencing. *International Journal of Clinical and Experimental Pathology*, 11(7), 3678.
- Liang, R. N., Li, P. S., Zou, Y., Liu, Y. L., Jiang, Z., Liu, Z., Fan, P., Xu, L., Peng, J. H., Sun, X. Y. 2017. "Ping-Chong-Jiang-Ni formula induces apoptosis and inhibits proliferation of human ectopic endometrial stromal cells in endometriosis via the activation of JNK signaling pathway". *Evidence Based Complementary and Alternative Medicine*, 2017.
- Liang, J. R., Lingeman, E., Luong, T., Ahmed, S., Muhar, M., Nguyen, T., ... Corn, J. E. (2020). A genome-wide ER-phagy screen highlights key roles of mitochondrial metabolism and ER-resident UFMylation. *Cell*, 180(6), 1160-1177.e20. doi:10.1016/j.cell.2020.02.017
- Liu, J., Wang, Y., Song, L., Zeng, L., Yi, W., Liu, T., ... Cong, Y. (2017). A critical role of DDRGK1 in endoplasmic Reticulum homeostasis via regulation of IRE1 α stability. *Nature Communications*, 8(1). doi:10.1038/ncomms14186
- Liu, B., Ou, G., Chen, Y., & Zhang, J. (2019). Inhibition of protein tyrosine phosphatase 1B protects against sevoflurane-induced neurotoxicity mediated by ER stress in developing brain. *Brain research bulletin*, 146, 28-39.
- Lièvreumont, J., Rizzuto, R., Hendershot, L., & Meldolesi, J. (1997). undefined. *Journal of Biological Chemistry*, 272(49), 30873-30879. doi:10.1074/jbc.272.49.30873
- Luo, B., & Lee, A. S. (2012). The critical roles of endoplasmic Reticulum chaperones and unfolded protein response in tumorigenesis and anticancer therapies. *Oncogene*, 32(7), 805-818. doi:10.1038/onc.2012.130
- Macer, M. L., & Taylor, H. S. (2012). Endometriosis and infertility. *Obstetrics and Gynecology Clinics of North America*, 39(4), 535-549. doi:10.1016/j.ogc.2012.10.002
- Marchino, G. L., Gennarelli, G., Enria, R., Bongioanni, F., Lipari, G., & Massobrio, M. (2005). Laparoscopic visualization with histologic confirmation represents the best available option to date in the diagnosis of endometriosis. *Fertility and Sterility*, 84(1), 38.
- Markham, S. M., Carpenter, S. E., & Rock, J. A. (1989). Extrapelvic endometriosis. *Obstetrics and Gynecology Clinics of North America*, 16(1), 193-219. doi:10.1016/s0889-8545(21)00147-9
- Masuda, H., Anwar, S. S., Bühring, H., Rao, J. R., & Gargett, C. E. (2012). A novel marker of human endometrial Mesenchymal stem-like cells. *Cell Transplantation*, 21(10), 2201-2214. doi:10.3727/096368911x637362
- Masuda, H., Matsuzaki, Y., Hiratsu, E., Ono, M., Nagashima, T., Kajitani, T., ... Okano, H. (2010). Stem cell-like properties of the endometrial side population: Implication in endometrial regeneration. *PLoS ONE*, 5(4), e10387. doi:10.1371/journal.pone.0010387
- Mathias, S. D., Kuppermann, M., Liberman, R. F., Lipschutz, R. C., & Steege, J. F. (1996). Chronic pelvic pain: prevalence, health-related quality of life, and economic correlates. *Obstetrics & Gynecology*, 87(3), 321-327.

- Mathur, S., Peress, M. R., Williamson, H. O., Youmans, C. D., Maney, S. A., Garvin, A. J., ... Fudenberg, H. H. (1983). Autoimmunity to endometrium and ovary in endometriosis. *Obstetrical & Gynecological Survey*, 38(9), 587. doi:10.1097/00006254-198309000-00022
- Matsuzaki, S., & Darcha, C. (2012). Epithelial to mesenchymal transition-like and mesenchymal to epithelial transition-like processes might be involved in the pathogenesis of pelvic endometriosis†. *Human Reproduction*, 27(3), 712-721. doi:10.1093/humrep/der442
- Matsuura, K., Ohtake, H., Katabuchi, H., & Okamura, H. (1999). Coelomic metaplasia theory of endometriosis: evidence from in vivo studies and an in vitro experimental model. *Gynecologic and obstetric investigation*, 47(Suppl. 1), 18-22.
- Matorras, R., Rodríguez, F., Pijoan, J., Etxanojauregui, A., Neyro, J., Elorriaga, M., & Rodríguez-Escudero, F. J. (2001). Women who are not exposed to spermatozoa and infertile women have similar rates of stage I endometriosis. *Fertility and Sterility*, 76(5), 923-928. doi:10.1016/s0015-0282(01)02833-3
- McMeekin, D. S., & Tillmanns, T. (2003). Endometrial cancer: treatment of nodal metastases. *Current treatment options in oncology*, 4(2), 121-130.
- Meng, X., Ichim, T. E., Zhong, J., Rogers, A., Yin, Z., Jackson, J., ... Riordan, N. H. (2007). Endometrial regenerative cells: A novel stem cell population. *Journal of Translational Medicine*, 5(1). doi:10.1186/1479-5876-5-57
- Meuleman, C., Vandenabeele, B., Fieuws, S., Spiessens, C., Timmerman, D., & D'Hooghe, T. (2009). High prevalence of endometriosis in infertile women with normal ovulation and normospermic partners. *Fertility and sterility*, 92(1), 68-74.
- Miyazaki, K., Maruyama, T., Masuda, H., Yamasaki, A., Uchida, S., Oda, H., ... Yoshimura, Y. (2012). Stem cell-like differentiation potentials of endometrial side population cells as revealed by a newly developed in vivo endometrial stem cell assay. *PLoS ONE*, 7(12), e50749. doi:10.1371/journal.pone.0050749
- Mitchell, A. O., Hoffman, A. P., Swartz, S. E., & Ghosh, B. C. (1991). An unusual occurrence of endometriosis in the right groin: a case report and review of the literature. *Military medicine*, 156(11), 633-634.
- Moggio, A., Pittatore, G., Cassoni, P., Marchino, G. L., Revelli, A., & Bussolati, B. (2012). undefined. *Fertility and Sterility*, 98(6), 1521-1530.e2. doi:10.1016/j.fertnstert.2012.08.003
- Mol, B. W., Bayram, N., Lijmer, J. G., Wiegerinck, M. A., Bongers, M. Y., Van der Veen, F., & Bossuyt, P. M. (1998). The performance of CA-125 measurement in the detection of endometriosis: A meta-analysis. *Fertility and Sterility*, 70(6), 1101-1108. doi:10.1016/s0015-0282(98)00355-0
- Moore, J., Binstock, M. A., & Growdon, W. A. (1988). The clinical implications of retroperitoneal endometriosis. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 158(6), 1291-1298. doi:10.1016/0002-9378(88)90359-6
- Moore KL ve Dalley AF. (1999). *Clinically Oriented Anatomy*. (4. Baskı). Lippicott Williams Wilkins. Baltimore, USA.
- Moore, J., Copley, S., Morris, J., Lindsell, D., Golding, S., & Kennedy, S. (2002). A systematic review of the accuracy of ultrasound in the diagnosis of endometriosis. *Ultrasound in Obstetrics and Gynecology*, 20(6), 630-634. doi:10.1046/j.1469-0705.2002.00862.x
- Mori, H., Sawairi, M., Nakagawa, M., Itoh, N., Wada, K., & Tamaya, T. (1991). Peritoneal fluid Interleukin-1 β and tumor necrosis factor in patients with benign Gynecologic disease. *American Journal of Reproductive Immunology*, 26(2), 62-67. doi:10.1111/j.1600-0897.1991.tb00972.x

- Muller, I., Van der Palen, J., Massop-Helmink, D., Vos-de Bruin, R., & Sikkema, J. M. (2015). Patient satisfaction and amenorrhea rate after endometrial ablation by ThermaChoice III or NovaSure: A retrospective cohort study. *Gynecological Surgery*, 12(2), 81-87. doi:10.1007/s10397-015-0880-x
- Murphy, A. A. (2002). Clinical aspects of endometriosis. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 955(1), 1-10.
- Muscato, J. J., Haney, A. F., & Weinberg, J. B. (1982). Sperm phagocytosis by human peritoneal macrophages: a possible cause of infertility in endometriosis. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 144(5), 503-510.
- Muzii, L., Marana, R., Pedullà, S., Catalano, G. F., & Mancuso, S. (1997). Correlation between endometriosis-associated dysmenorrhea and the presence of typical or atypical lesions. *Fertility and sterility*, 68(1), 19-22.
- Nezhat, C., Santolaya, J., Nezhat, F. R., & Nezhat, C. (1994). Comparison of transvaginal sonography and bimanual pelvic examination in patients with laparoscopically confirmed endometriosis. *The Journal of the American Association of Gynecologic Laparoscopists*, 1(2), 127-130.
- Noble, L. S., Simpson, E. R., Johns, A., & Bulun, S. E. (1996). Aromatase expression in endometriosis. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 81(1), 174-179. doi:10.1210/jcem.81.1.8550748
- Noble, L. S., Takayama, K., Zeitoun, K. M., Putman, J. M., Johns, D. A., Hinshelwood, M. M., ... Bulun, S. E. (1997). Prostaglandin E₂ Stimulates Aromatase expression in endometriosis-derived Stromal Cells¹. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 82(2), 600-606. doi:10.1210/jcem.82.2.3783
- Odukoya, O., Wheatcroft, N., Weetman, A., & Cooke, I. (1995). Endometriosis: The prevalence of endometrial immunoglobulin G antibodies in patients with endometriosis. *Human Reproduction*, 10(5), 1214-1219. doi:10.1093/oxfordjournals.humrep.a136121
- Ogata, M., Hino, S. I., Saito, A., Morikawa, K., Kondo, S., Kanemoto, S., ... & Imaizumi, K. (2006). Autophagy is activated for cell survival after endoplasmic Reticulum Stress. *Molecular and cellular biology*, 26(24), 9220-9231.
- Olive, D. L., Weinberg, J. B., & Haney, A. F. (1985). Peritoneal macrophages and infertility: The association between cell number and pelvic pathology. *Fertility and Sterility*, 44(6), 772-777. doi:10.1016/s0015-0282(16)49036-9
- Oosterlynck, D. J., Meuleman, C., Waer, M., Koninckx, P. R., & Vandeputte, M. (1993). Immunosuppressive activity of peritoneal fluid in women with endometriosis. *Obstetrics & Gynecology*, 82(2), 206-212.
- Pang, X., Zhang, Y., Shi, X., Li, D., & Han, J. (2018). ERp44 depletion exacerbates ER stress and aggravates diabetic nephropathy in DB/DB mice. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 504(4), 921-926. doi:10.1016/j.bbrc.2018.09.037
- Papavramidis, T. H. S., Sapalidis, K., Michalopoulos, N., Karayanopoulou, G., Raptou, G., Tzioufa, V., ... & Papavramidis, S. T. (2009). Spontaneous abdominal wall endometriosis: a case report. *Acta Chirurgica Belgica*, 109(6), 778-781.
- Patel, B., Elguero, S., Thakore, S., Dahoud, W., Bedaiwy, M., & Mesiano, S. (2014). Role of nuclear progesterone receptor isoforms in uterine pathophysiology. *Human Reproduction Update*, 21(2), 155-173. doi:10.1093/humupd/dmu056
- Patel, B. G., Lenk, E. E., Lebovic, D. I., Shu, Y., Yu, J., & Taylor, R. N. (2018). Pathogenesis of endometriosis: Interaction between endocrine and inflammatory pathways. *Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynaecology*, 50, 50-60. doi:10.1016/j.bpobgyn.2018.01.006

- Patel, B. G., Rudnicki, M., Yu, J., Shu, Y., & Taylor, R. N. (2017). Progesterone resistance in endometriosis: Origins, consequences and interventions. *Acta Obstetrica et Gynecologica Scandinavica*, 96(6), 623-632. doi:10.1111/aogs.13156
- Pellicer, A., Oliveira, N., Ruiz, A., Remohí, J., & Simón, C. (1995). Exploring the mechanism (s) of endometriosis-related infertility: an analysis of embryo development and implantation in assisted reproduction. *Human Reproduction*, 10(suppl_2), 91-97.
- Piña, F., Fleming, T., Pogliano, K., & Niwa, M. (2016). Reticulons regulate the ER inheritance block during ER stress. *Developmental Cell*, 37(3), 279-288. doi:10.1016/j.devcel.2016.03.025
- Pinkert, T. C., Catlow, C. E., & Straus, R. (1979). Endometriosis of the urinary bladder in a man with prostatic carcinoma. *Cancer*, 43(4), 1562-1567.
- Pollack, R., Gordon, P. H., Ferenczy, A., & Tulandi, T. (1990). Perineal endometriosis. A case report. *The Journal of Reproductive Medicine*, 35(2), 109-112.
- Porter, K. R., Claude, A., & Fullam, E. F. (1945). A study of tissue culture cells by electron microscopy. *Journal of Experimental Medicine*, 81(3), 233-246. doi:10.1084/jem.81.3.233
- Possover, M., & Chiantera, V. (2007). Isolated infiltrative endometriosis of the sciatic nerve: a report of three patients. *Fertility and Sterility*, 87(2), 417-e17.
- Prianishnikov, V. (1978). A functional model of the structure of the epithelium of normal, hyperplastic, and malignant human endometrium: A review. *Gynecologic Oncology*, 6(5), 420-428. doi:10.1016/0090-8258(78)90050-1
- Price, D. T., Maloney, K. E., Ibrahim, G. K., Cundiff, G. W., Leder, R. A., & Anderson, E. E. (1996). Vesical endometriosis: report of two cases and review of the literature. *Urology*, 48(4), 639-643.
- Qiao, J., Yeung, W. S., Yao, Y. Q., & Ho, P. C. (1998). The effects of follicular fluid from patients with different indications for IVF treatment on the binding of human spermatozoa to the zona pellucida. *Human reproduction (Oxford, England)*, 13(1), 128-131.
- Remorgida, V., Ferrero, S., Fulcheri, E., Ragni, N., & Martin, D. C. (2007). Bowel endometriosis: presentation, diagnosis, and treatment. *Obstetrical & gynecological survey*, 62(7), 461-470.
- Ripps, B. A., & Martin, D. C. (1992). Correlation of focal pelvic tenderness with implant dimension and stage of endometriosis. *The Journal of reproductive medicine*, 37(7), 620-624.
- Roberts, L. M., Redan, J., & Reich, H. (2003). Extraperitoneal endometriosis with catamenial pneumothoraces: a review of the literature. *JSLs: Journal of the Society of Laparoendoscopic Surgeons*, 7(4), 371.
- Ross, M. H., & Pawlina, W. (2011). *Histology: A text and atlas:with correlated cell and molecular biology*. Lippincott Williams & Wilkins.
- Ryan, I. P., Tseng, J. F., Schriock, E. D., Khorram, O., Landers, D. V., & Taylor, R. N. (1995). Interleukin-8 concentrations are elevated in peritoneal fluid of women with endometriosis. *Fertility and sterility*, 63(4), 929-932.
- Ryu, J. S., Song, E. S., Lee, K. H., Cho, J. H., Kwak, S. M., & Lee, H. L. (2007). Natural history and therapeutic implications of patients with catamenial hemoptysis. *Respiratory medicine*, 101(5), 1032-1036.
- Ryu, S., Bazer, F. W., Lim, W., Song, G. 2019. "Chrysin leads to cell death in endometriosis by regulation of endoplasmic reticulum stress and cytosolic calcium level". *Journal of Cellular Physiology*, 234 (3), 2480- 2490
- Sakabe, I., Hu, R., Jin, L., Clarke, R., & Kasid, U. N. (2015). TMEM33: A new stress-inducible endoplasmic Reticulum transmembrane protein and modulator of the unfolded protein response signaling. *Breast Cancer Research and Treatment*, 153(2), 285-297. doi:10.1007/s10549-015-3536-7

- Samimi, M., Pourhanifeh, M. H., Mehdizadehkashi, A., Eftekhari, T., & Asemi, Z. (2019). The role of inflammation, oxidative stress, angiogenesis, and apoptosis in the pathophysiology of endometriosis: Basic science and new insights based on gene expression. *Journal of Cellular Physiology*, 234(11), 19384-19392. doi:10.1002/jcp.28666
- Sampson, J. A. (1921). Perforating hemorrhagic (Chocolate) cysts of the ovary. *Archives of Surgery*, 3(2), 245. doi:10.1001/archsurg.1921.01110080003001
- Sampson, J. A. (1927). Peritoneal endometriosis due to the menstrual dissemination of endometrial tissue into the peritoneal cavity. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 14(4), 422-469. doi:10.1016/s0002-9378(15)30003-x
- Sampson, J. A. (1940). The development of the implantation theory for the origin of peritoneal endometriosis. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 40(4), 549-557. doi:10.1016/s0002-9378(40)91238-8
- Sanfilippo, J. S., Wakim, N. G., Schikler, K. N., & Yussman, M. A. (1986). Endometriosis in association with uterine anomaly. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 154(1), 39-43. doi:10.1016/0002-9378(86)90389-3
- Santamaria, X., Massasa, E. E., & Taylor, H. S. (2012). Migration of cells from experimental endometriosis to the uterine endometrium. *Endocrinology*, 153(11), 5566-5574. doi:10.1210/en.2012-1202
- Sasson, I. E., & Taylor, H. S. (2008). *Stem cells and the pathogenesis of Endometriosis*. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1127(1), 106-115. doi:10.1196/annals.1434.014
- Satyaswaroop, P. G., Wartell, D. J., & Mortel, R. (1982). Distribution of progesterone receptor, Estradiol Dehydrogenase, and 20 α -Dihydroprogesterone Dehydrogenase activities in human endometrial glands and Stroma: Progestin induction of steroid Dehydrogenase activities in vitro is restricted to the glandular epithelium*. *Endocrinology*, 111(3), 743-749. doi:10.1210/endo-111-3-743
- Sciame, C., Geraci, G., Pisello, F., Facella, T., & Modica, G. (2004). Intestinal endometriosis: an obscure cause of cyclic rectal bleeding. *Annali italiani di chirurgia*, 75(3), 379-84.
- Shi-Peng, G.; Chun-Lin, C.; Huan, W.; Fan-Liang, M.; Yong-Ning, C.; Ya-Di, Z.; Guang-Ping, Z.; Ye-Ping, C. TMED2 Promotes Epithelial Ovarian Cancer Growth. *Oncotarget* 2017, 8, 94151–94165.
- Simonyi, I.; Pataki, S.; Kalman, K.; Buda, L. (1975). Determination of the active ingredient content in Tavegil tablets. *Acta Pharm. Hung.* 45, 237–244.
- Slayden, O. D., & Brenner, R. M. (2006). A critical period of progesterone withdrawal precedes menstruation in macaques. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 4(S1). doi:10.1186/1477-7827-4-s1-s6
- Snell RS. (2013). *Klinik Anatomi*. (6. Baskı). Ankara. Nobel Tıp Kitapevleri
- Steck, W. D., & Helwig, E. B. (1966). Cutaneous endometriosis. *Clinical obstetrics and gynecology*, 9(2), 373-383.
- Steele, R. W., Dmowski, W., & Marmer, D. J. (1984). Immunologic aspects of human endometriosis. *American Journal of Reproductive Immunology*, 6(1), 33-36. doi:10.1111/j.1600-0897.1984.tb00106.x
- Stephani, M., Picchianti, L., Gajic, A., Beveridge, R., Skarwan, E., Sanchez de Medina Hernandez, V., Dagdas, Y. (2020). Author response: A c-kinome conserved ER-phagy receptor maintains endoplasmic Reticulum homeostasis during stress. doi:10.7554/elifesciences.58396.sa2
- Strathy, J. H., Molgaard, C. A., Coulam, C. B., & Melton, L. J. (1982). Endometriosis and infertility: A laparoscopic study of endometriosis among Fertile and infertile women. *Fertility and Sterility*, 38(6), 667-672. doi:10.1016/s0015-0282(16)46691-4

- Suzuki, T., Izumi, S. I., Matsubayashi, H., Awaji, H., Yoshikata, K., & Makino, T. (2005). Impact of ovarian endometrioma on oocytes and pregnancy outcome in in vitro fertilization. *Fertility and sterility*, 83(4), 908-913.
- Taylor, H. S. (2004). Endometrial cells derived from donor stem cells in bone marrow transplant recipients. *JAMA*, 292(1), 81. doi:10.1001/jama.292.1.81
- Taylor, R. N., Yu, J., Torres, P. B., Schickedanz, A. C., Park, J. K., Mueller, M. D., & Sidell, N. (2009). Mechanistic and therapeutic implications of angiogenesis in endometriosis. *Reproductive Sciences*, 16(2), 140-146. doi:10.1177/1933719108324893
- Telimaa, S., Kauppila, A., Rönnerberg, L., Suikkari, A. M., & Seppälä, M. (1989). Elevated serum levels of endometrial secretory protein PP14 in patients with advanced endometriosis: suppression by treatment with danazol and high-dose medroxyprogesterone acetate. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 161(4), 866-871.
- Tempest, N., Maclean, A., & Hapangama, D. (2018). Endometrial stem cell markers: Current concepts and unresolved questions. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(10), 3240. doi:10.3390/ijms19103240
- Tresserra, F., Grases, P., Ubeda, A., Pascual, M. A., Grases, P. J., & Labastida, R. (1999). Morphological changes in hysterectomies after endometrial ablation. *Human Reproduction*, 14(6), 1473-1477. doi:10.1093/humrep/14.6.1473
- Tseng, J. F. (1996). Interleukin-6 secretion in vitro is up-regulated in ectopic and eutopic endometrial stromal cells from women with endometriosis. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 81(3), 1118-1122. doi:10.1210/jc.81.3.1118
- Tsuji, S., Yoshimoto, M., Takahashi, K., Noda, Y., Nakahata, T., & Heike, T. (2008). Side population cells contribute to the genesis of human endometrium. *Fertility and Sterility*, 90(4), 1528-1537. doi:10.1016/j.fertnstert.2007.08.005
- Ueki, M. (1991). Histologic study of endometriosis and examination of lymphatic drainage in and from the uterus. *American journal of obstetrics and gynecology*, 165(1), 201-209.
- Valentijn, A., Palial, K., Al-lamee, H., Tempest, N., Drury, J., Von Zglinicki, T., ... Hapangama, D. (2013). SSEA-1 isolates human endometrial basal glandular epithelial cells: Phenotypic and functional characterization and implications in the pathogenesis of endometriosis. *Human Reproduction*, 28(10), 2695-2708. doi:10.1093/humrep/det285
- Van der Linden, P. J. (1996). Theories on the pathogenesis of endometriosis. *Human Reproduction*, 11(suppl 3), 53-65. doi:10.1093/humrep/11.suppl_3.53
- Van Langendonck, A., Casanas-Roux, F., & Donnez, J. (2002). Oxidative stress and peritoneal endometriosis. *Fertility and Sterility*, 77(5), 861-870. doi:10.1016/s0015-0282(02)02959-x
- Vercellini, P., Trespidi, L., De Giorgi, O., Cortesi, I., Parazzini, F., & Crosignani, P. G. (1996). Endometriosis and pelvic pain: relation to disease stage and localization. *Fertility and sterility*, 65(2), 299-304.
- Vercellini, P., Meschia, M., De Giorgi, O., Panazza, S., Cortesi, I., & Crosignani, P. G. (1996). Bladder detrusor endometriosis: clinical and pathogenetic implications. *The Journal of urology*, 155(1), 84-86.
- Vercellini, P., & Frontino, G. (2004). Asymmetric distribution of sciatic nerve endometriosis. *Obstetrics & Gynecology*, 103(2), 401.
- Verma, A. S., & FitzPatrick, D. R. (2007). Anophthalmia and microphthalmia. *Orphanet Journal of Rare Diseases*, 2(1). doi:10.1186/1750-1172-2-47

- Vernon, M. W., Beard, J. S., Graves, K., & Wilson, E. A. (1986). Classification of endometriotic implants by morphologic appearance and capacity to synthesize prostaglandin F. *Fertility and sterility*, 46(5), 801-806.
- Vetvicka, V., Laganà, A. S., Salmeri, F. M., Triolo, O., Palmara, V. I., Vitale, S. G., ... Králíčková, M. (2016). Regulation of apoptotic pathways during endometriosis: From the molecular basis to the future perspectives. *Archives of Gynecology and Obstetrics*, 294(5), 897-904. doi:10.1007/s00404-016-4195-6
- Vilos, G. A., Vilos, A. W., & Haebe, J. J. (2002). Laparoscopic findings, management, histopathology, and outcomes in 25 women with cyclic leg pain. *The Journal of the American Association of Gynecologic Laparoscopists*, 9(2), 145-151.
- Vinatier, D., Orazi, G., Cosson, M., & Dufour, P. (2001). Theories of endometriosis. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*, 96(1), 21-34.
- Waldeyer. (1870). Die epithelialen Eierstocksgeschwülste, insbesondere die Kystome. *Archiv für Gynäkologie*, 1(2), 252-316. doi:10.1007/bf01814007
- Waller, K. G., Lindsay, P., Curtis, P., & Shaw, R. W. (1993). The prevalence of endometriosis in women with infertile partners. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*, 48(2), 135-139. doi:10.1016/0028-2243(93)90254-a
- Wan, Q., Kuang, E., Dong, W., Zhou, S., Xu, H., Qi, Y., & Liu, Y. (2006). Reticulon 3 mediates bcl-2 accumulation in mitochondria in response to endoplasmic Reticulum stress. *Apoptosis*, 12(2), 319-328. doi:10.1007/s10495-006-0574-y
- Wang, G., Tokushige, N., Russell, P., Dubinovsky, S., Markham, R., & Fraser, I. S. (2009). Hyperinnervation in intestinal deep infiltrating endometriosis. *Journal of minimally invasive gynecology*, 16(6), 713-719.
- Wang, D., Abbasi, C., El-Rass, S., Li, J. Y., Dawood, F., Naito, K., ... Gramolini, A. O. (2014). Endoplasmic Reticulum resident protein 44 (ERp44) deficiency in mice and Zebrafish leads to cardiac developmental and functional defects. *Journal of the American Heart Association*, 3(5). doi:10.1161/jaha.114.001018
- Watanabe, M., Kamiyama, G., Yamazaki, K., Hiratsuka, K., Takata, M., Tsunoda, A., ... & Kusano, M. (2003). Anal endoscopy in the diagnosis and management of perianal endometriosis: report of a case. *Surgery today*, 33(8), 630-632.
- Wilson, T. J., Hertzog, P. J., Angus, D., Munnery, L., Wood, E. C., & Kola, I. (1994). Decreased natural killer cell activity in endometriosis patients: Relationship to disease pathogenesis. *Fertility and Sterility*, 62(5), 1086-1088. doi:10.1016/s0015-0282(16)57082-4
- Wischnitzer, S. (1974). The nuclear envelope: Its ultrastructure and functional significance. *Endeavour*, 33, 137-142
- Wolff, E. F., Gao, X., Yao, K. V., Andrews, Z. B., Du, H., Elsworth, J. D., & Taylor, H. S. (2011). Endometrial stem cell transplantation restores dopamine production in a Parkinson's disease model. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 15(4), 747-755. doi:10.1111/j.1582-4934.2010.01068.x
- Wu, Y., Strawn, E., Basir, Z., Halverson, G., & Guo, S. (2006). Promoter Hypermethylation of progesterone receptor Isoform B (PR-B) in endometriosis. *Epigenetics*, 1(2), 106-111. doi:10.4161/epi.1.2.2766
- Xiong, S., Chng, W., & Zhou, J. (2021). Crosstalk between endoplasmic Reticulum stress and oxidative stress: A Dynamic Duo in multiple myeloma. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 78(8), 3883-3906. doi:10.1007/s00018-021-03756-3
- Xu, S., Chan, R. W., Ng, E. H., & Yeung, W. S. (2017). Spatial and temporal characterization of endometrial mesenchymal stem-like cells activity during the menstrual cycle. *Experimental Cell Research*, 350(1), 184-189. doi:10.1016/j.yexcr.2016.11.020

- Yalcin, A., & Hotamisligil, G. S. (2013). Impact of ER protein homeostasis on metabolism. *Diabetes*, 62(3), 691-693. doi:10.2337/db12-1526
- Yang, H., Zhou, B., Prinz, M., & Siegel, D. (2012). Proteomic analysis of menstrual blood. *Molecular & Cellular Proteomics*, 11(10), 1024-1035. doi:10.1074/mcp.m112.018390
- Yang, Y., Pei, X., Jin, Y., Wang, Y., & Zhang, C. (2015). The roles of endoplasmic Reticulum stress response in female mammalian reproduction. *Cell and Tissue Research*, 363(3), 589-597. doi:10.1007/s00441-015-2212-x
- Zeitoun, K., Takayama, K., Sasano, H., Suzuki, T., Moghrabi, N., Andersson, S., ... Bulun, S. E. (1998). Deficient 17 β -Hydroxysteroid Dehydrogenase type 2 expression in endometriosis: Failure to metabolize 17 β -Estradiol¹. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 83(12), 4474-4480. doi:10.1210/jcem.83.12.5301
- Zhang, H., Niu, Y., Feng, J., Guo, H., Ye, X., & Cui, H. (2006). Use of proteomic analysis of endometriosis to identify different protein expression in patients with endometriosis versus normal controls. *Fertility and Sterility*, 86(2), 274-282.
- Zhu, L., Wong, F., & Lang, J. H. (2002). Perineal endometriosis after vaginal delivery - clinical experience with 10 patients. *The Australian and New Zealand Journal of Obstetrics and Gynaecology*, 42(5), 565-567. doi:10.1111/j.0004-8666.2002.548_12.x
- Zuk, P. A., Zhu, M., Ashjian, P., De Ugarte, D. A., Huang, J. I., Mizuno, H., Alfonso, Z. C., Fraser, J. K., Benhaim, P., Hedrick, M. H. 2002. Human adipose tissue is a source of multipotent stem cells. *Molecular Biology of the Cell*, 13, 4279-4295.

8. ÖZGEÇMİŞ

<u>Kişisel Bilgiler</u>	
Adı Soyadı	Selenay Hümeýra FURAT RENÇBER
Eğitim Bilgileri (Tarih Sırasına Göre)	2016-2022 (Doktora)- Kocaeli Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı 2014-2016 (Yüksek Lisans)- Kocaeli Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı 2012-2014 (Yüksek Lisans)- İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı 2008-2012 (Lisans)- Marmara Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü 2004-2008 (Lise)- Nişantaşı Nuri Akın Anadolu Lisesi
Mesleki Deneyim/İşyeri Bilgileri	Araştırma Görevlisi (2014- devam ediyor)
Yabancı Dil Bilgileri	İngilizce / YÖKDİL: 92,50
Üye Olduğu Mesleki / Sosyal Kuruluşlar	1. Türk Histoloji ve Embriyoloji Derneği 2. Türk Elektron Mikroskopi Derneği 3. European Societies of Microscopy 4. International Federation of Societies for Histochemistry and Cytochemistry
<u>Bilimsel Etkinlikler</u>	
Makaleler*	1. ERGEN, S. K., SUBAŞI, S., RENCBER, S. F. , DURUKSU, G., & YAZİR, Y. (2022). Evaluation Of Clinical And Histological Effects Of Kgf-2 And Ngf On Corneal Wound

(SCI, SSCI, AHCI indekslerine giren dergilerde yayınlanan makaleler)	Healing In An Experimental Alkali Burn Rabbit Model. <i>EXPERIMENTAL EYE RESEARCH</i>, 223, 109190. (SCI-Exp., Q1) 2. S. RAZVAN-VALENTIN, S. A. GULER, T. UTKAN, T. D. SAHİN, G. GACAR, Y. YAZIR, S. F. RENCBER, L. MİRCEA, B. CRISTIAN, P. BOGDAN & N. Z. UTKAN, Etanercept Prevents Endothelial Dysfunction in Cafeteria Diet-Fed Rats, <i>INTERNATIONAL JOURNAL OF ENVIRONMENTAL RESEARCH AND PUBLIC HEALTH</i>, 2022, 1660- 4601, 19, 4. (SCI-Exp., Q1) 3. G. BİÇAKLIOĞLU, D. PİRHAN, Y. YAZIR, G. DURUKSU, S. F. RENCBER & N. YUKSEL, Evaluation of nintedanib as a new postoperative antiscarring agent in experimental extraocular muscle surgery, <i>INTERNATIONAL JOURNAL OF OPHTHALMOLOGY</i>, 2022, 2222-3959, 15, 6, 914-923 (SCI-Exp., Q2) 4. O. FINDIK, Ö. BARIŞ, Y. YAZIR, M. YARDIMOĞLU YILMAZ, S. H. FURAT RENCBER, K. K. SARIHAN & A. TEKELİ KUNT, Changes in cardiac cells due to ticagrelor and enoxaparin in a rat ischemia/reperfusion model, <i>Revista da Associação Médica Brasileira</i>, 2021, 0104-4230, 67, 12, 1764-1770. (SCI-Exp., Q3) 5. E. KESİM, D. PİRHAN, M. YARDIMOĞLU YILMAZ, N. YÜKSEL, Y. YAZIR, G. BİÇAKLIOĞLU & S. H. FURAT RENCBER, Comparative Analysis of Matrix- Regenerating Agent and Corneal Cross-Linking in an Experimental Alkali Burn Rabbit Model, <i>CURRENT EYE RESEARCH</i>, 2021, 0271-3683 (SCI-Exp., Q1) 6. M. D. YENER, T. ÇOLAK, B. BAMAÇ, A. ÖZTÜRK, S. H. FURAT RENCBER & Y. YAZIR, Investigation of Hemodynamic Receptors of the Internal Carotid Artery Segments, <i>Artery Research</i>, 2021, 000000, 27. (SCI-Exp., Q3) 7. S. SAĞ, E. L. ELEMEN, K. MAŞRABACI, S. H. FURAT RENCBER, Y. SÖNMEZ, S. AYDIN, K. YANAR, E. SEKER & Y. YAZIR, Potential therapeutic effects of ethyl pyruvate in an experimental rat appendicitis model, <i>Journal of Pediatric Surgery</i>, 2021 (SCI-Exp., Q2) 8. E. ÖNDER TOKUÇ, N. YÜKSEL, S. H. FURAT RENCBER, A. ÖZTÜRK, G. DURUKSU, Y. YAZIR & R. E. ERGÜN, Protective effects of citicoline-containing eye drops against UVB-Induced corneal oxidative damage in a rat model,
---	--

EXPERIMENTAL EYE RESEARCH, 2021, 0014-4835, 208. (SCI-Exp., Q1)

9. P. YÜCE, H. HOŞGÖR, **S. H. FURAT RENÇBER** & Y. YAZIR, Effects of Intra-Articular Resveratrol Injections on Cartilage Destruction and Synovial Inflammation in Experimental Temporomandibular Joint Osteoarthritis, JOURNAL OF ORAL AND MAXILLOFACIAL SURGERY, 2020, 0278-2391 (SCI-Exp., Q1)

10. F. ORHAN, M. YARDIMOĞLU YILMAZ, Y. YAZIR, **S. H. FURAT RENÇBER**, K. K. SARIHAN & A. TEKELİ KUNT, Investigation of the protective effect of enoxaparin and ticagrelor pretreatment against ischemia-reperfusion injury in rat lung tissue, Revista da Associacao Medica Brasileira, 2019, -, 65, 9, 1193-1200. (SCI-Exp., Q3)

11. **S. F. RENCBER**, S. K. OZBEK, C. ERALDEMİR, Z. SEZER, T. KUM, S. CEYLAN & E. GUZEL, Effect of resveratrol and metformin on ovarian reserve and ultrastructure in PCOS: an experimental study, JOURNAL OF OVARIAN RESEARCH, 2018, 1757- 2215, 11. (SCI-Exp., Q1)

12. Y. YAZIR, T. DEMİRTAŞ ŞAHİN, **S. H. FURAT RENÇBER**, G. GACAR, Z. S. HALBUTOĞULLARI, T. UTKAN & F. ARICIOĞLU, Restorative effect of resveratrol on expression of endothelial and neuronal nitric oxide synthase in cavernous tissues of chronic unpredictable mild stress-exposed rats: an impact of inflammation, INTERNATIONAL JOURNAL OF IMPOTENCE RESEARCH, 2018, 0955-9930, 30, 6, 318-326. (SCI-Exp., Q2)

13. T. D. SAHİN, Y. YAZİR, T. UTKAN, G. GACAR, **S. F. RENCBER** & S. S. GOCMEZ, TNF- alpha antagonism with etanercept enhances penile NOS expression, cavernosal reactivity, and testosterone levels in aged rats, CANADIAN JOURNAL OF PHYSIOLOGY AND PHARMACOLOGY, 2018, 0008-4212, 96, 2, 200-207. (SCI-Exp., Q2)

14. S. SUBAŞI, O. ALTINTAS, M. YARDIMOĞLU, Y. YAZİR, S. KARAMAN, **S. F. RENCBER** & K. KAVRAM, Comparison of Collagen Cross-Linking and Amniotic Membrane Transplantation in an Experimental Alkali Burn Rabbit Model, CORNEA, 2017, 0277-3740, 36, 9, 1106-1115. (SCI-Exp., Q1)

15. S. KARAMAN, B. ÖZKAN, Y. YAZIR, M. YARDIMOĞLU YILMAZ, M. GÖK, **S. H. FURAT RENÇBER**, Ö. KARA, Ç. VURAL & S. K. EMEK, Comparison Of Hyperbaric Oxygen Versus Iloprost Treatment In An Experimental Rat Central Retinal Artery Occlusion Model,

	Graefe's Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology, 2016, 0721- 832X, 254, 11, 2209-2215. (SCI-Exp., Q1) 16. G. GÜVEN, B. A. GÜLTEKİN, G. ŞENOL, S. H. FURAT RENÇBER, S. ERSANLI & E. E. GÜZEL MEYDANLI, Histologic And Histomorphometric Comparison Of Bone Regeneration Between Bone Morphogenetic Protein 2 And Platelet Derived Growth Factor Bb In Experimental Groups, JOURNAL OF CRANIOFACIAL SURGERY, 2016, 1049-2275. (SCI-Exp., Q2) 17. O. FINDIK, A. T. KUNT, Y. YAZIR, M. YARDIMOĞLU YILMAZ, S. G. YILMAZ, S. H. FURAT RENÇBER, U. AYDIN, Ö. BARIŞ, C. BALCI & T. İŞBİR, Ticagrelor Attenuates Apoptosis Of Lung And Myocardial Cells Induced By Abdominal Aorta Ischemia Reperfusion, In Vivo (Athens, Greece), 2016, 0258-851X, 30, 3, 243-249. (SCI-Exp., Q3) 18. A. AYTEKİN, M.H. AYTEKİN, Y. YAZIR, K. KAVRAM, R. TAŞDEMİR, H.S. FURAT RENÇBER, M. YARDIMOĞLU YILMAZ. Metaphors of Medical School Students About Histology. Turkish Online Journal Of Educational Technology, cilt.14, ss.408-412, 2015 (AHCI)
Projeler	1. Endometriyoziste, Endometriyal Kök Hücrelerin Endoplazmik Retikulum (ER) Stresinin Araştırılması (TÜBİTAK, 321S003) 2. Endometriyozis Olgularında Endometriyal Kök Hücrelerin İmmünogold Yöntemle Elektron Mikroskopik İncelenmesi, (KOÜ BAP, 2021-devam ediyor) 3. <i>In vitro</i> Cisplatin uygulamasıyla oluşan böbrek hasarı üzerinde mezenkimal kök hücrelerin etkilerinin histolojik olarak araştırılması (KOÜ BAP, 2021) 4. Testis Dokusu ve Sperm Üzerinde Kemoterapinin (BEP Rejimi) Olumsuz Etkisine Karşı Melatonin'in Koruyuculuğunun Farklı Yöntemler Uygulanarak Araştırılması (KOÜ BAP, 2016/080) 5. H₂O₂ İle Oksidatif Hasar Oluşturulan ARPE-19 Hücrelerinde Resveratrol, Lutein Ve Krosetin'in Etkilerinin İncelenmesi, KOÜ BAP, 2022-devam ediyor)
Bildiriler	1. S. FURAT RENCBER, Z.E. UTKAN KORUN, A. OZTURK, Z. SEZER, M. SARIHAN, G. DURUKSU, G. AKPINAR, M. KASAP, A. CORAKCI, E. GUZEL MEYDANLI, Y. YAZIR. Endoplasmic Reticulum (ER) Stress of Endometrial Stem Cells in Endometriosis. Oral presentation. 16th International Congress of Histochemistry and Cytochemistry, 28-31 August 2022, Prague, Czech Republic

2. E. BASARAN, D. PİRHAN, Y. YAZIR, G. DURUKSU, **S. FURAT RENÇBER**, A. ÖZTÜRK, K. C. KILIÇ. Sıçanlarda Oksijenin İndüklediği Retinopati Modelinde Uygulanan İntravitreal Nintedanib ve Ranibizumabın Etkilerinin Histopatolojik ve İmmünohistokimyasal Olarak Değerlendirilmesi ve Real-Time PCR ile Western Blot Yöntemleri Kullanılarak İncelenmesi. Sözlü Sunum. 56. TOD Ulusal Kongresi. 2-6 Kasım 2022, Antalya.

3. M. D. YENER, T. ÇOLAK, B. BAMAÇ, A. ÖZTÜRK, **S. H. FURAT RENÇBER** & Y. YAZIR, Beyin ve sinus cavernosus hemodinamiği üzerine yeni bir görüş, Sözlü Sunum, 19.Ulusal Sinir Bilim Kongresi, 21 Kasım 2021, 23 Kasım 2021.

4. R. YÜKSEL, N. YÜKSEL, A. ÖZTÜRK, **S. H. FURAT RENÇBER** & Y. YAZIR, Tavşanlarda Uygulanan Deneysel Glokom Filtran Cerrahisi Sonrası Tirozin Kinaz İnhibitörü Nintedanib Uygulamasının Skar ve Fibrozis Oluşumu Üzerine Etkisinin Mitomisin-C ile Karşılaştırılmalı Olarak İncelenmesi, Sözlü Sunum, TOD 55. Ulusal Kongresi, 03 Kasım 2021, 07 Kasım 2021.

5. G. BIÇAKLIOĞLU, D. PİRHAN, Y. YAZIR, G. DURUKSU, **S. H. FURAT RENÇBER** & N. YÜKSEL, Tavşanlarda Deneysel Ekstraoküler Kas Cerrahisi Sonrası Tirozin Kinaz İnhibitörü Nintedanib Kullanımının Postoperatif İnflamasyon, Fibrozis ve Adezyon Gelişimi Üzerine Etkisinin Histopatolojik ve İmmünohistokimyasal Olarak Araştırılması, Sözlü Sunum, TOD 2020 Ulusal Kongresi ve Canlı Cerrahi Birleşik Toplantısı, 09 Aralık 2020, 13 Aralık 2020.

6. M. YARDIMOĞLU YILMAZ, S. AKBAL, S. KURNAZ ÖZBEK, **S. H. FURAT RENÇBER**, K. KAVRAM, E. ACAR & F. C. ERALDEMİR, Effects of Atorvastatin and Cinnamomum sp treatments on liver of Streptozotocin (STZ)-induced diabetic rat model: Histological and biochemical study, Sözlü Sunum, International Marmara Sciences Congress (Autumn) 2020, 04 Aralık 2020, 05 Aralık 2020.

7. **S. H. FURAT RENÇBER**, S. KURNAZ ÖZBEK, E. E. GÜZEL MEYDANLI, F. C. ERALDEMİR, Z. SEZER & F. S. CEYLAN, Effect Of Resveratrol And Metformin On Ovarian Reserve And Ultrastructure In Pcos: An Experimental Study, Poster Sunumu, Eshre 2018, 01 Temmuz 2018, 04 Temmuz 2018, 33.

8. Y. YAZIR, **S. H. FURAT RENÇBER**, M. YARDIMOĞLU YILMAZ, K. K. SARIHAN, O. FINDIK & A. T. KUNT, İskemi-reperfüzyon Hasarına Karşı Enoxaparin Ve Ticagrelor Tedavisinin Miyokardiyum Üzerindeki Koruyucu Etkilerinin İncelenmesi

(poster 109)., Poster Sunumu, 14. Ulusal Histoloji Ve Embriyoloji Kongresi., 10 Mayıs 2018, 13 Mayıs 2018, 13092375, 6, Supplement, 294 - 295.

9. Y. YAZIR, S. H. FURAT RENÇBER, M. YARDIMOĞLU YILMAZ, K. K. SARIHAN, O. FINDIK & A. T. KUNT, Investigation Of The Protective Effect On The Rat Lung Tissue Of Enoxaparin And Ticagrelor Pretreatment Against Ischemia-reperfusion Injury (eurasianbiochem 2018 Abstract Book), Sözlü Sunum, International Eurasian Conference Onbiological And Chemical Sciences, 26 Nisan 2018, 27 Nisan 2018, 541.

10. Y. YAZIR, G. GACAR, T. DEMİRTAŞ ŞAHİN, S. H. FURAT RENÇBER, S. S. GÖÇMEZ & T. UTKAN, Yaşlı Sçanlarda Resveratrolün Depresyon Benzeri Davranşlar Üzerindeki Etkileri, Sözlü Sunum, 24. Ulusal Farmakoloji Kongresi, 17 Ekim 2017, 21 Ekim 2017.

11. Y. YAZIR, G. GACAR, T. DEMİRTAŞ ŞAHİN, S. H. FURAT RENÇBER, S. S. GÖÇMEZ & T. UTKAN, Resveratrol Attenuates Neuroinflammation, Maintains Hippocampal Bdnf Levels And Alleviates Depressive-like Behavior In Aged Rats, Poster Sunumu, 30th European College Of Neuropsychopharmacology (ecnp) Congress, 02 Eylül 2017, 05 Eylül 2017.

12. Y. YAZIR, S. H. FURAT RENÇBER, M. YARDIMOĞLU YILMAZ, K. KAVRAM & G. ŞİRİN, Protective Effect Of Ticagrelor On Liver Damage Induced By Ischemia-reperfusion, Poster Sunumu, 15th International Congress Of Histochemistry And Cytochemistry, 18 Mayıs 2017, 21 Mayıs 2017.

13. Y. YAZIR, A. AYTEKİN, G. GACAR, S. H. FURAT RENÇBER, T. UTKAN & S. ÖNDER, Resveratrol Exhibits Antidepressant-like Behavior In The Rat Chronic Unpredictable Mild Stress Model Through Reducing Serum Corticosterone, Peripheral Inflammation And Neuroinflammation And Also Maintaining Hippocampal Bdnf Levels, Poster Sunumu, 15th International Congress Of Histochemistry And Cytochemistry, 18 Mayıs 2017, 21 Mayıs 2017.

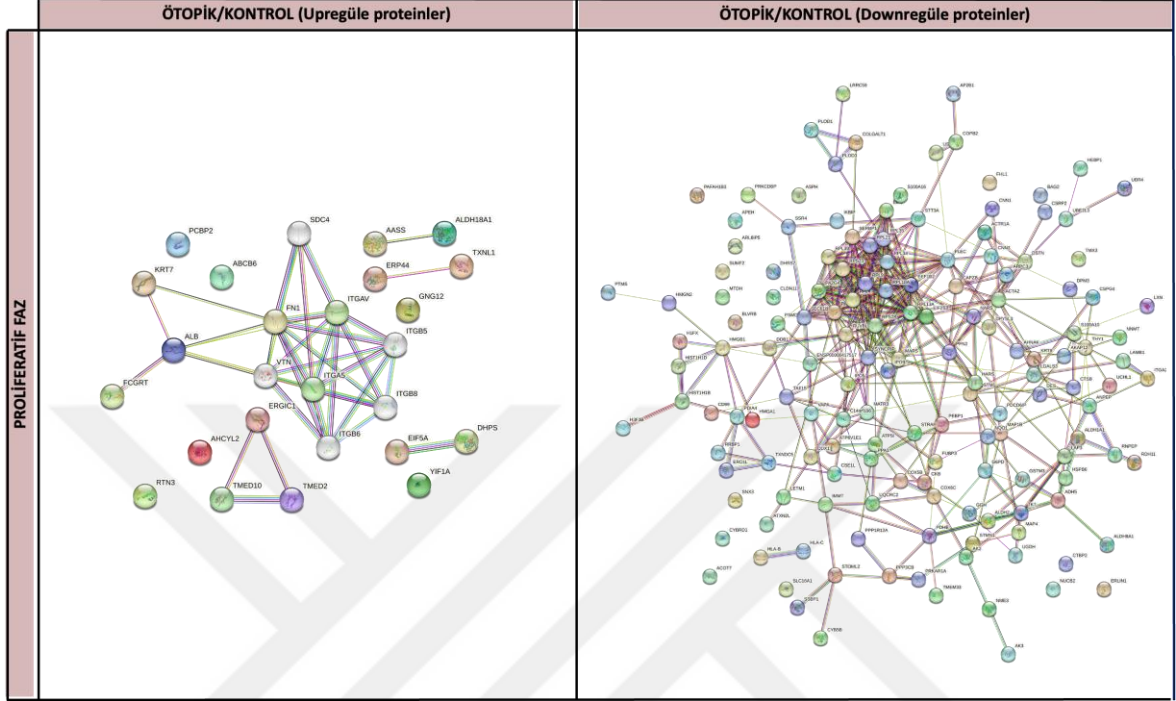
14. Y. YAZIR, M. KASAP, S. H. FURAT RENÇBER, Ö. ALTINTAŞ, M. YARDIMOĞLU YILMAZ, S. SUBAŞI, N. GÜZEL & S. KARAMAN, Deneysel Alkal Yank Modelinde Amnion Zar Transplantasyonu Ve Kollajen Crosslinking Tedavisinin Yara İyileşmesi Üzerine Etkisinin Karşılaştırılması Ve Proteomik Analizi, Poster Sunumu, Türk Oftalmoloji Kongresi 50.ulusal Kongresi, 09 Kasım 2016, 13 Kasım 2016.

	15. S. SUBAŞI, Ö. ALTINTAŞ, Y. YAZIR, M. YARDIMOĞLU YILMAZ & S. H. FURAT RENÇBER, The Comparison Of Early Amniotic Membrane Implantation And Collagen Cross Linking Treatment S Effect On Inflammation Neovascularization And Ulceration Mechanisms With Experimental Model Of Alkali Burn, Poster Sunumu, Xxxiv. European Society Of Cataract & Refractive Surgeons, 10 Eylül 2016, 14 Eylül 2016. 16. S. H. FURAT RENÇBER, Histologic And Histomorphometric Comparison Of Bone Regeneration Between Bone Morphogenetic Protein2 And Plateletderived Growth Factorbb In Guinea Pigs, Poster Sunumu, Emc 2016, 28 Ağustos 2016, 02 Eylül 2016. 17. Y. YAZIR, M. YARDIMOĞLU YILMAZ, S. H. FURAT RENÇBER, K. KAVRAM SARIHAN & A. TEKELİ KUNT, Ticagrelor Attenuates Apoptosis Of Lung And Myocardial Cells Induced By Abdominal Aorta Ischemia Reperfusion In A Rat Model, Sözlü Sunum, 12th International Congress Update In Cardiology And Cardiovascular Surgery. 18. S. H. FURAT RENÇBER, S. KARAMAN, Y. YAZIR & M. YARDIMOĞLU YILMAZ, Santral Retinal Arter Oklüzyon Modelinde Hiperbarik Oksijen Ve İloprost Etkinliğinin Kıyaslanması, Poster Sunumu, 13.ulusal Sinirbilim Kongresi, 30 Nisan 2015, 30 Nisan 2015, Issn1307-8798, 9, 62 - 62.
Ödüller	1. IFSHC Young Histochemist Award, 16th International Congress of Histochemistry and Cytochemistry, 2022, Prague. 2. En İyi Araştırma Ödülü Üçüncülüğü, TOD 56. Ulusal Kongresi, 2022, Antalya. 3. Prof. Dr. Türkan ERBENGİ En İyi Araştırma Ödülü Birinciliği, EMK 2019, Edirne. 4. En İyi Araştırma Ödülü İkinciliği, TOD 52. Ulusal Kongresi, 2018, Antalya. 5. En iyi sözlü sunum birinciliği, 12th International Congress Update in Cardiology And Cardiovascular Surgery, 2016, Antalya.
Atıf Sayısı	201

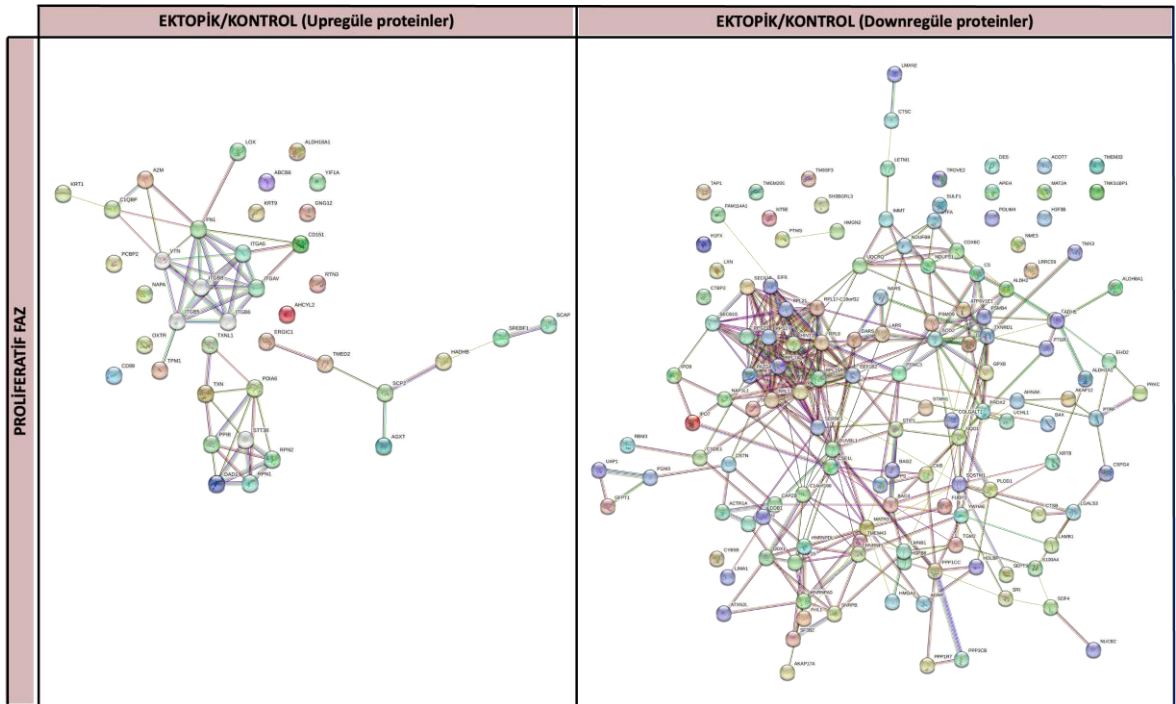
Kitap Bölümü	1. M. Sarper Kahveci, S. H. Furat Rençber & Y. Yazır, Kök Hücre, Egzersiz Fizyolojisi Ve Etik, Spor Bilimlerinde Etik Yaklaşımlar-2 (78-95), Isbn: 978-605-196-779-0: Çizgi Kitabevi, Kitapta Bölüm.
Burslar	1. TÜBİTAK 2211-A Genel Yurt İçi Doktora Burs Programı, Doktora bursiyeri
Sertifikalar ve Kurslar	1. KOÜ, Protein Araştırmaları ve Proteomik Kursu, 20 Mayıs 2021 2. KOÜ Tıp Fakültesi ‘Bilimsel Yayınlar İçin Kaynak Tarama ve Kaynak Düzenleme Kursu’ 3. Springer Nature Author Workshop, Kocaeli University, 13 Kasım 2018 4. LEICA EM Sample Preparation Of Biological Materials, 03-04 Mayıs 2018 5. KOÜ SBE Biyoinformatik Kursu, 9 Ocak 2018-20 Aralık 2018 6. 9.Cerrahi Araştırma Kongresi- Makale ve Tez Yazım Kursu 10 Kasım 2017 7. Doku Mühendisliğinde Biyobasım Çalıştay (Polimerik malzemeler Biyoseramik kompozitler Doku Özdeşleri) 2 Kasım 2016 8. XX. KÖK HÜCRE VE DOKU MÜHENDİSLİĞİ KURSU: Temel Kök Hücre Teknikleri ve Moleküler Biyoloji Uygulamaları 16-20 Kasım 2015 9. XX. KÖK HÜCRE VE DOKU MÜHENDİSLİĞİ KURSU: Kök Hücrede Uygulamalı Flow Sitometri Eğitimi 16- 20 Kasım 2015 10. Deney Hayvanları Kullanımı Sertifikası (B Kategorisi- Araştırmacılar) 4 Haziran 2015 11. KOÜ Tıp Fakültesi ‘Bilgisayarda Uygulamalı Biyoistatistik Kursu’ 06-08 Mayıs 2015 12. İstanbul Medipol Üniversitesi Nöron Kültürü Kursu 03-06 Şubat 2015 13. Istanbul University, Cell Culture and Protein Researches Course, 04-15 Mart 2013 14. Marmara Üniversitesi Pedagojik Formasyon Sertifika Programı 05 Temmuz 2012 15. İstanbul Memorial Hastanesi IVF Laboratuvarı stajı, Ağustos 2011 16. Amerikan Hastanesi IVF Laboratuvarı stajı, Şubat 2011 17. Marmara Üniversitesi SBF Kök Hücre Sempozyumu 05.03.2010 18. Amerikan Hastanesi Klinik Laboratuvar Bölümü stajı Ağustos 2009

EKLER

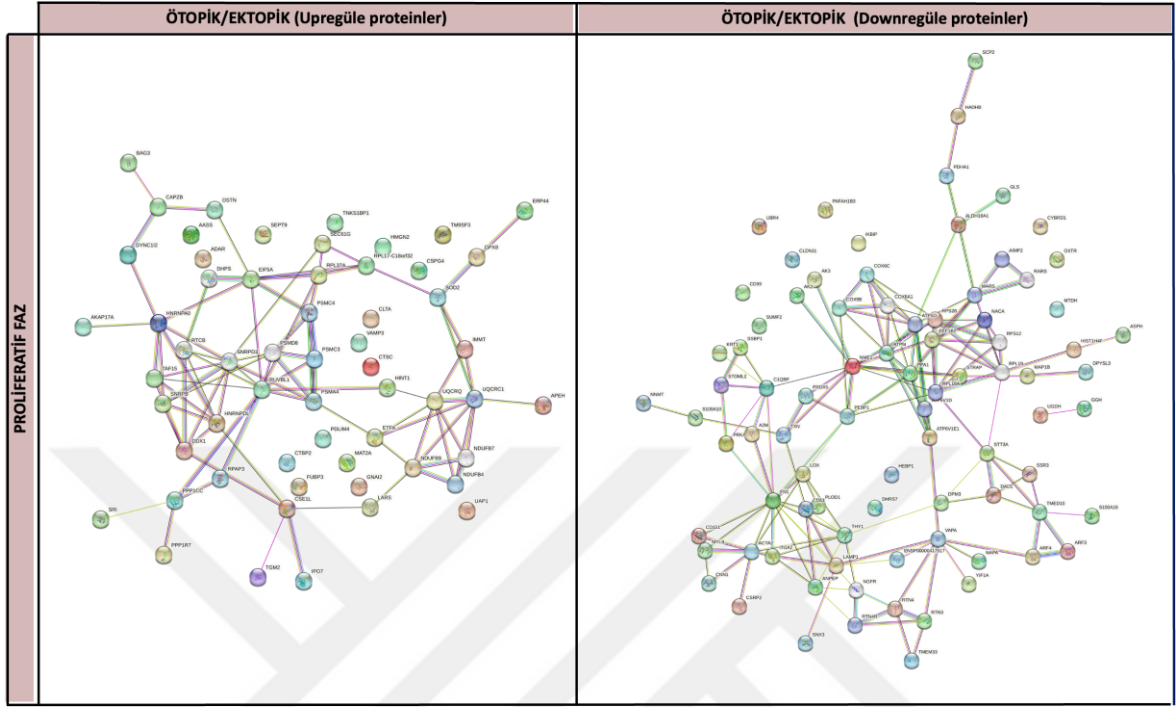
Ek 3.1. Proliferatif faza ait ötopik endometriyum grubunda kontrole göre upregüle ve downregüle olan proteinlerin string analizi



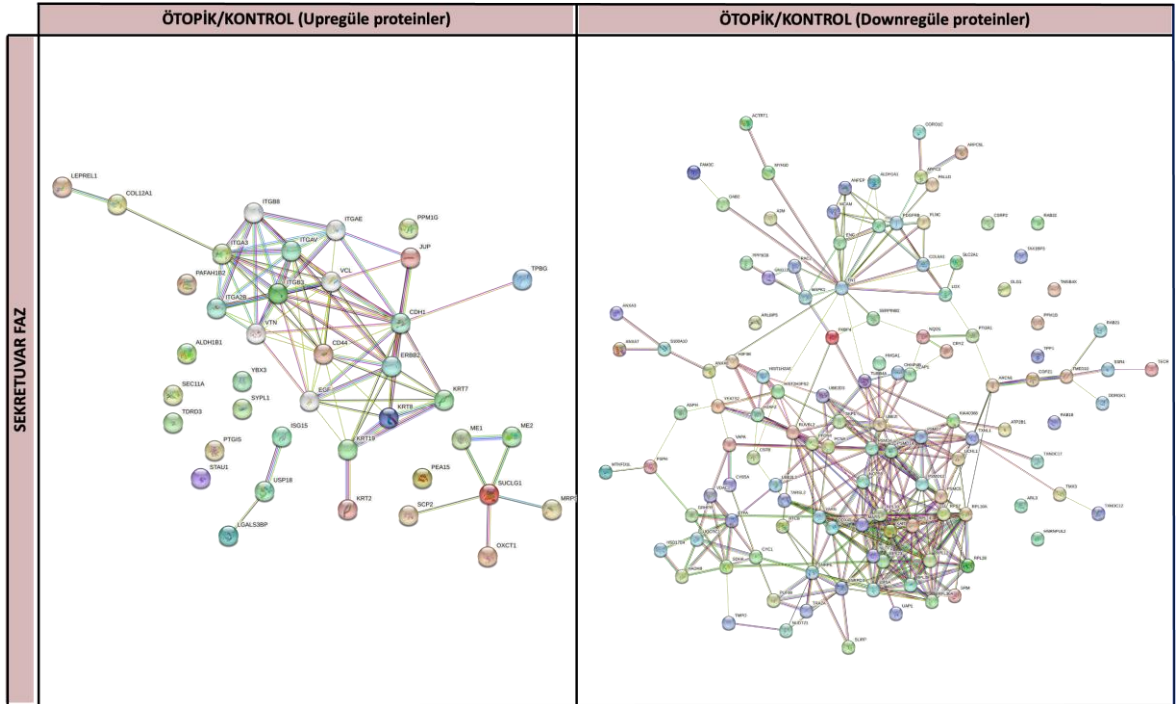
Ek 3.2. Proliferatif faza ait ektopik endometriyum grubunda kontrole göre upregüle ve downregüle olan proteinlerin string analizi



Ek 3.3. Proliferatif faza ait ötopik endometriyum grubunda ektopik gruba göre upregüle ve downregüle olan proteinlerin string analizi



Ek 3.4. Sekretuar faza ait ötopik endometriyum grubunda kontrole göre upregüle ve downregüle olan proteinlerin string analizi



Ek 3.7. nLC-MS/MS analizleri sonucunda proliferatif evreye ait kontrol, ötopik ve ektopik endometriyum gruplarında ER proteomu açısından artan ve azalan tüm proteinlerin listesi

Accession no	Protein Tanımı	Peptitler	Unique Peptitler	MS (Da)	Score	Sequast	HT	Protein Yoğunluk Oranı (Ötopik) / (Kontrol)	Protein Yoğunluk Oranı (Ötopik) / (Kontrol)	Protein Yoğunluk Oranı (Ötopik) / (Kontrol)
Q9W3P8	ATP-binding cassette sub family 8 member 4 OS-Homo sapiens GN-ABCB8 PE-1 SV-1	1	1	93.8	1.76			1000		2.335
Q9W3Z4	Endoplasmic reticulum resident protein 44 OS-Homo sapiens GN-ERP44 PE-1 SV-1	2	2	46.8	0			1000		0
P32341	Isabutylin translation initiation factor 3 A.1 OS-Homo sapiens GN-EIF3A PE-1 SV-2	2	2	16.8	0			1000		0
Q9W0N2	Adenylylthymidylate synthase 1 OS-Homo sapiens GN-ROSG GN-NCX2 PE-1 SV-1	1	1	66.7	0			1000		0.489
Q13363	Transmembrane emp24 domain containing protein 2 OS-Homo sapiens GN-ROSG GN-TMED2 PE-1 SV-1	1	1	22.7	0			1000		0.353
Q91397	Nectectin 3 OS-Homo sapiens GN-ROSG GN-NECT3 PE-1 SV-2	1	1	112.5	3.32			1000		0.17
P33956	Internal regulatory element binding protein 1 OS-Homo sapiens GN-ROSG GN-IRBP1 PE-1 SV-2	1	1	122.6	0			256,537	215,311	1.192
P04419	HLA class I histocompatibility antigen, B alpha chain OS-Homo sapiens GN-ROSG GN-HLA-B PE-1 SV-2	6	3	461.8	95.19			2,178	1,427	1.496
P07996	Thrombospondin 1 OS-Homo sapiens GN-ROSG GN-THBS1 PE-1 SV-2	6	6	120.3	15.03			2,198	1,194	1.86
Q9W0Z2	Neutral cholesteryl ester hydrolase 1 OS-Homo sapiens GN-ROSG GN-NCX3 PE-1 SV-1	8	3	45.8	0			2,082	0.847	2.244
Q15117	Membrane-associated progesterone receptor component 1 OS-Homo sapiens GN-ROSG GN-MPRC2 PE-1 SV-1	3	3	21.8	24.33			1,927	1,511	1.267
Q91883	Transmembrane emp24 domain containing protein 7 OS-Homo sapiens GN-ROSG GN-TMED7 PE-1 SV-2	1	1	25.2	1.95			1,907	0.51	3.438
Q15196	Nectin trafficking protein 3C23 OS-Homo sapiens GN-ROSG GN-NCX22B PE-1 SV-2	2	2	24.7	5.45			1,709	0.985	1.843
Q15460	Prolyl 4-hydroxylase subunit alpha 2 OS-Homo sapiens GN-ROSG GN-PAH2 PE-1 SV-1	7	7	60.9	12.06			1,515	0.523	3.118
Q90568	Extended synaptagmin 3 OS-Homo sapiens GN-ROSG GN-EXT3 PE-1 SV-1	4	4	122.8	3.53			1,376	2.583	0.553
Q91302	Prolyl 4-hydroxylase subunit beta OS-Homo sapiens GN-ROSG GN-PAH3 PE-1 SV-2	1	1	60	1.92			1,268	1.445	0.881
Q151269	Surfactant protein 4 OS-Homo sapiens GN-ROSG GN-SURF4 PE-1 SV-1	1	1	30.4	10.75			1,151	1.554	0.644
P12284	Prolyl 4-hydroxylase subunit alpha 1 OS-Homo sapiens GN-ROSG GN-PAH1 PE-1 SV-2	7	7	23.7	86.34			1,102	3,186	0.306
P14825	Endoplasmic reticulum protein 44 OS-Homo sapiens GN-ROSG GN-ERP44 PE-1 SV-1	38	38	32.1	859.19			1,088	0.27	3.965
P07327	Protein disulfide isomerase OS-Homo sapiens GN-ROSG GN-PDIH PE-1 SV-1	33	33	57.1	607.37			1,054	1,098	0.854
P04319	HLA class II histocompatibility antigen, DR alpha chain OS-Homo sapiens GN-ROSG GN-HLA-DR PE-1 SV-2	4	4	29.5	12.48			1,047	1,248	0.839
Q90570	Protein WFY4 OS-Homo sapiens GN-ROSG GN-WFY4 PE-1 SV-1	1	1	37	0			1,034	4.907	0.211
P13574	Prolyl 4-hydroxylase subunit alpha 1 OS-Homo sapiens GN-ROSG GN-PAH1 PE-1 SV-2	5	5	62	20.37			1,009	0.985	0.966
P12320	Non-related protein Rab 34 OS-Homo sapiens GN-ROSG GN-RAB34 PE-1 SV-1	5	4	22.1	108.3			1,002	1,509	0.665
P11201	Endoplasmic reticulum chaperone BiP OS-Homo sapiens GN-ROSG GN-HSPA5 PE-1 SV-2	37	37	72.3	798.86			0.952	0.955	0.955
Q40652	Calumenin OS-Homo sapiens GN-ROSG GN-CALU PE-1 SV-2	10	10	37.1	101.52			0.952	0.959	0.922
P63195	WPC inner-chain chaperone transporter 2 OS-Homo sapiens GN-ROSG GN-MPRC2 PE-1 SV-1	1	1	15.6	0			0.928	0.89	1.065
P27284	Calsequestrin OS-Homo sapiens GN-ROSG GN-CANX PE-1 SV-2	9	9	67.5	81.12			0.921	0.49	2.055
P16451	Endoplasmic reticulum protein 46 OS-Homo sapiens GN-ROSG GN-ERP46 PE-1 SV-1	5	3	15.1	12.05			0.886	0.841	1.059
P27797	Calreticulin OS-Homo sapiens GN-ROSG GN-CALR PE-1 SV-2	10	10	48.1	385.87			0.837	0.888	0.733
Q9W081	GTP-binding protein SAR1A OS-Homo sapiens GN-ROSG GN-SAR1A PE-1 SV-1	1	1	22.4	1.49			0.835	0.89	0.984
Q13162	Protein-disulfide isomerase 4 OS-Homo sapiens GN-ROSG GN-PDI4 PE-1 SV-1	6	6	30.5	77.42			0.823	1.134	0.701
Q14897	Neutral alpha-glucosidase A4 OS-Homo sapiens GN-ROSG GN-GLA4 PE-1 SV-1	23	23	106.8	104.32			0.782	0.489	1.586
P00387	NADH-cytochrome b5 reductase 3 OS-Homo sapiens GN-ROSG GN-NCYB3 PE-1 SV-2	7	7	34.2	62.31			0.769	3.684	0.269
Q15084	Protein disulfide isomerase A4 OS-Homo sapiens GN-ROSG GN-PDIH4 PE-1 SV-1	8	8	48.1	132.61			0.751	5.996	0.432
Q9W493	Prolyl 4-hydroxylase subunit alpha 1 OS-Homo sapiens GN-ROSG GN-PAH1 PE-1 SV-2	5	5	64.2	28.28			0.713	0.442	1.37
P15011	Protein-disulfide isomerase A1 OS-Homo sapiens GN-ROSG GN-PDIH1 PE-1 SV-1	20	20	54.7	104.7			0.707	2.548	0.373
Q9W055	Proteinoglycan galactose 4-epimerase 1 OS-Homo sapiens GN-ROSG GN-COLGA1 PE-1 SV-1	1	1	71.6	1.73			0.695	0.722	1.138
Q13728	Prolyl 3-hydroxylase 1 OS-Homo sapiens GN-ROSG GN-PRO3 PE-1 SV-2	2	2	83.3	8.99			0.689	0.701	0.956
Q9W015	Nectinectin 3 OS-Homo sapiens GN-ROSG GN-NECT3 PE-1 SV-1	6	3	121.5	31.51			0.687	0.396	1.901
P13813	Neurogranin OS-Homo sapiens GN-ROSG GN-NG2 PE-1 SV-2	4	4	42.2	16.08			0.686	0.38	1.441
P17302	Gap junction alpha 1 protein OS-Homo sapiens GN-ROSG GN-GJA1 PE-1 SV-2	1	1	43	0			0.672	2.831	0.218
P13172	Acyl coenzyme A-associated protein 31 OS-Homo sapiens GN-ROSG GN-ACAP31 PE-1 SV-1	4	4	24	0			0.655	0.85	0.765
Q14894	Serpin H1 OS-Homo sapiens GN-ROSG GN-SERP1H1 PE-1 SV-2	14	14	46.4	176.36			0.625	0.455	1.414
P13105	Non-related protein Rab 33 OS-Homo sapiens GN-ROSG GN-RAB33 PE-1 SV-1	10	10	23.5	89.69			0.611	0.537	1.009
Q9W011	Caprin-1 OS-Homo sapiens GN-ROSG GN-CAPN1 PE-1 SV-1	10	10	13.9	13.9			0.608	2.413	0.409
P01235	Non-related protein Rab 3 OS-Homo sapiens GN-ROSG GN-RAB3 PE-1 SV-1	21	21	33.5	21.22			0.605	0.77	0.951
P13040	Endoplasmic reticulum resident protein 28 OS-Homo sapiens GN-ROSG GN-ERP28 PE-1 SV-1	1	1	28.1	5.36			0.58	0.646	0.864
P15072	Transitional endoplasmic reticulum ATPase OS-Homo sapiens GN-ROSG GN-ERCP1 PE-1 SV-1	19	19	89.3	126.04			0.579	0.57	1.178
Q10068	Alacton 3 OS-Homo sapiens GN-ROSG GN-AL3 PE-1 SV-1	1	1	60.5	0			0.552	0.107	1.137
Q9W070	Nectin-associated membrane protein component 1 OS-Homo sapiens GN-ROSG GN-NMPC1 PE-1 SV-1	2	2	27.9	0			0.547	0.501	1.095
P00367	Gluconate dehydrogenase 1, mitochondrial OS-Homo sapiens GN-ROSG GN-GLUD1 PE-1 SV-2	5	5	61.4	10.46			0.56	0.19	3.214
P13114	Glutathione S-transferase 1 OS-Homo sapiens GN-ROSG GN-GST1 PE-1 SV-2	12	12	59.4	126.63			0.527	0.726	0.674
P04443	Glutathione S-transferase 1 OS-Homo sapiens GN-ROSG GN-GST1 PE-1 SV-2	12	12	59.4	126.63			0.527	0.726	0.674
Q15283	Nectinectin 3 OS-Homo sapiens GN-ROSG GN-NECT3 PE-1 SV-1	7	7	38.9	38.21			0.516	0.335	1.295
Q9W012	GDP guanine nucleotide phosphatase 1 OS-Homo sapiens GN-ROSG GN-GDP1 PE-1 SV-1	3	3	17.1	0			0.511	0.188	2.61
Q9W065	Transmembrane emp24 domain containing protein 9 OS-Homo sapiens GN-ROSG GN-TMED9 PE-1 SV-2	4	4	27.3	18.04			0.482	0.466	1.059
Q12107	Vinculin integrin alpha 2 OS-Homo sapiens GN-ROSG GN-VIN2 PE-1 SV-1	2	2	40.2	13.11			0.495	0.174	2.846
Q10064	Membrane-associated progesterone receptor component 1 OS-Homo sapiens GN-ROSG GN-MPRC1 PE-1 SV-1	3	3	21.8	3.49			0.485	0.413	1.165
P33956	Internal regulatory element binding protein 1 OS-Homo sapiens GN-ROSG GN-IRBP1 PE-1 SV-2	3	3	50.8	9.82			0.485	0.945	0.516
Q9W093	Transmembrane protein 149 OS-Homo sapiens GN-ROSG GN-TMED149 PE-1 SV-1	1	1	66.2	0			0.472	0.598	0.722
Q9W086	Protein canyax homolog 2 OS-Homo sapiens GN-ROSG GN-CANX2 PE-1 SV-1	1	1	20.5	1.47			0.465	0.317	1.465
P13236	Rap1 GTPase GTP dissociation inhibitor 1 OS-Homo sapiens GN-ROSG GN-RAP1GDI1 PE-1 SV-1	1	1	66.3	2.29			0.463	0.556	0.833
Q10046	Proteinoglycan 2, N-glycosyltransferase 5 OS-Homo sapiens GN-ROSG GN-NGT5 PE-1 SV-1	4	4	54.6	126.7			0.461	1.855	0.535
Q9W098	5'-3' nucleotidase P103 OS-Homo sapiens GN-ROSG GN-NTD103 PE-1 SV-1	1	1	54.7	0			0.45	0.574	0.784
Q9W098	Nucleoside diphosphate kinase 1 OS-Homo sapiens GN-ROSG GN-NDK1 PE-1 SV-1	1	1	108.8	8.73			0.441	0.102	4.493
P143307	Transmembrane protein subunit alpha 1 OS-Homo sapiens GN-ROSG GN-ERF1 PE-1 SV-1	2	2	23.7	0.437			0.479	0.478	1.001
Q151518	Antigenic peptide transporter 1 OS-Homo sapiens GN-ROSG GN-TAP1 PE-1 SV-2	1	1	89.9	1.97			0.424	0.192	1.544
P04444	Glutathione S-transferase 1 OS-Homo sapiens GN-ROSG GN-GST1 PE-1 SV-2	2	2	59.2	10.56			0.417	0.351	1.162
P00595	Protein transport protein SecE1 OS-Homo sapiens GN-ROSG GN-SEC1 PE-1 SV-1	1	1	2.3	0			0.001	0.395	0.251
P23854	H55 ribosomal protein 32S OS-Homo sapiens GN-ROSG GN-PRP32S PE-1 SV-1	2	2	13	7.83			0.378	0.378	0.895
P23857	H55 ribosomal protein 31S OS-Homo sapiens GN-ROSG GN-PRP31S PE-1 SV-1	2	2	12.6	2.36			0.376	0.376	0.895
F49755	Transmembrane emp24 domain containing protein 10 OS-Homo sapiens GN-ROSG GN-TMED10 PE-1 SV-2	6	6	25.6	10.45			0.371	0.371	0.935
P16435	NADPH-cytochrome P450 reductase OS-Homo sapiens GN-ROSG GN-POR PE-1 SV-1	1	1	76.6	5.97			0.368	0.206	1.354
P23266	H55 ribosomal protein 33A OS-Homo sapiens GN-ROSG GN-PRP33A PE-1 SV-1	2	2	15.8	18.367			0.367	0.367	0.935
Q101878	H55 ribosomal protein 16 OS-Homo sapiens GN-ROSG GN-PRP16 PE-1 SV-1	10	10	32.7	36.92			0.338	0.22	1.594
Q9W079	Protein transport protein SecE1 OS-Homo sapiens GN-ROSG GN-SEC1 PE-1 SV-1	2	2	132.9	8.13			0.329	0.552	0.638
Q15177	HLA class I histocompatibility antigen, B alpha chain OS-Homo sapiens GN-ROSG GN-HLA-B PE-1 SV-2	4	4	39.1	8.24			0.319	0.619	0.519
Q9W079	Protein transport protein SecE1 OS-Homo sapiens GN-ROSG GN-SEC1 PE-1 SV-1	2	2	132.9	8.13			0.329	0.552	0.638
Q15177	HLA class I histocompatibility antigen, B alpha chain OS-Homo sapiens GN-ROSG GN-HLA-B PE-1 SV-2	4	4	39.1	8.24			0.319	0.619	0.519
Q9W079	Protein transport protein SecE1 OS-Homo sapiens GN-ROSG GN-SEC1 PE-1 SV-1	2	2	132.9	8.13			0.329	0.552	0.638
Q15177	HLA class I histocompatibility antigen, B alpha chain OS-Homo sapiens GN-ROSG GN-HLA-B PE-1 SV-2	4	4	39.1	8.24			0.319	0.619	0.519
Q9W079	Protein transport protein SecE1 OS-Homo sapiens GN-ROSG GN-SEC1 PE-1 SV-1	2	2	132.9	8.13			0.329	0.552	0.638
Q15177	HLA class I histocompatibility antigen, B alpha chain OS-Homo sapiens GN-ROSG GN-HLA-B PE-1 SV-2	4	4	39.1	8.24			0.319	0.619	0.519
Q9W079	Protein transport protein SecE1 OS-Homo sapiens GN-ROSG GN-SEC1 PE-1 SV-1	2	2	132.9	8.13			0.329	0.552	0.638
Q15177	HLA class I histocompatibility antigen, B alpha chain OS-Homo sapiens GN-ROSG GN-HLA-B PE-1 SV-2	4	4	39.1	8.24			0.319	0.619	0.519
Q9W079	Protein transport protein SecE1 OS-Homo sapiens GN-ROSG GN-SEC1 PE-1 SV-1	2	2	132.9	8.13			0.329	0.552	0.638
Q15177	HLA class I histocompatibility antigen, B alpha chain OS-Homo sapiens GN-ROSG GN-HLA-B PE-1 SV-2	4	4	39.1	8.24			0.319	0.619	0.519
Q9W079	Protein transport protein SecE1 OS-Homo sapiens GN-ROSG GN-SEC1 PE-1 SV-1	2	2	132.9	8.13			0.329	0.552	0.638
Q15177	HLA class I histocompatibility antigen, B alpha chain OS-Homo sapiens GN-ROSG GN-HLA-B PE-1 SV-2	4	4	39.1	8.24			0.319	0.619	0.519
Q9W079	Protein transport protein SecE1 OS-Homo sapiens GN-ROSG GN-SEC1 PE-1 SV-1	2	2	132.9	8.13			0.329	0.552	0.638
Q15177	HLA class I histocompatibility antigen, B alpha chain OS-Homo sapiens GN-ROSG GN-HLA-B PE-1 SV-2	4	4	39.1	8.24			0.319	0.619	0.519
Q9W079	Protein transport protein SecE1 OS-Homo sapiens GN-ROSG GN-SEC1 PE-1 SV-1	2	2	132.9	8.13			0.329	0.552	0.638
Q15177	HLA class I histocompatibility antigen, B alpha chain OS-Homo sapiens GN-ROSG GN-HLA-B PE-1 SV-2	4	4	39.1	8.24			0.319	0.619	0.519
Q9W079	Protein transport protein SecE1 OS-Homo sapiens GN-ROSG GN-SEC1 PE-1 SV-1	2	2	132.9	8.13			0.329	0.552	0.638
Q15177	HLA class I histocompatibility antigen, B alpha chain OS-Homo sapiens GN-ROSG GN-HLA-B PE-1 SV-2	4	4	39.1	8.24			0.319	0.619	0.519
Q9W079	Protein transport protein SecE1 OS-Homo sapiens GN-ROSG GN-SEC1 PE-1 SV-1	2	2	132.9	8.13			0.329	0.552	0.638
Q15177	HLA class I histocompatibility antigen, B alpha chain OS-Homo sapiens GN-ROSG GN-HLA-B PE-1 SV-2	4	4	39.1	8.24			0.319	0.619	0.519
Q9W079	Protein transport protein SecE1 OS-Homo sapiens GN-ROSG GN-SEC1 PE-1 SV-1	2	2	132.9	8.13			0.329	0.552	0.638
Q15177	HLA class I histocompatibility antigen, B alpha chain OS-Homo sapiens GN-ROSG GN-HLA-B PE-1 SV-2	4	4	39.1	8.24			0.319	0.619	0.519
Q9W079	Protein transport protein SecE1 OS-Homo sapiens GN-ROSG GN-SEC1 PE-1 SV-1	2	2	132.9	8.13			0.329	0.552	0.638
Q15177	HLA class I histocompatibility antigen, B alpha chain OS-Homo sapiens GN-ROSG GN-HLA-B PE-1 SV-2	4	4	39.1	8.24			0.319	0.619	0.519
Q9W079	Protein transport protein SecE1 OS-Homo sapiens GN-ROSG GN-SEC1 PE-1 SV-1	2	2	132.9	8.13			0.329	0.552	0.638
Q15177	HLA class I histocompatibility antigen, B alpha chain OS-Homo sapiens GN-ROSG GN-HLA-B PE-1 SV-									

[illegible]