



**T.C
SAĞLIK BAKANLIĞI
TÜRKİYE KAMU HASTANELERİ KURUMU ANKARA İLİ 1. BÖLGE
KAMU HASTANELER BİRLİĞİ GENEL SEKRETERLİĞİ
ZEKAİ TAHİR BURAK KADIN SAĞLIĞI
EĞİTİM VE ARAŞTIRMA HASTANESİ**

Başhekim: Doç. Dr. Salim ERKAYA

**RATLARDA OLUŞTURULAN DENEYSEL ENDOMETRİYOZİS
MODELİNDE CD-20 MONOKLONAL ANTİKOR OLAN
RİTUKSİMAB'IN ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Dr. Ayşe ÇİTİL DOĞAN

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. Mahmut Nedim ÇİÇEK

ANKARA

2014



**T.C
SAĞLIK BAKANLIĞI
TÜRKİYE KAMU HASTANELERİ KURUMU ANKARA İLİ 1. BÖLGE KAMU
HASTANELER BİRLİĞİ GENEL SEKRETERLİĞİ
ZEKÂİ TAHİR BURAK KADIN SAĞLIĞI
EĞİTİM VE ARAŞTIRMA HASTANESİ**

Başhekim: Doç. Dr. Salim ERKAYA

**RATLARDA OLUŞTURULAN DENEYSEL ENDOMETRİYOZİS
MODELİNDE CD-20 MONOKLONAL ANTİKOR OLAN
RİTUKSİMAB ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Dr. Ayşe ÇİTİL DOĞAN

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. Mahmut Nedim ÇİÇEK

ANKARA

2014

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimimi tamamladığım Ankara Zekai Tahir Burak Kadın Sağlığı Eğitim ve Araştırma Hastanesi'nde bizlere iyi bir eğitim ve çalışma ortamı sağlayan değerli başhekimimiz Doç. Dr. Salim Erkaya'ya,

Asistanlık eğitimim ve tez hazırlama dönemim süresince bana yol gösteren, bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım değerli tez hocam Prof. Dr. Mahmut Nedim Çiçek'e,

Asistanlık eğitim sürecimin her aşamasında bana içtenlikle yol gösteren ve yardım eden, bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım Dr. Hüseyin Yeşilyurt, Doç. Dr. Turgut Var ve Doç. Dr. Mustafa Uğur'a,

Tez hazırlama dönemim süresince içtenlikle bana yol gösteren, bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım saygıdeğer, değerli hocam Prof. Dr. Ersin Fadıllıoğlu'na,

Tez sürecimin laboratuvar çalışmasının her aşamasında bana içtenlikle yol gösteren ve yardım eden, bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım Dış Kapı Eğitim ve Araştırma Hastanesi Hayvan Laboratuvar ekibi'ne ve özellikle Veteriner Hekim Başak Boztok'a, ayrıca bu dönemde bana yardımcı olan ve çalışmama katkıda bulunan, Dr. Cihan Toğrul ve Dr. Eralp Başer'e,

Eğitim sürem boyunca bilgi, beceri ve tecrübelerinden faydalandığım tüm klinik şefleri, şef yardımcıları ve uzman doktorlara,

Asistanlık eğitimim boyunca birlikte çalıştığım tüm meslektaşlarıma, hemşire arkadaşlarıma ve diğer sağlık personeline,

Doğduğum günden bugüne kadar benim için maddi ve manevi hiçbir fedakarlıktan kaçınmayan, destek ve sevgilerini hep yanımda hissettiğim, bu günlere gelmemi sağlayan aileme,

Sevgisi ile bana güç veren, her zaman yanımda olan, çok sevdiğim değerli eşim Murat Doğan'a,

Ve yaşam enerjim, umut ışığım kızım Nazenin'e.....SONSUZ TEŞEKKÜRLER.

Dr. Ayşe Çitil Doğan

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

TEŞEKKÜR.....	iii
İÇİNDEKİLER.....	iv
KISALTMALAR.....	vi
TABLO LİSTESİ.....	vii
ŞEKİL LİSTESİ.....	viii
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Endometriyozis.....	3
2.1.1. Tarihçe.....	3
2.1.2. Epidemiyoloji.....	3
2.1.3. Risk faktörleri.....	4
2.1.4. Etiyoloji ve Patogenez.....	7
2.1.5. Semptomlar.....	15
2.1.6. Tanı.....	18
2.1.7. Sınıflandırma.....	25
2.1.8 Tedavi.....	29
2.1.9 Rituximab.....	39
2.2 Dişi ratların üreme sistemi.....	41
2.3 Ratlarda Deneysel Endometriyozis Çalışmaları.....	43

3.MATERYAL METOD.....	44
3.1. Çalışmanın Dizaynı.....	44
3.2. İlk Laparotomi.....	46
3.3. İkinci Laparotomi.....	49
3.4. Üçüncü Laparotomi.....	51
3.5. Endometriyotik odakların histopatolojik olarak değerlendirilmesi.....	52
3.6. Endometriyotik implantların immünohistokimyasal incelemesi.....	54
3.7. İstatistiksel Analiz.....	55
4. BULGULAR.....	57
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	63
6.ÖZET.....	69
7. ABSTRACT.....	70
8. KAYNAKLAR.....	71
EK 1. ETİK KURUL KARARI.....	90
EK 2. KONGRE SÖZLÜ SUNUMU.....	91

KISALTMALAR

ASRM: American Society of Reproductive Medicine

CD-20: Cluster of Differentiation-20

COX-2: Siklooksijenaz tip-2

DMPA: Depo medroksiprogesteron asetat

E2: Östradiol

FDA: Food and Drug Administration

FSH: Folikül stimüle edici hormon

GnRH: Gonadotropin salgılatıcı hormon

Ig G: İmmünglobulin G

Ig M: İmmünglobulin M

IVF: İn vitro fertilizasyon

IL: İnterlökin

LH: Lüteinize hormon

LUF: Luteinized unruptured follicle

MCP- 1: Monosit kemotaktik protein- 1

MMP-2: Matriks metalloproteinaz-2

MMP-9: Matriks metalloproteinaz-9

NK: Naturel killer

OKS: Oral kontraseptif ajanlar

PBS: Tamponlanmış salin

PG: Prostaglandin

PR-A: Progesteron reseptör A

PR-B: Progesteron reseptör B

RANTES: Regulated on Activation Normal T- cell Expressed and Secreted

SERM: Selektif Estrojen Reseptör Modulatorü

Th2: Yardımcı T hücre-2

TNF- α : Tümör Nekroze edici Faktör- α

TABLO LİSTESİ

Sayfa No

Tablo 1. Endometriyozis ile otoimmün hastalıklar arasındaki benzer özellikler.....	14
Tablo 2. Endometriyoziste infertilite nedenleri.....	17
Tablo 3. Endometriyozisin ayırıcı tanısı.....	24
Tablo 4. Endometriyozisin Sınıflandırılması.....	28
Tablo 5. Tedavi öncesi ve sonrasında, kontrol ve tedavi (Rituximab) gruplarında endometriyozis lezyonlarının ortalama hacim değerleri ve istatistiksel karşılaştırılması.....	57
Tablo 6. Kontrol ve tedavi (Rituximab) gruplarında endometriyozis lezyonlarının tedavi sonrası ortalama hacim değerleri ve istatistiksel karşılaştırılması.....	58
Tablo 7. Kontrol ve Tedavi Grubunun Histolojik Skor Düzeylerinin Karşılaştırılması....	59
Tablo 8. Kontrol ve tedavi grubunun trichrom boyamasına göre fibrozis skor düzeylerinin karşılaştırılması.....	61
Tablo 9. Tedavi ve kontrol grubunun CD-20 immünohistokimyasal boyanma skorlarının karşılaştırılması.....	62

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa No

Şekil 1. Endometriyomanın ultrasonografik görünümü.....	20
Şekil 2. Endometriyomanın MRI görüntüsü.....	21
Şekil 3. Farklı şekillerdeki endometriyozis lezyon görünümleri.	23
Şekil 4. ASRM tarafından 1996 yılında revise edilen endometriyozis sınıflama formu...	26
Şekil 5. ASRM sınıflandırmasından bazı örnekler.....	27
Şekil 6. Rituksimab'ın etki mekanizması.	40
Şekil 7. Ratlarda endometriyozis modeli.	43
Şekil 8. Ratlardan smear alma tekniği ve vajinal sürüntü yaymasının ' <i>Papanicolaou</i> ' boyama sonrası smear görüntüsü.....	45
Şekil 9. Operasyon öncesi ratların batin cildi traşlanması ve %10'luk povidin iyot çözeltisi ile antisepsi sağlanması.....	46
Şekil 10. Üretral açıklığın üstünden 3 cm'lik median kesi ile laparotomi uygulanması..	47
Şekil 11. Sol hornun tanımlanması ve implante edilecek uterin segmentin hazırlanması.	47
Şekil 12. Hazırlanan uterin segmentin ratın karın sağ yan duvarına implante edilmesi....	48
Şekil 13. Periton, fasya ve cildin kapatılması.....	48
Şekil 14. Yapılan laparotomiyle ektopik uterin doku tanımlanması.....	49
Şekil 15. Endometriyotik implantların ölçümü.....	50
Şekil 16. Üçüncü laparotomi sonrası endometriyotik implant boyutlarının ölçülmesi....	51
Şekil 17 Histopatolojik skorlamanın patolojik görüntüleri.....	52

Şekil 18 : Tedavi öncesi ve sonrasında ilaç ve kontrol grubunda endometriyotik odakların hacimsel karşılaştırılması.....	59
Şekil 19. Kontrol grubundaki implantların histopatolojik görünümü.....	60
Şekil 20. Tedavi grubundaki implantların histopatolojik görünümü.....	60
Şekil 21. Tedavi grubundaki endometriyozis çevresinde minimal fibrozis sergileyen endometriyozis odağının histolojik görüntüsü.....	61
Şekil 22 Kontrol grubundaki endometriyozis çevresinde yoğun fibrozis sergileyen endometriyozis odağının histolojik görüntüsü.....	61
Şekil 23. İmmunohistokimyasal olarak CD-20 antikoruna pozitif boyanan lenfositik yanıtı gösteren kesitlerin görünümü.....	62

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Endometriyozis, etiyopatogenezi henüz tam olarak aydınlatılamamış, üreme çağındaki genç hastaları etkileyen, çevresel, genetik, endokrin ve immünolojik faktörlerin rol oynadığı multifaktöryel bir etiyopatogeneze sahip, dismenoreden infertiliteye kadar uzanan jinekolojik ve non-jinekolojik semptomları ile geniş bir klinik yelpazeye sahip, kesin tanının ancak cerrahi olarak konulabildiği, küratif bir tedavi seçeneğinin olmadığı, sadece semptoma yönelik, palyatif fayda sağlayan tedavi seçeneklerinin olduğu, destrüktif, ciddi sekeller bırakan, relaps ve remisyonlarla giden oldukça sık görülen, eströjen bağımlı benign bir jinekolojik hastalıktır.

Endometriyozis semptom olarak en sık ağrı ve infertilite olarak karşımıza çıkar. Endometriyozisin tedavisi konservatif yaklaşım, medikal, cerrahi ve kombine tedavi şeklinde sınıflandırılabilir. Ancak klasik tedavi yöntemleri tamamen küratif bir iyileşme sağlamadığı gibi hastanın hayatını olumsuz olarak etkileyecek önemli yan etkilere de sahiptir. Şu andaki medikal tedaviler normal siklusun ve ovaryen hormon üretiminin bozulması üzerine kurulmuştur ve ovulasyon süpresyonu ile hastalarda medikal olarak menopoza oluşturulduğu için kemik yoğunluğunda azalma, vazomotor semptomlar gibi ciddi yan etkilere sahiptir. Özellikle genç kadın hastaları etkileyen endometriyozisin hem kendisi hem de kullanılan hormon bazlı ilaçlar kadının fertilitasını olumsuz olarak etkilemektedir. Rutin tedavilerin bırakılması ile de hastalık bir süre sonra tekrar etmektedir. Bu nedenlerden dolayı endometriyozis tedavisinde alternatif yöntemler sürekli gündemde olan bir konudur. Ovaryen fonksiyonları süprese etmeyecek, yan etki profili kabul edilebilir düzeyde olan yeni tedavi arayışları halen devam etmektedir. Son zamanlarda immünmodülatör ilaçlar endometriyozis tedavisinde araştırılan alternatif

tedavi seçeneklerindendir. İmmün sistem hücreleri ve disfonksiyonu endometriyozis etiopatogenezinde üzerinde durulan sıcak başlıklardandır. İmmünsistem hücrelerinden olan lenfositler ve fonksiyonları da bu alanlardan birisidir. Endometriyozisin, otoimmün hastalıklarla benzer özelliklerinin olması, hasta serumlarında ve doku düzeyinde otoantikorların saptanması; bu antikorların primer üretiminden sorumlu ve hümeral immünitede primer rol alan lenfosit hücre grubu olan B hücrelerinin ve bu hücrelerin disfonksiyonunun etiopatogeneizde bir rolü olup olmadığı sorusunu akla getirmektedir.

B hücreleri immün reaksiyonlarda hem antikor üreterek hem de antijen sunucu hücre olarak diğer immün yolları stimüle ederek görev alabilmektedir. Ayrıca B-hücreleri, immün yanıtta yardımcı T hücre-2(Th2)'nin de efektör hücreleridir. Yani hümeral cevap olarak oluşan immün yanıt oluşumundan primer sorumludur. B-hücrelerine etkili olabilecek bir tedavi endometriyozis için yeni bir tedavi yaklaşımı olabilir. Bu düşünceden yola çıkarak biz de çalışmamızda lenfosit ailesinden olan ve otoantikor yapımından sorumlu olan B-hücreleri üzerine etkili monoklonal antikor olan 'Rituksimab'ın endometriyozis hastalığı üzerine olan etkisini araştırmak istedik. Rituksimab, B-hücre yüzey antijeni olan CD-20'ye spesifik olarak bağlanan şimerik bir protein molekülüdür. İlk kez 1997'de lenfomaların tedavisinde kullanılan ilaç daha sonraları bir çok otoimmün hastalıkta da kullanılmaya başlanmıştır. Özellikle de ileri derece ve diğer tedavilere direçli otoimmün bir hastalık olan romatoid artrit de FDA onayı almıştır. B-hücrelerinin lizisine neden olarak etki göstermektedir. Romatoid artrit gibi endometriyozisde de kronik ve anormal bir immün yanıt söz konusudur. Biz de bu benzer tablodan yola çıkarak daha önce endometriyozis tedavisinde hiç çalışılmamış olan Rituksimab'ın etkisini histolojik ve immünohistokimyasal olarak değerlendirmek istedik.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 ENDOMETRİYOZİS

2.1.1 Tarihçe

Endometriyozis, endometriyal gland ve stromasının uterus dışında herhangi bir yerde bulunması ile karakterize oldukça sık rastlanan, benign, hormon bağımlı, kronik destrüktif bir klinik tablo olarak tanımlanır. Bizim şu anda endometriyozis diye tanımladığımız peritoneal lezyonlar literatürde ilk kez 1860 yılında Rokitansky tarafından tanımlanmıştır. 1921 yılında John Sampson tarafından ‘çikolata kisti’olarak tariflenen perfore eden hemorajik over kisti olarak tanımlandı[1]. Daha sonra 1927’de Sampson’ın endometriyozisin ‘endometriyal dokunun peritoneal kaviteye menstrüel yayılımı sonucu oluştuğu’nu ifade eden klasik makalesi yayınlanmıştır[2].

2.1.2. Epidemiyoloji

Belirli özel populasyon gruplarında endometriyozisin prevalansı rapor edilebilse bile genel populasyondaki gerçek prevalansı tam olarak saptamak oldukça zordur. Endometriyozis prevalansını; semptomların çok çeşitli ve nonspesifik olması veya bazı hastaların tamamen asemptomatik olması sebebiyle saptamak oldukça zordur. Ayrıca endometriyozisin kesin tanısı cerrahi olduğu için toplumdaki gerçek prevalansı tam olarak bilinmemektedir[3].

Herhangi bir jinekolojik nedenle major cerrahi yapılan kadınların % 1’inde, tüp ligasyonu yapılan kadınların % 1-7’sinde, kronik ağrı nedeni ile laparoskopi yapılan reproduktif çağıdaki kadınların % 12-32’sinde, infertilite nedeni ile laparoskopi yapılan kadınların % 9-50’sinde endometriyozis saptanırken, infertilite hikayesi olmayan ve laparoskopi yapılan kadınlarda ise bu oran % 6,7 idi. Ayrıca kronik pelvik ağrı ve

dismenore nedeni ile laparoskopi yapılan adolesanların % 50'sinde endometriyozis teşhis edilmiştir[4-6].

Genel prevalans % 3 ile % 10 olarak tahmin edilebilir[5, 6]. Endometriyozis implantlarının varlığını devam ettirebilmesi ve büyüebilmesi hormon bağımlı olduğu için ortalama tanı yaşı 25-35 yaşları arasındaki reproduktif çağıdaki kadınlardır[7, 8]. Yirmi yaş altı kronik pelvik ağrısı olan adolesanlarda ve östrojen tedavisi alan postmenopozal kadınlarda da görülebilmeye rağmen pre ve post-menarş da oldukça nadirdir[9-11]. Simpson ve arkadaşları kontrol grubu olarak kan bağı olmayan kadınlarda % 1 hastalık oluşma hızına karşılık, birinci derece akrabalarda hastalık oluşma hızını % 6,9 olarak rapor etmişlerdir. Endometriyozisin poligenik, multifaktöriyel kalıtımı olduğu düşünülmektedir[12]. Onyediyedi yaşından daha genç olan endometriyozis vakalarının çoğunda müllerian anomali saptanmıştır[13]. Siyah kadınlarda daha az rastlanırken asya ırkında, beyaz kadınlara oranla daha sık görülmektedir[4].

2.1.3. Risk faktörleri

Endometriyozis toplumda sık görülen bir hastalık olmasına rağmen tanıda yaşanan güçlükler, semptomların çok sayıda hastalıkla beraber görülmesi hastalığın teşhisini geciktirmektedir. Bu nedenle risk gruplarının belirlenmesi önemlidir.

- 1. Yaş:** Endometriyozis reproduktif dönemin hastalığıdır[7, 8].
- 2. Parite:** Term gebelik sayısı ile endometriyozis arasında ters bir korelasyon mevcuttur, ancak bu koruyucu etki zamanla azalmakta ve son doğumdan sonra geçen süre arttıkça endometriyozis riski de artmaktadır. Nulliparlarda multiparlara göre anlamlı olarak daha fazla endometriyozis görülür. Uzun süreli laktasyon periyotları endometriyozis riskini azaltmaktadır. Gebelik süresince retrograd menstruasyon

olmamakta ve muhtemelen doğum sonrası oluşan servikal dilatasyon menstruel akımın kolaylaşmasını sağlamaktadır[14].

3. **Aile hikayesi:** Birinci derece akrabalarda endometriyozis olması durumunda daha sık görülmektedir. Yapılan bir çalışmada, birinci derece akrabalar için rölatif risk 7.2 olarak hesaplanmıştır ve endometriyozis olgularının kendi kız çocuklarında risk anneye aynı olarak verilmiştir[15].
4. **Menstrüel Özellikler:** Kısa siklus uzunluğu ve erken menarş gibi faktörler; periton boşluğuna geçen artmış endometriyal hacim ile bağlantılı olarak endometriyozisle pozitif bir korelasyon gösterir. Uzamış menstruel kanama ve artmış kan hacmi ile arasındaki ilişki tam olarak gösterilememiştir[16].
5. **Anatomik bozukluklar:** İmperfore hymen, transvers vajinal septum, bağlantılı olmayan rudimenter uterin horn gibi üreme yolunun çıkışındaki obstrüksiyonların, retrograd menstürasyonla endometriyozis gelişimine zemin hazırlayabileceği düşünülmektedir[13]
6. **Oral kontraseptif kullanımı:** Oral kontraseptif kullanan endometriyozisli hastaların çoğu semptomların azaldığını, ancak tedavi sonrasında semptomların arttığını ifade etmektedir[17]. Semptomlardaki azalma menstrüel kanama miktarındaki azalmaya, ovulasyon supresyonuna ve eutopik endometriyum yanında ektopik endometriyumun da desidualizasyon sonucu atrofiye gitmesine bağlanmaktadır. Aynı zamanda over fonksiyonlarının baskılanmasına bağlı olarak menstruasyon miktarında azalma olacak ve etyolojide en fazla kabul edilen retrograd akım teorisi gereği, batin içerisine giden endometriyal gland ve stroma miktarında da azalma olacaktır. Tedavi sonrasındaki artış sebebinin ise endometriyozis odaklarının tedavi sırasında östrojen

ve progesteron tarafından uyarılmalarından kaynaklandığı düşünülmektedir. Kombine oral kontraseptif kullanımı endometriyoma oluşumunu ve dismenoreyi azaltmaktadır[18,19]. Ancak ovulasyonun baskılanması nedeniyle infertilite tedavisini geciktirmekte ve cerrahi sonrası spontan gebelik oranlarını arttırmamaktadır[20].

7. **Beslenme alışkanlıkları:** Yeşil sebze ve meyve ağırlıklı beslenenlerde, kırmızı et ağırlıklı beslenenlere oranla endometriyozis gelişme riskinin daha düşük olduğu gösterilmiştir. Diyet ve endometriyozis arasında bir bağlantı olduğu kabul edilmektedir[21].
8. **Vücut kitle indeksi(VKİ):** Endometriyozis boy ile pozitif korelasyon, vücut ağırlığı ve vücut kitle indeksi ile negatif korelasyon göstermektedir[1].
9. **Egzersiz:** Düzenli, etkili ve haftada en az dört saat egzersiz yapanlarda endometriyozis görülme oranının daha az olduğu saptanmıştır[22].
10. **Sigara:** Sigaranın endometriyozis ile ilişkisini inceleyen çalışmalar çelişkili sonuçlar vermektedir. Sigara tüketiminin endometriyozis riskini düşürdüğünü bildiren çalışmalar olmakla birlikte, sigara içimi ve endometriyozis arasında herhangi bir ilişki olmadığını bildiren çalışmalar da mevcuttur[23, 24].
11. **İmmün sistem hastalıkları ile birlikteliği:** Endometriyozis ile immün sistem komorbiditesi arasında sebep ve sonuç ilişkisinin varlığı ve yönü henüz belirlenmemiştir. Hipotiroidizm, sistemik lupus eritematozus, romatoid artrit, sjögren sendromu, multiple skleroz, fibromyalji, kronik yorgunluk sendromu, alerji ve astım endometriyozisli hastalarda daha sık tespit edilmiştir.

2.1.4. Etiyoloji ve Patogenez

Endometriyozis'in etiopatogenezi tam olarak bilinmemekle beraber tüm endometriyozis vakalarını açıklayabilecek tek bir teori de yoktur[3].

1-Retrograd Akım Teorisi:

Sampson ve ark.'ı tarafından ilk kez 1927'de yayımlanan, endometriyal dokunun fallop tüplerinden peritoneal kaviteye yayılımını tanımlayan retrograd menstruasyon teorisi ilk ve en çok kabul gören teoridir[2]. Fallop tüplerinden peritoneal kaviteye geçen endometriyal hücreler, vücut savunma sisteminden kurtularak canlılığını devam ettirir. Peritoneal yüzeye tutunur, invaze olur ve kendisini burada besleyecek ve büyümesini sağlayacak vasküler yapıları geliştirir[25]. Obstruktif tipte mülleryan anomalisi olan kadınlarda diğer non-obstruktif anomalisi olan kadınlara oranla daha sık endometriyozisle karşılaşılır[13]. Fallop tüpü açık olan kadınların % 75-90'ında peritoneal sıvıda kan tespit edilebilir. Menstrüal dönemde oluşan bu kanlı peritoneal sıvıdan canlı endometriyal hücreler, hücre kültüründe üretilbilirler ve peritoneal yüzeye tutunarak penetre olabilirler [26-28]. Endometriyozis sıklığının erken menarş olan, kısa menstrual sikluslu, menorajisi olan kadınlarda daha sık olduğu rapor edilmiştir[16]. Endometriyozis, sıklıkla pelvisle bağlantılı olan bölümlerde, en sık overler olmak üzere anterior ve posterior *cul-de-sac*, uterosakral ligamentler, uterus posterioru ve posterior broad ligamentlerde gözlenir[29, 30]. Deneysel olarak endometriyozis, primatlarda ve kadınlarda menstrual endometriyumun retroperitona enjeksiyonu ile oluşturulabilirliği gösterilmiştir[31, 32].

2-Çölomik Metaplazi Teorisi:

Meyer tarafından 1919’da öne sürülen çölomik metaplazi teorisine göre çölemik epitel(periton ve plevradaki) pluripotent bir dokudur ve uyaranlara maruz kaldığında endometriyum hücrelerine dönüşebilmektedir. Bu teori prepubertal endometriyozis, hiç menstrüasyon olmayan kadınlardaki endometriyozis, başparmak, uyluk, diz gibi bölgelerde görülen endometriyozis ve erkeklerde görülen endometriyozisi açıklayabilir. Ekstremitelerdeki endometriyozis mezenkimal ekstremita tomurcuklarından erken embriyogenez sırasında çölomik epitele yakın kısımlardan gelişmiş olabilir[33].

3-İndüksiyon Teorisi

İndüksiyon teorisi temelde çölomik metaplazi teorisinin bir uzantısıdır. Çölomik metaplazinin menstrüel debri ya da diğer stimuluslar sonucu indüklendiği fikrini öngörür. Henüz belirlenememiş endojen biyokimyasal bir faktörün, diferansiye olmamış peritoneal hücreleri, endometriyal dokuya dönüşmeleri yönünde indükleyebileceği düşünülmektedir.

Steroid hormonlar ya da dejenere olmuş endometriyal hücrelerden peritoneal sıvıya salınan kimyasal stimulus (periton boşluğu, torasik kavite ile sağ hemidiafragma aracılığıyla iletişim sağlar) tarafından indüklenmiş metaplazi bu durumu açıklayabilecek makul bir mekanizmadır. İn vitro çalışmalar, over yüzey epitelinin, östrojenlere yanıt olarak endometriyotik lezyon oluşturmak için dönüşüme uğrama potansiyelini göstermiştir [34]. Ayrıca, eutopik endometriyum ve ektopik endometriyum, endometriyotik implantların normal endometriyal dokunun ototransplantasyonu olduğu şeklindeki görüşle uyuşmayacak şekilde hem makroskobik hem de fonksiyonel açıdan farklıdır[3].

4-Lenfatik veya Vasküler Diseminasyon Teorisi:

Pelvis dışındaki endometriyozis vakalarını açıklamak için endometriyal hücrelerin vasküler ya da lenfatik transportuna dayalı bir teoridir. Pelvik endometriyozisli hastaların otopsi serilerinde pelvik lenf nodlarında % 29 oranında endometriyozise rastlanmıştır[35].

5-Hormonal faktörler:

Endometriyozis gelişimi ve ilerlemesi östrojen bağımlıdır. Günümüzde hem östrojen üretiminin hem de metabolizmasının endometriyoziste hastalığı ilerletecek şekilde değişikliğe uğradığına dair güçlü kanıtlar mevcuttur[36, 37]. Endometriyotik odakların invazyonu ve gelişiminden sadece over ve adrenal kaynaklı östrojen sorumlu değildir; yapılan çalışmalarda endometriyotik dokunun kendisinden de yüksek miktarda östrojen üretildiği gösterilmiştir[38]. Ayrıca prostaglandin E2 (PG-E2) endometriyal stromal hücrelerde aromataz aktivitesinin en potent indükleyicisidir. Oluşan östrojen COX-2 enzimini stimule ederek PG-E2 sentezini artırır. Böylece kısır döngü oluşarak endometriyozis proliferasyonu üzerindeki östrojen etkisi artar[39]. Ayrıca ektopik endometriyum dokusundaki reseptör düzeyinde oluşan değişiklikler ile dokuda oluşan relatif progesteron direnci ile östrojen etkisi dengelenememektedir.

6- Çevresel Faktörler Ve Endometriyozis:

Endometriyozis oluşumunda çevresel toksinlerle özellikle de 2,3,7,8 Tetraklorodibenzo-p-dioksin(dioksin) ile maruziyet önemli rol oynamaktadır. Güçlü bir kimyasal zehir olan dioksinin rhesus maymunlarında endometriyozise yol açtığı gözlenmiştir[40, 41]. Dioksin ve benzeri bileşikler; artmış interlökin düzeyleri, sitokrom p-450 enzim aktivasyonu ve doku formasyonundaki değişiklikler aracılığıyla

endometriyozisi uyarabilir. Dioksin progesteronun matriks metalloproteinazlar üzerindeki baskılayıcı etkisini ortadan kaldırarak ektopik dokunun gelişiminde rol oynayabilir[42]. Ayrıca metabolik detoksifikasyon enzim genlerindeki polimorfizm dioksin gibi çevresel toksinlere artmış sensitivite ve artmış endometriyozis riski ile ilişkili olabilir[43].

7- Genetik Faktörler:

Retrograd menstrasyon çoğu kadında sık görülen bir durum olmasına karşın neden hepsinde endometriyozis gelişmiyor olması, konağa ait bazı faktörlerin de olması gerektiği fikrini ortaya koyuyor. Endometriyozisin, etkilenmiş olan kadınların birinci derece akrabalarında genel popülasyona göre 6-7 kez daha fazla görülmesi[44, 45], monozigotik ve dizigotik ikiz çiftlerde de sık gözlenmesi[46, 47], ikiz olmayan kız kardeşlerde benzer yaşlarda hastalığın başlaması[47] genetik bir zeminin olduğunu bize göstermektedir. Ancak açık bir mendelyan genetik kalıtım paterni tanımlanmasa da kompleks bir genetik geçişten söz edilebilir.

Endometriyozis gelişimine predispozisyon oluşturan genler; dökülmüş endometriyal hücrelerin hayatta kalmasını, peritoneal yüzeylere tutunma ve invazyonunu, proliferasyonu, neovaskularizasyonu ya da immünolojik cevabı kontrol eden moleküler işlemleri yöneten genlerden herhangi birisi olabilir[48, 49]. Bu genlere ait polimorfizm ve mutasyonların endometriyozise yol açabileceği üzerinde durulmuştur.

Apoptozis, siklusun geç sekretuar ve menstrüel fazlarında endometriyumun dökülmesi ve tekrar oluşmasını sağlayan, kompleks bir genetik mekanizma tarafından kontrol edilen fizyolojik bir programlı hücre ölümü işlemidir. Endometriyozis gelişen kadınların eutopik endometriyal hücreleri, apoptozise dirençlidir ve bu kadınlardaki ektopik endometriyum apoptozise daha da dirençli gibi gözükmemektedir; apoptozisi regüle eden bcl-2/bax protein

ailesi ve fas-fas ligand ekspresyon sistemi bu dirençle ilişkilendirilmiştir[50]. Apoptozise direnç peritoneal kaviteye giren endometriyal hücrelerin hayatta kalmasını artırabilir ve aynı zamanda ektopik endometriyumun neden makrofaj aracılı immün denetim ve klirens karşı dirençli olduğunu açıklamaya yardım eder.

Matriks metalloproteinazlar (MMP), ekstrasellüler matriksi yıkan ve normal endometriyal yıkım ve östrojenin stimüle ettiği yeniden büyümenin düzenlenmesine yardımcı olan enzimlerdir. MMP'ların erken sekretuvar fazda üretimi artar ve sekretuvar fazdaki progesteron etkisi ile suprese edilirler. MMP'ların anormal ekspresyonu invaziv ve yıkıcı hastalıklarla ilişkilidir[51]. Matriks metalloproteinaz ekspresyonu siklusun erken döneminde artar ve sıklıkla sekretuvar fazda progesteron etkisiyle suprese olur [52]. Endometriyozisli kadınlarda, sekretuvar endometriyal matriks metalloproteinaz ekspresyonu beklenmedik şekilde progesteron supresyonuna dirençlidir[53]. Dökülen endometriyal hücrelerde devam eden matriks metalloproteinaz ekspresyonu, peritoneal yüzeye invazyonu ve takiben hücresel proliferasyonu kolaylaştıracak şekilde reflü olan endometriyal hücrelere invaze olabilme potansiyeli sağlar[53][54].

Endometriyozisin gelişimi ve büyümesi östrojen bağımlıdır ve bugün için hem östrojen üretiminin hem de metabolizmasının, endometriyotzide hastalığı ilerletecek şekilde değişikliğe uğradığına dair güçlü kanıtlar vardır[55]. Hastalık bulunmayan kadınlarda genellikle endometriyal aromataz aktivitesi saptanamamış olmasına rağmen orta ve ağır endometriyozisli kadınların eutopik endometriumunda androjenlerin östrojenlere dönüşümünü sağlayan aromataz enzimi, anormal olarak eksprese edildiği bildirilmiştir[56]. Ayrıca endometriyoma ve peritoneal endometriyotik implantların son derece yüksek aromataz aktivitesi sergiledikleri gösterilmiştir[56]. Artmış strojen aynı

zamanda endometriyozis kaynaklı stromal hücrelerde aromatazin potent bir stimülatörü olan PG-E2' nin oluşumunu sağlayan lokal siklooksijenaz-2 (COX-2) aktivitesini stimüle eder ve böylece devamlı lokal östrojen üretimi için kısır bir döngü oluşur[55, 57, 58].

Ayrıca östradiol'ü daha az potent formuna (estron) çevirecek olan enzim endometriyotik dokuda anormal olarak üretilmemektedir. Bu enzimi aktive edecek olan progesteron reseptör tipi de bu ektopik olan endometriyotik dokuda eksprese edilmemektedir. Bütün bu etkilerin bir araya gelmesi ile endometriyotik odakta lokal bir hiperöstrojenik çevre oluşmaktadır.

8-İmmünolojik nedenler:

Çoğu yazar tarafından kabul edilen retrograd menstrasyon çoğu kadında sık görülen bir durum olmasına karşın neden sadece belirli bir kısmında görülüyor sorusunu akla getiriyor. Retrograd menstüasyon ile periton boşluğuna kaçan menstüel doku ve endometrium normalde makrofaj, naturel killer (NK) hücreleri ve lenfositler gibi immün sistem hücreleri tarafından temizlenir[59]. Endometriyozisde değişmiş immün sistem cevabı nedeni ile bu debrisler temizlenememektedir. Bu immün sistem değişikliklerinin ve artmış peritoneal sitokinlerin sebep mi yoksa sonuç mu olduğu hala net değildir.

Birçok araştırmada endometriyozis ile değişmiş immün sistem hakkında ilişki bulunmuştur[60]. Endometriyozisin otoimmün hastalık olma konusunda kesinlik bulunmasa da romatoid artrit, chron hastalığı, psöryazis, lupus gibi yaygın otoimmün hastalıklarla benzerlik göstermektedir. Otoimmün hastalıklarda olduğu gibi endometriyozisde de apoptoz mekanizmasında değişiklikler mevcuttur. Retrograd olarak dökülen endometriyal dokular hücre ölümünden kaçarlarda[61-63].

Endometriyozisli hastaların peritoneal sıvılarında; NK hücrelerin sitotoksik aktivitelerinde azalma; makrofajlar, lökositler, inflamatuvar sitokinler, büyüme faktörleri, anjiyojenik faktörler ve matriks metalloproteinazların aktivitelerinde ise artma tespit edilmiştir. Endometriyozisli kadınlarda lenfositlerin endometriyal stromal hücreleri temizlemesindeki etkinliğinin düşük olduğu gösterilmiştir[64]. Endometriyozisli kadınlardaki aktive olmuş peritoneal makrofajlar ve dolaşımdaki monositler, ektopik endometriyal hücreleri ortadan kaldırmak yerine, ektopik endometriumun proliferasyonunu uyaran ve çöpçü fonksiyonlarını inhibe eden büyüme faktörleri ve sitokinler salarak hastalığın ilerlemesine neden olurlar[64]. Endometriyal hücrelere karşı gelişen bu sitotoksik cevabın yetersiz oluşu, natural killer hücrelerinin aktivitelerindeki bir eksiklikten veya endometriyal hücrelerde natural killer sitotoksitesine karşı direnç gelişmiş olmasından kaynaklanıyor olabilir[64, 65]. İnterlökin- 1 (IL- 1), İnterlökin- 6 (IL- 6), İnterlökin- 8 (IL- 8), Monosit kemotaktik protein- 1 (MCP- 1), RANTES (Regulated on Activation Normal T- cell Expressed and Secreted), TNF- α (Tümör Nekroze edici Faktör- α), VEGF (Vasküler Endotelyal Growth Faktör) gibi sitokinler ve büyüme faktörleri peritoneal yüzeye adezyonu kolaylaştırıp, proliferasyon ve anjiyogenezi stimule ederek ektopik endometriumun implantasyonuna ve gelişimine katkıda bulunur[66-69].

Endometriyozis hastalığı olan kadınlarda saptanan otoantikorların varlığı ile ilgili olan çalışmalar ışığında endometriyozisli hastalarda hücre aracılı immüniteye ek olarak hümmoral immünite de belirgin fonksiyon bozuklukları olduğu düşünülmektedir. B hücreler de esas olarak hümmoral immün yanıtta sorumlu olan hücreler oldukları için bu hücrelerin de endometriyozis patogeneğinde önemli rol oynayabilecekleri düşünülmüştür.

Endometriyozis patogeneğinde muhtemel rolü otoantikor üretmesi ve inflamatuvur yanıı devam ettirmesi olabilir[70]. B lenfosit reaktivitesinden ilk kez 1980 yılında Startseva ve ark.'nın yapmış olduğu bir çalışmada bahsedilmiştir[71]. Daha sonra yapılan çalışmalarda endometriyozisli hastaların bazılarının serumlarında ve ayrıca servikal ve vajinal sekresyonlarında; endometriyal ve ovaryan dokulara karşı gelişen otoantikorlar, otoimmün hastalıklar için karakteristik olabilecek, poliklonal B-hücre aktivasyon göstergeleri olan pozitif IgG ve IgM antikorları, antinükleer antikorlar ve lupus antikorlarının varlığı saptanmıştır[72][73].

Tablo.1. Endometriyozis ile otoimmün hastalıklar arasındaki benzer özellikler

-Doku kaybı
-Poliklonal B lenfosit aktivasyonu
-T-lenfosit immünolojik anormallikleri
-B- lenfosit immünolojik anormallikleri
-İlişkili otoimmün hastalıklar
-Multiorgan tutulumu
-Ailesel olması
-Olası çevresel faktörler
-Olası genetik geçiş
-Değişmiş apoptoz

(Nothnick. Endometriyozis and autoimmunity.Fertil Steril 2001.)

Sonuç olarak endometriyozis endokrin, immünolojik, genetik ve çevresel elemanların birbiriyle etkileşimi sonucu ortaya çıkmaktadır. Etiyopatogenezi tek bir nedene bağlayarak açıklamak olanaksızdır.

2.1.5. Semptomlar:

Endometriyozis hastalığının semptomları hastalığın şiddetine, yaygınlığına ve tuttuğu organa göre değişen geniş bir yelpazede karşımıza çıkmaktadır. Sinaii ve ark.'nın 1000 endometriyozisli kadın ile yaptığı bir çalışmada semptomatik hastaların yaklaşık dörtte üçünde pelvik ağrı ve/veya dismenore saptanmıştır[74]. Bu çalışmaya göre: % 79'unda Dismenorrhea, % 69'unda Pelvik ağrı, % 45'inde Dyspareunia, % 36'sında Abdominal rahatsızlık hissi (Kabızlık, Diare gibi), % 26'sında İnfertilite, % 20'sinde Ovaryan kitle, % 10'nunda Dizuri, % 6'sında diğer sorunlar; anormal uterin kanamalar, bel ağrısı, kronik yorgunluk sendromu gibi.

2.1.5.1. Ağrı:

Endometriyozisde, pelvik ağrı oldukça sık görülen bir semptomdur[74]. Ağrının sebebi lezyonlardan olan akut kanama, inflamatuvar ve ağrı mediatörlerinin üretilmesi ve implantlara bağlı olarak nörolojik fonksiyon bozukluğuna bağlı olabilir[75-78]. Ağrı kramp tarzında, künt veya keskin olarak tarif edilir. Tipik olarak ağrı menstrüasyondan bir iki gün önce başlar ve mens döneminde de devam eder, bazen menstrazyondan birkaç gün sonra da devam edebilir. Ağrı tek veya iki taraflı olabilir, rektal basınç hissi, bel ağrısı şeklinde de olabilir. Endometriyomanın rüptürü sonucu akut karın tablosu oluşabilir. Hastalığın evresi ile ağrının şiddeti arasında ilişki yoktur. Endometriyotik implantın morfolojik görünüşü ile ağrı birbirinden bağımsızdır. İleri evre endometriyozisli birçok kadında az ya da hiç ağrı olmamasının veya düşük evreli olanlarda şiddetli ağrının olabilmesi bir paradoks oluşturmaktadır. İleri evre endometriyozis vakalarında hastalığın daha çok kronik olduğu ve metabolik olarak daha az aktif olması ile ilgili olabilir. Ağrının şiddeti implantın hacminden ziyade lokal

peritoneal reaksiyon ile ilgilidir[25]. Over, *kul-de-sac*, uterosakral ligaman, rektovajinal septum ve vajende invazif endometriyotik nodülleri olan hastalarda dispareni sıklığıdır[79]. Şiddetli pelvik ağrı, derin infiltrate endometriyozis ile uyumludur[80, 81].

Endometriyozisli bazı kadınlarda, endometriyotik dokulardan kaynaklanan devamlı nöronal uyarı, noziseptif sistemin santral olarak duyarlılaşmasına neden olması sonucunda somatik hiperalezi ve tarif edilebilen ağrılı alanlar şeklinde olabileceğini düşündüren kanıtlar da mevcuttur[82]. Riley ve ark.'nın yapmış olduğu meta-analiz bir çalışmada somatik duyuşal ağrı eşığı ve ağrıya toleransın menstrasyon döneminin hemen öncesi ve menstrasyon dönem boyunca en düşük dönemde olduğu sonucuna varılmıştır ve bunda hormonal çevrenin ağrı algılamasını etkileyebileceğı rapor edilmiştir[83]. Endometriyozisli hastalarda daha az sıklıkla görülen bir semptom da dizüridir. Dizüri, pollaküri, sıkışma hissi negatif idrar kültürü ile beraber ise endometriyozisten şüphelenilmelidir[18].

2.1.5.3.İnfertilite:

Subfertil kadınların % 20 ile % 30'unda endometriyozis mevcuttur[84]. Endometriyoziste hastalığın şiddeti ile fertilitenin azalması arasında yüksek bir pozitif korelasyon vardır. Endometriyozis ilişkili infertilite üç primer mekanizma ile açıklanmıştır[3]:

1. Oosit gelişimi ya da erken embriyogenezin engellenmesi,
2. Ovulasyon sonrası ovum yakalanmasını inhibe eden ya da engelleyen biyokimyasal faktörler ve bozulmuş adneksiyel anatomi,
3. Azalmış endometriyal reseptiviteye bağı etkilenmiş implantasyon.

Genelde *in vitro* fertilizasyonun (İVF) başarı oranları endometriyozisli kadınlarda, tubal hastalığı olan kadınlardan daha düşüktür ve prognoz ağır hastalıkta hafif hastalıktan daha kötüdür. İVF tedavisinde oosit kalitesi, embriyogenez ve endometriyal reseptivite gibi çeşitli basamaklarda endometriyozisin fertilitayı olumsuz etkilediği bilinmektedir[3, 85]. LUF (Luteinized unruptured follicle) sendromunun endometriyozisli hastalarda daha sık olduğu gösterilmiştir[86].

Tablo.2:Endometriyoziste infertilite nedenleri

1- Anatomik distorsiyon ve tubal tıkanıklık
2- Ovaryan ve tubal fonksiyon bozukluğu
-Ovulatuvar yetmezlik
-Folikül gelişim bozukluğu
-Hiperprolaktinemi
-Luteal faz defekti
3- İmmünolojik defekt
-Otoimmünite
-Antiendometriyal antikorlar
4- Peritoneal sıvı değişiklikleri
-Aktive makrofajlar
-Sitokinler
-Spermilerin artmış fagositozu
-Artmış prostaglandinler
5- Fertilizasyon ve implantasyon başarısızlığı
6- Erken spontan abortus

(Kennedy S, Bergqvist A, Chapron C, et al. ESHRE guideline for the diagnosis and treatment of endometriyozis. Hum Reprod 2005; 20:2698.)

2.1.5.4. Diğer semptomlar:

Rektovajinal tutulum olan hastalarda ağırlı defekasyon, mesane tutulumu olanlarda periyodik hematüri, üreter çevresi tutulursa üreteral obstrüksiyon, barsak tutulursa barsak obstrüksiyonu, gastrointestinal tutulumda rektal kanama ve hemoptizi, arka periton veya siyatik sinir tutulumu gözlenebilir[74].

2.1.6. Tanı:

Endometriyozisin geleneksel tanısı ektopik endometriyal gland ve stromanın histolojik olarak gösterilmesidir. Endometriyozis patogenezindeki gelişmeler henüz hastalığın tanısı için laparoscopiye alternatif olabilecek güvenilir, non-invazif bir yöntem sunamamıştır.

2.1.6.1. Klinik Tanı:

Endometriyozis hastalığında çok çeşitli semptomlar görülebilmesine karşılık bunların hiçbirisi endometriyozis için spesifik değildir. Birçok hastada ise belirgin bir bulgu olmayabilir. En sık karşılaşılan semptom dismenoredir. Dismenorenin, yeni başlaması, mestrasyon döneminden hemen önce başlayıp bu dönem boyunca devam etmesi endometriyozis için tipik bulgudur. Pelvik muayenede kul de sak veya uterosakral ligamanda lokalize hassasiyet, palpe edilen hassas nodüller, uterusun hareketi ile ağrı oluşması, hassas ve büyümüş adneksiyel kitle, uterus veya adneksin fiksasyonu endometriyozisi düşündürmelidir[3]. Spekulum muayenesinde, özellikle derin endometriyozis varlığında posterior fornikte mavimsi kırmızımsı ve frajil endometriyozis implantlarına rastlanabilir.

En sık görülen bulgu posterior fornikte palpasyon ile hassasiyettir. Uterosakral nodüller en iyi rektovajinal muayene ile tespit edilir. Muayenede endometriyozise bağlı

nodüller, endometriyomaya bağlı büyümüş overler, veya uterusun kul de sak'a yapışıklığı tespit edilebilir[3]. Endometriyozisin altın standart cerrahi tanısıyla karşılaştırıldığında fizik muayene rölatif olarak daha zayıf sensitivite, spesifite ve pozitif prediktif değere sahiptir.

2.1.6.2. Laboratuvar Yöntemleri:

Endometriyozis tanısı için çok farklı belirteçler çalışılmıştır ancak tam tanı koymak için henüz yeterli sensitivite ve spesifiteye sahip bir belirteç bulunamamıştır. Pelvik ağrının nedenlerini dışlamak için tam kan sayımı, idrar incelemesi ve kültürü, vajinal kültür, servikal sürüntü alınabilir.

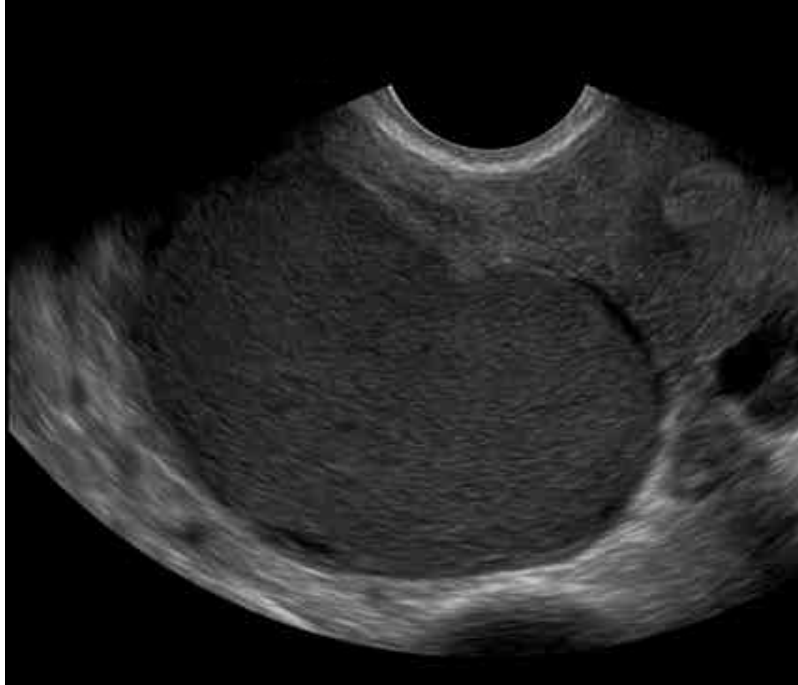
Ca 125, çöломik epitel deriveleri (müllerian kanal, periton gibi) tarafından eksprese edilen ve epitelyal over kanserli kadınların monitorizasyonunda faydalı bir belirteç olduğu net bir şekilde tanımlanmış, yüksek molekül ağırlıklı glikoprotein yapısında bir hücre yüzey antijenidir. Ca-125 düzeyi özellikle orta ve ciddi endometriyozisli hastalarda yüksektir (35 IU/ml' den yüksek). Bununla birlikte, normal menstrüasyon sırasında, peritonitte, erken gebelikte, ektopik gebelikte, akut pelvik inflamatuvar hastalıkta ya da leiomyoma gibi durumlarda da artmış olarak tespit edilebilir. Ca-125 testinin endometriyozis tanısında etkin bir tarama testi olarak kullanılması için sensitivitesinin düşüktür. Ancak ovaryan kaynaklı kitlelerin ayırıcı tanısında ve cerrahi tedaviye yanıt ve rekürrens için iyi bir belirteç olabilir[87, 88].

Bir diğer labratuvar yöntem kanda anti-endometriyal antikor bakılmasıdır. Ayrıca serum plasental protein-14 önceleri yüksek sensitivite gösterse de daha sonraki çalışmalar bunu desteklememiştir ve bugün kullanılmamaktadır.

2.1.6.3 Görüntüleme:

a) Transvajinal Ultrasonografi- TV USG:

Transvajinal ultrasonografi, endometriyozis şüphesi olan olgularda en sık başvurulan görüntüleme yöntemidir. Özellikle over kaynaklı endometriyomaların belirlenmesinde faydalı olabilir, ancak pelvik adezyonları veya hastalığın yüzeyel peritoneal odaklarını görüntüleyemez. Endometriyomalarda farklı ultrasonografik görüntüler elde edilebilmekle beraber, tipik olarak ekojenik kapsülle çevrili, diffüz düşük internal ekoda kistik yapılar izlenir(Şekil.1). Bazılarında internal septasyonlar ya da kalınlaşmış nodüler cidarlar da izlenebilir[89]. Karakteristik özellikler mevcut olduğu takdirde, endometriyomanın belirlenmesinde transvajinal ultrasonografi % 90 veya daha fazla sensitiviteye ve neredeyse % 100 spesifiteye sahiptir[90]. Derin infiltratif endometriyozis odakların tespitinde transrektal ultrasonografinin faydalı olabileceğine dair yayınlar mevcuttur[91].

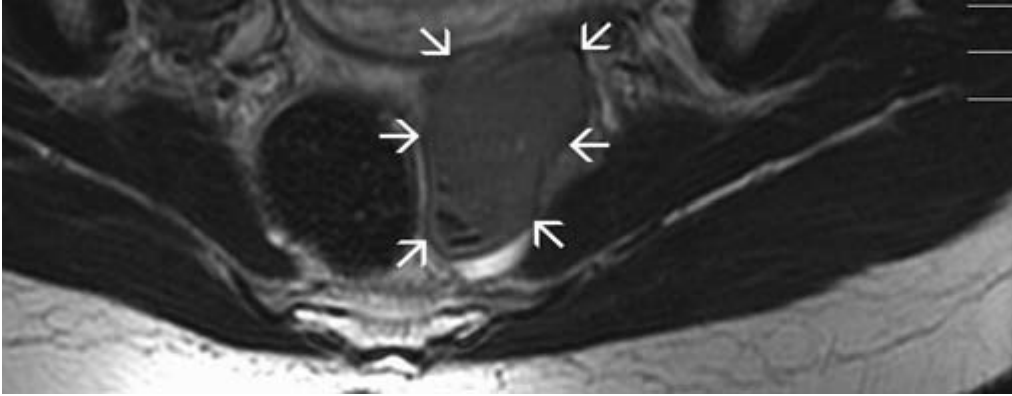


Şekil.1: Endometriyomanın ultrasonografik görünümü.

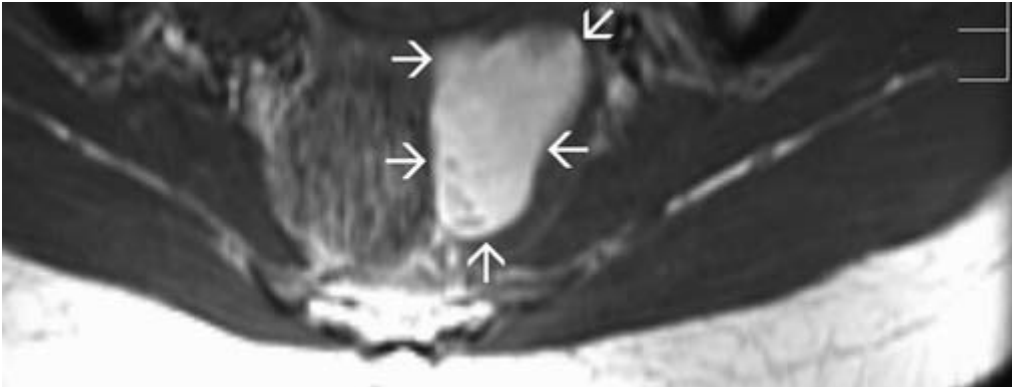
b) Manyetik Rezonans Görüntüleme –MRI:

Peritoneal implantların tanınmasında, MRI transvajinal ultrasonografiye göre daha üstündür. MRI ile saptanabilen en küçük endometriyoma çapı 1 cm civarındadır. MRI'nin yüzeysel endometriyozis implantlarını saptamadaki değeri düşüktür ancak derin endometriyoziste daha üstün olduğu bildirilmiştir[92]. Endometriyoma T1 ağırlıklı sekanslarda hiperintens kitle olarak görülür ve T2 ağırlıklı sekanslarda hipointense görünmektedir(Şekil.2)[93]. Histopatolojik dökümente edilmiş hastalığın belirlenmesinde MRI'nin sensitivitesi % 70, spesifitesi % 75'tir[94].

Şekil.2: Endometriyomanın MRI görüntüsü.



Şekil.2a: T2 sekansı.



Şekil.2b: T1 sekansı.

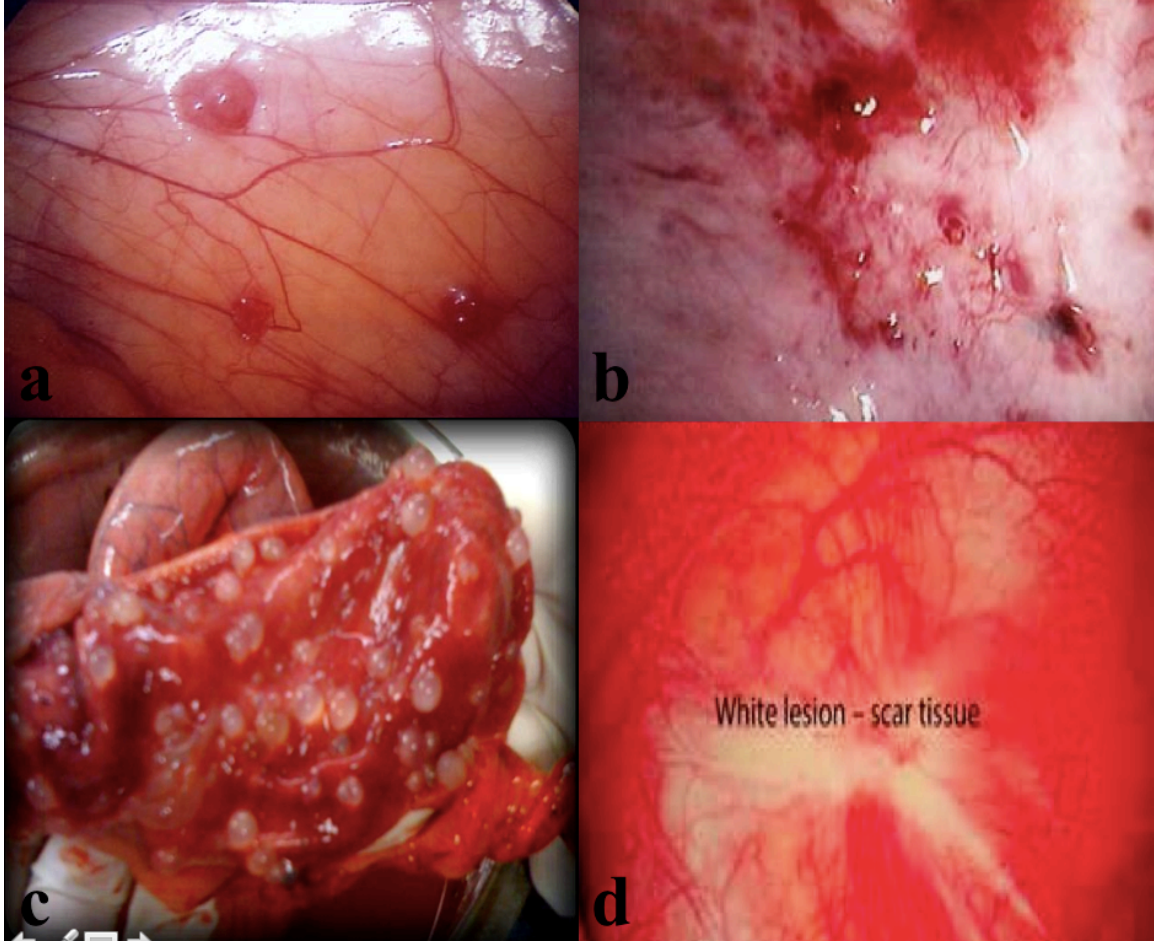
2.1.6.4. Cerrahi Tanı:

Endometriyozis tanısında altın standart laparoskopi ya da laparotomi ile eksize edilen lezyonun histopatolojik incelenmesidir. Ektopik endometriyum epitel ve stromasının hemosiderin yüklü makrofajlarla birlikte gözlenmesi, endometriyozis tanısı için patognomoniktir. Ancak bu tipik bulgulara, endometriyozis olduğu düşünülen lezyonların ancak % 70'inde rastlanır[95].

Laparoskopik girişimlerde, lezyonların bulunabileceği yerler dikkatle incelenmelidir. Endometriyozisin üç değişik formu: peritoneal implantlar, endometriyomalar ve rektovaginal septumdaki derin infiltrative lezyonlar, yönünden peritoneal yüzler ve abdominal kavite dikkatli bir inspeksiyonla incelenmelidir.

Karakteristik bulgular peritonun serozal yüzeyinde tipik barut yanığı (sızan kandan kaynaklanan hemosiderin depozitleri içerir) şeklindeki lezyonlardır. Bunlar siyah, koyu kahverengi veya mavimsi nodüller ya da değişken derecede fibrozis ile çevrili eski hemoraji içeren küçük kistlerdir. Endometriyozis kırmızı implantlar (peteşial, veziküler, polipoid, hemorajik, alev benzeri), seröz veya berrak veziküller, beyaz plaklar veya skarlaşma, sarı kahverengi peritoneal diskolorasyon ve tubovarian adezyonlardan oluşan lezyonlar şeklinde ortaya çıkabilir. Kırmızı lezyonlar ileri derecede vasküler, proliferatif ve oldukça aktif erken dönem hastalığı gösterirler[96, 97]. Pigmente lezyonlar ise daha yerleşik ya da ileri hastalığı temsil ederler. Her ikisi de metabolik olarak aktiftir ve semptomlarla daha sık ilişkilidir. Beyaz lezyonlar daha az vaskülerite ve aktiviteye sahiptir ve nadiren semptomatiktir(Şekil.3). Endometriyomalar genellikle adezyonlarla ilişkilidir, yoğun kahverengi çikolata benzeri sıvı içeren düzgün koyu kistler şeklinde görülürler. Daha büyük endometriyomalar sıklıkla multiloküledir. Over kaynaklı

endometriyomalar sıklıkla peritoneal lezyonlarla birliktelik gösterirken tersine olarak, derin peritoneal endometriyozis sıklıkla retroperitonealdır, görünmez ve çoğunlukla izoledir. Lezyonlar peritoneal yüzeyden 5 mm'den daha derine iniyorsa 'derin' olarak kabul edilir, infertilite ve ağrı ile ilişkilidir[97, 98].



Şekil.3: Farklı şekillerdeki endometriyozis lezyon görünüşleri: a,b) Endometriyozisin kırmızı implantlar; peteşial, hemorajik, alev benzeri ve polipoid görünümü, c) seröz veya berrak veziküllerin görünümü, d) beyaz plaklar veya skarlaşma görünümü.

Cerrahi değerlendirme sırasında appendiks mutlaka incelenmelidir çünkü endometriyozisi olan % 2-4 kadar hastada appendikste de endometriyozis saptanmıştır[99]. Endometriyozisin ayırıcı tanısında birçok jinekolojik veya non-jinekolojik hastalıklar düşünülmelidir(Tablo.3). Dikkatli klinik anamnez ile

endometriyozisi olabilecek kadınlar tanımlanabilir ancak kesin tanı konulamaz. Serum Ca-125 konsantrasyonu faydalı olsa bile tarama için yeterli bir test değildir. Endometriyomaların tanısının koyulmasında ultrasonografi ve MRI oldukça yüksek sensitivite ve spesifiteye sahipken, peritoneal implantları göstermede yetersiz kalabilmektedir. Çoğu kadında kesin tanı laparoskopik olarak konulabilmektedir. Eksize edilen lezyonların histolojik incelenmesiyle cerrahi tanı doğrulanabilir ancak kesin tanı için bu şart değildir.

Tablo.3: Endometriyozisin Ayırıcı Tanısı.

I- Jinekolojik Hastalıklar
-Pelvik inflamatuvar hastalık (Tubo-ovaryen apse, Salpenjit, Endometrit)
-Hemorajik over kisti
-Over torsiyonu
-Primer dismenore
-Dejenere myom
II- Non-Jinekolojik Hastalıklar
-İnstitisyal sistit
-Kronik idrar yolu enfeksiyonu
-Böbrek taşı
-İnflamatuvar barsak hastalığı
-İrritabl barsak sendromu
-Divertikülit
-Mezenterik lenfadenit
-Kas-iskelet sistemi bozuklukları

Williams Jinekoloji. Schorge,Schaffer, Halvorson,Hoffman,Bradshaw, Cunningham, Nobel Tıp Kitapevleri, İstanbul, 2010).

2.1.7. Sınıflandırma :

Endometriyozisin net olmayan bir etiopatogeneze sahip olması, heterojen bir kliniğinin olması ve lezyonlarının çeşitli olması nedeni ile herkes tarafından kullanılabilecek ve ortak bir dilin kullanılabilmesine olanak sağlayacak bir sınıflama sistemine ihtiyaç duyulmuştur. Bu nedenle yıllardan beri çeşitli sınıflandırma sistemleri geliştirilmiştir. Bu sınıflandırmalarda genellikle lezyon anatomik lokalizasyonu ve görünüşü göz önüne alınmıştır. Günümüzde en sık kullanılan sınıflandırma 1979 yılında, ASRM (American Society of Reproductive Medicine) tarafından geliştirilen ve en son 1996 yılında revize edilen (Şekil.4-5) skorelama sistemidir. Bu sınıflandırma sistemi, endometriyotik implantların büyüklüklerinin, derinliklerinin ve adezyonların lokalizasyonlarının puan verilerek değerlendirildiği bir puanlama sistemidir. Bu puanlama sistemiyle, total skor hesaplanarak hastalık minimal, hafif, orta ve şiddetli olarak dört evrede değerlendirilmektedir(Tablo.4). Bu tür sınıflandırmalardaki en büyük sorun, cerrahın subjektif skor tayininden kaynaklanmaktadır. Operatif bulguların rapor edilmesinde standardizasyon sağlayan revize edilmiş ASRM'nin '*Endometriyozis Sınıflandırma Sistemi*', fertilité prognozu ile zayıf korelasyon gösterirken hastanın ağrı semptomları ile korelasyon göstermemektedir.



THE AMERICAN FERTILITY SOCIETY REVISED CLASSIFICATION OF ENDOMETRIOSIS

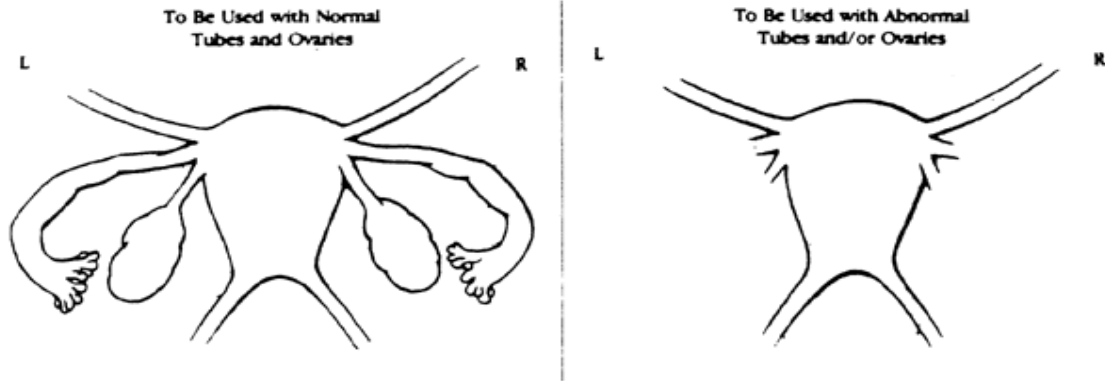
Patient's Name _____ Date _____
 Stage I (Minimal) - 1-5
 Stage II (Mild) - 6-15
 Stage III (Moderate) - 16-40
 Stage IV (Severe) - > 40
 Total _____
 Laparoscopy _____ Laparotomy _____ Photography _____
 Recommended Treatment _____
 Prognosis _____

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

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

Additional Endometriosis: _____

 Associated Pathology: _____



Şekil.4: ASRM tarafından 1996 yılında revize edilen endometriyozis sınıflama formu.

EXAMPLES & GUIDELINES

STAGE I (MINIMAL)



PERITONEUM		
Superficial Endo	- 1-3cm	- 2
R. OVARY		
Superficial Endo	- < 1cm	- 1
Filmy Adhesions	- < 1/3	- 1
TOTAL POINTS		4

STAGE II (MILD)



PERITONEUM		
Deep Endo	- > 3cm	- 6
R. OVARY		
Superficial Endo	- < 1cm	- 1
Filmy Adhesions	- < 1/3	- 1
L. OVARY		
Superficial Endo	- < 1cm	- 1
TOTAL POINTS		9

STAGE III (MODERATE)



PERITONEUM		
Deep Endo	- > 3cm	- 6
CULDESAC		
Partial Obliteration		- 4
L. OVARY		
Deep Endo	- 1-3cm	- 16
TOTAL POINTS		26

STAGE III (MODERATE)



PERITONEUM		
Superficial Endo	- > 3cm	- 3
R. TUBE		
Filmy Adhesions	- < 1/3	- 1
R. OVARY		
Filmy Adhesions	- < 1/3	- 1
L. TUBE		
Dense Adhesions	- < 1/3	- 16*
L. OVARY		
Deep Endo	- < 1 cm	- 4
Dense Adhesions	- < 1/3	- 4
TOTAL POINTS		29

STAGE IV (SEVERE)



PERITONEUM		
Superficial Endo	- > 3cm	- 3
L. OVARY		
Deep Endo	- 1-3cm	- 32**
Dense Adhesions	- < 1/3	- 8**
L. TUBE		
Dense Adhesions	- < 1/3	- 8**
TOTAL POINTS		51

*Point assignment changed to 16

**Point assignment doubled

STAGE IV (SEVERE)



PERITONEUM		
Deep Endo	- > 3cm	- 6
CULDESAC		
Complete Obliteration		- 40
R. OVARY		
Deep Endo	- 1-3cm	- 16
Dense Adhesions	- < 1/3	- 4
L. TUBE		
Dense Adhesions	- > 2/3	- 16
L. OVARY		
Deep Endo	- 1-3cm	- 16
Dense Adhesions	- > 2/3	- 16
TOTAL POINTS		114

Şekil.5: ASRM sınıflandırmasından bazı örnekler.

Tablo.4. Endometriyozisin Sınıflandırılması (ASRM'ye göre):

		Endometriyozis	<1cm	1-3 cm	>3 cm
PERİTON		Yüzeyel	1	2	4
		Derin	2	4	6
OVER	Sağ	Yüzeyel	1	2	4
		Derin	4	16	20
	Sol	Yüzeyel	1	2	4
		Derin	4	16	20
Posterior <i>cul-de-sac</i> obliterasyonu		Parsiyel		Komplet	
		4		40	
		Adezyonlar	<1/3	1/3-2/3	>2/3
OVER	Sağ	Filmi	1	2	4
		Dens	4	8	16
	Sol	Filmi	1	2	4
		Dens	4	8	16
TÜP	Sağ	Filmi	1	2	4
		Dens	4*	8*	16
	Sol	Filmi	1	2	4
		Dens	4*	8*	16

*Eğer fallop tüpünün fimbrial ucu adezyonlar nedeniyle tam olarak kapanmışsa, puanı 16 olarak değiştirilir.

Evre I (minimal): 1–5

Evre II (hafif): 6–15

Evre III (orta): 16–40

Evre IV (ciddi): > 40

2.1.8. Tedavi:

Günümüzde endometriyozis tedavisinde uygulanan birçok tedavi seçeneği mevcuttur. Hangi tedavinin hangi hasta için uygun olduğuna karar verebilmek için hastanın yaşı, semptomlarının şiddeti ve süresi, fertilite arzusu, menapozal durum gibi birçok faktör göz önünde bulundurulmalıdır. ASRM'ye göre endometriyozis kronik bir hastalık olarak kabul edilmeli, tedavisi hayat boyu planlanmalı, medikal tedaviden en fazla yarar alınmalı ve tekrarlayan cerrahiden kaçınılmalıdır[100]. Hastalar en sık yaşam kalitesini olumsuz yönde etkileyen kronik pelvik ağrı, infertilite ve pelvik kitle nedeni ile başvurur[101]. Endometriyozis tedavisinde hedef; semptoma yönelik ağrının giderilmesi, fertilitenin sağlanması, korunması ve endometriyotik odaklardaki tekrarlama ya da ilerlemenin geciktirilmesi veya önlenmesidir.

2.1.8.1.Bekleme Tedavisi

Cerrahi sırasında tesadüfen tespit edilen, minimal hastalığı olanlarda ve perimenopozal endometriyozis hastalarında en uygun yöntemdir. Minimal semptomları olan veya tamamen asemptomatik olan hastalar herhangi bir tedavi verilmeden takip edilebileceği gibi, hastalığın ilerlemesini yavaşlatmak ve istenmeyen gebelikten korunmak amacıyla hastalara siklik oral kontraseptifler verilebilir[102]. Perimenopozal hastalarda ise, seks hormonlarının, özellikle östrojen yapımının azalmasına bağlı olarak endometriyotik implantların büyümesi baskılanır, dolayısıyla bu hastalarda ileri evre endometriyozis olsa dahi, bekleme tedavisi uygulanabilir[103]. Perimenapozal hastalara pelvik ağrı için analjezikler verilebilir.

2.1.8.2. Medikal Tedavi

Endometriyozis östrojen bağımlı bir hastalıktır. Medikal tedavideki amaç; siklik menstrüasyonu azaltarak veya ortadan kaldırarak peritonal ekilmeyi, oluşabilecek yeni implantları engellemek, endometriyumun gelişim ve aktivitesini baskılamaktır.

Yapılan çalışmalar uygulanan medikal tedavilerin birbirine üstünlüğünü kanıtlayamamaktadır[104]. Medikal tedavi ile % 80-90 hastada semptomlarda bir miktar iyileşme sağlansa da, hiçbir ilaç tedavisinin gelecekteki fertilité üzerine etkisi bilinmemektedir[20]. Sonuç olarak ilaç yan etkileri ve hastanın toleransı göz önünde bulundurularak tedavi kişiye en uygun ajanla yapılmalıdır.

Son yıllarda endometriyozis patogenezinin özellikle moleküler düzeyde daha iyi anlaşılması ile yeni ilaç tedavi seçenekleri üzerine yoğunlaşmıştır.

2.1.8.2.1. Hormonal Tedavi

a) Oral Kontraseptif Ajanlar

Oral kontraseptif ajanlar (OKS) siklik veya sürekli olarak endometriyal dokuda desidualizasyon ve atrofiyi indüklemek amacıyla kullanılmaktadır. Kontrasepsiyon sağlaması ve yan etkilerinin az olması nedeniyle endometriyoziste en sık reçete edilen tedavi şeklidir. Yapılan çalışmalarda, siklik tedavi ile dismenore şikayetinde düzelme olmayan hastalarda ara verilmeden kullanılan OKS tedavisinin daha etkin olabileceği gösterilmiştir[105, 106]. Düşük doz oral kontraseptiflerin (20 mcg etinil estradiol içeren) geleneksel dozdaki oral kontrseptiflere üstünlüğü kanıtlanmamıştır [107].

b) Gonadotropin Salıverici Hormon (GnRH Agonistleri)

GnRH agonistleri'nin sürekli olarak verilmesi, hipofizdeki GnRH reseptörlerinin sayısını azaltır. Böylece overler yeterli gonadotropin uyarısı almaz; hem folikül stimüle edici hormon (FSH) hem de lüteinizan hormone (LH) seviyeleri çok düşer. GnRH agonistleri ile menopoza benzer bir durum yaratılır, oluşan hipoöstrojenik ortam endometriyal atrofi, amenore ve endometriyotik odakların küçülmesine sebep olur. Yapılan bir çalışmada GnRH agonistleri, diğer medikal ajanlar ve plasebo ile karşılaştırıldığında implantları geriletirken özellikle ağrıyı azaltma açısından en etkili ajan olduğu gösterilmiştir[108]. Tedaviye önce subkutan enjeksiyonlarla başlayıp daha sonra intranazal olarak kullanılması önerilmektedir. Siklusun ilk günlerinde başlanırsa, başlangıçtaki agonist etki nedeniyle istenmeden ovulasyon indüksiyonu yapılmış olabilir. Bu nedenle tedavinin ilk ayında mutlaka kontrasepsiyon uygulanmalıdır.

GnRH agonistlerinin uzun dönem kullanımı, hastada menapoz semptomları oluşturmaktadır ve azalmış kemik mineral yoğunluğu gibi yan etkiler yapmaktadır. Bu sebeple genellikle tedavi altı aydan fazla sürdürülmemelidir. Standart GnRH agonist tedavi rejimiyle (6 aylık) karşılaşılan kemik mineral yoğunluğundaki azalma anlamlıdır. Tedavinin sonlandırılmasından itibaren kemik kaybı yavaşça düzelir, ancak tüm kadınlarda düzelme tam olarak sağlanamaz. Trabeküler kemik kaybı, kemik yapıda tam geri dönüştürülemeyen hasara neden olabilir[109-111]. GnRH agonist tedavisine eşlik eden kemik mineral yoğunluğundaki azalmayı önlemeye yönelik çalışmalar sonucunda ilave (add back) tedavi stratejileri geliştirilmiştir. Tibolon, bifosfonatlar ve selektif estrogen reseptör modülatörlerini (SERM) içeren çok sayıda ilave rejimler tarif edilmiştir[112, 113].

c) Progestasyonel İlaçlar/Progestinler

Yüksek dozlarda progestinler, ovulatuvar fonksiyonları inhibe ederler ve amenore yaparlar. Progestinler çeşitli şekillerde uygulanabilir. Bunlar oral progestinler, depo medroksiprogesteron asetat (DMPA), levonorgestrel salgılayan rahim içi araç ve yeni selektif progesteron modulatorleri (mifepriston /RU48)`dir. Yüksek dozlarda hipotalamo-hipofizer-over aksını baskılayıcı etkileri nedeniyle uzun süreli kullanımda hipogonadal durum oluşmasına ve kemik mineral dansitesinde azalmaya yol açabilirler. Tedavinin bırakılmasının ardından geri dönüş hızlı bir şekilde sağlanır ve kırık riski üzerine etkileri yoktur. Fertilite üzerine olumsuz etkileri gebelik isteyen infertil kadınlarda kullanımını kısıtlamaktadır. Kombine oral kontraseptiflerin kontrendike olduğu durumlarda kullanılabilmesi, etkili ve ucuz olması progestinlerin avantajlarıdır[114, 115].

d) Danazol

Endometriyozis tedavisi için ilk onay almış, oral uygulanabilen, primer siklus ortası LH artışını inhibe ederek ve kronik anovulatuvar durumu indükleyerek etki eden bir androjenik ajandır. Yüksek androjenik ve endometriyozis oluşumunu önleyen düşük östrojenik ortam sağlanmış olur. Endometriyozis tedavisinde, danazol'un önerilen dozunun (600-800 mg/gün) ilacın klinik yararlılığını sınırlayan androjenik ve hipoöstrojenik yan etkileri görülür. İrreversibl olarak seste kalınlaşma gelişebilir. Bu yan etkiler sebebiyle tedavi genellikle altı ay ile kısıtlanır[116, 117].

e) Gestrinon

Androjenik, antiprogestojenik ve antiöstrojenik etkileri olan 19-nor testosteron türevi olan bir steroiddir. Klinik yan etkiler danazolde görülenlere benzerdir.

f) Aromataz inhibitörleri

Endometriyotik lezyonlar aromataz ve 17- β hidroksisteroid dehidrogenaz tip-1 enzimlerine sahiptir, bu enzimler sırasıyla androstenedionu östrona ve östronu da östrojene çevirir. Ektopik endometrium dokusunun, eutopik endometriuma göre daha fazla aromataz aktivitesi içerdiği bilinmektedir. Aromataz inhibitorleri ile lokal östrojenin azaltılması tedavide faydalı olabilir. Geri dönüşümlü ve kompetitif olarak aromatazı inhibe eden ajanlardır. Aromataz inhibitorleri ile tedavi, negatif feed back etkiyle FSH'nın artmasına dolayısıyla ovulasyon indüksiyonuna ve multifollüküler kistlerin oluşmasına sebep olabilir[118]. Organogenez döneminde maruz kalındığında, intrauterin mortaliteyi ve fetal malformasyonları arttırdığı bildirilmiştir[119]. Ayrıca hipoöstrojenik yan etkileri sebebiyle GnRH agonistlerinde olduğu gibi ilave ajanlar eklenmelidir.

2.1.8.2.2 Analjezik Tedavi

Nonsteroidal antiinflamatuvar ilaçlar, ağrı tedavisinde belirgin semptomatik düzelmeye yol açarlar. Siklooksijenazı inhibe ederek prostaglandin yapımını azaltırlar. Randomize kontrollü çalışmalar, primer dismenore tedavisindeki etkinliklerini göstermiştir. Kronik pelvik ağrının ampirik medikal tedavisinde ilk seçenektirler[120]. Nonsteroidal antiinflamatuvar ilaçlarla yapılan bir hayvan çalışmasında; bu ajanların ağrı inhibisyonunun yanında, endometriyotik odakların büyümesini de inhibe ettikleri bildirilmiştir[120]. Nonsteroidal antiinflamatuvar ilaçlar oral kontraseptiflerle veya GnRH agonistleriyle kombine edilebilirler[121].

2.1.8.2.3 Deneyisel Tedavi Ajanları

Bu ajanların çoğunun klinik kullanımı henüz onaylanmamış veya popülerite kazanmamıştır. Üzerlerinde yapılan araştırmalar devam etmektedir ve olumlu sonuçlar alınmaktadır.

a) Selektif Progesteron Reseptör Modülatörleri

Selektif progesteron reseptör modülatörlerinin progesteron reseptörleri üzerinde; doza, dokuya ve ortamdaki progesteron varlığına bağlı olarak agonistik veya antagonistik etkileri vardır. Östrojenin sistemik yararlı etkilerini değiştirmeden endometriyal proliferasyonun supresyonuna ve endometriyal damarları direkt etkileyerek, amenoreye neden olurlar. Eutopik ve ektopik endometriumdan sekrete edilen sitokinleri; özellikle PG-F2 alfa ve COX-2`yi azaltarak, dismenorede de faydalı olurlar[122] .

b) Mifepriston /RU486

Mifepriston, antiprogesteron ve antiglukokortikoid etkiyle ovulasyonu inhibe eder, endometriyal bütünlüğü bozarak ve endometriyal spiral arterlerde periarteriolar dejenerasyon yaparak etki gösterir. Oligomenore ve amenoreye neden olur, endometriyal implantlarda küçülmeye ve ağrıda azalmaya yol açar[123]. Progesteron reseptör-A antagonistidir. Saf progesteron reseptör antagonisti olan Onapriston/ZK98299 ile ratlarda endometriyozis modeli oluşturularak yapılan bir çalışmada endometriyoziste % 40-60 regresyon sağlandığı gösterilmiştir[124].

c) Matriks Metalloproteinaz İnhibitörleri

Matriks metalloproteinazlar (MMP), ekstraselüler matriksi yıkan ve normal endometriyal yıkım ve östrojenin stimule ettiği yeniden büyümenin düzenlenmesine

yardımcı olan enzimlerdir. MMP ekspresyonu siklusun erken döneminde artar ve sıklıkla sekretuar fazda progesteron etkisiyle suprese olur[125]. MMP'nin anormal ekspresyonu invaziv ve yıkıcı hastalıklarla ilişkilidir. Endometriyozisli kadınlarda sekretuar endometriyal MMP ekspresyonu beklenmedik şekilde progesteron supresyonuna dirençlidir. Dökülen endometriyal hücrelerde devam eden MMP ekspresyonu, peritoneal yüzeye invazyonu ve takiben hücresel proliferasyonu kolaylaştıracak şekilde reflü olan endometriuma invaze olabilme potansiyeli sağlar[126, 127]. Sitokinler, anjiyogenik faktörler ve inflamatuvar hücreler ile MMP'ler arasındaki henüz yeterince tam olarak tanımlanamayan ilişki, endometriyotik lezyonların lokal invazyonunda ve büyümesinde etkili olabilir. Bu nedenle, MMP inhibitörleri ile endometriyozisin oluşumu ve ilerlemesi durdurulabilir.

d) GnRH Antagonistleri

GnRH antagonistleri hipofiz bezinde down regülasyona neden olarak, gonadotropin salgılanmasında ve ovaryan steroid salgılanmasında supresyon yaparlar. GnRH agonistlerinin tersine, tedavi başlangıcındaki gonadotropin ve östrojen artışı görülmez. Daha hızlı ve etkili oldukları için hastaların erken dönemde semptomlarını azaltarak hasta uyumunu arttırırlar[128].

e) Siklooksijenaz-2 (COX-2 İnhibitörleri)

Siklooksijenaz (COX), prostaglandinlerin oluşumunda temel enzimdir. COX-2, biyolojik sitümülayasyonlara ve bazı onkogenlerin aktivasyonuna (v-Ha-ras, HER-2/neu, wnt) yanıt olarak yapılır. COX-2; endometriyozisli hastaların eutopik endometriumlarında, endometriyotik lezyonlarında ve adenomyoziste tanımlanmıştır[129]. Ayrıca birçok kanserde anormal COX-2 ekspresyonu gösterilmiştir.

COX-2 inhibitörleri ile prostaglandinler ve dolaylı olarak da inflamasyon ve aromataz inhibisyonu olur. COX-2 inhibitörleri arasında Selekoksib, Rofekoksib, Valdekoksib tümör modellerinde anjiyogenezis inhibitörleri olarak tanımlanmışlardır. Parecoxib ve Rofekoksib ile yapılan çalışmalarda endometriyozis odaklarını küçüldüğü bildirilmiştir[119, 129].

f) İmmunmodülatörler

TNF-alfa, makrofajlardan salınır ve potent antiinflamatuvar, anjiyogenik ve sitotoksik özellikleri vardır. IL-8'i regüle ederek anjiyogenezisi stimüle eder. Hücre kültüründe endometriyal hücre proliferasyonunu artırır ve stromal hücreler ile mezotel hücrelerinin adezyonunu sağlar. Matrix metalloproteinaz ekspresyonunu artırır. TNF-alfa etkisini bloke etmek için kullanılan ajanlar; TNF-alfa monoklonal antikorları, infliksimab, TNF-alfa reseptör immünglobulin füzyon proteini ve etanercept'tir. TNF-alfa inhibisyonunun, endometriyoziste faydalı etkileri olabileceği düşünülmektedir. Baboonlarda yapılan bir çalışmada etanercept'in endometriyozis implantlarını gerilettiği bildirilmiştir[130]. Leflunomid ise, makrofaj aktivitesini engelleyerek etkili olan bir immünmodülatördür. Ratlarda endometriyozis modelinde, endometriyozis odaklarını gerilettiği gösterilmiştir[131]. Endometriyozis cerrahisi sırasında intraperitoneal verilen interferon alfa-2b'nin ise sitotoksik T lenfositlerini stimüle ettiği ve hücre proliferasyonunu inhibe ettiği gösterilmiştir[132].

g) Selektif Estrojen Reseptör Modülatörleri /SERM

Selektif estrojen reseptör modülatörleri östrojen konsantrasyonuna bağlı olarak, östrojen reseptörleri üzerinde agonistik veya antagonistik etkileri olabilen ajanlardır. Raloksifen, non-steroidal bir SERM'dir. Östrojen reseptör alfaya olan afinitesi östrojen

reseptör betadan daha fazladır. Endometriyal büyümei engellerken kemik büyümesini arttırmaktadır ancak vazomotor semptomlar, bacak krampları ve periferik ödem kullanımını kısıtlar. Hayvan deneylerinde raloksifenin endometriyotik odaklarda anlamlı derecede azalma yaptığı saptanmıştır[133-135].

2.1.7.3. Cerrahi tedavi

Endometriyozisin cerrahi tedavisi normal anatomik ilişkilerin sağlanması, görünür tüm hastalığın mümkün olan genişlikte çıkartılması ya da yok edilmesi ve hastalığın tekrarının önlenmesi ya da geciktirilmesini amaçlar. Endometriyoziste cerrahi tedavi endikasyonları aşağıdaki hasta gruplarını içermektedir[136]:

- Ruptüre veya torsiyone olmuş endometriyoma gibi, akut karın durumlarında
- Medikal tedaviye rağmen gerilemeyen veya daha kötüye giden semptomları olanlarda
- Barsak / üriner sistem obstrüksiyonu
- Hormonal ya da diğer tedavileri kullanmak istemeyen hasta gruplarında
- Malignensi şüphesi olan adneksiyel kitlesi olan hastalarda

Endometriyozis tedavisinde cerrahi laparoskopik ya da laparotomik olarak gerçekleştirilebilmesine karşılık, enstrümantasyon ve teknikteki teknolojik gelişmeler, genellikle geniş enterolizis ya da bağırsak rezeksiyonuna ihtiyaç duyulanlar hariç hepsinde endoskopik yaklaşıma izin verir. Laparoskopi daha iyi görüntü, daha az doku travması, daha küçük insizyon ve daha hızlı postoperatif iyileşme avantajlarını sunar. Postoperatif adezyonlar ve komplikasyonlar laparotomiye takiben oluşarlardan daha azdır[137].

Endometriyozisteki peritoneal implantların kabul edilen cerrahi tedavileri mümkün olduğu ölçüde tüm hastalığın ablasyon ya da eksizyonu şeklindedir. Adezyonları basitçe açmak yerine içlerinde bulunabilecek endometriyozis odakları nedeni ile tamamına yakını eksize edilmelidir. Eksizyon tanının histopatolojik olarak doğrulanması için ek olarak doku spesmeni avantajı da sağlar. Endometriyomalar en iyi şekilde, kistektomi ya da kistin aspirasyonunu takiben internal kist duvarının ablasyonu ile tedavi edilebilirler. Derin rektovajinal endometriyozis, geniş cerrahi tedaviye ihtiyaç gösterir. Medikal tedavi yetersiz kaldığında ya da konservatif cerrahi tedavi gereksiz veya başarısız olduğunda, seçilmiş olgularda histerektomi ve bilateral salpingo-ooferektomi yapılabilir. Endometriyoziste ağrı tedavisi için presakral nörektomi yapılabilir.

Konservatif cerrahiden sonra altı ay boyunca adjuvan medikal tedavi kullanılmasının, evre III-IV olgularda pelvik ağrı skorlarının uzun süre düşük kalmasında faydalı olacağı konusunda genel bir görüş birliği vardır[3]. İnfertil kadınlarda konservatif cerrahi sonrası en yüksek gebelik oranlarının genellikle operasyon sonrası ilk bir yıl içinde gerçekleştiği göz önüne alarak, çoğu klinisyen cerrahi tedavi sonrası gebeliği önleyebilecek medikal tedavi kullanımından kaçınmaktadır[138].

On yıllık izlemde cerrahi tedavi sonrası endometriyozisin rekürrens riski yaklaşık % 40'tır. Ayrıca hastaların yaklaşık % 20'sinde ilk iki yılda tekrar cerrahi gereksinimi duyulmaktadır[139].

2.1.8.4 Medikal ve cerrahi tedavinin kombinasyonu

Endometriyozis tedavisinde medikal tedavinin perioperative dönemde verilmesi hala tartışmaların olduğu bir konudur. Pre-op olarak verilen medikal tedavi endometriyotik odakların boyutlarının küçültülmesini amaçlamaktadır. Ancak preoperatif

hormonal tedavinin ağrıyı azalttığı, gebelik oranlarını yükselttiği ve rekürrensi düşürdüğüne dair kanıtlar yoktur[140]. Sadece derin rektovaginal endometriyozisde rekürrensi azaltığı gösterilmiştir.

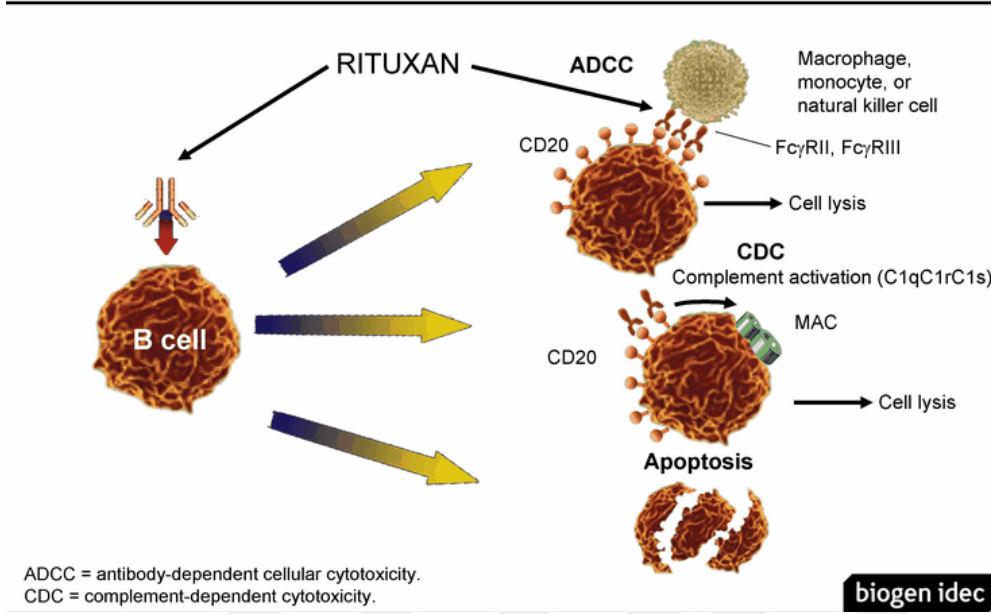
Postoperatif medikal tedavinin rekürrensi geciktirdiğini kanıtlamış birçok çalışma vardır[141,142]. Ancak ağrı, gebelik oranları konusunda önemli bir fayda sağladığına dair kanıt yoktur[140]. Fertilite arzu olmayan ve ağrı semptomuna yönelik hastalarda özellikle operasyonda yaygın hastalığı ve rezidüsü kalmış hastalarda postoperatif medikal tedavinin bir anlamı olabilir[3].

2.1.9 Yeni bir Medikal Tedavi Seçeneği ‘*Rituximab*’:

Rituximab, CD-20 proteinine karşı oluşturulmuş şimerik bir monoklonal antikordur. CD-20, B lenfositlerin maturasyon basamalarının en başlarında ortaya çıkan ve son basamağa kadar hücre yüzeyinde eksprese edilen bir hücre yüzey proteinidir. CD-20 salınmaz, değiştirilmez ve hücre içine alınmaz. CD-20’in kesin fonksiyonu bilinmemekle birlikte hücre içine kalsiyum salınımından sorumlu olduğu ve kalsiyum konsantrasyonunun devamlılığından sorumlu olduğu düşünülmektedir. Bu şekilde B lenfositlerin aktivasyonunda rol oynadığı düşünülmektedir. Rituximab hedef hücre yüzeyini antikorlarla kaplar. Bu şekilde antikorla kaplı hücreler NK hücrelerini aktifler ve hedef hücre antikor bağımlı selüler sitotoksite ile yıkıma uğratılır. Ayrıca hedef hücrede sellüler sitotoksisite cevabını uyardığı gibi humoral sitotoksisite cevabını da uyarır. Ayrıca rituximab CD-20+ olan B hücrelerinde bir takım değişikliklere neden olarak programlı hücre ölümüne neden olur ki bu apoptozis olarak da adlandırılır (Şekil.1).

RITUXAN

Mechanism of Action



Şekil.6: Rituksimab'ın etki mekanizması.

İlk olarak 1997'de B hücreli lenfomaların tedavisi için FDA(Food and Drug Administration) onayı almıştır. Patogenezinde anormal B-hücre aktivasyonu ve hücre yüzeyinde CD-20 olan bütün hastalıklarda potansiyel olarak kullanılabilecek bir tedavi seçeneğidir. Kemoterapi tedavisine ilaveten verilebildiği gibi bazı otoimmün hastalıklarda da (RA, SLE, sjögren, MS, otoimmün hemolitik anemi, İTP, Wegener Granulomatosis ve Mikroskobik Polianjitis) endikasyon almıştır[143]. Endometriyozis hastalığının patogenezinde de otoimmün antikorlar ve B-lenfosit aktivasyonundan söz edilmektedir. Bu nedenle endometriyozis tedavisinde bir seçenek olarak düşünülebilir. Diğer protein yapıları gibi premedikasyon yapılarak parenteral yol ile infüzyon şeklinde verilir. İnfüzyon reaksiyonu, sitokin salınım sendromu, tümör lizis sendromu, progresif multifokal lökoensefalopati ve kardiyak arrest'e kadar varan ciddi yan etkileri nedeniyle kullanımı belirli endikasyonlarla sınırlandırılmıştır.

2.2. Dişi Ratların Üreme Sistemi

Ratlarda böbreklerin kaudal ucuna yakın olarak konumlanmış olan ovaryumlar 3-5 mm büyüklüğündedir. Uterus bikornual yapıda olup kornular 4-6 cm uzunluktadır. Uterusun beslenmesi arteria uterina tarafından sağlanmaktadır. Serviks uteri 0.3-0.5 cm, vajina ise 2.5 cm uzunluktadır. Klitoris vajinal girişin kranialinde küçük ve konik şekilde bir çıkıntı halindedir. Dişi ratlarda üretra klitorisin altında yer alır ve vajina ile bağlantısı yoktur[144].

Memeli dişi hayvanların seksüel aktiviteleri ve üreme sistemlerindeki değişiklikler döngüseldir. Dişiler çoğu zaman erkeklerden kaçınır ve seksüel girişimleri geri çevirirler. Periyodik olarak bu davranış modelinde ani bir değişiklik meydana gelir ve dişiler eşleşmek için atılımında bulunurlar. Bu cinsel ritim küçük kemiricilerde 4-5 gün olup estrus siklusu adını alır. Kemiricilerde estrus siklusunun kısa olmasının nedeni hipofizden LH'nın yetersiz salgılanması ve buna bağılı olarak oluşumundan kısa bir süre sonra korpus luteumun dejenere olmasıdır. Estrus siklusu; diestrus, proestrus, estrus ve metestrus olmak üzere dört fazdan oluşmaktadır[145]. Bu fazların deney hayvanlarında saptanması vajinal smear takibi ile yapılabilmektedir[146].

Dişi ratlarda siklusu oluşturan proestrus fazı 12 saat, estrus fazı 12 saat, erken metaestrus fazı 15 saat, geç metaestrus fazı 6 saat ve diestrus fazı 57 saat sürer[147]. Proestrusta LH ve östrodiol(E2) maksimum düzeye ulaşır. FSH'da ise yavaş bir artış görülür. Bu dönemin başlangıcında E2 değeri düşük seviyede seyrederken, proestrus döneminin ortalarına doğru en yüksek seviyeye ulaşır. Estrusa doğru ise hafif bir düşme gösterir[148].

Diestrus iki çiftleşme periyodu arasındaki zaman aralığıdır yaklaşık 57 saattir. Bu dönemde alınan smearda bol miktarda değişik epitel hücre tipleri vardır. Mukus ve lökosit mevcuttur. Epitel hücreleri daha çok oval şekillidir. Glandüler hiperplazi ile başlayan bu devrede korpus luteumun salgıladığı progesteron hormonunun etkisi vardır. İnsanlarda, ovulasyondan sonra çatlayan follikülde lipitten zengin luteal hücrelerin olduğu ve korpus luteumun meydana geldiği luteal veya sekretuar faz diye adlandırılan evre sıçanların diestrus ve metestrus evrelerine paralellik göstermektedir.

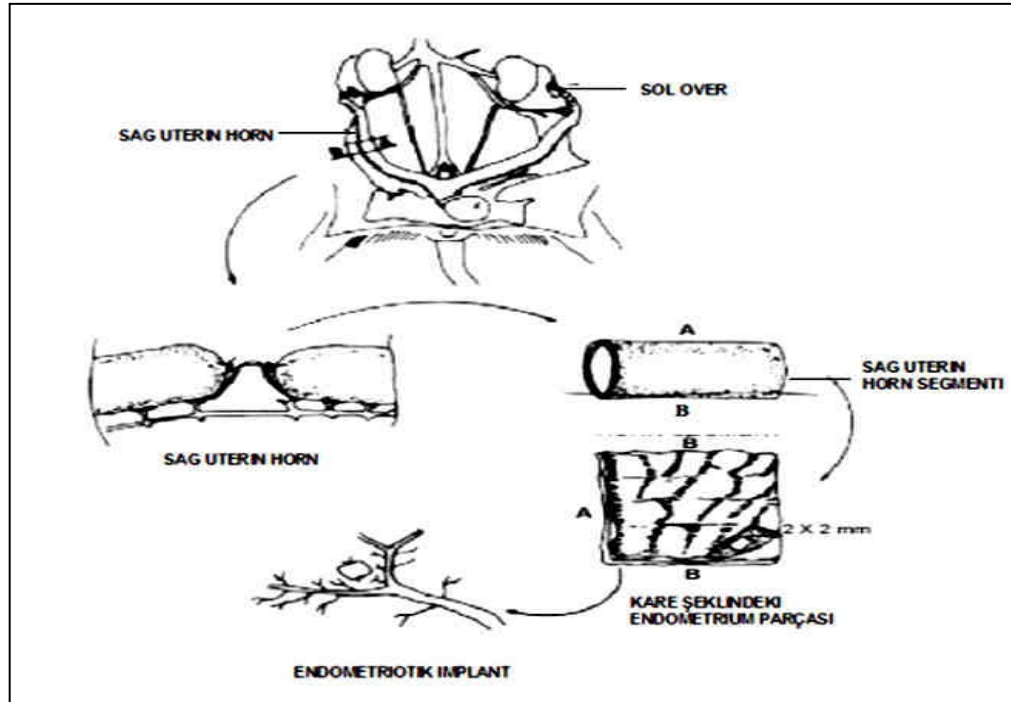
Proestrus fazında ovaryumda bir ya da birkaç folikül olgunlaşır ve folikül epiteli teka intena hücrelerinden östrojen salgılarlar. Yaklaşık 12 saat sürer. Vajinal epitel çoğalmıştır. Smearda, dış hatları oval olan epitel hücrelerinin merkezi nukleusları vardır, lökosit ve mukus nadirdir. Proestrus fazı, insanlardaki menstrual siklusun 1-14.gün arası, bir folikülün hızla büyümeye başladığı, kanda estrojen hormonunun yükseldiği foliküler faz veya proliferatif faz olarak tanımlanan döneme karşılık gelmektedir.

Estrusun süresi 7- 21 saat olup daha çok gece saatlerinde belirlenir. Çiftleşme ve kızışma periyodu olup, estrus davranışının hayvanda belirgin hale gelmesinden 6-10 saat sonra ovulasyon gerçekleşmektedir. Estrusta vulva ödemli, vajina duvarı kurudur. Smearda görülen vajen epitelinde kornifikasyon vardır, birçoğu çekirdeklerini kaybetmiştir. Çiftleşme halinde ise vajinal plak oluşur. Davranışsal olarak estrustaki dişi ratlar aşırı hareketli olurlar, baş ya da sırtları okşandığında kulakları titrer, pelvis bölgesi uyarıldığında ise arka tarafını kaldırır. Estrus sonuna doğru dişi ratlarda spontan olarak ovule olan yaklaşık 10 adet oositin yaşam süresi 10- 12 saat kadardır[148]. İnsanda siklusun yaklaşık 14.günü, LH hormonu salınımının aniden yükselmesi ile gerçekleşen ovulasyon dönemi ile özdeştir.

Metestrus fazı yaklaşık 21 saattir ve overde korpus luteumun şekillenmeye başlaması ile karakterizedir. Smearda birkaç kornifiye hücre olup, lökosit ve mukus boldur. Dönem sonunda çekirdekli poligonal hücreler ortaya çıkar.

2.3. Ratlarda Deneysel Endometriyozis Çalışmaları

Vernon ve Wilson, ratlarda endometriyozis oluşturmak için 1985 yılında yaptıkları çalışmalarında çeşitli teknikler denemişlerdir. Peritoneal kaviteye 2x2 mm'lik uterus parçası implantasyonu(Şekil.2), uterin lavaj instillasyonu ve endometriyal kazıntı materyalinin ekimini uygulamışlardır. Sadece ototransplant yapılan grupta kistik endometriyozis geliştiğini belirtmişlerdir. Bu elipsoidal kistik odakların hem endometriyal stroma hem de glandları içerdiği saptanmıştır[149]. Endometriyozisin oluşum süresi ile ilgili Amaral ve ark.'ın yaptığı çalışmada otolog endometriyal dokunun transfer edilmesi ile oluşturulan endometriyozis modelinde; hem 30 gün sonra bakılan grupta hem de 60 gün sonra bakılan grupta endometriyozisin oluştuğu gözlenmiştir [150].



Şekil.7. Ratlarda endometriyozis modeli.

3. MATERYAL METOD

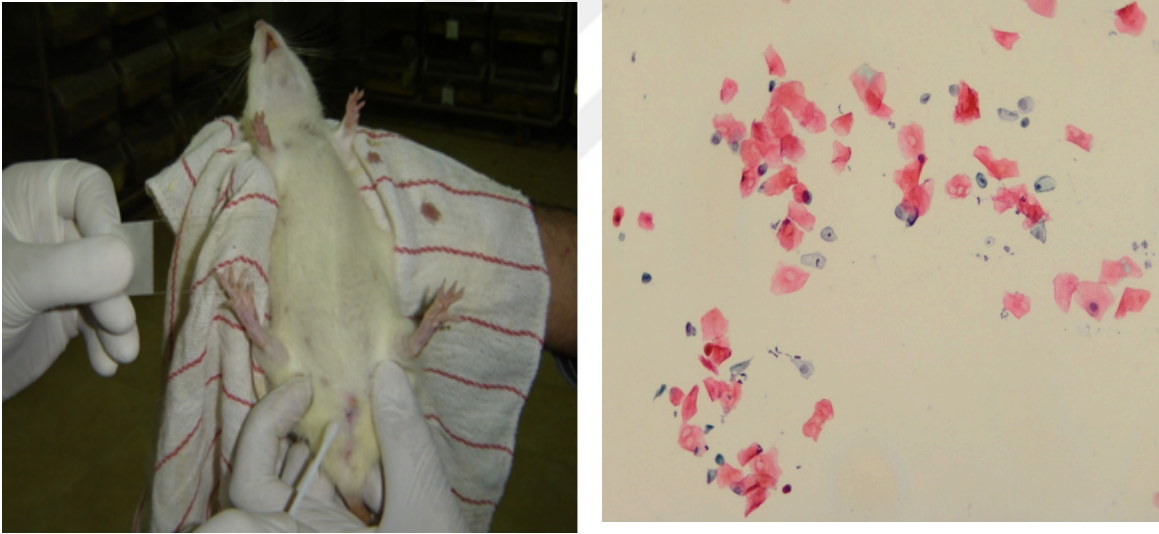
Çalışma için deney hayvanları, Dışkapı Yıldırım Beyazıt Eğitim ve Araştırma Hastanesi Deney Hayvanları Labratuvarı'ndan sağlandı ve çalışma bu labratuvarda gerçekleştirildi. Çalışmada Wistar albino türü, ağırlıkları 220-250 gram arasında değişen 23 adet matur dişi rat kullanıldı. Tüm işlemler için Zekai Tahir Burak Kadın Sağlığı Eğitim ve Araştırma Hastanesi Eğitim Planlama ve Koordinasyon Kurulu'ndan ve Dışkapı Yıldırım Beyazıt Eğitim ve Araştırma Hastanesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan onay alındı (Ek 1).

Çalışma için seçilen ratlar, bireysel olarak kafeslendi. Kafeslerde altlık materyali olarak mısır granülleri kullanıldı ve bakım odasında ısı $21 \pm 1 \text{ C}^0$, nem oranı $\% 55 \pm 5$ ve ışık/zaman ayarı 12/12 saat olarak belirlendi. Suluk olarak, sürekli kafeslerin üzerinde bulundurulan polikarbon suluklar kullanıldı. Ratların beslenmesi için Türk Standartları Enstitüsü(TSE) standartlarına uygun olarak yaptırılan pelet yem seçildi ve ratlar ad libitum beslendi. Araştırma süresince kullanılan ratlara; türüne uygun en iyi fizyolojik, davranışsal ve çevresel koşullar sağlandı ve ratların bakımı uygun şekilde Veteriner Hekim Başak Boztok tarafından yapıldı.

3.1. Çalışmanın Dizaynı

Tüm ratlarda homojenizasyonu sağlamak için operasyonlardan önce vajinal smear alınarak estrus fazında olan ratlar belirlendi(Şekil.8). Günlük alınan vajinal smear örnekleri ile belirlenen estrus fazındaki ratlar operasyona alındı. Ketamin-Xylazine ile genel anaestezi sağlanan ratlara ilk laparotomi ile cerrahi olarak otolog endometriyotik odaklar implante edildi. Tüm operasyonlar aynı dört araştırmacı tarafından yapıldı. Operasyon günü sıfır kabul edilerek 30. günde ikinci laparotomi yapıldı. Endometriyotik

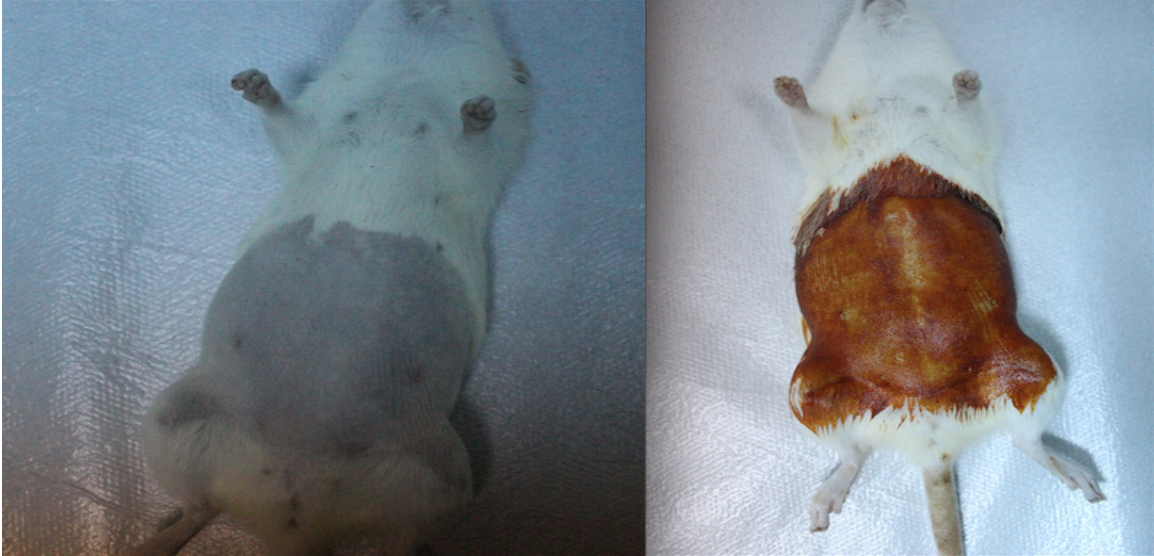
odakların canlılığı, makroskopik özellikleri değerlendirildi ve boyutları ölçüldükten sonra ratlar iki gruba ayrıldı; rituximab alan tedavi grubu(n=12) ve placebo verilen kontrol grubu(n=11). 14 gün takip edildikten sonra smear takibiyle estrus fazında olduğu saptanan ratlara üçüncü laparotomi uygulandı. Endometriyotik odakların makroskopik özellikleri kayıt edildi ve hacim ölçümleri aynı araştırmacı tarafından yapıldı. Endometriyotik odaklar çıkartılarak histopatolojik ve immünohistokimyasal inceleme için patoloğa teslim edildi. Gruplar; endometriyal odakların makroskopik özellikleri, histopatolojik ve immünohistokimyasal sonuçlar açısından karşılaştırıldı.



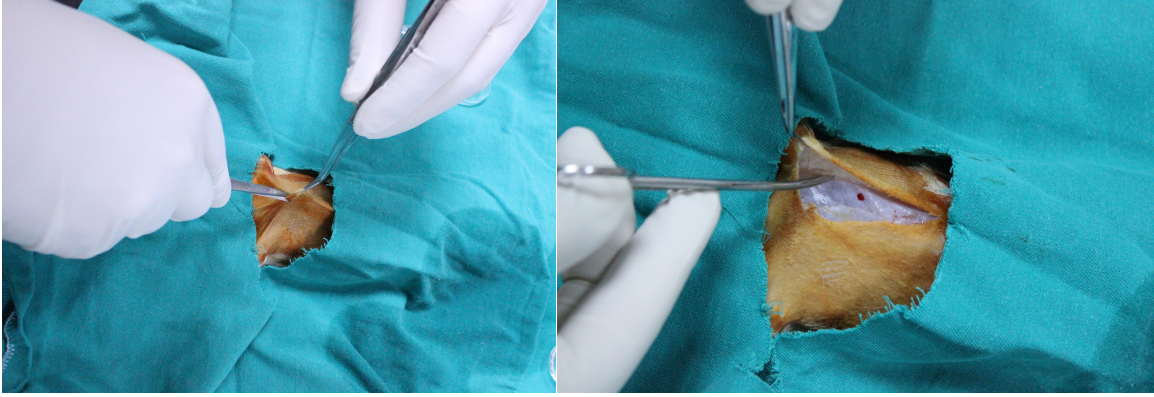
Şekil.8 Ratlardan smear alıma tekniği ve vajinal sürüntü yaymasının '*Papanicolaou*' boyama sonrası smear görüntüsü: Smear alınırken rat sırtüstü yatar pozisyonunda, kafası aşağıya gelecek şekilde tutularak, kuyruk ve kuyruk kökünden tespit edilir. Vajen % 0.2'lik SF ile yıkanarak hidrofilli pamuklu çubukla smear alınır. Alınan smear örnekleri fiksasyon sonrası papanicolaou boyama yöntemiyle boyanır.

3.2. İlk Laparotomi

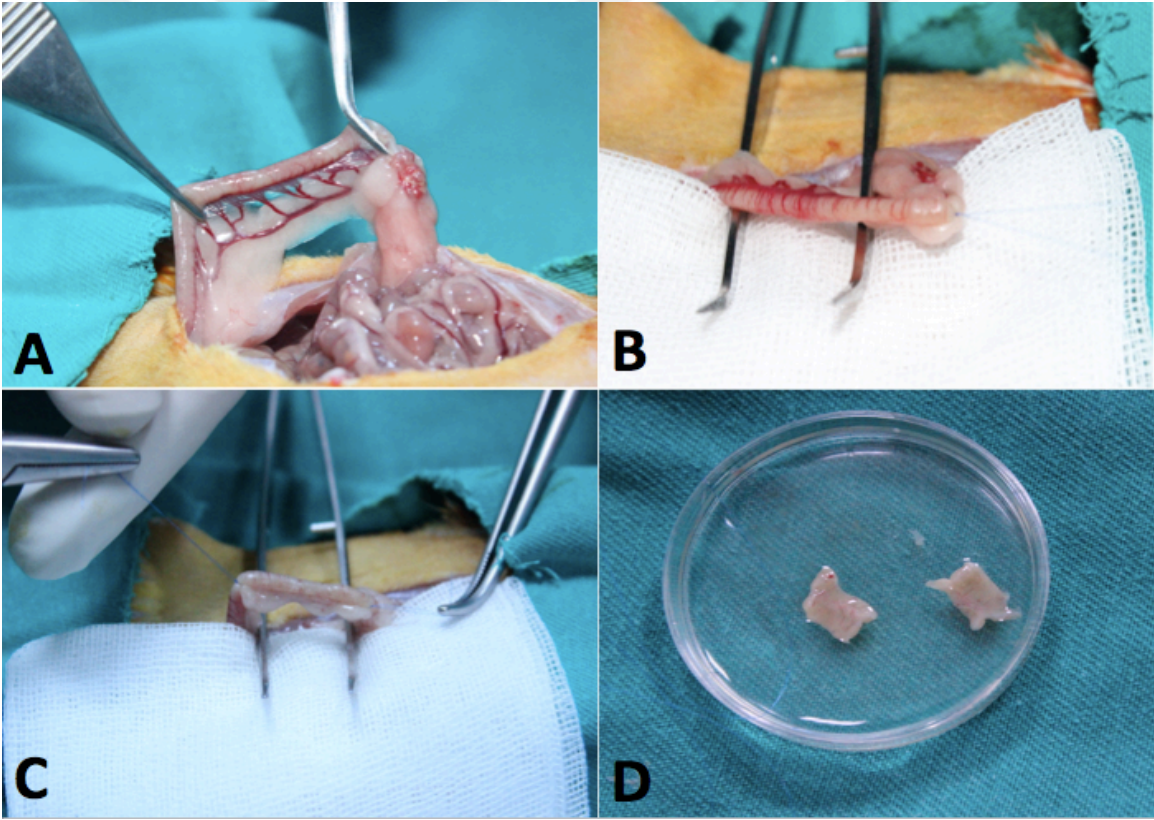
Homejenizasyon için operasyon öncesi estrus fazında olduğu belirlenen 24 rata 6 saat açlığı takiben 40 mg/kg ketamin hidroklorür ve 2 mg/kg xylazine kullanılarak(i.m) genel anestezi uygulandı. Operasyon öncesi ratların batin cildi traşlandı ve % 10'luk povidin iyot çözeltisi ile antisepsi sağlandıktan sonar (Şekil.9) üretral açıklığının üstünden 3 cm'lik median kesi ile laparotomi uygulandı (Şekil.10). Ratlarda deneysel cerrahi endometriyozis modeli Vernon ve ark.'nın [149] önerdiği şekilde, ve Uygur ve ark.'nın [131] modifikasyonları dikkate alınarak oluşturuldu. Laparotomi yapıldıktan sonra her iki horn açığa çıkarıldı ve sol horndan 1 cm'lik segment, tubal ve servikal ucundan 4.0 poliprolen suturele bağlandıktan sonra eksize edildi(şekil11). Elde edilen otolog uterin doku fosfat tamponlu serum fizyolojik içerisine konuldu. 5X5 mm'lik olacak şekilde hazırlanan uterin segment ratın karın sağ yan duvarına, endometriyal yüzey periton yüzeyine gelecek şekilde 5.0 poliprolen ile iki ucudan implante edildi (Şekil.12).



Şekil.9: Operasyon öncesi ratların batin cildi traşlanması ve % 10'luk povidin iyot çözeltisi ile antisepsi sağlanması.

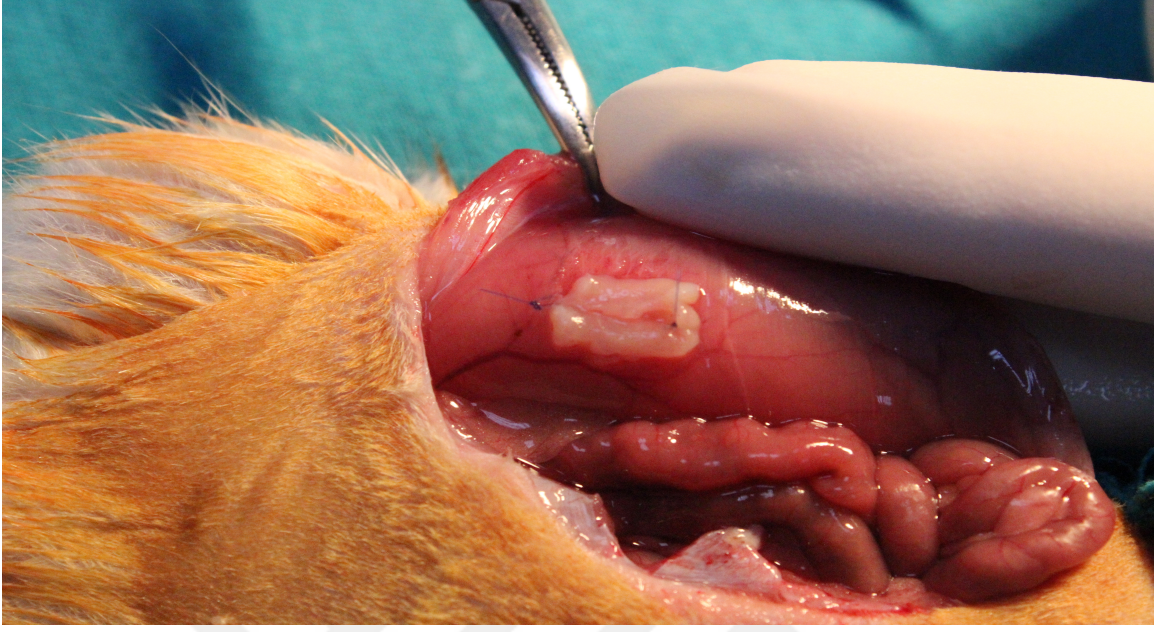


Şekil.10: Üretral açıklığın üstünden 3 cm'lik median kesi ile laparotomi uygulanması.

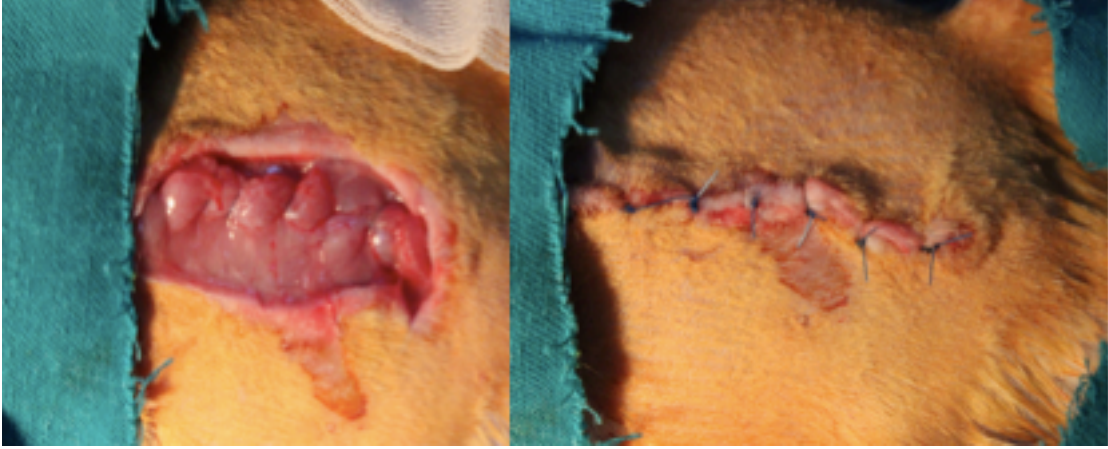


Şekil.11: Sol hornun tanımlanması ve implante edilecek uterin segmentin hazırlanması:

A,B,C)Laparotomi yapıldıktan sonra sol horndan 1 cm'lik segment, tubal ve servikal ucundan 4.0 poliprolen suturele bağlandıktan sonra eksize edildi. D) Elde edilen otolog uterin doku fosfat tamponlu serum fizyolojik içerisinde konuldu ve 5X5 mm'lik olacak şekilde uterin segment hazırlandı.



Şekil.12: Hazırlanan uterin segmentin ratın karın sağ yan duvarına implante edilmesi: 5X5 mm'lik olacak şekilde hazırlanan uterin segment ratın karın sağ yan duvarına, endometriyal yüzey periton yüzeyine gelecek şekilde 5.0 poliprolen ile iki ucundan implante edildi.



Şekil.13: Periton, fasya ve cildin kapatılması: Batın katları 4.0 poliglactin suture ile 2 kat olarak anatomiye uygun olarak kapatıldı.

Kanama kontrolünün ardından kuruluğun önlenmesi ve adezyon oluşumunun en aza indirilmesi için 2 ml serum fizyolojik abdominal kaviteye verildi ve batın katları 4.0 poliglactin suture ile 2 kat olarak anatomiye uygun olarak kapatıldı (Şekil.13). Tüm

operasyonlar aynı dört araştırmacı tarafından yapıldı. Yapılan birinci laparotomi tarihi sıfırncı gün olarak kabul edildi. Operasyon sonrası 30 gün boyunca bireysel kafeslerde barındırılan ratlar, ilaç verilmeden izlendi. Bu izlem sırasında post op birinci gün bir adet rat anestezi komplikasyonları nedeni ile kayıp edildi.

3.3. İkinci Laparotomi

İlk laparotomi sonrası ölen bir rat sonrası kalan 23 rat, do Amral ve ark.`nın[150] çalışmasına uygun olarak otuz gün bekletildikten sonra estrus fazındakiler belirlendi ve daha önce belirtildiği gibi genel anestezi uygulanarak ikinci bakı (second look) laparotomi yapıldı. Bu aşamada deneysel olarak oluşturulmuş implantların canlılığı makroskobik olarak vital endometriyozis oluşup oluşmadığı değerlendirildi[131]. Yapılan laparotomiyle ektopik uterin doku tanımlandı (şekil.14) ve gelişen endometriyotik odaklar gros olarak (uzunluk-geñiřlik-derinlik) tek bir araştırmacı tarafından ölçüldü ve kayıt edildi[131]. Ölçümlerde `Absolute Digimatic' marka dijital ölçüm cihazı kullanıldı(şekil.15).



şekil.14: Yapılan laparotomiyle ektopik uterin doku tanımlanması.



Şekil.15: Endometriyotik implantların ölçümü: Gelişen endometriyotik odaklar makroskobik olarak(uzunluk-genişlik-derinlik) 'Absolute Digimatic' marka dijital ölçüm cihazı ile ölçüldü ve kayıt edildi.

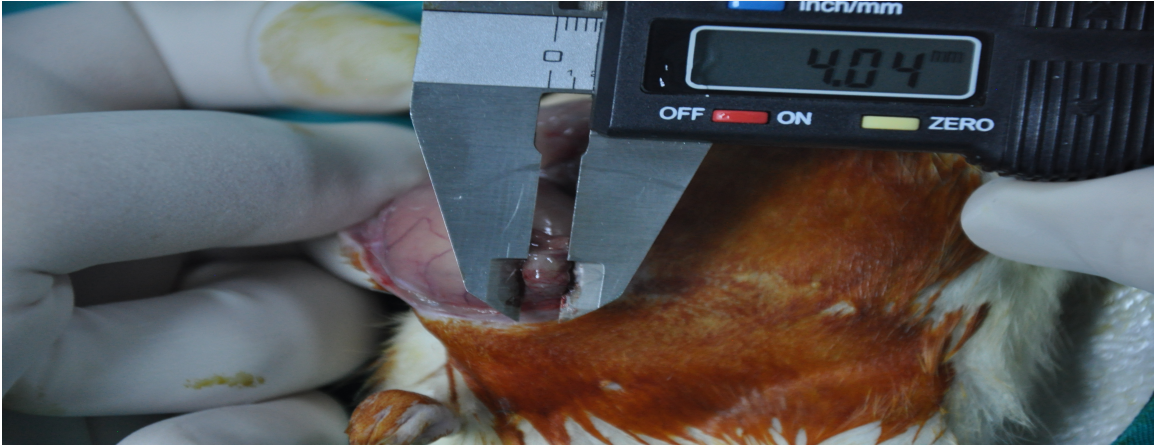
Her bir ektopik uterin dokunun küresel volümü elipsoid formül kullanılarak ($V(\text{mm}^3) = \text{uzunluk} \times \text{genişlik} \times \text{yükseklik}$) hesaplandı(Volüm 1: Oluşturulan endometriyotik implantların tedavi öncesi hacmi) ve batın daha önce belirtildiği gibi kapatıldı ve ratlar iki gruba ayrıldı:

Grub I (tedavi grubu)'e ($n=12$) 10mgr/kg Rituximab (MabThera[®] 500 mg 50 ml, flakon, Roche) subkutan(sc) olarak tek doz verildi. İlacın uygulama sıklığı ve dozu önceki çalışmalar ve rituximab'ın farmakokinetik ve farmakodinamik özellikleri göz önüne alınarak belirlendi ve tedavi grubuna yarılanma ömrü 14 gün olduğu için tek doz olarak Rituximab verildi[151].

Grub II (kontrol grubu)'ye ($n=11$) 1 ml serum fizyolojik, sc olarak tek doz verildi.

3.4. Üçüncü Laparotomi

İkinci operasyondan sonra herhangi bir rat kaybı olmadı. İkinci laparatomiden ondört gün sonra smear takibi ile estrus fazında olduğu saptanan ratlara, üçüncü laparotomi benzer şekilde uygulandı, implant volümleri tekrar ilk ölçümleri yapan aynı araştırmacı tarafından ölçüldü(volüm 2)(Şekil.16). Ardından implant dokular total olarak eksize edildi ve % 10'luk formalin solusyon içerisine konuldu. Ardından ratlara ötenazi uygulandı. Dokular parafin bloklara gömüldükten sonra kesitler hazırlanıp histopatolojik ve immünohistokimyasal inceleme için iki gruba ayrıldı.

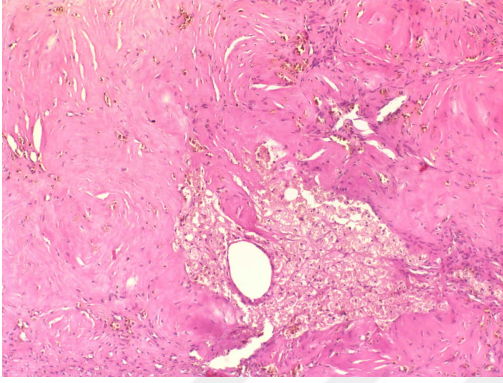


Şekil.16: Üçüncü laparotomi sonrası endometriyotik implantların boyutlarının ölçülmesi(Volüm 2).

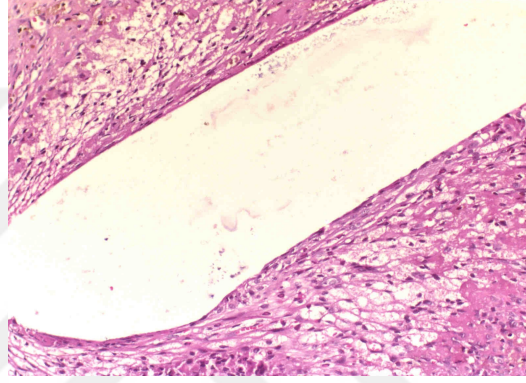
3.5. Endometriyotik İmplantların Histopatolojik olarak İncelemesi

Örnekler Dışkapı Yıldırım Beyazıt Eğitim ve Araştırma Hastanesi Patoloji bölümünden Uzm. Patalog Dr. Aynur Albayrak tarafından değerlendirildi. Dehidrate edilip parafin bloklara gömüldükten sonra 4-6 mikronluk kesitler hazırlanıp hematoksilen-eozin boyası uygulandı. Preparatlar ışık mikroskobu altında incelendi. Endometriyozisin histolojik tanısı endometriyal glandüler doku ve stromanın morfolojik

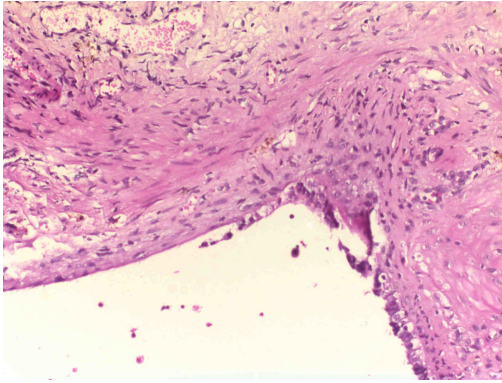
olarak identifikasyonu esasına dayanır. Rutin inceleme için hematoksilen-eozin boyası uygulandı. İncelemeyi yapan patoloğa gruplar hakkında bilgi verilmedi. Bu çalışmada önceki çalışmalardaki geliştirilmiş metot esas alınarak endometriyozis odaklarındaki epitelyal hücre persistansı semikantitatif olarak değerlendirildi [131](Şekil.17) ve her bir rat için belirlenen skorlar gruplar arasında istatistiksel olarak karşılaştırıldı.



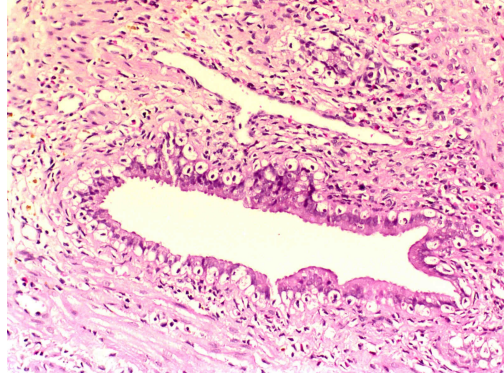
Skor 0: Epitelin hücresi yok



Skor 1: Zayıf olarak korunmuş epitelyal tabaka



Skor 2: Orta derecede korunmuş epitelyal tabaka



Skor 3: İyi korunmuş epitelyal tabaka

Şekil.17: Histopatolojik skorlamanın patolojik görüntüleri. Skor 0 'dan Skor 3 'e doğru endometriyozis daha belirgin olmaktadır. Skor 3 endometriyozisin belirgin olduğu skordur.

Konnektif dokuyu yani tedavi ve kontrol gruplarındaki endometriyotik implant çevresindeki fibrozisi değerlendirmek için Masson Trichrome boyama ile de kesitler değerlendirildi ve fibrosis için skorlama dört gruba ayrılarak yapıldı. Grade 1: Görülebilen fibröz doku yok; Grade 2: Hafif derecede dağınık fibröz dokular, her bir alanda 4'den az olan fibröz doku odaklarının olması; Grade 3: Orta derecede yoğun fibröz doku ve dörtten fazla fibrotik odağın varolması; Grade 4: Ciddi derecede endometriyal glanları oblitere eden tüm alanlarda yoğun olarak izlenen fibröz doku varlığı ile birlikte glandüler hücrelerin atrofiye olması ve/veya kistik glandüler değişikliklerin varlığı[152]. Masson Trichrome boyası için `scytek laboratories , Trm-2-ifu, Trichrome stain kit` klonu kullanıldı. Rutin takip sonrası parafin bloklardan hazırlanan boyasız kesitler sırasıyla aşağıdaki işlemler uygulanılarak Masson Trichrome ile histokimyasal boyama yapıldı.

- Deparafinizasyon,
- Su banyosunda 56-64 °de bekletildi,
- Bouin solüsyonunda 60 °de ısıtıldı, daha sonra 10 dakika soğutma işlemi uygulandı,
- Musluk suyunda tamamen temizleninceye kadar tutuldu,
- Distile suya yıkandı,
- A ve B karışımlarında 5 dakika bekletildi,
- Musluk suyunda 2 dakika yıkandı,
- Biebrich Scarlet solüsyonunda 15 dakika bekletildi,
- Distile suyla yıkandı,
- 10-15 dakika Phosphomolybdic solüsyonu uygulandı,
- Yıkamadan direkt olarak anilin solüsyonu 5-10 dakika uygulandı,

- Distile su ile yıkandı,
- 3-5 dakika asetik asitte bekletildi,
- Dehidratasyon aşamaları uygulandı ve balsam ile kapatıldı.

Çalışmamızda endometriyotik implantlar aynı patolog tarafından değerlendirilerek her bir rat için bir histolojik skor belirlendi. Ardından tedavi ve kontrol gruplarının skorları istatistiksel olarak karşılaştırıldı.

3.6. Endometriyotik İmplantların İmmünohistokimyasal İncelemesi

Diğer gruba ise immünohistokimyasal boyama yapıldı. Tedavi ve kontrol grubundan alınan tüm dokular, örneklerin nereden alındığı ve gruplar hakkında bilgisi olmayan aynı patolog tarafından değerlendirildi. İmmünohistokimyasal boyamalar, parafin bloklardan hazırlanan kesitlere peroksidaz-antiperoksidaz(PAP) yöntemi ile DAB kromojeni kullanılarak uygulandı. İşlem basamakları aşağıdaki gibi uygulandı:

- Seçilen tüm bloklardan lizinli lamlara 4 mikron kalınlığında kesitler alındı.
- Lamlar 37°C etüvde bir gece bekletildi.
- Ertesi gün 60°C etüvde 45 dakika deparafinizasyon için bekletildi.
- Oda ısısında ksilende 5 dakika bekletildi.
- % 100, % 95, % 80'lik alkollerde 3'er dakika bekletildi.
- Daha sonra preparatlar 5 dakika distile suda bekletildi
- Preparatlar 0.01 M sodium citrate buffer solusyonunda 100°C de mikrodalga fırında 20 dakika bekletildi.
- Bir süre oda ısısında bekletildikten sonra distile suya alındı.
- Lamlar, endojen peroksit aktivitesinin engellenmesi için 10 dakika süre ile hidrojen peroksit solüsyonunda bekletildi.

- Tamponlanmış salin (PBS) solüsyonu ile yıkandı.
- Protein blokajı 20 dakika süre ile uygulandı.
- Lamlara CD-20 antikoru (poliklonal, rat, Anti-CD-20, LEİCA, USA) 1/50 dilüsyonda damlatılarak bir saat inkübasyonda bırakıldı.
- PBS ile yıkandıktan sonra, sekonder antikor (biotinylated goat antipolivalent, Lab Vision) damlatıldı, 25 dakika bekletildi.
- Tekrar PBS ile yıkandı. Streptavidin peroksidaz damlatılarak 25 dakika bekletildi.
- PBS ile yıkandıktan sonra DAB kromojen damlatıldı, 20 dakika bekletildi.
- PBS ile yıkandıktan sonra 5 dakika PBS de bekletildi.
- Mayer's hematoksilen ile 3 dakika zıt boyama yapıldı. Musluk suyunda yıkandı.
- 5 dakika distile su, 5 dakika alkol, 5 dakika ksilende bekletildikten sonra balzam ile kapatıldı.

Daha sonra ışık mikroskobu altında kesitler CD-20 pozitifliği açısından skorlandı (Şekil.20).

Tedavi grupları arasında volüm-1 ve volüm-2 büyüklüklerinin karşılaştırılması ve histolojik olarak glandüler doku-stromal doku skorlama sonuçlarının karşılaştırılmasıyla ilacın tedavi etkinliği değerlendirildi. CD-20 immünohistokimyasal boyama ile ise B-hücrelerinin varlığı değerlendirildi.

3.7. İstatistiksel Analiz

Deneylere başlanmadan önce G-power programı kullanılarak ortalamalar arasındaki farkın anlamlılık testi için tek yönlü varyans analizi kullanarak $\alpha=0,05$ anlamlılık ve $\beta=0,80$ güç değeri ile örneklem genişliği hesaplanmış ve istatistiksel değerlendirmelerin yapılabilmesi için gereken en az hayvan sayısı ($n=12$) belirlenmiştir. İstatistiki analizleri

IBM® SPSS® Statistics 20.0 for Mac (IBM Corp, Los Angeles, CA, USA) ile sonuçların tabloları Microsoft Excel® for Mac 2011 (Microsoft Corp, Santa Rosa, CA, USA) ile yapılmıştır. Deneyler sonucunda elde edilen verilerin normal dağılım (Shapiro-Wilk testi ile) göstermesi durumunda kontrol ve ilaç grupları arasındaki volum1 ve volum2 arasındaki hacim farklılıkları ve histolojik olarak H&E boyanma skorlarının ve fibrosis skorları ve CD-20 skorlarının karşılaştırılmasında normal dağılan nicel veriler için Student's t-testi, dağılmayanlar için Mann-Whitney U testi ve her grupta zamana bağlı değişimlerin karşılaştırmasında normal dağılan veriler için Paired samples t-testi, dağılmayanlar için Wilcoxon testi kullanılmıştır. Deney sonuçlarının normal dağılmaması durumunda yukarıda belirtilen karşılaştırmalar için sırasıyla Wilcoxon testi ve ikili karşılaştırmalar için de Mann-Whitney U testi kullanılmıştır. Nicel veriler için tanımlayıcı değer olarak ortalama $\pm$ standart sapma (normal dağılan veriler için) ve min-max değerleri kullanılmıştır.

Sonuçlar % 95'lik güven aralığında, anlamlılık $p < 0.05$ düzeyinde değerlendirilmiştir.

4. BULGULAR

Çalışmada ağırlıkları 220-250 gr arasında değişen, Wistar albino türü toplam 23 adet yetişkin, dişi rat kullanıldı. Araştırma dönemi boyunca 1(bir) rat anesteziye bağlı bir komplikasyon nedeni ile feda edildi, diğer ratlar cerrahi uygulamaları iyi tolere etti. Her laparotomi aşamasında insizyonları intaktı ve enfeksiyon bulguları izlenmedi. Çalışma süresince ratların ağırlıkları ve genel özellikleri takip edildi, herhangi bir olumsuz durum izlenmedi. Tedavi öncesi ve sonrası kontrol grubu ve çalışma grubunda ratların ağırlığı yönünden bir fark saptanmadı. İkinci laparotomi sonrasında ratların tümünde endometriyozis odağı olduğu izlendi (Şekil.14).

4.1. Lezyon Hacimlerinin Değerlendirilmesi:

Tablo.5: Tedavi öncesi ve sonrasında, kontrol ve tedavi (Rituximab) gruplarında endometriyozis lezyonlarının ortalama hacim değerleri(mm³) ve istatistiksel karşılaştırılması.

Tedavi Durumu	Gruplar	Ortalama±SS(mm ³)	Min-Max(mm ³)	p
Tedavi öncesi	İlaç(n=12)	76,36±37,81	12,51-100,20	0,256
	Kontrol(n=11)	87,03±61,25	22,69-189,88	
Tedavi sonrası	İlaç(n=12)	20,37±13,08	0,01-46,91	0,001(*)
	Kontrol(n=11)	188,81±149,42	7,32-546,65	

*Students' t-test

Endometriyozis lezyonu oluştuktan sonra(ikinci laparotomi sonrası), tedavi grubunda ortalama lezyon hacmi 76,36±37,81mm³ iken kontrol grubunda ortalama lezyon hacmi 87,03±61,25 mm³ idi. Ölçülen ortalama lezyon hacim değerleri açısından

gruplar arasında tedavi uygulanmadan önceki değerler arasında istatistiksel olarak anlamlı fark izlenmedi ($p=0,256$). Tedavi sonrasında tedavi grubunda ortalama lezyon hacmi $20,37 \pm 13,08 \text{ mm}^3$ iken kontrol grubunda ortalama lezyon hacmi $188,81 \pm 149,42 \text{ mm}^3$ idi. Ölçülen ortalama lezyon hacim değerleri açısından gruplar arasında tedavi uygulandıktan sonraki değerler arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıydı ($p=0,001$)(Tablo.5, Şekil.18).

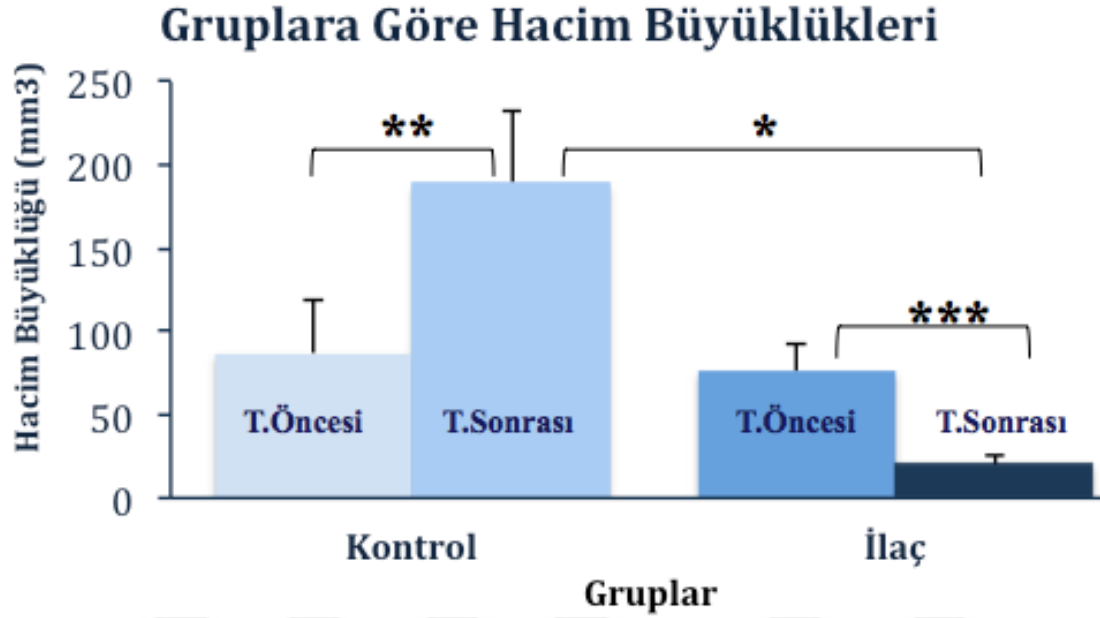
Tablo.6: Kontrol ve tedavi (Rituximab) gruplarında endometriyozis lezyonlarının tedavi sonrası ortalama hacim değerleri(mm^3) ve istatistiksel karşılaştırılması.

Gruplar	Tedavi Durumu	Ortalama $\pm$ SS(mm^3)	Min-Max(mm^3)	p
Kontrol(n=10)	Plasebo öncesi	87,03 $\pm$ 61,25	22,69-189,88	0,026(**)
	Plasebo sonrası	188,81 $\pm$ 149,42	7,32-546,65	
İlaç (n=12)	Tedavi öncesi	76,36 $\pm$ 37,81	12,51-100,20	0,01(***)
	Tedavi sonrası	20,37 $\pm$ 13,08	0,01-46,91	

-Paired-Samples t-test

Tedavi sonrası üçüncü lapatomi sonrasında ölçülen hacimler tedavi grubundaki doku örneklerinin hacimsel boyutu ilk değerlendirmeye göre küçülmüştü ve bu fark istatistiksel olarak anlamlıydı ($p=0,01$) (Şekil.18). Kontrol grubundaki doku örneklerinin hacimsel boyutu ilk değerlendirmeye göre daha büyüktü ve bu fark istatistiksel olarak anlamlıydı($p=0,026$)(Tablo.6, Şekil.18).

Şekil.18: Tedavi öncesi ve sonrasında ilaç ve kontrol grubunda endometriyotik odakların hacimsel karşılaştırılması.



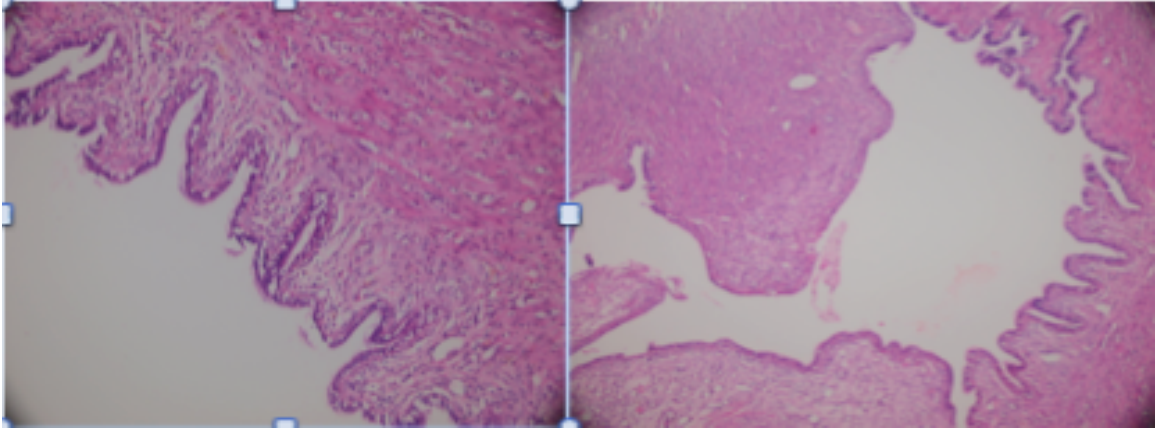
4.2. Histopatolojik Bulgular:

Tablo.7: Kontrol ve Tedavi Gruplarında Endometriyotik Lezyonlardaki Histolojik Skor Düzeylerinin karşılaştırılması.

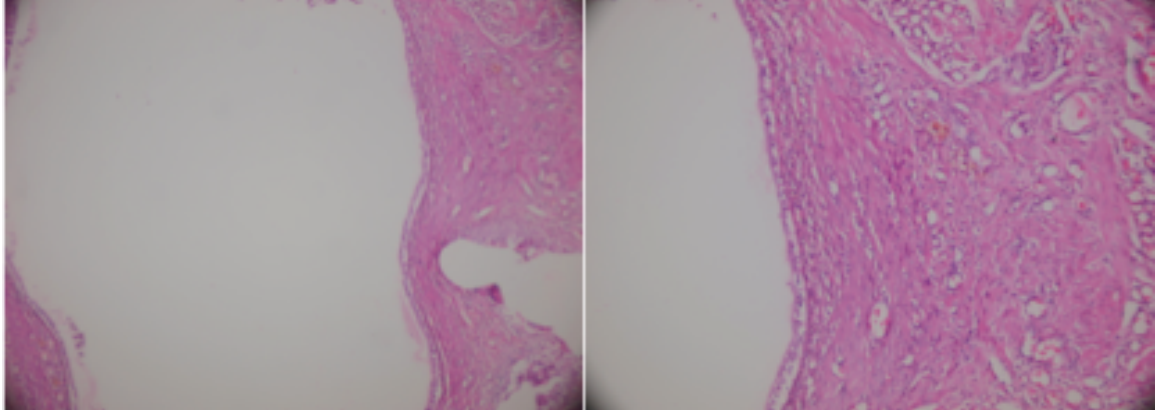
	Gruplar	Ortalama±SS	Min-Max	p
Histolojik Skor(H&E ile)	Tedavi Grubu (n=12)	2,58±0,51	2-3	0,321
	Kontrol Grubu (n=10)	2,22±0,833	1-3	

-Mann-Whitney U Test

Tedavi sonrası son laparotomi ile çıkarılan endometriyotik odakların rutin histopatolojik incelenmesinde kontrol grubunun ortalama histopatolojik skoru 2(2,2) olarak hesaplanmıştır (Şekil.16). Tedavi grubunda ise bu skor 3 olarak hesaplanmıştır (Şekil.17). Bu skorlar karşılaştırıldığında tedavi ve kontrol grupları arasında anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p=0,321$)(Tablo.7).



Şekil.19: Kontrol grubundaki implantların histopatolojik görünümü: Kontrol grubunda daha iyi korunmuş olağan görünümlü endometriyal epitel ile döşeli glandüler yapı ve stromasi izlenmektedir(HE, X200).



Şekil.20: Tedavi grubundaki implantların histopatolojik görünümü: Işık mikroskop ile yapılan histopatolojik incelemede tedavi grubunda seyrek olarak izlenen endometriyal epitel ile döşeli glandüler yapı ve stromadan oluşan yapılar izlenmektedir (HE, X200).

4.3. Trikrom Boyama İle İnceleme:

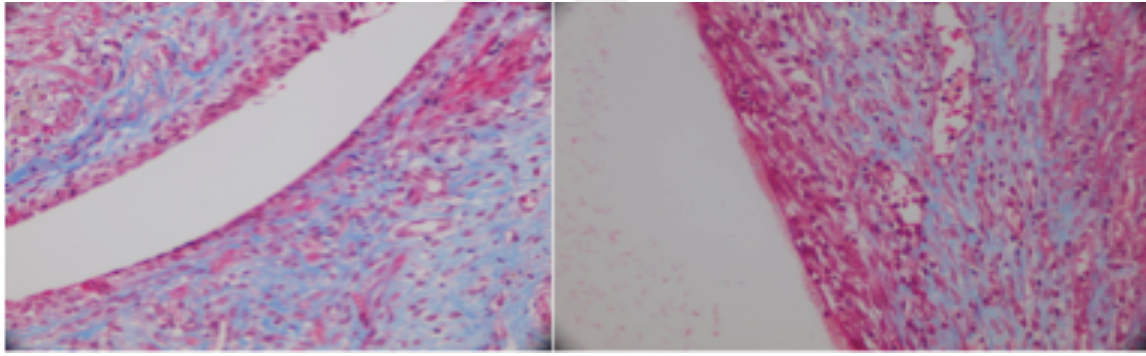
Tedavi sonrasında kontrol grubunun ortalama skoru 3,44 iken tedavi grubunun skoru 3,33 idi. Gruplardan elde edilen trikrom inceleme skorları karşılaştırıldığında, bu değerler arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p=0,625$)(Tablo.8).

Histopatolojik preparatlar endometriyal odadaki fibrozisi değerlendirmek için mason-trikrom boyası ile boyandı. Işık mikroskop altında yapılan incelemede tedavi gruplarında minimal fibröz doku artışı görülürken (Şekil.18), kontrol grubunda endometriyozis odağı etrafında konsantrik fibröz doku izlendi (Şekil.19).

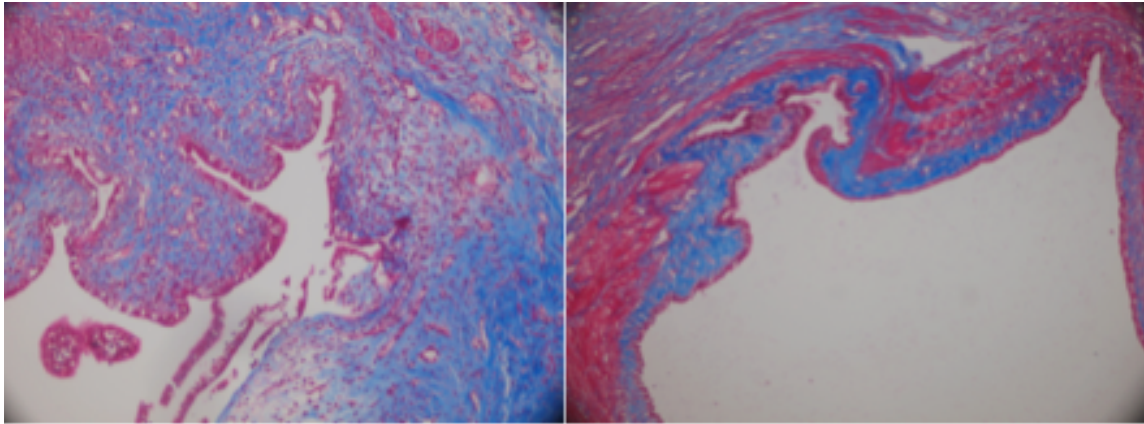
Tablo.8: Kontrol ve tedavi grubunun trichrom boyamasına göre fibrozis skor düzeylerinin karşılaştırılması.

Gruplar	Ortalama $\pm$ SS	Min-Max	p
Kontrol	3,44 $\pm$ 0,52	3-4	0.625
Tedavi(<i>Rituximab</i>)	3,33 $\pm$ 0,49	3-4	

-Mann-Whitney U Test



Şekil.21: Tedavi grubundaki endometriyozis çevresinde minimal fibrozis sergileyen endometriyozis odağı görüntüsü. (masson trichrome, X400).



Şekil.22: Kontrol grubundaki endometriyozis çevresinde yoğun fibrozis sergileyen endometriyozis odağı görüntüsü. (masson trichrome, X400).

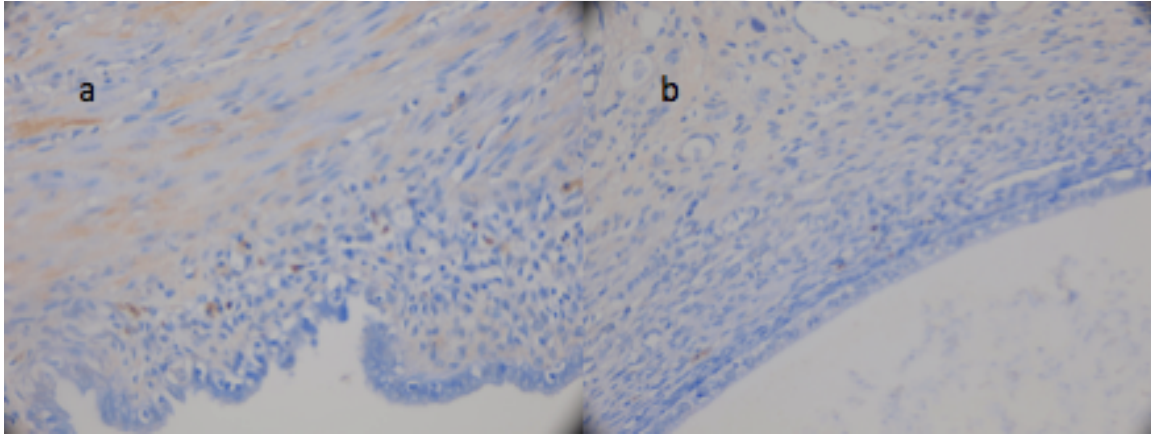
4.4. CD-20 İmmünohistokimyasal Boyama İle İnceleme:

Tablo.9: Tedavi ve kontrol grubunun CD-20 immünohistokimyasal boyanma skorlarının karşılaştırılması.

	Gruplar	Ortalama±SS	Min-Max	p
İmmünohistokimyasal Skorlama (CD-20 ile)	Tedavi Grubu	3,08±2,6	0-9	0,13
	Kontrol grubu	1,56±1,42	0-4	

-Mann-Whitney U Test

İmmünohistokimyasal incelemede CD-20 ile boyanmadaki lenfosit sayılarına bakılacak olursa tedavi grubundaki skor; 3,08 iken kontrol grubunda ise 1,56 idi (Şekil.20). Ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildi (p=0,13) (Tablo.9).



Şekil.23: İmmünohistokimyasal olarak CD-20 antikoruna ile pozitif boyanan lenfositik yanıtı gösterecek kesitlerin görünümü; a) kontrol grubundaki endometriyozis odaklarında artmış sayıdaki lenfositlerin ANti-CD20 ekspresyonu. b) Tedavi grubundaki CD-20 antikoruna ile immünohistokimyasal olarak boyanan azalmış miktarda ki lenfositik yanıt (anti-CD20, X400).

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Endometriyozis, etiopatogenezi henüz tam olarak aydınlatılamamış, üreme çağındaki genç hastaları etkileyen, çevresel, genetik, endokrin, immünolojik faktörlerin rol oynadığı multifaktöryel bir hastalıktır. Dismenoreden infertiliteye kadar uzanan jinekolojik ve non-jinekolojik semptomları ile geniş bir klinik yelpazeye sahiptir. Kesin tanı ancak cerrahi olarak konulabilmektedir. Küratif bir tedavi seçeneğinin olmadığı, semptoma yönelik, palyatif fayda sağlayan tedavi seçenekleri bulunmaktadır. Ayrıca destrüktif, ciddi sekeller bırakan, relaps ve remisyonlarla giden oldukça sık görülen, östrojen bağımlı benign bir jinekolojik hastalıktır.

Endometriyozis semptom olarak en sık ağrı ve infertilite olarak karşımıza çıkarken klinik olarak ise üç şekilde karşımıza çıkabilir; 1)Endometriyoma, 2)Rektovaginal derin infiltratif lezyonlar, 3)Peritoneal implantlar. Endometriyozisin tedavisi konservatif yaklaşım, medikal, cerrahi ve kombine tedavi şeklinde sınıflandırılabilir. Kronik ve hastanın klinik özellikleri ön planda olan bir tedavi olacağı için tedavi bireyselleştirilmelidir. Ancak klasik tedavi yöntemleri tamamen küratif bir iyileşme sağlamadığı gibi hastanın hayatını olumsuz olarak etkileyecek önemli yan etkilere de sahiptir. Şu andaki medikal tedaviler normal siklusun ve ovaryen hormon üretiminin bozulması üzerine kurulmuştur ve hastalarda medikal olarak menopoza oluşturulduğu için kemik yoğunluğunda azalma, vazomotor semptomlar gibi ciddi yan etkilere sahiptir. Özellikle genç kadın hastaları etkileyen endometriyozisin hem kendisi hem de kullanılan hormon bazlı ilaçlar kadının fertilitasını olumsuz olarak etkilemektedir. Rutin tedavilerin bırakılması ile de hastalık bir süre sonra tekrar edebilmektedir. Bu nedenlerden dolayı endometriyozis tedavisinde alternatif yöntemler

sürekli gündemde olan bir konu başlığıdır. Ovaryen fonksiyonları süprese etmeyecek, yan etki profili kabuledilebilir düzeyde olan yeni tedavi arayışları halen devam etmektedir. İmmün sistem hücreleri ve disfonksiyonu endometriyozis etiyopatogenezinde üzerinde durulan sıcak başlıklardandır. Bu nedenle, son zamanlarda immünmodülatör ilaçlar endometriyozis tedavisinde araştırılan alternatif tedavi seçeneklerindendir. İmmünsistem hücrelerinden birisi olan lenfositler ve fonksiyonları da bu immünmodülatör ilaçların bir kısmının çalışma alanlarından birisidir.

Endometriyozisin, otoimmün hastalıklarla benzer özelliklerinin olması, hasta serumlarında ve doku düzeyinde otoantikörlerin saptanması[71] bu antikörlerin primer üretiminden sorumlu ve hümmoral immünitede primer rol alan lenfosit hücre grubu olan B hücrelerinin ve bu hücrelerin disfonksiyonunun etiyopatogeneizde bir rolü olup olmadığı sorusunu akla getirmektedir. Endometriyal otoantikörler ve B-hücre reaktivitesi literatürde ilk olarak 1980 yılında ortaya atıldıktan[70] sonra aynı yıl başka bir çalışmada endometriyum dokusunda IgG ve C3 depositlerinin varlığı ve hasta serumlarında azalmış kompleman seviyeleri gösterilmiş ve lokal olarak aktive olmuş ve kompleman tüketimi ile giden otoimmün bir durum olduğu gösterilmiş[71]. 1985 yılında Wild ve ark. tarafından infertil hastaların periferik kanında bu endometriyal otoantikörler saptanmış ve endometriyozisi olanlarda daha sık olduğu rapor edilmiştir[153]. Daha sonraki çalışmalarda da benzer sonuçlar elde edilmiştir[154][155, 156]. Başka bir çalışmada ise endometriyozisli hastaların % 56 'sında anti-endometriyal IgG saptanırken kontrol grubunda % 5 oranında saptanmış[157]. Bazı çalışmalarda B-hücre sayısı açısından endometriyozisli hastalarda kontrol grubuna göre fark görülememiştir[158-160]. Başka bir çalışmada ise yine periferik kandaki B-hücre sayısı değerlendirilmiş ve

endometriyozisli hastalarda küçük ancak istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmış[161]. B-hücrelerinin toplam sayılarında bir değişiklik olmasa da subtipleri açısından bir farklılık olabileceği düşünülerek 2000 yılında Chishima ve ark. 1, yüzeyinde CD-5 eksprese eden ve otoantikor salınımı ile ilgili olan B-1 subtipi sayısını endometriyozisli hastalarda değerlendirmiş. Sonuç olarak, endometriyozisli hastalarda B-1 subtipinde kontrole göre farklılık saptanmasa da endometriyozisli hastalar ANA+ pozitifliğine göre subgruplara ayrıldığı zaman, ANA+ olan grupta B-1 subtipinin fazla olduğu saptanmış[162]. Otoimmün antikorların endometriyozisde sık karşılaşılan bir bulgu olmasına rağmen B-hücre sayısı ve fonksiyonunun endometriyozis hastalığı ile ilişkisiyle ilgili çelişkili çalışmalar vardır. Bazı çalışmalarda B-hücre sayısı artmış bulunurken[163], bazı çalışmalarda azalmış[164], bazılarında ise B-hücre sayısı açısından fark saptanamamıştır[165]. Ancak endometriyozisli hastalardaki artmış antikor salınımı B- hücrelerinin aktivitesinde bir artış olduğunu göstermektedir[166]. B-hücre üzerinde çalışmalar devam ederken B-hücre ile ilgili bu çelişkili bulguların olması nedeni ile B hücre üzerine daha detaylı araştırmalar yapılma ihtiyacı doğmuştur. Bir grup araştırmacı B-hücrelerinin toplam sayısının değil de B-hücresinin subgruplarında bir denge değişikliği olabileceğini öne sürerek yaptığı bir çalışmada B-1 ve B-2 olmak üzere alt grupları incelemiş, endometriyotik odaklarda az sayıda B-hücresi gösterilebilmesine karşın[167], 2005 yılında Antsiferova ve ark. tarafından yapılan çalışmada flow sitometri ile B-1 ve tüm B-lenfosit sayısında ötopik endometriyum ile karşılaştırıldığında böyle bir azalma saptanamamıştır[165]. Ayrıca kontrol grubu ile karşılaştırıldığında endometriyozisli kadınların periton sıvısında B-1 hücre sayısının anlamlı olarak yüksek olduğunu saptamıştır[162]. Bu bilgiler ışığında endometriyozisde hem endometriyuma spesifik hem

de non-spesifik otoantikor üretiminden B-hücrelerinin sorumlu olduğu söylenebilir.

B hücreleri immün reaksiyonlarda hem antikor üreterek hem de antijen sunucu hücre olarak görev alır. Ayrıca B hücreleri, immün yanıtta Th2'nin de efektör hücresi görevi görür[165]. Yani humoral yanıtın geliştirilmesinden sorumlu hücrelerdir [166]. B hücrelerine etkili olabilecek bir tedavi, endometriyozis için yeni bir tedavi yaklaşımı olabilir. Bu düşünceden yola çıkarak biz de çalışmamızda lenfosit ailesinden olan ve otoantikor yapımından primer sorumlu olan B hücresi üzerine etkili monoklonal antikor olan 'Rituksimab'ın endometriyozis üzerine olan etkisini araştırmak istedik.

Rituksimab, B-hücre'ye spesifik yüzey antijeni olan CD-20'ye bağlanan şimerik bir monoklonal antikordur. İlk kez 1997'de lenfomaların tedavisinde kullanılan ilaç daha sonraları bir çok otoimmün hastalıkta da kullanılmaya başlanmıştır. Özellikle de ileri derece ve diğer tedavilere direçli otoimmün bir hastalık olan romatoid artrit de son yıllarda FDA'den onay almıştır. B hücrelerinin lizisine neden olarak etki gösterir. Romatoid artrit gibi endometriyoziste de kronik ve anormal bir immün yanıt söz konusudur. Biz de bu benzer tablodan yola çıkarak Rituksimab'ın etkisini daha önce hiç çalışılmamış olan endometriyozis hastalığında değerlendirmek istedik. Bir çok ilaç çalışmasında olduğu gibi etik nedenlerden dolayı bu ilk çalışmaları insanlarda yapmak mümkün olmamaktadır. Yeni tedavi modalitelerinin test edilmesinde otolog olarak periton yan duvarına implante edilerek indüklenen deneysel endometriyozis hayvan modeli bu amaç için oldukça uygundu.

Deneysel indüklenen endometriyozis hayvan modelinde, Rituksimab'ın endometriyotik odaklar üzerine etkisini makroskobik ve histolojik olarak değerlendirdik. Daha sonra ektopik endometriyotik odakta B-hücre yoğunluğunu değerlendirmek için B-

hücre yüzey marker'ı olan CD-20'ye spesifik immünohistokimyasal boyama yaptık. Makroskobik olarak ilaç grubunda istatistiksel olarak anlamlı bir gerileme saptadık. Histopatolojik olarak skorlamada ise ilaç grubunda bir gerileme olsa da bu fark belirgin değildi ve istatistiki olarak da anlamlı değildi. İmmünohistokimyasal boyamada ise B-hücre skorlaması açısından ilaç grubunda kontrol grubunda göre az sayıda B-hücre sayısı olsa da bu fark istatistiki olarak anlamlı değildi. Ya da Antsiferova ve ark.'nın çalışmalarında belirttikleri gibi endometriyozis odaklarında B-hücre sayısından ziyade B-hücre alt gruplarındaki dağılım farklı olabilir ya da B-hücrenin kendisinde olan bir disfonksiyona bağlı olabilir[165]. Fibrozis skorlaması açısından gruplar arasında az da olsa olan farkın istatistiksel olarak anlamlı olmaması bu ilacın fibrozis formasyonu üzerine etkisinin sınırlı olduğunu göstermektedir. Tüm bu bulgular göz önüne alınacak olursa, ilacın destrüktif etkiden ziyade restriktif bir rol oynadığı söylenebilir. Yani olayın şiddetini azalttığı söylenebilir.

Deneysel endometriyozis modeli her ne kadar insan endometriyozisinin iyi bir simülasyon modeli olsa da endometriyozis gibi multifaktöryel kompleks etkileşimlerin olduğu bir hastalığı tam olarak taklit etmesi mümkün değildir. Bu nedenle hayvanlarda etkisi kanıtlanan ve yan etki profili belirlenen deneysel aday ilaçlar faz iki çalışmalarla da bulgular desteklenmelidir. Çalışmamızda sadece endometriyotik odakta CD-20 immünohistokimyasal boyama ile B-hücre sayısı bakılmıştır. Eutopik endometriyum ya da periferik kandaki B-hücre sayısı, fonksiyonu ya da alt grupları değerlendirilmemiştir. Bu yönden ışık tutacak daha ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

Rituksimab diğer protein yapılı ilaçlar gibi ciddi ilaç reaksiyonuna neden olabilecek bir moleküldür. Ayrıca hastalarda bazı immünsüprese durumlarda ortaya

çıkabilen viral hastalıkları da tetiklediği bildirilmiş olsa da bizim gözlemlediğimiz kadarı ile hayvanlar tarafından iyi tolere edildi. Ancak kesin bir şey söylemek için daha uzun süre gözlem yapmak gerekmektedir. Bu nedenle kar-zarar ilişkisine göre hastalara verilmelidir. Ayrıca histopatolojik ve immünohistokimyasal skorlama subjektif olarak yapıldığı için bu da çalışmamızı kısıtlayan diğer bir noktadır. Çalışmamızda bulduğumuz bazı farklar istatistiksel olarak anlamlı değildi. Bu farkları daha doğru değerlendirmek için örneklem sayısının artırılması gerekmektedir. Otoantikor cevabının endometriyozisin patogeneğinde primer mekanizma mı yoksa epifenomen mi olup olmadığı henüz tam olarak açığa çıkarılamamıştır. B-hücre ve endometriyozis ile yapılan çalışma sayısı yetersizdir ve literatürde çelişkili sonuçlar bulunmaktadır. Bu nedenle daha geniş kapsamlı çalışmalara ihtiyaç vardır.

Sonuç olarak; bu çalışmada ratlarda deneysel olarak oluşturulan endometriyozis modelinde, B-hücre yüzey antijeni olan CD-20'ye spesifik olarak bağlanan monoklonal antikor olan Rituksimab'ın endometriyozisteki etkinliği makroskobik ve histopatolojik olarak gösterilmiştir. Rituksimab'ın ratlarda endometriyotik odaklarda küçülme sağladığını ve histopatolojik olarak endometriyotik implantları gerilettiğini gösteren bu ön çalışma başka deneysel çalışmalarla desteklendikten sonra, insanlarda endometriyozis tedavisinde alternatif bir tedavi seçeneği olarak kullanılabilir.

6. ÖZET

Amaç: Endometriyozis oldukça sık görülen, sekeller bırakabilen ve gizemini hala koruyan, hormom bağımlı, kronik benign bir jinekolojik hastalıktır. Özellikle genç yaştaki kadınları etkilemektedir. Patogenezinin belirsiz olmasına rağmen immün sistemin hastalığın başlamasında ve ilerlemesinde önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir. Özellikle, immün sistem hücrelerinden olan lenfositlerin göç eden endometriyal hücrelerin kabulü, implantasyonu ve çoğalmasında önemli rol oynamaktadır. B-lenfosit fonksiyonlarındaki değişiklikler hastalığı indüklüyor ya da ilerlemesine nedene oluyor olabilir. Bizim de bu çalışmadaki amacımız; B-lenfositleri inhibe ederek etki gösteren rituximab'ın deneysel olarak oluşturulan endometriyozis modelinde terapötik etkisini araştırmaktır.

Material&Method: Çalışmada, 200-250 gr, 24 adet matür dişi rat kullanıldı. İlk laparotomiyle endometriyozis odakları implante edildi. Dört hafta sonra, endometriyotik implantların ilk volümleri küresel formül ile hesaplandı. Ratlar rastgele iki gruba ayrıldı: kontrol (salin verilen, n: 11) ve 'Rituximab'(10 mg/kg, n:12). 14 gün sonra , üçüncü laparotomi ile tedavi sonrası implantların boyutları ölçüldü. Histolojik inceleme ve CD-20 ile immünohistokimyasal inceleme için implantlar eksize edildi..

Bulgular: Tedavi sonrasında makroskobik olarak endometriyal implant boyutları kontrol grubuna göre tedavi grubunda anlamlı olarak gerilemişti. Lenfosit ve fibrosis skorları açısından gruplar arasında istatistiki olarak anlamlı fark saptanmadı.

Sonuc: Deneysel olarak oluşturulan endometriyozis hayvan modelinde, bu amaç için daha önce kullanılmayan Rituximab ile , endometriyotik odaklarda makroskobik olarak anlamlı gerileme saptandı.

7. ABSTRACT

Background: Endometriosis is a common, enigmatic, debilitating, hormone depended, chronic benign gynecologic disease. It especially effects young women. Although its pathogenesis is unclear, the immune system is suggested to play an important role in the initiation and the progression of the disease. Especially, immune cells in lymphoid lineage plays essential roles in determining either accept or reject survival, implantation, and proliferation of endometrial and endometriotic cells. The B-lymphocytes disfunction may be induced and promote the disease. The aim of this study is to assesmnet of potential therapeutic efficiency of rituximab, inhibits B-lymphocytes, in an experimental endometriosis animal model.

Material&Method: 200-250 gr, 24 mature female rats used in the study. With first laparatomy endometriosis was surgically induced. After 4 weeks, rats were surgically explored to visualize the endometriotic implants. All subjects were confirmed for peritoneal endometriotic foci and the spherical volume was calculated. The rats was randomly divided into 2 groups: control group and `Rituximab` group(10 mg/kg,n:12). After 14 days, a third laparotomy was performed for measuring the implant sizes and histological and immunohistochemical examination, with anti-CD-20 stain.

Results: After the treatment with Rituximab, volumes of endometriotic implants decreased significantly. But lymphocytes and fibrosis score levels were almost similar between the groups.

Conclusion: In an experimental rat endometriosis model, Rituximab, an agent used for the first time for the medical treatment of endometriosis, has shown significant therapeutic efficiency.

8. KAYNAKLAR

1. JA, S., Perforating hemorrhagic cyst of the ovary: their importance and especially their relation to pelvic adenomas of the endometriyal type. arch surg, 1921. 3: p. 245.
2. JA., S., Peritonealendometriosis due to menstrual dissemination of endometriyal tissue into the peritoneal cavity. AJOG, 1927. 14: p. 422.
3. Speroff L, F.A.M., Clinical Gynecologic Endocrinology and Infertility. 7 th edition ed. 2005, Philadelphia, PA.
4. Sangi-Haghpeykar H, P.A., Epidemiology of endometriosis among parous women. . Obstet Gynecol 1995. 85: p. 983.
5. Chatman, D.L. and A.B. Ward, Endometriosis in adolescents. J Reprod Med, 1982. 27(3): p. 156-60.
6. Missmer, S.A., et al., Incidence of laparoscopically confirmed endometriosis by demographic, anthropometric, and lifestyle factors. Am J Epidemiol, 2004. 160(8): p. 784-96.
7. Hediger, M.L., H.J. Hartnett, and G.M. Louis, Association of endometriosis with body size and figure. Fertil Steril, 2005. 84(5): p. 1366-74.
8. Goldstein, D.P., et al., New insights into the old problem of chronic pelvic pain. J Pediatr Surg, 1979. 14(6): p. 675-80.
9. Olive, D.L. and L.B. Schwartz, Endometriosis. N Engl J Med, 1993. 328(24): p. 1759-69.
10. Laufer, M., Premenarcheal endometriosis without an associated obstructive anomaly: Presentation, diagnosis, and treatment. Fertil Steril 2000. 74:S15.

11. Yamamoto, K., et al., Tubal endometriosis diagnosed within one month after menarche: a case report. *Tohoku J Exp Med*, 1997. 181(3): p. 385-7.
12. Simpson, J.L., et al., Heritable aspects of endometriosis. I. Genetic studies. *Am J Obstet Gynecol*, 1980. 137(3): p. 327-31.
13. Huffman, J.W., Endometriosis in young teen-age girls. *Pediatr Ann*, 1981. 10(12): p. 44-9.
14. Modugno, F., et al., Oral contraceptive use, reproductive history, and risk of epithelial ovarian cancer in women with and without endometriosis. *Am J Obstet Gynecol*, 2004. 191(3): p. 733-40.
15. Moen, M.H. and P. Magnus, The familial risk of endometriosis. *Acta Obstet Gynecol Scand*, 1993. 72(7): p. 560-4.
16. Darrow, S.L., et al., Menstrual cycle characteristics and the risk of endometriosis. *Epidemiology*, 1993. 4(2): p. 135-42.
17. Schroder, A.K., K. Diedrich, and M. Ludwig, Medical management of endometriosis: a systematic review. *IDrugs*, 2004. 7(5): p. 451-63.
18. Vercellini, P., et al., Postoperative oral contraceptive exposure and risk of endometrioma recurrence. *Am J Obstet Gynecol*, 2008. 198(5): p. 504 e1-5.
19. Harada T, M.M., Taketani Y, Hoshiai H, Terakawa N., Low-dose oral contraceptive pill for dysmenorrhea associated with endometriosis: a placebo controlled, double-blind, randomized trial. *Fertil Steril.*, 2007
20. Hughes E, B.J., Collins JJ, Farquhar C, Fedorkow DM, Vandekerckhove P., Ovulation suppression for endometriosis. *Cochrane Database Syst Rev.*, 2007. (3):CD000155.

21. Parazzini, F., et al., Selected food intake and risk of endometriosis. *Hum Reprod*, 2004. 19(8): p. 1755-9.
22. - Dhillon PK, H.V., Recreational physical activity and endometrioma risk. . *Am J Epidemiol*, 2003. 158(2): p. 156-64.
23. Buck Louis, G.M., M.L. Hediger, and J.B. Pena, Intrauterine exposures and risk of endometriosis. *Hum Reprod*, 2007. 22(12): p. 3232-6.
24. Montanino, G., et al., Menstrual patterns, pain symptoms, body mass index and smoking habits in women with endometriosis. *Clin Exp Obstet Gynecol*, 1995. 22(2): p. 132-6.
25. Giudice, L.C. and L.C. Kao, Endometriosis. *Lancet*, 2004. 364(9447): p. 1789-99.
26. Liu, D.T. and A. Hitchcock, Endometriosis: its association with retrograde menstruation, dysmenorrhoea and tubal pathology. *Br J Obstet Gynaecol*, 1986. 93(8): p. 859-62.
27. Blumenkrantz, M.J., et al., Retrograde menstruation in women undergoing chronic peritoneal dialysis. *Obstet Gynecol*, 1981. 57(5): p. 667-70.
28. Kruitwagen RFPM, P.L., Willemsen WNP, Jap PHK, Thomas CMG, Rolland R., Endometrial epithelial cells in peritoneal fluid during the follicular phase. . *Fertil Steril* 1991. 55: p. 297.
29. Jenkins, S., D.L. Olive, and A.F. Haney, Endometriosis: pathogenetic implications of the anatomic distribution. *Obstet Gynecol*, 1986. 67(3): p. 335-8.
30. dell'endometriosi, G.i.p.l.s., Prevalence and anatomical distribution of endometriosis in women with selected gynaecological conditions: results from a multicentric Italian study. . *Hum Reprod*, 1994. 9(6): p. 1158-62.

31. D'Hooghe, T.M., et al., Intrapelvic injection of menstrual endometrium causes endometriosis in baboons (*Papio cynocephalus* and *Papio anubis*). *Am J Obstet Gynecol*, 1995. 173(1): p. 125-34.
32. Ridley J, E.I., Experimental endometriosis in human. *Am J Obstet Gynecol*, 1958. 76: p. 783.
33. Suginami, H., A reappraisal of the coelomic metaplasia theory by reviewing endometriosis occurring in unusual sites and instances. *Am J Obstet Gynecol*, 1991. 165(1): p. 214-8.
34. Matsuura, K., et al., Coelomic metaplasia theory of endometriosis: evidence from in vivo studies and an in vitro experimental model. *Gynecol Obstet Invest*, 1999. 47 Suppl 1: p. 18-20; discussion 20-2.
35. Moore, J.G., M.A. Binstock, and W.A. Growdon, The clinical implications of retroperitoneal endometriosis. *Am J Obstet Gynecol*, 1988. 158(6 Pt 1): p. 1291-8.
36. Zeitoun, K., et al., Deficient 17beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 2 expression in endometriosis: failure to metabolize 17beta-estradiol. *J Clin Endocrinol Metab*, 1998. 83(12): p. 4474-80.
37. Zeitoun, K.M. and S.E. Bulun, Aromatase: a key molecule in the pathophysiology of endometriosis and a therapeutic target. *Fertil Steril*, 1999. 72(6): p. 961-9.
38. Gurates, B., et al., WT1 and DAX-1 inhibit aromatase P450 expression in human endometriyal and endometriyotic stromal cells. *J Clin Endocrinol Metab*, 2002. 87(9): p. 4369-77.
39. Bulun, S.E., et al., Estrogen production and metabolism in endometriosis. *Ann N Y Acad Sci*, 2002. 955: p. 75-85; discussion 86-8, 396-406.

40. Rier, S.E., et al., Endometriosis in rhesus monkeys (*Macaca mulatta*) following chronic exposure to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin. *Fundam Appl Toxicol*, 1993. 21(4): p. 433-41.
41. Rier, S. and W.G. Foster, Environmental dioxins and endometriosis. *Semin Reprod Med*, 2003. 21(2): p. 145-54.
42. Sutter, T.R., et al., Targets for dioxin: genes for plasminogen activator inhibitor-2 and interleukin-1 beta. *Science*, 1991. 254(5030): p. 415-8.
43. Hadfield, R.M., et al., Linkage and association studies of the relationship between endometriosis and genes encoding the detoxification enzymes GSTM1, GSTT1 and CYP1A1. *Mol Hum Reprod*, 2001. 7(11): p. 1073-8.
44. Coxhead D, T.E., Familial inheritance of endometriosis in a British population: a case control study. *J Obstet Gynecol* 1993. 13: p. 42-46.
45. Kennedy S, M.H.a.B.D., Familial endometriosis. *J Assist Reprod Genet* 1995;12:32-4. *J Assist Reprod Genet* 1995. 12: p. 32-34.
46. MH., M., Endometriosis in monozygotic twins. . *Acta Obstet Gynecol Scand.* , 1994. 73(1): p. 59-62.
47. Kennedy S, H.R., Mardon H and Barlow D. , Age of onset of pain symptoms in non-twin sisters concordant for endometriosis. *Hum Reprod* 1996; 11: 403-5. *Hum Reprod* 1996. 11: p. 403-5.
48. Meresman GF, A.L., Baranao RI, Lombardi E, Tesone M and Sueldo C., Oral contraceptives suppress cell proliferation and enhance apoptosis of eutopic endometriyal tissue from patients with endometriosis. *Fertil Steril* 2002; 77: 1141-47. *Fertil Steril* 2002. 77: p. 1141-47.

49. Baranova H, B.R., Canis M, Albuisson E, Perriot S Glowaczower E, Bruhat MA, Baranov V and Malet P. , Glutathion S-transferase M1 gene polymorphism and susceptibility to endometriosis in a French population. *Mol Hum Reprod* 1997. 3: p. 775-80.
50. Garcia-Velasco JA, A.A., Apoptosis and the pathogenesis of endometriosis. . *Semin Reprod Med* 2003. 21: p. 165.
51. Sternlicht MD, W.Z., How matrix metalloproteinases regulate cell behavior, . *Anu Rev Cell Dev Biol* 2001. 17: p. 463.
52. Rodgers WH, M.L., Giudice LC, Dsupin B, Cannon P, Svitek C, Gorstein F, Osteen KG., Patterns of matrix metalloproteinase expression in cycling endometrium imply differential functions and regulation by steroid hormones. . *J Clin Invest* 1994. 94: p. 946.
53. Osteen KG, Y.G., Bruner-Tran KL. , Matrix metalloproteinases and endometriosis. *Semin reprod Med* 2003; 21: 155. *Semin reprod Med* 2003. 21: p. 155.
54. Osteen KG, I.T., Bruner-Tran KL. , Progesterone action in the human endometrium: induction of a unique tissue environment which limits matrix metalloproteinase expression. . *Front Biosci* 2003. 8: p. 78-86.
55. Zeitoun KM, B.S., Aromatase: a key molecule in the pathophysiology of endometriosis and a therapeutic target. 9. *Fertil Steril*. 1999 Dec;72(6):961-9., 1999. 72(6): p. 961-9.
56. Noble LS, S.E., Johns A, Bulun SE. , Aromatase expression in endometriosis. *J Clin Endocrinol Metab* 1996. 81: p. 174.

57. Gurates B, B.S., Endometriosis: the ultimate hormonal disease. *Semin Reprod Med* 2003;21:125. *Semin Reprod Med*, 2003. 21: p. 125.
58. Casey ML, M.P., Andersson S. , 17 beta-Hydroxysteroid dehydrogenase type 2: chromosomal assignment and progestin regulation of gene expression in human endometrium. *J Clin Invest.* 1994; 94(5): 2135-41. *J Clin Invest.* , 1994. 94(5): p. 2135-41.
59. Seli, E. and A. Arici, Endometriosis: interaction of immune and endocrine systems. *Semin Reprod Med*, 2003. 21(2): p. 135-44.
60. Oosterlynck, D.J., et al., Women with endometriosis show a defect in natural killer activity resulting in a decreased cytotoxicity to autologous endometrium. *Fertil Steril*, 1991. 56(1): p. 45-51.
61. Imai, A., A. Takagi, and T. Tamaya, Gonadotropin-releasing hormone analog repairs reduced endometriyal cell apoptosis in endometriosis in vitro. *Am J Obstet Gynecol*, 2000. 182(5): p. 1142-6.
62. Gebel, H.M., et al., Spontaneous apoptosis of endometriyal tissue is impaired in women with endometriosis. *Fertil Steril*, 1998. 69(6): p. 1042-7.
63. Meresman, G.F., et al., Apoptosis and expression of Bcl-2 and Bax in eutopic endometrium from women with endometriosis. *Fertil Steril*, 2000. 74(4): p. 760-6.
64. Lebovic, D.I., M.D. Mueller, and R.N. Taylor, Immunobiology of endometriosis. *Fertil Steril*, 2001. 75(1): p. 1-10.
65. Sidell, N., S.W. Han, and S. Parthasarathy, Regulation and modulation of abnormal immune responses in endometriosis. *Ann N Y Acad Sci*, 2002. 955: p. 159-73; discussion 199-200, 396-406.

66. Rier, S.E., et al., Dysregulation of interleukin-6 responses in ectopic endometriyal stromal cells: correlation with decreased soluble receptor levels in peritoneal fluid of women with endometriosis. *J Clin Endocrinol Metab*, 1995. 80(4): p. 1431-7.
67. Arici, A., et al., Regulation of interleukin-8 gene expression in human endometriyal cells in culture. *Mol Cell Endocrinol*, 1993. 94(2): p. 195-204.
68. Arici, A., et al., Monocyte chemotactic protein-1 concentration in peritoneal fluid of women with endometriosis and its modulation of expression in mesothelial cells. *Fertil Steril*, 1997. 67(6): p. 1065-72.
69. Shifren JL, T.J., Zaloudek CJ, Ryan IP, Meng YG, Ferrara N et al., Ovarian steroid regulation of vascular endothelial growth factor in the human endometrium: implications for angiogenesis during the menstrual cycle and in the pathogenesis of endometriosis. *J Clin Endocrinol Metab* 1996. 81: p. 3112– 3118.
70. Weed, J.C. and P.C. Arquembourg, Endometriosis: can it produce an autoimmune response resulting in infertility? *Clin Obstet Gynecol*, 1980. 23(3): p. 885-93.
71. Startseva, N.V., [Clinical immunological aspects of genital endometriosis]. *Akush Ginekol (Mosk)*, 1980(3): p. 23-6.
72. Berkkanoglu, M. and A. Arici, Immunology and endometriosis. *Am J Reprod Immunol*, 2003. 50(1): p. 48-59.
73. Mathur, S., D.E. Garza, and L.F. Smith, Endometriyal autoantigens eliciting immunoglobulin (Ig)G, IgA, and IgM responses in endometriosis. *Fertil Steril*, 1990. 54(1): p. 56-63.

74. Sinaii N, P.K., Cotton L, et al. , Differences in characteristics among 1,000 women with endometriosis based on extent of disease. . Fertil Steril 2008. 89: p. 538.
75. Anaf, V., et al., Relationship between endometriotic foci and nerves in rectovaginal endometriotic nodules. Hum Reprod, 2000. 15(8): p. 1744-50.
76. Wang, G., et al., Rich innervation of deep infiltrating endometriosis. Hum Reprod, 2009. 24(4): p. 827-34.
77. Tran, L.V., et al., Macrophages and nerve fibres in peritoneal endometriosis. Hum Reprod, 2009. 24(4): p. 835-41.
78. Matsuzaki, S. and C. Darcha, Involvement of the Wnt/beta-catenin signaling pathway in the cellular and molecular mechanisms of fibrosis in endometriosis. PLoS One, 2013. 8(10): p. e76808.
79. Murphy, A.A., Clinical aspects of endometriosis. Ann N Y Acad Sci, 2002. 955: p. 1-10; discussion 34-6, 396-406.
80. Koninckx, P.R., et al., Suggestive evidence that pelvic endometriosis is a progressive disease, whereas deeply infiltrating endometriosis is associated with pelvic pain. Fertil Steril, 1991. 55(4): p. 759-65.
81. Cornillie, F.J., et al., Deeply infiltrating pelvic endometriosis: histology and clinical significance. Fertil Steril, 1990. 53(6): p. 978-83.
82. Bajaj, P., et al., Endometriosis is associated with central sensitization: a psychophysical controlled study. J Pain, 2003. 4(7): p. 372-80.
83. Riley, J.L., 3rd, et al., A meta-analytic review of pain perception across the menstrual cycle. Pain, 1999. 81(3): p. 225-35.

84. Waller, K.G., et al., The prevalence of endometriosis in women with infertile partners. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 1993. 48(2): p. 135-9.
85. Barnhart, K., R. Dunsmoor-Su, and C. Coutifaris, Effect of endometriosis on in vitro fertilization. *Fertil Steril*, 2002. 77(6): p. 1148-55.
86. Mio, Y., et al., Luteinized unruptured follicle in the early stages of endometriosis as a cause of unexplained infertility. *Am J Obstet Gynecol*, 1992. 167(1): p. 271.
87. Ozaksit, G., et al., Serum CA 125 levels before, during and after treatment for endometriosis. *Int J Gynaecol Obstet*, 1995. 50(3): p. 269-73.
88. Cheng, Y.M., S.T. Wang, and C.Y. Chou, Serum CA-125 in preoperative patients at high risk for endometriosis. *Obstet Gynecol*, 2002. 99(3): p. 375-80.
89. Patel, M.D., et al., Endometriomas: diagnostic performance of US. *Radiology*, 1999. 210(3): p. 739-45.
90. Moore, J., et al., A systematic review of the accuracy of ultrasound in the diagnosis of endometriosis. *Ultrasound Obstet Gynecol*, 2002. 20(6): p. 630-4.
91. Alborzi, S., et al., Management of ovarian endometrioma. *Clin Obstet Gynecol*, 2006. 49(3): p. 480-91.
92. Kinkel, K., et al., Diagnosis of endometriosis with imaging: a review. *Eur Radiol*, 2006. 16(2): p. 285-98.
93. Carbognin, G., et al., Pelvic endometriosis: US and MRI features. *Abdom Imaging*, 2004. 29(5): p. 609-18.
94. Stratton, P., et al., Diagnostic accuracy of laparoscopy, magnetic resonance imaging, and histopathologic examination for the detection of endometriosis. *Fertil Steril*, 2003. 79(5): p. 1078-85.

95. Scarselli, G., et al., Diagnosis and treatment of endometriosis. A review. *Minerva Ginecol*, 2005. 57(1): p. 55-78.
96. Fang, S.Y., et al., Triterpenoid glycosides from *Adina rubella*. *Phytochemistry*, 1995. 39(5): p. 1241-3.
97. Brosens, I., et al., Diagnosis of endometriosis: pelvic endoscopy and imaging techniques. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*, 2004. 18(2): p. 285-303.
98. Stegmann, B.J., et al., Using location, color, size, and depth to characterize and identify endometriosis lesions in a cohort of 133 women. *Fertil Steril*, 2008. 89(6): p. 1632-6.
99. Gustofson, R.L., et al., Endometriosis and the appendix: a case series and comprehensive review of the literature. *Fertil Steril*, 2006. 86(2): p. 298-303.
100. Marques, A., et al., Quality of life in Brazilian women with endometriosis assessed through a medical outcome questionnaire. *J Reprod Med*, 2004. 49(2): p. 115-20.
101. Practice Committee of American Society for Reproductive, M., Treatment of pelvic pain associated with endometriosis. *Fertil Steril*, 2008. 90(5 Suppl): p. S260-9.
102. Mahmood, T.A. and A. Templeton, The impact of treatment on the natural history of endometriosis. *Hum Reprod*, 1990. 5(8): p. 965-70.
103. Roman, H., [Guidelines for the management of painful endometriosis]. *J Gynecol Obstet Biol Reprod (Paris)*, 2007. 36(2): p. 141-50.
104. Olive, D.L., Medical therapy of endometriosis. *Semin Reprod Med*, 2003. 21(2): p. 209-22.

105. Edelman, A.B., et al., Continuous or extended cycle vs. cyclic use of combined oral contraceptives for contraception. *Cochrane Database Syst Rev*, 2005(3): p. CD004695.
106. Vercellini, P., et al., Continuous use of an oral contraceptive for endometriosis-associated recurrent dysmenorrhea that does not respond to a cyclic pill regimen. *Fertil Steril*, 2003. 80(3): p. 560-3.
107. Gallo, M.F., et al., 20 mcg versus >20 mcg estrogen combined oral contraceptives for contraception. *Cochrane Database Syst Rev*, 2005(2): p. CD003989.
108. Brown, J., A. Pan, and R.J. Hart, Gonadotrophin-releasing hormone analogues for pain associated with endometriosis. *Cochrane Database Syst Rev*, 2010(12): p. CD008475.
109. Dawood, M.Y., J. Ramos, and F.S. Khan-Dawood, Depot leuprolide acetate versus danazol for treatment of pelvic endometriosis: changes in vertebral bone mass and serum estradiol and calcitonin. *Fertil Steril*, 1995. 63(6): p. 1177-83.
110. Revilla, R., et al., Evidence that the loss of bone mass induced by GnRH agonists is not totally recovered. *Maturitas*, 1995. 22(2): p. 145-50.
111. Taga, M. and H. Minaguchi, Change in C-terminal cross-linking domain of type I collagen in urine, a new marker of bone resorption, during and after gonadotropin-releasing hormone agonist administration. *Eur J Endocrinol*, 1997. 137(2): p. 167-71.
112. Ripps, B.A., et al., Alendronate for the prevention of bone mineral loss during gonadotropin-releasing hormone agonist therapy. *J Reprod Med*, 2003. 48(10): p. 761-6.

113. Palomba S, O.F., Morelli M, Russo T, Pellicano M, Zupi E, Lombardi G, Nappi C, Panici PL, Zullo F, Raloxifene administration in premenopausal woman with uterine leiomyomas: a pilot study. *J Clin Endocrinol Metab*, 2002. 87: p. 3603.
114. Luciano, A.A., R.N. Turksoy, and J. Carleo, Evaluation of oral medroxyprogesterone acetate in the treatment of endometriosis. *Obstet Gynecol*, 1988. 72(3 Pt 1): p. 323-7.
115. Vercellini, P., I. Cortesi, and P.G. Crosignani, Progestins for symptomatic endometriosis: a critical analysis of the evidence. *Fertil Steril*, 1997. 68(3): p. 393-401.
116. Barbieri, R.L., S. Evans, and R.W. Kistner, Danazol in the treatment of endometriosis: analysis of 100 cases with a 4-year follow-up. *Fertil Steril*, 1982. 37(6): p. 737-46.
117. Selak, V., et al., Danazol for pelvic pain associated with endometriosis. *Cochrane Database Syst Rev*, 2007(4): p. CD000068.
118. Amsterdam, L.L., et al., Anastrozole and oral contraceptives: a novel treatment for endometriosis. *Fertil Steril*, 2005. 84(2): p. 300-4.
119. Ebert, A.D., J. Bartley, and M. David, Aromatase inhibitors and cyclooxygenase-2 (COX-2) inhibitors in endometriosis: new questions--old answers? *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 2005. 122(2): p. 144-50.
120. Allen C, H.S., Prentice A. , Non-steroidal antiinflammatory drugs for pain in women with endometriosis. *Cochrane Database Syst Rev.*, 2005. (4):CD004753

121. Efsthathiou JA, S.D., Levine Z, Rohan RM, Zurakowski D, Folkman J, D'Amato RJ, Rupnick MA. , Nonsteroidal antiinflammatory drugs differentially suppress endometriosis in a murine model. ;. Fertil Steril, 2005. 83(1): p. 171-81.
122. DeManno D, E.W., Garg R, Lee R, Schneider B, Hess-Stumpp H, Schubert G, Chwalisz K Asoprisnil (J867): a selective progesterone receptor modulator for gynecological therapy. . Steroids, 2003. 68(10-13): p. 1019-32.
123. Grow DR, W.R., Hsiu JG, Hodgen GD., Antiprogestin and/or gonadotropinreleasing hormone agonist for endometriosis treatment and bone maintenance: a 1- year primate study. . J Clin Endocrinol Metab., 1996. 81(5): p. 1933-9.
124. Stoeckemann K, H.-H.C., Chwalisz K. , Effects of the progesterone antagonists onapristone (ZK 98 299) and ZK 136 799 on surgically induced endometriosis in intact rats. . Hum Reprod, 1995. 10(12): p. 3264-71.
125. Rodgers WH, M.L., Giudice LC, Dsupin B, Cannon P, Svitek C, Gorstein F. , Patterns of matrix metalloproteinase expression in cycling endometrium imply differential functions and regulation by steroid hormones. . J Clin Invest. , 1994. 94(3). p. 946-53.
126. Osteen KG, Y.G., Bruner-Tran KL., Matrix metalloproteinases and endometriosis. 2003. 21(2): p. 155-64.
127. Osteen KG, I.T., Bruner-Tran KL. , Progesterone action in the human endometrium: induction of a unique tissue environment which limits matrix metalloproteinase (MMP) expression. Front Biosci. 2003 Jan 1;8:d78 86. Front Biosci. , 2003. 8:d78 86.: p. d78 86.

128. Schultze-Mosgau A, G.G., Altgassen C, von Otte S, Hornung D, Diedrich K. , New developments in the use of peptide gonadotropin-releasing hormone antagonists versus agonists. *Expert Opin Investig Drugs.* , 2005. 14(9): p. 1085-97.
129. Machado DE, B.P., Landgraf RG, Fernandes PD, Palmero C, Alves LM, Abrao MS, Nasciutti LE. , A selective cyclooxygenase-2 inhibitor suppresses the growth of endometriosis with an antiangiogenic effect in a rat model. *Fertil Steril.* , 2010. 93(8): p. 2674-9.
130. Barrier BF, B.G., Leland MM, Leach DA, Robinson RD, Propst AM., Efficacy of anti-tumor necrosis factor therapy in the treatment of spontaneous endometriosis in baboons. *Fertil Steril.* , 2004. 81 Suppl 1: p. 775-9.
131. Uygun D, A.H., Zergeroglu S, Batioglu S. , Leflunomide an immunomodulator induces regression of endometriyal explants in a rat model of endometriosis. *J Soc Gynecol Investig.*, 2006. 13(5). : p. 378-83.
132. Acien P, Q.F., Campos A, Gomez-Torres MJ, Velasco I, GutierrezM. , Use of intraperitoneal interferon alpha-2b therapy after conservative surgery for endometriosis and postoperative medical treatment with depot gonadotropin-releasing hormone analog: a Randomized clinical trial. *Fertil Steril* 2002. 78(4).
133. Yao Z, S.X., Capodanno I, Donnelly M, Fenyk-Melody J, Hausamann J, Nunes C, Strauss J, Vakerich K Validation of rat endometriosis model by using raloxifene as a positive control for the evaluation of novel SERM compounds. *J Invest Surg.* 2005. 18: p. 177–183.

134. Crabtree JS, P.B., Zhang X, Komm BS, Winneker RC, Harris HA, Activity of three selective estrogen receptor modulators on hormone-dependent responses in the mouse uterus and mammary gland. . Mol Cell Endocrinol 287:40–46, 2008. 287: p. 40–46.
135. Swisher D, T.R., Seyler DE. , Effect of the selective estrogen receptor modulator raloxifene on explanted uterine growth in rats. Drug Dev Res Drug Dev Res 1995. 36: p. 43–5.
136. Schenken, R.S., Overview of the treatment of endometriosis,, 2012: Up-To-Date 2012.
137. Crosignani PG, V.P., Biffignandi F, et al., Laparoscopy versus laparotomy in conservative surgical treatment for severe endometriosis. . Fertil Steril 1996. 66: p. 706.
138. D'Hoodge TM, H.J., Endometriosis. 12th ed. Vol. 26. 1996, Baltimore: Williams and Wilkins
139. Taylor E, W.C., Surgical treatment of endometriosis: location and patterns of disease at reoperation. Fertil Steril 2010. 93: p. 57.
140. Yap, C., S. Furness, and C. Farquhar, Pre and post operative medical therapy for endometriosis surgery. Cochrane Database Syst Rev, 2004(3): p. CD003678.
141. Abou-Setta, A.M., et al., Levonorgestrel-releasing intrauterine device (LNG-IUD) for symptomatic endometriosis following surgery. Cochrane Database Syst Rev, 2013. 1: p. CD005072.

142. Seracchioli, R., et al., Long-term oral contraceptive pills and postoperative pain management after laparoscopic excision of ovarian endometrioma: a randomized controlled trial. *Fertil Steril*, 2010. 94(2): p. 464-71.
143. Edwards, J.C., et al., Efficacy of B-cell-targeted therapy with rituximab in patients with rheumatoid arthritis. *N Engl J Med*, 2004. 350(25): p. 2572-81.
144. Gorski, R.A., S.P. Mennin, and K. Kubo, The neural and hormonal bases of the reproductive cycle of the rat. *Adv Exp Med Biol*, 1975. 54: p. 115-53.
145. Maeda K, O.S., Tsukamura H. , The laboratory rat (Handbook of experimental animals) Krinke GJ, editor. ed. *Physiology of the reproduction*. 2000, London: Academic Press.
146. Oba G, A.S., Kaymaz M. , Gebelik ve siklus dönemlerinin belirlenmesi amacıyla ratlarda vajinal sitolojinin kullanılması. *Ankara Üniv Vet Fak Derg* 2001;48, 51-57. *Ankara Üniv Vet Fak Derg* 2001. 48: p. 51-57.
147. Lohmiller JL, S.S., The laboratory rat. . *Reproduction and breeding*, ed. W.-r.S. Suckow MA, Franklin CL, editors. 2006: Academic press.
148. Westwood, F.R., The female rat reproductive cycle: a practical histological guide to staging. *Toxicol Pathol*, 2008. 36(3): p. 375-84.
149. Vernon, M.W. and E.A. Wilson, Studies on the surgical induction of endometriosis in the rat. *Fertil Steril*, 1985. 44(5): p. 684-94.
150. do Amaral, V.F., et al., Development of an experimental model of endometriosis in rats. *Rev Col Bras Cir*, 2009. 36(3): p. 250-5.

151. Mager, L.K.M.R.T.S.V.B.-I.D.E., Subcutaneous Absorption of Monoclonal Antibodies: Role of Dose, Site of Injection, and Injection Volume on Rituximab Pharmacokinetics in Rats. *Pharm Res*, 2012. 29: p. 490–499
152. P.A. DOIG, J.D.M.A.R.B.M., The Use of Endometrial Biopsy in the Infertile Mare. *Can. vet. J.* 22: 72-76 (March 1981), 1981. 22: p. 72-76
153. May, K.E., et al., Peripheral biomarkers of endometriosis: a systematic review. *Hum Reprod Update*, 2010. 16(6): p. 651-74.
154. Badaway, S.Z., et al., Endometriyal antibodies in serum and peritoneal fluid of infertile patients with and without endometriosis. *Fertil Steril*, 1990. 53(5): p. 930-2.
155. Hatayama, H., et al., Detection of antiendometriyal antibodies in patients with endometriosis by cell ELISA. *Am J Reprod Immunol*, 1996. 35(2): p. 118-22.
156. Bohler, H.C., et al., Endometriosis markers: immunologic alterations as diagnostic indicators for endometriosis. *Reprod Sci*, 2007. 14(6): p. 595-604.
157. Odukoya, O., A. Bansal, and I. Cooke, Serum endometriyal IgG antibodies and soluble CD23 concentrations in patients with endometriosis. *Acta Obstet Gynecol Scand*, 1996. 75(10): p. 927-31.
158. Iwasaki, K., et al., Leukocyte subpopulations and natural killer activity in endometriosis. *Int J Fertil Menopausal Stud*, 1993. 38(4): p. 229-34.
159. Maeda, N., et al., Aberrant expression of intercellular adhesion molecule-1 and killer inhibitory receptors induces immune tolerance in women with pelvic endometriosis. *Fertil Steril*, 2002. 77(4): p. 679-83.

160. Zhang, C., et al., Killer immūnoglobulin-like receptor and human leukocyte antigen expression as immūnodiagnostic parameters for pelvic endometriosis. *Am J Reprod Immūnol*, 2006. 55(2): p. 106-14.
161. Szylo, K., et al., The involvement of T lymphocytes in the pathogenesis of endometriotic tissues overgrowth in women with endometriosis. *Mediators Inflamm*, 2003. 12(3): p. 131-8.
162. Chishima, F., et al., Peritoneal and peripheral B-1-cell populations in patients with endometriosis. *J Obstet Gynaecol Res*, 2000. 26(2): p. 141-9.
163. Badawy, S.Z., et al., Immūne rosettes of T and B lymphocytes in infertile women with endometriosis. *J Reprod Med*, 1987. 32(3): p. 194-7.
164. Gagne, D., et al., Blood leukocyte subsets are modulated in patients with endometriosis. *Fertil Steril*, 2003. 80(1): p. 43-53.
165. Antsiferova, Y.S., et al., Changes in the T-helper cytokine profile and in lymphocyte activation at the systemic and local levels in women with endometriosis. *Fertil Steril*, 2005. 84(6): p. 1705-11.
166. Osuga, Y., et al., Lymphocytes in endometriosis. *Am J Reprod Immūnol*, 2011. 65(1): p. 1-10.
167. Oosterlynck, D.J., et al., Immūnohistochemical characterization of leucocyte subpopulations in endometriotic lesions. *Arch Gynecol Obstet*, 1993. 253(4): p. 197-206.

EK 1. ETİK KURUL KARARI



T.C.
SAĞLIK BAKANLIĞI
Ankara Dışkapi Yıldırım Beyazıt
Eğitim ve Araştırma Hastanesi
Deney Hayvanları Araştırma Merkezi



DİŞKAPI YILDIRIM BEYAZIT EĞİTİM VE ARAŞTIRMA HASTANESİ HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU KARARI

Toplantı Tarihi : 04.03.2013
Protokol No. : 2013/17

Proje yürütücüsünün adı soyadı : Prof. Dr. Mahmut Nedim ÇİÇEK
Projenin başlığı : **Ratlarda Oluşturulan Deneysel Endometriozis Modelinde
CD-20 Monoklonal Antikor Olan Rituximab'ın Etkisinin Araştırılması**
Proje ekibi : Dr. Ayşe Çitil DOĞAN, Dr. Cihan TOĞRUL, Dr. Murat DOĞAN,
Doç. Dr. Turgut VAR, Uzm. Dr. Eralp BAŞER,
Uzm. Dr. Aynur ALBAYRAK, Prof. Dr. Ersin FADILLIOĞLU,
Doç. Dr. Tuncay DELİBAŞI

Deneyde kullanılacak hayvanın türü ve soyu : Wistar Hannover Rat
Deneyde kullanılacak hayvanın yaş ve ortalama ağırlığı : 3 aylık, 220 - 250 gr

Adı geçen araştırmanın; araştırma protokolüne tamamen uyulmak, Dışkapi Yıldırım Beyazıt Eğitim ve Araştırma Hastanesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Yönergesi'nde belirtilen hususlar yerine getirilmek ve sorumluluk araştırmacılara ait olmak üzere çalışmanın yapılmasında herhangi bir etik sakınca bulunmadığına karar verildi.

(KATILMADI)

Doç. Dr. Tuncay DELİBAŞI
(Kurul Başkanı)

Doç. Dr. Osman YÜKSEL
(Başkan Vekili)

Doç. Dr. Ekrem YETER
(Üye)

Vet. Hek. Başak BOZTOK
(Üye)

Ecz. İlhan ÇAYIR
(Üye)

Ecz. Mine BARUT
(Üye)

EK 2. KONGRE SÖZLÜ SUNUMU

KONGRE ÖZET KİTABI

52

39. Ulusal Fizyoloji Kongresi 2013

12 Eylül 2013

Bildiri No:S24

Saat: 14.30-15.30

ENDOMETRİOZİSİN İMMÜNOLOJİK TEDAVİ SEÇENEĞİ: RİTUXİMAB (?)

Ayşe Çitil¹, Cihan Toğrul¹, Murat Doğan², Eralp Başer¹, Aynur Albayrak⁴, Ersin Fadıllıoğlu², Tuncay Delibaşı³, Turgut Var¹, Mahmut Nedim Çiçek¹

¹Zekai Tahir Burak Kadın Sağlığı Eğitim ve Araştırma Hastanesi, ²Hacettepe Üniversitesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, ³Dışkapı Yıldırım Beyazıt EAH, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Endokrinoloji kliniği

⁴Dışkapı Yıldırım Beyazıt EAH, Patoloji Anabilim Dalı

Amaç: Endometriozis, endometriotik dokunun uterinkavite dışında herhangi bir dokuya implante olması ile oluşan kronik destrüktif bir hastalıktır. Etiyopatogenezi henüz tam olarak açıklığa çıkartılamamış ve patogenezi ile ilgili hergün yeni bir yolak ortaya konmakta olan güncel tartışılan başlıklardan birisidir. Son zamanlarda üzerinde durulan yolaklardan birisi de immün sistem ve bunu oluşturan komponentlerdir. Bu çalışmanın amacı endometriozis üzerine CD-20 monoklonal antikor olan Rituximab'ın etkisi olup olmadığının deneysel hayvan modelinde değerlendirilmesidir.

Gereç ve Yöntem: Endometriozis deneysel cerrahi modelde, östrus fazındaki 21 dişi ratta oluşturuldu. Bir ay sonra endometriotikimplantların canlılığını ve boyutları ölçülerek kayıt edildi. Ratlar rastgele iki gruba ayrıldı; kontrol (n=9) ve ilaç grubu (n=12). Tedavi sonrasında laparotomi yapılarak implantlarmakroskopik olarak ölçüldü. Patolojik ve immüno-histokimyasal olarak değerlendirildi.

Bulgular: CD-20 ile yapılan İHK boyamalar sonucunda kontrol grubuna göre ilaç grubunda doku örneklerinin daha az boyandığı gösterilmiştir. Tedavi sonrası implantlarda anlamlı olarak makroskopik küçülme saptandı.

Sonuçlar: Sonuç olarak, ratta oluşturulan deneysel endometriozis modelinde, B-hücre yüzey markeri olan CD-20'ye spesifik ilk kez denenen Rituximab'ın, endometriosis tedavisinde terapötik etkisinin olabileceğini gösterilmiştir.