



T.C.
SİVAS CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**İNSAN ENDOMETRİOZİS DOKUSUNDA NÜKLEER FAKTÖR KAPPA B
YOLAĞI VE BCL-2 ETKİLEŞİMİNİN OLASI ROLÜ: MORFOMETRİK VE
HİSTOLOJİK BİR ÇALIŞMA**

Tuğba DAĞDEVİREN

0000-0003-3616-1183

TIBBİ HİSTOLOJİ EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI

DOKTORA TEZİ

SİVAS
MART-2024

T.C.
SİVAS CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

İNSAN ENDOMETRİOZİS DOKUSUNDA NÜKLEER FAKTÖR KAPPA B
YOLAĞI VE BCL-2 ETKİLEŞİMİNİN OLASI ROLÜ: MORFOMETRİK VE
HİSTOLOJİK BİR ÇALIŞMA

Tuğba DAĞDEVİREN

DOKTORA TEZİ
TIBBİ HİSTOLOJİ ve EMBRİYOLOJİ ANA BİLİM DALI

TEZ DANIŞMANI
PROF. DR. CELAL KALOĞLU

SİVAS-2024

KABUL ONAY

“İnsan Endometriozis Dokusunda Nükleer Faktör Kappa B Yolağı ve Bcl-2 Etkileşiminin Olası Rolü: Morfometrik ve Histolojik Bir Çalışma ” adlı Doktora Tezi, Cumhuriyet Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Lisansüstü Tez Yazım Kılavuzuna uygun olarak hazırlanmış ve jürimiz tarafından Cumhuriyet Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü **Tıbbi Histoloji Embriyoloji** Ana Bilim Dalında **Doktora** tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan (Danışman) Prof. Dr. Celal KALOĞLU

Üye Prof. Dr. Meltem KURUŞ

Üye Prof. Dr. M. Aydın KETANİ

Üye Prof. Dr. Muhittin SÖNMEZ

Üye Doç. Dr. Z. Deniz ŞAHİN İNAN

ONAY

Bu tez çalışması, ... tarihinde Enstitü Yönetim Kurulu tarafından belirlenen ve yukarıda imzaları bulunan jüri üyeleri tarafından kabul edilmiştir.

Prof. Dr. ÖZLEM PELİN CAN

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRÜ

Bu tez, Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Senatosu'nun 2023 tarihli ve 2/9 sayılı kararı ile kabul edilen Sağlık Bilimleri Enstitüsü Lisansüstü Tez Yazım Kılavuzuna göre hazırlanmıştır.

Bu çalışma (T-2022-968), CÜBAP tarafından desteklenmiştir.

İTHAF

Bugünlere gelmemde en çok emeği olan canımdan çok sevdiğim rol modelim canım babam ve çok sevdiğim canım anneme...

ÖZET

İNSAN ENDOMETRİOZİS DOKUSUNDA NÜKLEER FAKTÖR KAPPA B YOLAĞI VE BCL-2 ETKİLEŞİMİNİN OLASI ROLÜ: MORFOMETRİK VE HİSTOLOJİK BİR ÇALIŞMA

Tuğba Dağdeviren

Tıbbi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Celal KALOĞLU

2024, xx+187 Sayfa

Endometriozis, endometriyal dokunun uterus dışı yerleşimi sonucunda gelişen ve kronik inflamasyonla seyreden patolojik bir hastalık olup, etiyolojisi halen belirsizliğini korumaktadır. Endometriozisli ektopik implantlarda, inflamatuvar yanıtların düzenleyicisi olan NF- κ B sinyal yolunun aşırı aktif olduğu ve hücrel transkripsiyonu düzenleyen genler olduğu bilinmektedir. Apoptoz, endometriumda kanıtlanmış ve anti-apoptotik gen olan Bcl-2 proteini, apoptotik sürecin kontrolünde endometrial stromal hücrelerin (ESH) hayatta kalmasına katkıda bulunarak endometriozisin patofizyolojisinde önemli bir rol oynamaktadır.

ESH'lerin farklı davranışının endometriozisin patogenezi üzerinde kilit bir rol oynadığı düşünülmektedir. Bu öngörü doğrultusunda gerçekleştirilen çalışmada, proliferatif dönem endometriozisli hastaların ESH'lerin invazivlik, hücrel transkripsiyonla ilişkili proliferatif kapasite ve artmış apoptozun sağlıklı endometriumdan farklı olduğunu göstermek amaçlanmıştır.

Bugüne kadar yapılan çalışmalarda, NF- κ B p65'in ve apoptozun endometriozis sürecini nasıl etkilediği tam anlamıyla açıklanamamıştır. Bu çalışmada, proliferatif dönem endometriozisli endometrium dokusunda NF- κ B p65'in, ESH'lerin hücrel transkripsiyon yoluyla endometrial dokunun ektopik implantasyonunu kolaylaştırabileceği ve angionezezi tetikleyebileceği hipotezi sorgulanmıştır. NF- κ B p65 ve Bcl-2 aktivasyon derecesinin, ESH'ler açısından ektopik implantların oluşumundaki rolünü belirleyebilmek için, ötopik endometrial stromal hücrelerin (öESH) ve ektopik endometrial stromal hücrelerin (eESH) aktivitesi ile kontrol endometrial stromal hücrelerin (kESH) aktivitesi karşılaştırılmış ve hücrel transkripsiyon potansiyeli ile apoptoz arasındaki ilişkiler analiz edilmiştir. Ektopik implantların oluşum sürecinde

gerçekleşen anjiyogenezin ekspresyon düzeyi ile NF- κ B p65 ve Bcl-2 molekülleri arasındaki ilişkileri de gösterilmiştir.

Endometriozisin tanımlanmasında, histopatolojik kriterlerin dışında endometriozisli ektopik ve ötopik dokunun morfometrik özellikleri de kullanılmaktadır. Bu kapsamda, proliferatif dönemdeki endometriozisli dokuya ait ektopik lezyonların stromal vaskülarizasyon yoğunluğu, matriks, ESH'ler ile normal endometrium dokusu arasındaki morfometrik hacim fraksiyonu, hastalığın morfolojik özellikleri ile ilgili detaylı kantitatif bilgiler edinmeyi sağlayarak, endometriozisli dokunun anjiyogenez ve ESH farklılığı açısından ayırıcı tanıda menstrual safhanın belirleyici bir faktör olup olmadığı değerlendirilmiştir. Proliferatif dönem endometriozisi üzerine yapılan sınırlı sayıdaki morfometrik araştırmalar arasında yer alan bu çalışmanın sonuçlarının, endometriozisi karakterize eden morfolojik ve histolojik anormalliklerin elde edilmesi ve sürecin kontrol edilmesine yardımcı olabileceği düşünülmektedir.

Çalışma, Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı ve Tıbbi Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı'nda gerçekleştirilmiştir. 18-45 yaşları arasında, düzenli adet döngüleri bulunan, kist çapı 30 mm'den büyük 25 hasta çalışmaya dahil edilmiştir. Çalışmanın ilk grubu endometriozis mevcut ektopik ve ötopik (n= 9) hasta kadınlardan, ikinci grubu oluşturan kontrol bireyleri ise (n=16) sağlıklı kadınlardan seçilmiştir. Proliferatif dönemde biyopsi sonrasında alınan endometrial doku örnekleri, rutin histolojik preparasyon sürecinin ardından parafine gömülmüştür. Parafin bloklardan alınan kesitlere Bcl-2 ve NF- κ B p65 antikorları uygulanarak, immunfloresan işaretleme yapılmıştır. Aynı doku grupları JB-4 için plastik gömme materyaline gömülmüş ve bloklardan alınan kesitlere Toluidin Blue-Asit Fuksin boyaması yapılmıştır. Elde edilen görüntüler üzerinden, kontrol ve endometriozis grupları arasındaki morfolojik farklılıklar, hacim fraksiyon analizi ile tespit edilmiştir. Gruplar arasındaki farklılıklar istatistiksel olarak değerlendirilmiştir.

Mevcut çalışmadan alınan örneklerin immünfloresan analizlerinde, öESH gruplarında tüm antikorlar, ektopik grupta ise kan damarları en güçlü limmunokalizasyona sahiptir. Endometriozisli hastaların öESH'leri invazivlik, artmış apoptoz ve proliferatif kapasite açısından, ektopik gruptan farklılık göstermiştir. Bcl-2 ve NF- κ B p65 moleküllerinin her ikisi de öESH'lerde güçlü immunlokalizasyon göstermiştir. Bcl-2'nin kontrol ve ötopik grubu glandüler epitel hücrelerinde çok güçlü,

öESH’lerde ise güçlü lokalizasyonu ektopik endometriumun eESH’lerine kıyasla çok yüksek immunlokalize olduğu belirlenmiştir. NF-κB p65’ de öESH’lerde çok güçlü glandüler epitel hücrelerinde güçlü lokalize iken, eESH’lerde ise ekspresyonun yüksek olduğu gösterilmiştir. Her iki antikor için dikkat çekici olan, ektopik dokuda kan damarlarının boyanma derecesinin tüm gruplara oranla, en güçlü immunlokalizasyona sahip olmasıdır. Bu durum ektopik lezyonların geniş ve güçlü bir anjiyogenez potansiyeline sahip olduğunu kanıtlamaktadır.

Morfometrik analizlerde, ektopik dokunun anjiyogenez ve ötopik dokunun bez mimarisi, menstrual siklusun proliferatif fazı ile ilişkili endometriozi, morfolojik olarak gösterilmiştir. Kan damarları ve stromanın ektopik, ötopik ve kontrol grupları arasında farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptanmıştır. Endometrial stromal hücreler ve matriks bakımından tüm gruplar karşılaştırıldığında, farklılığın önemli olduğu belirlenmiştir.

Sonuç olarak, Bcl-2 endometriozi patogenezinde, anjiyogenezin etkin bir rolü olduğunu ve öESH’lerin proliferatif davranışlar sergileyerek, ektopik lokasyonlarda anormal hayatta kalmalarına katkıda bulunduğunu eESH’lerin ise hücre ölümüne karşı durduğunu, NF-κB p65’in artan aktivasyon paterninin, ektopik implantların meydana gelmesi için hücre transaktivasyonu başlattığı ve anjiyogenezde etkin bir rol aldığı belirlenmiştir. Bcl-2 ve NF-κB p65 hücre çoğalmasının, göçünün ve yapışmasının desteklenmesi için endometriozi patogenezinin çeşitli yönlerinde rol oynadığı bir gerçektir. NF-κB ve Bcl-2’nin inhibe edilmesi hücre transkripsiyon, invazyon, anjiyogenez ve proliferasyon gibi endometriozi gelişiminde yer alan farklı hücre fonksiyonlarını etkileyerek, endometriozi için tanısal belirteçler veya terapötik hedefler için potansiyel adaylar olabileceği düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Endometriozi, Apoptoz, Morfometri, NF-κB Sinyal Yolu, Bcl-2, NF-κB / p65, Hücre Transkripsiyonu, Proliferatif Faz

ABSTRACT

POSSIBLE ROLE of NUCLEAR FACTOR KAPPA B PATHWAY and BCL-2 INTERACTION in HUMAN ENDOMETRIOZIS TISSUE: A MORPHOMETRIC and HISTOLOGICAL STUDY

Tuğba DAĞDEVİREN

Histology and Embryology Department

Advisor: Prof. Dr. Celal KALOĞLU

2024, xx+187 Pages

Endometriosis is a pathological disease that develops as a result of the extrauterine location of the endometrial tissue and progresses with chronic inflammation, and its etiology remains unclear. In ectopic implants with endometriosis, it is known that the NF- κ B signaling pathway, which is the regulator of inflammatory responses, is overactive and there are genes that regulate cellular transcription. Apoptosis plays an important role in the pathophysiology of endometriosis by contributing to the survival of endometrial stromal cells (ESC) in the control of the apoptotic process.

The different behavior of ESCs is thought to play a key role in the pathogenesis of endometriosis. In the study conducted in line with this prediction, it was aimed to show that the ESCs of patients with proliferative period endometriosis differed from the healthy endometrium in invasiveness, proliferative capacity associated with cellular transcription, and increased apoptosis.

Studies have not fully explained how NF- κ B p65 and apoptosis affect the endometriosis process. In this study, the hypothesis that NF- κ B p65 can facilitate ectopic implantation of endometrial tissue through cellular transcription of ESCs and trigger angiogenesis in proliferative period endometriosis was questioned. In order to determine the role of NF- κ B p65 and Bcl-2 activation degree in the formation of ectopic implants in terms of ESCs, eutopic endometrial stromal cells (EuESC) and ectopic endometrial cells (EESC) activity and control endometrial stromal cells (CESC) activity were compared and the relationships between cellular transcription potential and apoptosis were analyzed. The relationship between the expression level of angiogenesis in the formation process of ectopic implants and NF- κ B p65 and Bcl-2 molecules has also been demonstrated.

In the definition of endometriosis, morphometric properties of ectopic and eutopic tissue with endometriosis are also used in addition to histopathological characters. In this context, it was evaluated whether the menstrual phase was a determining factor in the diagnosis of endometriosis in terms of angiogenesis and ESC difference of the endometriotic tissue by enabling us to obtain detailed quantitative information about the density of stromal vascularization of ectopic lesions of endometriotic tissue in the proliferative period, the morphometric volume fraction between matrix, ESCs and normal endometrial tissue, and the morphological characteristics of the disease. The results of this study, which is among the limited number of morphometric studies on proliferative period endometriosis, are thought to help control the processes of obtaining and maintaining morphological and histological abnormalities that characterize endometriosis.

The study was carried out in Sivas Cumhuriyet University, Faculty of Medicine, Department of Obstetrics and Gynecology and Department of Medical Histology-Embryology. 25 patients aged 18-45 years with regular menstrual cycles and a cyst diameter greater than 30 mm were included in the study. The first group of the study was selected from ectopic and eutopic (n= 9) patients with endometriosis, and the control individuals (n=16) constituting the second group were selected from healthy women. Endometrial tissue samples taken after biopsy in the proliferative period were embedded in paraffin after the routine histological preparation process. Immunofluorescence marking was performed by applying Bcl-2 and NF- κ B p65 antibodies to the sections taken from paraffin blocks. The same tissue groups were embedded in plastic embedding material for JB-4 and Toluidine Blue-Acid Fuchsin staining was applied to the sections taken from the blocks. Through the images obtained, the morphological differences between the control and endometriosis groups were determined by volume fraction analysis. The differences between the groups were evaluated statistically.

In the immunofluorescence analyses of the samples taken in the results of the current study, EuESCs for all antibodies and blood vessels for ectopic implants have the strongest localization. Eutopic endometrial stromal cells of patients with endometriosis differed in terms of invasiveness, increased apoptosis and proliferative capacity. Both Bcl-2 and NF- κ B p65 molecules showed strong expression in EuESC. Very strong expression of Bcl-2 in glandular epithelial cells and strong expression in EuESCs were

found to be very high compared to EESCs of the ectopic endometrium, and control endometrial tissue had similar expression to EuESCs in CESC and glandular epithelial cells. In NF- κ B p65, strong localization was determined in very strong glandular epithelial cells in EuESCs, while expression was shown to be high in EESCs. What is noteworthy for both antibodies is that the degree of expression of ectopic tissue blood vessels has the strongest immunolocalization compared to all groups. This proves that ectopic lesions have a wide and strong angiogenesis potential.

In morphometric analyses, angiogenesis of ectopic tissue and gland architecture of eutopic tissue, endometriosis associated with the proliferative phase of the menstrual cycle, have been morphologically demonstrated. The difference between the ectopic, eutopic and control groups in terms of blood vessels and stroma was found to be statistically significant. When all groups were compared in terms of endometrial stromal cells and matrix, the difference was found to be significant.

As a result, it was determined that angiogenesis has an active role in the pathogenesis of Bcl-2 endometriosis and that EuESCs exhibit invasive and proliferative behaviors, contributing to their abnormal survival in ectopic locations, and that the increased cyclic activation pattern of NF- κ B p65, cellular transactivation of angiogenesis as a mediator for the occurrence of ectopic implants, is performed by NF- κ B. It is also a fact that Bcl-2 and NF- κ B p65 play a role in various aspects of endometriosis pathogenesis to support cell proliferation, migration and adhesion. Inhibition of NF- κ B and Bcl-2 is thought to be potential candidates for diagnostic markers or therapeutic targets for endometriosis by affecting different cell functions involved in the development of endometriosis, such as cellular transcription, invasion, angiogenesis, and proliferation.

Keywords: Endometriosis, Apoptosis, Morphometry, NF- κ B Signaling Pathway, Bcl-2, NF- κ B/ p65, Cell Transcription, Proliferative Phase.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
İTHAF.....	i
TEŞEKKÜR.....	ii
ÖZET.....	iii
ABSTRACT.....	vi
İÇİNDEKİLER.....	ix
TABLolar DİZİNİ.....	xiii
GRAFİKLER DİZİNİ.....	xiv
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xv
RESİMLER LİSTESİ.....	xvii
KISALTMALAR.....	xviii
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	5
2.1. Uterusun Morfolojik, Anatomik ve Histolojik Özellikleri.....	5
2.1.1. Endometrium.....	6
2.1.2. Menstrüel Siklus.....	7
2.1.3. Menstrüel Faz (1-4. Günler).....	8
2.1.3.1. Proliferatif (Foliküler) Faz (4-15. Günler).....	9
2.1.3.2. Sekretuar (Luteal) Faz (14-27. Günler).....	10
2.2. Endometriozis.....	12
2.3. Endometriozis Patolojisi.....	15
2.4. Endometrioziste Mikroskopik Görüntü.....	16
2.5. Endometriozis Histogenezi ile İlgili Teoriler.....	17
2.5.1. Retrograd Menstruasyon Teorisi (Sampson Teorisi).....	17
2.5.2. Çölomik Metaplazi Teorisi.....	17
2.5.3. Vasküler ve Lenfatik Yayılım Teorisi.....	18
2.5.4. Direk İnvazyon Teorisi.....	18
2.5.5. Endometriotik Hastalık Teorisi.....	18
2.5.6. Genetik Faktör.....	19
2.5.7. Kök Hücre Teorisi.....	19
2.6. Endometriozis Epidemiyolojisi.....	19
2.7. Endometriozisin Gelişimini Etkileyen Risk Faktörleri.....	19

2.8. Endometriozisin Sınıflandırılması	20
2.9. Endometriozis Histolojisi.....	21
2.10. Endometriozisin Lokalizasyonu.....	22
2.10.1 Pelvik Endometriozis	22
2.10.2.Derin endometriozis	24
2.10.3. Ekstrapelvik Endometriozis	24
2.11. Endometriozis ve İmmunité	24
2.12. Endometriozisin Tanısı	29
2.13. Endometriozisin Sınıflandırılması	31
2.14. Endometriozis Tedavisi.....	34
2.15. NF-κB Sinyal Yolu	36
2.17. İκB Ailesi	40
2.18. NF-κB Regülasyonu.....	43
2.18.1. Klasik (Kanonik) Yolak ile NF-κB Sinyal Aktivasyonu.....	45
2.18.2. Nonkanonikal (Alternatif) Yolak ile NF-κB Sinyal Aktivasyonu.....	46
2.19. İnsan Endometriyumunda NF-κB aktivasyonu.....	48
2.20. Ektopik Endometriyumda NF-κB Aktivasyonu.....	49
2.21. Endometriozis ve NF-κB Aktivasyonu	51
2.22. Endometrioziste NF-κB Sinyalinin Düzenlenmesi	52
2.22.1. Östrojen	52
2.22.2. Progesteron.....	55
2.22.3. Noncoding RNA'lar	56
2.23. Endometriozis Patogeneğinde NF- κB 'nin Rolü	57
2.23.1. NF- κB'nın Endometriotik Hücre Davranışlarındaki Etkisi.....	57
2.23.2 Endometrioziste NF-κB ile oksidatif stres ilişkisi.....	58
2.23.3. Endometriotik hücrelerin apoptozunda NF-κB	59
2.24. Apoptozis	60
2.24.1. Programlı Hücre Ölümü	60
2.24.2. Apoptozis Morfolojisi	61
2.25. Apoptoz Mekanizmasının Aktivasyonu.....	62
2.26. Apoptoziste Biyokimyasal Olaylar	63
2.26.1. Protein ayrılması.....	63
2.26.2. Proteinlerin çapraz bağlanması	63
2.26.3. DNA yıkımı.....	63

2.26.4. Fagositik tanıma	64
2.27. Bcl-2 Ailesi	64
2.28. Bcl-2/BAX protein ailesi	67
2.29. Normal Endometriumda Apoptozis	68
2.30. Normal Endometriumda Bcl-2 Proteini	68
2.31. Endometrial Stroma ve Endometrial Epitelde Bcl-2Ekspresyonu.....	70
2.32. Endometrioiziste Apoptozis	70
2.33. Endometrioiziste Ötopik ve Ektopik Endometriumun Apoptozu	72
2.34. Endometrioiziste Bcl-2 Ailesi	74
2.35. Endometrioizisli Hastaların Peritoneal Makrofajlarında Apoptoz.....	75
3. GEREÇ VE YÖNTEMLER	76
3.1 Araştırma Yeri ve Ortam.....	76
3.2. Araştırma Grupları	76
3.3.Endometrioizis Numunelerinin Toplanması	76
3.4. Deney Grupları.....	77
3.5. Doku Preparasyonu	78
3.6. İmmunfloresan Boyama Protokolü:	78
3.7. JB-4 Tekniği.....	80
3.7.1. JB-4 kesitler için toluidin blue- asit fuksin boyama yöntemi.....	81
3.8. Morfometri	82
3.8.1.Morfometrik Tekniğin Önemi	82
3.8.2.Morfometrik Analizler	84
3.8.3. Morfometrik Yöntemlerle Ölçülen Doku Özellikleri.....	85
3.9. İstatistiksel Yöntem.....	86
3.10. Kullanılan Cihazlar	86
3.11. Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Sarf Malzemeler.....	87
3.12. Kullanılan Çözeltiler ve Tamponlar:.....	87
3.13. Semikantitatif Skorlama Yöntemi:.....	88
4. BULGULAR.....	89
4.1. Histolojik Bulgular.....	91
4.1.1. JB-4 Mikroskobik Bulgular	91
4.1.1.1. Kontrol Grubu Endometrium Dokusu	91
4.1.1.2. Ektopik Endometriuma Ait Doku.....	92
4.1.1.3. Ötopik Endometriuma Ait Doku	93

4.2. Mikroskopik Değerlendirme Yöntemi ve Morfometri.....	101
4.2.1.Çalışılan Volüm Fraksiyonu Hesaplamaları Örneği.....	101
4.3. İstatistiksel Analiz.....	101
4.3.1. Kontrol, Ektopik ve Ötopik Kendi arasındaki Dağılımı.....	102
4.3.2. Ektopik, Ötopik ve Kontrol Gruplarına Ait Kan Damarları Ölçümlerinin Karşılaştırılması	103
4.3.3. Ektopik ve Ötopik Gruba Ait Kan Damarı ve Stroma Ölçümlerinin Karşılaştırılması	105
4.3.4. Ektopik, Ötopik ve Kontrol Gruplarına Ait Stroma Ölçümlerinin Karşılaştırılması	106
4.3.5. Kontrol ve Ötopik Gruplara Ait Bez ve Bez Lümeni Ölçümlerinin Karşılaştırılması	107
4.3.6. Ektopik, Ötopik ve Kontrol Gruplarına ait Endometrial Stromal Hücre ve Matriks Ölçümlerinin Karşılaştırılması	109
4.4. İmmüno Floresan Bulgular	111
4.4.1. İmmüno Floresan Bcl-2 Ekspresyonu	111
4.4.2. Kontrol Grubu Endometriyumunda Bcl-2 Ekspresyonu	111
4.4.3. Ektopik Endometriyumda Bcl-2 Ekspresyonu	113
4.4.4. Ötopik Endometriyumda Bcl-2 Ekspresyonu.....	115
4.5. İmmüno Floresan NF-κB p65 Ekspresyonu	117
4.5.1. Kontrol Grubu Endometriyumunda NF-κB P65 Ekspresyonu.....	117
4.5.2. Ektopik Endometriyumda NF-κB P65 Ekspresyonu.....	119
4.5.5. Ötopik Endometriyumda NF-κB P65 Ekspresyonu	121
5. TARTIŞMA.....	123
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	148
6.1. Sonuçlar	148
6.2. Öneriler	149
KAYNAKÇA.....	152
7.EKLER	183
8. ÖZGEÇMİŞ	187

TABLÖLAR DİZİNİ

Sayfa No

Tablo 2.1. 28 günlük bir menstrual siklus esnasında insan endometrium dokusunun genel özellikleri.	11
Tablo 2.2. Amerikan Üreme Tıbbı Derneğinin Endometriozis Sınıflaması	21
Tablo 4.1. Endometriozis ve Kontrol Grubu Yaş ortalaması.....	89
Tablo 4.2. Tüm hasta gruplarında jinekolojik şikayetler ve bulgular	89
Tablo 4.3. Endometriozis grubu hastaları yaşlara göre jinekolojik şikayetler	90
Tablo 4.4. Kontrol grubu hastaları yaşlara göre jinekolojik şikayetler.....	90
Tablo 4.5. Gruplara ait kan damarı ve stroma ölçümlerinin karşılaştırılması.....	104
Tablo 4.6. Ektopik ve Ötopik gruba ait alanların kan damarı ve stroma ölçümlerinin karşılaştırılması	105
Tablo 4.7. Gruplara ait alanların bez ve bez lümeni ölçümlerinin karşılaştırılması	107
Tablo 4.8 Gruplara ait alanların endometrial stromal hücre ve matriks ölçümlerinin karşılaştırılması	109
Tablo 4.9. Ektopik, ötopik ve kontrol grubu endometriyum dokularında Bcl-2 molekülünün immunlokalizasyon düzeyleri	111
Tablo 4.10. Ektopik, ötopik ve kontrol grubu endometriyum dokularında NF-κB p65, molekülünün immunlokalizasyon düzeyleri	117

GRAFİKLER DİZİNİ

Sayfa No

Grafik 4.1. Kontrol, ektopik ve ötopik gruplarına ait kan damarları ölçümlerinin istatistiksel analizi	104
Grafik 4.2. Ektopik ve ötopik gruplarına ait kan damarı ölçümlerinin istatistiksel analizi	105
Grafik 4.3. Morfometrik ölçümleri yapılan bölgelerin kontrol, ektopik ve ötopik grupların kendi arasındaki dağılımı.....	103
Grafik 4.3. Ektopik ve ötopik gruplarına ait stroma ölçümlerinin istatistiksel analizi	106
Grafik 4.4. Kontrol, ektopik ve ötopik gruplarına ait stroma ölçümlerinin istatistiksel analizi	107
Grafik 4.5. Kontrol ve ötopik gruplarına ait bez yapılarına ait ölçümlerinin istatistiksel analizi	108
Grafik 4.6. Kontrol ve ötopik gruplarına ait bez lümeni yapılarına ait ölçümlerinin istatistiksel analizi	108
Grafik 4.7. Ektopik, ötopik ve kontrol gruplarına ait endometrial stromal hücre ölçümlerinin istatistiksel analizi.....	110
Grafik 4.8. Ektopik, ötopik ve kontrol gruplarına ait matriks ölçümlerinin istatistiksel analizi	110

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No

Şekil 2.1. Menstrüel siklusun hormonal, endometriyal ve foliküler süreci	8
Şekil 2.2. Menstrual siklus evrelerinde endometriumda meydana gelen değişiklikler	12
Şekil 2.3. Endometriozisin yaygın yerleşim bölgeleri.....	15
Şekil 2.4. Pudra kahverengisi lezyon.....	16
Şekil 2.5. Endometriozisin mikroskopik özellikleri.	22
Şekil 2.6. NF-κB sinyalizasyonun temel bileşenleri.....	37
Şekil 2.7. NF- κB protein ailesi üyeleri ve yapısı	38
Şekil 2.8. IκB ailesi üyeleri.	40
Şekil 2.9. NF-κB'nin yapısının ve transdüksiyon sürecinin basitleştirilmiş bir görünümü	44
Şekil 2.10. Klasik ve alternatif NF-κB sinyal yolları	48
Şekil 2.11. NF-κB ve endometrioziste östrojen.....	54
Şekil 2.12. Apoptozun fizyolojik şeması.....	61
Şekil 2.13. Apoptozis regülasyonu	63
Şekil 2.15. Normal endometriyum ve endometrioziste NF-κB ve apoptoz	72
Şekil 2.16. Apoptozun başlatılması ve yürütülmesi	75
Şekil 3.1. İmmunfloresan Işık mikroskop	80
Şekil 3.2. JB-4 blok hazırlama.....	81
Şekil 3.3. JB-4 mikrotom.....	81
Şekil 3.4. A. 1 cm aralıklı Kafesli Sayım Gridi.....	83
Şekil 3.5 B. Gride histolojik görüntünün bindirilmiş hali	83
Şekil 4.1A. JB-4 blokta kontrol grubu	94
Şekil 4.1B. JB-4 blokta kontrol grubu.....	95
Şekil 4.2A. JB-4 blokta Ektopik endometriozis grubunda hemosiderin kalıntıları....	96

Şekil 4.2C. JB-4 blokta Ektopik endometriozis grubunda Stroma.....	98
Şekil 4.3B. JB-4 blokta ötopik endometrium grubunda Stroma.....	100
Şekil 4.4. İmmunfloresan boyama Kontrol grubu.	112
Şekil 4.5. İmmunfloresan boyama Ektopik endometriozis grubunda Bcl-2 immunlokalizasyonu.	114
Şekil 4.6. İmmunfloresan boyama Ötopik endometrium grubunda Bcl-2 immunlokalizasyonu..	116
Şekil 4.7. İmmunfloresan boyama Kontrol grubu endometriumunda NF-κB P65 immunlokalizasyonu..	118
Şekil 4.8. İmmunfloresan boyama Ektopik endometriozis grubunda NF-κB P65 immunlokalizasyonu.	120
Şekil 4.9. İmmunfloresan boyama Ötopik endometriyum grubunda NF-κB P65 immunlokalizasyonu.	122

RESİMLER LİSTESİ

Resim 2.1. Ovaryan endometriozis.	23
Resim 2.2. Derin endometriozis	24
Resim 2.3. Endometriozis gelişiminde immünite.	29
Resim 2.4. rASRM sınıflandırması – 1.	32
Resim 2.5. 1996 – rAFS (revize edilmiş AFS) sınıflandırma sistemi.	33
Resim 2.6. Endometriozis için fertilite skorlaması.	34



KISALTMALAR

ESH	Endometrial stromal hücre
öESH	Ötopik endometrial stromal hücre
eESH	Ektopik endometrial stromal hücre
kESH	Kontrol endometrial stromal hücre
PF	Periton Sıvısı
NF-κB	Nükleer Faktör Kappa B
ANK	Ankirin tekrar bölgesi
IKK	İnhibitör Kappa Kinaz
IL	İnterlökin
İNOS	İndüklenebilir Nitrik Oksit Sentaz
NO	Nitrik Oksit
COX-2	Siklooksijenaz-2
RHD	Rel Homoloji Alanı
Mn-SOD	Manganez süperoksit dismutaz
NES	Nükleer eksport sinyal
VCAM -1	Vasküler hücre adezyon molekülü -1
IκB	İnhibitör Kappa B
COX	Siklooksijenaz
RANKL	RANK-Ligand
NIK	NFκB'yi indükleyen kinaz
TRAF	TNF reseptörü ile ilişkili faktör 1
RIP-I	Reseptör ile etkileşen protein kinaz-I

ROS	Serbest Oksijen Radikalleri
MMP	Matriks Metalloproteinazlar
APAF-1	Apoptozis Aktive Edici Faktör-1
BCL-2	B Hücreli Lenfoma-2
FasL	Fas Ligandı
FADD	Fas associated death domain
APAF-1	Apoptoz aktive edici faktör-1
BH	Bcl-2 homoloji domaini
FSH	Folikül Uyarıcı Hormon
LH	Lüteinleştirici Hormon
DIE	Derin İnfiltrate Endometriozis
ASRM	American Society For Reproductive Medicine
VEGF	Vasküler Endotelial Growth Faktör
PDGF	Platelet Derive Büyüme Faktör
ECs	Endometrial hücreler
MIF	Makrofaj göçü inhibe edici faktör
ER	Östrojen reseptörü
TSLP	Timik stromal lenfopoietin
PR	Progestesron reseptörü
PM	Peritoneal makrofaj
PRB	Progesteron reseptör izoformu
SIRT1	Sirtuin 1
NOS	Nitrik oksit sentaz
TNFR	Tümör nekroz faktör

FGF	Fibroblast büyüme faktörü
TRAF2	TNF Reseptör-Etkileşimli Protein Kinaz-2
GnRH	Gonodotropin salgılatıcı hormon
DES	Diethylstilbestrol
TGF	Transforming growth factor
NK	Naturel Killer
TNF	Tümör nekroz faktör
IgG	Immunglobulin
FGF	Fibroblast büyüme faktörü
ICAM	İnterselüler adezyon molekülü
EFI	Endometriozis fertilite indeksi
rAFS	Revize Amerikan Fertilite Derneği

1. GİRİŞ

Endometriozis, uterus boşluğu dışında ovaryum ve uterusun serozal yüzeyine implante olan endometrial bez ve stromanın birikimi olarak tanımlanan bir hastalıktır. Östrojen bağımlı kronik inflamatuvar bir süreç olan bu hastalık, infertiliteye neden olabilmekte ve yardımcı üreme teknikleri kullanımını gerektirmektedir (Bulun, 2009; Zanello ve ark., 2019). Dünya genelinde yaklaşık 200 milyon kadını etkileyen endometriozis, patogenezi hakkındaki belirsizlikleri nedeniyle günümüzde de önemli bir sağlık sorunu olarak devam etmektedir (Didziokaite ve ark., 2023).

Hastalığın oluşumunu ilk kez tanımlayan Sampson (1927a), endometriozisi menstrüasyon sırasında ortaya çıkan menstrual endometrium dokusu parçalarının, uterin tüplerden geriye doğru ilerleyerek peritoneal yüzeye implante olması ve bu bölgede varlığını sürdürmesi şeklinde ifade etmiştir. Bununla birlikte Agarwal ve ark. (2019) bu hipotezin, pelvik bölgeler dışında görülen endometriozis vakalarını açıklamada yetersiz kaldığını belirtmektedir.

Sharpe ve Kathy (2001), endometriozisli kadınların endometrium dokularını, normal endometrium dokusundan farklı olarak ötopik ve ektopik endometrium şeklinde ayırmıştır. Özellikle, ötopik endometriumun ektopik doku değişiklikleri sergilemesi ve bu değişikliklerin sağlıklı kadınların endometriumlarında bulunmaması, endometriozis hastalığındaki anormalliğin endometriumun normal çevresinde de ortaya çıkabileceğini söylemektedir. Endometriozisli bireylerde peritoneal kaviteye dökülen endometrial stromal hücrelerin (ESH) peritoneal yüzeylere implante olması, bu hücrelerin büyüyerek endometriozis geliştirme potansiyelinin yüksek olduğunu düşündürmektedir (Noble ve ark., 1997). Bununla birlikte Delbandi ve ark. (2020) endometrial stromal hücrelerin ektopik dokunun implantasyonunda hücre proliferasyonunu, hücresel transkripsiyonu ve apoptozu düzenlediğini tespit etmiştir.

Endometriozisi kontrol eden çeşitli sinyal yollarının varlığı bilinmektedir. Bunlardan Nükleer Faktör Kappa B (NF- κ B) aktivitesi, endometriozisin başlamasında ve ilerlemesinde önemli rol oynayan kritik bir sinyal yolunu temsil etmektedir. Yun ve ark. (2021) bu sinyal yolunun hücre adezyonu, hücresel transkripsiyon, anjiyogenez, hücre proliferasyonu ve hücre göçü gibi önemli süreçlerde rol oynadığını saptamıştır. Endometriozis üzerine yapılan bilimsel çalışmalar, NF- κ B sinyal yolundaki moleküler değişiklikler ile hastalığın gelişimi arasında doğrudan ilişki olduğunu ortaya koymuştur

(Liu ve ark., 2022). P65 (RelA) molekülünün, NF- κ B sinyal yolunun önemli bir sitoplazmik proteini olduğu bilinmektedir. Çeşitli araştırmacılar, sağlıklı kadınların endometriumunda siklik p65 DNA bağlanma döngüsünün bulunduğunu ifade etmektedir (González-Ramos ve ark., 2012a; Gridharan ve Mythily 2018). Koga (2021), NF- κ B p65 alt biriminin aşırı veya yetersiz lokalizasyonunun, endometriozise neden olan hücresel transkripsiyonu etkileyebildiğini belirlemiştir. Bu kapsamda P65'in, endometriozisin invazyon enzimlerini harekete geçirerek mevcut endometriyal dokunun peritona yapışmasına ve diğer dokulara invazyonuna katkıda bulunabileceği ifade edilmiştir (Agarwal, 2004).

Apoptoz, programlanmış hücre ölümünün ayırt edici bir şekli olup, inflamatuvar bir yanıt ortaya çıkmadan hücrelerin etkili bir şekilde ortadan kaldırılmasıyla sonuçlanır. Endometriozisin, uterus dışında apoptozu önleme kapasitesine sahip endometrial hücrelere sahip olmakla birlikte, endometriozis patogenezinde rolü olduğu bilinmektedir. Yapılan çalışmalarda, endometriozisli kadınlarda apoptozu karşı direnç olabileceği yönünde bulgulara ulaşılmıştır. Normal endometriyal dokuda apoptoz süreci, menstrual siklus boyunca düzenli bir şekilde gerçekleşmektedir. Harada ve ark. (1996) ve Hirakawa ve ark. (2016) endometrioziste, hücre proliferasyonu ve hücre ölümü arasındaki ilişkinin apoptoz ile düzenlenebileceğini göstermiştir. Kokawa ve ark. (1996) ve Delbandi (2020) ise, ESH'lerin apoptotik aktivitesinin, çeşitli düzenleyici faktörler tarafından kontrol edildiğini ve bu faktörlerden, hücre ölümünü hem inhibe eden hem de teşvik eden Bcl-2 molekülünün büyük bir öneme sahip olduğunu belirlemiştir. Donnez ve ark. (1998) tarafından yapılan çalışmada, ESH'lerin ektopik bölgelere anormal şekilde yapışmasının, proliferatif dönem endometriumunda hücre proliferasyonu ile ilişkili apoptozda artışa veya azalışa sebep olabileceği gibi, ektopik dokuda ESH'lerin başarılı bir şekilde implantasyonu için gerekli olan yeni damarlarla yüksek oranda vaskülarize olduğu tespit edilmiştir. Delbandi ve ark. (2020) yapılan bu tespitin, endometriozis patofizyolojisinde anjiyogenez gibi önemli bir mekanizmayı ifade ettiğini belirtmiştir. Endometriozisli kadınlardan alınan ötopik endometrial stromal hücreler (öESH) ile sağlıklı kadınlardan alınan kontrol endometrial stromal hücrelerin (kESH) ektopik endometrial stromal hücrelerle (eESH) karşılaştırıldığı çalışmada, öESH'lerin apoptozu karşı daha fazla direnç gösterdiği saptanmıştır (Samimi ve ark., 2019). Bu tespitin, endometriozis patofizyolojisinin anlaşılmasına katkı sağladığı ve hücresel düzeydeki farklılıkları vurguladığı bir gerçektir.

Endometriozisin tanımlanmasında, yukarıda ifade edilen histopatolojik karakterlerin dışında endometriozisli ektopik ve ötopik dokunun morfometrik özellikleri de kullanılmaktadır. Bu kapsamda, proliferatif dönemdeki endometriozisli dokuya ait ektopik lezyonların stromal vaskülarizasyon yoğunluğu, matriks, ESH'ler ve hemosiderin içeriği ile normal endometrium dokusu arasındaki morfometrik farklılıkların, menstrual safhaya özgü hastalığın tanısı ve etkili tedavi stratejilerinin belirlenmesi açısından önemli olduğu bilinmektedir (Camboni ve Marbaix, 2021).

Yapılan bilimsel çalışmalara rağmen, günümüzde endometriozis patofizyolojisi üzerine belirsizlikler devam etmektedir. Bu kapsamda, NF- κ B sinyal yolunun ve apoptozun endometriozis sürecini nasıl etkilediği de tam anlamıyla açıklanamamıştır. Yapılan bu çalışmada, endometriozis gelişiminde NF- κ B sinyal yolunun aşırı aktivasyonunun, inflamasyon süreçlerini artırarak, ESH'lerin hücrel transkripsiyonu ile endometrial dokunun ektopik implantasyonunu kolaylaştırabileceği ve angionegezi tetikleyebileceği hipotezi sorgulanmıştır. Bunun yanı sıra, apoptozun düzenlenmesindeki bozuklukların, ESH'lerin aşırı proliferasyonuna katkıda bulunarak, bu dokunun apoptoz ile peritoneal yüzeylere yayılmasının nedeni olabileceği düşünülmektedir. Bu kapsamda, mevcut çalışmamızda endometriozisli ve sağlıklı kadınların endometriumlarında, NF- κ B p65 ve Bcl-2 aktivasyon derecesinin, ESH'ler açısından herhangi bir farklılık gösterip göstermediği araştırılmıştır. Bu hücrelerin ektopik implantların oluşumundaki rolünü belirleyebilmek için proliferatif dönemde, öESH ve eESH aktivitesi ile kESH aktivitesi karşılaştırılmış ve hücrel transkripsiyon potansiyeli ile hücre proliferasyonu ve apoptoz arasındaki ilişkiler analiz edilmiştir. Ayrıca, ektopik implantların oluşum sürecinde gerçekleşen angiyojenezin ekspresyon düzeyi ile bu süreçteki ESH'lerin, NF- κ B p65 ve Bcl-2 molekülleri arasındaki ilişkileri de analiz edilmiştir. Ötopik ve ektopik endometriyumun morfolojik anormalliklerinin belirlenmesinin, endometriozisten etkilenen bireylerde, bu süreçlerin kontrolü için kilit bir rol oynayabileceği gibi, gelecekte endometriozisin önlenmesi ve tedavisi için yenilikçi yöntemlerin geliştirilmesine de önemli katkılar sağlayacağı düşünülmektedir. Ayrıca, morfometrik volüm fraksiyon değerleriyle elde edilen bu fark, proliferatif dönem endometriozisli dokunun anjiyojenez, ESH'ler ve stromanın gruplar arasında endometriozis tanısında menstrual safhanın belirleyici bir faktör olup olmadığı değerlendirilmiştir.

Çalışmamız, proliferatif dönem endometriozisi üzerine yapılan sınırlı sayıdaki morfometrik çalışmalar arasında yer alması nedeniyle, mevcut literatürdeki boşluğu doldurma potansiyeline sahiptir. Bununla birlikte, elde edilecek bulguların, menstrual safhaya özgü endometriozisi önleme ve terapötik tedavi seçeneklerine katkı sağlamasının yanında, endometriozisin altında yatan epigenetik mekanizmaların hem ötopik hem de ektopik endometriyumunu karakterize eden morfolojik ve histolojik anormalliklerin elde edilmesi ve sürdürülmesi süreçlerini kontrol etmeye yardımcı olabileceği düşünülmektedir.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Uterusun Morfolojik, Anatomik ve Histolojik Özellikleri

Uterus, blastosis implantasyonu ve gebeliğin devamı için uygun ortamı sağlayan, mesane ve rektum arasında pelvis boşluğunda bulunan içi boş armut şeklinde kaslı bir organdır. 7.5 cm uzunluğunda, 5 cm genişliğinde ve 2.5 cm kalınlığındadır ve yaklaşık 30-40 gr ağırlığındadır. Fonksiyonel ve morfolojik olarak üç bölümden oluşur; gövde (korpus), uterus kavitesinin daraldığı iç kısım (internal os) ve buradan aşağı doğru uzanan tübüler yapıdaki serviksten oluşur (Kaloğlu, 2000; Ellis, 2011; Symonds ve Arulkumaran, 2019). Uterus, dişi genital kanalların köken aldığı paramezonefrik (Müller) kanaldan gelişir ve kanalın kranial vertikal kısmı ile horizontal kısmı uterus tüplerini meydana getirirken, kaudal vertikal kısımları uterusun corpus ve serviksini oluşturur (Kaloğlu, 2000). Uterus duvarı nispeten kalındır ve dışarıdan içeriye doğru perimetrium, miyometrium ve endometrium olmak üzere 3 tabakadan meydana gelir. Perimetrium ya da seroza olarak isimlendirilen tabaka en dış katmandır. Miyometrium, düz kas liflerini içeren, vasküler yapıların ve sinirlerin bulunduğu kalın bir kas tabakasıdır. Endometrium ise uterusun en iç yüzeyini döşemektedir (Mills, 2019). Endometrium, uterus lümenini kaplayan luminal epitel ve spiral tübüler bezlerin bulunduğu lamina propria ya da stroma olarak isimlendirilen kısımdan oluşur. Lamina propria ya da stroması bol miktarda fibroblast ve Tip III kollajen içerir. Tek katlı prizmatik epitel hem silli hem de salgılayıcı hücrelerden oluşur. Salgılayıcı hücreler ise çok sayıda uterus bezlerinin oluşmasını sağlamaktadır (Gargett ve ark., 2012; Cousine ve Gargett, 2018). Endometrium tabakası bazalis ve fonksiyonalis olmak üzere iki kısımdır. Bazal tabaka, uterus bezlerinin miyometriyuma bakan alt 1/3'lük bölümü yani menstruasyon sırasında herhangi bir değişikliğe uğramayan endometrium tabakasıdır. Ayrıca bazalis tabakası lamina propria ve uterus bezlerinin başlangıç kısımlarını da barındırmaktadır. Fonksiyonalis tabakası ise, geri kalan üst 2/3'lük bölümdür. Yüzeyel ya da işlevsel tabaka olarakta isimlendirilen bu kısım ara maddeden zengin, süngerimsi bir lamina propriaya sahiptir. Menstrual siklus gerçekleşirken hormonal değişiklikler ile ayda bir kez dökülerek yenilenir (Gargett ve ark., 2012; Cousine ve Gargett, 2018).

Endometrium, bir kadının reproduktif dönemi boyunca embriyo implantasyonu ve fetal gelişimin devam edebilmesi için her ay menstrual siklus ile yapısal ve

fonksiyonel farklılaşmalar göstermektedir (Lessey ve Young, 2019). İnsan endometriyumu, döngüsel bir büyüme geçirir ve bir kadının tüm hayatı boyunca yaklaşık 450 kez yenilenir. Otokrin ve parakrin molekül seviyeleri, adet döngüsü sürecinde değişir ve uterusun fonksiyonunda önemli bir yere sahiptir (Okada ve ark., 2001). Endometriyal döngü iki aşamadan oluşur: menstrüasyonu takip eden ovulasyondan önce gelen proliferatif faz ve ovulasyondan hemen sonra başlayan salgı fazı. Salgı fazı, endometriyumun implantasyona hazırlık aşaması için gerekli olan fazdır ve bu faz esnasında endometriyum implantasyona uygun bir alıcı dokuya dönüşür. Endometriyum, implantasyonu desteklemek için, uygun bir mikro çevre oluşturur. Bu süreç ise endometriyumun sürekli yeniden şekillendiği dönemdir (Okada ve ark., 2001; Lessey ve ark., 2013).

Miyometriyum ise uterusun en kalın, hacimsel olarak en büyük katmanıdır ve uzun düz kas hücreleri bol miktarda bulunur. Gebelik boyunca bu hücrelerin uzunluğu maksimum seviyeye ulaşır; gebelikten hemen sonra ise eski uzunluğuna geri döner. İçeride dairesel (sirküler) ve dışarıda uzunlamasına (longitudinal) kas tabakası şeklinde yerleşmiştir. Longitudinal tabaka, paralel yerleşimli kas liflerinden oluşur. Bu iki tabakayı birbirinden ayıran ise orta tabaka (stratum vasculare) ise lenf damarları, arter ve venleri içerir. Miyometriyum tabakası, uterusun her yöne kasılmasını ve doğum sırasında fetüsün çıkarılmasına yardımcı olan ritmik kasılmaların oluşmasını sağlar (Abdik, 2021).

Uterusun en dış tabakası perimetriyum veya tunica seroza, basit skuamöz mezotelyumla kaplı gevşek bağ dokusundan oluşur. Çok sayıda kan damarı, lenfatik damarlar ve sinir lifleri içerir (Sahu ve ark., 2017). Perimetriyum tabakası, uterusun arka yüzeyinin tamamını fakat ön yüzeyin ise sadece bir kısmını kaplar. Buranın geri kalan kısmı ise bağ dokusu ya da adventisyadan oluşur (Abdik, 2021).

2.1.1.Endometrium

Uterusun mukozal tabakası olan endometrium, çok hücreli bir dokudur. Endometriumun işlevi embriyonik implantasyona hazırlanmak ve hamileliği sürdürmek ya da gebelik gerçekleşmediğinde dökülerek onarım ve yeniden yapımı sağlamaktır (Jain ve ark., 2022). Basit prizmatik epitel ve epitelin hemen altında endometrial stroma olarak isimlendirilen kalın bir lamina propriyadan oluşur. Siklik döngü boyunca, hücresel proliferasyon, dejenerasyon, farklılaşma ve rejenerasyon süreçlerinden geçer. Döngü

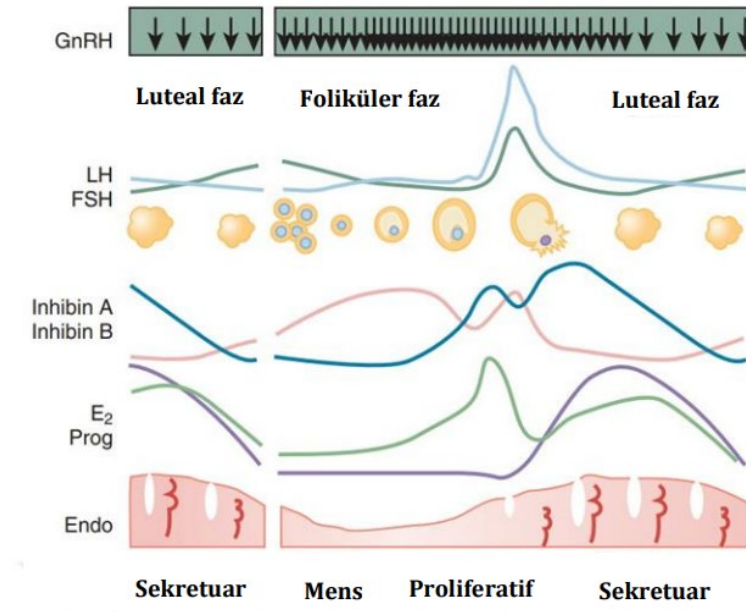
esnasında endometriumun salgı aktivitesindeki değişikliklerle, ovaryum foliküllerinin olgunlaşması bağlantılıdır. Hipofizden salgılanan folikül uyarıcı hormon (FSH), lüteinleştirici hormon (LH) ve prolaktin ile ovaryumdan salgılanan östrojen ve progesteron siklus sırasında rol oynayan önemli hormonlardır (Ross ve Pawlina, 2016). Endometriumun bu dinamik süreci, progesteron ve östrodiol gibi steroid hormonların dolaşım esnasındaki konsantrasyon değişikliklerine cevap olarak ortaya çıkar. Her döngünün sonu, mukozal damarlardan kanamanın eşlik ettiği endometriumun kısmi yıkımı ve dökülmesi ile karakterizedir. Genelde 3 ile 5 gün arasında devam eden vajinadan doku ve kan çıkışına menstruasyon ya da menstrüel kanama adı verilmektedir (Moran ve ark., 2011).

Endometrium tabakası, oldukça gelişmiş bir vasküler ağa sahiptir. Uterusa ait arterler, pelvisteki iç iliak arterlerden çıkar, uterus kenarları boyunca yükselir ve uterus duvarına doğru dallar gönderir. Bu arterlerden çıkan dallar miyometrium içinde birkaç arkuat artere ayrılır. Bu arterlerin dalları olan radial arterler ise endometriumun bazal tabakasına girerek bu bölgeyi besleyen, küçük düz arterleri oluştururlar. Radyal arterlerin ana dalı yukarı doğru devam eder ve kıvrımlı bir yapı kazanır. Böylece spiral arterler olarak adlandırılır. Spiral arterlerden çok sayıda arteriol çıkar bunlar kapiller ağı oluşturur ve sık sık anastomozlaşırlar (Kaloğlu, 2000). Spiral arterlerin distal kısımları, hormon seviyelerinin değişmesine yanıt olarak tekrar tekrar dejenere olur ve yenilenir. Spiral arterler ve düz arterlerin proksimal kısımları ise adet döngüsü sırasında herhangi bir değişikliğe uğramaz. Bu damarların proksimal kısımlarının spazmları menstruasyon sırasında fonksiyonel tabakanın dökülmesine neden olur (Kaloğlu, 2000; Külekçi, 2023). Endometrium tabakası, fibroblast benzeri stromal hücrelere sahip bir bağ dokusu ve burada doğuştan gelen bağışıklık hücrelerini içermektedir. Doğuştan gelen bağışıklık hücrelerinin popülasyonu adet döngüsü boyunca değişir ve bu endometrial lökositler endometrial dokunun parçalanması ve onarımında önemli role sahiptir (Salomensen ve Lautbry, 2000; Jain ve ark., 2022).

2.1.2. Menstrüel Siklus

Menstrüel siklus, endometriyumun stratum fonksiyonele tabakasının gelişimsel evrelerinin arka arkaya devam etmesiyle gerçekleşen, hipofiz bezinin pars distalis bölgesinden salgılanan gonodotropinler tarafından kontrol edilen bir süreçtir (Külekçi, 2023). Normal menstruasyon döngüsü, hipofizin ön bölgesi tarafından folikül uyarıcı

hormon (FSH) ve lüteinleştirici hormonun (LH) salgılanmasını sağlayan gonodotropin salgılatıcı hormonun (GnRH) hipotalamustan pulsatil salınımının bir sonucu olarak meydana gelir (İtriyeva, 2022). Overlerdeki reseptörlere bağlanan FSH ve LH progesteron ve östrojen salınımını uyarır. Menstrüel siklus sırasında östrojen ve progesteron, foliküler fazda düşük ve luteal fazda ise yüksek seviyelerde olmak üzere değişken konstantrasyonlarda bulunur (Kerns ve ark., 2022). Reprodüktif dönemdeki her kadın gebelik durumu gerçekleşmediğinde her 28 günde bir tekrarlayan bir dizi morfolojik ve fonksiyonel değişiklik geçirir. Normal bir döngü üç fazda tanımlanabilir: menstrüel faz, proliferatif (foliküler) faz ve sekretuar (luteal) faz (Şekil 2.1.) (Hall, 2016; Külekçi, 2023).



Şekil 2.1. Menstrüel siklusun hormonal, endometriyal ve foliküler süreci (VanPutte ve ark., 2016).

2.1.3. Menstrüel Faz (1-4. Günler)

Bu döngünün başlangıcı menstrual kanamanın birinci günüdür. Korpus luteum dejenerasyonu sebebiyle steroid hormon seviyelerinin azalmasıyla başlar. Korpus luteum tarafından salgılanan östrojen ve progesteron üretimi artık durduğunda, endometriumda hızlı bir şekilde önceki kalınlığının yaklaşık %65'i kadar gerilemeye uğrar. Progesteronun düşmesiyle, fonksiyonel tabakada küçük spiral arterler kasılarak normal kan akışının bozulmasına neden olur. Bu durum, arteriyel hücreler tarafından güçlü damar kasılmalarına ve bölgesel hipoksi durumlarına neden olan prostaglandin sentezinin artmasını sağlar. Endometriumun bazal tabakası ise bu aktivitelerden

etkilenmez. Çünkü progesterona duyarlı spiral arterlerden bağımsızdır. Fakat uterus duvarının fonksiyonel tabakası dökülerek atılır. Bu süreç yaklaşık 28 günlük aralıklarla ortaya çıkar ve yaklaşık 3-6 gün sürer (Kaloğlu, 2000; Külekçi, 2023).

2.1.3.1. Proliferatif (Foliküler) Faz (4-15. Günler)

Menstrual siklusun ilk aşaması proliferatif evredir. Ortalama 28 günlük süreye göre adet döngüsünün 1. gününden 14. gününe kadar olan zamanı kapsar. Ovaryan foliküllerinin büyüüp gelişmesi ile aynı zamanda meydana geldiği için foliküler faz olarak da isimlendirilir. Adet döngüsünün uzunluğundaki değişiklik ise foliküler fazın uzunluğundaki farklılıklardır. Bu aşamanın temel hormonu östrojendir. Özellikle 17-beta-estradioldür. Bu hormonun artışı döngünün başlangıcında foliküller içerisinde FSH reseptörlerinin yukarı regülasyonu ile gerçekleşir. Foliküler fazın sonuna doğru ilerledikçe 17-beta-estradiol miktarı artış gösterir. Artan 17-beta-estradiol miktarları ön hipofiz bezine negatif geri bildirim gönderir. Proliferatif fazın amacı uterusun endometrial tabakasının proliferasyonunu sağlamaktır. 17-beta-estradiol uterusun endometrial tabakasının büyümesini artırarak gerçekleştirir. Bu aşamada eğer kopulasyon olursa, gelen spermilere yardımcı bir ortam yaratmak için 17-beta-estradiol gereklidir. Ayrıca bu hormon 17-beta-estradiol, serviks içinde sperm girişine izin veren kanallar oluşturarak, spermilerin burada kalmasına yardımcı olur (Tuzcular ve Gönenç, 2020). Ovaryum foliküllerinin granüloza hücrelerinden salgılanan östrojen hormonu etkisi ile endometrial stromal hücreler ve epitelyal hücreler bu aşamada hızla çoğalır. Menstruasyonun başlamasından 4 ile 7 gün sonra endometrial yüzey kısmı yeniden epitelize karakter kazanmaya başlar. Ovulasyondan önceki bir buçuk hafta içinde ise, stromal hücreler çoğalır, endometrial bezler giderek büyür ve endometriumda yeni kan damarlarının meydana gelmesiyle birlikte endometrial kalınlık iki ya da üç katına çıkar. Foliküler evre, erken foliküler faz olarak overlerin hormonal olarak en az aktivite gösterdikleri dönemi kapsar. Bu durum serum östrodiol ve progesteron seviyelerinin düşük olması ile karakterizedir. Orta foliküler fazda ise FSH seviyesinin yükselmesiyle antral foliküller büyüyerek östrodiol salınımına neden olur. Bu aşamada östrodiolun geri bildirimi ile endometrial proliferasyon gerçekleşir ve endometrium kalınlaşır. Geç foliküler fazda büyümekte olan foliküllerden salgılanan östrojen FSH ve LH salınımını baskılar. Bu evrede baskın folikülün seçimi ile diğer antral foliküller gerileyerek atreziye uğrar (Welt ve ark., 1997; Hall, 2014; Külekçi, 2023).

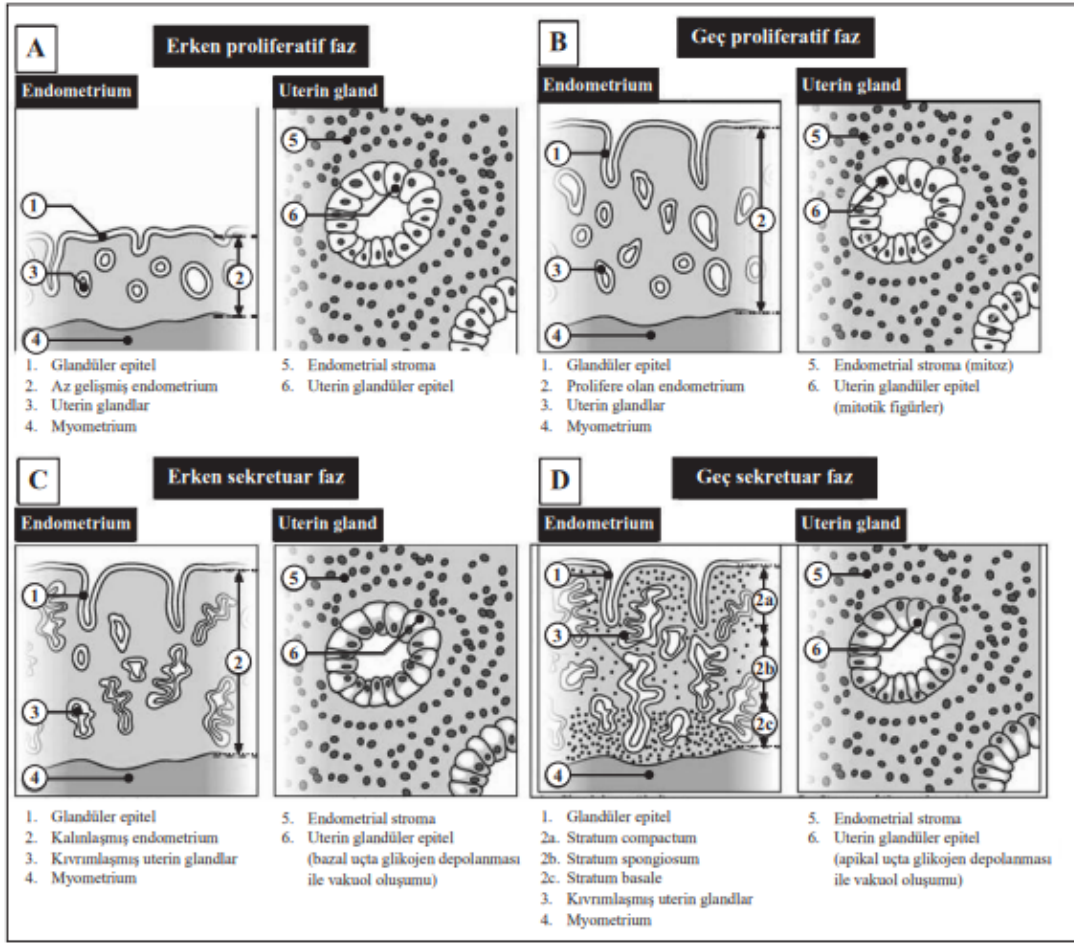
2.1.3.2. Sekretuar (Luteal) Faz (14-27. Günler)

Döngünün bu aşaması 14. günden 28. güne kadar olan kısmı kapsar. Ovulasyondan sonra başlar ve korpus luteumun oluşması ve büyümesi ile karakterizedir. Yaklaşık 13 gün sürer. Korpus luteumun granüloza lutein hücrelerinden progesteronun üretilmesiyle ve teka hücrelerinden salgılanan östrojen etkisiyle glandüler epitel hücreleri glikojenden zengin sekresyon yapmaya başlar. LH tarafından uyarılan progesteron, korpus luteumu ve endometriumu olası döllenmiş yumurta implantasyonuna hazırladığı için bu aşamanın baskın hormonu LH'dır. Bu faz sona erdiğinde, progesteron, FSH ve LH seviyelerini hemen ardından 17-beta-estradiol ve progesteron seviyelerini azaltmak için ön hipofiz bezine negatif geri bildirim sağlar. Korpus luteum, ovaryumda matür folikül rüptürü bölgesinde oluşan 17-beta-estradiol ve progesteronu üretmek için oluşan ve fazın sonunda baskın olan bir yapıdır. Bu evrede, endometrium kalınlığı artar. Spiral arterler yüzeysel kompakt tabakaya doğru kıvrılarak büyür (Gellersen ve Brosens, 2014). Salgı ürünleri ilk olarak endometrial bezlerin beslenmesinden sorumlu hücrelerin sitoplazmalarının bazal bölgesinde birikir. Salgı ürünü arttıkça salgı granülleri apikale doğru hareket ve bezin lümenine doğru salınır. Bu materyal glikojen açısından oldukça zengindir. Bu salgı plasenta oluşumundan önce embriyoyu besleyerek büyümesine yardımcı olur. Yumurtlama esnasında salınan oosit döllenirse, blastosist luteal fazın 20. gününde endometriumu yerleşmek için hazır hale gelir. Endometrium kalınlığı ise 6-7 mm' ye kadar ulaşır. Oositin döllenmediği durumda ise, menstrüel siklusun son 2 gününde endometrium iskemik ya da premenstrüel faza girer (Gartner 2006; Thiagarajan, 2021). Progesteron ayrıca hipotalamik sıcaklığın artmasını sağlar, bu nedenle luteal fazda vücut ısısı artar. Salgı fazının sonlarına doğru, korpus luteum 17-beta-estradiol ve progesteronun plazma seviyeleri düzenlenir (Thiagarajan, 2021).

İskemik (premenstruel) fazda progesteron sekresyon seviyesinin azalması spiral arterlerin büzüşmesine neden olur. Hormon seviyelerinin azalması glandüler hücrelerde sekresyonu durdurur ve endometrium belirgin bir şekilde küçülür. İskemik faz sona erdiğinde ise spiral arterler normalden daha uzun süre daralır. Kan, yırtılan arteriyal duvarlardan çevredeki stroma içerisine sızar. Böylece birikmiş kan endometrial yüzeyden akarak uterus lümenine gelir ve yeni bir menstrüel faz başlamış olur (Moore ve ark., 2016; Külekçi, 2023). (Şekil 2.2.), (Tablo 2.1.)

Tablo 2.1. 28 günlük bir menstrual siklus esnasında insan endometrium dokusunun genel özellikleri (Kaloğlu, 2000).

FAZ	Gün	Bezler	Stroma
Erken Proliferatif	5-7	Düzgün, sirküler yapıda ve düşük epitel boyu, nadir mitoz	Büyük nükleus ve iğ şekilli hücreler nadiren mitoz
Orta Proliferatif	8-10	Uzun ve geniş yüksek mitoz	Değişken ödem ve bol mitoz
Geç Proliferatif	11-14	Geniş bez lümeni, hücrelerde çok katlı görünüm.	Az ödem, bol mitoz.
Erken Sekretuar	15-18	Geniş bez lümeni, subnüklear vakuolizasyon, mitotik aktive çok az ya da yok	Yoğun stroma, nadir mitoz
Orta Sekretuar	19-23	Nükleus bazele yerleşik, intraluminal sekresyon yüksek, mitoz yok.	22. günde ödem fazla
Geç Sekretuar	24-28	Epitelde yüzey gerilemesi	Maksimum seviyede predecidual reaksiyon ve lökosit infiltrasyonu
Menstruasyon	1-4	Menstrual kanama ile epitelin dökülmesi	Endometrial atılma ve stromada hemoraji



Şekil 2.2. Menstrual siklus evrelerinde endometriumda meydana gelen değişiklikler (Öktem ve Urman, 2012).

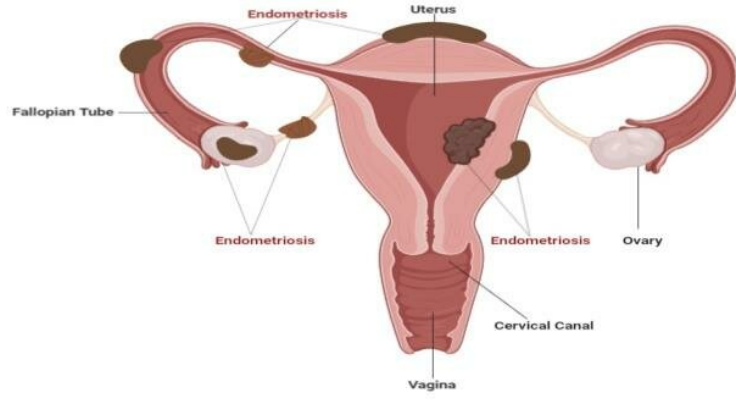
2.2. Endometriozis

Endometriozis, endometriyal dokunun anormal bir şekilde uterin kavitenin dışında yer aldığı üreme bozukluğudur. Kronik inflamasyonun da eşlik ettiği endometriozis, üreme çağındaki kadınların yaklaşık %10'unu etkiler ve bu durumdakilerin %30 ila %50'si iki ana klinik semptom olan kronik pelvik ağrı ve/veya infertilite şikâyeti bulunmaktadır (Ruderman ve Pavone, 2017; Smolarz ve ark., 2021; Wang ve ark., 2021) (Şekil 2.3.). Literatürde endometriozis patogenezi ile ilgili ilk görüşler 19. yüzyılın ikinci yarısında ortaya çıkmıştır. Bu durum, 1860 yılında Karl Von Rokitansky tarafından uterus kavitesi dışında aktif bir endometriyumun varlığı olarak tanımlanmıştır (Rokitansky, 1860). 1882'de Von Recklinghausen adenomiyom adını önermiş ve on dokuzuncu yüzyılın sonunda birkaç yazar daha bu hastalığı tanımlamıştır. 1870 yılında Alman anatomist, fizyolog ve patolog Heinrich Wilhelm Waldeyer metaplazi teorisini ilk ortaya atan kişi olmuştur (Smolarz ve ark., 2021). 1920'lere kadar endometriozis,

kistadenom, kistik fibroz, adenomiyom gibi çeşitli isimler altında ortaya çıkan bir fayda sağlayıcı hiperplazi hastalığı olarak kabul edilmekteydi (Sampson, 1927a). 1927'de Sampson, "endometriozis" terimini tıbbi terminolojiye ilk sokan kişidir. Araştırmacıya göre, hastalığın nedeni “retrograd menstruasyon” veya menstrüel kanın retrograd taşınması ve bunun sonucunda periton boşluğu içinde pul pul dökülmüş endometrial mukoza hücrelerinin implantasyonudur (Sampson, 1927b). Sampson'ın ilk teorisinden başlayarak, yeni araştırmalar devam ettikçe endometriozisi açıklamaya çalışan yeni teoriler ortaya çıkmıştır. Çok sayıda bilimsel araştırmaya rağmen, endometriozis etiyopatogenezi ile ilgili diğer hipotezler arasında Sampson'ın teorisi en baskın olandır (Nap ve ark., 2004). Schweppe (1984), tüm teorileri üç ana gruba ayırmıştır: Birinci grup, retrograd menstrüel kan yoluyla endometrial transplantasyonun yanı sıra mekanik transplantasyon (örneğin, ameliyat sırasında) ve lenfatik ve kan damarları yoluyla taşıma teorilerini içerir. İkinci grup, bunlar endometriozis in situ gelişimi teorileridir; yani fetal embriyonun veya genitoüriner sistemin hücre veya doku kalıntılarından oluşur. Üçüncü grup ise Levander'ın 1941 tümevarım teorisini içerir. Ona göre pul pul dökülmüş endometrial hücreler periton boşluğuna girer ve epiteli endometrial dokuya dönüşmesi için uyarır (Nap ve ark., 2004; Schindler, 2004; Quinn, 2004). Çok sayıda bilimsel araştırmaya rağmen, endometriozis etiyopatogenezi ile ilgili diğer hipotezler arasında en yaygın teori Sampson'ın teorisidir. Retrograd menstruasyon (Sampson Teorisi) ve implantasyon teorisi, menstruasyon sırasında dökülen ötopik endometrial dokunun fallop tüpleri aracılığıyla pelvik boşluğa taşındığını ve pelvik organların yüzeylerine implante edildiğini savunur. Bu dokular implante olabilir, orada gelişebilir ve bazen de diğer dokuları invaze edebilir (Chapron ve ark., 2019). Bir diğer teori ise endometriotik hastalık teorisidir. Bu teoride menstrüel kan ile implante olan endometrial dokular, mikroskobik ve hafif endometriozis olarak adlandırılarak ilerlemiş lezyonların öncüleri olarak kabul edilmiştir. Menstrüel siklus süresince uterus ve retrograd menstruasyon sonrası peritoneal kavitedeki oksidatif süreçler genetik epigenetik değişiklikler için potansiyel risk faktörü olabilir (Koninckx, 2019). Endometriozisin multifaktöriyel etiyolojisi ve yüksek prevalansı, diğer kronik inflamatuvar hastalıklara benzerlik göstermesine neden olur ancak östrojen bağımlı olması en önemli farkıdır (Han ve ark., 2019). İnfertilite, endometriozisli hastalarda nispeten yaygın bir semptomdur. Endometriozisli kadınların %30 ila %50'si infertilite yaşayabilir (Missmer ve ark., 2004; Smalorz ve ark., 2021). Endometriozis, uterusun kas tabakasında diğer genital organlarda ve bunların dışında meydana gelen

endometriyumun (glandüler hücreler ve stroma) veya endometriyal dokunun (endometrioidler; Gr. eides-benzeri) aktif odaklarının varlığı ile karakterize edilir. Çevre organlarda hatta vücudun genital organlarından uzak yerlerde bulunabilir. Rahim boşluğunun dışındaki endometriyal odaklar, örneğin periton boşluğunda yumurtalıklarda, mesanede veya üreterlerde görülebilir. Ektopik endometrium, ötopik endometriuma fonksiyonel olarak benzerdir. Endometriozis vakalarının büyük çoğunluğu, menarş ve menopoz arasındaki kadınlarda görülür. Hastalığın zirvesi 25 ile 45 yaşları arasındaki döneme düşer (Smalorz ve ark., 2021). Endometriozis doğurganlığı çeşitli şekillerde etkileyebilir: Bozulmuş pelvis anatomisi, adezyonlar, yaralanmış fallop tüpleri, pelvik yapıların iltihaplanması, bağışıklık sistemi işleyişinin değişmesi, yumurtaların hormonal ortamındaki değişiklikler, implantasyonun bozulması ve yumurta kalitesinin değişmesi gibi (Defrère ve ark., 2008). Kadınların %7'sinde endometriozis, ailedeki genetik yatkınlık ile ilişkilidir. Bu hastalık, ovaryumların alınması için tüp ligasyonu yapılan kadınların %2'sinde bulunmuştur. Dünya literatürü ayrıca fetüslerde endometriozis odaklarının ortaya çıktığını bildirmektedir (Signalire ve ark., 2010). Endometriozisli kadınların %66'sında hastalığın ilk belirtileri 20 yaşından önce ortaya çıkmaktadır (Bourdel ve ark., 2006). Endometriozis belirtileri şunları içerir: giderek artan akut adet öncesi ağrı, pelvik ağrı, omurganın sakral bölgesinde ağrı, dismenore, dispareni, dışkılama sırasında ağrı, idrar yaparken ağrı, sırta yayılan ağrı, bol düzensiz menstrual kanama, dışkıda kan, ishal veya kabızlık, kısırlık ve kronik yorgunluk (Eskenazi ve ark.,1997; Kowalczyk-Amico ve ark., 2009). Bazen çok ilerlemiş endometriozis, herhangi bir belirtiye neden olmayabilir, periton içindeki küçük odaklar büyük ağrılara neden olabilir. İntraperitoneal adezyonlar veya fallop tüpünün aşırı büyümesi, endometriozis tedavisinde problemin en yaygın nedenleridir. Endometriozis odakları ötopik endometriuma karşı zayıf embriyo implantasyonuna veya spontan düşüklere neden olabilen antikorlar üretebilir (Jakiel ve ark., 2006).

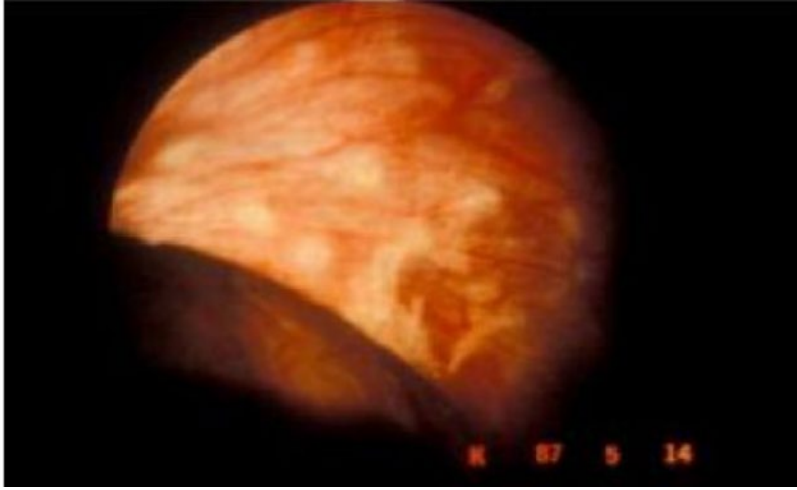
Günümüzde halen endometriozis oluşumunun patolojik mekanizması kesin olarak açıklanamamıştır. Fakat, Sampson teorisi (“retrograd menstrüasyon”) en yaygın teori olarak kabul edilmiştir. Literatür çalışmaları, açık fallop tüpleri olan kadınların %80'inde menstrüel kanın retrograd çıkışı olduğunu, endometriozisin ise sadece bazılarında görüldüğünü göstermiştir. Bu, endometriyal hücrelerin periton boşluğunda hayatta kalmasını ve implantasyonunu belirleyen diğer faktörlerin varlığını gösterir (Sampson, 1927a).



Şekil 2.3. Endometriozisin yaygın yerleşim bölgeleri (Ashish ve ark.,2020).

2.3. Endometriozis Patolojisi

Patolojik olarak endometriozis özellikle pelvisteki organlarda ve pelvis peritonunda görülür. En sık görüldüğü organ ovaryumlardır. Bu oran %50 olguda bilateral olabilir. Overlerden sonra en sık görüldüğü yerler sırayla sakrouterin ligamentler, mesane peritonu, douglas çıkmazı, rektovaginal bölge, ligamentum rotundumlar, tuba uterina, omentum, appendiks ve retrosigmoid bölgedir. Bu bölgeler dışında nadir de olsa, mesane duvarı, batin ön duvarı, ince barsaklar, akciğerler ve böbreklerde görülebilir. Ovaryuma yerleştiğinde farklı büyüklükte kistlere neden olur bunlar endometrioma olarak isimlendirilir (Bulun., 2009; Pınar, 2012). Makroskopik olarak bakıldığında ise endometriotik implantların değişik görünüşleri vardır. Tipik olarak, barut saçması şeklinde görünür. Laparoskopi sırasında endometriozis alanları yüzeyden bakıldığında alev benzeri yamalar, opak lezyonlar, sarı kahverengi renk değişimi gösteren implantlar, yarı saydam kabarcıklar ve düzensiz adacıklar şeklinde görülmektedir. Endometriozis odaklarının görünüşleri atipik olabilir. Hemosiderin birikimi sarı kahverengi ya da siyah renk gibi farklı renklerde değişikliğe neden olabilir (Şekil 2.4) (Charkazova, 2020).



Şekil 2.4. Pudra kahverengisi lezyon (Charkazova, 2020).

2.4. Endometrioziste Mikroskopik Görüntü

Histomorfolojik olarak endometriozis dokusu, endometriumu benzerlik gösterir. Endometriyotik implantların dört bileşeni vardır; endometriyal bez, endometriyal stroma, fibrozis ve hemoraji. Bu dört yapının bulunma şekli ve içeriği, lezyonun yaşına ve bulunduğu yere göre farklılık gösterir. Ektopik implantlarda yer alan endometriyotik bezlerin şekil ve büyüklükleri düzgün olmayabilir. Bez yapıları mitotik figürler içerebilir (Koylu ve ark.,2020).

Hem ötopik hem de ektopik endometriyal stroma dokusu benzerlik gösterir. Ektopik implantlarda, normal endometriyumda bulunan spiral arteriyollere benzeyen sayıca fazla küçük arteriyoller bulunur (Delbandi, 2013). Bu implantlarda sıkça interstisyel hemoraji, kan hücreleri ve hemosiderin makrofajları izlenir ve bazı implantlarda fibrozis oluşumu da söz konusudur (Camboni ve Marbaix., 2021; <http://www.endometriozis.org/>).

Endometriyotik doku biyopsisi kesin bir tanı sağlasa da bu durum endometriozis için farklı bir yaklaşım gerektirir. Peritoneal endometrioziste, görünüm genellikle tanı koymak için yeterli kabul edilir. Peritoneal örneğin yetersiz olabileceği ve lezyonun yaşına bağlı olarak fibröz doku hakimiyeti sebebiyle endometriyal bezler ve endometriyal stroma dokusu saptanamayabilir. Ayrıca, alınan endometriozis doku örnekleri zamanla değişebilir. Menstrual faz ve dışarıdan verilen hormonal tedaviye bağlı olarak makroskopik değişim gösterebilir (Colgrave ve ark., 2020; <http://guidelines.endometriozis.org/concise-diagnosis.html>).

2.5. Endometriozis Histogenezi ile İlgili Teoriler

Endometriozis histogenezinden sorumlu 7 teori sunulmuştur.

2.5.1. Retrograd Menstruasyon Teorisi (Sampson Teorisi)

Endometriozis patogenezi birçok teori ile açıklanmaya çalışılmıştır. Bunlardan en yaygın kabul göreni, retrograd menstruasyon teorisidir veya Sampson Teorisi olarak bilinir. Bu teoriye göre, menstruasyon kanaması sırasında döllenmemiş yumurta ve endometrial doku, tuba uterinalar aracılığıyla ters yönde karın boşluğuna akar ve burada yerleşim gösterir (Sampson, 1940). Ancak bu teori tek başına endometriozisi tam olarak açıklayamaz; hastalığın patogenezinde birden fazla faktörün rol oynadığı düşünülmektedir. Çünkü menstrual kanamanın yaklaşık %70-75'i tubalar aracılığıyla peritona geçtiği saptanmıştır. Ayrıca bu teori ile uzak organlarda görülen endometriozis oluşumuna açıklık getirilmemiştir (Kruitwagen ve ark.,1991; Güven ve Baloglu 2003). Retrograd menstruasyon teorisine göre, menstruasyon sırasında kanama miktarını artıran nedenler endometriozis için risk faktörü oluşturabilir. Erken menarş ya da kısa menstrual siklus gibi durumlarda endometriozis insidansının arttığı görülmüştür (Vercellini ve ark.,2014). Endometriozisli hastalarda, ötopik endometriyum olarak isimlendirilen uterusun mukozal yüzeyinde ve tuba uterina mukozasında çok sayıda selüler ve moleküler anormalliklere rastlanmıştır (Bulun, 2009). Ayrıca peritoneal immün sistemde doğuştan gelen disfonksiyon olabileceği fikri ortaya atılmıştır. İnflamatuvar faktörlerin immün sistem, hormonlar, genetik ve epigenetik gibi faktörlerin de etkili olabileceği öne sürülebilir (Vercellini ve ark.,2014).

2.5.2. Çölomik Metaplazi Teorisi

Retrograd menstruasyon teorisi her ne kadar ikna edici olsa da 1960' lı yıllarda Ferguson ve arkadaşları tarafından Çölomik Metaplazi Teorisi öne sürülmüştür. Bu teoriye göre ise, periton ve plevrada yer alan çölomik epitel kaynaklı mezotelyal hücrelerde metaplastik değişiklikler olduğunu savunmaktadır (Ferguson ve ark.,1969). Vücutta meydana gelen çeşitli enfeksiyöz, hormonal ya da diğer tetikleyici ajanlar endometriozisin meydana geleceği metaplazi sürecini başlatabilmektedir. Yapılan çalışmalar pelvik periton, ovariumun germinal epiteli ve müller kanalların çölomik duvar epitelinden meydana geldiğini göstermiştir. Bu tür transformasyonlar ovaryum yüzeyinde meydana gelen endometriozisi açıklamaktadır (Çolgar, 2006). Endometriozis, yüksek doz östrojen tedavisi alan erkek hastalarda da nadiren de olsa

görülmüştür (Jabr ve Mâni, 2014). Bu durum, retrograd menstruasyon teorisi dışında çöloomik metaplazi teorisini destekler niteliktedir.

2.5.3. Vasküler ve Lenfatik Yayılım Teorisi

Vasküler yayılım teorisi Sampson tarafından bulunmuştur, 1924 yılında ise Halban Lenfatik yayılım teorisini öne sürmüştür. Bu teori, endometrial hücrelerin ekstrauterin alanlara kan damarları ve lenfatik sistem aracılığıyla ya da kontaminasyon ile yayılmaktadır (Menscher ve ark., 2008). Hugh Taylor ve ekibi tarafından ‘Metastatik’ mekanizma olarak isimlendirilen bir başka alternatifte, kemik iliğinden kök hücrelerin hematojen şekilde ektopik bölgelere geçmesi ve burada implante olması şeklinde tanımlanmıştır (Pluchino ve Taylor., 2016).

2.5.4. Direk İnvazyon Teorisi

Endometrial dokular epizyotomi, sezeryan ve diğer pelvik cerrahiler gibi işlemler sırasında doğrudan periton ya da skar doku hattına implante olması ile bilinir (Minaglia ve ark.,2007).

2.5.5. Endometriotik Hastalık Teorisi

Endometriotik hastalık teorisine (genetik- epigenetik teori)’ne göre, menstrual kanama ile implante olan endometrial dokular mikroskobik ve hafif denecek kadar az endometriozis olarak isimlendirilen ilerlemiş lezyonlar olarak kabul edilmiştir (Koninckx, 1994). Bu teori için, endometriozis teriminin kullanılması normal hafif endometriozis hücreleri tanımlamak için ifade edilirken; genetik açıdan anormal hücre ve klinik semptomları tanımlamak için ise endometriotik hastalık terimi kullanılmıştır. Bu lezyonların endometrioma, derin endometriozis olarak farklılaşması genetik değişikliklerle ilgili olabileceği fikrini ortaya çıkarmıştır. Lezyonlar normal hücre içerdiklerinde regrese olurlar, diğer anormal genetiğe sahip olanlar ise şiddetli şekilde hastalığa ilerleyebilir (Konnickx ve ark., 2016). Menstrual süreç boyunca uterus ve retrograd menstruasyon sonrası peritoneal kavitede gerçekleşen oksidatif süreçler genetik-epigenetik faktörler için potansiyel risk olma niteliğindedir (Konnickx ve ark., 2019). Pelvik ve vajinal enfeksiyonların da endometriozis ile ilişkili olabileceği görülmüştür (Kobayashi ve ark.,2014). Önceden var olan endometrial anormalilikler uterus dışında patolojik endometrial implantların büyümesini tetikleyebilir (Bulun ve ark., 2019).

2.5.6. Genetik Faktör

Endometriozisli hastaların, yakın dereceden akrabalarında endometriorize rastlama olasılığı akraba olmayanlara oranla yedi kat daha fazla olduğu gösterilmiştir. Genetik polimorfizmin endometriozis ile ilişkisi olabileceği fikrini belirtmektedir (Lebovic ve ark., 2001).

2.5.7.Kök Hücre Teorisi

Bu teoriye göre menstrüel dökülmeden hemen sonra endometriumun aylık yenilenmesi, doğum veya cerrahi kürtajlardan sonra endometriumun yeniden epitelizeasyonu bir kök hücre popülasyonunun varlığını destekler. Kök hücrelerin endometriumun bazal tabakasında yer aldığı düşünülmektedir. Son yapılan çalışmalarda ise insan endometriumundaki kök hücre popülasyonunu temsil ettiği düşünülen klonojenik hücreler tanımlanmış ve ektopik endometrial lezyonların oluşumuna katıldıkları öne sürülmüştür (Deane ve ark., 2013; Külekçi, 2023).

2.6. Endometriozis Epidemiyolojisi

Genel popülasyondaki endometriozis oranı kesin olarak bilinmemektedir. Jinekolojik muayene ile gelen hastaların %1'inde, sterilizasyon uygulanan hastaların %6-43'ünde, pelvik ağrı ile başvuran laparoskopi yapılan hastaların %32'sinde ve infertilite nedeniyle gelen bu sebepten laparoskopi yapılan hastaların ise %21-48'inde bu hastalık görülmektedir (Bieber ve ark., 2006). Dismenore ve kronik pelvik ağrı ile laparoskopi yapılan genç hastalarda ise bu oran %50 olarak tespit edilmiştir (Bieber ve ark., 2006). Endometrioziste yaş ırk ve sosyoekonomik durumun prevalansa etkisi hala tartışmalıdır. Ortalama yaş 25-35 arasındır. Nadiren de olsa postmenopozal kadınlarda da tespit edilmiştir (Bieber ve ark., 2006).

2.7. Endometriozisin Gelişimini Etkileyen Risk Faktörleri

Endometriozisin, birkaç üreme faktörü ile ilişkili olabileceği ve bu durumun hormonal çeşitliliklerden kaynaklı olabileceği düşünülmüştür (Parasar ve ark., 2017). İntrauterin dönemde steroid olmasada kullanılan Diethylstilbestrol (DES) 'a maruz kalan bireylerin endometriozis olma riskini daha çok taşıdığı belirtilmiştir. DES' e maruz kalmış intrauterin bireylerin, retrograd menstrüasyonda yükseliş yaşadığı ve immun sistem bozukluklarına neden olarak endometriozisi tetiklediği gösterilmiştir (Shafrir ve ark., 2018). Kısa menstrual döngüsü ve erken menarş endometrioziste gelişim riskini artırırken, pariteler ve oral kontraseptifler tam tersi etki göstermektedir. Erken yaşta

menarş ve nullipar olan kadınlarda yapılan çalışmada ektopik endometriyal dokunun gelişimini uyaran estradiol ve estron seviyelerinin yüksek olduğu görülmüştür (Parasar ve ark., 2017). Bazı raporlarda ise, beden kitle indeksinin düşük ya da az olan ve hiç çocuğu olmayan kadınların da endometriozise yakalanma riskinin fazla olduğu belirtilmiştir (Mehedintu ve ark., 2014).

Endometriozis, genetik açıdan bakıldığında da yatkınlık göstermektedir (Eisenberg ve ark., 2018; Aşçı ve Kocaöz, 2019). Etiyolojik açıdan oldukça karışık olan endometriozis hastalığının, %50' ye yakın genetik bileşene sahip olduğu tahmin edilmektedir (Borghese ve ark., 2017). Yapılan çalışmalarda anne ve kız kardeşi hasta olan bireylerde, endometriozis prevalansı yüksek bulunmuştur (Angioni ve ark., 2020).

Endometriozis ile ilgili yapılan bazı çalışmalar, SLE ve Sjogren gibi otomimmün hastalığa sahip kadınların normal popülasyonla kıyaslandığında eşit derecede endometriozis tanısı aldığı saptanmıştır. Farklı çalışmalarda ise, otoimmün hastalık, allerjenik durumlar, astım, hipotiroidi tanılı hastaların endometriozis şikâyeti ile gelme sıklığının da artmış olduğu saptanmıştır (Sinai ve ark., 2002; Matorras ve ark., 2007).

2.8. Endometriozisin Sınıflandırılması

Bu hastalığın sınıflandırılması laparoskopik cerrahi yöntemiyle yapılır. Endometriozis farklı evrelerde takip edilir ve evre genellikle ağrı ile ilişkili değildir, bazen erken evrede şiddetli ağrı görülürken, daha derin ve ileri evrelerde belirgin bir ağrı ve şikâyet olmayabilir. İnfertilite ağrıya oranla evre ile daha ilişkili bir kriterdir, endometriozis evresi arttıkça infertilite oranı da paralel olarak artar. Endometriozis evreleri ile ilgili günümüze kadar birçok değişiklik yapılmıştır. Bugün 1996 yılında American Society for Reproductive Medicine (ASRM) tarafından değiştirilen sınıflandırma kullanılmaktadır. Bu sınıflandırmaya göre endometriotik implantın boyutu, görüntüsü, peritoneal ovaryan implantların görünümü, derinliği, büyüklüğü ve yaygınlığı gibi faktörlere dayanır (Tablo 2.2.) (Canis ve ark., 1997).

Tablo 2.2. Amerikan Üreme Tıbbı Derneğinin Endometriozis Sınıflaması (Canis ve ark.,1997).

AMERICAN SOCIETY FOR REPRODUCTIVE MEDICINE REVİZE ENDOMETRİOZİS SINIFLANDIRMASI
ENDOMETRİOZİS 1985

Hasta Adı : _____ Tarih: _____

Evre I (Minimal): 1-5 Laparoskopi _____ Laparotomi _____ Görüntüleme _____
 Evre II (Hafif): 6-15 Önerilen Tedavi _____
 Evre III (Orta): 16-40 _____
 Evre IV (Şiddetli): >40 _____
 Toplam _____ Prognoz _____

Endometriozis	<1 cm	1-3 cm	>3 cm
periton			
yüzeysel	1	2	4
derin	2	4	6
over			
yüzeysel	1	2	4
derin	4	16	20
yüzeysel	1	2	4
derin	4	16	20
Posterior cul de sac obliterasyonu	Parsiyel 4	komplet 40	
over			
adhezyon	<1/3 tutulum	1/3-2/3 tutulum	>2/3 tutulum
film	1	2	4
dens	4	8	16
film	1	2	4
dens	4	8	16
Top			
film	1	2	4
dens	4	8	16
film	1	2	4
dens	4	8	16

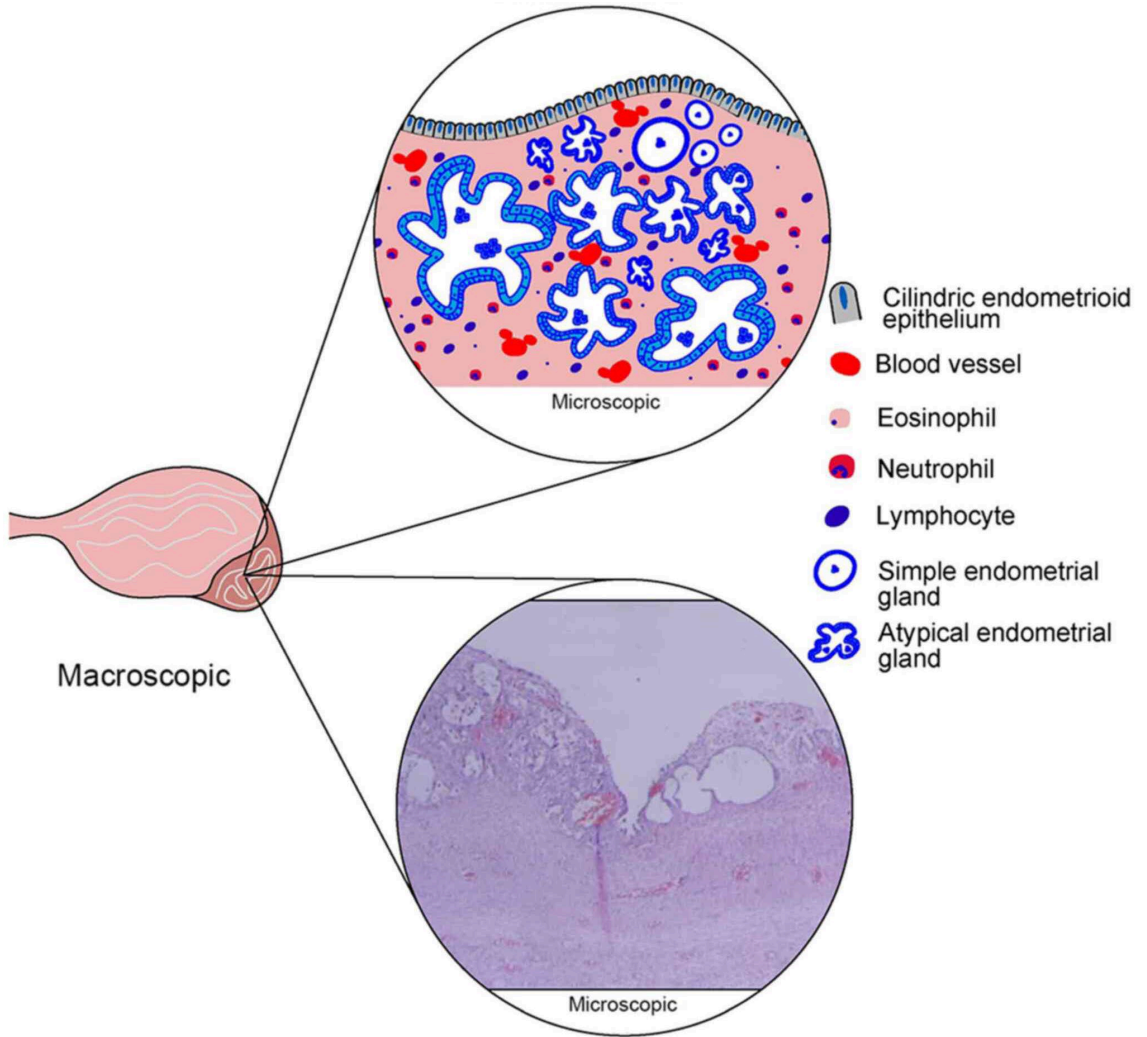
* Fallopian Tübün Fimbriyal Ucu Tamamen Kapalı İse 16 Puan Verilir.
 Endometriozis Varsa: _____ İlgili Patoloji _____



2.9. Endometriozis Histolojisi

Endometriozis histolojisi, endometriumdaki glandüler bez yapıları ve stromal yapıların uterus dışında bir dokuda yerleşmesi ile tanımlanmaktadır (Arafah ve ark., 2021). Erken dönem hastalarda periton yüzeyinde içi sıvı ile dolu berrak veziküller şeklinde görülmektedir. Bu veziküller hastalık ilerledikçe, etraflarında skar doku oluşturur ve bu görüntü tipik olarak barut saçması görüntüsü şeklindedir (Vermeulen ve ark., 2021). İmmun sistem hücreleri olan makrofajlar ve lenfositler bu bölgeye toplanırlar ve hemosiderin yüklü makrofajlar olarak bulunurlar. Burada histolojik olarak endometriozis için 3 temel bulgusu vardır. Bunlar; ektopik endometrial glandlar, ektopik endometrial stroma ve çevre dokularda meydana gelen kanama odaklarıdır.

İmmun sistem hücreleri, ektopik odaklara giderek burada salgıladıkları mediatörler ile fibrözis doku meydana gelir (Resim 2.5.). (Jansen ve Russel, 1986; Schenken, 2022).



Şekil 2.5. Endometriozisin mikroskobik özellikleri (Gaia-Oltean ve ark.,2021).

2.10. Endometriozisin Lokalizasyonu

Endometriozis, pelvik ve ekstrapelvik olmak üzere iki farklı lokalizasyonda görülebilir. Derin pelvik endometriozis subperitoneal invazyon derinliği >5mm olan endometriotik lezyonlar ve retroservikal, posterior vajinal, uterosakral ligaman, rektum, rektovajinal septum, vajina, üriner sistem (mesane, üreter) tutulumu yapan endometriozis tipi olarak tanımlanır. Olguların %5.3-12'sini oluşturmaktadır (Vercellini ve ark., 2007).

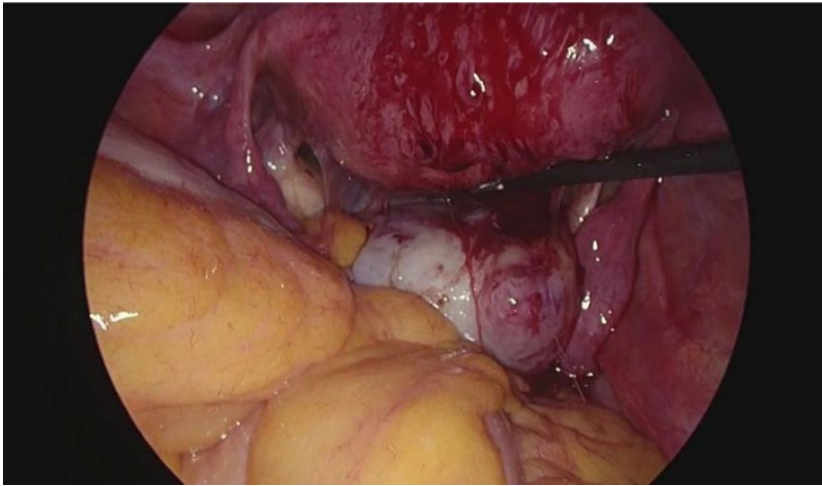
2.10.1 Pelvik Endometriozis

Pelviste genellikle overlerde ve peritonla kaplı excavatio rectouterina ile ligamentum sacrouterina'da bulunur. Genital sistem endometriozisinin en sık semptomları

dismenore (ağrılı menstruasyon) kronik pelvik ağrı ve infertilitedir (Matorras ve ark.,1995; Chinegwundoh ve ark.,1995). Pelvis endometrioz lezyonları üçe ayrılır;

Yüzeyel peritoneal: Yüzeyel lezyonların tipik olarak endometriyal bezleri ve stromayı içermesi beklenirken, bazı vakalarda histolojik olarak glandüler ya da stromal bileşenlerde farklılıklar ya da bu yapıların olmadığı da belirtilmiştir. Böyle bir durumda patolog tarafından tanı koymak oldukça zordur. Hücrelerin atipik değişiklikleri metaplazi durumu ve hormonal döngüdeki değişiklikler nedeniyle endometriyal gland yapıları bazen hiç olmayabilir ya da tipik morfolojik özelliklerinin aksine değişikliğe uğramış olabilir. Endometrial stromada, pigment içeren histiyosit infiltratları ve fibrozis gelişebilir (Schenken, 2022).

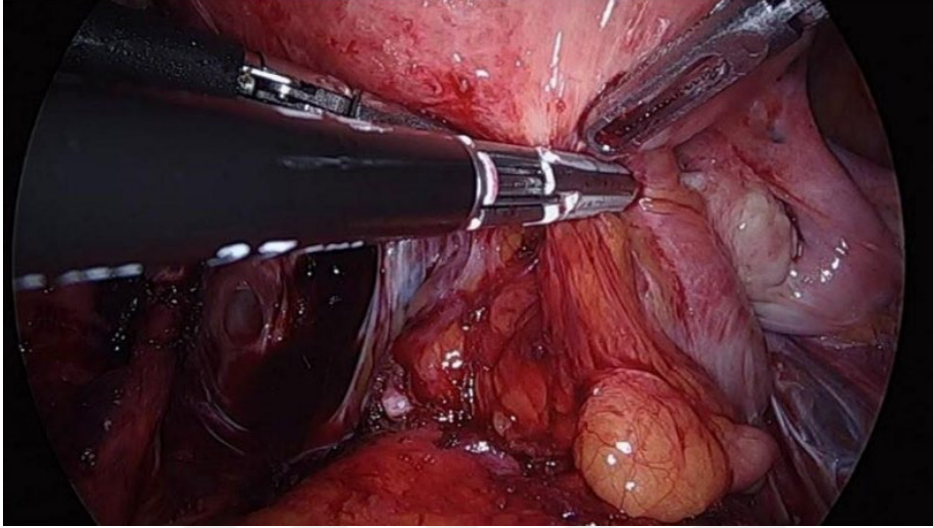
Ovaryan endometriozis: Uterus dışında implante olan endometriyal dokunun overlerde kistik yapılar oluşturması ile karakterizedir. Ovaryum içerisindeki ektopik endometriyal doku menstrüasyon sırasında kanayarak, inflamasyon başlatır ve duplike yumurtalık parankiması ile çevrili hematomatöz bir doku görülür (Schenken, 2022). Hemorajik kistlerden farklı olan endometriomalı bu dokularda dışarıdan bakıldığında fibrözis ve çevre dokularda adhezif bir görünüm izlenir. Bu kistler, yoğun hemosiderin biriktirmelerinden dolayı çikolata rengine yoğun bir kıvamdadır. Kistlerin etrafı ise endometrial glandlar ve stroma ile döşelidir (Ogawa ve ark., 2000; Schenken, 2022). (Resim 2.1.).



Resim 2.1. Ovaryan endometriozis (Op. Dr. Resul Karakuş'un izniyle) (Gülçiçek, 2023).

2.10.2. Derin endometriozis

Batın içerisinde periton boşluğu altında uzanan endometrium benzeri dokuya denir. Derin endometriozisle ilgili bazı tanımlamalarda peritonun 5 mm kadar derinine inen lezyonlar olarak literatürde yer almaktadır (Schenken, 2022). (Resim 2.2.).



Resim 2.2. Derin endometriozis (Doç. Dr. Çetin Kılıççı) (Gülçiçek, 2023).

2.10.3. Ekstrapelvik Endometriozis

Pelvis dışında bulunan endometriyotik lezyonlar olarak tanımlanmaktadır. Özellikle gastrointestinal sistem (GIS) de görülür. Sigmoid kolon, kolon decendes ve rektum ekstrapelvik endometriozisin sıklıkla tutulduğu bölgelerdir (Çolgar, 2006). Anterior excavatio rectouterina ve mesane üstü endometriozis tutulumunun görüldüğü periton bölgeleridir. Mesane duvarında hematüri ile karakteristik olabilir. Üreterde endometriozis alanları genellikle tek taraflıdır. Bazen semptom vermeyebilir ya da sıklık bir ağrı oluşturabilir. Çok ilerleyen durumlarda böbrek rahatsızlığına neden olabilir (Jubanyik ve Comite, 1997).

2.11. Endometriozis ve İmmunité

Endometriozis hastalığı ile önemli konulardan biri de bu hastalığın otoimmün bir hastalık olup olmadığıdır. Yapılan çalışmalar endometriozisin hem hücresel hem de humoral sistemde bazı değişikliklere yol açtığı gösterilmiştir (Zhang ve ark., 2010). Humoral bağışıklığın arttığı hücresel bağışıklığın ise azaldığı görülmüştür. IL- 1, 6, 8, VEGF, TGF-B ve kompleman sistemleri artarken; özellikle IL-2,4,12 EGF ve interferon gamanın herhangi bir değişikliğe uğramadığı, IL-3'ün ise azaldığı tespit edilmiştir. Bu değişikliklerin ana etkeninin endometriotik odaklardaki makrofajların olduğu

düşünülmektedir (Gülçiçek, 2023). Vinatier ve ark.'nın teorisine göre de problem hücrel ve humoral immünitededir. Bu hipotez endometriyal implant ve inflamatuvar hücrelerin peritoneal kaviteye ulaşmasını destekler ve implantların proliferasyonunu başlatan, kapillerlerin desteğine (vasküler endotelyal büyüme faktörü aracılığıyla) ve peritoneal inflamasyonun bu alandaki lökosit kemotaksisine yol açan değişik sitokinlerin sekresyonunu açıklar (Lebovic ve ark., 2001; Vinatier ve ark., 2001; Özcan, 2015). Kadınlarda peritoneal kaviteden endometrial hücrelerin temizlenme mekanizması henüz belirsizliğini korusada, bu sistemde NK (naturel killer) hücrelerinin de rol aldığı düşünülmektedir (Lebovic ve ark., 2001). Hastalığa sahip kadınlarda otolog ve heterolog endometriyal hücrelere karşı oldukça azalmış peritoneal ve periferel NK hücre aktivitesi ayrıca sitotoksite izlenmiştir. Yapılan çalışmalarda, endometriozisli olguların ötopik endometriumlarında kontrol gruplarına göre NK hücrelerini inhibe edecek daha fazla madde salgılandığı ve peritoneal ortamın NK hücreleri için uygunsuz hale geldiğini açıklamışlardır (Somigliana ve ark., 1996). Yine yapılan çalışmalardan elde edilen sonuçlarda görülmüş ki; endometriozis hastalığına sahip olmayan kadınların makrofajları küçük ve daha kısa ömürlü iken, endometriozis hastalığına sahip kadınların makrofajları daha büyük ve hiperaktif yapıdadır. Bu makrofajlar ise endometriozis gelişimini artıran büyüme faktörleri ile sitokinlerin salınımından sorumludur (Chmaj-Wierzchowska ve ark., 2015; Gülçiçek, 2023).

Endometriozis hastalığı inflamasyonunun asıl sorumlu hücresi TNF α fadır. Tümör nekroz faktör-alfa (TNF α), lenfositler, makrofajlar ve NK hücrelerinin ürettiği inflamatuvar sitokinlerdir. IL-1 tarafından TNF α 'nın yapımı için sinyal gönderilir ve ötopik endometrial epitel hücrelerinde eksprese edilir (Levi ve ark., 2003). Peritonda sıvı konsantrasyonu endometriozisi olan hastalarda artar ve bu durum hastalığın evresi ile de ilişkilidir. TNF α sayesinde, endometrial stromal hücreler mezotelyal hücrelere yapışır. Ayrıca endometriozisli hastalarda ektopik endometriumun peritona bağlanmasını kolaylaştırdığı da düşünülmektedir (Levi ve ark., 2003). İnflamasyon bu hastalığın ana nedenidir. Endometriozisli kadınların NK hücreleri endometriyal hücrelere karşı öldürücü özelliklerinin azaldığı gösterilmiştir Endometriozis olgularında IL-6' nin artan ifadesi Endometriotik odaklarda proliferasyonun artmış olabileceğini ve anjiyogenezin de başladığının göstergesidir. Anjiyogenez, Vasküler Endotelyal Growth Faktör (VEGF) etkisi altında gerçekleşir (Gilabert ve ark., 2007). VEGF hem fizyolojik hem de patolojik anjiyogenezde aktif rol oynayan kuvvetli anjionik faktördür. Ötopik

endometriumda ve ektopik endometriumda peritoneal sıvı makrofajları olarak bulunurlar (Özcan, 2015).

VEGF esas olarak endometrial glandlarda üretilir. Östrojen ve IL-1 de dahil olmak üzere birçok faktör ile VEGF üretimi artar. Endometriozisli hastaların peritoneal sıvılarında VEGF konsantrasyonları artmış ve bu hastalarda endometriozis ileri evre olarak bildirilmiştir (Gilabert ve ark., 2007).

Peritoneal sıvıda çok sayıda hücre bulunur. Bu hücrelerin yaklaşık %30-50 si lenfositlerdir. Lenfositlerin total sayısı endometriozis tanısı alan hastalarda daha yüksektir (Oosterlync ve ark., 1993). Yapılan çalışmalar endometriozisli olgularda peritoneal sıvı örneklerinde T supresörlere oranla artmış T helper toplulukları, artmış CD4: CD8 oranı bildirilmiş, bu kadınlarda artmış hücresel immun aktivite gösterilmiştir. Periferik kan lenfositlerinin endometrial antijen ve hücrelerle karşılaştıklarında düşük proliferasyon gösterdiği ve daha az yıkım yaptığı da gösterilmiştir (Dmowski ve ark., 1981; Özcan, 2015).

Hücresel immun yanıtın yanı sıra humoral immünite de değişiklikler söz konusudur. Antikor bağımlı immünolojik anormallikler genellikle B lenfosit fonksiyonlarında artış, poliklonal olarak B lenfosit aktivasyonu, endometrial antijenlere karşı gelişen IgG ve IgA artışı, peritoneal sıvıda komplemanların artışı, ektopik endometrium dokusunda IgG ve kompleman çoğalması, CA-125 ve serum transflerinin artışı ayrıca insan koryonik gonodotropin reseptörleri ile karnonik anhidraz enzimi artışı şeklinde izlenmektedir (Gülççek, 2023).

Sağlıklı kadınlarda, menstruasyon gerçekleşirken hücrelerin birçoğu programlı hücre ölümüne (apoptoz) uğrayarak yok olmaktadır. Endometriozisli kadınlarda ise, apoptoz mekanizması tam olarak bilinmesede menstruasyon hücrelerinin büyük bir kısmının apoptozise uğramadığı, canlı hücre sayısının arttığı ve fizyolojik olarak aktivitenin devam ettiği bildirilmektedir. Yapılan bir çalışmada, endometriozisli hastaların ötopik endometrial hücrelerinin geç sekretuar faz ve menstruasyon fazında hücre yıkımını kontrol eden apoptoza karşı dirençli olduğu gösterilmiştir. Ektopik endometrium ise apoptoza daha dirençli olabileceği bildirilmiştir (Dmowski ve ark., 2001). Endometriozis tanısı alan hastaların Bcl-2 anti-apoptotik genlerinin endometriyal dokulardaki ekspresyonunun arttığı ifade edilmiştir. Jones ve arkadaşlarının ektopik endometrium ile ilgili yaptıkları bir çalışmada endometrium hücrelerinde Bcl-2

sayısında ötopik dokularla kıyaslandığında anlamlı bir şekilde yüksek olduğu gözlemlenmiştir. Apoptoza direncin peritoneal kaviteye ulaşan endometrial hücrelerin yaşamasına uygun hale getirebileceği ve aynı zamanda makrofaj aracılı immun yanıtta ektopik endometriumun direncini açıklamaya yardımcı olabilecek sonuçlar da bulmuşlardır (Jones ve ark., 1998). Apoptoz mekanizması ve immünite ile ilgili ilişkide bir diğer hipotez ise Fas antijeni (Fas)- Fas ligand (Fas L) ekspresyon sistemidir. Fas L ekspresyonu yapan hücreler Fas bulunduran immun hücreler ile reaksiyona girdikten sonra Fas reseptörü olan immün hücrelerin apoptozise uğramasına neden olur. Makrofajlardan salınan büyüme faktörlerine ilişkin bir çalışmada platelet kaynaklı büyüme faktör (PDGF) ve transforming büyüme faktör- β 1'in (TGF- β 1) Fas L ekspresyonunu artırdığını fakat bazik fibroblast büyüme faktörünün (FGF) ise ekspresyonu etkilemediği saptanmıştır. Böylece immün hücreler Fas L reseptörü taşıyan endometrial epitel hücreleri bağladıktan sonra apoptozise uğrar ve endometrial epitelyal hücreler immün cevaptan korunur (Garcia ve ark., 1999).

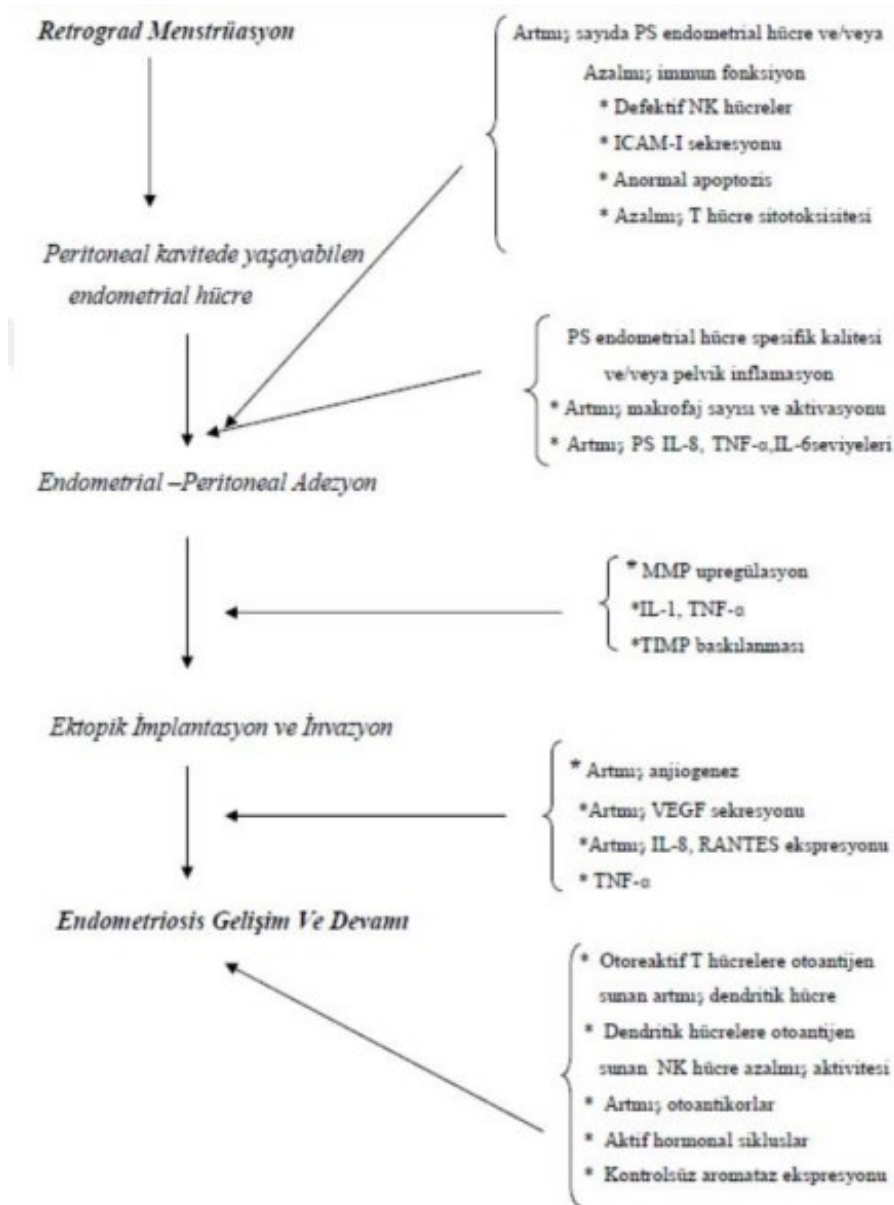
Endometriozisli hastalarla yaptıkları bir çalışmada endometriozis tanısı almış hastaların periton sıvılarında TNF α konsantrasyonu artmıştır ve bazı çalışmalarda artan TNF α konsantrasyonunun hastalığın evresi ile de paralellik gösterdiği bildirilmiştir (Braun ve ark., 2002).

Endometriozis ve immün yanıt çalışmalarında Matriks metalloproteinazlarla ilgili de çalışmalar yapılmıştır. Ekstraselüler matriksi yıkan enzimler matriks metalloproteinazlardır. Normal bir endometrium dokusunda bu moleküllerin ekspresyonları ovaryum hormonları tarafından kontrol edilir. MMP-1, MMP-3 ve MMP-7 seviyelerinin proliferatif fazda arttığı, sekretuar fazda ise azaldığı gösterilmiştir. Bu enzimler tümöral hastalıklarla da ilişkilendirilmiş ve endometriozisle ilişki olup olmadığına bakılmıştır. MMP aktivitesi progesteron hormonu etkisi altındadır. Fakat endometriozisli hastalarda bu moleküllerin ekspresyonları progesteron supresyonuna karşı dirençlidir (Rodgers ve ark., 1994; Osteen ve ark., 2003). Endometriozisli hastaların ötopik endometrium dokularında MMP-2 ekspresyonu artmış ve MMP inhibitör seviyesinin ise azalmış olduğu saptanmıştır. Başka bir çalışmada ise ötopik endometrial dokularda kontrol grubu endometrium dokusuna göre VEGF, MMP-1, MMP-9 ve angiopoitein 1 ve 2 ekspresyonları saptanmıştır (Resim 2.3.) (Özcan, 2015).

Normal şartlarda reflü olan endometrial hücreler ekstraselüler matrikse yapışmaz. Bu hücreler kendi adezyon reseptörlerinden farklı uyarılar alırlar ve apoptoza giderler.

İmmun yanıttan kaçma mekanizması, immunosit-endometrial implant etkilişimini protein sekresyonu yaparak engeller. Çözülebilir adezyon molekülü olan interselüler adezyon molekülü-1 (ICAM-1) bu sekresyonu yapan faktörlerden yalnızca biridir. ICAM-1 bir grup immün hücrede sentezlenen hücre yüzey proteini olan integrin için koreseptördür (Lebovic ve ark., 2001; Özcan, 2015). Endometriotik dokularda bakıldığında, endometriotik stromal hücrelerin ötopik endometriyal hücrelerle kıyaslandığında daha fazla çözülebilir oranda ICAM-1 salgıladıkları gösterilmiştir. Endometriotik doku kültürleri ESH kültürleri ile karşılaştırılmış ve ICAM-1 mRNA ve protein sentezinin de fazla olduğu bildirilmiştir (Defrère ve ark., 2005).





Resim 2.3. Endometriosis gelişiminde immünite (Özcan, 2015).

2.12. Endometriosisin Tanısı

Endometriosis şüphesi ile gelen tüm hastalara pelvik muayene yapılması önerilmektedir. Adölesan dönemde vajinal muayenenin yapılamadığı durumlarda rektal muayene yapmak endometriosis tanısı için yardımcı bir yöntemdir (Arslan ve ark., 2021). Her ne kadar klinik muayene yapılsa da endometriosis tanısı için kesin bir yöntem değildir. Vajinal muayene ağrısı, adnekslerde kitle, posterior fornikte nodül, uterus hareketsizliği gibi durumlar endometriosisin varlığını kanıtlayacak nitelikte özelliklerdir (Arslan ve ark., 2021).

Endometriozis tanımlamasında altın standart laparoskopi yöntemidir. Fakat mesane ve bağırsak yaralanmaları ayrıca pelvik bölgede yer alan damarların hasarlanmasına neden olabilmektedir (Garcia ve Rizek, 2010). Endometriozisin asıl tanısı ise cerrahi işlem sonrası alınan doku örneğinin histolojik olarak incelenmesiyle tamamlanır. Histolojik açıdan incelenen dokular lezyonlu, inflamasyon, fibrozisli stromal ve endometrial bezleri içermektedir (Kim ve Han, 2018). Elde edilen bulgular ise Amerikan Üreme Derneği (ASRM)'nin sistematik sınıflamasına göre evrelendirilmektedir. Evre I ve II'de hafif ve evre III ve IV'de orta ve ağır şiddetli hastalık olarak sınıflandırması yapılmaktadır (Baştu ve ark., 2012). Ultrasonografi (USG) ya da manyetik rezonans görüntüleme (MRI) yöntemleri de büyük kitleler şeklinde görünen endometriozis odaklarını tespit etmektedir (Kim ve Han, 2018). Yapılan literatür çalışmalarında 1 cm'den küçük endometrial implantların USG'de güvenilir bir şekilde tespit edilemeyeceğini vurgulamıştır (Arslan ve ark., 2021).

Endometriozis tanısı için kullanılan bir diğer belirteç ise serum Ca-125'tir. Serum Ca-125 yüksek molekül ağırlıklı bir glikoproteindir. Ovaryum kanseri hücre dizisine karşı oluşturulan bir antikor kullanılarak elde edilmiştir. Endometriozis, adenomyozis, pelvik inflamatuvar hastalıklar ve uterus fibroidler gibi hastalıklarda serum Ca-125 seviyesi artmaktadır. Bu değerin endometriozisten şüphelenilmesi için 35 U/ml olduğu belirtilmektedir (Garcia ve Rizek, 2010). Serum Ca-125 seviyesi endometriozis evrelerinde farklılık göstermektedir. Evre I ve II' de tanı için sınırlı seviyede Evre III ve IV' de ise daha olumlu sonuçlar ortaya koyduğu bilinmektedir (Garcia ve Rizek, 2010).

2022 yılında yayınlanan ESHRE (European Society of Human Reproduction and Embryology) nin Endometriozis kılavuzunda hastalarda yapılan Transvajinal ultrasonografik değerlendirme ya da çok iyi yorumlanan bir pelvik MR'ın da tanı için yeterli olabileceği uer almaktadır. Görüntüleme yöntemlerinin gelişmesi ile cerrahi biyopsilere ihtiyaç kalmayacaktır. Histopatolojik tanı için aşağıda belirtilen özelliklerden iki ya da daha fazlasının varlığı endometrioziste eşik kriter olarak değerlendirilmektedir (Schenken, 2022):

- Endometrial bez
- Endometrial yüzey epiteli
- Endometrial stromalar
- Hemosiderin yüklü makrofajlar

2.13. Endometriozisin Sınıflandırılması

Endometriozisle ilgili ilk sınıflandırma Sampson tarafından 1921 yılında hemorajik kist ve belirgin adezyon şeklindeki yapılar şeklinde tanımlanmıştır (Sampson, 1921). Acosta ve arkadaşları lezyonlarla ilgili lezyonun ne tarafta olduğu ve yayılımının hastalığının şiddetini ve cerrahi işleminin başarısını belirleyebileceğini önermiştir (Acosta ve ark.,1973).

1979 yılında Amerika *Fertilite Derneği (AFS)* (yeni ismi ile Amerikan Reprodüktif Tıp Derneği (ASRM)) tarafından endometriozisle ilgili ilk sınıflandırma sistemi önerildi. Bu sınıflandırma ile 1985 yılında *revize AFS (rAFS)* sınıflandırılması sunulmuştur (Schenken, 2022). Bu sınıflandırmaya göre:

- 1- Yaygın hastalık tanımı evre olarak değerlendirmeden çıkarıldı:
- 2- Tubal endometriozis tanımı ayrı bir kategori olmaktan çıkarıldı,
- 3- Hastalıklarda minimal hastalık kategorisi yapıldı,
- 4- Ovaryum ve peritonda hem yüzeysel hem de derin endometriozis tanımlaması yapıldı,
- 5- Posterior cul-de-sac obliterasyonu tanısı ile gelen hastalarda hastalık ileri evre olarak kabul edildi (Sofiyeva, 2016).

Bu sınıflandırmada 1996 yılında pelvik ağrı ile ilgili bilgiler de eklenerek yeniden revize edildi. Tüm revizyonlara rağmen rAFS sınıflandırmasının halen eksiklikleri vardır.

rASRM'ye göre endometriozisin evreleri:

Evre-1: Minimal hastalık, izole olmuş Endometriotik implantlar ile karakterize edilmiştir. Ve bu evrede ciddi dens yapışıklıkları yoktur.

Evre-2: Hafif endometriozis olarak tanımlanır. Total tutulum sahası özellikle 5 cm'den küçük olan ve periton ve overlerde dağılmış yüzeysel implantlardan oluşur. Önemli yapışma alanları yoktur.

Evre-3: Hastalık bu evrede orta derece olarak tanımlanmıştır. Hem yüzeysel hem de derinde derin invazif olmak üzere birden fazla tutulum yapmış bölgelerin varlığını ifade eder. Peritubal ve periovarian yapışıklıklar burada yoktur.

Evre-4: Hastalığın en şiddetli olarak tanımlandığı evredir. Büyük endometriomalar da dahil olmak üzere çok fazla sayıda yüzeysel ve derin implantlarla

karakterizedir. Dens yapışıklıklar evre 4’ te mevcuttur (Revised American 1997; Gülçiçek, 2023) (Resim 2.4.), (Resim 2.5.).

Gebelik prognozu ile ilgili yaklaşımlarda Endometriosis fertilite indeksi (EFI) kullanılmaktadır. Düşük EFI skoru varsa gebelik oranının düşük olduğu öngürüsüne inanılmaktadır.

Lezyonların morfolojik karakterizasyonları ile ilgili yapılan skorlama (ENZİAN) ise derin infiltratif endometriosis ve retroperitoneal tutulumu olan endometriosis için yapılan bir skorlamadır. Fertilite ve ağrı için yetersizdir. Genel jinekolojik pratikte kullanılmamaktadır (Gülçiçek, 2023).

**AMERICAN SOCIETY FOR REPRODUCTIVE MEDICINE REVİZE ENDOMETRİOZİS SINIFLANDIRMASI
ENDOMETRİOZİS 1985**

Hasta Adı : _____ Tarih: _____

Evre I (Minimal): 1-5 Laparoskopi _____ Laparotomi _____ Görüntüleme _____
Evre II (Hafif): 6-15 Önerilen Tedavi _____
Evre III (Orta): 16-40 _____
Evre IV (Şiddetli): >40 _____
Toplam _____ Prognoz _____

	Endometriosis	<1 cm	1-3 cm	>3 cm
periton	yüzeysel	1	2	4
	derin	2	4	6
over	yüzeysel	1	2	4
	derin	4	16	20
	yüzeysel	1	2	4
	derin	4	16	20
	Posterior cul de sac obliterasyonu	Parşiyel		komplet
		4		40
over	adezyon	<1/3 tutulum	1/3-2/3 tutulum	>2/3 tutulum
	fim	1	2	4
	dens	4	8	16
	fim	1	2	4
	dens	4	8	16
Tüp	fim	1	2	4
	dens	4	8	16
	fim	1	2	4
	dens	4	8	16

* Fallopian Tübün Fimbrial Ucu Tamamen Kapalı İse 16 Puan Verilir.

Endometriosis Varsa: _____ İlgili Patoloji: _____

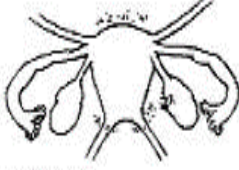
Normal Over ve Tupalarda



Anormal Over ve Tupalarda



Resim 2.4. rASRM sınıflandırması – 1 (Gülçiçek, 2023).

EXAMPLES & GUIDELINES		
STAGE I (MINIMAL)	STAGE II (MILD)	STAGE III (MODERATE)
		
PERITONEUM Superficial Endo = 1-3cm - 2 R. OVARY Superficial Endo = < 1cm - 1 Filmy Adhesions = < 1/3 - 1 TOTAL POINTS - 4	PERITONEUM Deep Endo = > 3cm - 6 R. OVARY Superficial Endo = < 1cm - 1 Filmy Adhesions = < 1/3 - 1 L. OVARY Superficial Endo = < 1cm - 1 TOTAL POINTS - 9	PERITONEUM Deep Endo = > 3cm - 6 CULDESAC Partial Obliteration - 4 L. OVARY Deep Endo = 1-3cm - 16 TOTAL POINTS - 26
STAGE III (MODERATE)	STAGE IV (SEVERE)	STAGE IV (SEVERE)
		
PERITONEUM Superficial Endo = > 3cm - 4 R. TUBE Filmy Adhesions = < 1/3 - 1 R. OVARY Filmy Adhesions = < 1/3 - 1 L. TUBE Dense Adhesions = < 1/3 - 16 L. OVARY Deep Endo = < 1cm - 4 Dense Adhesions = < 1/3 - 4 TOTAL POINTS - 30	PERITONEUM Superficial Endo = > 3cm - 4 L. OVARY Deep Endo = 1-3cm - 32* Dense Adhesions = < 1/3 - 8** L. TUBE Dense Adhesions = < 1/3 - 8** TOTAL POINTS - 52 *Point assignment changed to 16 **Point assignment doubled	PERITONEUM Deep Endo = > 3cm - 6 CULDESAC Complete Obliteration - 40 R. OVARY Deep Endo = 1-3cm - 16 Dense Adhesions = < 1/3 - 4 L. TUBE Dense Adhesions = > 2/3 - 16 L. OVARY Deep Endo = 1-3cm - 16 Dense Adhesions = > 2/3 - 16 TOTAL POINTS - 114

Resim 2.5. 1996 – rAFS (revize edilmiş AFS) sınıflandırma sistemi (devamı)
Endometriozisin farklı evrelerde tutulum şekilleri ve skora (Gülçiçek, 2023).

Daha sonra, tüm bu sınıflandırmaların geliştirilmesi ile Endometriozis Fertilite indeksi (EFI) cerrahi tanı ve tedavilerden sonra gebelik öngörüsünde daha doğru tanımlamalar yapabileceği konusunda bilim adamları tarafından kullanılmıştır (Resim 2.6.).

ENDOMETRIOSIS FERTILITY INDEX (EFI) SURGERY FORM

LEAST FUNCTION (LF) SCORE AT CONCLUSION OF SURGERY

Score	Description	Left	Right
4	= Normal		
3	= Mild Dysfunction		
2	= Moderate Dysfunction		
1	= Severe Dysfunction		
0	= Absent or Nonfunctional		

To calculate the LF score, add together the lowest score for the left side and the lowest score for the right side. If an ovary is absent on one side, the LF score is obtained by doubling the lowest score on the side with the ovary.

Fallopian Tube		
Fimbria		
Ovary		
Lowest Score		
Left	+	Right
		= LF Score

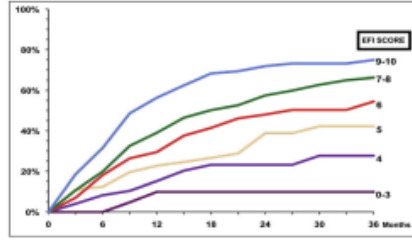
ENDOMETRIOSIS FERTILITY INDEX (EFI)

Historical Factors			Surgical Factors		
Factor	Description	Points	Factor	Description	Points
Age	If age is ≤ 35 years	2	LF Score	If LF Score = 7 to 8 (high score)	3
	If age is 36 to 39 years	1		If LF Score = 4 to 6 (moderate score)	2
	If age is ≥ 40 years	0		If LF Score = 1 to 3 (low score)	0
Years Infertile	If years infertile is ≤ 3	2		AFS Endometriosis Score	If AFS Endometriosis Lesion Score is < 16
	If years infertile is > 3	0	If AFS Endometriosis Lesion Score is ≥ 16		0
Prior Pregnancy	If there is a history of a prior pregnancy	1	AFS Total Score	If AFS total score is < 71	1
	If there is no history of prior pregnancy	0		If AFS total score is ≥ 71	0
Total Historical Factors			Total Surgical Factors		

EFI = TOTAL HISTORICAL FACTORS + TOTAL SURGICAL FACTORS:

Historical	+	Surgical	=	EFI Score

ESTIMATED PERCENT PREGNANT BY EFI SCORE



Resim 2.6. Endometriozis için fertilité skorlaması (Gülçiçek, 2023).

2.14. Endometriozis Tedavisi

Endometriozis hastalığının mevcut tedavilerinde hastaların semptomları ve hastalığın şiddeti, endometriotik odakların yeri, infertil hastaların fertilité ile ilgili istekleri gibi sorulara göre uygulanacak tedavi yöntemi belirlenmektedir (Gülçiçek, 2023). Endometriozisle ilgili tedavilerin tümünde kalıcı bir iyileşme söz konusu değildir. Yapılan çalışmalarda endometriozis hastalığı ile gelen hastalara yapılan total histerektomi ve bilateral salpingooferektomi olgularında bile hastalığın tekrarlama riski %10, yeniden endometriozis gelişme riski ise %4 olarak ifade edilmiştir. Bu sebepten dolayı endometriozis hastalığı tedavisinde asıl amaç var olan semptomların giderilmesi, cerrahinin en aza indirilmesi ve fertilité özelliğinin korunmasıdır. Birkaç çeşit tedavi yöntemleri mevcuttur. Bunlar; bekleme (izleme), hormonal, cerrahi ve medikal cerrahinin birlikte kullanılması olarak verilebilir (Gülçiçek, 2023).

Bekleme (izleme) yöntemi: Birçok hastada yakınmalar izlem yönteminin seçilmesi için engel teşkil edebilir. Bu yöntemin kullanılabilmesi için seçilmiş hastaların olması gerekmektedir. Östrojen bağımlı bir hastalık olan endometrioziste hastanın semptomları minimal ya da asemptomatik ve hasta perimenapozal dönemde ise klinik olarak takip önerilebilir. Menapoza girme durumu ile hormonlardaki düşüş endometrioziste kliniğin azalmasına yol açmaktadır (Gülçiçek, 2023).

Medikal Yöntemler: Gelen hastanın gebelik istemesi, şu anda semptomu olması ve minimal hastalığın ilerisinde endometriozis tanısı alarak raporize edilmiş hastalar olmasıdır. Ektopik endometriumdaki gland ve stromalar endojen ve eksojen hormonlara duyarlıdır. Bu sebepten endometriumdaki atrofi oluşturacak ilaçlar ile endometriozisin baskılanması amaçlanmaktadır. Böylece non steroidal anti inflamatuvar ilaçlarla beraber konbine oral kontraseptifler verilmektedir. Medroksiprogesteron asetat (MPA) ve cilt altı implantlar ile gonodotropin salınımı ile ovaryan streoidleri baskılanır. Endometriotik odaklar doğrudan etkilenir. Örneğin Danazol ile hem FSH hem de LH baskılanabilir böylece östrojen üretimi gerçekleşmez ve endometrial atrofi meydana gelir. Gonodotropin salgılatıcı hormon (GnRH) agonistleri kullanılarak da medikal ooferektomi yapılır (Practice Committee of the American Society 2008). İnfertilite şikâyeti ile gelen hastalarda ilk olarak hormon baskılayıcı ilaçlar tercih edilmemektedir. Bu nedenle bu hastalarda medikal tedavilerden daha çok cerrahi tedaviler ve yardımcı üreme teknikleri kullanımı daha uygun olacaktır (Practice Committee of the American Society 2008; Gülçiçek, 2023).

Cerrahi Tedavi Yöntemleri: Hastalığın seyri cerrahi işlemlerle yavaşlatılabilir. Yara adezyonlarının giderek normal anatomisinin sağlanması, görünürü tüm lezyonların mümkün olduğu kadar çıkartılması ya da tamamen ortadan kaldırılması ve sonuç olarak hastalığın tekrarının önüne geçilmesi cerrahi tedavinin asıl amacıdır. Hastanın klinik seyrine göre laparoskopi ya da laparotomi ile cerrahi müdahale yapılabilir (Bieber ve ark., 2006). Endometriozis, cerrahi yöntem konservatif ve ekstirpatif olarak iki yöntemle karşımıza çıkmaktadır:

Konservatif tedavi yönteminde fertilite ile bağlı olarak görünür belirgin endometriotik lezyonların eksizyonu, koterizasyonu ya da ablasyonu ile hastalıklı bölgenin anatomik yapısının normalleşmesini sağlamak ve gebelik durumuna karşı hazırlıklı bir rekonstrüksiyon sağlamayı hedeflemektedir. Operasyon öncesinde ve

sonrasında medikal tedavi ile destek sağlanır. Bu yöntemin başarılı olmasını etkileyen unsur hastalığın evresi ve cerrahın deneyimidir (Gülçicek, 2023).

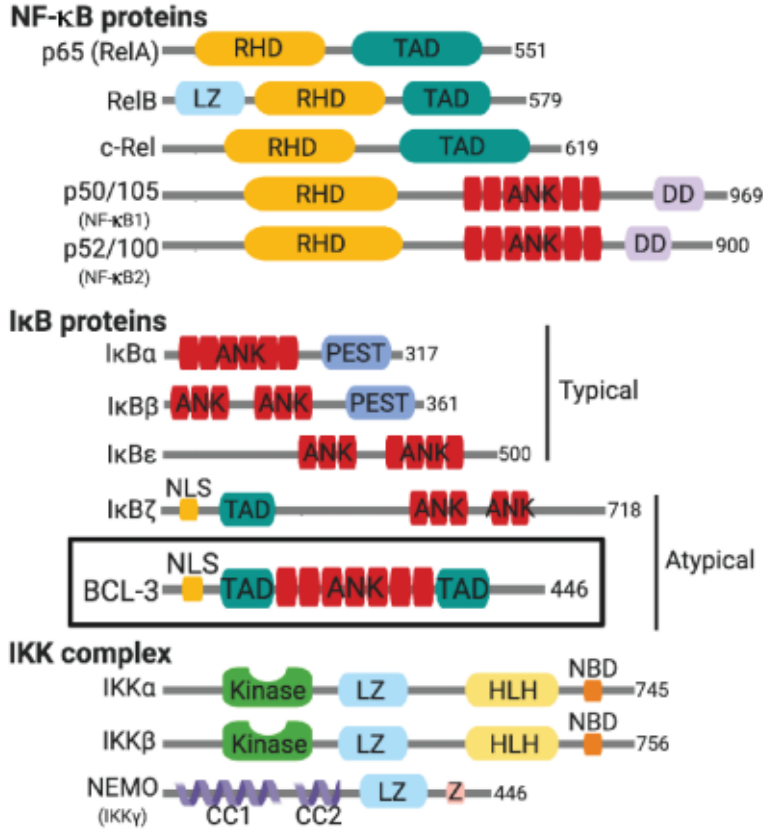
Ekstirpatif cerrahi yönteminde ise fertilité arzusu kalmamış, tüm medikal tedavilere rağmen yanıt alamamış yaygın hastalık şemasını kapsamaktadır. Kesin cerrahide total histeroktomi, bilateral salpingooferektomi, Endometriotik nodüllerin eksizyonu ve endometriotik implantların çıkartılması şeklindedir. Bazı durumlarda overlerin bırakılması söz konusu olabilir.

Derin infiltratif endometriozisli hastalar için uygulanan tedavi lezyonların lokalizasyonlarına bakılarak yapılır. Bağırsak ya da üriner semptomların ciddiyetine bağlı olarak hastanın hayat kalitesine etkisi ve hastanın tercihine göre yapılmalıdır (Tarjanne ve ark., 2009; Bingöl ve ark., 2021). Derin endometriozisi olan asemptomatik hastalara ise ekspektan yaklaşımı önerilmektedir (Gülçicek, 2023). Disparoni, dismenore ve diskezis gibi hastaların hayat kalitesini düşüren şikayetlerle gelen hastalarda medikal hormon supresyonu önerilmektedir (Zito ve ark., 2014).

2.15. NF-κB Sinyal Yolu

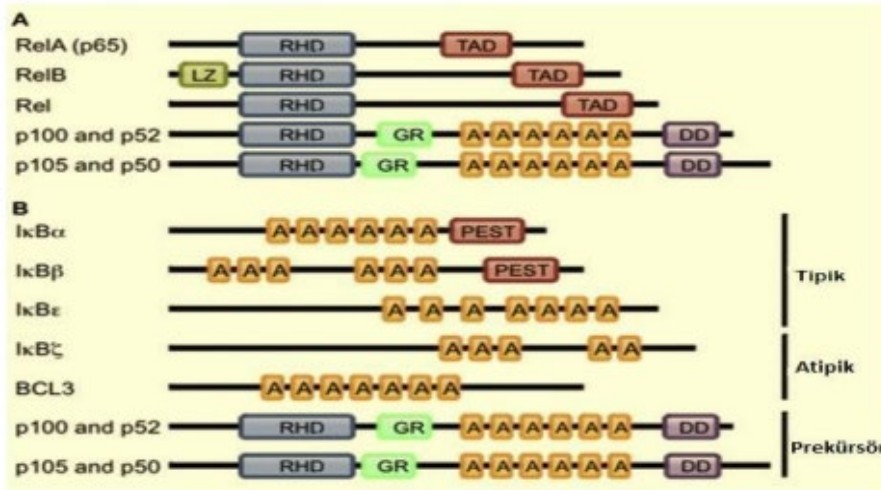
Nükleer faktör kappa B, bir hücrenin sitoplazmasında ortaya çıkan bağışıklık ve büyüme genlerinin ekspresyonunu düzenleyen transkripsiyon faktörüdür (Wu ve ark., 2018). Çok çeşitli biyolojik süreçlerde, özellikle immun sistemi yanıtlarının kontrol edilmesinde yer alan sayısızca genin ekspresyonunu düzenleyen uyarılabilir transkripsiyon faktörü olarak tanımlanmaktadır (Schmitz ve ark., 2004; Zinatizadeh ve ark., 2021). NF-κB proteinleri, hücre proliferasyonunu hızlandırabilen, apoptozu inhibe edebilen hücre göçünü ve invazyonunu teşvik edebilen anjiyogenez ve metastazı uyaran ayrıca doğuştan gelen uyarılabilir immun yanıtların anahtar düzenleyicileridir. NF-κB'nin aktivasyonu, viral ve bakteriyel enfeksiyonlar, nekrotik hücre ürünleri, DNA hasarı, oksidatif stres ve proinflatuar sitokinler tarafından hızlı ve geçici olarak indüklenir (Taniguchi ve Karin, 2018).

NF-κB'nin keşfinden bu zamana kadar, NF-κB1 (p50/p105), NF-κB2 (p52/p100), RelA (p65), c-Rel ve RelB içeren 5 üyesi tanımlanmıştır (Şekil 2.6.). NF-Kb'nın her üyesi DNA bağlanma ve dimerizasyonundan sorumlu N- terminali REL Homoloji alanından (RHD) oluşur. Bu yapıların her biri yapısal olarak bağlantılıdır (Legge ve ark., 2020) (Şekil 2.6.).



Şekil 2.6. NF-κB sinyalizasyonun temel bileşenleri (Legge ve ark., 2020).

P105 (NF- κB 1) ve p100 (NF- κB 2) prekürsör (öncül) moleküller olarak bilinir ve bu iki prekürsör molekülden C-terminal transkripsiyon domaininin (TAD) aktivasyon tekrarlarının çıkarılmasıyla diğer proteinler oluşmaktadır (De Luca, 2020). Bu beş proteinin hetero ve homodimerik eşleşmeleri ile aktif hale gelirler ve en yaygın kombinasyonu p65/p50 heterodimerik kompleksidir (Moussaieff ve ark., 2007; Taniguchi ve Karin, 2018). NF-κB transkripsiyon faktörlerinin N terminalleri her diziye özgü DNA bağlanması ve translokasyonundan sorumlu Rel homoloji domaini (RHD) içerirken, C- terminalleri ise transkripsiyonel aktivasyondan (RelA, c-Rel ve RelB) ve inhibisyonundan (p105 ve p100) sorumlu alanları içermektedir (Şekil 2.7).



Şekil 2.7. NF- κB protein ailesi üyeleri ve yapısı (A) NF- κB aile üyeleri proteinleri ve fonksiyonel alanları. Transaktivasyon domaini (TAD) yalnızca RelA, RelB ve RelC’ de bulunmaktadır. p50 ve p52, IκB’ler gibi ankirin tekrar bölgelerine (ANK) sahiptir ve IκB’ler bu bölgelere bağlanır. Fosforilasyon bölgesinde bulunan İki serin rezidüsü ve ubiquitinasyon bölgesinde bulunan lizin rezidüleri, p52'yi üretmek için p100 işlemine katılmaktadır. (B) IκB ailesi üyeleri. Uyarılmamış hücrelerde NF-κB üyeleri IκBα, β ve ε ile bağlanarak sitoplazmada inaktif kompleks halinde tutulmaktadır (Zinatizadeh ve ark., 2021).

NF- κB’ nin her üyesi TAD’ın varlığı ya da yokluğu ile yapısal olarak daha çeşitli alt gruplara ayrılabilir. RelA, c-Rel ve RelB’den oluşur. Rel alt grubu, DNA’ya direkt bağlanamayacak şekilde TAD’leri içermeyen NF-κB 1 ve 2’nin tam aksine her bir protein sentez doğrultusunda transkripsiyonel olarak aktif olduğu anlamına gelen TAD’leri içermektedir. Aktif olmayan NF-κB1 ve NF-κB2, sırasıyla p105 ve p100 ‘ün öncül formları şeklinde sentezlenir. Proteozom tarafından daha olgun formlara (p50 ve p52) proteolize edilir. P50 ve p52 hemen sonra homodimeri oluşturamayan RelB’den farklı olarak NF-κB ‘nin diğer üyelerini oluşturabilirler. Çok çeşitli dimer kompleksleri oluşur ve inhibitör kabba B (IκB) ailesi proteinleri ile etkileşime girerek sinyal yolunu inaktive edebilirler (Kim ve ark., 2006; Perkins, 2007).

2.16. NF-Kb P65:P50'nin Uyarılmış Aktivasyonu

Kanonik yol tarafından aktive edilen ve en çok bulunan NF-κB formu, p50 ve p65 'in heterodimeridir (Giridharan ve Mythily, 2018). Tipik olarak, İnhibitör Kappa Kinaz (IKK)’ nın NEMO'ya bağımlı aktivasyonu ile tetiklenen, IκB proteinlerinin

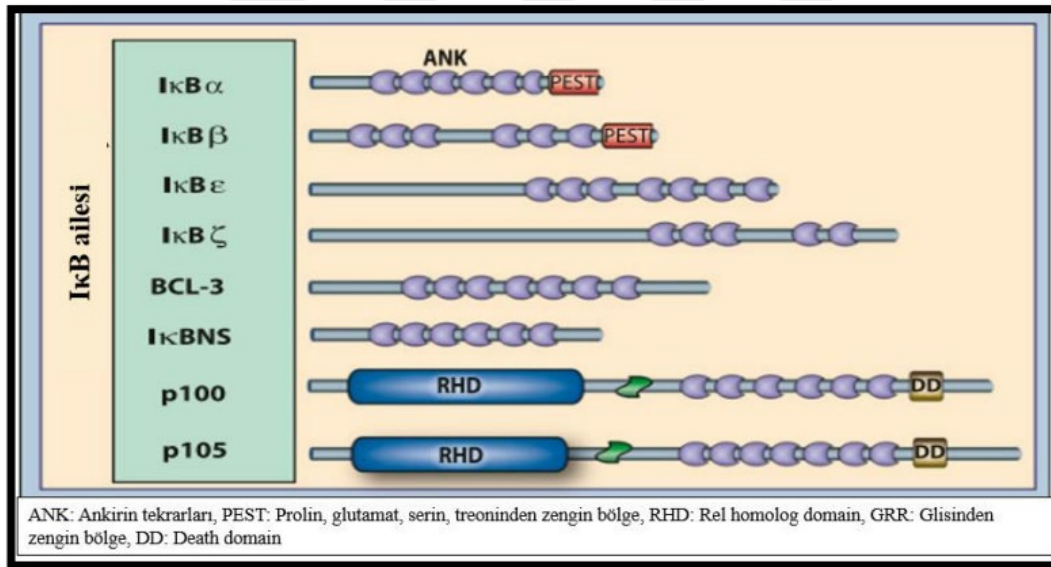
fosforilasyonu, ardından proteozomlar tarafından ubiquitinasyon ve bozunma gerçekleşir; bu da inhibitör kompleksin NF- κ B p65:p50 dimerlerini serbest bırakmasına yol açar (Christian ve ark., 2016). Farklı uyarıcılara yanıt olarak p65'in indüklenen aktivasyonu genellikle geçicidir; ancak, hücrel proliferasyon, inflamatuvar sitokinler, kemokinler ve apoptoz araçları gibi çeşitli aktivitelerdeki hedef genlerin transaktivasyonunu düzenlemek için yeterlidir (Baldwin, 2012). İndüklenen p65 fosforilasyonu, çeşitli uyarıcılara yanıt olarak hem sitoplazmada hem de çekirdekte meydana gelebilir. Fosforilasyon, adenosin trifosfatın γ -fosfatını hedef proteinin serin (Ser), threonin (Thr) veya tirozin (Tyr) kalıntısının hidroksil grubuna aktaran protein kinazlar aracılığıyla gerçekleşir. NF- κ B p65, RHD ve TAD'de dağıtılan birçok Ser ve Thr kalıntısına sahiptir. Bireysel Ser/Thr/Tyr'in çoklu kinazlarla fosforilasyonu, genleri işleyen ve bağlama bağlı fonksiyonel yanıtlara aracılık eden heterojen bir modifiye NF- κ B p65 havuzu oluşturur (Giridharan ve Mythily, 2018). Uyarılmamış hücrelerde, IKK ϵ veya glikojen sentaz kinaz 3 β tarafından aracılık edilen p65'in TAD bölgesindeki Ser-468 fosforilasyonunun, bazal NF- κ B aktivitesini negatif yönde düzenlediği gösterilmiştir. Thr-505'in kontrol noktası kinaz 1 tarafından fosforilasyonu, DNA hasarı ile NF- κ B aktivasyonu arasındaki çapraz konuşmanın bir aracı olarak tanımlanmıştır (Ryo ve ark., 2003). P65-TAD'deki Ser-536, IKK kinazları, RSK1 ve NF- κ B aktivatörü (TANK) bağlayıcı kinaz 1 (TBK1) dahil olmak üzere birçok kinaz tarafından fosforile edilir (Viatour ve ark., 2005). Çekirdekteki p65'in metilasyonunun, lokal kromatin yeniden modelleme mekanizması aktif olduğunda spesifik promotörlere bağlanmayı potansiyel olarak kolaylaştırdığı ileri sürülmüştür (Lu ve Stark, 2015).

Bir histon metiltransferaz olan Set9'un, Lys314 ve Lys315'te p65'i metilleme yeteneğine sahip olduğu ve DNA'ya bağlı p65'in her yerde bulunmasını ve bozunmasını indükleyerek NF- κ B fonksiyonunu negatif olarak düzenlediği gösterilmiştir (Lu ve Stark, 2015). Bununla birlikte, Lys37'nin Set9 tarafından veya Lys218 ve Lys221'in nükleer reseptör bağlayıcı SET alanı içeren protein 1 (NSD1), bir histon H3K36 metiltransferazı tarafından metillenmesi, p65'in güçlendiricilere bağlanmasını stabilize ederek transkripsiyonel aktiviteyi artırır. Lizin kalıntıları dışında, Arg 30'un protein arginin metiltransferaz 5 (PRMT5) tarafından demetilasyonunun p65'i aktive ettiği gösterilmiştir; bu hem lizin hem de arginin kalıntılarının metilasyonunun NF- κ B aracılı transkripsiyonel aktiviteyi düzenlediğini düşündürmektedir. Özetle, ardışık transkripsiyon sonrası modifikasyonlar NF- κ B aktivitesinin gücünü ve süresini modüle eder, hedef gen

spesifikliğine katkıda bulunur ve böylece biyolojik tepkileri düzenler (Wei ve ark., 2013).

2.17. IκB Ailesi

Sitoplazma içerisinde, NF-κB ile etkileşime girerek NF-κB 'nin aktivasyonunu değiştiren bir inhibitör aile tanımlanmıştır (Kaltschmidt J ve Kaltschmidt B, 2021). Bu ailenin üyeleri sekiz büyük gruptan oluşan IκBα, IκBβ, IκBε, IκBζ, Bcl-3, IκBNS (IκBδ) ile p100 ve p105 prekürsör proteinleridir. Bu proteinlerin ilk üçü tipik IκB'ler olarak adlandırılırken spesifik olarak dalakta (IκBα ve IκBε), testiste (IκBβ ve IκBε), timusta (IκBα) ve akciğerde (IκBε) şeklinde bulunmaktadır (Hinz ve ark., 2012; Karasu, 2022). İnhibitör protein ailesi spesifik olarak protein/protein etkileşim domaini olarak isimlendirilen çoklu ankirin tekrarlarına sahiptir. Sitoplazmik IκB inhibitörleri bazal NF-κB/DNA bağlanma bölgesi ile aktivasyonu inhibe ederek uyarılara cevap veren NF-κB'ler ile sitoplazmik kompleksler oluşturmak için çalışır (Hinz ve Scheidereit, 2014) (Şekil 2.8.).



Şekil 2.8. IκB ailesi üyeleri (Hinz ve Scheidereit, 2014; Karasu, 2022).

Küçük ubiquitin ilgili değiştirici (SUMO) modifikasyonuna uğradığı bilinen ilk inhibitör protein IκBα'dır. Bu protein serin 32 ve serin 36'nın fosforilasyonu ile degrade olur böylece NF-κB aktivasyonunu başlatır ve hücre dışı sinyallere cevap vererek hücresel aktivasyonun sürdürülmesini sağlar (Şen ve ark., 2017). P65/p50 heterodimerleri dinlenme evresinde öncelikli olarak IκBα ile bağlantısını koparmış olup IκBα'nın

proteozom yoluyla uyaran aracılı degradasyonu p65/p50 'nin nükleer translokasyonu ve DNA bağlanması için önemlidir (Hayden ve Ghosh, 2012).

I κ B α ve I κ B β gibi tipik I κ B'ler, NF- κ B'yi sitoplazmada tutabilmek için NF- κ B nin nükleer lokalizasyon dizisini (NLS) bloke eder (Song ve Li, 2021). NF- κ B/I κ B α kompleksleri hücresel stimülasyonun yokluğunda bile çekirdeğe girerek aktive olabilir. Bu sebepten I κ B α , böyle komplekslerin sitoplazmaya hızlı bir şekilde geri girmesine neden olan bir sinyal gönderir. Bu sinyal nükleer eksport sinyal (NES) olarak isimlendirilir (Hayden ve Ghosh, 2012). I κ B α -p65/p50 kompleksi ile ilgili yapılan kristalografik yapısal analizler sonucunda I κ B α molekülünün P65 proteinindeki nükleer lokalizasyon dizisini maskeleyiği fakat p50 deki dizinin açık kaldığını göstermiştir (Huxford ve ark., 1998; Karasu, 2022). I κ B α , p65/p50 komplekslerine p65/p65 komplekslerine göre daha yüksek affinite göstermektedir. RelB ise özellikle p100'e Bcl-3 ve I κ B ζ ise p50 ve p52 homodimerlerine bağlanır. I κ B α gibi tipik I κ B'ler özellikle öncü protein p100 ile etkileşime giren RelB'ye bağlanması söz konusu değildir (Hoffmann ve ark, 2006; Hinz ve Scheidereit, 2014).

I κ B ϵ ; p65/p65 ve c-Rel/p65 komplekslerini selektif olarak regüle eder. I κ B ϵ NF- κ B geciken gen aktivasyonunu c-Rel/p65 yoluyla baskılanmaktadır. Bu protein özellikle hematopoetik hücrelerde eksprese olmaktadır ve hematopoetik hücre dizilerinde selektif defektler I κ B ϵ kaybı sorunları ile de ilişkili olabilir. B hücre gelişiminde p65 ve c-Rel içeren NF- κ B komplekslerinin düzenlenmesinde rol oynar (Karasu, 2022).

Bcl-3 atipik I κ B proteinidir. Görevi tam olarak anlaşılmasa da nükleusta bulunduğu bilinmektedir. P/50 ve p52 proteinlerinin homo ve heterodimerleri etkileşim kurabilirler. Bcl-3, NF- κ B dimerlerini DNA' ya bağlı şekilde stabilize ederek transkripsiyonel olarak aktif dimerleri DNA'ya bağlanmaktan alıkoyar. NF- κ B inhibitörü gibi davranabilir (Perkins, 2007).

I κ B ζ proteini p50 koaktivatörü olarak davranarak p50 homodimerleri ile etkileşir ve p65 içeren kompleksleri negatif yönde regüle ederek NF- κ B aktivitesini selektif olarak etkiler. I κ B ζ dışındaki diğer atipik I κ B'lerin aktivasyonu çeşitli hücrelerde farklılık gösterir. Bazen çok düşük ekspresyon seviyeleri gösterir. Fakat NF- κ B indükleyici ajanlar yardımıyla hücresel stimülasyon üzerine önemli ölçüde artış gösterir (Karasu, 2022).

NF- κ B 2 olarak bilinen p100 proteini, p52'nin prekürsörüdür. Her ikisinde NF- κ B alt birimlerine bağlanabilirken p52 yalnızca DNA'ya bağlanır. Henüz uyarılmamış hücrelerde p100; p52'ye dönüştürüldüğü ya da p52 gibi davrandığı bir proteozomal işleme girer. RelB, p100 ya da p52 ile etkileşmekte olup stabil olmak için p100 proteinin bağlanmasına ihtiyaç vardır. RelB'nin p100 ile selektif bağlanmasının sonucunda ise belirli bazı dokularda p100'ün devamlı olarak işleme süreci RelB/p52 dimerleri üretimini ve bazal NF- κ B aktivasyonunu tetikleyici olabilir. Böylece p100'de bir artış gözlenir ve dolayısıyla p52'de artar. Bu durum RelB/p52 kompleksinin artmasına yol açar. P100'ün artışı kanonik yolda NF- κ B kompleksine bağlanması, IKK'yı aktif hale getirecek sinyaller üzerinden NF- κ B kompleks aktivasyonunu sağlayacaktır (Qing ve Xiao, 2005).

NF- κ B 1 ya da p105, NF- κ B'nin alt prekürsörü olmasının yanında NF- κ B dimerlerine bağlanıp sinyal aracılı fosforilasyon ve degradesyon ile tipik bir I κ B proteini gibi davranır. Uyarılmamış hücrelerde ise p105, p50'ye dönüştürüldüğü bir proteozomal işleme tabi olur (Hayden ve Ghosh, 2012). Son yapılan çalışmalarda T hücre reseptörü; TCR aracılı p105 fosforilasyonunun optimal şartlarda TCR kaynaklı NF- κ B aktivasyonu ve olgun CD4+T yardımcı hücre fonksiyonu için ön koşul olabileceği ifade edilmiştir (Karasu, 2022).

P105 ve p100, NF- κ B dimerleri üzerinde düzenleyici rol aldığı bilinmektedir. NF- κ B alt birimleri ile birleştiklerinde yüksek molekül ağırlıklı kompleksler meydana getirirler. NF- κ B bu komplekslerin sinyalizasyonu ile harekete geçerek aktivasyonu uyarabilir ya da dimerlerin baskılanmasını sağlayabilir (Savinova ve ark., 2009). P50 ve p53 Rel alt birimleriyle heterodimerler oluşturabilir bu dimerlerin oluşması durumunda her bir alt birim sitoplazmik retansiyona maruz kalır. DNA bağlı p50 ve p52 homodimerleri ise Kb bağlı transkripsiyonu baskılar. Bu durumda transkripsiyonel olarak aktif haldeki NF- κ B dimerleri Kb bağlı bölgelerde etkileim yapamaz (Savinova ve ark., 2009; Karasu, 2022).

Son yıllarda yapılan çalışmalarda yeni bir I κ B molekülü tanımlanmıştır. I κ B η , I κ B β ile yüksek homolojiye sahip bir I κ B molekülüdür. Yapısal olarak çok çeşitli hücre tiplerinde eksprese olduğu ama ağırlıklı olarak çekirdekte bulunduğu tespit edilmiştir. Diğer atipik I κ B moleküllerrinin aksine bu molekül TLRs sinyali üzerine etki etmektedir. Yapılan araştırmalarda, I κ B η 'nin tercihen p50'ye bağlandığını gösterilmiştir (Hinz ve ark., 2012).

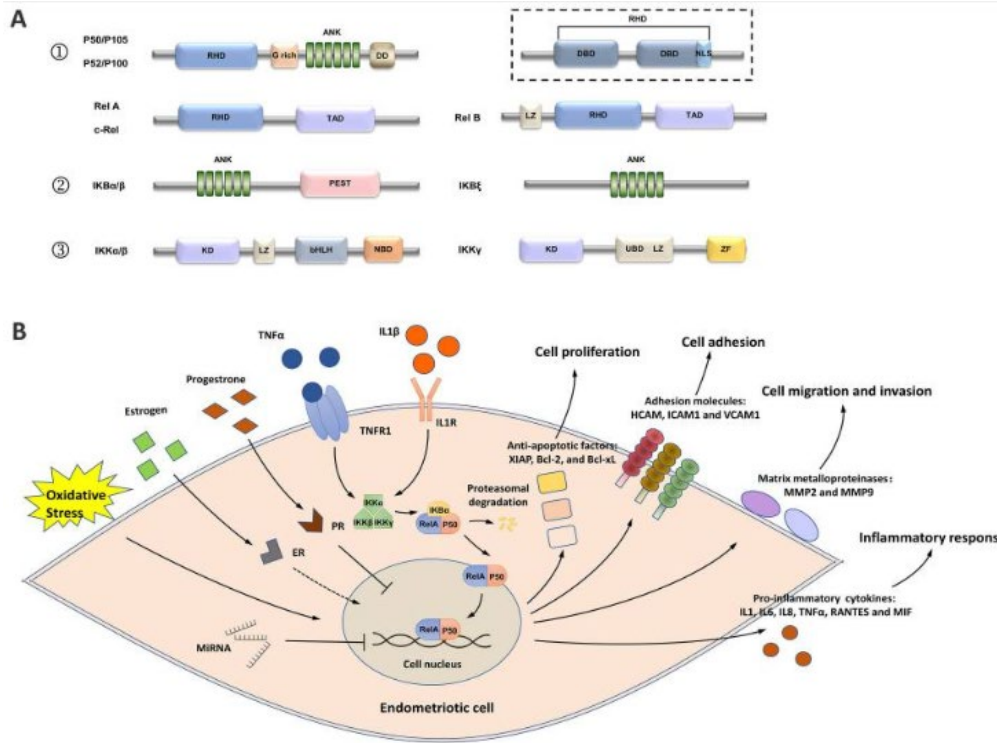
2.18. NF-κB Regülasyonu

NF-κB transkripsiyon faktörlerinin N-terminalleri her diziye özgü DNA bağlanması ve translokasyondan sorumlu bir Rel Homoloji domaini (RHD) içerirken, C-terminalleri transkripsiyonel aktivasyondan (RelA, c-Rel ve RelB) ve inhibisyonundan (p105 ve p100) sorumlu bölgeleri içermektedir. RHD inhibitör kappa B (IκB) ile dimerizasyon gerçekleştirir, interaksiyon ve DNA'ya bağlanmak için gereklidir (Zinadizadetch ve ark., 2021). Bu sinyal yolağı molekülleri, DNA elemanları ile kompleksler oluşturarak, doğuştan gelen bağışıklık, organ gelişimi, embriyogenez, apoptoz, hücre proliferasyonu gibi çok çeşitli hücresel süreçlerde gen ekspresyonlarını düzenlemektedir (Sun, 2010; Lingappan, 2018).

NF-κB sinyal yolağı ailesi üyelerinin en önemli özelliklerinden biri, hücre sitoplazması içinde IκB kinaz ailesi üyeleri ile bulunmalarıdır. IκB kinaz (IKK) kompleksi, iki yüksek homolog katalitik alt birimden oluşur. Bunlar; IKKα (IKK1), IKKβ (IKK2) ve ana düzenleyici alt birim olan IKKγ (NEMO) 'dır. IKKα ve IKKβ aynı yapısal ve biyokimyasal özellikte olmalarına rağmen işlevsel olarak farklılık gösterirler. IKKβ, çeşitli uyaranların neden olduğu IκB bozunmasından sorumludur. IKKα sadece NF-κB RANK-Ligand (RANKL) Reseptör Aktivatörü ve Fas ile ilişkili ölüm domaini benzeri IL-1β-dönüştürücü enzim inhibitör proteini (vFLIP) adlı viral proteini içeren bir kısım uyaran tarafından indüklenen IκB bozunması için gerekli olduğu gösterilmiştir. Bununla birlikte IKKα, IKKβ tarafından sağlanmayan keratinosit farklılaşmasının indüksiyonu, histon fosforilasyonu, NF-κB aktivasyonunun sonlandırılması ve p100 fosforilasyonu gibi işlevleri yerine getirmektedir (Xiao ve ark., 2006). IκB protein aileleri, NF-κB/REL proteinlerinin Rel homoloji domainlerine bağlanarak işlevlerini düzenleyen tipik ankirin tekrarlarına sahiptir. IκB proteinleri, NF-κB/REL proteinlerinin DNA bağlama bölgelerine bağlanarak onları sitoplazmada depolanmış halde tutmaktadır. IκB proteinleri ayrıca nükleer eksport sinyallerine sahiptir ve NF-κB proteinlerini çekirdekten uzaklaştırarak sinyal yolunu kontrol altında tutmaktadır. İnflamatuar sinyaller (örneğin: tümör nekroz faktörü alfa veya lipopolisakkarit), IκB proteinlerinin upstream (yukarı akış) kinazlar tarafından fosforilasyonunu indüklemektedir. Bu da IκB ubiquitinasyonuna ve degradasyonuna yol açmaktadır. IKKβ ve NEMO kanonik yolda işlev gösterirken, NFκB'yi indükleyen kinazı (NIK) ve IKKα kanonik olmayan yolda işlev göstermektedir. Aktif NF-κB daha sonra çekirdeğe geçerek hedef genleri aktive etmektedir (Zhang ve ark., 2017).

İnaktif monomerler şeklinde bulunan NF- κ B, sinyal uyarımları sonrasında üç farklı yolak üzerinden aktive olmaktadır. Bu yolaklar; geleneksel (kanonik), geleneksel olmayan (kanonik olmayan) ve DNA hasarında devreye giren yolaklar olarak sınıflandırılmaktadır (Calzado ve ark., 2007) (Şekil 2.9.).

Kanonikal ve kanonikal olmayan NF- κ B yolağı sinyal mekanizmaları bakımından farklılık göstermektedir. Doğal olarak fizyolojik ve patolojik durumlarda, hangi NF- κ B aktivasyon yolağının kullanıldığı ve bu yolağın moleküler mekanizmasını anlamak terapötik açıdan çok değerlidir.



Şekil 2.9. NF- κ B'nin yapısının ve transdüksiyon sürecinin basitleştirilmiş bir görünümü (A) NF- κ B sinyal yolu üyelerinin yapıları. ① NF- κ B süper ailesi beş üye içerir: RelA (p65), RelB, c-Rel, NF- κ B1 (p105/p50) ve NF- κ B2 (p100/p52). p50 ve p52, sırasıyla p105 ve p100 tarafından işlenen daha kısa formlardır. Tüm üyeler, iki spesifik DNA bağlama alanını (DBD'ler) ve bir nükleer lokalizasyon dizisini içeren bir Rel homoloji alanını (RHD) paylaşır. DBD'lerden biri DNA tanımayla, diğeri ise dimerizasyonla ilgilidir. ② I κ B ailesi en önemli üç üyeyi içerir: I κ B α , I κ B β ve I κ B γ . ③ IKK kompleksi en önemli üç üyeyi içerir. GRR: glisin açısından zengin bölge; ANK: ankirin tekrarları; DD: ölüm alanı; TAD: transkripsiyon aktivasyon alanı; LZ: lösin fermuar alanı; KD: kinaz alanı; HLH: sarmal-ilmek-sarmal alanı; NBD: NEMO bağlama alanı; MOD/UBD: minimal oligomerizasyon alanı/ubikuitin bağlama alanı; ZF: çinko parmak

alanı. (B) Endometriotik hücrelerde NF- κ B sinyali aktive edilir. TNF α ve IL1 gibi uyaranlar IKK kompleksini aktive ederek I κ B fosforilasyonunu ve ardından proteazomal bozulmayı tetikler. RelA/p50 heterodimerleri daha sonra çekirdeğe yer değiştirir ve transkripsiyonel aktiviteyi ortaya çıkarır. Östrojen, progesteron, oksidatif stres ve ncRNA'lar, NF- κ B sinyalleme sinin temel düzenleyicileridir ve östrojenin NF- κ B sinyalleme sinin üzerindeki etkileri tartışmalıdır. NF- κ B sinyalleme sinin aşağı yöndeki genlerinin aktivasyonu, inflamatuvar tepkileri indükler ve endometrio sis gelişimi sırasında endometriotik hücrelerin hayatta kalmasını, yapışmasını, göçünü ve istilasını destekler (Liu ve ark.,2022).

2.18.1. Klasik (Kanonik) Yolak ile NF- κ B Sinyal Aktivasyonu

Birçok hücre tipi genellikle kanonikal yolağı tercih etmektedir, bu yolak IL-1 β (interlökin 1- beta) ve TNF α (tümör nekrosis faktör) gibi proinflamatuvar sitokinler tarafından aktive edilir. TNF- α 'nın uyarıcı etkisi TNF α I (TNFRI) aktivasyon kompleksine TRAF2 ve RIP-I (reseptör ile etkileşen protein kinaz-I) yolu ile adaptör proteinlerin ve kinazların inflamatuvar alanına gelmesini indüklemektedir. Bu olay I κ B kinaz (IKK) kompleksinin fosforilasyonu ve aktivasyonu ile sonuçlanır (Döne, 2021).

Ortamda herhangi bir spesifik uyaran olmadığında IKK α inhibitörü sitoplazma içerisinde aktif olmayan NF- κ B proteinlerini biriktirir (Dejardin, 2006; Nakagawa ve Rathinam, 2018). NF- κ B, sitoplazma içerisinde inaktif şekilde bulunur ve sitoplazma içerisinde tutulması IKK α tarafından gerçekleştirilir (Pai ve Skumar, 2020). Klasik yol çeşitli mitojenler, mikrobiyal bileşenler, sitokinler ve DNA hasarı gibi çok sayıda uyarının etkisi ile geçici olarak aktive edilmektedir (Rasmi ve ark., 2020). Buradaki uyarıların çoğu spesifik bir I κ B kinazın aktivasyonunu sağlamaktadır (Ji ve ark., 2020). Kanonik yolağın amacı aslında, sitoplazmik IKK α tarafından parçalanmak için hedeflenen I κ B α 'yı içermektedir. Uyarılara cevap olarak ise IKK kompleksi I κ B'yi fosforile etmektedir. Böylece I κ B α ubikitinlenir ve degradasyon için hedef haline gelir. Sonuç olarak ise I κ B α /NF- κ B kompleksi parçalanır ve NF- κ B (p50/p65) serbest hale geçer. Bu süreci takiben NF- κ B bileşenleri sitoplazma içerisinden salınır ve hedef genlerde ekspresyonu yönlendirmek için çekirdeğe doğru hareket etmektedir (Nakagawa ve Rathinam, 2018; Ji ve ark., 2020). IKK'ın aracı olduğu I κ B bozunmasının yanı sıra, kanonik olan yolak için NF- κ B alt birimi p65'in fosforilasyonu da gereklidir (Silverman ve Maniatis, 2001). DNA bağlanmasını kolaylaştıran p65

fosforilasyonu, NF- κ B dimerlerinin transkripsiyonel yeterliliği koaktivatör alımı ve asetilasyon için gereklidir. P65 fosforilasyonunu aynı zamanda, p65'i stabilize ederek I κ B'a'ya bağlanmasını engeller (Ryo ve ark., 2003; Doğan ve Eğin, 2021).

IKK kompleksi IKK- α (IKK1), IKK- β (IKK2) ve IKK- γ (NEMO: NF- κ B essensiyal modülatörü) ünitelerinden oluşur. Geleneksel kanonikal sinyal yolağı için, IKK aktivitesi IKK- β ' ye bağımlıdır. RIP-I (reseptör ile etkileşen protein kinaz-I) yolu IKK' yı aktive etmektedir. IKK aktive edici kinaz'ın mitojen aktive edici kinaz 3 (MEKK3) ya da TGF- β aktive edici kinaz (TAK1) olduğu düşünülmektedir (Razani ve ark., 2010; Sun, 2010). Aktif halde bulunan IKK- β katalitik alt ünitesi, I κ B proteinlerini 32. ve 36. pozisyonda bulunan serin rezidülerinden fosforile etmekte, böylece I κ B poliubikitinasyonunu ve proteozomda hızlı degradasyonu tetiklemektedir (Lin ve ark., 2010). Bu süreç, p65 ve p50 üzerinde bulunan NLS sinyalini ortaya çıkararak NF- κ B nükleer translokasyonuna olanak sağlamaktadır. Nükleusta NF- κ B transkripsiyonel aktivitesi, p65 alt ünitesinin fosforilasyonu ve asetilasyonu ile DNA'ya bağlanması veya CBP/p300 gibi transkripsiyonel koaktivatör ile etkileşimi yolu ile düzenlenmektedir (Lin ve ark., 2010).

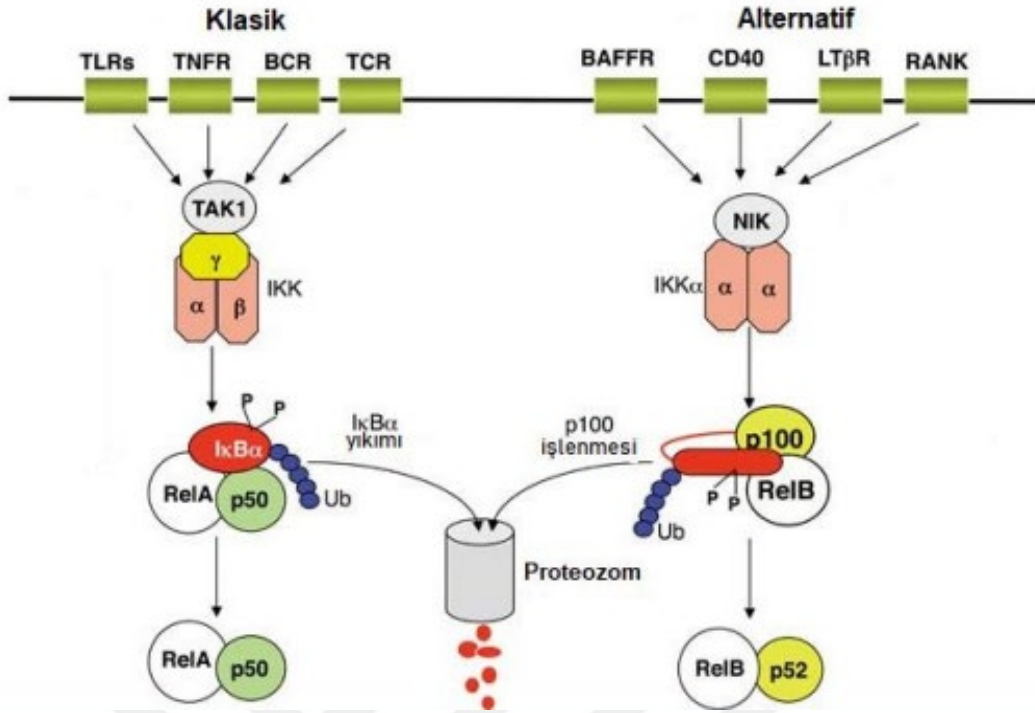
2.18.2. Nonkanonikal (Alternatif) Yolak ile NF- κ B Sinyal Aktivasyonu

I κ B'den bağımsız bir yolaktır. Bu yolun aktivasyonu, p52/RelB ve p50/RelB dimerlerinin salınımıyla sonuçlanmaktadır. Bu sinyalleşme ağında, IKK kompleksi kullanılmamaktadır (Wang, 2011). CD40, lenfotoksin β (LT- β), B-hücre aktive edici faktör (BAF) ve viral proteinler ile aktive olmaktadır. Bu yolak İndükleyici kinaz (NIK) aracılı IKK- α aktivasyonu ile bağlantılıdır. Bu yolağın temelinde ise IKK- α , p100'ün p52' ye dönüşümü vardır (Razani ve ark., 2010). P52, RelB ile fonksiyonel kompleks oluşturur ve gen ekspresyonunu düzenlemek için nükleus içerisine transloke olması gerekmektedir. Kanonikal yolağın ilerlemesi için önemli olan cIAP proteinleri, NIK ubikitinasyonu ve degradasyonu tetikleyerek sürecin devam etmesini sağlar (Razani ve ark., 2011). Alternatif yolağın temel sinyal bileşenleri genellikle lenfotoksin (LT), CD40 ligandı (CD40L), (TNF) süper ailesine ait hücre dışı uyaranları TNFR, TNFR ile ilişkili faktör 2 (TRAF2) ve TRAF3'ü son olarak ise MAP3K14 olarak isimlendirilen NIK'ı içermektedir (Pai ve Skumar, 2020; Morgan ve ark., 2020). NF- κ B sinyal yolağının hücresel hedefler arasında sitokinler (IL-1, IL-2, IL-6, TNF- α), kemokinler (MIP-1 α , MCP1, RANTES), bazı adhesyon molekülleri (ICAM-1, VCAM-1, E-selektin), indüklenebilir bazı efektör enzimler İNOS ve COX-2 gibi, ayrıca apoptoz ve

hücre proliferasyonu düzenleyicileri (c-IAP1, c-IAP2, XIAP, c-myc, siklin D1 ve Bcl - xL, Fas Ligandı) bulunmaktadır (Sun, 2010; Razani ve ark., 2011).

P100/RelB degrede olarak p52 alt birimlerini meydana getirir. P52 ve RelB dimerleri ise çekirdeğe hareket eder buradan sekonder organların gelişimi için önemli kemokinlerin transkripsiyonel olarak aktivasyonunu sağlar (Rasmi ve ark., 2020). NIK, NF- κ B sinyalizasyonunda merkezi molekül olarak kabul edilir (Morgan ve ark., 2020). Organizmada, normal şartlarda NIK proteinleri düşük seviyede bulunur. Bu sinyal yolunun aktivasyonu için NIK kararlılığı önemlidir (Cıldır ve ark., 2016). NIK proteini, IKK α homodimerlerini fosforile etme özelliğindedir, böylece homodimerlerin aktivasyonu gerçekleşir sonuç olarak ise p100 organizasyonu için gereklidir. TRAF2 ve TRAF3, NIK için negatif düzenleyici olarak görev yapmaktadır. NIK kinaz çoğunlukla sitoplazmada yapısal aktif konformasyonlar halinde bulunur. Reseptör-Ligand uyarımı eksikliğinde TRAF2 ve TRAF3 NIK ubiquitinasyon ve degradesyonunu sağlayan NIK protein seviyelerini down regüle eden adaptör moleküllerdir (Cıldır ve ark., 2016; Morgan ve ark., 2020).

Non-kanonik yani alternatif yolak ikincil lenfoid organlar olan dalak, mukozal lenfoid organlar, lenf düğümleri ve dentritik hücrele fonksiyonuna ilaveten humoral bağışıklık ve T hücre cevaplarının sürdürülmesi gibi çok önemli olan genlerin düzenleniminden de sorumludur (Şekil. 2.10.) (Pai ve Skumar, 2020).



Şekil 2.10. Klasik ve alternatif NF-κB sinyal yolları (Sun, 2010).

Klasik yol, doğuştan gelen ve adaptif bağışıklık reseptörlerinin aracılık ettiği sinyaller de dahil olmak üzere çok sayıda sinyal tarafından tetiklenmektedir. Tak1, IKK kompleksinin aktivasyonunu ile IKK aracılı IκBa fosforilasyonunu sağlamaktadır. Böylece IκBa degrade olmakta, bu da prototipik NF-κB heterodimer RelA/p50'nin hızlı ve geçici nükleer translokasyonu ile sonuçlanmaktadır. Alternatif NF-κB yolunda ise bir TNFR üyelerinin alt kümesinden kaynaklanan sinyaller ile tetiklenen fosforilasyonla indüklenen p100 işlenmesi meydana gelmektedir. Bu yol, NIK ve IKKα'ya bağlıdır, ancak trimerik IKK kompleksine bağlı değildir ve RelB/p52 kompleksinin kalıcı aktivasyonuna aracılık etmektedir (Şekil 2.7.) (Sun, 2010).

2.19. İnsan Endometriyumunda NF-κB aktivasyonu

NF-κB 'nin yapısal aktivasyonu ve doğası düşünüldüğünde B hücrelerinde, bazı monosit hücre dizilerinde ve malign hücrelerde aktif haldeyken diğer birçok hücrede aslında inaktif haldedir (Aggarwal, 2004). NF-κB yolağı aktivitesi, insan endometriyumunda bulunur ve endometriotik hücrelerin fizyolojisi ve patofizyolojisinin düzenlenmesinde önemlidir. İn vitro çalışmalar, endometrial hücrelerde (EH), NF-κB indüklenabilir aktivasyonunu kanıtlamıştır. Bu sinyal yolunun hafif aktivasyonu, uyarılmamış endometrial epitel hücrelerinde (EEH) ve endometrial stromal hücre kültüründe gösterilmiştir (Tamura ve ark., 2002, Han ve Sidell, 2003). Proinflamatuvar

mediatörler olan RANTES, COX-2, IL-8 ve makrofaj göçü inhibe edici faktörün (MIF) NF- κ B'ye bağımlı bir ifade, TNF α ve IL-1 β tarafından uyarılan ESH'lerde bulunmuştur. Tüm bu çalışmalar, NF- κ B'nin ESH'lerde proinflatuar süreçte hücre büyümesi, anjiyojenik ve doku yeniden modellenmesinde önemli bir faktör olduğunu göstermiştir (Cao ve ark., 2005; Cao ve ark., 2006).

İn vivo olarak NF- κ B, implantasyon periyodu ve menstrüasyon sırasında endometriyumda fizyolojik olarak aktive edilebilir (Laird ve ark., 2000). Progesteron, endometrial hücrelerde I κ Ba'yı pozitif olarak düzenler ve progesteron çekilmesi perimenstrüel dönemde NF- κ B'yi aktive edebilir (King ve ark., 2001; Page ve ark., 2002). Endometriyumdaki NF- κ B aktivasyon durumu, endometriozisi olan ve olmayan hastalarda benzer görünse de hem sağlıklı hem de patolojik koşullarda adet döngüsü sırasında endometriyumdaki NF- κ B yolunun aktivasyon durumunu değerlendirmek için daha ileri çalışmalara ihtiyaç vardır. Örneğin, endometriozisli hastalardan ve sağlıklı kontrollerden menstrüel endometriyumda NF- κ B aktivitesinin değerlendirilmesi esastır çünkü menstrüel endometrial hücreler neredeyse peritoneal endometriotik lezyonların kaynağıdır. Özet olarak, insan Endometrial hücrelerinde NF- κ B aktivitesi gösterilmiştir. Endometriotik lezyon oluşumunda anahtar hücre işlemlerinde yer alan çeşitli proteinlerin transkripsiyonunu destekler (Gonzalez-Ramos ve ark., 2010).

2.20. Ektopik Endometriyumda NF- κ B Aktivasyonu

İn vitro ve in vivo yapılan çalışmalarda kanonik NF- κ B sinyal yolunun endometrial stromal hücrelerinde aktive edildiğini göstermiştir. Bu durum endometrioziste inflammatuar olayların başladığını ifade etmektedir. Endometriotik stromal hücre (ESH) kültürleri TNF α ve IL-1 β 'ya yanıt olarak endometriotik lezyonlarda aktive edilmiş p50/p65 NF- κ B dimerlerinin in vivo varlığı ve NF- κ B aktivasyonu ile gösterildiği gibi, bu yol endometriotik lezyonlarda aktive edilir (Gonzalez-Ramos ve ark., 2007). Endometrial stromal hücrelerde, aşırı demir yükü IKK β 'yı aktive eder ve NF- κ B yolunu uyaran bol miktarda reaktif oksijen türlerinin üretilmesine neden olur. Lipopolisakkarit, NF- κ B yolu aktivasyonu yoluyla murin endometriozis benzeri lezyonların gelişimini teşvik eder ve bir NF- κ B inhibitörü adayı olan disülfiram yapılan çalışmalarda endometriozis modelinde endometriotik implantların büyümesini önler (Yu ve ark., 2016; Azuma ve ark., 2017). Peritoneal endometriozisin ilk aşaması kırmızı endometriotik lezyonlardır ve bu lezyonlar en aktif inflammatuar lezyonlardır. Dökülme ve sikatrizasyondan sonra siyah hale gelirler. İntraluminal birikintiler daha az belirgin

inflamasyon ve vaskülarizasyon gösterirler (Nisolle ve Donnez, 1997; Khan ve ark., 2004). Aktif p65 içeren dimerlerin konsantrasyonlarının kırmızı endometriotik lezyonlarda siyah lezyonlardan farkedilir derecede yüksek olduğu yapılan çalışmalarda gösterilmiştir. Bu durum, p50/p65 dimerlerinin transkripsiyonel olarak aktifken, p50/p65 homodimerinin bir transkripsiyon aktivasyon alanı olmadığı için baskılayıcı olarak işlev görmesi açısından önemlidir (González-Ramos ve ark., 2007; Gonzalez-Ramos ve ark., 2010). Özetle, NF- κ B'nin kanonik yolu endometriotik lezyonlarda aktive edilir. NF- κ B tarafından modüle edilen transkripsiyon ve bunun sonucunda ortaya çıkan hücre yanıtları endometriozis patofizyolojisi için önemlidir (Gonzalez-Ramos ve ark., 2010). Nükleer faktör- κ B p50 ve p65 alt birimleri I κ B ve IKK, insan endometrial stromal ve epitel hücrelerinde eksprese edilir. P65'in ekspresyonu, endometrial epitelde stromadan daha yüksektir, bu durum kanonik veya nankanonik NF- κ B yollarının endometrial epitelde stromadan fizyolojik açıdan daha önemli olduğu anlamına gelebilmektedir (Laird ve Tuckerman, 2000; Page ve ark., 2002). Herhangi bir enfeksiyon durumunda ilk savunma bariyeri endometrial epitel ve NF- κ B p50/p65 aktivitesi doğuştan gelen bağışıklığı ve inflamasyonu pozitif olarak etkiler (Tamura ve ark., 2002). İn vivo yapılan çalışmalarda insan endometriyumunda NF- κ B - DNA bağlanması menstrüel siklus boyunca değişken olduğu gösterilmiştir ve proliferatif endometriyumda salgı ve menstrüel endometriyumdan daha yüksek p65-DNA bağlanması gösterilmiştir (Ponce ve ark., 2009; Gonzalez-Ramos ve ark., 2012a). Proliferatif endometriyumda artan p65 aktivitesi, düşük fosforilasyon konsantrasyonlarının varlığında E2 uyarısıyla modüle edilebilir, çünkü 17- β E₂'nin endometrial epitelyal hücrelerde NF- κ B 'yi aktive ettiği gösterilmiştir (Zhang ve ark., 2010). Proliferatif endometriyumda p65-DNA bağlanmasıyla p65 seviyesindeki artış, menstrüel siklusun preovulatuvar fazı sırasında endometrial hücrelerde artmış hücre proliferasyonunu ve azalmış apoptozu modüle edebilir, çünkü bunlar NF- κ B transkripsiyonel aktivitenin sonucu olarak bilinen fonksiyonlardır (Karin ve Lin, 2002; Gonzalez-Ramos ve ark., 2008; Gonzalez-Ramos ve ark., 2010). Salgı fazı endometriyumunda NF- κ B p65 aktivitesindeki azalma, menstrual siklusun luteal fazında yüksek fosforilasyon seviyesinin etkisiyle açıklanabilir. Progesteron, bilinen bir NF- κ B inhibitörüdür. (McKay ve Cidlowski, 1999; Horie ve ark., 2005). Menstruasyon sırasında progesteronun kesilmesi teorik olarak NF- κ B aktivasyonunu artırmalıdır. Ancak düşük NF- κ B -p65 aktivitesi proliferatif endometriyum ile karşılaştırıldığında menstrual endometriyumda gösterilmiştir. Bu veriler, menstrual döngünün bu

aşamasında düşük E₂ seviyelerinin varlığı ile açıklanabilir (Gonzalez-Ramos ve ark., 2012b).

2.21. Endometriozis ve NF-κB Aktivasyonu

Nükleer faktör kappaB (NF-κB), doğuştan gelen bağışıklıkta ve hücrel sağkalım, çoğalma ve farklılaşmayı içeren diğer süreçlerde hayati rol oynayan her yerde ifade edilen bir transkripsiyon faktörüdür. NF-κB aktivasyonuna aracılık eden sitokinlerin ekspresyonunu düzenler ve endometrioziste inflamatuvar reaksiyonların sürdürülmesine yol açar (Kaponis ve ark., 2012; Yun ve ark., 2021).

Endometriozisli kadın hastaların endometriyumu sağlıklı kadınların normal endometriyumundan moleküler olarak farklı özellikler göstermektedir (Giudice ve Kao, 2004; Sharpe ve Timms, 2001; Bulun, 2009). Endometriozisli hastaların endometriyumu ve sağlıklı kadınların endometriyumu karşılaştırıldığında, p65-DNA bağlama aktivitesi ile ilgili olarak farklı döngüsel tepkiler gösterir. Ayrıca, endometriozisli endometriyum dokusunda proliferatif ve salgılayıcı endometriyumda menstrüel endometriuma göre daha yüksek p65-DNA bağlanması olduğu bilinmektedir. Salgı fazı endometriyumunda azalmış NF-κB-p65 aktivitesinin olmaması, endometriozis hastalarının endometriyumundaki P direnci ile eş zamanlıdır (Gonzalez-Ramos ve ark., 2012b). Sonuç olarak, endometriozis hastalarının endometriyumunda NF-κB tarafından değiştirilmiş aktivasyon, normal endometriyuma göre menstrüel döngü boyunca daha sabit bir aktivasyon paterni ile karakterize edilir, çoğunlukla artmış inflamatuvar durum, proliferatif aktivite ve endometriyal hücrelerin apoptozuna direnç ile ilişkili endometriozis ile ilişkili endometriyal disfonksiyonların bazılarını açıklayabilmektedir (Gonzalez-Ramos ve ark., 2012b). Öte yandan, in vitro çalışmalar, ötopik endometriyal hücreler ile ektopik endometriyal hücreler arasındaki farklılıkları göstermiş, ektopik NF-κB aktivitesinde endometriyotik lezyon sağkalımına katılabilecek ve proinflamatuvar bir duruma yol açabilecek ötopik endometriyal hücrelerden daha yüksek indüklenmiş ve bazal NF-κB aktivitesi göstermiştir (Wieser ve ark., 2005; Zhang ve ark., 2010).

NF-κB'nin endometriozis yolağındaki rolü kaçınılmaz gibi görülmekte literatürde özellikle ötopik endometriozisli hastaların endometriyumunda aktivasyonu değerlendiren veri azdır. Endometriozis hastalarının ötopik endometriyumlarında özellikle geç sekretuar fazda NF-κB disfonksiyonu izlenmiştir. NF-κB ekspresyonu

adenomiyozlu kadınlardan gelen ötopik endometriyum ve normal endometriyumla karşılaştırılmış ve daha yüksek p65 ekspresyonu izlenmiştir. Adenimoyozlu kadınların ötopik endometriyumunun progesteron direnci ve NF- κ B aktivasyonu belirtileri göstermiş olabileceği düşünülmektedir (Nie ve ark., 2009). Endometriozisli kadınların ötopik endometriyumundaki NF- κ B değişiklikleri, hastalığın yayılmasına ve gelişmesine katkıda bulunan diğer süreçlerde rol oynayabilir. NF- κ B 'nin aktivasyonu, in vivo endometriyotik lezyonların erken gelişiminde rol oynamaktadır (González-Ramos ve ark., 2007; Guo, 2007; Ghosh ve Karin, 2002). NF- κ B, immun ve inflamatuvar yanıtta anahtar rol oynar ve birçok hücre tipinde hücre proliferasyonunu, apoptozu, adezyonu, invazyonu ve anjiogenezi modüle eder. Bu hücre süreçleri endometriozis gelişiminde rol oynar (Gonzalez-Ramos ve ark., 2010). NF- κ B ekspresyonunun sürekli olarak yukarı regülasyonunun, inflamatuvar yanıtı tetiklemek, makrofaj fagositik aktiviteyi bozmak ve endometriozis gelişimini kolaylaştırmak için henüz bilinmeyen faktörlerin aktivasyonu ile sinerji oluşturması mümkündür. Ayrıca peritoneal kavitedeki lokal bağışıklık mekanizmaları ve bozulmuş doğal bağışıklık anormallikleri endometriozis gelişimini destekleyebilir (Kaponis ve ark., 2012).

2.22. Endometrioziste NF- κ B Sinyalinin Düzenlenmesi

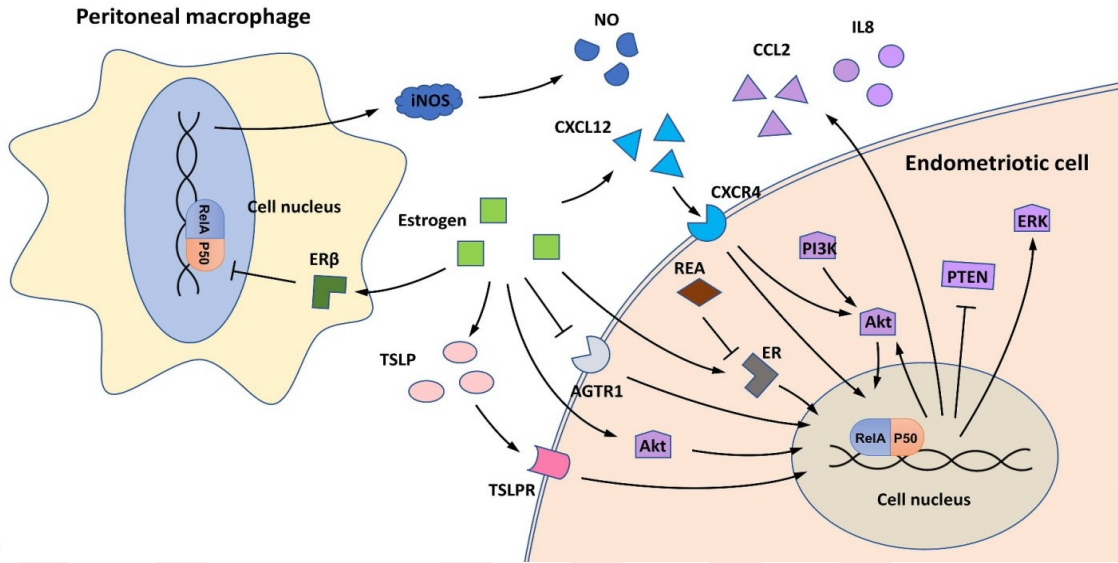
Endometriozis östrojen ve progesteron hormonlarından etkilenen bir hastalıktır.

2.22.1. Östrojen

Östrojen sinyalleşmesinin NF- κ B üzerindeki etkileri endometriozis açısından hala tartışmalıdır. İlk olarak östrojen ve/veya östrojen resptörleri olan (ER) α ve ER 'nın normal endometriyal stromal hücrelerdeki etkilerinin tam aksine, ektopik endometriyal hücrelerde NF- κ B aktivitesini artırabileceği bulunmuştur (Güzeloğlu ve ark., 2008). Kadın üreme sisteminde, kilit bir ER korepresörü olan östrojen reseptör aktivitesinin (REA) baskılayıcı, ektopik endometriyotik lezyonlarda aşağı regüle edilir, östrojen sinyalizasyonunun aktivasyonuna ve NF- κ B aktivitesinin artmasına katkıda bulunur (Zhao ve ark., 2016). Mekanik olarak östrojen sinyalizasyonu, CXCL12/CXCR4, PI3K/Akt ve timik stromal lenfopoietin (TSLP) sinyalizasyonu gibi çeşitli proinflamatuvar yolları aktive ederek endometriyotik hücrelerde NF- κ B aktivasyonunu indükler (Zhang ve ark., 2010; Chang ve ark., 2014; Mei ve ark., 2015).

Östrojen ile uyarılmış NF- κ B aktivasyonu, endometriyotik hücrelerin canlılığını ve çoğalmasını teşvik edebilir. Mekanik olarak NF- κ B sinyalizasyonu otofajiye bağlı hücre

ölümünü kısıtlayabilir, PTEN ekspresyonunu inhibe edebilir ve PI3K/Akt ve MAPK/erk yollarını aktive edebilir (Zhang ve ark., 2010; Mei ve ark., 2015). Endometriotik hücrelerin ektopik endometriumun hipoöstrojenik durumunu indükleyen bir hormon tedavisi olan GnRHa ile tedavisi, endometriotik hücrelerde NF- κ B aktivasyonunu azaltır ve proinflamatuvar sitokin IL8 'in ekspresyonunu daha da baskılamaktadır (Sakamoto ve ark., 2003). Bu bulgu, hormon tedavilerinin NF- κ B sinyalini inhibe etme ve ektopik bölgedeki enflamasyonu azaltma potansiyeline sahip olabileceğini göstermektedir (Sakamoto ve ark., 2003). Bununla birlikte, bazı çalışmalarda endometrioiste östrojen sinyalizasyonunun NF- κ B üzerindeki inhibitör etkisi bildirilmiştir (Xiu ve ark., 2009; Han ve ark., 2019; Zhang ve ark., 2020). Mekanik olarak, östrojen, endometrioiste aşırı eksprese edilen ve NF- κ B sinyalini aktive eden anjiyotensin II reseptörünü kodlayan bir gen olan *AGTRI* 'in ekspresyonunu azaltabilir (Zhang ve ark., 2020;). Han ve ark. mikroarray tabanlı bir teknik uygulayarak, TNF α /NF- κ B sinyalinin bir C57BL/6 fare modelinin ektopik endometriumunda ER β tarafından aşağı regüle edildiğini bulmuşlardır (Han ve ark., 2019). Ayrıca NF- κ B sinyalizasyonu peritoneal makrofajlarda (PM) östrojen sinyalizasyonu ile de baskılanabilir (Xiu ve ark., 2009). PM'leri seçici bir ER β agonisti olan ERB -041 ile tedavi etmek, NF- κ B aktivasyonunu ve endometriozis ilerlemesi sırasında aşağı akış indüklenebilir nitrik oksit sentaz (iNOS)/ nitrik oksit (NO) sinyalini inhibe eder (Şekil 2.11.) (Xiu ve ark., 2009).



Şekil 2.11. NF- κ B ve endometrioziste östrojen. Endometriyal hücrelerde östrojen, CXCL12/CXCR4, PI3K/Akt ve TSLP sinyallerini aktive ederek NF- κ B sinyalini aktive edebilir ve düşük REA ekspresyonu da östrojen/NF- κ B ekseninin aktivasyonuna katkıda bulunabilir. Östrojenle uyarılan NF- κ B aktivitesi ayrıca Akt ve ERK sinyallerini aktive eder, PTEN ekspresyonunu baskılar ve proinflamatuvar sitokinler CCL2 ve IL8'in üretimini artırır. Ayrıca, östrojen endometriyal hücrelerde AGTR1 ekspresyonunu baskılayarak NF- κ B sinyalini inhibe edebilir. Peritoneal makrofajlarda ise östrojen/ER β sinyali, NF- κ B aktivasyonunu inhibe edebilir ve NOS üretimini daha da azaltabilir (Liu ve ark.,2022).

Endometriyotik hücrelerde östrojen, CXCL12/CXCR4, PI3K/Akt ve TSLP sinyallerini aktive ederek NF- κ B sinyalini aktive edebilir ve düşük REA ekspresyonu da östrojen/NF- κ B ekseninin aktivasyonuna katkıda bulunur. Östrojen ile uyarılan NF- κ B aktivitesi, Akt ve erk sinyalini daha da aktive eder, PTEN ekspresyonunu baskılar ve proinflamatuvar sitokin CCL2 ve IL8 'in üretimini indükler. Ek olarak, östrojen, AGTR1 ekspresyonunu baskılayarak endometriyotik hücrelerde NF- κ B sinyalini inhibe edebilir. Peritoneal makrofajlarda, östrojen/ER β sinyalizasyonu NF- κ B aktivasyonunu inhibe edebilir ve NOS üretimini daha da inhibe edebilir. Endometriyal stromal hücrelerde (ESC'ler), ER'lerin p50 ve p65 NF- κ B alt birimlerinin DNA bağlanmasını inhibe ettiği gösterilmiştir (Kaponis ve ark., 2012). NF- κ B aktivasyonu ER-alfa transfekte edilen ESC'lerin östrojen duyarlılığını önemli ölçüde azaltmıştır. Bununla birlikte, p50 ER-alfa DNA bağlanmasını bozmamıştır, bu da bu tür bir etkileşim için olası dolaylı

mekanizmaları ile ilgilidir (Güzeloğlu ve ark., 2008). Endometriotik stromal hücrelerde, estradiolün NF- κ B yolağının aktivasyonu yoluyla TNF tarafından indüklenen IL-8 üretimini arttırdığı bilinmektedir (Sakamoto ve ark., 2003). (Şekil 2.10.).

2.22.2. Progesteron

Progesteronun I κ B alpha ekspresyonunu arttırdığı gösterilmiştir (Cai ve ark., 2023). NF- κ B ile progesteron reseptörü (PR) arasında karşılıklı negatif çapraz konuşma gözlenmiştir. PR'nin aktivasyonu NF- κ B güdümlü gen ekspresyonunun inhibisyonuna yol açabilir ve NF- κ B aktivasyonu da PR ile aktive edilen hedef genleri antagonize eder. P65 ve PR arasındaki doğrudan etkileşim, DNA'ya bağlanamayan veya diğer temel ko - faktörlerini aktive edemeyen inaktif komplekslerin oluşumuna neden olarak tanımlanmıştır (Kalkhoven ve ark., 1996). Bununla birlikte, daha yeni çalışmalar progesteronun NF- κ B 'yi inhibe etmek için çoklu mekanizmalar yoluyla hareket ettiğini göstermiştir. PR, NF- κ B dimmerinin konsensüs DNA yanıt elemanlarına bağlanmasını doğrudan inhibe eder; ii) progesteron/PR, NF - kappaB'yi aktive eden TNF ile ilişkili apoptoz indükleyici ligand (TRAIL) ve reseptörü TRAIL2 'nin transkripsiyonunu aşağı regüle eder; ve iii) progesteron/PR, NF - kappaB'yi inaktive eden bağlanma proteinleri olan NF- κ B 2' nin (ABIN -2) A20 ve A20 bağlanma inhibitörünün transkripsiyonunu yukarı regüle eder (Harnish ve ark.2000; Kaponis ve ark., 2012; Fuentes ve Slyvera 2019).

NF- κ B ve progesteron reseptörünün (PR) p65 alt birimi, doğrudan temas yoluyla birbirini bastırabilir. Endometriumda p65 ve PR'nin karşılıklı baskılanması, menstrüel siklus sırasında endometriyal biyolojik değişikliklerde ve düzensiz uterin kanama gibi patofizyolojik süreçlerde rol oynar (Kalkhoven ve ark.,1996; González-Ramos ve ark., 2012a). 109 endometrioizisli hasta üzerinde yapılan bir çalışmada, artmış p65 ekspresyonu ve azalmış PRB ekspresyonu, yumurtalık endometriomasının nüksü için ortak olarak biyobelirteç görevi görmüştür (Shen ve ark., 2008). Ancak 104 hasta ile yapılan başka bir çalışmada ovaryan endometrioizisin nüksünün azalmış p65 ekspresyonu ve artmış PRB ekspresyonu ile ilişkili olduğu sonucuna varılmıştır (Han ve ark.,2017). Her iki çalışmanın, çelişkili sonuçları kısmen endometriyotik dokuların klinik, immünolojik, histokimyasal, inflamatuvar ve genetik- epigenetik heterojenitesinden kaynaklanmış olabileceğini göstermiştir (Koninckx ve ark., 2019). Endometrioizisin tedavisinde yaygın olarak kullanılan bir hormon ilacı olarak progesteron, endometriyotik hücrelerde NF- κ B kaynaklı proinflamatuvar faktörlerin

üretimini inhibe eder (Zhao ve ark., 2002; Horie ve ark.,2005;). Progesteron ve NF- κ B inhibitörlerinin birlikte kullanımı, endometriyoza hafifletme etkinliğini önemli ölçüde artırabilir (Maia ve ark., 2013). Bununla birlikte, yakın zamanda yapılan bir çalışma, endometriozis progresyonu sırasında merkezi bir element olan progesteron direncinin, endometriotik dokularda anormal endoplazmik retikulum stresini indükleyerek progesteronun NF- κ B üzerindeki inhibitör etkisini zayıflatabileceğini ortaya koymuştur (Choi ve ark., 2021). Endometriyotik hücrelerdeki endoplazmik retikulum stresinin aktivatörü tarafından yukarı regüle edilmesi, NF- κ B negatif regülatörleri A20 ve C/EBP β 'yı yukarı regüle ederek NF- κ B kaynaklı inflamasyonu önemli ölçüde inhibe edebilir ve endometrioziste endoplazmik retikulum stresinin potansiyel anti-NF- κ B değerini gösterir (Choi ve ark., 2021).

2.22.3. Noncoding RNA'lar

NcRNA'lar, proteinleri kodlamayan ancak gen ekspresyonunu düzenleyerek endometrioze patofizyolojik süreçlerine katılan heterojen bir RNA sınıfıdır. MiRNA'lar, uzunlukları 19 -25 nükleotid olan ve hedef mRNA'ların 3'çevrilmemiş bölgelerine bağlanarak gen ekspresyonunu negatif olarak düzenleyen ncRNA'lardır (Panir ve ark.,2018). Dört tip miRNA, yani miR -16, miR -138, miR -182 ve miR -199a, NF- κ B sinyalizasyonunu inhibe etmek için doğrudan NF- κ B sinyalizasyonu ile ilgili anahtar genler IKK β (miR -138 ve miR -182 tarafından hedeflenir) ve *p65* 'i (miR -16 ve miR -199a tarafından hedeflenir) hedef alır ve ekspresyonları ektopik endometriumda aşağı regüle edilir (Zhang ve ark., 2019; Wang ve ark., 2021; Wu ve Zhang, 2021). Buna karşılık, miR-9 ve miR-22 olmak üzere iki miRNA, ektopik endometriumda enflamatuar yanıtları azaltmak için bir NAD (+) bağımlı deasetilaz olan sirtuin 1 (SIRT1) ifadesini bastırarak NF- κ B sinyalini dolaylı olarak aktive eder (Zheng ve ark., 2020; Zhang ve ark., 2020). MiR -16, miR -138, miR -182 ve miR -199a'nın aşırı ekspresyonu veya miR -9 ve miR -22 'nin inhibisyonu NF- κ B sinyalini bloke edebilir ve enflamatuar yanıtları ve endometriyotik hücrelerin hayatta kalma, göç ve invazyon yeteneklerini daha fazla baskılayabilir (Dai ve ark., 2012; Zhang ve ark., 2019). Bir lncRNA olan MALAT1 NF- κ B/iNOS/MMP9 eksenini aktive ederek endometriotik hücrelerin proliferasyonunu ve invazyonunu artırır. Bununla birlikte, MALAT1 'in NF- κ B'yi aktive ettiği mekanizma belirsizliğini korumaktadır (Zhao ve ark., 2016b).

2.23. Endometriozis Patogenezinde NF- κ B 'nin Rolü

2.23.1. NF- κ B'nin Endometriyotik Hücre Davranışlarındaki Etkisi

NF- κ B sinyalleme, endometriyotik hücrelerin aktivitelerini düzenleyerek endometriozisin ilerlemesini etkiler. Endometriyotik hücrelerin hayatta kalması proinflatuar sitokin IL8 'in salgılanması ve antiapoptotik moleküller XIAP, Bcl -2 ve Bcl- xL'nin aktivasyonu gibi NF- κ B aracılı aktivitelerle ilişkilidir (Ohama ve ark., 2008; Preya ve ark., 2019). Endometriozisin bir *Macaca fascicularis* modelinde, kısa saçlı RNA ile p65 yıkımı, çoğalan hücre nükleer antijeninin (PCNA) ekspresyonunu ve ektopik lezyonların mikrodamar yoğunluğunu önemli ölçüde azaltmıştır, bu da NF- κ B'nin endometriyotik lezyonların büyümesini ve anjiyogenezini önlemek için terapötik bir hedef olabileceğini göstermektedir (Zhu ve ark., 2015). Endometriyotik hücrelerin aberan adezyonu, endometriozisin kurulması için başlangıç basamağıdır. Pleiotropik bir immünomodülatör reseptör olan DcR3, retrograd olarak menstrüel kan ile ektopik endometriyuma hareket edebilir ve daha sonra NF- κ B'ye bağlı bir şekilde adezyon moleküllerinin yukarı regülasyonunu indükleyebilir (Tsai ve ark., 2018). NF- κ B sinyalleme, ektopik endometriumda, hedef hücre adezyon molekülü (CD44), ICAM -1 ve vasküler hücre adezyon molekülü -1 (VCAM -1) dahil olmak üzere anahtar adezyon moleküllerinin yüksek ekspresyonunu indükler. NF- κ B inhibisyonu, endometriyotik hücrelerin adheziv yeteneğini etkili bir şekilde azaltabilir (Tsai ve ark., 2018; Nasiri ve ark., 2021). Endometriyotik hücrelerin yüksek migrasyon ve invazyon yeteneği, implantasyonun ve ektopik odakların uzamasının ana nedeni olarak kabul edilir (Lu ve ark., 2020). Yapılan çalışmalar, NF- κ B'nin, hücre dışı matris yıkımından sorumlu olan bir çinko bağımlı endopeptidaz ailesi olan matris metaloproteinazların (MMP'ler, özellikle MMP-2 ve MMP -9) transkripsiyonel aktivasyonu yoluyla endometriyotik hücre göçü ve invazyonuna karşı kontrast sinyali verdiğini ortaya koymuştur (Zhang ve ark., 2011; Nasiri ve ark., 2021). Nasiri ve ark (2011), anti-NF- κ B ilaçları aloe-emodin ve aspirinin evre IV endometriozisli hastalardan endometriyotik hücrelerin invazyonu üzerine güçlü inhibitör etkileri göstermiştir. Başka bir çalışmada, kısa müdahaleci RNA yoluyla IKK β yıkımı, endometriyotik hücrelerin göçünü ve invazyonunu önemli ölçüde baskılamış ve NF- κ B sinyalinin ektopik endometriyal implantasyondaki kritik rolünü göstermiştir (Zhang ve ark., 2011).

2.23.2 Endometrioziste NF-κB ile oksidatif stres ilişkisi

Endometriozis oluşumu ve ilerlemesinde oksidatif stresin kritik bir role sahip olduğu düşünülmektedir (Jackson ve ark., 2005). Daha önceki yıllarda yapılan çalışmalar serum ve periton sıvısında bulunan oksidatif stres ve antioksidan biyobelirteç seviyelerinin endometriozisi olan ve endometriozisi olmayan hastalar arasında önemli derecede farklı olduğunu bildirmiştir (Jackson ve ark., 2005; Liu ve ark., 2022). Pro-oksidanlar, reaktif oksijen türleri [ROS] ve nitrik oksit sentaz [NOS] gibi serbest radikal türleri ve antioksidanlar arasındaki dengesizlik endometriozisin patofizyolojisinde vardır. Endometriozisli hastaların pelvik kavitesinde aşırı ROS üretimi, kronik NF-κB aracılı inflamatuvar yanıtların önemli bir indükleyicisidir (Laird ve ark., 2000; Liu ve ark., 2022). Hücre dışı yüksek mobilite grup 1 (HMGB-1), herhangi bir hasarla ilişkili moleküler grubun reseptörü olan Toll benzeri reseptör 4' e (TLR4) bağlanarak Endometriotik hücrelerde NF-κB p65'i aktive eder. Sürekli oksidatif stres ile endometriozis ortamında inflamatuvar yanıtları indükler. HMGB-1/TLR4/NF-κB hattı endometriotik hücrelerin proliferasyonunu ve invazyonunu da indüklediği bilinmektedir. Sonuçta bu durum endometrizose bağlı ağrıya sebep olur (King ve ark., 2001; Liu ve ark., 2022).

Endometriotik hücreler, artan hücrel proliferasyonla ilişkili ROS detoksifikasyon yolunda uğradığı değişikliklerle birlikte yüksek endojen oksidatif stres gösterir. Oksidatif stres, NF-κB aktivasyonu için güçlü bir indükleyicidir. NF-κB indüklenebilir Nitrik Oksit sentaz (İnos) için gen kodlamasını düzenler (Liu ve ark., 2022). INOS tarafından NO üretilmesi, doğrudan DNA hasarı onkogenik mutasyonla, apoptozun inhibisyonu, anjiyogenez gibi birçok hücrel olayı kontrol eden reaktif azot türlerine dönüştürülür (Jaiswal ve ark., 2001). ROS tarafından indüklenen NF-KB b aktivasyonu ise endometrial stromal hücrelerde COX-2 ekspresyonunu uyarabilir. İnflamatuvar sitokinler süperoksit radikal oluşumuna neden olur ve hücrelere zarar verir. Bu durumda mitokindride bulunan manganez süperoksit dismutaz (Mn-SOD), süperoksit radikallerini temizleyerek hücreleri korur. TNFα, Mn-SOD'un NF-κB aracılı ekspresyonunu indükleyerek insan endometrial stromal hücrelerinde ROS birikimini zayıflatır. Ve bu hücrelerin TNFα aracılı oksidatif strese karşı kendini savunma mekanizmasını sağlar (Sugino ve ark., 2002).

2.23.3. Endometriotik hücrelerin apoptozunda NF-κB

Endometriumdaki endometrial hücrelerin ya da endometriozisli endometrial hücrelerin ortak bir özelliği, apoptotik mekanizmalardan kaçınma yetenekleridir. Hücre sağ kalımına yol açan büyüme faktörleri ve apoptoza yol açan DNA'ya zarar veren ajanlar ile NF-κB sinyal yolunu aktive eden ajanların aynı hücreler olduğu düşünülmektedir. NF-κB aktivasyonunun endometriozisli hücrelerde apoptoz fenotipine karşı dirençli olduğu düşünülmektedir. Farelerle in vivo yapılan bir çalışmada erken evre Endometriotik lezyonların NF-κB inhibisyonunun endometriozisli ve endometriotik hücrelerin proliferasyonunu azalttığı ve apoptozu ise uyardığı gösterilmiştir (Gonzalez-Ramos ve ark., 2008). NF-κB inhibitörü olan BAY 11-7085 ile tedaviden sonra endometrial stromal hücrelerde kaspaz-3,-8,-9'un eş zamanlı aktivasyonlarının anti apoptotik Bcl-2 ve Bcl-X' in aşağı regülasyonu ile doğru orantılıdır (Nasu ve ark., 2011). NF-κB aktivitesinin proteozom inhibitörleri tarafından baskılanması aynı zamanda in vitro olarak endometriotik hücrelerin proliferasyonunu da baskılamaktadır (S.W. Guo.,2007). Bcl-2, Bcl- xL, cIAP1, cIAP2, XIAP, A20, c-FLIP ve TRAF-2 dahil olmak üzere bir grup anti- apoptotik gen, DNA'ya zarar veren sinyallere yanıt olarak hücrelerin apoptozdan korunmasına yol açan NF-κB tarafından yukarı regüle edilebilir (Karin ve Lin, 2002; Chen ve Castranova, 2007).

Ayrıca NF-κB, diğer birçok sinyal yolları ile etkileşime girerek endometriotik hücreleri apoptozdan koruyabilir. AKT, NF-κB'nin aktivasyonu yoluyla hücre sağkalımını teşvik eder (Vara ve ark., 2004). Yapılan çalışmalarda fare hepatositlerinde TNFα ve Fas aracılı apoptozdan koruma sağlayan İNOS'u aktive ettiği gösterilmiştir. Bazı yazarlar, endometriotik hücrelerin apoptotik Bcl-2 ve Bcl-XL proteinlerinin ekspresyonu pro-apoptotik Bax proteininin düşük ekspresyonu arasında artan PGE₂ sinyalleme sonucu olabileceğini düşünmektedirler (Zhang ve ark., 2010). NF-κB sinyalizasyonu, ayrıca endometriotik hücrelerin çoğalmasını düzenleyen gen ekspresyonlarını da değiştirebilir. Östrojen uygulanması ile NF-κB yolağı aracılığı ile endometriozisli kadınların ötopik ve ektopik endometriyumlarında PTEN ekspresyonunu azaltmıştır (Hatano ve ark., 2001).

NF-κB' nin apoptozun inhibisyonu ile ilgili fonksiyonu muhtemelen transkripsiyonel koaktivatörler için p53 molekülünü antoganize etmesinden kaynaklanmaktadır (Webster ve Perkins, 1999). NF-κB inhibisyonu p53 aracılı apoptozu ortadan kaldırabilir. Çeşitli hücre hatlarında T hücreleri, fibroblastlar, Hela

hücreleri, c-Rel ve RelA'nın aşırı ekspresyonu apoptozu indüklerken, NF-κB inhibisyonu ise bu hücreleri apoptozdan korur (Chen ve Castranova, 2007). NF-κB 'nin p53, Fas, FasL, Bax, Bcl-xL ve diğer pro-apoptotik moleküllerin ekspresyonunu teşvik edebileceği öne sürülmüştür. NF-κB aktivasyonunun pro-apoptotik doğası endometriotik hücrelerde henüz gösterilmemiştir. Bu zıt etki, NF-κB 'nin histon asetilasyon ve metilasyon derecelerine bağlı olarak NF-κB 'den diğer yollarla ve/veya farklı transkripsiyon bağlama bölgeleriyle çeşitli çapraz etkileşimlerine bağlanabilir (Chen ve Castranova, 2007; Kaponis ve ark., 2012).

2.24. Apoptozis

Apoptoz ya da 'programlanmış hücre ölümü' bir hücrenin tek başına çevre doku ve hücrelerin hasarlanmasından etkilenmeden yaşamına son vermesi olarak tanımlanmaktadır (Büyükgebiz ve Caferler, 2001). Apoptoz, dokuların homeostazisinin korunması açısından kritik bir role sahiptir.

Ökaryotik organizmalardaki hücreler doğar, yaşar ve en sonunda ölürler. Hücrelerin yaşam süreleri hücre tipine göre değişiklik göstermektedir. Örneğin, derinin epidermal hücreleri 20-25 günde ölürken, bağırsak hücreleri 3-5 günlük yaşam süresine sahiptir. Fakat miyokard kası hücreleri ya da nöronlar ömür boyu yaşarlar (Kiernan, 1979; Nadal-Ginard ve ark., 2005). Tüm bu hücre ölümleri apoptoz ile gerçekleşir. Bu hücre ölümleri fizyolojik şartlarda meydana geldiği için programlanmış hücre ölümü olarak da adlandırılır. Ayrıca DNA'sı zarar görmüş hasarlanmış hücrelerinde organizmaya zarar vermemek için kendini öldürdükleri bilinmektedir. Bu durum tamamen organizmanın yararı için gerçekleştirilir (Mondello ve Scovassi, 2010). Tüm bu tanımlar hücre ölümü ve apoptoz kavramının aslında eş anlamlı ifadeler olduğunu göstermektedir.

2.24.1. Programlı Hücre Ölümü

Bir hücrenin ölümü ya apoptoz ya da nekroz ile gerçekleşir. Apoptoz, klasik hücre ölüm şekli olan nekrozdan birçok özellik bakımından farklı bir ölüm mekanizmasıdır (Cotter ve ark., 1990). Apoptoz terimi Kerr, Wyllie ve Currie tarafından 1972 yılında canlı dokulardaki hücre azalmalarından sorumlu olan, yapısal olarak özgün bir hücre ölüm tipi olarak tanımlanmıştır (Kerr ve ark., 1972). Milyonlarca hücrenin yapım (mitoozis) ve yıkım (apoptozis) işlevleri arasında kontrollü bir denge söz konusudur. Bu dengenin bozulması apoptozisin lehine ya da aleyhine olabilecek birçok hastalığın patogenezin

katkıda bulunur. Tamamen bitmiş, hızlanmış ya da tam tersine yavaşlamış ya da bitmiş apoptozis organizma için tehlikelidir (Carneiro ve El-Deiry, 2020).

2.24.2. Apoptozis Morfolojisi

Apoptoz hem sağlıklı hücrelerde hem de hastalıkta karşımıza çıkmaktadır. Apoptoz morfolojik açıdan nekroza göre daha özgündür. Nekrozis durumunda, hücre içerisine aşırı sıvı girmesi sonucunda hücre şişer, apoptotik hücrede ise bu olayın tam tersine hücre küçülür. Nekrozis denildiğinde kromatin patterninin normal hücredeki görüntüye benzediği bilinir fakat apoptoza uğramış hücre kromatini nükleus membranının çevresinde toplanır ve burada kondanse olur (Majno ve Joris,1995). Apoptoza uğrayan hücrelerde ise hücre zarı üzerinde küçük cepler oluşur (Majno ve Joris, 1995; Sareste ve Pulkki, 2000). Apoptotik hücreler, hücre ölümü gerçekleşikten sonra küçük cisimciklere “apoptotik bodies” parçalanır. Her bir apoptotik cisimcik, membranla kaplıdır; değişen miktarda nükleus ve diğer hücre içi yapıları içerirler. Apoptotik hücre ölümünde ise apoptotik hücreler ya da apoptotik cisimcikler plazma membranı herhangi bir hasar almadan komşu hücreler veya makrofajlar tarafından fagosite edilirler ve bu yüzden inflamasyon oluşmaz (Nathan ve Ding, 2010).

Apoptotik olay morfolojik olarak;

- Hücre büzüşmesi
- Kromatin yoğunlaşması
- Sitoplazmik tomurcuklanma ve apoptotik cisimcik oluşması
- Apoptotik hücre veya cisimciklerin fagositozu ile karakterizedir (Şekil 2.12.) (Nagata,1997).

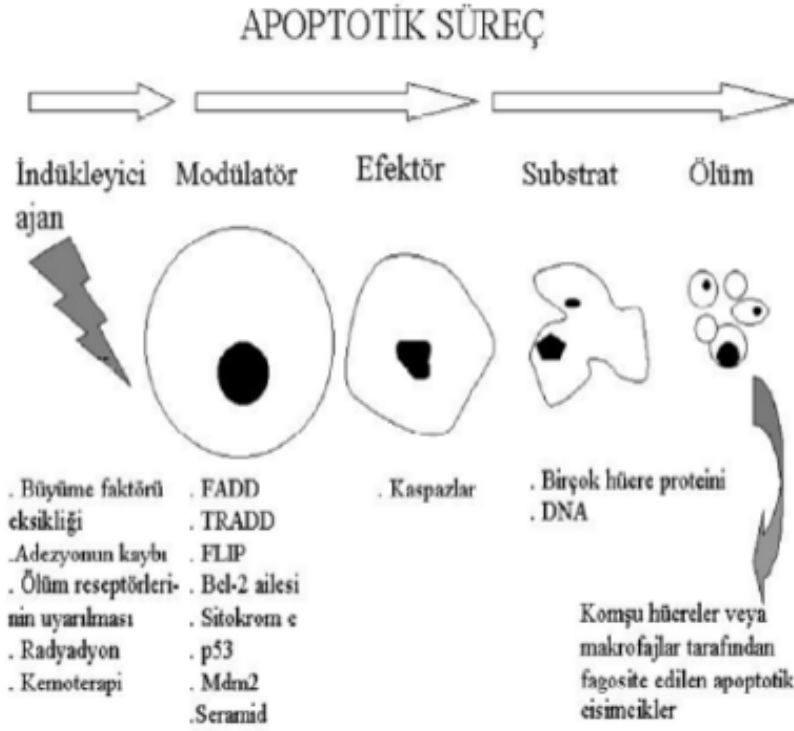


Şekil 2.12. Apoptozun fizyolojik şeması (Işıklar., 2007).

2.25. Apoptoz Mekanizmasının Aktivasyonu

Organizmada, apoptozisi başlatan çeşitli nedenler vardır. Klasik olarak programlı hücre ölümü denildiğinde, hücre ölüm reseptörleri olan Fas (APO-I, CD95) ve tümör nekroz faktör reseptörü-1 (TNFR-1)'in ligandları ile uyarılmaları sonucu apoptoz indüklenir. Bu hücre yüzey reseptörleri membranda bulunur (Friesen ve ark., 1996; Degli-Esposti, 1999). Ayrıca sitotoksik T lenfositlerin uyarılması, büyüme faktöründe azalma ve DNA hasarı sonucu da apoptozis indüklenir (Cotran ve ark., 1999). Fas lenfoid hücrelerde, karaciğerin hepatosit hücrelerinde, akciğerlerde ve bazı tümör hücrelerinde bulunur. Fas ligandına ise Fas Ligandı (FasL) denir. Tümör nekroz faktör (TNF) ailesinin bir üyesi olan FasL, sitotoksik T lenfositlerinde ve natural killer hücrelerinde vardır. Fas ve TNFR-1, ligandlarıyla bağlandıkları zaman ölüm uyarısı alırlar. Ölüm uyarısı alan hücreler, protein interaksiyonlarından geçerler ve her protein kendisinde var olan ölüm bölgeleri (death domain) olarak adlandırılan TRADD (TNFR-1 associated death domain) ve FADD (Fas associated death domain) ile etkileşime girer (Pan ve ark., 1997; Collison ve ark., 2009). Böylece prokaspaz-8 aktifleşerek kaspaz kaskadı oluşturulur ve aktivasyon başlar (Martin ve ark., 1998).

Apoptozis, genotoksik ajanların etkisiyle ağır DNA hasarına cevap olarak p53 indüksiyonu ile de başlayabilir. İndüklenmiş p53, pro-apoptotik Bcl-2 ailesi üyesi olan bax'ın indüksiyonunu başlatır ve böylece hücre ölümü gerçekleşir (Basu ve Haldar, 1998). Bax indüksiyonu haricinde, p53 Fas ve DR5 gibi hücre yüzey ölüm reseptörlerini etkileşime geçirerek apoptozu başlatabilir (Haupt ve ark., 2003; Reinhardt ve ark., 2023). Büyüme faktörlerinin ortadan kalkması gibi durumlar da programlı hücre ölümünün başlaması ile ilgilidir. Sitotoksik T lenfositlerden salınan granzim B'lerin hedef hücrelerde kaspaz aktivasyonu başlatmasıyla da apoptoz gerçekleşmektedir (Motyka ve ark., 2000). (Şekil 2.13.).



Şekil 2.13. Apoptozis regülasyonu (Latonen ve Laiho, 2005).

2.26. Apoptoziste Biyokimyasal Olaylar

2.26.1. Protein ayrılması

Proteinlerin, hidrolize olması apoptozise ait bir özelliktir. Bu olay kaspazların aktivasyonu ile gerçekleşir. Kaspaz aktivasyonu endonükleazların indüklenmesinde rol alır (Elmore, 2007; Frolava ve ark., 2023).

2.26.2. Proteinlerin çapraz bağlanması

Programlı hücre ölümü denildiğinde, hücreler büzülerek daha küçük boyutta ki fragmentlerine ayrılır. Bu fragmentler ise transglutamazlar aracılığıyla yaptıkları çapraz bağlanmalar ile sitoplazmik proteinleri apoptotik cisimlere dönüştürür (Obeng, 2020).

2.26.3. DNA yıkımı

Apoptoza uğrayacak hücrelerde DNA parçalanır ve 50-300 kilo bazlık büyük fragmentler oluşur. Daha sonra ise Ca^{2+} ve Mg^{2+} a bağımlı endonükleaz zincirini H1 histon bölgelerinden 180-200 baz çiftlik fragmentlere ayırıştırır (Najdawi ve Abu, 2022).

2.26.4. Fagositik tanıma

Apoptoz geçirecek hücreler, plazma zarının dışında fosfolipidlerin ve trombospondin ekspresyonuna maruz kalırlar. Sağlıklı hücrelerde, fosfolipidlerin plazma membranı içerisinde bulunurken, apoptotik hücrelerde ise plazma membranın dış yüzeyinde bulunur. Fosfolipidlerin ekspresyonu, apoptotik hücrelerde fagositozun makrofajlar ve diğer hücreler tarafından tanınarak sinyal görevi görmesini sağlar (Wickremasinghe ve Hoffbrand, 1999; Keane ve ark., 2001; Elmore, 2007).

2.27. Bcl-2 Ailesi

Bcl-2, apoptotik sürecin kontrol edilmesinde rolü en iyi tanımlanmış genidir. B cell lymphoma/leukemia-2 olarak tanımlanan Bcl-2 proto-onkogeni ilk kez kromozomal translokasyonu t(14;18) olan insan folliküler lenfomasında saptanmıştır. 24-26 kDa'luk protein eksprese edebilen bir anti-apoptotik genidir (Chung, 2020).

Bu gen, C-terminalinde tek bir tane yüksek hidrofobik alana sahiptir. Bu bölge 239 aminoasitten oluşur ve 26 kDa proteinini kodlar. Bu ise mitokondriyal dış membran içinde lokalize olmasını ve nükleer zarfın daha az bir kısmında lokalize olmasını sağlar (Chen-Levy ve ark., 1989). Bcl-2 proteinin asıl rolü, mitokondriyal zarın bütünlüğünü korumaktır. Sitokrom c'nin serbest hale geçmesini sağlar ve hemen sonra APAF-1'e (apoptoz aktive edici faktör-1) bağlanmasını engeller. Bcl-2 proteini dört adet Bcl-2 homoloji (BH) domaini (BH1 ve BH4) içerir. BH1, BH2, BH3 proteinlerinin BCL-2 ailesine pro-apoptotik üyeleri ile homodimer ve heterodimerler oluşturarak hidrofobik alanlar açar (Thomadaki ve Scorilas, 2006; Reed, 2006).

Bcl-2, apoptozun bloke edilmesinden sorumludur. Yani apoptoza gidecek hücrenin hayatta kalma kinetiğini artırır. Böylece, hücrelerin genellikle ATP, yeni RNA ve protein sentezi ihtiyaçları ve hücre büzüşmesi, nükleer parçalanma ve DNA bozulması gibi çeşitli yapısal değişikliklere neden olan hücre intiharı faaliyetlerine girmesini engellemektedir (Stephen ve Douglas, 2010).

Bcl-2 gen ailesi üyeleri yapısal ve fonksiyonel karakteristikleri açısından pro-apoptotik ve anti-apoptotik üyeler olmak üzere iki sınıfa ayrılabilirler;

BCL-2 ailesi	BH bölgeleri	Aile üyeleri
Anti-apoptotik	BH 1-4	BCL-2, BCL-W, BCL-XL, A1 ve MCL-1
	BH 1-3	MCL-1
Pro-apoptotik	BH 1-3	BAX, BAK, BOK
	Sadece BH3	BID, BIM, BAD, BIK, BMF, BNIP3, HRK, NOXA and PUMA
	BH 3 ve BH4	BCL-xs

Bcl-2 gen ailesi zıt özelliklere sahip iki gruba ayrılır. İlk grup pro-apoptotik özelliktedir. Pro-apoptotik Bcl-2 ailesi apoptozu tetikleyi olarak iş görür. İkinci grup ise, anti-apoptotik özellikte olup apoptozun inhibe edilmesinden sorumludur. Pro-apoptotik Bcl-2 ailesi grubu, mitokondriden sitokrom c'nin sitoplazmaya salınmasını indükler (Yang ve Korsmeyer, 1996; Opferman ve Kotari, 2018). Anti-apoptotik grup ise sitokrom c'nin salınımını engeller. Bcl-2 ailesi proteinleri 4'e kadar numaralandırılmış Bcl-2 homoloji (BH) bölgesi olarak isimlendirilen birkaç alfa-heliks yapısından meydana gelmektedirler (Lalier ve ark., 2022). Bu ailenin üyeleri ise fonksiyonel özelliklerine göre üç şekilde sınıflandırılır (Yang ve ark., 1996; Wickremasinge ve ark., 1999).

a. Bcl-2alt grubu; bu grubun üyeleri BCL-2, BCL-XL ve BCL-w, Mc-1, A1 ve Boo'dur. Bu gruba ait proteinlerin dört bölgesi (BH1, BH2, BH3, BH4) de çok sayıda homoloji bölgesine sahiptir. Her bir proteinin anti-apoptotik etkisi olup, C-terminallerinden membrana bağlanma bölgelerine sahiptirler ve mitokondrinin dış zarına yerleşik bulunurlar.

b. BAX alt grubu: BAK, BAX ve BOK/MTD bu grubun üyeleridir. Bu proteinlerin hepsi pro-apoptotik yolda etkilidir. BH1, BH2 ve BH3 bölgelerinden yapısal olarak benzerlik gösterirler. Difteri toksini ve BAX yapısal olarak benzemektedir. Difteri toksini, endozomal ve lizozomal membranlarda mRNA translasyonunu engelleyen adenosin-5'- difosfat ribolize edici polipoptit A alt ünitesinin sitoplazmaya transportunu gerçekleştirecek büyüklüklerde porlar düzenleyerek hücrenin ölümüne sebep olur. BAX geni ise, BCL-2ile heterodimer bir yapı ve kendisi ile de homodimer bir kompleks oluşturabilir. Hücrelerde aşırı Bax ekspresyonu programlı hücre ölümünü artırırken, Bcl-2' nin fazla ekspresyonu Bax ile

heterodimer bir yapı oluşturmakta ve programlı hücre ölümünü baskılamaktadır (Baydar, 2018).

- c. BİK alt grubu:** BİK, BİD, BİM, BAD, BFM, Hrk/DP5, BLK, NİP3, PUMA, NOXA, BNİP3/NİX'ten oluşan gruptur. Bu grubun yalnızca BH3 domainleri BCL-2 ile homodimerik kompleksler oluşturur. Bu sebepten BH3 proteinleri olarak da isimlendirilirler. Bu grubun ailesi kendi içlerinde heterodimerler oluşturarak her bir protein kendi eşinin aktivitesini düzenler (Baydar, 2018).

Anti-apoptotik genlerden olan BCL-XL ve BCL-2 sitoplazmada bulunan Bax proteini ve mitokondriyal dış membranda yer alan Bak proteini ile heterodimerik kompleks oluşturarak Bak/Bax'ın mitokondriyal membranda oligomerler oluşturmasını engeller. Böylece, mitokondriyal membran permeabilitesinin kontrolü sağlanır. Bak ve Bax'ın aktivasyonu ise direkt ve indirekt model üzerinde tanımlanmıştır (Kuwana ve ark., 2002; Laulier ve ark., 2012). Direkt modele göre yapısında yalnızca BH3 olan proapoptotik Bcl-2 aile üyeleri (Bid, Bim ve Puma vb) doğrudan Bax ve Bak proteinlerinin oligomerizasyonunu, por formasyon değişimini uyarmaktadır; indirekt yolda ise BH3 içeren proapoptotik üyeler BCL-2'yi inhibe ederek indirekt yoldan BAX ve BAK'ı aktive etmektedir. Sonuç olarak her iki model de mitokondriyal membranda BAK/BAX düzenlenmesinin gerçekleşmesi membran üzerinde porların oluşması, permeabilitenin artışı ve mitokondriyal membrandan Sitokrom c gibi proapoptotik proteinlerin salınmasına sebep olacaktır ve bu süreç hücreyi ölüme götürecektir (Hetz ve Glimcher, 2008; Baydar, 2018). Anti-apoptotik ve anti-oksidan etkisi olan Bcl-2'nin miktarı hücreden hücreye farklılık gösterir. Hücre içinde hücre membranunda lokalize olan bir proto-onkogendir. Mitokondri membranında yerleşim gösteren BCL-2'nin sebep olduğu etkilere ilaveten nükleer membranda bulunan Bcl-2; p53, NFκβ, AP1, CRE, NFAT gibi transkripsiyondan sorumlu sinyal yollarının nükleustaki aktivitelerini kontrol eder. Endoplazmik retikulumda yer alan Bcl-2 ise hücrenin hem apoptotik hem de fizyolojik süreçlerini kontrol ederek intraselüler Ca^{+} seviyesinin düzenlenmesinde önemli bir role sahiptir (Hetz ve Glimcher, 2008). BCL-2 geni ile; Lenfoid, fibroblastik ve hematopoetik hücrelerin büyümesinin inhibisyonu, Isı şoku, Sitotoksik bazı lenfokin çeşitleri (TNF), Kalsiyum iyonları ile meydana gelen hücre ölümlerini bloke ettiği de yapılan çalışmalarda bildirilmiştir. Bcl-2 ile ilgili koruyucu fonksiyonlar ise; Anti-apoptotik

fonksiyon için gerekli eşleşme proteinlerinin yokluğu durumunda Bcl-2'nin inhibisyonuna neden olan proteinlerin yüksek seviyede bulunması Bcl-2'nin işlevsel bütünlüğünü bozan post-translasyonel değişikliklerin uyarılması halinde yetersizleşir. Antioksidan özelliklerine dair lipid peroksidasyonunu azalttığı bilinmektedir. Glutasyonun tükenmesi ve H₂O₂'nin yıkıcı etkilerinin sebep olduğu apoptotik ölüme karşı direnç geliştirdiği bilinmektedir (Jang ve Surh, 2003). Bcl-2'nin bu özelliğini doğrudan bir anti-oksidan gibi davranarak, redoks-aktif metalleri şelatlayarak ya da ROS üretiminin azaltılmasını sağlayarak ifade ettiği düşünülmektedir. Bunların içinde ise en kabul göreni Bcl-2'nin ROS üretimini azaltan bir antioksidan olduğu yönündedir (Jang ve Surh, 2003). Çünkü Bcl-2 özellikle ROS'ların en önemli kaynağı mitokondrinin membranına yerleşmiş bir proteindir. Hücrenin redoks halindeki tüm değişikliklerine karşı da duyarlı haldedir. Bcl-2 proteinin fazla ekspresyonu nörolojik dokularda olduğu gibi apoptozu engelleyerek koruyucu tüm etkilerini gösterir. Lenfoma, lösemi prostat, kolon ve mide gibi adenokanserlerin, nöroblastoma, renal hücreli kanserler ve melanoma gibi çeşitli insan kanserlerinde de artmış Bcl-2 ekspresyonu görülür (Martinou ve ark., 1994).

2.28. Bcl-2/BAX protein ailesi

Apoptotik sürecin mitokondriyal yolağının düzenlenmesi Bcl-2/Bax gen ailesi ile gerçekleşir. Bcl-2 ailesinin üyeleri mitokondri ve nükleus membranında ve endoplazmik retikulum membranı üzerinde lokalize olabilir. Burada homodimer ve heterodimer kompleksler meydana getirirler. Yapılan çalışmalarda heterodimer komplekslerinin Bcl-2/Bax oranı 'ölüm anahtarı' olarak değerlendirilmektedir. Organizmada, Bcl-2 miktarının Bax'tan fazla olması yaşamın devamını sağlar (Lundberg ve Weinberg, 1999; Wickremasinghe ve ark., 1999). Fakat Bax oranı Bcl-2'den yüksek olması durumunda hücre programlı ölüme karar verir ve apoptozis gerçekleşir (Sogwagna, 2017).

Bcl-2 ailesi üyelerinin anti-apoptotik ve pro-apoptotik üyeleri arasında heterodimerizasyon kompleksi oluşturmaları birbirlerinin etkilerini inhibe eder. Bax homodimerizasyonu hücre ölüm sinyalini oluşturur. Fakat Bcl-2 ve Bax heterodimerizasyonu Bax'ın fonksiyonunu inhibe edicidir (Wolf ve ak., 2022). Bcl-xS, Bcl-2'ye bağlanarak, Bcl-2 fonksiyonunu inhibe eder. Bax'ın Bcl-2 ile etkileşimini engelleyerek Bax'ın öldürücü fonksiyonu ortaya çıkar (Adams ve Cory, 1998; Lalier ve ark., 2007). Bcl-xL, Mcl-1, Bfl-1 ve Bcl-w gibi diğer anti-apoptotik proteinlerin

ekspresyonu; Bax ve Bak proteinlerinin homooligomerizasyonunu ve aktivasyonunu bloke ederek hücre ölümünü inhibe edicidir. Bcl-Xl mitokondri membranının dışarısında lokalize olur. Bu kompleks kaspaz aktivasyonunu, APAF-1 üzerinden önler (Lalier ve ark., 2007). Apoptotik uyarılara cevap olarak Bcl-2 ailesinin yalnızca BH3 bölgesini içeren spesifik üyeleri aktive olur. BH3 proteinleri, Bax ve Bak gibi proapoptotik proteinlerin mitokondride aktivasyonuna neden olurlar (Baydar, 2018).

2.29. Normal Endometriumda Apoptozis

Düzenli olarak mens gören tüm kadınların endometrial siklusları proliferatif, sekretuar ve menstrual faz olmak üzere üç özgün fazda gerçekleşmektedir. Apoptoz ile ilgili yapılan çalışmalar, siklusun menstrual ve geç sekretuar fazında uterin endometriumunun fonksiyonel tabakasından yaşlanan hücreleri temizleyerek hücrel homeostazından korunmasına yardımcı olduğunu öne sürmektedir. Geç sekretuar faz ve menstrual endometriumun salgı epitelinde apoptotik hücrelere rastlanmıştır. Proliferatif faz ve sekretuar fazın başlarında ise apoptotik hücreler diğerlerine oranla daha azdır (Kokawa ve ark., 1996; Shikone ve ark., 1995). Proliferatif fazda endometrial hücrelerin proliferasyonu ise östrojen ile ilişkilidir. Progesteron miktarının hücreleri diferansiasyona yönelttiği böylece büyümeyi durdurduğu düşünülmektedir. Normal yani sağlıklı bir endometriumda apoptozun sıklık doğası düşünüldüğünde muhtemelen östrojen ve progesteronun apoptoza yol açan sinyallerle bağlantılı oldukları ve bu süreci düzenledikleri söylenebilir (Kokawa ve ark., 1996). Vaskio ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada apoptoz paterninin serum östrodiol ile negatif korelasyonda bulunduğu gösterilmiştir. Progesteron konsantrasyonun ortamda azalması ile menstrüasyonun başlamasından iki gün önce endometrial epitel hücreleri yüksek derecede apoptoz gösterir (Vaskiuvo ve ark., 2000; Taniguchi ve ark., 2011).

2.30. Normal Endometriumda Bcl-2 Proteini

B hücreli lenfoma/lösemi-2 geni (Bcl-2), hücre proliferasyonunu desteklemeden hücre ölümünü bloke eden yeni bir proto-onkogen sınıfı tanımlar. Bu protein muhtemelen apoptozla ilişkili moleküllerin en iyi ifade edilenidir. Hücre ölümü ile ilgili baskılayıcı olarak görev yapar. Bcl-2'nin proliferatif fazda insan endometriumunda apoptozu inhibe ettiği düşünülmektedir (Otsuki ve ark., 1994; Reed,1997). Apoptotik mekanizmanın önemli anahtarlarından biri mitokondrilerdir. Regülatör moleküllerin araya girmesi için etkin bir özellik göstermektedir. Bcl-2 ailesi üyeleri, apoptotik

süreci artırmak ve bu sürecin engellenmesi açısından önemli bir yerdedir. Bu moleköl kromozom 18 üzerinde lokalize olmuş bir gen olup, hücrenin apoptoza geri dönüşümsüz olarak şartlanmış olup olmadığını ayarlamaktadır (Diebold ve ark., 1996). Bcl-2 ile ilgili veriler bu proteinin kesin olarak hücre ölümü supressörü olarak rol oynadığını desteklemektedir. Bu zamana kadar proliferatif faz esnasında Bcl-2 proteinin insan endometriumunda apoptozu inhibe ettiği düşünülse de insan endometriumundaki apoptozun kesin mekanizması hala tam olarak bilinmemektedir (Reed, 1997; Baydar, 2018). Stromal hücrelerde ve endometrial bezlerde gözlenen Bcl-2 ekspresyonu geç proliferatif fazda arttığı yapmakta ve geç sekretuar ve menstrual fazda ise azaldığı yapılan çalışmalarda gösterilmiştir. Yapılan çalışmalarda normal endometriumun bazal tabakasına göre, fonksiyonel tabakasında Bcl-2 Fas ve kaspaz-3 aktivitesinin farklı düzeylerde olduğu gözlemlenmiştir (Rogers ve ark., 2000; Otsuki, 2001). Bu durum steroid hormonların belirli bir seviyede uygulanmasının Bcl-2 açısından önemli olduğunu göstermektedir. Yine yapılan çalışmalarda immünohistokimyasal boyama yöntemleri kullanılarak normal endometriumda bazal tabakanın fonksiyonel tabakaya göre Bcl-2, Fas ve Kaspaz-3 seviyelerinin farklı seviyelerde olduğu tespit edilmiştir (Rogers ve ark., 2000). Menstrual siklus boyunca, fonksiyonel tabaka bazal tabakaya göre daha hareketli olması nedeniyle bu tabakada apoptoz olma ihtimali her zaman daha yüksek olduğu düşünülmektedir (Rogers ve ark., 2000).

Bcl-2 ailesine ait 15 gen tarif edilmiştir. Bu proteinin diğer üyeleri ise Bcl-2'den bağımsız ya da Bcl-2 ile tamamlayıcı bir görev üstlenerek apoptoz mekanizmasını kontrol etmektedir. Bcl-2' ye ait üyelerin tamamı birbirleri ile homodimerik ya da heterodimerik bağlantılar kurarak haberleşmektedir. Böylece herhangi bir hücrede potansiyel olarak apoptoz varlığı o hücrede o andaki proapoptotik ve antiapoptotik Bcl-2 ailesine ait üyelerin varlığı ya da yokluğu ile saptanabilir (Otsuki, 2001). Bcl-2 proteini insan endometriumunda önemli bir antiapoptotik faktördür. Sekretuar dönemde endometrial hücrelerin indüklenen Bax ekspresyonu mens durumu ile ilişkilidir. Bax, Bcl-2 ailesinin proapoptotik üyesidir ve kısmen de olsa Bcl-2 ile etkileşim göstererek memeli hücrelerinde apoptozun hızlanmasına etki etmektedir (Oltvai ve ark., 1993; Tao ve ark., 1998). Ovaryumdan salgılanan steroidler Bcl-2 ve bax aktivitesinin artış ve azalış regülasyonunu etkileyerek endometrial apoptozu kontrol ederler. Endometrial bezlerdeki hücrelerin Bcl-2 proteininin siklik döngüsü

menstrual siklus sırasında östrojen ve progesteron reseptörlerinin değişikliği ile ilişkilidir. Bu konu ile ilgili yapılan çalışmalarda, antiprogesterin ile tedavi edilen hastalarda endometrial bez ve yüzey epitelinde Bcl-2 seviyesinin arttığı izlenmiştir (Otsuki ve ark.,1994). Aynı çalışmada Bcl-2 protein aktivitesinin östrojen ile de artış gösterdiği ve progesteron ile baskılandığı da gözlenmiştir (Otsuki ve ark., 1994; Chittenden ve ark., 1995). Bcl-XL/Bcl -XS oranının, çeşitli hücre tiplerinde ‘apoptotik eşiğin’ ayarlanmasında önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir. Bu oran normal endometrial hücrelerde sekretuar fazda artmaktadır (Braun ve ark., 2007). Bax, Bcl-2 ailesine ait bir üyedir ve muhtemelen Bcl-2 'nin heterodimer etkileşim yoluyla hücrel sağkalım üzerindeki etkisine karşı koyarak hücre ölümü duyarlılığını destekler (Burlacu, 2003).

2.31. Endometrial Stroma ve Endometrial Epitelde Bcl-2Ekspresyonu

Menstrual siklus boyunca tüm fazlarda yapılan çalışmalarda, kontrol endometriumda Bcl-2 stromal hücre sayısının endometriozisin ötopik endometriumunda proliferatif fazdan geç sekretuar faza geçerken önemli ölçüde arttığı gözlenmiştir. Endometriozisli dokunun, proliferatif faz ve erken sekretuar fazda ektopik endometriumundaki Bcl-2 lokalizasyonunun stromal hücrelerde ötopik grup ile karşılaştırıldığında ektopik endometrium dokusunun anlamlı derecede yüksek olduğu gösterilmiştir (Jones ve ark., 1998). Aynı çalışmada glandüler epitelde Bcl-2 hücrelerinin ekspresyonu kontrol ve ötopik endometriumda proliferatif fazdan erken sekretuar faza ve ötopik endometriumda proliferatif fazdan geç sekretuar faza geçerken azalmıştır (Jones ve ark., 1998). Glandüler epitelden farklı olarak yüzey epitelinde ise Bcl-2 ekspresyon seviyesi ötopik endometriumda proliferatif ve erken sekretuar fazlarda artış göstermiştir.

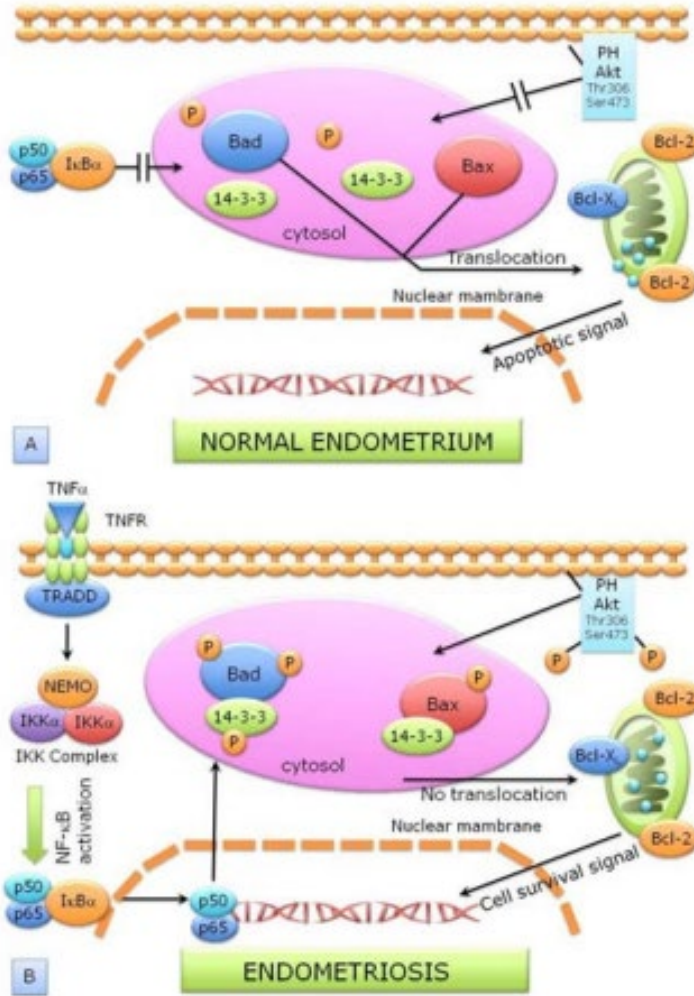
2.32. Endometrioziste Apoptozis

Endometriozis ile ilgili yapılan çalışmalardaki veriler, endometriozisli kadınlar ve normal kadınlardan elde edilen endometrial hücreler arasında temel farklılıkların olduğunu göstermektedir (Vallvé-Juanico ve ark., 2019). Endometriozisli kadınların endometrial hücreleri, ektopik yerlerde implante olarak yaşayabilme ve artmış proliferasyon yeteneğine sahiptir. Endometrial dokunun spontan apoptoz hassasiyetinin bozulması, anormal implantasyon ve endometriumun ektopik yerlerde büyümesine zemin hazırlar (Kırılmaz, 2007). Endometrial hücrelerin ölüm sinyali

içermemesi ya da hücre ölümüne karşı durabilmeleri bu hücrelerin antiapoptotik Bcl-2 gibi faktörlerin gen ekspresyonunu artırması, apoptoz öncül faktörleri olan Bax proteinlerinin azaltması ile ilişkilidir (Meresman ve ark., 2002). Endometriozis tanısı almış hastaların ötopik endometriumlarındaki anormal seyreden apoptozun ilk olarak mı ya da pelvik endometrial yayılıma sekonder olarak mı geliştiği tam olarak açıklanamamıştır. Menstruasyon sırasında endometrial fragmentlerin peritonel kaviteye retrograd yolla dağılması sıklıkla rastlanan durumdur. Normal durumda, hücre dışı matrikse yapışmayan hücrelerin kendi adezyon reseptörlerinden farklı uyarı aldıklarında apoptozu uğrayıp uğramadıkları bilinmemektedir. Endometriozisli kadınlarda ise bu hücreler peritonun mezotelyal hücrelerine yapışması, proliferasyonu ve neoangiyonez oluşturma kapasitesine sahip olması ile tanımlanmaktadır (Huang ve ark., 2023). Bu durum aktif endometriozis hastalığının gelişmesi ile sonuçlanmaktadır. Matrix metaloproteinazların apoptotik faktörler üzerindeki etkisi ve steroid hormonlarla olan regülasyon, endometrial hücre döngüsü ve endometriozis gelişimi için gerekli olan invazif süreç arasında bir bağlantı sağlamış olur (Aplin ve ark., 1998).

Son zamanlarda yapılan çalışmalarda, endometriozisli kadınların ötopik endometriumlarında, anormal sinyal yolları bildirilmiştir. İki farklı grup apoptoz ve proliferasyonda yer alan birçok hücresel proteininin fonksiyonunu düzenleyen protein kinaz A ve B yollarının aktivitesinin artmış olduğu gösterilmiştir (Aghajanova ve ark., 2010). Artmış Akt fosforilasyonunun, endometrioziste değişen apoptoz/proliferasyon ile ilişkili olabileceği ve bu nedenle Akt'nin endometriozis patogeneğinde kritik rol oynayabileceği söylenmiştir (Nasu ve ark., 2011). Endometriotik hücrede aktivasyonu apoptoz fenotipine dirençli bir başka yol ise NF- κ B yolağıdır. Bu yolak endometriotik lezyonların hücre proliferasyonu ve apoptozun önemli bir düzenleyicisidir ve bu yolağın aktivasyonu endometriotik hücrelerin çoğalmasını teşvik eder. Farelerde yapılan çalışmalarda NF- κ B yolağı inhibisyonunun erken evre endometriotik lezyonlarda endometriotik hücrelerin proliferasyonunu azalttığı ve apoptozu uyardığı saptanmıştır (Gonzalez-Ramos ve ark., 2008). Fakat bu değişikliklerin hastalığın gelişimi sürecinde geliştiği mi ya da hastalığın sebebi mi olduğu hala tam olarak açıklanamamıştır. Endometriozisin gelişimi ve devamına yol açan altta yatan mekanizmalar hala merak edilen bir konudur. Endometriozisli kadınların apoptoz ile ilişkisi gen ekspresyonlarındaki değişikliklerle de bağlantılıdır.

Bu durum ise neden bazı kadınlarda endometriozisin görüldüğü bazılarında ise görülmediğini açıklayabilir niteliktedir (Garcia ve Arici, 2003).



Şekil 2.15. Normal endometriyum ve endometrioziste NF-κB ve apoptoz (Taniguchi ve ark., 2011).

2.33. Endometrioziste Ötopik ve Ektopik Endometriumun Apoptozu

Endometriozis tanısı almış kadınların ötopik endometriumu ve normal kadınların endometriumu karşılaştırıldığında farklı özellikler izlenmektedir (Symanowski, 2007). Çeşitli yapısal anomaliler, proliferasyon, adhesyon moleküllerinde artış ya da azalış, immun komponentlerin değişikliği, proteolitik enzimler ve bu enzimlerin inhibitörleri, çeşitli steroid ve sitokinlerin üretimi bu steroid ve sitokinlere cevap verme gen ekspresyonu ile ilgili anomali durumları şeklinde ortaya çıkabilmektedir (Sharpe-Timms ve Kathy, 2001). Tüm bu farklılar peritoneal kaviteye retrograd yol ile gelen endometrial hücrelerin yaşamasına zemin hazırlayarak endometriozisin oluşmasına

neden olmaktadır. Endometriozisli kadınlarda, peritoneal kaviteye kadar yer değiştiren endometrial hücrelerde programlı hücre ölümü oranının azaldığı görülmektedir (Gebel ve ark.,1998). Aynı şekilde endometriozis tanısı almış kadınların glandüler epitel hücrelerinde apoptoz indeksinin kontrol grubuna göre daha düşük olduğu izlenmiştir. Bu durum endometriozisli hastalarda apoptozun sıklık yayılımının değişebileceğini göstermiştir. Apoptotik indeksin düşük olması, endometrial hücrelerin ektopik yaşamasını ve implantasyonunu kolaylaştırırsa, apoptozis seviyesinin ve hastalığın ciddiyeti arasında ters bir bağlantı olabileceği düşüncesi ortaya çıkmıştır (Reis ve ark.,2013). Dmowski ve arkadaşlarının 2001 yılında de yaptıkları bir çalışmada endometriozisli hastaların hastalığın evresine göre apoptotik indeks açısından analiz etmişlerdir. Çalışma sonrasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmamasına rağmen artan evre ile apoptozun azalma eğilimi olduğu dikkati çekmiştir (Dmowski ve ark., 2001).

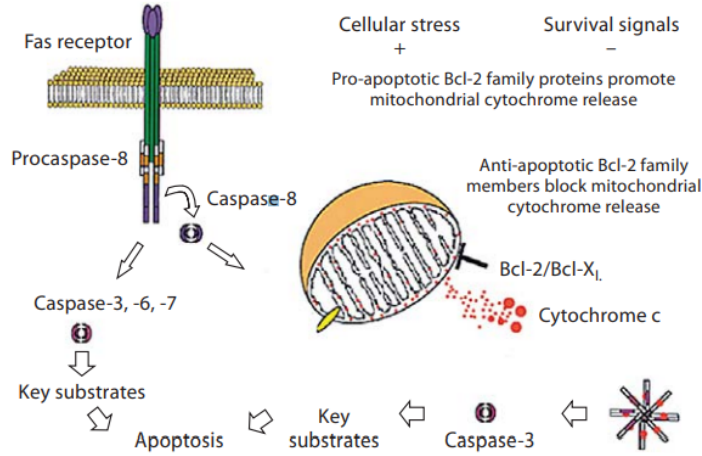
Ötopik endometriuma sahip kadınlar ve normal endometriumu olan kadınlar arasındaki apoptozis farklılıkları regürjite olan endometrial hücrelerin periton boşluğunda hayatta kalmasına ve endometriozis gelişimine katkıda bulunabilir (Taniguchi ve ark., 2011). Endometriozisli kadınlarda yapılan bir çalışmada dökülmüş endometrial hücrelerde apoptoz yüzdesinin büyük ölçüde azaldığı bildirilmiştir (Gebel ve ark.,1998). Bu durum periton boşluğuna giren hayatta kalan hücrelerin sayısının endometriozis gelişen kadınlarda daha fazla olduğunu ima etmektedir. Endometriozisli kadınların, ötopik endometriumlarındaki apoptozis indeksleri endometriozis olmayan kadınlara göre daha düşük olduğu gösterilmiştir (Gebel ve ark.,1998; Szymanowski, 2007). Bu farklılık öncelikle endometriozisli kadınlarda geç sekretuar/menstrual ve erken proliferatif fazlarda apoptozda belirgin bir azalmadan kaynaklanmıştır. Bu hastalarda apoptozun döngüsel değişkenliği kaybolabilir. Endometriozisli kadınların (epitelyal/stromal hücreler) ötopik endometriumu, hastalığı olmayan kadınlara kıyasla proliferasyonda artışla ortaya çıkmıştır (Johnson ve ark., 2005).

Apoptozdaki azalma, endometrial hücrelerin ektopik sağkalımını ve implantasyonunu kolaylaştırırsa, apoptoz seviyesi ile hastalığın şiddeti arasında ters bir korelasyon olabileceği söylenebilir. Ancak bu hipotez doğrulanmamıştır (Goumenau ve ark., 2004).

2.34. Endometrioziste Bcl-2 Ailesi

Endometriyal glandüler hücrelerde Bcl-2 ekspresyonu, endometriozis tanısı almış hastalarda ötopik endometrium içinde siklik bir paterne sahiptir (Beliard ve ark., 2004). Bu siklik değişiklikler, peritoneal ve ovarian endometriotik dokularda görülmez (Watanebe ve ark., 1997). Jones ve arkadaşları (1998) yaptığı bir çalışmada, peritoneal endometriotik dokuların stromal hücrelerinde apoptoza rastlanmadığını ifade etmişlerdir. Bu bulgular doğrultusunda Bcl-2 ektopik dokularda stromal hücrelerde daha büyük oranda eksprese edilmektedir (Jones ve ark., 1998). Bu fazla ekspresyonun, ektopik stromanın ifade ettiği östrojen reseptörlerinin sayısındaki artışla doğrudan ilişkili olabileceği düşünülmektedir (Fujishita ve ark., 1997).

Sağlıklı kadınların normal endometriumu ile endometriozisli kadınların proliferatif ötopik endometriumu karşılaştırıldığında, Bcl-2 proteininin ekspresyonunun arttığı izlenmiştir (Meresman ve ark., 2000). Bu karşılık proliferatif endometriumda bax ekspresyonu yokken, endometriozisli kadınlarda ve sağlıklı kadınlarda sekretuar faz endometriumunda Bax ekspresyonunda artış vardır. Endometriozis tanısı almış, ötopik endometriumda Bcl-2 proteininin değişen ekspresyonu apoptotik hücre sayısının azalmasına neden olur ve dolayısıyla ektopik lokalizasyonlarda bu hücrelerin sağkalım oranı artar (Meresman ve ark., 2000). Bcl-2 proteininin gen ekspresyonu endometriozisin yerine göre değişkenlik göstermektedir, bu da Bcl-2'nin tutulumunu akla getirmektedir. Apoptotik direncin ve endometrioziste endometrial hücrelerin sağkalımının artması ile tutarlı olabilir (Li ve ark., 2019a). Ektopik endometriotik dokularda menstrual siklus esnasında ötopik endometrial dokularla karşılaştırıldığında artmış prostoglandin E₂ (PGE₂) sinyali gözlenmiştir (Banu ve ark., 2009). Yazarlara göre, endometriotik hücrelerin apoptotik sinyalleri atlatma kabiliyeti, anti-apoptotik Bcl-2 ve Bcl-XL proteinlerinin bol miktarda ekspresyonu, pro-apoptotik Bax proteininin düşük ekspresyonu, pro-apoptotik proteinin fosforilasyonu/inaktivasyonu ve çoklu hücre sağkalım sinyal yollarının aktivasyonu ile ilişkili artan PGE₂ sinyalleşmesinin bir sonucu olabileceğini düşünmektedirler (Şekil 2.16.) (Banu ve ark., 2009).



Şekil 2.16. Apoptozun başlatılması ve yürütülmesi (Agić ve ark.,2009).

2.35. Endometriozisli Hastaların Peritoneal Makrofajlarında Apoptoz

Endometriozisin en yaygın bölgesi olan peritoneal kavite, majör hücresel bileşenleri makrofajlar olan bir sıvı içerir (Eishcen ve ark., 1994). Endometriozis tanısı almış hastalarda bu hücrelerin sayısı ve sekretuar aktivitesi artış gösterir. Yapılan çalışmalar bu hücrelerin endometriozis gelişmesinde ve endometriozisin devam etmesinde önemli rolü olduğunu göstermektedir (Halme ve ark., 1983; Ramey ve Archer, 1993; Harada ve ark., 2001). Endometriozis hastalarının, endometriumuna göre periton makrofajlarının sitotoksik gücü azalma gösterir. Peritoneal makrofajların sitotoksitesinin azalması dolaşımdaki makrofajlardan daha önemli olabilir (Braun ve ark.,1998). Yapılan çalışmalarda peritoneal makrofajların, sitotoksitesinin azalmasının aşırı demir yüklenmesinden kaynaklanabileceğini öne sürmüştür. Aşırı demir yükü, endometriozisli kadınlarda peritoneal makrofajlarda NF- κ B aktivitesini artırabilir (Lousse ve ark., 2008). NF- κ B ile aktive olan makrofajlar, endometriotik hücrelerde NF- κ B' yi aktive edebilen proinflamatuvar sitokinleri salgılar sonuç olarak ise endometriotik hücrelerden sitokin üretimini teşvik eder. Bu durum, antiapoptotik faktörlerin sentezini artırır ve sonunda periton boşluğunda hücre sağkalımına katkıda bulunur (Gonzalez-Ramos ve ark., 2010). Endometriozisli kadınlarda periton makrofajlarının endometrial hücrelerin lizisine aracılık etme kapasitesinin azalması ile ektopik endometrial hücrelerin makrofaj aracılı sitolize karşı direnci artar. Bu durumda endometriozisli kadınların periton boşluğunda endometrial hücrelerin hayatta kalma şansı artmaktadır (Braun ve ark., 1998).

3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

Bu çalışma, Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi, İnsan Etik Kurulu'nun 08.02.2022 tarih ve 2022-02/06 numaralı kararı doğrultusunda gerçekleştirilmiştir. Bu çalışma Helsinki Bildirgesi'ne 2013'te revize edildiği şekliyle uygundur ve çalışmaya dahil edilen tüm bireylerden onam formları kendi rızaları ile alınmıştır.

3.1 Araştırma Yeri ve Ortam

Bu çalışma Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı, ile Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji Embriyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.

3.2. Araştırma Grupları

Çalışmada araştırma grubu olarak, Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalına başvuran 18-45 yaş arasında, düzenli adet döngüleri bulunan, endometriozisin (endometriotik kistlerin) bir tarafta mı yoksa her iki tarafta mı olduğuna bakılmaksızın >30 mm çapında olan kistlerin varlığı gibi kriterleri karşılayan kadın hastalar çalışmaya dahil edilmiştir. Ağrı veya diğer iyi huylu endikasyonlar nedeniyle laparoskopik işlem uygulanan hastaların tamamı herhangi bir hormon tedavisi almamış veya rahim içi araç kullanmamış olan hastalar çalışmaya dahil edilmemiştir. Önceki 3 ay içinde oral kontraseptifler, 3 ay içinde progestinler veya çalışmanın başlamasından önceki 6 ay içinde GnRH agonistleri dahil olmak üzere hormonal tedaviler alan hastalar, karmaşık endokrin ve otoimmün olan hastalar çalışma dışı bırakılmıştır.

3.3.Endometriozis Numunelerinin Toplanması

Çalışmaya kronik pelvik ağrı, dispareni, dismenore, anormal uterin kanama şikâyeti ile başvuran veya infertilitesi olan ve çalışma kriterlerini taşıyan, operasyon kararı verilmiş 25 kadın (9 endometriozisli, 16 kontrol hasta olmak üzere), yazılı bilgilendirilmiş onam formu alındıktan sonra dahil edilmiştir.

Tüm hastalardan detaylı anamnez alınarak demografik özellikleri, özgeçmişleri ve soygeçmişleri sorgulanmış, jinekolojik muayeneleri ve transvaginal ultrasonografileri yapılmıştır. Klinik parametreler olarak hasta yaşı (yıl), ağırlığı (kg) ve boyu (cm) ile SAT (son adet tarihi) ve reproduktif dönemleri tespit edilerek kayıt altına alınmıştır. Bu çalışmaya katılan hastaların dokuları “İnsan Endometriozis Dokusunda PI3K/AKT

Yolağı ve Kisspeptin Etkileşiminin Önemi; Morfometrik ve Histopatolojik Bir Çalışma” başlıklı doktora tez çalışması birlikte kullanılmıştır. Endometriozisli 9 hastadan hem ektopik hem de ötopik endometriyal bölgeden olmak üzere aynı anda 2 biyopsi materyali alınmış, dolayısıyla oluşacak 3 grubun 2 tanesi aynı hasta grubundan elde edilmiştir bu yüzden endometriozisli ektopik ve endometriozisli ötopik endometrium ile normal endometrium dokusu şeklinde 2 sınıflandırılma yapılmıştır. Fakat 3 ayrı doku ifade edilmiştir. *Çalışmaya katılan gönüllü hastalar*, endometriozis araştırmaları sürecinin bir parçası olarak 2 gruba ayrılmıştır;

3.4. Deney Grupları

1. Endometriozis mevcut hasta grubu toplam 9 hastadan oluşturuldu. Bu grup kendi içerisinde ektopik ve ötopik olarak ikiye ayrıldı.

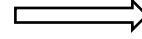


- a) Ektopik endometriuma sahip hasta grubu
- b) Ötopik endometriyuma sahip hasta grubu



9 Hasta

2. Kontrol grubu sağlıklı endometriuma sahip bireyler



16 denek

İnfertilite nedeniyle tanısı konulmuş üreme çağındaki endometriozisli tüm hastalara cerrahi olarak (laparotomi veya laparoskopi) teşhis konulduktan sonra ilgili kadın doğum uzmanı hekim tarafından biyopsi örnekleri alınmıştır. Alınan endometriozisli biyopsi örnekleri, hazırlanan solüsyonlar paraformaldehit ve glüteraldehit içerisine 2 ayrı doku takibi için konulmuştur ve bu solüsyonlar içerisinde tespit için saklanmıştır. Ayrıca kontrol denekleri, endometriozis veya değerlendirilen biyopsileri etkileyebilecek herhangi bir enfeksiyöz veya non-enfeksiyöz patolojisi olmayan, tubal faktör veya açıklanamayan infertilitesi olan kadınlardı. Hastalardan randevu alınarak, endometriyal histolojik analiz açısından adet döngüsü tarihi belirlemiştir. Proliferatif dönemdeki kontrol grubu hastalarından laparoskopik muayene gününde alınan biyopsi örnekleri de paraformaldehit ve glüteraldehit solüsyonları içerisine konularak saklanmıştır. Böylece alınan taze numuneler immunfloresan ve JB-4 teknikleri için tespit edilerek diğer aşamalara hazır hale getirilmiştir.

3.5. Doku Preparasyonu

Biyopsi sonrasında alınan endometriyum dokuları parafin bloklar için %4'lük paraformaldehitte 4°C'de 24 saat ve plastik bloklar için %4' lük gluteraldehitte en az 48 saat fikse edildi. Parafin bloklar için doku takip cihazı ile artan dereceli etanol ile dehidrasyon yapıldıktan sonra şeffaflandırılıp bloklandı.

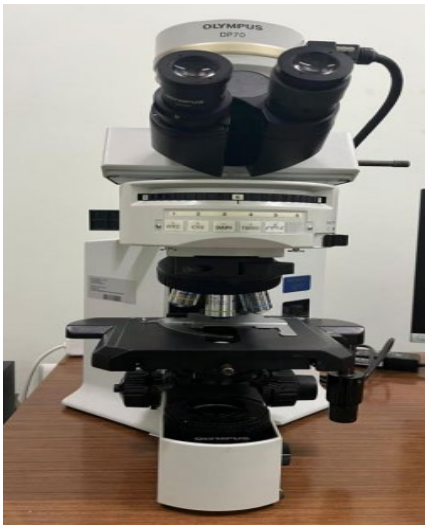
3.6. İmmunfloresan Boyama Protokolü:

Kontrol, ötopik ve ektopik endometrium parafin bloklarından mikrotom ile kesilen 3-4 µm kalınlığındaki kesitler, NF-κB p65 ve Bcl-2 primer antikörleri ile boyanarak 1 gece bekletildikten sonra sekonder antikor (Alexa Flour 568) ile boyandı. Endometriozisli hastalardan alınmış olan ötopik ve ektopik endometrium kesitlerinde, endometrial stromal hücreler, glandüler özellikler ve kan damarları ekspresyon düzeyleri, normal endometrium kesitlerindeki ekspresyon düzeyleri ile kıyaslanarak, NF-κB P65 ve Bcl-2'nin hücrelerel transkripsiyon ve apoptozun endometriozis patogeneğinde herhangi bir etkisinin olup olmadığı araştırıldı. Ayrıca her grubun kendi içinde, menstrual siklusun proliferatif döneminde olmasına dikkat edildi. Bu işlemler immunfloresan olarak aşağıda belirtilen sıralama ile gerçekleştirildi.

Kontrol ve çalışma gruplarına ait dokular %4'lük paraformaldehitte 4°C'de 24 saat süre ile tespit edildi. Dokular dehidrasyon, şeffaflandırma ve parafine gömme ardından + 4 °C'ye kaldırıldı. Mikrotomla (Leica Germany) kesit almadan birkaç saat önce bloklar – 20 °C' ye alınıp parafine gömülü doku örneklerinden alınan 3-4 µm'lik seri kesitler 1 gece etüvde bekletildikten sonra aşağıda belirtilen işlem basamakları uygulandı.

- ✓ Ksilolde deparafinizasyon
- ✓ %100'lük alkol..... 2' dk
- ✓ %100'lük alkol..... 2' dk
- ✓ %95'lik alkol.....2' dk
- ✓ %80'lik alkol..... 2' dk
- ✓ %70'lik alkol..... 2' dk
- ✓ Distile su 5 dk yıkama
- ✓ Mikrodalga fırında 2 defa 5'er dakika sırasıyla maksimum güçte ve 550W'da 10 mM sodyum sitrat tamponu (pH=6) içerisinde epitoplardan açığa çıkarılması gerçekleştirilecektir.

- ✓ Pappen (Daido Sangyo Co., Ltd. Tokyo, Japan) ile örneklerin etrafı çizildi.
- ✓ Kesitler yıkama çözeltisinde (PBS-Triton X-100) 2 kez 3'dk yıkandı.
- ✓ Kesitlerin immüoglobulinin nonspesifik taşınmasını engellemek için SuperBlock (Sky Tech Lab, USA) çözeltisinde oda ısısında 30 dakika inkübe edildi. (Serum Bloklama)
- ✓ Kesitler primer antikorlarla 40C'de nemli karanlık ortamda gece boyu inkübe edildi. Bu çalışmada kullanılan primer antikorlar ve kullanıldıkları seyreltme oranları; NF-κB p65 (1:100), Bcl-2(1:100). Bütün primer antikorlar pH=7.4 olan antibody diluent reagent (Invitrogen, USA) çözeltisi ile sulandırıldı.
- ✓ Yıkama çözeltisinde (PBS-Triton X-100) 4 kez 3'er dakika yıkandı.
- ✓ Sekonder antikor; Goat Anti-Mouse IgG H&L (Alexa Flour 568): ab175473 abcam ısısında 1 saat nemli ortamda inkübe edildi.
- ✓ Yıkama çözeltisinde (PBS-Triton X-100) 4 kez 3'er dakika yıkandı
- ✓ 0.5 µg/ml DAPI (Sigma, USA) ile oda ısısında 5 dk çekirdek boyaması yapıldı.
- ✓ Yıkama çözeltisinde (PBS-Triton X-100) 5 dakika yıkandı.
- ✓ Kapatma mediumu ile (Mountingmediumforimmünofluorescent) kapatılarak floresan ışık mikroskopta NF-κB P65 ve Bcl-2immünolokalizasyonu incelendi, semi-kantitatif değerlendirildi ve fotoğraflandı.



Şekil 3.1. İmmunfloresan Işık mikroskop (Olympus BX51)

3.7. JB-4 Tekniği

Glikol metakrilat türevi gömme ortamları, parafin kesitlerden daha ince ve elektron mikroskopi kesitlerinden daha kalın (yaklaşık 2 μm) kesit almaya olanak tanırırlar. Çalışmamızda, bu amaçla JB-4 gömme ortamı kullanılmıştır.

1. JB-4 Gömme Kiti içinde sol A, sol B ve katalizör bulunmaktadır. Yaklaşık 1 cm³'lük doku parçaları gluteraldehitte fikse edildi.
2. Sudan Kurtarma basamakları
 - %70'lik etil alkolde 90 dakika
 - %80'lik etil alkolde 60-90 dakika
 - %90'lık etil alkolde 60-90 dakika
 - %95'lik etil alkolde 90 dakika
 - %100'lük etil alkolde 60 dakika
 - %100'lük etil alkolde 60 dakika
3. İnfiltrasyon Çözeltisi hazırlandı: 50 cc JB-4 solüsyonu ve 0.45 gr katalizör karıştırıldı, 30 dakika boyunca çeker ocakta karıştırıldı.
 - Katalizlenmiş sol-A ile 1 gece
4. Gömme Çözeltisi hazırlanır: 25 cc katalizlenmiş JB-4 solüsyonuna 1 cc JB-4 solüsyon B eklendi ve 10-15 dakika içinde kullanılmak üzere hafifçe çalkalandı.
 - Gömme çözeltisine batırıldı.
 - Sertleşene kadar (1-2 saat) beklendi.
 - JB-4, gömme bloklarına döküldü, dokular yerleştirildi, üzerine takozları konuldu ve buzdolabında +4 derecede 1-2 saat polimerize olması beklendi. Polimerize olan doku örneklerinden JB-4 için kullanılan mikrotomda cam bıçaklar hazırlanarak kesitler alındı. Kesitler lam üzerine alınarak boyama işlemi için hazır hale getirildi.



Şekil 3.2. JB-4 blok hazırlama

3.7.1. JB-4 kesitler için toluidin blue- asit fuksin boyama yöntemi

- 1- % 1' lik sulu asit fuksin 2 dakika
- 2-Distile suda yıkama 1 dakika
- 3-% 0.05'lik toluidin blue (pH=4.4 olan asetat tamponu ile hazırlanmış) 2 dakika
- 4-Distile suda yıkama 30 saniye
- 5-Havada kurutma
- 6-Entellan ile kapatma



Şekil 3.3. JB-4 mikrotom

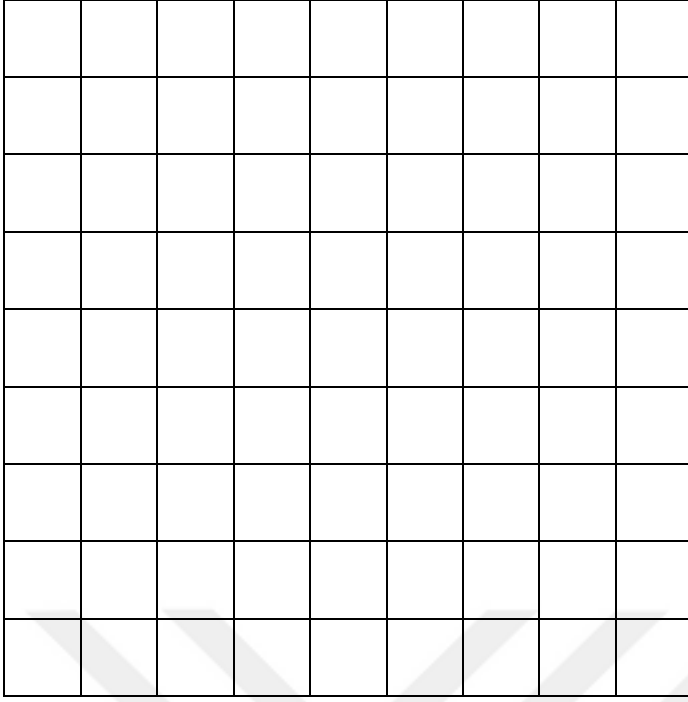
3.8. Morfometri

3.8.1. Morfometrik Tekniğin Önemi

Mikroskopik kalitatif gözlemler, bir doku veya organın nicel özelliklerini doğrudan temsil etmeyebilir. Bu zorluğun üstesinden gelmek için stereolojiye başvurulmaktadır. Nokta sayımı kullanılarak, üç boyutlu özellikler sıfır boyutlu bir formata indirgenmektedir. Hilliard ve Cahn (1961), hacim yüzdelerinin nokta sayımı ile değerlendirilmesindeki genel hatanın, diğer yöntemlere kıyasla daha küçük olduğunu göstermiştir. Organlardaki üç boyutlu yapıların dış yüzeyinin boyutu, doku kesitlemesi sırasında hacimleriyle aynı şekilde azaltılır. Ölçümün doğruluğunun tahmini, uygulanan nokta sayısı ve yapıların hacim yoğunluğu ile ilişkilidir (Baak ve ark., 1977). Bu yöntem, rastgele seçilmiş noktaların belirli bileşenlerin içinde veya dışında olduğu görüntüler üzerinden yapılan sayımlarla çalışır. Bu sayımlar, genel hacim içinde özel bir bileşenin hacmini belirlemek için kullanılır.

Volüm fraksiyonu, üç boyuttaki özelliklerin iki boyutlu görüntülerden ölçülmesine izin veren geometrik olasılığa dayanmaktadır. Morfometrik volüm fraksiyonu ölçümü doku, hücresel ve hücre altı karakterlerin tarafsız bir şekilde ölçülmesine olanak tanıyan çeşitli teknikler sunmaktadır. Bu teknikler, sayım noktalarına veya dikkatlice tasarlanmış sayım gridlerinin kesişme noktalarını içermektedir ve belirli ölçümler için dikkatlice kontrol edilen doku örneklemeleri gerektirir. Bunlar uygun sayım gridinin fotoğrafların üzerine bindirilebilecek bir asetat levhaya fotokopi çekerek gerçekleştirilebilir. Stereoloji, histopatolojide ucuz ancak çok etkili bir ölçüm yöntemi sağlar ve tarafsız morfometrik veriler elde etmenin tek yoludur.

Histopatolojide yeni moleküler tekniklerin ortaya çıkması potansiyel bir etkiye sahip olsa da morfoloji, hastalık teşhisi ve derecelendirmesinin temel taşı olmaya devam edecektir. Ölçüm, morfolojik değişim yorumumuzu geliştirmemize ve hastalık süreçlerinde genotip ile fenotip arasındaki ilişkiyi daha nicel terimlerle anlamamıza yardımcı olmaktadır. İnsan endometriyumunun tam bir tanımlayıcı morfolojisini elde etmek için endometriumun özellikleri uygun morfometrik yöntemler kullanılarak değerlendirilmiştir (Weibel, 1979). Hormonal değişiklikler morfolojiye yansıdığı için endometriyumda yapı ve işlev arasında yakın bir ilişki vardır (Dallenbach-Hellweg, 1975). Mikroskopide kantitatif yöntemlerin histopatoloji alanında çok yararlı olduğu gösterilmiştir.



Şekil 3.4. A. 1 cm aralıklı Kafesli Sayım Gridi



Şekil 3.5 B. Gride histolojik görüntünün bindirilmiş hali

Morfometrik ölçümler belirli kesişim aralığına sahip sayım gridi ile histolojik görüntünün üst üste bindirilmesiyle gerçekleştirilir.

3.8.2.Morfometrik Analizler

Endometriozisin morfometrik analizi, hastalığın dokusal özelliklerini mikroskopik düzeyde inceleyerek, hücre ve doku seviyesinde detaylı kantitatif bilgiler edinmemizi sağladı. Bu analiz, endometriozis lezyonlarının boyutu, şekli, yoğunluğu ve diğer ölçümleri üzerinden kapsamlı bir veri oluşturdu. Böylece hastalığın evresini belirleme, tedavi stratejilerini planlama ve hastalığın gelişimini izleme konularında önemli rol oynar. Morfometrik analiz sayesinde endometriozisli dokunun normal endometrium dokusundan farklılıkları niceliksel olarak belirlendi. Sonuç olarak, endometriozisin morfometrik analizi, hastalığın anlaşılmasını derinleştirir ve daha hassas, etkili tedavi stratejilerinin belirlenmesine katkı sağlar.

Endometriozis çalışmalarında morfometrik analizin neden yapıldığına dair bazı ana nedenler:

1. *Tanı ve Sınıflandırma:* Morfometrik analiz, endometriozis lezyonlarının boyutu, şekli, yoğunluğu ve dağılımını değerlendirerek hastalığın evresini belirlemeye yardımcı olur. Bu, doğru tanı koyma ve hastalığın yaygınlığına göre sınıflandırma yapma konusunda önemli bir adımdır.
2. *Tedavi Planlaması:* Hastalığın morfolojik özellikleri, tedavi stratejilerini belirlemede kritik bir rol oynar. Morfometrik analiz, cerrahi müdahale öncesi ve sonrası durumu değerlendirerek tedavi planlamasına rehberlik eder ve tedavinin etkinliğini izleme konusunda bilgi sağlar.
3. *Hastalığın Gelişimi:* Morfometrik analiz, endometriozis lezyonlarının zaman içindeki değişimlerini izlemeye yardımcı olur. Hastalığın gelişimi anlamak, yeni lezyonların oluşumu ve mevcut lezyonlardaki değişikliklerin belirlenmesi açısından önemlidir.
4. *Vaskülarizasyon ve Anjiyogenez Değerlendirme:* Endometriozis, anjiyogenez tetikleyen bir durumdur ve yeni kan damarlarının oluşumu sıkça görülür. Morfometrik analiz, bu vasküler değişiklikleri değerlendirerek hastalığın, endometrium dokusundaki vaskülarizasyonu anlamak açısından önemli bilgiler sağlar.
5. *Araştırma ve İnovasyon:* Histolojik analiz, endometriozis üzerine yapılan araştırmalarda konveksiyonel bulgulara ek olarak kantitatif veriler elde

edilmesine olanak tanır. Bu analiz, hastalığın temel biyolojik özelliklerini daha iyi anlamak ve yeni tedavi yöntemleri geliştirmek için önemli olabilir.

3.8.3. Morfometrik Yöntemlerle Ölçülen Doku Özellikleri

Endometriyal biyopsi yoluyla elde edilen, JB-4 gömme materyaline gömülen kontrol ve endometriozisli insan endometriyal dokularından kesitler alındı ve uygun morfometrik yöntemler kullanılarak, insan endometriozis dokusunun morfolojik karakterizasyonu belirlendi. Her grupta sistematik rastgele örnekleme ile seçilen endometriozisli ve endometriozisi olmayan hastalardan elde edilen kesitlerde 1 cm aralıklı kesişim noktasına sahip sayım gridi 40x büyütmede en az 20 alanda elde edilen görüntüler Olympus BX51 (Tokyo, Japan) ile bilgisayarda görüntülendi ve volüm fraksiyonu yöntemiyle değerlendirildi.

Proliferatif dönemde endometriozisli ektopik ve ötopik endometrium ile normal endometrium dokusunun stromal kompartmanında meydana gelen;

- a) Stromanın endometriyumda kapladığı hacim fraksiyonu
- b) Kan damarının stromada kapladığı hacim fraksiyonu
- c) Endometrial bezlerin endometriyumda işgal ettiği volüm fraksiyonu ve bez lümeninin bezlerde işgal ettiği hacim fraksiyonu.
- d) Endometrial stromal hücrelerin stromada kapladığı hacim fraksiyonu
- e) Matriksin stromada kapladığı hacim fraksiyonu

Siklusun proliferatif evrede olması endometriozisli ötopik grup için glandüler yapılar açısından önemlilik teşkil etti.

Morfometrik analizler, yeni oluşan kan damarlarının yoğunluğunu ve dağılımını değerlendirerek endometriozis lezyonlarının vaskülerizasyonunu anlamak açısından önemli olduğunu gösterdi. Bu analizler, hastalığın kan damarı ağı ile ilişkisini belirlemede ve bu damarların ne kadar geliştiğini gösterdi.

Glandüler yapıların eksikliği, endometriozis lezyonlarının tanımlanmasında ve diğer pelvik lezyonlardan ayırt edilmesinde önemlidir. Bu morfolojik özellik, endometriozisin farklı evrelerini belirleme ve tedavi stratejilerini planlama süreçlerinde

klinik pratikte önemli bir rol oynar. Morfometrik analiz, bu tür özellikleri değerlendirerek, hastalığın doğru bir şekilde anlaşılmasına ve yönetimine katkı sağlar.

3.9. İstatistiksel Yöntem

Çalışmamızdan elde edilen veriler spss 22,0 programına yüklenerek verilerin değerlendirilmesinde, parametrik test varsayımları yerine getirilemediğinden (Shapiro-Wilk) bağımsız iki gruptan elde edilen ölçümler (bez ve bez lümeni) karşılaştırılırken Man Whitney U testi, 2' den fazla gruptan elde edilen ölçümler karşılaştırılırken Kruskal Wallis testi kullanılmış, bağımsız ikiden fazla gruptan elde edilen ölçümler (matriks ve stromal hücreler) karşılaştırılırken tek yönlü varyans analizi, analiz sonucunda ise farklılık yapan grupları bulabilmek için Tukey testi kullanıldı. Elde edilen veriler tablolarda aritmetik ortalama, standart sapma, ortanca, minimum maximum şeklinde belirtilerek yanılma düzeyi 0,05 olarak alınmıştır.

3.10. Kullanılan Cihazlar

- Doku takip cihazı (Leica, Germany)
- Gömme fırını (MKN Taab, UK)
- Ben Mari (Leica, Germany)
- Mikrotom (Leica, Germany)
- pH metre (Metle Toledo MP 2200, UK)
- Manyetik karıştırıcı (BIBBY Stuart, UK)
- Floresan mikroskop (Olympus BX51, Japan)
- Hassas tartı (Denver Instrument Company, USA)
- Mikrodalga fırın (Arçelik MD 554 İntellwave, Türkiye)
- Mikropipetler-10µl, 20µl, 200µl ve 1000µl (Gilson, USA)
- Nanodrop
- Knife-maker: lkb (bromma) 2078 histo knife-maker)
- Leica Germany RM 2045 JB-4 için mikrotom

3.11. Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Sarf Malzemeler

❖ Antikorlar

✓ Primer Antikorlar;

1. Anti-NFKB p65 primer Antikor-mouse monoclonal (F-6): sc-8008
2. Anti- Bcl-2primer Antikor-mouse monoclonal (C-2): sc-7382

✓ Sekonder Antikor;

1. Goat Anti-Mouse IgG H&L (Alexa Flour 568): ab175473 Abcam

- ❖ SuperBlock (Sky Tech Lab, USA)
- ❖ DAPI (Sigma, USA)
- ❖ Eozin (Biooptica, Milano, Italy)
- ❖ Hematoksilen (Biooptica, Milano, Italy)
- ❖ Phospate Buffer Saline (PBS) (Sigma, USA)
- ❖ Sitrat Buffer (Sigma, USA)
- ❖ Formaldehit (Merck, Germany)
- ❖ Sodyum dihidrojen fosfat (Merck, Germany)
- ❖ Di sodyum hidrojen fosfat (Merck, Germany)
- ❖ Paraformaldehit (Merck, Germany)
- ❖ Triton X-100 (Biotech, Canada)
- ❖ Hidrojen peroksit (Sigma, USA)
- ❖ BSA(Bovine Serum Albumine) (CapriCorn Scientific, USA)
- ❖ Tris EDTA Buffer (Ambion, USA)
- ❖ Entellan (Merck, Germany)
- ❖ Sodyum sitrat (Merck, Germany)
- ❖ Etil alkol
- ❖ Antibody Diluent Reagent (Invitrogen, USA)

3.12. Kullanılan Çözeltiler ve Tamponlar:

i. %4'lük Paraformaldehit (pH 7.4)

- ❖ Distile Su 850ml
- ❖ Paraformaldehit 40gr
- ❖ 10N NaOH 0.1ml
- ❖ 10X PBS Stock 100ml

ii. Yıkama Çözeltisi

- ❖ 1000 ml PBS içinde 1ml Triton X-100 çözünerek hazırlandı.

iii. Na-Sitrat Tamponu

- ❖ Tri Na- Sitrat (dihidrat) 2,94 g
- ❖ Distile su 1000 ml
- ❖ pH=6.0 olacak biçimde hazırlandı.

iii. %3 lük Gluteraldehit çözeltisi

- ❖ Fosfat Buffer Tamponu
- ❖ Solüsyon A (Dibazik)
- ❖ Solüsyon B (Monobazik)

3.13. Semikantitatif Skorlama Yöntemi:

Endometriozisli ötopik ve ektopik ile normal endometrium doku örneklerinde görüntülenen NF- κ B p65 ve Bcl-2 ekspresyonlarının şiddeti semikantitatif skorlama yöntemi ile belirlendi ve sonuçlar tablolar halinde bulgular bölümünde gösterildi. Derecelendirmeler arasındaki fark belirgin olduğu için ayırım kolaylıkla yapılabildi ve diğer bir gözlemciyle ayırımın yapılabilirliği doğrulandı.

- **+ boyanma derecesi:** NF- κ B p65 ve Bcl-2 antikorlarının immunfloresan boyama ile nispeten küçük bir bölgeyi kapladığında hafif derecede ekspresyon varsa, + boyanma derecesi olarak kategorize edildi.
- **++ boyanma derecesi:** NF- κ B p65 ve Bcl-2 antikorlarının immunfloresan boyama ile orta derecede boyanma olmuş ise ++ boyanma derecesi olarak kategorize edildi.
- **+++ boyanma derecesi:** NF- κ B p65 ve Bcl-2 antikorlarının immunfloresan boyama ile güçlü derecede boyanma olmuş ise +++ boyanma derecesi olarak kategorize edildi.
- **++++ boyanma derecesi:** NF- κ B p65 ve Bcl-2 antikorlarının immunfloresan boyama ile çok güçlü derecede boyanma olmuş ise ++++ boyanma derecesi olarak kategorize edildi.
- **- Hiç boyanmama:** İmmunfloresan hiç boyanmama derecesinde, ekspresyon yoksa negatif boyanma olarak kategorize edildi.

4. BULGULAR

Çalışmaya, Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim dalında ameliyat edilen 25 hasta dahil edildi. Hastalardan alınmış doku örnekleri prospektif olarak incelendi. Hastalar endometriozis mevcut (n= 9), aynı endometriozis doku örneğinden ektopik ve ötopik kontrol grubu (n=16) olarak 2 gruba ayrıldı. Hastaların yaş ortalaması endometriozis grubunda $46,44 \pm 7,77$ ve kontrol grubunda $41,68 \pm 3,96$ olarak hesaplandı. Çalışmaya dahil edilen hastaların gruplara göre yaş dağılımı Tablo 4.1’ de gösterilmiştir.

10 endometriozis hastası ve 24 kontrol hastasından, doku kontaminasyonu, tutarsız patoloji raporu veya alınan doku örneğinin uyuşmaması nedeniyle bazı örnekler çalışma dışı bırakıldı. Son olarak, bu çalışmada endometriozisli aynı hastadan alınan doku örnekleri ektopik ve ötopik olarak ayrıldı. 9 ektopik, 8 ötopik endometrial doku ve endometriozisi olmayan hastalardan 16 kontrol endometrial doku kullanıldı.

Tablo 4.1. Endometriozis ve Kontrol Grubu Yaş ortalaması

	N	Minimum	Maximum	Ortalama	Standart Sapma
Endometriozis Grubu Yaş	9	35,00	59,00	46,44	7,77
Kontrol Grubu Yaş	16	33,00	47,00	41,68	3,96
Valid N (listwise)	9				

Tüm hastaların başvuru şikayetleri anormal uterin kanama, dismenore, disparoni, menoraji, adet düzensizliği, pelvik ağrı, bel ve sırt ağrısı şeklinde idi. Hasta gruplarındaki jinekolojik şikayetler Tablo 4.2’ de gösterilmiştir.

Tablo 4.2. Tüm hasta gruplarında jinekolojik şikayetler ve bulgular

Tüm hastaların şikayetleri	jinekolojik	Gruplar		Toplam	%
		Endometriozisli Grup	Kontrol Grubu		
Anormal Uterin Kanama		8	6	14	56
Menoroji		0	7	7	28
Dismenore		1	3	4	16
Disparoni		0	4	4	16
Adet Düzensizliği		0	3	3	12
Pelvik Ağrı		2	0	2	8
Bel ve Sırt Ağrısı		1	0	1	4

Endometriozis tanısı alan hastaların genel şikayetleri arasında anormal uterin kanama, pelvik ağrı, dismenore, bel ve sırt ağrısı şeklindeydi. Bu hastaların yaş

dağılımları ile şikayetleri tablo 4.3'te gösterilmiştir. 30- 40 yaş arası hastalardan 1 hasta anormal uterin kanama, 1 hasta pelvik ağrı, 1 hasta dismenore şikâyeti ile başvurdu. 41- 51 yaş arası hastalardan 6 hasta anormal uterin kanama, 1 hasta pelvik ağrı ve 1 hasta da ise bel ve sırt ağrısı mevcuttu. 52 yaş üstü hastalardan yalnızca 1 hasta anormal uterin kanama şikayetine sahipti.

Tablo 4.3. Endometriozis grubu hastaları yaşlara göre jinekolojik şikayetler

Yaş Aralığı		Hastalara ait Jinekolojik Şikayetler				
		Anormal Uterin Kanama	Pelvik Ağrı	Bel ve Sırt Ağrısı	Dismenore	Total
30-40 Yaş	Sayı	1	1	0	1	3
	%	33.3%	33.3%	0,0%	33.4%	
41-51 Yaş	Sayı	6	1	1	0	6
	%	100,0%	16,7%	16,7%	0,0%	
52 Yaş ve üstü	Sayı	1	0	0	0	1
	%	100,0%	0,0%	0,0%	0,0%	
Total	Sayı	8	2	1	1	12
	%					
	toplam	88,9%	22,2%	11,1%	11,1%	100,0%

Kontrol grubu olarak değerlendirilen hastalarda, endometriozis olgusu olan hastaların şikayetlerinden farklı olarak disparoni, menoraji ve adet düzensizliği şikâyeti ile gelen hastalar vardı. Bu hastaların istatistiksel değerleri Tablo 4.4'te gösterilmiştir. Bunlardan 30- 40 yaş arası hastalardan 4 hasta anormal uterin kanama, 2 hasta menoraji, 1 hasta dismenore, 1 hasta disparoni ve 2 hasta adet düzensizliği şikâyeti ile geldi. 41- 51 yaş arası hastalarda, 2 hasta anormal uterin kanama, 5 hasta menoraji, 2 hasta dismenore, 3 hasta disparoni ve 1 hastada ise adet düzensizliği şikâyeti vardı.

Tablo 4.4. Kontrol grubu hastaları yaşlara göre jinekolojik şikayetler

Yaş Aralığı	Hastalara ait jinekolojik şikayetleri					Total
	Anor. Uterin Kanama	Menoroji	Dismenore	Disparoni	Adet Düzensizliği	
30-40 Yaş sayı	4	2	1	1	2	7
%	57,1%	28,6%	14,3%	14,3%	28,6%	
41-51 Yaş sayı	2	5	2	3	1	9
%	22,2%	55,6%	22,2%	33,3%	11,1%	
Total sayı	6	7	3	4	3	16
%	37,5%	43,8%	18,8%	25,0%	18,8%	100,0%

Çalışmaya dahil edilen hastalar endometrial biyopsi alındığı dönemdeki menstrual fazlarına göre değerlendirildi. Normal menstrual siklus 28 ± 2 gün olarak kabul edildi. Menstrual siklusun 1-7. günleri menstruel faz, 8-14. günleri proliferatif faz, 15-28. günleri sekretuar faz olarak kabul edildi. Endometrial biyopsi alındığı dönemde endometriozis grubundaki hastaların hepsi proliferasyon fazında idi. Çalışma ve kontrol grubundaki hastaların hiçbirisi operasyon gününde menstrüel fazda değildi. Çalışmaya dahil edilen hastaların endometriozis evrelemesi ASRM skorlamasına göre yapıldı. Buna göre çalışmaya dahil edilen 9 endometriozis hastasının 30-40 yaş arası hastalardan 1(%50) hasta erken evre 2, 1 (%50) hasta geç evre 3 endometriozis, aynı grubun 41-51 yaş arası hastalarından 1 hasta erken evre 2, 5 hasta geç evre 3 endometriozis, 52 yaş ve üzeri hastalardan ise yalnızca 1 hasta geç evre 4 endometriozis olarak değerlendirildi.

4.1. Histolojik Bulgular

4.1.1. JB-4 Mikroskopik Bulgular

Toluidin blue-Asit fuksin ile boyanan doku örneklerinde, uterus dokusu yüzey epiteli prizmatik epitel ve bağ dokusu içerisine uzanan endometrial bezler ile organın derinliklerinde yer alan miyometrium tabakasında düz kas katmanından oluşmuştur. İnsan endometriyumu 2 bölmeden oluşur; epitel ve stroma. Endometriozis grubu örnekleri ektopik ve ötopik olarak ayrılmıştır. Yüzey epiteli ve endometrial bezlerin bulunduğu dokuya ötopik endometrium denilmiş, fibrozis, skar doku, hemosiderin ve kanama odaklarının bulunduğu normal endometrium yerleşiminden farklı konumlanan endometrium dokusuna ektopik endometrium denilmiştir. Ayrıca herhangi bir rahatsızlığı olmayan bireylerin endometriumlarından alınan örneklerle kontrol grubu endometriyumu adı verilmiştir.

Endometriozisli ve kontrol hasta gruplarına ait doku örnekleri endometrial siklusun proliferatif fazında alınmıştır. ASRM sınıflandırmasına göre evre 1, 2 ve 3 endometriozis tanısı almış hasta dokuları kullanılmıştır.

4.1.1.1. Kontrol Grubu Endometrium Dokusu

Kontrol grubu dokuları, herhangi bir hastalık saptanmamış normal endometrial yapıları içeriyordu. Kontrol endometrium dokusu örneklerinde, lamina propriada endometrial bezler izlendi (Şekil 4.1A; a). Stromal bağ dokusunda belirgin şekilde hücresel yoğunluk vardı (Şekil 4.1A; b, 4.1B; d). Yer yer epitelin tek katlı prizmatik hücrelerden oluştuğu ve stromanın gevşek bağ dokusu yapısında olduğu izlendi. Bez yapıları

stromayı çevrelemişti. Endometrial stromal hücreler yoğun olarak izlendi (Şekil 4.1A; b, 4.1B; d,e). İnsan endometrium dokusunda proliferatif dönemde endometrial stromal hücrelerin proliferasyon kapasiteleri yüksekti. Stroma içerisinde ayrıca lökositlere de rastlandı. Bezlere ait epitel hücrelerinin yükseklikleri ve çekirdek yapıları çok belirgindi (Şekil 4.1A; b, Şekil 4.1B; d). Hemorajik alanlar kontrol grubu örneklerinde görülmedi. Kan damarları her üç grupta da vardı (Şekil 4.1B; e).

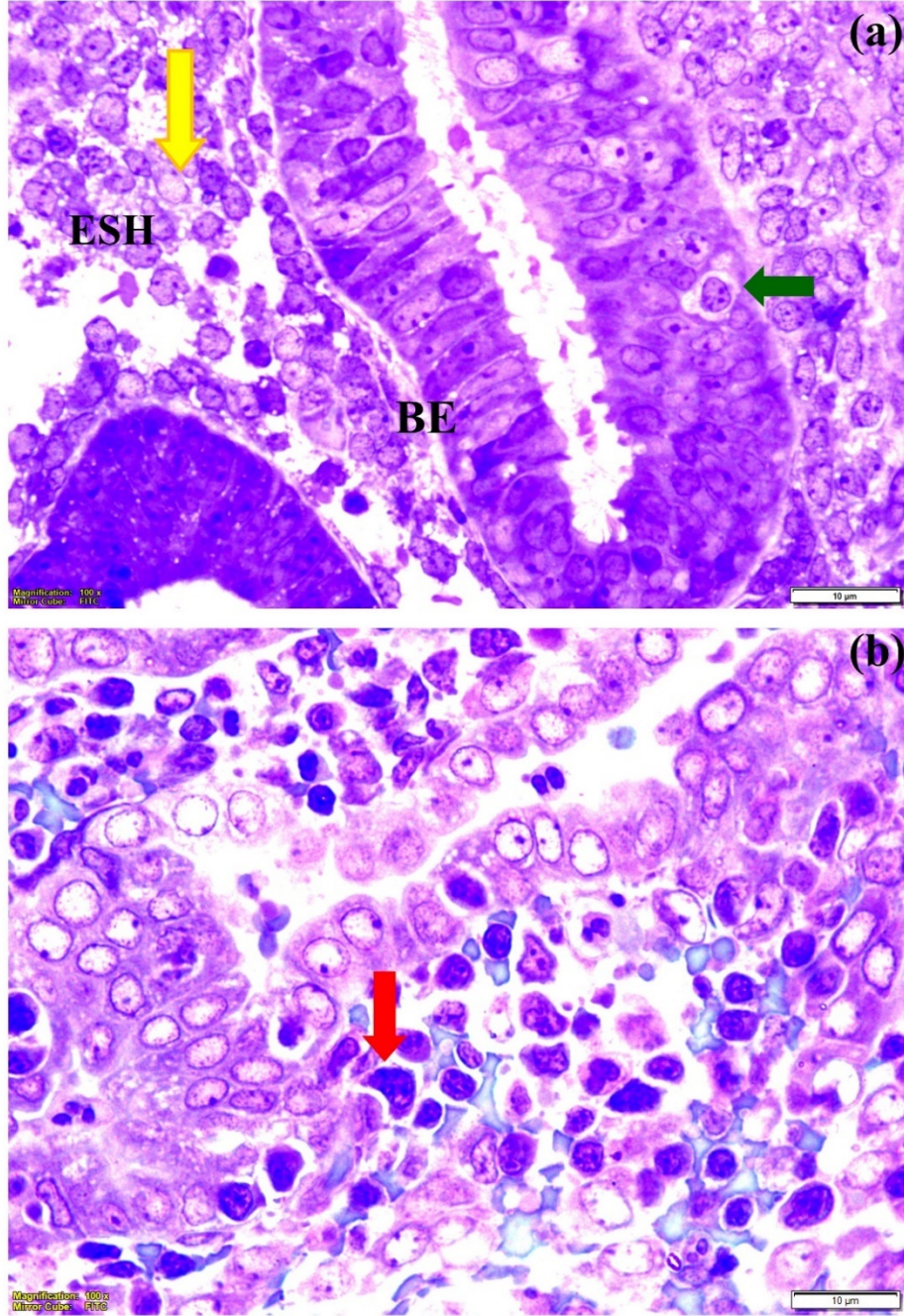
4.1.1.2. Ektopik Endometriuma Ait Doku

Ektopik implantların olduğu endometrium dokusunda cerrahi işlem sırasında iyi vaskülarize olmuş üzeri kanamalı kistik yapılar izlendi. Bu kistlerin üzeri fibrotik bir bağ dokusu ile örtülmüş durumdaydı. Endometriozisli kistlerde kavitede birikmiş kan basıncının etkisi ile endotelyal lökositlerin büyük kısmı hemosiderin ile yüklenmiş durumdaydı (pseudoksantoma hücresi), ve glandüler tabaka kaybolmuştu yerini bağ dokusuna bırakmıştı. Endometriozis implant odakları, stroma yapılarının bulunması, yer yer fibrozis içeren skar doku ve hemosiderin yüklü makrofajların varlığı ile histolojik endometriozis olarak değerlendirilmeye alındı (Şekil 4.2A; a, Şekil 4.2C; f). Endometriotik lezyonlarda kahverengi hemosiderin yüklü granülleri ile çok sayıda lenfosit infiltrasyonu ve hemosiderin pigmenti yüklü histiyositler izlendi (4.2A; a,b). Kan damarları belirgin şekilde mevcuttu ve kapiller ağı vardı ve kan damarlarının şekil ve büyüklükleri farklılık gösteriyordu (Şekil 4.2B; c, d.). Ektopik endometrial dokuya ait endometrial stromal hücreler ötopik ve kontrol gruba göre daha az izlendi ve daha az çekirdek / sitoplazma oranına sahip hücreler mevcuttu (Şekil 4.2B; d, Şekil 4.2C; f). Bazı alanlarda ise fibröz stroma içerisinde gömülü parçalanmış eozinofiller de yer almaktaydı. Bazı alanlarda mast hücrelerine de rastlandı (Şekil 4.2A; b). Ektopik endometrial dokuya ait grupta intraepitelyal ve stromal lökosit ve nötrofil sayısında artış izlendi. Bu gruba ait örneklerde dokunun farklı bölgelere implant olmasından kaynaklı büyüdüğü görüldü ve kan damarlarında artış vardı (Şekil 4.2B; c, Şekil 4.2C; e). Stromal doku oldukça belirgin olup, dokunun yeniden şekillenmesine bağlı olarak ortaya çıkan tüm bu bulgular endometriozis tanısına uygundu. Hücre çekirdeğinde şekil ve boyut farklılığı olan pleomorfik hiperkromatik nukleuslu atipik hücreler de yer yer çıkmıştı (Şekil 4.2B; d, Şekil 4.2C; f).

4.1.1.3. Ötopik Endometriuma Ait Doku

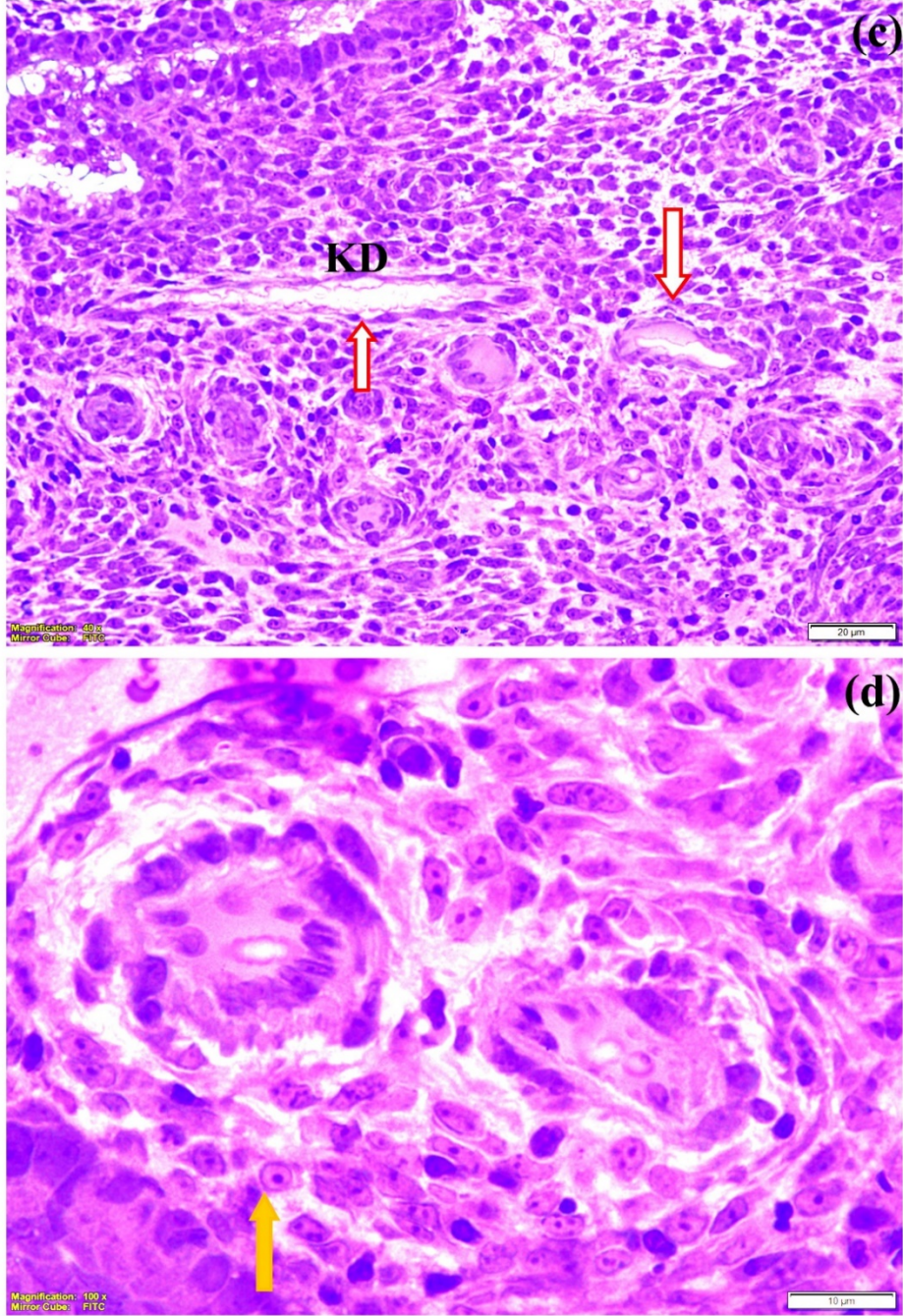
Ötopik endometrium da bez yapıları ektopik endometriumdan farklı olarak yoğun izlendi ve stroma gevşek bağ dokusu yapısındaydı (Şekil 4.3A; a, b). Proliferatif dönem ötopik endometriumunda, bezlere ait epitel hücreleri kübik ve prizmatik epitel şeklinde izlendi (Şekil 4.3A; a). Endometriumda kontrole göre bez yapılarında artış vardı ve asimetrik bez yapıları mevcuttu ayrıca bezlerin dağılımı düzensizdi. Bez epitel hücreleri arasında boşluklu yapılar halinde köpük hücrelerine rastlandı (Şekil 4.3A; a). Bez epitelini oluşturan hücreler yer yer şekil ve büyüklük bakımından farklılık gösterdi. Ektopik endometrium dokusunda görülen hemosiderin birikimleri izlenmedi fakat hemosiderin içermeyen makrofajlar çok az sayıda mevcuttu. Bazı alanlarda histiyositler ve mast hücreleri görüldü (Şekil 4.3B; c, d). Örnekler proliferatif dönemde alındığından yer yer glandüler epitelde kalınlık görüldü. Lenfositlerin doku içinde dağınık bir şekilde daha az sayıda yerleştiği görüldü (Şekil 4.3A; a, Şekil 4.3B; c). Yer yer nötrofiller ve eozinofiller izlendi (Şekil 4.3B; b). Endometrial stromal hücreler stroma dağınık şekilde ve hücrelere ait çekirdekler belirgindi ve ovoid şekilli ve büyüktü (Şekil 4.3B; d). Bazı alanlarda piknotik çekirdekli endometrial stromal hücrelerde görüldü (Şekil 4.3A; a, Şekil 4.3B.c,d). Kan damarları, kontrol grubuna göre fazla ektopik gruba göre daha az olarak izlendi ve kapillerler mevcuttu (Şekil 4.3A; b).

KONTROL ENDOMETRİUMU



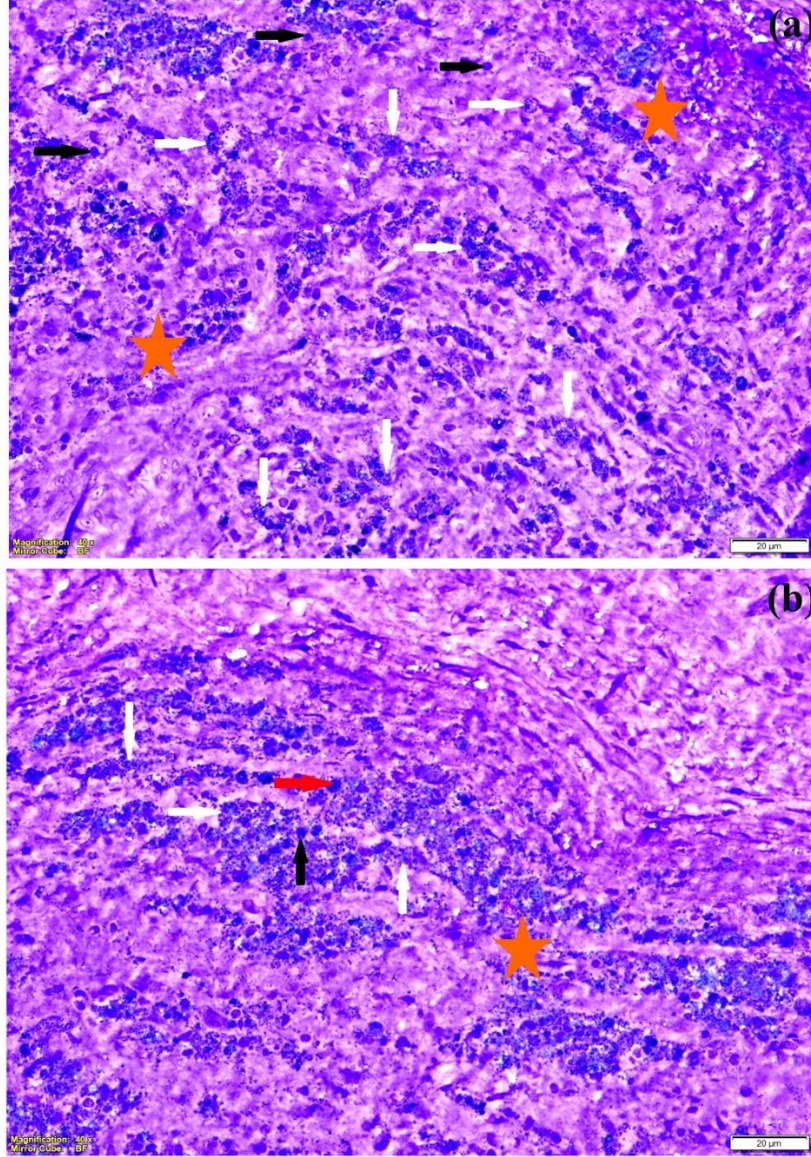
Şekil 4.1A. JB-4 blokta kontrol grubu endometrium dokusunda Bez epiteli (BE), endometrial stromal hücre (ESH) izlenmektedir. (Sarı ok; ESH →, yeşil ok; apoptotik hücre →, kırmızı ok; plazma hücresi →), (100x büyütme Toluidin Blue Asit Fuksin Boyama).

KONTROL ENDOMETRİUMU



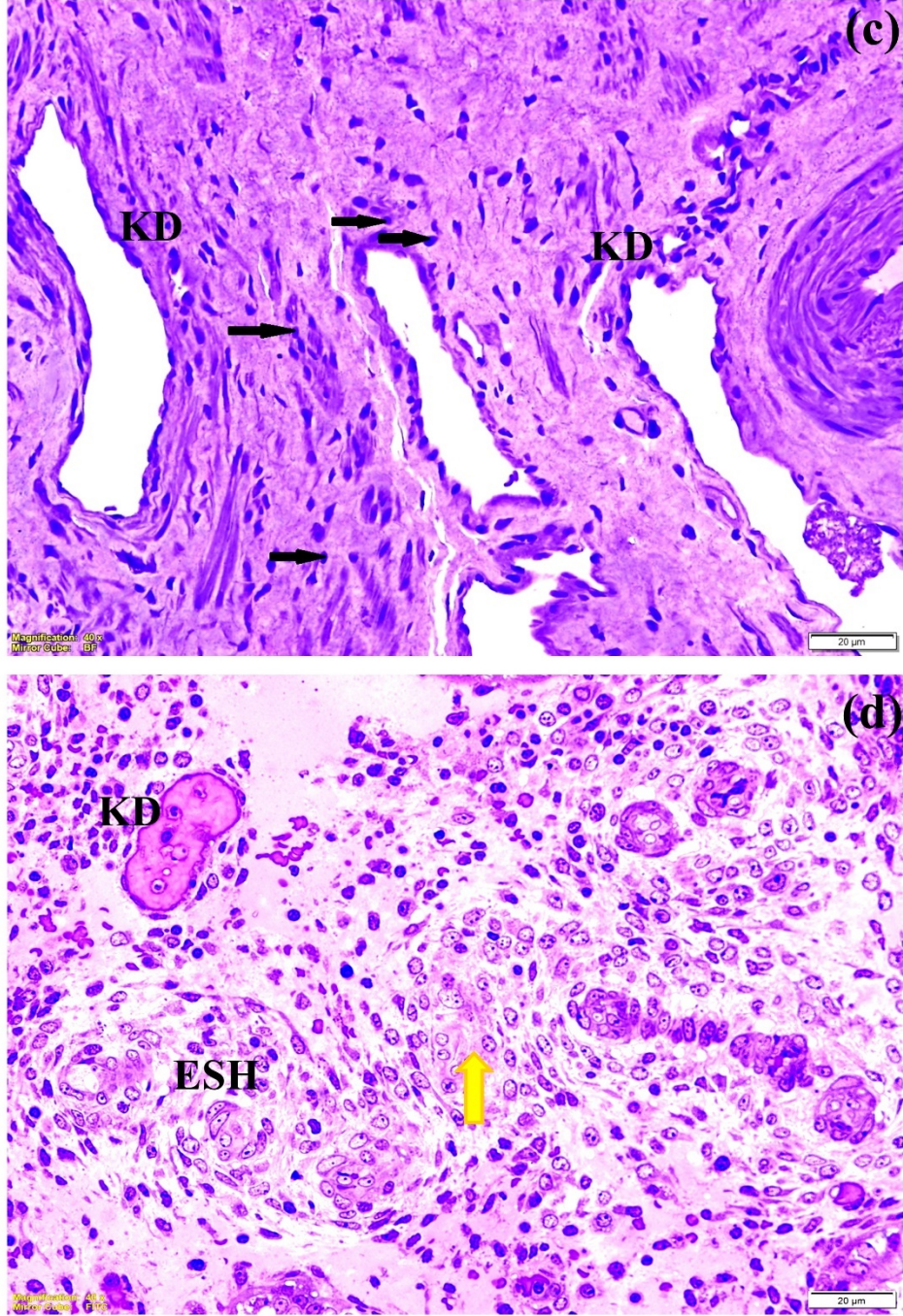
Şekil 4.1B. JB-4 blokta kontrol grubu endometrium dokusunda kan damarları (KD), ve endometrial stromal hücreler izlenmektedir. (Sarı ok;  ESH, kırmızı beyaz ok;  kan damarı ). (Şekil e -40x, d -100x büyütme, Toluidin Blue Asit Fuksin Boyama).

EKTOPIK ENDOMETRİUM



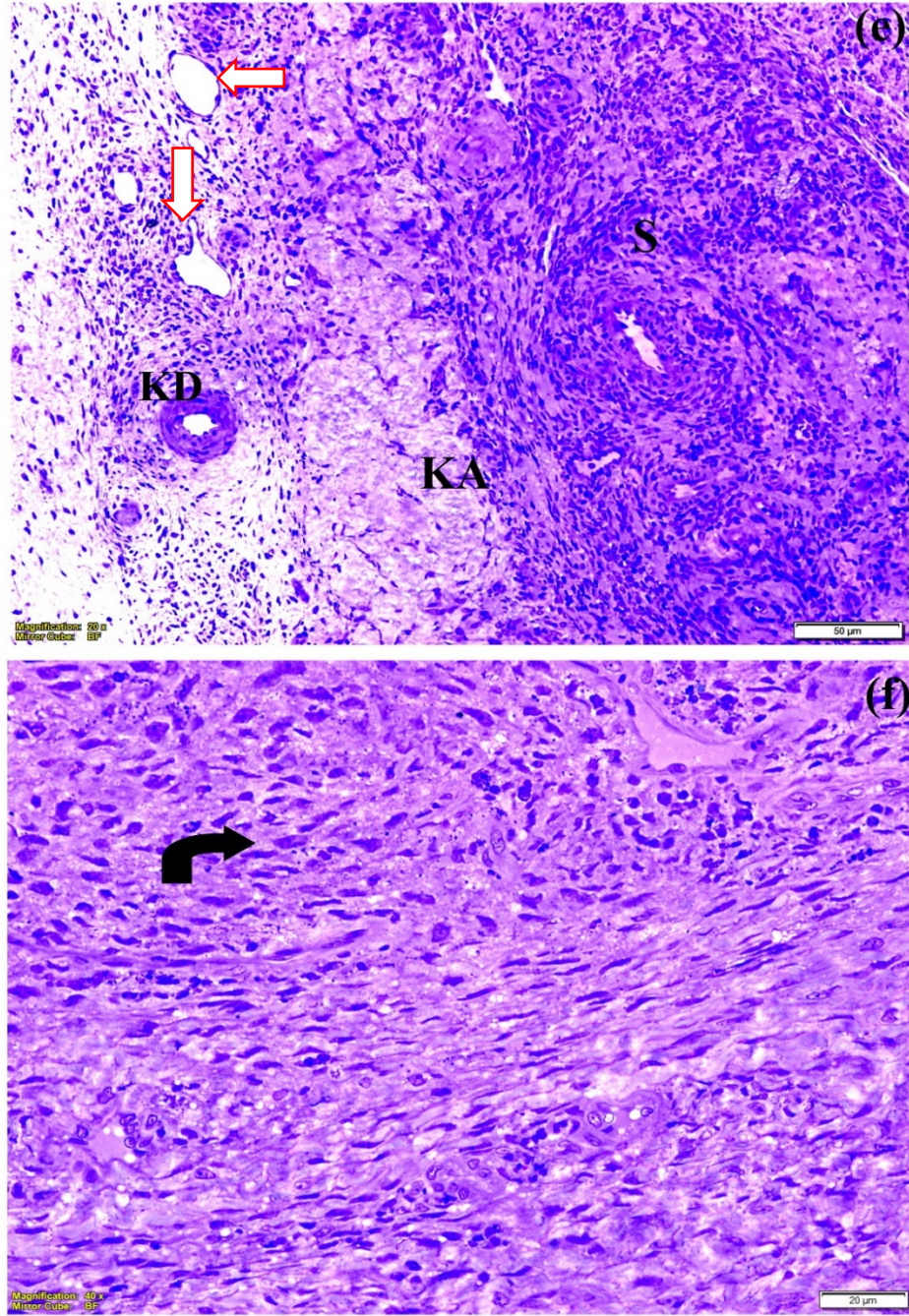
Şekil 4.2A. JB-4 blokta Ektopik endometriozis grubunda hemosiderin kalıntıları. (Siyah ok; lenfosit ➡, beyaz ok; hemosiderin yüklü makrofaj ➡, kırmızı ok; mast hücresi ➡, Turuncu yıldız hemosiderin kalıntıları ve hemosiderin yüklü hücreler ★). (40x büyütme, Toluidin Blue Asit Fuksin Boyama).

EKTOPIK ENDOMETRİUM



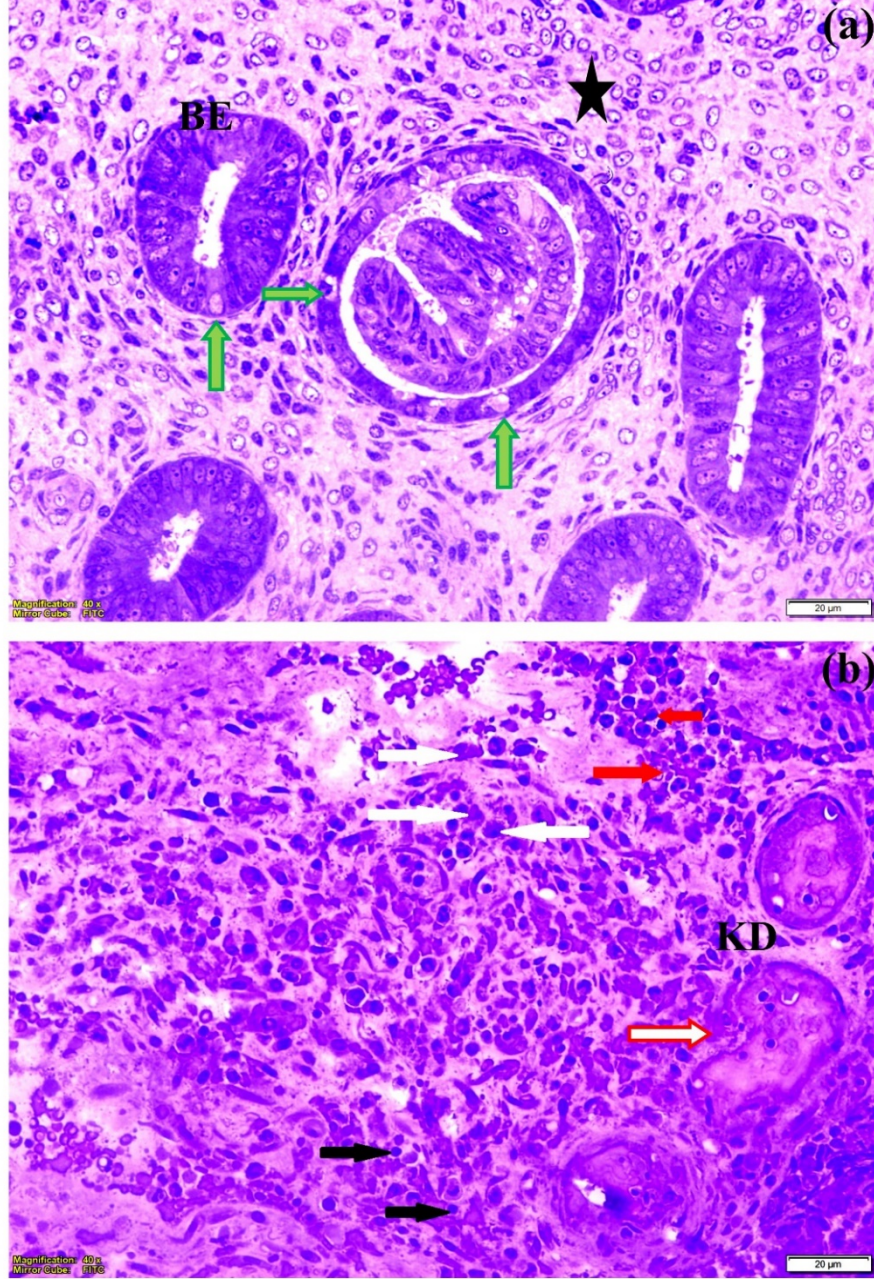
Şekil 4.2B. JB-4 blokta Ektopik endometriozis grubunda kan damarları (KD) ve Endometrial stromal hücreler. (Siyah ok; lenfosit  Sarı ok; ESH ). (40x büyütme, Toluidin Blue Asit Fuksin Boyama).

EKTOPIK ENDOMETRİUM

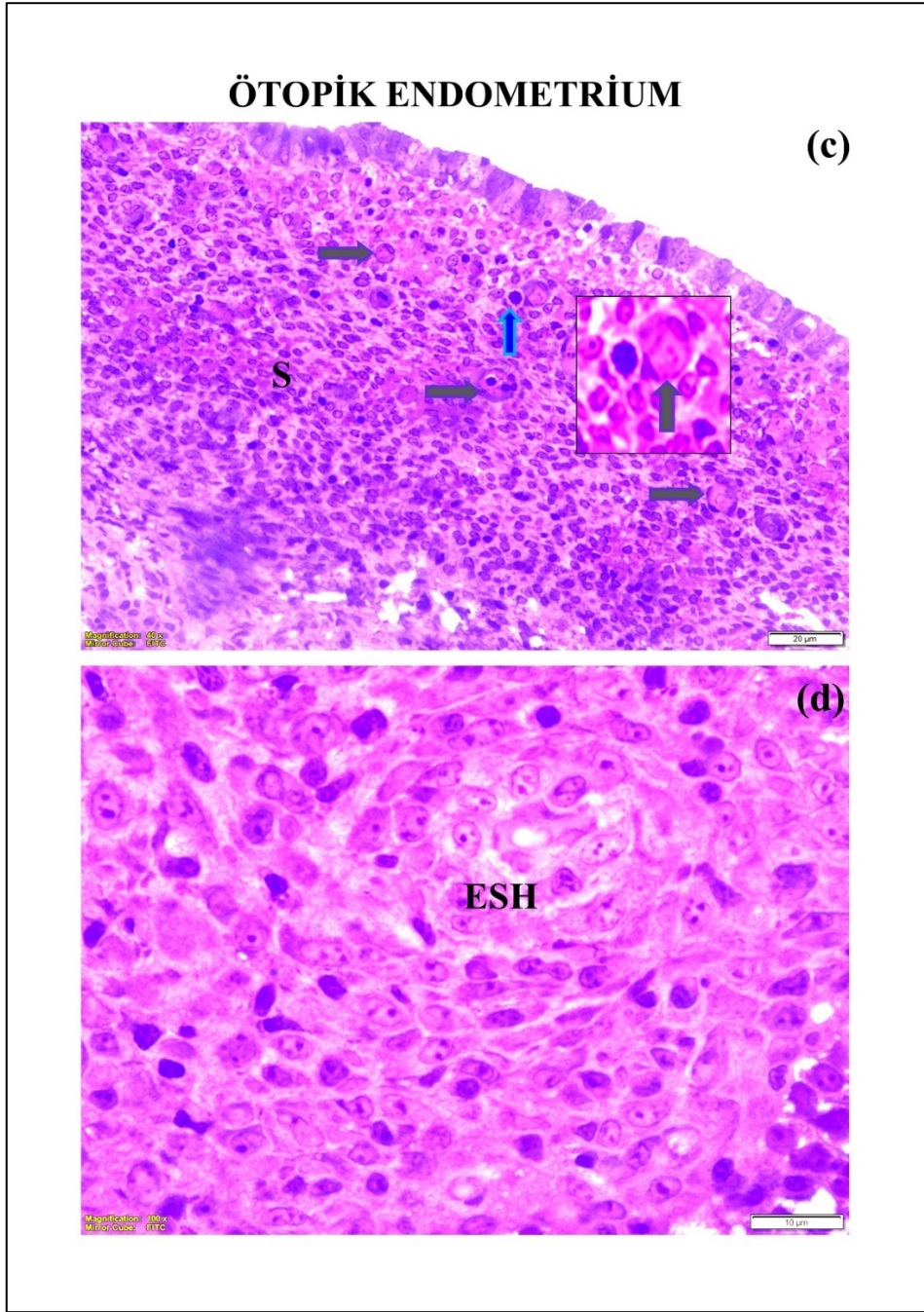


Şekil 4.2C. JB-4 bloкта Ektopik endometriozis grubunda Stroma (S), Korpus Albicans (KA). (Bükülü siyah ok; daha az çekirdek / sitoplazma oranına sahip hücreler ➡, kırmızı beyaz ok; kan damarı ➡). (Şekil e - 20x, f- 40x büyütme, Toluidin Blue Asit Fuksin Boyama).

ÖTOPIK ENDOMETRİUM



Şekil 4.3A. JB-4 blokta ötopik endometrium grubunda Bez epiteli (BE), Kan damarları (KD). (Siyah ok; lenfosit $\blacksquare$, kırmızı beyaz ok; kan damarı $\Rightarrow$ yeşil ok; apoptotik hücre $\Rightarrow$ apoptotik hücre, beyaz ok; $\Rightarrow$ hemosiderin yüklü makrofaj, siyah yıldız stroma alanı, $\star$ Kırmızı ok; $\Rightarrow$ nötrofil). (40x büyütme, Toluidin Blue Asit Fuksin Boyama).



Şekil 4.3B. JB-4 blokta ötopik endometrium grubunda Stroma (S), Endometrial stromal hücre (ESH). (Mavi ok; ➡mast hücresi, gri ok; ➡köpüklü histiyosit). (Şekil c - 40x, d- 100x büyütme, Toluidin Blue Asit Fuksin Boyama).

4.2. Mikroskopik Değerlendirme Yöntemi ve Morfometri

Kontrol ve endometriozisli hasta gruplarından biyopsi ile alınan dokularda morfolojik farklılığı değerlendirebilmek için gruplara ait endometriozis doku kesitleri JB-4 yöntemi ile kesilerek, tüm alanlar gözden geçirildi ve toluidin blue- asit fuksin boyama yöntemi ile boyanarak incelendi. Bu incelemede ektopik, ötopik ve kontrol gruplarından alınan örneklerde;

- Endometrial kan damarları
- Endometrial stroma
- Endometrial bezler
- Endometrial bez lümen genişliği
- Endometrial stromal hücreler
- Endometrial matriks

Her grupta sistematik rastgele örnekleme ile seçilen endometriozisli ve endometriozisi olmayan hastalardan elde edilen kesitlerde 40x büyütmede en az 20 alanda elde edilen görüntüler, JB4 kesitlerinde her biri 1 cm aralıklı kafes grit hazırlandı ve kesişim noktalarına düşen yapılar baz alınarak histolojik kesit alanlarının tamamının morfometrisi gerçekleştirildi. Olympus BX51 (Tokyo, Japan) ile bilgisayara kaydedildi.

4.2.1.Çalışılan Volüm Fraksiyonu Hesaplamaları Örneği

Endometrial glandüler, stroma, endometrial stromal hücre, matriks ve vasküler özelliklerin volüm fraksiyon ölçümleri, ilgili özelliklerin üst üste bindirilmiş noktalar üzerindeki köşelere denk gelen noktalar sayılarak gerçekleştirilmiştir (Weibel 1979). Özelliğe düşen toplam noktaların (örn. stroma) belirlenmesini takiben, bu sayı tüm özelliğe düşen toplam nokta sayısına (örn. endometrium) bölünür. Her denklemin ortalama değeri, o özelliğin hacim fraksiyon değerini verir (örneğin, stromanın işgal ettiği endometriyumun hacim fraksiyonu). Sayımları yapılan her örneğe ait değerlerin ortalamaları alınarak Biyoistatistik Anabilim Dalı'nda istatistiksel olarak analiz edildi.

4.3. İstatistiksel Analiz

Çalışmamızdan elde edilen veriler spss 22,0 programına yüklenerek verilerin değerlendirilmesinde, parametrik test varsayımları yerine getirilemediğinden (Shapiro-Wilk) bağımsız iki gruptan elde edilen ölçümler (bez ve bez lümeni) karşılaştırılırken Man Whitney U testi, 2' den fazla gruptan elde edilen ölçümler karşılaştırılırken

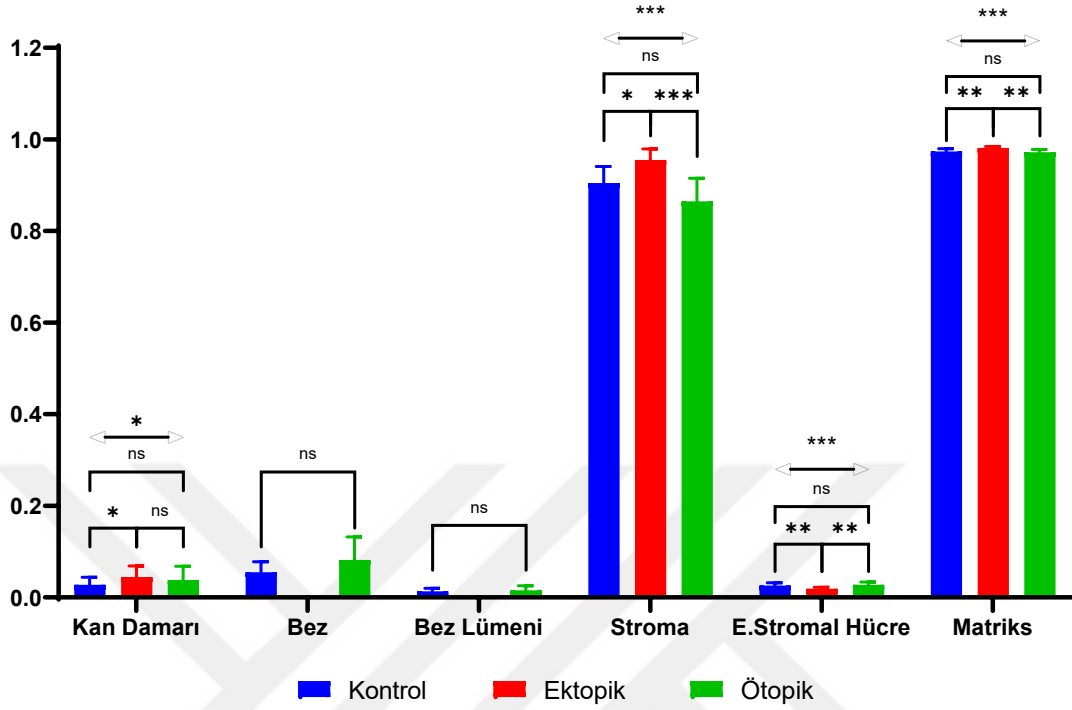
Kruskal Wallis testi kullanılmış, bağımsız ikiden fazla gruptan elde edilen ölçümler (matriks ve stromal hücreler) karşılaştırılırken tek yönlü varyans analizi, analiz sonucunda ise farklılık yapan grupları bulabilmek için Tukey testi kullanıldı. Elde edilen veriler tablolarda aritmetik ortalama, standart sapma, ortanca, minimum maximum şeklinde belirtilerek yanılma düzeyi 0,05 olarak alınmıştır.

Endometrium dokusunda her 3 grupta da belirgin olmak üzere özellikle ektopik endometrium dokusunda yaygın adaptif bir büyüme izlendi. Bu büyüme ektopik dokuda ödeme neden oldu. Gruplar arasında bez yapıları, stroma ve kan damarlarında morfometrik fark olup olmadığına bakıldı ve histolojik incelemelerde endometrial stroma varlığının gruplara göre farklılıklarının göreceli olup olmadığını değerlendirmek amacıyla stroma alanları ölçüldü. Bez epiteli, bez epiteline düşen hücre sayısı ve bez epiteline ait lümen genişliği şeklinde morfometrik olarak ölçüldü ve gruplar arasında karşılaştırıldı. Endometrial bezler ve bez lümeni morfometrik olarak yalnızca kontrol ve ötopik endometrium da değerlendirildi. Kan damarları endoteller de dahil olmak üzere tüm alanlarda her üç grup için ölçüldü ve kan damarları gruplar arasındaki farkı ifade etmek için önemli bir veri oldu.

4.3.1. Kontrol, Ektopik ve Ötopik Kendi arasındaki Dağılımı

Proliferatif döneme ait endometriozisli ektopik ile ötopik ve kontrol grubuna ait kan damarlarının endometriumda birim hacimde kapladığı hacim ektopik grupta en fazla ve kontrol grubunda en az olarak ifade edilmiştir. Bu sonuç her üç grubun istatistiksel analizinde de anlamlı bulunmuştur (* $p < 0,05$ önemli). Stromanın endometriumda birim hacimde kapladığı hacimler karşılaştırıldığında ise, ektopik grup kontrol ve ötopik gruba göre daha fazla, ötopik grubun hacmi ise kontrolden daha azdır. Morfometrik ölçümleri yapılarak elde edilen istatistiksel sonuçlar da stromanın ektopik ötopik ve kontrol grupları arasındaki farklılık anlamlı bulunmuştur (* $p < 0,05$ önemli). Bez ve bez lümeni yalnızca ötopik ve kontrol grupları arasında karşılaştırılmış ve gruplar arasında farklılık yoktur bez ve bez lümeninin birim hacimde kapladığı hacim istatistiksel olarak anlamsız bulunmuştur. Her üç grup arasında, endometrial stromal hücrelerin, endometriumun birim hacminde kapladığı hacim ötopik dokuda ektopik ve kontrole göre daha fazla, ektopik dokuda ise kontrol ve ötopiğe göre daha azdır. Endometrial stromal hücrelerin morfometrik ölçümleri üzerinden yapılan istatistiksel analizleri de kontrol, ektopik ve ötopik gruplarda farklılığın önemli olduğunu göstermiştir (* $p < 0,05$).

önemli). Matriksin kapladığı hacim oranı ise ektopikte diğer iki gruba göre daha fazladır. İstatistiksel olarakta matriks yönünden farklılık önemli bulunmuştur ($p<0,05$).



ns: $P>0.05$, *: $P\leq0.05$, **: $P\leq0.01$, ***: $P\leq0.001$

Grafik 4.3. Morfometrik ölçümleri yapılan bölgelerin kontrol, ektopik ve ötopik grupların kendi arasındaki dağılımı.

4.3.2. Ektopik, Ötopik ve Kontrol Gruplarına Ait Kan Damarları Ölçümlerinin Karşılaştırılması

Endometriozis tanısı konulan hastalarda endometriozis implant odakları morfolojik olarak üzeri kanamalı kistik yapılar şeklinde gözlenmiştir. Kist kavitesinde lenfositler, makrofajlar, mast hücreleri, lenfositler ve lökositler yer almaktaydı. Endometriyotik lezyonların hemosiderin yüklü granülleri eozinofillerin varlığını göstermiştir. Ektopik endometrial doku, ötopik endometrium ve kontrol grubu endometrium dokularına ait stroma ve kan damarı ölçümleri tablo 4. 5’de gösterilmiştir. Yanılma düzeyi 0,05 olarak kabul edilmiştir.

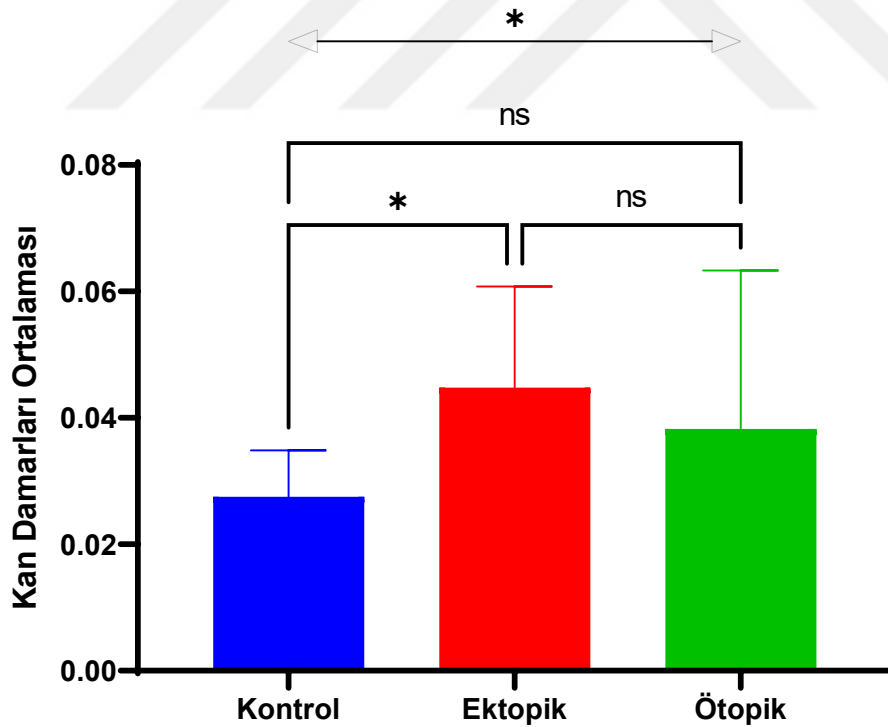
Tablo 4.5. Gruplara ait kan damarı ve stroma ölçümlerinin karşılaştırılması

		Standart						Sonuç
		N	Ortalama	sapma	Ortanca	Minimum	Maximum	
Kan damarı	Kontrol	22	,028	,017	,023	,006	,079	KW=7,06 p=0,029*
	Ektopik	11	,053	,024	,036	,023	,092	
	Ötopik	8	,038	,030	,026	,016	,106	
Stroma	Kontrol	22	,906	,036	,915	,800	,947	KW=13,89 p=0,001*
	Ektopik	11	,947	,043	,962	,835	,977	
	Ötopik	8	,865	,050	,871	,806	,939	

*p<0,05 önemli

Her üç gruba göre kan damarları ölçümleri karşılaştırıldığında, gruplar arası farklılık önemli bulunmuştur (p<0,05).

Gruplara ait kan damarları ölçümleri 2'şerli karşılaştırıldığında kontrol ile ektopik grubu arasındaki fark önemli bulunurken (p<0,05), kontrol grubu ile ötopik grubu ve ektopik grubu ile ötopik grubu arasında farklılık önemsiz bulunmuştur.



ns: P>0.05, *:P≤0.05, **:P≤0.01, ***:P≤0.001

Grafik 4.1. Kontrol, ektopik ve ötopik gruplarına ait kan damarları ölçümlerinin istatistiksel analizi

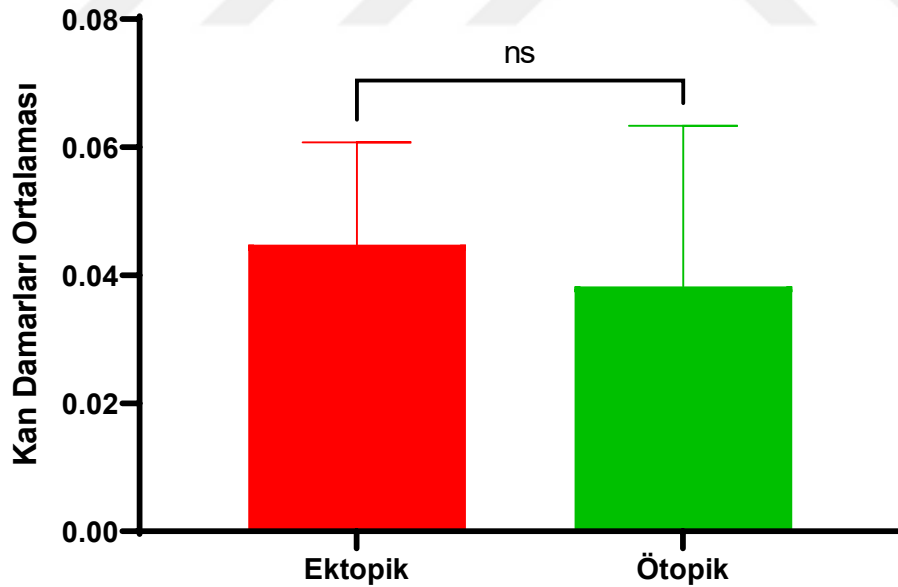
4.3.3. Ektopik ve Ötopik Gruba Ait Kan Damarı ve Stroma Ölçümlerinin Karşılaştırılması

Aynı hastaya ait endometrium dokusunun ektopik ve ötopik olarak gruplandırıldığı örneklerde kan damarı ve stroma alanları ölçümü yapıldı. Ektopik ve ötopik gruplarına ait alanların kan damarı karşılaştırıldığında farklılık önemsiz bulunmuştur ($p > 0,05$).

Tablo 4.6. Ektopik ve Ötopik gruba ait alanların kan damarı ve stroma ölçümlerinin karşılaştırılması

		Standart						
		N	Ortalama	Sapma	Ortanca	Minimum	Maximum	Sonuç
Kan damarı	Ektopik	11	,053	,024	,036	,023	,092	P=0,215
	Ötopik	8	,038	,030	,026	,016	,106	
	Ektopik	11	,947	,043	,915	,835	,977	P=0,002*
	Ötopik	8	,865	,050	,871	,806	,939	
Stroma								

* $p < 0,05$ önemli



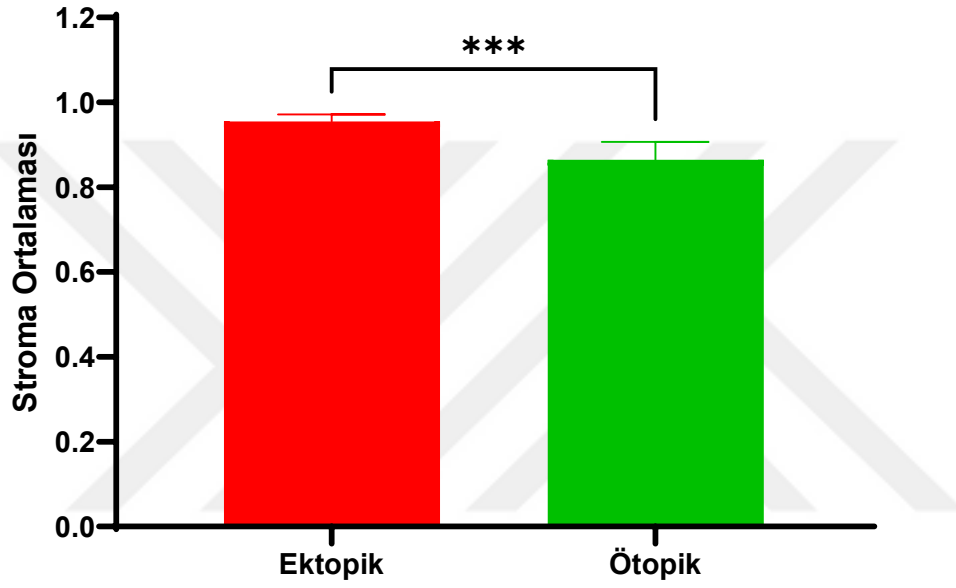
ns: $P > 0.05$, *: $P \leq 0.05$, **: $P \leq 0.01$, ***: $P \leq 0.001$

Grafik 4.2. Ektopik ve ötopik gruplarına ait kan damarı ölçümlerinin istatistiksel analizi

4.3.4. Ektopik, Ötopik ve Kontrol Gruplarına Ait Stroma Ölçümlerinin Karşılaştırılması

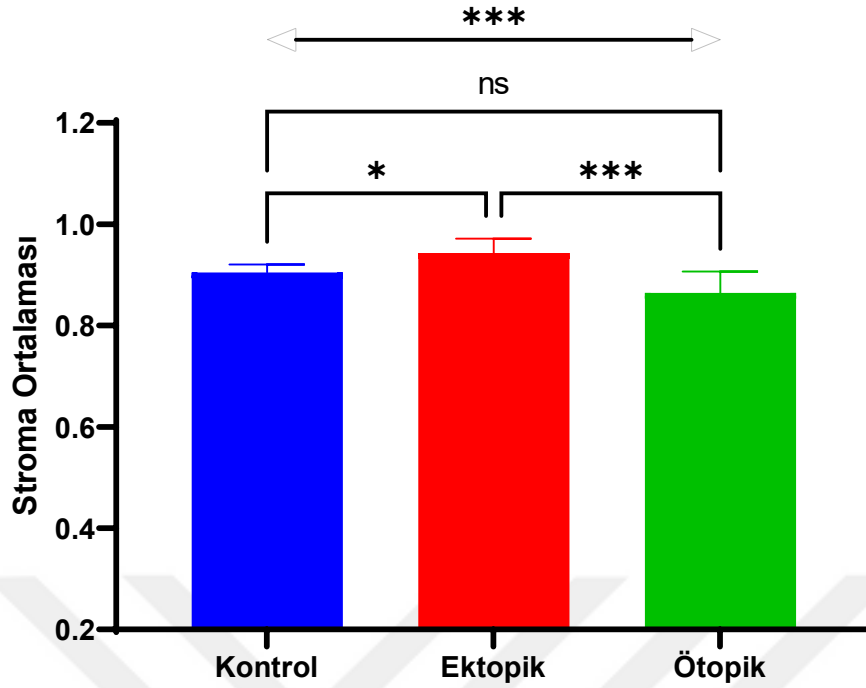
Her üç gruba ait alanların stroma ölçümleri karşılaştırıldığında, gruplar arası farklılık önemli bulunmuştur ($p<0,05$).

Gruplar arası alanlara ait stroma ölçümleri karşılaştırıldığında kontrol ve ektopik grubu arasındaki fark ile kontrol grubu ve ötopik grubu arasındaki farklılık önemli bulunmuştur. ($p<0,05$).



ns: $P>0.05$, *: $P\leq 0.05$, **: $P\leq 0.01$, ***: $P\leq 0.001$

Grafik 4.3. Ektopik ve ötopik gruplarına ait stroma ölçümlerinin istatistiksel analizi



ns: $P > 0.05$, *: $P \leq 0.05$, **: $P \leq 0.01$, ***: $P \leq 0.001$

Grafik 4.4. Kontrol, ektopik ve ötopik gruplarına ait stroma ölçümlerinin istatistiksel analizi

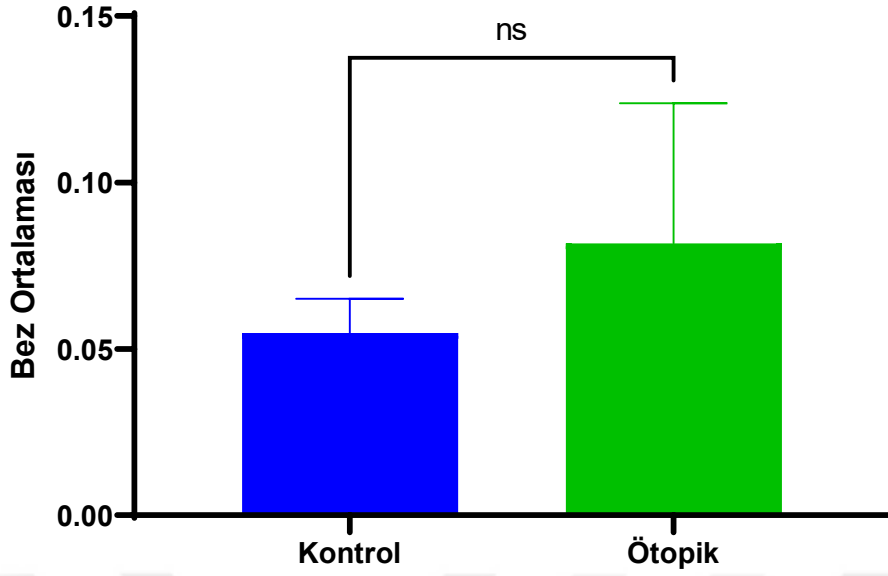
4.3.5. Kontrol ve Ötopik Gruplara Ait Bez ve Bez Lümeni Ölçümlerinin Karşılaştırılması

Ektopik endometriozisli endometrium, ötopik endometrium ve kontrol grubu endometrium dokularına ait bez ve bez lümeni ölçümleri ektopik grubunun bez yapılarını içermemesinden dolayı yalnızca ötopik ve kontrol grubu karşılaştırılmıştır. Elde edilen veriler Tablo 4.7’de gösterilmiştir.

Tablo 4.7. Gruplara ait alanların bez ve bez lümeni ölçümlerinin karşılaştırılması

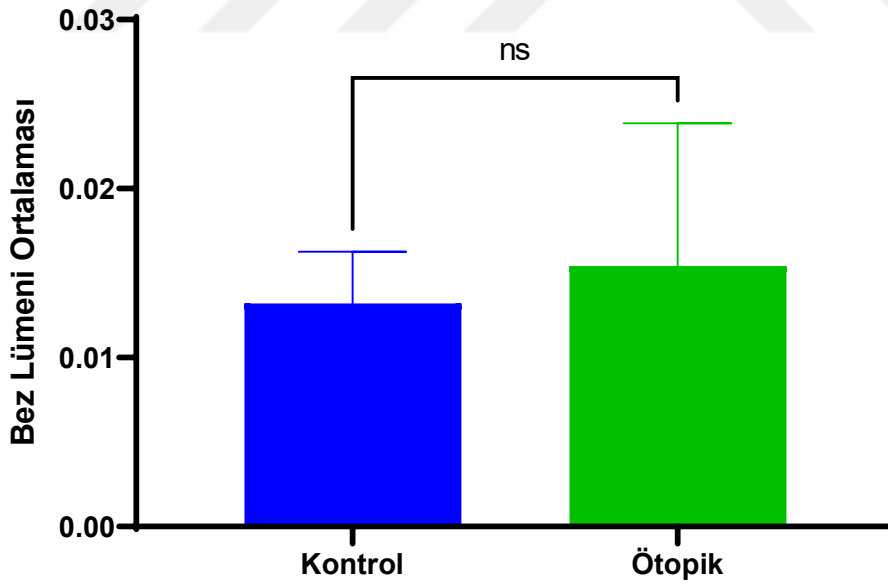
		Standart						
		N	Ortalama	Sapma	Ortanca	Minimum	Maximum	Sonuç
Bez	Kontrol	22	,055	,023	,048	,019	,129	p=0,101
	Ötopik	8	,082	,050	,086	,000	,140	
Bez Lümeni	Kontrol	22	,013	,007	,013	,018	,030	p=0,662
	Ötopik	8	,015	,010	,014	,000	,030	

Ektopik endometriozisli endometriuma ait örneklerde glandüler bez yapıları yoktur. Ötopik ve kontrol grupları arasında yapılan alanlara ilişkin bez ve bez lümeni ölçümleri karşılaştırıldığında farklılık istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur.



ns: $P > 0.05$, *: $P \leq 0.05$, **: $P \leq 0.01$, ***: $P \leq 0.001$

Grafik 4.5. Kontrol ve ötopik gruplarına ait bez yapılarına ait ölçümlerinin istatistiksel analizi



ns: $P > 0.05$, *: $P \leq 0.05$, **: $P \leq 0.01$, ***: $P \leq 0.001$

Grafik 4.6. Kontrol ve ötopik gruplarına ait bez lümeni yapılarına ait ölçümlerinin istatistiksel analizi

4.3.6. Ektopik, Ötopik ve Kontrol Gruplarına ait Endometrial Stromal Hücre ve Matriks Ölçümlerinin Karşılaştırılması

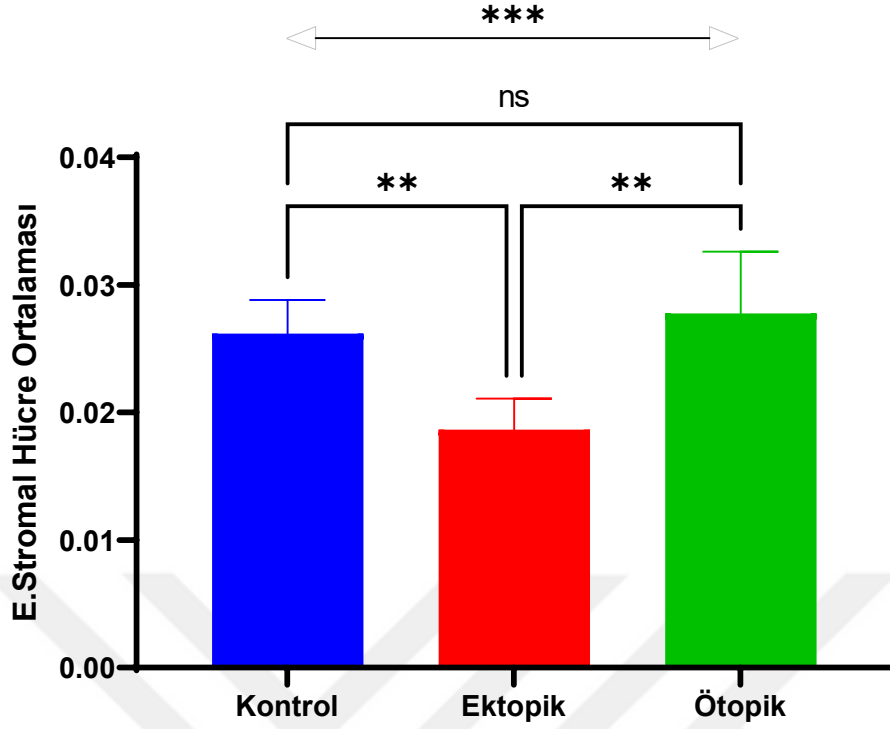
Tüm hastalara ait grupların endometrium dokuları ektopik, ötopik ve kontrol olarak gruplandırıldığı örneklerde endometrial stromal hücre ve matriks alanları arasında varyans analizi yapıldı. Endometrial stromal hücreler ve matriks yönünden karşılaştırıldığında gruplar arası farklılık, önemli bulunmuştur ($p<0,05$).

Gruplara ilişkin stromal hücreler ve matriks ikişerli karşılaştırıldığında Ektopik ve Kontrol grubu, Ektopik ile Ötopik grup arasındaki farklılık önemli bulunurken ($p<0,05$), kontrol ile ötopik grup arasında fark önemsiz bulunmuştur.

Tablo 4.8 Gruplara ait alanların endometrial stromal hücre ve matriks ölçümlerinin karşılaştırılması

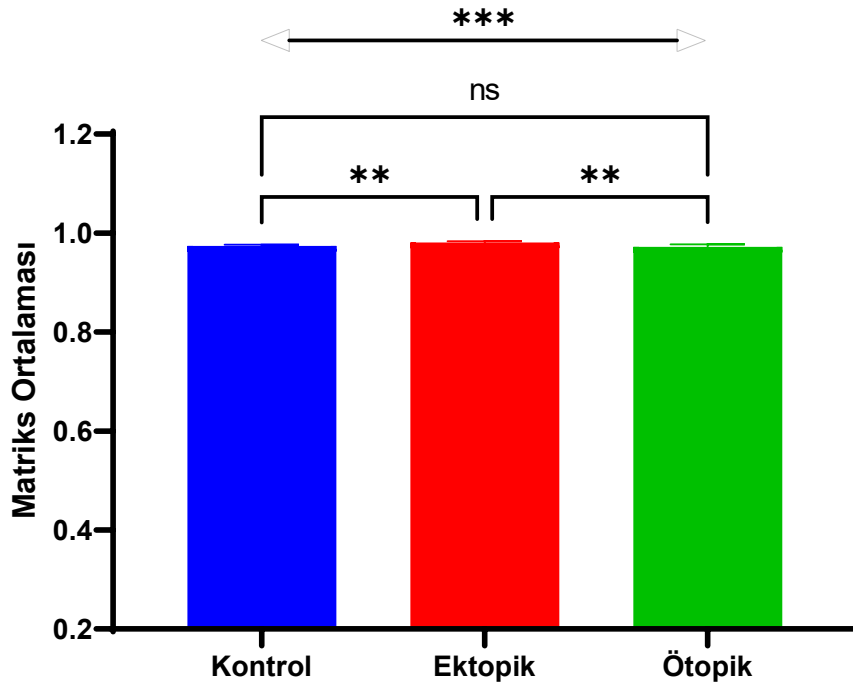
		Standart					Sonuç
		N	Ortalama	Sapma	Minimum	Maximum	
Endometrial stromal hücreler	Kontrol	22	,026	,006	,019	,042	F=8,22
	Ektopik	10	,019	,003	,014	,025	P=0,001*
	Ötopik	8	,028	,006	,017	,034	
Matriks	Kontrol	22	,974	,006	,958	,980	F=8,32
	Ektopik	10	,981	,003	,975	,986	P=0,001*
	Ötopik	8	,972	,006	,966	,982	

* $p<0,05$ önemli



ns: $P > 0.05$, *: $P \leq 0.05$, **: $P \leq 0.01$, ***: $P \leq 0.001$

Grafik 4.7. Ektopik, ötopik ve kontrol gruplarına ait endometrial stromal hücre ölçümlerinin istatistiksel analizi



ns: $P > 0.05$, *: $P \leq 0.05$, **: $P \leq 0.01$, ***: $P \leq 0.001$

Grafik 4.8. Ektopik, ötopik ve kontrol gruplarına ait matriks ölçümlerinin istatistiksel analizi

4.4. İmmünofloresan Bulgular

Çalışmamızda menstrual siklusun proliferatif fazında kontrol ve endometriozisli hastalardan elde edilen, endometriotik doku kesitlerinde Bcl-2 ve NF-κB p65 protein ekspresyonları immunfloresan işaretlemeyle değerlendirildi. Endometrium dokusunun her grupta immunfloresan değerlendirilmesi sistematik randomize seçilmiş 40x' lık mikroskop büyütmesinde dijitalize görüntülerde immunoreaktif bir skora göre 0' dan 4+ 'e kadar bir skala üzerinde gerçekleştirildi. Buna göre hiç boyanma olmadığında 0 değeri alırken, zayıf immunreaktivitede 1+, orta derecede immun reaktivite varlığında 2+ ve güçlü(artmış) boyanma varlığında 3+ çok güçlü ekspresyonda 4+ olarak araştırmacının kendisi tarafından değerlendirildi.

4.4.1. İmmünofloresan Bcl-2 Ekspresyonu

Çalışmamızda menstrüel siklusun proliferatif fazında kontrol, ektopik ve ötopik endometriyum dokusuna sahip hastalardan elde edilen, endometriyotik doku kesitlerinde Bcl-2 protein ekspresyonları immunfloresan işaretlemeyle bez yapıları, kan damarları ve endometrial stromal hücreler primer ve sekonder antikorlar uygulanarak ekspresyon seviyeleri semi kantitatif olarak değerlendirildi.

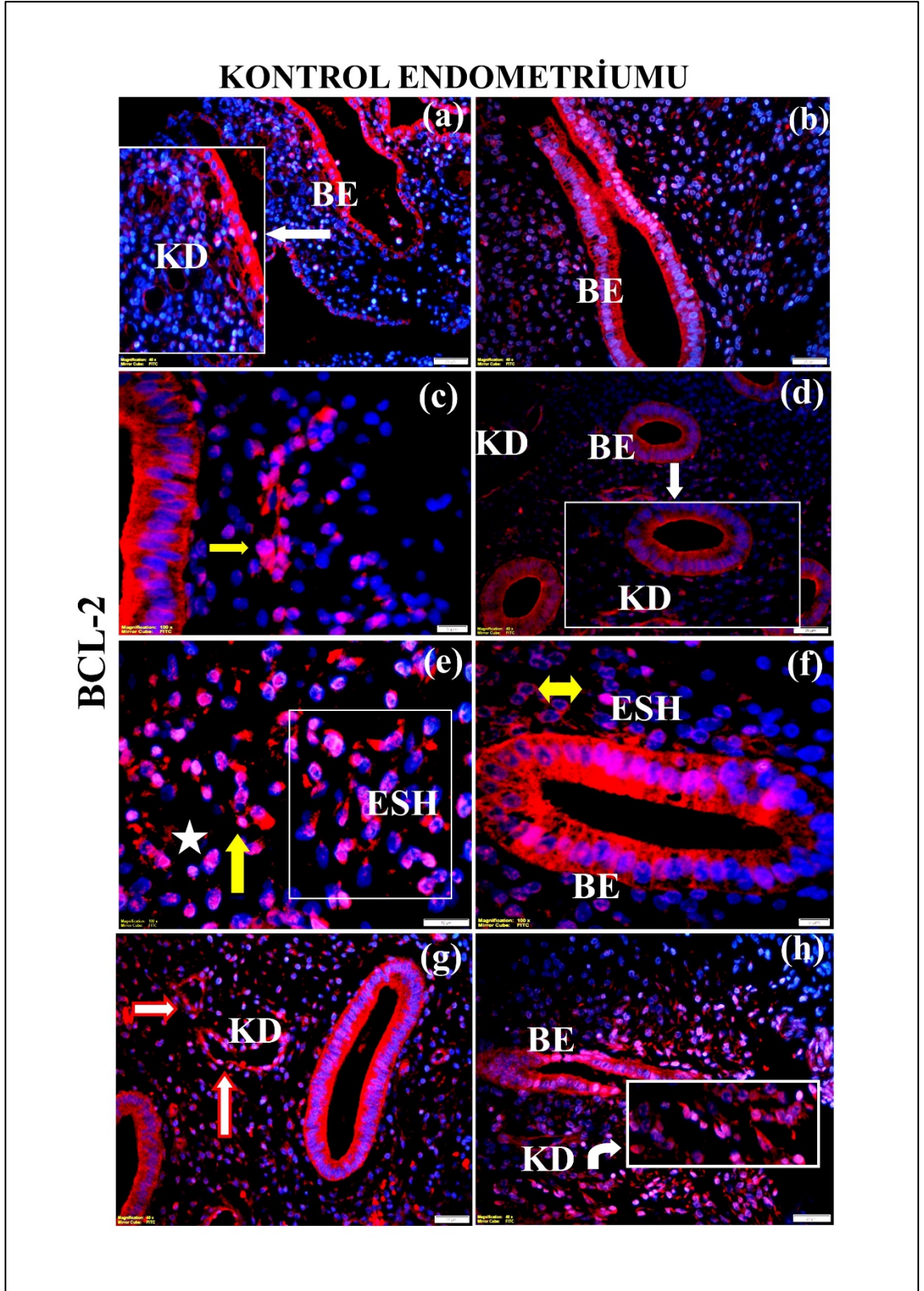
Tablo 4.9. Ektopik, ötopik ve kontrol grubu endometriyum dokularında Bcl-2 molekülünün immunlokalizasyon düzeyleri

	Bcl-2			
	Bez Epiteli	Stromal Hücreler		Endotel
		Sitoplazma	Nükleus	
<i>Ektopik</i>	Bez yok	++	+	+++
<i>Ötopik</i>	++++	+++	+++	++
<i>Kontrol</i>	++++	+++	++	++

++++, çok güçlü; +++, güçlü; ++, orta; +, hafif; -, negatif; *, boyanma izlenmedi

4.4.2. Kontrol Grubu Endometriyumunda Bcl-2 Ekspresyonu

Kontrol grubu doku örneklerinde, özellikle bez epitelinde Bcl-2 immunlokalizasyonu çok güçlüydü (Şekil 4.4; a,b,d,g). Glandüler epitel hücrelerinde özellikle sitoplazmada lokalizasyon çok güçlü izlendi (Şekil 4.4; f, g). Endometrial stromal hücrelerde görülen immunreaktivite ektopik grubundan daha yüksek, ötopik grubundaki immunreaktivite ile aynı derecede güçlüydü. Kan damarı immunlokalizasyonu Bcl-2 için orta seviyede izlendi (Şekil 4.4; g, h). Endometrial stromal hücrelerde, Bcl-2 immunlokalizasyonu çekirdekte ve sitoplazmada çok belirgindi (Şekil 4.4; c,e,f).



Şekil 4.4. İmmunfloresan boyama Kontrol grubu endometriyumunda Bcl-2 immunlokalizasyonu. Kan damarı (KD), Endometrial stromal hücre (ESH), Bez Epiteli (BE). (Kırmızı beyaz ok; kan damarı → sarı ve çift ok; → ESH, beyaz yıldız; ESH ☆ (20x, 40x büyütme).

4.4.3. Ektopik Endometriyumda Bcl-2 Ekspresyonu

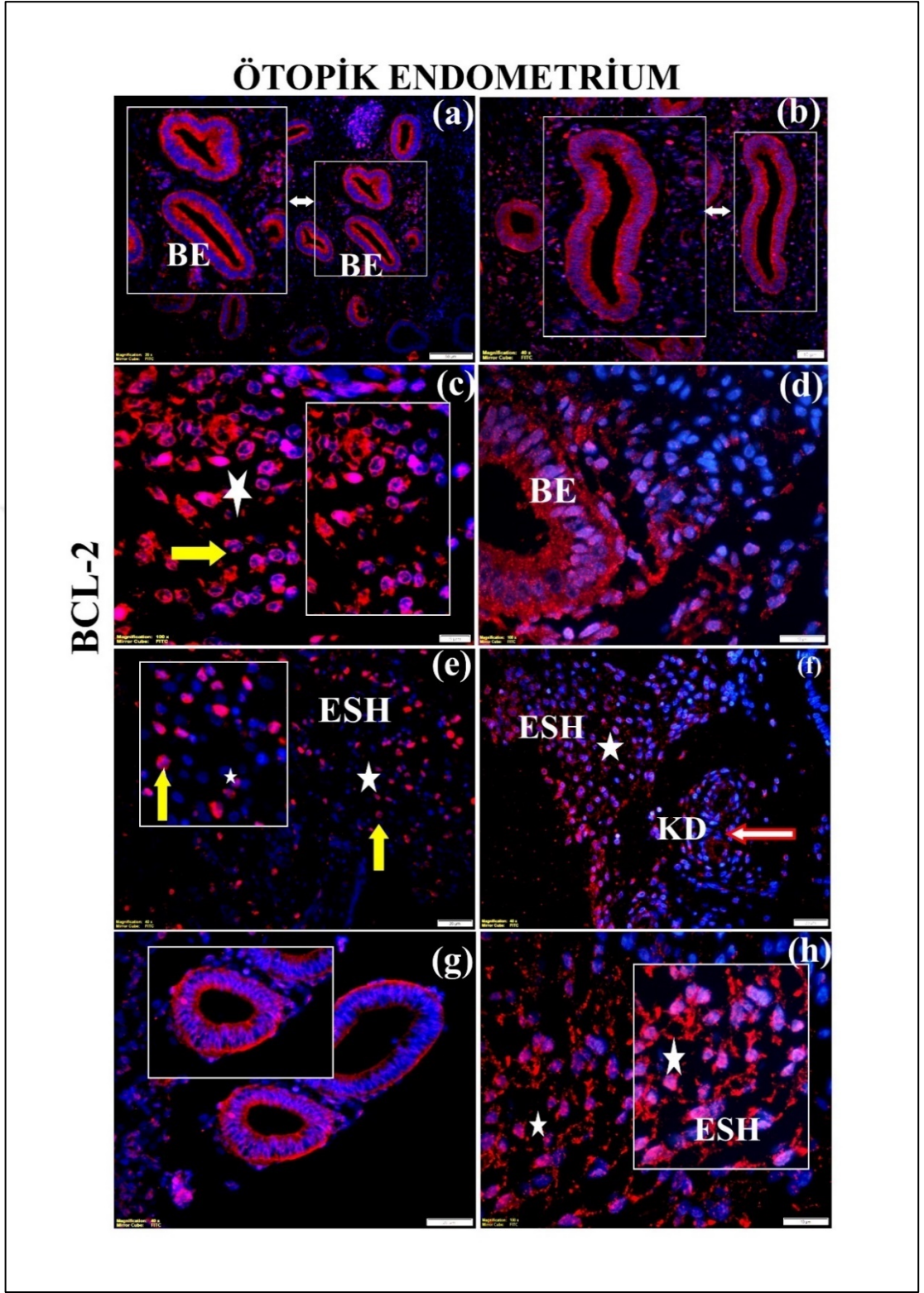
Deney grubu ektopik endometriyuma sahip hastalara ait doku kesitlerinde, ötopik ve kontrol grup hastalarına göre en önemli fark glandüler bez yapılarının olmamasıydı (Şekil 4.5; a-h). Proliferatif faz endometriozis dokusunda Bcl-2 ekspresyonu, endometrial stromal hücrelerde kontrol ve ötopik endometriuma göre daha düşüktü. Endometrial stromal hücrelerin Bcl-2 antikor işaretlemesi sitoplazmik olarak pozitif (Şekil 4.5; d,h). Kan damarları geniş dağılım göstermiş ve güçlü immunlokalizasyon vardı (Şekil 4.5; a,b,e,g). Endometriozisli ektopik endometrium dokusuna ait endometrial stromal hücrelerin Bcl-2 ekspresyonu kontrol grubu ve ötopik endometriuma göre daha azdı. Stroma alanlarında lökositler vardı (Şekil 4.5; c,h) .



4.4.4. Ötopik Endometriyumda Bcl-2 Ekspresyonu

Ötopik grubu doku örneklerinde, glandüler epitelde çok güçlü ve endometrial stromal hücrelerin sitoplazmasında güçlü Bcl-2 pozitif immunreaktivitesi gözlemlendi (Şekil 4.6; a-b, e,h). Endometrial stromal hücreler bazı alanlarda hem sitoplazmada hem de çekirdekte pozitif boyanma özelliği gösterdi (Şekil 4.6; e,f,h). Bez epiteli hücrelerinde Bcl-2 immunlokalizasyonu ektopik Bcl-2 immunlokalizasyonuna göre güçlüydü. Stromada lökositler de vardı. Kan damarları orta seviyede lokalize idi (Şekil 4.6; f). Genel olarak ötopik dokuya ait örnekler yoğun bez yapılarına sahipti.





Şekil 4.6. İmmunfloresan boyama Ötopik endometrium grubunda Bcl-2 immunlokalizasyonu. Kan damarı (KD), Endometrial stromal hücre (ESH), Bez Epiteli (BE), (sarı ok ve beyaz yıldız; ESH →☆ Kırmızı beyaz ok; kan damarı ⇨). (20x, 40x büyütme).

4.5. İmmünofloresan NF-κB p65 Ekspresyonu

Çalışmamızda menstrüel siklusun proliferatif fazında kontrol, ektopik ve ötopik endometriyum dokusuna sahip hastalardan elde edilen, endometriuma ait doku kesitlerinde NF-κB p65 protein ekspresyonları immünofloresan işaretlemeyle bez yapıları, kan damarları ve stromal hücreler primer ve sekonder antikorlar uygulanarak ekspresyon seviyeleri semi kantitatif olarak değerlendirildi.

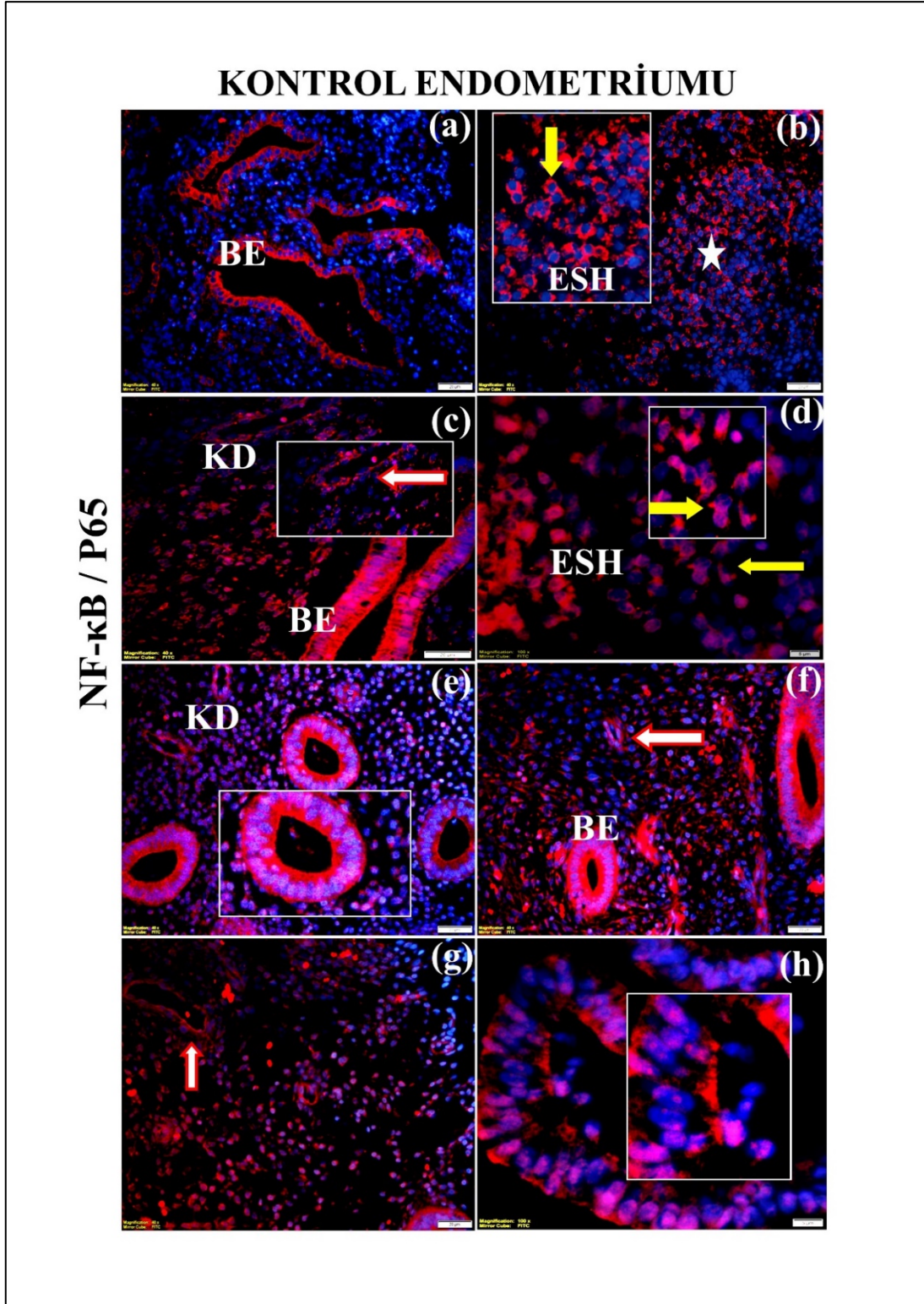
Tablo 4.10. Ektopik, ötopik ve kontrol grubu endometriyum dokularında NF-κB p65, molekülünün immunlokalizasyon düzeyleri

	NF-κB-P65			
	Bez Epiteli	Stromal Hücreler		Endotel
		Sitoplazma	Nükleus	
<i>Ektopik</i>	Bez yok	+++	+	+++
<i>Ötopik</i>	++++	++++	+++	++
<i>Kontrol</i>	+++	++++	++	++

++++, çok güçlü; +++ , güçlü; ++, orta; +, hafif; - negatif; *, boyanma izlenmedi

4.5.1. Kontrol Grubu Endometriyumda NF-κB P65 Ekspresyonu

Kontrol grubu endometrium dokusu Şekil 4.7’ de görüldüğü gibi bez ve endometrial stromal hücrelere ait ekspresyon düzeyleri çok güçlü idi (Şekil 4.7; b,e). Bez yapıları ötopik endometriumdaki ekspresyon seviyesi ile aynı çok güçlü izlendi. Kan damarları orta derecede immunlokalizasyon gösterdi (Şekil 4.7; c,e). Endometrial stromal hücreler ve bez epitelini oluşturan hücrelerde sitoplazmik ve nükleer ekspresyon vardı (Şekil 4.7; b,d,g,h). Glandüler bez epiteli çevresinde endometrial stromal hücre proliferasyonu yoğundu (Şekil 4.7; c,f).

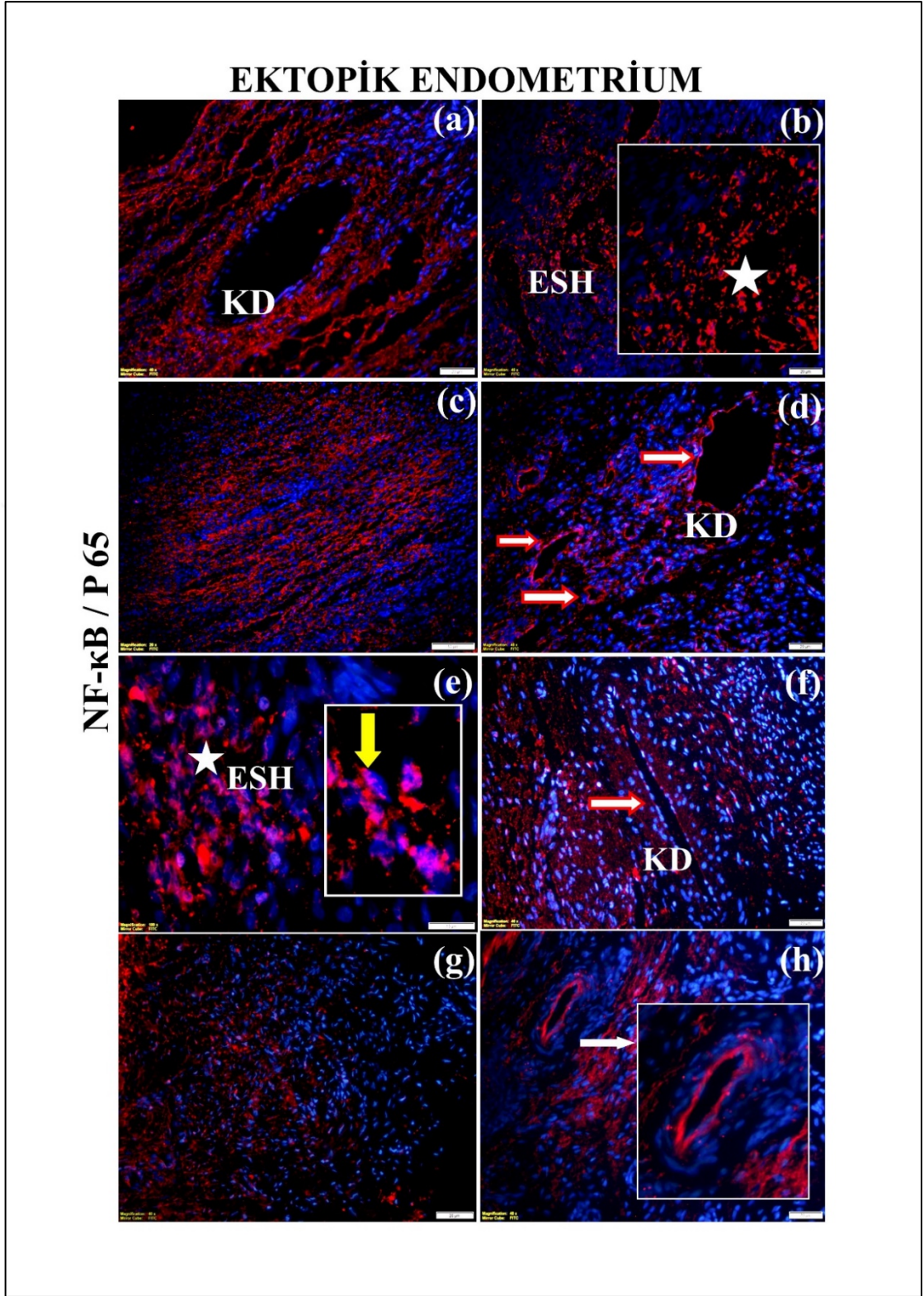


Şekil 4.7. İmmunfloresan boyama Kontrol grubu endometriumunda NF-κB P65 immunlokalizasyonu. Kan damarı (KD), Endometrial stromal hücre (ESH), Bez Epiteli (BE), (kırmızı beyaz ok; kan damarı $\Rightarrow$ sarı ok ve beyaz yıldız; ESH $\Rightarrow$ $\star$). (20x,40x ve 100x büyütme).

4.5.2. Ektopik Endometriyumda NF-κB P65 Ekspresyonu

NF-κB p65, ektopik endometrial dokularda belirli alanlarda pozitif. Endometriozis grubu ektopik endometriuma ait kesitlerde, endometrial bezler izlenmediği için değerlendirilmeye alınmadı (Şekil 4.8; a-h). NF-κB p65 antikor işaretlemesi sitoplazmik pozitif (Şekil 4.8; b). Birkaç endometrial stromal hücrede nükleer pozitiflikte vardı (Şekil 4.8; e). Endometrial stromal hücreler ve kan damarları güçlü seviyede immunlokalizasyon göstermişti. Kan damarları, kapiller en yaygın ektopik dokuda görüldü (Şekil 4.8; a,c,d,h). Kan damarlarının ekspresyon seviyesi ötopik ve kontrol grubuna göre daha belirgindi. Stroma, kontrol ve ötopik grubu endometrial dokularına göre daha yoğun.



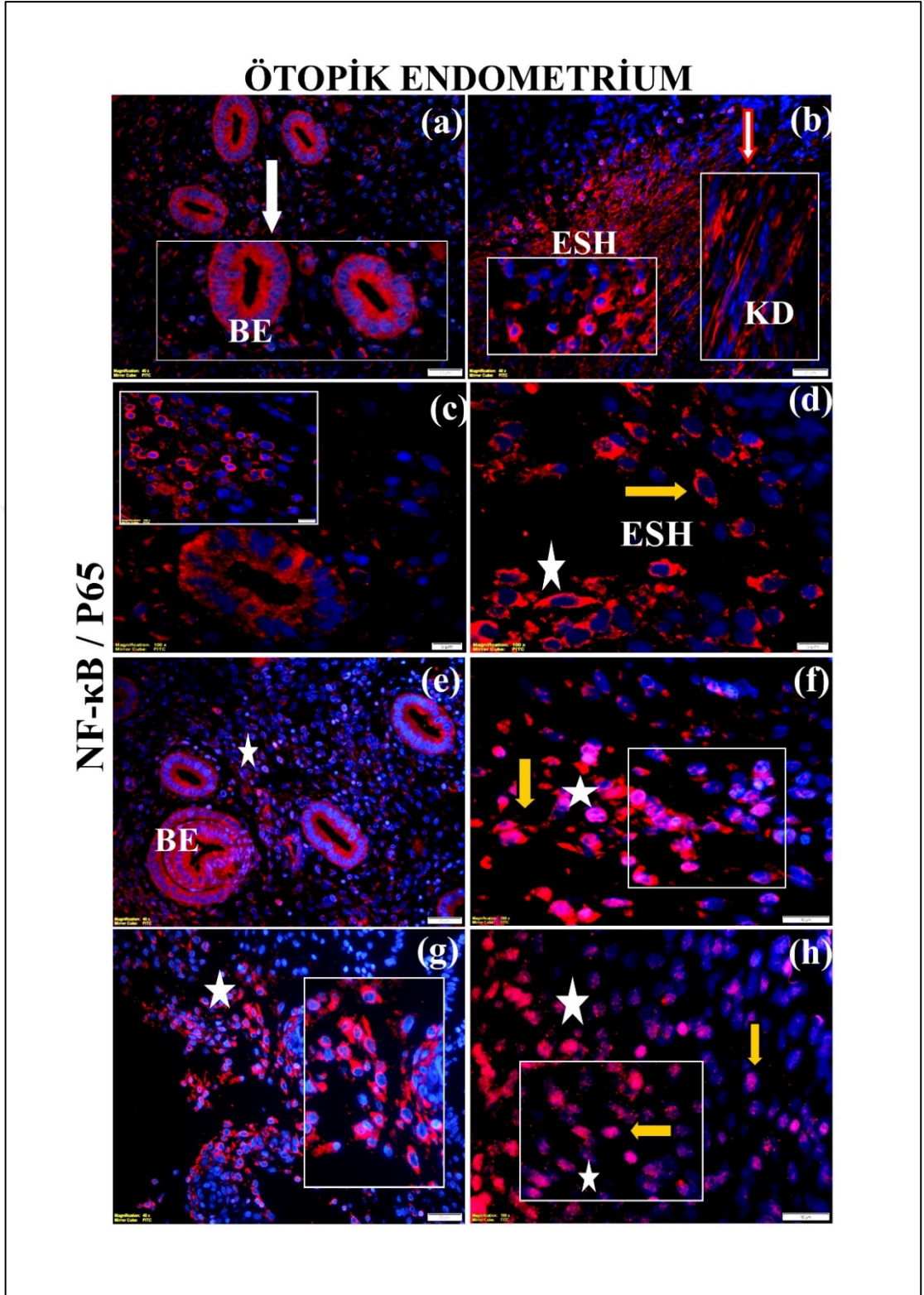


Şekil 4.8. İmmunfloresan boyama Ektopik endometriozis grubunda NF-κB P65 immunlokalizasyonu. Kan damarı (KD), Bez Epiteli (BE), Endometrial stromal hücre (ESH), (Kırmızı beyaz ok; kan damarı $\Rightarrow$, sarı ok ve beyaz yıldız; ESH $\Rightarrow$ $\star$). (20x, 40x büyütme).

4.5.5. Ötopik Endometriyumda NF-κB P65 Ekspresyonu

Proliferatif fazda ötopik endometrium dokusu, ektopik endometrium dokusuna göre NF-κB p65 ekspresyonunda artış izlendi. Ötopik endometrium dokusunun ektopik endometriozisli dokudan farkı bez yapıları idi (Şekil 4.9; a,e,f). NF-κB p65 molekülünün ötopik endometriumda çok güçlü immunlokalizasyon gösterdiği alan bez yapıları idi (Şekil 4.9;a,e). Çok güçlü immunlokalizasyon endometrial stromal hücrelerde de vardı (Şekil 4.9; b,c,d). Endometrial stromal hücrelerin lokalizasyon durumu sitoplazmik ve yer yer çekirdekte de pozitif (Şekil 4.9; d,g,h). Endometrial stromal hücreler hemen hemen bez yapıları çevresinde yaygındı (Şekil 4.9; c). Kan damarları orta seviyede immunlokalizasyon gösterdi (Şekil 4.9; b).





Şekil 4.9. İmmunfloresan boyama Ötopik endometriyum grubunda NF-κB P65 immunlokalizasyonu. Kan damarı (KD), Endometrial stromal hücre (ESH), Bez Epiteli (BE), (Sarı ok ve beyaz yıldız; ESH →, ☆ kırmızı beyaz ok; kan damarı ⇨). (40x ve 100x büyütme).

5. TARTIŞMA

Endometriozisin kronik pelvik ağrı, dismenore, dispareni ve infertilite ile ilişkili, üreme çağındaki kadınları etkileyen, jinekolojik bir hastalık olduğu bilinmektedir. Tosti ve ark. (2015) ile McCluggage (2020) hastalık sürecinde, endometrial stromal hücrelerin (eSH) ektopik bölgelerde biriktiğini, anjiyogeneizde artış meydana geldiğini, hücre apoptozunda azalma ve hücrel transkripsiyonda istila gerçekleştiğini ifade etmektedir. Yapılan birçok bilimsel çalışmaya rağmen, endometriozisin altında yatan olası patogenetik ve patofizyolojik sebepler tam olarak tespit edilmemiştir. Bununla birlikte, hormonal fonksiyonlar (östrojen ve progesteron reseptörleri), peritoneal makrofajlar, doğal öldürücü hücreler ve lenfositlerde anlamlı değişiklikler görülmektedir. Endometriozisin agresif davranışının altında yatan gerekçelerin apoptoz, nükleer faktör kappa B (NF- κ B), B hücreli lenfoma 2 (Bcl-2) ve anti-Mullerian hormonunun yüksek oranda değişmesi ve oksidatif stresle ilişkili artan proliferasyon aktivitesi olduğu tespit edilmiştir (Samimi ve ark., 2019). Ektopik implantların invazyonu ise, anjiyogenezin görülme sıklığındaki artış ile ilişkilendirilmektedir (Tosti ve ark., 2015).

Mevcut çalışmada, NF- κ B-p65 ve Bcl-2 ile ilgili yapılan immün floresans analizler, bahsedilen proteinlerin proliferatif dönemdeki endometriozisli hastalardan alınan ektopik, ötopik ve normal endometriumlu gruplar arasında farklı ifadelere sahip olduğunu göstermiştir. Ötopik ve ektopik endometriozisli hastalar ile kontrol endometriumunun morfolojik analizlerinde, ektopik endometriozisli dokunun stroma içeriğinde yer alan hemosiderin yüklü makrofajlar, lenfositler ve kan damarları açısından, ötopik ve kontrol endometriumdan belirgin farklılıklara sahip olduğu tespit edilmiştir. Bunun yanında, ektopik dokudan farklı olarak, ötopik grubun, glandüler yapılar açısından yoğun olduğu gözlenmiştir. NF- κ B p65 proteininin ötopik ve kontrol endometriumun ötopik endometrial stromal hücrelerinde (öESH), kontrol endometrial stromal hücrelerinde (kESH) ve glandüler epitel hücrelerinde çekirdek ve sitoplazmada en yüksek seviyede, ektopik dokunun endometrial stromal hücrelerinde (eESH) ise en düşük seviyede ifade edildiği saptanmıştır. Bu durumun aksine ektopik dokuda NF- κ B p65 proteininin kan damarlarındaki ekspresyon seviyesi en yüksek düzeyde ifade edilirken, ötopik ve kontrol endometrium dokusunda en düşük seviyede belirlenmiştir. Bcl-2'nin immün lokalizasyon düzeyi, ötopik ve kontrol endometrium dokusunun glandüler epitel hücrelerinde en yüksek, öESH'ler ve kESH'lerin çekirdek ve sitoplazmasında yüksek, ektopik dokunun eESH'lerinde ise en düşük seviyede

gerçekleşmiştir. Bununla birlikte Bcl-2, ektopik dokunun kan damarlarında en yüksek derecede lokalizasyon göstermiştir. Bu kapsamda, proliferatif dönem insan endometriyum dokusunda, P65'in hücrel transkripsiyon üzerindeki etkileri ile ektopik implantların oluşum aşamasında anjiyogenezn rolü ilişkilendirilmiştir. Ayrıca Bel-2'nin endometriozis ile ilişkili apoptotik yollarda ortaya çıkan etkileşimlerin, hücre proliferasyonunda apoptoz potansiyeli ve anjiyogeneze katkısı tartışılmıştır.

Çalışmamız, proliferatif dönem endometriozisi üzerine yapılan sınırlı sayıda morfolometrik çalışmalar arasında yer almaktadır. Bu kapsamda yapılan volüm fraksiyon analizinin, ektopik endometriozis sürecinde, anjiyogenezin varlığını ortaya çıkarmak için belirgin bir role sahip olduğu gösterilmiştir. Bununla birlikte, ektopik dokudaki yoğun hemosiderin yüklü makrofajların varlığı, ektopik dokuda gözlenen anjiyogenez farklılığı ile ötopik dokuda köpük hücrelerin görülmesinin, menstrual siklusun safhalarına özgü birer morfolometrik parametre olduğu da düşünülmektedir.

NF-κB / p65, endometriotik hücre davranışlarını ve anjiyogenezi düzenleyen bir proteindir

Kim ve ark. (2006), endometrioziste çeşitli inflamatuvar ve patolojik yanıtların önemli bir düzenleyicisi olan NF-κB'nin hücre proliferasyonunu indüklediğini ve ayrıca inflamasyonu ve apoptotik süreci inhibe ettiğini belirtmiştir. Zhu ve ark. (2015), NF-κB'nin normal endometriumda düşük seviyede olduğunu söylerken, Çelik ve ark (2016), endometriozisli ektopik ve ötopik endometriumda NF-κB konsantrasyonunun arttığını ifade etmiştir. NF-κB sinyali, endometriotik hücre aktivitelerini düzenleyerek endometriozisin ilerlemesini etkilemektedir. Endometriotik hücrelerin yüksek göç ve istila yeteneklerinin, ektopik odakların implantasyonu ve genişlemesinin temel nedeni olduğu kabul edilmektedir. Ayrıca, endometrial stromal hücrelerin anormal yapışmasının, endometriozisin gelişimi için kritik bir başlangıç adımı olduğu düşünülmektedir (Liu ve ark., 2022). Endometrial stromal hücrelerin NF-κB tarafından hücrel transkripsiyona uğramaları doğal bir sonuçtur. Yapılan bilimsel çalışmalarda, NF-κB yolunun endometriozis süreci üzerinde önemli bir etkisinin olduğu belirlenmiş olmasına rağmen, endometriozisli kadınların, özellikle ötopik endometriumun eSH'lerinde, NF-κB p65 aktivasyon derecelerinde herhangi bir fark olup-olmadığı, bu hücrelerin ektopik implantların oluşumundaki olası rolü ve anjiyogeneze katkısı (ektopik implantlar oluştuğunda) halen belirsizliğini korumaktadır. Bu belirsizlik temelinde yaptığımız çalışmamızın sonucunda, yukarıda da ifade edildiği gibi,

eESH'lere kıyasla öESH'ler, kESH'ler ve glandüler epitel hücrelerin ekspresyon seviyelerinin daha yüksek olduğu saptanmıştır. Anjiyogenez süreci üzerindeki etkisi değerlendirildiğinde ise, NF- κ B p65'in ektopik dokunun kan damarlarında güçlü bir ekspresyon gerçekleştirdiği belirlenmiştir. Tosti ve ark. (2015), ESH ekspresyonu ve anjiyogenez lokalizasyonunun, çeşitli faktörlerin etkileşimi sonucu ortaya çıktığını, özellikle endometriozis patogenezinde proinflamatuvar faktörler tarafından uyarılan NF- κ B sinyalinin endometriotik hücrelerin çoğalma, yapışma, göç ve istila yeteneklerini modüle ettiğini ifade etmektedir. Endometrial stromal hücrelerin NF- κ B sinyal yolu ile etkileşimini analiz eden çok sayıda bilimsel çalışma mevcuttur. González-Ramos ve ark. (2012)'nin sağlıklı ve endometriozisli kadınların endometriyal dokularını karşılaştırdığı çalışmada, ESH'lerde p65-DNA bağlanması açısından gruplar arasında belirgin bir fark tespit edilmemiştir. Ponce ve ark. (2009), geç sekretuar fazda, NF- κ B p65 immünoaktivitesinin ötopik endometriumun ESH'lerinde daha düşük, proliferatif fazda ise daha yüksek olduğunu belirlemiştir. Laird ve ark. (2000) ise, yukarıdaki tespitin aksine, proliferatif fazda ötopik ESH'lerde, p65 ekspresyonunun çok düşük olduğunu saptamıştır. Çalışmamızın bulguları, Laird ve ark. (2000)'nin çalışmasının sonuçlarıyla uyumlu değildir. Bununla birlikte, proliferatif dönem öESH'lerin pozitifliği açısından bulgularımız, Ponce ve ark. (2009)'nin verileriyle paralellik göstermiştir. Chantalat ve ark. (2020), steroid hormonlardan östrojenin, endometrioziste NF- κ B sinyalini düzenleme ve ektopik implantların oluşumunu teşvik etme veya inhibe etme potansiyeline sahip olabileceğini düşünmektedir. Bu kapsamda yaptıkları çalışmada, öESH ile eESH'ler arasında, östrojen ve progesteronun ortamdaki miktarına bağlı olarak, farklı lokalizasyon seviyeleri tespit edilmiştir. Endometriozis nedeniyle peritoneal ortamda artan proinflamatuvar ve interlökin seviyelerinin, endometriozisli dokunun endometrial stromal hücrelerinin ekspresyon seviyelerini değiştirebildiği bilinmektedir. Li ve ark. (2019)'nin bu ifadeden yola çıkarak yaptığı çalışmada, endometriozisli hastaların periton sıvısında IL-6 ekspresyonlarının arttığı belirlenmiştir. Liu ve Wang (2022) ise, bir proinflamatuvar belirteç olan IL-8'in, NF- κ B sinyalinin ESH aktivitelerini düzenlediğini ve endometrial stromal hücrelerin anormal şekilde hayatta kalmasının IL-8 salgısına bağlı olduğunu saptamıştır. Yukarıda bahsedilen ve NF- κ B sinyal yolu ve endometriozis arasındaki ilişkileri analiz eden çalışmalar, ötopik endometriozisli dokunun ESH'lerinde, p65'in hücrel transkripsiyonunda anlamlı farklılıklar olduğunu göstermektedir. Dolayısıyla, mevcut çalışmamızın sonuçlarına göre, ötopik endometriozisin anahtar düzenleyicilerinden birinin endometrial stromal

hücreler (öESH'ler) olduğunu söylemek mümkündür. Proliferatif döneme ait öESH'lerin sitoplazmik ve nükleer lokalizasyonunun sebebi açıkça görülmektedir ki öESH'ler yüksek sitoplazmik ve nükleer Rel-A DNA bağlama özelliği gösterme potansiyeline sahiptir. Ayrıca, endometriozisli ötopik endometriyumda antiinflamatuvar yanıt, bazı bağışıklık popülasyonlarının anormal fonksiyonları tarafından inhibe edilebilecektir. Dolayısıyla bu durumun, ektopik bölgelere göç edebilen ve endometriotik lezyonları geliştirebilen endometriyal stromal hücrelerin hayatta kalmasını etkileyebilmesi olasıdır. Houshdaran ve ark. (2016), yaptıkları çalışmada, endometriozisli kadınların endometriyumunun değişmiş gen ekspresyonu ve değiştirilmiş DNA-metilasyon profilleri sergilediğini tespit etmiştir. Bu tespitten yola çıkarak, endometriozisli endometrium dokusunda transkripsiyondan sorumlu NF- κ B yolu ile değişen hücresel transkripsiyon aktivitesinin, lenfosit aktivasyonunu, sitokin indüksiyonunu ve inflamasyonu kontrol ederek, ESH pozitifliği sağlaması mümkün görünmektedir. Liu ve ark. (2022), ESH'lerin güçlü ekspresyon durumunu steroid hormonların, matriks metalloproteinazların, sitokinlerin ve stres faktörlerinin varlığı ya da yokluğunu tetiklediğini belirtmektedir. Oksidatif stres, farklı sinyal yollarını aktive edebildiği gibi, endometriotik hücrelerin hayatta kalması ve çoğalmasını da tetikleyen bir faktördür. Oksidatif stresin NF- κ B yolağının proteinlerini fosforile ederek modüle ettiği saptanmıştır (Ngo ve ark., 2010). Jackson ve ark. (2005), endometrioziste yüksek seviyelerde ROS (reaktif oksijen türleri) üretildiğini ve bu yüksek ROS'un hücre hasarını ve proliferasyonu indüklediğini saptamıştır. Yun ve ark. (2021), NF- κ B sinyalinin normal ve endometriozisli dokulardaki ESH'lerde, ROS ve hipoksi gibi farklı uyaranlara yanıt olarak, aktivasyon gösterdiğini bildirmiştir. Transkripsiyon faktörlerinin, reaktif oksijen türlerinin aracılık ettiği bir mekanizma üzerinden çeşitli sinyalleri algılayarak NF- κ B'nin inhibitör bileşenleri ile sitoplazmada aktive olup, sinyalin nükleer lokalizasyonlara ulaşmasını sağlayabilmesi olasıdır. Bu olasılık, transkripsiyon faktörlerinin reaktif oksijen türlerine yanıt veren sinyal yollarındaki rolü, hücresel homeostazın korunması ve patolojik durumların gelişiminin düzenlenmesi açısından önem arz etmektedir. Öner ve ark. (2004)'nın, eESH ve öESH'ler aracılığıyla, ROS ve NF- κ B ilişkisini değerlendirdiği çalışmada, ötopik dokuda serbest radikallerin yüksek konsantrasyonlarda bulunduğu belirlenmiştir. Serbest radikallerin yüksek konsantrasyonlarda bulunmasının, oksidatif stresin artışına ve p65 alt ünitesinin inhibitörlerini etkinleştirerek, öESH'lerin yüksek lokalizasyonuna neden olabileceği düşünülmektedir. ROS ve NF- κ B etkileşimi, ötopik dokuda meydana gelen patolojik

süreçleri anlamak ve endometriozis oluşumunu engellemek veya tedavi etmek için potansiyel bir hedefi işaret edebilir. Lin ve ark. (2012), NF- κ B sinyalinin çekirdek içindeki aktivitesinin, endoplazmik retikulum (ER) stres faktörü ile de bağlantılı olduğunu ifade etmektedir. ER stres faktörü, progesteron ve östrojenin ötopik ve ektopik endometriyumda stromal hücrelerdeki sitokinleri, interlökinleri ve kemokinleri düzenlediği belirlenmiştir (Lambert ve ark., 2014). Bu etkileşim, NF- κ B'nin inhibisyonu yoluyla, normal ve ötopik endometrial stromal hücrelerin düzenlenmesini, endometrial hücrelerin uygun bir hücresel ortamda kalmasını ve inflamatuvar süreçlerin kontrolünü mümkün kılmaktadır. Dolayısıyla, hastalığın oluşum süreci için gereken mekanizmaların bozulabilmesi ve ektopik implantları oluşturabilmesi olasılıkları göz ardı edilmemelidir. Endometrial stromal hücreler ile glandüler epitel hücre aktivitesi arasındaki etkileşime dair diğer bir faktör ise makrofajların varlığıdır. Panir ve ark., (2022), inflamasyonun başlatılmasına ve çözülmesine aracılık eden makrofajların, menstrüasyondan itibaren endometriumun parçalanarak onarılmasına izin verdiğini belirtmektedir. Capobianco ve Querini (2013), makrofajların oluştukları ve alternatif aktivasyona uğradıkları lezyonlarda bol miktarda bulunmaları nedeniyle, endometriozisi bir makrofaj hastalığı olarak tanımlamıştır. Ayrıca, proliferatif dönemde endometrioziste, makrofajların östrojene yanıt olarak çoğalabileceği ve yara iyileşmesi için ektopik dokulara yerleştiği de bilinmektedir (Panir ve ark., 2022). Bacci ve ark. (2009), makrofajların ektopik lezyonlarda baskın olduğunu, endometriozisli ve endometriozissiz kadınların periton boşluğunda ve periton sıvısında arttığını tespit etmiştir. Chung ve ark. (2020) ise, makrofajların fagositoz işlevinin azalmasını, ektopik lezyon oluşumuna katkıda bulunan diğer bir faktör olarak ifade etmektedir. Makrofajların farklılaşması, endometrial hücresel transkripsiyonu eESH'lerde, öESH'lere göre daha az baskılar niteliktedir. NF- κ B yolunun aktivasyonu, makrofaj aktivasyonunun ayırt edici bir özelliğidir. Bu özellik, endometriozisi olan kadınların aksine, endometriozisi olmayan kadınların peritoneal karakteristiğidir. Zhou ve ark. (2010), ötopik endometriyumdaki NF- κ B gen promoterindeki ATTG polimorfizminin, artan endometriozis riskiyle ilişkili olduğunu belirlemiştir. Çünkü araştırmacı, endometriozisli kadınlardan alınan öESH'lerin lezyon oluşumuna olan eğilimleriyle tutarlı olarak, daha invaziv ve yapışkan özelliklere sahip olabileceğini düşünmektedir. Ektopik lezyonların, bağışıklık hücreleri arasındaki etkileşimi anjiyogenezi, fibrotik skar doku oluşumunu ve diğer bağışıklık hücrelerinin hasar görmesini önleyen, inflamatuvar bir ortam hazırlayarak, ektopik implantların kalıcı olmasına izin

verebilmektedir. Osuga ve ark. (2011), endometriozis patogenezinde birçok faktörün rol aldığını, ektopik implantların çoğalmasında ESH'ler, T ve B lenfositler ile vasküler endotel hücrelerin önemli rol oynadığını belirtmiştir. Bağışıklık hücrelerinin, hücre proliferasyonu, inflamasyon, anjiyogenez vb. süreçleri kontrol eden çeşitli sitokinleri salgılayarak, hastalık gelişimine katkıda bulunabileceği de unutulmamalıdır. Dmowski ve ark. (1981), endometrial stromal hücrelerde T-lenfosit yanıtlarının, endometriozisle ilişkili olduğunu ve endometriozisli kadınlarda ESH'lere lenfositlerin yanıtının azaldığını saptamıştır. Badawy ve ark. (1987) ise, endometriozisli hastaların periferik kanında, B lenfositlerin yüksek miktarlara eriştiğini ifade etmektedir. Bu tespitin aksine, Gagne ve ark. (2003) ise, endometriozisli kadınların periferik kanının, normal kadınlara göre daha düşük sayıda B lenfosit içerdiğini bildirmiştir. B lenfositlerin humoral bağışıklıkta rol aldığı düşünüldüğünde, spesifik antikor üretmek için, endometriozis patogenezindeki rolü de kaçınılmaz olmaktadır. Ektopik endometriozisli dokunun ötopik dokuya göre, ESH'ler açısından daha düşük P65 lokalizasyonu göstermesi, bağışıklık aktivitelerinde NF- κ B sinyali ile ESH'lerin, ektopik dokuda baskılandığını düşündürmektedir. Ancak, bu durumun endometriozisin nedeni mi yoksa sonucu mu olduğu hala belirsizliğini korumaktadır. Mevcut çalışmanın morfometrik analiz bulguları ve JB4 görüntüleri, ektopik implantların hemosiderin içeren makrofajlar ve lenfositlerce ne kadar zengin olduğunu göstermektedir. Çalışmamız açısından önemli bir diğer sonuç ise, ötopik endometriuma ait glandların glandüler epitel hücrelerde güçlü P65 ekspresyonu göstermesidir. Erşahin ve ark. (2016), geç foliküler fazda ötopik endometriumun luminal ve glandüler epitel hücrelerinin özellikle sitoplazmasında p65 ekspresyonu saptamıştır. Ponce ve ark (2009) ise, ötopik endometriyumunun glandüler hücrelerinde kontrollerle karşılaştırıldığında daha düşük NF- κ B p65 ekspresyonu olduğunu tespit etmiştir. Bunun aksine, çalışmamızın sonuçları ötopik ve normal endometriyum glandüler hücrelerinin p65 ekspresyonu açısından benzer olduğunu göstermiştir. Proinflamatuvar sitokinlerin uyarılmasıyla p65 dimerlerinin etkileşiminden kaynaklı epitel hücreleri transkripsiyona uğrayarak hücre sel göç ve istila süreci başlamaktadır. Paterni ve ark (2014), endometriumun hormon reseptörleri arasındaki dengesizliğin endometrial gland oluşumunu engelleyebileceğini ve östrojen reseptörü Era'nın endometriumun hücre çoğalmasını tetiklediğini ifade etmiştir. Dolayısıyla, ektopik endometriumun yüksek östrojen konsantrasyonu etkisiyle Era glandüler epitel hücrelerinde mitoz ve farklılaşmayı inhibe edebilir. Smolarz ve ark. (2021), glandların oluşum aşamalarından itibaren içerdikleri tüm homeobox genlerin, çekirdek içerisinde

transkripsiyon faktörü üyeleri ile reaksiyona girerek hücre proliferasyonunu başlattığını belirtmiştir. Sonuç olarak NF- κ B sinyal yolağı, özellikle p65 içeren dimerleri aracılığıyla, endometriyumun hücre içi sağkalım ve doku özgünlüğünün bir belirleyicisi gibi davranarak, ESH'ler ve glandüler epitel hücreleri üzerinde transkripsiyonel aktivitenin gerçekleşmesini sağlayabilir.

Bu çalışmada, P65'in ektopik dokuda, kan damarı endotel hücrelerinde yüksek lokalizasyon göstermesinin, endometrioze anjiyogenezin açık bir göstergesi olduğu düşünülmektedir. Morfometrik analizlerde de ektopik dokunun kan damarları açısından zengin olduğu saptanmıştır. Bu tespit de yukarıda ifade edildiği gibi, anjiyogenezin varlığını desteklemektedir. Samimi ve ark. (2019), anjiyogenezi, hücrel matriks, proteolitik enzimler ve sitokinler arasındaki etkileşim yoluyla, mevcut vaskülerden büyüyen yeni kan-vasküler sistemi sağlayan bir süreç olarak tanımlamaktadır. Wang ve ark. (2014), ektopik lezyonların oluşumunun ve büyümesinin, büyük ölçüde besin ve oksijen kaynağı gerektirdiğini; bu ihtiyacın ise ancak anjiyogenez ile karşılanabileceğini düşünmektedir. Bununla birlikte, bahsedilen mekanizmanın altında yatan epigenetik mekanizmalar henüz bilinmemektedir. Delbandi ve ark. (2020), VEGF'nin en güçlü anjiyogenik faktörlerden biri olduğunu, fizyolojik ve patolojik anjiyogeneze önemli bir belirteç olduğunu ifade etmiştir. Zdrokowski (2023), anjiyogenik faktörlerin ekspresyonunun, NF- κ B tarafından düzenlenebileceğini ve endometrioze kadınlarda peritoneal makrofajlar ile endometriotik hücreler arasında artmış VEGF ekspresyonu olduğunu tespit etmiştir. Harmsen ve ark. (2019), endometrioze hastalarda, kontrol grubuna kıyasla, anormal vaskülarizasyon ve anjiyojenik belirteçlerde artış olduğunu belirlemiştir. Sampson'un (1927a) hipotezine göre, endometrial implantların hayatta kalabilmesi ve endometrioze gelişebilmesi için, endometriyumun periton tabakasına invaze olmasından itibaren, yeni bir kan kaynağına ihtiyaç vardır. Yukarıda ifade edilen çalışmaların bulguları, Sampson'un (1927a) hipotezi ile örtüşmektedir. Read ve ark. (1994), endotel hücreleri ve NF- κ B inhibitörleri arasında pozitif bir ilişkinin varlığına vurgu yapmakta ve ayrıca, endotel hücrelerinde p65'in eksprese olabilmesi için, önce inhibitörlerin aktive olması gerektiğini ifade etmektedir. Mevcut çalışmanın sonuçları, NF- κ B inhibitörlerinin pasif durumdaki p65'i uyardığında, transkripsiyon sürecini başlatarak, sitoplazmadan çekirdeğe p65'in yolculuğunu gerçekleştirebildiğini göstermektedir. Önemli bir anjiyogenik faktör olan VEGF'nin, hücrel transkripsiyon

sürecinde, endotel hücrelerini p65 üzerinden düzenleyebildiği bilinmektedir. Çünkü vasküler geçirgenliğin artması, endotel anjiyogenezini ve hücre proliferasyonunu indüklemek için hücrel transkripsiyona ihtiyaç duyulmaktadır. Liu ve ark. (2016), anti-VEGF/VEGFR faktörlerinin, endometrium fonksiyonu üzerinde herhangi bir etkisi olmadan, endometriozis büyümesini baskılayabileceğini ifade etmektedir. Bu yaklaşım temelinde, anti anjiyojenik bazlı tedavilerin, yakın gelecekte endometriozis tedavisinde yeni bir yaklaşım olabileceği düşünülmektedir. Ektopik endometrium anjiyogenezinin çeşitli yollarla da ilişkili olduğu bilinmektedir. Shin ve ark. (2014), endotel nitrik oksit sentezi (eNOS) ekspresyonunu, PI3K/Akt yolağı ile ilişkilendirmiştir. Zhang ve ark. (2010), 17β-E2 'nin, NF-κB/PTEN'in modülasyon aktivitesi yoluyla endometriozisin proliferasyonunu uyarmak için PI3K/Akt 17β-E2'nin NF-κB'yi aktive ettiğini, daha sonra PTEN'in inaktivasyonuna yol açarak, aşırı PI3K aktivasyonu ile NF-κB'nin indüksiyonunu sağladığını ve bunun da VEGF üretimini teşvik edeceğini belirtmektedir. Bu durumda endotel hücreleri doğrudan, NF-κB B'nin p65 bileşenlerini ve REL ile ilişkili proto-onkogen c-rel'i kodlayan transkriptleri ifade edebilir. Daha sonrasında ise, sitoplazmada p65 aktivasyonu gerçekleşir ve ekspresyon çekirdeğe doğru yönlendirilir. Sonuç olarak, artan NF-κB aktivasyonu, endometriozis durumunda lezyonların sürdürülmesini ve ilerlemesini, destekler. NF-κB üyelerinin DNA promotör bölgelerine bağlanması, proinflamatuvar sitokinlerin, hücreler arası adezyon moleküllerinin ve anjiyogenez faktörlerinin ekspresyonunu artırarak, endometriozis lezyonlarının oluşumunda ve devamında önemli bir rol oynayabilir. Bu etkileşimler, NF-κB'nin endometriozis ve anjiyogenez patogenezinde potansiyel bir hedef olabileceğini göstermektedir.

Bcl-2, endometrioziste apoptozun kritik düzenleyicisidir

Apoptozun, endometriozis patogenezinde temel bir rol oynadığı bilinmektedir. Bu kapsamda, Taniguchi ve ark. (2011), endometriozisli kadınların ötopik endometriyumunda anti-apoptotik faktörlerin ekspresyonunun arttığını, proapoptotik faktörlerin ekspresyonunun ise azaldığını saptamıştır. Mevcut çalışmanın sonuçları, endometriozisli ve normal endometriumda, periton boşluğuna geri dönen endometrial stromal hücrelerin, apoptotik yolları kullanarak hayatta kalmasının, endometriozis gelişimine katkıda bulunabileceğini göstermektedir. Bununla birlikte, ektopik implantların oluşmasıyla, anjiyogenezn apoptotik aracılı yolları kullanma olasılığı da söz konusudur. Endometriozisli hastalarda ESH'lerin farklı davranışının, bu hastalığın

patogenezinde anahtar unsur olduğunu düşünülmektedir. Bu öngörü doğrultusunda gerçekleştirilen çalışmamızın sonuçları, endometriozisli hastaların öESH'lerinin invazivlik, artmış apoptoz ve proliferatif kapasite açısından, normallerinden belirgin farklılıklara sahip olduğunu göstermiştir. Ötopik endometriumun öESH'lerin çekirdek ile sitoplazmasında ve glandüler epitel hücrelerinde Bcl-2ekspresyonu, ektopik endometriumun eESH'lerine kıyasla çok yüksek, kontrol endometrium dokusunun kESH'leri ve glandüler epitel hücrelerinde ise öESH'lerle benzer ekspresyona sahip olduğu belirlenmiştir. Bcl-2'nin, ektopik endometriumun endotel hücrelerinde en yüksek, ötopik ve kontrol endometriumun endotel hücrelerinde ise en düşük seviyede lokalizasyon göstermesinin, ektopik lezyonların geniş ve güçlü bir anjiyogenez potansiyeline sahip olduğunu ve endotel hücrelerinin apoptozda etkin bir rol üstlendiğini kanıtlamaktadır. Jiang ve ark. (2020), proliferatif faz boyunca östradiolun, lümenal ve glandüler epitel, stromal hücreler ve vasküler bileşenler dahil olmak üzere, tüm hücresel yapıların mitozunu indüklediğini belirtmiştir. Bu tespit, proliferatif dönem gözetilerek alınan örneklerimizde, hücresel süreçlerin aydınlatılabilmesi için bir ipucu niteliğindedir. Endometriozis üzerine yapılan bilimsel çalışmalar, dokudaki apoptoz oranıyla ilgili çelişkili sonuçları ortaya koymuştur. Örneğin; Gebel ve ark. (1998), endometriozisli kadınlarda dökülmüş eESH'lerde apoptoz yüzdesinin büyük ölçüde azaldığını saptamıştır. Symanovski (2007), ötopik endometriumun apoptoz indeksinin öESH'lerde, kESH'lere göre daha düşük olduğunu ifade ederken, Hassa ve ark. (2009), ESH'lerden özellikle öESH'lerde güçlü bir pozitif Bcl-2 ekspresyonu gözlemlemiş; eESH'lerde ise herhangi bir farklılık tespit etmemiştir. Jones ve ark. (1998), endometriotik odaklarda eESH'lerdeki Bcl-2ekspresyonunun, öESH'lerden yüksek olduğunu belirlemiştir. Çalışmalarda Bcl-2ekspresyonunda gözlenen farklılıkların, endometriozisli kadınların ektopik dokularında dökülmüş ESH'lerde apoptoz oranının azalmasına bağlı olarak gerçekleşebileceği düşünülmektedir. Bu durum, endometriozisli bireylerde periton boşluğuna giren hücrelerin hayatta kalma oranının daha yüksek olduğunun açık bir kanıtıdır. Bununla birlikte, endometriozisli kadınlarda özellikle geç sekretuar/menstrual ve erken proliferatif fazlarda apoptozda belirgin bir azalma ya da endometriozisli kadınlarda apoptozun döngüsel değişkenliğinin kaybolma olasılığının da Bcl-2 ekspresyonundaki farklılıkların kaynağı olabileceği varsayılmaktadır. Delbandi ve ark. (2020) yaptıkları çalışmada, eESH'lerin önemli ölçüde yüksek Bcl-2ekspresyon seviyelerine sahip olduğunu saptarken öESH'ler ve kESH'lerin de benzer şekilde yüksek Bcl-2 ekspresyonu sergilediğini belirlemiştir. Mevcut çalışmanın bulguları,

Delbandi ve ark. (2020)'nın öESH ve kESH verileri ile paralellik gösterirken, eESH bulguları ile uyumlu değildir. Endometriozisli ve normal endometrium dokusunun öESH ve eESH'lerinin Bcl-2 ekspresyonlarının farklı olma nedenleri birçok araştırmacı tarafından açıklanmaya çalışılmıştır. Bu kapsamda, Harada ve ark. (1996) ile McLaren ve ark. (1997), normal endometrium dokusunda bağışıklık hücrelerinde apoptozun azalması ile endometriozisin meydana gelmesi arasında doğrudan bir ilişki olduğuna vurgu yapmıştır. İmmun hücrelerin endometriozisteki rolüne ilişkin Jones ve ark. (1998), ötopik endometriyumla karşılaştırıldığında, ektopikte östrojen reseptörü ekspresyonu ve lökosit sayısında anlamlı düzeyde artış olduğunu ifade etmiş ve ayrıca ektopik dokuda granüle lenfositlerin sayısının azaldığını gözlemlemiştir. Mevcut çalışmada ise, kan damarları etrafında ve ESH'ler arasında pozitif boyanan lökositlere sıkça rastlanmıştır. Lökositlerin varlığı, endometrial dokuda çeşitli rol ve fonksiyonlar üzerine ışık tutmaktadır. Bu bağlamda, lökositlerin, endometriozis patogenezinde NK hücreleri ile Bcl-2' nin hücre içi ölüm yolu mekanizmasıyla doğrudan ilişkili olduğu düşünülmekle birlikte, Bcl-2'nin aşırı ekspresyonunun da T lenfositlerin hücre döngüsüne girmesine izin vermesi yüksek olasılıklıdır. Zhang ve ark. (2005), T lenfositlerin, apoptozun içsel yolunda rol aldığını ifade ederek bu varsayımı kanıtlamıştır. Böylece hem apoptozun hem de endometriozisin oluşumu için gerekli homestazinin sağlanması amacıyla, lenfositler ve endometrial stromal hücreler, doğrudan mitokondri yolunu kullanarak lokalize olmaktadır. Bununla birlikte, endometriotik hücrelerin, sitotoksik T lenfositin immün gözetiminden kaçabildiği bir başka mekanizmanın olabilmesi de mümkündür. Lökositlerin hastalık patogenezinde katkıda bulunabilecek sitokinlerin üretimindeki rolü, bu hücrelerin hastalık gelişimini teşvik etme potansiyelini akla getirmektedir. Çalışmamızın sonuçları, özellikle menstrual fazın, ektopik endometriumun değerlendirilmesinde önemli bir işlevi olduğunu göstermektedir. Normal endometrium ile endometriozisli ötopik ve ektopik endometriumun östrojen ve progesteron konsantrasyonları arasında farklılık olduğu bilinmektedir. Doğal olarak, apoptoz paterni, siklusun farklı fazları arasında değişkenlik gösterebilmektedir. Pierro ve ark. (2001), östrojenin, endometrial hücre proliferasyonunu uyarıcı rolleri olduğunu, fakat eşey steroidlerinin, endometriyal büyümeyi düzenlediği moleküler mekanizmanın hala belirsizliğini koruduğunu ifade etmektedir. Kontrol endometriyumundaki progesteron ve östrojen reseptörleri, ötopik endometriyumunkinden farklı değildir; ancak ektopik endometriyumda östrojen reseptörünün, proliferatif fazdan geç salgı fazına doğru artmış olabileceğini doğrulayan

alışmalar da mevcuttur (Jones ve ark., 1995). Bu nedenle mevcut çalışmada, apoptotik belirteçlerin ekspresyonundaki dalgalanmaları minimize etmek amacıyla, tüm vakaların menstrual siklusunun proliferatif fazında olmasına zen gösterilmiştir. ESH'lerin Bcl-2 pozitifliği, streoid hormonların hücre ölüm yolunun içsel mekanizmasıyla doğrudan bağlantılı olabileceğini ve eESH'lerin düşük ekspresyon seviyesini ifade etmektedir. Ancak, Bcl-2 ekspresyonunun sadece östrojen tarafından düzenlenmesi durumunda, ektopik endometriyumun yüksek Bcl-2 seviyesine sahip olması beklenen bir sonuçtur. Çünkü ektopik doku, östrojen konsanstrasyonu açısından zengindir. Endometriotik odaklarda bu artışın gözlenmemesi, Bcl-2 ekspresyonunun östrojen dışındaki faktörlerden, özellikle lokal veya sistemik sitokinlerden etkilenebileceği düşüncesini akla getirmektedir. Birçok araştırmacı tarafından endometriozis sürecinde sitokinlerin de, belirgin işlevlere sahip olduğu tespit edilmiştir. Bu kapsamda, Delbandi ve ark. (2013), ESH'lerin sitokin profillerini incelemiş ve eESH'lerde, ESH ve kESH'lerden daha yüksek miktarda IL-6 ve IL-8 üretildiğini belirlemiştir. Sitokinlerin yüksek ifadesinin daha çok invazyon kapasitesi ile uyumlu olduğu bilinmektedir. Bu durum, endometriozis patogenezinde, ektopik implantların invazyon yolculuğu varsayımını destekler niteliktedir. Bcl-2 ve sitokin iş birliğinin apoptoz mekanizmasındaki önemli bir molekülü ise tümör nekroz faktörü- α (TNF)'dır. Çünkü TNF'ler, hücre çoğalması ve hücre ölümünde önemli bir rol oynamaktadır. Sağlıklı endometriyumun proliferasyonu, TNF tarafından baskılanırken, endometriozisli hastaların endometriyum proliferasyonu TNF tarafından güçlendirilmektedir. Endometriyumda bu tür çelişkili yanıtların olması muhtemeldir. Yukarıda ifade edilen gerekçeler ve henüz bilinmeyen birçok faktörün ESH'lerde, Bcl-2 gibi, antiapoptotik özelliklerin indüklenmesini başlatması sonucunda, hücre proliferasyonunun gerçekleşmesi muhtemeldir. Dolayısıyla, endometriozisli hastaların endometriyumunda, apoptotik sinyalin uygunsuz transdüksiyonu, hücresel proliferasyonu tetikleyebilme olasılığına sahiptir. Ancak, endometrial stromal hücrelerin apoptozu, makrofajların ve bunların salgı ürünlerinin kontrolü altında gerçekleşecektir. Endometriozisin, makrofaj infiltrasyonu açısından uygun bir doku olması nedeniyle, makrofaj infiltrasyonu ile apoptoz arasında bir ilişkinin olabileceği de göz ardı edilmemelidir. Bununla birlikte, ektopik dokuda eESH'lerin azalmış apoptozu, makrofajların Bcl-2 affinitesi ile fizyolojik bir bozukluğun ifadesi anlamına da gelebilir. İmmün hücre ve özellikle makrofajdan türetilen sitokinler, ektopik hücrelerde olduğu gibi, topik endometrial hücrelerde de proliferasyonu, apoptozu karşı kontrol ederek, endometriozis gelişimini belirleyebilir. Apoptozun, homeostazı sürdürdüğü

temel gerçeğinden hareketle, endometriozis sürecinde homeostazın bozulmasının, mekanizmanın başarısızlığına yol açabileceği bilinmektedir. Bu bağlamda, ortaya çıkan oksidatif stres türlerinin de dikkate alınması gerekmektedir. Reaktif oksijen türleri (ROS), homeostazın bozulmasından etkilendiğinde, sitokinler ve büyüme faktörleri, oksidatif stresi tetikleyerek, apoptozun mitokondride başlayan aktivasyonuna neden olabilir. Bunun sonucunda ise, endometrial stromal hücreler, yolculukları sırasında, Bcl-2 tarafından düzenlenen apoptoz mekanizması tarafından yönlendirilen hücre ölümüne sürüklenir. Mevcut çalışmanın önemli bir bulgusu ise, glandüler epitel hücrelerinin, yüksek Bcl-2 ifadesi göstermesidir. Fakat ötopik dokudan farkı olarak, ektopik endometriyum stroması, gland yapılarını içermemektedir. Bu bulgu endometriozisin tanımlanması açısından anlamlıdır. Ektopik endometriumdan bağımsız olarak Bcl-2, yalnızca ötopik ve kontrol endometrium stromasında izlenmiştir. Bu bulgu, ektopik endometriyumdaki glandüler hücre çoğalma-farklılaşma mekanizmalarının, ötopik endometriyumdan bağımsız olarak gerçekleşebileceğinin açık bir kanıtıdır. Ötopik ve kontrol endometrium dokularında, glandüler epitelin çok yüksek düzeydeki Bcl-2 ifadesi, bez yapılarındaki apoptozun varlığını göstermektedir. JB4 yöntemi ile elde edilen bulgulara, glandüler yapılar açısından, ötopik ve kontrol endometrium dokusu ile ektopik doku arasında büyük bir farklılık saptanmıştır. Bcl-2'nin, ötopik dokudaki güçlü lokalizasyonu, siklusun proliferatif dönemde olması ile ilişkilendirilebilir. Çünkü proliferatif dönem, östrojenin etkisi altında apoptoz ve mitotik aktivite ile doğrudan ilişkilidir. Progesteronun, endometriumun östrojen kaynaklı proliferasyonunu engellediği bilinmektedir. Vaskivuo ve ark. (2000) apoptozun, serum östradiol düzeyleri ile negatif bir korelasyon gösterdiğini, progesteronun da ters yönde çalıştığını tespit etmiştir. Jiang ve ark. (2020), ötopik endometriumda Bcl-2 ve östrojen reseptörü α (ER α)'yı karşılaştırmış, Bcl-2'nin glandüler epitel hücrelerinin sitoplazmasında, ER α 'nın ise hem glandüler hem de stromal hücrelerde, çekirdekte ifade edildiğini belirlemiştir. Araştırmacılar ayrıca, Bcl-2 ile ER α arasında pozitif bir ilişki olduğunu ifade etmiştir. Paterni ve ark. (2014), aktive edilmiş östrojen ve östrojen reseptörlerinin, endometriumun hücre proliferasyonunu indüklediğini bildirmiştir. Meresman (2000) tarafından yapılan çalışmada, tüm menstrüel siklusa, ötopik endometriumun glandüler epitelinde, pozitif Bcl-2 ekspresyonu gözlenmiştir. Taniguchiri ve ark. (2011) ise, normal endometriumda geç sekretuar ve menstrüasyon fazlarında, endometriumun glandüler epitelinde apoptotik hücrelerin, proliferatif faz veya sekretuar fazın başlangıcından daha fazla olduğunu belirtmiştir. Otsuki ve ark. (1994) da Taniguchiri ve

ark. (2011) gibi, Bcl-2' nin proliferatif fazda, insan endometriumunda apoptozu inhibe ettiğini düşünmektedir. Bu bulgular, Bcl-2'nin endometrial hücrelerde apoptozu düzenleme kapasitesinin, menstrüel siklusun farklı fazları boyunca değişkenlik gösterdiğini ortaya koymaktadır. Özellikle apoptotik düzenlemelerin, östrojen ve progesteron düzeylerindeki değişikliklere bağlı olarak, farklı menstrüel fazlardan etkilenebileceği vurgulanmaktadır. Taniguchi ve ark. (2011) ve Otsuki ve ark. (1994)'nin çalışmalarına karşın, Bcl-2'nin endometrium ve endometriozis dokusundaki apoptoz sürecini ifade eden sınırlı sayıdaki çalışma, özellikle proliferatif döneme odaklanmıştır. Dolayısıyla çalışmamızın sonuçları, Jiang ve ark. (2020) ile Meresman (2000)'ın bulguları ile uyumludur ve bu kapsamda literatürdeki eksikliği doldurmaya katkı sağlamaktadır. Benzer şekilde Bozdağ ve ark. (2002), endometriyal glandüler epitel hücrelerinde, siklik olarak eksprese edilen Bcl-2'nin geç proliferatif fazda pik yaptığını, erken ve orta sekretuar fazda ise önemli ölçüde azaldığını belirtmektedir. Sharpe ve Kathy (1997), glandüler bez epiteli hücrelerinde, β -1 integrinlerin ve kadherinlerin ekspresyonlarının arttığını göstermiştir. Bu nedenle, endometriozis ile ilişkilendirilen inflamatuvar yanıtın, sitokinlere bağlı olduğu düşünüldüğünde, sitokinlerin hücre çoğalması veya hücre ölümünün düzenlenmesinde önemli bir rolü olabileceği ifade edilmektedir (Wu ve ark., 2003). Bu durumda, ötopik glandüler epitel hücrelerinde Bcl-2'nin sitokin promotörleri ile etkileşimde bulunarak, ötopik endometriumun glandüler epitel pozitifliğini açıklaması mümkündür. Sharpe (1997)'nin belirttiği gibi, β -1 integrin, Bcl-2 ailesi ligand reseptörleri ile bağlanabilir ve bu etkileşim, mitokondride başlayan hücre ölümünü tetikleyerek ortamdaki Bcl-2 seviyesini artırabilir. Böylece, ötopik ve kontrol endometriumunda glandüler hücrelerin ekspresyonunda bir artış gözlemlenir. Ancak, mevcut çalışmadan elde ettiğimiz sonuçlar, Bcl-2' nin apoptozun engellenmesinde değil, aksine glandüler hücrelerin çoğalması ve farklılaşmasında kritik bir rol oynadığını ortaya koymaktadır.

Dolayısıyla, ektopik implantların anjiyogenezinde, endotel hücrelerinin apoptozunu düzenleyen bir molekül olan Bcl-2 tarafından kontrol edildiğine dair ikna edici kanıtlar elde edilmiştir. Mevcut çalışmada, ektopik bölgelerde endometriotik lezyonların başarılı implantasyonu için gerekli olan kan damarlarının, yüksek düzeyde vaskülarize olduğunu gösteren Bcl-2 pozitifliği tespit edilmiştir. Buna ilaveten, morfolometrik analizlerde de ektopik dokunun kan damarı potansiyeli, ötopik ve kontrol grubuna göre, istatistiksel açıdan anlamlı bulunmuştur. Ektopik lezyonların oluşumunun

ve büyümesinin, büyük ölçüde besin ve oksijen kaynağı gerektirdiği ve bu nedenle anjiyogeneze ihtiyaç olduğu bir gerçektir. Yapılan çeşitli çalışmalar, endometrioziste, apoptozun anjiyogenezele ilişkisini göstermiştir. Bourlev ve ark. (2006), endometriozisli ötopik ve normal endometriumda mikro damar yoğunluğunu inceleyerek, endometriotik lezyonları karşılaştırmış ve endometriotik lezyonlarda belirgin bir anjiyogenez artışının olduğunu göstermiştir. Aynı çalışmada, periton sıvısında ve serumda, yüksek VEGF konsantrasyonunun, anjiyogenez ile doğrudan ilişkili olduğu ifade edilmiştir. Tan ve ark. (2002), endometriozis hücrelerinin, vasküler endotelial büyüme faktörünü (VEGF), yüksek düzeyde eksprese ettiğini ifade etmiştir. Shin ve ark. (2014), ektopik endometriumda, anjiyogenezele ilişkili proteinlerin ekspresyon seviyelerinde artış olduğunu belirlemiştir. Ayrıca, VEGF'nin, IL-1 beta gibi çeşitli sitokinler tarafından düzenlenerek, etkisinin arttığı da bilinmektedir (Tesone ve ark., 2008). Apoptoz ve anjiyogenez ilişkisine dair, Kaponis ve ark. (2012) tarafından yapılan çalışmada, VEGF ve IL-1 β 'nin, yeni kan damarlarının oluşumunu teşvik etme yeteneğine sahip olduğu ve endometriotik hücrelerin apoptoza maruz kalmaktan korunmasına yönelik bir potansiyel mekanizma sunduğu ifade edilmiştir. Genel anlamda, Bcl-2'nin anjiyogenezdeki rolü hala belirsizliğini korurken, Karl ve ark. (2007), Bcl-2'nin çeşitli sinyal yolları aracılığıyla, VEGF ve anjiyogenezin düzenlenmesini indükleyebileceğini göstermiştir. Bcl-2 aktivasyonu, endotel hücrelerinde çeşitli büyüme faktörleri, sitokinler ve sinyal yolları aracılığıyla regüle edildiğinde, ektopik implantlarda anjiyogenez artırarak, lezyonların ilerlemesini hızlandırabilmektedir. Mevcut çalışmanın bulgularının aksine, Kondo ve ark. (1994), endotel hücre sağkalımında, Bcl-2'nin regülasyonu ile endotel hücrelerinin apoptozdan korunabileceğini bildirmiştir. Çalışmamızın bulgularına dayanarak, ektopik lezyonlar oluşurken, VEGF tarafından tetiklenen angiogenik yanıtların oluşması, Bcl-2'nin ekspresyonunu pozitif yönde düzenleyerek, endotel hücrelerinin hayatta kalmasını sağladığı düşünülmektedir. Bunun yanı sıra, Bcl-2'nin, anjiyogenez üzerindeki etkisi, Nükleer Faktör Kappa B yoluyla, transkripsiyonel aktivasyonu sağlayarak gerçekleşebilmektedir. Bu süreç, mitokondride aktivasyon başlatarak, mitokondriden sitoplazmaya sitokrom c salınımını kolaylaştırabilir veya engelleyebilir. Bunun sonucunda Bcl-2, sitoplazmaya taşınır. Bu durumda Bcl-2'nin, pro-angiogenik bir sinyal molekülü olarak işlev görebileceği düşünülebilir. Apoptoz mekanizmasının, Bcl-2 ailesinin üyeleri arasında, hetero ve homodimerlerin oluşumuna dayandığı düşünülebilir. Bahsedilen hetero ve homodimerlere VEGF'nin bağlanmasıyla, vasküler endotelial büyüme faktörünün (VEGF), Bcl-2 ekspresyonunu, yukarı doğru

düzenleyerek, endotelial hücreler için bir hayatta kalma faktörü olarak işlev gören, güçlü bir anjiyogenez aracı olduğu gösterilmiştir. Bcl-2' nin, ektopik implantlardaki kan damarları ekspresyonunu doğrudan kanıtlamasa da Bcl-2' nin anjiyogenezdeki rolü ve endometriozis sürecindeki anjiyogenezi düşünüldüğünde, implante edilen ektopik endometriumun, yeni çevresinde hayatta kalabilmesi için, yerleştiği dokuda anjiyogenezin tetiklenmesi gerektiği hipotezi ortaya çıkmaktadır. Bu durumda, yüksek seviyede VEGF, Bcl-2 pozitif ekspresyonunu artırarak, önemli bir anjiyojenik faktör olan VEGF'nin vasküler endotele bağlanarak, endotelial anjiyogenezi Bcl-2 molekülü aracılığıyla uyarabileceği ve bu şekilde hücre proliferasyonunu ve vasküler geçirgenliği artırabileceği düşünülmektedir.

Morfometrik Analizlerin Endometriozisteki İfadesi

Endometriozisli ve normal endometrium dokusunun morfometrik karakterizasyonu, endometriozisi tanımlayabilmek için önemlidir. Mevcut çalışmada, proliferatif dönem endometriozisli ve normal endometrium dokularının morfometrik verileri, volüm fraksiyonu yöntemiyle değerlendirilmiştir. Bu kapsamda, ektopik dokunun anjiyogenez ve ötopik dokunun bez mimarisi, menstrual siklusun proliferatif fazı ile ilişkili endometriozisi, morfolojik olarak tanımlayabilmek için, önemli bir belirteç olarak kullanılmıştır. Morfometrik ölçümler ve değerlendirmeler, endometriozisli dokunun özelliklerini tanımlamak, morfolojik karakterizasyonunu belirlemek ve şayet menstrual safhaya özgü bir durum söz konusu ise, buna uygun tedavi yanıtının değerlendirilebilmesine ışık tutmak amacıyla yapılmıştır. Tedavi sonrasında yapılan incelemeler, endometriozisli dokunun düzelip-düzelmediğini ve hastanın iyileşip-iyileşmediğinin belirlenmesine yardımcı olmaktadır. Bununla birlikte, morfolojik tanımın, önemli prognostik değere sahip olan ve tedavi sürecini belirleyen morfogenetik dönüşümlerin etkinliğini açıklığa kavuşturmak için oldukça önemli olduğu ifade edilmektedir.

Anjiyogenez belirteci olarak kan damarı ölçümlerinin endometriozis için ifadesi

Endometrioziste, ektopik endometrium için önemli bir bulgu, anjiyogenezdir ve buna bağlı olarak ortaya çıkan kan damarı yoğunluğudur. Lashke ve ark. (2011), ektopik endometriyal dokunun büyümesi ve hayatta kalan bu dokunun beslenmesi için yeni kan damarları oluşmasına ihtiyaç olduğunu belirtmiştir. Bu kapsamda, çalışmamızın endometriozis olgularındaki toplam kan damarı volüm fraksiyonları ölçümleri, normal

endometriumla karşılaştırılmıştır. Ektopik, ötopik ve kontrol grupları, mikrodamarlanma açısından karşılaştırıldığında, en çok kan damarı volüm fraksiyonu (Vv) (%4,5), ektopik endometriozisli hastalarda olduğu saptanmıştır ve bu artış istatistiksel olarak da anlamlı bulunmuştur ($p \leq 0.05$). Kan damarı ölçümleri, ikişerli gruplar olarak karşılaştırıldığında, kontrol grubu (% 2,8) ve ektopik endometriozisli grup (% 4,5) arasındaki farkın da anlamlı olduğu saptanmıştır ($p \leq 0,05$). Bu bulgudan yola çıkarak ektopik dokuda anjiyogenezn diğer gruplara göre daha fazla olduğu, dokulardaki vaskülarizasyonun niceliksel olarak belirlenmesi sonucuda ileri sürülebilir. Clement (2007), endometriozis tipik patolojisini, ötopik inaktif veya proliferatif endometrial stromaya benzeyen ve küçük arteriyollerden oluşan bir ağın varlığı ile açıklamıştır. Dolayısıyla, eritrosit ve monositlerle dolu olabilecek damarların varlığı, lezyonun endometriotik doğası hakkında yararlı bir ipucu sağlayabilme potansiyeli taşımaktadır. Bazı vakalarda, damarlar göze çarpmayabilir ancak Arafah ve ark. (2021), stromanın az olduğu ya da hiç olmadığı ektopik implantlarda, damarlanmanın değişebileceğini belirtmiştir. Rogers ve Gargett (1998), endotel hücre proliferasyonunun, menstrual siklus sırasında, anjiyogenezn zamanlamasının belirsizliğini koruduğunu ifade etmiştir. Yapılan çalışmalar, menstrual safhanın, anjiyogenezn açısından önemini vurgulamaktadır. Shaw ve ark. (1979), morфометrik çalışmalarında, proliferatif endometriumda kan damarlarının bazal tabakalarda daha konsantre olduğunu gözlemlerken, Rees ve ark. (1990), tüm menstrual siklusa, bazalis ve fonksiyonals tabakalarında, kan damarı ölçümlerinin önemli bir değişiklik göstermediğini saptamıştır. Makhija ve ark. (2008) tarafından yapılan çalışmanın istatistiksel sonuçları ise, ektopik dokuda kontrole kıyasla, önemli ölçüde daha yüksek damarlanma olduğunu göstermektedir. Mevcut çalışmada, ektopik dokuya dair elde edilen istatistiksel sonuçlardaki farklılıklar, Makhija ve ark. (2008)'nin çalışmasını destekler niteliktedir. Çeşitli faktörlerin anjiyogenezn etkileyebileceğini ifade eden Hayrabyan ve ark. (2005), hipoksi, asidoz, lokal inflamasyon ve endotelial hücre hasarının, anjiyogenezn tetiklediğini belirlemiştir. Endometriozis vaskülaritesindeki değişiklikleri morфометrik olarak ifade eden Nisolle ve ark. (1990), ektopik dokunun kan damarı yoğunluğunun, lezyonlarla doğrudan ilişkili olduğunu ileri sürmüştür. Peek ve ark. (1992), endometriumu etkileyen steroid hormon ve hormon reseptörlerinin, kapiller ve lümen alanını etkilediğini söyleyerek, bu kapsamda farklı bir bakış açısı getirmiştir. Patolojik çalışmalar, endometriozisli hastalarda büyüme faktörleri ve sitokinlerin VEGF'yi uyararak, kan damarları endotel hücre proliferasyonunu kontrol ettiğini göstermiştir (Ota ve ark., 1998). Lebovic ve ark.

(2001), ektopik implantlarda makrofajların, endometriotik lezyonları çevreleyen vaskülarizasyonda, önemli bir rol oynadığını saptamıştır. Mevcut çalışmada, ektopik endometriumun kan damarı morfolojisi ifade edilmiş olsa da moleküler ve biyokimyasal süreçler, ektopik endometrioze ait morfolojiyi doğrudan ya da dolaylı yolla etkileyerek, endotel hücre proliferasyonunu ve bunun sonucu olarak anjiyogenez değiştirebilecektir. Rubany ve ark. (2002), kapiller duvarında bulunan VEGF'nin, endotel hücre proliferasyonunun, östrojen hormonu etkisi altında değiştiğini belirlemiştir. Çünkü proliferatif dönem ektopik implantlarının östrojen bakımından zengin olması, VEGF konsantrasyonunu artırıcı bir durumdur. İmplant ektopik endometrium, yeni çevresinde hayatta kalabilmek için, yerleştiği doku üzerinde anjiyogeneze ihtiyaç duymaktadır. Endotel hücrelerindeki artış, yalnızca endotel hücre proliferasyonu ile değil, aynı zamanda apoptozla da gerçekleşebilmektedir. Bu çalışmada, immunfloresan yöntemlerle elde edilen görüntülerde, ektopik implantlarda, Bcl-2'nin kan damarlarında güçlü ekspresyon göstermesi, apoptozu anjiyogeneze kanıtlayarak, lezyonların kan damarı volüm fraksiyonunun diğer iki gruptan yüksek olması ile paralellik göstermiştir. Clement (2007), yeni bir dokunun implante olması ile bulunduğu çevrede büyümesinin, ödeme neden olarak, ödem kaynaklı yeni kan damarları oluşumunu tetikleyebileceğini belirlemiştir. Sunulan çalışmada, JB4 ile elde edilen kesitlerde, ektopik implantların fibroze bağlı kan damarlarında, dilate ve ödem oluşumu da gözlenmiştir. Proliferatif dönemdeki normal endometrium düşünüldüğünde, menstrual siklus boyunca endometriumun büyümesinin ve regresyonunun önemli bir parçası, damarlanmanın oluşum sürecidir. Ayrıca aşırı kanamanın, kan damarlarındaki kalitatif değişikliklerle ilişkili olabileceği sonucuna da varılabilir. Bununla birlikte, endometriozis tanısı ile kliniğe gelen hastaların şikayetleri de dokularda farklılığa neden olabilecektir. Örneğin; uterin kanaması olan hasta grubunda, kan damarı yoğunluğu fazladır. Bu nedenle, altta yatan patolojik mekanizmaların, vasküler morfolojide değişiklik meydana getirebilmesi olasıdır. Bu olasılığın, çeşitli endometrium bozukluklarını ayırt etmeye katkı sağlayabileceği de düşünülmektedir. Literatürdeki eksiklik nedeniyle, morfometrik açıdan her üç grubun stromal vaskülarizasyonunun karşılaştırıldığı bu çalışma, endometrioziste menstrual siklusun proliferatif fazında, ektopik dokunun kan damarlarındaki farklılığın bir belirteci olarak, gelecekte yapılacak çalışmalar için kaynak veri olabilecek nitelik taşımaktadır. Eğer endometrial doku, uterus dışında hayatta kalacaksa, anjiyogenezin gerçekleşmesi gereklidir. Bu nedenle, gelişmiş endotel hücre proliferasyonu ile karakterize edilen geniş damar ağı kavramı,

özellikle ektojik doku için oldukça dikkat çekici niteliktedir. Anjiyogenez etkileyen faktörler, endometrioze bünüme, inflamasyon, ağrı ve lezyonların çevresindeki dokularla etkileşim gibi pek çok yönünü etkiler. Morfometrik analizler, bu faktörlerin nitel ve nicel özelliklerini ölçerek, tedavi stratejilerini belirlemede ve hastalığın evresini saptamada önemli bir rol oynar. Bu nedenle, endometrioze morfometrik analizlerinde anjiyogenez önemli bir parametre olduğu söylenebilir.

Endometrioze Stroma' nın morfometrik analizi

Bu çalışmanın stroma açısından yapılan toplam volüm fraksiyonu ölçümüne göre, ektojik (% 94,3), ötojik (% 86,5) ve kontrol (% 90,5) grupları arasındaki farklılıklar, istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p \leq 0,05$). Ektojik dokunun, stroma açısından kapladığı hacim, % 94,3 ile diğer gruplardan daha fazladır. Endometrioze tipik mikroskobik görünümünde, hem glandüler hem de stromal bileşenlerde değişiklikler meydana gelebileceği ifade edilmektedir. Clement (2007), bazı vakalarda, endometrial stromanın belirsiz olabileceğini düşünmektedir. Stromanın, kompleks bir doku olması nedeniyle, içerisinde barındırdığı birçok hücresel bileşenin apoptoz, hücre proliferasyonu ve anjiyogenez gibi olaylardan etkilenme potansiyeli yüksektir. Camboni ve Marbaix (2021), ektojik endometrial stromanın, ötojik proliferatif endometrial stromaya benzediğini, fakat ötojiktan farklı olarak, sıklıkla eritrositler tarafından doldurulabilen, ince damar ağı içerdiğini ve ektojik implantlarda bezlerin bulunmayacağını, tanımlanabilir tek bileşenin ise stroma olduğunu ifade etmektedir. Dolayısıyla stroma içeriğinin, her bir grup için değişkenlik göstermesi beklenen bir durumdur. Camboni ve Marbaix (2021), gruplar arasında stromada kalınlık farklılıkları olduğunu ve bu durumun dokudaki ödem ve/veya inflamasyon bulgusuyla paralellik gösterebileceğini belirtmektedir. Patolojik olarak ektojik dokuda stroma, bazı durumlarda karakteristik özelliklerini göstermeyebilir. Ektojik doku stromasının, ektojik lezyonlar oluşurken meydana gelen kanama odaklarının oluşturduğu makrofaj infiltrasyonu ile karakterize olması, yukarıdaki ifade için iyi bir örnektir. Bu durumda makrofajlar, zamanla kırmızı kan hücrelerini glikolipid ve hemosiderine dönüştürmektedir (Camboni ve Marbaix, 2021). Camboni ve Marbaix (2021), pigmentli histiyositlerin, ileri derece lezyonlarda, hemosiderin kalıntıları olarak stromada bulunabileceğini ve histiyositlerin zaman zaman köpüklü histiyositler olarak stromada yerleşebileceğini belirtmiştir. Hemosiderinin, makrofajlarda demiri depolayan bir ferritin kompleksi olduğu bilinmektedir. Aynı zamanda, demirin aracılık

ettiği hasarı, inflamasyonu ve oksidatif strese yol açabilecek aşırı miktarda ROS üretimini önlemek için, demirin genellikle makrofajlar içerisinde, ferritin ve hemosiderine aktarıldığı belirlenmiştir. (Gupta ve ark., 2015). Bu durumda ektopik lezyonlarda hemosiderin birikiminin, inflamasyon durumunda oksidatif stresin tetiklenmesi ile de ilgisi muhtemeldir. Elagöz ve ark. (2000) çalışmalarında, bazen endometriotik kisti döşeyen epitel ve stromanın kaybolduğunu ve bunun yerini hemosiderinli makrofajlar ile fibrozisin aldığını tespit etmiştir. Mevcut çalışmanın sonuçları, ektopik endometrium dokusunu içerdiği hemosiderin bakımından diğer iki gruptan morfolojik olarak ayırmıştır. Ektopik lezyonların çoğalmasını ve hastalığın ilerlemesini önlemek için aşırı demir yükü tedavilerinin etkin olabileceği düşünülmektedir. Stroma açısından anlamlı farklılığının bir başka sebebinin, diğer kan hücrelerinin de stroma içerisinde bulunabilme olasılığıdır. Bu kapsamda Tsudo ve ark. (2000), özellikle ektopik endometrial dokuda, çok sayıda lökosit olduğunu belirtirken, Witz ve ark. (1998)' da lenfositlerin, hem ötopik hem de ektopik dokuda normal dokuya oranla, daha fazla olduğunu bildirmiştir. Lökositlerin, ektopik implantları oluştururken apoptoza karşı artan dirençleri, ektopik dokunun değişen stroma morfolojisinin önünde durabilir ve bu durum patolojik açıdan önemlilik teşkil edebilir. Endometriozisin stromal bileşeni, bazen geniş ölçüde, düz kasla da yer değiştirebilir. Bu durum, endometriozisin tutulma yerlerine göre değişiklik gösterebilir. Elagöz ve ark. (2000), ektopik implantların tutulum yaptığı bölgelere bağlı olarak, stromanın değişiklik göstermesinin normal olduğunu ifade etmiştir. Czernobilsky ve ark. (1979) ile Ballouk ve ark. (1994), endometriozis odaklarında ve stromada desidual değişiklikler ve endometrial hiperplaziler gibi sekonder değişikliklerin olduğunu saptamıştır. Ayrıca araştırmacılar, ektopik implantı oluşturan epitelde, sitolojik atipi görüleceğini de ifade ederek, hücrelerin farklılaşmasından bahsetmiştir. Bu durumda endometriozis olgularının tanısı, stromanın değişkenlik göstermesi ile doğrudan ilişkilidir. Çalışmamız, yalnızca stromanın gruplar arasında volüm fraksiyonunu göstererek, her üç grubun proliferatif endometriozis ve normal endometrium dokusu stromasının, aynı morfolojik ve hücresel özelliklere sahip olmadığını göstermiştir. Yukarıda ifade edilen birçok neden, bu farklılığın sebepleri arasında yer alabilir. Dolayısıyla stromanın patolojik ve morfolojik olarak, özellikle ektopik implantlarda, karakterize bir morfolojiye sahip olduğu da unutulmamalıdır.

Endometrioziste glandların morfolojik analizleri neyi ifade eder?

Arafah ve ark. (2021), endometriozise ait ötopik endometriumun stromasının, boyut ve şekil yönünden çeşitlilik gösteren bezlerle karakterize olduğu belirtmiştir. Çalışmanın morfolojik analizleri, ektopik dokunun bez yapıları içermemesi nedeniyle oldukça dikkat çekicidir. Bu durum, ötopik endometriyumdaki bezlerle nicel bir karşılaştırma yapılmasına olanak vermediğinden ötopik (%5,5) ve kontrol (%8,2) grupları karşılaştırılmış bez yapıları ve bez lümeni volüm fraksiyonları arasındaki farklılık, istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p > 0,05$). Çalışmada alınan doku örneklerinde, endometriotik bezlerin belirgin yokluğunun, lezyonun sınırlı örneklemesinden kaynaklanmış olabileceği söz konusudur. Clement ve Young (2000), bazı endometriozis vakalarında, endometriotik bezlerin nadiren görüldüğünü veya hiç olmadığını belirtmiş ve bu durumu stromal endometriozis olarak tanımlamıştır. Fakat daha önce yapılan çalışmalarda, benzer olay düşük dereceli endometrial stromal sarkomu olarak ifade edilmiştir. Clement (2007), ektopik dokunun bez yapılarını içermemesini, dokunun atrofik olmasıyla ilişkilendirmiştir. Atrofik endometrioziste muhtemelen ektopik implantlar, fibrotik stroma tarafından çevrilir. Bu durumda glandüler epitel hücreleri, stromaya kadar gelemeyebilir. Camboni ve Marbaix (2021), örneklem alanının boyutu, vasküler ve lenfatik infiltrasyonların, glandüler yapıları ortadan kaldıracabileceğine vurgu yapmaktadır. Jones ve ark. (2009), ötopik ve kontrol endometriumu üzerine morfolojik ölçümler yaparak, ötopik dokunun salgı fazında progesteronun, bez epiteli üzerinde morfolojik değişim etkisi olduğunu göstermiştir. Garget ve ark. (2012)'na göre bez yapıları, hormonların etkisine cevap verdiğinde, epitelleri incelmektedir. Çalışmamızda, proliferatif dönemde alınan örneklerle herhangi bir hormon verilmemesine rağmen, kontrol endometrium dokusu ile ötopik endometrium dokusunun genel bez yapısının benzer olduğu tespit edilmiştir. Fakat ötopik endometriuma ait bez hücrelerini oluşturan epitel hücrelerinde vakuilizasyon gözlenmiştir. Bu değişimin, endometriozisin doğası, kaçınılmaz bir durum olduğu açıktır. Glikojenin sitoplazmik birikimi bez lümenini azaltır, böylece salgı bezi hücre-salgı bezi değerleri de artmaktadır. Yani bezin hacim fraksiyonunda bir değişiklik beze hücre, glandüler epitel hücrelerinde biriken glikojeni gösterebilir. Fechner ve ark. (1979) yaptıkları çalışmada, ötopik endometriuma ait glandların vakuilize olmuş epitel hücrelerinin, proliferatif fazda, östrojenin varlığı ve östrojen reseptörlerinin hakimiyeti ile belirgin hale geldiğini tespit etmiştir. Aslında bu sonuç

beklenen bir durumdur. Çünkü lipid içerikli epitel hücrelerinde, yüksek östrojen ile sıvı birikimi söz konusudur. Endometriozisli ötopik endometrium, aslında iki morfolojik varyantta kendini göstermiştir: 1. Salgı tipi endometriyal bezlerin oluşumu, 2. Köpük hücreli histiyositlerin varlığı. Endometrial proliferatif faz için karakteristik salgı bezleri, gerileyen ektopik odaklarda ise, salgı bezlerinin daha az izlenmesi, endometriyal bezlerin oluşumu ile endometriozisin morfolojik varyantları için uygundur. Schweppe ve ark. (1989) morfolojik çalışmalarında, endometriotik bezlerin zayıftan yüksek derecede farklılaşmış glandüler yapılara kadar değişen bir model sunan, geniş bir morfolojik gelişim yelpazesine sahip olduğunu göstermiştir. Çalışmamızın ötopik dokuya ait JB4 sonuçlarında, aynı bezdeki hücresel alanlarda bile, bezlerde morfolojik olarak farklı büyüklük ve şekillerde değişiklikler saptanmıştır. Bu değişikliklerin, mitotik aktivite ya da bezlerdeki dallanmadan kaynaklı olabileceği düşünülmektedir. Schweppe ve ark. (1989), implantlarda endometriotik bezlerde morfolojik değişikliklerin, menstrüel siklusun yalnızca proliferatif fazı sırasında gözlenirken, luteal faz sırasında salgı değişikliklerinin olmadığını ifade etmiştir. Proliferatif dönemde aldığımız örneklerin glandüler yapı içeriklerinin değişiklikleri, Schweppe ve ark. (1989)'nın çalışmasını destekler niteliktedir. İstatistiksel olarak gruplar arasındaki farklılık olmamasının temel nedenlerinden biri ise, ötopik endometriozisli dokuya ait düzensiz glandular proliferasyonla gelen stromanın yetersizliğidir. Ötopik doku için önemli bir bulgu ise, glandüler epitelin köpük hücreleri içermesidir. Daha önceki yıllarda yapılan çalışmalarda, köpük hücrelerinin normal endometriyumda görülmedikleri bildirilmiştir (Fechner ve ark., 1979). Fechner ve ark. (1979), köpük hücrelerin, iki farklı kökenli hücreden oluştuğunu belirlemiştir. Bunlar histiyositler ve endometriyal stromal hücrelerdir. Clement (2007), bu hücrelerin eozinofilik granüler ve köpüklü sitoplazmaya sahip hücreler olarak tanımlandığını ve köpük hücreler olarak bilinen histiyositler olma ihtimalinin daha yüksek olduğunu bildirmiştir. Ayrıca köpük hücrelerinin bol miktarda lipid ve glikolipit bağlı olmaları, steroid hormonlardan etkilenebilecekleri anlamına gelmektedir. Bu durumda, proliferatif dönem ötopik endometriozisli dokunun glandüler epiteli, köpük hücreleri içerebilecektir. Silver ve Sherman (1998), köpük hücrelerinin östrojen etkisi ile, makrofajlar gibi davrandığını tespit etmiştir. Köpük hücre değişiminin ötopik dokuda görülmesinin sebepleri arasında, ötopik dokunun implante dokuyu oluşturmak için yaptığı yolculukta, meydana gelen uterin kanamalara maruz kalması yer almaktadır. Çünkü doku hasarı

inflamasyona neden olacağından, makrofajlar ortaya çıkacak ve doğal olarak histiyositler görülecektir. Köpük hücrelerin varlığı, kontrol ve ötopik endometriumun glandüler epitelı açısından, morfometrik sonuçlarımızı etkilememiştir. Ancak, ötopik glandlar ve siklusun safhasına özgü endometriozis için ayırt edici bir özellik niteliği taşımaktadır. Aktif endometriozis odaklarının glandüler yaygınlığı, muhtemelen kadınların geç üreme çağında (premenopozal) olmasından kaynaklanmaktadır. Endometriyumun fonksiyonel aktivitesinin hormonal düzenlemesi, özellikle endometriyal hücrelerin proliferasyonu ve farklılaşması, eşleşmiş olsa da korunmuştur. Bezlere ait epitel hücrelerinin, östrojen kaynaklı yalancı çok katlı epitel oluşumu ya da progesteron etkisi ile vakuol oluşumu ve intraluminal sekresyon yapabilmeleri, steroid hormon reseptörünün fonksiyon ve içeriğindeki farklılığa veya normal bez-stroma ilişkisinin bozulmasına bağlı gerçekleşebildiği ifade edilmektedir. Bezlerin düzensiz morfolojisi, kan akışındaki değişiklikler veya hormonal uyaranlara yanıtındaki anormallikler, morfometrik parametrelerin farklılığına neden olabilmektedir. Glandların ve glandüler epitel hücrelerinin morfolojik yapısının ötopik dokuyu, ektopik dokudan ayırt etmek için kullanılabilecek bir parametre olduğu düşünülmektedir.

Endometrioziste endometrial stromal hücre ve matriksin hacim oranları

Mevcut çalışmanın son bölümünde, volüm fraksiyonu ölçümleri kullanılarak ektopik, ötopik ve kontrol grupları, endometrial stromal hücreler (ESH) ve matriks açısından karşılaştırılmış ve sonuçlar istatistiksel olarak değerlendirilmiştir. Bu kapsamda her üç grup arasında bulunan farklılıklar istatistiksel açıdan anlamlı bulunmuştur ($p \leq 0,05$). ESH açısından en düşük fark ektopik (%1,9) dokuya aittir. Literatürde, morfometrik değişikliklere dair bulguların, endometriozis ile ilişkilendirildiği birçok çalışma mevcuttur. Clement (2007), özellikle ektopik endometriozisli dokuda, inflamasyon ve tekrarlayan doku hasarı sonucunda, fibrozis ve skar doku gelişebildiğini saptamıştır. Osteen ve ark. (2003), endometriozisli endometrium dokusunda, progesterona karşı duyarlılığın azalmasıyla bağlantılı olarak, matriksin yapısını düzenleyen enzimlerden biri olan MMP'lerin, normalden farklı şekilde eksprese edildiği belirlemiştir. Pitsos ve ark. (2009), endometriozisli ektopik dokuda MMP aktivitesinde artış olduğunu ve bu artışın da özellikle menstrüel ve proliferatif faz sırasında gerçekleştiğini gözlemlemiş ve bu durumun, matriksin parçalanmasına ve değişmesine neden olabileceğini ifade etmiştir. Ektopik dokuda,

MMP konsantrasyonlarının artışına paralel olarak meydana gelen histolojik değişikliklerin matriks morфомetrisini etkilemesi beklenen bir sonuçtur. Sharpe ve ark. (1998) ise, endometriotik lezyonlarda matriks metalloproteinazlarının aşırı eksprese edildiğini saptamıştır. Mevcut çalışmada da endometriozisin patofizyolojisi ile morфомetrik analizler, neden-sonuç ilişkisi dahilinde analiz edilmiş ve yorumlanmıştır. Matrikste, menstrual siklusun aşamalarından itibaren, endometriyal yıkım da dahil olmak üzere, normal doku döngüsüne aracılık eden MMP'lerin, ektopik implantların invazyonu sırasında rol oynadığı ifade edilmektedir. Hücrelerin yeni bir doku oluşturabilmesi, invazyon molekülleri ve matriks iletişimini gerektirmektedir. Osteen ve ark. (1996), steroidlere yanıt olarak, endometrial MMP konsantrasyonundaki değişimin, ektopik endometriyumun invaziv potansiyeli ile ilişkili olduğunu ifade etmiştir. MMP'lerin bu özelliğinin, ektopik dokunun implante olması sırasında, ötopik ve kontrol dokusundan farklı olması için geçerli bir neden olabileceği düşünülmektedir. Siklusun proliferatif dönemde, ötopik ve kontrol endometriumunun zengin glandüler yapıları içermesi de matrikse düşen volüm fraksiyonu oranını azaltmaktadır. Okada ve ark., (2001), normal endometriumda proliferatif fazda ödematöz değişikliklerin olduğunu göstermiştir. Bezlerin artmasının östrojen kaynaklı bir ödemden meydana geldiğini ifade etmiştir. Doğal olarak normal endometrium morfolojisinin ödemden kaynaklı değişebileceği fikri ortaya çıkmıştır. Endometrial matriks, biyokimyasal belirteçlerle ödeme sebep olmaktadır. Endometriozisli dokuların ödemi ise endometriozis kaynaklı gelişen lenfosit infiltrasyonu, inflamasyon gibi çeşitli nedenlerle ilişkilendirilmiştir (Okada ve ark., 2001). Dolayısıyla mevcut çalışmada, gruplar arasında morfolojik farklılık gözlenmesi beklenen bir durumdur. Ötopik dokuda, ötopik endometrial stromal hücre proliferasyonunun, matriks dağılımını etkileyebilme potansiyeli mevcuttur. Sonuçta, endometriozis matriks modellenmesi ve endometrial stromal hücre popülasyonunun, endometriozis gelişimi ile güçlü bir ilişkisi olduğu düşünülmektedir.

Kontrol ve ötopik gruba ait endometrial stromal hücrelerin (ESH) fenotiplerinin benzer olduğunu söyleyen Delbandi ve ark. (2013)'na göre, ektopik dokunun ESH'leri, koloni meydana getirerek, fibröz bir yapı oluşturmaktadır. Çalışmamızın sonuçlarına göre, ektopik dokunun ESH'leri, çeşitli büyüklüklerde olmasının yanında, tipik endometrial stromal hücre ve yer yer atipik hücre dağılımıyla da ötopik ve kontrol gruplarından farklılık göstermektedir. Ayrıca ESH'lerin hücre çekirdeklerindeki şekil

ve boyut farklılıkları, özellikle hiperkromatik nukleuslu hücrelerde izlenmektedir. Fakat yapılan çalışmada morfolometrik analizler, hücresel fenotipi ifade etmekten çok, volüm fraksiyonu analizi ile gruplar arasındaki endometrial stromal hücre dağılımını ifade etmek olduğundan, ektopik dokunun ESH'leri çeşitli nedenlerle, ötopik ve kontrol dokudan farklılık gösterebilir. Veeraswamy ve ark. (2010)'nın çalışmasında, ESH'lerin dağılımının hemoraji, ödem ve skar doku oluşumu kaynaklı değişebileceği saptanmıştır. Menstrual siklus sırasında ESH'lerin yüksek proliferasyon ve rejenerasyon yeteneğine rağmen, ötopik ve normal ESH'lerin ektopik implantları oluşturduktan sonra çoğalma ve istila etme yeteneklerinin azaldığı düşünüldüğünde, stromal hücreler açısından her üç grubun da istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar göstermesi beklenen bir durumdur. Endometriozisli dokunun genel morfolojisinin tanımlandığı mevcut çalışmada, endometriyal stromal hücrelerin dışında, lenfositler ve histiyositler gibi inflamatuvar hücrelerin de endometriozisli doku morfolojisini tanımlamada kullanılması mümkündür. Hemosiderin yüklü makrofajlar, lenfositler ve yer yer mast hücrelerinin, ektopik dokudaki yoğunluğu düşünüldüğünde, hücre ve matriks açısından, ötopik ve kontrole göre farklılık beklenmesi muhtemel bir durumdur. Ötopik dokunun öESH'leri mitotik aktivite geçirebilir fakat, bu aktivitenin değişkenlik gösterebilmesi de mümkündür. Ismail (2006) çalışmasında, epitelyal proliferasyon kaynaklı ötopik dokuda, hücre kümeleşmelerinin görülmesine vurgu yapmıştır. Bu durumun, apoptozun hücre proliferasyonu ile ilişkili olabilmesi de muhtemeldir. Bu çalışmanın immunfloresan bulguları, apoptozun ötopik dokunun endometrial stromal hücrelerinde güçlü olduğunu göstermiştir. öESH'ler kESH'ler ve eSH'lerle karşılaştırıldığında artmış proliferasyon, yüksek göç ve istila kapasitesi göze çarpmaktadır. Fakat bu tanımlayıcı farklar, morfolometrik olarak, kontrol grubu ile ötopik grup arasında saptanmamış olsa da kontrol grubu ile ötopik grup ektopik dokudan çok farklıdır. Dolayısıyla, hem morfolojik hem de morfolometrik olarak, ötopik dokunun endometrial stromal hücre açısından zengin olduğu kanıtlanabilir bir durumdur. Ektopik ve ötopik endometriumun, normal endometriumun mikroçevresinden farklı bir ortamda büyümesinin de bu hücrelerin morfolojisini ve dağılımını etkileyebileceği düşünülmektedir. Bununla birlikte, ektopik endometrial hücreler inflamasyon sürecinden de etkilenmektedir. Ektopik endometrial stromal hücrelerin bulunduğu bölgelerde meydana gelen vasküler değişikliklerin de stromal hücrelerin beslenme ve oksijen alımını etkileyen temel faktörler arasında yer aldığı düşünülmektedir.

Mevcut çalışmada, proliferatif endometrial stroma, kan damarları, glandlar, matriks ve endometrial stromal hücrelerin endometriozis sürecinde önemli değişikliklere uğradığı saptanmıştır. Bahsedilen bu değişiklikler, proliferatif döneme ait normal endometrium ve endometriozis dokusunun morfolojik karakterizasyonunda istatistiksel açıdan anlamlı farklılıklara sebep olmuştur. Ayrıca çalışmada, endometriozis morfolojisi ile menstrual siklus safhaları arasındaki olası özgünlük sorgulanmıştır.

Sonuç olarak çalışmamızın bu temel özellikleri, literatürdeki proliferatif dönem endometriozisi üzerine yapılan sınırlı sayıdaki morfometrik çalışmalar arasında, hem nicelik hem de nitelik açısından, çalışmayı değerli kılmaktadır. Bununla birlikte çalışmanın sonuçlarının, menstrual safhaya özgü endometriozisi önleme ve terapötik tedavi seçeneklerine katkı sağlaması yanında, endometriozisin altında yatan epigenetik mekanizmaların, hem ötopik hem de ektopik endometriyumu karakterize eden morfolojik ve histolojik anormalliklerin saptanmasına ve ilgili süreçleri kontrol etmeye katkı sağlayabileceği düşünülmektedir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

6.1. Sonuçlar

Bu çalışmada endometriozisli ve normal endometriuma sahip kadınlardan alınan endometrial dokuda NF- κ B/p65 ve Bcl-2proteinlerinin ekspresyonları immunfloresan ve JB-4 teknikleri ile çalışılmıştır. Ayrıca morfometrik volüm fraksiyonu ölçümü yapılarak, endometriozisli ve normal endometrium dokusunun morfolojik karakterizasyonu gösterilmiştir. Aşağıdaki sonuçlar elde edilmiştir:

- ❖ Endometriozisin patogenezi çeşitli teorilerle incelenmiştir; ancak hastalığın gelişimini açıklamak için tek bir teorinin yetersiz olduğu anlaşılmaktadır. Retrograd menstrüasyon teorisine göre dökülen endometriyal dokunun, çeşitli biyolojik yollardaki değişikliklerle ilişkilendirilerek endometriozisin poligenetik bir bozukluğu temsil ettiğini açıklamak için metastatik ve metaplastik teorilerin bir kombinasyonu tercih edilmektedir. Bu teoriler, dökülen endometriyal dokunun endometriozis gelişiminde rol oynayan çoklu biyolojik mekanizmaları içerdiği görülmüştür.
- ❖ Endometriozisli kadınların ötopik endometriumunda hücre ölümünün apoptoz yoluyla gerçekleştiği, ektopik endometriozisteki azalmış apoptozun ötopik endometrium stromal hücrelerinin ektopik sağkalımını ve implantasyonunu kolaylaştırmasının, apoptoz seviyeleri arasında ters bir korelasyon olduğu, ayrıca kadınların periton mikroçevresini etkileyebilecek apoptozla gerçekleşen diğer faktörlerin varlığı da dikkat çekicidir.
- ❖ Ektopik ve ötopik endometriozisli dokuda, glandüler yapı özellikleri ötopik dokuda daha belirginken, ektopik dokuda bez yapıları yerini fibröz bir skar dokuya bırakarak implante olduğu alana özgü kan damarı özellikleri gözlemlenmiştir. Bu sonuç endometriozis tanısı için önemli bir parametre olmuştur.
- ❖ Endometriozisli hastalardaki endometriyal stromal hücrelerin (ESH'lerin) ötopik ve ektopik gruplarda farklı invazif, yapışkan ve proliferatif davranışlar sergilemesi, retrograd menstrüasyonun tek başına endometriozis patogeneziyi açıklamadığını göstermiştir.
- ❖ Immunfloresan ve morfometri sonuçlarımız, ektopik dokunun zengin vasküler yapıya sahip olduğunu anjiyogenezin ektopik doku için önemli olduğunu ortaya koymuştur.

- ❖ Endometrial anjiyogenezle ilişkili menstrüel bozukluklar arasında pozitif bir korelasyon olduğu sonucu da ortaya çıkmıştır.
- ❖ Bu çalışma, sadece eESH'lerin apoptoza karşı daha az duyarlılığını değil, aynı zamanda bu hücrelerin artan anjiyogenezinin, ektopik konumlarda devam eden büyümelerine yol açabileceğini ve endometriozisin patofizyolojisi için temel olabileceğini göstermektedir. Bu faktörlerin endometriozis gelişimindeki rollerini daha iyi anlamak için kontrol gruplarıyla karşılaştırıldığında öESH'lere olan ihtiyacı vurgulamıştır.
- ❖ NF-κB p65 aracılı transaktivasyonun, endometriozis sürecinde inflamatuvar bir sinyal yolu olarak işlev gördüğü, NF-κB p65'in hücresel ekspresyonunun endometrial stromal hücrelerinde ve glandüler epitel hücrelerinde yüksek DNA bağlanma kapasitesine sahip olduğu ve endometriozisli kadınların ötopik endometriyumunda bu ekspresyonun arttığı tespit edilmiştir. Bu bulgu, NF-κB sinyallemesinin endometriozisin patogenezinde ve/veya patofizyolojisinde kritik bir rol oynayabileceğini göstermektedir.
- ❖ Endometriozisli ektopik dokuda, stromanın mm² başına düşen damar sayısı, ortalama yüzey alanı ve damar/stroma yüzey alanı oranının diğer gruplardan anlamlı bir şekilde farklı olduğu belirlenmiştir.
- ❖ Endometriyotik lezyonların histomorfolojik ölçümleri arasında, normal endometriuma kıyasla glandüler ve epitel hücre morfolojisinde önemli bir değişkenlik olduğu histolojik bulgularla gösterilmiştir.
- ❖ Anjiyogenez, endometriozisin oluşumunda ve patogenezinde kritik bir adımı temsil ettiği için, bu süreç, terapötik müdahale için potansiyel yeni bir hedef olarak görülmüştür.
- ❖ Morfometrik sınıflandırma kurallarını karşılayan endometriyal lezyonların, menstrual safhaya özgü endometriyal lezyonları belirlemede başarılı olduğu sonuçlarına varılmıştır.

6.2. Öneriler

- ❖ NF-κB sinyalinin anormal ekspresyonunun endometriozis patogenezinin çeşitli yönlerinde rol oynadığı bilinmektedir. Gelecekteki çalışmalar, NF-κB sinyalini inhibe eden daha fazla ilaç keşfetmeli ve geliştirmeli, bunların klinik deneylerdeki etkinliğini daha fazla test etmelidir.
- ❖ Endometriozis hastalarında klinik semptomları hafifletmek için

endometriyumda vaskülarizasyon sürecini aydınlatmak için daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.

- ❖ Yeni anti-anjiyojenik tedavilerin mevcut çağında, endometriyal anjiyogenez ve vasküler morfolojideki değişiklikler prognostik öneme sahiptir. Bu nedenle, tedavi modalitelerinin ve hasta bakımının geliştirilmesine yardımcı olabilir.
- ❖ ÖESH'lerin endometriozişi olmayan kadınların endometriyumuyla karşılaştırıldığında daha invazif ve peritoneal implantasyona daha yatkın olabileceği, ancak endometriozisli kadınların endometrial dokularındaki invazyon belirteçlerinin ekspresyonunun ve dolayısıyla bu dokuların invaziv özelliklerinin, endometriozis farklı formlarında önemli ölçüde değişebileceği de akılda tutulmalıdır. Ve altta yatan birçok neden hala bilinmemektedir.
- ❖ Hastalığın tedavisinde anti-anjiogenik terapi uygulanması, hayvan modellerinde daha yaygın bir şekilde kullanılmalı ve insanlarda da medikal tedaviye yardımcı olabilecek şekilde entegre edilmelidir. Anjiyogenez faktörünü inhibe edici faktörler üzerinde yapılan çalışmalar, hastalığın tedavisinde umut verici bir yaklaşım olabilir.
- ❖ Anti-anjiyogenik tedaviler, yeni bakış açıları ve mekanizmalar sunmakta olup, endometriozis hastalarına daha etkili adjuvan tedaviler sağlama potansiyeline sahiptir.
- ❖ Apoptoz ve NF-κB sinyal yolunun mekanizması, endometriozis başlanması ve gelişmesinde potansiyel bir risk faktörü olarak görülmektedir. Bu bağlamda, jinekolojik bozukluğun etkili bir şekilde tedavi edilmesi için kritik olan uygun anti-inflamatuar, antioksidan, anti-anjiyogenik ve apoptoz düzenleyici tedavilerin geliştirilmesi büyük önem taşımaktadır.
- ❖ Genetik çalışmalar endometriozis genetik bir yapıya sahip olduğunu doğrulamıştır ancak aynı zamanda bu yatkınlık karmaşıktır. Aynı zamanda, endometriozis altında yatan epigenetik mekanizmalar, endometriozisten etkilenen hastalarda hem ötopik hem de ektopik endometriyumu karakterize eden immünolojik, immünohistokimyasal, histolojik ve biyolojik anormalliklerin edinilmesi ve sürdürülmesi süreçlerini kontrol edilmesi gerekmektedir. Bununla birlikte, bu tür epigenetik değişiklikleri tetikleyen şeyin ne olduğu açık değildir ve hem genetik hem de epigenetik olarak kalıtsal olabilir. Endometriozis heterojenliği, değişen hormonal fizyoloji de dahil olmak üzere endometriyumun fizyolojik süreçlerinde ilerleyici değişiklikler elde edilmesi ve

endometriozis ile inflamatuvar yanıt arasındaki etkileşimin, ona boyun eğdirilerek modüle edilmesi yoluyla endometriozis gelişimine yol açabilir. Ancak endometriozisin heterojenliği ve geliştiği farklı koşullar tek bir etyopatogenetik açıklama modelinin yeterli olmadığını düşündürmektedir.



KAYNAKÇA

- Abdik Z. (2021). Obez Ratlarda Leptin ve Melatoninin Uterus Üzerindeki Histolojik Etkileri (Yüksek Lisans Tezi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü).
- Acosta A. A., Veasy C Buttram J. R., Besch, P. K., Malinak, L. R., Franklin, R. R., ve Vanderheyden, J. D. (1973). A proposed classification of Pelvic Endometriosis. *Obstetrics and Gynecology*, 42(1), 19-25.
- Adams J. M., Cory S. (1998). The Bcl-2protein family: Arbiters of cell survival. *Science*, 281: 1322-1326.
- Agarwal S. K., Chapron C., Giudice L. C., Laufer, M. R., Leyland, N., Missmer, S. A., ve Taylor, H. S. (2019). Clinical diagnosis of Endometriosis: A call to action. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 220(4), 354-E1.
- Aggarwal B. B. (2004). Nuclear Factor-Kb: The enemy within. *Cancer Cell*, 6(3), 203-208.
- Aghajanova J. A., Horcajadas J. L., Weeks F. J., Esteban C. N., Nezhat, Conti M., ve L. P. (2010). Giudice: The protein kinase A pathway-regulated transcriptome of endometrial stromal fibroblasts reveals compromised differentiation and persistent proliferative potential in endometriosis. *Endocrinology* 151, 1341–1355.
- Agic A., Djalali S., Diedrich K., ve Hornung D. (2009). Apoptosis in endometriosis. *Gynecologic and Obstetric Investigation*, 68(4), 217-223.
- Angioni S., D’Alterio M. N., Coiana A., Anni F., Gessa S. ve Deiana, D. (2020). Genetic characterization of endometriosis patients: review of the literature and a prospective cohort study on a Mediterranean population. *International journal of molecular sciences*, 21(5), 1765.
- Aplin A. E., Howe A., Alahari S. K. ve Juliano R. L. (1998). Signal transduction and signal modulation by cell adhesion receptors: The role of integrins, cadherins, immunoglobulin-celladhesion molecules, and selectins. *Pharmacol Rev*, 50, 197-263.
- Arafah M., Rashid S. ve Akhtar M. (2021). Endometriosis: A comprehensive review. *Advances İn Anatomic Pathology*, 28(1), 30-43.
- Arslan E. B., Kocaöz S., ve Kızıllırmak A. (2021). Kadınlarda Endometriozisin Anksiyete ve Yaşam Kalitesi Üzerine Etkisi (Yüksek Lisans Tezi) Nevşehir Hacı Bektaş Veli Üniversitesi.
- Aşçı Ö., Kocaöz S. (2019). Üreme organları tümörleri. *Hemşirelik ve Ebelik İçin Kadın Sağlığı ve Hastalıkları*, (Ed, Arslan Özkan, H.), Ankara: Akademisyen Kitapevi, 673-720.

- Ashish, A., Kusum, K., Rai, S., & Singh, R. (2020). Endometriosis a brief review: evaluation of crucial risk factors and current treatment regimes. *Int J Adv Med*, 7(12), 1896.
- Atılım Gülçiçek. (2023). Derin İnfiltratif Endometriozisler Hastalarında Ca19-9 Düzeyi İle Barsak Tutulumu Arasındaki İlişki. (Tıpta Uzmanlık Tezi) Sağlık Bilimleri Üniversitesi, İstanbul Zeynep Kamil Kadın ve Çocuk Hastalıkları Sağlık Uygulama ve Araştırma Merkezi Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniği
- Azuma Y, Taniguchi F, Nakamura K, Nagira K, Khine YM, ve ark. (2017). Lipopolysaccharide promotes the development of murine endometriosis-like lesions via the nuclear Factor- κ B pathway. *Am. J. Reprod. Immunol*, 77, E12631.
- Baak J. P. A., Oort J., Bouw G. M., ve Stolte L. A. M. (1977). Quantitative morphology: Methods and materials i.e stereology and morphometry. *European Journal of Obstetrics and Gynecology and Reproductive Biology*, 7(1), 43-52.
- Bacci M., Capobianco A., Monno A., Cottone L., Di Puppo F., Camisa B. ve ark. (2009). Macrophages are alternatively activated in patients with endometriosis and required for growth and vascularization of lesions in a mouse model of disease. *Am. J. Pathol.*, 175, 547–556.
- Badawy S. Z., Cuenca V., Stitzel A., Tice D. (1987). Immune rosettes of T and B Lymphocytes in infertile women with endometriosis. *J. Reprod. Med.*, 32: 194–197.
- Baldwin A. S. (2012). Regulation of cell death and autophagy by IKK and NF- κ B: critical mechanisms in immune function and cancer. *Immunological Reviews*, 246(1), 327-345.
- Ballouk F., Ross J. S., Wolf B. C. (1994). Ovarian endometriotic cysts: An analysis of cytologic atypia and DNA ploidy patterns. *Am. J. Clin. Pathol.*, 102(4):1115-19.
- Banu S. K., Lee J., Speights Jr V. O., Starzinski-Powitz, A., ve Arosh, J. A. (2009). Selective inhibition of prostaglandin e2 receptors ep2 and ep4 induces apoptosis of human endometriotic cells through suppression of erk1/2, akt, nfkb, and β -catenin pathways and activation of intrinsic apoptotic mechanisms. *Molecular Endocrinology*, 23(8), 1291-1305.
- Baştu E., Mutlu M. F., Serdaroğlu H. (2012). Endometriozis tedavisinde güncel yaklaşım. *İst. Tıp Fak. Derg.*, 75 (4).
- Basu A., Haldar S. (1998). The relationship between Bcl 2, Bax and P53; Consequences for cell cycle progression and cell death. *Mol. Hum. Reprod.*, 4, 1099-109.
- Baydar B. (2018). İnsan Bcl-2 Genine Ait Promotör Bölgesinin Moleküler Analizi (Yüksek Lisans Tezi) Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.

- Béiard A., Noël A. ve Foidart J. M. (2004). Reduction of apoptosis and proliferation in endometriosis. *Fertility and Sterility*, 82(1), 80-85.
- Bieber E. J., Sanfilippo J. S., Horowitz I. R. (2006). *Clinical Gynecology* 1th Ed. Philadelphia: Churchill Livingstone, Elsevier Ne., 159 – 179.
- Bingöl D., Nuriye B. D. (2021). Endometriosis ağrı yönetiminde güncel tedavi yaklaşımları ve hemşirenin rolü. *Journal Of Health Sciences/Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, 30 (2).
- Borghese B., Zondervan K. T., Abrao M. S., Chapron C., Vaiman D. (2017). Recent insights on the genetics and epigenetics of endometriosis. *Clin. Genet.*, 91, 254-264.
- Bourdel N., Matsusakı S., Roman H., Lenglet Y., Botchorischvili R., Mage G., Canis, M. (2006). Endometriosis in teenagers. *Gynecol. Obstet. Fertil*, 34, 727–734.
- Bourlev V., Larsson A. ve Olovsson M. (2006). Elevated levels of fibroblast growth Factor-2 in serum from women with endometriosis. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 194(3), 755-759.
- Bozdogan, Ö., Atasoy, P., Ereku, S., Bozdogan, N., Bayram, M. (2002). Apoptosis-related proteins and steroid hormone receptors in normal, hyperplastic, and neoplastic endometrium. *International journal of gynecological pathology*, 21(4), 375-382.
- Braun D. P., Ding J., Dmowski W. P. (2002). Peritoneal fluid mediated enhancement of eutopic and ectopic endometrial cell proliferation is dependent on tumor necrosis factor alpha in women with endometriosis. *Fertil Steril*, 78, 727-732.
- Braun D. P., Gebel H., Rana N. ve Dmowski W. P. (1998). Cytolysis of eutopic and ectopic endometrial cells by peripheral blood monocytes and peritoneal macrophages in women with endometriosis. *Fertility and Sterility*, 69(6), 1103-1108.
- Braun D.P., Ding J., Shaheen F., Willey J.C., Rana N. ve Dmowski W.P. (2007). Quantitative expression of apoptosis regulating genes in endometrium from women with and without endometriosis. *Fertil Steril* 87, 263-268.
- Braun D.P., Gebel H., Rana N. ve Dmowski W.P. (1998). Cytolysis of eutopic and ectopic endometrial cells by peritoneal blood monocytes and peritoneal macrophages in women with endometriosis. *Fertil Steril* 6, 1103-1108.
- Bulun S. E. (2009). Endometriosis. *N. Engl. J. Med.*, 360, 268–79.
- Bulun S. E., Yilmaz B. D., Sison C., Miyazaki K., Bernardi L., Liu S. ve ark. (2019). Endometriosis. *Endocrine Reviews*, 40(4), 1048-79.
- Burlacu A. (2003). Regulation of apoptosis by Bcl-2 family proteins. *Journal Of Cellular and Molecular Medicine*, 7(3), 249-257.
- Büyükgebiz O., Caferler J. S. (2001). Apoptosis. *Sendrom*, 1, 102-106.

- Cai C., Ren Y., Cao J., Fang S., Zhang L., ve Yang L. (2023). Expression of ikappab family in the ovine liver during early pregnancy. *Animals*, 13(6), 1057.
- Calzado M. A., Bacher S. ve Schmitz M. L. (2007). NF-Kb inhibitors for the treatment of inflammatory diseases and cancer. *Current Medicinal Chemistry*, 14(3), 367-376.
- Camboni A. ve Marbaix E. (2021). Ectopic endometrium: The pathologist's perspective. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(20), 10974.
- Canis M., Donnez J. G., Guzick D. S. ve ark. (1997). Revised american society for american society for reproductive medicine classifications of endometriosis. *Fertil Steril*, 67, 822- 9.
- Cao W. G., Morin M., Metz C., Maheux R. ve Akoum A. (2005). Stimulation of macrophage migration inhibitory factor expression in endometrial stromal cells by interleukin 1, beta involving the nuclear transcription factor Nfkb. *Biology of Reproduction*, 73(3), 565-570.
- Cao W. G., Morin M., Sengers V., Metz C., Roger T., Maheux R. ve Akoum A. (2006). Tumour necrosis factor- α up-regulates macrophage migration inhibitory factor expression in endometrial stromal cells via the nuclear transcription factor NF-Kb. *Human Reproduction*, 21(2), 421-428.
- Capobianco Annalisa ve Patrizia Rovere-Querini (2013). Endometriosis, a disease of the macrophage. *Frontiers in Immunology*, 4, 9.
- Carneiro B. A. ve El-Deiry W. S. (2020). Targeting apoptosis in cancer therapy. *Nature Reviews Clinical Oncology*, 17(7), 395-417.
- Çelik Ö., Erşahin A., Acet M., Çelik N., Baykuş Y., Deniz R., ... ve Özerol İ. (2016). Disulfiram, as a candidate NF- κ B and proteasome inhibitor, prevents endometriotic implant growing in A rat model of endometriosis. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, 20(20), 4380-4389.
- Chang K. K., Liu L. B., Li H., Mei J., Shao J., Xie F., ve ark. (2014). TSLP induced by estrogen stimulates secretion of MCP-1 and IL-8 and growth of human endometrial stromal cells through JNK and NF-Kb signal pathways. *Int. J. Clin. Exp. Pathol.*, 7, 1889-99.
- Chantalat E., Valera M. C., Vaysse C., Noirrit E., Rusidze M., Weyl A., ... ve Lenfant F. (2020). Estrogen receptors and endometriosis. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(8), 2815.
- Chapron C., Marcellin, L., Borghese B. ve Santulli P. (2019). Rethinking mechanisms, diagnosis and management of endometriosis. *Nature Reviews Endocrinology*, 15(11), 666-682.
- Charkazova N. (2020). Endometriozisin Oosit Kalitesine Etkisinde MiRNA'ların Yeri. (Tıpta Uzmanlık Tezi) Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları Ana Bilim Dalı.

- Chen, F., ve Castranova, V. (2007). Nuclear factor- κ B, an unappreciated tumor suppressor. *Cancer research*, 67(23), 11093-11098.
- Chen-Levy Z., Nourse J., Cleary M. L. (1989). The Bcl-2 candidate proto-oncogene product is a 24-kilodalton integral-membrane protein highly expressed in lymphoid cell lines and lymphomas carrying the T(14;18) translocation. *Mol. Cell. Biol.*, 9(2), 701-10.
- Chinegwundoh F. I., Ryan P., Luesley T., Chan S. Y. (1995). Renal and diaphragmatic endometriosis de novo associated with hormone replacement therapy. *J. Urol.* 153(2), 380-1.
- Chittenden T., Harrington E. A., O'Connor R., Flemington C., Lutz R. J., Evan G.I. ve Guild B. C. (1995). Induction of apoptosis by the Bcl-2 homologue. *Nature*, 374: 731-733.
- Chmaj-Wierzchowska K., Kampioni M., Wilczak M., Sajdak S., Opala T. (2015). Novel markers in the diagnostics of endometriomas: urocortin, ghrelin, and leptin or leukocytes, fibrinogen, and ca125. *Taiwan J. Obstet Gynecol.*, 54(2), 126–30.
- Choi J., Jo M., Lee E., Lee D. Y., Choi D. (2021). Nuclear factor-kappa b signaling in endometriotic stromal cells is not inhibited by progesterone owing to an aberrant endoplasmic reticulum stress response: a possible role for an altered inflammatory process in endometriosis. *Mol. Hum. Reprod.*, 27.
- Christian F., Smith E. L. ve Carmody R. J. (2016). The regulation of NF- κ B subunits by phosphorylation. *Cells*, 5(1), 12.
- Chung C. (2020). Driving toward precision medicine for b cell lymphomas: targeting the molecular pathogenesis at the gene level. *Journal of Oncology Pharmacy Practice*, 26(4), 943-966.
- Cıldır G., Low K. C., Tergaonkar V. (2016). Noncanonical NF-Kb signaling in health and disease. *Trends in Molecular Medicine*, 22(5), 414-429.
- Clement P. B. (2007). The pathology of endometriosis: a survey of the many faces of a common disease emphasizing diagnostic pitfalls and unusual and newly appreciated aspects. *Advances in Anatomic Pathology*, 14(4), 241-260.
- Clement P. B., Young R. H. (2000). Two previously unemphasized features of endometriosis: micronodular stromal endometriosis and endometriosis with stromal elastosis. *Int. J. Surg. Pathol.*, 8, 223–227.
- Çolgar U. (2006). *Reprodüktif Endokrinoloji ve İnfertilite*. İstanbul Medikal Yayıncılık.
- Colgrave, E. M., Bittinger, S., Healey, M., Dior, U. P., Rogers, P. A. W., Keast, J. R., ... & Holdsworth-Carson, S. J. (2020). Superficial peritoneal endometriotic lesions are histologically diverse and rarely demonstrate menstrual cycle synchronicity with matched eutopic endometrium. *Human Reproduction*, 35(12), 2701-2714.

- Collison A., Foster P. S., Mattes J. (2009). Emerging role of tumour necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) as a key regulator of inflammatory responses. *Clin. Exp. Pharmacol Physiol*, 36, 1049-53.
- Cotran R. S., Kumar V., Collins T. (Edt.) (1999). Cellular Pathology: Cell Injury and Cell Death. In: Robbins Pathologic Basis Of Disease, 6. Edition, WB Saunders Company, 18-25.
- Cotter T. G., Lennon S. V., Glynn J. G., Martin S. J. (1990). Cell death via apoptosis and its relationship to growth, development and differentiation of both tumour and normal cells. *Anticancer Res.*, 10, 1153-9.
- Cousins F. L. ve Gargett C. E. (2018). Endometrial stem/progenitor cells and their role in the pathogenesis of endometriosis. *Best Practice and Research Clinical Obstetrics and Gynaecology*, 50, 27-38.
- Czernobilsky B, Morris W. J. (1979). A histologic study of ovarian endometriosis with emphasis on hyperplastic atypical changes. *Obstetrics and Gynecology*, 53, 318-25.
- Dai L., Gu L., Di W. (2012). Mir-199a attenuates endometrial stromal cell invasiveness through suppression of the Ikk β /NF-Kb pathway and reduced interleukin-8 expression. *Mol Hum Reprod*, 18, 136-45.
- Dallenbach-Hellweg G. ve Sievers S. (1975). Die histologische reaktion des endometrium auf lokal applizierte gestagene. *Virchows Archiv*, 368(4), 289-298.
- De Luca. F. (2020). Regulatory role of NF-Kb in growth plate chondrogenesis and its functional interaction with growth hormone. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 514, 110916.
- Deane J. A., Gualano R. C. ve Gargett C.E. (2013). Regenerating endometrium from stem/progenitor cells: is it abnormal in endometriosis, asherman's syndrome and infertility? *Curr Opin Obstet Gynecol*, 25(3), 193-200.
- Defrère S., Lousse J. C., González-Ramos, R., Colette, S., Donnez, J., Van L. A. (2008). Potential involvement of iron in the pathogenesis of peritoneal endometriosis. *Mol. Hum. Reprod*, 14, 377–385.
- Defrère S., Van L. A., Moulin P., Befahy P., Gonzalez D., Martinez-Madrid, B., ... ve Donnez J. (2005). Human endometrial epithelial cells (EEC) constitutively express more intercellular adhesion molecule (ICAM)-1 than endometrial stromal cells (ESC) in culture. *American Journal of Reproductive Immunology*, 54(1), 5-12.
- Degli-Esposti M. (1999). To die or not to die—The quest of the trail receptors. *Journal of Leukocyte Biology*, 65(5), 535-542.

- Dejardin E. (2006). The alternative NF-Kb pathway from biochemistry to biology: pitfalls and promises for future drug development. *Biochemical Pharmacology*, 72(9), 1161–1179.
- Delbandi A. A., Mahmoudi M., Shervin A., Akbari E., Jeddi-Tehrani M., Sankian M., ... ve Zarnani A. H. (2013). Eutopic and ectopic stromal cells from patients with endometriosis exhibit differential invasive, adhesive, and proliferative behavior. *Fertility and Sterility*, 100(3), 761-769.
- Delbandi A. A., Mahmoudi M., Shervin A., Heidari S., Kolahdouz-Mohammadi R. ve Zarnani A. H. (2020). Evaluation of apoptosis and angiogenesis in ectopic and eutopic stromal cells of patients with endometriosis compared to non-endometriotic controls. *BMC Women's Health*, 20, 1-9.
- Didziokaite G., Biliute G., Gudaite J., ve Kvedariene V. (2023). Oxidative stress as a potential underlying cause of minimal and mild endometriosis-related infertility. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(4), 3809.
- Diebold J., Barretton G., Felchner M., Meier W., Dopfer K., Schmidt M. ve Lohrs U. (1996). Bcl-2expression, P53 accumulation and apoptosis in ovarian carcinoma cell lines. *Am J Clin Pathol*, 105, 341-349.
- Dmowski W. P., Ding J., Shen J., Rana N., Fernandez B. B. ve Braun D. P. (2001). Apoptosis in endometrial glandular and stromal cells in women with and without endometriosis. *Hum Reprod*, 16, 802-1808.
- Dmowski W. P., Steele R. N., Baker G. F. (1981). Deficient cellular immunity in endometriosis. *Am J Obstet Gynecol*, 141, 377-383.
- Döne, G. (2021). Cu (II) Flavonoid Kompleksinin Akciğer Kanseri Hücreleri Üzerindeki Sitotoksik Ve Apoptotik Etkilerinin Araştırılması. (Doktora Tezi), Bursa Uludağ Üniversitesi.
- Donnez J., Smoes P., Gillerot S., Casanas-Roux F., Nisolle M. (1998). Vascular endothelial growth factor (VEGF) in endometriosis. *Hum Reprod*, 13(6), 1686–90.
- Eischen A., Duclos B., Schmitt-Goguel M., Rouyer N., Bergerat J. P., Hummel M., ... ve Oberling F. (1994). Human resident peritoneal macrophages: phenotype and biology. *British Journal of Haematology*, 88(4), 712-722.
- Eisenberg V. H., Well C., Chodick G., Shaley V. (2018). Epidemiology of endometriosis: a large population-based database study from a healthcare provider with 2 million members. *BJOG*, 125 (1), 55-62.
- Elagöz Ş., Handan A. K. E. R., Eğilmez R. ve Çetin A. (2000). endometriozisin histopatolojik tanı kriterleri ve eşlik eden lezyonlar: 63 olgunun yeniden incelenmesi. *Journal of Clinical Obstetrics and Gynecology*, 10(4), 253-259.
- Ellis, H. (2011). Anatomy of the uterus. *Anaesthesia & Intensive Care Medicine*, 12(3), 99-101.

- Elmore S. (2007). Apoptosis: a review of programmed cell death. *Toxicol Pathol*, 35(4), 495-516.
- Erşahin A. A., Acet M., Acet T. ve Yavuz Y. (2016). Disturbed endometrial NF-Kb expression in women with recurrent implantation failure. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, 20(24), 5037-5040.
- Eskenazi B., Warner M. (1997). Epidemiology of endometriosis. *Obstet. Gynecol. Clin. N. Am.*, 24, 235–258.
- Fechner R. E., Bossart M. I. ve Spjut H. J. (1979). Ultrastructure of endometrial stromal foam cells. *American Journal of Clinical Pathology*, 72(4), 628-633.
- Ferguson B. R., Bennington J. L., Haber S. L. (1969). Histochemistry of mucosubstances and histology of mixed müllerian pelvic lymph node glandular inclusions. evidence for histogenesis by müllerian metaplasia of coelomic epithelium. *Obstet Gynecol.*, 33(5), 617-25. PMID: 5778441.
- Friesen C., Herr I., Krammer P. H., Debatin K. M. (1996). Involvement of the CD95 (APO-1/FAS) receptor/ligand system in drug-induced apoptosis in leukemia cells. *Nat Med*, 2, 574-7.
- Frolova A. S., Chepikova O. E., Deviatkina A. S., Solonkina A. D. ve Zamyatnin Jr A. A. (2023). New perspectives on the role of nuclear proteases in cell death pathways. *Biology*, 12(6), 797.
- Fuentes N. ve Silveyra P. (2019). Estrogen receptor signaling mechanisms. *Advances in Protein Chemistry and Structural Biology*, 116, 135-170.
- Fujishita A., Chavez R. O., Nakane P. K., Yamabe T., Koji T., Ishimau T., Masuzaki H. (1997). Expression of estrogen and progesterone receptors in endometrium and peritoneal endometriosis: an immunohistochemical and in situ hybridization study. *Fertil Steril*, 67, 856–864. Pubmedcrossref.
- Gagné D., Rivard M., Pagé M., Shazand K., Hugo P. ve Gosselin D. (2003). Blood leukocyte subsets are modulated in patients with endometriosis. *Fertility And Sterility*, 80(1), 43-53.
- Gaia-Oltean, A. I., Braicu, C., Gulei, D., Ciortea, R., Miha, D., Roman, H., ... Berindan-Neagoe, I. (2021). Ovarian endometriosis, a precursor of ovarian cancer: Histological aspects, gene expression and microRNA alterations. *Experimental and therapeutic medicine*, 21(3), 1-1.
- Garcia-Velasco J. A. ve Arici A. (2003). Apoptosis and the pathogenesis of endometriosis. In *Seminars in Reproductive Medicine*, Vol. 21, No. 02, 165-172.
- Garcia-Velasco J. A. ve Rizk B. R. (2010). *Endometriosis: Current Management and Future Trends*. Boydell & Brewer Ltd.

- Garcia-Velasco J. A., Arici A., Zreik T. ve ark. (1999). Macrophage derived growth factors modulate fas ligand expression in cultured endometrial stromal cells: a role in endometriosis. *Mol Hum Reprod*, 5(7), 642-650.
- Gargett C. E., Nguyen H. P. ve Ye L. (2012). Endometrial regeneration and endometrial stem/progenitor cells. *Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders*, 13, 235-251.
- Gartner L.P. ve Hiatt J.L. (2006). *Color Textbook of Histology. E-Book, Female Reproductive System.* Elsevier Health Sciences.
- Gebel H. M., Braun D. P., Tambur A., Frame D., Rana N. ve Dmowski W. P. (1998). Spontaneous apoptosis of endometrial tissue is impaired in women with endometriosis. *Fertility And Sterility*, 69(6), 1042-1047.
- Gellersen B., Brosens J. (2014). Cyclic decidualization of the human endometrium in reproductive health and failure. *Endocrine Reviews*, 35(6), 851-905.
- Ghosh, S. ve Karin, M. (2002). Missing pieces in the NF- κ B puzzle. *Cell*, 109(2), 81-96.
- Gilabert-Estelles J., Ramon L. A., Espana F., Gilabert J., Vila V., Reganon E. ve ark. (2007). Expression of angiogenic factors in endometriosis: relationship to fibrinolytic and metalloproteinase systems. *Hum Reprod*, 22(8), 2120-7.
- Giridharan S. ve Mythily S. (2018). Mechanisms of NF-Kb P65 and strategies for therapeutic manipulation. *Journal Of İnflammation Research*, 407-419.
- Giudice L. C., Kao L. C. (2004). Endometriosis. *Lancet*, 364, 1789-99.
- Gonzalez-Ramos J. Donnez S., Defrere I., Leclercq J., Squifflet J.C., Lousse A. Van L. A. (2007). Nuclear Factor-Kappa B is constitutively activated in peritoneal endometriosis. *Mol Hum Reprod* 13, 503-509.
- González-Ramos R., Defrère S. ve Devoto L. (2012b). Nuclear Factor-Kappab: a main regulator of inflammation and cell survival in endometriosis pathophysiology. *Fertility And Sterility*, 98(3), 520-528.
- Gonzalez-Ramos R., Rocco J., Rojas C., Sovino H., Poch A., Kohen P. ve ark. (2012a). Physiologic activation of nuclear factor kappa-b in the endometrium during the menstrual cycle is altered in endometriosis patients. *Fertil Steril*, 97, 645-51.
- Gonzalez-Ramos R., Van L. A., Defrere S., Lousse J. C., Colette S., Devoto L. ve ark. (2010). Involvement of the nuclear Factor-Kb pathway in the pathogenesis of endometriosis. *Fertil Steril*, 94, 1985-94.
- Gonzalez-Ramos R., Van L. A., Defrere S., Lousse J. C., Mettlen M., Guillet A. ve ark. (2008). Agents blocking the nuclear Factor-Kappab (NF- κ B) pathway are effective inhibitors of endometriosis in an in vivo experimental model. *Gynecol Obstet Invest*, 65, 174-86.

- Goumenou A. G., Matalliotakis I. M., Tzardi M., Fragouli Y. G., Mahutte N. G. ve Arici A. (2004). Apoptosis and differential expression of apoptosis-related proteins in endometriotic glandular and stromal cells. *Journal of the Society for Gynecologic Investigation*, 11(5), 318-322.
- Guo S. W. (2007). Nuclear factor- κ B (NF- κ B): an unsuspected major culprit in the pathogenesis of endometriosis that is still at large. *Gynecologic and obstetric investigation*, 63(2), 71-97.
- Gupta S., Harlev A., Agarwal A., Gupta S., Harlev A., Agarwal A., ... ve Kumaresan D. (2015). Role of iron in the pathogenesis of endometriosis. *Endometriosis: A Comprehensive Update*, 37-48.
- Güven C. M., Baloglu A. (2003). Endometriyoziste retrograd menstrüasyonla belirlenen patofizyoloji. *T. Klin J. Gynecol Obst.*, 13, 483-488.
- Guzeloglu-Kayisli O., Halis G., Taskiran S., Kayisli U. A. ve Arici A. (2008). DNA-Binding ability of NF-Kb is affected differently by $E\alpha$ and $E\beta$ and its activation results in inhibition of estrogen responsiveness. *Reproductive Sciences*, 15(5), 493-505.
- Hall J. (2014) Neuroendocrine control of the menstrual cycle. *JF Strauss And RLBT-Y. and JRE (Seventh E. Barbieri, Eds. Philadelphia: WB Saunders, 2014, Pp. 141-156. E4.*
- Hall, J. E. (2016). *Guyton and Hall Textbook of Medical Physiology. Jordanian Edition E-Book. Elsevier Health Sciences.*
- Halme J., Becker S., Hammond M. G., Raj M. H. ve Raj S. (1983). Increased activation of pelvic macrophages in infertile women with mild endometriosis. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 145(3), 333-337.
- Han A. R., Lee T. H., Kim S., Lee H. Y. (2017). Risk factors and biomarkers for the recurrence of ovarian endometrioma: about the immunoreactivity of progesterone receptor isoform B and nuclear factor kappa B. *Gynecol Endocrinol*, 33, 70-4.
- Han S. J., Lee J. E., Cho Y. J., Park M. J., O'Malley B. W. (2019). Genomic function of estrogen receptor B in endometriosis. *Endocrinology*, 160, 2495-516,
- Han S. ve Sidell N. (2003). RU486-induced growth inhibition of human endometrial cells involves the nuclear factor-Kb signaling pathway. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 88(2), 713-719.
- Harada M., Suganuma N., Furuhashi M., Nagasaka T., Nakashima N., Kikkawa F., ve ark. (1996). Detection of apoptosis in human endometriotic tissue. *Mol Hum Reprod*, 2(5), 307-15.
- Harada T., Iwabe T., Terakawa N. (2001). Role of cytokines in endometriosis. *Fertil Steril*, 76(1), 1-10.

- Harmsen M. J., Wong C. F., Mijatovic V., Griffioen A. W., Groenman F., Hehenkamp W. J. ve Huirne J. A. (2019). Role of angiogenesis in adenomyosis-associated abnormal uterine bleeding and subfertility: a systematic review. *Human Reproduction Update*, 25(5), 647-671.
- Harnish D. C., Scicchitano M. S., Adelman S. J., Lyttle C. R. ve Karathanasis S. K. (2000). The role of cbp in estrogen receptor cross-talk with nuclear Factor-Kb In Hepg2 cells. *Endocrinology*, 141(9), 3403-3411.
- Hassa H., Tanir H. M., Tekin B., Artan S., Dundar E., Kirilmaz S. D. ve Sahin M. F. (2009). Apoptosis patterns in eutopic and ectopic endometrium, adhesions and normal-looking peritoneum from women with or without endometriosis. *Archives Of Gynecology and Obstetrics*, 280, 195-199.
- Hatano E., Bennett B. L., Manning A. M., Qian T., Lemasters J. J. ve Brenner D. A. (2001). NF-Kb stimulates inducible nitric oxide synthase to protect mouse hepatocytes from TNFAand fas-mediated apoptosis. *Gastroenterology*, 120(5), 1251-1262.
- Haupt S., Berger M., Goldberg Z., Haupt Y. (2003). Apoptosis-the P53 Network. *J Cell Sci*, 116, 4077-85
- Hayden, M. S., ve Ghosh, S. (2012). NF- κ B, the first quarter-century: remarkable progress and outstanding questions. *Genes & development*, 26(3), 203-234.
- Hayrabedyan S., Kyurkchiev S., Kehayov I. (2005). FGF-1 nad S100A13 possibly contribute to angiogenesis in endometriosis. *J Reprod Immunol*, 67, 87-101.
- Hetz C., Glimcher L. (2008). The daily job of night killers: alternative roles of the BCL2 family in organelle physiology. *Trends Cell Biol*, 18, 38-44.
- Hinz M. ve Scheidereit C. (2014). The Ikb kinase complex in NF -Kb regulation and beyond, *EMBO Rep.*, Vol. 15(1), 46–61. Doi: 10.1002/Embr.201337983.
- Hinz M., Arslan S. Ç., ve Scheidereit C. (2012). It takes two to tango: IkbBs, the multifunctional partners of NF- κ B. *Immunological reviews*, 246(1), 59-76.
- Hirakawa T., Nasu K., Abe W., Aoyagi Y., Okamoto M., Kai K., .. ve Narahara H. (2016). Mir-503, a microrna epigenetically repressed in endometriosis, induces apoptosis and cell-cycle arrest and inhibits cell proliferation, angiogenesis, and contractility of human ovarian endometriotic stromal cells. *Human Reproduction*, 31(11), 2587-2597.
- Hoffmann, G. Natoli, ve G. Ghosh, (2006). transcriptional regulation via the nf- κ b signaling module. *Oncogene*, 25(51), 6706–6716. Doi: 10.1038/Sj.Onc.1209933.
- Horie S., Harada T., Mitsunari M., Taniguchi F., Iwabe T., Terakawa N. (2005). Progesterone and progestational compounds attenuate tumor necrosis factor alpha-induced interleukin-8 production via nuclear factor kappaB inactivation in endometriotic stromal cells. *Fertil Steril*, 83, 1530–5.

- Houshdaran S., Nezhat C. R., Vo K. C., Zelenko Z., Irwin J. C., Giudice L. C. (2016). aberrant endometrial dna methylome and associated gene expression in endometriosis. *Biol Reprod*, 95, 93.
- Huang Q., Yu Y., Xu W., Li S., Zhou Y. ve Shu J. (2023). The role of peritoneal immunity in peritoneal endometriosis and related infertility. *Frontiers in Bioscience-Landmark*, 28(8), 166.
- Huxford T., Huang D. B., Malek S., ve Ghosh G. (1998). The crystal structure of the I κ B α /NF- κ B complex reveals mechanisms of NF- κ B inactivation. *Cell*, 95(6), 759-770.
- Işıklar S. D. (2007). Endometriosis patofizyolojisiinde apoptoz ve anjiogenezin yeri ve endometriosis olgularında peritoneal sıvıda ve serumda sitokinlerin ve immün hücre dağılımlarının değerlendirilmesi. (Tıpta Uzmanlık Tezi) Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı, Eskişehir.
- Ismail S. M. (2006). Histopathological challenges in the diagnosis of endometrial hyperplasia and carcinoma. *Current Diagnostic Pathology*, 12(5), 312-324.
- Itriyeve K. (2022). The normal menstrual cycle. *Curr Probl Pediatr Adolesc Health Care* 1, 52(5), 101-183.
- Jabr F., Mani V. (2014). An unusual cause of abdominal pain in a male patient: endometriosis. *Avicenna J Med*, 4(4), 99.
- Jackson L. W., Schisterman E. F., Dey-Rao R., Browne R., Armstrong D. (2005). Oxidative stress and endometriosis. *Hum Reprod*, 20(7), 2014-2020.
- Jain V., Chodankar R. R., Maybin J. A. ve Critchley H. O. (2022). Uterine bleeding: how understanding endometrial physiology underpins menstrual health. *Nature Reviews Endocrinology*, 18(5), 290-308.
- Jaiswal M., LaRusso N. F. ve Gores G. J. (2001). Nitric oxide in gastrointestinal epithelial cell carcinogenesis: linking inflammation to oncogenesis. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 281(3), 626-634.
- Jakiel G., Robak-Chołubek D., Tkaczuk-Włach, J. (2006). Endometriosis. *Przegląd Menopauzalny*, 2, 126–129.
- Jang J. H., Surh Y. J. (2003). Potentiation of cellular antioxidant capacity by Bcl-2: implications for its antiapoptotic function. *Biochem Pharmacol*, 66, 1371-1379.
- Jansen R. P., Russel P. (1986). Nonpigmented endometriosis: clinical, laporoscopic and pathologic definition. *Am Obstet Gynecol*, 155:1154.
- Ji B., Zhang Y., Zhen C., Fagan M. J. ve Yang Q. (2020). Mathematical modeling of canonical and non-canonical NF-Kb pathways in TNF stimulation. *Computer Methods and Programs in Biomedicine*, 196, 105677. <https://doi.org/10.1016/j.cmpb.2020.105677>

- Jiang R., Yang Y., Huang Q., Jin Y., Feng Y., Huang X., ... ve Liu, B. (2020). Immunohistochemical expression of estrogen receptor A, Bcl-2 and NF-Kb P65 in the polyps of patients with and without endometriosis. *Journal of Obstetrics and Gynaecology Research*, 46(9), 1819-1826.
- Johnson M.C., Torres M., Alves A., Bacallao K., Fuentes A., Vega M., ve Boric M.A. (2005). Augmented cell survival in eutopic endometrium from women with endometriosis: expression of c-myc, tgf-beta1 and bax genes. *Reprod Biol Endocrinol*, 3, 45.
- Jones C. J., Inuwa I. M., Nardo L. G., Litta P., ve Fazleabas A. T. (2009). Eutopic endometrium from women with endometriosis shows altered ultrastructure and glycosylation compared to that from healthy controls—a pilot observational study. *Reproductive Sciences*, 16, 559-572.
- Jones R. K., Bulmer J. N., ve Searle R. F. (1995). Immunohistochemical characterization of proliferation, oestrogen receptor and progesterone receptor expression in endometriosis: comparison of eutopic and ectopic endometrium with normal cycling endometrium. *Human Reproduction*, 10(12), 3272-3279.
- Jones R. K., Searle R. F. ve Bulmer J. N. (1998). Apoptosis and Bcl-2 expression in normal human endometrium, endometriosis and adenomyosis. *Hum Reprod*, 13, 3496-3502.
- Jubanyik K. J., Comite F. (1997). Extrapelvic endometriosis. *Obstet Gynecol Clin North Am.*, 24(2), 411-40.
- Kalkhoven E., Wissink S., Van Der Saag, P. T., ve Van Der Burg, B. (1996). Negative interaction between the rela (p65) subunit of NF-Kb and the progesterone receptor. *Journal Of Biological Chemistry*, 271(11), 6217-6224.
- Kaloğlu C. (2000). Sıçan implantasyonunda desidualizasyon ve ekstraselüler matriks değişiklikleri: histokimyasal, immunohistokimyasal ve ultrastrüktürel bir çalışma. (Doktora Tezi) Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- Kaltschmidt J. F. W. Greiner ve Kaltschmidt B. (2021). The transcription factor nf-κb in stem cells and development. *Cells*, Vol 10(8), 2042. Doi: 10.3390/Cells10082042.
- Kaponis A., Iwabe T., Taniguchi F., Ito M., Deura I., Decavalas G., Terakawa N., Harada T. (2012). The role of NF-κB in endometriosis. *Front Biosci*, 4, 1213–34.
- Karasu Melek (2022). Covid-19 hastalarında nf-κb ve ıkb parametrelerinin klinik seyir ile ilişkisinin incelenmesi. (Doktora Tezi) İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı.
- Karin M., Lin A. (2002). NF-κB at the crossroads of life and death. *Nat Immunol*, 3, 221–7.

- Karl E., Zhang Z., Dong Z., Neiva K. G., Soengas M. S., Koch A. E., ... ve Nör J. E. (2007). Unidirectional crosstalk between Bcl-Xl and Bcl-2 enhances the angiogenic phenotype of endothelial cells. *Cell Death and Differentiation*, 14(9), 1657-1666.
- Keane R. W., Kraydieh S., Lotocki G., Bethea J. R., Krajewski S., Reed J. C., Dietrich W. D., 2001. Apoptotic and anti-apoptotic mechanisms following spinal cord 75 injury. *J Neuropathol Exp Neurol*, 60, 422-429.
- Kerns J., Itriyeve K., Fisher M. (2022). Etiology and management of amenorrhea in adolescent and young adult women. *Curr Probl Pediatr Adolesc Health Care* 1, 52(5), 101-184.
- Kerr J. F., Wyllie A. H., Currie A. R. (1972). Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. *Br J. Cancer*, 26, 239-57.
- Khan K. N., Masuzaki H., Fujishita A., Kitajima M., Sekine I., ve Ishimaru T. (2004). Differential Macrophage infiltration in early and advanced endometriosis and adjacent peritoneum. *Fertility And Sterility*, 81(3), 652-661.
- Kiernan J. A. (1979). Production and life span of cutaneous mast cells in young rats. *Journal of anatomy*, 128(Pt 2), 225.
- Kim H. J., Hawke N., Baldwin A. S. (2006). NF-KB and IKK as therapeutic targets in cancer. *Cell Death And Differentiation*, 13(5), 738-47.
- Kim J. H., Han E. (2018). Endometriosis and pelvic pain. *Semin. Reprod. Med.*, 36, 143- 151.
- King A. E., Critchley H. O., ve Kelly, R. W. (2001). The NF-κB pathway in human endometrium and first trimester decidua. *Molecular human reproduction*, 7(2), 175-183.
- Kırılmaz S. D. (2007). Endometriosis patofizyolojisinde apoptoz ve anjiogenezin yeri ve endometriosis olgularında peritoneal sıvıda ve serumda sitokinlerin ve immun hücre dağılımlarının değerlendirilmesi. (Tıpta Uzmanlık Tezi) Kadın Hastalıkları Ve Doğum Anabilim Dalı, Eskişehir Osman Gazi Üniversitesi.
- Kobayashi H., Higashiura Y., Shigetomi H., Kajihara H. (2014). Pathogenesis of endometriosis: the role of initial infection and subsequent sterile inflammation (Review). *Molecular Medicine Reports*, 2014, 9(1), 9-15.
- Koga K. (Ed.). (2021). Immunology of endometriosis: pathogenesis and management. Academic Press.
- Kokawa K, Shikone T. ve Nakano R. (1996). Apoptosis in the human uterine endometrium during the menstrual cycle. *J Clin Endocrinol Metab*, 81, 144-47.
- Kondo S., Yin D., Aoki T., Takahashi J. A., Morimura T., ve Takeuchi J. (1994). Bcl-2 gene prevents apoptosis of basic fibroblast growth factor-deprived murine aortic endothelial cells. *Experimental Cell Research*, 213(2), 428-432.

- Koninckx P. R. (1994). Is mild endometriosis a disease: is mild endometriosis a condition occurring intermittently in all women. *Human Reproduction*, 9(12), 2202-5.
- Koninckx P. R., Donnez J., Brosens I. (2016). Microscopic endometriosis: impact on our understanding of the disease and its surgery. *Fertility And Sterility*, 105(2), 05-6.
- Koninckx P. R., Ussia A., Adamyan L., Wattiez A., Gomel V., Martin D. C. (2019). Heterogeneity of endometriosis lesions requires individualisation of diagnosis and treatment and a different approach to research and evidence-based medicine. *Facts, Views and Vision in Obgyn*, 11, 57-61.
- Kowalczyk-Amico K. Szubert M. Suzin, J. (2009). Angiogenesis and inflammatory response in endometriosis. *Przegląd Menopauzalny*, 5, 261–264.
- Koylu A., Ömeroğlu, S., Akarca Dizakar S. Ö., Yigit F. ve Demirel, M. A., (2020). Histopathologic examinations and a research field of endometriosis. *Gazi Medical Journal*, vol.31, no.4, 707-711.
- Kruitwagen R. F., Poels L. G., Willemsen W. N., ve ark. (1991). Retrograde seeding of endometrial epithelial cells by uterine-tubal flushing. *Fertil Steril*, 56, 414-20.
- Külekçi G. D. (2023). Endometrioizis dokusundaki dna metilasyon dinamikleriyle ten-eleven translokasyon genleri ve enzimlerinin olası ilişkisinin araştırılması. (Doktora Tezi) Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Mersin Üniversitesi.
- Kuwana T., Mackey M. R., Perkins G., Ellisman M. H., Latterich M., Schneiter R. (2002). Bid, bax, and lipids cooperate to form supramolecular openings in the outer mitochondrial membrane. *Cell*, 111, 331-342.
- Laird S. M., Tuckerman E. M., Cork B. A., Li T. C. (2000). Expression of nuclear factor k b in human endometrium; role in the control of interleukin 6 and leukaemia inhibitory factor production. *Mol Hum Reprod*, 6, 34–40.
- Lalier L., Cartron P. F., Juin P., Nedelkina S., Manon S., Bechinger B., Vallette F. M., (2007). Bax activation and mitochondrial insertion during apoptozis. *Apoptozis*, 12, 887–896.
- Lalier L., Vallette F. ve Manon S. (2022). Bcl-2family members and the mitochondrial import machineries: the roads to death. *Biomolecules*, 12(2), 162.
- Lambert S, Santulli P, Chouzenoux S, ve ark. (2014). Endometriosis: increasing concentrations of serum interleukin-1b and interleukin-1srnı is associated with the deep form of this pathology. *J Gynecol Obstet Biol Reprod (Paris)*, 43(9), 735-743
- Laschke M. W., Giebels C. ve Menger M. D. (2011). Vasculogenesis: a new piece of the endometriosis puzzle. *Human Reproduction Update*, 17(5), 628-636.

- Laulier C., Lopez B. S., (2012). The secret life of Bcl-2: apoptozis-independent inhibition of dna repair by Bcl-2family members. *Mutation Research*, 751, 247-257.
- Lebovic D. I., Mueller M. D., Taylor R. N. (2001). Immunobiology of endometriosis. *Fertil Steril*, 75, 1-10.
- Legge D. N., Chambers A. C., Parker C. T., Timms P., Collard T. J. ve Williams A. C. (2020). The role of B-Cell Lymphoma-3 (BCL-3) in enabling the hallmarks of cancer: implications for the treatment of colorectal carcinogenesis. *Carcinogenesis*, 41(3), 249-256.
- Lessey B. A. ve Young S. L. (2019). Structure, function, and evaluation of the female reproductive tract. In Yen and Jaffe's Reproductive Endocrinology, pp. 206-247.
- Lessey B.A. Lebovic D.I. Taylor R.N. (2013). Eutopic endometrium in women with endometriosis: ground zero for the study of implantation defects. *Semin. Reprod. Med.*, 31, 109–124.
- Levi M., Keller T. T., Van Gorp E., Ten Cate H. (2003). Infection and inflammation and the coagulation system. *Cardiovasc Res.*, 60(1), 26–39.
- Li J., Yanyan M., Mu L., Chen X. ve Zheng W. (2019a). The expression of Bcl-2 in adenomyosis and its effect on proliferation, migration, and apoptosis of endometrial stromal cells. *Pathology-Research and Practice*, 215(8), 152477.
- Li, J., Liu, R., Tang, S., Feng, F., Liu, C., Wang, L., Sun, C. (2019). Impact of endometriosis on risk of ovarian, endometrial and cervical cancers: a meta-analysis. *Archives of gynecology and obstetrics*, 299, 35-46.
- Lin W. C., Chuang Y. C., Chang Y. S., Lai M. D., Teng Y. N., S. I. J., ... ve Hung J. H. (2012). Endoplasmic Reticulum stress stimulates p53 expression through nf- κ b activation.
- Lin Y., Bai L., Chen W., Xu S. (2010). The NF- κ B activation pathways, emerging molecular targets for cancer prevention and therapy. *Expert Opin Ther Targets*, 14(1), 45-55.
- Lingappan K. (2018). Nfkb in oxidative stress. In *Current Opinion in Toxicology*, Vol. 7, 81– 86. <https://doi.org/10.1016/J.CotOx.2017.11.002>.
- Liu S., Xin X., Hua T., Shi R., Chi S., Jin Z., ve Wang H. (2016). Efficacy of anti-VEGF/VEGFR agents on animal models of endometriosis: a systematic review and meta-analysis. *Plos One*, 11(11), E0166658.
- Liu Y., Wang J., ve Zhang,X. (2022). An update on the multifaceted role of NF- κ B in endometriosis. *International Journal of Biological Sciences*, 18(11), 4400.
- Lousse J. C., Van Langendonckt A., González-Ramos R., Defrère S., Renkin E., ve Donnez, J. (2008). Increased activation of nuclear factor-kappa b (nf- κ b) in

- isolated peritoneal macrophages of patients with endometriosis. *Fertility And Sterility*, 90(1), 217-220.
- Lu Q., Huang Y., Wu J., Guan Y., Du M., Wang F. ve ark. (2020). T-Cadherin inhibits invasion and migration of endometrial stromal cells in endometriosis. *Hum Reprod*, 35, 145-56
- Lu T., ve Stark G. R. (2015). NF- κ B: regulation by methylation. *Cancer research*, 75(18), 3692-3695.
- Lundberg A. S., Weinberg R. A. (1999). Control of the cell cycle and apoptozis. *Eur J Cancer*, 15, 531-539.
- Maia H., Jr., Haddad C., Casoy J. (2013). Combining oral contraceptives with a natural nuclear factor-kappa b inhibitor for the treatment of endometriosis-related pain. *International Journal of Women's Health*, 6, 35-9.
- Majno G., Joris I. (1995). Apoptosis, Oncosis, and necrosis. an overview of cell death. *Am J Pathol*, 146, 3-15.
- Makhija D., Mathai A. M., Naik R., Kumar S., Rai S., Pai M. R., ve Baliga P. (2008). Morphometric evaluation of endometrial blood vessels. *Indian Journal of Pathology And Microbiology*, 51(3), 346.
- Martin D. A., Siegel R. M., Zheng L., Lenardo M. J. (1998). Membrane oligomerization and cleavage activates the caspase-8 (fllice/machalpha1) death signal. *J Biol Chem*, 273, 4345-9
- Martinou J. C., Dubois-Dauphin M., Staple J. K., Rodriguez I., Frankowski H., Missotten M. (1994). Overexpression of Bcl-2in transgenic mice protects neurons from naturally occurring cell death and experimental ischemia. *Neuron*, 13(4), 1017-1030.
- Matorras R., Rod  quez F., Pijoan J. I., Ram  n O., Gutierrez De Ter  n G., Rodr  guez-Escudero F. (1995). Epidemiology Of Endometriosis In   nfertile
- Matorras R., ve ark. (2007). Prevalence of endometriosis in women with systemic lupus erythematosus and sj  gren's syndrome. *Lupus*, 16(9), 736-740.
- Mccluggage W. G. (2020). Endometriosis-Related pathology: a discussion of selected uncommon benign, premalignant and malignant lesions. *Histopathology*, 76, 76–92.
- Mckay L. I., Cidlowski J. A. (1999). Molecular control of immune/inflammatory responses: interactions between nuclear factor-kappa b and steroid receptor-signaling pathways. *Endocr Rev*, 20, 435–59.
- Mclaren J., Prentice A., Charnock-Jones D. S., Sharkey A. M., Smith S. A. (1997). Immunocolonization of the apoptosis regulating proteins Bcl-2and bax in human endometrium and isolated peritoneal fluid macrophages in endometriosis. *Hum Reprod.*, 12, 146–52.

- Mechsner S., Weichbrodt M., Riedlinger W. F. J., Bartley J., Kaufmann A. M., Schneider A. ve ark. (2008). Estrogen and progesterone receptor positive endometriotic lesions and disseminated cells in pelvic sentinel lymph nodes of patients with deep infiltrating rectovaginal endometriosis: a pilot study. *Human Reproduction*, 23(10), 2202-9.
- Mehedintu C., Plotogea M. N., Lonescu, S., Antonovici, M. (2014). Endometriosis still a challenge. *J. Med. Life.*, 7 (3), 349-357.
- Mei J., Zhu X. Y., Jin L. P., Duan Z. L., Li D. J., Li M. Q. (2015). Estrogen promotes the survival of human secretory phase endometrial stromal cells via CXCL12/CXCR4 up-regulation-mediated autophagy inhibition. *Hum Reprod*, 30, 1677-89.
- Meresman G. F., Auge L., Baranao R. I., Lombardi E., Tesone M. ve Sueldo C. (2002). Oral contraceptives suppress cell proliferation and enhance apoptosis of eutopic endometrial tissue from patients with endometriosis. *Fertil Steril*, 77, 1141-47.
- Meresman G. F., Vighi S., Buquet R. A., Contreras-Ortiz O., Tesone M., Rumi L. S. (2000). Apoptosis and expression of Bcl-2 and bax in eutopic endometrium from women with endometriosis. *Fertil Steril*, 74(4), 760-766. Doi:10.1016/S0015-0282(00)01522-3.
- Mills A. M. (2019). Endometrial carcinoma. *Gynecologic And Obstetric Pathology*, Volume 1, 455-513.
- Minaglia S., Mishell D. R., Jr Ballard C. A. (2007). Incisional endometrioma after cesarean section: a case series. *J Hum Reprod Med.*, 52, 630-4.
- Missmer S. A., Hankinson S. E., Spiegelman D., Barbieri R. L., Marshall L.M., Hunter D. J. (2004). Incidence of laparoscopically confirmed endometriosis by demographic, anthropometric, and lifestyle factors. *Am. J. Epidemiol*, 160, 784-796.
- Mondello C., ve Scovassi A. I. (2010). Apoptosis: a way to maintain healthy individuals. *Genome Stability and Human Diseases*, 307-323.
- Moore K. L., Persaud T. V. N., ve Dalçık H. (2016). Klinik Yönleriyle İnsan Embriyolojisi. Nobel Tıp Kitabevleri.
- Moran-Crusio K., vd.. (2011). Tet2 loss leads to increased hematopoietic stem cell self-renewal and myeloid transformation. *Cancer Cell*, 20(1), 11-24.
- Morgan D., Garg M., Tergaonkar V., Tan S. Y. ve Sethi G. (2020). Pharmacological significance of the noncanonical nf-kb pathway in tumorigenesis. *Biochimica at Biophysica Acta (BBA) - Reviews on Cancer*, 1874(2), 188449. <https://doi.org/10.1016/j.bbcan.2020.188449>.

- Motyka B., Korbitt G., Pinkoski M. J. ve ark. (2000). Mannose 6- phosphate/insulinlike growth factor ii receptor is a death receptor for granzyme b during cytotoxic t cell-induced apoptosis. *Cell*, 103, 491-500.
- Moussaieff A., Shohami E., Kashman Y., Fride E., Schmitz M. L., Renner F., ... ve Mechoulam R. (2007). Incensole acetate, a novel anti-inflammatory compound isolated from boswellia resin, inhibits nuclear factor- κ b activation. *Molecular Pharmacology*, 72(6), 1657-1664.
- Nadal-Ginard B., Anversa P., Kajstura J., ve Leri A. (2005). Cardiac stem cells and myocardial regeneration. In *Stem Cells: Nuclear Reprogramming and Therapeutic Applications: Novartis Foundation Symposium 265* (pp. 142-157). Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd.
- Nagata S. (1997). Apoptosis by death factor. *Cell*, 88(3), 355-365.
- Najdawi Z. R., ve Abu-Asab M. S. (2022). An ultrastructural perspective on cell death. *Jordan Medical Journal*, 56(1).
- Nakagawa M. M., ve Rathinam C. V. (2018). Constitutive activation of the canonical nf- κ b pathway leads to bone marrow failure and induction of erythroid signature in hematopoietic stem cells. *Cell Reports*, 25(8), 2094-2109.
- Nap A. W., Groothuis P. G., Demir A. Y., Evers J. L. ve Dunselman G. A. (2004). Pathogenesis of endometriosis. *Best Practice and Research Clinical Obstetrics and Gynaecology*, 18(2), 233-244.
- Nasiri N., Babaei S., Moini A., Eftekhari-Yazdi P. (2021). Controlling semi-invasive activity of human endometrial stromal cells by inhibiting NF- κ B signaling pathway using aloe-emodin and aspirin. *Journal of Reproduction and Infertility*, 22, 227-40.
- Nasu K., Nishida M., Kawano Y., Tsuno A., Abe W., Yuge A., ve ark. (2011). Aberrant expression of apoptosis-related molecules in endometriosis: a possible mechanism underlying the pathogenesis of endometriosis. *Reprod Sci.*, 18(3), 206–18.
- Nathan C., ve Ding A. (2010). Nonresolving inflammation. *Cell*, 140(6), 871-882.
- Ngô C., Nicco C., Leconte M., Chéreau C., Arkwright S., Vacher-Lavenu M. C., ... ve Batteux F. (2010). Protein kinase inhibitors can control the progression of endometriosis in vitro and in vivo. *The Journal of Pathology*, 222(2), 148-157.
- Nie J., Lu Y., Liu X., ve Guo S. W. (2009). Immunoreactivity of progesterone receptor isoform b, nuclear factor κ b, and $\text{ikb}\alpha$ in adenomyosis. *Fertility And Sterility*, 92(3), 886-889.
- Nisolle M. ve Donnez J. (1997). Peritoneal endometriosis, ovarian endometriosis, and adenomyotic nodules of the rectovaginal septum are three different entities. *Fertility And Sterility*, 68(4), 585-596.

- Nisolle M., Paindaveine B., Bourdon A., Berlière M., Casanas-Roux F. ve Donnez J. (1990). Histologic study of peritoneal endometriosis in infertile women. *Fertility And Sterility*, 53(6), 984-988.
- Noble L. S., Takayama K., Zetiun K. M., Putman J. M., Johns D. A., Hinsshelwood M. M., Agarwal V. R., Zhao Y., Carr B. R. ve Bulun S. E. (1997). Prostaglandins e2 stimulates aromatase expression in endometriosis-derived stromal cells. *J Clin Endocrinol Metab*, 82,600-606.
- Obeng E. (2020). Apoptosis (programmed cell death) and its signals-a review. *Brazilian Journal of Biology*, 81, 1133-1143.
- Ogawa S., Kaku T., Amada S., ve ark. (2000). ovaria +n endometriosis associated with ovarian carcinoma: a clinicopathological and immunohistochemical study. *Gynecol Oncol*, 77:298.
- Ohama Y., Harada T., Iwabe T., Taniguchi F., Takenaka Y., Terakawa N. (2008). Peroxisome proliferator-activated receptor-gamma ligand reduced tumor necrosis factor-alpha-induced interleukin-8 production and growth in endometriotic stromal cells. *Fertil Steril*, 89, 311-7.
- Okada Y., Asahina T., Kobayashi T., Goto J. ve Terao T. (2001). Studies on the mechanism of edematous changes at the endometrial stroma for implantation. In *Seminars In Thrombosis And Hemostasis*, vol. 27(2), 067-078.
- Öktem, Ö. Ve Urman, B. (2012). Reprodüktif Yaşam Siklusu: Folikülogenez ve Menstruasyon *Journal of Turkish Society of Obstetrics and Gynecology*, 9(1), 1-24.
- Oltvai Z. N., Milliman C. L., Korsmeyer S. J., (1993). Bcl-2heterodimerizes in vivo with a conserved homolog, bax, that accelerates programmed cell death. *Cell*, 74, 609–619.
- Öner-İyidoğan Y., Koçak H., Gürdöl F., Korkmaz D. ve Buyru F. (2004). Indices of oxidative stress in eutopic and ectopic endometria of women with endometriosis. *Gynecologic And Obstetric Investigation*, 57(4), 214-217.
- Oosterlync D. J., Meuleman C., Waer M. ve ark. (1993). Immunsupresive activity of peritoneal fluid in endometriosis. *Gynecol Obstet*, 82, 206-212.
- Opferman J. T. ve Kothari A. (2018). Anti-apoptotic Bcl-2family members in development. *Cell Death and Differentiation*, 25(1), 37-45.
- Osteen K. G., Bruner K. L., ve Sharpe-Timms K. L. (1996). Steroid and growth factor regulation of matrix metalloproteinase expression and endometriosis. In *Seminars in Reproductive Endocrinology*, 14(3), 247-255.
- Osteen K. G., Yeaman G. R., ve Bruner-Tran, K. L. (2003). Matrix metalloproteinases and endometriosis. In *Seminars in Reproductive Medicine*, 21(2), 155-164.

- Osuga Y., Koga K., Hirota Y., Hirata T., Yoshino O., ve Taketani Y. (2011). Lymphocytes in endometriosis. *American Journal of Reproductive Immunology*, 65(1), 1-10.
- Ota H., Igarashi S. ve Tanaka, T. (1998). Morphometric evaluation of stromal vascularization in the endometrium in adenomyosis. *Human Reproduction*, 13(3), 715-719.
- Otsuki Y. (2001). Apoptosis in human endometrium: apoptotic detection methods and signaling. *Med Electron Microsc.*, 34, 166-173.
- Otsuki Y., Misaki O., Sugimoto O., Ito Y., Tsujimoto Y. ve Akao Y. (1994). Cyclic Bcl-2 expression in human uterine endometrium during menstrual cycle. *Lancet* 344, 28-29.
- Özcan C. (2015). Fertil Ve İnfertil Endometriyozis Hastalarının Ötopik Endometriyum Dokularında Hoxa-10 Gen Ekspresyonunun Değerlendirilmesi. (Tıpta Uzmanlık) Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kadın Hastalıkları ve doğum Ana Bilim Dalı.
- Page M., Tuckerman E. M., Li T. C., Laird S. M. (2002). Expression of nuclear factor kappa components in human endometrium. *J Reprod Immunol* 54, 1-13.
- Pai P. ve Sukumar S. (2020). HOX genes and the nf-kb pathway: a convergence of developmental biology, inflammation and cancer biology. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Reviews on Cancer*, 1874(2), 188450. <https://doi.org/10.1016/j.bbcan.2020.188450>.
- Pan G., O'Rourke K., Chinnaiyan A. M. ve ark. (1997). The receptor for the cytotoxic ligand trail. *Science*, 276, 111-3.
- Panir K., Hull M. L. ve Greaves E. (2022). Macrophages in endometriosis: they came, they saw, they conquered. In *Immunology of Endometriosis*, pp 13-41.
- Panir K., Schjenken J. E., Robertson S. A., Hull M. L. (2018). Non-Coding RNAs in endometriosis: a narrative review. *Hum. Reprod Update*, 24, 497-515.
- Parasar P., Ozcan P., Terry K. L. (2017). Endometriosis: epidemiology, diagnosis and clinical management *curr. Obstet. Gynecol. Rep.*, 6 (1), 34-41, 2017.
- Paterni I., Granchi C., Katzenellenbogen J. A. ve Minutolo F. (2014). Estrogen receptors alpha ($er\alpha$) and beta ($er\beta$): subtype-selective ligands and clinical potential. *Steroids*, 90, 13-29.
- Peek, M., Landgren B. M. ve Johannisson E. (1992). The endometrial capillaries during the normal menstrual cycle: a morphometric study. *Human Reproduction*, 7(7), 906-911.
- Perkins N. D. (2007). Integrating cell-signalling pathways with NF- κ B and I κ B function. *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.*, 8(1), 49-62. Doi: 10.1038/Nrm2083.

- Pierro E., Minici F., Alesiani O., Miceli F., Proto C., Screpanti I., ... ve Lanzone A. (2001). Stromal-Epithelial interactions modulate estrogen responsiveness in normal human endometrium. *Biology of Reproduction*, 64(3), 831-838.
- Pınar E. Doğan, Mine Eğin. (2021). NF-Kb Sinyal Yolağı ve Hastalıklarla İlişkisi Bioinforange.
- Pınar, G. G. (2012). Endometriozis, Endometrioma veya Adenomyozis Tespit Edilen Kadınlarda Endometrium C Sinir Liflerinin Araştırılması/Investigation Of C Nerve Fibres İn The Endometrium Of Patients Diagnosed With Endometriosis, Endometrioma Or Adenomyosis.
- Pitsos M., ve Kanakas N. (2009). The Role of matrix metalloproteinases in the pathogenesis of endometriosis. *Reproductive Sciences*, 16, 717-726.
- Pluchino N., Taylor H. S. (2016). Endometriosis and stem cell trafficking. *Reprod Sci.*, 23(12), 1616-9.
- Ponce C., Torres M., Galleguillos C., Sovino H., Boric M. A., Fuentes A., ve ark. (2009). Nuclear factor kappa b pathway and interleukin-6 are affected in eutopic endometrium of women with endometriosis. *Reproduction*, 137, 727–37.
- Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. (2008). Treatment of Pelvic Pain Associated with Endometriosis. *Fertility And Sterility*, 90(5), 260-269.
- Preya U. H., Woo J. H., Choi Y. S., Choi J. H. (2019). Hepatocyte nuclear factor-1 beta protects endometriotic cells against apoptotic cell death by up-regulating the expression of antiapoptotic genes. *Biol. Reprod.*, 101, 686-94.
- Qing G., ve Xiao G. (2005). Essential role of I κ B kinase α in the constitutive processing of NF- κ B2 p100. *Journal of Biological Chemistry*, 280(11), 9765-9768.
- Quinn M. (2004). Endometriosis: the consequence of neurological dysfunction? *Med. Hypoth.*, 63, 602–608.
- Ramey J. W. ve Archer D. F. (1993). Peritoneal fluid: its relevance to the development of endometriosis. *Fertility and Sterility*, 60(1), 1-14.
- Rasmi R. R., Sakthivel K. M. ve Guruvayoorappan C. (2020). NF-Kb inhibitors in treatment and prevention of lung cancer. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 130, 110569. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2020.110569>.
- Razani B., Reichardt A. D., Cheng G. (2011). Non-Canonical NF-Kb signaling activation and regulation: principles and perspectives. *Immunol Rev.*, 244(1), 44-54.
- Razani B., Zarnegar B., Ytterberg A. J., Shiba T., Dempsey P. W., Ware C.F., Loo J. A., Cheng G. (2010). Negative feedback in noncanonical NF- κ B signaling modulates nik stability through ikk α -mediated phosphorylation. *Sci. Signal.*, 25, 3(123), Ra41.

- Read M. A., Whitley M. Z., Williams A. J. ve Collins T. (1994). NF- κ B and I Kappa B alpha: an inducible regulatory system in endothelial activation. *The Journal of Experimental Medicine*, 179(2), 503-512.
- Reed J. C. (1997). Double identity for proteins of the Bcl-2family. *Nature*, 387(6635), 773-776.
- Reed J. C. (2006). Proapoptotic multidomain Bcl-2/Bax-family proteins: mechanisms, physiological roles, and therapeutic opportunities. *Cell death & differentiation*, 13(8), 1378-1386.
- Rees M.C.P. (1990) Factors controlling menstrual blood loss volume. In d'Arcangues, C, Fraser, I.S., Newton, J.R. And Odind, V. (Eds), *Contraception And Mechanisms Of Endometrial Bleeding*. WHO/ Cambridge University Press, Cambridge, pp. 117-140.
- Reinhardt L. S., Groen K., Newton C., ve Avery-Kiejda K. A. (2023). The role of truncated p53 isoforms in the dna damage response. *Biochimica Et Biophysica Acta (BBA)-Reviews on Cancer*, 188882.
- Reis F. M., Petraglia F. ve Taylor R. N. (2013). Endometriosis: hormone regulation and clinical consequences of chemotaxis and apoptosis. *Human Reproduction Update*, 19(4), 406-418.
- Revised American Society for Reproductive Medicine Classification of Endometriosis (1997). *Fertil Steril*, 67, 817.
- Rodgers W. H., Matrisian L. M., Giudice L. C. ve ark. (1994). Patterns of matrix metalloproteinase expression in cycling endometrium imply differential functions and regulation by steroid hormones. *J Clin Invest.*, 94, 946–953.
- Rogers P. A. ve Gargett C. E. (1998). Endometrial angiogenesis. *Angiogenesis*, 2, 287-294.
- Rogers P. A., Lederman F., Plunkett D. ve Affandi B. (2000). Bcl-2, fas, and caspase-3 expression in endometrium from levonorgestrel implant users with and without breakthrough bleeding. *Hum Reprod*, 15, 152-161.
- Rokitansky K. (1860). *Über uterusdrüsen neubildung*. *Ztschr Gesselsch Ärzte Wein*, 16, 577.
- Ross M. H. ve Pawlina W. (2016). *Histology: A Text and Atlas: With Correlated Cell and Molecular Biology*. Wolters Kluwer Health.
- Rubanyi G. M., Johns A. ve Kauser K. (2002). Effect of estrogen on endothelial function and angiogenesis. *Vascular Pharmacology*, 38(2), 89-98.
- Ruderman R. ve Pavone M. E. (2017). Ovarian cancer in endometriosis: an update on the clinical and molecular aspects. *Minerva Ginecologica*, 69(3), 286-294.
- Ryo A., Suizu F., Yoshida Y., Perrem K., Liou Y. C., Wulf G., Rottapel R., Yamaoka S., ve Lu K. P. (2003). Regulation of nf- κ b signaling by pin1- dependent prolyl

- isomerization and ubiquitin-mediated proteolysis of p65/rela. *Molecular Cell*, 12(6), 1413–1426. [https://doi.org/10.1016/S1097-2765\(03\)00490-8](https://doi.org/10.1016/S1097-2765(03)00490-8).
- Sahu S. K., Das R. K., Sathapathy S., Dehury S., Mishra U. K. ve Dash S. K. (2017). Gross, histological and histochemical studies on the uterus of kendrapada sheep (*Ovis aries*) at different age groups. *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 5(6): 2337-2342.
- Sahu, S. K., Das, R. K., Sathapathy, S., Dehury, S., Mishra, U. K., Dash, S. K. (2017). Gross, histological and histochemical studies on the uterus of Kendrapada sheep (*Ovis aries*) at different age groups.
- Sakamoto Y., Harada T., Horie S., Iba Y., Taniguchi F., Yoshida S., .. Terakawa N. (2003). Tumor necrosis factor- α -induced interleukin-8 (IL-8) expression in endometriotic stromal cells, probably through nuclear factor- κ B activation: gonadotropin-releasing hormone agonist treatment reduced IL-8 expression. *The Journal Of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 88(2), 730-735.
- Salamonsen L. A. ve Lathbury L. J. (2000). Endometrial leukocytes and menstruation. *Hum. Reprod. Update*, 6–27.
- Samimi M., Pourhanifeh M. H., Mehdizadehkashi A., Eftekhari T., ve 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.
- Sampson J.A. (1921). Perforating hemorrhagic (chocolate) cysts of the ovary: their importance and especially their relation to pelvic adenomas of endometrial type (adenomyoma of the uterus, rectovaginal septum, sigmoid, etc.). *Archives of Surgery*, 3(2), 245-323.
- Sampson J.A. (1927). Metastatic or Embolic endometriosis, due to the menstrual dissemination of endometrial tissue into the venous circulation. *Am. J. Pathol.*, 3, 93.A
- Sampson J.A. (1927). Peritoneal Endometriosis due to the menstrual dissemination of endometrial tissue into the peritoneal cavity. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 14, 422–469.B
- 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.
- Saraste A., Pulkki K. (2000). Morphologic and biochemical hallmarks of apoptosis. *Cardiovasc Res.*, 45, 528-37.
- Savinova O. V., Hoffmann A., ve Ghosh, G. (2009). The Nfkb1 and Nfkb2 proteins p105 and p100 function as the core of high-molecular-weight heterogeneous complexes. *Molecular cell*, 34(5), 591-602.

- Schenken R. S. (2022). Endometriosis: pathogenesis, epidemiology, and clinical impact. *Uptodate. Com*, 17, 1-25.
- Schindler A. E. (2004). Pathophysiology, diagnosis and treatment of endometriosis. *Miverva Ginecol*, 56, 419-435.
- Schmitz M. L., Mattioli I., Buss H. ve Kracht M. (2004). NF-Kb: A multifaceted transcription factor regulated at several levels. *Chembiochem*, 5(10), 1348-1358.
- Schweppe K. (1989). Histological and electron-microscopy studies on endometriosis. *Hormone Research*, 32(1), 106-109.
- Schweppe K. W., Wynn R. M., Beller F. K. (1984). Endometriotik implantlar ve ötopik endometriyumun ultrastrüktürel karşılaştırılması. *Am J Obstet Gynecol*, 148, 1024-39. Doi:10.1016/0002-9378(84)90546-5.
- Şen M., Ay U., Akbayır E., Şenyer S., Tüzün E., ve Küçükali C. İ. (2017). Nf-Kb, sumo ve ubiquitinasyon ilişkisi. *Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 7(13), 35-46.
- Shafrir A. L., Farland L. V., Shah D. K., Harris H. R., Kvaskoff M., Zondervan K., Missmer S. A. (2018). Risk for and consequences of endometriosis: a critical epidemiologic review. *Best Pract. Res. Clin. Obstet. Gynaecol.*, 51, 1-15.
- Sharpe-Timms K. L., Kathy L. (2001). Endometrial anomalies in women with endometriosis. *Annals of The New York Academy of Sciences* 943, 1, 131-147.
- Sharpe-Timms K. L., Zimmer R.L., Jolliff W. J., Wright J. A., Nothnick W. B., Curry T. E. (1998). Gonadotropin-releasing hormone agonist (gnrh-a) therapy alters activity of plasminogen activators, matrix metalloproteinases, and their inhibitors in rat models for adhesion formation and endometriosis: potential gnrh-a-regulated mechanisms reducing adhesion formation. *Fertil Steril*, 69, 916-923.
- Sharpe-Timms, K. L. (1997). Basic research in endometriosis. *Obstetrics And Gynecology Clinics of North America*, 24(2), 269-290.
- Shaw S. T., Macaulay L. K., Hohman W. R. (1979). Vessel density in endometrium of women with and without intrauterine contraceptive devices: a morphometric evaluation. *Am J Obstet Gynecol*, 135, 202-6.
- Shen F., Wang Y., Lu Y., Yuan L., Liu X., Guo S. W. (2008). Immunoreactivity of progesterone receptor isoform b and nuclear factor kappa-b as biomarkers for recurrence of ovarian endometriomas. *Am J Obstet Gynecol.*, 199, 486. E1-E10.
- Shikone T., Yamoto M., Kokavva K., Yanashita K., Nishimori K. ve Nakano R. (1995). Apoptosis of human corpora lutea during cyclic luteal regression and early pregnancy. *J Clin Endocrinol Metab.*, 81, 2376-80.

- Shin E., Yeo E., Lim J., Chang Y. H., Park H., Shim E., ... ve Hwang J. (2014). Nitrooleate mediates nitric oxide synthase activation in endothelial cells. *Lipids*, 49, 457-466.
- Signorile P.G., Baldi F., Bussani R., D'Armiento M., De Falco M., Boccellino M., Quagliuolo L., Baldi A. (2010). New evidence of the presence of endometriosis in the human fetus. *Reprod. Biomed. Online*, 21, 142–147.
- Silver S. A. ve Sherman M. E. (1998). Morphologic and immunophenotypic characterization of foam cells in endometrial lesions. *International Journal of Gynecological Pathology*, 17(2), 140-145.
- Silverman N. ve Maniatis T. (2001). NF-Kb signaling pathways in mammalian and insect innate immunity. *Genes and Development*, 15(18), 2321–2342. <https://doi.org/10.1101/GA.D.909001>.
- Sinaii N. ve ark. (2002). High rates of autoimmune and endocrine disorders, fibromyalgia, chronic fatigue syndrome and atopic diseases among women with endometriosis: a survey analysis. *Human Reproduction*, 17(10), 2715-2724.
- Smolarz B., Szyłło K. ve Romanowicz H. (2021). Endometriosis: epidemiology, classification, pathogenesis, treatment and genetics (review of literature). *International Journal of Molecular Sciences*, 22(19), 10554.
- Sofiyeva Nigar (2016). Endometriozis Hastalarının Ötopik, Ektopik Endometrium Dokusu Ve Serumunda Telomeraz Aktivitesinin Değerlendirilmesi. (Uzmanlık Tezi) İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı.
- Sogwagwa N. (2017). The Role Of Bcl-2 And Bax Protein Expression On Individual Radiosensitivity (Doktora Tezi) Cape Peninsula University Of Technology.
- Somigliana E., Vigano P., Gaffuri B. ve ark. (1996). Modulation of nk cell lytic function by endometrial secretory factors: potential role in endometriosis. *Am J Reprod Immunol*, 35, 295-300.
- Song K., ve Li S. (2021). The role of ubiquitination in NF-κB signaling during virus infection. *Viruses*, 13(2), 145.
- Stephen W. G. T., Douglas R. G. (2010). Mitochondria and cell death: outer membrane permeabilization and beyond. *Nature Reviews. Molecular Cell Biology*, Vol11.
- Sugino N., Karube-Harada A., Sakata A., Takiguchi S. ve Kato H. (2002). Nuclear factor-κB is required for tumor necrosis factor-α-induced manganese superoxide dismutase expression in human endometrial stromal cells. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 87(8), 3845-3850.
- Sun S. -C. (2010). Noncanonical NF-Kb signaling pathway. *Cell Research*, 21(1), 71–85. <https://doi.org/10.1038/Cr.2010.177>.

- Symonds I. M. ve Arulkumaran S. (Eds.). (2019). *Essential Obstetrics and Gynaecology E-Book*. Elsevier Health Sciences.
- Szymanowski K. (2007). Apoptosis pattern in human endometrium in women with pelvic endometriosis. *European Journal of Obstetrics and Gynecology and Reproductive Biology*, 132(1), 107-110.
- Tamura M., Sebastian S., Yang S., Gurates B., Ferrer K., Sasano H., ... ve Bulun S. E. (2002). Up-regulation of cyclooxygenase-2 expression and prostaglandin synthesis in endometrial stromal cells by malignant endometrial epithelial cells: a paracrine effect mediated by prostaglandin e2 and nuclear factor-kb. *Journal Of Biological Chemistry*, 277(29), 26208-26216.
- Tan X. J., Lang J. H., Liu D. Y., Shen K., Leng J. H., ve Zhu, L. (2002). Expression of vascular endothelial growth factor and thrombospondin-1 mRNA in patients with endometriosis. *Fertility and Sterility*, 78(1), 148-153.
- Taniguchi F., Kaponis A., Izawa M., Kiyama T., Deura I., Ito M., ... ve Harada T. (2011). Apoptosis and endometriosis. *Frontiers in Bioscience (Elite Edition)*, 3(2), 648-662.
- Taniguchi K., Karin M. (2018). NF-B, Inflammation, immunity and cancer: coming of age. *Nature Reviews Immunology*, 18(5), 309–24. [Http://Dx.Doi.Org/10.1038/Nri.2017.142](http://dx.doi.org/10.1038/Nri.2017.142).
- Tao X-J, Sayegh R. A., Tilly J. T., Isaacson K. B. (1998). Elevated expression of the proapoptotic BCL-2 family member, BAK, in the human endometrium coincident with apoptosis during the secretory phase of the cycle. *Fertil Steril*, 70, 338- 343.
- Tarjanne S., Sjöberg J. ve Heikinheimo O. (2009). Rectovaginal endometriosis—characteristics of operative treatment and factors predicting bowel resection. *Journal of Minimally Invasive Gynecology*, 16(3), 302-306.
- Tesone M., Bilotas M., Barañao R. I. ve Meresman, G. (2008). The role of gnRh analogues in endometriosis-associated apoptosis and angiogenesis. *Gynecologic And Obstetric Investigation*, 66(Suppl. 1), 10-18.
- Thiyagarajan D. K. (2021). *BHJR. Physiology, Menstrual Cycle*. Statpearls, Statpearls Publishing.
- Thomadaki H., Scorilas A. (2006). BCL2 family of apoptozis-related genes: functions and clinical implications in cancer. *Crit. Rev. Clin. Lab. Sci.*, 43(1):1-67.
- Tosti C., Pinzauti S., Santulli P., Chapron C. ve Petraglia F. (2015). Pathogenetic mechanisms of deep infiltrating endometriosis. *Reproductive Sciences*, 22(9), 1053-1059.
- Tsai H. W., Huang M. T., Wang P. H., Huang B. S., Chen Y. J., Hsieh S. L. (2018). Decoy receptor 3 promotes cell adhesion and enhances endometriosis development. *J. Pathol.*, 244, 189-202.

- Tsuda T., Harada T., Iwabe T., Tanikawa M., Nagano Y., Ito M., Taniguchi F., Terakawa N. (2000). Altered gene expression and secretion of interleukin-6 in stromal cells derived from endometriotic tissues. *Fertil Steril*, 73, 205–211.
- Tuzcular Vural E. Z., Gönenç I. (2020). Managing menstrual disorders in primary care. *The Journal of Turkish Family Physician*, 11(1), 21-8.
- Vallvé-Juanico J., Houshdaran S. ve Giudice L. C. (2019). The endometrial immune environment of women with endometriosis. *Human Reproduction Update*, 25(5), 565-592.
- VanPutte, C., Regan, J., & Russo, A. (2016). *Seeley's Essentials of Anatomy and Physiology*. New York: McGraw-Hill Education.
- Vara J. Á. F., Casado E., de Castro J., Cejas P., Belda-Iniesta C. ve González-Barón M. (2004). PI3K/Akt signalling pathway and cancer. *Cancer treatment reviews*, 30(2), 193-204.
- Vaskivuo T. E., Stenback F., Karhumaa P., Risteli J., Dunkel L. ve Tapanainen J. S. (2000). Apoptosis and apoptosis-related proteins in human endometrium. *Mol. Cell Endocrinol*, 165, 75-83.
- Veeraswamy A., Lewis M., Mann A., Kotikela S., Hajhosseini B. ve Nezhat C. (2010). Extragenital endometriosis. *Clinical Obstetrics and Gynecology*, 53(2), 449-466.
- Vercellini P. ve ark. (2007). Association between endometriosis stage, lesion type, patient characteristics and severity of pelvic pain symptoms: a multivariate analysis of over 1000 patients. *Human Reproduction*, 22(1), 266-271.
- Vercellini P., Viganò P., Somigliana E., Fedele L. (2014). Endometriosis: pathogenesis and treatment. *Nat. Rev. Endocrinol.*, 10(5), 261-75.
- Vermeulen N., Abrao M. S., Einarsson J. I., Horne A. W., Johnson N. P., Lee T. T. M., ... ve Zondervan K. T. (2021). International working group of AAGL, ESGE, ESHRE And WES, endometriosis classification, staging and reporting systems: a review on the road to a universally accepted endometriosis classification. *Human Reproduction Open*, 2021(4).
- Viatour P., Merville M. P., Bours V. ve Chariot A. (2005). Phosphorylation of NF-κB and IκB proteins: implications in cancer and inflammation. *Trends in Biochemical Sciences*, 30(1), 43-52.
- Vinatier D., Orazi G., Cosson M. ve Dufour P. (2001). Theories of endometriosis. *European Journal of Obstetrics and Gynecology and Reproductive Biology*, 96(1), 21-34.
- Wang N., Liu B., Liang L., Wu Y., Xie H., Huang J., ... ve Ke, P. (2014). Antiangiogenesis therapy of endometriosis using PAMAM as a gene vector in a noninvasive animal model. *Biomed Research International*, 2014.

- Wang Shichao ve Xuanjun Zhang. (2021). Design Strategies of photoacoustic molecular probes. *Chembiochem* 22(2), 308-316.
- Wang Y. F. (2011). Mechanism of Gene Regulation by the NF- κ B P52 Homodimer and Bcl3. (Doktora Tezi) UC San Diego.
- Watanabe H., Kanzaki H., Narukawa S., Inoue T., Katsuragawa H., Kaneko Y., Mori T. (1997). Bcl-2 and fas expression in eutopic and ectopic human endometrium during the menstrual cycle in relation to endometrial cell apoptosis. *Am J Obstet Gynecol.*, 176:360–8.
- Webster, G. A., & Perkins, N. D. (1999). Transcriptional cross talk between NF- κ B and p53. *Molecular and cellular biology*, 19(5), 3485-3495.
- Wei H., Wang B., Miyagi M., She Y., Gopalan B., Huang D. B., ... ve Lu T. (2013). PRMT5 dimethylates R30 of the p65 subunit to activate NF- κ B. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 110(33), 13516-13521.
- Weibel E. R. (1979). Morphometry of the human lung: the state of the art after two decades. *Bulletin European De Physiopathologie Respiratoire*, 15(5), 999-1013.
- Welt C.K. ve ark. (1997). Frequency modulation of follicle-stimulating hormone (fsh) during the luteal-follicular transition: evidence for fsh control of inhibin b in normal women. *J Clin. Endocrinol Metab.*, 82(8), 2645-52.
- Wickremasinghe R. G., Hoffbrand A. G. (1999). Biochemical and genetic control of apoptosis: relevance to normal hematopoiesis and hematological malignancies. *Blood*, 11, 3587- 3600.
- Wieser F., Vigne J. L., Ryan I., Hornung D., Djlali S., Taylor R. N. (2005). Sulindac suppresses nuclear factor- κ b activation and rantes gene and protein expression in endometrial stromal cells from women with endometriosis. *J Clin Endocrinol Metab.*, 90, 6441–7.
- Witz C. A., Montoya-Rodriguez I. A., Miller D. M., Schneider B. G., Schenken R. S. (1998). Mesothelium expression of integrins in vivo and in vitro. *J Soc Gynecol Invest*, 5, 87–93.
- Wolf, P., Schoeniger A. ve Edlich F. (2022). Pro-Apoptotic complexes of BAX and BAK on the outer mitochondrial membrane. *Biochimica Et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research*, 1869(10), 119317.
- Wu J. E., Ding J., Yang J., Guo X. ve Zheng, Y. (2018). MicroRNA roles in the nuclear factor kappa b signaling pathway in cancer. *Frontiers in Immunology*, 9, 546.
- Wu M. Y. ve Ho H. N. (2003). The role of cytokines in endometriosis. *American Journal of Reproductive Immunology*, 49(5), 285-296.
- Wu M., Zhang Y. (2021). Mir-182 inhibits proliferation, migration, invasion and inflammation of endometrial stromal cells through deactivation of nf- κ b

- signaling pathway in endometriosis. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 476, 1575-88.
- Xiao G., Rabson A. B., Young W., Qing G. ve Qu Z. (2006). Alternative pathways of nf-kb activation: a double-edged sword in health and disease. *Cytokine and Growth Factor Reviews*, 17(4), 281–293.
- Xiu-Li W., Wen-Jun C., Hui-Hua D., Su-Ping H., Shi-Long F. (2009). ERB-041, a selective ER beta agonist, inhibits inos production in LPS-Activated peritoneal macrophages of endometriosis via suppression of NF-κB activation. *Molecular Immunology*, 46, 2413-8.
- Yang E., Korsmeyer S. J. (1996). Molecular thanatopsis: a discourse on the BCL2 family and cell death. *Blood*, 88, 386-401.
- Yu J. J., Sun H. T., Zhang Z. F., Shi R. X., Liu L. B. ve ark. (2016). IL15 promotes growth and invasion of endometrial stromal cells and inhibits killing activity of nk cells in endometriosis. *Reproduction* 152:151–60.
- Yun B. H., Kim S., Chon S. J., Kim G. H., Choi Y. S., Cho S. ve ark. (2021). High mobility group Box-1 promotes inflammation in endometriotic stromal cells through toll-like receptor 4/nuclear factor-kappa b. *American Journal of Translational Research*, 13, 1400–10.
- Zanello M., Borghese G., Manzara F., Degli Esposti E., Moro E., Raimondo D. and Seracchioli R. (2019). Hormonal replacement therapy in menopausal women with history of endometriosis: a review of literature. *Medicina*, 55(8), 477.
- Zdrojkowski Ł., Jasiński T., Ferreira-Dias G., Pawliński B., ve Domino M. (2023). The role of nf-kb in endometrial diseases in humans and animals: a review. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(3), 2901.
- Zhang A., Wang G., Jia L., Su T., Zhang L. (2019). Exosome-mediated microrna-138 and vascular endothelial growth factor in endometriosis through inflammation and apoptosis via the nuclear factor-kb signaling pathway. *Int. J. Mol. Med.*, 43, 358-70.
- Zhang H., Li M., Wang F., Liu S., Li J., Wen Z. ve ark. (2010). Endometriotic epithelial cells induce mmps expression in endometrial stromal cells via an nfkappab-dependent pathway. *Gynecol Endocrinol*, 26, 456-67.
- Zhang H., Zhao X., Liu S., Li J., Wen Z., Li M. (2010). 17betae2 promotes cell proliferation in endometriosis by decreasing pten via nfkappab-dependent pathway. *Mol Cell Endocrinol*, 317, 31–43.
- Zhang J. J., Xu Z. M., Zhang C. M., Dai H. Y., Ji X. Q., Wang X. F. ve ark. (2011). Pyrrolidine dithiocarbamate inhibits nuclear factor-kb pathway activation, and regulates adhesion, migration, invasion and apoptosis of endometriotic stromal cells. *Molecular Human Reproduction*, 17, 175-81.

- Zhang L., Li H. H., Yuan M., Li D., Wang G. Y. (2020). Exosomal Mir-22-3p derived from peritoneal macrophages enhances proliferation, migration, and invasion of ectopic endometrial stromal cells through regulation of the SIRT1/NF-Kb signaling pathway. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, 24, 571-80.
- Zhang Q., Lenardo M. J. ve Baltimore D. (2017). 30 years of NF- κ B: a blossoming of relevance to human pathobiology. *Cell*, 168(1), 37-57.
- Zhang, N., Hartig, H., Dzhagalov, I., Draper, D. ve He, Y. W. (2005). The role of apoptosis in the development and function of t lymphocytes. *Cell Research*, 15(10), 749-769.
- Zhao D., Lebovic D. I., Taylor R. N. (2002). Long-Term progestin treatment inhibits RANTES (Regulated on Activation, Normal T Cell Expressed and Secreted) gene expression in human endometrial stromal cells. *J Clin. Endocrinol Metab.*, 87, 2514-9.
- Zhao G., Su Z., Song D., Mao Y. ve Mao X. (2016b). The long noncoding RNA MALAT 1 Regulates the lipopolysaccharide-induced inflammatory response through its interaction with nf-kb. *FEBS Letters*, 590(17), 2884-2895.
- Zhao Y., Chen Y., Kuang Y., Bagchi M. K., Taylor R. N., Katzenellenbogen J. A. ve ark. (2016). Multiple beneficial roles of repressor of estrogen receptor activity (REA) in suppressing the progression of endometriosis. *Endocrinology*, 157, 900-12.
- Zheng J., Shao S., Dai C., Guan S., Chen H. (2020). Mir-9-5p promotes the invasion and migration of endometrial stromal cells in endometriosis patients through the SIRT1/NF-Kb pathway. *Int. J. Clin. Exp. Pathol.*, 13, 1859-66.
- Zhou B., Rao L., Peng Y., Wang Y., Qie M., Zhang Z., ... ve Zhang L. (2010). A functional promoter polymorphism in nfkb1 increases susceptibility to endometriosis. *DNA and Cell Biology*, 29(5), 235-239.
- Zhu F., Liu M., Pan Y., Wang X., Chen Y. (2015). Small hairpin RNA targeting inhibition of nf-kb gene in endometriosis therapy of macaca fascicularis. *Zhonghua Fu Chan Ke Za Zhi*, 50, 48-53.
- Zinatizadeh M. R., Schock B., Chalbatani G. M., Zarandi P. K., Jalali S. A. ve Miri S. R. (2021). The nuclear factor kappa b (NF- κ B) signaling in cancer development and immune diseases. *Genes and Diseases*, 8(3), 287-297.
- Zito G., Luppi S., Giolo E., Martinelli M., Venturin I., Di Lorenzo G. ve Ricci G. (2014). Medical treatments for endometriosis-associated pelvic pain. *Biomed Research International*, 2014.