

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM ANABİLİM DALI

**ENDOMETRİOZİS ETYOPATOGENEZİNDE
APOPTOZİS-KASPAZ 3 VE
MATRİKS METALLOPROTEİNAZ 2'NİN
DEĞERLENDİRİLMESİ
(Klinik ve İmmünohistokimyasal Araştırma)**

**UZMANLIK TEZİ
Dr. EDA DEMİR**

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. ÖZDEMİR HİMMETOĞLU**

**ANKARA
AĞUSTOS-2009**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM ANABİLİM DALI**

**ENDOMETRİOZİS ETYOPATOGENEZİNDE
APOPTOZİS-KASPAZ 3 VE
MATRİKS METALLOPROTEİNAZ 2'NİN
DEĞERLENDİRİLMESİ
(Klinik ve İmmünohistokimyasal Araştırma)**

**UZMANLIK TEZİ
Dr. EDA DEMİR**

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. ÖZDEMİR HİMMETOĞLU**

**ANKARA
AĞUSTOS-2009**

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince bana emeği geçen tüm hocalarıma, başta tez danışmanım Prof. Dr. Özdemir HİMMETOĞLU ve Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Onur KARABACAK'a, her ihtiyacım olduğunda yardımlarını ve desteklerini esirgemeyen Doç. Dr. Ahmet ERDEM ve Doç. Dr. Mehmet ERDEM'e teşekkürü bir borç bilirim. Tezimin hazırlanması başta olmak üzere her konuda yardımlarını esirgemeyen Doç. Dr. Mesut ÖKTEM'e teşekkür ederim. Tezimin hazırlanmasında emeği geçen Patoloji Anabilim Dalı'ndan Doç. Dr. Özlem ERDEM ve Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı'ndan Dr. Neőe LORTLAR'a minnettarlığımı ifade etmek isterim.

Asistanlık hayatım boyunca iyi ve kötü günümde hep yanımda olan sevgili arkadaşlarım Dr. Senem YAMAN TUNÇ ve Dr. Fatma KUTLUSOY olmak üzere tüm asistan arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Hayatım boyunca bana her konuda destek olan aileme, sonsuz teşekkürlerimi sunarım...

Dr. Eda DEMİR

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
TEŞEKKÜR.....	i
İÇİNDEKİLER.....	ii
TABLO, RESİM ve ŞEKİLLER.....	iv
KISALTMALAR.....	vi
I. GİRİŞ VE AMAÇ	1
II. GENEL BİLGİLER	4
II. I. Etiyoloji ve Patofizyolojisi	4
II. I. I. Endometriozis patogenezinin teorileri	4
II. I. II. Patogenezi.....	4
II. I. III. Hastalığın gelişimini etkileyen durumlar	6
II. I. III. A. Genetik	6
II. I. III. B. Çevresel faktörler.....	7
II. I. III. C. İmmünite.....	8
II. II. Prevalans	11
II. III. Tanı	12
II. III. I. Semptomlar ve Bulgular.....	12
II. III. II. Klinik inceleme	14
II. III. III. Mikroskopik Endometriozis	17
II. III. IV. Klasifikasyon.....	17
II. III. V. Spontan Evolüsyon	18
II. IV. Apoptozis.....	18
II. IV. I. Hücre Ölümündeki Morfolojik Değişiklikler.....	19
II. IV. II. Apoptozun Gen Regülasyonu	21
II. IV. II. A. p53 ün Rolü.....	22
II. IV. II. B. Bcl-2 / Bax.....	22
II. IV. II. C. Kaspazlar.....	24

II. IV. III. Apoptozun Sitotoksik Regülasyonu	27
II. V. Endometriozis ve Apoptozis	29
II. V. I. Normal Endometriumda Apoptozis.....	31
II. V. II. Endometriozisli Hastalarda Apoptozis.....	36
II. V. III. Endometriozisli Hastaların Peritoneal Makrofajlarında Apoptozis.....	39
II. V. IV. Endometriozis Fiziopatolojisinde Apoptoz	40
II. V. V. Endometriozis ve Apoptozis Tedavisi	42
II. VI. Matriks metalloproteinazlar.....	45
III. MATERYAL VE METOD	47
III. I. Yöntemler.....	48
III. I. I. Apoptozisin Değerlendirilmesi.....	48
III. I. II. Kaspaz-3 ve MMP-2' nin Değerlendirilmesi.....	49
III. I. III. İstatistiksel Analiz.....	52
IV. BULGULAR.....	53
V. TARTIŞMA.....	65
VI. SONUÇLAR	75
TÜRKÇE ÖZET.....	77
İNGİLİZCE ÖZET	78
IX. KAYNAKLAR	79
X. ETİK KURUL BELGESİ	99

TABLO, RESİM ve ŞEKİLLER

Sayfa No

Şekil 1. Apoptotik ve nekrotik hücre ölümünün karşılaştırılması. (91. Türkçe çeviri).....	20
Şekil 2. Apoptozisin regülasyonu. (87. Türkçe çeviri).	24
Şekil 3. Kaspaz Akış Döngüsü. (87).	27
Şekil 5. Gruplara Göre Apoptoz Ölçümleri	55
Şekil 6. Gruplara Göre KASPAZ 3 Ölçümleri.....	56
Şekil 7. Gruplara Göre MMP 2 Ölçümleri.....	56
Tablo 1. ICE ailesi ve diğer adları ile tanımlanmış sistein proteazlar kaspaz nomenklatürü olarak yeniden düzenlenmiştir. (98.Türkçe çeviri).	25
Tablo 2. Demografik Veriler	53
Tablo 3. Menstrual Faza Göre Olguların Dağılımı.....	54
Tablo 4. Gruplara Göre Laboratuvar Ölçümleri.....	55
Tablo 5. Yaş, Evre ve CA125 ile Markerlar Arasındaki Korelasyon Katsayıları ve Önemlilik Düzeyleri.....	57
Tablo 6. Vaka Grubunda Menstrual Faza Göre Markerlardan Elde Edilen Ölçümler	58
Tablo 7. Vaka Grubunda Erken ve İleri Evreye Göre Markerlardan Elde Edilen Ölçümler.....	58
Resim 1. Endometriozis dokusuna ait grupta epitelin döküldüğü, bez epiteli organizasyonunun bozulduğu ve intraepitelyal lenfosit infiltrasyonu dikkati çekiyor. (x200, Hematoksilen & Eozin).....	59
Resim 2. Normal endometriuma ait dokuda yüzey epiteli ve gland epitelinin normal yapıda olduğu izleniyor (x200, Hematoksilen & Eozin)	59

Resim 3. Endometriozis dokusuna ait grupta yüzey epiteli, gland epiteli ve stromada kaspaz-3 tutulumunun olmadığı izleniyor (x200, kaspaz-3 İmmünperoksidaz).....	60
Resim 4. Endometriozis dokusuna ait grupta gland epiteli ve stromada kaspaz-3 tutulumunun olmadığı izleniyor (x200, Kaspaz-3 İmmünperoksidaz).....	60
Resim 5. Normal endometriuma ait grupta yüzey epiteli, gland epiteli ve stromada, hafiften orta dereceye değişen kaspaz-3 tutulumu izleniyor. (x200, Kaspaz-3 İmmünperoksidaz).....	61
Resim 6. Normal endometriuma ait grupta gland epiteli ve stromada, orta dereceli kaspaz-3 tutulumu izleniyor. (x400, Kaspaz-3 İmmünperoksidaz).....	61
Resim 7. Endometriozis dokusuna ait grupta yüzey epitelinde hafiften ortaya, gland epiteli ve stromada ortadan kuvvetliye değişen derecelerde MMP-2 tutulumunun olduğu izleniyor. (x200, MMP-2 İmmünperoksidaz).....	62
Resim 8. Endometriozis dokusuna ait grupta gland epiteli ve stromada kuvvetli MMP-2 tutulumunun olduğu izleniyor. (x200, MMP-2 İmmünperoksidaz).....	62
Resim 9. Endometriozis dokusuna ait grupta gland epiteli ve stromada kuvvetli MMP-2 tutulumunun olduğu izleniyor (x400, MMP-2 İmmünperoksidaz).....	63
Resim 10. Normal endometrium dokusuna ait grupta yüzey epitelinde hafif, gland epiteli ve stromada hafif ve orta dereceli MMP-2 tutulumunun olduğu izleniyor. (x200, MMP-2 İmmünperoksidaz).....	63

KISALTMALAR

MMP:	Matriks Metalloproteinase
SF-1:	Steroidogenic Factor-1
ppm:	Parts per million
IL:	İnterleukin
VEGF:	Vascular Endothelial Growth Factor
TNF:	Tumor Nekrozis Factor
IF:	İnterferon
RANTES:	Regulated On Activation, Normal T Expressed and Secreted
PPAR gama 2:	Peroxisome Proliferator-Activated Receptor gama 2
DM:	Diabetes Mellitus
Ig:	İmmunoglobulin
USG:	Ultrasonography
MRI:	Magnetic Rezonance Imaging
SEM:	Low-power Scanning Electron Microscopy
AFS:	American Fertility Society
AIDS:	Acquired Immuno Deficiency Syndrome
PS:	Fosfatidilserin
PC:	Fosfatidilkolin
PE:	Fosfatidiletanolamin
ATP:	Adenosine Triphosphate
DNA:	Deoksiribonucleic Acid
AIF:	Apoptosis Inducing Factor

APAF-1:	Apoptotic protease activating factor- 1
TNFR-1:	Tumor necrosis factor receptor-1
CAD:	Caspase-Activated DNase
ICE:	İnterleukin-1 β Converting Enzyme
IAP:	Inhibitors of Apoptosis
CTL:	Cytotoxic T Lymphocyte
NK:	Natural Killer
DD:	Death Domain
FADD:	Fas Associating protein with a Death Domain protein
RIP:	Receptör Interacting Protein
TRADD:	Adaptor protein
Aa:	Aminoacid
mRNA:	Messenger Ribonucleic Acid
PDGF:	Platelet Derived Growth Factor
TGF:	Transforming Growth Factor
GnRH:	Gonadotropin Releasing Hormon
KOK:	Combined Oral Contraceptif (Kombine Oral Kontraseptif)
TIMP:	Tissue Inhibitor of Matrix Metalloproteinase
SF:	Serum Fizyolojik (Physiological Saline)
PBS:	Phosphate Buffer Saline
CO₂:	Carbon dioxide
rpm:	repeat per minutes
M:	Molar
HSCORE:	Histological score

I. GİRİŞ VE AMAÇ

Endometriozis, endometrial bez ve stromanın uterin kavite dışında bulunması olarak tanımlanan, pelvik ağrı ile infertilitenin eşlik ettiği progresif bir hastalıktır. Hastalık, geniş spektrumlu klinik durumlar gösterir, ilerleme ve tekrar etme eğilimindedir.

Endometriozis ile ilgili tahminlerden çoğunluğu prevalansın pelvik ağrılı hastalarda % 5–20 arasında ve infertil kadınlarda % 20–40 arasında değişmekte olduğu şeklindedir. Üreme çağındaki kadınlarda genel prevalansın % 3–10 arasında olduğu düşünülmektedir.

Endometriozis, en sık pelvik periton olmak üzere overler ve rektovajinal septumda görülür.

Endometriozisli kadınların ötopik endometriumlarının ektopik doku değişikliği göstermesi ve bu değişikliklerin hastalığı bulunmayan kadınların ötopik endometriumlarında izlenmemesi, endometriozisteki primer defektin ötopik endometriumda bulunduğu görüşünü desteklemektedir (1). Bu şekilde değişmiş ötopik endometriumdan derive edilen, peritoneal kaviteye dökülen hücrelerin ve doku elemanlarının peritoneal yüzeylerde implantasyon, büyüme ve endometriozis geliştirme potansiyellerinin daha fazla olduğu ileri sürülmüştür (2). Diğer taraftan da endometriozisli bir hastanın ektopik dokusu ve ötopik

endometriumu arasında gözlemlenen birçok farklılığın, peritoneal sıvının farklı ortamının direkt sonucu olduğu yönünde araştırmalar yapılmıştır (3).

Patofizyolojisi hala net olarak açıklanamayan bir hastalık olan endometriozisin patogenezi ile ilgili son yıllarda dikkat çeken bir başka konu da apoptozis ve matriks metalloproteinazların rolüdür.

Yapılan çalışmalar apoptozisin sağlıklı kadınlarda menstrual siklusun geç sekretuar ve menstrual fazlarında uterin endometriyumun fonksiyonel tabakasındaki yaşlanan hücrelerin ortadan kaldırılmasında etkin bir mekanizma olduğunu ortaya koymuştur (4, 5).

Ayrıca endometrial hücrelerin, peritona tutunması, invazyonu ve büyümelerinin matriks metalloproteinazların (MMP) ve bunlara ait doku inhibitörlerinin etkisi ile düzenlendiği yapılan çalışmalarda gösterilmiştir.

Bizim çalışmamız, apoptoziste önemli bir rol oynayan proteolitik bir enzim grubundan olan kaspaz 3 (efektör) ile endometriozis etyolojisinde rolü olduğu bilinen matriks metalloproteinaz tiplerinden biri olan matriks metalloproteinaz-2 (MMP-2)'nin, endometriozisli hastaların ötopik endometrium ve ektopik dokuları ile endometriozisi ve başka herhangi bir endometriyal patolojisi olmayanların endometriyumlarıyla karşılaştırılmasıdır.

Amacımız, çalışılan bu parametreler ile bu kompleks hastalığın tanı ve tedavisi için yeni yaklaşımlar sunmaktır. Ayrıca medikal ve cerrahi tedavi sonrası rekürrens ve prognozu belirlemede etkili olabilecek alternatifleri belirlemektir.

II. GENEL BİLGİLER

II. I. Etiyoloji ve Patofizyolojisi

Endometriozis 1860 yılında tanımlanmasına karşın, etyoloji ve patogenezi hala belirsizdir (6).

II. I. I. Endometriozis patogenezinin teorileri

Retrograd menstruasyon / transplantasyon

Çöломik metaplazi

Hücrel immünite değışikliği

Metastaz

Genetik zemin

Çevresel faktörler

Spesifik genlerin çevresel etkileşimi sonucu oluşan multifaktöryel kalıtım

II. I. II. Patogenezi

En yaygın kabul edilen teori 1920'lerde sunulan, hastalığın endometrial dokunun **retrograd menstruasyon** ile peritoneal kaviteye yayılımı sonucu gelişmesidir (6). Çoğunlukla pelviste rastlanan bu hastalık, endometrial dokuların periton epiteline tutunması, invaze olması ve kan dolaşımının gelişmesi ile oluşan implantları temizleyemeyen suboptimal immun cevap sonucu oluşmaktadır. Endometriozis patogenezinde retrograd menstruasyon, hücrel ve biokimyasal

gelişmelerle birlikte; genetik, çevresel ve immünolojik faktörlerden yapıları bir zeminde gelişir.

Retrograd menstruasyon teorisi, daha sonraları, endometriozisli kadınlarda normale göre daha fazla volümde menstrual kan ve endometrial doku fragmentlerinin retrograd geçişi, yine daha sık endometrial ve myometrial kasılma dalgaları gözlenmesi ile destek bulunmuştur (6).

Baboonlarda serviksin ligasyonu sonucunda endometriozis gelişmektedir (7). Dış genital obstruksiyonlu primer amenoreik kadınlarda da gözlenmektedir (6). **Metastaz** teorik olarak lezyonların pelvis ve dışına yayılmasıdır (8).

Çölomik epitelyum metaplazisi, çevresel faktörlerin de etkisi ile primer olarak endometrioma formasyonu [*endometrial doku içeren over yüzey epitelinin invajinasyonu ile endometrial doku ile döşeli ovaryan kist formasyonu*] veya rektovajinal endometriozis oluşumu ile hastalığın patogenezinde yer almaktadır (8-10).

Endometriozisli kadınlarda endometriumun normalden farklı olduğu ileri sürülmektedir, bu da ektopik hastalığın yerleşimini kolaylaştırıcı olmaktadır. Pek çok kadında retrograd menstruasyon / transplantasyon olmasına karşın, bu kadınların ancak % 6–10 'unda endometriozis gelişmesi bu görüşü desteklemektedir.

II. I. III. Hastalığın gelişimini etkileyen durumlar

II. I. III. A. Genetik

Endometriozis, etkilenmiş kadınların birinci derece akrabaları arasında genel popülasyona oranla 6–7 kat daha sık izlenir (11).

Yapılan çalışmalar endometriozisin genetik bir zemini olduğunu göstermiştir. Endometriozisli kadınların ötopik endometriyumlarında hastalığın patogeneziyle ilgili bazı gen ürünlerinin anormal eksprese edildiğine dair oldukça fazla sayıda kanıt mevcuttur. Bu gözlemler, endometriozis gelişen kadınların endometriyumlarının ektopik implantasyon ve yayılıma predispozisyon oluşturacak şekilde, kalıtsal olarak anormal olduğunu göstermektedir.

Yapılan çalışmalar ile ötopik endometrium apoptozise daha dirençli gibi görünmektedir; apoptozisi regüle eden bcl-2 ve bax protein ailesi ve fas-fas ligand ekspresyon sistemi bu dirençle ilişkilendirilmiştir (12).

MMP'ların anormal ekspresyonu sonucunda, reflü olan endometrial hücrelerin peritoneal yüzeye invaze ve takiben proliferere olabilme potansiyelleri gösterilmiştir (13, 14).

Son yapılan çalışmalarda, pelvik organların embriyonik dönemden itibaren farklılaşması sırasında, genetik predispozisyon veya çevresel toksinlerin etkisiyle

bazı epigenetik (kalıtsal olup genetik olmayan fenotipik varyasyonlar) olayların meydana geldiği tahmin edilmektedir.

Östrojen reseptörü B ve steroidojenik faktör-1 (SF-1)'in overekspresyonu ve hipometilasyonunu içeren bu epigenetik olayların endometriozis patogeneğinde kritik rol oynayabileceği düşünülmektedir (15).

II. I. III. B. Çevresel faktörler

İnsan dışı primat modeli ile endometriozis gelişimindeki çevresel faktörler ile onların potansiyel etkileri hakkında önemli veri sağlanmıştır. Örneğin, tüm vücuda X ışınları verilen rhesus maymunlarında kontrol grubundan daha yüksek oranda endometriozis gelişmiştir (53 % vs 26 %) (16). Yine, 4 yıl günde 5–25 ppm (parts per million) dioxin verilen rhesus maymunlarında, doza bağımlı endometriozis gelişmiştir (17). Bir raporda, dünyada en çok dioxin kirliliğiyle, hem en yüksek endometriozis insidansı hem de en şiddetli endometriozis prevalansının Belçika'da olduğunun yayınlamasıyla, başlangıçta bu deney sonucunun kadınlarda da geçerli olabileceği epidemiyolojik olarak inandırıcı gelmiştir (18). Fakat daha sonra İtalya ve Belçika'dan iki prospektif çalışma ile dioxine maruz kalan kadınlarda endometriozis risk artışının önemli olmadığı tespit edilmiştir (19, 20).

Bugün, östrojen benzeri bileşiklerin suçlanmasına karşın, endometriozisle ilişkisi net olarak tespit edilmiş bir kimyasal madde sınıflamasını gösteren

epidemiyolojik çalışma yoktur (21). Belirgin bir bağlantının bulunamaması şaşırtıcı değildir, çünkü insanlar, doz, etkilenme zamanı (in utero, çocukluk, peripuberte, erişkin), etkilenme yolu ve diğer kimyasallarla sinerji gibi değişen etki mekanizmaları ile tek bir genetik zemini zorlayan kimyasalların pekçoğuna maruz kalmaktadır (21).

II. I. III. C. İmmünite

İmmün sistemin endometriozis patogeneğinde rolü olduğu düşünülmektedir. Peritonda uygun bir immün sistem kontrolünün olmaması hastalık nedeni olabilir. Normalde peritoneal sıvıda bulunan makrofajların endometriozisli kadınlarda sayı ve aktiviteleri artar (22-25). Ancak endometriozisli kadınlardaki aktive olmuş makrofajlar ve dolaşımdaki monositler, ektopik endometrial hücreleri ortadan kaldırmak yerine, bu hücrelerin proliferasyonunu stimüle eden ve fagosite edilmelerini inhibe eden büyüme faktörleri ve sitokinler sekrete ederek hastalığın ilerlemesine neden olurlar (26, 27).

Sharpe-Timms ve arkadaşlarının endometriotik epitelyal hücrelerde tespit ettikleri ve Endo-I olarak adlandırılan protein, ötopik endometrium epitelyumunda görülmemektedir (28). Yapısal olarak haptoglobine benzeyen bu protein, peritoneal makrofajlara bağlanarak IL-6 üretimini arttırır ve makrofajın adhezyon yeteneğini bloke ederek fagositik kapasitesini azaltır (29). Ayrıca IL-6, endometriotik epitelyal hücrelerde Endo I üretimini arttırır (30).

Bu bulgular, Endo-I'in endometriozisli kadınlarda immün sistem yetersizliğinde rolü olduğunu desteklemektedir. Ağrı ve infertilitenin tedavisinde potansiyel hedefin, haptoglobinin etkilerinin inhibisyonu olacağı ileri sürülmektedir.

Endometriozisli kadınlarda peritoneal sıvıda 'natural-killer- cell' aktivitesinde yetersizlik bulunmaktadır, bu nedenle ektopik dokuya sitotoksik etki azalmaktadır (31).

Endometriozisli kadınlarda peritoneal sıvı yüksek yoğunlukta sitokinler, growth faktörler, anjiogenik faktörler (VEGF) içerir, bunlar lezyonların kendisinden, makrofaj ve diğer immün hücrelerin sekresyonlarından, ovulasyonla rüptüre olan foliküler sıvıdan gelişir (31–34).

Endometriotik lezyon gelişince, birtakım proinflamatuvar moleküller sekrete edilir. Sitokinlerin (IL-1 ve 8, TNF α ve IF γ) aktifleştirdiği kemotaktik faktörler, makrofaj ve T lenfositlerin peritona göçünü sağlar. Bu immün hücreler endometriozisdeki inflamatuvar cevabı yönetir.

RANTES (regulated on activation, normal T expressed and secreted) monositler ve lenfositler için potent bir kimyasal kemoatraktandır. Peritoneal sıvıdaki yoğunluğu endometrizisde artar ve hastalığın şiddeti ile koreledir.

“Monocyte chemoattractant protein-1” konsantrasyonu yine peritoneal sıvıda artmış olup, endometriozisli kadınların peritonunda yüksek orandaki aktive makrofajların sorumlusudur.

Bazı araştırmacılar peritoneal sıvının da lipid peroksidasyonu ile endometrial depositlerin gelişiminin aktif destekleyicisi olduğunu vurgulamaktadır (35, 36).

TNF-alfa ve IL-6 dâhil olmak üzere bazı sitokinlerin lipid peroksidasyonundaki gibi antioksidanlarla veya bu sitokinlerin aktivitelerinin blokajı tedavi için bir hedef olarak gösterilmektedir.

“Peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) gama 2” ye bağlanan Thiazolidinedioneler, endometriozisli fare modelinde monosit göçünü ve inflamatuvar peritoneal hücrelerin birikimini inhibe ederler (37, 38). Bu ilaçlar tip 2 DM tedavisinde kullanılırlar ve ayrıca immüsupresif etkileri vardır. Farede bulunan bu inhibisyon kadınlarda da görülürse, thiazolidinedionelar için yeni bir endikasyon oluşacaktır.

Ayrıca bazı endometriozisli kadınlarda PPAR gama 2 ve Pro-12Ala polimorfizmi rapor edilmiştir (39).

Endometriozisin otoimmün etyolojisine dair hipotezler, artmış poliklonal B hücre aktivitesi, B ve T hücre fonksiyon bozukluğu, ailevi geçiş, yüksek B ve T

hücre sayıları ve azalmış natural killer cell aktivitesi gibi görüşlerle kurulmaktadır (31, 40, 41, 42). Ayrıca, IgG, IgA ve IgM tipinde serum konsantrasyonları artmış otoantikörler ile endometriuma karşı oluşmuş antikörler rapor edilmiştir (41–43). Atopik hastalıklara eğilim vardır (44, 45).

II. II. Prevalans

Endometriozis ile ilgili tahminlerden çoğunluğu prevalansın pelvik ağrılı hastalarda % 5–20 ve infertil kadınlarda % 20–40 arasında değişmekte olduğu şeklindedir. Üreme çağındaki kadınlarda genel prevalansın % 3–10 arasında olduğu düşünülmektedir (46- 49).

Endometriozis premenarşial kızlarda nadirdir ancak kronik pelvik ağrı ve dispareni şikâyetleri olan adolesanların ve 20 yaşından küçük genç kadınların % 50 'sinden fazlasında tespit edilebilir (50–52). 17 yaşından küçük endometriozis saptanan genç hastaların birçoğu müller kanalı anomalisi, servikal veya vajinal dışı akım obstrüksiyonu gibi sebeplerle ilişkilidir (53). Endometriozis nedeni ile cerrahi yapılan hastaların % 5 inden azı postmenopozaldir ve bunların çoğu östrojen tedavisi almıştır (54, 55). Asemptomatik endometriozis prevalansı siyah kadınlarda, beyaz kadınlardan düşük ve Asyalılarda beyaz kadınlardan yüksektir (56).

II. III. Tanı

II. III. I. Semptomlar ve Bulgular

Subfertilite, dismenore, dispareni ve kronik pelvik ağrısı olan kadınlarda endometriozisten şüphelenilmelidir. Ancak endometriozis asemptomatik de olabilmektedir.

Ağrı sıklıkla diffüz, pelviste derin yerleşimli, sıkıcı, sırt ve uyluğa yayılabilir tarzda ya da rektal basınç hissi, bulantı ve epizodik diare ile birliktelik gösterir (57). Endometriozisli ve ağrı tarifleyen hastaların 2 / 3 ünde intermenstruel ağrı mevcuttur (58). Dispareni sıklıkla hastalığın ilk başlangıcında mevcuttur, mens öncesi şiddetlenmesi derin penetrasyonla beraber cul-de-sac ve rektovajinal septumu içeren hastalıkla ilişkilidir (59, 60).

Hastalığın yayılımı ve ağrının ciddiyeti ile evre ve endometriozis lokalizasyonu arasındaki paradoksal ilişki iyi bir şekilde tanımlanmıştır. Ağır hastalıkta hafif rahatsızlık hissi olabilir veya hiç olmayabilir, buna karşın minimal veya hafif hastalığı olanlarda dayanılmaz ağrı olabilir (58–60).

Endometriozisli hastalarda ağrıya neden olduğu düşünülen olası mekanizmalar, lokal peritoneal inflamasyon, doku hasarı ile beraber olan derin infiltrasyon, adezyon formasyonu, fibrotik kalınlaşma ve endometriyotik implantlarda menstrual kanın koleksiyonudur. Bu patolojiler, dokuların fizyolojik hareketine bağlı ağırlı traksiyona yol açarlar (61, 62).

Ekstrapelvik endometriozis, sıklıkla asemptomatik olduğu halde, ağrı ve bir palpabl kitlenin semptomlarının pelvis dışında siklik paternde ortaya çıkması ile karakterizedir. En sık intestinal kanal tutulumu (özellikle kolon ve rektum) görülür, buna bağlı olarak karın ve bel ağrısı, distansiyon, siklik kanama, konstipasyon ve obstrüksiyona neden olabilir.

İnfertilite, endometriozisli kadınların birçoğunda görülen bir problem olmasına rağmen endometriozisteki infertilitenin mekanizması hala tam olarak anlaşılamamıştır. Yapılan çalışmalar da infertilite ile esas olarak endometriozisin evresi ilişkili bulunmasına rağmen normal anatomiye bozan pelvik adezyonlar ve bozulmuş tubo-ovaryan fonksiyon da suçlanmıştır (63, 64). Ayrıca bazı bulgular orta şiddetteki endometriozisin de oosit gelişimini bozduğunu, embryogenez ve implantasyonu olumsuz etkilediğini göstermiştir. Hafif ve orta şiddette endometriozisi olan kadınların, sağlıklı kadınlarla yapılan karşılaştırmalarında, artifisyel inseminasyon sonrası azalmış aylık fekundite oranlarına sahip oldukları birçok çalışmada gösterilmiştir (63, 65).

Prospektif kontrollü çalışmalarda endometriozisin tekrarlayan gebelik kayıplarıyla ilişkisi saptanmamıştır (66). Ayrıca endometriozisin medikal ya da cerrahi tedavisinin spontan abortus oranlarını azalttığına dair de bir bulgu yoktur (67, 68). Endometriozisi olan kadınlarda endokrinolojik anormalliklerin insidansının arttığına dair yeterli veri bulunmamaktadır.

II. III. II. Klinik inceleme

Endometriozisli birçok kadında klinik inceleme sırasında hiçbir anormallik saptanmaz. Eksternal genital organların fizik muayenesi genellikle normaldir.

Over kaynaklı endometrioması olan kadınlarda fiks adneksiyal kitle saptanabilir. Uterosakral ligamentlerde fokal duyarlılık ve nodularite kuvvetle hastalığı düşündürür ve çoğunlukla tek fizik muayene bulgusudur (69, 70). Bütün bunlar endometriozis tanısında altın standart olan cerrahi ile karşılaştırıldığında fizik muayene rölatif olarak daha zayıf sensitivite, spesifite ve pozitif prediktif değere sahiptir (71).

Endometriozis tanısı için bir kan testi mevcut değildir. CA125, çöломik epitelyum derivelere bulunan ve sıklıkla müsinöz olmayan over karsinomlarının takibinde marker olan bir hücre yüzey antijenidir. CA125 düzeyleri orta ve ciddi endometriozisi bulunan kadınlarda belirgin olarak yüksek, hafif endometriozisi olanlarda normal olarak bulunmuştur (72, 73). CA125 ayrıca, erken gebelikte, normal menstruasyon sırasında, akut pelvik inflamatuvar hastalıkta ve leiomyom varlığında yükselebilir.

CA125 düzeylerinin orta ve şiddetli endometrioziste artış sebebi açık değildir. Endometriozis lezyonlarının normal endometriuma göre daha fazla miktarda CA125 içerdiği ve beraberindeki inflamasyonun CA125'in dökülmesinde artmaya sebep olduğu hipotezi ortaya konmuştur.

Endometriozis riski bilinen infertilite ve ağrısı olan kadınlarda CA125'in spesifitesi (% 80 ve üzeri) yüksektir. CA125'in düşük sensitivitesi (% 20–50) endometriozis tanısı için klinik kullanımda sınırlamalara neden olmaktadır. Seri CA125 ölçümleri tedavi sonrası endometriozisin yeniden ortaya çıkışını tahmin etmede kullanılabilir (74, 75).

Dikkatli klinik değerlendirme ile endometriozisi olabilecek kadınlar tanımlanabilir ancak tanı konulamaz. Serum CA125 konsantrasyonu hastalıkla ilgili destekleyici delil sunmasına rağmen testin sensitivitesi, etkin bir tarama aracı yapmak için oldukça düşüktür.

Over kaynaklı endometriomaların belirlenmesinde transvajinal USG ve MRI yüksek oranda sensitivite ve spesifiteye sahiptir ancak hastalığa ait peritoneal implantları güvenilir olarak görüntüleyemez.

Ampirik medikal tedaviye klinik cevap endometriozis tanısını doğrulamaz. Birçok kadında, endometriozis tanısı dikkatli ve sistematik laparoskopik değerlendirmeye ihtiyaç duyar. Eksize edilen lezyonların histolojik değerlendirilmesi cerrahi bulguları doğrulayabilir ve tercih edilir ancak tanıyı kesin olarak ortaya koymak için gerekli değildir.

Laparoskopideki karakteristik bulgular, peritonun serozal yüzeyinde tipik barut yanığı şeklindeki lezyonlardır. Bunlar siyah, koyu kahverengi veya mavimsi nodüller veya değişken derecede fibrozis ile çevrili eski hemoraji içeren küçük

kistlerdir. Laparoskopik izlenimin histolojik konfirmasyonu sadece atipik lezyonlar için değil aynı zamanda vakaların % 24'ünde histolojik olarak negatif rapor edilen tipik lezyonlar için de endometriozis tanısı yönünden gereklidir (76).

Derin endometriozisin hafif formları endometriotik lezyonun altında palpasyon ile veya görünüm olarak normal peritoneum altında palpabl kitlenin bulunması ile özellikle posterior cul-de sac ta saptanabilir. Ovaryan endometriozis tanısı her iki overin bütün yüzeylerinin dikkatli inspeksiyonu ile hızlandırılabilir, ileri derecede hastalık durumunda adhezyonların mevcudiyetinde bu işlem zor olabilir.

Ovarian endometriotik kistler kalın, visköz koyu kahverengi sıvı (çikolata mayi) içerir ki, bu önceki intraovarian hemorajiden kaynaklanan hemosiderinden oluşur (77). Böyle bir sıvı, hemorajik korpus luteum kistleri veya neoplastik kistlerde de bulunabileceğinden, biopsi, hatta histopatolojik onay için kistin çıkarılması gerekebilir. Histolojik olarak hemosiderin yüklü makrofajlar veya hemorajili endometrial stroma içeren stromal endometriozis, patogeneizde çok erken bir olayı ifade eder (78).

Farklı tiplerde lezyonlar, değişik derecede proliferatif veya sekretuar glandüler aktiviteye sahiptir. Vaskülarizasyon, mitotik aktivite ve endometriozis lezyonlarının üç boyutlu yapısı anahtar faktörlerdir. Derin endometriozis, yoğun fibröz ve düz kas dokusunun içinde bezler, stromanın proliferasyonu ile karakterize spesifik tip pelvik endometriozis olarak tanımlanır (79).

II. III. III. Mikroskopik Endometriozis

“Mikroskopik endometriozis”, makroskopik olarak normal görünen pelvis peritonunda endometrial bezler ve stromanın varlığı şeklinde tanımlanır. Bu durumun endometriozis histogenezinde ve tedavi sonrası rekürrensinde önemli olduğu düşünülmektedir. Mikroskopik endometriozisin klinik prevalansı tartışmalıdır, çünkü uniform olarak izlenmez. Normal peritonu neyin oluşturduğu konusunda belirlenmemiş kriterler kullanılarak, orta ve ciddi endometriozis olan 20 hastadan laparotomi sırasında 1–3 cm’lik peritoneal biopsiler elde edilmiştir (80). Düşük güçlü scanning elektron mikroskopi (SEM) ile biopsilerin incelenmesi, ışık mikroskopunda konfirme edilemeyen % 25 vakada belirgin mikroskopik endometriozisi ortaya çıkarmıştır. Makroskopik olarak normal görünen periton, nadiren mikroskopik endometriozis içermektedir.

II. III. IV. Klasifikasyon

Endometriozis için geçerli evreleme sistemi Amerikan Fertilité Topluluğu (American Fertility Society=AFS)’nun revizyona uğramış şeklidir. İmplantların görünümü, boyutu, peritoneal ve ovarian implantların derinliği, adneksiyel adhezyonların varlığı, yaygınlığı ve tipi ile cul-de sac obliterasyonuna göre puanlama yapılmaktadır (81). Bu sistem endometriozis hastalığını yansıtır fakat ağrı veya infertiliteyi göz önünde bulundurmaz, ayrıca gözlemciden kaynaklanan ve gözlemciler arası belirgin farklılıklar söz konusu olabilir. Hastalığın aktivite parametrelerini kapsayan bir klasifikasyon sistemi düşünülmüştür. Yine de

AFS'nin revize edilmiş endometriozis klasifikasyonu, spontan evolüsyonu değerlendirmek ve terapötik yaklaşımları karşılaştırmak için uluslararası olarak kabul edilmiş tek sınıflandırma sistemidir.

II. III. V. Spontan Evolusyon

Endometriozis progresif bir hastalık olarak görülür. Endometriozis skor ve evrelemede spontan iyileşme, orijinal tanı konulduktan 6–12 ay sonra yapılan laparoskopik takipte, ne kadınlarda ne de baboonlarda saptanamamıştır. Bir kesitsel çalışmada, çalışılan pelvik alanın ve tanımı zor lezyonların hacminin yaşla küçüldüğü bulunurken, tipik lezyonlarda bu parametrelerin ve infiltrasyon derinliğinin yaşla arttığı gösterilmiştir (82).

II. IV. Apoptozis

Apoptozis, organizma tarafından düzenlenen enerji bağımlı hücre ölümüdür. Doku homeostazının korunmasında kritik bir role sahiptir. Fazladan olan ve disfonksiyonel hücrelerin yok edilmesi için varolan normal bir fonksiyonu temsil etmektedir.

Apoptozis Yunanca'da "düşmek" anlamına gelmektedir ve Homer tarafından ağaçların sonbaharda yaprak dökümünü andırdığı için, hücre kaybını belirtmek amacı ile kullanılmıştır.

Apoptozis programlı hücre ölümüdür ve normal dokuların homeostazi açısından önemlidir. Normal embriyonik gelişimde hücrelerin fokal delesyonunda da işlev görmektedir. Apoptotik hücre ölümünün kanser dışında da pek çok durumda potansiyel patojenik rolü vardır; örnek olarak AIDS, nörodejeneratif hastalıklar verilebilir.

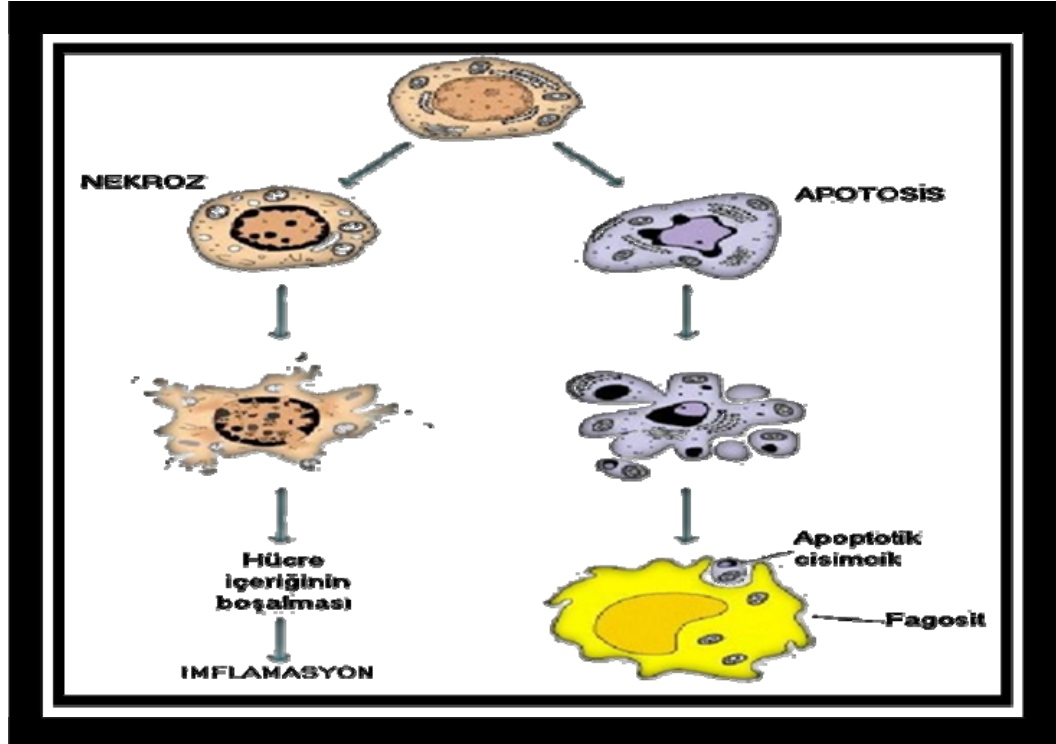
Total büyüme veya regresyonu değerlendirirken, apoptozis ve proliferasyon arasındaki denge önemlidir. Tüm bunlar göstermektedir ki apoptozis ve apoptozis regülasyonunun moleküler olaylarını anlamak ve apoptozisi yönlendirecek yolları saptamak gerekmektedir (83-86).

II. IV. I. Hücre Ölümündeki Morfolojik Değişiklikler

Apoptotik uyarım alan hücre, hacminin yarısına düşer, çevre ile olan bağlantılarını keser ve mikrovillusları kaybolur. Elektron mikroskopunda gözlenen değişikliklerde, öncelikle plazma membranının şekli bozulur ve kabarcıklanmalar oluşur; bu yapı "zeiozis" olarak tanımlanır. Plazma ve çekirdek kondansasyonunu takiben kromatinin kümelenmesi şekillenir. Kromatindeki değişikliklerin başlamasının hemen öncesinde sitozolik Ca^{++} düzeyinde önemli bir artış olmaktadır. Kromatin kondansasyonu, nukleozomlar arasındaki bağlantı bölgelerinin ayrılması ile karakterizedir (180–200 baz çifti).

Hücresinin parçalanmasıyla nükleer materyal içeren zarla çevrili "apoptotik cisimcikler" oluşur. İki katlı lipit tabakada fosfolipit asimetrisi, hücre zarının bir

özelliğidir. Fosfolipidler, yani iç tabakada bulunan fosfatidilserin (PS) ve fosfatidiletanolamin (PE) ve dış tabakada bulunan fosfatidilkolin (PC) asimetrik olarak dağılmışlardır. Normal hücrelerde bu asimetri ATP'ye bağlı translokaz ile aktif olarak korunmaktadır. Apoptoz sırasında ya ATP translokaz yetmezliği ya da diğer enzim sisteminin aktivasyonu PS'nin dış yüzey tabakaya yerleşmesi ile sonuçlanır. Bu durum, apoptotik cisimciğin fagositozu için bir uyarıdır (87). Apoptotik cisimcikler, sitokin salgılanmasını ve inflamasyon oluşumunu uyarmaksızın, makrofajlar ya da komşu hücreler tarafından fagosit edilirler. Apoptoz 30–60 dakika gibi bir sürede tamamlanır (88).



Şekil 1. Apoptotik ve nekrotik hücre ölümünün karşılaştırılması. (91)

Nekrozda apoptozdan farklı olarak hücresel büzüşme yerine şişme olur, bu nekrozun erken belirtisidir. Patolojik hücre ölümü yani nekrozun klasik nedenleri içinde ise hipertermi, oksidatif fosforilasyon-Krebs siklusu ya da glikolizisin inhibisyonu, otolizis, hipoksi ve çeşitli toksinler yer alır (89). Hücre tarafından genlerle programlanmayan ve çeşitli dış etkenlerle gerçekleşen nekrotik hücre ölümünde; enerji depolarında ani azalma ile birlikte hücre zarının geçirgenliği bozulur ve sodyum ile suyun hücre içerisine girmesine neden olur, böylece hücre şişer. Ayrıca hücreyle birlikte mitokondirilerde de şişme gözlenir, diğer organeller ise plazma içinde dağılır. Şişme sonucunda hücre zarı patlar ve bütünlüğünü kaybeder, proteolitik enzimler içeren plazma, hücreler arası boşluğa sızar, doku çevresinde inflamasyon ile birlikte zedelenme oluşturur (90, 91) (Şekil 1).

II. IV. II. Apoptozun Gen Regülasyonu

Apoptozun genetik mekanizması ilk kez *Caenorhabditis elegans* isimli nematodun gelişim aşamalarında belirlenmiştir.

Apoptozun regülasyonu nematodlardan insana kadar çoğu aynı gen kontrol süreci ile oldukça sıkı bir biçimde korunmaktadır. Ölüm sinyali, gen ekspresyonu ile düzenlenebilmesine rağmen, süreç genotoksik hasar (kemoterapi, radyasyon vb) veya sitokinlerin olmaması gibi (eritropoietin vb) farklı uyarımlarla harekete geçirilebilir. DNA sarmalındaki nükleotit azlığı, DNA-bağlı transkripsiyon faktör p53 ile başlayan bir dizi olayı aktive eder ve hücre apoptotik yola girer (98).

II. IV. II. A. p53 ün Rolü

Bir tümör süpresör gen olarak çalışan p53 mutasyona uğradığı ya da bulunmadığı zaman hücre yaşamı uzar. p53 protein ürünü, DNA'ya doğrudan bağlanarak hasarı tanıdıktan sonra, ya G1'de hücre siklusunun durmasını indükleyerek tamir için gerekli zamanı kazanır ya da hasar fazlaysa apoptoza yönlendirir. Ayrıca p53'ün Bax / Bax, Bax / Bcl-2, Bcl-2 / Bcl-2 gruplarının oranlarını düzenlediği düşünülmektedir (87).

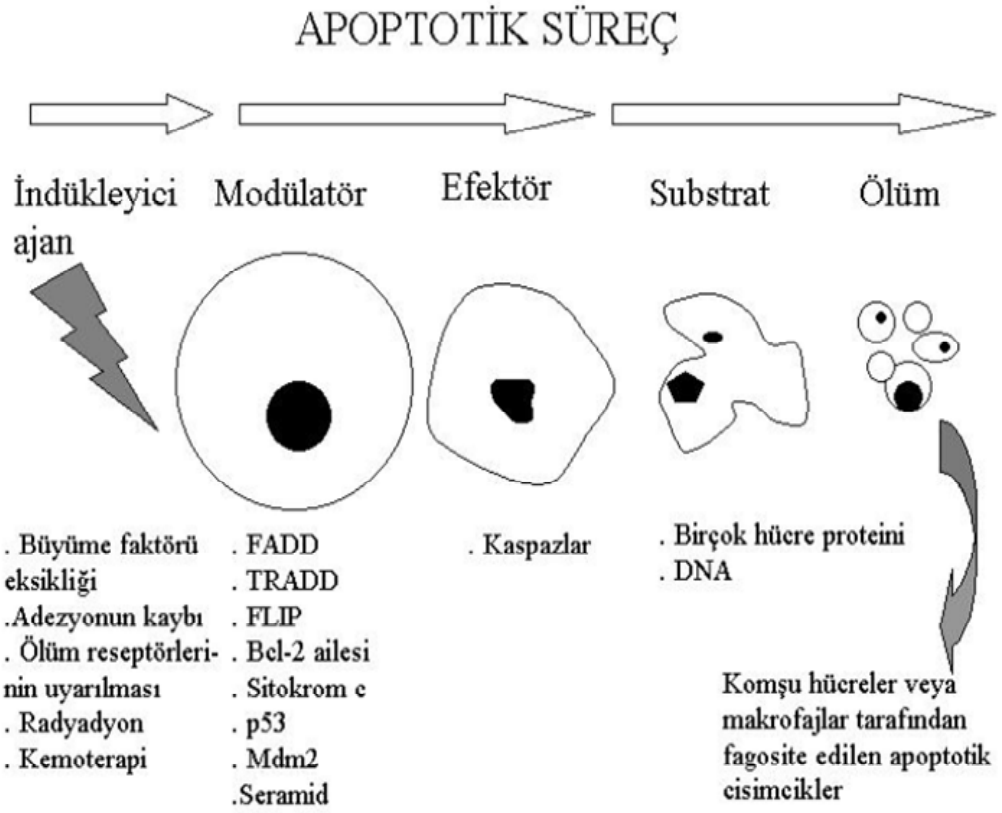
II. IV. II. B. Bcl-2 / Bax

Apoptozun regülasyonu Bcl-2 / Bax gen ailesi ile sağlanır (87, 92). Bcl-2 / Bax gen ailesinin ürünleri, mitokondri ve çekirdek zarlarının yanısıra endoplazmik retikulum zarının üzerinde de yer alırlar ve homodimer ya da heterodimerler şeklinde kompleks oluşturarak çalışırlar (87, 91). Örneğin; Bcl-2 nin Bax ile olan etkileşiminde Bcl-2 nin oranının daha yüksek olması hücrenin yaşamını sürdürmesini sağlarken, Bax'ın daha fazla olması durumunda hücre ölüme gitmektedir (93). Son yıllardaki, hücrenin yaşamı ya da ölümü konusundaki araştırmalar dikkatleri mitokondri üzerinde toplamıştır (88).

Mitokondriler çift zarlı organellerdir. Bcl-2, bir protoonkogendir ve ürettiği protein, mitokondrinin sitoplazmaya dönük dış zarı üzerinde ve endoplazmik retikulumun bir bölümü olan çekirdek zarında yerleşmiştir (94). Bu proteinler, iyon alışverişini düzenler ve zarın parçalanmasına karşı koruyucu etki

yaparlar. Özellikle anti-apoptotik genler içinde yer alan Bcl-xL'in mitokondriyal hasarı engelleyerek mitokondriyi koruduğu ileri sürülmektedir. Bu sayede apoptoz inhibisyonu gerçekleşmektedir (95). Bcl-2 ailesinin bir diğer ilginç özelliği de reaktif oksijen düzeylerinin apoptoz üzerindeki etkilerini pro-oksidan gibi davranarak kontrol etmesidir (88).

Bax proteinleri sitoplâzma da bulunur. Apoptotik sinyalin alınmasından sonra Bax proteinleri, mitokondri zarının "permeabilite geçiş poru" na doğru yönelirler ve buraya bağlanırlar. Bu bağlanma, seçici iyon geçirgenliğini (permeabilitesini) azaltabilir. Zardaki bu değişiklikler nedeniyle sitokrom c ve AIF (*Apoptosis Inducing Factor*) gibi mitokondri zarı içinde yer alan faktörler sitoplâzmaya geçerler. AIF, doğrudan kromatin kondansasyonunun ve nükleer fragmentasyonun meydana geldiği çekirdeğe doğru yönelirken, sitoplâzmadaki sitokrom c apoptozun en son basamağında görev alır. Sitokrom c, bir sitoplâzma proteini olan Apaf-1 (apoptotik proteaz aktivite edici faktör-1) 'in aktivatörüdür (87). Sitokrom c'nin Apaf-1'e bağlanması prokaspaz-9'u aktive eder ve oluşan bu kompleks "apoptosom"olarak isimlendirilir (96). Prokaspaz-9'un aktivasyonu, bir seri kaspaz aktivasyonunu başlatır (87) (Şekil 2). Apaf-1 aynı zamanda ATP'ye de bağlanır. Bu olay apoptozun neden enerji gereksinimi duyduğunu açıklamaktadır (91).



Şekil 2. Apoptozisin regülasyonu. (87. Türkçe çeviri).

II. IV. II. C. Kaspazlar

Apoptoz mekanizmasında üç temel grup rol alır. Bunlar: Ölüm reseptörleri, adaptör proteinler ve proteolitik enzimlerdir (kaspazlar) (88, 91). Adaptör proteinler, reseptörle gelen sinyal sonucunda kaspazlara bağlanıp onları aktive ederler. Bu reseptörlerin en çok bilinenleri TNF reseptörü-1 (TNFR1) ve Fas (CD95) karaciğerde bol miktarda bulunur. Fas'ın etkisiyle kaspaz dizisi (kaskadı) aktive olur ve kaspazla aktive olan DNaz (*caspase-activated DNase*; CAD) aracılığı ile DNA yıkımına neden olur (88). Memeli hücrelerinde sistein

proteaz ailesinden olan kaspazların aktif merkezinde sistein yer alır ve sitoplâzma da inaktif prekürsörler olarak bulunur. Bir proteaz aktivasyon dizisi (şelalesi) başlatarak sitoplazmik proteinlerin yıkımında rol almaktadır, bu sırada nukleazlar da aktive olarak DNA fragmentasyonu ve RNA degradasyonu gerçekleşmektedir (97). Sitokrom c'nin sitoplâzma içine salınması ile apoptozun son basamaklarından sorumlu enzim sistemi olan kaspazlar aktive olur.

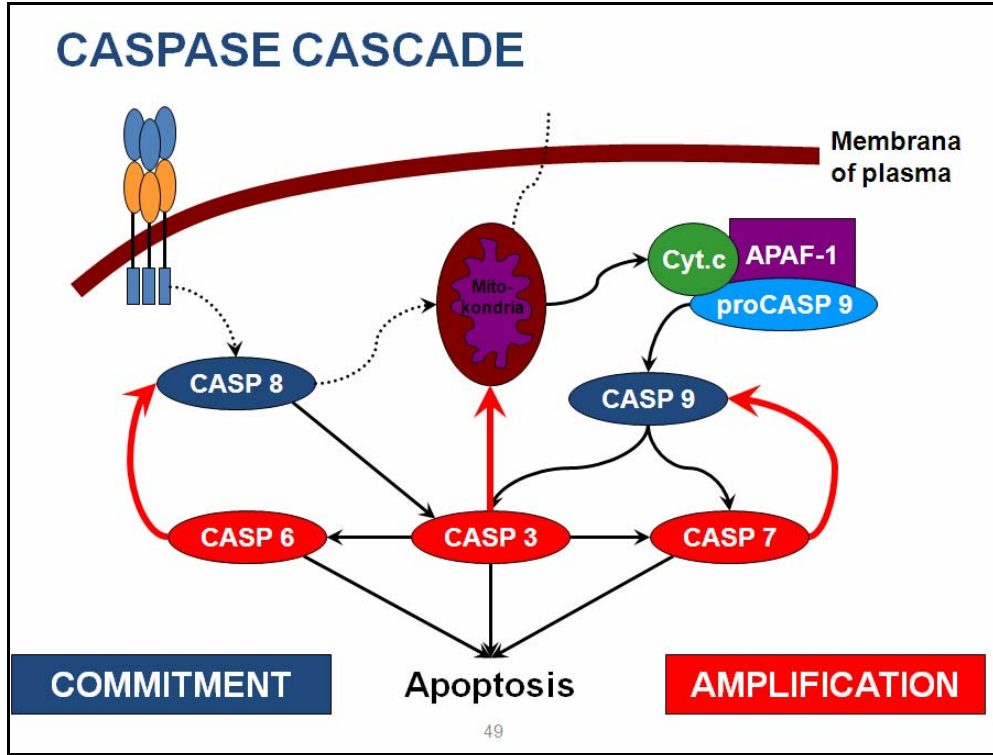
Tablo 1. ICE ailesi ve diğer adları ile tanımlanmış sistein proteazlar kaspaz nomenklatürü olarak yeniden düzenlenmiştir. (98.Türkçe çeviri).

- **Apoptozu Başlatanlar**
- **C-2**
- **C-8**
- **C-9**
- **C-10**
- **Apoptozu Yürütenler**
- **C-3**
- **C-6**
- **C-7**
- **Sitokin Aktivasyonu Yapanlar**
- **C-1(ICE, İnterleukin-1 beta converting enzim)**
- **C-4**
- **C-14**
- **C-5**
- **C-11**
- **C-12**

Şimdiye kadar sitozolde bulunan 14 kaspaz tanımlanmıştır (98, 99) (Tablo 1); inflamasyonu uyaran ve ilk kez bir proteaz olarak tanımlanan ICE, prokaspaz-1 olarak isimlendirilmiştir. Kaspazlar bir seri olaylar dizisinde diğer prokaspazları aktive ederler. Kaspazlar; sitokin üretimine katkıda bulunanlar (kaspaz 1, 4, 5, 13), proteolizisin "başlatıcıları" (kaspaz 2, 8-10) ya da "uygulayıcıları" (kaspaz 3,

6, 7) olarak sınıflandırılırlar (88, 95). Ölüm sinyali veren başlatıcı kaspazlar, adaptöre bağlanırlar ve ölüme yönlendirirler ama infazı gerçekleştirmezler bunu yapacak olanları aktifleştirirler. İnfazı gerçekleştiren uygulayıcı (effektör) kaspazlardır. Uygulayıcı kaspazlar, başlatıcı kaspazların akışını aktive ederler (88).

Apoptotik programın merkezi bileşeni kaspazlardır (100). Kaspaz aktivasyonu hücreye özgüdür ve kaspaz inhibitörlerinin (IAP) efektör kaspazları inhibe ederek apoptozu engellediği gösterilmiştir (88). Ayrıca IAP (*Inhibitors of Apoptosis*) ailesinin kaspazlardan ayrı olarak, transkripsiyon faktörlerinin modülasyonu ve hücre siklusunun kontrolünde de yer alarak apoptozu inhibe ettiği bilinmektedir. Bu inhibitörler malign hücrelerde aşırı olarak gözlenirler (87). Kaspazlar, proteinleri yalnızca aspartik asit bulunan bölgelerden keser, bu nedenle *c-asp-ases* adını almışlardır. Böylece kaspazların kısıtlı proteolizisi nedeniyle, hücrede lizis şekillenmez ve apoptotik cisimcikler oluşur (87, 100) (Şekil 3).



Şekil 3. Kaspaz Akış Döngüsü. (87).

II. IV. III. Apoptozun Sitotoksik Regülasyonu

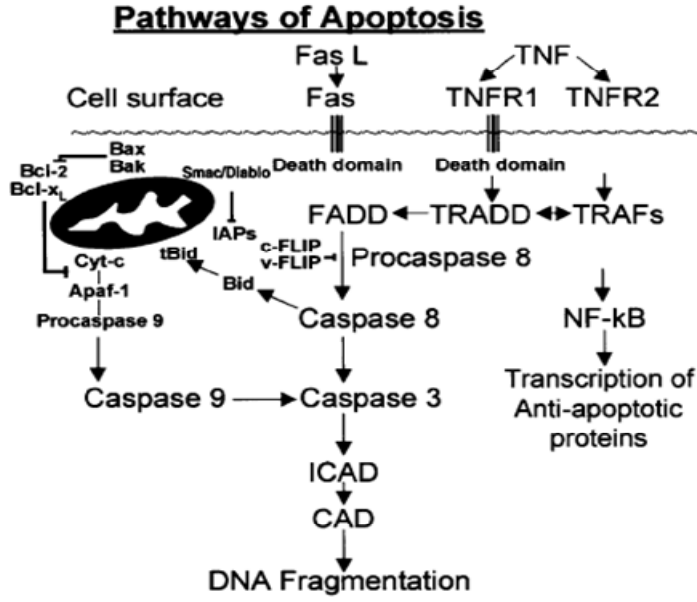
I. Granzim veya Perforin Sistemi

Bu salgısal apoptotik yol, patojenle infekte hücreler ve tümör hücrelerinin ortadan kaldırılmasında etkilidir. Perforinler ve Granzimler, sitotoksik T lenfositler (CTL) ve Naturak killer (NK) hücrelerinin sitoplazmik salgı granülleri içinde bulunan proteinlerdir. Granzim B hızlı bir şekilde DNA fragmentasyonunu ve apoptoz ile birlikte prokaspaz aktivasyonunu başlatır. Bununla birlikte Granzim A'da, perforinle sinerjik olarak kaspaz bağımsız yolda apoptozda rol alır.

II. Fas-Fas Ligandı veya CD95 Yolu

Apoptozun salgıdan bağımsız mekanizması, hücre zarı üzerinde bulunan "ölüm reseptörlerinin" aktivasyonu ile ilişkilidir. Fas (CD95), hücre yüzey reseptörüdür ve tümör nekroz faktörü ailesinin bir üyesidir. Apoptotik işaretin uyarıcısı olan Fas, birçok hücre tipinde sergilenir. Fas ligandı (FasL), TNF ailesinin bir üyesidir. Özellikle sitotoksik T hücreleri ve NK hücreleri üzerinde bulunur. FasL nin Fas reseptörüne bağlanması ile apoptotik işlem başlar. Bu mekanizma, bir immün tepki sonunda aktive olmuş T hücrelerinin uzaklaştırılması, virüs infekte hedef hücrelerin ortadan kaldırılması, tümör hücrelerinin öldürülmesi ve birçok patolojik durumdaki hücrelerin uzaklaştırılmasında önemli rol oynar.

TNF'in TNFR-1'e bağlanmasıyla da benzer olaylar şekillenir. Fas ve TNFR-1 in sitoplazmik uzantısı, bir ölüm alanını (*Death Domain, DD*) içerir. Fas'ın sitoplazmik bölümü FADD (*Fas Associating protein with a Death Domain protein*) ve RIP (*Receptör Interacting Protein*) ile etkileşimdedir. Ölüm alanlarını içeren bu TRADD ve RIP proteinleri, prokaspaz-8'in aktivasyonu ile apoptozu doğrudan uyarırlar. Aktive olan kaspaz - 8 daha sonra diğer uygulayıcı kaspazları aktive eder (87) (Şekil 4).



Şekil 4. Apoptozis mekanizması. (87).

II. V. Endometriozis ve Apoptozis

Tarihsel olarak menstruasyon, spiral arterlerin kontraksiyonu ile gerçekleşen, endometriumun fonksiyonel tabakasının iskemik nekrozu olarak tanımlanır. Bu süreç seks hormon konsantrasyonuna bağlıdır. Endometriozisin etyolojisi ve fizyopatolojisi hakkındaki bilgiler oldukça azdır. Metaplazi gelişmesi, müllerian artıklardan gelişmesi, retrograd menstrual akım sonrası implantasyon ve endometriumun büyümesi dâhil çok sayıda teori önceki bölümde anlatılmıştır.

Üreme çağındaki kadınların hemen hepsinde endometrial dokular bir dereceye kadar reflü olmaktadır (101). Retrograd olarak peritoneal kaviteye reflü olan menstrual içeriğin, canlı endometrial hücre bulundurduğu görülmüştür (102).

Retrograd menstrual akım hemen hemen tüm kadınlarda gözlemlendiği halde, neden sadece bazı kadınlarda endometriozis geliştiği konusunda sayısız araştırmalar yapılmış ve birkaç teori ileri sürülmüştür (103). Bu teorilerden birincisi; endometriumun normal peritoneal temizleme yollarına olan direncine dayanmaktadır. İkinci teori; peritoneal mezotelyumun aşırı reseptör bulundurması, makrofajların hiperaktivasyonu ve naturel killer (NK) hücrelerinin abnormalitelerini tetikleyen anormal hücrel ve hümorale immüniteye sekonder hastalığın ortaya çıktığını öne sürmektedir. Öyle görünüyor ki, genetik olarak uygun bir endometriumun peritoneal ortam tarafından değiştirilmesi, onu invazyona yatkın hale getirmektedir. Aşırı reflü olan endometrium ya da değiştirilmiş endometrium, proinflatuar ya da hormonal bir ortam yaratarak, hastalığın gelişmesine sebep olabilir (103).

Endometriozisli kadınların ötopik endometriumlarının ektopik doku ile değişiklikleri paylaştıkları ve bu değişikliklerin hastalığı bulunmayan kadınların ötopik endometriumlarında bulunmadığı gerçeği, endometriozisteki primer defektin ötopik endometriumda olabileceğini düşündürmektedir (1). Bu şekilde değişmiş ötopik endometriumdan kaynaklanan ve peritoneal kaviteye dökülen hücre ve doku elemanlarının, peritoneal yüzeylerde implantasyon, büyüme ve endometriozis geliştirme potansiyellerinin daha fazla olduğu ileri sürülmüştür.

Diğer taraftan endometriozisli bir hastanın ektopik dokusu ve ötopik endometriumu arasında gözlemlenen birçok farklılık peritoneal sıvının farklı ortamının direkt sonucu olarak açıklanabilir (2, 16).

Endometriozisli kadınların ötopik ve ektopik endometriumundaki endometrial değişikliklerden bir tanesi de apoptozisin regülasyonundaki değişikliklerdir. Elektron mikroskopik çalışmalar, endometrial epitelyal hücrelerin içinde, geç sekretuar fazda, apoptotik cisimciklerin varlığını kanıtlamıştır (104–106). Apoptotik yolların moleküler temeli yukarıdaki bölümde anlatılmıştır. Bundan sonraki bölümlerde apoptozisin normal endometrium ve endometriozisli hastalardaki işleyiş mekanizmalarına değinilecektir.

II. V. I. Normal Endometriumda Apoptozis

Yapılan çalışmalarda apoptozis, geç sekretuar ve menstrual endometriumun salgısal epitelyumunda saptanmıştır. Proliferatif faz ve sekretuar fazın başlangıcında ise saptanan miktar çok azdır (4, 5). Proliferatif fazdaki endometrial hücrelerin proliferasyonu östrojenlerin etkisine bağlıdır. Progesteronun hücreleri diferansiyasyona yönelttiği ve büyümenin sonlanmasına sebep olduğu düşünülmektedir. Normal endometriumdaki apoptozisin siklik doğasını düşündüğümüzde, muhtemelen östrojen ve progesteronun bu dokuda apoptozise yol açan sinyalleri düzenlediklerini söyleyebiliriz (4, 107). Vashiwo et al proliferatif fazdaki östradiol konsantrasyonunun apoptozis paterni ile negatif korelasyon gösterdiğini ortaya çıkarmıştır (125).

Bcl-2 ailesi apoptotik prosesi hem artırıp hem de engellemek açısından önemlidir. Bcl-2 proteini apoptozisle ilişkili moleküllerin belki de en iyi karakterize edilmiş olanıdır ve veriler bcl-2 proteininin kesin olarak hücre ölüm supressörü olarak rol oynadığını desteklemektedir. Bugüne dek proliferatif faz sırasında bcl-2'nin insan endometriumunda apoptozisi inhibe ettiği düşünüldüyse de, insan endometriumundaki apoptozisin kesin mekanizması halen tam olarak bilinmemektedir (105, 108).

Endometrial bez ve stromal hücrelerde siklik olarak gözlenen bcl-2, geç proliferatif fazda doruğa çıkmakta ve geç sekretuar ve menstrual fazda azalmaktadır. Myometrial kas hücreleri ise menstrual siklus boyunca yeterli bir bcl-2 immunoreaktivitesi sergilemektedir. Bundan dolayı bcl-2 hem endometrial bez hücreleri hem de myometrial çizgisiz kas hücrelerinin yaşaması için esansiyel bir gen ürünü olabilir (109, 110). Bir çalışmada, bcl-2'nin siklik şekilde ortaya çıkışının levonorgestrel kullanımından sonra gerçekleşmediği gösterilmiştir (111). Bu da steroid hormonların sabit şekilde uygulanmasının, bcl-2'nin ifade edilmesini etkilediğini göstermektedir.

İmmünohistokimyasal boyama yöntemi kullanılarak normal endometriumun bazal tabakasına göre, fonksiyonel tabakasında bcl-2, Fas ve kaspas-3'ün farklı düzeylerde tespiti gözlemlenmiştir (111). Antiapoptotik protein olan bcl-2'nin bazal tabakada daha fazla ifade edildiği, buna karşın ölüm reseptörü olan Fas ve kaspas-3'ün endometriumun fonksiyonel tabakasında daha

yüksek düzeyde bulunduğu aynı çalışmalarda görülmüştür. Bu sonuçlar endometriumun fonksiyonel biyolojisi ile çok iyi uyum sağlamaktadır.

Menstrual siklus boyunca, bazal tabaka daha sabit olduğu için apoptozis bu tabakada daha az bulunmakta, buna karşın siklik büyüme, diferansiyasyon ve dökülme yaşayan fonksiyonel tabakada apoptozis daha yüksek oranda görülmektedir. Bugüne kadar bcl-2 ailesinin 15 geni tarif edilmiştir. Bcl-2 ailesinin üyeleri, homodimerik ve heterodimerik bağlantılarla haberleşmektedirler. Böylece bir hücrenin potansiyel bir apoptotik stimulusa duyarlılığı, o hücrede o andaki proapoptotik ve antiapoptotik bcl-2 aile üyeleri ile saptanabilir (110).

Bax, bcl-2 aile üyesidir ve hücrenin ölüm hassasiyetini arttırmaktadır. Bunu da muhtemelen heterodimer etkileşim aracılığı ile bcl-2'nin hücrenel yaşam üzerindeki etkisine karşı gelmekle gerçekleştirmektedir (112).

Tao et al Bax proteini seviyelerinin, proliferatif endometriumda çok az sayıda olduğunu ve apoptozisin en fazla olduğu sekretuar fazda arttığını bildirmiştir (107).

Bu genler ailesinin başka bir üyesi de **bcl-x**'tir. Bcl-x alternatif kesme mekanizmasını kullanarak, apoptozisi düzenleyen hem pozitif ve hem de negatif düzenleyiciyi kodlayan, tek genin ilginç bir örneğini oluşturmaktadır. Bcl-xl (Bcl-x'in uzun formu), bcl-2'ye homolog 2 domain barındıran 233 aminoasidli (aa) bir açık okuma fragmanı içermektedir. Buna karşın bcl-xs (kısa formu), içinde bcl-

2'ye en yakın homologunu bulunduran alan silinmiş olarak, bcl-xl'nin kesilmiş 177 aa içeren formudur. Bcl-x'in bu iki formu zıt fonksiyona sahiptir. Bcl-xl, büyüme faktörlerinin yokluğunda hücreleri apoptotik hücre ölümüne karşı dirençli kılar, buna karşın bcl-xs, bcl-2'nin apoptotik hücre ölümüne karşı sağladığı direnci kırar (112, 113).

İmmünoreaktif bcl-x proteini endometriumun daha çok glandüler epitelyum hücrelerinde gözlenmiştir. Özellikle fonksiyonel tabakada, sekretuar endometrium, proliferatif endometriuma göre daha güçlü bcl-x immünoreaktivitesi göstermektedir (113). Bcl-2 ve bcl-xl insan endometriumunda önemli antiapoptotik faktörlerdir. Sekretuar fazda endometrial hücre turnoveri sırasında indüklenen Bax ise menses ile ilişkilidir (112, 113).

Bak, bcl-2 ailesinin bir başka proapoptotik üyesidir ve kısmen bcl-2 ve cl-xl ile etkileşerek, memeli hücrelerinde apoptozisi hızlandırmaktadır (114, 115).

Ovarian steroidler bcl-2 ve bax aktivitesinin up ve down regülasyonu aracılığı ile endometrial apoptozisi kontrol ederler. Bu konuda yapılan çalışmalar, bcl-2 protein aktivitesinin östrojen ile arttığını, progesteron ile baskılandığını göstermektedir (108, 114, 116).

Fas, TNF ailesinden 45 kDa'luk tip 1 membran proteini olup ligandı olan FasL ile bağlandıktan sonra hücre ölümünü yönetir (117). FasL 37 kDa'luk TNF süper ailesine bağlı bir proteindir. FasL özellikle T hücreleri tarafından aktive

edilen hücre yüzey proteini (118). Aslında Fas da FasL de, pek çok hücre tarafından yüzeylerinde eksprese edilir. Fas/FasL sistemi immün regülasyonda önemlidir. Özellikle istenmeyen aktive T hücrelerinin eliminasyonunda rol oynar. İmmün reaksiyonları baskılayan sitotoksik ölüm yollarından biridir (138). Aynı zamanda Fas-FasL ilişkisi apoptozisin indüklenmesi sırasında esansiyeldir. Fas taşıyan hücreler FasL ile etkileşime girdiğinde, apoptotik hücre ölümüne sürüklenmektedir.

Fas ve FasL insan endometrial hücrelerinde menstrual siklus boyunca eksprese edilmektedir. Geç proliferatif fazda bu proteinler hücrenin golgi aparatı ve sitoplazmik veziküllerinde tutulur, Fas FasL ile etkileşime giremez ve de apoptozisi indükleyemez. Sekretuar fazda ise, hücre membranının bir parçası olarak bu proteinler dışarıya atılır, burada Fas-FasL bağlantısı sağlanır ve bu bağlantı apoptotik sinyalleri başlatır. Endometriyumun glandüler hücrelerinde Fas immünboyanması sekretuar fazda, proliferatif faza göre daha fazladır. FasL'nin hem glandüler ve hem de stromal hücrelerdeki ekspresyonu siklusa bağlı bir olaydır. FasL'nin sekretuar fazda daha fazla eksprese edilmesi, apoptotik hücre ölümünün sekretuar fazda daha fazla olmasını sağlar. Tüm bunlar, Fas yoluyla apoptozisin endometrial siklus için önemli olduğunu gösterir (119, 120).

FasL'nin iki şekli vardır; membran çevrili ve çözünür form. FasL, bazı MMP ların etkisi ile aktif çözünür FasL şekline dönüşür.

Bcl-2'nin proliferatif faz sırasında Fas ile indüklenen apoptozisi inhibe etmesi, onun Fas yoluyla apoptozisi kontrol ettiğini gösterir. Bunu da Fas/FasL'nin aşağısında lokalize interleukin-converting enzyme (ICE) benzeyen proteazı inaktive ederek yapar (121, 122).

II. V. II. Endometriozisli Hastalarda Apoptozis

Endometriozisli kadınların ötopik endometriumu ile normal kadınların endometriumu karşılaştırılınca bazı temel farklılıklar gözlenir. Bunlar; yapısal anomaliler, proliferasyon, immun komponentler, adhezyon molekülleri, proteolitik enzimler ve onların inhibitörleri, steroid ve sitokin üretimi, cevap verme, gen ekspresyonu ve protein üretimi ile ilgili anomali gibi çok çeşitli anormallikler şeklinde kendini gösterebilmektedir (1). Bu farklılıklar, peritoneal kaviteye reflü olan endometrial hücrelerin yaşamasını sağlayarak, endometriozise neden olmaktadır.

Endometriozisli kadınlarda peritoneal kaviteye reflü olan endometrial hücrelerde apoptozis yüzdesinin çok azaldığı görülmektedir (123). Yine endometriozisli kadınların glandüler epitelindeki apoptozis indeksi kontrol grubuna göre daha düşüktür. Endometriozisli hastalarda apoptozisdeki siklik variabilite kaybolmuştur.

Apoptotik indeks düşüklüğü, endometrial hücrelerin ektopik yaşamasını ve implantasyonunu kolaylaştırırsa, apoptozis seviyesi ve hastalığın ciddiyeti

arasında ters bağlantı olabilir düşüncesi ile Dmowski ve arkadaşları 2001 de bir çalışma yaparak endometriozisli hastaları hastalığın stage'ine göre apoptotik indeks yönünden analiz etmişlerdir. Bu çalışma sonunda istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmamasına karşın artan stage ile apoptozisin azalma eğilimi olduğunu gözlemlemişlerdir.

Endometriozisli hastaların ötopik endometrial bez hücrelerinde **bcl-2** siklik bir pattern ile eksprese olur, bu siklik değişiklikler peritoneal ve ovarian endometriotik dokularda görülmez (109). Peritoneal endometriotik dokudaki stromal hücrelerde apoptozis gözlenmez. Bunun nedeni ektopik dokulardaki stromal hücrelerde bcl-2 'nin fazlaca ekspresyonudur. Bu aşırı ekspresyon, ektopik stroma tarafından üretilen artmış sayıdaki östrojen reseptörleri ile direkt bir ilişki içindedir (124, 125).

Endometriozisli kadınların proliferatif ötopik endometriumunda sağlıklı kadınların proliferatif endometriumuna göre daha fazla bcl-2 protein ekspresyonu

vardır. Aynı fazda Bax ekspresyonu görülmez. Sekretuar fazda ise her iki taraftan Bax ekspresyonu artmış oranda görülür. Endometriozisli ötopik endometriumda bcl-2'nin değişen ekspresyonu, apoptotik hücre sayısının düşmesine neden olur ve sonuç olarak ektopik lokalizasyonlarda bu hücrelerin yaşama kapasitesi artar (126).

Endometriotik dokularda, **Fas** ekspresyonu üzerine çok az çalışma yayınlanmıştır. Bu çalışmalara göre: Fas'ın hem ötopik hem de ektopik endometrial dokularda eksprese olduğu, apoptozis regülasyonunda Fas antijen ekspresyonunun az rol aldığı, bcl-2 nin siklik paternine karşın Fas ekspresyonunun her iki dokuda da menstrual siklus boyunca sabit olduğu görülmektedir (109, 127).

Endometriotik dokuların Fas'a göre Fas L' yi daha fazla eksprese etmesi onların yaşamasına ve endometriozis gelişmesine neden olmaktadır. Erken stage hastalığı olan ya da hastaliksız kadınlara göre, orta ile ciddi endometriozisli kadınların, serum ve peritoneal sıvılarında çözünür / aktif Fas L seviyelerinin daha yüksek olduğu görülmektedir. Endometriozisli kadınların peritoneal sıvısındaki çözünür Fas L seviyelerinin yüksek olması, peritoneal kavitede Fas taşıyan immün hücrelerin artmış apoptozisine yol açar ve bu da bu hücrelerin çöpçü aktivitelerinde azalmaya neden olur. Tüm bunlar peritoneal kavitede endometrial hücrelerin yaşama kapasitelerinin artmasına neden olur (128).

Peritoneal kavitede artmış seviyedeki çözünür Fas L' nin kaynakları, endometrial lezyonlar ve peritoneal sıvı lökositleridir. Endometrial glandüler ve stromal hücreler hem mRNA, hem de protein düzeyinde Fas L eksprese ederler. Bu membrana bağlı Fas L metrilysin ile atılır ve ligandın aktif çözünür formu üretilir. Peritoneal sıvı lökositleri endometriozisli kadınların artmış çözünür Fas L seviyelerine ayrı bir kaynak oluşturur. Çünkü peritoneal mononükleer hücreler Fas L mRNA eksprese ederler (118, 129).

Endometriozisli kadınlardaki peritoneal sıvıda bulunan makrofajlardan kaynaklanan büyüme faktörleri (PDGF ve TGF) artmış oranda gözlenir. PDGF ve TGF- β , endometrial stromal hücrelerde Fas L ekspresyonunu indükler, bu da endometrioziste peritoneal makrofajların, immün hücrelerin Fas yoluyla apoptozisi stimüle ettiğini düşündürmektedir. Endometriotik hücrelerin Fas L eksprese etmesi, onları T hücre saldırılarından korumaktadır. Sonuç olarak endometriozisli kadınlardaki peritoneal kavitede, immün denetimden kaçan ektopik endometrial hücreler, hastalığın devamında rol oynamaktadır (130–133).

II. V. III. Endometriozisli Hastaların Peritoneal Makrofajlarında Apoptozis

Endometriozisin en sık geliştiği yer olan peritoneal kavite, majör hücresel içeriği makrofajlar olan bir sıvı içerir (134, 135). Endometrioziste bu hücrelerin sayısı ve sekretuar aktiviteleri artar ve son kanıtlara göre bu hücreler, endometriozis eğişimi ve devamında önemli rol oynar. Endometrioziste peritoneal makrofajların sayıları artarken, sitotoksik güçleri azalır (54, 136).

Endometriozisli kadınlardaki peritoneal makrofajların, endometrial hücrelerin lizisine ortak olma kapasitesinin azalması ve ektopik endometrial hücrelerin makrofaj yollu sitolizine karşı artmış direnci, endometriozisli kadınların peritoneal kavitesindeki endometrial hücrelerin yaşamasını arttırıyor olabilir (137). Endometriozisli kadınların peritoneal sıvısındaki bcl-2 pozitif makrofajların artmış oranı, aktivasyon prosesini atlayan hücre sayısını arttırmakta ve apoptozisin azalmasına neden olmaktadır (138).

Normal ve endometriozisli kadınların ötopik endometrial stromasında anlamlı derecede artmış bcl-2 ekspresyonu geç sekretuar fazda daha da artar. Bu bcl-2 pozitif hücreler çoğunlukla lökositlerdir. Ektopik stroma ötopik stromaya göre anlamlı derecede yüksek sayıda bcl-2 pozitif hücre içermektedir ve bu hücrelerin sadece bazıları lökositlerdir (124).

İmmünohistokimyasal boyama ile menstrual siklusun her iki fazında, sadece ektopik dokuda mevcut olan bax negatif ve bcl-2 pozitif doku makrofaj toplulukları görülebilir. Bcl-2 nin eksprese olması ve bax'ın olmaması makrofajların apoptozise duyarlılığının azalmasına neden olmakta bu da yaşama kapasitelerini arttırmaktadır. Endometriozisli kadınlarda artmış oranda bulunan bcl-2 pozitif makrofajlar endometrial hücreleri apoptozise dirençli hale getirmektedir (133, 138).

II. V. IV. Endometriozis Fizyopatolojisinde Apoptoz

Endometriozisli kadınların endometrial hücreleri, ektopik yerlerde implante olarak yaşayabilme ve artmış proliferasyon yeteneğine sahiptir. Endometrial dokunun spontan apoptozise hassasiyetinin bozulması anormal implantasyon ve endometriumun ektopik yerlerde büyümesine zemin hazırlar. Endometrial hücrelerin bir ölüm sinyali transmit edememesi ya da hücre ölümüne karşı gelebilmeleri, bu hücrelerin, antiapoptotik faktörleri (ör: bcl-2) arttırması, preapoptotik faktörleri (ör: bax) azaltması ile ilişkilidir (139). Endometriozisli hastaların ötopik endometriumundaki anormal apoptozisin primer olarak ya da

pelvik endometrial proses gelişiminden sonra sekonder olarak geliştiği tam olarak açık değildir. Klinik prezentasyon ve teşhis sırasında bu kadınlarda hastalık zaten mevcut olduğu için erken gelişimsel dönemleri incelemek zordur.

Menstrüasyon sırasında endometrial fragmanların peritoneal kaviteye reflüsü çok yaygın bir olaydır. Normal durumlarda, ekstrasellüler matrikse yapışmayan hücreler, kendi adhezyon reseptörlerinden farklı uyarı aldıklarında apoptozise uğrarlar. Endometriozisli kadınlarda bu hücreler peritonun mezotelyal hücrelerine yapışma, prolifer olma ve neoangiogenez oluşturma kapasitesine sahiptirler ve bu da aktif endometriozis gelişmesi ile sonuçlanır. MMP'nin apoptotik faktörler üzerindeki etkisi ve steroid hormonlarla regülasyonu, endometrial turnover ve endometriozis gelişimi için gerekli olan invaziv proses arasında bir bağlantı sağlamış olur (140).

Ötopik endometrium ve endometriotik dokularda değişen apoptozis, endometriozisin fizyopatolojisini aydınlayabilen bir gerçektir. Ancak bu değişikliklerin, hastalığın gelişimi sürecinde bir sonuç olarak mı geliştiği, yoksa hastalığın sebebi mi olduğu tam açık değildir. Endometriozisin gelişimi ve devamına yol açan, altta yatan mekanizmalar hala merak edilen bir konudur. Son çalışmalar, bireyin endometriozise duyarlılığının, genetik faktörler tarafından etkilendiğini öne sürmektedir. Somatik kromozomlardaki genetik alterasyonlar ve tümör süpressör genlerini inaktive eden DNA delesyonları, endometriozisin başlangıcı, devamı ve ilerlemesine katkıda bulunabilir denilmektedir (141). Bu

çalışmalar, ovarian endometrioma ve ovarian kanser arasında ortak bir bağ olduğuna kanıt olarak gösterilmektedir (142).

Endometriozisli hastaların değişmiş gen ekspresyon profili için yapılan CDNA mikroassay analizi ilginç bir bakış açısı sağlar. Bu metot kullanılarak 2003'te yapılan bir çalışmada, endometriozisli kadınlarda 97 upregüle edilmiş ve 337 down regüle edilmiş genler bulunmuştur. Apoptozisle ilgili genler (GADD34.

GADD45A, GADD45B, PIG11) ve tümör süpressör geni TP53'ün endometriotik dokularda down –regüle olduğu görülmüştür (143). Bu bulgular endometrioziste apoptotik mekanizmayı düzenleyen gen ürünlerini bulmak, endometriozisin tedavisi ve teşhisini koymak için moleküler hedef açısından önemli bilgiler sağlayabilir. Endometriozisli kadınların apoptozisle ilişkili gen ekspresyonundaki değişiklikler, bu hastalığa olan bireysel hassasiyeti açıklamakta ve endometriozisin neden sadece bazı kadınlarda geliştiği sorusuna cevap olmaktadır.

II. V. V. Endometriozis ve Apoptozis Tedavisi

Endometriozis, östrojen bağımlı bir hastalıktır. Güncel tedavi, kan dolaşımındaki östrojen düzeylerinin postmenopozal düzeylere indirilmesinden oluşur. Endometriozisli kadınlardaki ötopik ve ektopik endometrial hücrelerin GnRH agonistleri ile inkübasyonu apoptotik oranı arttırmıştır. Apoptozis

hızındaki artış GnRH agonist uygulanımı sonrası apoptozisle ilişkili genlerin ekspresyonunda değişiklikler olmasından kaynaklanır (144, 145).

KOK (kombine oral kontraseptif) endometriozisli kadınlara hastalığın durumunu sabit tutmak, ilerlemesini önlemek veya rekürrensini azaltmak için verilebilir. KOK'un uzun dönem kullanımından sonra, endometrial bez proliferasyonunda duraklama ile sonuçlanan, ilerleyen endometrial atrofi gözlenir (146). Endometriozisli kadınlardaki ötopik endometriumda KOK, programlı hücre ölümünü artırır (139).

Progesteron, endometrial proliferasyon üzerine inhibitör etkilidir. KOK ve progesteron endometriumda apoptozisi artırır (147). Progestin ya da KOK kullanımı endometriozis tedavisinde, klinik olarak etkilidir.

Endometriozisin medikal tedavisi adeta GnRH agonist ya da steroidojenik bileşiklerle sınırlı kalmış gibi görünse de bunlar ideal tedavi oluşturmazlar. GnRH agonistlerle yapılan tedavinin yarattığı hipoöstrojenik ortam ile ilişkili yan etkileri önleme hedefiyle, endometriozisin medikal tedavisinin geliştirilmesi gerekir.

Yakın zamanda, deneysel çalışmalarda, endometrial hücrelerde apoptozisi regüle eden bileşikler incelenmiştir. Kültürdeki endometrial stromal hücrelerin apoptozisi, K-opioid'e maruziyet sonrası artmıştır. K-opioid, Fas proteinlerinin çok hızlı ve geçici bir up regülasyonuna sebep olmaktadır. K-opioidin apoptozis üzerindeki etkisi, Fas / Fas-L apoptotik yolunun aktivasyonu aracılığı ile

olmaktadır (148). Endometriozis tedavisi ile ilgili çalışmalar halen devam etmektedir.

Apoptoza müdahale edilerek geliştirilen tedavi örnekleri

Mevcut tedaviler

Aspirin, sikloksijenaz–2 inhibitörleri; Non-steroidal antiinflamatuvarların kolorektal adenoma ve kansere karşı koruyucu olduğu kanıtlanmıştır. Bu etki, sikloksijenaz–2 enziminin inhibisyonu doğrultusunda apoptozun indüklenebilmesinden dolayı olabilir.

Antikanser ilaçları, radyoterapi; Aslında bütün sitotoksik ilaçlar ve radyoterapi normal hücrelerde ve tümörlerde apoptozu indükler. p53 e bağımlı ve bağımsız mekanizmalar tanımlanmıştır.

Yeni tedaviler

Bcl–2 antisense; İlk klinik çalışmalar, *non-Hodgkin's lenfoma* gibi bazı hastalıkların olumlu sonuç verdiğini göstermiştir.

Rekombinant TRAIL; Akciğer, göğüs, kolon ve böbrek kanserlerinin TRAIL' e karşı duyarlı olduğu ve apoptozu uyardığı prelinik çalışmalarla kanıtlanmış ve desteklenmiştir.

Kaspaz inhibitörleri; Travmatik beyin yaralanması, amiyotrofik lateral skleroz ve Parkinson hastalığında pozitif prelinik hayvan modelleri.

Antioksidanlar; *Pyrrolidinedithiocarbamate* ve *6-hidroksi – 2, 5, 7, 8-tetramethylchromancarboxylic acid* (bir E vitamini analogu) floroaçil artışıyla kolorektal kanser hücrelerinde apoptozu indükler.

Interlökin–1 reseptör antagonistleri; Sıçan modellerinde iskemik beyin hasarında azalma.

II. VI. Matriks metalloproteinazlar

Menstrüel siklus boyunca endometriumun kanlanma ve kalınlaşma fizyolojisinde MMP'lar önemli bir role sahiptir. MMP ekspresyonu progesteron etkisi altındaki sekretuar faz boyunca azalmaktadır (149). Sekretuar faz sonunda steroidlerin azalması, MMP ekspresyonunun artmasına sebep olabilir (150). Bu nedenle endometriumdaki yüksek MMP ekspresyonu, endometriozis gelişimi ile ilişkili görünmektedir. Sampson tarafından önerilen teori basit görünmektedir.

Endometrial hücrelerin peritoneal kaviteye ulaşması için retrograd menstruasyon gereklidir ancak endometriozis çok daha fazla kompleksdir. Endometriozisli kadınlarda, retrograd olan menstrüel dokunun hastalığı olmayan kadınlarınkinden farklı özellikler içerdiği birçok çalışmada gösterilmiştir. Endometriotik doku ve ovaryan endometriomalarda MMP ekspresyonu ve MMP /

TIMP (matriks metalloproteinaz doku inhibitörü) oranı artmış olarak tespit edilmiştir (151–155). Bu değişiklikler dokulardaki ekstraselüler matriks yıkımını artırır. MMP ekspresyon seviyeleri, endometriozise eğilim ve hastalığın yaygınlığı ile ilişkilidir (155). Diğer taraftan uterin kavite dışına yayılan endometrium MMP ların azalması ile değişebilir (156). Endometriozisli kadınların endometiumlarının artmış proteolitik aktivitesi, peritona invaze olduklarında daha da artmaktadır (157,158). Östrojen ve progesteron endometriozis gelişimi ve MMP ekspresyonunda önemli bir faktördür (159 -161). Retrograd endometrium peritona invaze olunca, MMP üretilir ve lezyonun büyümesi için ekstraselüler matriks yıkılır, anjiogenezis indüklenir. Daha sonra endometriotik doku östrojen üretebilme yeteneği kazanır. Östrojen endometriotik dokunun büyümesini stimüle eder ve doku üzerinde parakrin etki gösterir. Ayrıca immünolojik faktörlerde retrograd endometriumun endometriotik dokuya dönüşmesinde rol oynamaktadır (162).

Bununla birlikte, MMP ların fonksiyonu sadece hastalığın oluşumu ve peritona invazyonunda majör bir rol oynamaktadır. Aksine hastalığın devamında bir etkileri yoktur. Endometriozisin medikal veya cerrahi tedavisinden sonra, MMP'ların inhibisyonu hastalığın rekürrensini önlemede önemli olabilir (163).

III. MATERYAL VE METOD

Hasta grubu Eylül 2008 – Mart 2009 tarihleri arasında, Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı Genel Jinekoloji Polikliniğine başvuran postoperatif endometriozis tanısı konulan kadınlardan, kontrol grubu endometriozis dışında çeşitli nedenlerle (myoma uteri, adenomyozis, tedaviye dirençli menometroraji, sebat eden kistik kitle vs) laparoskopi / laparotomi uygulanan kadınlardan oluşturuldu.

Endometriozis grubunun tanısı histopatolojik olarak konuldu. Hasta grubunda operasyon sırasında endometriomadan, kontrol grubunda ise normal endometriumdan steril bir şekilde yaklaşık 0,5cm'lik biopsiler alındı. Bu materyaller, herhangi bir işlem yapılmadan, sadece serum fizyolojik (SF) içeren epandorf tüplerine konularak, tazeliklerini kaybetmemeleri için hemen GÜTF Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı Laboratuvarı'na apoptozis çalışılması için gönderildi. Yine bu materyallerden hazırlanan preparatlar kaspaz 3 ve MMP-2 açısından değerlendirilmek üzere GÜTF Histoloji Anabilim Dalı Laboratuvarı'na gönderildi.

Hasta grubundan 9 tanesinin ötopik endometriumlarında aynı şekilde değerlendirmeye alınmıştır.

III. I. Yöntemler

III. I. I. Apoptozisin Değerlendirilmesi

Hücrelerin Dokudan Ayrılması

İçerisinde SF olan epandorflara alınan steril dokular laboratuara geldiğinde, SF ile yıkandıktan sonra steril bistüri yardımı ile petri kabında küçük parçalara ayrıldı. Doku parçalarının üzerine konsantrasyonu 1 mg/ml olan Kollajenaz tip XI (Sigma C-9407, ABD) enzimi içeren Phosphate Buffer Saline (PBS) çözeltisinden 1,5 ml eklenerek 37 °C'de % 5 CO₂ içeren ortamda yaklaşık 3 saat inkübe edilerek hücrelerin dokudan ayrılıp serbest hale geçmesi sağlandı. İnkübasyon esnasında belirli zaman aralıklarında bir kaç kez pipetaj yapıldı. Doku bütünlüğünün bozulduğu invert mikroskop kullanılarak kontrol edildi. Hücreler dokudan ayrıldıktan sonra 1200 rpm de 15 dakika santrifüj edilerek kollajenaz içeren PBS çözeltisi uzaklaştırıldı. Santrifüj sonunda oluşan hücre pelleti üzerine PBS çözeltisi eklendi. Bundan sonra akridin orange ve etidyum bromür boyaması ile apoptotik hücrelerin morfolojik değerlendirilmesi yapıldı.

Apoptozisin Morfolojik Olarak Değerlendirilmesi

Hücreler, PBS içerisinde hazırlanmış olan 2 µl akridin orange (100 µg/ml, Sigma A-6014) ve 2 µl etidyum bromür (100 µg/ml, Sigma E-8751) kullanılarak

boyandı. Sonrasında 490 nm eksitasyon dalga boyunda floresan mikroskobu ile incelendi. Bu protokole göre; boyama sonrasında canlı hücrelerin nükleusu parlak yeşil renkte görünür ve heterokromatin ile ökromatinin dağılımından kaynaklanan floresan yoğunluğunda farklılıklar gözlenir. Apoptotik hücreler, çekirdeğin periferinde kondanse olmuş hilal görüntüsünün olması ya da değişken büyüklükte parlak kürelerin varlığı ile ayırt edilir. Geç apoptotik ve nekrotik hücreler etidyum bromür boyanması nedeniyle kırmızı renkte görünürler ve birbirlerinden nekrotik hücrelerin çekirdek morfolojisi ile ayrılırlar. Nekrotik hücrelerin çekirdeği bir bütün halinde parlak kırmızı olarak görülürken, geç apoptotik hücre çekirdeği ise parçalanmış belirli bir şekli olmayan bir yapı olarak görünür (164).

Bu özellikler dikkate alınarak, gruplara kör aynı kişi tarafından her bir örnekten en az 500 hücre sayılarak apoptotik hücre yüzdesi hesaplandı

III. I. II. Kaspaz-3 ve MMP-2' nin Değerlendirilmesi

Hematoksilen-Eozin Boyama

Parafin bloklardan 5 mikron kalınlığında alınan kesitler önce 60 °C etüvde ve ksilolde deparafinize edildi ardından sırasıyla % 100, % 96, % 80, % 70'lik etil alkol ve distile su serilerinden geçirilerek rehidrate edildiler. Havada kurutulan kesitler hematoxilen ile 10 dk boyandıktan sonra musluk suyunda yıkandı ve % 3 lük amonyaklı suya daldırılarak mordantlandı (fazla boyanın azaltılması,

sabitlenmesi). Yeniden akarsuda yıkanan dokular 10 dk eozin ile boyandı. Akan musluk suyunda yeniden yıkanan dokular % 70, % 80, % 96, % 100'lük etil alkol serilerinden geçirilerek dehidrate edildi ve ksilolde şeffaflandırdıktan sonra entellan ile kapatıldı.

İmmünohistokimyasal Yöntem

İndirekt immünohistokimya yöntemi kullanılarak, biyopsi materyalinden hazırlanan parafin bloklardan elde edilen 5 mikron kalınlığındaki kesitler polilizinli lamlara alınarak etüvde ve ksilolde deparafinize ve azalan alkol gradiyentinde rehidrate edilerek distile suya kadar indirgendiler. Ardından % 10 0.1 M Citrate tampon solüsyonunda, maskelenen antijenleri açığa çıkarmak amacıyla yüksek dereceli mikrodalga fırında 20 dakika süreyle, "retrieval" aşamasına alındılar. Oda ısısında soğuyan dokular distile suda yıkandıktan sonra 3 kez 5'er dakika tuzlu fosfat tamponunda (PBS= Phosphate Buffer Saline) bekletildiler. Bu aşamada dokuların çevresi hidrofobik kalemle (Super PAP Pen, PN IM3580, Immunotech, Beckman Coulter Company, Marseille Cedex 9, kjkFrance) sınırlandırıldı ve ardından endojen peroksidaz aktivitesini ortadan kaldırmak için dokular 15 dk süreyle % 3'lük hidrojen peroksitte inkübe edildiler. PBS ile yıkanan dokular Ultra V blokta 5 dk tutulduktan sonra 1: 200 oranında dilüe edilmiş (Large Volume UltraAb Diluent, TA-125-UD, Thermo Scientific, Fremont, CA, USA) Kaspaz-3 primer antikoru (Cat. No: RB-1197 -P, Thermo Scientific, Fremont, CA, USA) ve kullanıma hazır MMP-2 primer antikoru (Cat. No: E6741, Thermo Scientific, Fremont, CA, USA) ile humidified chamber'da,

oda ısısında, 1 saat inkübe edildiler. Tekrar PBS ile yıkanan dokulara biotin ile sekonder antikor (Biotinylated Goat Anti-Polyvalent, TP-125-BN, Thermo Scientific, Fremont, CA, USA) 15 dk süreyle uygulandı. Takiben PBS de yıkanan dokulara 15 dk “streptavidin peroksidaz” (Streptavidin Peroxidase, TS-125-HR, Thermo Scientific, Fremont, CA, USA) ve yeniden PBS uygulandı. Reaksiyonun görünür hale gelmesi için AEC kromojen (AEC Substrate System TA-125-HA, Thermo Scientific, Fremont, CA, USA) 10 dk uygulandıktan sonra PBS ‘de yıkanan dokulara 2 dk “Mayer’s hematoksilen” ile zıt boyama uygulandı. Akan musluk suyunda yıkanan dokular su bazlı yapıştırıcı ile kapatıldı. Değerlendirmeler Board sınavı başarı belgeli iki histolog tarafından Leica DMI 4000 B (**Wetzlar, Germany**) imaj analizerli fotoşık mikroskopta değerlendirildi. Kaspaz 3 ve MMP-2 değerlendirilmesinde HSCORE değeri kullanıldı.

Histolojik skor (HSCORE), pozitif boyanmış epitel hücrelerinin yüzdelerinin toplamı ile boyama yoğunluğunun çarpılması ile elde edilen değerdir.

$$\text{HSCORE} = \sum P_i (I + 1)$$

I, boyama yoğunluğu (0=boyanma yok, 1=hafif, 2=orta ve 3=yoğun)

P_i, her bir yoğunluk için boyanmanın yüzde oranı (165).

III. I. III. İstatistiksel Analiz

Bu çalışmada verilerin analizi SPSS 11.0 paket programı (Statistical package for the social sciences-SPSS inc., Illinois USA) ile yapılmıştır. Sürekli değişkenlerin dağılımlarının normal dağılıma yakın olup olmadığı Shapiro Wilk testi ile araştırıldı. Tanımlayıcı istatistikler sürekli değişkenler için ortalama \pm standart sapma veya ortanca (minimum-maksimum) biçiminde, nominal değişkenler ise vaka sayısı ve (%) olarak ifade edildi. Gruplar arasında ortalamalar yönünden farkın önemliliği Student's t testi ile ortanca değerler yönünden farkın anlamlılığı ise Mann Whitney U testi ile değerlendirildi. Marker ölçümleri ile sırasıyla; yaş, evre ve CA125 arasında istatistiksel olarak anlamlı birlikteliğin olup olmadığı Spearman'ın korelasyon analizi ile incelendi. Nominal değişkenler Pearson'un Ki-Kare veya Kesin Sonuçlu Ki-Kare testleriyle incelendi. $p < 0,05$ için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

IV. BULGULAR

İstatistiksel Bulgular

Çalışmaya 30'u hasta, 30'u kontrol grubu olmak üzere toplam 60 olgu alındı. Gruplar, **yaş, gravida, parite, abortus, menstrual faz, CA125, apoptozis yüzdesi, kaspaz-3 ve MMP-2'nin hscore değerleri** açısından karşılaştırıldı.

Kontrol grubunun **yaş ortalaması ve gravide sayısı** vaka grubuna göre anlamlı olarak daha yüksek idi (**p<0,001 ve p<0,001**) (Tablo 2).

Tablo 2. Demografik Veriler

Değişkenler	Vaka Grubu (n=30)	Kontrol Grubu (n=30)
Yaş	32,7 ± 7,3	50,2 ± 7,6
Gravida	1 (0–6)	4 (0–15)
Parite	1 (0–4)	2 (0–10)
Abort Sayısı	0 (0–1)	0 (0–4)
Evre		
<i>Evre I</i>	2 (% 6,7)	-
<i>Evre II</i>	16 (% 53,3)	-
<i>Evre III</i>	11 (% 36,7)	-
<i>Evre IV</i>	1 (% 3,3)	-

Menstrual faza göre olguların dağılımı incelendiğinde vaka ve kontrol grupları arasında sırasıyla; foliküler ve luteal faz dağılımı yönünden istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmezken (**p=0,302 ve p=0,98**), menopoza oranı vaka

grubuna göre kontrol grubunda anlamlı olarak daha yüksek idi ($p=0,024$) (Tablo 3)

Tablo 3. Menstrual Faza Göre Olguların Dağılımı

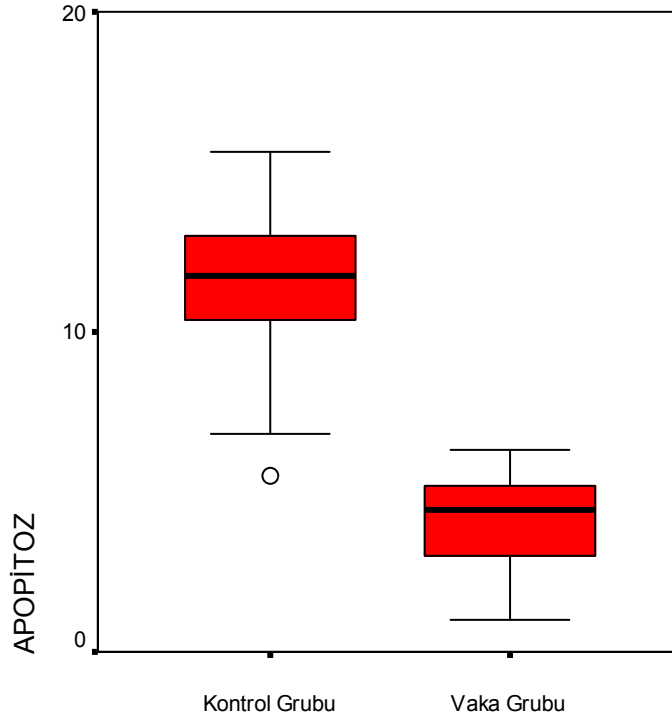
Değişkenler	Vaka Grubu (n=30)	Kontrol Grubu (n=30)	P
SAT			
<i>Foliküler</i>	17 (% 56,7)	13 (% 43,3)	0,302
<i>Luteal</i>	13 (% 43,3)	11 (% 36,7)	0,598
<i>Menopoz</i>	-	6 (% 20, öö0)	< 0,05

Kontrol grubuna göre vaka grubunun **CA125 seviyeleri (Ü/ml)**, **MMP 2-G ve MMP 2-S düzeyleri (hscore)** kontrol grubuna göre istatistiksel anlamlı olarak daha yüksek idi ($p=0,050$; $p<0,001$ ve $p<0,001$). Ayrıca, vaka grubunun **APOPITOZ yüzdesi**, **KASPAZ 3-G ve KASPAZ 3-S düzeyleri (hscore)** kontrol grubuna göre istatistiksel anlamlı olarak daha düşük idi ($p<0,001$; $p<0,001$ ve $p<0,001$) (Tablo 4).

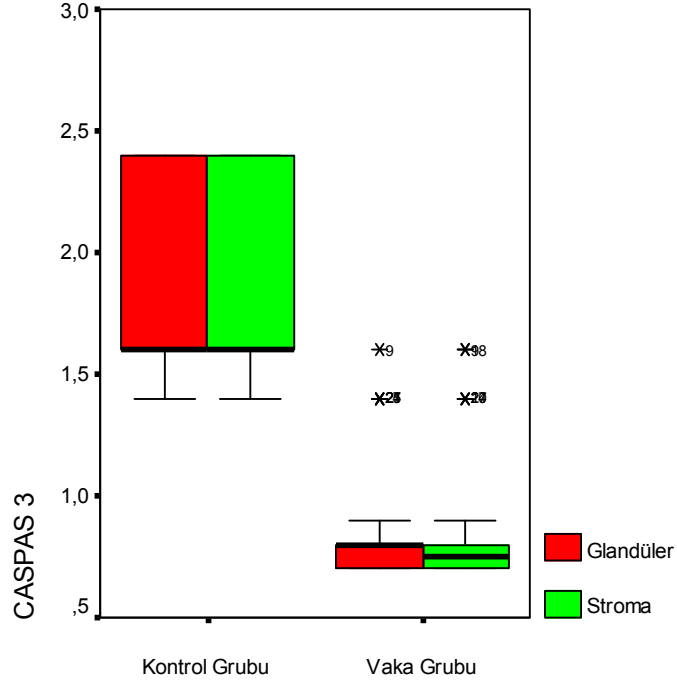
Tablo 4. Gruplara Göre Laboratuvar Ölçümleri

Değişkenler	Vaka Grubu	Kontrol Grubu	P
CA125	42,8 (12,4–1000,0)	20,7 (101, -134,8)	0,050
APOPİTOZ	4,4 (1,0–6,3)	11,7 (5,5–15,6)	<0,001
KASPAZ 3-G	0,8 (0,7–1,6)	1,6 (1,4–2,4)	<0,001
KASPAZ 3-S	0,75 (0,7–1,6)	1,6 (1,4–2,4)	<0,001
MMP 2-G	2,1 (1,4–3,2)	1,4 (0,7–1,6)	<0,001
MMP 2-S	2,8 (2,1–3,6)	1,4 (0,7–2,4)	<0,001

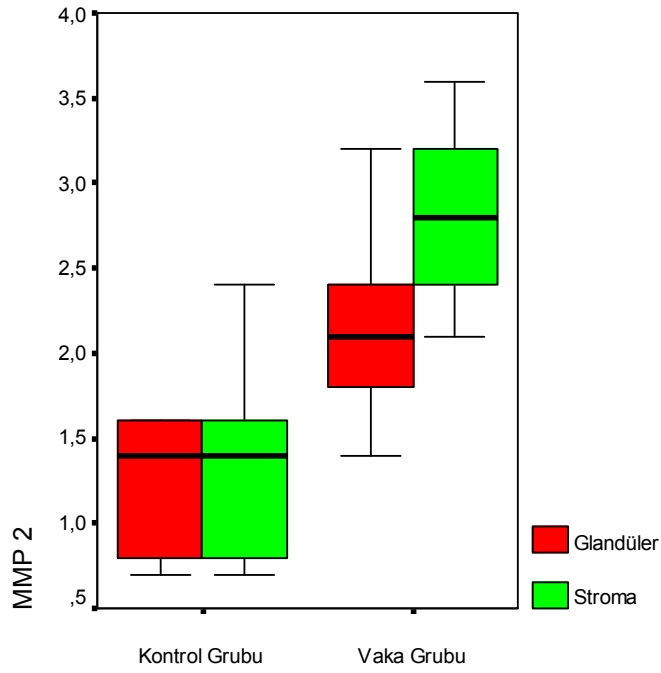
CA125 (Ü/ml), Apoptoz (yüzde), Kaspaz 3-G/S (hscore),MMP 2-G/S (hscore)



Şekil 5. Gruplara Göre Apoptoz Ölçümleri



Şekil 6. Gruplara Göre KASPAZ 3 Ölçümleri



Şekil 7. Gruplara Göre MMP 2 Ölçümleri

Vaka grubu içerisinde yaş ile sadece **MMP 2-S** arasında istatistiksel olarak anlamlı ters yönlü korelasyon saptandı ($r=-0,369$ ve $p=0,045$) (Tablo 5).

Tablo 5. Yaş, Evre ve CA125 ile Markerlar Arasındaki Korelasyon Katsayıları ve Önemlilik Düzeyleri

Değişkenler	Yaş		Evre		CA125	
	<i>r</i>	<i>p</i>	<i>R</i>	<i>P</i>	<i>R</i>	<i>P</i>
APOPITOZ	0,372	0,191	-0,053	0,857	0,249	0,487
KASPAZ 3-G	0,000	0,998	-0,093	0,624	-0,061	0,779
KASPAZ 3-S	-0,211	0,263	0,074	0,697	-0,340	0,104
MMP 2-G	-0,010	0,958	-0,248	0,187	0,249	0,241
MMP 2-S	-0,369	0,045	0,179	0,345	-0,114	0,597

Vaka grubu içerisinde menstrual faza göre **foliküler ve luteal fazdaki** olgular arasında sırasıyla; apopitoz, caspas ve MMP 2 düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmedi ($p>0,05$) (Tablo 6).

Tablo 6. Vaka Grubunda Menstrual Faza Göre Markerlardan Elde Edilen Ölçümler

Değişkenler	Foliküler(n=17)	Luteal(n=13)	P
APOPITOZ	4,0 (2,0–5,0)	4,9 (1,0–6,3)	0,438
KASPAZ 3-G	0,7 (0,7–1,6)	0,8 (0,7–1,4)	0,170
KASPAZ 3-S	0,7 (0,7–1,6)	0,8 (0,7–1,4)	0,133
MMP 2-G	2,1 (1,4–3,2)	2,1 (1,6–2,4)	0,300
MMP 2-S	2,8 (2,1–3,2)	2,8 (2,1–3,6)	0,711

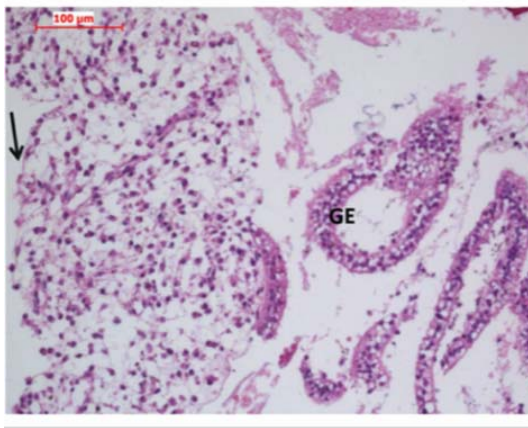
Vaka grubu içerisinde erken ve ileri evredeki olgular arasında sırasıyla; **apopitoz, kaspas ve MMP 2** düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmedi ($p>0,05$) (Tablo 7).

Tablo 7. Vaka Grubunda Erken ve İleri Evreye Göre Markerlardan Elde Edilen Ölçümler

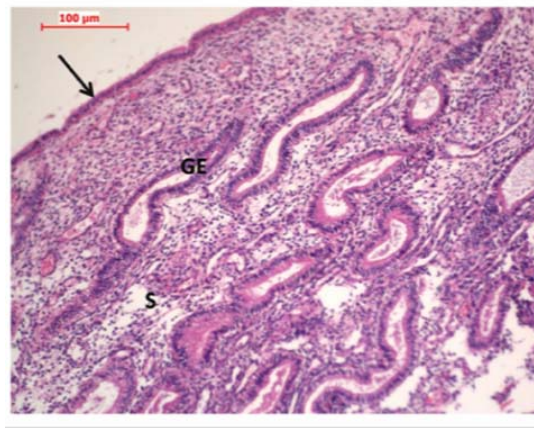
Değişkenler	Erken Evre(n=18)	İleri Evre (n=12)	P
APOPITOZ	4,9 (1,0–6,3)	4,0 (3,0–6,0)	1,000
KASPAZ 3-G	0,8 (0,7–1,4)	0,7 (0,7–1,6)	0,415
KASPAZ 3-S	0,75 (0,7–1,6)	0,75 (0,7–1,6)	0,884
MMP 2-G	2,1 (1,6–3,2)	2,1 (1,4–2,4)	0,200
MMP 2-S	2,8 (2,1–3,2)	3,0 (2,1–3,6)	0,573

Histopatolojik Bulgular

Endometriozis grubunun endometriomalarından elde edilen ve HematoksilenEozin boyalı kesitlerde yüzey epitelinin olmadığı ya da çok zayıf olarak korunduğu, yer yer lökosit infiltrasyonları ve dezorganize glandlar saptandı (Resim 1). Kontrol grubu endometriumunda normal yapıda epitelyal, stromal ve glandüler yapılar izlendi (Resim 2).



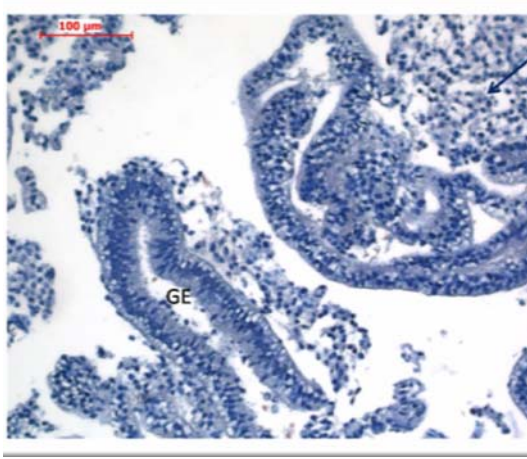
Resim 1. Endometriozis dokusuna ait grupta epitelin döküldüğü, bez epiteli organizasyonunun bozulduğu ve intraepitelyal lenfosit infiltrasyonu dikkati çekiyor. (x200, Hematoksilen & Eozin)



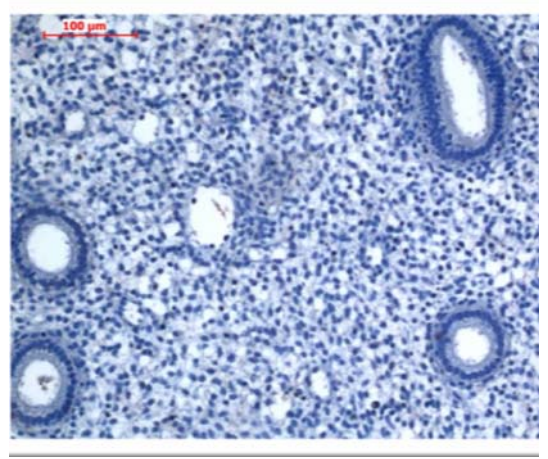
Resim 2. Normal endometriuma ait dokuda yüzey epiteli ve gland epitelinin normal yapıda olduğu izleniyor (x200, Hematoksilen & Eozin)

İmmünohistokimyasal Bulgular

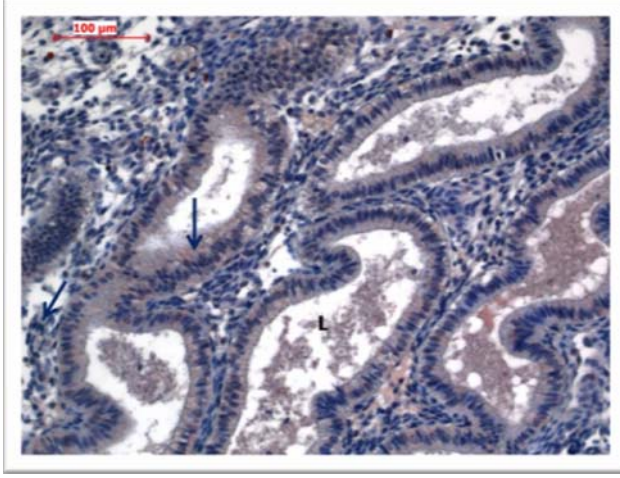
Endometriozis grubuna ait kesitlerde kaspaz-3 tutulumunun yüzey epiteli, stroma ve glandüler epitelde olmadığı ya da bazı örneklerde hafif dereceli tutulum gösterdiği dikkati çekti (Resim 3, 4).



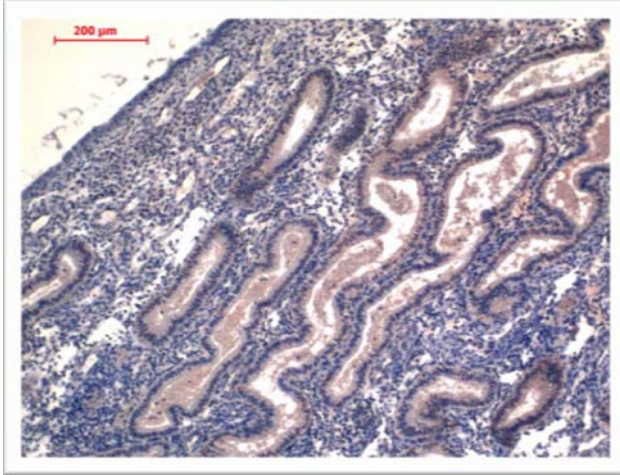
Resim 3. Endometriozis dokusuna ait grupta yüzey epiteli, gland epiteli ve stromada kaspaz-3 tutulumunun olmadığı izleniyor (x200, kaspaz-3 İmmünperoksidaz)



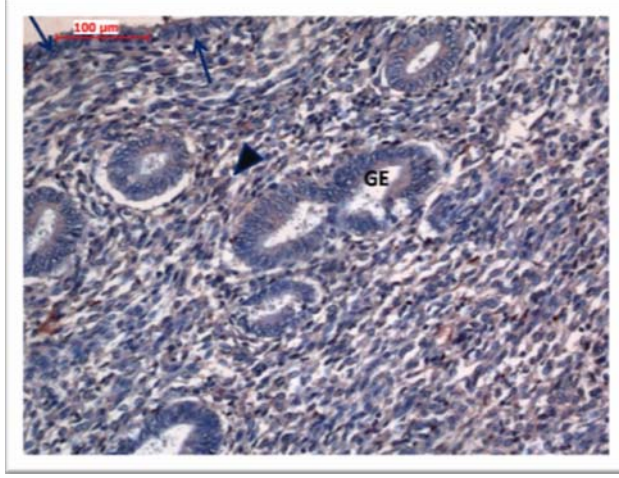
Resim 4. Endometriozis dokusuna ait grupta gland epiteli ve stromada kaspaz-3 tutulumunun olmadığı izleniyor (x200, Kaspaz-3 İmmünperoksidaz)



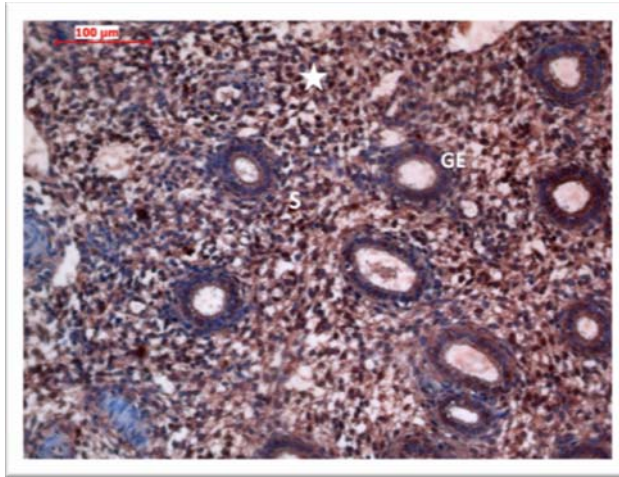
Resim 5. Normal endometriuma ait grupta yüzey epiteli, gland epiteli ve stromada, hafiften orta dereceye değişen kaspaz-3 tutulumu izleniyor. (x200, Kaspaz-3 İmmünperoksidaz)



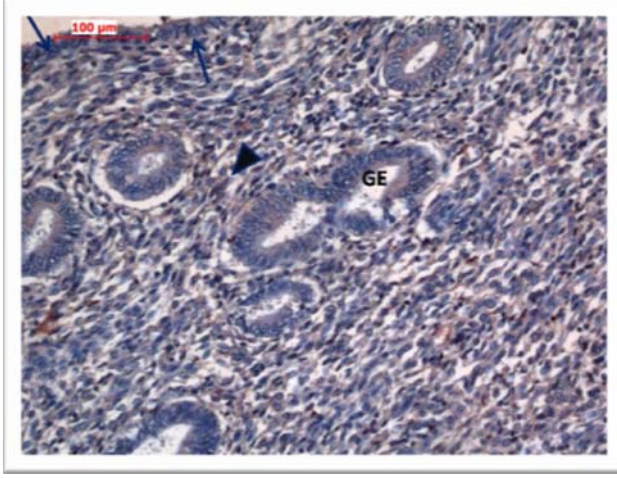
Resim 6. Normal endometriuma ait grupta gland epiteli ve stromada, orta dereceli kaspaz-3 tutulumu izleniyor. (x400, Kaspaz-3 İmmünperoksidaz)



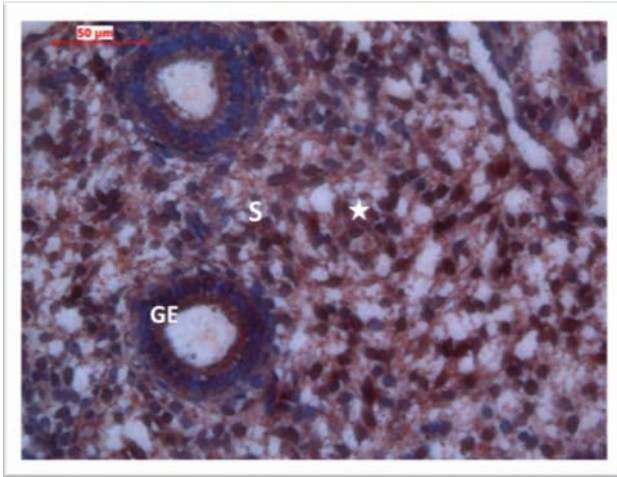
Resim 7. Endometriozis dokusuna ait grupta yüzey epitelinde hafiften ortaya, gland epiteli ve stromada ortadan kuvvetliye değişen derecelerde MMP-2 tutulumunun olduğu izleniyor. (x200, MMP-2 İmmünperoksidaz)



Resim 8. Endometriozis dokusuna ait grupta gland epiteli ve stromada kuvvetli MMP-2 tutulumunun olduğu izleniyor. (x200, MMP-2 İmmünperoksidaz)



Resim 9. Endometriozis dokusuna ait grupta gland epiteli ve stromada kuvvetli MMP-2 tutulumunun olduğu izleniyor (x400, MMP-2 İmmünperoksidaz)



Resim 10. Normal endometrium dokusuna ait grupta yüzey epitelinde hafif, gland epiteli ve stromada hafif ve orta dereceli MMP-2 tutulumunun olduğu izleniyor. (x200, MMP-2 İmmünperoksidaz)

Kontrol grubuna ait kesitlerde yüzey epiteli, stroma ve glandüler epitelde hafiften orta dereceye doğru değişim gösteren kaspaz-3 tutulumu izlendi (Resim 5, 6).

Endometriozis grubuna ait kesitlerde yüzey epitelinde hafiften ortaya (Resim 7), stroma ve glandüler epitelde ortadan kuvvetliye değişim gösteren MMP-2 tutulumu dikkati çekti (Resim 7, 8, 9).

Kontrol grubuna ait kesitlerde yüzey epitelinde hafif, stroma ve glandüler epitelyumde hafiften orta dereceye doğru değişim gösteren MMP-2 tutulumu izlendi (Resim 10).

Endometriozis grubundan 9 hastada bakılan ötopik endometriuma ait biopsi örneklerinde yüzey epiteli ve bez epitelinde orta dereceden kuvvetliye doğru değişim gösteren ve stromada orta dereceli MMP-2 tutulumu izlendi. Yüzey epiteli, bez epiteli ve stromada zayıftan orta dereceye değişim gösteren kaspaz -3 tutulumu dikkati çekti.

V. TARTIŞMA

Endometriozis 1860 yılında tanımlanmasına rağmen etyolojisi ve fizyopatolojisi hakkındaki bilgiler hala yetersizdir.

En yaygın kabul edilen teori, Sampson tarafından 1920'lerde sunulan, hastalığın endometrial dokunun retrograd menstruasyon ile peritoneal kaviteye yayılımı sonucu gelişmesidir (6). Endometriozis patogenezinde retrograd menstruasyon, hücresel ve biyokimyasal gelişmelerle birlikte genetik, çevresel ve immünolojik faktörlerden yapılabir zeminde gelişir. Yapılan çalışmalar ile endometriozisli kadınların ötopik endometriumlarının ektopik doku değişikliği gösterdiği, bu şekilde değişmiş ötopik endometriumdan derive edilen ve peritoneal kaviteye dökülen hücrelerin endometriozis geliştirme potansiyellerinin daha fazla olduğu ileri sürülmüştür (2).

Diğer taraftan da, endometriozisli bir hastanın ektopik dokusu ve ötopik endometriumu arasında gözlemlenen birçok farklılığın, peritoneal sıvının farklı ortamının direkt sonucu olduğu düşünülerek bu yönde araştırmalar yapılmıştır (3).

Etyopatogenezindeki mekanizmalardan son yıllarda üzerinde durulan konulardan birisi, Sharpe-Timms, Noble ile Selam ve arkadaşlarının yaptığı çalışmalar ışığında endometriozisli hastaların ötopik ve ektopik endometriumunda apoptozis regülasyonundaki değişikliklerdir (1, 2, 119). Diğerleri ise Miltiadis Pitsos

ve arkadaşlarının yaptığı çalışma ile gösterdikleri ekstraselüler matriks yıkımında görev alan bir enzim grubu olan matriks metalloproteinazlardır (163).

Bizde çalışmamızda öncelikle endometriozisli hastalardaki apoptozis regülasyonunu değerlendirdik. Endometriozis grubundaki apoptozis yüzdesi kontrol grubuna göre anlamlı derecede düşük bulundu. Bu sonuç Harada ve arkadaşlarının yaptığı bir metaanaliz başta olmak üzere mevcut literatür ile uyumludur (166)

Selam ve arkadaşlarının 2002 yılında yaptığı bir çalışmada, büyüme faktörlerinin yokluğu, glukokortikoidler, DNA hasarı, iyonize radyasyona maruz kalma, kemoterapotik ilaçlara maruz kalma, stres ya da TNF / TNF rec ve Fas / Fas L dahil çeşitli reseptör / ligandların birleşmesi gibi çok sayıda stimülasyonun apoptozisi tetiklediği gösterilmiştir (132).

Apoptozis çok sayıda ek genler tarafından regüle edilmektedir. Bu genler programlı hücre ölümünü ya güçlendirir (p53 Bak, c-myc) ya da inhibe eder (bcl-2, bcl-xl, setrin) (157).

Selam ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada endometriozisli kadınlarda peritoneal kaviteye reflü olan endometrial hücrelerde apoptozis yüzdesinin çok azaldığı görülmüştür (133). Yine endometriozisli kadınların glandüler epitelindeki apoptozis indeksi kontrol grubuna göre daha düşük saptanmıştır. Endometriozisli hastalarda apoptozisdeki siklik variabilite kaybolmuştur.

Çok sayıda bileşenlerden oluşan, kompleks bir işleyiş mekanizmasına sahip olan ve çalışmamızda da gösterdiğimiz gibi apoptozis yüzdesindeki bu azalma endometriozis oluşumundaki tetikleyici nokta olabilir.

Apoptozisin en karakteristik özelliklerinden birisi, kromatin kondensasyonu ve DNA zincirlerinin dağılmasıdır. Bu tarz patolojiden önemli ölçüde, kaspazların endonükleazları aktive etmesi sorumludur. Şimdiye kadar sitozolde bulunan 14 kaspaz tanımlanmıştır (98, 99) (Tablo 1).

Kaspazlar bir seri olaylar dizisinde diğer prokaspazları aktive ederler. Kaspazlar; sitokin üretimine katkıda bulunanlar (kaspaz 1, 4, 5, 13), proteolizisin "başlatıcıları" (kaspaz 2, 8–10) ya da "uygulayıcıları" (kaspaz 3, 6, 7) olarak sınıflandırılırlar (88, 95). Ölüm sinyali veren başlatıcı kaspazlar, adaptöre bağlanırlar ve ölüme yönlendirirler ama infazı gerçekleştirmezler bunu yapacak olanları aktifleştirirler. İnfazı gerçekleştiren uygulayıcı (effektör) kaspazlardır. Uygulayıcı kaspazlar, başlatıcı kaspazların akışını aktive ederler (88). Hampton ve arkadaşlarının yaptığı çalışma ile apoptotik programın merkezi bileşeninin kaspazlar olduğu gösterilmiştir (100). Kaspaz aktivasyonu hücreye özgüdür ve kaspaz inhibitörlerinin (IAP) efektör kaspazları inhibe ederek apoptozu engellediği Büyükgebiz ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada gösterilmiştir (88).

Çalışmamızda kaspaz 3 düzeyleri hem glandüler hemde stromal epitelde, endometriozis grubunda anlamlı olarak düşük bulundu. Buna karşılık 9 hastada bakılan ötopik endometriumda hem glandüler hemde stromal dokuda ektopik

dokuya oranla daha yüksek tespit edildi. Bu değişikliklerin, hastalığın gelişimi sürecinde bir sonuç olarak mı geliştiği, yoksa hastalığın sebebi mi olduğu tam açık değildir. Sayının az olduğu düşünölmekle birlikte bu durum peritoneal kaviteye reflü olan endometriotik hücrelerde apoptozis yüzdesinin azaldığını göstermektedir. Bu sonuç Selam ve arkadaşlarının yaptığı çalışma ile uyumludur (133).

Olgu sayısının az olduğu düşünölmekle birlikte endometriozis grubunda anlamlı olabilecek bir değişken tespit edilemedi. Bu nedenle endometriozisli hastalarda genetik yatkınlık, immünolojik faktörler ve peritoneal sıvı mediatörlerinin etkisi ile hücreler peritoneal kavitede daha fazla yaşam kapasitesine sahip olabilir.

Çalışmamızda, endometriozis grubunda menstrüel faz ile apoptozis ve kaspaz 3'ün hem glandüler hemde stromal formu arasında anlamlı bir ilişki tespit edilmedi. Bu durumun olgu sayısının az ve menstrüel faz tipi açısından hastaların eşit olmamasıyla ilişkili olduğu düşünöldü.

Yapılan çalışmalar apoptozisin, siklusun menstrüel ve geç sekretuar fazında, uterin endometriumun fonksiyonel tabakasından, yaşlanmış hücreleri temizleyerek, hücrel homeostazisin korunmasına yardımcı olduğunu öne sürmektedir. Apoptozis, geç sekretuar ve menstrüel endometriumun salgısal epitelyumunda saptanmıştır. Proliferatif faz ve sekretuar fazın başlangıcında ise saptanan miktar çok azdır (5, 107).

Endometriozis ve kanser; hücre invazyonu, kontrolsüz büyüme, neoangiogenez ve apoptozise uğrayan hücre sayısında azalma gibi çeşitli yönlerden benzerdir. Normal endometriumda proliferasyon ve apoptozis kontrolündeki anormallikler neoplazi gelişimine katkıda bulunabilir. Glinsky ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada yüksek dereceli metastatik kanserlerin düşük metastatik formlarla kıyaslandığında apoptotik hücre ölümüne karşı daha yüksek oranda dirençli olduğu gösterilmiştir (167). Benzer şekilde endometriotik hücreler apoptozise daha az duyarlılık gösterirler. Peiro ve arkadaşlarının yaptığı bir metaanalizde endometriotik dokuların yüksek survivin (antiapoptotik protein) gen ekspresyonuna sahip olduğu gösterilmiştir (168). Survivin kaspaz-3 aracılıklı apoptozisi antagonize edebilir ve bunun sonucunda endometriozis gelişimini destekler ve ek olarak daha agresif kanser hücreleri fenotipiyle ilişkili olabilir.

Kaydedilecek ilerlemeler sayesinde, endometriozisli hastalarda, apoptotik faktörlerden biri olan kaspaz-3 için tespit edilebilecek bir cut-off değer ile kanser gelişme riski öngörülebilir.

Apoptozis endometriotik hastalarda karsinoma gelişimi bakımından merkez noktalardan birini temsil eder. Ancak endometriotik lezyonların malign transformasyonundaki apoptotik faktörlerin rolünü aydınlatmak için daha fazla çalışma gereklidir. Yakın bir gelecekte apoptotik faktörlerin tümör gelişimi bakımından yüksek risk taşıyan endometriozisli kadınları saptaması mümkün olabilir.

Mevcut literatür ve yaptığımız çalışmaya karşılık, Henrik ve arkadaşları tarafından endometriozis ve genetik polimorfizmi araştırmak için 124 makaleyi içeren bir metaanaliz yapılmıştır. Bu yayınlar, incelenen genetik poliformizmin tipine göre ve endometriozisle olan ilişkisinin sonucuna benzeyip benzemediğine göre sınıflanmıştır. İncelenen çalışmaların %50'sinde, endometriozis ve farklı polimorfizm arasında pozitif korelasyon saptanmıştır. Endometriozis ile apoptozis-hücre siklus regülasyonu ve onkogenler arasında negatif korelasyon olduğu belirtilmiştir (169). Ancak yaptığımız bu çalışma ile endometriozis ile apoptozis arasındaki pozitif korelasyon gösterilmiştir. Apoptotik programın merkezi bileşeni, kaspazlardan biri olan kaspaz-3'ün anlamlı bir şekilde düşük saptanması da pozitif korelasyonu güçlendirmektedir.

Çalışmamızda endometriozis grubunda MMP-2 düzeyleri hem glandüler hemde stromal epitelde anlamlı olarak yüksek bulundu. 9 hastanın ötopik endometriumunda bakılan MMP-2'nin her iki formunda ektopik dokuya göre ötopik endometriumda daha düşük tespit edildi. Hasta sayısı az olmakla beraber endometriozisli kadınların endometiumlarının artmış proteolitik aktivitesi, peritona invaze olduklarında daha da artmaktadır. Bu sonuç Hudelist ve arkadaşlarının yaptığı çalışma ile uyumludur (11, 158).

Endometrial hücrelerin peritoneal kaviteye ulaşması için retrograd menstruasyon gereklidir ancak endometriozis çok daha fazla kompleks olduğu için Sampson tarafından yapılan öneri basit gibi görünmektedir. Uzan ve arkadaşları başta olmak üzere yapılan çok sayıda çalışmada, endometriotik doku

ve ovaryan endometriomalarda MMP ekspresyonu ve MMP / TIMP (matriks metalloproteinaz doku inhibitörü) oranı artmış olarak tespit edilmiştir (151–155).

Diğer birçok patolojik durumlar gibi, endometrioziste MMP aktivitesi artmış veya bozulmuştur. MMP'ların anormal protein ve mRNA ekspresyonları ötopik ve endometriotik dokularda gösterilmiştir (154, 157, 170, 171). Collette ve arkadaşları ile Pan ve arkadaşlarının yaptıkları iki metaanalizde endometriozisli hastaların ötopik endometriumlarının daha invaziv ve peritoneal implantasyona eğilimli olmalarının çok yüksek oranda MMP–2 ve MMP–9 eksprese etmelerine bağlı olabileceği gösterilmiştir (170, 172).

Östrojen ve progesteron endometriozis gelişimi ve MMP ekspresyonunda önemli bir faktördür (159 -161). Ancak çalışmamızda kaspaz 3 de olduğu gibi MMP-2'nin hem glandüler hemde stromal formu ile menstrüel faz arasında anlamlı bir ilişki tespit edilmedi. Bu durumun olgu sayısının az ve menstrüel faz tipi açısından hastaların eşit olmamasıyla ilişkili olduğu düşünüldü.

Bununla birlikte, MMP ların fonksiyonu sadece hastalığın oluşumu ve peritona invazyonunda majör bir rol oynamaktadır. Aksine hastalığın devamında bir etkileri yoktur. Miltiadis ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada endometriozisin medikal veya cerrahi tedavisinden sonra, MMP'ların inhibisyonunun hastalığın rekürrensini önlemede önemli olabileceği düşünülmüştür (163).

Endometriozisin tanısında altın standart hala laparoskopidir. Kesin tanıya laparoskopik olarak lezyonların görülmesi ve histolojik değerlendirme ile ulaşılır. Günümüzde endometriozis tanısında ve takibinde laparoskopiye yardımcı olarak Ca 125 testi kullanılmaktadır. İnfertil ya da karın ağrısı olan kadınlarda bu testin spesifitesinin % 80'in üzerinde olduğu bildirilmiştir. CA125' in düşük sensivite düzeyi (% 20–50) testin endometriozis tanısında kullanımını sınırlamaktadır.

Kaspaz-3, endometriozisteki sensivite ve spesifitesinin belirlenebilmesi halinde CA125'e alternatif olabilir. Belkide riskli hastaların belirlenmesini sağlayabilir. Çalışmamızda anlamlı ilişki tespit edemediğimiz, kaspaz-3 ün menstrual faz veya bilemediğimiz faktörlerden etkilenmesi CA125 için geçerli olan dezavantajlara neden olabilir.

Kesin bir tedavi olmazsa endometrioziste nüks eğilimi vardır. Senelik nüks oranı ortalama % 5–20 kadardır. Moleküler biyoloji ve genetikteki ilerlemeler eşliğinde endometriozisli hastalarda kaspaz 3 ve MMP–2 için tespit edilebilecek bir cut-off değeri ile medikal veya cerrahi tedavi sonrası rekürrensi öngörebilmek mümkün olabilir şeklinde düşünülebilir. Ancak bunun için geniş serili çalışmalara gereksinim duyulmaktadır.

Apoptozise müdahale edilerek geliştirilen tedavi örnekleri arasında bulunan kaspaz inhibitörleri, apoptozisi indükleyebilmek için kaspaz aktivatörlerine yönlendirebilir. Böylece endometriozisin kısıtlı medikal tedavi yöntemlerine bir alternatif olabilir.

Ayrıca hastalığın oluşumunda etkisi olduğu yapılan çalışmalarda gösterilmiş olan MMP inhibisyonu, medikal veya cerrahi tedavi sonrası rekürrensi önlemede etkili olabilir (173).

Endometriozis için geçerli evreleme sistemi Amerikan Fertilité Topluluğu (American Fertility Society = AFS)'nin revizyona uğramış şeklidir. İmplantların görünümü, boyutu, peritoneal ve ovarian implantların derinliği, adneksiyal adhezyonların varlığı, yaygınlığı ve tipi ile cul-de-sac obliterasyonuna göre puanlama yapılmaktadır. Bu sistem endometriozis hastalığını yansıtır fakat ağrı veya infertiliteyi gözönünde bulundurmaz ayrıca gözlemciden kaynaklanan ve gözlemciler arası belirgin farklılıklar söz konusu olabilir. Hastalığın aktivite parametrelerini kapsayan bir klasifikasyon sistemi düşünülmüştür. Yinede AFS'nin revize edilmiş endometriozis klasifikasyonu, spontan evölüsyonu değerlendirmek ve terapötik yaklaşımları karşılaştırmak için uluslararası olarak kabul edilmiş tek sınıflandırma sistemidir.

Çalışmamızda bakılan markerlar endometriozisteki aktivite parametrelerinden olabilir. Böylece AFS'nin daha objektif değerlendirilmesini sağlayabilir.

Endometriozis etyolojisinde apoptozisin rolü olabilir. Kaspaz-3 seviyelerinin düşük tespit edilmesi de bu görüşü desteklemektedir. Endometrioziste apoptotik süreci başlatabilecek mekanizmaları saptayabilmek ve

tedavi alternatifini sunabilmek açısından umut vermektedir. Ayrıca MMP ların inhibisyonu ile endometriozisin gerilediği hayvan deneylerinde gösterilmiştir.

Çalışmamızda tespit edilen sonuçların mevcut literatürlerle birlikte değerlendirilmesiyle öne sürdüğümüz savların doğruluk derecesini belirlemek için geniş serili çalışmalar ihtiyaç vardır.

VI. SONUÇLAR

1. Apoptozis yüzdesi, endometriozis grubunda istatistiksel açıdan anlamlı olarak daha düşük tespit edildi.

2. Kaspaz-3'ün hem glandüler hem de stromal epiteldeki düzeyleri, endometriozisli hastaların ektopik dokularında istatistiksel açıdan anlamlı olarak düşük bulundu.

3. Sadece 9 endometriozisli olgunun ötopik endometriumunda bakılabilen, kaspaz-3'ün glandüler ve stromal epiteldeki düzeyleri, ektopik dokularındaki düzeylerinden yüksek idi.

4. MMP-2'nin hem glandüler hem de stromal epiteldeki düzeyleri endometriozisli hastaların ektopik dokularında istatistiksel açıdan anlamlı olarak yüksek bulundu.

5. 9 endometriozisli olgunun ötopik endometriumunda bakılabilen MMP-2'nin glandüler ve stromal epiteldeki düzeyleri, ektopik dokularındaki düzeylerinden düşük idi.

6. Apoptozis, kaspaz-3 ve MMP-2'nin hem glandüler hem de stromal epiteldeki düzeyleri ile menstrual faz arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark

VII. ENDOMETRİOZİS ETYOPATOGENEZİNDE APOPTOZİS-KASPAZ 3 VE MATRİKS METALLOPROTEİNAZ 2' NİN DEĞERLENDİRİLMESİ

TÜRKÇE ÖZET

Endometriozis benign, östrojen bağımlı ve etyopatogenezi hala anlaşılammış olan bir hastalıktır. Apoptozis, ötopik endometrial fonksiyonun regülasyonunda önemlidir. Endometrioziste, uterin kavite dışında bulunan ektopik doku uygun stimulusa cevap olarak ya hücresele proliferasyonu artırır ya da apoptozisi azaltır. Matriks metalloproteinazlar, ekstraselüler matriks yıkımında görevli bir enzim grubudur. Bu enzimlerin ekspresyonları menstrual ve proliferatif faz boyunca artarken, sekretuar fazda azalmaktadır. Ayrıca endometrial hücrelerin peritona invaze olup, endometriotik lezyonları oluşturabilmeleri için ekstraselüler matriks yıkımı zorunludur. Etik kurul onayı alındıktan sonra çalışmaya, endometriozisi olan 30 olgu hasta grubu, endometriozisi olmayan 30 olguda kontrol grubu olarak alındı. Operasyon sırasında endometriozisli hastaların endometriotik lezyonlarından, kontrol grubunun ise endometrial dokusundan biyopsiler alındı. Ayrıca hasta grubundaki 9 olgunun ötopik endometriumundan örnekleme yapıldı. Materyallerde apoptotik yüzde, kaspaz-3 (glandüler ve stromal) ve matriks metalloproteinaz-2 (glandüler ve stromal) düzeyleri değerlendirildi. Çalışmamızda hasta grubunda apoptozis yüzdesi ve kaspaz 3 düzeyleri azalmış, MMP-2 düzeyleri artmış olarak saptandı. Sonuç olarak, çalışmamız endometriozis etyopatogeneziinde değerlendirilen bu parametrelerin rolü olabileceğinin altını çizmektedir.

Anahtar kelimeler: Endometriozis, apoptozis, kaspaz-3 ve matriks metalloproteinaz-2.

VIII. EVALUATION OF APOPTOSIS – CASPASE-3 AND MATRIX METALLOPROTEINASE-2 IN ETHYOPATHOGENESIS OF ENDOMETRIOSIS-

SUMMARY

Endometriosis is a benign, estrogen dependent disease and its ethyopathogenesis is not fully understood currently. Apoptosis is crucial for regulation of eutopic endometrial function. Ectopic tissue outside uterine cavity either increases cellular proliferation or reduces apoptosis in response to appropriate stimulus in endometriosis. Matrix metalloproteinases are a group of enzyme involved in extracellular matrix destruction. Expression of these enzymes increase during menstrual and proliferative phase while decrease during secretory phase. Moreover it is mandatory to destruct extracellular matrix for endometrial cells to invade periton and create endometriotic lesions. After ethics board approval was obtained, a case group of 30 patients with endometriosis and a control group of 30 patients without endometriosis were included in the study. Biopsy samples were taken from endometriotic lesions of patients with endometriosis and from endometrial tissue of control group. Furthermore sampling was made from eutopic endometrium of 9 patients included in the case group. Caspase-3 (glandular and stromal) and matrix metalloproteinase-2 (glandular and stromal) levels were evaluated in apoptotic surface of materials. In this study we found that the percentage of apoptosis and caspase-3 levels in the case group were diminished. As a result, our study underlines that these parameters which are assesed may have a role in ethyopathogenesis of endometriosis.

Keywords: Endometriosis, apoptosis, caspase-3 and matrix metalloprotienase-2.

IX. KAYNAKLAR

1. Sharpe –Timms KL (2001). Endometrial anomalies in women with endometriosis. Ann NY Acad Sci 943,131-147.

2. Noble LS, Takayama K, Zetiun KM, Putman JM, Johns DA, Hinsshelwood MM, Agarwal VR, Zhao Y, Carr BR and Bulun SE (1997). Prostaglandins E2 stimulates aromatase expression in endometriosis-derived stromal cells. J Clin Endocrinol Metab 82,600-606

3. Koninckx PR, Kennedy SH and Barlow DH (1998). Endometriotic disease the role of peritoneal fluid. Hum Reprod Update 4,741-751.

4. Kokawa K, Shikone T and Nakano R. Apoptosis in the human uterine endometrium during the menstrual cycle. J Clin Endocrinol Metab 1996; 81: 4144- 7.

5. Shikone T, Yamoto M, Kokawa K, Yamashita K, Nishimori K and Nakano R. Apoptosis in human corpora lutea during cyclic luteal regression and early pregnancy. J Clin Endocrinol Metab 1996; 81: 2376- 80.

6. Linda C. Giudice, Lee C Kao. Endometriosis. Lancet 2004 ;364 :1789-99

7. De Hooghe TM. Clinical relevance of the baboon as a model for the study of endometriosis. Fertil Steril 1997;68:613–625.

8. Nap AW, Groothuis PG, Demir AY, Evers JL, Dunselman GA. Pathogenesis of endometriosis. Best Pract Res Clin ObstetGynaecol 2004;18:233-244.

9. Brosens I. Endometriosis and the outcome of in vitro fertilization. Fertil Steril 2004;81:1198-1200.

10. Nisolle M, Donnez J. Peritoneal endometriosis, ovarian endometriosis and adenomyotic nodules of the rectovaginal septum are three different entities. *Fertil Steril* 1997;68:585-595.

11. Kennedy S, Hadfield R, Westbrook C, Weeks DE, Barlow D, Golding S, Magnetic resonance imaging to assess familial risk in relatives of women with endometriosis, *Lancet* 352:1440,1998.

12. Garcia –Velasco JA, Arici A. Apoptosis and the pathogenesis of endometriosis, *Semin Reprod Med* 21:165, 2003.

13. Osteen KG, Yeaman GR, Bruner-Tran KL. Matriks metalloproteinases and endometriosis, *Semin Reprod Med* 21:155, 2003.

14. Osteen KG, Igarashi TM, Bruner-Tran KL. Progesterone action in the human endometrium: induction of unique tissue environment which limits matriks metalloproteinase (MMP) expression, *Front Biosci* 8:d78,2003.

15. Serdar E. Bulun, MD. Endometriosis, Review article, *N Engl J Med* 2009;360:268-79

16. Fanton JW, Golden JG. Radiation-induced endometriosis in *Maccaca mulatta*. *Radiat Res* 1991; 126: 141–46.

17. Rier SE, Martin DC, Bowman RE, et al. Endometriosis in rhesus monkeys (*Maccaca mulatta*) following chronic exposure to 2,3,7,8 tetrachlorodibenzo-p-dioxin. *Fundam Appl Toxicol* 1993;21:431-441.

18. Koninckx PR, Braet P, Kennedy SH, et al. Dioxin pollution and endometriosis in Belgium. *Hum Reprod* 1994;9:1001-91002.

19. Pauwels A, Schepens PJ, D’Hooghe T, Delbeke L, Dhont M, Brouwer A, Weyler J. The risks of endometriosis and exposure to dioxins and polychlorinated biphenyls: a case-controlled study of infertile women. *Hum Reprod* 2001;16:2050-2055.

20. Eskenazi B, Mocarelli P, Warner M, et al. Serum dioxin concentrations and

endometriosis: a cohort study in Seveso, Italy. *Environ Health Perspect* 2002;110:629-634.

21. Myers JP, Guillette LJ Jr, Palanza P, Parmigiani S, Swan SH, von Saal FS. The emerging science of endocrine disruption. Science and Culture Series. International Seminar on Nuclear War and Planetary Emergencies. 28th Session, 2003, Erice, Italy.

22. Haney AF, Muscato JJ, Weinberg JB. Peritoneal fluid cell populations in infertility patients, *Fertil Steril* 35:696,1981.

23. Halme J, Becker S, Hammond MG, Raj MH, Raj S. Increased activation of pelvic macrophages in infertile women with mild endometriosis, *Am J Obstet Gynecol* 145:333,1983.

24. Olive DL, Weinberg JB, Haney AF. Peritoneal macrophages and infertility: the association between cell number and pelvic pathology, *Fertil Steril* 44:772,1985.

25. Hill JA, Faris HM, Schiff I, Anderson DJ. Characterization of leukocyte subpopulations in the peritoneal fluid of women with endometriosis, *Fertil Steril* 50:216,1988.

26. Lebovic DI, Mueller MD, Taylor RN. Immunobiology of endometriosis, *Fertil Steril* 75:1,2001.

27. Sidell N, Han SW, Parthasarathy S. Regulation and modulation of abnormal immune responses in endometriosis, *Ann NY Acad Sci* 955:159,2002.

28. Sharpe-Timms KL, Piva M, Ricke EA, Surewicz K, Zhang YL, Zimmer RL. Endometriosis synthesizes and secretes a haptoglobin-like protein. *Biol Reprod* 1998;58:988-994.

29. Piva M, Horowitz GM, Sharpe-Timms KL. Interleukin-6 differentially stimulates haptoglobin production by peritoneal and endometriotic cells in vitro: a model for endometrium-peritoneum interaction in endometriosis. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86: 2553-2561.

30. Sharpe-Timms KL, Zimmer RL, Ricke EA, Piva M, Horowitz GM. Endometriotic haptoglobin binds to peritoneal macrophages and alters their function in women with endometriosis. *Fertil Steril* 2002;78:810-819.

31. Oosterlynck DJ, Cornillie FJ, Waer M, Vandeputte M, Koninckx PR. Women with endometriosis show a defect in natural killer activity resulting in a decreased cytotoxicity to autologous endometrium. *Fertil Steril* 1991;56:45-51.

32. Chegini N. Peritoneal molecular environment, adhesion formation and clinical implication. *Front Biosci* 2002;1:e91-115.

33. Gazvani R, Templeton A. Peritoneal environment, cytokines and angiogenesis in the pathophysiology of endometriosis. *Reproduction* 2002;123:217-226.

34. Bedaiwy MA, Falcone T. Peritoneal fluid environment in endometriosis: clinicopathological implications. *Minerva Ginecol* 2004;55:333-345.

35. Santanam N, Murphy AA, Parthasarathy S. Macrophages, oxidation and endometriosis. *Ann NY Acad Sci* 2001;955:183-200.

36. Van Langendonck A, Casanas-Roux F, Donnez J. Oxidative stress and peritoneal endometriosis. *Fertil Steril* 2002;77:861-870.

37. Hornung D, Waite LL, Ricke AE, Bentzien F, Wallwiener D, Taylor RN. Nuclear receptors PPAR- α and γ have opposing effects on monocyte chemotaxis in endometriosis. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86:3101-3114.

- 38. Hornung D, Chao VA, Wallwiener D, Taylor RN.** Thiazolidinedione inhibition of peritoneal inflammation. *Gynecol Obstet Invest* 2003;55:20-24.
- 39. Dogan S, Machicao F, Wallwiener D, Haering H-U, Diedrich K, Hornung D.** Association of peroxisome proliferators-activated receptor α 2 Pro-12-Ala polymorphism with endometriosis. *Fertil Steril* 2004;81:1411–1412.
- 40. Zondervan KT, Cardon LR, Kennedy S.** What makes a good case control study? Design issues for complex traits such as endometriosis. *Hum Reprod* 2002;17:1415-1423.
- 41. Nothnick WB.** Treating endometriosis as an autoimmune disease. *Fertil Steril* 2001;76:223-240.
- 42. Gleicher N, El-Roeiy A, Confino E, Friberg J.** Is endometriosis an autoimmune disease? *Obstet Gynecol* 1987;70:115-122.
- 43. Badawy SZ, Cuenca V, Stitzel A, Tice D.** Immune rosettes of T and B lymphocytes in infertile women with endometriosis. *J Reprod Med* 1987;32:194-197.
- 44. Wild RA, Shivers CA.** Antiendometrial antibodies in patients with endometriosis. *Am J Reprod Immunol Microbiol* 1985;8:84-86.
- 45. Grossinkinsky CM, Halme J.** Endometriosis: the host response. *Baillieres Clin Obstet Gynaecol* 1993;7:701-713.
- 46. Cramer DW, Missmer SA.** The epidemiology of endometriosis, *Ann NY Acad Sci* 955:11, 2002.
- 47. D Hooghe TM, Debrock S, Hill JA, Meuleman C.** Endometriosis and subfertility is the relationship resolved? *Semin Reprod Med* 21:243, 2003.

48. Olive DL, Schwartz LB. Endometriosis, *New Engl J Med* 328:1759,1993.

49. Eskenazi B, Warner ML. Epidemiology of endometriosis, *Obstet Gynecol Clin North Am* 24:235,1997.

50. Chatman DL, Ward AB. Endometriosis in adolescents, *J Reprod Med* 27:156,1982.

51. Goldstein DP, de Chohnoky C, Emans SJ, Leventhal JM. Laparoscopy in the diagnosis and management of pelvic pain in adolescents, *J Reprod Med* 24:251,1989.

52. Reese KA, Reddy S, Rock JA. Endometriosis in an adolescent population in Emory experience, *J Pediatr Adolesc Gynecol* 9:125,1996.

53. Hufman JW. Endometriosis in young teen –age girls, *Pediatr Ann* 10:501,1981.

54. Punnonen R, Klemi PJ, Nikkanen V. Postmenopausal endometriosis, *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 11:195,1980.

55. Djursing H, Petersen K, Weberg E. Symptomatic postmenopausal endometriosis, *Acta Obstet Gynecol Scand* 60:529,1981.

56. Sangi –Haghpeykar H, Poindexter III AN. Epidemiology of endometriosis among parous women, *Obstet Gynecol* 85:983,1995.

57. Davis GD, Thillet E, Lindemann J. Clinical characteristics of adolescent endometriosis, *J Adolesc Health* 14:362,1993.

58. Dell Endometriosis GIPIIS. Relationship between stage, site and morphological characteristics of pelvic endometriosis and pain, *Hum Reprod* 16:2668,2001.

59. Vercellini P, Trespidi L, De Giorgi O, Cortesi I, Parazzini F, Crosignani PG. Endometriosis and pelvic pain: relation to disease stage and localization, *Fertil Steril* 65:299,1996.

60. Fedele L, Bianchi S, Bocciolone L, Di Nola G, Parazzini F. Pain symptoms associated with endometriosis, *Obstet Gynecol* 79:767,1992.

61. Cornillie FJ, Oosterylynck D, Lauweryns JM, et al. Deeply infiltrating pelvic endometriosis histology and clinical significance. *Fertil Steril* 1990;53:978-983.

62. Barlow DH, Glynn CJ. Endometriosis and pelvic pain. *Baillieres Clin Obstet Gynaecol* 1993;7:775-790.

63. D'Hooghe TM, Debrock S, Hill JA and Meuleman C. (2003) Endometriosis and subfertility: is the relationship resolved? *Semin Reprod Med* 21,243–253

64. Gianetto-Berrutti A and Feyles V. (2003) Endometriosis related to infertility. *Minerva Ginecol* 55,407–416.

65. Barnhart K, Dunsmoor-Su R and Coutifaris C. (2002) Effect of endometriosis on in vitro fertilization. *Fertil Steril* 77,1148–1155 Jones GL, Kennedy SH and Jenkinson C (2002)

66. Matorras R, Rodriguez F, Gutierrez de Teran G, et al. Endometriosis and spontaneous abortion rate: a cohort study in infertile women. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 1998;77:101-105.

67. Marcoux S, Maheux R, Berube S and the Canadian Collaborative Group on Endometriosis. Laparoscopic surgery in infertile women with minimal or mild endometriosis. *N Eng J Med* 1997;337:217-222.

68. Gruppo Italiano per Studio dell Endometriosis. Ablation of lesions or no treatment in minimal –mild endometriosis in infertile women: a randomized trial. Hum Reprod 1999;14:1332-1334.

69. Matorras R, Rodriguez F, Pijoan JI, Soto E, Perez C, Ramon O, Rodriguez –Escudero F. Are there any clinical signs and symptoms that are related to endometriosis in infertile women? Am J Obstet Gynecol 174:620,1996.

70. Ripps BA, Martin DC. Correlation of focal pelvic tenderness with implant dimension and stage of endometriosis, J Reprod Med 37:620,1992.

71. Spaczynski RZ, Duleba AJ. Diagnosis of endometriosis, Semin Reprod Med 21:193,2003.

72. Bast RC, Klug TL, St. John E, et al. A radio –immunoassay using a monoclonal antibody to monitor the course of epithelial ovarian cancer. N Eng J Med 1983;309:883-887

73. Barbieri RL, Niloff JM, Bast RC Jr, et al. Elevated serum concentrations of CA125 in patient with advanced endometriosis. Fertil Steril 1986;45:630-634.

74. Pittaway DE. CA125 in women with endometriosis. Obstet Gynecol Clin North Am 1989;16:237-252.

75. Pittaway DE. The use of serial CA125 concentrations to monitor endometriosis in infertile Women. Am J Obstet Gynecol 1990;163:1032-103

76. Johnson RM. Endometriosis: the case for only aggressive treatment, J Reprod Med, 1998, 43: 309-315.

77. Mencaglia L, Wattiez A. Manual of gynecological laparoscopic surgery, ed. endo-press, Tuttlingen, 2001, 53-57.

78. Miller J, Shaw R, Casper R et al. Historical Prospective Cohort Study of the Recurrence of Pain after Discontinuation of Treatment with Danazol or GnRH-a. *Fertil Steril*, 1998, 70: 293-96.

79. Pagidas K, Falcone T, Hemraings R, et al. Comparison of reoperation for moderate (stage III) and severe (stage IV) endometriosis related infertility with IVF+ET, *Fertil Steril*, 1996, 65: 791-95.

80. Brosens LA, Puttemans PJ. Double-optic laparoscopy. Salpingoscopy, ovarian cystoscopy and endoovarian surgery with the argon laser. *Baillieres Clin Obstet Gynaecol* 1989; 3:595

81. The American Society for Reproductive Medicine. Revised American Society for Reproductive Medicine classification of endometriosis, *Fertil Steril* 67:819,

82. Koninckx PR, Meulaman C, Demeyere S, Lesaffre E, Cornillie FJ. Suggestive evidence that pelvic endometriosis is a progressive disease, whereas deeply infiltrating endometriosis is associated with pelvic pain. *Fertil Steril* 1991;55:759-65.

83. Raff MC. Social controls on cell survival and cell death. *Nature*. 1992: 356:397-400.

84. Ellis RE, Yuan JY, Horvitz HR. Mechanisms and functions of cell death. *Annu Rev Cell Biol*. 1991; 7:663-98.

85. Ameisen JC, Estaquier J, Idziorek T, De Beis F. Programmed cell death and AIDS pathogenesis: significance and potential mechanisms. *Curr Top Microbiol Immunol*. 1995; 200:195-211.

86. Dragunow M, MacGibbon GA, Lawlor P, et al. Apoptosis, neurotrophic factors and neurodegeneration. *Rev, Neurosci*. 1997: 8:223-65..

87. Israels LG, Israels ED. Apoptosis. *The Oncologist* 1999;4:332-9.

- 88. Büyükgebiz O, Caferler JS.** Apoptoz. Sendrom 2001;13:102-7.
- 89. Thompson EB.** Apoptosis. Annual Review of Physiology 1998; 60:525-32 .
- 90. Nanji AA, Hiller-Sturmhöfel S.** Apoptosis and necrosis: two types of cell death in alcoholic liver disease. Alcohol Health and Research World 1997; 21:325-30.
- 91. Hetts SW.** To die or not to die. The Journal of The American Medical Association (JAMA) 1998; 279:300-7.
- 92. Chao DT, Korsmeyer SJ.** BCL-2 family: regulators of cell death. Annual Review of Immunology 1998; 16:395-419
- 93. Behnia M, Robertson KA, Martin WJ.** Role of apoptosis in host defense and pathogenesis of disease. Official Publication of The American College of Chest Physi-cians (CHEST) 2000; 117:1771-7.
- 94. Roulston A, Marcellus RC, Branton PE.** Viruses and Apoptosis. Annual Review of Microbiology 1999; 53:577-628.
- 95. Budihardjo I, Oliver HLM.** Biochemical pathways of caspase activation during apoptosis. Annual Review of Cell and Developmental Biology 1999; 15:269-90.
- 96. Johnson DE.** Programmed cell death regulation: basic mechanisms and therapeutic opportunities. Leukemia 2000; 14:1340-44.
- 97. King KL, Cidlowski JA.** Cell cycle regulation and apoptosis. Annual Review of Physiology 1998;60:601-17.
- 98. Wang J, Chun HJ, Wong W, Spencer DM, Lenardo MJ.** Caspase-10 is an initiator caspase in death receptor signaling. Proceedings of The National Academy of Science of The United States of America (PNAS) 2001; 98:13884-8.

99. Strasser A, O'Connor L, Dixit VM. Apoptosis signaling. Annual Review of Biochemistry 2000; 69:217-45.

100. Hampton MB, Orrenius S. Redox regulation of apoptotic cell death. Biofactors 1998; 8:1-5.

101. Halme J, Hammond MG, Hulka JF, Raj S and Talbert LM (1984a) Increased activation of pelvic macrophages in infertile women with endometriosis. Obstet Gynecol 64,151-154.

102. Arumugam K and Lim JM (1997) Menstrual characteristics associated with endometriosis. Br J Obstet Gynecol 104,948-950.

103. Vinatier D, Orazi G, Cosson M and Dufour P (2001) Theories of endometriosis. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol 96,21-34.

104. Hopwood D and Levison DA (1976) Atrophy and apoptosis in the cyclical human endometrium. J Pathol 119,159-166.

105. Otsuki Y, Misaki O, Sugimoto O, Ito Y, Tsujimoto Y and Akao Y (1994) Cyclic bcl-2 expression in human uterine endometriura during menstrual cycle. Lancet 344,28-29.

106. Kerr JFR, Wyllie AH and Currie AR (1972) Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. Br J Cancer 26,239-257.

107. Tao X-J, Tilly Ki, Maravei DV, Shifren JL, Krajevski S, Reed JC, Tilly JT and Isaacson KB (1997) Differential expression of members of the bcl-2 gene family in proliferative and secretory human endometrium: glandular epithelial cell apoptosis is associated with increased expression of bax. J Clin Endocrinol Metab 82,2738-2746.

108. Reed JC (1997) Double identity for proteins of the Bcl-2 family. Nature 387,773-776.

109. Watanabe H, Kanzaki H, Narukavva S, Inoue T, Katsuragavva H, Kaneko Y and Mori T (1997) Bcl-2 and Fas expression in eutopic and ectopic human endometrium during the menstrual cycle in relation to endometrial cell apoptosis. *Am J Obstet Gynecol* 176, 360-368.

110. Otsuki Y (2001) Apoptosis in human endometrium: apoptotic detection methods and signaling. *Med Electron Microsc* 34,166-173.

111. B Rogers PA, Lederman F, Plunkett D and Affandi B (2000) Bcl-2, Fas, and caspase-3 expression in endometrium from levonorgestrel implant users with and without breakthrough bleeding. *Hum Reprod* 15(Suppl 3),152-161.

112. Oltvai ZN, Milliman CL and Korsmeyer SJ (1993) Bcl-2 heterodimerizes in vitro with a conserved homolog, Bax, the accelerated programmed cell death. *Cell* 74,609-619.

113. Boise LH, Gonzalez-Garcia M, Postema CE, Ding L, Lindsten T, Turka LA, Mao X, Nunez G and Thompson CB (1993) bcl-x, a bcl-2 related gene that functions as dominant regulator of apoptotic cell death. *Cell* 74,597-608.

114. Chittenden T, Harrington EA, O'Connor R, Flemington C, Lutz RJ, Evan GI and Guild BC (1995) Induction of apoptosis by the Bcl-2 homologue Bak. *Nature* 374,731-733.

115. Tao X-J, Sayegh RA, Tilly JT and Isaacson KB (1998) Elevated expression of the proapoptotic BCL-2 family member, BAK, in the human endometrium coincident with apoptosis during the secretory phase of the cycle. *Fertil Steril* 70,338-343.

116. Tabibzadeh S (1995) Signals and molecular pathways involved in apoptosis with special emphasis on human endometrium. *Hum Reprod* 1,303-323.

117. Nagata S and Golstein P (1995) The Fas death factor. *Science* 267,1449-1456.

- 118. Suda T, Okazaki T, Naito Y, Yokota T, Arai N, Ozaki S, Nakao K and Nagata S** (1995) Expression of the Fas ligand in T cell lineage. *J Immunol* 154,3806-3813.
- 119. Selam B, Kayisli UA, Mülayim N and Arici A** (2001) Regulation of Fas ligand expression by estradiol and progesterone in human endometrium. *Biol Reprod* 65,979-985.
- 120. Song J, Rutherford T, Naftolin F, Brown S and Mor G** (2002) Hormonal regulation of apoptosis and the Fas and Fas ligand system in human endometrial cells. *Mol Hum Reprod* 8,447-455.
- 121. Enari M, Hase A and Nagata S** (1995) Apoptosis by cytosolic extract from Fas-activated cells. *EMBO J* 14,5201-5208.
- 122. Shimizu S, Eguchi Y, Kamiike W, Matsuda H and Tsujimoto Y** (1996) Bcl-2 expression prevents activation of the ICE protease cascade. *Oncogene* 12,2251-2257.
- 123. Gebel HM, Braun DP, Tambur A, Frame D, Rana N and Dmowski DP** (1998) Spontaneous apoptosis of endometrial tissue is impaired in women with endometriosis. *Fertil Steril* 9,1042-1047.
- 124. Jones RK, Searle RF and Bulmer JN** (1998) Apoptosis and bcl-2 expression in normal human endometrium, endometriosis and adenomyosis. *Hum Reprod* 13,3496-3502.
- 125. Fujishita A, Chavez RO, Nakane PK, Yamabe T, Koji T, Ishimau T and Masuzaki H** (1997) Expression of estrogen and progesterone receptors in endometrium and peritoneal endometriosis: an immunohistochemical and in situ hybridization study. *Fertil Steril* 67,856-864.

126. Meresman GF, Vighi S, Buquet RA, Contreras-Ortiz O, Tesone M and Rumi LS (2000) Apoptosis and expression of Bcl-2, Bax in eutopic endometrium from women with endometriosis. *Fertil Steril* 74,760-766.

127. Hanada M, Aime-Sempe C, Şato T and Reed JC (1995) Structure-function analysis of Bcl2 protein Identification of conserved domains important for homodimerization with Bcl-2 and heterodimerization with Bax. *J Biol Chem* 270,11962-11969.

128. Garcia-Velasco JA, Mülayim N, Kayisli UA and Arici A (2002) Elevated soluble Fas ligand levels may suggest a role for apoptosis in women with endometriosis. *Fertil Steril* 78, 855-859.

129. Powell WC, Fingleton B, Wilson CL, Boothby M and Matrisian L (1999) The metalloproteinase matrilysin proteolytically generates active soluble Fas ligand and potentiates epithelial cell apoptosis. *Curr Biol* 9,1441-1447.

130. Vercellini P, De Giorno O, Aimi G, Panazza S, Uglietti A and Crosignani PG (1997) Menstrual characteristics in women with and without endometriosis. *Obstet Gynecol* 90,264,268.

131. Oosterlynck DJ, Meuleman C, Waer M and Koninckx PR (1994) Transforming growth factor beta activity is increased in peritoneal fluid from women with endometriosis. *Obstet Gynecol* 84,287-292.

132. Selam B, Kayisli UA, Garcia-Velasco JA and Arici A (2002a) Extracellular matrix-dependent regulation of Fas ligand expression in human endometrial stromal cells. *Biol Reprod* 66,1-5.

133. Selam B, Kayisli UA, Garcia-Velasco JA, Akbaş GE and Arici A (2002b) Regulation of Fas Ligand expression by IL-8 in human endometrium. *J Clin Endocrinol Metab* 8,3921-3927.

134. Jenkins S, Olive DL and Haney AF (1986) Endometriosis: pathogenetic implications to of the anatomic distribution. *Obstet Gynecol* 67,335-338.

135. Eischen A, Duclos B, Schmit-Goguel M, Rouyer N, Bergerat JP.
Hummel

M, Oskam R and Oberling F (1994) Human resident peritoneal macrophages:

phenotype and histology. *Br J Haematol* 88,712-722.

136. Harada T, Iwabe T and Terakawa N (2001) Role of cytokines in endometriosis. *Fertil Steril* 76,1-10.

137. Braun DP, Gebel H, Rana N and Dmowvski WP (1998) Cytolysis of eutopic and ectopic endometrial cells by peritoneal blood monocytes and peritoneal macrophages in women with endometriosis. *Fertil Steril* 6,1103-1108.

138. McLaren J, Prentice A, Charnock-Jones DS, Sharkey AM and Smith SA (1997) Immunocolonization of the apoptosis regulating proteins Bcl-2 and Bax in human endometrium and isolated peritoneal fluid macrophages in endometriosis. *Hurn Reprod* 12,146-152.

139. Meresman GF, Auge L, Baranao RI, Lombardi E, Tesone M and Sueldo C (2002) Oral contraceptives suppress cell proliferation and enhance apoptosis of eutopic endometrial tissue from patients with endometriosis. *Fertil Steril* 77,1141-1147.

140. Aplin AE, Howe A, Alahari SK and Juliano RL (1998) Signal transduction and signal modulation by cell adhesion receptors: the role of integrins, cadherins, immunoglobulin-cell adhesion molecules, and selectins. *Pharmacol Rev* 50,197-263.

141. Kosugi Y, Elias S, MalinakLR, Nagata J, Isaka K, Takayama M, Simpson JL and Bischoff FZ (1999) increased heterogeneity of chromosome17 aneuploidy in endometriosis. *Am J Obstet Gynecol* 180,792-797.

142. Campbell IG and Thomas EJ (2001) Endometriosis'. candidate genes. *Hum Reprod Update* 7,15-20.

143. Arimoto T, Katagiri T, Oda K, Tsunoda T, Yasugi T, Osuga Y, Yoshucavva H, Nishü O, Yano T, Taketani Y and Nakamura, Y (2003) Genome-wide cDNA microarray analysis of gene-expression profiles involved in ovarian endometriosis. *Int J Oncol* 22,551-560.

144. Imai A, Takagi A and Tamaya T (2000) Gonadotropin-releasing hormone analog repairs reduced endometrial celi apoptosis in endometriosis in vitro. *Am J Obstet Gynecol* 182,1142-1146.

145. Meresman GF, Bilotas MA, Lombardi E, Tesone M, Sueldo C and Baranao R (2003) Effect of GnRH analogues on apoptosis and release of interleukin-1P and vascular endothelial grovvtH factor in endometrial celi cultures from patients vvith endometriosis. *Hum Reprod* 18,1767-1771.

146. Koh ETA, Illingworth PJ, Duncan WC and Critchley HO (1995) Immunolocalization of Bcl-2 protein in human endometrium in the menstrual cycle and simulated early pregnancy. *Hum Reprod* 10,1557-1562.

147. Critchley HOD, Tong S, Cameron ST, Drudy TA, Kelly RW and Baird DT (1999) Regulation of bcl-2 gene family rmembers in human endometriumby antiprogestin administration in vivo. *J Reprod Fertil* 115,389-395.

148. Chatzaki E, Makrigrannakis A, Margioris AN, Kouimtzoglou E, and Gravanis A. (2001) The Fas/FasL apoptotic pathway is involved in K-opioid induced apoptosis of human endometrial stromal cells. *Mol Hum Reprod* 7,867-874.

149. Osteen KG, Rodgers WH, Gaire M, Hargrove JT, Gorstein F, Matrisian LM. Stromal-epithelial interaction mediates steroidal regulation of metalloproteinase expression in human endometrium. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1994;91:10129-10133.

150. Salamonsen LA, Butt AR, Hammond FR, Garcia R, Zhang J. Production of endometrial matrix metalloproteinases, but not their tissue inhibitors, is modulated by progesterone withdrawal in an in vitro model for menstruation. *J Clin Endocrinol Metab.* 1997;82:1409-1415.

151. Mizumoto H, Saito T, Ashihara K, et al. Expression of matrix metalloproteinases in ovarian endometriomas: immunohistochemical study and enzyme immunoassay. *Life Sci.* 2002;71:259-273.

152. Szamatowicz J, Laudanski P, Tomaszewska I. Matrix metalloproteinase-9 and tissue inhibitor of matrix metalloproteinase-1: a possible role in the pathogenesis of endometriosis. *Hum Reprod.* 2002;17:284-248.

153. Wolber EM, Kressin P, Meyhofer-Malik A, Diedrich K, Malik E. Differential induction of matrix metalloproteinase 1 and 2 in ectopic endometrium. *Reprod Biomed Online.* 2003;6:238-243.

154. Chung HW, Lee JY, Moon HS, et al. Matrix metalloproteinase-2, membranous type 1 matrix metalloproteinase, and tissue inhibitor of metalloproteinase-2 expression in ectopic and eutopic endometrium. *Fertil Steril.* 2002;78:787-795

155. Uzan C, Cortez A, Dufournet C, Fauvet R, Siffroi JP, Darai E. Eutopic endometrium and peritoneal, ovarian and bowel endometriotic tissues express different profile. *MMPsVirchows Arch.* 2004;445:603-609.

156. Cox KE, Piva M, Sharpe-Timms KL. Differential regulation of matrix metalloproteinase-3 gene expression in endometriotic lesions compared with endometrium. *Biol Reprod.* 2001;65:1297-1303.

157. Kyama CM, Overbergh L, Debrock S, et al. Increased peritoneal and endometrial gene expression of biologically relevant cytokines and growth factors during the menstrual phase in women with endometriosis. *Fertil Steril.* 2006;85:1667-1675.

158. Hudelist G, Keckstein J, Czerwenka K, et al. Estrogen receptor b and matrix metalloproteinase-1 are coexpressed in uterine endometrium and endometriotic lesions of patients with endometriosis. *Fertil Steril.* 2005;84(suppl 2):1249-1256.

159. Bruner-Tran KL, Eisenberg E, Yeaman GR, Anderson TA, McBean J, Osteen KG. Steroid and cytokine regulation of matrix metalloproteinase expression in endometriosis and the establishment of experimental endometriosis in nude mice. *J Clin Endocrinol Metab.* 2002;87:4782-4791.

160. D'Hooghe TM, Bambra CS, Raeymaekers BM, De Jonge I, Lauweryns JM, Koninckx PR. Intrapelvic injection of menstrual endometrium causes endometriosis in baboons (*Papio cynocephalus* and *Papio anubis*). *Am J Obstet Gynecol.* 1995;173:125-134.

161. Sillem M, Prifti S, Koch A, Neher M, Jauckus J, Runnebaum B. Regulation of matrix metalloproteinases and their inhibitors in uterine endometrial cells of patients with and without endometriosis. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2001;95:167-174.

162. Siristatidis C, Nissotakis C, Chrelias C, Iacovidou H, Salamalekis E. Immunological factors and their role in the genesis and development of endometriosis. *J Obstet Gynaecol Res.* 2006;32:162-17

163. Miltiadis Pitsos, MD, PhD, and Nikolaos Kanakas, MD, PhD. The Role of Matrix Metalloproteinases in the Pathogenesis of Endometriosis. *Reproductive Sciences* Vol. 000 No. 00 Month 2009 1-10

164. Muppidi J, Porter M, Siegel RM. Measurement of Apoptosis and Other Forms of Cell Death. Editörler: Coligan JE ve Kruisbeak AM, Current Protocols in Immunology, Bölüm 3.17.1-3.17.36, John Wiley & Sons, New York (2004).

165. McCarty KS Jr, Miller LS, Cox EB, et al. Estrogen receptor analyses. Correlation of biochemical and immunohistochemical methods using monoclonal antireceptor antibodies. Arch Pathol Lab Med 1985;109:716–21.

166. T.Harada, A.Kaponis, T.Iwabe, F.Taniguchi,G.Makrydimas, N.Sofikitis, M.Paschopoulos,E. Paraskevaidis and N.Terakawa (2004) Apoptosis in human endometrium and endometriosis.Human Reproduction Update,Vol.10,No.1 pp.29-38

167. Glinsky GV and Glinsky VV (1996) Apoptosis and metastasis: a superior resistance of metastatic cancer cells to programmed cell death. Cancer Lett 101,43-51

168. Peiro G, Diebold J, Burretton GB, Kimmig R and Lohrs U (2001) Cellular apoptosis susceptibility gene ekspression in endometrial carcinoma: correlation with Bcl-2, Bax and Caspase -3 ekspression and outcome. Int J Gynecol Pathol 20,359-367.

169. Henrik Falconer, MD, Thomas D’Hooghe, PhD and Gabriel Fried, PhD. Endometriosis and Genetic Polymorphisms. Obstetrical and Gynecological Survey 2007; 62:616-628

170. Collette T, Maheux R, Mailloux J, Akoum A. Increased expression of matrix metalloproteinase-9 in the eutopic endometrial tissue of women with endometriosis. Hum Reprod 2006;21:3059–3067.

171. Hudelist G, Lass H, Keckstein J, Walter I, Wieser F, Wenzl R, Mueller R, Czerwenka K, Kubista E, Singer CF. Interleukin 1alpha and tissue-

172. Pan H, Sheng JZ, Tang L, Zhu R, Zhou TH, Huang HF. Increased expression of c-fos protein associated with increased matrix metalloproteinase-9 protein expression in the endometrium of endometriotic patients. *Fertil Steril* 2008;90:1000–1007.

173. Pinar Akkaya, Gogsen Onalan, Nihan Haberal, Nilufer Bayraktar, Baris, Mulayim and Hulusi B. Zeyneloglu. Doxycycline causes regression of endometriotic implants: a rat model. *Human Reproduction*, Vol.1, No.1 pp. 1–9, 2009

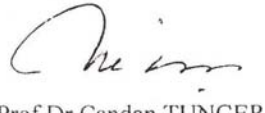


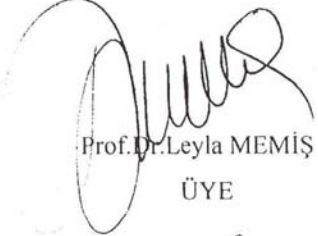
T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
YEREL ETİK KURULU


Tarih	Sayı	Konu
27.11.2006	346	Etik Kurul Kararı Hk.


Fakültemiz Öğretim Üyesi Doç.Dr.Aydan Biri'nin sorumlu araştırmacısı olduğu "Endometriozis patofizyolojisinde apoptozisin araştırılması amacı ile caspase 3 ve caspase 8 seviyelerinin tayini" başlıklı çalışması, Etik Kurulumuzca incelenerek uygun bulunmuştur.



Prof.Dr.Türkiz GÜRSEL
BAŞKAN


Prof.Dr.Candan TUNCER
ÜYE

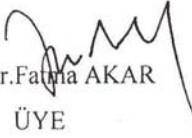

Prof.Dr.Leyla MEMİŞ
ÜYE

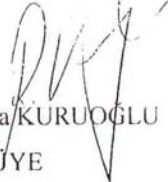

Prof.Dr.Ceyda KARADENİZ
ÜYE



Prof.Dr.Ayşel ARICIOĞLU
ÜYE

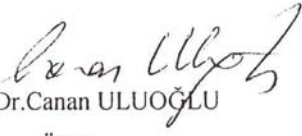

Prof.Dr.Ayla GÜLEKON
ÜYE

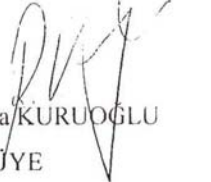
Prof.Dr.Esin ŞENOL
ÜYE(Katılmadı)


Prof.Dr.Fatma AKAR
ÜYE


Prof.Dr.Reha KURUOĞLU
ÜYE


Prof.Dr.E.Ferda PERÇİN
ÜYE


Doç.Dr.Canan ULUOĞLU
ÜYE


Doç.Dr.Nesrin ÇOBANOĞLU
ÜYE (Katılmadı)

Doç.Dr.Kenan HIZEL
ÜYE (Katılmadı)