

← Adınızı soyadınızı giriniz

Tez kabul edildikten sonra yapılan **sabit ciltte sırt yazısı** bu şablona göre yazılacak. Yazılar tek satır olacak  
Cilt sırtı yazıların yönü yukarıdan aşağıya  
(sol yandaki gibi) olacak .

← Tez, Yüksek Lisans'sa, YÜKSEK LİSANS TEZİ;  
Doktora ise DOKTORA TEZİ ifadesi kalacak

← Tez Sınavının yapılacağı yılı yazınız



**T.C.  
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ-CERRAHPAŞA  
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ**



**DOKTORA TEZİ**

**ENDOMETRİOZİS PATOGENEZİNDE ENDOPLAZMİK  
RETİKULUM STRESİNİN ROLÜ**

**TUĞBA EKİZ YILMAZ**

**TEZ DANIŞMANI  
PROF. DR. E. ELİF GÜZEL MEYDANLI**

**II. TEZ DANIŞMANI  
PROF. DR. ÜMİT ALİ KAYIŞLI**

**HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI  
HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ PROGRAMI**

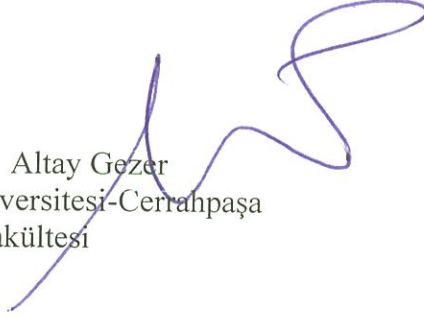
**İSTANBUL-2018**

Bu çalışma 12.12.2018 Tarihinde aşağıdaki jüri tarafından  
Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Histoloji ve Embriyoloji Doktora Programı Doktora  
Tezi olarak kabul edilmiştir.

TEZ JÜRİSİ

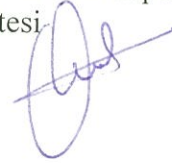


Prof. Dr. E. Elif Güzel Meydanlı  
İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa  
Tıp Fakültesi



Prof. Dr. Altay Gezer  
İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa  
Tıp Fakültesi

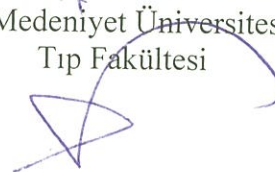
Prof. Dr. Meral Koyutürk  
İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa  
Tıp Fakültesi



Prof. Dr. Feriha Ercan  
Marmara Üniversitesi  
Tıp Fakültesi



Doç. Dr. Ünal Uslu  
Medeniyet Üniversitesi  
Tıp Fakültesi



**BEYAN**

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

TUĞBA EKİZ YILMAZ

## İTHAF

Canım kızım DOĞA'ya ithaf ediyorum...

## TEŞEKKÜR

Tezimin her aşamasında değerli bilgileriyle bana yol gösteren ve tüm doktora eğitimim boyunca benden bilgi ve desteğini hiçbir zaman esirgemeyen sayın danışman hocam Prof. Dr. E. Elif Güzel Meydanlı'ya teşekkürlerimi sunarım.

Deney süreçlerinde yaşadığımız aksiliklerde ve olumsuzluklarda tecrübeleriyle beni yönlendiren ikinci danışmanım Güney Florida Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı Öğretim üyesi Prof. Dr. Ümit Ali Kayışlı'ya teşekkürlerimi sunarım.

Tezimin in vitro kısmında çalışma vaka örneklerini sağlayan Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı başkanı Prof. Dr. Altay Gezer'e ve aseptik servis asistanlarına teşekkürlerimi sunarım.

Tezimin in vivo kısmında arşiv parafın blok dokularını sağlayan Ankara Tıp Fakültesi Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı'ndan Doç. Dr. Duygu Kankaya ve Uzman Dr. Cevriye Cansız Ersöz'e teşekkürlerimi sunarım.

Doktora eğitimim boyunca akademik olarak yetişmemde büyük payı olan, bilgilerinden ve tecrübelerinden faydalandığım histoloji ve embriyoloji anabilim dalı değerli hocalarım Prof. Dr. İsmail Seçkin, Prof. Dr. Meral Koyutürk, Prof. Dr. Faruk Alkan, Prof. Dr. Mustafa Taşyürekli, Prof. Dr. Şenol Ertürkoğlu, Doç Dr. Gözde Erkanlı'ya teşekkürlerimi sunarım.

Tüm doktora eğitimim boyunca her türlü aşamada ve konuda yanımda olan, deney süreçlerimde yaşadığımız aksiliklerde ve sorunlarda en büyük destekçim olan çalışma arkadaşlarım Başak Işıldar ve Zehra Sezer'e teşekkürlerimi sunarım.

Doktora eğitimim süresince her açıdan yardım ve sonsuz manevi destekleriyle yanımda olan çok değerli arkadaşlarım Serbay Özkan, Halil İbrahim Saygı, Selenay Furat Rençber, Belisa Kaleci, Aslı Emincik, Sibel Demirci Delipınar, Duygu Neccar ve Nurdan Olcar'a teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmam süresince manevi destek ve tecrübeleriyle her zaman yanımda olan Doç. Dr. Gamze Tanrıverdi, Doç. Dr. Pelin Ertürküner, Dr. Emine Mamal, Dr. Burcu Biltekin, Ercüment Boztaş ve Azize Gümüşyazıcı'ya teşekkürlerimi sunarım.

Hayatımın her anında yanımda olan ve desteklerini her zaman hissettiğim canım aileme teşekkürlerimi sunarım.

Tüm bu zorlu tez sürecinde bana her zaman destek olan ve beni motive eden eşim Ümit Yılmaz'a ve tezimi ithaf ettiğim, varlığı ile yüzümü güldüren biricik güzel kızım Doğa'ma sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 21864

## İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI .....	İ
BEYAN.....	İİİ
İTHAF.....	İV
TEŞEKKÜR.....	V
İÇİNDEKİLER .....	VI
ŞEKİLLER LİSTESİ .....	İX
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ .....	XIV
ÖZET .....	XVI
ABSTRACT.....	XVII
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER .....	4
2.1. Uterus Anatomisi ve Histolojisi.....	4
2.1.1. Endometrium Histolojisi .....	5
2.1.1.1. Menstrual Siklus Fazları .....	7
2.1.2. Endometriumun Damarlanması .....	10
2.2. Endoplazmik Retikulum Stresi .....	11
2.2.1. Katlanmamış Protein Yanıtı (UPR) .....	11
2.2.1.1. UPR Yolak Aktiflenmesi .....	12
2.2.1.2. Aktiflenen UPR Yolaklarının Alt Yolakları .....	12
2.3. Endometriozis .....	14
2.3.1. Endometriozis Patogeneğinde Öne Sürülen Teoriler .....	15
2.3.1.1. Retrograd Menstruasyon Teorisi.....	15
2.3.1.2. Çöломik Metaplazi Teorisi .....	15
2.3.1.3. Kök Hücre Teorisi.....	16
2.3.1.4. Doğrudan Transplantasyon Teorisi .....	16
2.3.1.5. Lenfatik ve Vasküler Disseminasyon Teorisi .....	16
2.3.1.6. İndüksiyon teorisi.....	16
2.3.2. Endometriozis Sınıflandırması.....	17
2.3.3. Endometriozis ve İnfertilite İlişkisi.....	19
2.3.3.1. Endometriozisin Hipofiz-Ovaryum Geri Bildirimi Üzerindeki Etkileri .....	19

2.3.3.2. Endometriozisin Ovaryum-Folikülogenez Üzerindeki Etkileri .....	20
2.3.3.3. Endometriozisin Ovulasyon Üzerindeki Etkileri .....	20
2.3.3.4. Endometriozisin Oosit Kalitesi Üzerindeki Etkileri .....	21
2.3.3.5. Endometriozisin Embriyo Gelişimi Üzerindeki Etkileri.....	21
2.3.3.6. Endometriozisin Uterus Reseptivitesi Üzerindeki Etkileri .....	22
2.3.3.7. Endometriozisin Embriyo İmplantasyonu Üzerindeki Etkileri.....	22
2.3.3.8. Endometriozisin Fallop Tüpleri ve Embriyo Transferi Üzerindeki Etkisi...22	
2.4. Endometriozis Teşhisi.....	23
2.4.1. Klinik Tanı .....	23
2.4.2. Laparoskopi.....	23
2.4.3. Görüntüleme Yöntemleri .....	23
2.4.4. Serum Belirteçleri .....	24
2.4.5. Endometrial Sinir Lifleri .....	24
2.5. Periton Sıvısı.....	24
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	26
3.1. In Vivo İnsan Endometrium Dokuları .....	26
3.2. İnsan Endometrial Primer Stromal Hücre Kültürü .....	26
3.2.1. İnsan Endometrial Primer Stromal Hücre Kültürü Prosedürü .....	26
3.3. Periton Sıvısı.....	29
3.4. Hücre Kültürü Deney Prosedürü.....	29
3.5. Işık Mikroskopik İnceleme .....	31
3.5.1. İmmünohistokimya .....	31
3.5.2. İmmünositokimya .....	32
3.6. İstatistik.....	33
3.7. Kullanılan Malzemeler ve Cihazlar .....	34
3.7.1. Kimyasal Malzemeler .....	34
3.7.2. Alet ve Teçhizat .....	35
3.7.3. Cihazlar .....	36
4. BULGULAR.....	37
4.1. İmmünohistokimyasal Bulgular.....	37
4.1.1. p-IRE1 İmmünohistokimyasal İşaretleme.....	37
4.1.1.1. Normal Endometriumun Bez Epitelinde ve Stromal Hücrelerdeki p-IRE1 Ekspresyonunun Faz Dağılımı .....	37

4.1.1.2. Ötopik Endometriumun Bez Epitelinde ve Stromal Hücrelerdeki p-IRE1 Ekspresyonunun Faz Dağılımı .....	40
4.1.1.3. Ektopik Endometriumun Bez Epitelinde ve Stromal Hücrelerdeki p-IRE1 Ekspresyonunun Faz Dağılımı .....	42
4.1.1.4. Menstrual Siklus Fazlarında p-IRE1 Ekspresyon Düzeylerinin Normal, Ötopik ve Ektopik Endometrium Arasında Karşılaştırılması .....	44
4.1.2. p-PERK İmmünohistokimyasal İşaretlemesi .....	46
4.1.2.1. Normal Endometriumun Bez Epitelinde ve Stromal Hücrelerdeki p-PERK Ekspresyonunun Faz Dağılımı .....	46
4.1.2.2. Ötopik Endometriumun Bez Epitelinde ve Stromal Hücrelerdeki p-PERK Ekspresyonunun Faz Dağılımı .....	49
4.1.2.3. Ektopik Endometriumun Bez Epiteli ve Stromal Hücrelerdeki p-PERK Ekspresyonunun Faz Dağılımı .....	51
4.1.2.4. Menstrual Siklus Fazlarında p-PERK Ekspresyon Düzeylerinin Normal, Ötopik ve Ektopik Endometrium Arasında Karşılaştırılması .....	53
4.1.3. ATF6 İmmünohistokimyasal İşaretlemesi .....	55
4.1.3.1. Normal Endometriumun Bez Epiteli ve Stromal Hücrelerdeki ATF6 Ekspresyonunun Faz Dağılımı .....	55
4.1.3.2. Ötopik Endometriumun Bez Epiteli ve Stromal Hücrelerdeki ATF6 Ekspresyonunun Faz Dağılımı .....	58
4.1.3.3. Ektopik Endometriumun Bez Epiteli ve Stromal Hücrelerdeki ATF6 Ekspresyonunun Faz Dağılımı .....	60
4.1.3.4. Menstrual Siklus Fazlarında ATF6 Ekspresyon Düzeylerinin Normal, Ötopik ve Ektopik Endometrium Arasında Karşılaştırılması .....	62
4.2. Hücre Kültürü Deney Bulguları .....	64
4.2.1. İmmünohistokimyasal İşaretleme .....	65
4.2.1.1. p-IRE1 İmmünohistokimya işaretleme.....	65
4.2.1.2. p-PERK İmmünohistokimya İşaretleme.....	73
4.2.1.3. ATF6 İmmünohistokimya İşaretleme.....	80
5. TARTIŞMA .....	87
KAYNAKLAR .....	105
ETİK KURUL KARARI .....	121
İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI.....	122
ÖZGEÇMİŞ .....	123

## ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2-1: Uterus anatomisi.....	4
Şekil 2-2: Uterus histolojisi .....	5
Şekil 2-3: Endometrium histolojisi .....	7
Şekil 2-4: Menstrual siklus boyunca hormon düzeyleri. ....	9
Şekil 2-5: Endometriumun damarlanması .....	10
Şekil 2-6: ER stresi sonucu aktive olan UPR sinyalizasyonunun alt yolları .....	14
Şekil 2-7: Endometriozis implantasyon bölgeleri.....	15
Şekil 2-8: Endometriozis sınıflandırması sistemi I.....	18
Şekil 2-9: Endometriozis sınıflandırma sistemi II .....	19
Şekil 3-1: Primer insan endometrial stromal hücre kültürü aşamaları.....	28
Şekil 3-2: Endometrial stromal primer kültür hücreleri.....	29
Şekil 3-3: Hücre kültürü deney grupları .....	30
Şekil 4-1:Normal endometrium bez epitelinde p-IRE1 immünoreaktivitesinin menstrual faz dağılımının H-skor ortalama değerleri.....	38
Şekil 4-2:Normal endometrium stromal hücrelerdeki p-IRE1 immünoreaktivitesinin menstrual faz dağılımının H-skor ortalama değerleri.....	39
Şekil 4-3:Normal endometrium bez epiteli ve stromal hücrelerdeki p-IRE1 işaretlemesinin faz dağılımını gösteren ışık mikrograflar. ....	39
Şekil 4-4:Ötopik endometrium bez epitelinde p-IRE1 immünoreaktivitesinin menstrual faz dağılımının H-skor ortalama değerleri.....	40
Şekil 4-5:Ötopik endometrium stromal hücrelerdeki p-IRE1 immünoreaktivitesinin menstrual faz dağılımının H-skor ortalama değerleri. ....	41
Şekil 4-6:Ötopik endometrium bez epiteli ve stromal hücrelerdeki p-IRE1 işaretlemesinin faz dağılımını gösteren ışık mikrograflar. ....	41
Şekil 4-7:Ektopik endometrium bez epitelinde p-IRE1 immünoreaktivitesinin menstrual faz dağılımının H-skor ortalama değerleri.....	42
Şekil 4-8:Ektopik endometrium stromal hücrelerdeki p-IRE1 immünoreaktivitesinin menstrual faz dağılımının H-skor ortalama değerleri.....	43
Şekil 4-9:Ektopik endometrium bez epiteli ve stromal hücrelerdeki p-IRE1 işaretlemesinin faz dağılımını gösteren ışık mikrograflar. ....	43

Şekil 4-10:Menstrual siklus fazlarında normal, ötopik ve ektopik endometrium bez epiteline p-IRE1 immünoreaktivitesinin H-skor ortalama değerleri. . . . .	45
Şekil 4-11:Menstrual siklus fazlarında normal, ötopik ve ektopik endometrium stromal hücrelerdeki p-IRE1 immünoreaktivitesinin H-skor ortalama değerleri. . . . .	45
Şekil 4-12:Menstrual siklus fazlarında normal, ötopik ve ektopik endometrium bez epiteli ve stromal hücrelerdeki p-IRE1 işaretlemesine ait ışık mikrograflar. . . . .	46
Şekil 4-13:Normal endometrium bez epiteline p-PERK immünoreaktivitesinin menstrual faz dağılımının H-skor ortalama değerleri. . . . .	47
Şekil 4-14:Normal endometrium stromal hücrelerdeki p-PERK immünoreaktivitesinin menstrual faz dağılımının H-skor ortalama değerleri. . . . .	48
Şekil 4-15:Normal endometrium bez epiteli ve stromal hücrelerdeki p-PERK işaretlemesinin faz dağılımını gösteren ışık mikrograflar. . . . .	48
Şekil 4-16:Ötopik endometrium bez epiteline p-PERK immünoreaktivitesinin menstrual faz dağılımının H-skor ortalama değerleri. . . . .	49
Şekil 4-17:Ötopik endometrium stromal hücrelerdeki p-PERK immünoreaktivitesinin menstrual faz dağılımının H-skor ortalama değerleri. . . . .	50
Şekil 4-18:Ötopik endometrium bez epiteli ve stromal hücrelerdeki p-PERK işaretlemesinin faz dağılımını gösteren ışık mikrograflar. . . . .	50
Şekil 4-19:Ektopik endometrium bez epiteline p-PERK immünoreaktivitesinin menstrual faz dağılımının H-skor ortalama değerleri. . . . .	51
Şekil 4-20:Ektopik endometrium stromal hücrelerdeki p-PERK immünoreaktivitesinin menstrual faz dağılımının H-skor ortalama değerleri. . . . .	52
Şekil 4-21:Ektopik endometrium bez epiteli ve stromal hücrelerdeki p-PERK işaretlemesinin faz dağılımını gösteren ışık mikrograflar. . . . .	52
Şekil 4-22:Menstrual siklus fazlarında normal, ötopik ve ektopik endometrium bez epiteline p-PERK immünoreaktivitesinin H-skor ortalama değerleri. . . . .	53
Şekil 4-23:Menstrual siklus fazlarında normal, ötopik ve ektopik endometrium stromal hücrelerdeki p-PERK immünoreaktivitesinin H-skor ortalama değerleri. . . . .	54
Şekil 4-24:Menstrual siklus fazlarında normal, ötopik ve ektopik endometrium bez epiteli ve stromal hücrelerdeki p-PERK işaretlemesine ait ışık mikrograflar. . . . .	55
Şekil 4-25:Normal endometrium bez epiteline ATF6 immünoreaktivitesinin menstrual faz dağılımının H-skor ortalama değerleri. . . . .	56

Şekil 4-26:Normal endometrium stromal hücrelerdeki ATF6 immünoreaktivitesinin menstrual faz dağılımının H-skor ortalama değerleri..	57
Şekil 4-27:Normal endometrium bez epiteli ve stromal hücrelerdeki ATF6 işaretlemesinin faz dağılımını gösteren ışık mikrograflar...	57
Şekil 4-28:Ötopik endometrium bez epitelinde ATF6 immünoreaktivitesinin menstrual faz dağılımının H-skor ortalama değerleri..	58
Şekil 4-29:Ötopik endometrium stromal hücrelerdeki ATF6 immünoreaktivitesinin menstrual faz dağılımının H-skor ortalama değerleri..	59
Şekil 4-30:Ötopik endometrium bez epiteli ve stromal hücrelerdeki ATF6 işaretlemesinin faz dağılımını gösteren ışık mikrograflar..	59
Şekil 4-31:Ektopik endometrium bez epitelinde ATF6 immünoreaktivitesinin menstrual faz dağılımının H-skor ortalama değerleri..	60
Şekil 4-32:Ektopik endometrium stromal hücrelerdeki ATF6 immünoreaktivitesinin menstrual faz dağılımının H-skor ortalama değerleri..	61
Şekil 4-33:Ektopik endometrium bez epiteli ve stromal hücrelerdeki ATF6 işaretlemesinin faz dağılımını gösteren ışık mikrograflar..	61
Şekil 4-34:Menstrual siklus fazlarında normal, ötopik ve ektopik endometrium bez epitelinde ATF6 immünoreaktivitesinin H-skor ortalama değerleri..	63
Şekil 4-35:Menstrual siklus fazlarında normal, ötopik ve ektopik endometrium stromal hücrelerdeki ATF6 immünoreaktivitesinin H-skor ortalama değerleri..	63
Şekil 4-36:Menstrual siklus fazlarında normal, ötopik ve ektopik bez epiteli ve stromal hücrelerdeki ATF6 işaretlemesine ait ışık mikrograflar..	64
Şekil 4-37:Kontrol periton sıvısı uygulanan endometrial stromal hücrelerin, (A) 5. saat, (B) 24. saat, endometriozis periton sıvısı uygulanan endometrial stromal hücrelerin (C) 24. saat (D) 48. saatlerde çekilmiş fotoğrafları..	65
Şekil 4-38: Kontrol PS uygulanan endometrial stromal hücrelerde, zamana ve konsantrasyona bağlı p-IRE1 immunoreaktivitesinin H skor ortalama değerleri.....	66
Şekil 4-39: Kontrol PS'nin düşük konsantrasyonda uygulandığı endometrial stromal hücrelerde, 10 dk (A), 30 dk (B), 60 dk (C) negatif kontrol (D) p-IRE1 işaretlemesinin ışık mikrografları ..	67
Şekil 4-40: Kontrol PS'nin yüksek konsantrasyonda uygulandığı endometrial stromal hücrelerde 10 dk (A), 30 dk (B), 60 dk (C) p-IRE1 işaretlemesinin ışık mikrografları..	68

Şekil 4-41: Endometriozis PS uygulanan endometrial stromal hücrelerde, zamana ve konsantrasyona bağlı p-IRE1 immunoreaktivitesinin H skor ortalama değerleri.....	69
Şekil 4-42: Endometriozis PS'nin düşük konsantrasyonda uygulandığı endometrial stromal hücrelerde 10 dk (A), 30 dk (B), 60 dk (C) 24 s (D), 48 s (E) p-IRE1 işaretlemesinin ışık mikrografları.. .....	70
Şekil 4-43: Endometriozis PS'nin yüksek konsantrasyonda uygulandığı endometrial stromal hücrelerde 10 dk (A), 30 dk (B), 60 dk (C), 24 s (D), 48 s (E) p-IRE1 işaretlemesinin ışık mikrografları.. .....	71
Şekil 4-44: Kontrol ve endometriozis PS'nin düşük konsantrasyonda uygulandığı endometrial stromal hücrelerde, zamana bağlı p-IRE1 immunoreaktivitesinin H skor ortalama değerleri.. .....	72
Şekil 4-45: Kontrol ve endometriozis PS'nin yüksek konsantrasyonda uygulandığı endometrial stromal hücrelerde, zamana bağlı p-IRE1 immunoreaktivitesinin H skor ortalama değerleri... .....	72
Şekil 4-46: Kontrol PS uygulanan endometrial stromal hücrelerde, zamana ve konsantrasyona bağlı p-PERK immunoreaktivitesinin H skor ortalama değerleri.....	73
Şekil 4-47: Kontrol PS'nin düşük konsantrasyonda uygulandığı endometrial stromal hücrelerde, 10 dk (A), 30 dk (B), 60 dk (C) p-PERK işaretlemesinin ışık mikrografları, p-PERK immunoreaktivitesinin spesifik lokasyonu (D).....	74
Şekil 4-48: Kontrol PS'nin yüksek konsantrasyonda uygulandığı endometrial stromal hücrelerde 10 dk (A), 30 dk (B), 60 dk (C) p-PERK işaretlemesinin ışık mikrografları. ....	75
Şekil 4-49: Endometriozis PS uygulanan endometrial stromal hücrelerde, zamana ve konsantrasyona bağlı p-PERK immunoreaktivitesinin H skor ortalama değerleri.....	76
Şekil 4-50: Endometriozis PS'nin düşük konsantrasyonda uygulandığı endometrial stromal hücrelerde 10 dk (A), 30 dk (B), 60 dk (C) 24 s (D), 48 s (E) p-PERK işaretlemesinin ışık mikrografları.. .....	77
Şekil 4-51: Endometriozis PS'nin yüksek konsantrasyonda uygulandığı 10 dk (A), 30 dk (B), 60 dk (C), 24 s (D), 48 s (E) p-PERK işaretlemesinin ışık mikrografları.....	78
Şekil 4-52: Kontrol ve endometriozis PS'nin düşük konsantrasyonda uygulandığı endometrial stromal hücrelerde, zamana bağlı p-PERK immunoreaktivitesinin H skor ortalama değerleri.. .....	79

Şekil 4-53: Kontrol ve endometriozis PS'nin yüksek konsantrasyonda uygulandığı endometrial stromal hücrelerde, zamana bağlı ATF6 immunoreaktivitesinin H skor ortalama değerleri.....	79
Şekil 4-54: Kontrol PS uygulanan endometrial stromal hücrelerde, zamana ve konsantrasyona bağlı ATF6 immunoreaktivitesinin H skor ortalama değerleri.....	80
Şekil 4-55: Kontrol PS'nin düşük konsantrasyonda uygulandığı endometrial stromal hücrelerde, 10 dk (A), 30 dk (B), 60 dk (C) ATF6 işaretlemesinin ışık mikrografları, ATF6 immunoreaktivitesinin spesifik lokasyonu (D). .....	81
Şekil 4-56: Kontrol PS'nin yüksek konsantrasyonda uygulandığı endometrial stromal hücrelerde 10 dk (A), 30 dk (B), 60 dk (C) ATF6 işaretlemesinin ışık mikrografları....	82
Şekil 4-57: Endometriozis PS uygulanan endometrial stromal hücrelerde, zamana ve konsantrasyona bağlı ATF6 immunoreaktivitesinin H skor ortalama değerleri.....	83
Şekil 4-58: Endometriozis PS'nin düşük konsantrasyonda uygulandığı endometrial stromal hücrelerde 10 dk (A), 30 dk (B), 60 dk (C) 24 s (D), 48 s (E) ATF6 işaretlemesinin ışık mikrografları.....	84
Şekil 4-59: Endometriozis PS'nin yüksek konsantrasyonda uygulandığı endometrial stromal hücrelerde 10 dk (A), 30 dk (B), 60 dk (C), 24 s (D), 48 s (E) ATF6 işaretlemesinin ışık mikrografları.....	85
Şekil 4-60: Kontrol ve endometriozis PS'nin düşük konsantrasyonda uygulandığı endometrial stromal hücrelerde, zamana bağlı ATF6 immunoreaktivitesinin H skor ortalama değerleri.....	86
Şekil 4-61: Kontrol ve endometriozis PS'nin yüksek konsantrasyonda uygulandığı endometrial stromal hücrelerde, zamana bağlı ATF6 immunoreaktivitesinin H skor ortalama değerleri.....	86

**SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ**

- ASRM:** Amerika Üreme Tıbbı Derneği
- ATF4:** Aktive Edici Transkripsiyon Faktörü 4
- ATF6:** Aktive Edici Transkripsiyon Faktörü 6
- CHOP:** C/EBP Homolog Protein
- DNA:** Deoksiribonükleik Asit
- eIF2 $\alpha$ :** Ökaryotik Translasyon Başlatıcı Faktör 2 Alfa
- ER:** Endoplazmik Retikulum
- ERAD:** ER İlişkili Yıkım
- RIDD:** IRE1 Bağımlı Protein Yıkımı
- FSH:** Folikül Uyarıcı Hormon
- LH:** Lüteinleştirici Hormon
- GADD34:** Büyüme Durdurucu DNA Hasar Protein 34
- GnRH:** Gonadotropin Serbestleştirici Hormon
- GRP78:** Glukozun Düzenlediği Protein 78
- H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>:** Hidrojen Peroksit
- HRP:** Horseradish Peroksidaz
- IRE1:** İnozitol Gerektiren Kinaz 1
- p-eIF2 $\alpha$ :** Fosforillenmiş eIF2 $\alpha$
- PBS:** Fosfat Tampon Solüsyonu
- PERK:** Protein Kinaz RNA Benzeri ER Kinaz
- T-PBS:** Tween'li Fosfat Tampon Solüsyonu
- UPR:** Katlanmamış Protein Yanıtı
- XBP1:** X-Box-Binding Protein 1
- AEC:** Aminoetil Karbazol

**HBSS:** Hank's Dengeli Tuz Solusyonu

**LUFS:** Çatlamamış Yumurta Sendromu

**PS:** Periton Sıvısı

**DK:** Düşük konsantrasyon

**CT:** Tomografi

**YK:** Yüksek konsantrasyon

**Dk:** Dakika

**S:** Saat

**MRG:** Magnetik rezonans görüntüleme

**FBS:** Fetal Bovin Serum

**BSA:** Bovin Serum Albumin

## ÖZET

Ekiz Yılmaz, T. (2018). Endometriozis Patogenezinde Endoplazmik Retikulum Stresinin Rolü. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Histoloji ve Embriyoloji ABD. Doktora Tezi. İstanbul.

Endometriozis, endometrial dokunun uterus dışında var olup büyümesidir. Besin tükenmesi, hipoksi vb. nedenler, katlanmamış proteinlerin endoplazmik retikulum (ER) lümeninde birikmesine yol açarak ER stresine neden olur ve katlanmamış protein yanıtı (UPR) indüklenir. Periton sıvısı (PS) hücreden ve proteinden zengin bir sıvı olup, endometriozis patogenezinde önemli rol oynar. Çalışmamızda, endometriozis patogenezinde ER stresinin rolünün in vivo olarak parafin bloklarda ve in vitro olarak endometriozisli PS uygulanan endometrial stromal hücrelerde UPR yolakları üzerinden gösterilmesi amaçlandı.

Normal, ötopik ve ektopik endometrium dokuları menstrual siklus fazlarına ayrıldı. p-IRE1, p-PERK ve ATF6 sinyal proteinleri açısından immunohistokimyasal olarak değerlendirildi. Endometrial stromal hücreler, %10-%20 konsantrasyonda kontrol ve endometriozisli PS ile 10-30-60dk ve 24-48saat muamele edildi. Hücrelerdeki p-IRE1, p-PERK ve ATF6 ekspresyon düzeyleri immunositokimyasal olarak değerlendirildi. Veriler istatistiksel olarak karşılaştırıldı.

p-IRE1, erken proliferatif fazda ektopik endometrium bez epitelinde ve stromal hücrelerde; erken sekretuar fazda bez epitelinde, normal, ötopik endometriuma kıyasla artmış bulundu. p-PERK, ektopik endometriumdaki bez epiteli ve stromal hücrelerde geç proliferatif fazda normal, ötopik endometriuma kıyasla artıp, geç sekretuar fazda normal endometriuma kıyasla azaldığı saptandı. ATF6, erken sekretuar faz haricinde ektopik endometrium bez epitelinde normal, ötopik endometriuma kıyasla artmış bulundu. Yüksek konsantrasyonda endometriozis PS verilen endometrial stromal hücrelerde, kontrole kıyasla, 10-30-60dk'lardaki p-IRE1 ve p-PERK artış gösterdi. Endometriozis PS verilen endometrial stromal hücrelerde her iki konsantrasyonda da p-IRE1'in 24 ve 48. saatlerde 10-30-60dk'ya kıyasla azaldığı görüldü.

Çalışmamızda endometriozis patogenezinde UPR yolaklarının aktive olduğu; p-PERK/p-IRE1'in stromal hücrelerde periton sıvısına yüksek doz maruziyet sonucu arttığı gösterilmiştir. Bu sinyal proteinleri endometriozis tanısına ve tedavi araçlarının geliştirilmesine yönelik potansiyel biyo-belirteçler olarak kullanılabilir.

**Anahtar Kelimeler:** Endometriozis, Endoplazmik Retikulum Stresi, Periton Sıvısı, Primer İnsan Endometrial Stromal Hücreler, Endometrium

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 21864

## ABSTRACT

Ekiz Yılmaz, T. (2018). The Role of Endoplasmic Reticulum Stress in Endometriosis Pathonegesis. İstanbul University, Institute of Health Science, Histology and Embriology Department. PhD Thesis. İstanbul.

The growth of endometrium outside of the uterus is called endometriosis. Nutrient depletion, hypoxia etc. cause endoplasmic reticulum (ER) stress by accumulation of the unfolded proteins in the lumen of the ER and induce the unfolded protein response (UPR). Peritoneal fluid (PF) is cell and protein rich liquid and plays an important role in the pathogenesis of endometriosis. The aim of this study was to demonstrate the role of ER stress in endometriosis pathogenesis in vivo and in endometrial stromal cells treated with PF in endometriosis in vitro via UPR pathways.

Normal, eutopic and ectopic endometrium tissues were divided into menstrual cycle phases. p-IRE1, p-PERK and ATF6 proteins were analyzed immunohistochemically. Endometrial stromal cells were treated with %10-%20 concentration of control and endometriosis PF for 10-30-60min and 24-48hr. p-IRE1, p-PERK and ATF6 expression levels in cells were evaluated immunocytochemically. The data were compared statistically.

p-IRE1 increased in ectopic endometrial gland epithelium and stromal cells in early proliferative phase; in the gland epithelium in early secretory phase, compared to normal, eutopic endometrium. p-PERK also increased in ectopic endometrial gland epithelium and stromal cells in the late proliferative phase compared to normal, eutopic endometrium and decreased in late secretory phase compared to normal endometrium. ATF6 increased in ectopic endometrial gland epithelium compared to normal, eutopic endometrium except for the early secretory phase. p-IRE1 and p-PERK increased in stromal cells treated with high concentration of endometriosis PF in 10-30-60min compared to control. p-IRE1 decreased at 24 and 48 hr in stromal cells treated with both concentrations of endometriosis PF compared to 10-30-60min.

It has been shown that activated UPR pathways in endometriosis pathogenesis and increased p-PERK and p-IRE1 as a result of high dose exposure to peritoneal fluid in stromal cells. Thus, these signal proteins can be used as potential biomarkers both for the diagnosis of endometriosis and the development of therapeutic tools.

**Key Words:** Endometriosis, Endoplasmic Reticulum Stress, Peritoneal Fluid, Primary Human Endometrial Stromal Cells, Endometrium

The present work was supported by the Research Fund of İstanbul University. Project No. 21864

## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

İlk olarak 1860 yılında Von Rokitansky tarafından tespit edilen endometriozis, endometrial dokunun uterin kavitenin dışında ektopik olarak büyümesi ile karakterize edilen yaygın bir jinekolojik hastalık olup, reproduktif yaştaki kadınların %10'unu, infertil kadınların ise %50'sini etkilemektedir (Delbandi ve ark. 2013; Rizner 2015). Pelvik ağrı, dismenore ve fertilitenin azalmasına bağlı olarak yaşam kalitesini düşüren endometriozis ile ilgili çok sayıda araştırma yapılmasına rağmen patogenezi hala tam olarak bilinmemektedir (Goteri 2010; Tasuku Harada ve ark. 2001). Ektopik endometrial hücreler varlığını sürdürüp implante olabilmek için, apoptozdan kurtulmalı, peritona yapışabilmeli, altında yatan hücre dışı maddeyi degrade edebilmeli, neovaskularizasyon oluşturabilmeli, steroidogenik kapasite kazanmalı ve immün gözetleme sisteminden kurtulmalıdır. Bu nedenle endometriozise duyarlılığı arttıran çok yönlü faktörler bulunmaktadır (Lin 2012).

Endoplazmik retikulum (ER), hormonlar, büyüme faktörleri ve membran reseptörleri gibi membran proteinlerinin ve salgılanan proteinlerin sentezi, olgunlaşması, katlanması ve sıralanmasında, kalite kontrolünün yapılmasında ve proteinlerin nihai hücre içi ve hücre dışı hedeflerine ulaştırılmasında vazgeçilmez rol oynayan bir hücre organelidir (Yung ve ark. 2011; Burman ve ark. 2018; Morris ve ark. 2018). Diğer yandan, besin tükenmesi, hipoksi, iskemi, glikozilasyon durumundaki değişiklikler, pH değişiklikleri, zayıf vaskularizasyon, kalsiyum homeostazındaki değişiklikler, oksidatif stres, viral ya da bakteriyel enfeksiyon ve çeşitli ajanlarla tedavi gibi nedenlerle ER homeostazında herhangi bir hasar olması, hatalı katlanmış ya da katlanmamış proteinlerin ER lümeninde birikmesine yol açar. Bu birikim ER stresine neden olur. Bu durumda ER hayatta kalımı arttırmak adına ER fonksiyonundaki karışıklığın ve ER stresinin üstesinden gelmek için, katlanmamış protein yanıtı (UPR) denilen spesifik sinyal yollarını aktive eder (Yung ve ark. 2011; Wang ve ark. 2018).

ER stresinde UPR'ın 3 sinyal yolağı ile düzenlendiği belirtilmiştir: protein kinaz RNA benzeri endoplazmik retikulum kinaz (PERK), inositol-gerektiren kinaz 1 (IRE1) ve aktive edici transkripsiyon faktörü-6 (ATF6) (Jager ve ark. 2012; Repo ve ark. 2014; Rahman ve ark. 2018). Bu sinyal yolları yanlış katlanmış proteinleri tespit etmek için sensör gibi görev alırlar (Morris ve ark. 2018). Her bir ER stres sensörü UPR'ın farklı kollarını aktive ederek ER homeostazını onarmak için bir takım koruyucu

mekanizmaları aktive eder. Eğer bu mekanizmalar ER stresini baskılamak için yeterli olamazlar ve ER stresi devam ederse, apoptotik yolağın aktivasyonu ile hücre apoptoza gider (Dicks ve ark. 2015).

ER stres yokluğunda, GRP78 ER transmembran proteinleri olan PERK, IRE1 ve ATF6'nın luminal kısımlarına bağlı halde bulunarak bu proteinlerin aktivasyonunu engeller ve inaktif durumda kalmalarını sağlar. ER stresi oluştuğunda ise GRP78, UPR efektörlerinden ayrılır ve yanlış katlanmış proteinlere direkt olarak bağlanır. GRP78, PERK, IRE1 ve ATF6'dan ayrılınca, bu efektörlerin blokajı ortadan kalkar, her bir efektör oligomerizasyon ve konformasyonel değişiklikler geçirir ve ilişkili oldukları alt yolaklar aktive olur (Schonthal 2012; Hughes ve Mallucci 2018; Morris ve ark. 2018).

ER stresi ile endometriozis ilişkisi açısından bakıldığında, dinamik sekretuar özellik gösteren özelleşmiş epitelde ER stresi baskın olarak görülür. Endometrial bezler de bu özelleşmiş epitele örnek gösterilebilir. Sitoplazmik proteinlerin aksine, hücre yüzeyine salgılanan proteinler ekzositoz taşınım için uygun glikozilasyon, katlanma ve şaperonlarla etkileşime ihtiyaç duyarlar. Dolayısı ile salgı iş yükü arttıkça buna paralel olarak ER proteinlerine olan ihtiyaç da artar. Protein yanlış katlanmasını takiben ER stresi sırasında sitokin uyarısı ve lipid peroksidasyon aktivasyonu gerçekleşir. Tüm bu durumlar endometrioziste belirgindir (Taylor RN 2009; Wiest ve ark. 1990). Yapılan çalışmalarda, endometriozis patogenezinde yer aldığı düşünülen, epitelyal-mezenkimal ve mezenkimal-epitelyal geçiş benzeri süreçlerin, artmış oksidatif stresin ve anjiyogenez mekanizmalarının ER stresi ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (Matsuzaki, 2012; Van Langendonck, 2002; Rocha ve ark. 2013; Shin ve ark. 2015; Zeeshan ve ark. 2016; Wang ve ark. 2016; Kuo ve ark. 2013).

Bu bilgilere ek olarak, endometriozis patogenezinde GRP78'in rolünü araştırmak amacıyla grubumuzun yaptığı bir çalışmada, insan normal endometriumunda ve endometriozisli kadınların ötopik ve ektopik dokularında GRP78 ekspresyonu in vivo olarak değerlendirilmiş, ektopik epiteldeki GRP78 immünoreaktivitesinin aynı hastanın ötopik endometriumuna kıyasla istatistiksel olarak daha fazla olduğu gözlenmiştir. Ektopik endometriumda artmış GRP78 ekspresyonu, endometriozis patogenezinde UPR'in rolü olduğunu düşündürmüştür (Guzel ve ark. 2010).

Bu bilgiler ışığında, çalışmamızın in vivo kısmında amacımız, endometriozis patogenezinde ER stresinin etkisini ve rolünü açıklığa kavuşturmak ve bu etkiyi UPR'in hangi yolak ya da yolakları üzerinden gösterdiğini belirlemektir. Bu amaçla, daha önce

endometriozisli hastalardan alınıp patolojiye gelen ve parafine gömülmüş halde bulunan ötopik ve ektopik endometrium dokuları ile normal endometrium arşiv dokuları geriye dönük (retrospektif) olarak toplandı, menstrual siklus fazlarına ayrıldı ve immunohistokimyasal analiz ile her bir UPR sinyal yolağı (p-IRE1, p-PERK ve ATF6) açısından karşılaştırmalı olarak değerlendirildi.

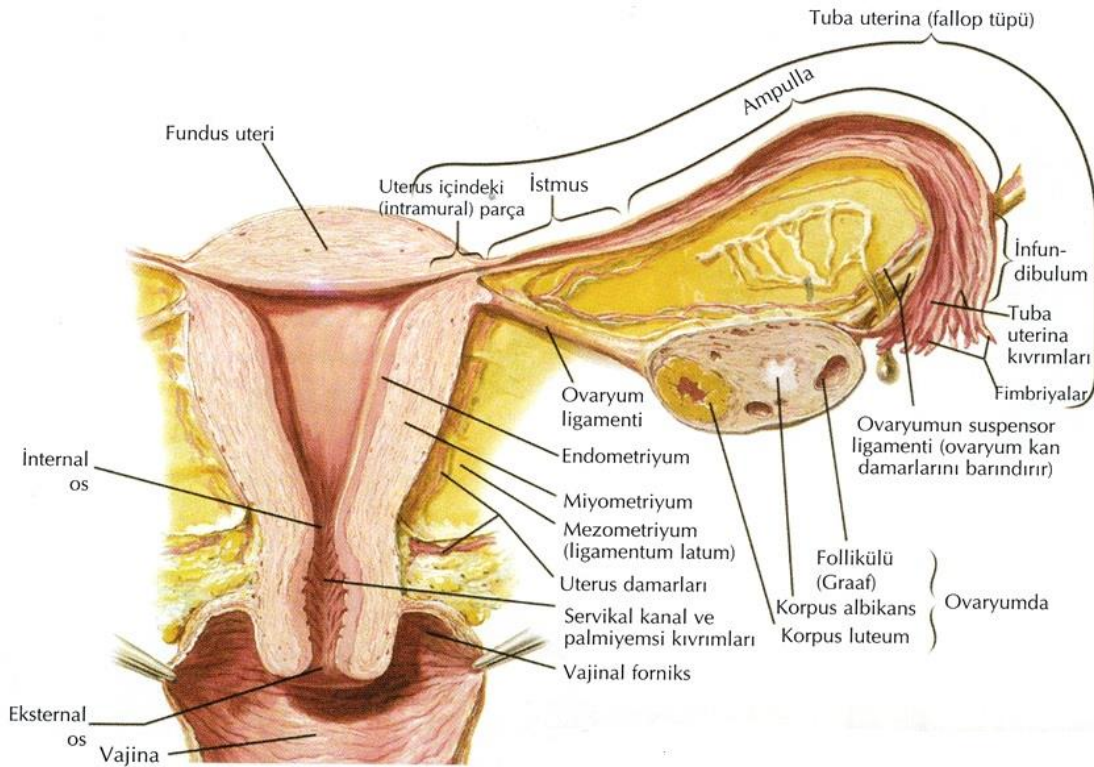
Diğer yandan, 1970'li yılların sonlarında araştırılmaya başlanan periton sıvısı, peritonun karın iç duvarını örten parietal ve iç organların yüzeyini örten viseral yaprakları arasında kalan periton boşluğunda bulunur ve bu iki zar arasındaki sürtünmeyi engeller. Periton sıvısı makrofaj, eritrosit, mezotelyal hücre, endometrial hücre, lenfosit, eozinofil ve mast hücrelerini içeren hücreden ve proteinden zengin bir sıvıdır. Ektopik lezyonlar da, pelvik peritonda periton sıvısı içinde bulunurlar. Dolayısı ile periton sıvısında bulunan hücresel ve biokimyasal bileşenlerin, endometriozis patogenezinde önemli rol oynadığı düşünülmektedir (Halme ve ark. 1988; Koutsilieris ve ark. 1991). Periton sıvısı, hastalıkla ilgili potansiyel taşıdığı geniş bilgilerden dolayı, endometriozis üzerine yapılan araştırmaların odak noktası olmuştur (Mulayim ve Arici 1999). Dolayısıyla, periton sıvısı içerikleri ve bu içeriklerin endometriozis gelişimindeki etkileri, endometriozis patogenezini daha iyi anlayabilmek için önemli bir hedefdir (Cosı'n ve ark. 2010; Berbic ve Fraser 2011).

Bu bilgiler ışığında çalışmamızın in vitro kısmında amacımız, endometriozisli periton sıvısının, insan primer endometrial stromal hücrelerdeki ER stresi üzerine etkilerini ortaya koymak, in vivo çalışmamıza paralel olarak, endometriozis oluşumu ve ilerleyişinde herhangi bir etkisinin olup olmadığını incelemek ve bu etkiyi UPR'ın hangi yolak ya da yolakları üzerinden gösterdiğini belirlemektir. Bu amaçla, insan primer endometrial stromal hücreler, konsantrasyona ve zamana bağlı olarak kontrol ve endometriozisli periton sıvıları ile muamele edildi ve bu hücrelerdeki p-IRE1, p-PERK ve ATF6 ekspresyon düzeyleri immunositokimya analizi ile karşılaştırmalı olarak değerlendirildi.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Uterus Anatomisi ve Histolojisi

Anatomik olarak pelvisin orta hattında bulunan, önde mesane ve arkada rektuma komşu yerleşik olan uterus; tek, içi boş, armut şeklinde ve kalın duvarlı, boyutları değişkenlik gösteren kaslı bir organdır. Boyu ortalama 7 cm, üst kısmında genişliği 5 cm ve kalınlığı da 2,5 cm'dir. Gebe olmayan uterus lümeni yaklaşık 10 ml hacminde iken, doğuma kadar 5 litreden daha fazla hacme sahip olabilir (Dalçık ve Yıldırım 2009 p. 21; Ross ve Pawlina 2011 p. 848; Gartner 2017 pp.541-542). (Şekil 2.1).



**Şekil 2-1: Uterus anatomisi- Müftüoğlu ve ark. (2009)'dan.**

Uterus anatomik olarak 2 bölgeye ayrılır:

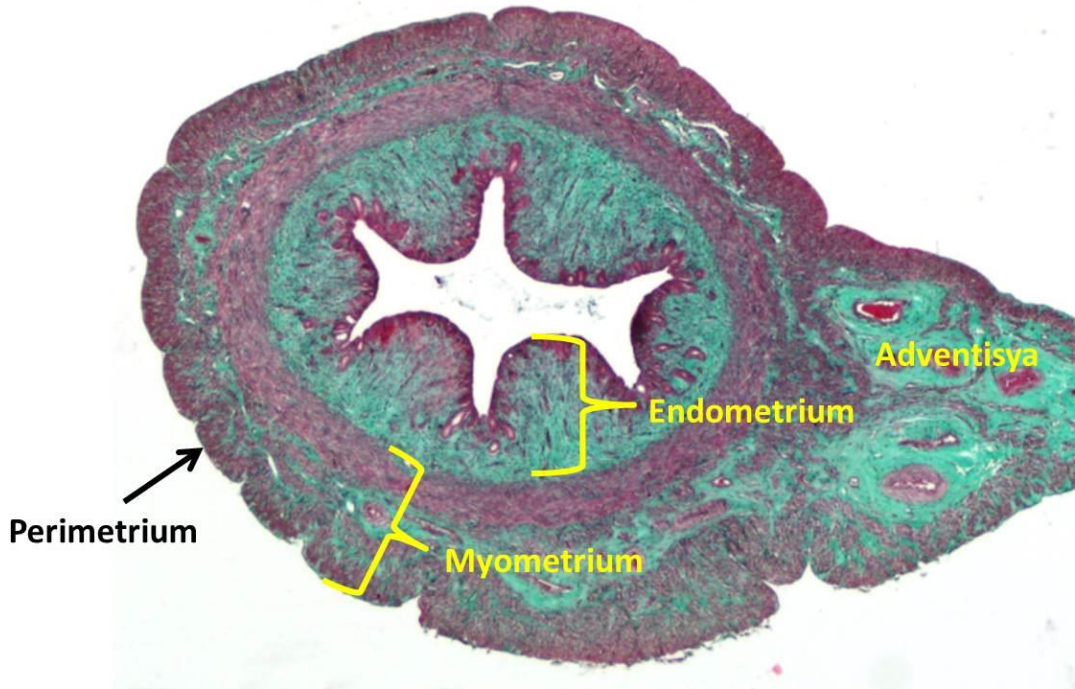
**Gövde**, uterusun üst 2/3'lük büyük kısmıdır. Anteriyor yüzeyi düze yakın olup, posteriyor yüzeyi konvektir. Gövdenin tuba uterinaların açıldığı yerin üstünde bulunan, genişlemiş yuvarlak parçasına **fundus** denir.

**Serviks**, uterusun alta doğru daralarak vajinaya açılan 1/3'lük silindirik biçimli kısmıdır. 1 cm'lik kısa bir parça olan **istmus**, serviks ile uterus gövdesini birbirinden ayırır. Serviksin lümeni, diğer adı ile servikal kanal, her iki ucunda da internal os ve

eksternal os olarak adlandırılan dar açıklıklara sahiptir. İnternal os, uterus lümenine açılırken eksternal os vajinaya açılır (Dalçık ve Yıldırım 2009 p. 21; Ross ve Pawlina 2011 p. 848; Gartner 2017 p. 542). (Şekil 2.1).

Uterusun duvarı üç tabakadan oluşmaktadır. Bu tabakalar lümeden dışa doğru aşağıdaki gibidir.

1. **Endometrium**; İnce, iç tabaka olup, uterusun mukozasıdır.
2. **Miyometrium**; Damardan zengin, kalın düz kas tabakasıdır. Tuba uterinanın ve vajinanın kas tabakası ile devamlılık gösterir.
3. **Perimetrium**; Uterusu kaplayan ince dış seröz tabakadır (visseral periton tabakası). Miyometriuma sıkıca tutunmuştur. Pelvik ve abdominal periton ile devam eder. Perimetrium anterior yüzeyin bir kısmını kaplarken posterior yüzeyin tamamını kaplar. Anterior yüzeyin idrar kesesine komşu olan kısmı ise adventisya ile kaplıdır (Dalçık ve Yıldırım 2009 p.21; Ross ve Pawlina 2011 pp. 848-849). (Şekil 2.2).



**Şekil 2-2: Uterus histolojisi-**İÜ Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı preparat arşivi'nden alınmıştır.

### 2.1.1. Endometrium Histolojisi

Endometrium, uterusun mukozal tabakası olup, tek katlı prizmatik epitelden ve onun altındaki lamina propriyadan oluşur. Epitel, silli prizmatik hücreler ve sil

içermeyen sekretuar prizmatik hücrelerden oluşurken, lamina propriya miyometriuma kadar uzanan ve yüzey epitelinin lamina propriyaya çökmesi ile oluşmuş basit, dallanmış tübüler bezler içerir. Bu bez hücreleri yüzey epiteline benzerlik gösterse de silli hücre içermezler. Ayrıca lamina propriya, retiküler liflerden yoğun düzensiz sıkı bağ dokusu özelliğinde olup, yıldızsı hücre, makrofaj ve lökosit gibi hücrelerden de zengindir (Dalçık ve Yıldırım 2009 p. 21; Gartner 2017 pp. 542-543) (Şekil 2.3).

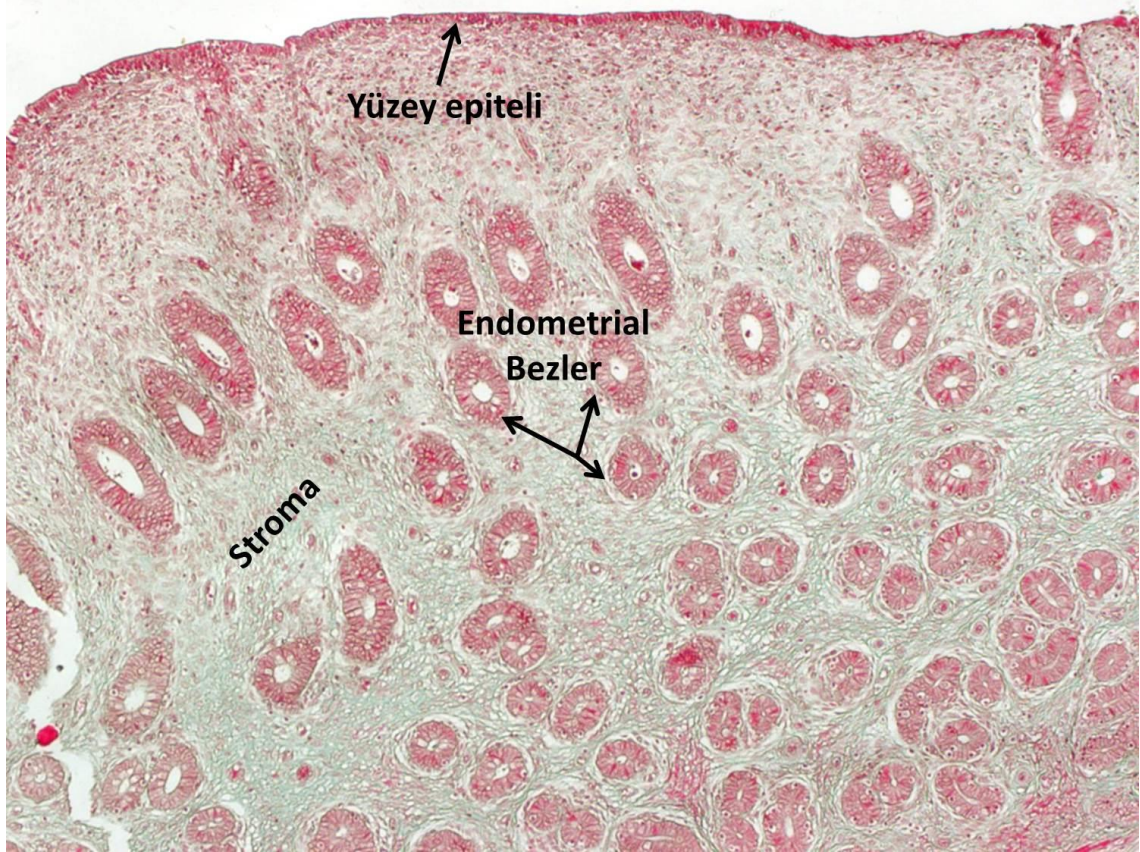
Endometrium işlevsel olarak 2 tabakadan oluşur:

1. **Fonksiyonel tabaka:** Menstruasyon sırasında dökülen yüzeysel tabakadır. 2 alt tabakadan oluşur:

**a. İnce kompakt tabaka;** sıkıca paketlenmiş bağ dokusudur ve uterus bezlerinin boyun kısmını çevreler.

**b. Kalın spongiyoz tabaka;** uterus bezlerinin genişlemiş, sarmaşık şeklindeki gövdelerinin bulunduğu, ödemli yapıdaki bağ dokusundan oluşur.

2. **Bazal tabaka:** Yaklaşık 1 mm kalınlığında olup, bazalde yerleşik dar bir tabakadır. Uterus bezlerinin başladığı kör uçları içerir ve menstruasyon sonrasında yenilenecek olan fonksiyonel tabakaya kaynak oluşturur. Kanlanması ayrı olduğu için menstruasyon sırasında dökülmez (Dalçık ve Yıldırım 2009 p. 21; Gartner 2017 p. 543).



**Şekil 2-3: Endometrium histolojisi (erken proliferatif faz) - 'İÜ Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı preparat arşivi'nden alınmıştır.**

Üreme çağında gebelik olmadığı takdirde, endometriumun fonksiyonel tabakası, menstrual siklus sırasında ovaryumdan salgılanan östrojen ve progesteron hormonlarının etkisi altında, her ay morfolojik ve fonksiyonel değişikliklere uğrayarak uterusu embriyo implantasyonuna ve embriyonik gelişim süreçlerine hazırlar (Şekil 2.4). Eğer embriyo implante olup gebelik gerçekleşir ise menstrual siklus biter ve endometrium gebelik fazına geçer (Ross ve Pawlina 2011 p. 849).

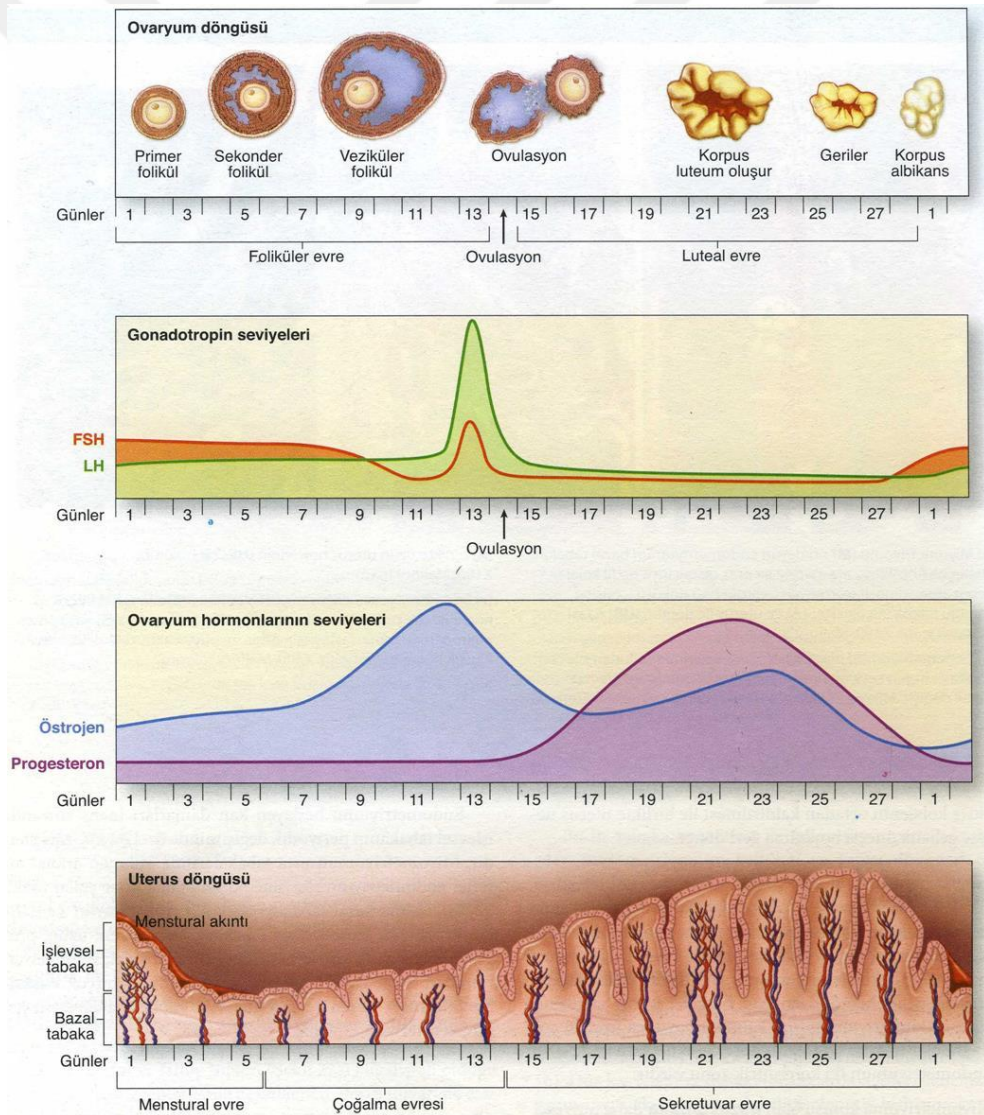
#### 2.1.1.1. Menstrual Siklus Fazları

- 1. Menstrual Faz:** Menstruasyonun 1. günü menstrual siklusun başlangıcıdır. Yüzey epiteli, bezlerin apikal kısımları, stroma ve kan dolu venöz boşluklar içeren fonksiyonel tabakanın büyük bölümü endometriumdan ayrılır. 4-5 gün süren ve vajinal yol ile dışarı atılan menstrual kanama gerçekleşir (Dalçık ve Yıldırım 2009 p. 27; Solakoglu 2015 p. 467).
- 2. Proliferatif Faz:** Menstrual kanamanın yaklaşık 4. ve 5. günde bittiği anda başlayan bu evre, yaklaşık 9 gün sürerek 14. güne kadar devam eder. Endometrium yüzey epitelinin yenilenmesi, bağ dokusunun, lamina propriyadaki

spiral arterlerin ve bezlerin yeniden yapılanması ile fonksiyonel tabakanın yenilenmesi evresidir. Hem epitelde hem de lamina propriyadaki hücrelerde mitoz görülür. Fazın erken evresinde yüzey epiteli yeniden oluşur ve endometriumu örter. Bu süreç gelişen ovaryum foliküllerinden salgılanan östrojen hormonu ile kontrol edilir. Bu proliferasyon ve tamir fazında endometriumun kalınlığı 2-3 kat artarak 2-3 mm olur ve içerdiği su miktarı da artar. Spiral arterler uzar, tübüler bezlerin bazal bölgelerindeki epitel hücreleri yukarıya doğru göç ederek bezlerin sayısı ve uzunluğu artar. Bezler henüz kıvrılmamış olup düzdür, lümenleri dardır ve hücreler bazal kısımlarında glikojen depolamaya başlar (Dalçık ve Yıldırım 2009 p. 27; Ross ve Pawlina 2011 p. 850; Gartner 2017 p. 546).

- 3. Luteal Faz:** Ovulasyon sonrasında başlayan luteal faz yaklaşık 13 gün sürer. Bu dönemde korpus luteum büyür, gelişir ve işlevsel hale gelir. Luteal faz, korpus luteumun granuloza lutein hücrelerinden salgılanan progesteron ve az da olsa teka lutein hücrelerinden salgılanan östrojen hormonu etkisi altındadır. Bu hormonların etkisi ile bezler biriken glikojen salgısıyla genişler, kıvrımları artar ve tırbüşon şeklini alır. Ayrıca bağ dokusu içindeki ödem ve vaskularizasyon artışı ile endometrium kalınlaşarak yaklaşık 5-6 mm olur. Sekresyon ürünü ilk önce hücrelerin bazalinde toplanırken sekresyon üretimi bitince hücrenin apikaline geçerek bez lümenine salgılanır. Bu glikojenden zengin sekresyon plasenta oluşumuna kadar embriyoya besin sağlar. Spiral arterler yüzeyel kompakt tabaka içine doğru büyür ve daha kıvrımlı hale gelir. Venöz ağ daha karmaşık hale gelir ve büyük venöz boşluklar oluşur. Direkt arterio-venöz anostomozlar bu dönemde görülen en önemli yapıdır. Luteal faz siklusun 28. gününde tamamlanır ve yeni bir menstrual siklus başlamış olur. Gebeliğin oluşması sonucu artmış progesteron seviyesi ile ilişkili olarak endometriumdaki stromal hücrelerin büyüyüp sitoplazmalarında lipit ve glikojen depolamasıyla desidual reaksiyon gerçekleşir (Dalçık ve Yıldırım 2009 p. 27; Ross ve Pawlina 2011 p. 850; Gartner 2017 pp. 546-547).
- 4. İskemik Faz:** Fertilizasyon gerçekleşmediği zaman menstrual siklusun sonuna doğru korpus luteumun gerilemesine bağlı olarak kandaki progesteron ve östrojen hormonlarının azalması, iskemik fazı başlatır. Progesterondaki azalmaya bağlı olarak spiral arterlerin aralıklı olarak kasılması ile

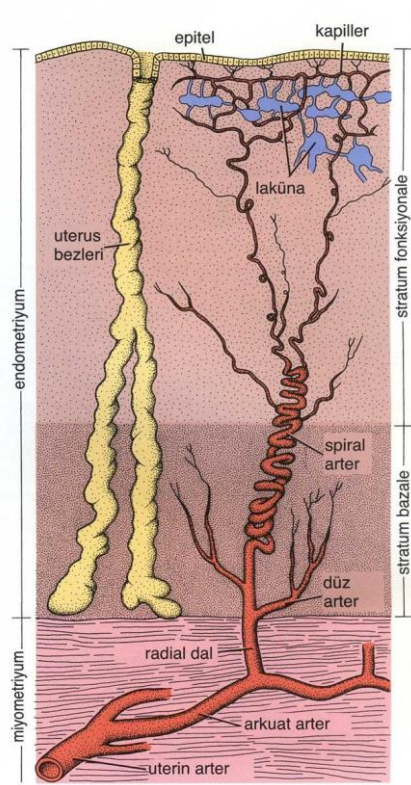
endometriyumun fonksiyonel tabakasında kanlanma azalır. Hipoksik hasara giren hücreler damar geçirgenliğini arttıran ve lökositlerin göçüne sebep olan sitokinleri salgılar. Lökositler bazal membran ve diğer ekstraselüler matriks elemanlarını parçalayan kolejenazları ve matriks metalloproteinazları serbest bırakır. Yaklaşık 2 gün sonra, spiral arterlerin kalıcı olarak kasılması sonucu fonksiyonel tabaka oksijensiz kalır. Bu hipoksik koşul ve iskemi sonrası bezlerin sekresyonları durur, endometriyum sudan yoksunlaşıp büzülür ve endometriyumun fonksiyonel tabakasında nekroza neden olur. Nekroza uğrayan doku menstrual fazda dökülür (Dalçık ve Yıldırım 2009 p. 27; Ross ve Pawlina 2011 p. 852; Gartner 2017 p. 545).



Şekil 2-4: Menstrual siklus boyunca hormon düzeyleri- Solakoğlu (2015)'den.

### 2.1.2. Endometriyumun Damarlanması

Endometriyum menstrual siklus sırasında fonksiyonel tabakanın periyodik değişiminde özel öneme sahip olan, eşsiz bir kan damarı sistemine sahiptir. Miyometriyumun orta tabakasındaki stratum vaskulareden kaynaklanan 6-10 adet arkuat arterler dallanarak radial arterleri oluşturur. Radial arterlerin ana kolu endometriyumun fonksiyonel tabakasına doğru devam edip yüksek düzeyde sarmal hale gelerek spiral arter adını alır. Spiral arterden çıkan çok sayıda arteriyol çoğunlukla anastomozlaşarak fonksiyonel tabakanın bezlerine ve bağ dokusuna zengin kapiler ağı desteği sağlar. Kapiler yatak laküna adı verilen ince duvarlı dilate segmentler içermektedir (Şekil 2.5). Endometriyumu drene eden venöz sistemde de laküna bulunabilmektedir. Menstrual siklus sırasında düz arterler ve spiral arterlerin proksimal parçaları değişmezken, spiral arterlerin distal parçaları östrojen ve progesteron etkisi ile dejenerasyon ve rejenerasyona uğrar. Bazal tabakanın kanlanması ise arkuat arterlerden çıkan kısa düz arterler tarafından sağlanır (Ross ve Pawlina 2011 p. 850; Solakoglu 2015 p. 465; Gartner 2017 p. 543). (Şekil 2.5).



Şekil 2-5: Endometriyumun damarlanması- Ross ve Pawlina (2011)'den.

## 2.2. Endoplazmik Retikulum Stresi

Endoplazmik retikulum (ER), hormonlar, büyüme faktörleri ve membran reseptörleri gibi membran proteinlerinin ve salgılanan proteinlerin sentezi, olgunlaşması, katlanması ve sıralanmasında, kalite kontrolünün yapılmasında ve proteinlerin nihai hücre içi ve hücre dışı hücrel hedeflerine ulaştırılmasında vazgeçilmez rol oynayan bir hücre organelidir (Yung ve ark. 2011; Burman ve ark. 2018; Morris ve ark. 2018). Bir hücre her dakikada  $4 \times 10^6$  protein üretir ve bu proteinlerin en az üçte birinin katlanması ve işlenmesi sorumluluğunu ER taşır (Burman ve ark. 2018). Henüz katlanmamış yeni sentezlenen hidrofobik alanlara bağlanabilen çok sayıda şaperon proteininin varlığı ile optimal protein katlanması kolaylaştırılır, protein-protein agregasyonu önlenir. Fizyolojik koşullar altında protein katlanması ve fonksiyonu, N-bağlı glikolizasyon ve disülfür bağlarının oluşumu ile de kolaylaştırılır (Morris ve ark. 2018). Besin tükenmesi, hipoksi, iskemi, glikozilasyon durumundaki değişiklikler, pH değişiklikleri, zayıf vaskularizasyon, kalsiyum homeostazındaki değişiklikler, oksidatif stres, viral ya da bakteriyel enfeksiyon, çeşitli ajanlarla tedavi gibi nedenlerle ER homeostazında herhangi bir hasar olması, hatalı katlanmış ya da katlanmamış proteinlerin ER lümeninde birikmesine yol açar. Bu birikim ER stresine neden olur. Bu durumda ER, hayatta kalımı arttırmak adına ER fonksiyonundaki karışıklığın ve ER stresinin üstesinden gelmek için, katlanmamış protein yanıtı (UPR) denilen spesifik sinyal yollarını aktive eder (Yung ve ark. 2011; Wang ve ark. 2018).

### 2.2.1. Katlanmamış Protein Yanıtı (UPR)

UPR, ER stresi altında hücrel ölüm veya hayatta kalma yanıtlarını belirlemekten sorumludur (Hong ve ark. 2017). ER stresinde UPR'in 3 sinyal yolağı ile düzenlendiği belirtilmiştir: protein kinaz RNA benzeri endoplazmik retikulum kinaz (PERK), inositol-gerektiren kinaz 1 (IRE1) ve aktive edici transkripsiyon faktörü-6 (ATF6) (Jager ve ark. 2012; Repo ve ark. 2014; Rahman ve ark. 2018). Bu sinyal yolları yanlış katlanmış proteinleri tespit etmek için sensör gibi görev alırlar (Morris ve ark. 2018). Her bir ER stres sensörü UPR'in farklı kollarını aktive ederek ER homeostazını onarmak için bir takım koruyucu mekanizmaları aktive eder. Bu mekanizmalar; (1) ER'ye yeni sentezlenmiş protein girişinin azaltılması amacıyla protein translasyonunun geçici olarak zayıflatılması, (2) protein katlanma kapasitesinin artırılması amacıyla ER genlerinin, moleküler şaperonların ve enzim düzeylerinin

arttırılması, (3) lizozom aracılı otofaji ya da ER ilişkili protein yıkımı (ERAD) yolu ile hatalı katlanmış ya da katlanmamış proteinlerin yıkımının arttırılmasıdır. (Yung ve ark. 2011; Sano ve Reed 2013; Yang ve ark. 2016). Eğer bu mekanizmalar ER stresini baskılamak için yeterli olamazlar ve ER stresi devam ederse, apoptotik yolağın aktivasyonu ile hücre apoptoza gider (Dicks ve ark. 2015).

### **2.2.1.1. UPR Yolak Aktiflenmesi**

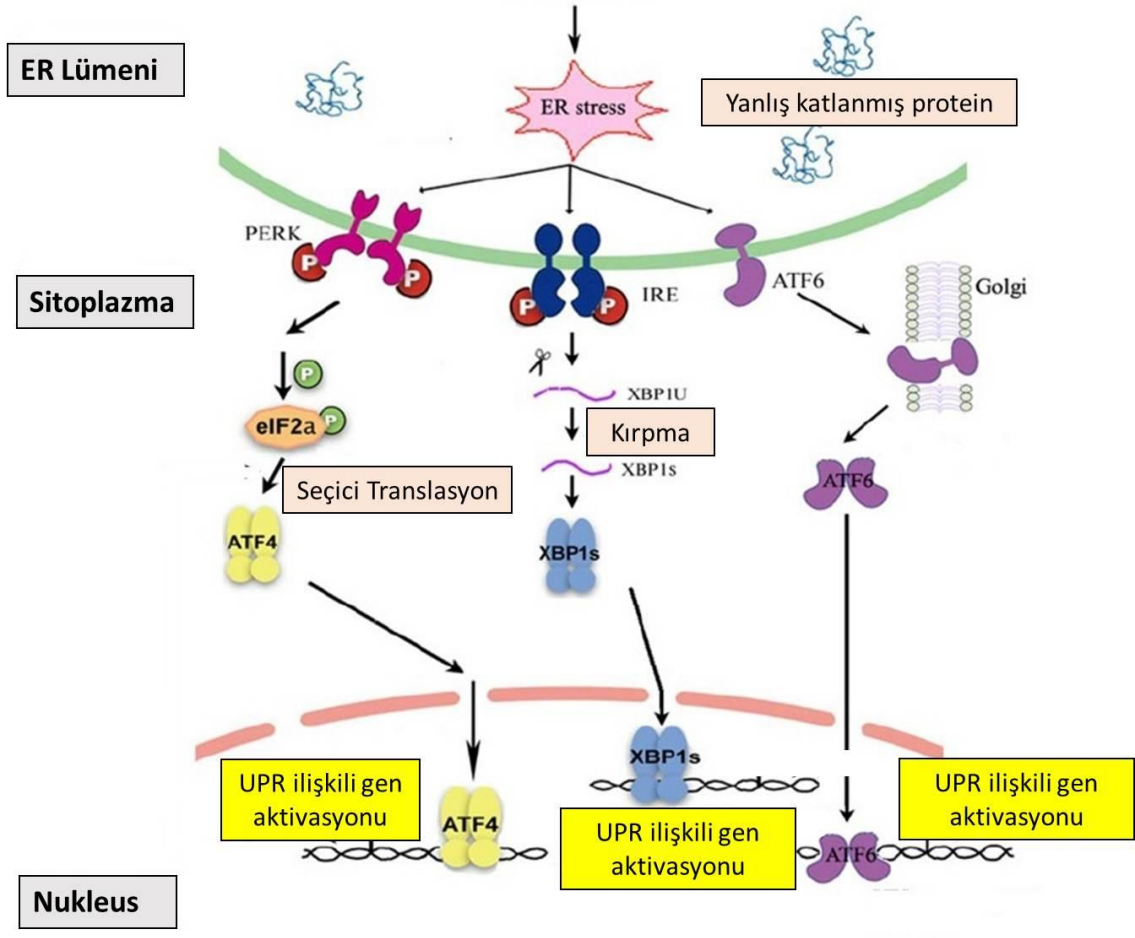
ER stres yokluğunda, GRP78 ER transmembran proteinleri olan PERK, IRE1 ve ATF6'nın luminal kısımlarına bağlı halde bulunarak bu proteinlerin aktivasyonunu engeller ve inaktif durumda kalmalarını sağlar. ER stresi oluştuğunda, yanlış katlanmış proteinlerin varlığında, GRP78, UPR efektörlerinden ayrılır ve yanlış katlanmış proteinlere direkt olarak bağlanır. Bu durumun 2 etkisi olur. Birincisi, GRP78 yanlış katlanmış polipeptidin GRP94 gibi başka şaperonlarca yeniden katlanması için hala katlanabilir durumda kalmasını ya da polipeptidin yıkımı için ER'den çıkartılmasını sağlar. İkincisi, GRP78'in PERK, IRE1 ve ATF6'dan ayrılması, bu efektörlerin blokajını ortadan kaldırır. Reseptörlerin her birinin oligomerizasyon ve konformasyonel değişiklikler geçirmesiyle, bu proteinler ve ilişkili oldukları alt yolaklar aktive olur (Schonthal 2012; Hughes ve Mallucci 2018; Morris ve ark. 2018). (Şekil 2.6).

### **2.2.1.2. Aktiflenen UPR Yolaklarının Alt Yolakları**

IRE1 fungiden metazoanlara kadar bulunan, UPR'ın filogenetik olarak en çok korunmuş ER stres sensörüdür. IRE1'in ER lümenal alt bölgesi, katlanmamış peptitleri tespit eder. Sitoplazmik bölgede yer alan kinaz ve endoribonukleaz alt bölgeleri de bilgiyi alt yolak efektörlerine iletir (Tufanlı ve ark. 2017). GRP78'den ayrılması sonucu IRE1 dimerizasyon ve otfosforilasyon geçirerek sitoplazmik kinaz ve endoribonükleaz aktivasyonu gerçekleşir (Hughes ve Mallucci 2018). IRE1'in endoribonükleaz aktivasyonu sonucu (1) X-box bağlayıcı protein 1 (XBP1) mRNA'sı kırılır ve XBP1s olarak isimlendirilen aktif transkripsiyon faktörü oluşur. XBP1s ATF6 ile birlikte ER şaperonlarını ve ER-ilişkili protein yıkım (ERAD) mekanizmasını kodlayan çok sayıda genin ekspresyonunu sağlar (Tufanlı ve ark. 2017). (2) mRNA'nın IRE1 bağımlı yıkımının (RIDD) kontrolü sağlanır ve XBP1'e zıt olarak ER-ilişkili mRNA'ların yıkımı gerçekleşir. Bu sayede ER'ye gelen protein miktarı azaltılarak ER'deki protein katlanması da azaltılmış olur (Hughes ve Mallucci 2018).

PERK, GRP78'in PERK'ten ayrılması sonucu dimerize olup otofosforilasyon geçirerek aktive olur. Bunu takiben ökaryotik translasyon başlatma faktörü-2 (eIF2)'nin alt ünitesi olan eIF2 $\alpha$ 'nın fosforilasyonu gerçekleşir. Fosforile olan eIF2 $\alpha$ , protein sentezini inhibe eder. Bunun sonucu olarak genel translasyon azaltılır ve buna bağlı olarak da ER'de protein katlanması süreci azaltılmış olur. Diğer yandan ise ATF4'ün transkripsiyonunu aktive eder. ATF4 nukleusa transloke olarak UPR hedef genlerinin transkripsiyonunu indükler (Morris ve ark. 2018). Aynı zamanda ATF4 protein katlanması ve birikmesi, metabolizma, besin alınımı, gen ekspresyonu, oksidatif stresin hafifletilmesi, otofaji ve apoptozun düzenlenmesi ile ilişkilidir (Baird ve Wek 2012; Schonthal 2012). Aşırı ER stres ortamında ATF4, büyüme durdurucu DNA hasar protein 34 (GADD34) ve C/EBP homolog protein (CHOP) gibi pro-apoptotik faktörlerin ekspresyonlarını aktive eder (Burman ve ark. 2018; Morris ve ark. 2018).

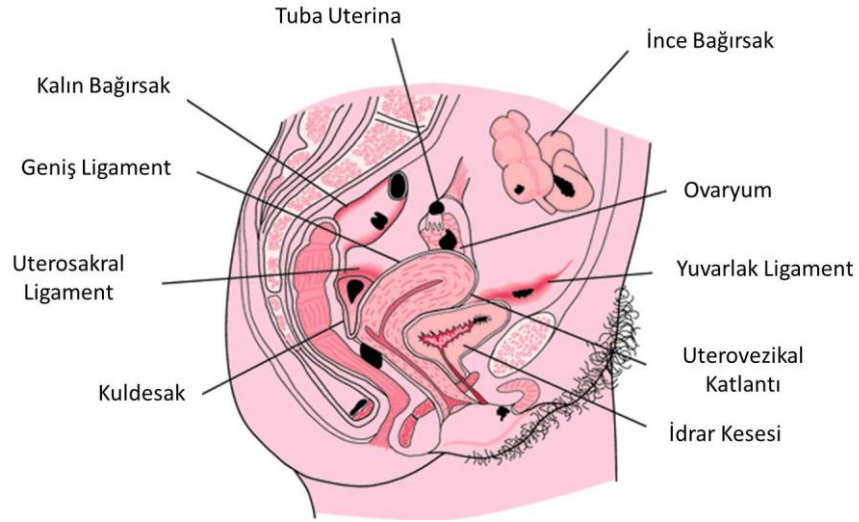
ATF6, ATF6 $\alpha$  ve ATF6 $\beta$  olmak üzere 2 izoformdan oluşur. İkisi de ER transmembran reseptörleri olarak sentezlenen nadir transkripsiyon faktörleridir (Jager ve ark. 2012). ER stresi sonucu GRP78'den ayrılarak aktive olan ATF6, aktif bir transkripsiyon faktörü üretmek için, ER'den Golgi'ye giderek Site-1 ve Site-2 proteazları tarafından sırayla amino terminal ve sitoplazmik karboksi terminal alt bölgelerine parçalanır. Parçalanan sitoplazmik ATF6 nukleusa transloke olur ve protein katlanması, protein sekresyonu ve ERAD'da görev alan çok sayıda gen ekspresyonunu (BİP, protein disülfat izomeraz (PDI), GRP78, GRP94, XBP1, CHOP) uyararak, hücrenin ER stresi ile başa çıkabilmesine destek sağlar (Schonthal 2012; Burman ve ark. 2018).



Şekil 2-6: ER stresi sonucu aktive olan UPR sinyalizasyonunun alt yolları (Hu ve ark. 2012).

### 2.3. Endometriozis

Endometriozis hastalığı, Von Rokitansky tarafından 1860 yılında tespit edilmiş olup (Delbandi ve ark. 2013) endometrial dokunun uterin kavitenin dışında ektopik olarak büyümesi ile karakterize edilen yaygın bir jinekolojik hastalıktır. Verreproduktif yaştaki kadınların %10'unu, infertil kadınların ise %50'sini etkilemektedir (Rizner 2015). Bu ektopik lezyonlar genellikle pelvik organlarda ve peritonda lokalize olup, (Burney ve Giudice 2012) sıklıkla ovaryumlarda, anterior ve posterior kuldesakta, geniş ligamentler ile utero-sakral ligamentlerde, uterusu, uterin tüplerde, sigmoid kolonda ve apendikste; (Macer ve Taylor 2012) seyrek olarak da böbrek, idrar kesesi, akciğer ve hatta beyin gibi vücudun diğer kısımlarında da bulunabilir (Pritts ve Taylor 2003). (Şekil 2.7).



**Şekil 2-7: Endometriozis implantasyon bölgeleri**

‘<https://medical-dictionary.thefreedictionary.com/endometriosis>’den alınmıştır.

Hastalığın gelişimini açıklamak amacıyla çöломik metaplazi (Meyer’in teorisi), vasküler ve lenfatik metastaz (Halban’ın teorisi), embriyonik kalıntı teorisi ve kök/progenitör hücre teorisi gibi çeşitli teoriler öne sürülse de (Delbandi ve ark. 2013), endometriozis gelişiminde en çok kabul gören teori retrograd menstruasyon teorisi (Sampson 1927).

### **2.3.1. Endometriozis Patogenezinde Öne Sürülen Teoriler**

#### **2.3.1.1. Retrograd Menstruasyon Teorisi**

Bu teoriye göre menstruasyon kanaması sırasında, endometrial parçalar uterin tüpler boyunca retrograd yolla peritona göç ederler. Endometriozisli kadınlarda bu parçalar periton duvarına yapışarak hayatta kalabilir, ekstraselüler matriksi parçalayıp proliferere olabilir ve yeni damarlar geliştirerek ektopik lezyonlar oluşturabilir (Delbandi ve ark. 2013; Braza-Boils ve ark. 2015).

#### **2.3.1.2. Çöломik Metaplazi Teorisi**

1942 yılında Gruenwald, özellikle ovaryumda olmak üzere, periton boşluğundaki organlar da dahil herhangi bir organın mezotel hücrelerinin endometriuma farklılaşma geçirebileceğini iddia etmiştir. Çöломik metaplazi teorisi olarak bilinen bu düşünce bir çok yazardan destek gorse de, çöломik metaplazi işleyişi spekülatif kalmıştır (Gruenwald 1942). Steroid hormonların ya da eksojen bileşiklerin normal

mezotel hücrelerinin endometriotik hücelere farklılaşmasını indüklediği kabul edilmektedir. Bu teorinin geçerliliği, adet görmeyen kadınlarda ve hormon tedavisi gören erkeklerde de ara sıra endometriozis varlığının görülebilmesine dayandırılmaktadır. Bu teori için bir diğer destek de, mezotelin bulunduğu her yerde endometriozisin bulunabilir olması tahminidir. Plevral kavitede, diyaframda, beyinde ve diğer organlarda endometriozisin görülebilmesi bunu doğrulamaktadır. Diğer yandan, pelvik bölge dışındaki alanlarda da endometriozisin görülebilmesi, endometrial hücrelerin dolaşım ya da lenf sistemi yoluyla metastaz yaptığı düşüncesini desteklemektedir (Jubanyik ve Comite 1997).

### **2.3.1.3. Kök Hücre Teorisi**

Bu teoriye göre, endometriumun bazal tabakasından, ya da kemik iliğinden köken alarak dolaşıma geçen kök hücreler, farklı anatomik bölgelerde endometriotik dokuya farklılaşabilir (Cristescu ve ark. 2013).

### **2.3.1.4. Doğrudan Transplantasyon Teorisi**

Bu teori, pelvik cerrahi ya da epizyotomi onarım sırasında endometrial dokunun doğrudan transplantasyonunun, perineumda ve abdominal yaralardaki endometriozis varlığına dayandırılır (Cristescu ve ark. 2013).

### **2.3.1.5. Lenfatik ve Vasküler Disseminasyon Teorisi**

Endometrial dokunun anormal lenf ve damar yoluyla uterus dışı dokulara yayıldığını öne süren bu teori, perine, kasık, abdominal insizyonlara yayılım ile desteklenmektedir. Pelvik endometriozisli hastaların otopsi serilerinde pelvik lenf nodlarında %29 oranında endometriozise rastlanmıştır. Ayrıca retroperitoneal bölge lenfatik açıdan zengin olduğundan, izole retroperitoneal lezyon saptanan hastalarda yayılımın lenfatik yolla olduğu düşünülmektedir (Moore ve ark. 1988).

### **2.3.1.6. İndüksiyon teorisi**

Çölomik metaplazi teorisinin bir varyantı olarak sunulmuştur. Bazı hormonal veya biyolojik faktörlerin, farklılaşmamış hücrelerin endometrium dokusuna farklılaşmasına yol açtığı ileri sürülmüştür. Bu maddelerin eksojen veya endometriumdan salınan faktörler olduğu düşünülmektedir (Vinatier ve ark. 2001).

### 2.3.2. Endometriozis Sınıflandırması

Endometriozis sınıflandırılması için bugüne kadar çok sayıda sistem öne sürülmüştür. Günümüzde en yaygın olarak kullanılan sistem ise Amerikan Üreme Sağlığı Derneği (ASRM)'nin 1996'da revize ettiği evreleme sistemidir (Şekil 2.8, Şekil 2.9). Bu sistem ilk olarak 1979 yılında yayınlanmış ve daha sonra 1985 ve 1996'de tekrar düzenlenmiştir (Khazali 2016).

Bu evreleme sistemine göre endometriozis I. evre: minimal, II. evre: hafif, III. evre: orta ve IV. evre: şiddetli olmak üzere 4 evrede sınıflandırılır (Vercellini ve ark. 2014). Bu sınıflandırma, endometriotik lezyonların görünüşü, boyutu ve derinliği; kuldesak boşluğunun tıkanma derecesi ile pelvik adezyonların varlığı, yayılımı ve türleri göz önüne alınarak yapılır. Lezyonların morfolojik görünüşleri kırmızı (kırmızı, kırmızı-pembe ve şeffaf lezyonlar); beyaz (beyaz, sarı-kahverengi ve peritoneal hasarlar) ile siyah (siyah ve mavi lezyonlar) olarak kategorize edilir (ASRM 1997).

- **Minimal Endometriozis (Evre I):** Bu evrede genellikle pelvisteki organlarda veya etrafında küçük lezyonlar ya da şişkinlikler mevcuttur.
- **Hafif Endometriozis (Evre II):** Lezyonlar I. evreye göre daha invaziv olabilsede, yara ya da yapışıklık yoktur ve organların hasarı hala oldukça sınırlıdır.
- **Orta Şiddetli Endometriozis (Evre III):** Bu evrede doku pelvik yan duvarlar dahil olmak üzere pelvik bölgedeki organlara invaze olmaya başlar. Yara ve yapışıklık olabilir.
- **Şiddetli Endometriozis (Evre IV):** Bu evrede hastalık aktif olarak invaze olup, pelvik bölgedeki organları ve ovaryumları etkileyebilir ve bu organlarda şekil değişikliklerine yol açabilir (<https://endometriosisnews.com/2017/07/13/stages-of-endometriosis/>)

Çok sık kullanılmasına rağmen bu sistem semptomların sıklığı ya da şiddeti ve üreme prognozu ile ilişkili herhangi bir sınıflandırmayı içermez (Vercellini ve ark. 2014).

## The Revised AFS Classification of Endometriosis

**AFS Classification of Endometriosis**

Patient's Name \_\_\_\_\_ Date \_\_\_\_\_

Stage I (Minimal) - 1-5 \_\_\_\_\_ Laparoscopy \_\_\_\_\_ Laparoscopy \_\_\_\_\_ Photography \_\_\_\_\_

Stage II (Mild) - 6-15 \_\_\_\_\_ Recommended Treatment \_\_\_\_\_

Stage III (Moderate) - 16-40 \_\_\_\_\_

Stage IV (Severe) - > 40 \_\_\_\_\_

Total \_\_\_\_\_ Prognosis \_\_\_\_\_

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

\* If the fimbriated end of the fallopian tube is completely enclosed, change the point assignment to 16.

Additional Endometriosis: \_\_\_\_\_


Associated Pathology: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_


\_\_\_\_\_

To Be Used with Normal Tubes and Ovaries



L. R.

To Be Used with Abnormal Tubes and/or Ovaries



L. R.

Şekil 2-8: Endometriozis sınıflandırması sistemi I (ASRM 1997)



progesteron hipofizde pozitif ve negatif geri bildirim mekanizması aracılığıyla ovulasyon için bir sinyal olan LH pikinin doğru zamanlamasında önem arz eder (Stilley ve ark. 2012). Endometriozisli kadınlarda ise hipofiz-ovaryum eksenindeki işlev bozukluğunun geri bildirim yolağını etkileyerek ovaryumdaki normal siklik değişiklikleri engellediği gösterilmiştir. Ayrıca bu kadınlarda menstrual siklustaki foliküler faz süresinin daha uzun olduğu görülmektedir (Cheesman ve ark. 1982; Cahill ve ark. 1995). Buna ek olarak, endometriozis bulunan kadınlarda, LH seviyesinin düşük olması ile birlikte LH piki gecikmesi de görülür. Bu bulguların ovaryumlardaki folikül gelişimine, ovulasyona ve korpus luteum gelişimine zarar verdiği düşünülmektedir (Tummon ve ark. 1988; Bancroft ve ark. 1992; Cahill ve ark. 1995).

### **2.3.3.2. Endometriozisin Ovaryum-Folikülogenez Üzerindeki Etkileri**

Ovaryum foliküllerinin büyümesi menstrual siklusta foliküler faz sırasında, ovaryumdan salgılanan hormonların dengesi ile kontrol edilir. Bu hormonlardan FSH ile, foliküllerin büyüüp gelişmesi sağlanırken, hipotalamus-hipofiz-over eksenini geri bildirim mekanizması da gelişen foliküllerden salgılanan östradiol, aktivin ve inhibin ile kontrol edilir (Stilley ve ark. 2012).

Diğer yandan endometriozisi olan kadınlarda folikülogenez sürecinde hasar olduğu bilinmektedir. Bu hastaların ovaryumlarında preovulatuvar foliküllerin sayısında, foliküler büyümede, dominant folikül boyutunda ve folikül östrodiol konsantrasyonunda azalmalar saptanmıştır (Doody ve ark. 1988; Tummon ve ark. 1988; Dlugi ve ark. 1989; Cahill ve ark. 1995). Buna ek olarak, endometriozis hastalarının folikül sıvılarında östrojen, androjen ve progesteron seviyelerinin azalması, aktivin seviyesinin ise arttığı gözlemlenmiştir (Cahill ve ark. 1995). Ayrıca, bu hastaların folikül sıvılarının ve anormal foliküler çevreye yol açan sitokinler ve büyüme faktörleri gibi faktörler içerdiği ve bu faktörlerin de endometriotik lezyonların korunmasına katkı sağlayabileceği gösterilmiştir (Abae ve ark. 1994; Bahtiyar ve ark. 1998; Pellicer ve ark. 1998).

### **2.3.3.3. Endometriozisin Ovulasyon Üzerindeki Etkileri**

Endometriozis hastalarında folikülogenez sürecine ek olarak ovulasyon sürecinin de hasarlı olduğu görülmektedir. Normal ovulasyon sırasında gerçekleşen LH piki ile, oosit-kümüllüs kompleksinin folikülden atılması için granuloza hücreleri, folikül bazal membranı ve teka gibi koruyucu tabakaların geçilmesi olanak sağlayacak proteolitik enzimler, sitokinler, inflamatuvar moleküller ve steroid hormonlarda

değişiklikler meydana gelir (Espey 1980). Endometriozis hastalarında ise LH pikindeki değişiklik ve foliküldeki LH reseptörlerinin yokluğuna bağlı olarak ovulasyonu kolaylaştıran bu süreçlerde hasarlar meydana geldiği gösterilmiştir (Ronnberg ve ark. 1984). Ayrıca oositlerin korpus hemorajikumda sıkışıp kalmaları olarak tanımlanan luteinizan çatlamamış folikül sendromu (LUFS) endometriozis ilişkili infertilite ile ilişkilendirilmiştir (Donnez ve Thomas 1982; Mio ve ark. 1992; Kaya ve Oral 1999).

#### **2.3.3.4. Endometriozisin Oosit Kalitesi Üzerindeki Etkileri**

Endometriozisi olan kadınlarda var olan ovulasyon hasarlarına bağlı olarak sağlıklı kadınlara kıyasla daha az sayıda oosit ovulasyonu gerçekleşir (Cahill ve ark. 1995; Al-Fadhli ve ark. 2006; Kumbak ve ark. 2008). Diğer yandan endometriozisli kadınlarda oositi çevreleyen kümülüs hücrelerinde apoptoz artışı olduğu (Diaz-Fontdevila ve ark. 2009) ve bu hücrelerde görülen ölümlerin oosite gerekli desteğin sağlanamamasından ötürü düşük oosit kalitesine yol açtığı gösterilmiştir (Russell ve Robker 2007). Buna ek olarak oosit kalitesi için diğer bir potansiyel gösterge de morfolojidir. Oosit sitoplazmasının içinde görülen sitoplazmik granulasyon, sitoplazmik granulasyonun merkezi lokalizasyonu ve vokuol varlığı gibi hasarlar ile sitoplazmanın dışında görülen anormal birinci polar cisimcik ve geniş perivitellin alan gibi hasarlar endometriozisli kadınlarda fertilizasyon oranını düşürmektedir (Rienzi ve ark. 2008).

#### **2.3.3.5. Endometriozisin Embriyo Gelişimi Üzerindeki Etkileri**

Endometriozis hastalığının embriyo gelişimi üzerindeki olumsuz etkileri IVF verilerinde ortaya çıkmaktadır. Endometriozisi olan kadınların embriyolarındaki anormal nuklear ve sitoplazmik olaylar sağlıklı kadınlara kıyasla altı kat daha sık görülmektedir (Brizek ve ark. 1995). Bu hastalarda görülen sitoplazmik fragmentasyon, bulanık sitoplazma (Brizek ve ark. 1995), azalmış hücre sayısı (Pellicer ve ark. 1995; Tanbo ve ark. 1995; Garrido ve ark. 2002), gelişimi ilerlemeyen embriyo oranındaki artış (Yanushpolsky ve ark. 1998; Garrido ve ark. 2002) gibi bulgular transfer edilebilecek blastosist sayısının belirgin olarak azalmasına yol açar (Pellicer ve ark. 1995; Yanushpolsky ve ark. 1998; Garrido ve ark. 2002). Buna ek olarak endometriozis hastalarında, gelişen embriyo kalitesinin azaldığı da gösterilmiştir (Brizek ve ark. 1995; Cahill ve ark. 1995; Garrido ve ark. 2002).

Diğer yandan çalışmalarda endometriozisli hastaların endometriumlarında görülen anormal glutatyon peroksidaz ve katalaz ekspresyonları sonucu endometrial

serbest radikallerdeki artışın da embriyo canlılığı üzerinde negatif etkisi olduğu tahmin edilmektedir (Ota ve ark. 2000; Ota ve ark. 2002)

### **2.3.3.6. Endometriozisin Uterus Reseptivitesi Üzerindeki Etkileri**

Embriyonun implante olmasına olanak sağlayan uterus reseptivitesi; hormonları, sitokinleri, adezyon moleküllerini ve diğer faktörleri içeren kompleks bir süreç olup başta  $\alpha V\beta 3$  olmak üzere integrinlerin ekspresyonu ile belirlenir. Endometriozis hastalarının %50'sinde endometrial  $\alpha V\beta 3$  ekspresyonunun azaldığı ya da hiç görülmediği saptanmıştır (Aghajanova ve ark. 2008; Donaghy ve Lessey 2007). Diğer yandan  $\alpha V\beta 3$  ekspresyonunun potansiyel uyarıcısı olarak bilinen HOX10 ekspresyonunun da (Eun Kwon ve Taylor 2004) endometriozisli kadınların endometriumlarında düştüğü gösterilmiştir (Taylor ve ark. 1999; Eun Kwon ve Taylor 2004; Donaghy ve Lessey 2007; Vitiello ve ark. 2007). Ayrıca bu hastalarda uterusda diğer implantasyon belirteçleri olan glikodelin A, osteopontin, lösemi inhibitör faktörü ve lizofosfatidik asit reseptör 3 ekspresyonlarının da azaldığı saptanmıştır (Giudice ve ark. 2002; Wei ve ark. 2009). Endometriozis hastalığında endometrial reseptivitenin azalmasına yol açan başka bir etken de, hastalığın endometriumda progesteron reseptör düzensizliğine yol açması ve progesteron hedefli genler üzerindeki etkilerine bağlı olarak luteal faz hasarının görülmesidir (Giudice ve Kao 2004; Holoch ve Lessey 2010)

### **2.3.3.7. Endometriozisin Embriyo İmplantasyonu Üzerindeki Etkileri**

Endometriozis bulunan kadınlarda implantasyon başarısızlığı, sağlıklı kadınlara kıyasla daha sık görülür (Simon ve ark. 1994; Arici ve ark. 1996; Cahill ve Hull 2000). Bu da endometriozis ilişkili infertiliteye yol açan diğer bir faktördür (Simon ve ark. 1994; Arici ve ark. 1996; Yanushpolsky ve ark. 1998; Cahill ve Hull 2000; Garrido ve ark. 2000). Embriyo implantasyonundaki başarısızlıklar, hormon düzey değişiklikleri, embriyo anomalileri ya da endometrial anomaliler ile ilişkili olabilir (Bazer ve ark. 2009).

### **2.3.3.8. Endometriozisin Fallop Tüpleri ve Embriyo Transferi Üzerindeki Etkisi**

Gamet transportunu, endometriozisi olan kadınların periton sıvılarında gerçekleşen sitokin düzeylerindeki artış ve inflamatuvar çevreden etkilenir. Periton ortamındaki inflamasyonun tubal fonksiyonu ve tubal motiliteyi azalttığı, ayrıca

endometriozis ile ilişkili düzensiz miyometrial kontraksiyonların da gamet transportuna ve embriyo implantasyonuna zarar verdiği gösterilmiştir (Holoch ve Lessey 2010).

## **2.4. Endometriozis Teşhisi**

### **2.4.1. Klinik Tanı**

Endometriozisin klinik tanısı için ağırlı adet görme, cinsel birleşme sırasında ağrı ya da acı, ağırlı şekilde idrara çıkma, kronik pelvik ağrı gibi semptomların öncülüğünde; yaş, boy, kilo, etnik köken, ailede endometriozis öyküsü olup olmadığı ve infertilite gibi bulgularla hastanın klinik geçmişi incelenmelidir (Bazot ve Darai 2017).

Yoğun regl geçiren kadınlarda görülebilen östrojen bağımlı bir hastalık olarak, menstrual siklus ilişkili tekrar eden ağrılar varlığında yaygın olarak endometriozisten şüphelenilir. Fakat bu ağrılar endometriozisin kesin tanısı için yeterli değildir. Ayrıca endometriozisli birçok hasta menstrual olmayan kronik ağrılara da sahiptir (Hsu ve ark. 2010). Buna karşılık, %2 ile %10 kadında asemptomatik endometriozis olduğu düşünülmektedir (Spaczynski ve Duleba 2003).

### **2.4.2. Laparoskopik**

Laparoskopik tanıda endometriozis; peritoneal implantlar, ovaryan implantlar ve adezyon ilişkili derin infiltrate nodüller şeklinde görülebilir. Endometriotik lezyonların rengi, boyutu ve morfolojisi kişiden kişiye değişiklik gösterir. Histopatolojik olarak endometriozis tanısının yapılabilmesi için, endometrial epitel, endometrial bezler, endometrial stroma ve hemosiderin yüklü makrofajlar gibi yapılardan 2 ya da daha fazlasının varlığı gerekmektedir (Hsu ve ark. 2010). Çoğu çalışmada endometriozisin görsel tanısı her zaman gerçeği yansıtmayabilir. Şüpheli lezyonların sadece %54-67'ü histolojik olarak doğrulanmıştır (Walter ve ark. 2001). Peritoneal lezyonların yalnızca laparoskopik olarak görüntülenmesi sınırlı doğruluk taşır. Dolayısı ile tanısal laparoskopide mutlaka atipik olanlar da dahil bu lezyon biopsilerinin doğrulanması önem arz eder (Stegmann ve ark. 2008). Laparoskopik endometriomaların teşhisinde kullanışlıdır çünkü kolaylıkla görüntülenebilirler ve genellikle ovaryan adezyonlarla ilişkilidirler (Hsu ve ark. 2010).

### **2.4.3. Görüntüleme Yöntemleri**

Görüntüleme yöntemlerinin endometriozis teşhisindeki kullanımları lezyonların adezyonlarını ve yüzeysel peritoneal implantları belirlemek için yeterli çözünürlüğe

sahip olmaması sebebi ile kısıtlıdır. Ultrasonografi ucuz ve kolay bir işlem olmasına rağmen değerlendirmesi kullanan kişiye göre değişir. Magnetik rezonans görüntüleme (MRG) daha kesin ve doğru olup daha pahalı bir işlemdir. Pelvisin bilgisayarlı tomografisi (CT) pelvik organları çok iyi görüntüleyemez ve endometriozis tanısında kullanışlı değildir (Hsu ve ark. 2010). Ultrasonografi büyük endometriozis lezyonlarının tanısında yaygın olarak kullanılan bir cihazdır. Transvajinal ultrason endometriomaların, mesane lezyonlarının ve rektovajinal septumdaki derin infiltrate nodüllerin tanısında yardımcı olur. Lezyonlar ultrasonda hipoekojenik linear kalınlaşma ya da düzenli/düzensiz konturlü nodüller/kitleler açısından belirlenebilir. Deneyimli kişilerce kullanıldığında transvajinal ultrason ovaryan endometriozis tanısı için yüksek özgünlük ve hassaslık sağlar. Transrektal ultrason ise rektal ilişkili endometriozis ile posterior mesane duvarındaki lezyonların tespiti için kullanılabilir (Bazot ve ark. 2007). MRG, endometriozisten şüphelenilen hastalara özellikle derin infiltrate endometriozisin cerrahi yaklaşımı için yardımcı olabilir. Ultrason ve MRG birlikte önerilir fakat ultrasonla belirlenemeyen pelvik kitleler için MRG daha kullanışlıdır. Ayrıca mesanedeki endometriozis ve rektosigmoid lezyonlarının tanısında ultrasona göre daha üstündür (Hsu ve ark. 2010).

#### **2.4.4. Serum Belirteçleri**

Endometriozis tanısında serum belirteçlerinin kullanılabilmesi konusu hala araştırılmaktadır. Bu alanda serum sitokinleri, matris metalloproteinazları, adezyon molekülleri ve anjiyogenez ya da inflamasyon belirteçleri araştırılmaktadır (Hsu ve ark. 2010).

#### **2.4.5. Endometrial Sinir Lifleri**

Endometriozis tanısı için endometrial biyopsiler de bir araştırma konusudur. Son çalışmalara göre endometriozisli kadınların endometriumlarında, sinir liflerinin sayısında endometriozisli olmayan kadınlara kıyasla artış olduğu saptanmıştır. Bu liflerin endometriumun fonksiyonel tabakasındaki küçük miyelinsiz duysal C lifleri olduğu bildirilmiştir (Al-Jefout ve ark. 2009; Bokor ve ark. 2009).

### **2.5. Periton Sıvısı**

1970'li yılların sonlarında araştırılmaya başlanan periton sıvısı, peritonun karın iç duvarını örten parietal ve iç organların yüzeyini örten viseral yaprakları arasında kalan

periton boşluğunda bulunur ve bu iki zar arasındaki sürtünmeyi engeller. Periton sıvısının içeriği esas olarak, özellikle gelişen foliküller ve korpus luteumdan kaynaklanan ovaryan eksudadan (damar harabiyeti sonrası ve damar sızıntılarıyla ilişkili olarak protein içeriği zengin sıvı birikimi) oluşur. Bu sıvı geçişi muhtemelen yüksek lokal östrojen konsantrasyonuna bağlı olarak vasküler geçirgenliğin artması sonucu gerçekleşir. Bu sebeple periton sıvısının hacmi proliferatif fazda yüksek düzeyde olmak üzere menstrual siklus fazları sırasında değişiklikler gösterir (Koninckx ve ark. 1998). Periton sıvısının hacmi, ayrıca foliküler aktiviteye, korpus luteum vaskularitesine ve hormonal üretime bağlıdır (Harada ve ark. 2001). Periton sıvısı ovaryan eksudaya ek olarak plazma sızıntısı ile peritonun ve pelvik organların lenfatik drenajından oluşur (Rizner 2015). Diğer yandan, makrofaj, eritrosit, mezotelyal hücre, endometrial hücre, lenfosit, eozinofil ve mast hücrelerini içeren hücreden ve proteinden zengin bir sıvıdır. Ayrıca sitokinler, büyüme faktörleri ve kemotaktik faktörler ile bunların bileşenleri peritoneal mikroçevrenin aktivitesini yansıtır (Koninckx ve ark. 1998; Rizner 2015). Kişiye göre değişen oranlarda 5-200 ml arasında olabilir. Peritoneal kavite total yüzey alanı  $2m^2$ 'den büyüktür. Bu alan periton sıvısı ile kan dolaşımı arasındaki maddelerin kantitatif pasif diyalizine olanak sağlar (Koninckx ve ark. 1998). Total protein konsantrasyonu yüksek olup ortalama seviyesi 40 mg/l'dir ve bu seviyeler yine menstrual siklus fazlarına göre farklılık gösterir (Bersinger ve ark. 2012). Erken proliferatif faza göre geç proliferatif faz ve erken sekretuar fazda daha yüksek protein konsantrasyonu olduğu gösterilmiştir (Koninckx ve ark. 1998).

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

#### 3.1. In Vivo İnsan Endometrium Dokuları

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı'ndan, daha önce endometriozisli hastalardan alınıp patolojiye gelen ve parafine gömülmüş halde bulunan normal, ötopik ve ektopik endometrium dokuları retrospektif (geriye dönük) olarak toplandı. Tüm dokular erken proliferatif, geç proliferatif, erken sekretuar ve geç sekretuar olmak üzere 4 menstrual siklus fazlarına ayrıldı (Noyes ve ark. 1975). Normal, ötopik ve ektopik endometrium dokuları, bu 4 menstrual siklus fazı için her bir siklusta 4'er örnek olacak şekilde gruplar ayrıldı.

#### 3.2. İnsan Endometrial Primer Stromal Hücre Kültürü

Tez çalışmamız; Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından 13.04.2016 tarihli ve 83045809/604/136231 sayılı olarak verilen onay ile, etik konulara dikkat edilerek gerçekleştirildi. Çalışmada İÜ Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı'ndan, fertil olması koşulu ile 25-50 yaş aralığında olan ve benign patolojiler sebebiyle (myom vs) histerektomi yapılmış 3 hastadan alınan endometrium örnekleri kullanılarak primer endometrium stromal hücre kültürü yapıldı.

##### 3.2.1. İnsan Endometrial Primer Stromal Hücre Kültürü Prosedürü

1. Endometrium küretaj doku petri kabına alındı.
2. 2ml Hank's Balance Salt Solution (HBSS) eklendi.
3. Doku steril cerrahi bıçakla ile 1000 µl'lik pipet ucuyla çekilebilecek kadar küçültüldü.
4. 7ml endodigest (300 mL HBSS, 125 mg of (1mg/ml ) Kollajenaz B, 12.5 mg of DNAaz I (0.1mg/ml), 3 ml 10X Penisilin/Streptomisin) petri kabına eklendi.
5. 10 ml'lik pipetle doku solüsyonu toplanıp 50 ml'lik falkon tüpe alındı.
6. Petri kabı 8 ml endodigest ile yıkandı ve toplanıp aynı falkon tüpe eklendi.
7. Falkon tüpün kapağı kapatılıp parafilmlelendikten sonra 37°C su banyosunda 45 dk hafif sallanarak bekletildi ve her 5 dk'da bir hücrelerin kümeleşmesini engellemek

amacı ile el ile hafifçe çalkalandı. 15 dk'da bir de 10ml'lik pipetle solüsyon çekilip falkonun duvarına çarptırmak suretiyle 3 kez çek bırak yapıldı.

8. Falkon tüp su banyosundan alınıp, %10 fetal bovin serum (FBS) ve %1 antibiyotik-antimikotik solüsyon içeren 20 ml DMEM/F12 medium eklendi.

9. 1800 devirde 8<sup>0</sup>C'de 10 dk santrifüj edildi.

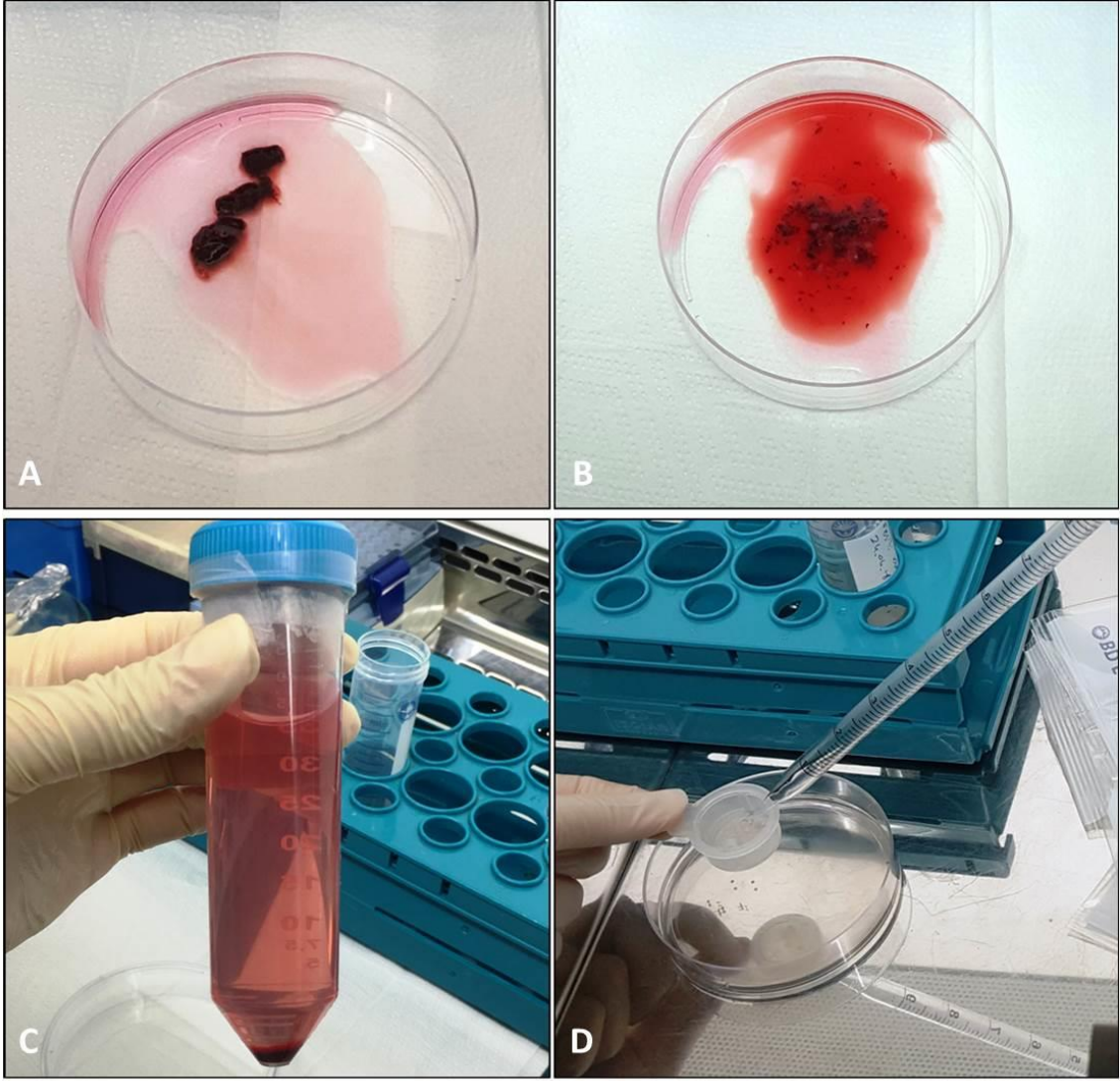
10. Süpernatant atıldıktan sonra 10 ml DMEM/F12 eklenerek pipetle karıştırıldı.

11. Stromal hücrelerin ayrıştırılması amacıyla hücre solüsyonu bir petri kabının üzerinde 70 µm'lik filtre süzgecinin farklı noktalarına damlatılmak suretiyle filtre edildi. Stromal hücreler petri kabına süzülürken epitel hücreleri süzgeçte kalmış oldu.

12. 10 ml DMEM/F12 ile süzgeç damla damla yıkanarak filtrede kalan stromal hücrelerin petri kabına aktarılması sağlandı.

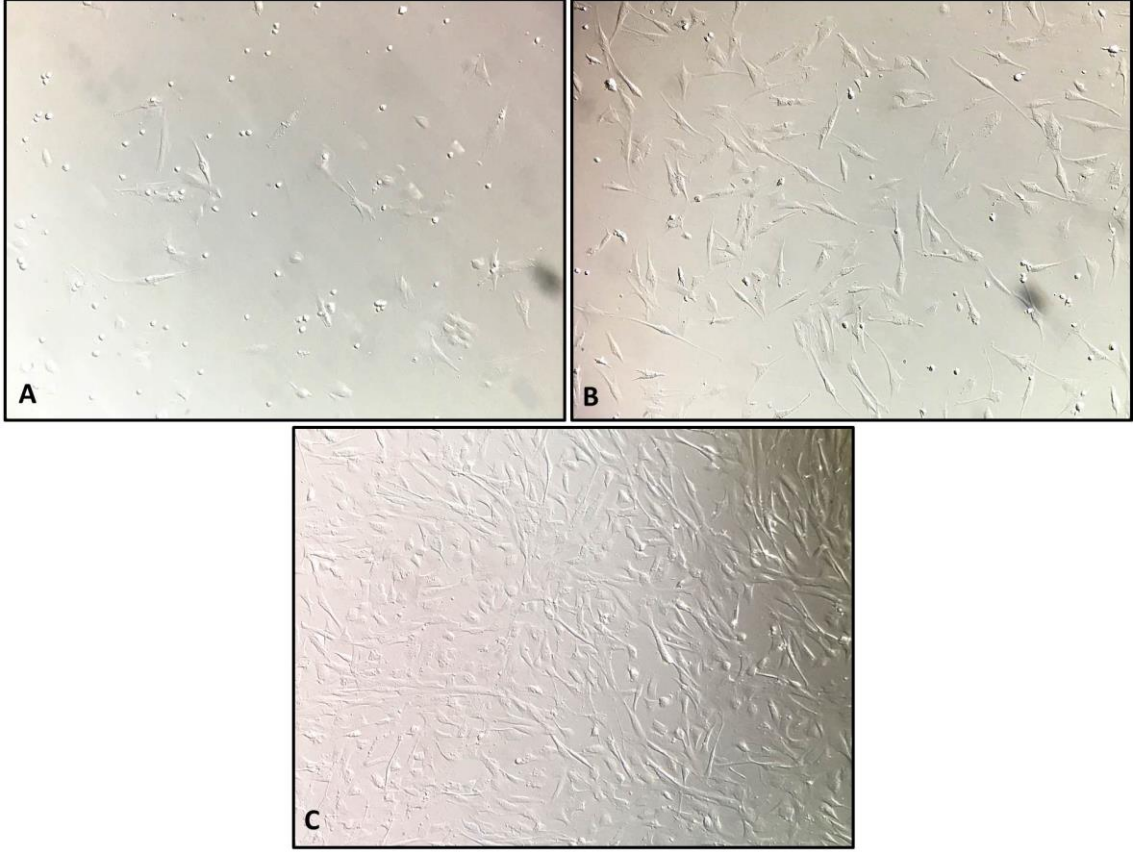
13. 20 ml hücre sıvısı 2 adet T75 flaska 10 ml olacak şekilde konuldu.

14. 37<sup>0</sup>C'de %5 CO<sub>2</sub> ortamında konfluent olana kadar inkübe edildi.



**Şekil 3-1: Primer insan endometrial stromal hücre kültürü aşamaları.**

Endometrium küretaj doku (A), bistüri ile küçültülmüş endometrium dokusu (B), santrifüj sonrası dibe çöken endometrial hücreler (C), endometrial stromal hücre izolasyonu (D).



**Şekil 3-2: Endometrial stromal primer kültür hücreleri 1. Gün (A), 3. Gün (B), 7. Gün (C)**

### 3.3. Periton Sıvısı

Periton sıvıları İÜ Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı'ndan sağlandı. Orta şiddetli (evre III) ya da şiddetli endometriozisi (evre IV) olan 3 hastadan ve endometriozisi olmayan fertil 3 hastadan periton sıvısı örnekleri toplandı. Periton sıvıları, hastaların batınları açılır açılmaz batın bölgesinin serum fizyolojik ile yıkanması ve yıkama solüsyonunun enjektör ile geri toplanması yolu ile elde edildi. Her hastaya aynı miktarda yıkama solüsyonu verilerek konsantrasyon farklılığının önüne geçildi. Hızlıca laboratuvara getirilen periton sıvıları 1500g'de 30 dakika 4°C'de santrifüj edildikten sonra süpernatant kısmı 0,2 µm'lik filtreden geçirildi ve kullanılacağı ana kadar -80°C'de dondurulup saklandı.

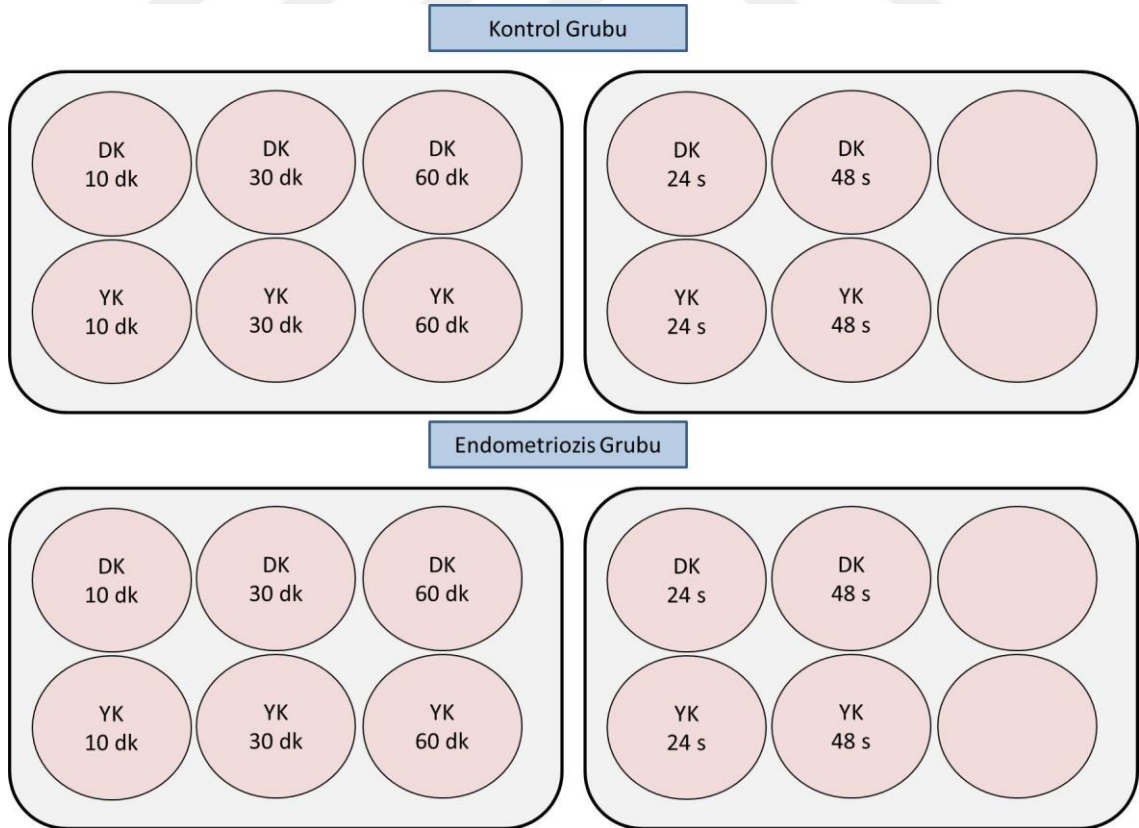
### 3.4. Hücre Kültürü Deney Prosedürü

Primer insan endometrium doku kültürü sonrasında ayrıştırılan stromal hücreler %10 FBS ve %1 antibiyotik antimikotik içeren DMEM/F12 mediumunda kültüre edildi. Hücreler yaklaşık 10. günde konfluent olduktan sonra pasajlandı. Deneylerimiz 2. pasaj hücreleri ile kuruldu.

Kültüre edilen primer endometrial stromal hücreler 2 gruba ayrıldı:

1. **Endometriozis grubunda;** endometriozis hastalarından alınan periton sıvısı endometrial stromal hücre kültürü ortamına eklendi.
2. **Kontrol grubunda;** endometriozisi olmayan fertil hastalardan alınan periton sıvısı endometrial stromal hücre kültürü ortamına eklendi.

Bu gruplarda, periton sıvısının endometrial stromal hücreleri üzerindeki, düşük ve yüksek konsantrasyonda ve kısa ve uzun vadedeki etkilerinin değerlendirilmesi amacı ile konsantrasyon denemeleri yapılan bir ön çalışma yapılarak, stromal hücrelere uygulanacak periton sıvısının düşük ve yüksek konsantrasyon oranlarına karar verildi. Yapılan denemelerde %20 konsantrasyon üzerindeki periton sıvısının stromal hücrelerde toksisite gösterdiği ve hücreleri ölüme götürdüğü belirlendi. Bu veriler doğrultusunda, endometrial stromal hücrelere eklenecek olan periton sıvısında düşük konsantrasyon (%10 periton sıvısı+%90 medium) ve yüksek konsantrasyon (%20 periton sıvısı+%80 medium) ile hücrelerin periton sıvısına maruz bırakılacağı kısa süre (10 dk-30 dk-60 dk) ve uzun süre (24 saat-48 saat) alt grupları oluşturuldu.



**Şekil 3-3: Hücre kültürü deney grupları** DK: Düşük konsantrasyon, YK: Yüksek konsantrasyon, dk: Dakika, s: Saat

İmmünohistokimya değerlendirmesi için 6 kuyucuklu kültür kaplarının her kuyucuğuna 3 yuvarlak lamel yerleştirildi ve hücreler bu lameller üzerine ekildi. Hücreler konfluent olana kadar %10 FBS ve %1 antibiotik antimikotik içeren DMEM/F12 mediumunda tutuldu. Deney başlangıcından 12 saat önce hücreler, FBS içermeyen %5 bovin serum albumin (BSA) ve %1 antibiotik antimikotik eklenmiş DMEM/F12 mediumuna alındı. Deney gününde de yine aynı şekilde FBS içermeyen %5 bovin serum albumin (BSA) ve %1 antibiotik antimikotik eklenmiş DMEM/F12 mediumuna alınan hücrelere kontrol grubu için %10 ve %20 konsantrasyonlardaki kontrol periton sıvıları; endometriozis grubu için de %10 ve %20 konsantrasyonlardaki endometriozis periton sıvıları eklenerek deneyler gerçekleştirildi.

### **3.5. Işık Mikroskopik İnceleme**

#### **3.5.1. İmmünohistokimya**

Normal, ötopik ve ektopik endometrium parafin bloklarından mikrotom ile kesilen 5 µm kalınlığındaki kesitler, UPR mekanizma yolakları olan ER stres belirteçleri p-IRE1, p-PERK ve ATF6 poliklonal anti-tavşan primer antikorları ile boyandı. Endometriozisli hastalardan alınmış olan ötopik ve ektopik endometrium kesitlerinde, endometrial bez epitelindeki ve stromal hücrelerdeki ekspresyon düzeyleri, normal endometrium kesitlerindeki ekspresyon düzeyleri ile kıyaslanarak, ER stresinin endometriozis patogenezinde herhangi bir etkisinin olup olmadığı araştırıldı. Ayrıca her grubun kendi içinde endometrial bez epitelindeki ve stromal hücrelerdeki ekspresyon düzeyleri her menstrual siklus fazı (erken proliferatif, geç proliferatif, erken sekretuar ve geç sekretuar) için ayrı değerlendirilerek faz dağılımlarına bakıldı.

#### **İmmünohistokimya Prosedürü**

1. Endometrium parafin bloklarından adeziv lamalar üzerine 5 µm'lik kesitler alındı. 1 gece 56°C'lik etüvde tutulduktan sonra 30 dakika toluolde bekletilerek parafini giderildi.

2. Suyunun giderilmesi için azalan alkol serilerinden [%100 (x2), %96 (x1), %90 (x1), %70 (x1)] geçirilen kesitler distile suya alındı.

3. PBS'de yıkanan kesitler antijen iyileştirme aşaması için pH:6.0 olacak şekilde hazırlanan sitrat buffer ile mikrodalgada 3x5 dk kaynatıldı.

4. Oda sıcaklığına getirilen kesitler tekrar PBS'te yıkandıktan sonra %3'lük H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'de 10 dk bekletildi ve endojen peroksidaz aktivitesi durduruldu.

5. PBS'e alınan kesitlerin etrafı hidrofobik kalem ile çizildikten sonra Tweenli PBS (T-PBS)'e alındı.

6. 3x5 dk T-PBS yıkaması sonrası kesitler spesifik olmayan antikor bağlanmalarını engellemek üzere 20 dk blok solüsyonunda tutuldu.

7. Blok solüsyonu sonrası yıkama yapılmayan kesitler, 1/200 dilüsyondaki p-IRE1, p-PERK ve ATF6 primer antikorları ile +4<sup>0</sup>C'de bir gece inkübe edildi.

8. T-PBS ile 3x5 dk yıkama sonrası kesitler 20 dk biyotinlenmiş sekonder antikor solüsyonunda bekletildi.

9. T-PBS ile 3x5 dk yıkamanın ardından kesitler streptavidin peroksidaz solüsyonunda 20 dk bekletildi.

10. T-PBS ile 3x5 dk yıkandı ve sonrasında aminoetil karbazol (AEC) kromojen uygulaması yapıldı.

11. Yeterli reaksiyon elde edilince distile suya alınan kesitlere hematoksilen uygulanarak zıt boyaması yapıldı.

12. Çıkan alkol serilerinden hızlıca geçirilip, 15 dk toluolde bekletilen kesitler gliserojelatin kapatma solüsyonu ile kapatıldı.

13. Olympus BX61 ışık mikroskobu altında her gruptaki lamlarda 5 farklı alan seçilerek, bu alanlardaki endometrial bez epiteli ve stromal hücrelerin sitoplazmasındaki p-IRE1, p-PERK ve ATF6 ekspresyon şiddetleri semikantitatif H-skor yöntemi kullanılarak analiz edildi.

### **3.5.2. İmmünohistokimya**

Tüm gruplardaki endometrial stromal hücreler immünohistokimya yöntemi ile UPR mekanizma yolakları olan ER stres belirteçleri p-IRE1, p-PERK ve ATF6 poliklonal anti-tavşan primer antikorları ile boyandı. Gruplar ekspresyon düzeyleri açısından karşılaştırmalı olarak incelendi ve bunun sonucunda endometriozisli hastalardan alınan periton sıvısının endometrial stromal hücrelerindeki ER stres

belirteçlerinde indükleyici bir etkiye sahip olup olmadığı ve hangi UPR mekanizmasını aktive ettiği araştırıldı.

### **İmmünohistokimya Prosedürü**

1. Deney bitiminde, 24 kuyucuklu kültür kaplarına yerleştirilen yuvarlak lamelerde bulunan hücreler  $-20^{\circ}\text{C}$ 'de metanol ile 5 dk fikse edildi.

2. Fiksasyon sonrasında PBS ile 2x5 dk yıkamanın ardından 5 dk blok solüsyonu uygulanarak spesifik olmayan antikor bağlanması engellendi.

3. Blok solüsyonu ortamdaki uzaklaştırıldı ve PBS ile yıkama yapılmadan p-IRE1 ve ATF6 primer antikorları 1/200 dilüsyonda, p-PERK primer antikoruna ise 1/100 dilüsyonda olacak şekilde  $+4^{\circ}\text{C}$ 'de overnight olarak inkübe edildi.

4. Ertesi gün PBS ile 3x5 dk yıkandı.

5. Ardından biyotinlenmiş sekonder antikor solüsyonunda 20 dk bekletildi.

6. PBS ile 3x5 dk yıkandı.

7. Streptavidin peroksidaz solüsyonunda 20 dk bekletildi.

8. PBS ile 3x5 dk yıkandı.

9. Kromojen uygulaması olarak diaminobenzen (DAB) kullanıldı.

10. Reaksiyonu durdurmak için distile suda bekletilen lameller, hematoksin ile zıt boyama yapıldıktan sonra kapatma solüsyonu damlatılan lamalar üzerine kapatıldı.

11. Olympus BX61 ışık mikroskobu altında her gruptaki lamalarda 5 farklı alan seçilerek, bu alanlardaki endometrial stromal hücrelerde görülen p-IRE1, p-PERK ve ATF6 ekspresyon şiddetleri 0: boyanma yok, 1: zayıf boyanma, 2: belirgin boyanma, 3: yoğun boyanma olacak şekilde belirlendi ve semikantitatif H-skor yöntemi ile değerlendirildi. [HSCORE=  $\sum P_i(i + 1)$ ; i, boyanma şiddeti değeri;  $P_i$ , boyanan hücre yüzdesi].

### **3.6. İstatistik**

Tüm parametreler istatistiksel olarak analiz edildi. Verilerin normal dağılım gösterip göstermediği Kolmogorov-Smirnov testi ile belirlendi. Normal dağılım gösteren verilerde çoklu grup karşılaştırmaları tek-yönlü ANOVA'nın ardından post hoc Holm-Sidak testleri ile analiz edildi. İkili grup karşılaştırmaları ise t-test ile analiz

edildi. Normal dağılım göstermeyen verilerde ise non-parametrik ANOVA (Kruskal-Wallis test) ardından Tukey testi uygulandı. İstatistiksel hesaplamalar Sigma Plot (Windows), versiyon 14.0 (Jandel Scientific, San Rafael, CA) ile gerçekleştirildi.  $p < 0.05$  değeri anlamlı kabul edildi.

### **3.7. Kullanılan Malzemeler ve Cihazlar**

#### **3.7.1. Kimyasal Malzemeler**

- Hank's Dengeli Tuz Solüsyonu (Thermo scientific: 14170-112)
- Dulbecco'nun modifiye edilmiş Eagle medyumunu (DMEM/F12) (Sigma: D8437-500ML)
- Fetal bovin serum (FBS: Hyclone: HY30160.03)
- Penisilin-Streptomisin (Thermo scientific: 15140122)
- Enzim kolajenaz B (Roche 11088815001)
- Enzim DNaz I (Roche: 104159)
- Tripsin (Sigma: T4049)
- Fosfatla tamponlanmış tuz solüsyonu tableti (Biomatik: A3602)
- Metanol (Sigma-Aldrich: 24229)
- Hematoksilen (Invitrogen 00-8011)
- Etil Alkol %96 (Alkomed: CAS 64-17-5)
- Toluol (Merck)
- AEC Chromogen Substrate Kit (ScyTek: ACJ500)
- DAB Chromogen Substrate Kit (ScyTek:ACK125)
- HRP Anti-Polyvalent Sekonder Kit (ScyTek: SHP125)
- Hidrojen Peroksit (Merck Millipore: 107298)
- ATF6 Poliklonal Anti-tavşan Primer Antikoru (biorbyt: orb74689)
- Phospho-IRE1 Poliklonal Anti-tavşan Primer Antikoru (abcam: ab48187)

- PERK Poliklonal Anti-tavşan Primer Antikoru (phospho-Thr980) (biorbyt: orb309080)
- Tween 20 (Sigma)
- Antibiyotik-Antimikotik Solüsyon (Thermo: 15240062)

### 3.7.2. Alet ve Teçhizat

- İnce uçlu pens
- Otomatik pipetör (Ratiolab: Accupetta)
- Steril serolojik pipet 10 ml (SPL Life: 91010)
- 1-10 µl'lik mikropipet (Eppendorf)
- 10-100 µl'lik mikropipet (Eppendorf)
- 10-200 µl'lik mikropipet (Eppendorf)
- 100-1000 µl'lik mikropipet (Eppendorf)
- 10 µl, 100 µl, 200 µl ve 1000 µl'lik mikropipet uçları (Bicappa)
- 15 ml'lik steril dibi konik santrifüj tüpü (Corning Star: 430790)
- 50 ml'lik Falkon Tüp (SPL Life: 50050)
- Eppendorf tüpü (Labosel 98/79/CE)
- Kültür petri kabı (BD Falcon)
- 25 cm<sup>2</sup>'lik hücre kültür tabağı (Jet Biofil: TCF-012-050)
- 75 cm<sup>2</sup>'lik hücre kültür tabağı (Jet Biofil: TCF-012-250)
- 24 kuyucuklu doku kültür tabağı (Biofil: TCP 011024)
- 6 kuyucuklu doku kültür tabağı (Biofil: TCP 011006)
- 70 µm'lik hücre filtresi (BD Falcon)
- Tek kullanımlık filtre 0,2 µm (Sartorius Biotech: 1653400449103)
- Adeziv Lam (Thermo Fischer)
- Yuvarlak lamel (Marienfeld)

- Mikrotom bıçağı (Feather A35)

### 3.7.3. Cihazlar

- Sterile edilmiş sınıf II laminar havalandırmalı tezgâh (Esco: Class II)
- İnkübatör ( Thermo Scientific, Heracell 150i)
- Santrifüj (Eppendorf: 5810 R)
- Buzdolabı (Arçelik)
- -80 buzdolabı (Ficold)
- Vorteks (Biocote: Stuart SA8)
- Dijital çalkalamalı sıcak su banyosu (Fisher Scientific)
- Elektrikli pipet pompası (Ratiolab: Accupetta)
- Hassas terazi (Sartorius)
- Etüv (Heraeus)
- Mikrodalga fırın (Arçelik)
- Ters (İnvert) mikroskop (Olympus IX71)
- Işık mikroskobu (Olympus BX61)
- Kamera (Olympus DP72)
- Distile su cihazı (Sartorius Stedim Biotech: arium pro VF)
- Masaüstü otoklav (Thermo Scientific Varioklav: 25T)
- pH metre (Inolab wtw)
- Mikrotom (Thermo Scientific Microm hm430)

## 4. BULGULAR

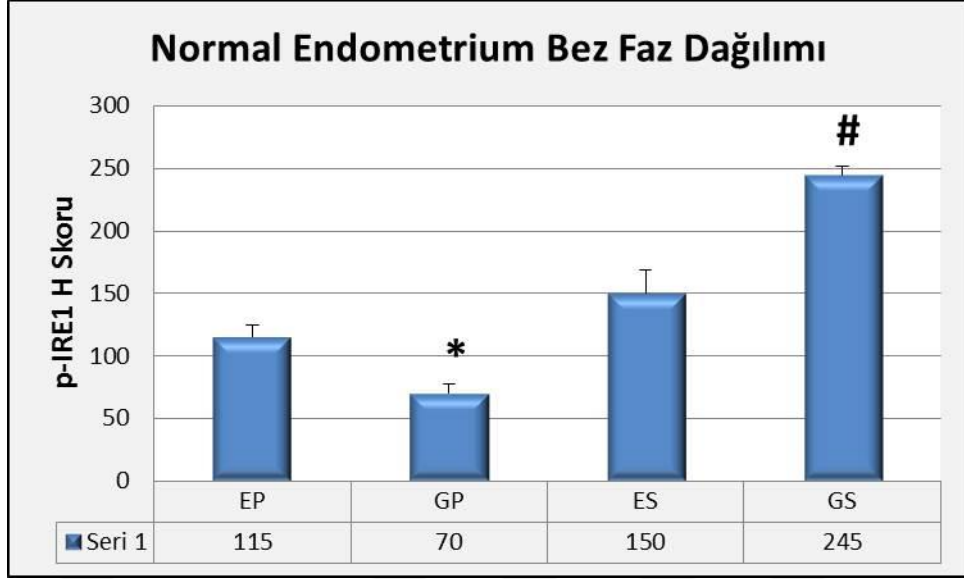
### 4.1. İmmünohistokimyasal Bulgular

Normal, ötopik ve ektopik endometrium kesitlerinde, endometrium bez epiteli ve stromal hücrelerde p-IRE1, p-PERK ve ATF6 immunoreaktivitesi istatistiksel olarak değerlendirildi. (1) Normal, ötopik ve ektopik endometriumdaki bez epiteli ve stromal hücrelerde p-IRE1, p-PERK ve ATF6 ekspresyon düzeylerinin erken proliferatif, geç proliferatif, erken sekretuar ve geç sekretuar olmak üzere menstrual faz dağılımı incelendi. (2) Menstrual fazların herbirinde (erken proliferatif, geç proliferatif, erken sekretuar ve geç sekretuar) normal, ötopik ve ektopik endometriumdaki bez epiteli ve stromal hücrelerde, p-IRE1, p-PERK ve ATF6 ekspresyon düzeyleri birbirleri ile kıyaslandı.

#### 4.1.1. p-IRE1 İmmünohistokimyasal İşaretleme

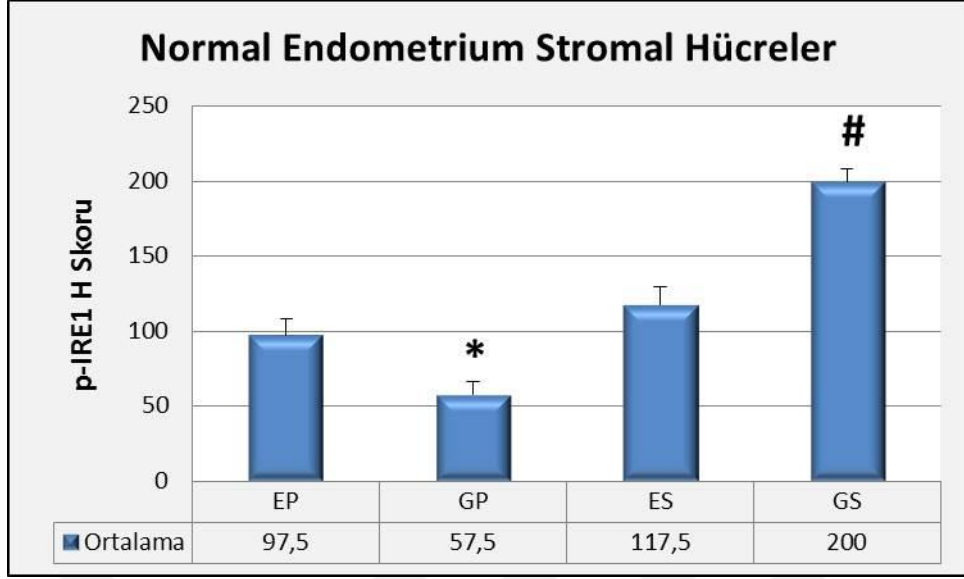
##### 4.1.1.1. Normal Endometriumun Bez Epitelinde ve Stromal Hücrelerdeki p-IRE1 Ekspresyonunun Faz Dağılımı

Normal endometrium bez epitelinde, geç proliferatif fazdaki p-IRE1 ekspresyon düzeyinin, erken proliferatif ( $p<0,05$ ), erken sekretuar ( $p<0,001$ ) ve geç sekretuar ( $p<0,001$ ) fazlardaki ekspresyona kıyasla istatistiksel olarak azalmış olduğu görüldü (Şekil 4.1, Şekil 4.3 GP). Geç sekretuar fazdaki p-IRE1 ekspresyonu, erken proliferatif ve erken sekretuar fazlardaki ekspresyon düzeyleri ile kıyaslandığında istatistiksel olarak artış gösterdiği saptandı ( $p<0,05$ ) (Şekil 4.1, Şekil 4.3 GS). Erken proliferatif ve erken sekretuar fazlardaki p-IRE1 ekspresyon düzeyleri arasında anlamlı bir farklılık bulunmadı (Şekil 4.1, Şekil 4.3 EP, ES).

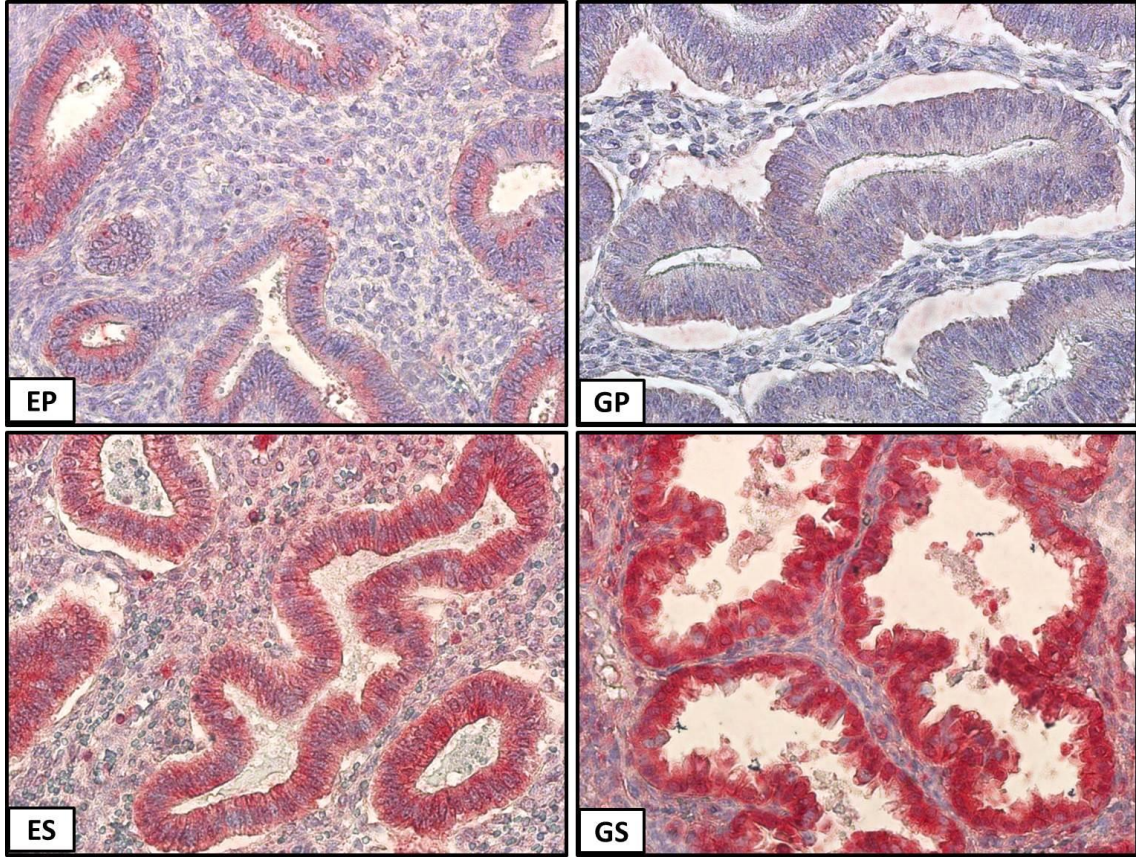


**Şekil 4-1:Normal endometrium bez epitelinde p-IRE1 immünoreaktivitesinin menstrual faz dağılımının H-skor ortalama değerleri.** \* $p<0,05$ ; EP ile kıyaslandığında, \* $p<0,001$ ; ES ve GS ile kıyaslandığında; # $p<0,05$ ; EP ve ES ile kıyaslandığında.

Benzer olarak normal endometrium stromal hücrelerde de, geç proliferatif fazdaki p-IRE1 ekspresyon düzeyinin, erken proliferatif ( $p<0,05$ ), erken sekretuar ( $p<0,001$ ) ve geç sekretuar ( $p<0,001$ ) fazlardaki ekspresyona kıyasla istatistiksel olarak azalmış olduğu görüldü (Şekil 4.2, Şekil 4.3 GP). Geç sekretuar fazdaki p-IRE1 ekspresyonu, erken proliferatif ve erken sekretuar fazlardaki ekspresyon düzeyleri ile kıyaslandığında istatistiksel olarak arttığı görüldü ( $p<0,05$ ) (Şekil 4.2, Şekil 4.3 GS). Erken proliferatif ve erken sekretuar fazlardaki p-IRE1 ekspresyon düzeyleri arasında anlamlı bir farklılık bulunmadı (Şekil 4.2, Şekil 4.3 EP, ES).



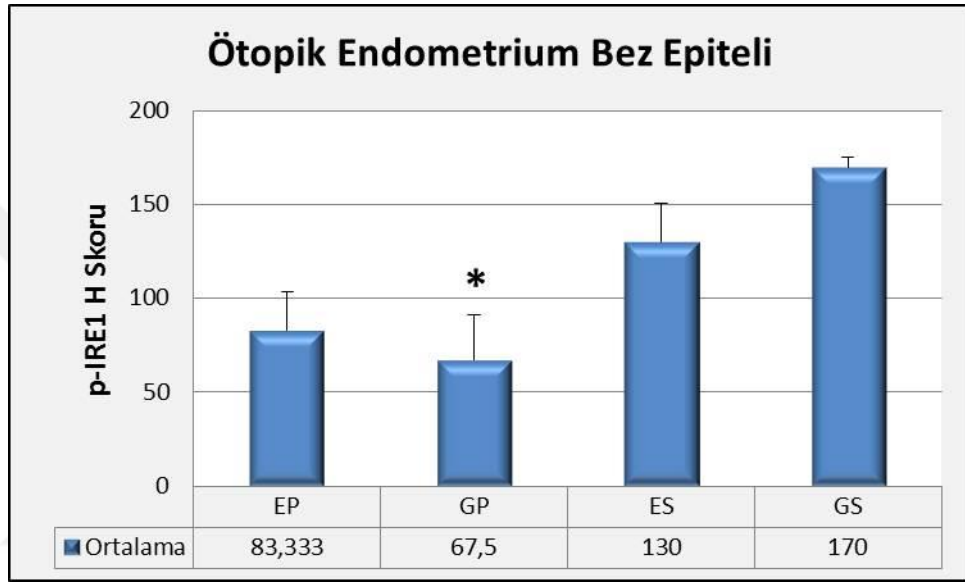
**Şekil 4-2:**Normal endometrium stromal hücrelerdeki p-IRE1 immünoreaktivitesinin menstrual faz dağılımının H-skor ortalama değerleri. \* $p < 0,05$ ; EP ile kıyaslandığında, \* $p < 0,001$ ; ES ve GS ile kıyaslandığında; # $p < 0,05$ ; EP ve ES ile kıyaslandığında.



**Şekil 4-3:**Normal endometrium bez epiteli ve stromal hücrelerdeki p-IRE1 işaretlemesinin faz dağılımını gösteren ışık mikyografı, X40. EP: Erken proliferatif faz, GP: Geç proliferatif faz, ES: Erken sekretuar faz, GS: Geç sekretuar faz.

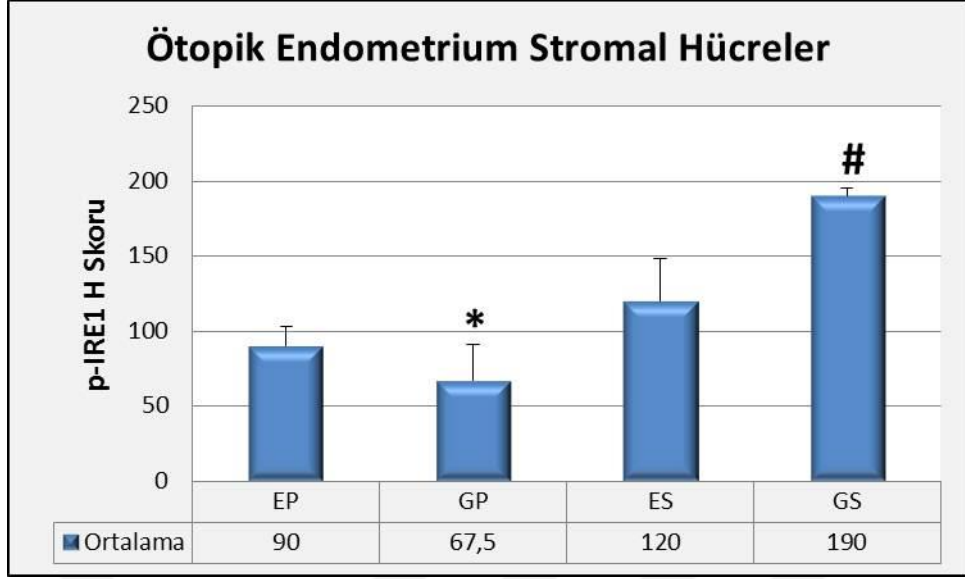
#### 4.1.1.2. Ötopik Endometriumun Bez Epitelinde ve Stromal Hücrelerdeki p-IRE1 Ekspresyonunun Faz Dağılımı

Ötopik endometrium bez epitelinde geç proliferatif fazdaki p-IRE1 ekspresyon düzeyinin geç sekretuar faza kıyasla anlamlı olarak azalmış olduğu belirlendi ( $p<0,05$ ) (Şekil 4.4, Şekil 4.6 GP, GS). Diğer fazlar arasında p-IRE1 ekspresyonu açısından istatistiksel bir anlamlılık görülmedi (Şekil 4.4).

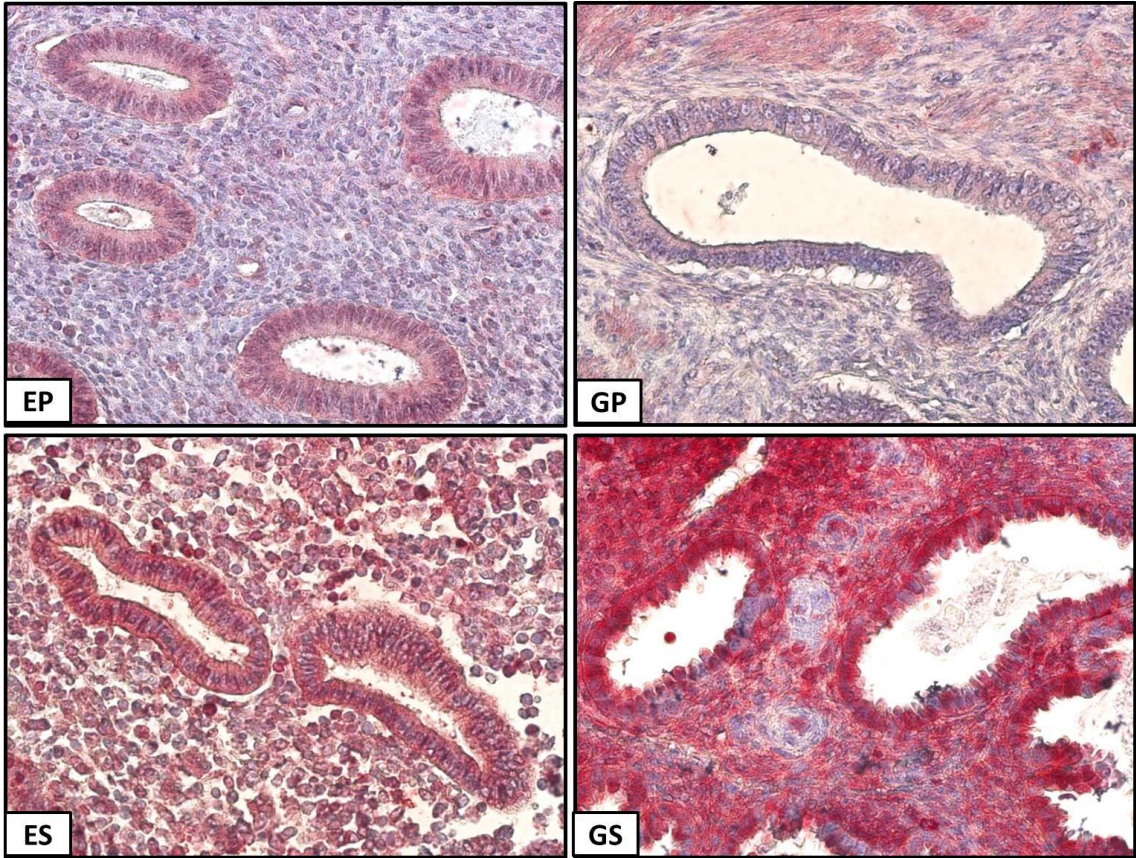


**Şekil 4-4:Ötopik endometrium bez epitelinde p-IRE1 immünoreaktivitesinin menstrual faz dağılımının H-skor ortalama değerleri. \* $p<0,05$ ; GS ile kıyaslandığında.**

Ötopik endometrium stromal hücrelerinde, geç proliferatif fazdaki p-IRE1 ekspresyon düzeyinin geç sekretuar fazla kıyaslandığında anlamlı olarak azaldığı görüldü ( $p<0,05$ ) (Şekil 4.5, Şekil 4.6 GP,GS). Geç sekretuar fazdaki p-IRE1 ekspresyon düzeyi ise erken proliferatif faza kıyasla artmış görüldü ( $p<0,05$ ) (Şekil 4.5, Şekil 4.6 EP,GS). Diğer fazlar arasında anlamlı bir farklılık görülmedi (Şekil 4.5).



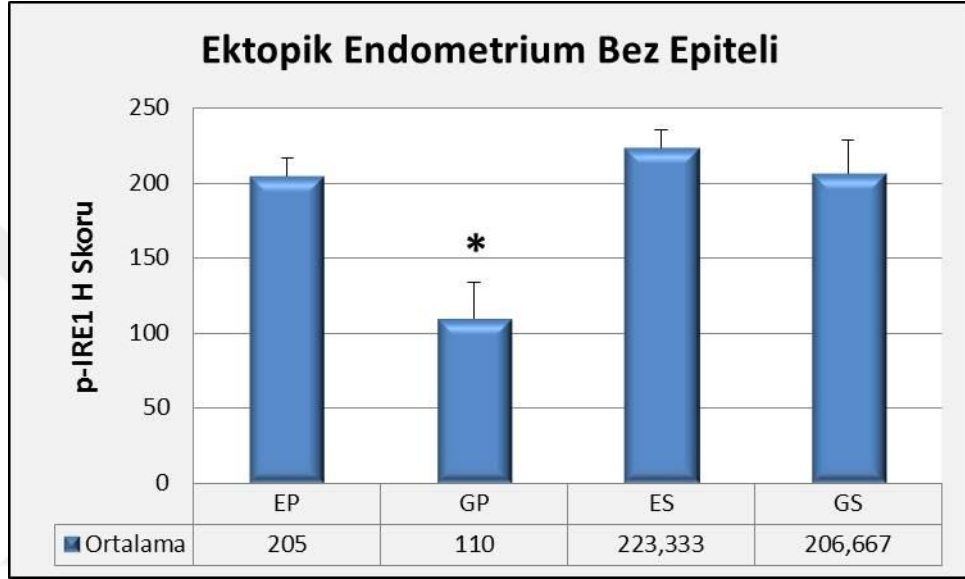
**Şekil 4-5:Ötopik endometrium stromal hücrelerdeki p-IRE1 immünoreaktivitesinin menstrual faz dağılımının H-skor ortalama değerleri. \* $p<0,05$ ; GS ile kıyaslandığında; # $p<0,05$ ; EP ile kıyaslandığında.**



**Şekil 4-6:Ötopik endometrium bez epiteli ve stromal hücrelerdeki p-IRE1 işaretlemesinin faz dağılımını gösteren ışık mikrograflar, X40. EP: Erken proliferatif faz, GP: Geç proliferatif faz, ES: Erken sekretuar faz, GS: Geç sekretuar faz.**

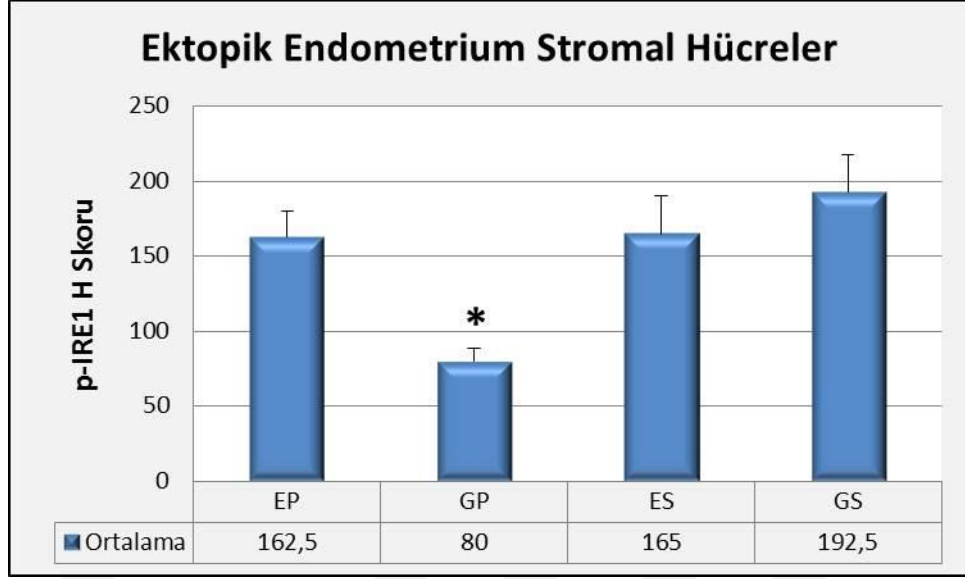
#### 4.1.1.3. Ektopik Endometriumun Bez Epitelinde ve Stromal Hücrelerdeki p-IRE1 Ekspresyonunun Faz Dağılımı

Ektopik endometrium bez epitelinde, geç proliferatif fazdaki p-IRE1 ekspresyon düzeyinin erken proliferatif ( $p<0,05$ ), erken sekretuar ( $p<0,001$ ) ve geç sekretuar ( $p<0,05$ ) fazlarına kıyasla anlamlı olarak azaldığı belirlendi (Şekil 4.7, Şekil 4.9 GP). Diğer fazlar arasında ise anlamlı bir farklılık görülmedi (Şekil 4.7).

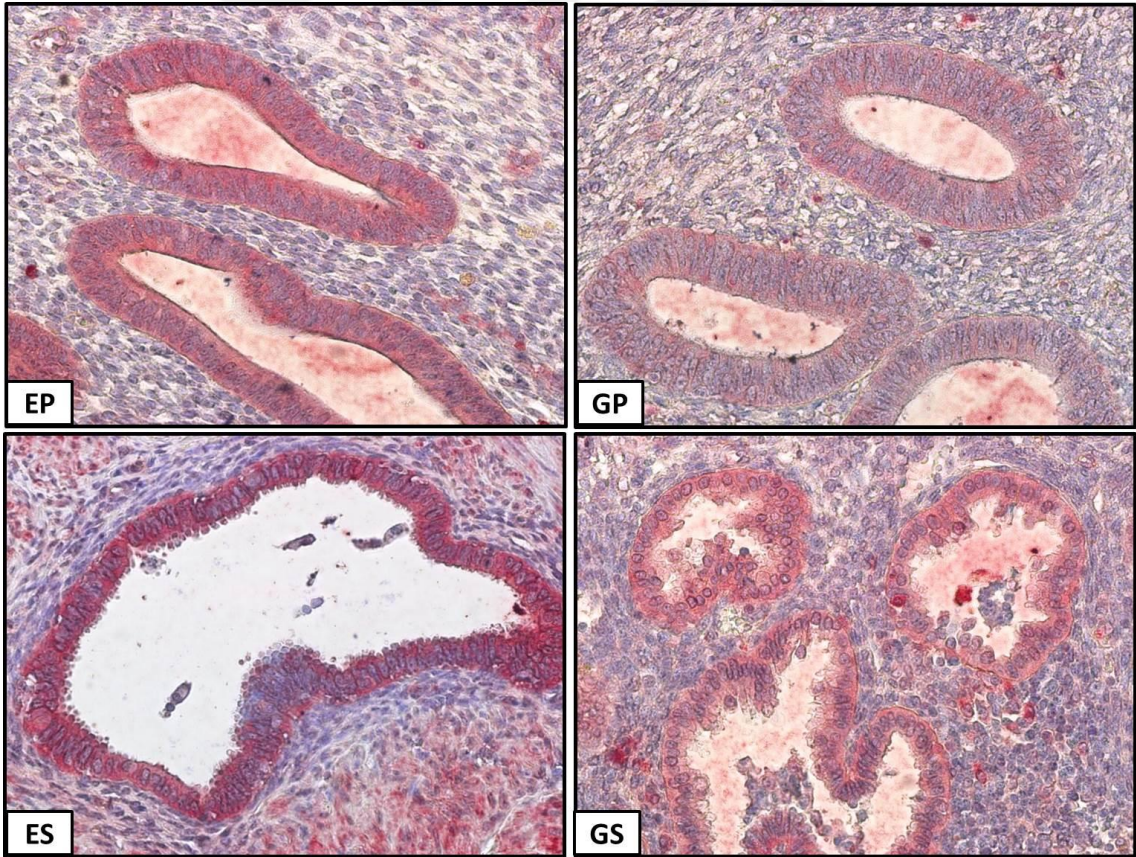


**Şekil 4-7: Ektopik endometrium bez epitelinde p-IRE1 immünoreaktivitesinin menstrual faz dağılımının H-skor ortalama değerleri.** \* $p<0,05$ ; EP ve GS ile kıyaslandığında, \* $p<0,001$ ; ES ile kıyaslandığında.

Ektopik endometrium stromal hücrelerde, geç proliferatif fazdaki p-IRE1 ekspresyon düzeyinin geç sekretuar fazla kıyaslandığında anlamlı olarak azaldığı saptandı ( $p<0,05$ ) (Şekil 4.8, Şekil 4.9 GP, GS). Diğer fazlar arasında ise anlamlı bir farklılık görülmedi (Şekil 4.8).



**Şekil 4-8:**Ektopik endometrium stromal hücrelerdeki p-IRE1 immünoreaktivitesinin menstrual faz dağılımının H-skor ortalama değerleri. \* $p < 0,05$ ; GS ile kıyaslandığında.



**Şekil 4-9:**Ektopik endometrium bez epiteli ve stromal hücrelerdeki p-IRE1 işaretlemesinin faz dağılımını gösteren ışık mikrograflar, X40. EP: Erken proliferatif faz, GP: Geç proliferatif faz, ES: Erken sekretuar faz, GS: Geç sekretuar faz.

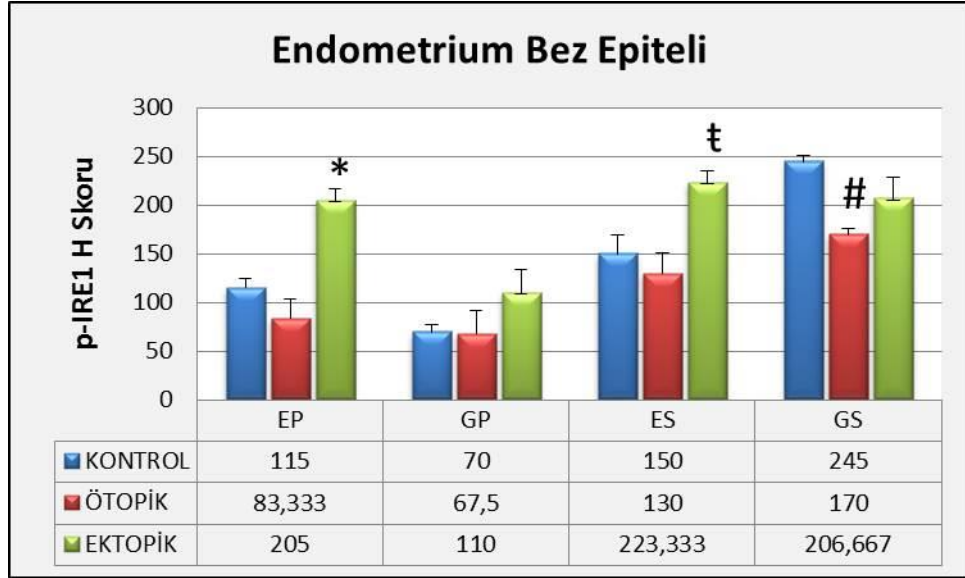
#### 4.1.1.4. Menstrual Siklus Fazlarında p-IRE1 Ekspresyon Düzeylerinin Normal, Ötopik ve Ektopik Endometrium Arasında Karşılaştırılması

Erken proliferatif fazda, ektopik endometrium bez epitelindeki p-IRE1 ekspresyon düzeyinin, ötopik ve normal endometrium bez epiteline kıyasla anlamlı olarak artış gösterdiği dikkati çekti (sırasıyla  $p<0,001$ ,  $p<0,05$ ) (Şekil 4.10, Şekil 4.12). Ötopik endometrium ve normal endometrium bez epitelindeki ekspresyon düzeyinde anlamlı bir farklılık görülmedi (Şekil 4.10, Şekil 4.12). Benzer olarak ektopik endometrium stromal hücrelerdeki p-IRE1 ekspresyon düzeyinin, ötopik ve normal endometrium stromal hücreleri ile kıyaslandığında anlamlı olarak artış gösterdiği belirlendi ( $p<0,05$ ) (Şekil 4.11, Şekil 4.12). Ötopik endometrium ve normal endometrium stromal hücrelerde ise p-IRE1 ekspresyon düzeyi olarak anlamlı bir farklılık görülmedi (Şekil 4.11, Şekil 4.12).

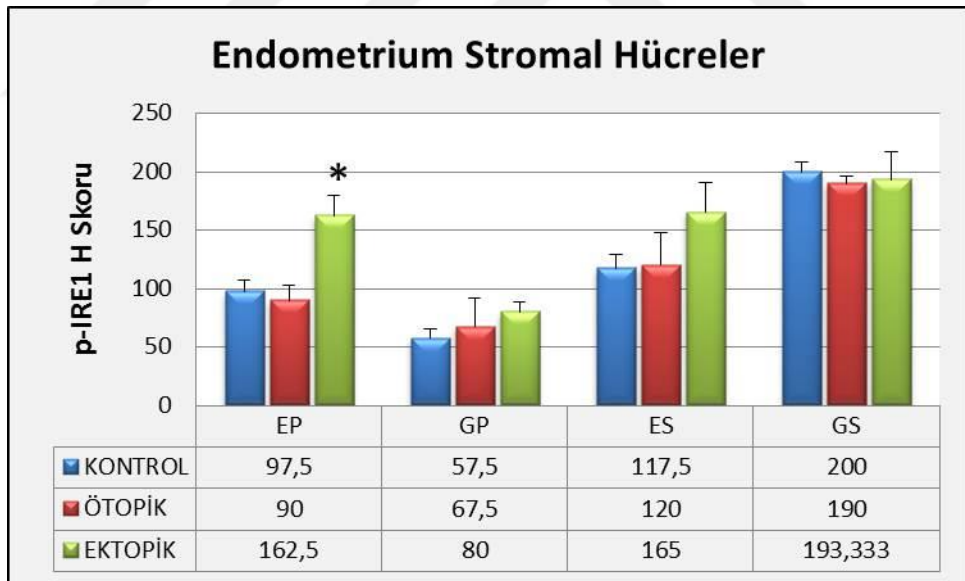
Geç proliferatif fazda, normal, ötopik ve ektopik endometrium bez epitelinde ve stromal hücrelerdeki p-IRE1 ekspresyon düzeyleri arasında istatistiksel bir farklılık saptanmadı (Şekil 4.10, Şekil 4.11, Şekil 4.12).

Erken sekretuar fazda ektopik endometrium bez epitelindeki p-IRE1 ekspresyon düzeyi, ötopik endometriuma kıyasla artmış görüldü ( $p<0,05$ ) (Şekil 4.10, Şekil 4.12). Normal endometrium bez epiteli ile ötopik ve ektopik endometrium bez epiteli karşılaştırıldığında ise herhangi bir istatistiksel anlamlılık bulunmadı (Şekil 4.10, Şekil 4.12). Erken sekretuar fazda, stromal hücre p-IRE1 ekspresyon düzeyleri gruplar arasında kıyaslandığında istatistiksel bir farklılık görülmedi (Şekil 4.11, Şekil 4.12).

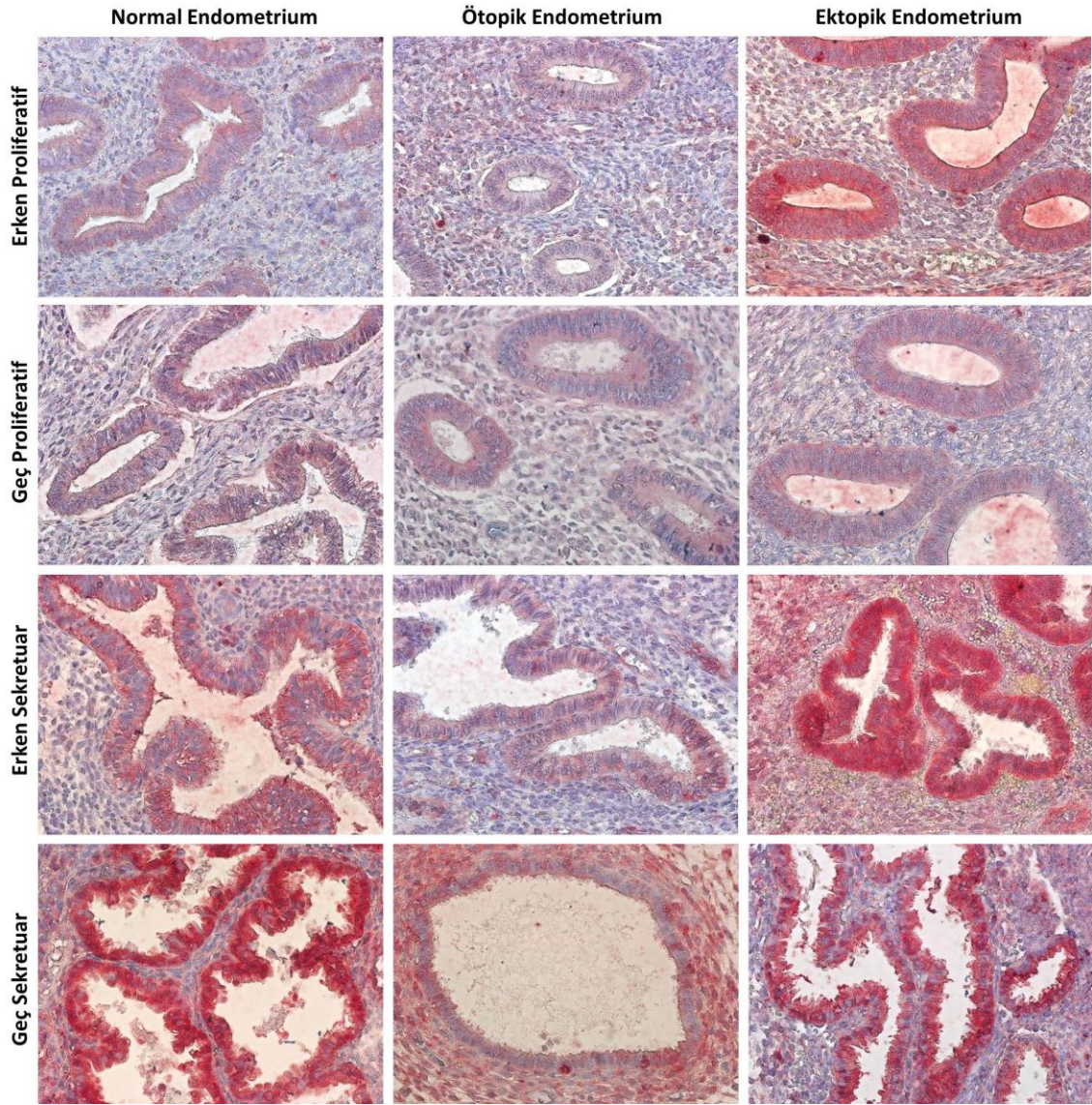
Geç sekretuar fazda ötopik endometrium bez epitelindeki p-IRE1 ekspresyon düzeyi normal endometriuma kıyasla anlamlı olarak azalmış görüldü ( $p<0,05$ ) (Şekil 4.10, Şekil 4.12). Ektopik endometrium bez epitelindeki p-IRE1 ekspresyonu, normal ve ötopik endometriuma kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı (Şekil 4.10, Şekil 4.12). Stromal hücrelerdeki p-IRE1 ekspresyon düzeyleri incelendiğinde, gruplar arasında istatistiksel bir fark görülmedi (Şekil 4.11, Şekil 4.12).



**Şekil 4-10: Menstrual siklus fazlarında normal, ötopik ve ektopik endometrium bez epitelinde p-IRE1 immünoreaktivitesinin H-skor ortalama değerleri.** \* $p < 0,05$ ; normal ile kıyaslandığında, \* $p < 0,001$ ; ötopik ile kıyaslandığında. ‡ $p < 0,05$ ; ötopik ile kıyaslandığında. # $p < 0,05$ ; normal ile kıyaslandığında.



**Şekil 4-11: Menstrual siklus fazlarında normal, ötopik ve ektopik endometrium stromal hücrelerdeki p-IRE1 immünoreaktivitesinin H-skor ortalama değerleri.** \* $p < 0,05$ ; normal ve ötopik ile kıyaslandığında.



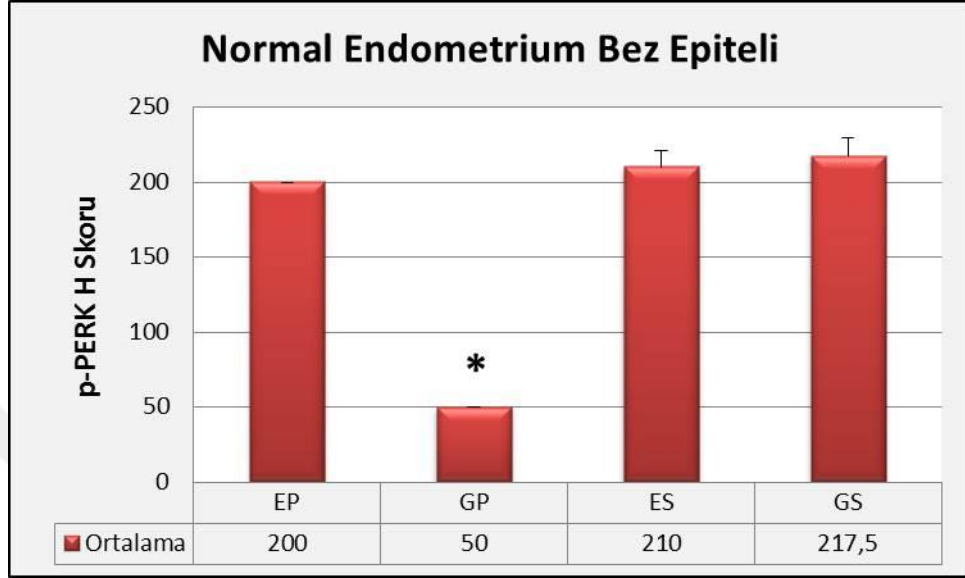
**Şekil 4-12: Menstrual siklus fazlarında normal, ötopik ve ektopik endometrium bez epiteli ve stromal hücrelerdeki p-IRE1 işaretlemesine ait ışık mikrograflar, X40.**

#### 4.1.2. p-PERK İmmünohistokimyasal İşaretleme

##### 4.1.2.1. Normal Endometriumun Bez Epitelinde ve Stromal Hücrelerdeki p-PERK Ekspresyonunun Faz Dağılımı

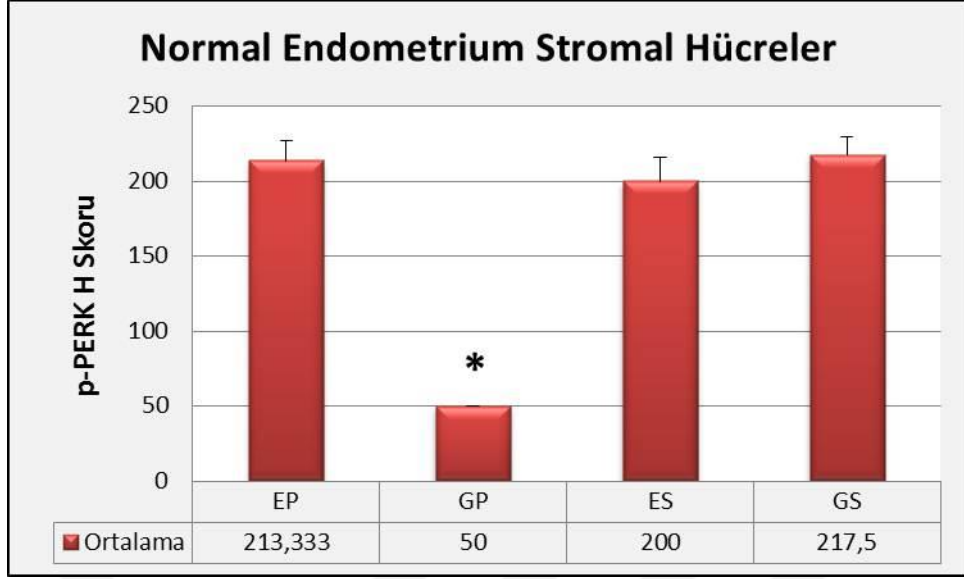
Normal endometrium bez epitelinde, geç proliferatif fazdaki p-PERK ekspresyon düzeyinin, erken proliferatif, erken sekretuar ve geç sekretuar fazlarındaki ekspresyona kıyasla istatistiksel olarak azalmış olduğu görüldü ( $p < 0,001$ ) (Şekil 4.13,

Şekil 4.15 GP). Diğer fazlar arasında p-PERK ekspresyonu açısından anlamlı bir fark saptanmadı (Şekil 4.13, Şekil 4.15).

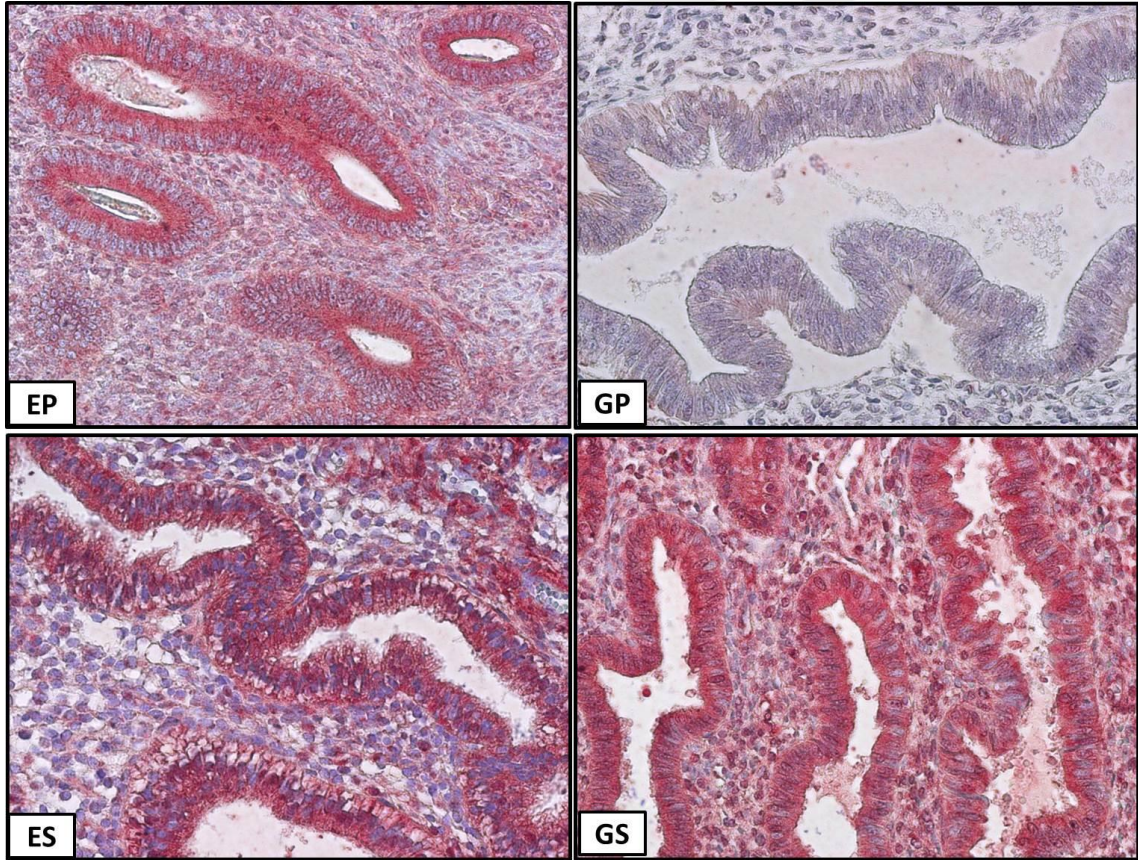


**Şekil 4-13:Normal endometrium bez epitelinde p-PERK immünoreaktivitesinin menstrual faz dağılımının H-skor ortalama değerleri.** \* $p<0,001$ ; EP, ES ve GS ile kıyaslandığında.

Benzer olarak normal endometrium stromal hücrelerde, geç proliferatif fazdaki p-PERK ekspresyon düzeyinin erken proliferatif, erken sekretuar ve geç sekretuar fazlarındaki ekspresyona kıyasla istatistiksel olarak azalmış olduğu görüldü ( $p<0,001$ ) (Şekil 4.14, Şekil 4.15 GP). Diğer fazlar arasında anlamlı bir fark görülmedi (Şekil 4.14, Şekil 4.15).



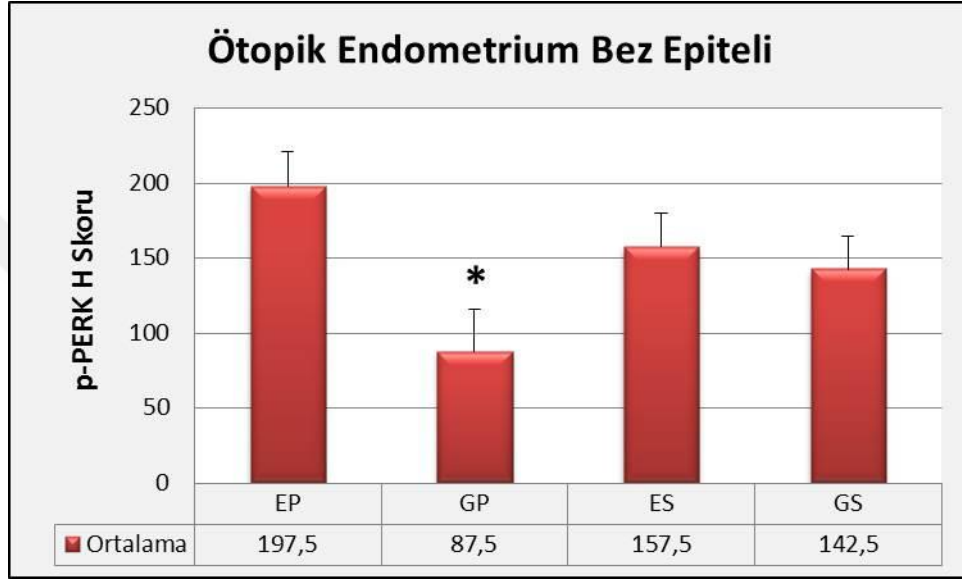
**Şekil 4-14:**Normal endometrium stromal hücrelerdeki p-PERK immünoreaktivitesinin menstrual faz dağılımının H-skor ortalama değerleri \* $p < 0,001$ ; EP, ES ve GS ile kıyaslandığında.



**Şekil 4-15:**Normal endometrium bez epiteli ve stromal hücrelerdeki p-PERK işaretlemesinin faz dağılımını gösteren ışık mikrograflar, X40. EP: Erken proliferatif faz, GP: Geç proliferatif faz, ES: Erken sekretuar faz, GS: Geç sekretuar faz.

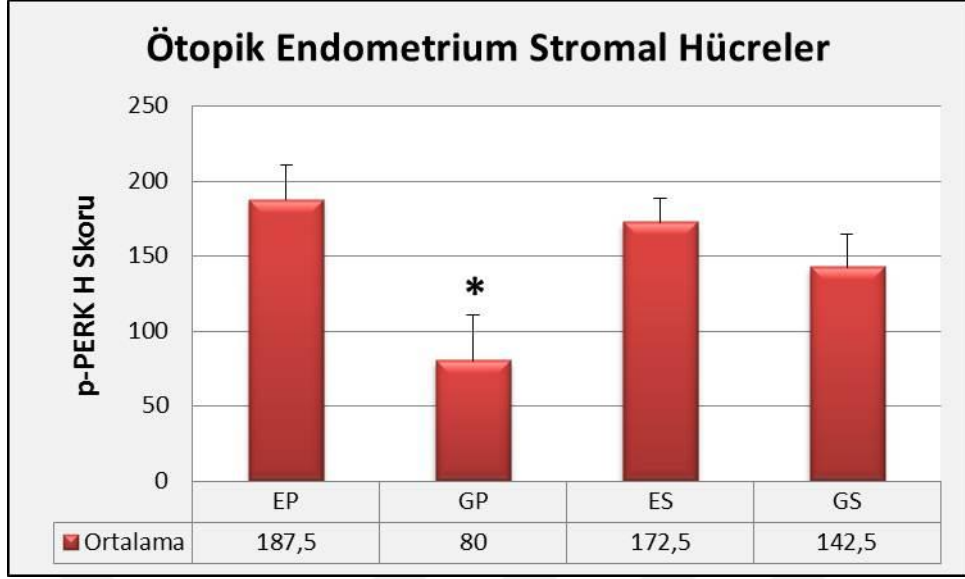
#### 4.1.2.2. Ötopik Endometriumun Bez Epitelinde ve Stromal Hücrelerdeki p-PERK Ekspresyonunun Faz Dağılımı

Ötopik endometrium bez epitelinde, geç proliferatif fazdaki p-PERK ekspresyon düzeyi erken proliferatif fazla kıyaslandığında anlamlı olarak azalmış görüldü ( $p<0,05$ ) (Şekil 4.16, Şekil 4.18 GP, EP). Diğer fazlar arasında p-PERK ekspresyon düzeyleri açısından herhangi bir istatistiksel anlamlılık bulunmadı (Şekil 4.16, Şekil 4.18).

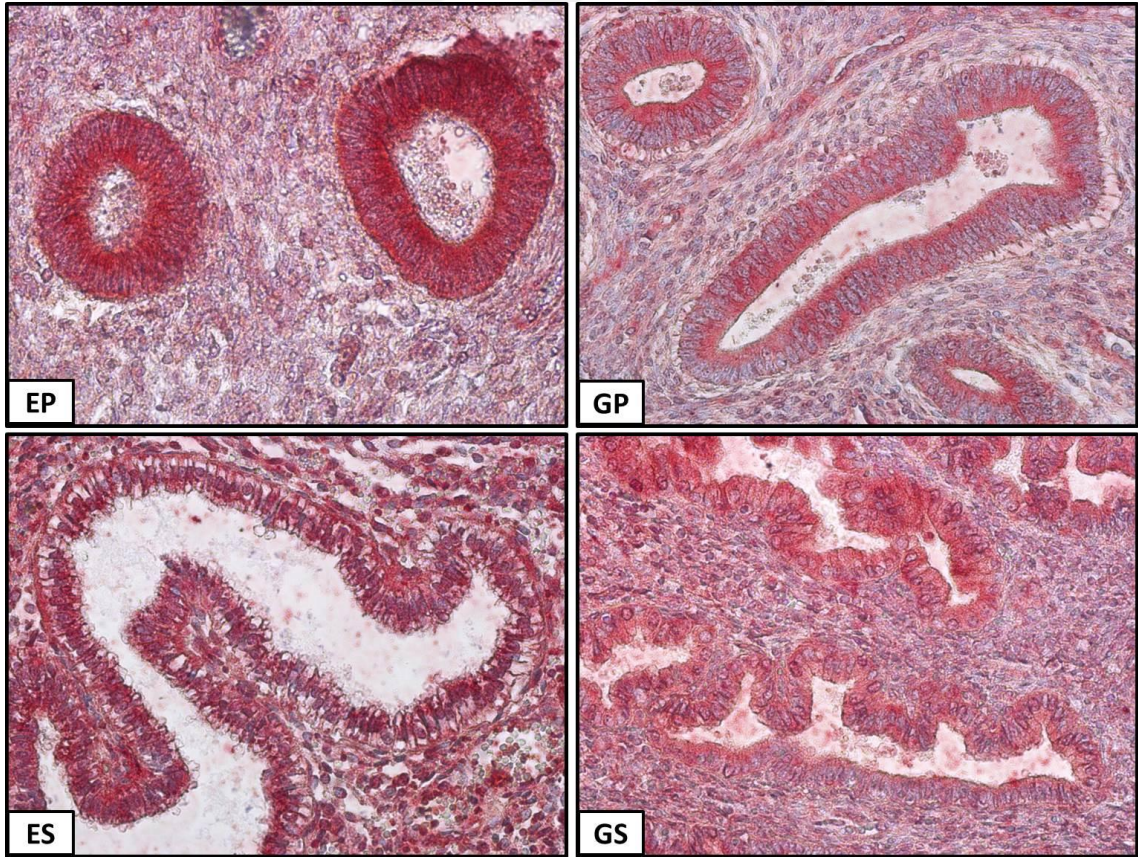


**Şekil 4-16:Ötopik endometrium bez epitelinde p-PERK immünoreaktivitesinin menstrual faz dağılımının H-skor ortalama değerleri \* $p<0,05$ ; EP ile kıyaslandığında.**

Benzer olarak ötopik endometrium stromal hücrelerde, geç proliferatif fazdaki p-PERK ekspresyon düzeyi erken proliferatif fazla kıyaslandığında istatistiksel olarak azalmış görüldü ( $p<0,05$ ) (Şekil 4.17, Şekil 4.18 GP, EP). Diğer fazlar arasında p-PERK ekspresyon düzeyleri açısından herhangi anlamlı bir fark bulunmadı (Şekil 4.17, Şekil 4.18).



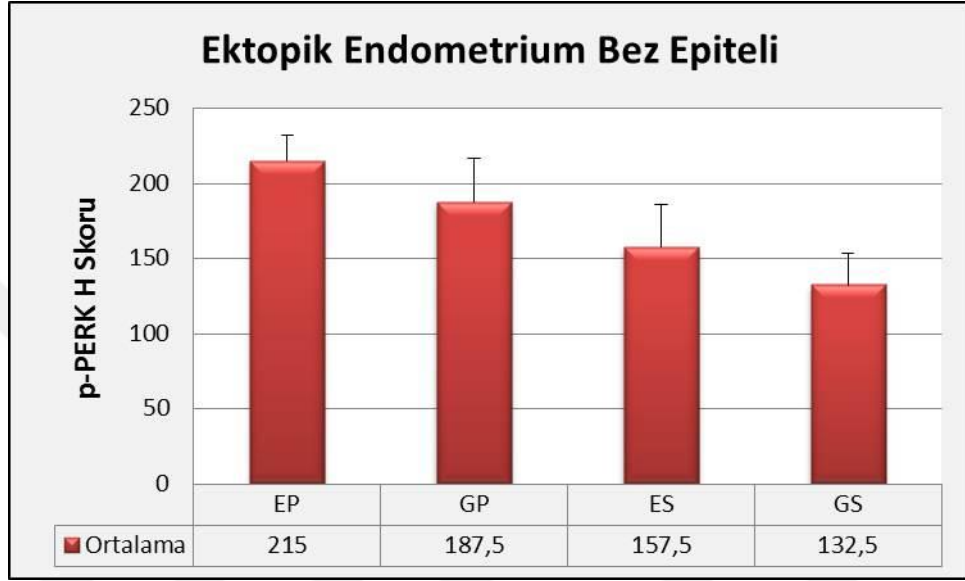
**Şekil 4-17:Ötopik endometrium stromal hücrelerdeki p-PERK immünoreaktivitesinin menstrual faz dağılımının H-skor ortalama değerleri \* $p < 0,05$ ; EP ile kıyaslandığında.**



**Şekil 4-18:Ötopik endometrium bez epiteli ve stromal hücrelerdeki p-PERK işaretlemesinin faz dağılımını gösteren ışık mikrograflar, X40.** EP: Erken proliferatif faz, GP: Geç proliferatif faz, ES: Erken sekretuar faz, GS: Geç sekretuar faz.

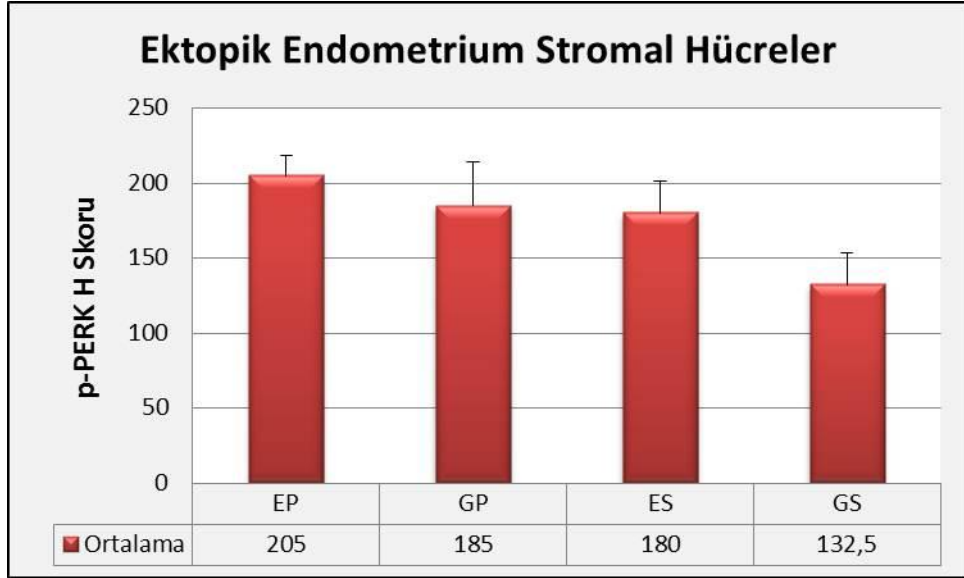
#### 4.1.2.3. Ektopik Endometriumun Bez Epiteli ve Stromal Hücrelerdeki p-PERK Ekspresyonunun Faz Dağılımı

Ektopik endometrium bez epitelinde, fazlar arasında p-PERK ekspresyon düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmedi (Şekil 4.19, Şekil 4.21).

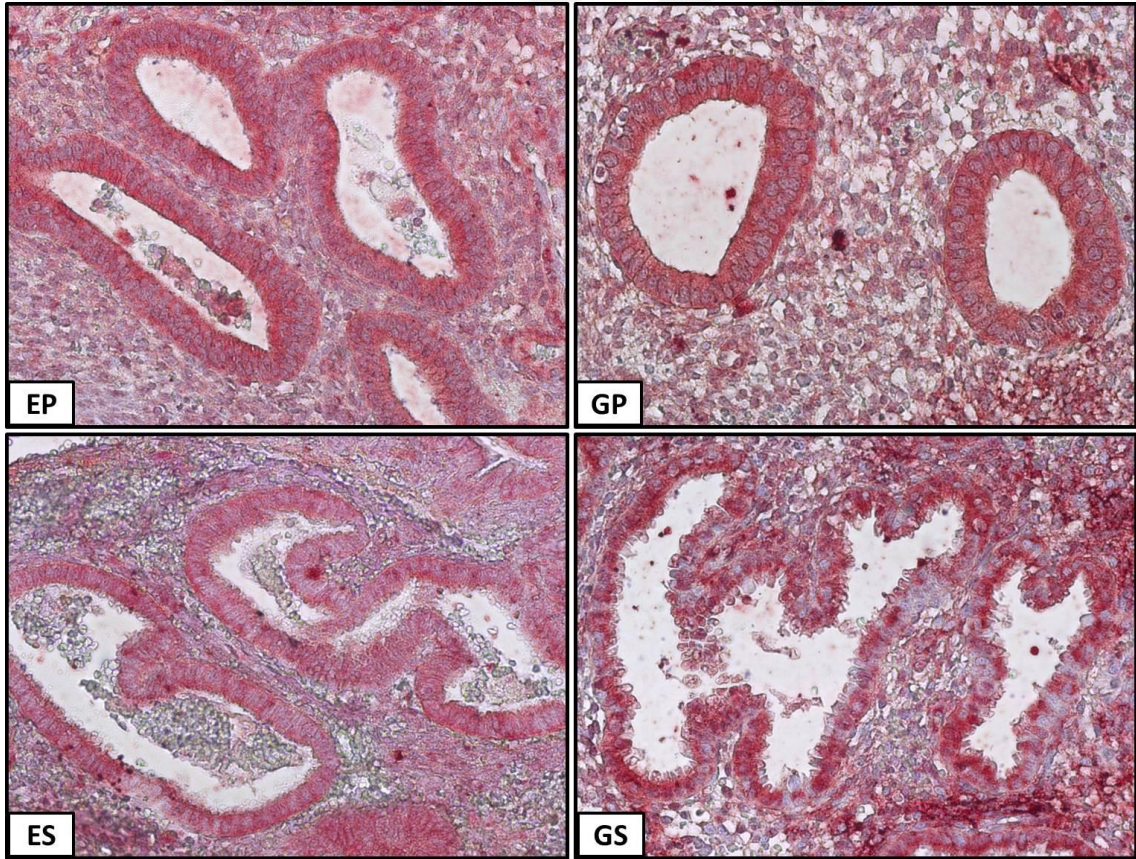


**Şekil 4-19:**Ektopik endometrium bez epitelinde p-PERK immünoreaktivitesinin menstrual faz dağılımının H-skor ortalama değerleri.

Ektopik endometrium stromal hücrelerde, fazlar arasında p-PERK ekspresyon düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmedi (Şekil 4.20, Şekil 4.21).



**Şekil 4-20:**Ektopik endometrium stromal hücrelerdeki p-PERK immünoreaktivitesinin menstrual faz dağılımının H-skor ortalama değerleri.



**Şekil 4-21:**Ektopik endometrium bez epiteli ve stromal hücrelerdeki p-PERK işaretlemesinin faz dağılımını gösteren ışık mikrograflar, X40. EP: Erken proliferatif faz, GP: Geç proliferatif faz, ES: Erken sekretuar faz, GS: Geç sekretuar faz.

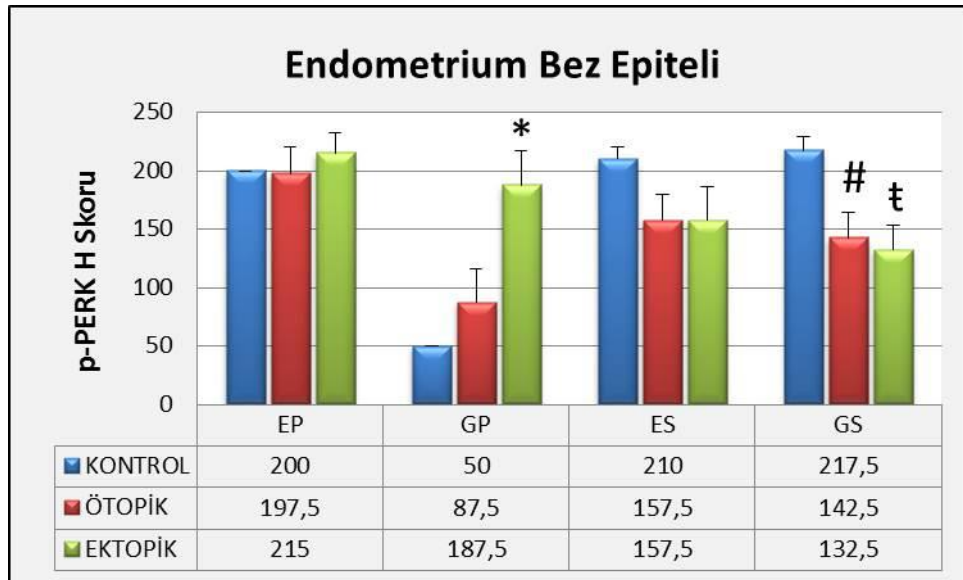
#### 4.1.2.4. Menstrual Siklus Fazlarında p-PERK Ekspresyon Düzeylerinin Normal, Ötopik ve Ektopik Endometrium Arasında Karşılaştırılması

Erken proliferatif fazda bez epiteli ve stromal hücrelerdeki p-PERK ekspresyon düzeylerinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farka rastlanmadı (Şekil 4.22, Şekil 4.23, Şekil 4.24).

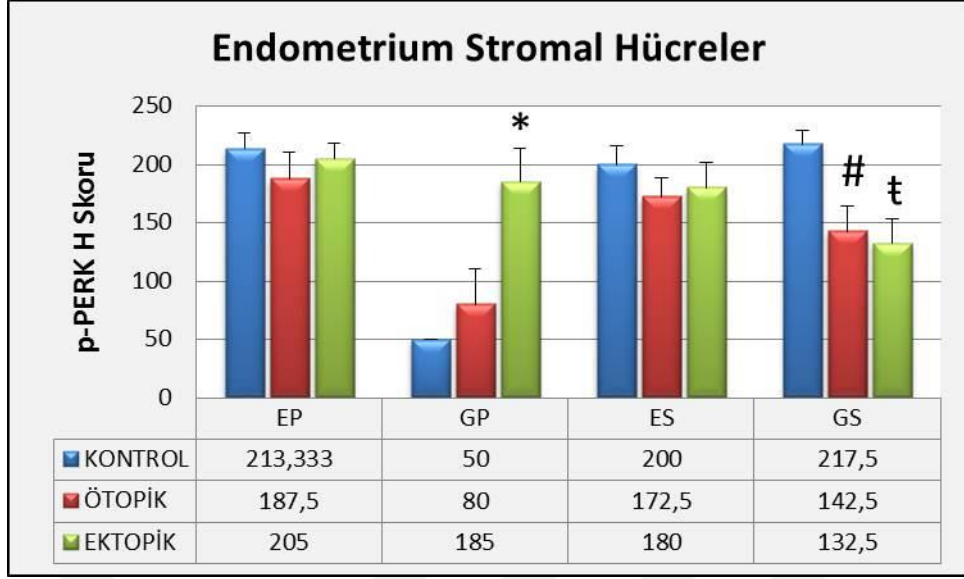
Geç proliferatif fazda ektopik endometrium bez epitelinde ve stromal hücrelerde, p-PERK ekspresyon düzeyleri normal ve ötopik endometriuma kıyasla anlamlı olarak artmış görüldü ( $p<0,05$ ) (Şekil 4.22, Şekil 4.23, Şekil 4.24). Ötopik ve normal endometrium bez epitelinde ve stromal hücrelerdeki p-PERK ekspresyon düzeyleri ise istatistiksel olarak farklı değildi (Şekil 4.22, Şekil 4.23, Şekil 4.24).

Erken sekretuar fazda bez epiteli ve stromal hücrelerdeki p-PERK ekspresyon düzeylerinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farka rastlanmadı (Şekil 4.22, Şekil 4.23, Şekil 4.24).

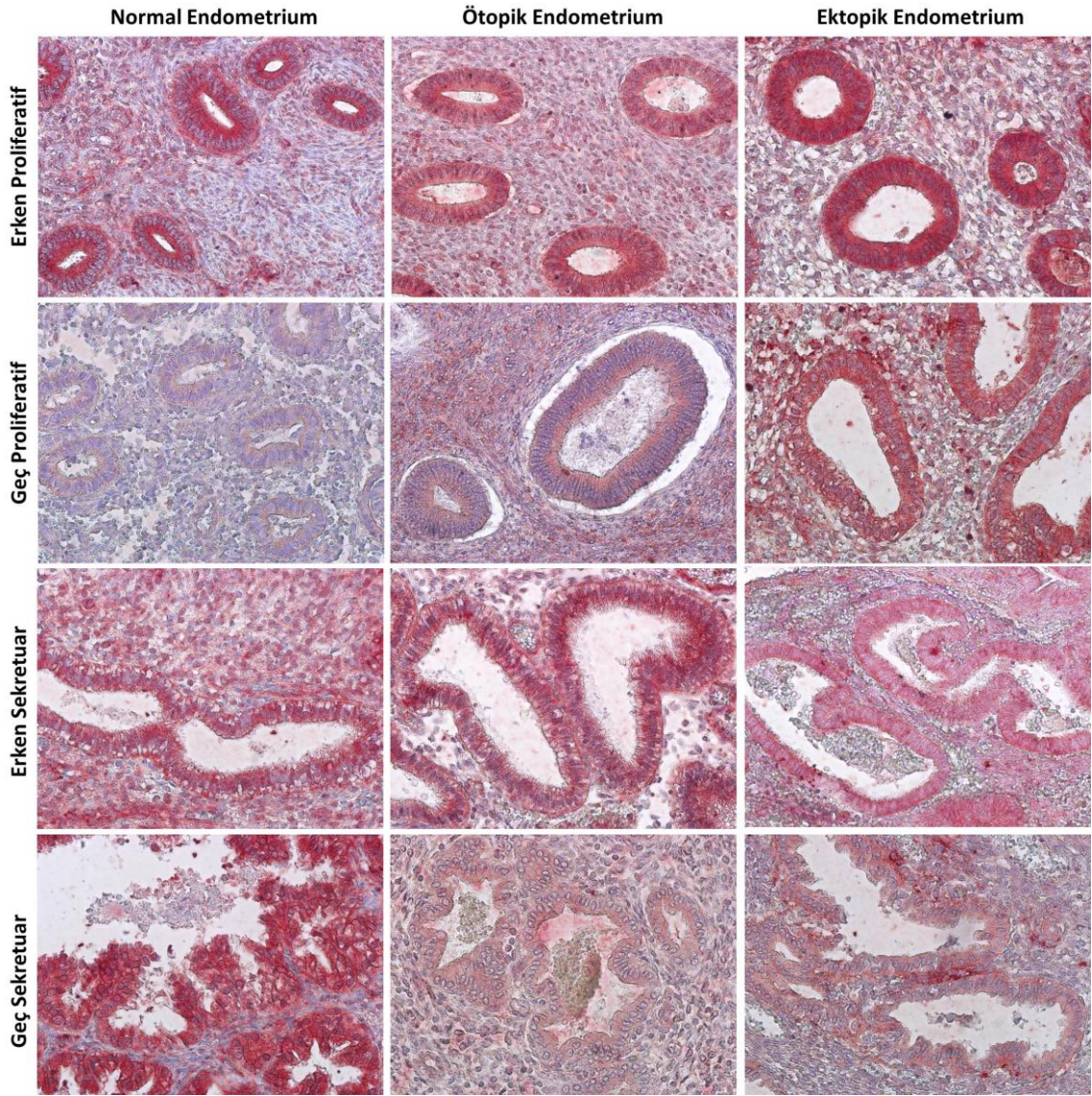
Geç sekretuar fazda ektopik ve ötopik endometrium bez epiteli ve stromal hücrelerdeki p-PERK ekspresyon düzeyleri, normal endometrium ile kıyaslandığında anlamlı olarak azalmış görüldü ( $p<0,05$ ) (Şekil 4.22, Şekil 4.23, Şekil 4.24).



**Şekil 4-22:Menstrual siklus fazlarında normal, ötopik ve ektopik endometrium bez epitelinde p-PERK immünoreaktivitesinin H-skoru ortalama değerleri.** \* $p<0,05$ ; normal ve ötopik ile kıyaslandığında. # $p<0,05$ ; normal ile kıyaslandığında. t $p<0,05$ ; normal ile kıyaslandığında.



**Şekil 4-23: Menstrual siklus fazlarında normal, ötopik ve ektopik endometrium stromal hücrelerdeki p-PERK immünoreaktivitesinin H-skor ortalama değerleri.** \* $p < 0,05$ ; normal ve ötopik ile kıyaslandığında. # $p < 0,05$ ; normal ile kıyaslandığında. † $p < 0,05$ ; normal ile kıyaslandığında.



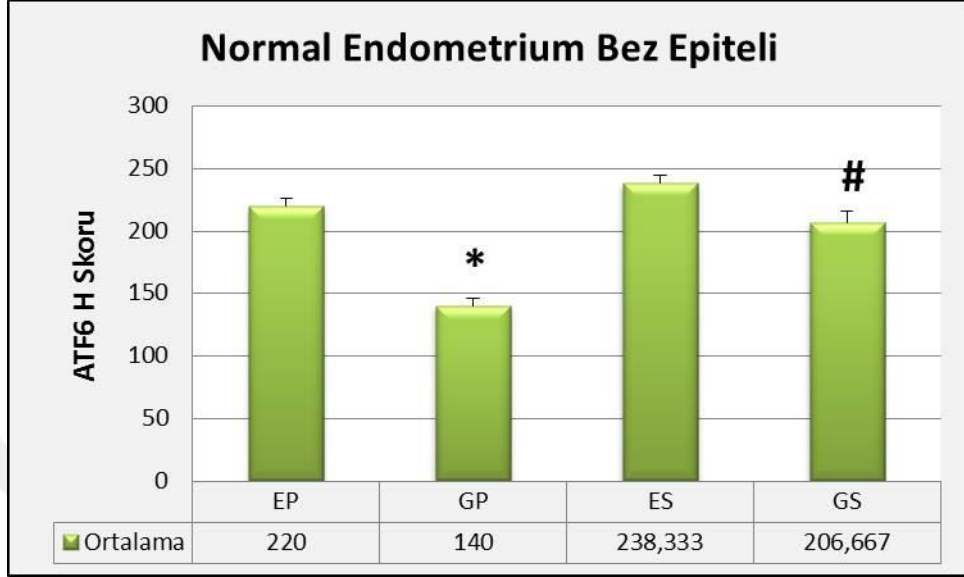
**Şekil 4-24: Menstrual siklus fazlarında normal, ötopik ve ektopik endometrium bez epiteli ve stromal hücrelerdeki p-PERK işaretlemesine ait ışık mikrograflar, X40.**

### 4.1.3. ATF6 İmmünohistokimyasal İşaretlemesi

#### 4.1.3.1. Normal Endometriumun Bez Epiteli ve Stromal Hücrelerdeki ATF6 Ekspresyonunun Faz Dağılımı

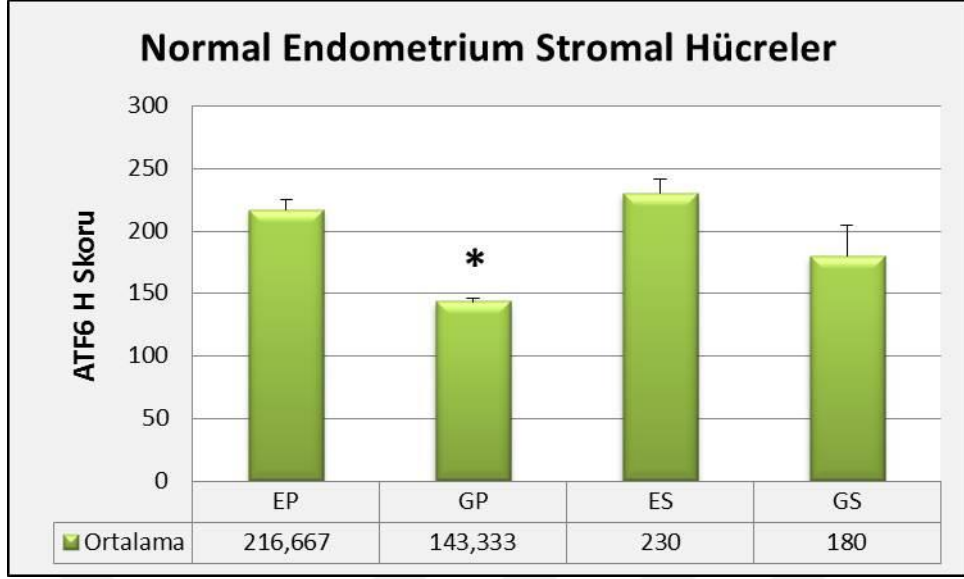
Normal endometrium bez epitelinde, geç proliferatif fazdaki ATF6 ekspresyon düzeyinin, erken proliferatif, erken sekretuar ve geç sekretuar fazlardaki ekspresyona kıyasla istatistiksel olarak azalmış olduğu görüldü ( $p < 0,001$ ) (Şekil 4.25, Şekil 4.27 GP). Geç sekretuar fazdaki ekspresyon düzeyinin, erken sekretuar faza kıyasla istatistiksel olarak azaldığı belirlendi ( $p < 0,05$ ) (Şekil 4.25, Şekil 4.27 GS, ES). Erken

proliferatif faz ile erken sekretuar fazları arasında ise istatistiğe yansıyan bir fark görülmedi (Şekil 4.25, Şekil 4.27).

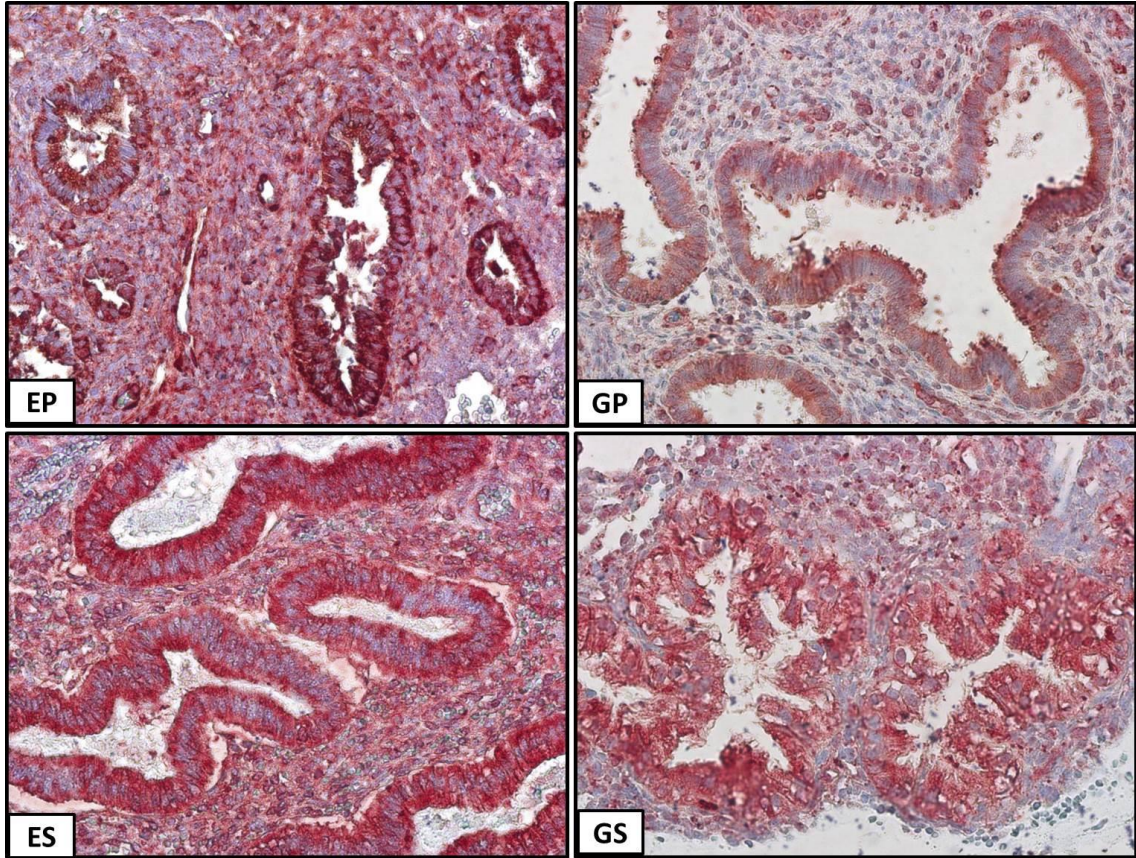


**Şekil 4-25:Normal endometrium bez epitelinde ATF6 immünoreaktivitesinin menstrual faz dağılımının H-skor ortalama değerleri.** \* $p<0,001$ ; EP, ES ve GS ile kıyaslandığında. # $p<0,05$ ; ES ile kıyaslandığında.

Normal endometrium stromal hücrelerde, geç proliferatif fazdaki ATF6 ekspresyon düzeyinin erken proliferatif ve erken sekretuar fazlarına kıyasla istatistiksel olarak azaldığı görüldü ( $p<0,05$ ) (Şekil 4.26, Şekil 4.27 GP). Diğer fazlar arasında ATF6 ekspresyon düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmedi (Şekil 4.26, Şekil 4.27).



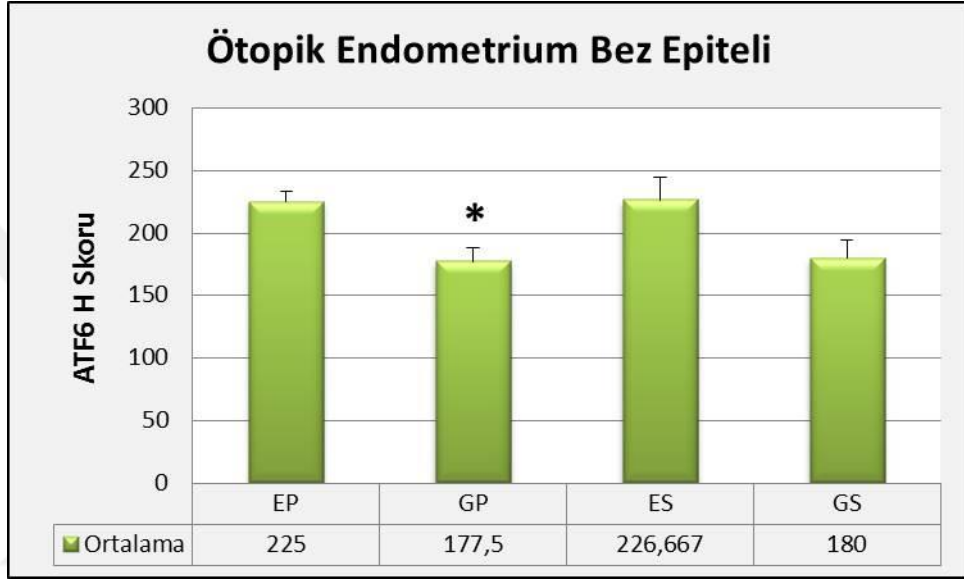
**Şekil 4-26:**Normal endometrium stromal hücrelerdeki ATF6 immünoreaktivitesinin menstrual faz dağılımının H-skor ortalama değerleri. \* $p < 0,05$ ; EP ve ES ile kıyaslandığında.



**Şekil 4-27:**Normal endometrium bez epiteli ve stromal hücrelerdeki ATF6 işaretlemesinin faz dağılımını gösteren ışık mikrograflar, X40. EP: Erken proliferatif faz, GP: Geç proliferatif faz, ES: Erken sekretuar faz, GS: Geç sekretuar faz.

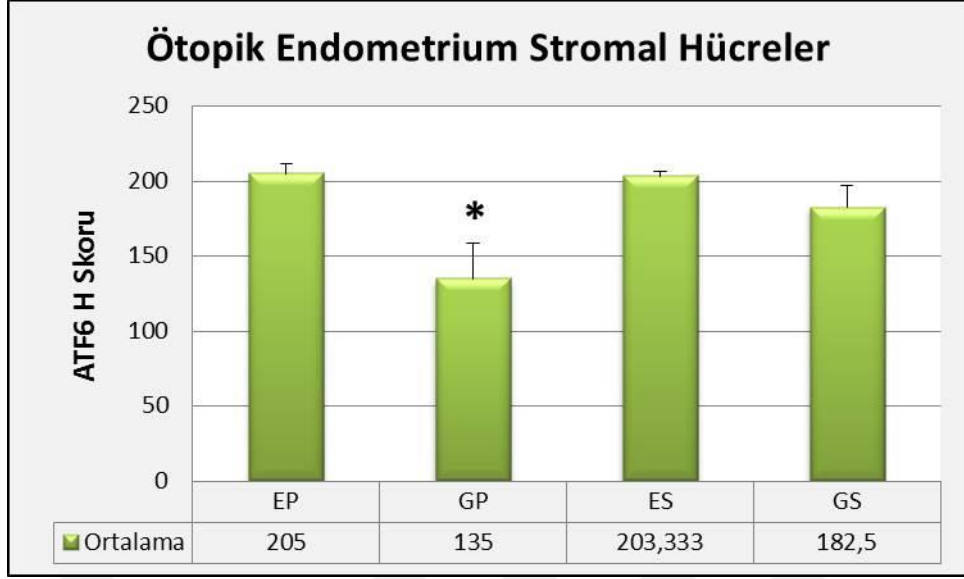
#### 4.1.3.2. Ötopik Endometriumun Bez Epiteli ve Stromal Hücrelerdeki ATF6 Ekspresyonunun Faz Dağılımı

Ötopik endometrium bez epitelinde, geç proliferatif fazdaki ATF6 ekspresyon düzeyi, erken proliferatif ve erken sekretuar faza kıyasla istatistiksel olarak azalmış görüldü ( $p<0,05$ ) (Şekil 4.28, Şekil 4.30 GP). Diğer fazlar arasında istatistiğe yansıyan bir fark saptanmadı (Şekil 4.28, Şekil 4.30).

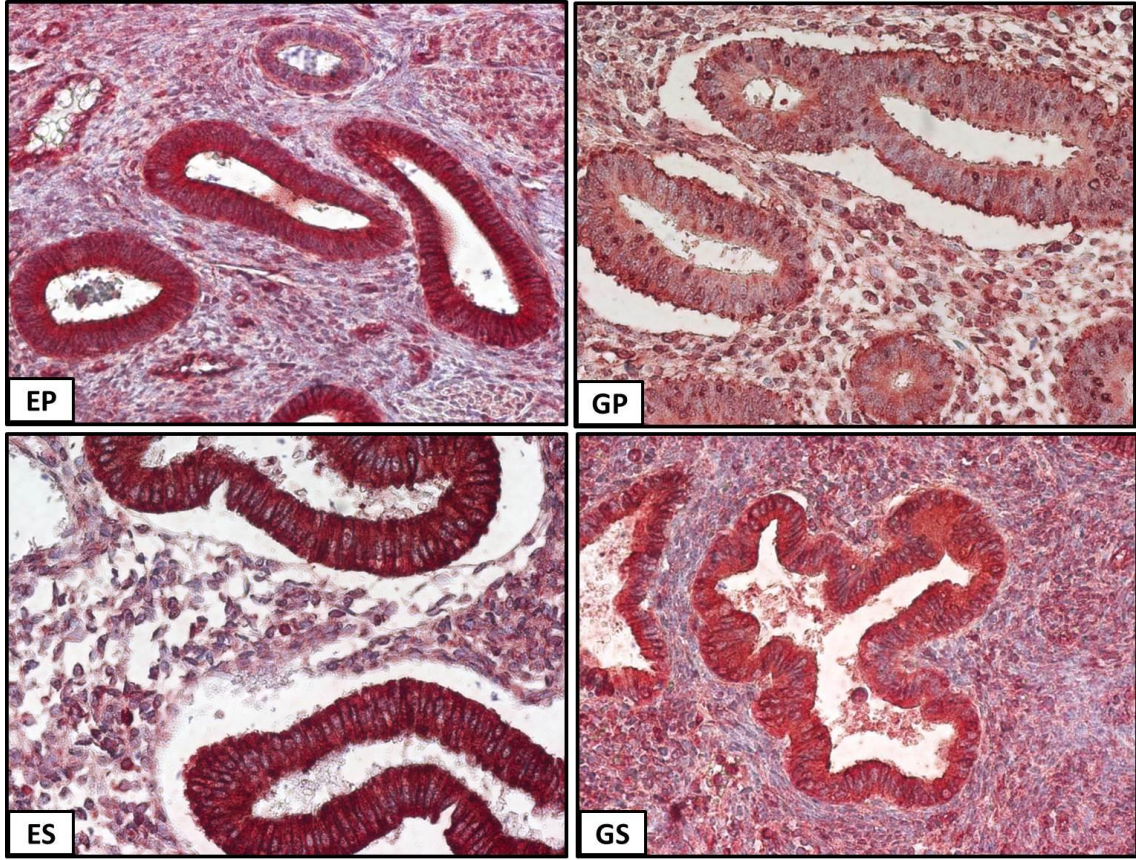


**Şekil 4-28:Ötopik endometrium bez epitelinde ATF6 immünoreaktivitesinin menstrual faz dağılımının H-skor ortalama değerleri. \* $p<0,05$ ; EP ve ES ile kıyaslandığında.**

Benzer olarak stromal hücrelerde de, geç proliferatif fazdaki ATF6 ekspresyon düzeyi, erken proliferatif ve erken sekretuar faza kıyasla istatistiksel olarak azalmış görüldü ( $p<0,05$ ) (Şekil 4.29, Şekil 4.30 GP). Diğer fazlar arasında istatistiğe yansıyan bir fark saptanmadı (Şekil 4.29, Şekil 4.30).



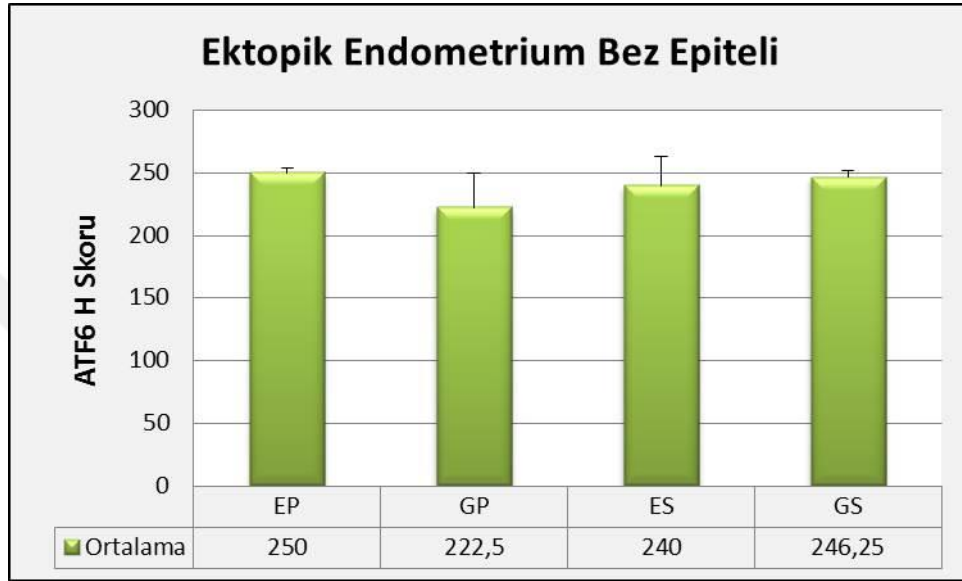
**Şekil 4-29:**Ötopik endometrium stromal hücrelerdeki ATF6 immünoreaktivitesinin menstrual faz dağılımının H-skor ortalama değerleri. # $p < 0,05$ ; EP ve ES ile kıyaslandığında.



**Şekil 4-30:**Ötopik endometrium bez epiteli ve stromal hücrelerdeki ATF6 işaretlemesinin faz dağılımını gösteren ışık mikrograflar, X40. EP: Erken proliferatif faz, GP: Geç proliferatif faz, ES: Erken sekretuar faz, GS: Geç sekretuar faz.

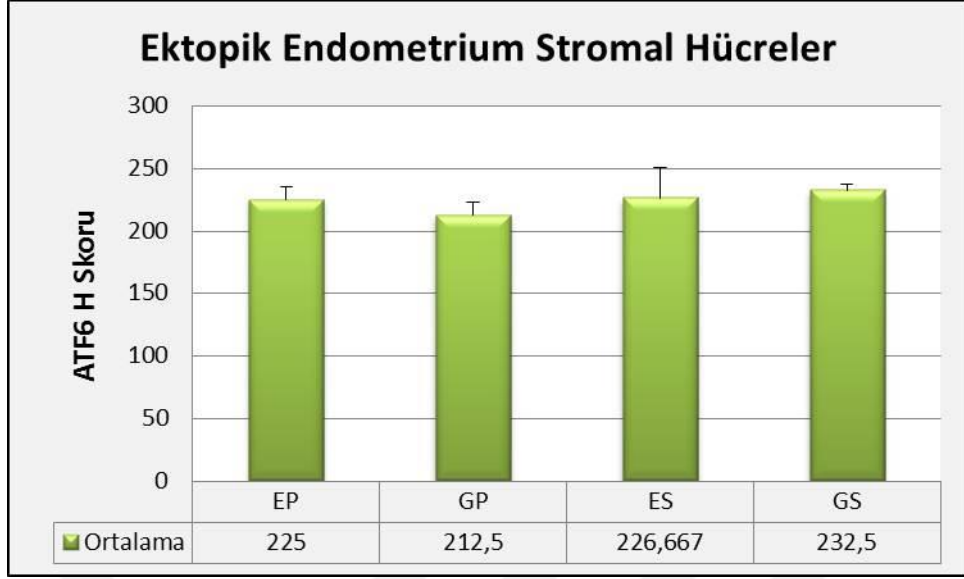
#### 4.1.3.3. Ektopik Endometriumun Bez Epiteli ve Stromal Hücrelerdeki ATF6 Ekspresyonunun Faz Dağılımı

Ektopik endometrium bez epitelindeki ATF6 ekspresyon düzeylerinde fazlar arasında anlamlı bir istatistiksel fark görülmedi (Şekil 4.31, Şekil 4.33).

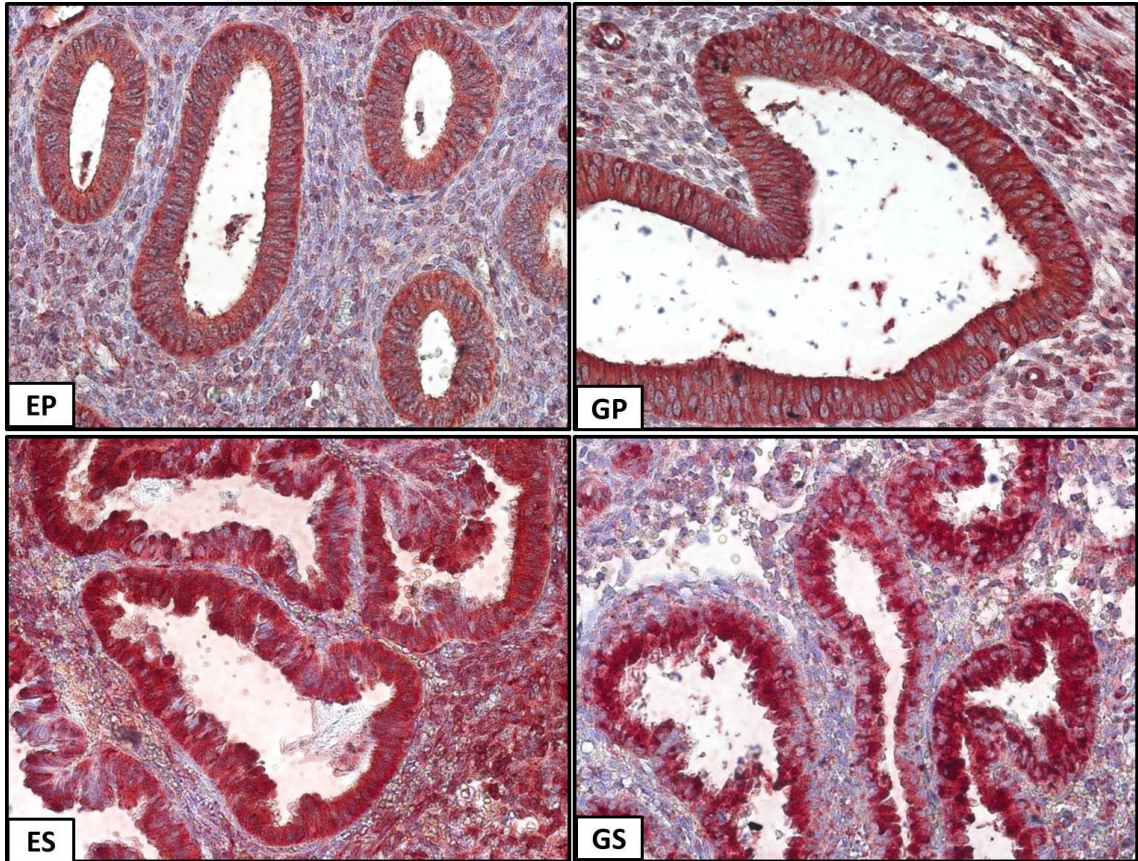


**Şekil 4-31: Ektopik endometrium bez epitelinde ATF6 immünoreaktivitesinin menstrual faz dağılımının H-skor ortalama değerleri.**

Benzer olarak stromal hücrelerde de, ATF6 ekspresyon düzeyinde fazlar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı (Şekil 4.32, Şekil 4.33).



**Şekil 4-32:**Ektopik endometrium stromal hücrelerdeki ATF6 immünoreaktivitesinin menstrual faz dağılımının H-skor ortalama değerleri.



**Şekil 4-33:**Ektopik endometrium bez epiteli ve stromal hücrelerdeki ATF6 işaretlemesinin faz dağılımını gösteren ışık mikrograflar; X40. EP: Erken proliferatif faz, GP: Geç proliferatif faz, ES: Erken sekretuar faz, GS: Geç sekretuar faz.

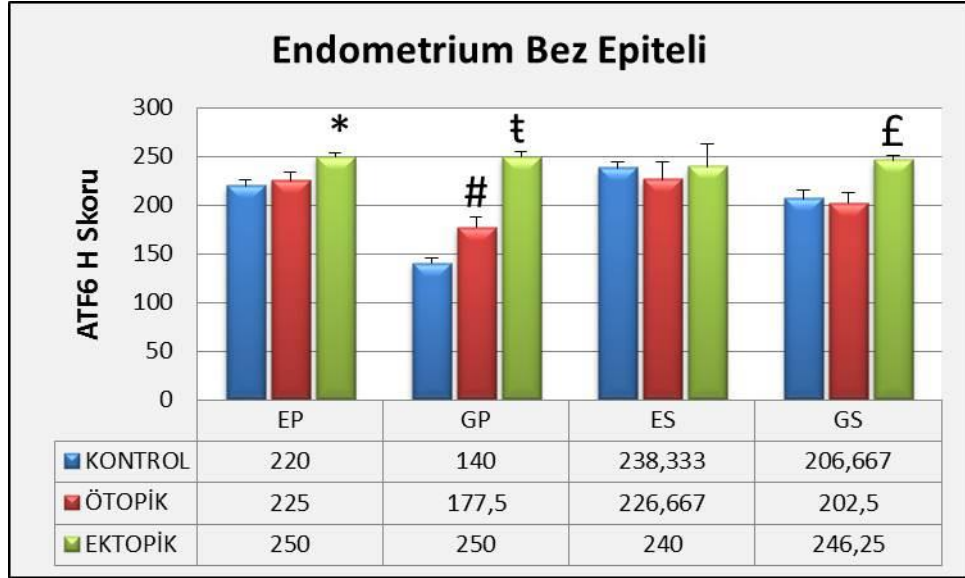
#### **4.1.3.4. Menstrual Siklus Fazlarında ATF6 Ekspresyon Düzeylerinin Normal, Ötopik ve Ektopik Endometrium Arasında Karşılaştırılması**

Erken proliferatif fazdaki ATF6 ekspresyon düzeyinin ektopik endometrium bezlerinde normal ve ötopik endometrium bez epiteline kıyasla istatistiksel olarak artış gösterdiği belirlendi ( $p<0,05$ ) (Şekil 4.34, Şekil 4.36). Normal ve ötopik endometrium bez epitelindeki ATF6 ekspresyon düzeylerinde ise istatistiksel bir farklılık bulunmadı (Şekil 4.34, Şekil 4.36). Diğer yandan stromal hücrelerdeki ATF6 ekspresyon düzeyinde ise gruplar arasında anlamlı bir fark görülmedi (Şekil 4.35, Şekil 4.36).

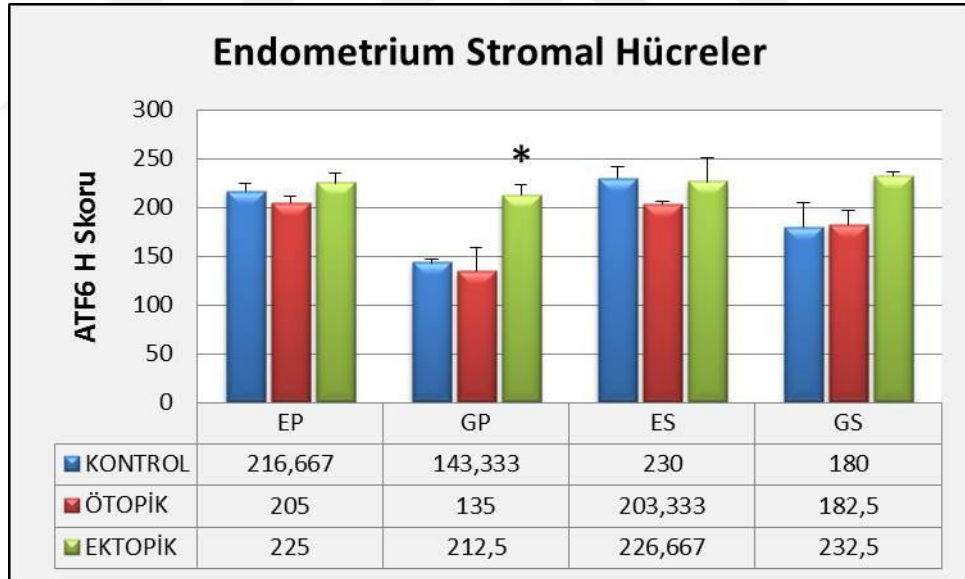
Geç proliferatif fazdaki ekspresyon düzeyinin ektopik endometrium bez epitelinde, normal ve ötopik endometrium bez epiteline kıyasla anlamlı olarak artış gösterdiği saptandı ( $p<0,001$ ) (Şekil 4.34, Şekil 4.36). Ayrıca ötopik endometrium bez epitelindeki ATF6 ekspresyon düzeyi de, normal endometriuma kıyaslandığında istatistiksel olarak artmış bulundu ( $p<0,05$ ) (Şekil 4.34, Şekil 4.36). Stromal hücrelerdeki ATF6 ekspresyon düzeyinde ise ektopik endometrium stromal hücrelerde, ötopik ve normal endometrium stromal hücrelere kıyasla anlamlı olarak artış görülürken ( $p<0,05$ ), normal endometriuma ötopik endometrium stromal hücrelerde istatistiksel bir farklılık görülmedi (Şekil 4.35, Şekil 4.36).

Erken sekretuar fazda endometrial bez epitelinde ve stromal hücrelerdeki ATF6 ekspresyon düzeylerinde ise, gruplar arasında anlamlı bir fark görülmedi (Şekil 4.34, Şekil 4.35, Şekil 4.36).

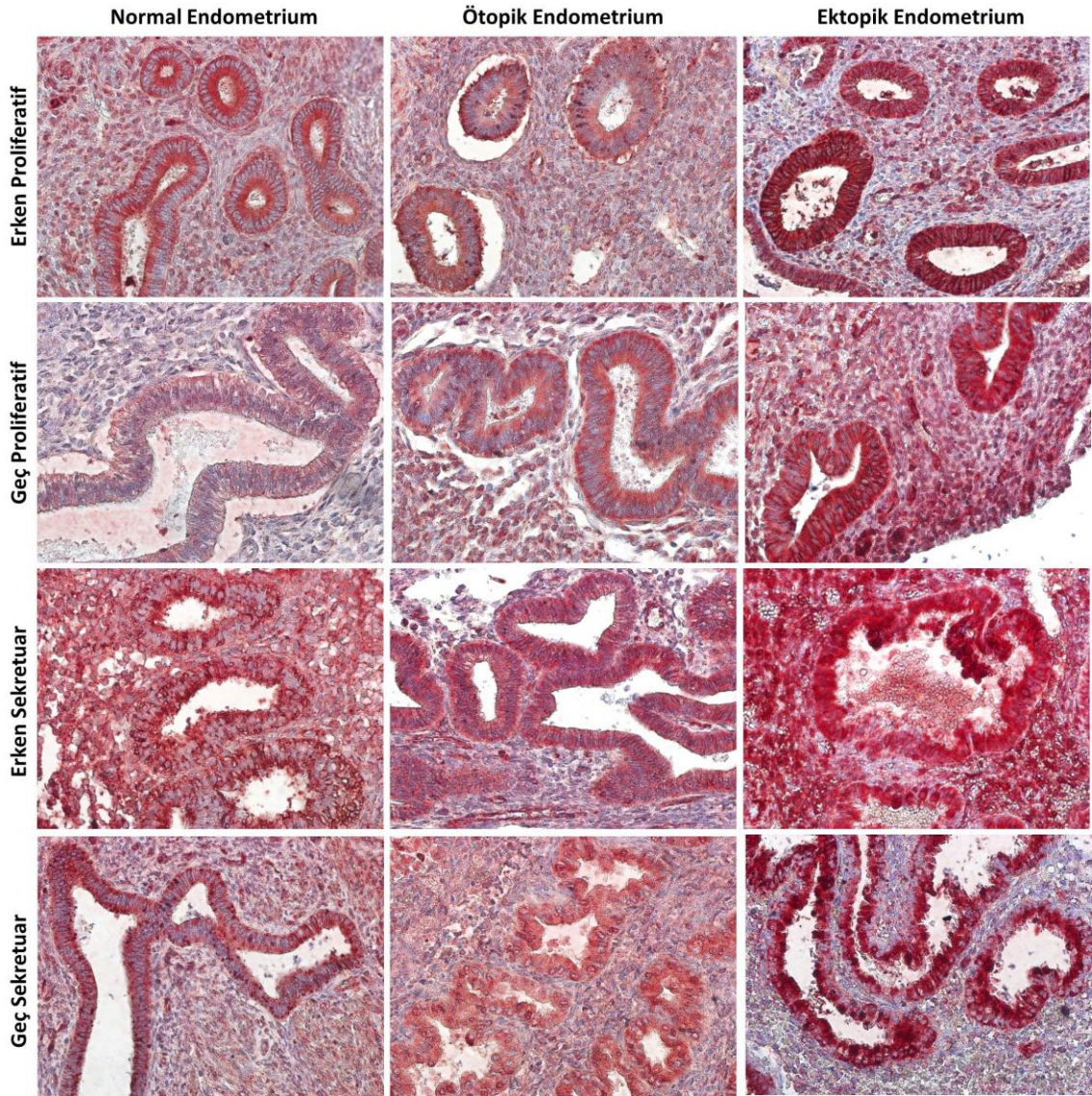
Geç sekretuar fazda ise ektopik endometrium bez epitelindeki ATF6 ekspresyon düzeyleri, normal ve ötopik endometrium bez epiteline kıyasla anlamlı olarak artış gösterirken ( $p<0,05$ ), normal ve ötopik endometrium bez epitelindeki ekspresyon düzeyleri kıyaslandığında, istatistiğe yansıyan bir fark saptanmadı (Şekil 4.34, Şekil 4.36). Diğer yandan stromal hücrelerdeki ATF6 ekspresyon düzeyleri kıyaslandığında, gruplar arasında anlamlı bir fark bulunmadı (Şekil 4.35, Şekil 4.36).



**Şekil 4-34: Menstrual siklus fazlarında normal, ötopik ve ektopik endometrium bez epitelinde ATF6 immünoreaktivitesinin H-skor ortalama değerleri.** \* $p < 0,05$ ; normal ve ötopik ile kıyaslandığında. # $p < 0,05$ ; normal ile kıyaslandığında. † $p < 0,001$ ; normal ve ötopik ile kıyaslandığında. £ $p < 0,05$ ; normal ve ötopik ile kıyaslandığında.



**Şekil 4-35: Menstrual siklus fazlarında normal, ötopik ve ektopik endometrium stromal hücrelerdeki ATF6 immünoreaktivitesinin H-skor ortalama değerleri.** \* $p < 0,05$ ; normal ve ötopik ile kıyaslandığında.

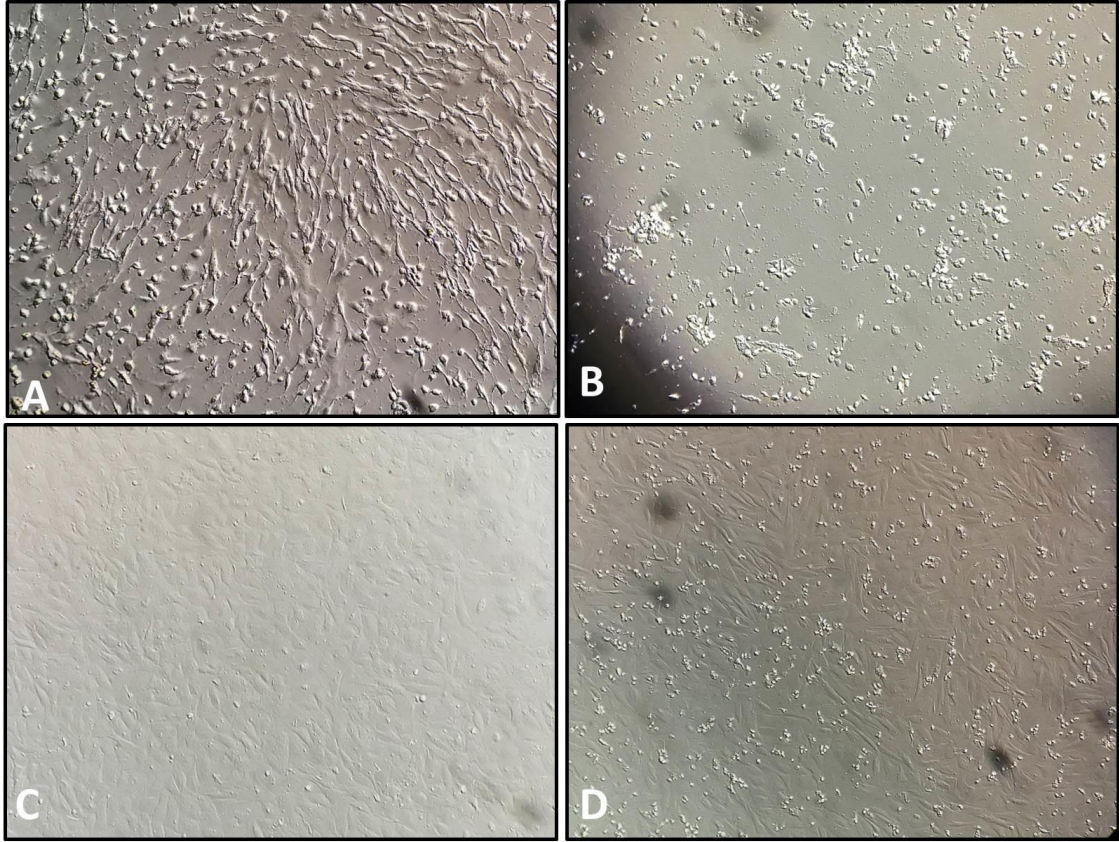


**Şekil 4-36: Menstrual siklus fazlarında normal, ötopik ve ektopik bez epiteli ve stromal hücrelerdeki ATF6 işaretlemesine ait ışık mikyografklar; X40.**

#### 4.2. Hücre Kültürü Deney Bulguları

Endometriozis periton sıvısı verilen primer endometrial stromal hücrelerde, düşük ve yüksek konsantrasyonda ve 10-30-60 dk ve 24-48 saat sonunda herhangi bir hücre ölümü görünmez iken, kontrol periton sıvısına maruz kalan hücrelerin düşük ve yüksek konsantrasyonlarda yaklaşık 4-5. saatlerde ölüme gitmeye başladığı ve 24. saatte hücrelerin öldüğü gözlemlendi. Yapılan gözlemlerde yaklaşık 4-5. saatte hücre morfolojilerinin bozulduğu, hücre uzantılarının çekildiği, hücre sitoplazmalarının büzüldüğü ve nukleusların kondanse olduğu dikkati çekmiştir. Bu sebeple kontrol grubundaki endometrial stromal hücrelerde, sadece 10-30-60 dk sonundaki bulgular değerlendirildi ve endometriozis grubu ile de 10-30-60 dk sonundaki bulgular

kıyaslandı. Endometriozis grubunda ise 10-30-60 dk ile 24 ve 48 saatlerdeki bulgular değerlendirildi.



**Şekil 4-37: Kontrol periton sıvısı uygulanan endometrial stromal hücrelerin, (A) 5. saat, (B) 24. saat, endometriozis periton sıvısı uygulanan endometrial stromal hücrelerin (C) 24. saat (D) 48. saatlerde çekilmiş fotoğrafları.**

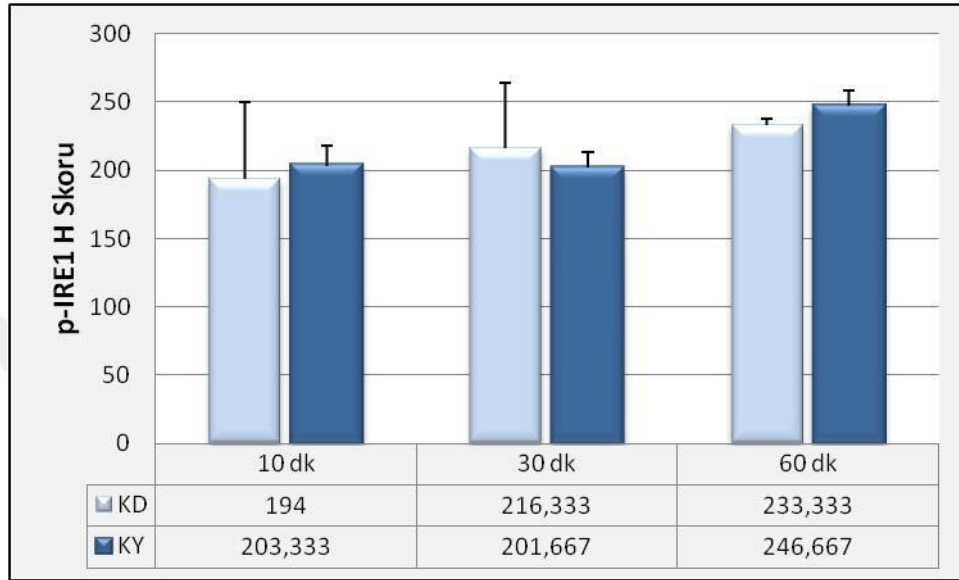
#### 4.2.1. İmmünohistokimyasal İşaretleme

Endometriozisi olmayan (kontrol) ve endometriozisi olan hastalardan alınan periton sıvıları, primer endometrial stromal hücrelerine düşük (%10) ve yüksek konsantrasyonda (%20) ve 10, 30, 60 dk ve 24 ve 48 saat olacak şekilde uygulandı. Periton sıvılarının endometrial stromal hücreleri üzerindeki konsantrasyona ve zamana bağlı etkileri p-IRE1, p-PERK ve ATF6 immunoreaktivitesi ile istatistiksel olarak değerlendirildi.

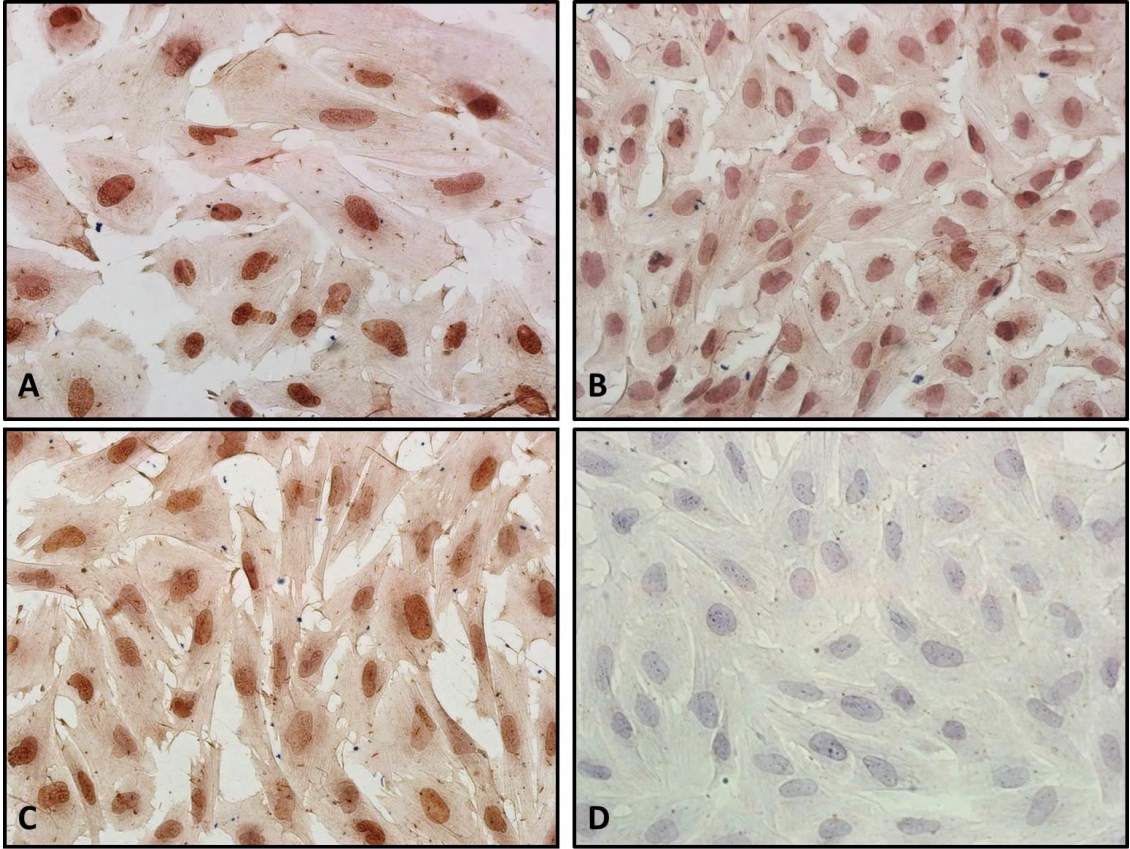
##### 4.2.1.1. p-IRE1 İmmünohistokimya İşaretleme

Düşük konsantrasyon kontrol periton sıvısının verildiği endometrial stromal hücreleri, 10-30 ve 60 dk sonunda değerlendirildiğinde, p-IRE1 ekspresyon düzeyleri arasında istatistiksel bir fark görülmedi (Şekil 4-38, Şekil 4-39). Benzer şekilde yüksek

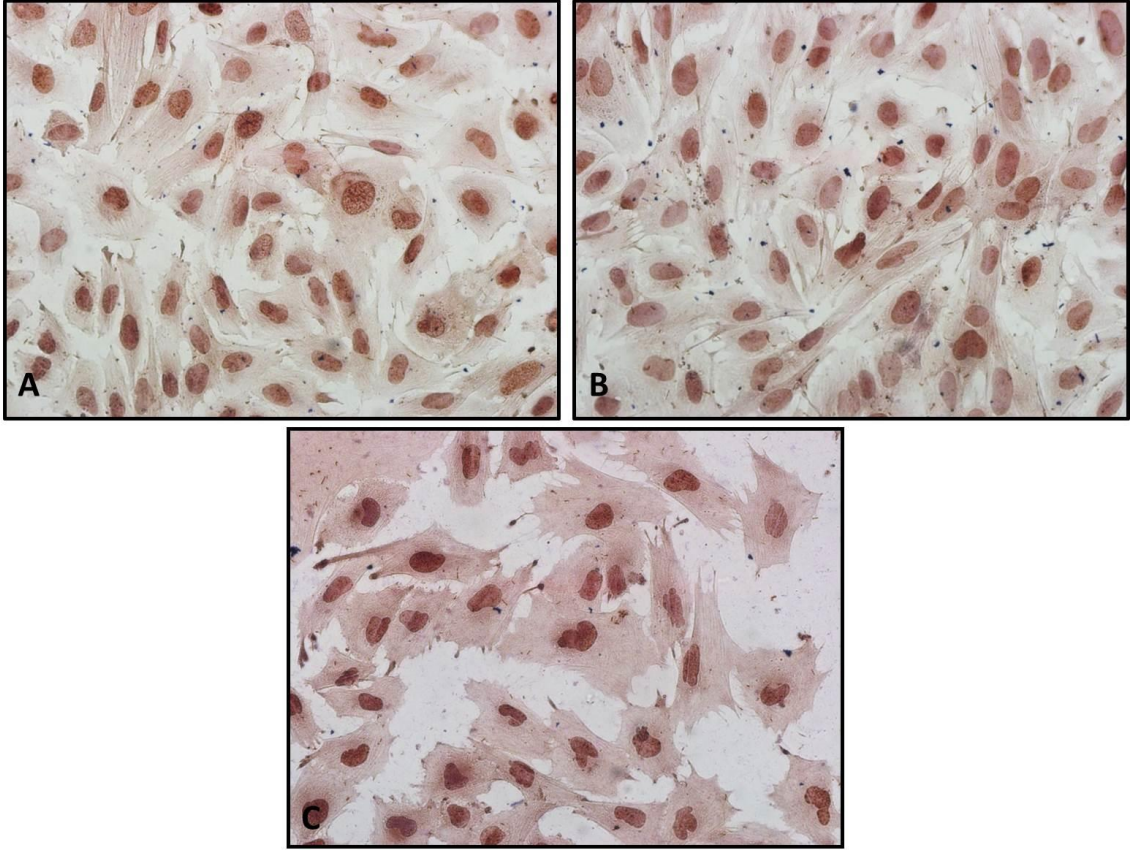
konsantrasyon kontrol periton sıvısı verilen hücrelerde de p-IRE1 ekspresyon düzeyleri açısından zamana bağlı olarak anlamlı bir fark saptanmadı (Şekil 4-38, Şekil 4-40). Diğer yandan, kontrol periton sıvısının düşük ve yüksek konsantrasyondaki p-IRE1 ekspresyon düzeyleri, her bir zaman aralığında kıyaslandığında konsantrasyonlar arasında anlamlı bir fark bulunmadı (Şekil 4-38).



**Şekil 4-38:** Kontrol PS uygulanan endometrial stromal hücrelerde, zamana ve konsantrasyona bağlı p-IRE1 immunoreaktivitesinin H skor ortalama değerleri. KD: Kontrol PS düşük konsantrasyon, KY: Kontrol PS yüksek konsantrasyon.

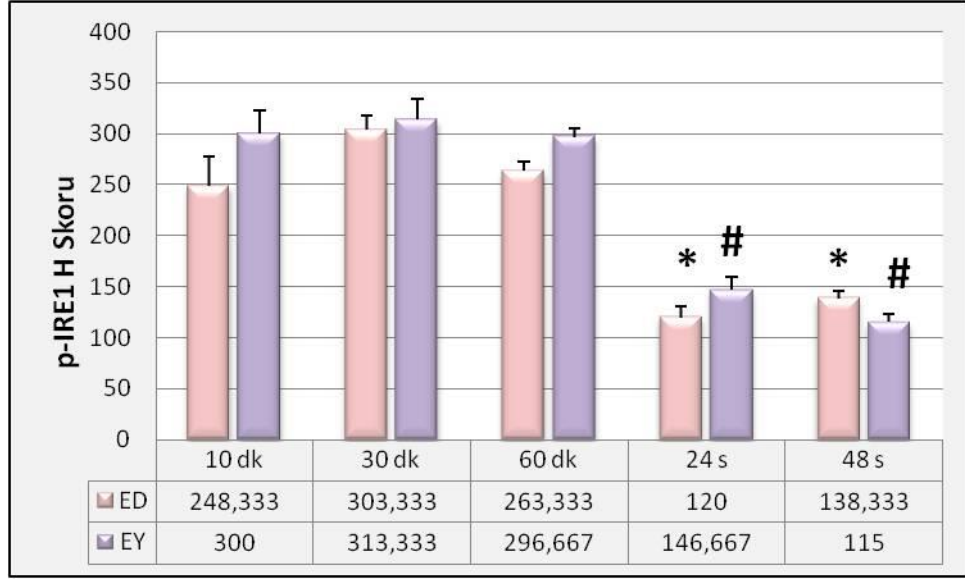


**Şekil 4-39:** Kontrol PS'nin düşük konsantrasyonda uygulandığı endometrial stromal hücrelerde, 10 dk (A), 30 dk (B), 60 dk (C) negatif kontrol (D) p-IRE1 işaretlemesinin ışık mikrografları, X40.

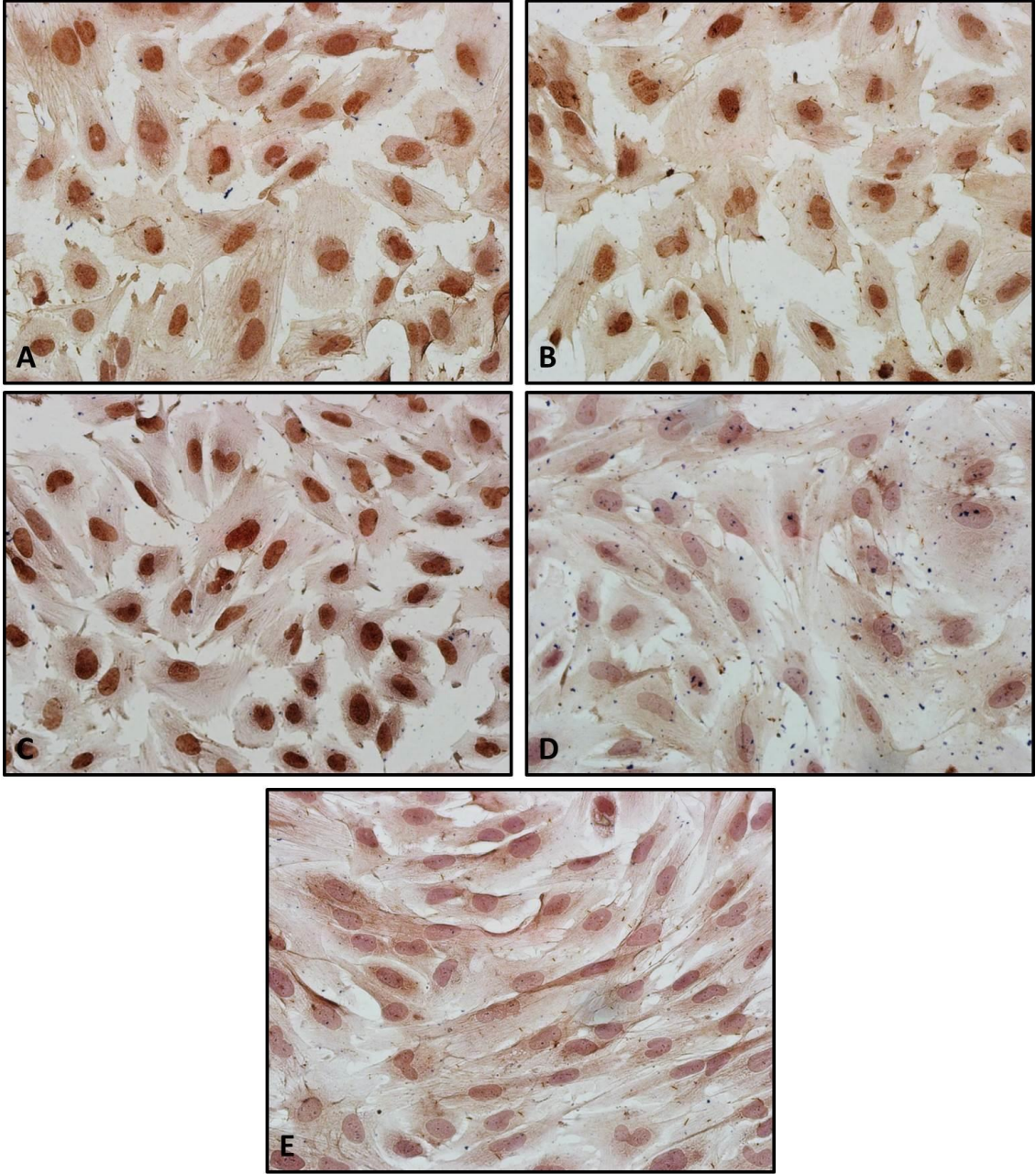


**Şekil 4-40: Kontrol PS'nin yüksek konsantrasyonda uygulandığı endometrial stromal hücrelerde 10 dk (A), 30 dk (B), 60 dk (C) p-IRE1 işaretlemeinin ışık mikrografları, X40.**

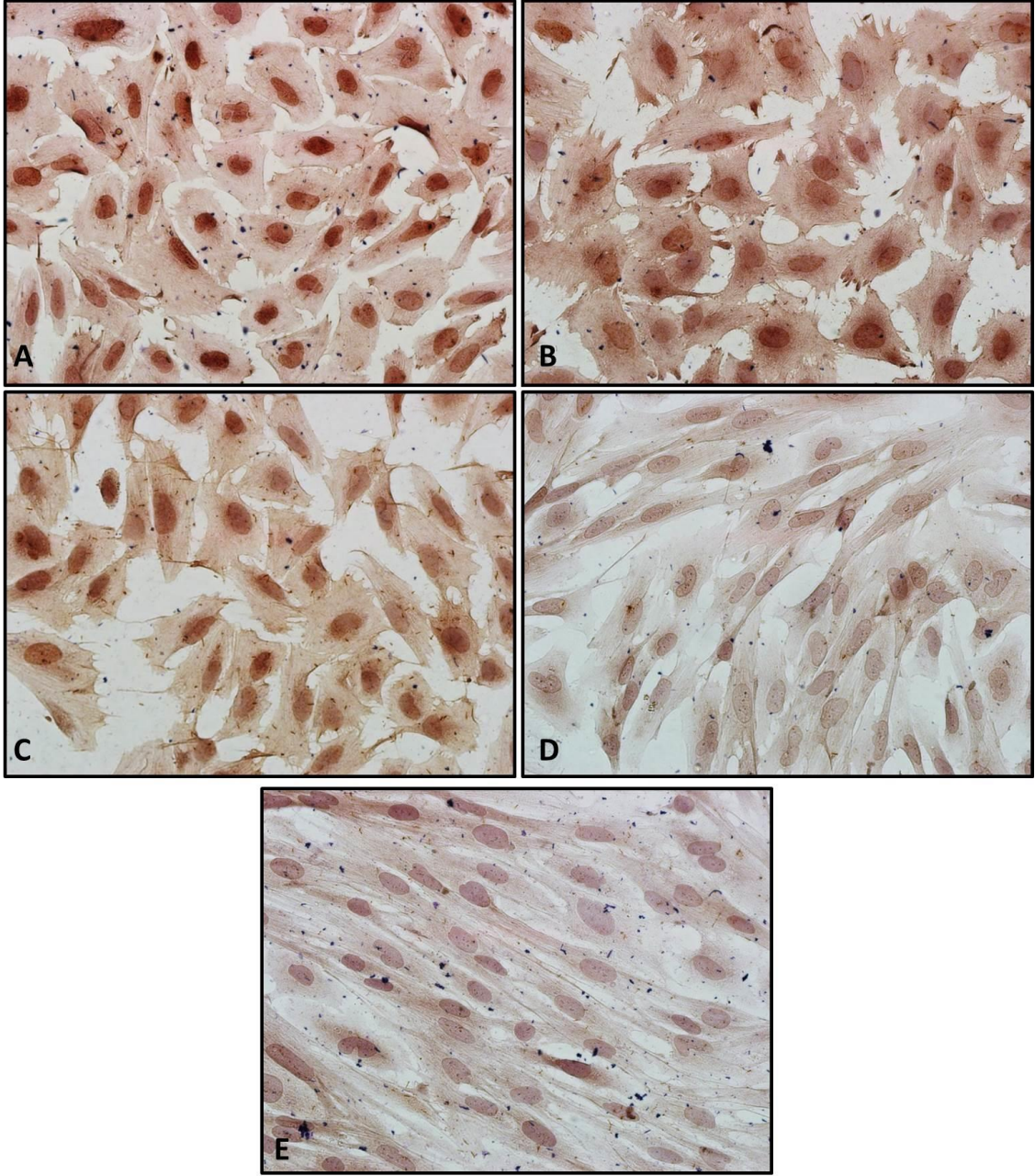
Endometriozis periton sıvısının düşük konsantrasyonda verildiği endometrial stromal hücreleri p-IRE1 immünoreaktivitesi açısından değerlendirildiğinde, 10-30 ve 60 dk sonundaki p-IRE1 ekspresyon düzeyleri arasında istatistiksel bir fark bulunmazken, 10-30-60 dk sonundaki ekspresyon düzeyleri ile kıyaslandığında 24 ( $p<0,05$ ) ve 48. ( $p<0,001$ ) saatlerdeki p-IRE1 ekspresyon düzeyinin, istatistiksel olarak azaldığı görüldü (Şekil 4-41, Şekil 4-42). Benzer şekilde yüksek konsantrasyon endometriozis periton sıvısı verilen hücrelerde de 10-30 ve 60 dk sonundaki p-IRE1 ekspresyon düzeyleri arasında istatistiksel bir fark bulunmazken, 24 ve 48. saatlerdeki p-IRE1 ekspresyon düzeyleri 10-30-60 dk sonundaki ekspresyon düzeyleri ile kıyaslandığında istatistiksel olarak azaldığı saptandı ( $p<0,001$ ) (Şekil 4-41, Şekil 4-43). Endometriozis periton sıvısının düşük ve yüksek konsantrasyonları p-IRE1 ekspresyon düzeyleri açısından birbiri ile kıyaslandığında konsantrasyon kaynaklı istatistiksel bir fark görülmedi (Şekil 4-41).



**Şekil 4-41: Endometriozis PS uygulanan endometrial stromal hücrelerde, zamana ve konsantrasyona bağlı p-IRE1 immunoreaktivitesinin H skor ortalama değerleri. ED: Endometriozis PS düşük konsantrasyon, EY: endometriozis PS yüksek konsantrasyon. \* $p < 0,05$ ; ED 10-30-60 dk ile kıyaslandığında, # $p < 0,05$ ; EY 10-30-60 dk ile kıyaslandığında.**

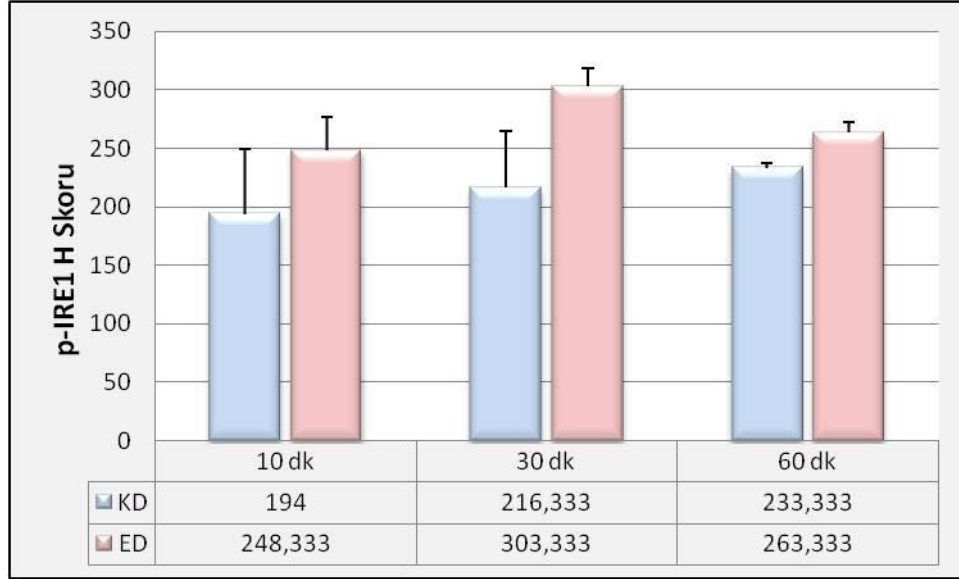


**Şekil 4-42: Endometriozis PS'nin düşük konsantrasyonda uygulandığı endometrial stromal hücrelerde 10 dk (A), 30 dk (B), 60 dk (C) 24 s (D), 48 s (E) p-IRE1 işaretlemesinin ışık mikrografları, X40.**



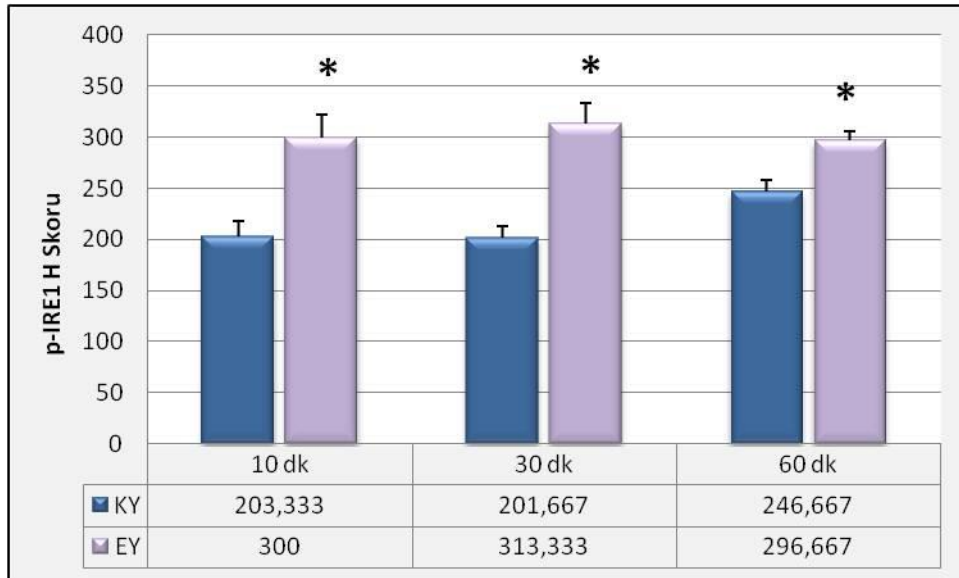
**Şekil 4-43: Endometriozis PS'nin yüksek konsantrasyonda uygulandığı endometrial stromal hücrelerde 10 dk (A), 30 dk (B), 60 dk (C), 24 s (D), 48 s (E) p-IRE1 işaretlemeinin ışık mikrografları, X40.**

Kontrol ve endometriozis periton sıvılarının düşük konsantrasyonda uygulandığı endometrial stromal hücreler, 10-30 ve 60 dk sonunda p-IRE1 ekspresyonu açısından değerlendirildiğinde, endometriozis grubunda p-IRE1 ekspresyon düzeyi kıyaslama yapılabilen tüm zaman aralıklarında kontrole kıyasla daha yüksek olsa da, iki grup arasında istatistiksel olarak bir fark bulunmadı (Şekil 4-44).



**Şekil 4-44: Kontrol ve endometriozis PS'nin düşük konsantrasyonda uygulandığı endometrial stromal hücrelerde, zamana bağlı p-IRE1 immunoreaktivitesinin H skor ortalama değerleri. KD: Kontrol PS düşük konsantrasyon, ED: Endometriozis PS düşük konsantrasyon.**

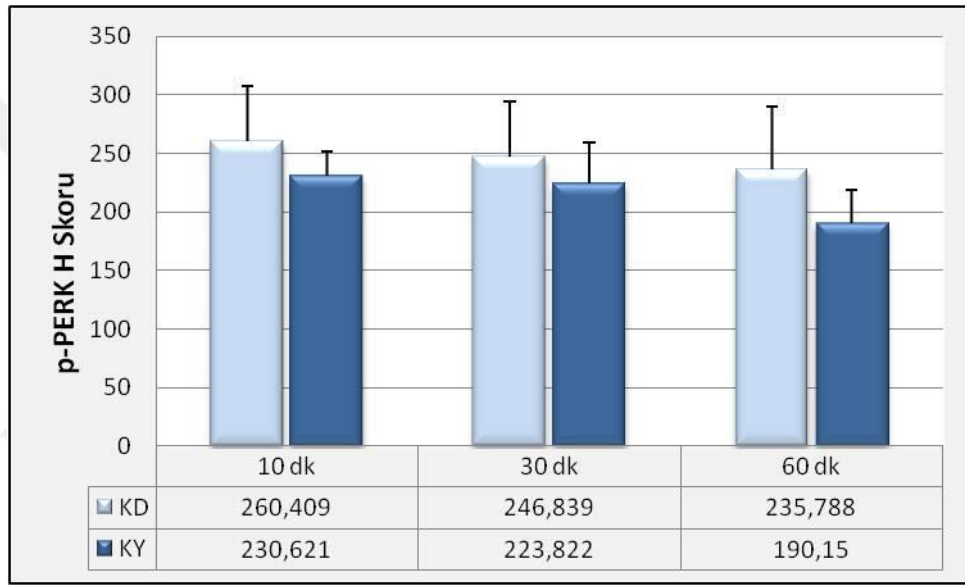
Kontrol ve endometriozis periton sıvılarının yüksek konsantrasyonda uygulandığı endometrial stromal hücrelerde ise, endometriozis grubunda 10, 30 ve 60 dk sonundaki p-IRE1 ekspresyon seviyesi, kontrol grubuyla kıyaslandığında anlamlı olarak artmış bulundu ( $p < 0,05$ ) (Şekil 4-45).



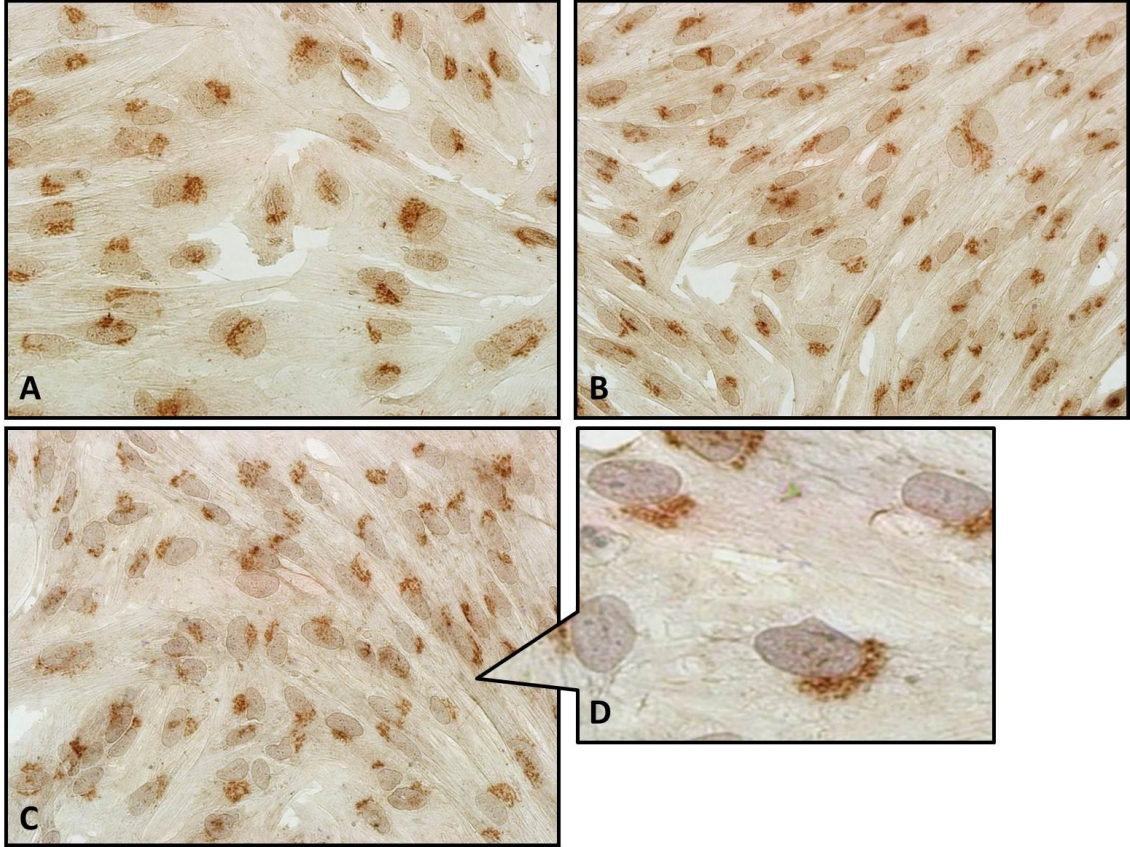
**Şekil 4-45: Kontrol ve endometriozis PS'nin yüksek konsantrasyonda uygulandığı endometrial stromal hücrelerde, zamana bağlı p-IRE1 immunoreaktivitesinin H skor ortalama değerleri. KY: Kontrol PS yüksek konsantrasyon, EY: Endometriozis PS yüksek konsantrasyon. \* $p < 0,05$ .**

#### 4.2.1.2. p-PERK İmmünotokimya İşaretleme

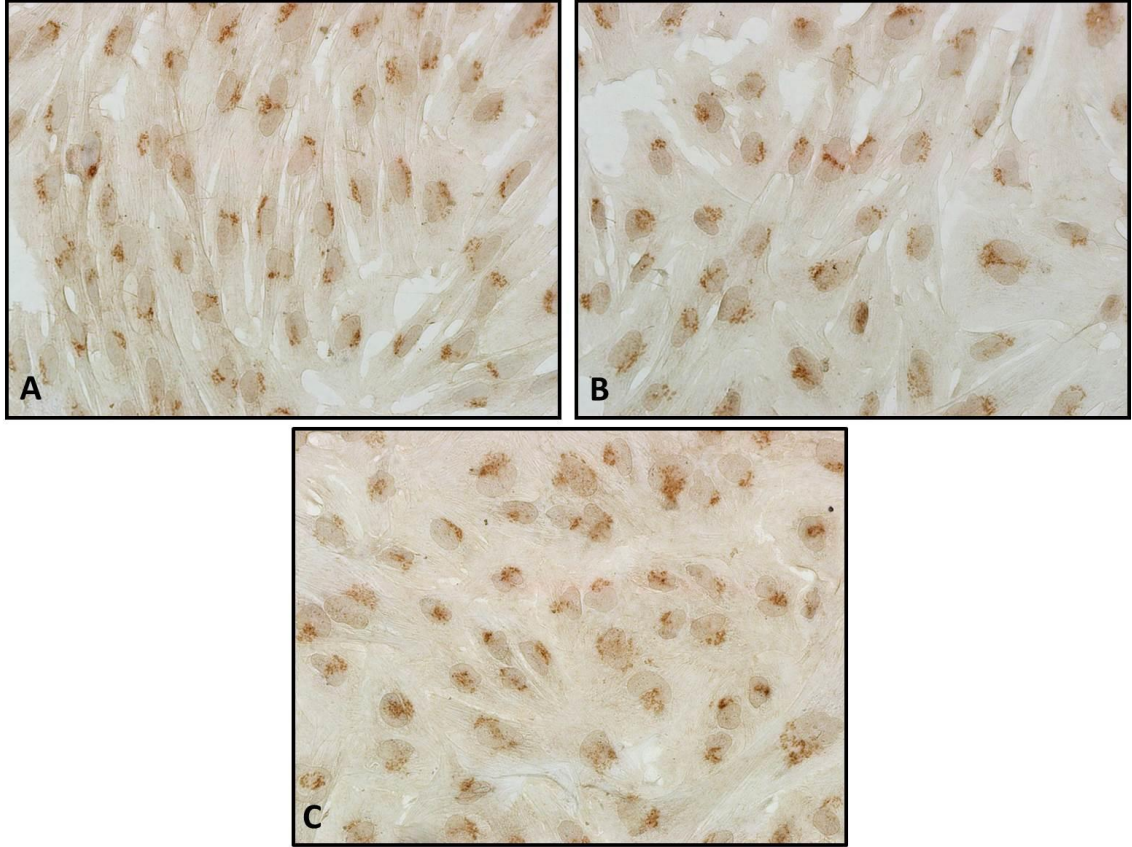
Kontrol periton sıvısının düşük konsantrasyonda verildiği endometrial stromal hücreler, 10-30 ve 60 dk sonundaki p-PERK ekspresyon düzeyleri açısından incelendiğinde, zamana bağlı istatistiksel bir fark görülmedi (Şekil 4-46, Şekil 4-47). Aynı şekilde yüksek konsantrasyon kontrol periton sıvısı verilen hücrelerde de, p-PERK ekspresyon düzeyleri açısından zamana bağlı olarak anlamlı bir fark saptanmadı (Şekil 4-46, Şekil 4-48). Kontrol periton sıvısının düşük ve yüksek konsantrasyonları p-PERK ekspresyon düzeyleri açısından kıyaslandığında ise, konsantrasyonlar arasında zamana bağlı olarak anlamlı bir fark bulunmadı (Şekil 4-46).



**Şekil 4-46: Kontrol PS uygulanan endometrial stromal hücrelerde, zamana ve konsantrasyona bağlı p-PERK immunoreaktivitesinin H skor ortalama değerleri. KD: Kontrol PS düşük konsantrasyon, KY: Kontrol PS yüksek konsantrasyon.**



**Şekil 4-47: Kontrol PS'nin düşük konsantrasyonda uygulandığı endometrial stromal hücrelerde, 10 dk (A), 30 dk (B), 60 dk (C) p-PERK işaretlemeinin ışık mikrografları, p-PERK immunoreaktivitesinin spesifik lokasyonu (D), X40.**

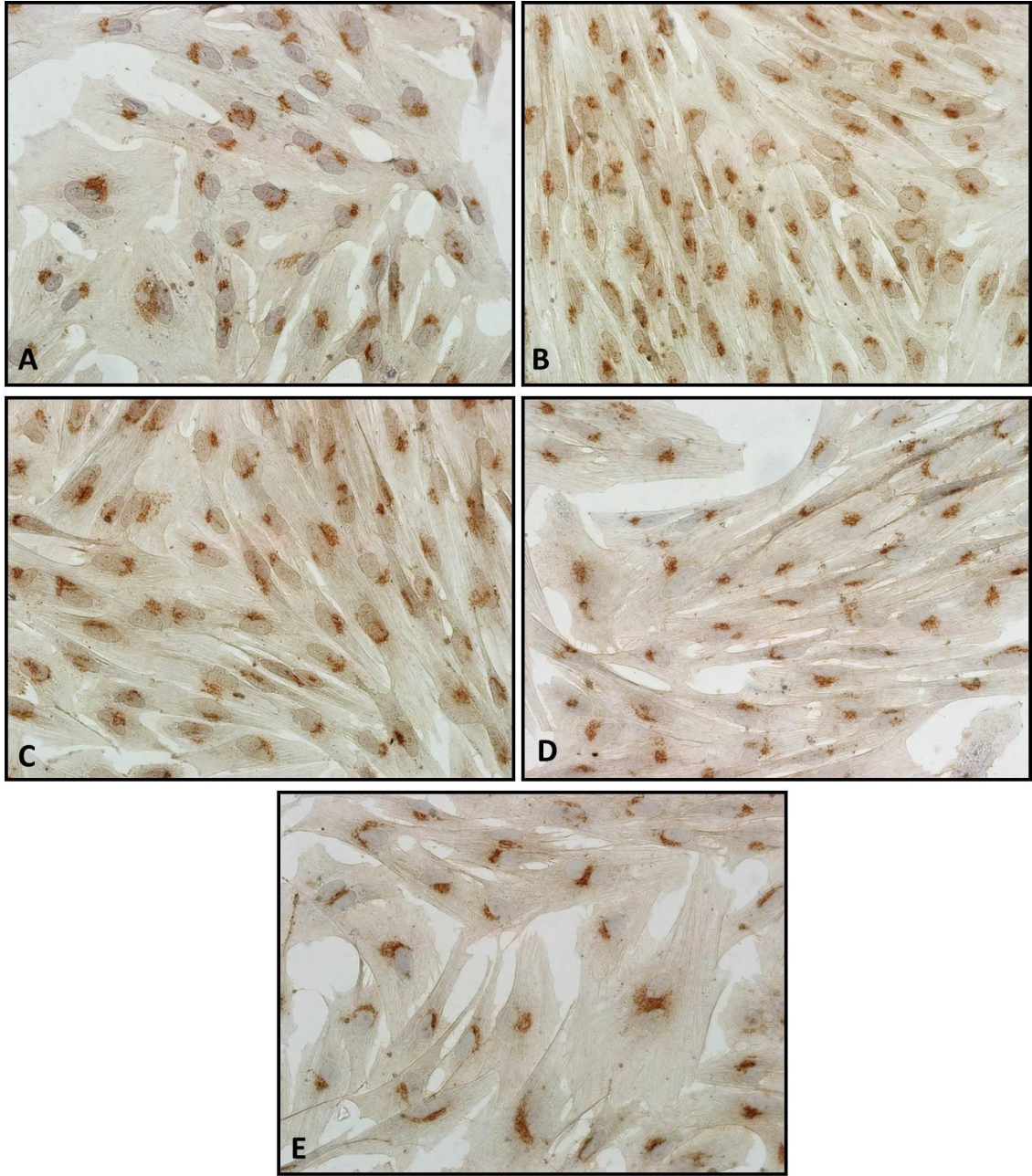


**Şekil 4-48: Kontrol PS'nin yüksek konsantrasyonda uygulandığı endometrial stromal hücrelerde 10 dk (A), 30 dk (B), 60 dk (C) p-PERK işaretlemesinin ışık mikrografları, X40.**

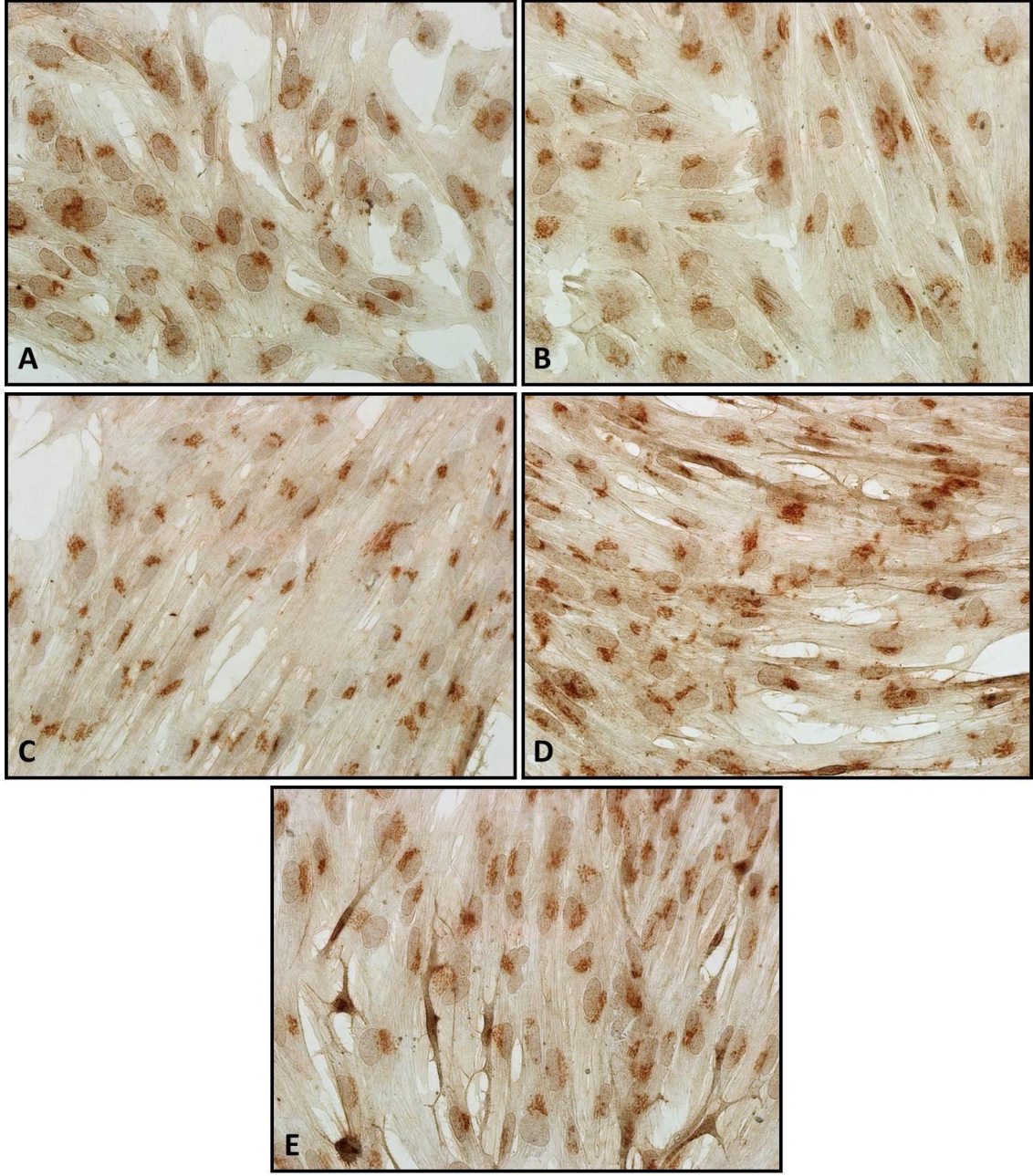
Endometriozis periton sıvısının düşük konsantrasyonda verildiği endometrial stromal hücrelerde, 10-30 ve 60 dk ve 24-48 saat sonunda görülen p-PERK ekspresyon düzeyleri kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmedi (Şekil 4-49, Şekil 4-50). Benzer şekilde yüksek konsantrasyon endometriozis periton sıvısı verilen hücrelerde de p-PERK ekspresyon düzeyleri açısından zamana bağlı olarak anlamlı bir fark saptanmadı (Şekil 4-49, Şekil 4-51). Endometriozis periton sıvısının düşük ve yüksek konsantrasyonları birbiri ile kıyaslandığında, p-PERK ekspresyon düzeyleri arasında zamana ve konsantrasyona bağlı olan istatistiksel bir farka rastlanmadı (Şekil 4-49).



**Şekil 4-49: Endometriozis PS uygulanan endometrial stromal hücrelerde, zamana ve konsantrasyona bağlı p-PERK immunoreaktivitesinin H skor ortalama değerleri. ED: Endometriozis PS düşük konsantrasyon, EY: endometriozis PS yüksek konsantrasyon.**

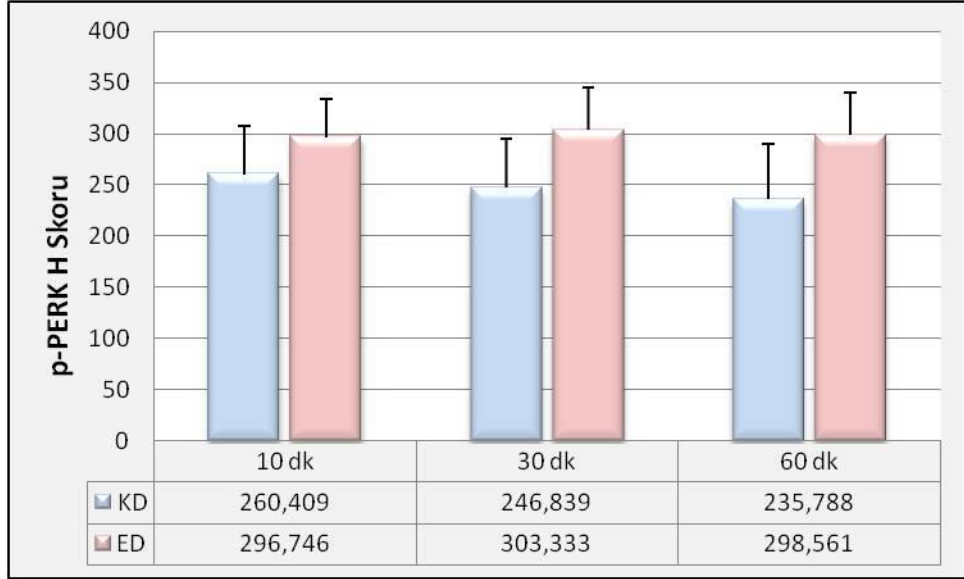


**Şekil 4-50:** Endometriozis PS'nin düşük konsantrasyonda uygulandığı endometrial stromal hücrelerde 10 dk (A), 30 dk (B), 60 dk (C) 24 s (D), 48 s (E) p-PERK işaretlemesinin ışık mikrorafları, X40.



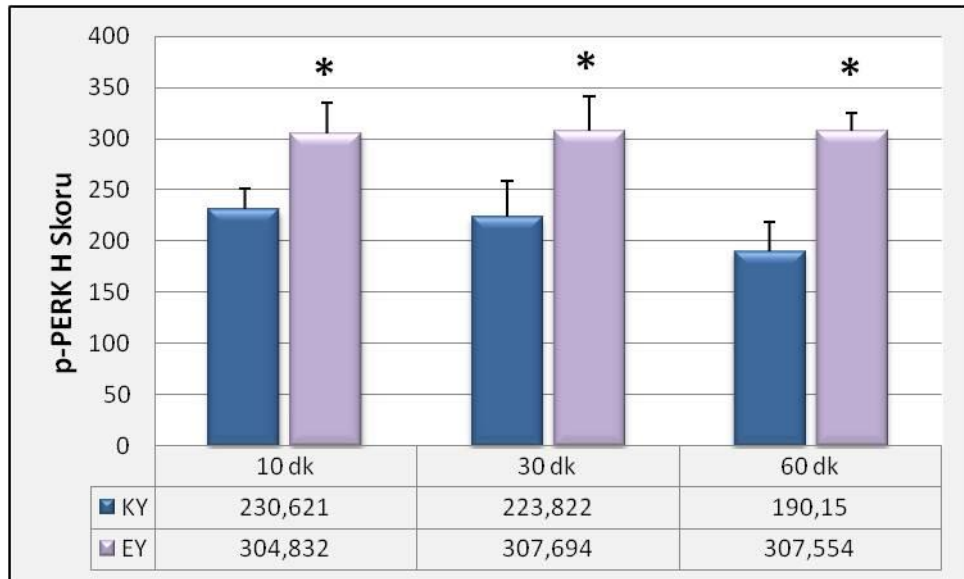
**Şekil 4-51: Endometriozis PS'nin yüksek konsantrasyonda uygulandığı 10 dk (A), 30 dk (B), 60 dk (C), 24 s (D), 48 s (E) p-PERK işaretlemesinin ışık mikrografları, X40.**

Kontrol ve endometriozis periton sıvılarının düşük konsantrasyonda uygulandığı endometrial stromal hücreler 10-30 ve 60 dk sonunda p-PERK ekspresyon düzeyleri açısından kıyaslandığında, gruplar arasında istatistiksel bir fark saptanmadı (Şekil 4-52).



**Şekil 4-52: Kontrol ve endometriozis PS'nin düşük konsantrasyonda uygulandığı endometrial stromal hücrelerde, zamana bağlı p-PERK immunoreaktivitesinin H skor ortalama değerleri. KD: Kontrol PS düşük konsantrasyon, ED: Endometriozis PS düşük konsantrasyon.**

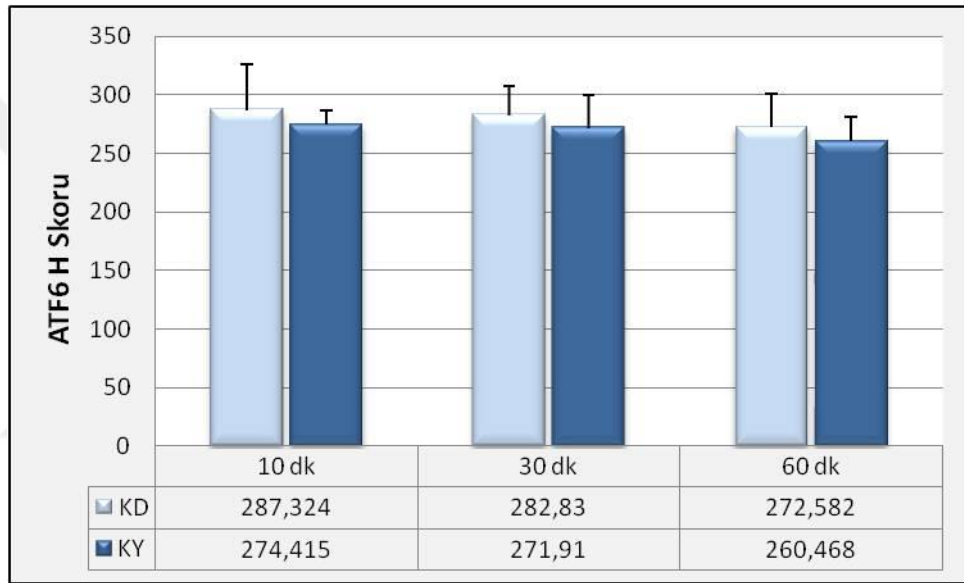
Diğer yandan, yüksek konsantrasyonda kontrol ve endometriozis periton sıvısı verilen endometrial stromal hücreler p-PERK ekspresyon düzeyleri açısından değerlendirildiğinde, endometriozis grubunda 10-30 ve 60 dk sonundaki p-PERK ekspresyon düzeyi kontrole kıyasla istatistiksel olarak arttığı saptandı ( $p < 0,05$ ) (Şekil 4-53).



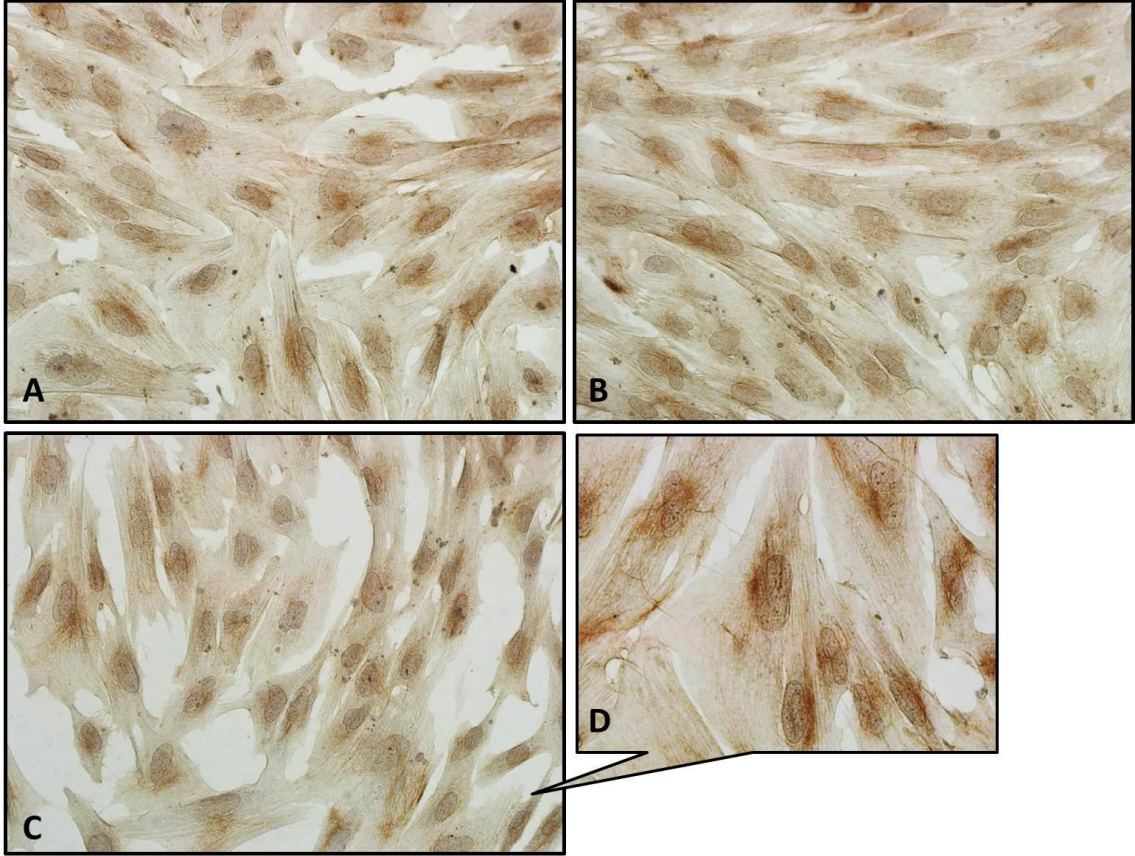
**Şekil 4-53: Kontrol ve endometriozis PS'nin yüksek konsantrasyonda uygulandığı endometrial stromal hücrelerde, zamana bağlı p-PERK immunoreaktivitesinin H skor ortalama değerleri. KY: Kontrol PS yüksek konsantrasyon, EY: Endometriozis PS yüksek konsantrasyon. \* $p < 0,05$ .**

#### 4.2.1.3. ATF6 İmmünohistokimya İşaretleme

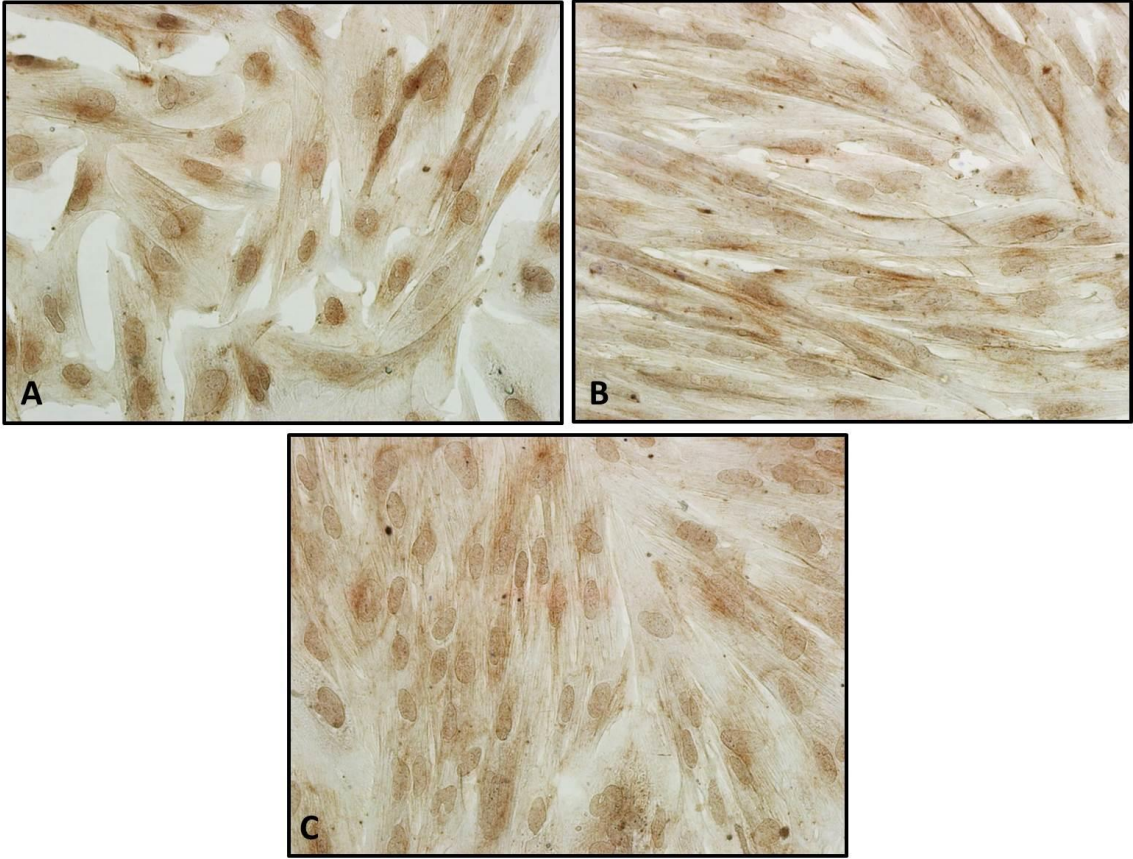
Düşük konsantrasyon kontrol periton sıvısının verildiği endometrial stromal hücrelerinde, 10-30 ve 60 dk sonundaki ATF6 ekspresyon düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmedi (Şekil 4-54, Şekil 4-55). Benzer şekilde yüksek konsantrasyon kontrol periton sıvısı verilen hücrelerde de ATF6 ekspresyon düzeyleri açısından zamana bağlı olarak anlamlı bir fark saptanmadı (Şekil 4-54, Şekil 4-56). Ayrıca, kontrol periton sıvısının düşük ve yüksek konsantrasyondaki ATF6 ekspresyon düzeyleri, zamana bağlı olarak kıyaslandığında konsantrasyonlar arasında anlamlı bir fark bulunmadı (Şekil 4-54).



**Şekil 4-54: Kontrol PS uygulanan endometrial stromal hücrelerde, zamana ve konsantrasyona bağlı ATF6 immunoreaktivitesinin H skor ortalama değerleri. KD: Kontrol PS düşük konsantrasyon, KY: Kontrol PS yüksek konsantrasyon.**

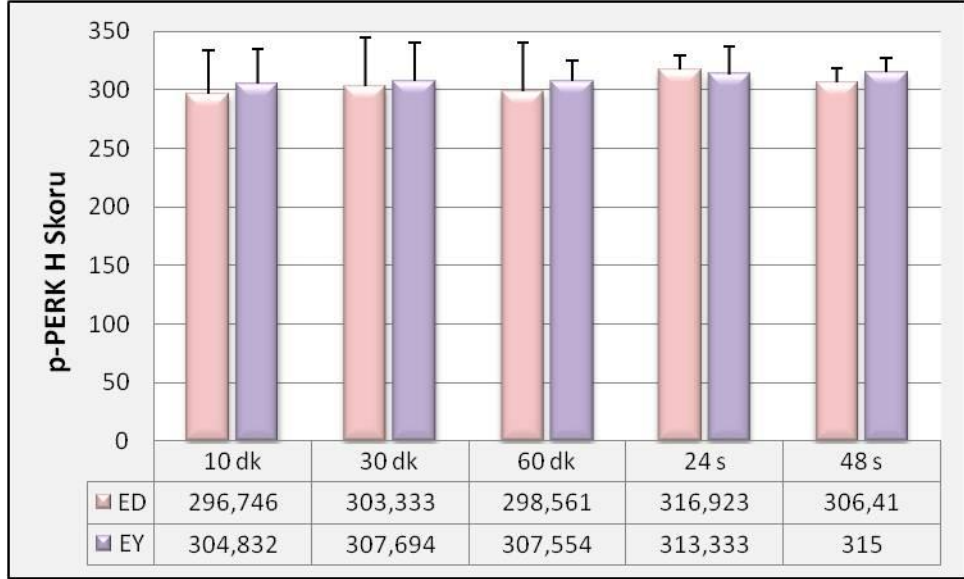


**Şekil 4-55: Kontrol PS'nin düşük konsantrasyonda uygulandığı endometrial stromal hücrelerde, 10 dk (A), 30 dk (B), 60 dk (C) ATF6 işaretlemesinin ışık mikroskopları, ATF6 immunoreaktivitesinin spesifik lokasyonu (D), X40.**

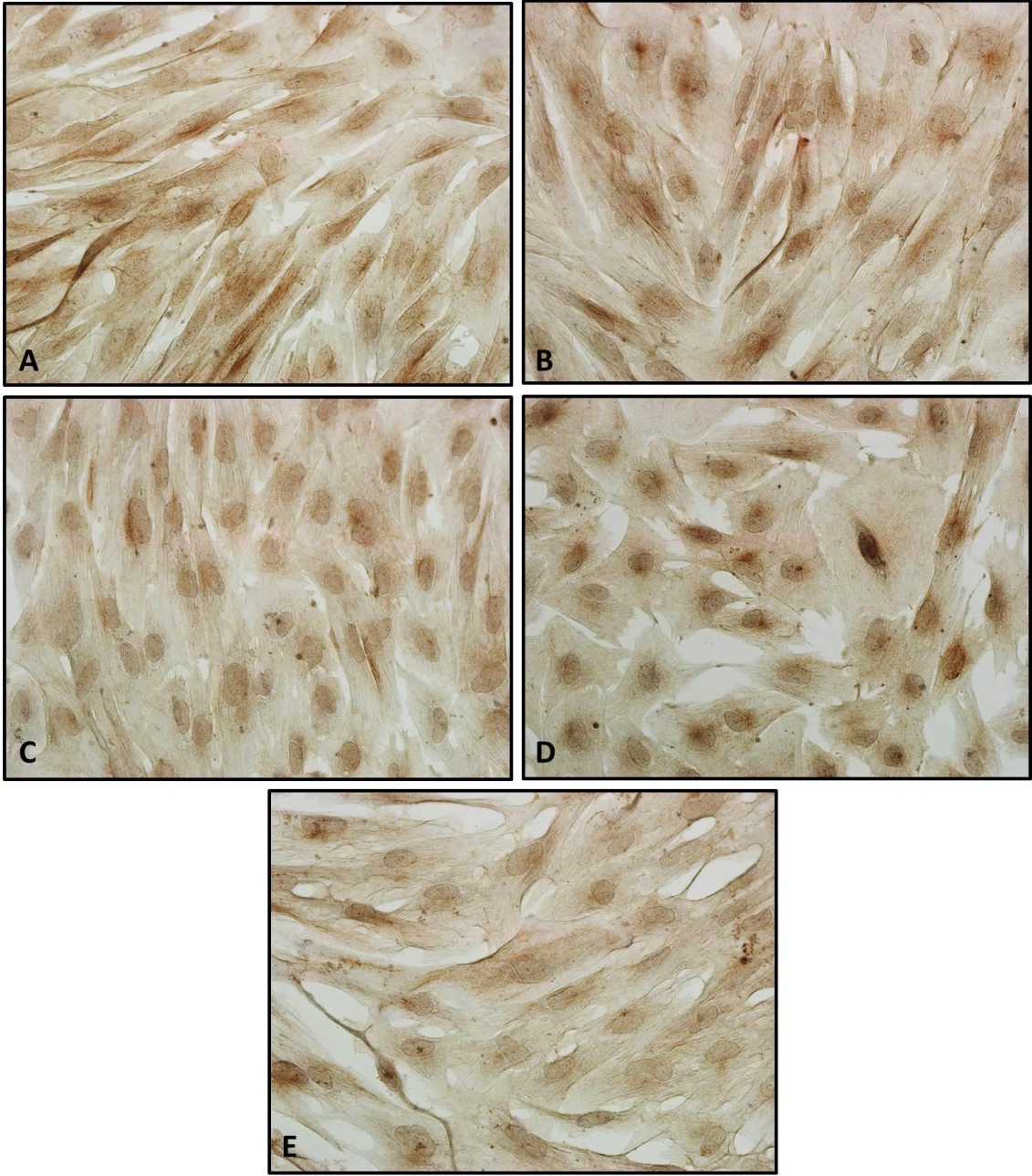


**Şekil 4-56: Kontrol PS'nin yüksek konsantrasyonda uygulandığı endometrial stromal hücrelerde 10 dk (A), 30 dk (B), 60 dk (C) ATF6 işaretlemesinin ışık mikrografları, X40.**

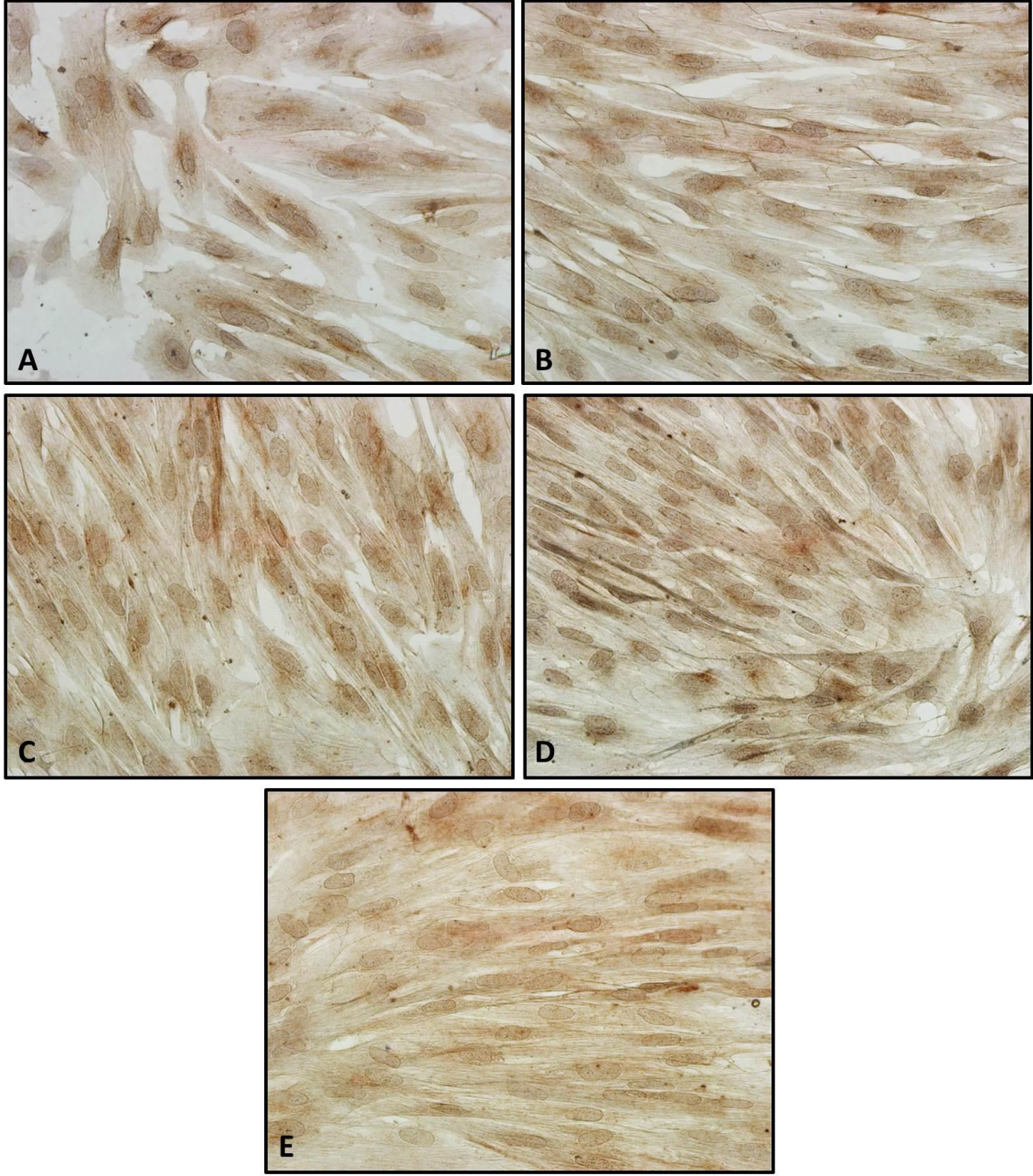
Endometriozis periton sıvısının düşük konsantrasyonda verildiği endometrial stromal hücrelerde, 10-30 ve 60 dk ve 24-48 saat sonunda görülen ATF6 ekspresyon düzeyleri kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmedi (Şekil 4-57, Şekil 4-58). Benzer şekilde yüksek konsantrasyon endometriozis periton sıvısı verilen hücrelerde de ATF6 ekspresyon düzeyleri açısından zamana bağlı olarak anlamlı bir fark saptanmadı (Şekil 4-57, Şekil 4-59). Endometriozis periton sıvısının düşük ve yüksek konsantrasyonları birbiri ile kıyaslandığında, ATF6 ekspresyon düzeylerinin zamana ve konsantrasyona bağlı istatistiksel bir fark bulunmadı (Şekil 4-57).



**Şekil 4-57: Endometriozis PS uygulanan endometrial stromal hücrelerde, zamana ve konsantrasyona bağlı ATF6 immunoreaktivitesinin H skor ortalama değerleri. ED: Endometriozis PS düşük konsantrasyon, EY: endometriozis PS yüksek konsantrasyon.**



**Şekil 4-58:** Endometriozis PS'nin düşük konsantrasyonda uygulandığı endometrial stromal hücrelerde 10 dk (A), 30 dk (B), 60 dk (C) 24 s (D), 48 s (E) ATF6 işaretlemesinin ışık mikrografları, X40.



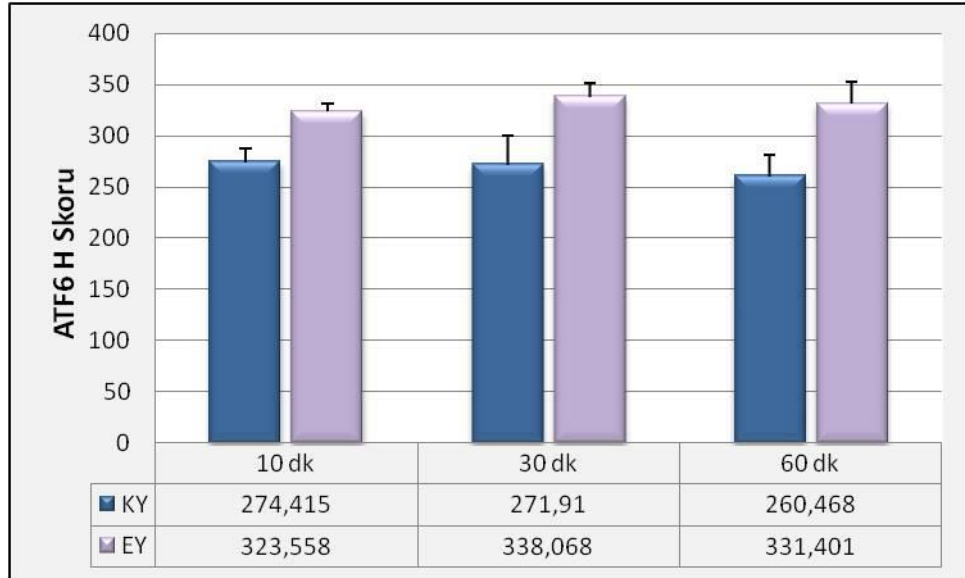
**Şekil 4-59: Endometriozis PS'nin yüksek konsantrasyonda uygulandığı endometrial stromal hücrelerde 10 dk (A), 30 dk (B), 60 dk (C), 24 s (D), 48 s (E) ATF6 işaretlemeinin ışık mikrografları, X40.**

Kontrol ve endometriozis periton sıvılarının düşük konsantrasyonda uygulandığı endometrial stromal hücrelerde, 10-30 ve 60 dk sonunda görülen ATF6 ekspresyon düzeyleri arasında istatistiksel bir fark saptanmadı (Şekil 4-60).



**Şekil 4-60: Kontrol ve endometriozis PS'nin düşük konsantrasyonda uygulandığı endometrial stromal hücrelerde, zamana bağlı ATF6 immunoreaktivitesinin H skor ortalama değerleri. KD: Kontrol PS düşük konsantrasyon, ED: Endometriozis PS düşük konsantrasyon.**

Benzer şekilde, yüksek konsantrasyonda kontrol ve endometriozis periton sıvılarına maruz bırakılan endometrial stromal hücrelerde, 10-30 ve 60 dk sonundaki ATF6 ekspresyon düzeyleri endometriozis grubunda kontrole kıyasla daha yüksek bulunsa da, istatistiksel olarak bir fark saptanmadı (Şekil 4-61).



**Şekil 4-61: Kontrol ve endometriozis PS'nin yüksek konsantrasyonda uygulandığı endometrial stromal hücrelerde, zamana bağlı ATF6 immunoreaktivitesinin H skor ortalama değerleri. KY: Kontrol PS yüksek konsantrasyon, EY: Endometriozis PS yüksek konsantrasyon.**

## 5. TARTIŞMA

Endometriozis, endometrial bezlerin ve stromanın uterin kavitenin dışında ektopik olarak büyümesi ile karakterize edilen, östrojen bağımlı kronik inflamatuvar yaygın bir jinekolojik hastalık olup, reproduktif yaştaki kadınların %10'unu, infertil kadınların ise %50'sini etkilemektedir (Rižner 2015; Vercellini ve ark. 2014). Pelvik ağrı, dismenore ve fertilitenin azalmasına bağlı olarak yaşam kalitesini düşüren endometriozis ile ilgili çok sayıda araştırma yapılmasına rağmen patogenezi hala tam olarak bilinmemektedir (Harada ve ark. 2001; Goteri ve ark. 2010).

Endometriozis gelişiminde en çok kabul gören teori Sampson'ın retrograd menstruasyon teorisidir (Sampson 1927). Bu teoriye göre menstruasyon sırasında endometrial parçalar retrograd yolla peritona göç ederler. Endometriozisli kadınlarda bu parçalar hayatta kalabilir, proliferere olabilir ve yeni damarlar geliştirerek ektopik lezyonlar oluşturabilir (Braza-Boils ve ark. 2015). Ayrıca peritoneal lezyonların daha sıklıkla ovaryumlarda ve menstrual materyal havuzun geri aktığı posterior kuldesakda görülmesi Sampson'ın teorisini mantıklı kılmaktadır (Jenkins 1986).

Retrograd menstruasyon, patent fallop tüpleri olan kadında görülen yaygın bir fizyolojik durumdur. Menstruasyon sırasında canlı endometrial hücreler periton sıvısından kurtulabilirler ve periton içine yerleşebilirler (Halme ve ark. 1984; Koninckx ve ark. 1980). Retrograd menstruasyon kadınların % 80'inde görülürken, (Overton ve ark. 1997) bu kadınların hepsinde endometriozis görülmemesi, endometriozis gelişen kadınlarda endometrial hücrelerin büyümesini ve implante olmasını destekleyen bir peritoneal çevre olduğunu akla getirmektedir (Bahtiyar ve ark. 1998). Diğer yandan, retrograd menstruasyon görülme sıklığı ile üreme çağındaki kadınlarda endometriozis görülme sıklığı arasında bir korelasyon olmayışı da, bu hastalığın patogenezi katkıda bulunan çok sayıda faktörün olduğunu ortaya çıkarmaktadır (Ulukus ve ark. 2006). Ektopik endometrial hücreler, implantasyon ve hayatta kalım için apoptozdan kurtulmalı, peritona yapışmalı, altında yatan hücre dışı maddeyi degrade etmeli, neovaskularizasyon oluşturmalı, streoidogenik kapasite kazanmalı ve immün gözetleme sisteminden kurtulmalıdır. Bu nedenle endometriozise duyarlılığı arttıran çok yönlü faktörler bulunmaktadır (Lin ve ark. 2012). Kurulan iki teoriden ilki, peritona ait temizleme mekanizmalarına direnç gösteren endometrial bozuklukların olmasıdır. İkincisi ise, peritoneal mezotelin aşırı reseptivitesini, hiperaktive olmuş makrofajları ve

anormal NK hücrelerini indükleyen hücrel ve hümoral immünite anormalliklerinin olmasıdır. Buradan peritoneal ortamın endometriumun var olan genetiğini değiştirip invazyona elverişli hale getirebileceği anlaşılmaktadır. Bunlara ek olarak, aşırı geri akışlı endometrium veya değişmiş endometriumun, hastalığın oluşması için uygun bir proinflatuar veya hormonal ortam oluşturma potansiyeline sahip olması da mümkündür (Vinatier ve ark. 2001). Endometriozisli kadınların ötopik endometriumu endometriozisli olmayan kadınların endometriumları ile kıyaslandığında temel farklılıklar göstermektedir. Bu farklılıklar da endometrial hücrelerin periton boşluğuna tutunup hayatta kalmaları ile ilişkili olup, endometriozis gelişimine yol açabilir (Liu ve Lang 2011).

Endometriozis hastalığının, üreme çağındaki kadınlarda görülmesi ve menopoz sonrası kadınlarda genellikle görülmemesi, steroid hormonlarının endometriozis etiyolojisinde merkezi role sahip olduğunu göstermektedir (Parente Barbosa ve ark. 2011). Ötopik endometriuma benzer şekilde ektopik lezyonların büyümesinin de ovaryan steroid hormonları ile düzenlendiği düşünülmektedir. Endometriozisin ovaryan hormonları olan östrojen ve progesteron ile ilişkisini gösteren çalışmalar mevcuttur. (Augoulea ark. 2012). Endometriotik dokuda lokal östrojen sentezinden sorumlu olan CYP19A1 aromataz geninin ve benzer şekilde östrojen reseptörlerinin ekspresyonunun fazla olduğu ya da bu reseptörlerin aktivitesindeki artışa bağlı olarak, ektopik lezyonlarda östrojene karşı yüksek uyarım verildiği gösterilmiştir (Attar ve Bulun 2006). Hastalığın patogenezi sırasında yüksek östrojenik yanıt ve inflamasyon ileri besleme döngüsü ile birbirine bağlıdır. Siklooksigenaz-2 (COX2) ve CYP19A1'in yüksek ekspresyonu ile lokal östrojen ve prostaglandinlerin üretimi süreklilik arz eder (Bulun 2009). Ayrıca, nükleer faktör  $\kappa$ B (NF $\kappa$ B) yolağı da aktive olur, proinflatuar sitokinler ve kemokinlerin ekspresyonunu uyarır ve bu inflamatuvar ortama katkıda bulunur (Reis ve ark. 2013). Diğer yandan, ektopik endometriumda östrojenin etkin formu olan östrodiol (E2) biosentezi yüksek iken E2 inaktivasyonunun düşük olduğu, ek olarak lokal E2 seviyesinin yükselmesine yol açan östrojen metabolize eden çok sayıda enzimin anormal eksprese edildiği gösterilmiştir (Parente Barbosa ve ark. 2011). Östrojenin endometrial hücre proliferasyonu için itici bir güç olması ve ektopik lezyonların östrojene karşı yüksek duyarlılığa sahip olması sonucu, endometriozis gelişimini arttırabilir (Augoulea ve ark. 2012). Endometriotik stromal hücrelerce dolaşımdaki androjenin östrodiol lokal aromatzasyonuna bağlı olarak endometriotik

dokudaki östrodiolün bioverimliliği daha yüksek olabilir. Ayrıca ektopik endometriotik dokuda östrodiolün daha az etkin östrona çevrilmesi için gerekli  $17\beta$ -hidroksi-steroid enzimlerinin azalmış seviyede eksprese edildiği bilinmektedir (Burney ve ark. 2012). Bu faktörler ektopik endometriotik dokudaki artmış proliferatif fenotip için açıklayıcı olabilir (Augoulea ve ark. 2012).

Progesteron, ötopik ve sağlıklı endometriumda östrojenin proliferasyonu artırıcı etkisini genellikle etkisiz hale getirir. Buna karşılık endometriotik dokuda görülen progesteron rezistansı sonucu, birçok araştırmacı endometriozis patogenezinde progesteron rezistansının esas rol oynadığını düşünmektedir (Kim ve ark. 2013; Aghajanova ve ark. 2011). Sekretuar faz sırasında progesteron tarafından endometrium üzerindeki östrojen kontrollü mitotik, proliferatif etkinin durdurulması endometriotik lezyonlarda görülmez ve endometriozisli kadınların sekretuar fazdaki ötopik endometriumlarında devamlı proliferatif aktivite görülür (Bulun ve ark. 2006; Hapangama ve ark. 2009). Progesteron rezistansı, endometriotik lezyonların daha düşük düzeyde progesteron reseptörü ekspresyonuna sahip olmalarından ya da var olan progesteron reseptörlerinin işlevsel bozukluklarından kaynaklanabilir (Attia ve ark. 2000).

Endoplazmik retikulum (ER), hormonlar, büyüme faktörleri ve membran reseptörleri gibi membran proteinlerinin ve salgılanan proteinlerin sentezi, olgunlaşması, katlanması ve sıralanmasında, kalite kontrolünün yapılmasında ve proteinlerin nihai hücre içi ve hücre dışı hedeflerine ulaştırılmasında vazgeçilmez rol oynayan bir hücre organelidir (Yung ve ark. 2011; Burman ve ark. 2018; Morris ve ark. 2018). Besin tükenmesi, hipoksi, iskemi, glikozilasyon durumundaki değişiklikler, pH değişiklikleri, zayıf vaskularizasyon, kalsiyum homeostazındaki değişiklikler, oksidatif stres, viral ya da bakteriyel enfeksiyon, çeşitli ajanlarla tedavi gibi nedenlerle ER homeostazında herhangi bir hasar olması, hatalı katlanmış ya da katlanmamış proteinlerin ER lümeninde birikmesine yol açar. Bu birikim ER stresine neden olur. Bu durumda ER, hayatta kalımı arttırmak adına ER fonksiyonundaki karışıklığın ve ER stresinin üstesinden gelmek için, katlanmamış protein yanıtı (UPR) denilen spesifik sinyal yolları geliştirir (Yung ve ark. 2011; Wang ve ark. 2018).

ER stresinde UPR'ın PERK, IRE1 ve ATF6 sinyal yolları ile düzenlendiği belirtilmiştir (Jager ve ark. 2012; Repo ve ark. 2014; Rahman ve ark. 2018). Diğer yandan, GRP78'de UPR için önemli bir role sahiptir. ER stres yokluğunda, GRP78 ER

transmembran proteinleri olan PERK, IRE1 ve ATF6'nın luminal kısımlarına bağlı halde bulunarak bu proteinlerin aktivasyonunu engeller ve inaktif durumda kalmalarını sağlar. ER stresi oluştuğunda, GRP78 yanlış katlanmış proteinlere bağlanmak üzere UPR efektörlerinden ayrılır ve UPR sinyal proteinleri aktive olur. ER stresi altında hücre ölüm veya hayatta kalma yanıtlarını belirlemekten sorumlu olan UPR, bu yollar üzerinden, ER ilişkili protein yıkımı (ERAD), otofaji ve hücre sağkalım sinyallerini aktive ederek protein homeostazını korur ya da kurtarmaya çalışır. Eğer bu mümkün olmaz ve ER stresi devam ederse, hücre apoptoza gider (Hong ve ark. 2017; Hughes ve Mallucci 2018). Bazı durumlarda belirli adaptif stratejiler bu hücrelere diğer hücrelerin üzerinde seçici büyüme avantajı sağlar. Bu seçici avantaj, hücrelerin kronik ER stresi altında dahi hayatta kalımını ve çoğalmasını sağlar (Dicks ve ark. 2015).

Son yıllarda ER stresi ile östrojenin ilişkisinin araştırıldığı çalışmalar bulunmaktadır. HUVEC hücreleri ile yapılan bir çalışmada tunikamisin ya da dithiothreitol indüklü ER stresinde GRP78 ekspresyonu ve GRP78'e benzer şekilde en farkedilir düzeyde p-PERK olmak üzere, p-IRE1 ve ATF6 ekspresyonları artış gösterirken, 1 saat önce estradiol verilmesi halinde bu ekspresyonlardaki artışın azaldığı saptanmıştır. Sadece estradiol verildiğinde ise herhangi bir etki görülmemiştir (Su ve ark. 2017). Pankreatik beta hücreleri ile yapılan bir in vitro çalışmada ise, östrojenin ER stresini azaltarak hücre ölümünü engellediği gösterilmiştir. Yüksek glukozaya maruz bırakılan beta hücrelerinde, UPR sensör proteinlerinden ATF6 ve p-PERK'in protein düzeylerinde artış olurken, östrojen verildiğinde ise bu artışın azaldığı gösterilmiştir (Kooptiwut ve ark. 2014). Ayrıca, grubumuzun daha önce yaptığı bir çalışmada GRP78'in E2 ile karşılıklı etkileşim içerisinde olduğu in vivo olarak endometriyumda; in vitro olarak da endometrial stromal hücrelerde gösterilmiştir. Geç sekretuar ve erken proliferatif fazda düşük E2 seviyesine bağlı olarak GRP78 ekspresyonunun arttığı, dolayısı ile E2'nin, estradiol düzeyinin yüksek olduğu fazlarda (erken proliferatif ve geç sekretuar) GRP78 ekspresyonunu baskılayarak ER homeostazına yardım ettiği düşünülmektedir. Bu görüş, aynı çalışmadaki in vitro deneyler ile desteklenmiş, kültür ortamında estradiolün tunikamisin indüklü ER stresi varlığında GRP78 ekspresyon düzeyini inhibe ettiği gösterilmiştir (Guzel ve ark. 2011).

Östrojene ek olarak progesteronun ER stresi ile olan ilişkisini irdeleyen çalışmalar da vardır. İnsan endometrial stromal hücrelerde ve Ishikawa hücrelerinde yapılan bir çalışmada tunikamisin uygulaması sonrası ER stres belirteci GRP78 ekspresyonunda

artış olduğu ve bu artışın sadece östrojen eklenmesi ile azaldığı, östrojen ve progesteron uygulaması sonrası ise GRP78 ekspresyonunda artış olduğu saptanmıştır. Ayrıca PERK sinyalizasyonunun alt yolları olan eIF2 $\alpha$  fosforilasyonu ve ATF4 aktivasyonu yoluyla belirgin düzeyde CHOP ekspresyon artışı olduğu gösterilmiştir. Bu ekspresyon artışları artmış apoptoz indüksiyonu ile ilişkilidir. Diğer yandan *in vivo* bulgular da *in vitro* bulguya uyumlu olarak sekretuar fazdaki endometrial hücrelerde GRP78, CHOP ve apoptozun belirgin olarak arttığını göstermiştir. Progesteron indüklü apoptoz artışı, ER stress inhibitörü salubrinal verilmesi ile tersine dönmüştür. Sonuç olarak östrojenin insan endometrial hücrelerde ER stresini inhibe ettiği ve bu inhibisyonun da sekretuar fazdaki progesteronla ortadan kalktığı ve progesteronun doğrudan apoptoz indüksiyonuna katıldığı gösterilmiştir (Choi JY ve ark. 2018). Overektomi uygulanmış farelerde farklı konsantrasyonlardaki progesteron uygulamasının ER stresi üzerindeki etkisine bakılan bir çalışmada, yüksek konsantrasyon (4 mg/fare) progesteron uygulanan uterus, ER stresinde özellikle PERK/p-eIF2 $\alpha$ /ATF4 yolağının aktifleştiği, IRE1 $\alpha$ /XBP1 yolağında ise çok az bir etkinin olduğu ve sXBP1 mRNA düzeyinde belirgin bir farklılık olmadığı görülmüştür (Liang ve ark. 2018).

Endometrial bez epiteli gibi dinamik sekretuar özellik gösteren özelleşmiş epitelde ER stresi baskın olarak görülür. Sitoplazmik proteinlerin aksine, hücre yüzeyine salgılanan proteinler ekzositoz taşınım için uygun glikozilasyon, katlanma ve şaperonlarla etkileşime ihtiyaç duyarlar. Dolayısı ile salgı iş yükü arttıkça buna paralel olarak ER proteinlerine olan ihtiyaç da artar. ER stresi sonucu protein yanlış katlanmasını takiben sitokin uyarısı ve lipid peroksidasyon aktivasyonu gerçekleşir. Tüm bu durumlar endometrioziste belirgindir (Taylor 2009; Wiest ve ark. 1990). Ayrıca, son zamanlardaki çalışmalarda ER stresi ile ilişkili olduğu düşünülen epitelyal-mezenkimal geçiş ve mezenkimal-epitelyal geçiş benzeri süreçlerin, artmış oksidatif stresin ve anjiyogenez mekanizmalarının endometriozis patogenezinde de yer aldığı düşünülmektedir (Matsuzaki 2012; Van Langendonck 2002; Rocha ve ark. 2013; Shin ve ark. 2015; Wang ve ark. 2017; Kuo ve ark. 2013).

Bu bilgilere ek olarak endometriozis patogenezinde GRP78'in rolünü araştırmak amacıyla grubumuzun yaptığı bir çalışmada, insan normal endometriumunda ve endometriozisli kadınların ötopik ve ektopik dokularında GRP78 ekspresyonu *in vivo* olarak değerlendirilmiş, ektopik epiteldeki GRP78 immünoaktivitesinin aynı hastanın ötopik endometriumuna kıyasla istatistiksel olarak daha fazla olduğu gözlenmiştir.

Ektopik endometriumda artmış GRP78 ekspresyonu, endometriozis patogenezinde UPR'in rolü olduğunu düşündürmüştür (Guzel ve ark. 2010).

Bu bilgiler ışığında bu çalışmanın in vivo kısmında, endometriozis patogenezinde ER stresi etkisini açıklığa kavuşturmak ve bu etkiyi UPR'in hangi yolak ya da yolakları üzerinden gösterdiğini belirlemek amacıyla, daha önce endometriozisli hastalardan alınıp patolojiye gelen ve parafine gömülmüş halde bulunan ötopik ve ektopik endometrium dokuları ile normal endometrium arşiv dokuları geriye dönük (retrospektif) olarak toplandı. Tüm dokular erken ve geç proliferatif ile erken ve geç sekretuar olmak üzere 4 menstrual siklus fazına ayrıldı ve ER stres belirteçleri ve UPR sinyal proteinleri olan p-IRE1, p-PERK ve ATF6 ekspresyonları immünohistokimyasal olarak değerlendirildi.

Bu proteinlerin endometrium bez epitelindeki ve stromal hücrelerdeki ekspresyon düzeyleri, endometriozisli hastalardan alınmış olan ötopik ve ektopik endometrium kesitleri hem kendi aralarında, hem de normal endometrium kesitlerinde kıyaslandı. Karşılaştırmalar iki şekilde yapıldı: 1. Ektopik, ötopik ve normal endometrium için proteinlerin ekspresyon düzeylerinin faz dağılımları belirlendi, 2. 4 menstrual siklus fazı için (erken proliferatif, geç proliferatif, erken sekretuar ve geç sekretuar) proteinlerin ekspresyon düzeyleri ektopik, ötopik ve normal endometrium grupları arasında karşılaştırıldı.

Normal endometrium bez epitelinde ve stromal hücrelerdeki UPR sinyal proteinlerinin faz bağımlı ekspresyon dağılımları genel olarak incelendiğinde, normal endometriumdaki bez epitelinde ve stromal hücrelerdeki p-IRE1 ekspresyonunun sekretuar fazda artış gösterdiği ve geç sekretuar fazda en yüksek seviyeye geldiği dikkati çekti. Bu da bize p-IRE1 ekspresyonunun daha çok progesteron etkisi altında olduğunu düşündürdü. Diğer yandan p-PERK ve ATF6 ekspresyonlarının geç proliferatif fazdaki düşüş haricinde, tüm menstrual siklus boyunca yüksek seviyede kaldığının görülmesi, p-PERK ve ATF6 ekspresyonlarının östrojen ve progesteronun ortak etkisi altında olduğunu düşündürdü. Bu genel değerlendirmeden sonra, istatistiksel bulgular göz önüne alınarak değerlendirme yapıldığında p-IRE1, p-PERK ve ATF6'nın hepsinde, ekspresyon düzeyinin geç proliferatif fazda diğer fazlara kıyasla istatistiksel olarak daha düşük olduğu görüldü. Geç proliferatif fazda yüksek seviyede östrojen bulunduğundan, bu bulgumuz östrojen hormonunun ER stresini ve strese bağlı aktive olan UPR sinyalizasyonunu baskıladığını ortaya koyan çalışmalarla uyumlu

bulunmuştur. Diğer yandan, erken proliferatif ve geç sekretuar fazlarda lökosit birikmesi olduğu ve inflamatuvar kemokin ve sitokin salınımında artış olduğu bilinmektedir (Jabbour ve ark. 2006). Bu durum hormon profilinden bağımsız olarak şiddetli ve uzamış ER stresine yol açabilir. Dolayısıyla, östrojen bağımsız bir yoldan da söz etmek mümkündür (Guzel ve ark. 2011). Bez epiteli ve stromal hücrelerde, geç sekretuar fazdaki p-IRE1 ekspresyonunun, erken proliferatif ve erken sekretuar faza kıyasla artmış olduğu görüldü. Bu ekspresyon artışının daha önceki çalışmalarla uyumlu olarak geç sekretuar fazda artan progesteron hormonunun etkisine bağlı olabileceği düşünüldü.

Ötopik endometrium bez epiteli ve stromal hücrelerin faz bağımlı p-IRE1 ekspresyonu genel olarak değerlendirildiğinde, normal endometriuma benzer şekilde, p-IRE1 ekspresyonunun proliferatif fazlardan sekretuar fazın sonuna doğru artış göstermesi p-IRE1 ekspresyonunun ötopik endometriumda da progesteron etkisi altında olduğunu düşündürdü. İstatistiksel olarak ise, bez epitelindeki ve stromal hücrelerdeki p-IRE1 ekspresyon düzeyi, geç proliferatif fazda diğer fazlara kıyasla azalmış görüldü de sadece geç sekretuar faz arasında anlamlı farklılık bulunmuştur. Stromal hücrelerde geç sekretuar fazdaki ekspresyon düzeyinin erken proliferatif faza kıyasla da artmış olduğu görüldü. Geç proliferatif fazda artan östrojenin IRE1 fosforilasyonunu baskıladığı ve buna ek olarak geç sekretuar fazdaki artışın da IRE1 fosforilasyonunun progesteron bağımlı olduğunu akla getirdi. p-PERK ekspresyonunun ise bez epitelinde ve stromal hücrelerde geç proliferatif fazda diğer fazlara kıyasla daha az olduğu belirlense de sadece erken proliferatif faz ile anlamlı farklılık saptanmıştır. Diğer yandan ATF6 ekspresyon düzeyi değerlendirildiğinde, geç proliferatif fazdaki ATF6 ekspresyonu diğer fazlara kıyasla daha az bulunsa da, anlamlı farklılık erken proliferatif ve erken sekretuar fazları ile bulunmuştur. Bu bulgular normal endometrium bulguları ile büyük ölçüde paralellik göstermekteydi ve geç proliferatif fazdaki ekspresyonun geç sekretuar faza kıyasla azalmış bulunması, östrojenin ötopik endometriumda da ATF6 ekspresyonunu baskılayıcı etkisi olduğunu göstermiştir.

Ektopik endometrium bez epiteli ve stromal hücrelerin ER stres yolları açısından faz bağımlı immünoreaktivitesi değerlendirildiğinde, p-IRE1'in bez epitelindeki ekspresyonu normal endometriumdakine benzer şekilde geç proliferatif fazda diğer fazlara kıyasla anlamlı olarak azalmış bulundu; geç proliferatif fazdaki düşüş haricinde diğer fazlarda birbirine yakın seviyede olup ve yüksek ekspresyon

düzeıy gösterdiği dikkati çekti. Stromal hücrelerde ise geç proliferatif fazdaki ekspresyon düzeıy diğer fazlara kıyasla azalmış bulunsa da, sadece geç sekretuar faz ile istatistiksel anlamlılık saptandı. Bu sonuçlar bize östrojenin p-IRE1 ekspresyonunu baskılayıcı etkisinin ektopik dokuda da var olduğunu göstermiştir. Diğer yandan, bez epitelindeki ve stromal hücrelerdeki p-PERK ekspresyonu erken proliferatif fazda en yüksek seviyede olup, menstrual siklus sonuna doğru ekspresyon düzeıyinin azaldığı ve geç sekretuar fazda en az seviyede olduğu görüldü, ancak bez epiteli ve stromal hücrelerde ekspresyon düzeıyleri açısından istatistiksel bir fark bulunmadı. Ayrıca bez epiteli ve stromal hücrelerdeki ATF6 ekspresyonu tüm fazlarda birbirine yakın olup, tüm siklus fazlarında yüksek ekspresyon gösterdiği saptandı. Bu bulgular, normal endometriumda östrojen ve/veya progesteron hormonlarına bağlı olarak görülen değişimin p-PERK ve ATF6 sinyal proteinleri için ektopik endometriumda bozulduğunu göstermektedir. Buradan yola çıkarak, 1. Ektopik dokulardaki lokal aromataz aktivitesine bağlı olarak sürekli bir östrojen oluşumu vardır. Bu sebeple ER stres proteinlerinde azalma bekleriz. Fakat ortalama değerlere baktığımızda normale göre ektopik endometriuma ait ekspresyon düzeıylerinin artış göstermesi bize östrojene yanıtın bozuluyor olabileceğini düşündürmektedir. 2. Progesteron rezistansından dolayı sekretuar fazda olması beklenen artış gerçekleşmiyor olabilir. Öyleki, progesteron uygulamasının normal endometrial stromal hücrelerde GRP78, CHOP ve TRIB3 ekspresyonlarında belirgin bir artışa yol açıp, ER stresini arttırdığı gösterilirken, endometriotik stromal hücrelerde ise progesteron uygulamasının aynı proteinlerin ekspresyon düzeıylerinde belirgin bir farklılık oluşturmadığı gösterilmiştir (Choi D ve ark. 2018).

Normal, ötopik ve ektopik endometrium dokuları p-IRE1 ekspresyonu açısından genel olarak değerlendirildiğinde, normal ve ötopik endometriumda IRE1 fosforilasyonunun genel olarak siklus başlangıcından sonuna doğru artış gösterdiği belirlendi. Bu sonuca göre normal ve ötopik endometriumdaki IRE1 fosforilasyonunun östrojenin hakim olduğu erken ve geç proliferatif fazda, progesteronun hakim olduğu sekretuar fazlara kıyasla daha düşük olması, östrojenin bu dokularda IRE1 fosforilasyonunu baskılayıcı etki gösterdiğini, ancak sekretuar fazlarda proliferatif fazlara göre görülen artışın IRE1 fosforilasyonunun östrojenden ziyade progesteron bağımlı olduğunu düşündürdü. Normal, ötopik ve ektopik endometrium dokuları birbiri ile istatistiksel olarak kıyaslandığında, erken proliferatif fazda ektopik endometrium bez

epitelinde ve stromal hücrelerdeki p-IRE1 ekspresyon düzeyi, normal ve ötopik endometriuma kıyasla anlamlı olarak artmış bulundu. Bu sonuç bize ektopik endometriumda östrojene yanıtın bozuluyor olabileceğini düşündürdü. Diğer yandan, bu artışın östrojenik yanıtın bozulmasına ek olarak, inflamasyon aracılı olabileceğini ya da periton sıvısındaki ya da ektopik çevredeki bazı faktörlerin fosforilasyon düzeyini yüksek tuttuğunu akla getirdi. Erken sekretuar fazda normal ve ötopik endometriuma kıyasla ektopik endometriumda IRE1 fosforilasyonunun daha yüksek seviyede oluşu, ektopik endometriumda IRE1 fosforilasyonunun östrojen ve progesteronun ortak etkisi altında olduğunu düşündürdü. Ayrıca özellikle ektopik endometrium bez epitelinin p-IRE1 ekspresyon düzeyleri stromal hücrelerle kıyaslandığında bez epitelinin IRE1 fosforilasyonuna daha duyarlı olduğu dikkati çekti.

Normal, ötopik ve ektopik endometrium dokularında p-PERK ekspresyonu genel olarak değerlendirildiğinde, normal ve ötopik endometrium bez epitelinde ve stromal hücrelerdeki IRE1 fosforilasyonundan farklı olarak, PERK fosforilasyonunun geç proliferatif faz haricinde tüm menstrual siklus boyunca yüksek seviyede olduğu görüldü. Ayrıca her grubun kendine ait endometrial bez epitelinde ve stromal hücrelerdeki PERK fosforilasyonu birbirine yakın düzeyde bulundu. Ektopik endometrium da ise normal ve ötopik dokularındaki geç proliferatif fazdaki azalışın olmadığı dikkati çekti. İstatistiksel olarak kıyaslandığında ise; erken proliferatif faz ve erken sekretuar fazda normal, ötopik ve ektopik endometrium dokularındaki bez epiteli ve stromal hücrelerde gruplar arasında herhangi bir istatistiksel fark görülmedi. Diğer yandan, geç proliferatif fazda ektopik endometrium bez epitelinde ve stromal hücrelerde normal ve ötopik endometriuma aksine PERK fosforilasyonunda belirgin bir azalma olmaması ve ektopik endometriumdaki bez epiteli ve stromal hücrelerdeki ekspresyon düzeyinin normal ve ötopik endometriuma kıyasla istatistiksel olarak arttığına görülmesi, yine östrojenik yanıtın bozulmasına ek olarak, ektopik dokudaki PERK fosforilasyonunun, periton sıvısındaki ya da ektopik çevredeki faktörlerin etkisi altında olduğunu düşündürdü. Geç sekretuar fazda ise ektopik ve ötopik endometrium bez epitelinde ve stromal hücrelerdeki ekspresyon düzeyinin normal endometriuma kıyasla istatistiksel olarak azalmış olması dikkati çekti. Ayrıca genel olarak bakıldığında p-PERK ekspresyonunun sekretuar fazda proliferatif faza kıyasla daha düşük seviyelerde olması, bize p-PERK ekspresyonunun progesteron rezistansına daha duyarlı olduğunu düşündürdü.

Normal, ötopik ve ektopik endometrium dokuları ATF6 ekspresyonu açısından genel olarak değerlendirildiğinde; normal ve ötopik endometrium bez epiteli ve stromal hücrelerde PERK fosforilasyonuna benzer şekilde ATF6 ekspresyonunun da geç proliferatif faz haricinde tüm fazlarda yüksek düzeyde olduğu dikkati çekti. Bundan farklı olarak, ektopik endometrium bez epiteli ve stromal hücrelerde ise geç proliferatif faz da dahil tüm menstrual siklus fazları boyunca yüksek seviyelerde devam eden ATF6 ekspresyonu olduğu görüldü. Normal ötopik ve ektopik dokular birbirleri arasında istatistiksel anlamlılık gözetilerek değerlendirildiğinde ise, ektopik endometrium bez epitelindeki ATF6 ekspresyon düzeyi, erken proliferatif, geç proliferatif ve geç sekretuar fazda normal ve ötopik endometriuma kıyasla artmış bulundu. Bu bulgular ektopik dokuda bozulduğunu düşündüğümüz östrojenik yanıtın p-IRE1 ve p-PERK’de olduğu gibi ATF6 yolağında da ortaya çıktığı, buna ek olarak her 3 fazda da normal ve ötopik dokuya kıyasla artmış görülen ATF6 ekspresyonunun ektopik çevredeki faktörlerin etkisi altında olabileceğini düşündürdü.

Tüm bu bulgulardan yola çıkarak, (1) ektopik endometriumun, normal ve ötopik endometriuma kıyasla ER stresi sonucu aktive olan UPR yollarını daha etkin kullandığı görülmüştür. (2) IRE1 fosforilasyonu daha çok faz bağımlı olarak, PERK fosforilasyonu ve ATF6 ekspresyonu ise tüm menstrual siklus boyunca aktivasyon göstermektedir. (3) Sonuç olarak, ektopik dokuda ER stresinde, her 3 yolağın da aktif olduğu görülmektedir.

Abdominopelvik boşluk, asimetrik bir alan sergileyip, farklı mezenterik yapılar ve peritoneal katlanmaların bulunduğu çeşitli alanları içerir (Meyers 1973). Abdominopelvik boşluk içinde sürekli olarak hareket halinde olan periton sıvısı (Meyers 1970; Rosenshein 1979) peritonun ve pelvik organların lenfatik drenajından oluşur ve periton ile iç organlar arasındaki sürtünmeyi engeller. Periton sıvısı makrofajlar, eritrositler, mezotelyal hücreler, endometrial hücreler, lenfositler, eozinofiller ve mast hücrelerini içeren, hücreden ve proteinden zengin bir sıvıdır. Ayrıca sitokinler, büyüme faktörleri ve kemotaktik faktörler ile bunların bileşenleri peritoneal mikroçevrenin aktivitesini yansıtır (Koninckx ve ark. 1998; Rizner 2015). Pelvik boşluk, uterus, tuba uterina ve ovaryumlar, bu sıvı içinde buldukları için periton sıvısı içindeki maddeler reproduktif fonksiyonu ciddi şekilde etkileyebilir (Tasuku Harada ve ark. 2001; Rizner 2015).

Periton sıvısı akışı çoğunlukla 4 anatomik bölgede görülür ve tekrarlı akış göstererek sonrasında bu bölgelerde birikir. Bu bölgeler; 1: rektosigmoid seviyesindeki Douglas kesesi, 2: ince bağırsak mezenterinin son sağ alt çeyrek kısmı, 3: sigmoid mezokolon ve kolonun üst sınırı boyunca sol alt çeyrek kısmı ve 4: çıkan kolonun ve çekumun yanındaki sağ parakolik olukdur (Meyers 1973). Bu alanlardaki periton sıvısının hareketsizliği hücrelerin implantasyonuna olanak sağlayabilir. Bu 4 anatomik bölge endometriotik lezyonların yerleştiği temel alanlarla uyum gösterir (Chapron ve ark. 2006). Douglas kesesindeki yüksek hidrostatik basınç ve periton sıvısı akışının durgunluğu, endometriotik lezyonların neden abdomenden daha çok pelvis bölgesinde bulunduğunu ve neden pelvik lezyonların çoğunun posterior bölgelerde bulunduğunu açıklar (Meyers 1973). Endometriotik lezyonlar tuba uterina gibi daha hareketli organlarda rektum gibi sabit organlara kıyasla daha seyrek görülür. Örneğin, ince bağırsak yüksek peristaltik hareketinden dolayı genellikle endometriozisten etkilenmez. İnce bağırsağın bu hareketliliği periton boşluğunun merkezindeki sıvı birikimini minimum düzeyde tutmuş olur (Jenkins ve ark. 1986). Diğer yandan transvers kolon, kolonun tuba uterinadan en uzak kısmı olması ve intra-abdominal akıştan izole bir organ olması sebebi ile endometriozisten neredeyse hiç etkilenmez. Sigmoid kolonun ise endometriozisten sağ kolona kıyasla daha çok etkilenmesi, pelvik lokasyonuna ve sol tuba uterina ile yakınlığına bağlanabilir (Vercellini ve ark. 2004). Yukarıdaki klinik durumlarla ilişkilendirildiğinde periton sıvısının endometriotik lezyon gelişiminde rol oynadığı düşünülmüştür.

Ektopik lezyonlar da, pelvik peritonda periton sıvısı içinde bulunurlar. Bundan dolayı periton sıvısı içerikleri ve bu içeriklerin endometriozis gelişimindeki etkileri, endometriozis patogenezini daha iyi anlayabilmek için önemli bir hedeftir (Cosı'n ve ark. 2010; Berbic ve Fraser 2011). Periton sıvısı, hastalıkla ilgili taşıdığı potansiyel bilgilerden dolayı, endometriozis üzerine yapılan araştırmaların odak noktası olmuştur (Mulayim ve Arici 1999). Ayrıca periton sıvısı, endometriozis gelişimi ve ilerlemesi süreçlerine olan etkisine bağlı olarak, endometriozis ilişkili infertilitede de önemli bir rol oynar (Tasuku Harada ve ark. 2001). Periton sıvısında bulunan hücresel ve biokimyasal bileşenlerin, endometriozis patogenezinde önemli rol oynadığı düşünülmektedir (Koutsilieris ve ark. 1991). Endometriozis semptomları, peritoneal çevre değişikliklerinden etkilenir. Syrop ve Halme, endometriozis hastalarının periton sıvısı hacminin, fertil kontrole kıyasla belirgin olarak daha fazla olduğunu

göstermişlerdir (Syrop ve Halme 1987; Halme ve ark. 1987). Ayrıca endometrial stromal hücre proliferasyonunu arttırması yolu ile de periton sıvısının endometriozis patogenezinde önemli rol oynadığı düşünülebilir (Mulayim ve Arici 1999). Endometriozis hastalarının periton sıvılarında aktive olmuş makrofajların varlığı sonucu, parakrin ve endokrin çevrede değişiklikler gerçekleştiği, büyüme faktörleri ve sitokinlerdeki bu değişikliklerin de ovulasyonu, fertilizasyonu ve sperm fonksiyonunu, embriyo gelişimini ve implantasyonu olumsuz etkilediği bilinmektedir (Illera ve ark. 2000). Diğer yandan, Hahn ve ark. yaptığı bir çalışmada endometriozisli tavşandan alınan periton sıvısının, cerrahi olarak endometriozis oluşturulmamış başka bir tavşana transfer edildiğinde bile embriyo implantasyonunu engellediği gösterilmiştir (Hahn ve ark. 1986).

Endometrioziste, çoğunlukla endometrial hücrelerin spesifik davranışlarını açıklayabilmek için, endometriotik doku ve endometrium arasındaki hücresel farklılıkların belirlenmesi üzerine çalışılmıştır. Bu çalışmalara göre, proteolitik enzim katepsin D'nin, endometriotik dokuda endometriuma kıyasla daha yüksek olduğu (Bergqvist ve ark. 1996), adezyon glikoproteinleri laminin ve fibronektin ve E-kaderin ekspresyonları benzerlik gösterirken, fibronektin reseptör ekspresyonlarının farklı olduğu (Sillem ve ark. 1997; Beliard ve ark. 1997), endometriuma kıyasla, integrin  $\alpha 3$  alt biriminin artış gösterirken, integrin  $\alpha 6$  alt biriminin azaldığı gösterilmiştir. Ayrıca siklus bağımlı  $\alpha 5$  ve  $\beta 3$  ekspresyonunun endometrioziste olmadığı söylenmiştir (Rai ve ark. 1996). Endometriotik doku ile endometrium arasında gözlenen farklılıklar, periton sıvısının steroid hormonlar, sitokinler, anjiogenik ve büyüme faktörleri açısından farklı endokrin çevreye sahip olmasının bir sonucu olarak açıklanabilir (Oral ve ark. 1996). Çünkü endometrial hücreler farklı hormonal çevrede farklı davranış sergilerler. Dolayısı ile ötopik ve ektopik endometrium arasında gözlemlenen farklar gerçek doku farklılıklarını yansıtmaktan ziyade, farklı hormonal çevreden kaynaklanıyor olabilir (Koninckx ve ark. 1998). Bu noktada periton sıvısının önemi bir kez daha vurgulanabilir.

Endometrial stromal hücreler endometrial dokunun önemli bir bölümü olup, proliferasyonları endometriozis gelişimi ile yakından ilişkilidir (Liu ve ark. 2011). Surrey ve Halme'nin endometriozis hastalarından alınan periton sıvısının in vitroda normal endometrial hücrelerin proliferasyonunu uyarıcı etkisi olduğunu göstermeleri de,

periton sıvısının endometriozis ilerlemesinde yer aldığını işaret etmektedir (Surrey ve Halme 1990).

Endometriozis patogenezindeki en temel faktörlerden biri de inflamasyondur. Periton boşluğunda ektopik dokunun varlığı, prostaglandinlerin, sitokinlerin ve kemokinlerin yüksek üretimi ile ilişkilidir ve periton sıvısında gerçekleşen sitokin artışı, periton boşluğunda endometriotik implantların yayılımına ve ilerlemesine katkıda bulunmaktadır (Oral ve ark. 1996). Diğer yandan, endometriozisi olan kadınlarda otoimmün hastalıkların daha yaygın olarak görülmesi endometriozisin patogenezinde bu hastalarda hasarlı immün yanıt olması ihtimalini desteklemektedir (Sinai ve ark. 2002). Endometriozis hastalarında aktive olmuş makrofaj konsantrasyonu daha yüksek olup, hücrel immünite azalmıştır ve NK hücre fonksiyonu bastırılmıştır (Sikora ve ark. 2011; Osuga ve ark. 2011). Endometrial hücrelerin periton içine geri kaçışı bir inflamatuvar yanıtı başlatarak aktive olmuş makrofajların ve lökositlerin bölgesel olarak toplanmasına yol açar (Kyama ve ark. 2009). Bu inflamatuvar yanıt da hasarlı immün gözetime sebep olup menstrual kalıntıların ortadan kaldırılmasını engeller ve endometrial hücrelerin ektopik bölgelerde implante olup büyümesine olanak sağlar (Christodoulakos ve ark. 2007). Diğer yandan, ektopik lezyon oluşumu sonucu gerçekleşen makrofaj infiltrasyonu, NFkB gibi alternatif aktivasyon belirteçleri üzerinden, lezyonların büyümesini ve angiogenezi kontrol eden genlerin yanıtını aktive eder (Vercellini ve ark. 2014). Endometriozisin inflamatuvar çevresi IL-1 $\beta$  ve TNF- $\alpha$  gibi sitokinlerden yüksektir (Kayisli ve ark. 2002) ve bu sitokinlerin endometrial endotel hücrelerinde GRP78 ekspresyonu üzerinden ER stresini arttırdığı gösterilmiştir (Ocak ve ark. 2011).

Diğer yandan, ER fonksiyonundaki değişimlerin, apoptozu ve inflamazom (büyük multiprotein kompleksi) oluşum aktivasyonunu düzenlediği düşünülmektedir. Muhtemelen bu yolla geri akan endometrial doku parçalarının hayatta kalmasına ve endometriozis oluşumuna imkan vermektedir (Evans ve ark. 2016). Ayrıca inflamazomların ana bileşeni olan NOD benzeri reseptör proteinleri, IL-1 $\beta$  oluşumunu indükleyen kaspaz 1 maturasyonunu kolaylaştırır ve hücrel tehlikeye yanıt olarak sitokin sekresyonunu artırır (Grasso ve ark. 2018).

Endometriozisin cerrahi tanısı, tanıyı koyduracak herhangi net bir belirtecin bulunmaması nedeniyle hala altın standart konumundadır (Rižner 2015). Endometriozis teşhisi halen laparoskopik olarak lezyonların cerrahi gözlemine gerektirir. Bu nedenle

uygun biyo-belirteçlerin belirlenmesi büyük ilgi konusudur. İnvazif olmayan ya da minimal düzeyde invazif biyo-belirteçlere olabildiğince hızlı ihtiyaç vardır (Evans ve ark. 2016). Periton sıvısında belirlenen moleküller farklı uygulamalar için biyo-belirteç olma potansiyeli taşıyabilirler (Walter ve ark. 2001; Hsu ve ark. 2010). Aynı zamanda periton sıvısı biyo-belirteçleri, tamamlayıcı bir teşhis aracı olarak son teşhisin konulmasına katkı sağlayabilir. Ayrıca hastalığın evrenmesinde, teşhisinin belirlenmesinde ve klinik yanıtların tahmininde bir araç olarak da kullanılabilir (Biomarkers Definitions Working Group, 2001). Periton sıvısı biyo-belirteçleri klinik olarak 2 şekilde katkıda bulunabilir. Bir taraftan klasik cerrahi teşhise katılabilir. Diğer taraftan yeni ilaç uygulaması için hedef belirlenmesini sağlayabilir. Son 5 senedir periton sıvısındaki potansiyel endometriozis biyo-belirteçlerini değerlendiren çalışmalar, inflamasyon, özellikle çeşitli sitokinler ve kemokinler, oksidatif stresle ilişkili moleküller ve diğer süreçlerle ilişkili protein biyo-belirteçleri üzerinde yapılmıştır (Rizner 2015). Ancak ER stresi ile ilişkili belirteçler ile yapılan bir çalışma literatürde yoktur.

Bu bilgiler ışığında, biz de, endometriozis patogeneğinde ER stresinin rolünü araştırdığımız *in vivo* çalışmamıza paralel olarak, endometriozisi olan kadınlarda geri akan endometrial hücrelerin hayatta kalımlarına ve adezyonlarına olanak sağladığını düşündüğümüz periton ortamını, *in vitro* koşullarda sağlayarak, kontrol ve endometriozisli periton sıvılarının, endometrial stromal hücreler üzerindeki etkilerini ER stresi üzerinden incelemeyi amaçladık. Bu amaçla, kontrol ve endometriozisli periton sıvısını, primer endometrial stromal hücrelerin kültür ortamlarına ekleyerek doza (%10-20) ve zamana (10-30-60 dk ve 24-48 saat) bağlı olarak ER stres belirteçleri olan p-IRE1, p-PERK ve ATF6 ekspresyonlarına olan etkilerini immünohistokimya analizi ile değerlendirdik. Doz ve zaman aralıkları ön deneyler yapılarak belirlendi. Periton sıvısı konsantrasyonunun belirlenmesi için yaptığımız ön çalışmalarda %30 konsantrasyonda 24 ve 48 saatte kontrol hasta periton sıvısı verilen hücrelerin hepsinin öldüğü gözlenirken, endometriozisli hastaların periton sıvısı verilen stromal hücrelerde böyle bir bulguya rastlanmadı. Bu sebeple yüksek konsantrasyon olarak %20 konsantrasyon denendi ve hücrelerde ölüm görülmemesi üzerine dozlar %10 ve %20 olarak belirlendi (Meresman ve ark. 1997; Overton ve ark. 1997; Braza Boils ve ark. 2013; Liu ve ark. 2011). Diğer yandan, çalışma deneylerine başladığımızda, kontrol periton sıvılarının düşük ve yüksek konsantrasyonlarda stromal hücrelerin ortamına

eklendiğinde ön deneylere ters olarak 24. saatte tüm hücrelerin öldüğü gözlemlendi. Yapılan gözlemlerde hücrelerin yaklaşık 4 ve 5. saatlerde morfolojilerinin bozulması, hücre uzantılarının çekilmesi, hücre sitoplazmalarının büzülmesi ve nukleuslarının kondanse olması gibi özelliklerine dayanarak hücrelerin apoptoza gittiği düşünülmüştür. Kontrol periton sıvısının, endometriozis gelişimine yol açan retrograd menstruasyonla geri kaçan hücrelerin hayatta kalımlarını apoptoza giderek engellediği düşünülüp, bunu hangi mekanizma ile yaptığı bir sonraki çalışma konusu olabilir. Diğer yandan endometriozis periton sıvısına maruz kalan hücrelerde ise herhangi bir ölümün görülmemesi, bu hücrelerin hayatta kalmalarını sağlayan ya da bu hücrelerin apoptoza gitmelerini engelleyen başka faktörlerin olduğunu düşündürmektedir. Dolayısı ile, kontrol grubunda 24 ve 48 saatlerde gerçekleşen hücre ölümünden dolayı, kontrol ve endometriozis grubu periton sıvısı etkilerinin karşılaştırmaları bu zaman aralıklarında yapılamamış, sadece 10, 30 ve 60 dk zaman aralıkları arasında yapılabilmektedir. Endometriozis grubunun kendi içinde ise hücre ölümü olmadığından zaman aralıkları kıyaslamaları 10, 30 ve 60 dk ve 24 ve 48 saat için yapılmıştır.

Endometrial hücre kaderinin antiapoptotik ve proliferatif fenotip lehine değişmesi endometrial hücrelerin periton boşluğunda hayatta kalımı, ektopik implantasyonun başlangıcı ve oluşan lezyonların devamlılığı için çok önemlidir (Hapangama ve ark. 2010). Ektopik endometrial hücrelerdeki antiapoptotik ve hayatta kalım genleri yüksek ekspresyona edildiği buna karşılık apoptoz yolaklarını düzenleyen genlerin ise düşük ekspresyonda kaldığı düşünülmektedir (Ferryman ve Rollason 1994). Ayrıca endometriozis hastalarının ötopik endometriumlarının daha yüksek seviyede antiapoptotik faktörler ekspresyona ettiği gösterilmiştir (Taniguchi ve ark. 2011). Dahası, endometrial hücrelerdeki apoptoz inhibisyonuna ek olarak, inflamasyonu, anjiyogenezi ve hücre proliferasyonunu destekleyen genlerin, transkripsiyonel aktivasyonları da aracılık edebilir (González-Ramos ve ark. 2010). Buna ek olarak, endometriozis hastalarının periton sıvısında artmış düzeyde olduğu bilinen IL-8, TGF $\beta$ 1 ve TNF $\alpha$  gibi sitokinlerin endometrial ve endometriotik hücrelerde büyümeyi arttırıcı etki gösterdikleri ve IL-8 ve TGF $\beta$ 1'in endometrial hücreler üzerindeki proliferatif etkisi de bilinmektedir (Wu ve Ho 2003). Bu bilgilere dayanarak, kontrol grubunda 24 ve 48. saatlerde görülen hücre ölümünün, endometriozis periton sıvısına maruz kalan stromal hücrelerde görülmemesi, (1) endometriozis periton sıvısının bu hücrelerde antiapoptotik genleri aktive edip, apoptotik genlerin ekspresyonlarını baskılamış olabileceğini, (2) IL-

8 ve TGF $\beta$ 1 gibi sitokinlerin endometriozis periton sıvısındaki artmış düzeylerine bağlı olarak stromal hücre proliferasyonunu arttırması sonucu olabileceğini akla getirdi. Diğer yandan, Oosterlynck ve ark. endometriozis hastalarının periton sıvılarının doğal öldürücü (NK) hücrelerin sitotoksitesindeki baskılayıcı etkisinin kontrol periton sıvısına kıyasla daha fazla olduğunu göstermişlerdir (Oosterlynck ve ark. 1993). Bu anlamda Mazzeo ve ark. da IL-12 antagonisti olarak işlev gören serbest IL-12p40 düzeyinin, endometriozis periton sıvısında kontrole kıyasla daha fazla bulunduğu göstermişlerdir. IL-12'nin NK hücrelerinin sitotoksitesini indüklediği göz önüne alınırsa, endometriotik periton sıvısındaki serbest IL-12p40'ın da NK sitotoksik aktivitesini baskılayan bir faktör olduğu düşünülebilir (Mazzeo ve ark. 1998). Ayrıca, endometriozisli kadınların endometriyumlarının daha fazla ICAM-1 salgıladığı, dökülen endometrial hücrelerden salınan ICAM-1 molekül artışı ve glikodelin konsantrasyon artışının da NK hücrelerin aktivitesini baskılayıcı etkileri gösterilmiştir (Somigliana ve ark. 1996; Koninckx ve ark. 1992). Bunlar da endometriozis periton sıvısına maruz kalan stromal hücrelerin ölüme gitmelerini engelleyen bir faktör olabilir.

İmmunositokimyasal bulgularımıza baktığımızda, kontrol periton sıvısının düşük ve yüksek konsantrasyonları ile muamele edilen endometrial stromal hücrelerdeki 10, 30 ve 60 dk sonundaki p-IRE1, p-PERK ve ATF6 ekspresyon düzeyleri kıyaslandığında, kontrol grubunun kendi içinde zamana ve konsantrasyona bağlı istatistiksel bir fark bulunmadı.

Endometriozis periton sıvısının düşük ve yüksek konsantrasyonları ile muamele edilen endometrial stromal hücrelerdeki 10-30-60 dk aralıkları arasındaki p-IRE1 ekspresyon düzeylerinde istatistiksel bir fark gözlenmezken, 24 ve 48. saat sonundaki p-IRE1 ekspresyon düzeylerinde, 10-30 ve 60 dk sonundaki ekspresyon düzeyleri ile kıyaslandığında istatistiksel olarak da doğrulanan belirgin bir azalmanın olduğu dikkati çekti. HeLa hücrelerinde yapılan bir çalışmada XBP1 mRNA kırılmasının 15-30 dk gibi kısa sürede çok hızlı bir şekilde gerçekleştiği gösterilmiştir (Uemura ve ark. 2009). Bu bilgi göz önüne alındığında, endometriozis periton sıvısı verilmesi ile indüklenen ER stresini takiben, 10-30 ve 60 dk gibi kısa süre içinde XBP1 mRNA kırılmasına yol açan IRE1 fosforilasyonunun da hızlı bir şekilde gerçekleştiği ve 24 ve 48. saatlere doğru ise fosforilasyon düzeyinin azaldığı düşünülebilir. Buna karşılık p-PERK ve ATF6 ekspresyon düzeyleri değerlendirildiğinde, 10-30-60 dk maruziyet ve 24-48 saat

maruziyet ile kıyaslandığında düşük ve yüksek konsantrasyonların hepsi için zamana ve konsantrasyona bağlı istatistiksel bir fark bulunmadı.

Diğer yandan, düşük konsantrasyondaki kontrol ve endometriozis periton sıvıları ile muamele edilen endometrial stromal hücreler zamana bağlı olarak birbirleri ile kıyaslandığında, 10-30-60 dk sonundaki p-IRE1, p-PERK ve ATF6 ekspresyon düzeyleri arasında gruplar arası istatistiksel bir fark görülmedi. Buna karşılık, yüksek konsantrasyondaki kontrol ve endometriozis periton sıvıları ile muamele edilen endometrial stromal hücreler zamana bağlı olarak birbirleri ile kıyaslandığında, 10-30-60 dk sonundaki ATF6 ekspresyon düzeyleri arasında istatistiksel bir fark bulunmazken, p-IRE1 ve p-PERK ekspresyonlarının ise endometriozis periton sıvısı verilen hücrelerde 10-30-60 dk sonunda kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak arttığı saptandı.

Yapılan çalışmalar inflamatuvar sitokinlerin ER stresine yol açtığı ve bu yolla UPR sinyalizasyonunu aktive ettiğini göstermiştir. TNF $\alpha$ 'nın fibrokarsinom hücrelerinde ER stresine yol açıp, PERK, IRE1 $\alpha$  ve ATF6 ekspresyonunu aktive ettiği, diğer yandan TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  ve IL-6'nın hepatosit hücrelerinde ER stresini indüklediği, ek olarak T-hücre kaynaklı sitokin interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ )'nın da oligodendrositlerde PERK ekspresyonunu aktive ettiği gösterilmiştir (Xue ve ark. 2005; Zhang ve ark. 2006; Lin ve ark. 2005). Tüm bu sitokinlerin endometriozis hastalarının periton sıvılarında kontrole kıyasla artmış düzeyde bulunduğu bilinmektedir (Oral ve ark. 1996;. Wu ve Ho 2003). Bu çalışmalarla uyumlu olarak, endometrial stromal hücrelerde p-IRE1 ve p-PERK yolağının karşılaştırma yapılabilen 10-30 ve 60 dk aralıklarında, konsantrasyona bağlı olarak periton sıvısı etkisi altında olduğu ve bu etkinin periton sıvısı içindeki inflamatuvar kemokinlerden ve sitokinlerden kaynaklandığı söylenebilir. Endometriozisli periton sıvısının in vitro stromal hücrelerde ATF6 ekspresyonunu indükleyici etkisi gösterilemediğinden, in vivo bulgularımızda ektopik dokuda görülen ATF6 ekspresyon artışı, periton sıvısından bağımsız olup, lokal mikroçevre, matriks değişiklikleri, immün hücre etkileşimi ya da lokal etkileşimlerin etkisine dayandırıldı.

IRE1 bir ER membran proteini olup, ER lümeninde bulunan bir N-terminal kısmı ile sitoplazmada ya da nükleusta bulunan bir C-terminal kısmı vardır. ER lümeninde bulunan kısmı, katlanmamış proteinlerin ya da serbest dolaşan şaperon konsantrasyonlarındaki değişiklikleri algılayan bir sensör görevindedir. IRE1 aktive olduğunda fosforilasyon ve oligomerizasyon geçirerek endoribonükleaz aktivitesi indüklenir. Bunun sonucu olarak XBP1 mRNA'sı kırılarak uzaklaştırılır ve aktif form

olan kırılmış XBP1 mRNA'sı oluşur. Memelilerdeki konvansiyonel olmayan kırılmanın lokasyonu hala tartışılmaktadır. Lee ve ark. IRE1'in iç nükleer membranda lokalize olmasına istinaden kırılmanın nükleusta gerçekleştiğini göstermişlerdir (Lee ve ark. 2002). Diğer yandan IRE1'in katalitik bölgesi sitoplazmada eksprese edildiğinden nükleer bir süreç olmaksızın kırılmanın sitoplazmada gerçekleştiğini bildiren çalışmalar da vardır (Back et al., 2006; Iwawaki and Akai, 2006). Uemura ve ark., XBP1 mRNA'sının büyük çoğunluğunun sitoplazmada lokalize olduğunu ve nükleustaki transkripsiyonu sonrası hızlıca sitoplazmaya atılıp, burada biriktiğini ve sadece küçük bir XBP1 mRNA havuzunun nükleusta kaldığını iddia etmişlerdir (Uemura ve ark. 2009). Diğer yandan başka bir çalışmada da memelilerdeki IRE1'nin sitoplazmik bölgesi olan kinaz ve endonükleaz kısımlarının proteolitik olarak yarıklanarak ER membranından koparak nükleusa hareket ettiği iddia edilmiştir. Çalışmaya göre, UPR indüklenmesi ile IRE1, oligomerizasyonunu ve fosforilasyon durumunu ve/veya kinaz aktivitesini değiştirerek, sorumlu proteazları aktive eden bir anahtar tetikler ya da IRE1'i yapısal olarak aktif proteazlar için bir substrat gibi sunar. Daha sonra IRE1 fragmanları nükleusa gider ve mRNA kırılmasına endoribonükleaz olarak katılır. Bu model de ER transmembran proteinin nasıl nükleusta gerçekleşen bir RNA sürecine katılabildiğini açıklar (Niwa ve ark. 1999). Bizim çalışmamızda da endometrial stromal kültür hücrelerindeki p-IRE1 immünoreaksiyonu, nükleusta daha yoğun şiddette olmak üzere, hem nükleusta hem de sitoplazmada gerçekleşmiştir.

Sonuç olarak, çalışmamızda *in vivo* olarak endometriozis patogenezinde ER stress yollarının aktive olduğu gösterilmiştir. Buna paralel olarak ER stres yollarından p-PERK ve p-IRE1'in *in vitro* insan endometrial stromal hücrelerde periton sıvısına yüksek doz maruziyet sonucu arttığı ortaya konmuştur. Dolayısı ile bu sinyal proteinleri endometriozis tanısına ve tedavi araçlarının geliştirilmesine yönelik potansiyel biyo-belirteçler olarak kullanılabilir. İleri çalışmalar planlanmaktadır.

## KAYNAKLAR

Abaé, M., Glassberg, M., Majercik, M.H., Yoshida, H., Vestal, R. ve Puett, D. (1994). Immunoreactive endothelin-1 concentrations in follicular fluid of women with and without endometriosis undergoing in vitro fertilization-embryo transfer. *Fertility and Sterility*, **61(6)**, 1083-1087.

Aghajanova, L., Hamilton, A.E. ve Giudice, L.C. (2008). Uterine receptivity to human embryonic implantation: histology, biomarkers, and transcriptomics. *Seminars in Cell and Developmental Biology*, **19(2)**, 204-211.

Aghajanova, L., Tatsumi, K., Horcajadas, J.A., Zamah, A.M., Esteban, F.J., Herndon, C.N. ve ark. (2011). Unique transcriptome, pathways, and networks in the human endometrial fibroblast response to progesterone in endometriosis. *Biology of Reproduction*, **84(4)**, 801-15.

Al-Fadhli, R., Kelly, S.M., Tulandi, T. ve Lin Tan, S. (2006). Effects of different stages of endometriosis on the outcome of in vitro fertilization. *Journal of Obstetrics and Gynaecology Canada*, **28(10)**, 888-891.

Al-Jefout, M., Dezarnaulds, G., Cooper, M., Tokushige, N., Luscombe, G.M., Markham, R. ve ark. (2009). Diagnosis of endometriosis by detection of nerve fibres in an endometrial biopsy: a double blind study. *Human Reproduction*, **24(12)**, 3019-3024.

Arici, A., Oral, E., Bukulmez, O., Duleba, A., Olive, D.L. ve Jones, E.E. (1996). The effect of endometriosis on implantation: results from the Yale University in vitro fertilization and embryo transfer program. *Fertility and Sterility*, **65(3)**, 603-607.

ASRM. (1997). Revised American Society for Reproductive Medicine classification of endometriosis: 1996. *Fertility and Sterility*, **67(5)**, 817-821.

Attar, E. ve Bulun, S.E. (2006). Aromatase and other steroidogenic genes in endometriosis: translational aspects. *Human Reproduction Update*, **12(1)**, 49-56.

Attia, G.R., Zeitoun, K., Edwards, D., Johns, A., Carr, B.R. ve Bulun, S.E. (2000). Progesterone receptor isoform A but not B is expressed in endometriosis. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, **85(8)**, 2897-902.

Augoulea, A., Alexandrou, A., Creatsa, M., Vrachnis, N. ve Lambrinoudaki, I. (2012). Pathogenesis of endometriosis: the role of genetics, inflammation and oxidative stress. *Archives of Gynecology and Obstetrics*, **286(1)**, 99-103.

Back, S.H., Lee, K., Vink, E. ve Kaufman, R.J. (2006). Cytoplasmic IRE1alpha mediated XBP1 mRNA splicing in the absence of nuclear processing and endoplasmic reticulum stress. *The Journal of Biological Chemistry*, **281**, 18691-18706.

Bahtiyar, M.O., Seli, E., Oral, E., Senturk, L.M., Zreik, T.G. ve ark Arici, A. (1998). Follicular fluid of women with endometriosis stimulates the proliferation of endometrial stromal cells. *Human Reproduction*, **13(12)**, 3492-3495.

Baird, T.D ve Wek, R.C. (2012). Eukaryotic initiation factor 2 phosphorylation and translational control in metabolism. *Advances in Nutrition*, **3(3)**, 307-321.

Bancroft, K., Vaughan, Williams C.A. ve Elstein, M. (1992). Pituitary-ovarian function in women with minimal or mild endometriosis and otherwise unexplained infertility. *Clinical Endocrinology*, **36(2)**, 177-181.

Bazer, F.W., Spencer, T.E., Johnson, G.A., Burghardt, R.C. ve Wu, G. (2009). Comparative aspects of implantation. *Reproduction*, **138(2)**, 195-209.

Bazot, M., P. Malzy, A. Cortez, G. Roseau, P. Amouyal and E. Daraï. (2007). Accuracy of transvaginal sonography and rectal endoscopic sonography in the diagnosis of deep infiltrating endometriosis. *Ultrasound in Obstetrics and Gynecology*, **30(7)**: 994-1001.

Bazot, M., ve Daraï, E. (2017). Diagnosis of deep endometriosis: clinical examination, ultrasonography, magnetic resonance imaging, and other techniques. *Fertility and Sterility*, **108(6)**, 886-894.

Béliard, A., Donnez, J., Nisolle, M. ve Foidart, J.M. (1997). Localization of laminin, fibronectin, E-cadherin, and integrins in endometrium and endometriosis. *Fertility and Sterility*, **67(2)**, 266-72.

Berbic, M. ve Fraser, I.S. (2011). Regulatory T cells and other leukocytes in the pathogenesis of endometriosis. *Journal of Reproductive Immunology*, **88**, 149–155.

Bergqvist, A., Fernö, M. ve Mattson, S. (1996). A comparison of cathepsin D levels in endometriotic tissue and in uterine endometrium. *Fertility and Sterility*, **65(6)**, 1130-4.

Bersinger, N.A., Dechaud, H., McKinnon, B. ve Mueller, M.D. (2012). Analysis of cytokines in the peritoneal fluid of endometriosis patients as a function of the menstrual cycle stage using the Bio-Plex® platform. *Archives of Physiology and Biochemistry*, **118(4)**, 210-8.

Biomarkers Definitions Working Group. (2001). Biomarkers and surrogate endpoints: preferred definitions and conceptual framework. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*, **69(3)**, 89-95.

Bokor, A., Kyama, C.M., Vercruyssen, L., Fassbender, A., Gevaert, O., Vodolazkaia, A. ve ark. (2009). Density of small diameter sensory nerve fibres in endometrium: a semi-invasive diagnostic test for minimal to mild endometriosis. *Human Reproduction*, **24(12)**, 3025-32.

Braza-Boïls, A., Gilabert-Estellés, J., Ramón, L.A., Gilabert, J., Marí-Alexandre, J., Chirivella, M. ve ark. (2013). A. Peritoneal fluid reduces angiogenesis-related microRNA expression in cell cultures of endometrial and endometriotic tissues from women with endometriosis. *PLoS One*, **8(4)**, e62370.

Braza-Boïls, A., Salloum-Asfar, S., Marí-Alexandre, J., Arroyo, A.B., González-Conejero, R., Barceló-Molina, M. ve ark. (2015). Peritoneal fluid modifies the microRNA expression profile in endometrial and endometriotic cells from women with endometriosis. *Human Reproduction*, **30(10)**, 2292-2302.

Brizek, C.L., Schlaff, S., Pellegrini, V.A., Frank, J.B. ve Worrilow, KC. (1995). Increased incidence of aberrant morphological phenotypes in human embryogenesis--an association with endometriosis. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*, **12(2)**, 106-112.

Bulletti, C., Coccia, M.E., Battistoni, S. ve Borini, A. (2010). Endometriosis and infertility. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*, **27(8)**, 441-7.

Bulun, S.E., Cheng, Y.H., Yin, P., Imir, G., Utsunomiya, H., Attar, E. ve ark. (2006). Progesterone resistance in endometriosis: link to failure to metabolize estradiol. *Molecular and Cellular Endocrinology*, **248(1-2)**, 94-103.

Bulun, S.E. (2009). Endometriosis. *The New England Journal of Medicine*, **360(3)**, 268-79.

Burman, A., Tanjore, H. ve Blackwell, T.S. (2018). Endoplasmic reticulum stress in pulmonary fibrosis. *Matrix Biology*, **68-69**, 355-365.

Burney, R.O. ve Giudice, L.C. (2012). Pathogenesis and pathophysiology of endometriosis. *Fertility and Sterility*, **98(3)**, 511-519.

Burns, W.N. ve Schenken, R.S. (1999). Pathophysiology of endometriosis-associated infertility. *Clinical Obstetrics and Gynecology*, **42(3)**, 586-610.

Cahill, D.J., Wardle, P.G., Maile, L.A., Harlow, C.R. ve Hull, M.G. (1995). Pituitary-ovarian dysfunction as a cause for endometriosis-associated and unexplained infertility. *Human Reproduction*, **10(12)**, 3142-3146.

Cahill, D.J. ve Hull, M.G. (2000). Pituitary-ovarian dysfunction and endometriosis. *Human Reproduction Update*, **6(1)**, 56-66.

Chapron, C., Chopin, N., Borghese, B., Foulot, H., Dousset, B., Vacher-Lavenu, M.C. ve ark. (2006). Deeply infiltrating endometriosis: pathogenetic implications of the anatomical distribution. *Human Reproduction*, **21(7)**, 1839-45.

Cheesman, K.L., Ben, N., Chatterton, R. T. ve Cohen, M.R. (1982). Relationship of luteinizing hormone, pregnanediol-3-glucuronide, and estriol-16-glucuronide in urine of infertile women with endometriosis. *Fertility and Sterility*, **38(5)**, 542-548.

Choi, D., Choi, J., Jo, M., Lee, E. ve Lee, D. (2018). Aberrant ER stress induction in response to progesterone enhances endometriotic stromal cell invasiveness. ESHRE, 1-4 July.

Choi, J.Y., Jo, M.W., Lee, E.Y., Lee, D.Y. ve Choi, D.S. (2018). Ovarian steroid dependence of endoplasmic reticulum stress involvement in endometrial cell apoptosis during the human endometrial cycle. *Reproduction*, **155(6)**, 493-503.

Christodoulakos, G., Augoulea, A., Lambrinouadaki, I., Sioulas, V. ve Creatsas, G. (2007). Pathogenesis of endometriosis: the role of defective 'immunosurveillance'. *The European Journal of Contraception and Reproductive Health Care*, **12(3)**, 194-202.

Cosí'n, R., Gilabert-Estelle's, J., Ramo'n, L.A., Go'mez-Lecho'n, M.J., Gilabert, J., Chirivella, M. ve ark. (2010). Influence of peritoneal fluid on the expression of angiogenic and proteolytic factors in cultures of endometrial cells from women with endometriosis. *Human Reproduction*, **25**, 398-405.

Cristescu, C., Veliscu, A., Marinescu, B., Patrascu, A., Trasca, E. T. ve Pop, O.T. (2013). Endometriosis - clinical approach based on histological findings. *Romanian Journal of Morphology and Embryology*, **54(1)**, 91-97.

Dalçık, H. ve Yıldırım, M. (Ed.). (2009). *Moore-Klinik Yönleriyle İnsan Embriyolojisi*. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri.

Delbandi, A.A., Mahmoudi, M., Shervin, A., Akbari, E., Jeddi-Tehrani, M., Sankian, M. ve ark. (2013). Eutopic and ectopic stromal cells from patients with endometriosis exhibit differential invasive, adhesive, and proliferative behavior. *Fertility and Sterility*, **100(3)**, 761-769.

Diaz-Fontdevila, M., Pommer, R. ve Smith, R. (2009). Cumulus cell apoptosis changes with exposure to spermatozoa and pathologies involved in infertility. *Fertility and Sterility*, **91(5)**, 2061-2068.

Dicks, N., Gutierrez, K., Michalak, M., Bordignon, V. ve Agellon, L.B. (2015). Endoplasmic reticulum stress, genome damage, and cancer. *Frontiers in Oncology*, **5**, 11.

Dlugi, A.M., Loy, R.A., Dieterle, S., Bayer, S.R. ve Seibel, M.M. (1989). The effect of endometriomas on in vitro fertilization outcome. *Journal of In Vitro Fertilization and Embryo Transfer*, **6(6)**, 338-341.

Donaghay, M. ve Lessey, B.A. (2007). Uterine receptivity: alterations associated with benign gynecological disease. *Seminars in Reproductive Medicine*, **25(6)**, 461-475.

Donnez, J. ve Thomas, K. (1982). Incidence of the luteinized unruptured follicle syndrome in fertile women and in women with endometriosis. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*, **14(3)**, 187-190.

Doody, M.C., Gibbons, W.E. ve Buttram, V.C. (1988). Linear regression analysis of ultrasound follicular growth series: evidence for an abnormality of follicular growth in endometriosis patients. *Fertility and Sterility*, **49(1)**, 47-51.

Endometriosis news. 4 stages of endometriosis. Erişim 5.06.2018, <https://endometriosisnews.com/2017/07/13/stages-of-endometriosis/>

Endometriosis. TheFreeDictionary.com. Farlex, Inc. Erişim 2.11.2018, <https://medical-dictionary.thefreedictionary.com/endometriosis>

Espey, L.L. (1980). Ovulation as an inflammatory reaction-a hypothesis. *Biology of Reproduction*, **22(1)**, 73-106.

Eun Kwon, H. ve Taylor, H. S. (2004). The role of HOX genes in human implantation. *Annals of the New York Academy of Sciences*, **1034**, 1-18.

Evans, J., Salamonsen, L.A., Winship, A., Menkhorst, E., Nie, G., Gargett, C.E. ve ark. (2016). Fertile ground: human endometrial programming and lessons in health and disease. *Nature Reviews Endocrinology*, **12(11)**, 654-667.

Ferryman, S.R. ve Rollason, T.P. (1994). Pathology of the uterine body. *Current Opinion in Obstetrics and Gynecology*, **6(4)**, 344-50.

Garrido, N., Navarro, J., Remohi, J., Simon, C. ve Pellicer, A. (2000). Follicular hormonal environment and embryo quality in women with endometriosis. *Human Reproduction Update*, **6(1)**, 67-74.

Garrido, N., Navarro, J., Garcia-Velasco, J., Remoh, J., Pellice, A. ve Simon, C. (2002). The endometrium versus embryonic quality in endometriosis-related infertility. *Human Reproduction Update*, **8(1)**, 95-103.

Gartner, L.P. (2017). *Textbook of Histology*. Philadelphia, PA: Elsevier.

Giudice, L.C., Telles, T.L., Lobo, S. ve Kao, L. (2002). The molecular basis for implantation failure in endometriosis: on the road to discovery. *Annals of the New York Academy of Sciences*, **955**, 252-264; discussion 293-255, 396-406.

Giudice, L.C. ve Kao, L.C. (2004). Endometriosis. *Lancet*, **364(9447)**, 1789-1799.

González-Ramos, R., Van Langendonck, A., Defrère, S., Lousse, J.C., Colette, S., Devoto L. ve ark. (2010). Involvement of the nuclear factor- $\kappa$ B pathway in the pathogenesis of endometriosis. *Fertility and Sterility*, **94(6)**, 1985-94.

Goteri, G., Lucarini, G., Zizzi, A., Rubini, C., Di Primio, R., Tranquilli, A.L. ve ark. (2010). Proangiogenic molecules, hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$  and nitric oxide synthase isoforms in ovarian endometriotic cysts. *Virchows Archiv*, **456(6)**, 703-10.

Grasso, E., Gori, S., Soczewski, E., Fernández, L., Gallino, L., Vota, D. ve ark. (2018). Impact of the Reticular Stress and Unfolded Protein Response on the inflammatory response in endometrial stromal cells. *Scientific Reports*, **8(1)**, 12274.

Gruenwald P. (1942). Origin of endometriosis from the mesenchyme of the celomic walls. *American Journal of Obstetrics & Gynecology*, **44(3)**, 470-474.

Guzel, E., Ocak, N.S., Basar, M., Bozkurt, I., Arici, A., Kayisli, U.A. (2010). Bidirectional Regulation of Unfolding Protein Respond in Human Endometrium and Endometriosis. *Fertility and Sterility*, **94(4)**, S216.

Guzel, E., Basar, M., Ocak, N., Arici, A. ve Kayisli, UA. (2011). Bidirectional interaction between unfolded-protein-response key protein HSPA5 and estrogen signaling in human endometrium. *Biology of Reproduction*, **85(1)**, 121-7.

Hahn, D.W., Carraher, R.P., Foldes, R.G. ve McGuire, J.L. (1986). Experimental evidence for failure to implant as a mechanism of infertility associated with endometriosis. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, **155(5)**, 1109-13.

Halme, J., Hammond, M.G., Hulka, J.F., Raj, S. ve Talbert, L.M. (1984). Retrograde menstruation in healthy women and in patients with endometriosis. *Obstetrics & Gynecology*, **64**, 151-4.

Halme, J., Becker, S. ve Haskill, S. (1987). Altered maturation and function of peritoneal macrophages: possible role in pathogenesis of endometriosis. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, **156(4)**, 783-9.

Hapangama, D.K., Turner, M.A., Drury, J.A., Quenby, S., Hart, A., Maddick, M. ve ark. (2009). Sustained replication in endometrium of women with endometriosis occurs without evoking a DNA damage response. *Human Reproduction*, **24(3)**, 687-96.

Hapangama, D.K., Turner, M.A., Drury, J., Heathcote, L., Afshar, Y., Mavrogianis, P.A. ve ark. (2010). Aberrant expression of regulators of cell-fate found in eutopic endometrium is found in matched ectopic endometrium among women and in a baboon model of endometriosis. *Human Reproduction*, **25(11)**, 2840-50.

Harada, T., Iwabe, T. ve Terakawa N. (2001). Role of cytokines in endometriosis. *Fertility and Sterility*, **76(1)**, 1-10.

Holoch, K.J. ve Lessey, B.A. (2010). Endometriosis and infertility. *Clinical Obstetrics and Gynecology*, **53(2)**, 429-438.

Hong, J., Kim, K., Kim, J.H. ve Park, Y. (2017). The Role of Endoplasmic Reticulum Stress in Cardiovascular Disease and Exercise. *International Journal of Vascular Medicine*, **2017**, 2049217.

Hsu, A.L., Khachikyan, I. ve Stratton, P. (2010). Invasive and noninvasive methods for the diagnosis of endometriosis. *Clinical Obstetrics and Gynecology*, **53(2)**, 413-419.

Hu, J., Dang, N., Menu, E., De Bruyne, E., Xu, D., Van Camp, B. ve ark. (2012). Activation of ATF4 mediates unwanted Mcl-1 accumulation by proteasome inhibition. *Blood*, **119(3)**, 826-37.

Hughes, D. ve Mallucci, G.R. (2018). The unfolded protein response in neurodegenerative disorders - therapeutic modulation of the PERK pathway. *FEBS Journal*.

Illera, M.J., Juan, L., Stewart, C.L., Cullinan, E., Ruman J. ve Lessey, B.A. (2000). Effect of peritoneal fluid from women with endometriosis on implantation in the Mouse model. *Fertility and Sterility*, **74(1)**, 41-8.

Iwawaki, T. ve Akai, R. (2006). Analysis of the XBP1 splicing mechanism using endoplasmic reticulum stress-indicators. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **350**, 709-715.

Jabbour, H.N., Kelly, R.W., Fraser, H.M. ve Critchley, H.O. (2006). Endocrine regulation of menstruation. *Endocrine Reviews*, **27(1)**, 17-46.

Jager, R., Bertrand, M.J., Gorman, A.M., Vandenabeele P. ve Samali, A. (2012). The unfolded protein response at the crossroads of cellular life and death during endoplasmic reticulum stress. *Biology of the Cell*, **104(5)**, 259-270.

Jenkins, S., Olive, D.L. ve Haney, A.F. (1986). Endometriosis: pathogenetic implications of the anatomic distribution. *Obstetrics and Gynecology*, **67(3)**, 335-338.

Jubanyik, K.J. ve Comite, F. (1997). Extrapelvic endometriosis. *Obstetrics and Gynecology Clinics of North America*, **24(2)**, 411-440.

Kaya, H. ve Oral, B. (1999). Effect of ovarian involvement on the frequency of luteinized unruptured follicle in endometriosis. *Gynecologic and Obstetric Investigation*, **48(2)**, 123-126.

Kayisli, U.A., Mahutte, N.G., ve Arici, A. (2002). Uterine chemokines in reproductive physiology and pathology. *American Journal of Reproductive Immunology*, **47(4)**, 213-21.

Khazali, S. (2016). Endometriosis Classification-The Quest for the Holy Grail? *Journal of Reproduction and Infertility*, **17(2)**, 67.

Kim, J.J., Kurita, T. ve Bulun, S.E. (2013). Progesterone action in endometrial cancer, endometriosis, uterine fibroids, and breast cancer. *Endocrine Reviews*, **34(1)**, 130-62.

Koninckx, P.R., Riittinen, L., Seppala, M. ve Cornillie, F.J. (1992). CA-125 and placental protein 14 concentrations in plasma and peritoneal fluid of women with deeply infiltrating pelvic endometriosis. *Fertility and Sterility*, **57(3)**, 523-30.

Koninckx, P.R., Kennedy, S.H. ve Barlow, D.H. (1998). Endometriotic disease: the role of peritoneal fluid. *Human Reproduction Update*, **4(5)**, 741-51.

Kooptiwut, S., Mahawong, P., Hanchang, W., Semprasert, N., Kaewin, S., Limjindaporn, T. ve ark. (2014). Estrogen reduces endoplasmic reticulum stress to protect against glucotoxicity induced-pancreatic  $\beta$ -cell death. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, **139**, 25-32.

Koutsilieris, M., Allaire-Michaud, L., Fortier, M. ve Lemay, A. (1991). Mitogen(s) for endometrial-like cells can be detected in human peritoneal fluid. *Fertility and Sterility*, **56(5)**, 888-93.

Kumbak, B., S. Kahraman, G. Karlikaya, S. Lacin and A. Guney. (2008). In vitro fertilization in normoresponder patients with endometriomas: comparison with basal simple ovarian cysts. *Gynecologic and Obstetric Investigation*, **65(3)**, 212-216.

Kuo, L.J., Hung, C.S., Chen, W.Y., Chang, Y.J. ve Wei, P.L. (2013). Glucose-regulated protein 78 silencing down-regulates vascular endothelial growth factor/vascular endothelial growth factor receptor 2 pathway to suppress human colon cancer tumor growth. *Journal of Surgical Research*, **185(1)**, 264-72

Kyama, C.M., Mihalyi, A., Simsa, P., Falconer, H., Fulop, V., Mwenda, J.M. ve ark. (2009). Role of cytokines in the endometrial-peritoneal cross-talk and development of endometriosis. *Frontiers in Bioscience*, **1**, 444-54.

Lee, K., Tirasophon, W., Shen, X., Michalak, M., Prywes, R., Okada, T. ve ark. (2002). IRE1-mediated unconventional mRNA splicing and S2P-mediated ATF6 cleavage merge to regulate XBP1 in signaling the unfolded protein response. *Genes and Development*, **16(4)**, 452-66.

Liang, Y.X., Liu, L., Jin, Z.Y., Liang, X.H., Fu, Y.S., Gu, X.W. ve ark. (2018). The high concentration of progesterone is harmful for endometrial receptivity and decidualization. *Scientific Reports*, **8(1)**, 712.

Lin, S.C. (2012). Hypoxia-induced microRNA-20a expression increases ERK phosphorylation and angiogenic gene expression in endometriotic stromal cells. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, **97(8)**, E1515-23.

Lin, W., Harding, H.P., Ron, D. ve Popko, B. (2005). Endoplasmic reticulum stress modulates the response of myelinating oligodendrocytes to the immune cytokine interferon-gamma. *Journal of Cell Biology*, **169(4)**, 603-12.

Liu, Y., Hu, J., Shen, W., Wang, J., Chen, C., Han, J. ve ark. (2011). Peritoneal fluid of patients with endometriosis promotes proliferation of endometrial stromal cells and induces COX-2 expression. *Fertility and Sterility*, **95(5)**, 1836-8.

Macer, M.L. ve Taylor, H.S. (2012). Endometriosis and infertility: a review of the pathogenesis and treatment of endometriosis-associated infertility. *Obstetrics and Gynecology Clinics of North America*, **39(4)**, 535-549.

Matsuzaki, S. ve Darcha, C. (2012). Epithelial to mesenchymal transition-like and mesenchymal to epithelial transition-like processes might be involved in the pathogenesis of pelvic endometriosis. *Human Reproduction*, **27(3)**, 712-21.

Mazzeo D, Viganò P, Di Blasio AM, Sinigaglia F, Vignali M, Panina-Bordignon P: Interleukin-12 and its free p40 subunit regulate immune recognition of endometrial cells: potential role in endometriosis. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 1998; 83:911–916.

Meresman, G.F., Barañao, R.I., Tenenbaum, A., Singla, J.J., Neuspiller, N.R. ve Rumi, L.S. (1997). Effect of peritoneal fluid from patients with mild and severe endometriosis on endometrial stromal cell proliferation. *Archives of Gynecology and Obstetrics*, **259(3)**, 109-115.

Meyers, M.A. (1970). The spread and localization of acute intraperitoneal effusions. *Radiology*, **95(3)**, 547-554.

Meyers, M.A. (1973). Distribution of intra-abdominal malignant seeding: dependency on dynamics of flow of ascitic fluid. *The American Journal of Roentgenology Radium Therapy and Nuclear Medicine*, **119(1)**, 198-206.

Mio, Y., Toda, T. Harada, T. ve Terakawa, N. (1992). Luteinized unruptured follicle in the early stages of endometriosis as a cause of unexplained infertility. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, **167(1)**, 271-273.

Moore, J.G., Binstock, M.A. ve Growdon, W.A. (1988). The clinical implications of retroperitoneal endometriosis. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, **158**, 1291-1298.

Morris, G., Puri, B.K., Walder, K., Berk, M., Stubbs, B., Maes, M. ve ark. (2018). The Endoplasmic Reticulum Stress Response in Neurodegenerative Diseases: Emerging Pathophysiological Role and Translational Implications. *Molecular Neurobiology*, **55(12)**, 8765-8787.

Müftüoğlu, S., Kaymaz, F., Atilla, P. (Ed.). (2009). *Netter Temel Histoloji*. Ankara: Güneş Tıp Kitapevleri.

Mulayim, N. ve Arici, A. (1999). The relevance of the peritoneal fluid in endometriosis-associated infertility. *Human Reproduction*, **14(2)**, 67-76.

Niwa, M., Sidrauski, C., Kaufman, R.J. ve Walter, P. (1999). A role for presenilin-1 in nuclear accumulation of Ire1 fragments and induction of the mammalian unfolded protein response. *Cell*, **99(7)**, 691-702.

Noyes, R.W., Hertig, A.T. ve Rock, J. (1975). Dating the endometrial biopsy. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, **122(2)**, 262-263.

Ocak, N.S., Guzel, E., Bozkurt, I., Bagriyanik, A., Arici, A. ve Kayisli, U.A. (2011). Endoplasmic Reticulum (ER) Homeostasis is cycle-dependent and the Inflammatory Cytokines TNF $\alpha$  and IL-1 $\beta$  induce ER stress by regulating BIP expression in Human Endometrial Endothelial Cells. Oral presentation. 67th Annual Meeting of ASRM, Oct 15-19, Orlando, FL

Oosterlynck, D.J., Meuleman, C., Waer, M., Koninckx, P.R. ve Vandeputte, M. (1993). Immunosuppressive activity of peritoneal fluid in women with endometriosis. *Journal of Obstetrics and Gynaecology*, **82**, 206–212.

Oral, E., Olive, D.L. ve Arici, A. (1996). The peritoneal environment in endometriosis. *Human Reproduction Update*, **2(5)**, 385-98.

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., Kato, N. ve Tanaka, T. (2000). Aberrant expression of glutathione peroxidase in eutopic and ectopic endometrium in endometriosis and adenomyosis. *Fertility and Sterility*, **74(2)**, 313-318.

Ota, H., S. Igarashi, N. Sato, Tanaka, H. ve Tanaka, T. (2002). Involvement of catalase in the endometrium of patients with endometriosis and adenomyosis. *Fertility and Sterility*, **78(4)**, 804-809.

Overton, C.E., Fernández-Shaw, S., Hicks, B., Barlow, D.H. ve Starkey, P. (1997). In vitro culture of endometrial stromal and gland cells as a model for endometriosis: the effect of peritoneal fluid on proliferation. *Fertility and Sterility*. **67(1)**, 51-6.

Parente Barbosa, C., Bentes De Souza, A.M., Bianco, B. ve Christofolini, D.M. (2011). The effect of hormones on endometriosis development. *Minerva Ginecologica*, **63(4)**, 375-86.

Pellicer, A., Oliveira, N., Ruiz, A., Remohi, J. ve Simon, C. (1995). Exploring the mechanism(s) of endometriosis-related infertility: an analysis of embryo development and implantation in assisted reproduction. *Human Reproduction*, **10(2)**, 91-97.

Pellicer, A., Albert, C., Mercader, A., Bonilla-Musoles, F., Remohi, J. ve Simon, C. (1998). The follicular and endocrine environment in women with endometriosis: local and systemic cytokine production. *Fertility and Sterility*, **70(3)**, 425-431.

Pritts, E.A. ve Taylor, R.N. (2003). An evidence-based evaluation of endometriosis-associated infertility. *Endocrinology Metabolism Clinics of North America*, **32(3)**, 653-667.

Rahman, S., Archana, A., Jan, A.T. ve Minakshi, R. (2018). Dissecting Endoplasmic Reticulum Unfolded Protein Response (UPR(ER)) in Managing Clandestine Modus Operandi of Alzheimer's Disease. *Frontiers in Aging Neuroscience*, **10**, 30.

Rai, V., Hopkisson, J., Kennedy, S., Bergqvist, A., Barlow, D.H. ve Mardon, H.J. (1996). Integrins alpha 3 and alpha 6 are differentially expressed in endometrium and endometriosis. *The Journal of Pathology*, **180(2)**, 181-7.

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)**, 406-18.

Repo, J.K., Pesonen, M., Mannelli, C., Vahakangas, K. ve Loikkanen, J. (2014). Exposure to ethanol and nicotine induces stress responses in human placental BeWo cells. *Toxicology Letters*, **224(2)**, 264-271r.

Rienzi, L., Ubaldi, F.M., Iacobelli, M., Minasi, M.G., Romano, S., Ferrero, S. ve ark. (2008). Significance of metaphase II human oocyte morphology on ICSI outcome. *Fertility and Sterility*, **90(5)**, 1692-1700.

Rizner, T.L. (2015). Diagnostic potential of peritoneal fluid biomarkers of endometriosis. *Expert Review of Molecular Diagnostics*, **15(4)**, 557-580.

Rocha, A.L., Reis, F.M. ve Taylor, R.N. (2013). Angiogenesis and endometriosis. *Obstetrics and Gynecology International*, **2013**, 859619

Ronnberg, L., Kauppila, A. ve Rajaniemi, H. (1984). Luteinizing hormone receptor disorder in endometriosis. *Fertility and Sterility*, **42(1)**, 64-68.

Rosenshein, N.B., Leichner, P.K. ve Vogelsang, G. (1979). Radiocolloids in the treatment of ovarian cancer. *Obstetrical and Gynecological Survey*, **34(9)**, 708-20.

Ross, M.H. ve Pawlina, W. (2011). *Histology: A text and Atlas*. (6th ed). Philadelphia: Lippincott William & Wilkins.

Russell, D. L. and R. L. Robker. (2007). Molecular mechanisms of ovulation: co-ordination through the cumulus complex. *Human Reproduction Update*, **13(3)**, 289-312.

Sampson, J.A. (1927). Peritoneal endometriosis is due to menstrual dissemination of endometrial tissue into peritoneal cavity. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, **14**, 422-469.

Sano, R. ve Reed, J.C. (2013). ER stress-induced cell death mechanisms. *Biochimica et Biophysica Acta*, **1833(12)**, 3460-3470.

Schonthal, A.H. (2012). Endoplasmic reticulum stress: its role in disease and novel prospects for therapy. *Scientifica (Cairo)*, **2012**, 857516.

Shin, H.S., Ryu, E.S., Oh, E.S. ve Kang, D.H. (2015). Endoplasmic reticulum stress as a novel target to ameliorate epithelial-to-mesenchymal transition and apoptosis of human peritoneal mesothelial cells. *Laboratory Investigation*, **95(10)**, 1157-73

Sikora, J., Mielczarek-Palacz, A. ve Kondera-Anasz, Z. (2011). Role of natural killer cell activity in the pathogenesis of endometriosis. *Current Medicinal Chemistry*, **18(2)**, 200-8.

Sillem, M., Prifti, S., Schmidt, M., Rabe, T. ve Runnebaum, B. (1997). Endometrial integrin expression is independent of estrogen or progestin treatment in vitro. *Fertility and Sterility*, **67(5)**, 877-82.

Simon, C., Gutierrez, A., Vidal, A., de los Santos, M.J., Tarin, J.J., Remohi, J. ve ark. (1994). Outcome of patients with endometriosis in assisted reproduction: results from in-vitro fertiliation and oocyte donation. *Human Reproduction*, **9(4)**, 725-729.

Sinaii, N., Cleary, S.D., Ballweg, M.L., Nieman, L.K. ve Stratton, P. (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)**, 2715-24.

Solakoğlu, S. (Ed.). (2015). *Junqueira's Temel Histoloji*. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri.

Somigliana, E., Viganò, P., Gaffuri, B., Guarneri, D., Busacca, M. ve Vignali, M. (1996). Human endometrial stromal cells as a source of soluble intercellular adhesion molecule (ICAM)-1 molecules. *Human Reproduction*, **11(6)**, 1190-4.

Spaczynski, R.Z. ve Duleba, A.J. (2003). Diagnosis of endometriosis. *Seminars in Reproductive Medicine*, **21(2)**, 193-208.

Stegmann, B.J., Sinaii, N., Liu, S., Segars, J., Merino, M., Nieman, L.K. ve ark. (2008). Using location, color, size, and depth to characterize and identify endometriosis lesions in a cohort of 133 women. *Fertility and Sterility*, **89(6)**, 1632-1636.

Stilley, J.A., Birt, J.A. ve Sharpe-Timms, K.L. (2012). Cellular and molecular basis for endometriosis-associated infertility. *Cell and Tissue Research*, **349(3)**, 849-862.

Su, Q., Wang, Y., Yang, X., Li, X.D., Qi, Y.F., He, X.J. ve ark. (2017). Inhibition of Endoplasmic Reticulum Stress Apoptosis by Estrogen Protects Human Umbilical Vein Endothelial Cells Through the PI3 Kinase-Akt Signaling Pathway. *Journal of Cellular Biochemistry*, **118(12)**, 4568-4574.

Surrey, E.S. ve Halme, J. (1990). Effect of peritoneal fluid from endometriosis patients on endometrial stromal cell proliferation in vitro. *Obstetrics and Gynecology*, **76(1)**, 792-7.

Syrop, C.H. ve Halme, J. (1987). Peritoneal fluid environment and infertility. *Fertility and Sterility*, **48(1)**, 1-9.

Tanbo, T., Omland, A., Dale, P.O. ve Abyholm, T. (1995). In vitro fertilization/embryo transfer in unexplained infertility and minimal peritoneal endometriosis. *Acta Obstetrica et Gynecologica Scandinavica*, **74(7)**, 539-543.

Taniguchi, F., Kaponis, A., Izawa, M., Kiyama, T., Deura, I., Ito, M. ve ark. (2011). Apoptosis and endometriosis. *Frontiers in Bioscience*, **3**, 648-62.

Tasuku Harada, M.D., Tomio Iwabe, M.D. ve Naoki Terakawa, M.D. (2001). Role of cytokines in endometriosis. *Fertility and Sterility*, **76**, 1-10.

Taylor, H.S., Bagot, C., Kardana, A., Olive, D. ve Arici A. (1999). HOX gene expression is altered in the endometrium of women with endometriosis. *Human Reproduction*, **14(5)**, 1328-1331.

Taylor, R.N., Yu, J., Torres, P.B., Schickedanz, A.C., Park, J.K., Mueller, M.D. ve ark. (2009). Mechanistic and therapeutic implications of angiogenesis in endometriosis. *Reproductive Sciences*, **16(2)**, 140-6.

Tufanli, O., Telkoparan Akillilar, P., Acosta-Alvear, D., Kocaturk, B., Onat, U.I., Hamid, S.M. ve ark. (2017). Targeting IRE1 with small molecules counteracts progression of atherosclerosis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **114(8)**, 1395-1404.

Tummon, I.S., Maclin, V.M., Radwanska, E., Binor, Z. ve Dmowski, W.P. (1988). Occult ovulatory dysfunction in women with minimal endometriosis or unexplained infertility. *Fertility and Sterility*, **50(5)**, 716-720.

Uemura, A., Oku, M., Mori, K. ve Yoshida, H. (2009). Unconventional splicing of XBP1 mRNA occurs in the cytoplasm during the mammalian unfolded protein response. *Journal of Cell Science*, **122(16)**, 2877-86.

Ulukus, M., Cakmak, H. ve Arici, A. (2006). The role of endometrium in endometriosis. *Journal of the Society for Gynecologic Investigation*, **13(7)**, 467-76.

Van Langendonck, A., Casanas-Roux, F. ve Donnez, J. (2002). Oxidative stress and peritoneal endometriosis. *Fertility and Sterility*, **77(5)**, 861-70.

Vercellini, P., Chapron, C., Fedele, L., Gattei, U., Daguati, R. ve Crosignani, P.G. (2004). Evidence for asymmetric distribution of lower intestinal tract endometriosis. *An International Journal of Obstetrics and Gynaecology*, **111(11)**, 1213-7.

Vercellini, P., Vigano, P., Somigliana, E. ve Fedele L. (2014). Endometriosis: pathogenesis and treatment. *Nature Reviews Endocrinology*, **10(5)**, 261-275.

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.

Vitiello, D., Kodaman, P.H. ve Taylor, H.S. (2007). HOX genes in implantation. *Seminars in Reproductive Medicine*, **25(6)**, 431-436.

Walter, A.J., Hentz, J.G., Magtibay, P.M., Cornella, J.L. ve Magrina, J.F. (2001). Endometriosis: correlation between histologic and visual findings at laparoscopy. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, **184(7)**, 1407-1411.

Wang, X., Guo, Q., Tao, L., Zhao, L., Chen, Y., An, T. ve ark. (2017). E platinum, a newly synthesized platinum compound, induces apoptosis through ROS-triggered ER stress in gastric carcinoma cells. *Molecular Carcinogenesis*, **56(1)**, 218-231.

Wang, Y., Wang, J.H., Zhang, X.L., Wang, X.L. ve Yang, L. (2018). Endoplasmic reticulum chaperone glucose-regulated protein 78 in gastric cancer: An emerging biomarker. *Oncology Letters*, **15(5)**, 6087-6093.

Wei, Q., St Clair, J.B., Fu, T., Stratton, P. ve Nieman, L.K. (2009). Reduced expression of biomarkers associated with the implantation window in women with endometriosis. *Fertility and Sterility*, **91(5)**, 1686-1691.

Wiest, D.L., Burkhardt, J.K., Hester, S., Hortsch, M., Meyer, D.I. ve Argon, Y. (1990). Membrane biogenesis during B cell differentiation: most endoplasmic reticulum proteins are expressed coordinately. *Journal of Cell Biology*, **110(5)**, 1501-11.

Wu, M.Y. ve Ho, H.N. (2003). The role of cytokines in endometriosis. *American Journal of Reproductive Immunology*, **49(5)**, 285-96.

Xue, X., Piao, J.H., Nakajima, A., Sakon-Komazawa, S., Kojima, Y., Mori, K. ve ark. (2005). Tumor necrosis factor alpha (TNFalpha) induces the unfolded protein response (UPR) in a reactive oxygen species (ROS)-dependent fashion, and the UPR counteracts ROS accumulation by TNFalpha. *Journal of Biological Chemistry*, **280(40)**, 33917-25.

Yang, Y., Pei, X., Jin, Y., Wang, Y. ve Zhang, C. (2016). The roles of endoplasmic reticulum stress response in female mammalian reproduction. *Cell and Tissue Research*, **363(3)**, 589-597.

Yanushpolsky, E.H., Best, C.L., Jackson, K.V., Clarke, R.N., Barbieri, R.L. ve Hornstein, M.D. (1998). Effects of endometriomas on oocyte quality, embryo quality, and pregnancy rates in in vitro fertilization cycles: a prospective, case-controlled study. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*, **15(4)**, 193-197.

Yung, H.W., Charnock-Jones, D.S. ve Burton, G.J. (2011). Regulation of AKT phosphorylation at Ser473 and Thr308 by endoplasmic reticulum stress modulates substrate specificity in a severity dependent manner. *PLoS One*, **6(3)**, e17894.b

Zhang, K., Shen, X., Wu, J., Sakaki, K., Saunders, T., Rutkowski, D.T. ve ark. (2006). Endoplasmic reticulum stress activates cleavage of CREBH to induce a systemic inflammatory response. *Cell*, **124(3)**, 587-99.

Zhao, Y., Gong, P., Chen, Y., Nwachukwu, J.C., Srinivasan, S., Ko, C. ve ark. (2015). Dual suppression of estrogenic and inflammatory activities for targeting of endometriosis. *Journal of Translational Medicine*, **7(271)**, 271ra9.

## ETİK KURUL KARARI

Tarih ve Sayı: 13/04/2016-136231



T.C.  
CERRAHPAŞA TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI  
Klinik Araştırmalar Etik Kurulu



Sayı :83045809-604.01.02-  
Konu :Değerlendirme ve Onay

## HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI BAŞKANLIĞINA

İlgi :17.03.2016 tarih, 41421735-050.04.99-104126 sayılı yazımıza

Anabilim Dalı öğretim üyeniz **Doç.Dr.E.Elif Güzel MEYDANLI**'nin danışmanlığında **Araş.Gör.Tuğba Ekiz YILMAZ**'in yürütücülüğünde **Prof.Dr.Altay GEZER**'in yardımcılığında "**Endometriozis Patogenezlerinde Endoplazmik Retikulum Stresinin Rolü**" başlıklı Doktora Tezi çalışma hakkında ilgi yazınız ve ekleri **12 Nisan 2016** tarihinde toplanan fakültemiz Klinik Araştırmalar Etik Kurulunca müzakere edilmiş olup, Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) desteği alınması koşuluyla etik açıdan uygun olduğuna karar verilmiştir.

Bilgilerinizi rica ederim.

e-İmzalı  
Prof. Dr. Özgür KASAPÇOPUR  
Başkan

Doğrulamak için:[http://194.27.128.66/envision.Sorgula/Validate\\_Doc.aspx?V=BE6E5U4JA](http://194.27.128.66/envision.Sorgula/Validate_Doc.aspx?V=BE6E5U4JA)

Ayrıntılı bilgi için irtibat : Güler SOYDANER Dahili : 22300

İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi 34303 Cerrahpaşa/ İSTANBUL

Tel : 0 (212) 414 30 00 21107- 21108 Fax : 0 (212) 632 00 33

e-posta : ctfpersonel@istanbul.edu.tr Elektronik Ağ : www.istanbul.edu.tr

## İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI

### ENDOMETRİOZİS PATOGENEZİNDE ENDOPLAZMİK RETİKULUM STRESİNİN ROLÜ

#### ORJİNALLİK RAPORU

%**3**

BENZERLİK ENDEKSİ

%**2**

İNTERNET  
KAYNAKLARI

%**1**

YAYINLAR

%**0**

ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

#### BİRİNCİL KAYNAKLAR

- |          |  |             |
|----------|--|-------------|
| <b>1</b> | <a href="http://library.cu.edu.tr">library.cu.edu.tr</a><br>İnternet Kaynağı   | <% <b>1</b> |
| <b>2</b> | <a href="http://acikarsiv.ankara.edu.tr">acikarsiv.ankara.edu.tr</a><br>İnternet Kaynağı   | <% <b>1</b> |
| <b>3</b> | Submitted to Celal Bayar Ā niversitesi<br>Öğrenci Ödevi  | <% <b>1</b> |
| <b>4</b> | KAÇAR, Emine, BULMUŞ, Funda, ZORLU, Gökhan, KELEŞTİMUR, Haluk and ERCAN, Zübeyde. "Obezite ve Egzersizin Sıçanlarda Organ Ağırlıkları ve Biyokimyasal Parametreler Üzerine Etkisinin İncelenmesi*", Fırat Üniversitesi, 2017.<br>Yayın | <% <b>1</b> |
| <b>5</b> | Zelenko, Z., L. Aghajanova, J. C. Irwin, and L. C. Giudice. "Nuclear Receptor, Coregulator Signaling, and Chromatin Remodeling Pathways Suggest Involvement of the Epigenome in the Steroid Hormone Response                           | <% <b>1</b> |

## ÖZGEÇMİŞ

### Kişisel Bilgiler

<b>Adı</b>	Tuğba	<b>Soyadı</b>	Ekiz Yılmaz
<b>Doğ.Yeri</b>	Ankara	<b>Doğ.Tar.</b>	13.06.1985
<b>Uyruğu</b>	T.C	<b>TC Kim No</b>	44626359548
<b>Email</b>	tugba.ekiz@istanbul.edu.tr	<b>Tel</b>	05446420996

### Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mez. Yılı
<b>Doktora</b>	İÜ- Cerrahpaşa Cerrahpaşa Tıp Fakültesi	2018
<b>Yük.Lis.</b>	İÜ İstanbul Tıp Fakültesi	2012
<b>Lisans</b>	Abant İzzet Baysal Üniversitesi	2009
<b>Lise</b>	Sakıp Sabancı Anadolu Lisesi	2003

### İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

	Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
<b>1.</b>	Araştırma Görevlisi	Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Histoloji Embriyoloji Anabilim Dalı	2012-
<b>2.</b>	Araştırma Görevlisi	İÜ İstanbul Tıp Fakültesi, Histoloji Embriyoloji Anabilim Dalı	2010-2012
<b>3.</b>			-

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama*	Konuşma*	Yazma*	KPDS/ÜDS Puanı	(Diğer) Puanı
İngilizce	Çok iyi	İyi	Çok iyi	86.6	

\*Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel

<b>LES Puanı</b>	67.329	67.339	65.711
<b>(Diğer) Puanı</b>			

### **Bilgisayar Bilgisi**

<b>Program</b>	<b>Kullanma becerisi</b>
Microsoft Office Excel	Çok İyi
Microsoft Word	Çok İyi
Microsoft Powerpoint	Çok İyi

### **Yayımları/Tebligleri Sertifikaları/Ödülleri**

#### **Uluslararası Yayınlar**

1. Göker F, Ersanlı S, Arısan V, Cevher E, Güzel EE, İşsever H, Ömer B, Durmuş Altun G, Morina D, Ekiz Yılmaz T, Dervişoğlu E, Del Fabbro M. Combined effect of parathyroid hormone and strontium ranelate on bone healing in ovariectomized rats. Oral Dis. 2018 May 18. doi: 10.1111/odi.12895.
2. Guzel E, Arlier S, Guzeloglu-Kayisli O, Tabak MS, Ekiz T, Semerci N, Larsen K, Schatz F, Lockwood CJ, Kayisli UA. Endoplasmic Reticulum Stress and Homeostasis in Reproductive Physiology and Pathology. Int J Mol Sci. 2017 Apr 8;18(4). doi: 10.3390/ijms18040792.

#### **Ulusal Yayın**

1. Görgülü B., Seçkin İ., Ocakoğlu Ö., Demirci Delipınar S., Ekiz Yılmaz T., Kaleci B., "Polikvad'lı Travoprost, Benzalkonyum Klorid'li Latanoprost, Purite'lı Brimonidin ve Prezervansız Taflfluprost'un Oküler Yüzey Üzerine Etkileri: Tavşan Oküler Yüzey Çalışması", Türkiye Klinikleri Oftalmoloji Dergisi, cilt.26, ss.149-161, 2017.

#### **Uluslararası Tebliğler**

1. Göker F., Cevher E., Ersanlı S., Güzel Meydanlı E.E., İşsever H., Morina D. Ekiz Yılmaz T, Dervişoğlu E. "Histological Evaluation of Combined Effect of Parathyroid Hormone and Strontium Ranelate on Calvarial Bone Healing in

Ovariectomized Rats", 15th International Congress of Histochemistry and Cytochemistry, ANTALYA, TÜRKIYE, 18-21 Mayıs 2017, pp.151-151.

2. Koçak S. , Güner İ., Yaman M.O., Yelmen N., Güzel Meydanli E.E., Ekiz Yılmaz T., et al., "Investigation of Protective Effects of Alpha Crystallin Against Ischemia-Reperfusion Induced Acute Lung Injury", Turkish Society of Physiological Sciences 42nd National Physiology Congress., DÜZCE, TÜRKIYE, 5-8 Eylül 2016, vol.218, no.51, pp.12-13
3. Sezer Z., Ekiz Yılmaz T., Güngör Z.B., Güzel Meydanli E.E., "The Effect of Vitamin E on Ovarian Damage Caused by Nicotine Administration", 16th European Microscopy Congress, Lyon, FRANSA, 28 Ağustos-2 Eylül 2016; DOI: 10.1002/9783527808465.EMC2016.5847
4. Öztaş E., Ekiz Yılmaz T., Güzel Meydanli E.E., Özhan G., "Investigation on Effects of Atorvastatin and Gliclazide Combination Therapy on Male Reproductive System on Streptozotocin-Induced Diabetic Rats", 16th European Microscopy Congress, Lyon, FRANSA, 28 Ağustos-2 Eylül 2016; DOI:10.1002/9783527808465.EMC2016.4779
5. Tok O., Ekiz Yılmaz T., Güzel Meydanli E.E., Aydingöz Ö., Ünlü M.C., "Effect of Systemic D Vitamin Supplementation on The Treatment of Full Thickness Articular Cartilage Defects", 16th European Microscopy Congress, Lyon, FRANSA, 28 Ağustos-2 Eylül 2016; DOI:10.1002/9783527808465.EMC2016.4780
6. Görgülü B., Ocakoğlu Ö., Seçkin İ., Demirci Delipınar S., Ekiz Yılmaz T., Kaleci B., "The effects of polyquad-preserved travoprost, benzalkonium chloride (BAC)-preserved latanoprost, purite-preserved brimonidine and preservative-free tafluprost on ocular surface: a rabbit ocular surface study", 12th European Gloucoma Society Congress, Prag, CEK CUM., 19-22 Haziran 2016, pp.296-296.

### Ulusal Tebliğler

1. Koçak S. , Güner İ., Yaman M.O., Ekiz Yılmaz T., Güzel Meydanlı E.E., Yelmen N., et al., "Akut Akciğer Hasarı Modelinde Redoks Homeostasisi ve İnflamasyon Dengesi Üzerine Alfa-kristalin'in Etkisi", Türkiye Solunum Araştırmaları Derneği 38. Ulusal Kongresi, İZMİR, TÜRKİYE, 15-19 Ekim 2016, ss.47-48.
2. Koçak S. , Ekiz Yılmaz T., Güzel Meydanlı E.E., Şahin E.G., Yelmen N., Yaman M.O., et al., "Sıçanlarda İnfrarenal Abdominal Aorta İskemi-Reperfüzyonu İle Oluşturulan Akut Akciğer Hasarına Karşı Alfa-Kristalin'in Koruyucu Etkisi", XIII. ULUSAL HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ KONGRESİ, İZMİR, TÜRKİYE, 30 Nisan - 3 Mayıs 2016, ss.190-191.
3. Sezer Z., Ekiz Yılmaz T., Güngör Z.B., Güzel Meydanlı E.E., "E Vitamininin Sıçanlarda Nikotine Bağlı Ovaryum Hasarı Üzerindeki Etkilerinin Işık ve Elektron Mikroskopik Düzeyde İncelenmesi", XIII. ULUSAL HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ KONGRESİ, İZMİR, TÜRKİYE, 30 Nisan - 3 Mayıs 2016, ss.371-372.
4. Ateşkan M. , Ekiz Yılmaz T., Orhan N., Uğur Yılmaz C., Arıcan N., Kaya M., et al., "Sepsisin Sıçan Ovaryumunda Folikülogenez Üzerine Etkileri", XI. Ulusal Histoloji Ve Embriyoloji Kongresi, DENİZLİ, TÜRKİYE, 16-19 Mayıs 2012, ss.215-216.
5. Kasap Ş. , Kotil T., Aktar F., Ekiz Yılmaz T., Tapul L., "Fare Ovaryumunda Retinoik Asidin Etkilerinin İncelenmesi ", XI. Ulusal Histoloji Ve Embriyoloji Kongresi, DENİZLİ, TÜRKİYE, 16-19 Mayıs 2012, ss.217-217.
6. Ekiz Yılmaz T., Ateşkan M. , Orhan N., Uğur Yılmaz C., Arıcan N., Kaya M., et al., "Magnezyum Sülfatın Sıçanlarda Siklofosfamide Bağlı Ovaryum Hasarı Üzerindeki Etkileri ", XI. Ulusal Histoloji Ve Embriyoloji Kongresi, DENİZLİ, TÜRKİYE, 16-19 Mayıs 2012, ss.188-189.

### **Ulusal Sözlü bildiri**

1. Öztaş E., Ekiz Yılmaz T., Güzel Meydanlı E.E., Özhan G., "Streptozotosin ile diyabet oluşturulan sıçanlarda gliklazid ve atorvastatin kombinasyon tedavisinin erkek üreme sistemi üzerine etkilerinin araştırılması ", 52. Ulusal Diyabet Kongresi, ANTALYA, TÜRKİYE, 20-24 Nisan 2016.
2. Görgülü B., Ocakoğlu Ö., Seçkin İ., Demirci Delipınar S., Ekiz Yılmaz T., Kaleci B., "Farklı Prezervan Maddeler İçeren Antiglokomatöz Göz Damlaları ile Prezervan Madde İçermeyen Antiglokomatöz Damlanın Oküler Yüzey Üzerine Etkilerinin İncelenmesi", TÜRK OFTALMOLOJİ DERNEĞİ 49. ULUSAL KONGRESİ , İSTANBUL, TÜRKİYE, 4-8 Kasım 2015, ss.13-13.

### **Kitapta Bölüm**

1. Koyutürk M., Ekiz Yılmaz T., "SİNDİRİM SİSTEMİ-ALT SİNDİRİM KANALI", İKİNCİ SINIF ÖZEL HİSTOLOJİ UYGULAMA KİTABI, Seçkin İ., Koyutürk M., Güzel Meydanlı E., Ed., İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Yayınları, istanbul, ss.117-134, 2017.
2. Seçkin İ., Ekiz Yılmaz T., "EPİTEL DOKU", TEMEL DOKU HİSTOLOJİSİ DERS KİTABI, Seçkin İ., Koyutürk M., Ed., İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Yayınları, istanbul, ss.1-65, 2017.
3. Ekiz Yılmaz T., "İmmünohistokimyasal Teknikler", Genel Embriyoloji ve Histoloji Uygulama Teknikler Kitabı, Leyla Tapul, Ed., Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul, ss.85-96, 2012

### **Kitap Tercüme**

1. Ekiz Yılmaz T., "SİTOPLAZMA", in: JUNQUEIRA TEMEL HİSTOLOJİ, ATLAS KİTAP, Solakoğlu S., Eds., NOBEL TIP KİTAPTEVLERİ, istanbul, pp.18-54, 2016.

### **Sertifikalar**

1. Pedagojik Formasyon Eğitim Sertifikası (2010)

2. İngilizce Öğretmenliği Sertifikası (2010)
3. Temel Biyoistatistik ve Araştırma Yöntembilimi Sertifikası (2013)
4. Cell Culture and Protein Researches Course Certificate (2013)
5. Deney Hayvanları Kullanım Sertifikası (2010)

### **Ödül**

1. Best Micrography award in Third Prize, 15th International Congress of Histochemistry and Cytochemistry, 2017

