

T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM ANABİLİM DALI
BAŞKAN: PROF. DR. NİYAZİ AŞKAR

SIÇANLARDA OLUŞTURULAN DENEYSEL
ENDOMETRİOZİS MODELİNDE ANKAFERD
(BLOODSTOPPER) VE OKSİTOSİNİN OLASI TEDAVİ
EDİCİ ETKİLERİNİN HİSTOLOJİK VE SİTOKİNERJİK
PARAMETRELER İLE DEĞERLENDİRİLMESİ

UZMANLIK TEZİ

DR. İSMET HORTU

DANIŞMAN:
DOÇ. DR. MURAT ULUKUŞ

İZMİR 2014

ÖNSÖZ

Uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım, başta anabilim dalı başkanımız Sayın Prof. Dr. Niyazi AŞKAR olmak üzere tüm değerli hocalarıma destek ve yardımlarını hiçbir zaman esirgemedikleri için en içten saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Tez danışmanım olarak bana çalışmalarında yol gösteren, bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan değerli hocam, ağabeyim Sayın Doç. Dr. Murat ULUKUŞ'a, vermiş olduğu emekten dolayı çok teşekkür ederim.

Birlikte çalıştığımız süre boyunca her konuda desteklerini esirgemeyen sadece hocam olarak değil aynı zamanda birer ağabeyim olarak gördüğüm başta Sayın Yard. Doç. Dr. A.Özgür YENİEL olmak üzere, Sayın Yard. Doç. Dr. A.Mete ERGENOĞLU'na, Sayın Uzm. Dr. Levent AKMAN'a, Sayın Uzm.Dr. Ali AKDEMİR ve Sayın Uzm. Dr. Burak ZEYBEK'e , dostluklarını hep yanımda hissettiğim tüm araştırma görevlisi arkadaşlarım, klinik hemşire ve personeline teşekkür ederim.

Uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve tecrübelerinden yaralandığım Sayın Prof. Dr. Erol TAVMERGEN'e, Sayın Prof. Dr. Ege Nazan TAVMERGEN GÖKER'e ve tüm Ege Üniversitesi Aile Planlaması, Kısırlık Uygulama ve Araştırma Merkezi çalışanlarına teşekkür ederim.

Yoğun çalışma sürecim içinde bana her zaman sonsuz destek olan ve bugünlere gelmemi sağlayan aileme ve eşim Hacer ÖRSDEMİR HORTU' ya sonsuz teşekkür ederim.

Dr. İsmet HORTU

İÇİNDEKİLER

TABLolar VE ŞEKİLLER LİSTESİ	iv
KISALTMALAR	vi
1.GİRİŞ	7
2.GENEL BİLGİLER.....	8
2.1.Endometriozis Tanım	8
2.2. Epidemiyoloji.....	8
2.3. Etyopatogenez (Hipotezler).....	11
2.4. Patoloji.....	15
2.5. Tanı.....	17
2.6. Endometriozis ve İnfertilite.....	18
2.7.Endometriotik Dokunun Parakrin Düzenlenmesi.....	18
2.8. Endometriozis Sınıflandırması.....	21
2.9. Tedavi.....	24
2.10. Oksitosin.....	27
2.11. Ankaferd® (Blood stopper).....	28
3.MATERYAL METOD	30
4.BULGULAR.....	32
5.TARTIŞMA	37
6.SONUÇ	40
7.ÖZET.....	41
8.KAYNAKLAR	44

TABLolar VE ŞEKİLLER LİSTESİ

TABLolar LİSTESİ

Tablo 1: Endometrioziste Klinik Bulgular	17
Tablo 2: Endometrioziste suçlanan mediatörler ve infertilitenin oluşum mekanizmaları.....	19
Tablo 3: Makroskopik olarak endometrial implant hacimleri.....	33
Tablo 4: Endometriotik implantların epitel skorları.....	34
Tablo 5: Plazma ve periton yıkama sıvılarında sitokin seviyeleri	36

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1: Endometriozisin sık yerleşim yerleri	10
Şekil 2: Endometriozisin peritoneal lezyonları	11
Şekil 3: Rektovajinal adenomyotik nodül	13
Şekil 4: Endometriozisin laparoskopik görüntüleri, pelvik periton ve kul de sac'ın tutulum alanları.....	16
Şekil 5: Ovarian Endometrioma.....	16
Şekil 6: Endometriozisin mikroskopik görünümü	16
Şekil 7: Endometrioziste kök hücre	19
Şekil 8: Endometrioziste Hormonal Mekanizmalar	20
Şekil 9: Endometrioziste Multifaktöriyel etkileşimler.....	21
Şekil 10: Endometrial hücrelerin immün sistemden kaçış ve tutunma mekanizmaları.....	22
Şekil 11: Revize edilmiş AFS Skorlaması ve bu skorlamaya göre endometriozis evrelemesi (1996)	23
Şekil 12: Endometriozisin farklı evrelerde tutulum şekilleri ve skorlama.....	24
Şekil 13: Oksitosinin aminoasit yapısı	27
Şekil14: Anka Kuşu	28
Şekil 15: Ankaferd ilaç formları	28
Şekil 16: Sprague Dawley tipi sıçanlar	30
Şekil 17: Makroskopi- a- Kontrol grubu, b- Oksitosin grubu, c- Ankaferd grubu ..	33
Şekil 18: Mikroskopi- a- Kontrol grubu, b- Oksitosin grubu, c- Ankaferd grubu ...	34
Şekil 19: Epitel skorlaması ve histopatolojileri	35

KISALTMALAR

ABS	: Ankaferd blood stopper
AFS	: American Fertility Society
Akt	: Serin Treonin Spesifik Protein Kinaz (Protein Kinaz B)
ANOVA	: Analysis Of Variance
CA 125	: Carbohydrate Antigen 125, Cancer Antigen
CT	: Computed Tomography
ELISA	: Enzyme Linked Immunosorbent Assay
Fas L	: Fas Ligand
GnRH	: Gonadotropin Releasing Hormone
ICAM 1	: Intercellular Adhesion Molecule 1
IL	: İnterlökin
IVP	: İntravenöz Pyelografi
kD	: Kilo Dalton
LPS	: Lipopolysaccharide
MPA	: Medroksi Progesteron Asetat
MCP 1	: Monocyte Chemoattractant Protein 1
MDGF	: Monocyte Derivative Growth Factor
mRNA	: Messenger Ribonucleic Acid
MRI	: Magnetic Resonance Imaging
NF- Kβ	: Nükleer Faktör Kappa Beta
NK	: Natural Killer
NO	: Nitrik Oksit
PGE2	: Prostaglandin E2
sICAM 1	: Soluble Intercellular Adhesion Molecule 1
SPSS	: Statistical Package for Social Sciences
TGF	: Transforming Growth Factor
TNF	: Tümör Nekrozis Faktör
VEGF	: Vascular Endotelial Growth Factor

1. GİRİŞ

Endometriozis kadınlar arasında özellikle reproduktif çağda yaygın görülen bir hastalıktır. Otopsi serilerinde % 50 ye yakın oranlarda bildirilmektedir. Endometriozis endometrial bez ve stroma yapısının ekstrauterin olarak özellikle ovarian yüzeyde ve diğer periton sahalarında bulunmasıdır (1). Peritoneal endometriozis odaklarının kanaması sonucunda inflamatuvar sitokinler peritonda artmakta bu da infertilite ve kronik pelvik ağrıya yol açabilmektedir.

Endometriozisin konvansiyonel tedavisinde hala hormon bazlı tedaviler kullanılmaktadır. Bu tedaviler semptomatik yönden etkili olsa da infertilite üzerine etkileri yoktur. Peritoneal implantların cerrahi olarak destrüksiyonu tedavinin temelini oluşturmaktadır. Peritoneal implantların oluşmasında önce yüzey adezyon molekülleri, ardından VEGF (Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü) gibi vaskülarizasyon sağlayan trofik ajanlar etkili olmakta, bundan sonra ise devreye östrojen, inflamatuvar sitokinler (IL-1, IL-6, IL-8, TNF, TGF) girmekte bu da over folikülünde ve spermde apoptotik yolları (Akt (serin treonin kinaz), NF- κ B) aktive ederek infertilitenin moleküler düzeydeki nedenlerini oluşturmaktadır (2). Literatürde antioksidanlar, kinaz inhibitörleri, immünmodulatörler yeni tedavi modaliteleri olarak denenmektedirler. Ancak Türk ilaç sanayisi ürünü olan ve 5 bitkinin karışım ekstraktından elde edilen ‘ Ankaferd’ henüz bu konuda çalışılmamıştır.

Ankaferd BloodStopper® (ABS) folklorik olarak geleneksel Türk hekimliğinde hemostatik ajan olarak kullanılmış bir bitkisel ekstrattır. ABS, Thymus vulgaris, Glycyrrhiza glabra, Vitis vinifera, Alpinia officinarum ve Urtica dioica bitkilerinin standardize karışımından oluşmaktadır. Bu bitkilerin tümü tek başına endotel, kan hücreleri, damar oluşumu (anjiogenezis), hücresel üreme, vasküler dinamikler ve mediatörler üzerinde etkilidir (3). Günümüzde Ankaferd, özellikle acil servislerde ve ambulanslarda akut abondan travma kanamalarında hemostaz amacıyla kullanılmaktadır. Çalışmada, Ankaferd’in bu fonksiyonlarından yola çıkarak ektopik endometriotik dokuların, tıpkı ötopik endometrial dokularda olduğu gibi siklik kanamalarında hemostaz yapıcı etkisiyle endometriozis tedavisinde de kullanılabilceği araştırılacaktır.

Oksitosinin klasik kullanımı; postpartum kanama ve doğum indüksiyonu dışında nöroprotektif, anti konvülzan, antiinflamatuvar sitokin etkileriyle de değerlendirilmektedir. Bu çalışmada oksitosinin endometriozis üzerine etkileri de araştırılacaktır (4).

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Endometriozis Tanım

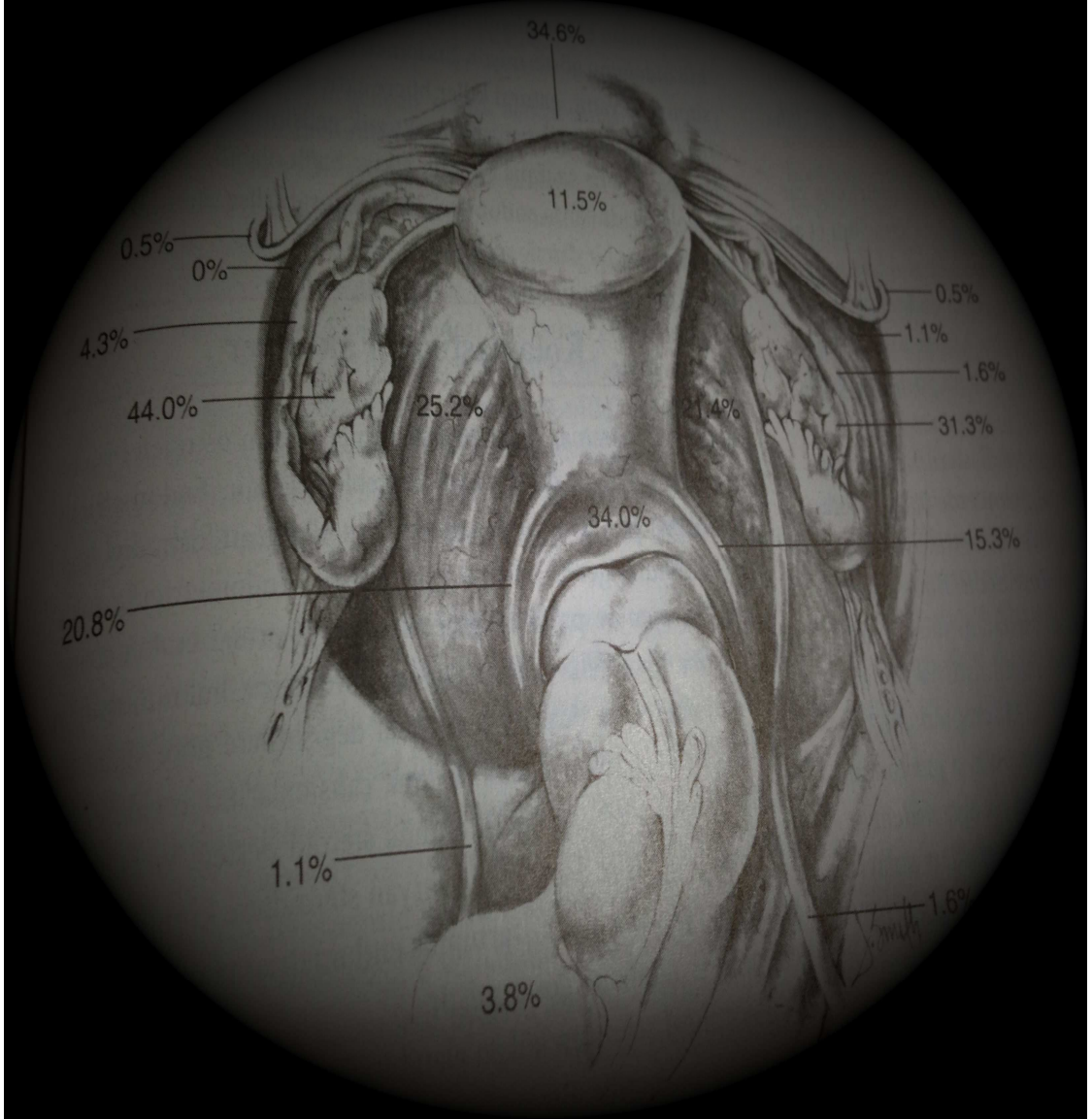
Endometriozis ilk olarak von Rokitansky tarafından 1860 'da tarif edilmiş ve uterin kavite dışında fonksiyonel endometrial bez ve stromanın varlığıyla karakterize klinik ve patolojik bir antitedir (1). Bu ektopik endometriotik implantlar overler, uterin ligamanlar, rektovajinal septum, parietal periton, barsak serozası ve appendiksi içerecek şekilde tüm pelvik kavitede yerleşim gösterebilir. Daha nadir tutulum gösteren yerler ise serviks, herni keseleri, umblikus, laparotomi ve epizyotomi skarları ile plevral ve perikardial kavitelere. Endometriozisin görüldüğü en sık bölge pelvis olmakla beraber vücutta herhangi bir yerde de görülebilir (5) (Şekil 1,2).

2.2. Epidemiyoloji

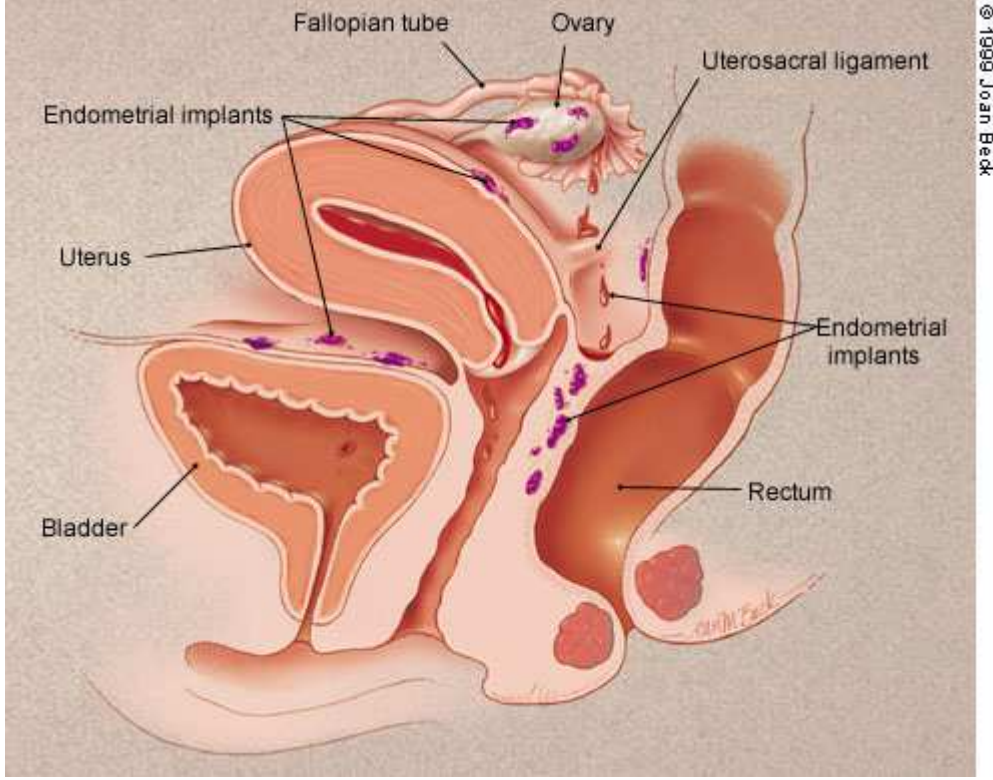
Endometriozisin genel popülasyondaki insidansı % 6-10 civarındadır. Endometriozis jinekolojik sebeple opere edilen hastaların % 1'inde, sterilizasyon uygulanan hastaların % 6-43'ünde, pelvik ağrı ve/veya infertilite nedeniyle başvuran hastaların ise yaklaşık % 30- 50'sinde görülebilen bir patolojidir (6). 2002 yılında Amerika Birleşik Devletleri verilerine göre yılda 18.8- 22 milyar dolar sadece endometriozis ve bununla ilişkili patolojilere ayrılan sağlık harcamaları olarak kayıtlara geçmiştir.

Yaş, ırk ve sosyoekonomik durumun endometriozis prevalansına olan etkisi hala tartışmalıdır. Teşhiste ortalama yaş 25-35 arasındadır. Endometriozis nadiren postmenopozal kadınlarda tespit edilir. Sosyoekonomik seviyesi yüksek olan kadınlarda endometriozisin daha sık görülmesi bu kadınların gebeliklerini daha ileri yaşlara ertelemelerinden ötürü olduğunu düşündürmektedir. Sosyoekonomik düzeyi aynı olan siyah ve beyaz kadınlarda endometriozis riski aynıdır (7). Endometriozise ailesel yatkınlık olabileceği ihtimali tartışılmaktadır. Bir kadında endometriozis varsa birinci derece kadın akrabasında endometriozis olma ihtimali % 7'dir (8). Literatürde bildirilen prevalanslardaki büyük varyasyon birçok nedene bağlı olabilir. İlk olarak tanı, kullanılan metoda bağlı olarak değişebilir. Örneğin; laparoskopi tanı için kullanılan bir yöntem olup minimal-hafif endometriozis olgularının tanısında genellikle

laparotomiden daha iyi bir seçenektir. İkinci neden ise, cerrahın bu konudaki tecrübesinin tanı koymada etkili olmasıdır. Çünkü endometriozis implantlarının görünüm olarak geniş varyasyonları vardır. Asemptomatik kadınlarda laparoskopi esnasında endometriozise ait lezyonların sıklıkla görülmesi endometriozisin semptomatik olmadıkça normal fizyolojik bir gelişim olarak tanımlanabileceği yorumuna neden olmuştur. Ancak semptomatik hale geldiğinde dismenore, kronik pelvik ağrı ve infertilite ile karşımıza çıkar.



Şekil 1- Endometriozisin sık yerleşim yerleri



Şekil 2- Endometriozisin peritoneal lezyonları

2.3. Etyopatogenez (hipotezler)

Endometriozisin sık görülen semptomlarından olan pelvik ağrı, infertilite ve bunların sebep olduğu sosyal sorunlar (iş gücü kaybı, artmış sağlık harcama masrafları, psikososyal sorunlar, ...), hastalığın patogenezinin çözülmesi için çeşitli araştırmaların yapılmasına ortam hazırlamıştır. Patogenezin belirsizliği dolayısıyla uygun, yan etkisi az medikal veya cerrahi tedavi seçeneklerinin olmaması, araştırmacıları histopatogenezini daha çok araştırmaya sevk etmiştir. Bugün için dünyanın en geniş medikal veritabanlarından olan Pubmed’te endometriozis ile ilgili 20.000 e yakın araştırma ve derleme makaleleri bulunmaktadır.

Günümüzde farklı patogenetik mekanizmalarla 3 tip endometriozis tanımlanmaktadır;

Ovaryan endometriomalar

Rekto-vajinal adenomyotik nodül

Peritoneal endometriozis

2.3.1.Ovaryan Endometriomalar

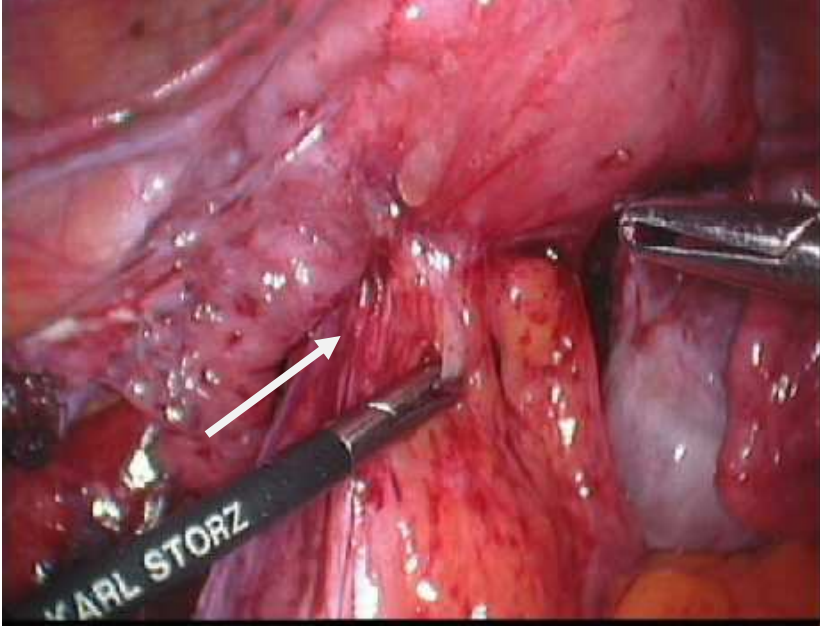
Endometriotik odakların overde yerleşerek kistik yapıya ulaşmış, kitle etkisi yapmış haline endometrioma denir. Ovaryan endometrioma patogenezinde üç model ortaya atılmıştır:

- Over yüzeyine yapışmış endometrial implantların kanaması ve over korteksinin inversiyonu ile birlikte bu implantların invajinasyonu
- Fonksiyonel over kistlerinin, over yüzeyindeki endometriotik implantlarla sekonder tutulumu
- Overi örten çöломik epitelin metaplazisi

Endometriotik kistlerin iç yüzeylerinin laparoskopi ile inspeksiyonu ve in situ alınan biyopsi ile aktif endometriotik implantların kist inversiyonu olan bölgelerde lokalize olduğu doğrulanmıştır (9). Bu bulgular, çoğu endometriotik kistin, over yüzey epiteline implante olan endometrial hücrelerin invajinasyonu sonucu oluştuğunu desteklemektedir.

2.3.2. Rekto- vajinal adenomyotik nodül

Rektovajinal adenomyotik nodülün patogenezinin ise rektovajinal septumda lokalize olan mülleryan kalıntıların metaplazisi ile ilişkili bir antite olduğuna inanılmaktadır (10). Mülleryan kalıntıların metaplastik değişikliklerinin, düz kas proliferasyonundan sorumlu oldukları ve uterus içindeki adenomyozise benzer bir görünüm meydana getirdikleri belirtilmektedir. Rektovajinal adenomyotik nodülün ve adenomyozisin her ikisinde de zayıf farklılaşmayı gösteren benzer immünohistokimyasal sonuçların bulunması, her iki dokunun steroidlere zayıf yanıt vermesi ve lezyonun cerrahi olarak çıkarılmasını takiben nüksün izlenmemesi bu hipotezi destekleyen bulgulardır.



Şekil 3- Rektovajinal adenomyotik nodül

2.3.3. Peritoneal Endometriozis

2.3.3.1. Retrograd menstrüasyon (implantasyon) teorisi:

İmplantasyon ya da Sampson teorisi olarak da bilinen retrograd menstrüasyon teorisi, menstrüasyon sırasında endometrial dokunun fallop tüplerinden geçerek peritoneal yüzeylere veya pelvik organlara implante olmasını savunmaktadır (11). Bu teori 3 varsayım üzerine kurulmuştur. İlki, fallop tüplerinden retrograd menstrüasyon olduğudur. İkincisi, endometrial hücreler periton boşluğu içerisinde de yaşamaya devam edebilmektedir. Üçüncüsü ise, endometrial hücreler periton boşluğu içerisinde adezyon, invazyon, implantasyon ve proliferasyon özelliklerini gösterebilmektedir. Yapılan çalışmalarda fallop tüpleri açık olan kadınların % 76-90'ında laparoskopi esnasında retrograd menstrüasyon olduğu tespit edilmiştir (12). Ayrıca endometriozisin en sık pelvik bölgelerde, overlerde, anterior ve posterior cul-de-sac, uterosakral ligamentler, posterior uterus ve posterior broad ligament üzerinde görülmesi bu teoriyi desteklemektedir (13). Endometrial hücreler periton boşluğuna ulaştıktan sonra endometriozis hastalığının gerçekleşebilmesi için bu hücrelerin çevre dokulara yapışabilmesi gerekmektedir. Scott ve TeLinde, 1950 de dökülmüş endometrial hücrelerin implantasyon kapasitelerinin olduğunu göstermişlerdir (14). Bu bulgular

canlı endometrial hücrelerin adezyon ve implantasyon kabiliyetlerini ispatlamış ve endometriotik lezyon oluşturma potansiyellerini göstermiştir.

2.3.3.2. Doğrudan transplantasyon teorisi:

Epizyotomi yerinde, sezaryen ve diğer cerrahi skarlarında endometriozis oluşumunu izah etmektedir. Pelvis dışındaki dokularda endometriozis gelişimi endometrial hücre veya dokuların lenfatik veya kan yoluyla yayılımı ile olabilir.

2.3.3.3. Çöломik Metaplazi Teorisi:

Bu teoriye göre endometriozis pelvik peritonu döşeyen hücrelerin infeksiyöz, hormonal veya diğer uyanlarla metaplazisi ile oluşmaktadır. Çöломik kavite (periton) farklılaşmamış hücreler ve endometrial dokuya dönüşme potansiyeli olan hücreler içermektedir. Bu teorinin destekçisi olarak endometriozisin plevral kavite gibi atipik yerlerde görülmesi (15), hiç menstrüasyon kanaması olmamış kadınlarda gösterilmesi, prepubertal vaka sunumlarının olması ve bazı erkeklerde de endometriozisin tespit edilmesi (16) gösterilmektedir.

2.3.3.4. İndüksiyon teorisi:

Çöломik metaplazi teorisinin daha genişletilmiş formudur ve peritona yayılan endometrial debrisin farklılaşmamış periton hücrelerini aktive ederek metaplaziye gitmesini sağlayan faktör salgıladığını ileri sürer. Yakın zamanda Matsuura ve ark. in vitro over yüzey epitelinde endometrial stromal hücrelerin 17 beta östradiole maruz bırakıldığında çöломik metaplazi olduğunu göstermişlerdir (17).

2.3.3.5. Lenfatik ve Vasküler metastaz teorileri:

1920'lerde Halban ve Sampson (18), endometriozisin lenfatik ve hematojen yolla endometrial hücrelerin yayılımı sonucunda olabileceğini öne sürmüşlerdir.

Endometrial hücrelerin lenfatik sistem aracılığı ile uzak bölgelere metastaz yapması, örneğin plevra, umblikus, retroperitoneal bölge, alt ekstremiteler, vajen ve serviks ulaşması anatomik olarak lenfatik sistem aracılığı ile mümkündür. Lenfadenektomi yapılan 153 kadında % 6,5 oranında, otopsi yapılan 178 kadının da % 6,7'sinde lenf nodunda endometriozis tespit edilmiştir (19). Lenfatik ve vasküler metastaz teorisi, kemik, kas, beyin, sinir, akciğer parankimi, vertebra ve ekstremiteler gibi nadir yerlerde görülen endometriozis vakalarının patogenezi açıklama noktasında da yardımcıdır.

2.3.3.6. Embriyonik kalıntı teorisi:

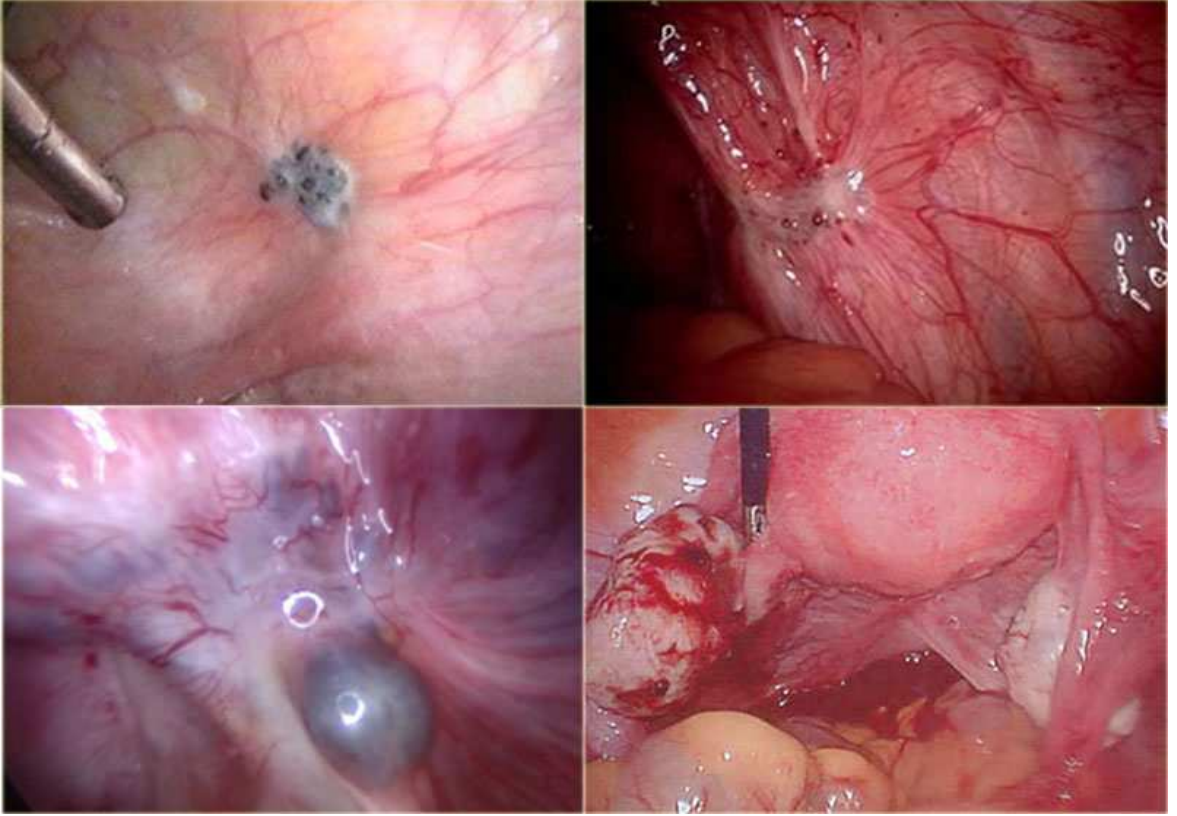
Embriyonik kalıntı teorisi Von Recklinghausen (20) tarafından 1890'lerde ortaya atılan bir teoridir. Bu teori müller sisteminin kalıntısı olan hücrelerin spesifik uyarılarla aktive olduğunu ve endometrial hücrelere farklılaştığını savunmaktadır. Embriyonik kalıntı hücrelerin farklılaşarak endometrial hücrelere dönüşmesi teorisi erkeklerde rapor edilen nadir endometriozis vakalarına da bir örnek olmaktadır.

Son zamanlarda yapılan araştırmalara göre endometriozisin etyopatogeneziyle ilgili bir diğer teori de: Kemik iliğinden kaynaklanan kök hücreler farklı anatomik bölgelerde endometriotik dokulara farklılaşabileceğidir (21). Ayrıca endometrioziste genetik yatkınlık (Etkilenmiş kadınların 1. derece akrabalarında kontrol grubu ile karşılaştırıldığında 6-9 kat artış görülür, ciddi endometrioziste kız kardeşler için bu risk 15 katına çıkar) da yapılan birçok çalışmada kanıtlanmıştır (22).

2.4. Patoloji

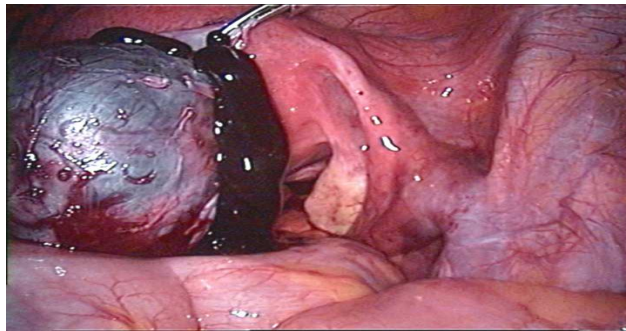
2.4.1. Makroskopik Görünüm

Endometriotik odakların makroskopik görüntüleri, peritonda tipik olarak "Barut Yanığı" şeklinde ifade edilir. İmplantlar kırmızı kahverengi makül veya nodül olarak gözlenir. Boyutları birkaç milimetreden birkaç santimetreye kadar değişebilir (Şekil2).



Şekil 4- Endometriozisin laparoskopik görüntüleri, pelvik periton ve kul de sac' ın tutulum alanları

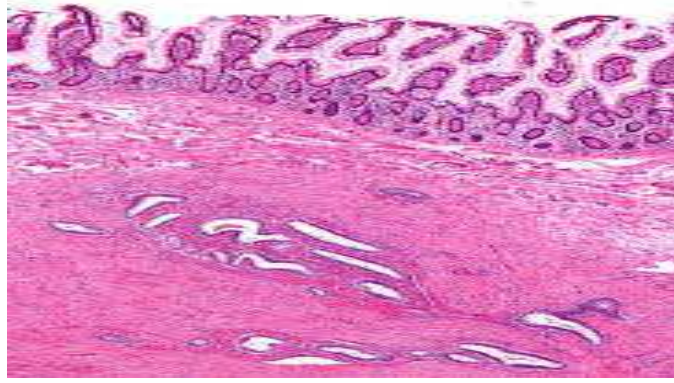
Over yüzeyindeki endometriotik odaklar zamanla kalın fibrotik bir kapsül halini alıp içerisinde kan, serum ve fibrin birikip kist halini alabilir. Bu endometriotik kistlere endometrioma adı verilir ve birkaç santimetreden 10 santimetreye kadar büyüyebilir. Menstrüasyonla kist koyu kırmızı mavimsi hemorajik renge bürünür, içeriği yoğunlaşır ve çikolata görünümüne benzediği için çikolata kisti de denir (Şekil 4,5).



Şekil 5- Ovaryan endometrioma

2.4.2. Mikroskopik Görünüm

Endometriozisin mikroskopik görünümü de tıpkı endometrium dokusuna benzer; endometrial bez ve stroma yapıları izlenir (Şekil 6). Ötopik ve ektopik endometrial stroma dokusu benzerdir.



Şekil 6- Endometriozisin mikroskopik görünümü

2.5. Tanı

2.5.1. Semptom, Bulgu ve Teşhis

İnfertilite, dismenore ve disparoni şikayeti olan her kadında endometriozisten şüphelenilmelidir. Ağrı özellikle alt abdomen ve pelvise lokalizedir. Dismenore disparoniye oranla daha sıktır ve hastalığın yaygınlığı ile değil derinliği ile ağrı arasında doğru orantı vardır (23). Endometriozis odaklarından alınan biyopsi örneklerinin histolojik incelemesi kesin tanı açısından "altın standart" olarak kabul edilmektedir. Teşhis genellikle 3 veya 4. dekatta konur. Adneksiyel kitle ve infertilitesi olan hastalarda endometriozis düşünülmelidir. Ayrıca endometriozis olan birçok hasta asemptomatik de olabilir. Hastaların fizik muayene bulguları hastalığın lokalizasyon ve evresine bağlı olarak değişebilir.

Tablo 1- Endometrioziste Klinik Bulgular

Kul- de- sak veya uterosakral ligamanda lokalize hassasiyet
Kul- de- sak veya uterosakral ligamanda veya rektovajinal septumda palpe edilen hassas nodüller
Uterusun hareketi ile ağrı oluşması
Hassas, büyümüş adneksiyel kitle
Uterus ve / veya adnekslerin fiksasyonu

Ultrasonografi ile ovaryan endometrioma teşhis edilebilir, fakat peritondaki implantların teşhisinde ultrasonografinin faydası yoktur. Endometriozis, morfolojik olarak genellikle iki boyutlu olduğu için MRI, CT veya ultrasonografi genellikle negatif sonuç verir. Rektum ön duvarının kul-de-sak'ı kapattığı ileri evre hastalarda MRI veya rektal ultrasonografi istenebilir (24). Barsaktakine benzer olarak mesane serozasından başlayan lezyon nadiren mukozaya ilerler, bu nedenle sistoskopi yeterince yardımcı olamayabilir. Bir veya iki üreterin tutulumundan, konstriksiyonundan şüphelenilen vakalarda kontrastlı görüntüleme yöntemi (IVP), faydalı olabilir.

2.5.2. CA 125

Endometriozis tanısında en yaygın kullanılan serum belirteci yüksek molekül ağırlıklı (200.000 DA) karbonhidrat yapılı bir glikoprotein olan CA 125 (Cancer antigen 125 / Carbohydrate antigen 125) dir (25). Endometrium, endoserviks, fallop tüpleri, periton, plevra ve perikard gibi embriyonik çöломik epitelden köken alan tüm dokularda eksprese edilmektedir. Endometriozisi olan kadınların serum, menstrüel kan ve periton sıvılarında CA 125 seviyelerinin yükseldiği gösterilmiştir. Ancak CA 125 seviyesi endometriozis için spesifik değildir. Pelvik inflamatuvar hastalık, pankreatit, peritonit, gebelik, ovaryan hiperstimülasyon sendromu gibi durumlarda ve özellikle epitelyal kanserlerde artmaktadır. Sensitivitesinin % 27-94, spesifitesinin ise % 83-93 arasında değiştiği bildirilmektedir (26). Seri CA 125 ölçümü, tedaviden sonraki dönemde endometriozisin tekrarlama ihtimalini takipte kullanılabilir.

2.6. Endometriozis ve İnfertilite

Endometriozisin infertiliteye yol açıp açmadığı tartışmalı bir konudur. Amerikan Fertilite Topluluğu' nun açıklamasında orta veya şiddetli düzeydeki endometriozis olgularında hastalık overleri içerisine almış ise ve oluşan adezyonlar tuboovaryan motiliteyi ve ovumun yakalanmasını engelliyorsa fertilite oranının azalabileceği ifade edilirken, minimal endometriozisli olgulardaki fertilite durumu üzerine etkisi hala tartışmalıdır. Fertil kadınların % 80'inde minimal veya hafif, % 20'sinde ise orta veya şiddetli endometriozis rapor edilmiştir (27). Endometriotik odakların prolaktin de sentez ettikleri ve bunlara bağlı veya endometriozis ağırlarına bağlı olarak oluşan hiperprolaktineminin de ovulasyonu etkileyebileceği ileri sürülmüştür (28). İnfertil kadınların % 25-50'sinde endometriozis vardır ve endometriozisi olan kadınların % 30-35'i infertildir.

Tablo 2- Endometrioziste suçlanan mediatörler ve infertilitenin oluşum mekanizmaları

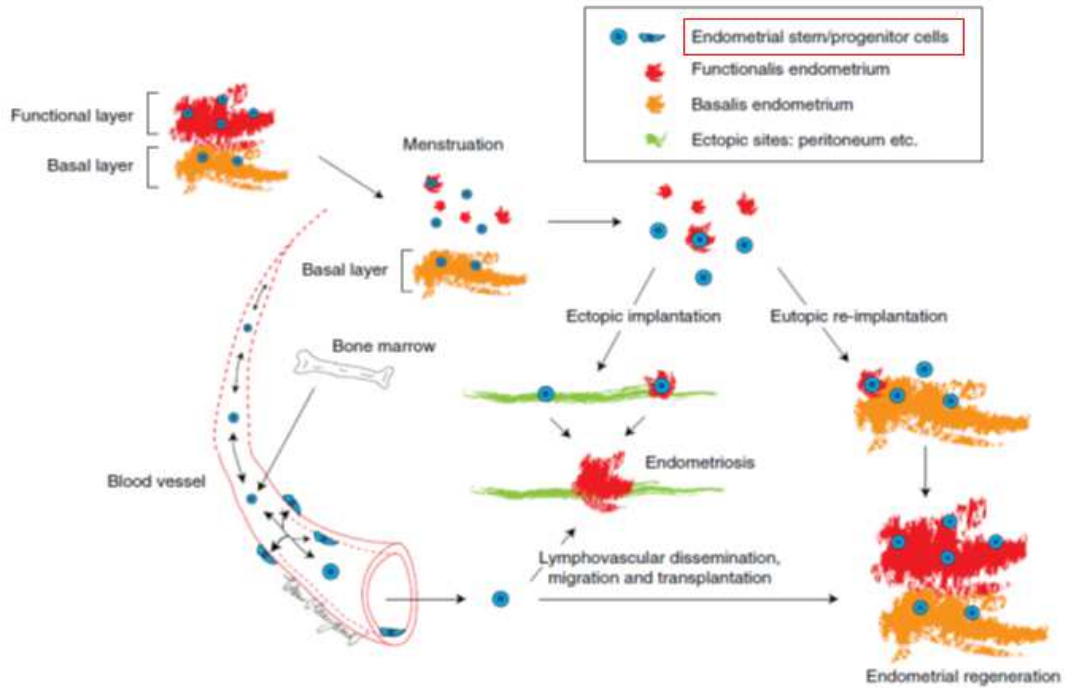
Anovulasyon, luteal faz bozukluğu ve hormonal bozukluklar
Mekanik faktörler; adezyonlar, tubal obstrüksiyon
Galaktore veya hiperprolaktinemi
Peritondaki lökositler, sitokinler ve peritonun inflamatuvar cevabı
Otoimmünite
Periton sıvısındaki prostaglandinler
Endometrial implantasyon defekti ve spontan abortus

2.7. Endometriotik Dokunun Parakrin Düzenlenmesi

2.7.1. Endometrioziste İmmünolojik Faktörler

Endometriozisli kadınlarda immün sistemde değişiklikler olabilir ve hastalık pelvik kaviteden kaynaklanan canlı endometrial hücrelerin azalmış immünolojik klirensi sonucu gelişebilir (29). Otolog endometrial hücrelere karşı azalmış hücre kaynaklı

sitotoksitenin, endometriozisle beraber olduğu rapor edilmiştir (30,31). Ektopik dokunun immün gözetimden kaçışından sorumlu birkaç parakrin mekanizma tanımlanmıştır. Bu mekanizmalardan birtanesi hücre içi adezyon molekülü- 1 (ICAM-1) ve adezyon molekülünün çözünen formu (sICAM-1) arasındaki immün hücre yüzey reseptörüne bağlanmadaki yarıştır. Yapılan bir diğer çalışmada endometriotik stromal hücrelerin ötopik endometrium hücrelerine göre sICAM-1 molekülünü daha fazla salgıladığını göstermiştir (32). İmmün sistemin takibinden kaçışta diğer bir yol ise Fas-Fas ligand (FasL) sistemidir. FasL salgılayan hücre Fas taşıyan hücreye bağlandığında apoptozis ile ölümüne neden olur. Makrofajdan salınan özgün sitokinlerin endometriozisli kadınların periton sıvılarında arttığı bilinir ve endometriotik hücrelerde FasL salınımını uyarır. Fas aracılı apoptozis immün sistem cevabında eksikliğe neden olur. Ektopik endometriumun bir özelliği de immün süpresif mediatörleri fazla miktarda salgılama kabiliyetinin olmasıdır ve böylece ektopik dokunun temizlenmesinde azalmaya sebep olur. Endometriotik odaklarda matriks metalloproteinaz aktivitelerinde artış (MMPs), inhibitörlerinde ise azalma saptanmıştır (TIMPs) ve bu sayede endometriotik implantların peritoneal yüzeylere tutunması kolay olmaktadır. Son yıllarda üzerinde durulan kök hücre teorisinde de, kemik iliği kökenli endometrial hücrelerin peritoneal yüzeylere tutunup, eksprese olduğu ve yayıldığı bilgileri de sıkça araştırılmaktadır (şekil 9).



Şekil 7- Endometrioziste kök hücre

2.7.2. Periton Sıvısı

Yapılan çalışmalar göstermiştir ki endometriozisi olan kadınların periton sıvılarında daha fazla aktif makrofaj ve diğer immün sistem hücreleri ve ayrıca daha fazla büyüme faktörü ve sitokin bulunmaktadır (33).

2.7.3. Sitokin

Sitokinler, uyarılmış lenfosit, monosit, makrofaj ve diğer bazı hücrelerde sentezlenen ve salındıkları zaman, salındıkları hücrenin çevresindeki hücelere (parakrin) veya doğrudan salındıkları hücreler üzerine etkili (otokrin); çoğu 20-30 kD ağırlığında bir grup potent peptid veya glikoprotein yapısında suda çözünebilir maddelerdir.

2.7.3.1. Tümör Nekrozis Faktör (TNF)

NK hücresi, T hücresi, nötrofil, makrofaj, aktif lenfosit ve birkaç hematopoetik olmayan hücrelerce salgılanır. TNF'lerin esas görevi sitokin kaskadını başlatmaktır. Endometriozisli hastaların periton sıvılarında TNF - α konsantrasyonu artmıştır ve bazı çalışmalarda artmış konsantrasyon hastalığın evresi ile paralellik göstermiştir (34). Ayrıca bu sitokinin peritoneal sıvıdaki konsantrasyonunun ölçümü bize cerrahi dışında endometriozis tanısı koyulmasında yardım edebilir. Bu nedenledir ki endometriozisin tedavisinde TNF- α blokerleri faydalı olabilir (35).

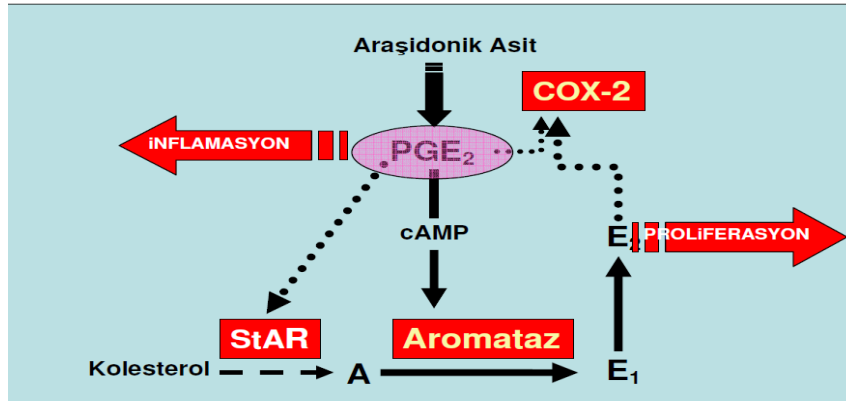
2.7.3.2. VEGF (Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü)

VEGF damar endotel hücrelerine özgü homodimerik glikoprotein yapısında heparin bağlayan büyüme faktörüdür (36). Vasküler endotel büyüme faktörü (VEGF), endotel hücrelerine spesifik bir büyüme faktörüdür. Vaskülogenez ve anjiogenezi düzenler. Endometriotik odaklarda VEGF'ün fazlaca eksprese olduğu bu sayede proliferasyon yeteneği kazandığı, ve immün sistemden kaçışları son yapılan moleküler ve hücre kültürü çalışmalarında gösterilmiştir. Yine yapılan moleküler incelemelerde

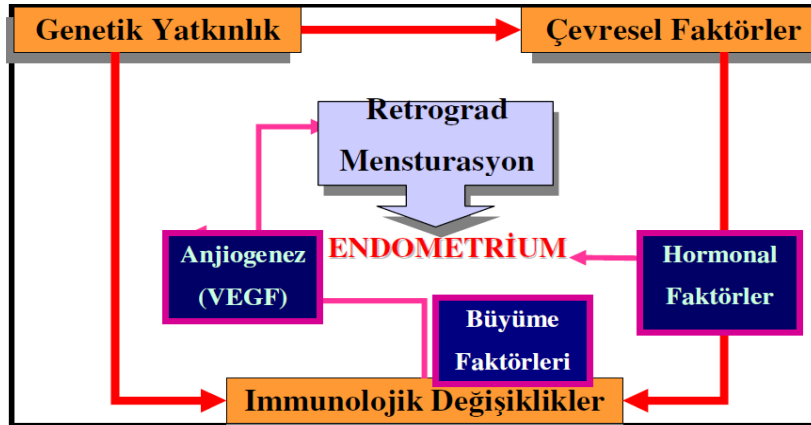
Şekil 12’ de gösterildiği gibi retrograd dökülen menstrüel endometrial hücrelerin periton yüzey epiteline adezyonu, proliferasyonu ve angiogenezi başlıca VEGF aracılığıyla olmaktadır.

2.7.3.3. MCP 1(Monosit Kemoatraktan Protein 1)

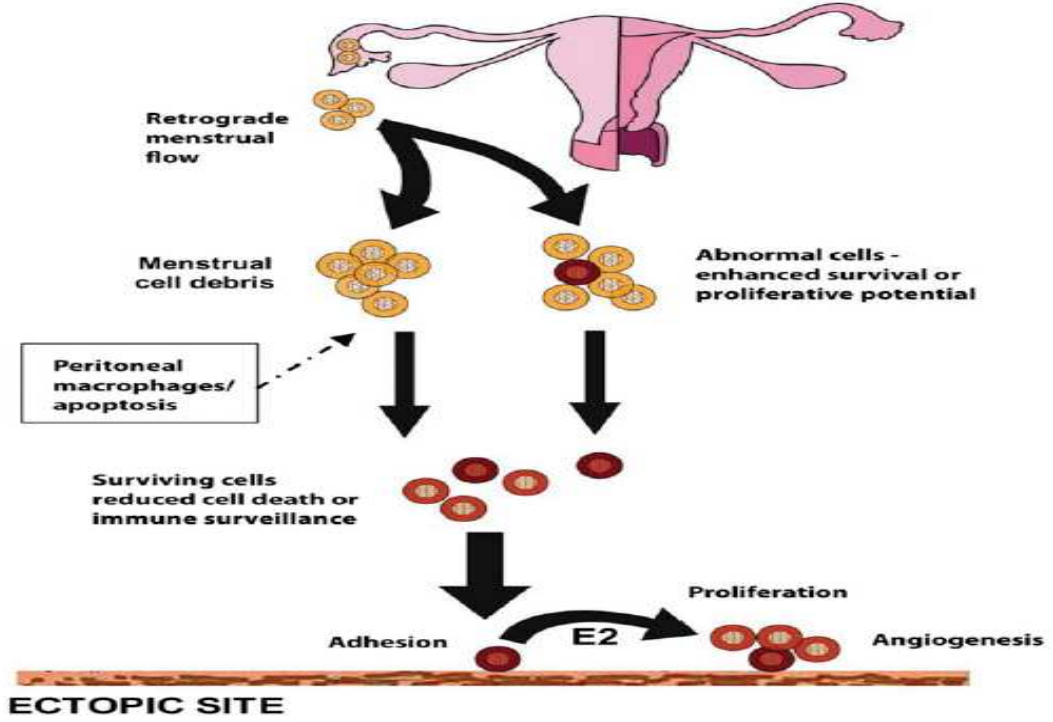
MCP-1'in mononükleer hücrelerin aktivasyonu ve inflamasyon bölgesine getirilmesi, sitokin sentezi ve enflamatuar süreçte etkili olduğu düşünülmektedir (37). MCP 1; Lökositlerden, mezotelial hücrelerden ve endometrial hücrelerden sentez edilmektedir. Endometriozis olgularının peritoneal sıvılarındaki miktarı lezyonun ve hastalığın şiddetiyle paralellik göstermektedir. Endometriozis olgularının ötopik endometriumları ve ektopik hücre kültürlerinde IL 1 ve östrojenin MCP 1 ‘ i stimüle ettiği gösterilmiştir.



Şekil 8- Endometrioziste Hormonal Mekanizmalar



Şekil 9- Endometrioziste Multifaktöriyel Etkileşimler



Şekil 10- Endometrial hücrelerin immün sistemden kaçış ve tutunma mekanizmaları

2.8. Endometriozis Sınıflandırması

1996 yılında Amerikan Fertilité Topluluğu tarafından bir sınıflandırma şekli yayınlanmıştır (38). Endometriozis minimal, hafif, orta ve ciddi olarak sınıflandırılır. Hafif hastalık peritonun 5cm²’sinden küçük alanda ve over üzerinde minimal implant olmasıdır. Adezyon çok az veya hiç yoktur. Orta formda yüzeysel veya derin invazyon gösteren birçok implant vardır. Ciddi formda ise birçok yüzeysel ve derin implant vardır ve over endometriomalarını içerir. İnce veya yoğun adezyonlar genellikle mevcuttur. Fakat ağrı veya infertilite semptomları ile korele herhangi bir evreleme sistemi henüz yoktur.



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 _____

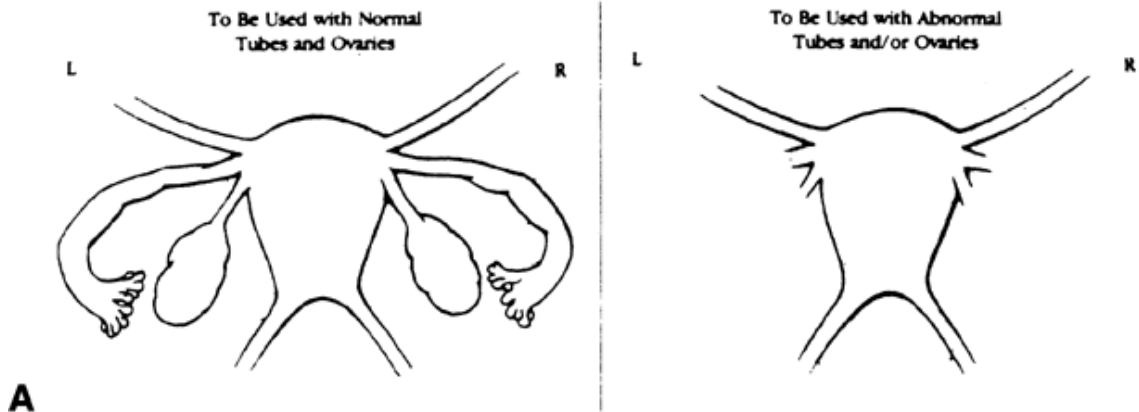
Laparoscopy _____ Laparotomy _____ Photography _____
 Recommended Treatment _____
 Prognosis _____

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 11- Revize edilmiş AFS Skoruması ve bu skorumaya göre endometriozis evrelemesi (1996)

STAGE I (MINIMAL)			STAGE II (MILD)			STAGE III (MODERATE)		
PERITONEUM	Superficial Endo - 1-3cm	- 2	PERITONEUM	Deep Endo - > 3cm	- 6	PERITONEUM	Deep Endo - > 3cm	- 6
R. OVARY	Superficial Endo - < 1cm	- 1	R. OVARY	Superficial Endo - < 1cm	- 1	CULDESAC	Partial Obliteration	- 4
	Filmy Adhesions - < 1/3	- 1	L. OVARY	Filmy Adhesions - < 1/3	- 1	L. OVARY	Deep Endo - 1-3cm	- 16
	TOTAL POINTS	4		TOTAL POINTS	9		TOTAL POINTS	26
STAGE III (MODERATE)			STAGE IV (SEVERE)			STAGE IV (SEVERE)		
PERITONEUM	Superficial Endo - > 3cm	- 3	PERITONEUM	Superficial Endo - > 3cm	- 3	PERITONEUM	Deep Endo - > 3cm	- 6
R. TUBE	Filmy Adhesions - < 1/3	- 1	L. OVARY	Deep Endo - 1-3cm	- 32**	CULDESAC	Complete Obliteration	- 40
R. OVARY	Filmy Adhesions - < 1/3	- 1	L. TUBE	Dense Adhesions - < 1/3	- 8**	R. OVARY	Deep Endo - 1-3cm	- 16
L. TUBE	Dense Adhesions - < 1/3	- 16*		Dense Adhesions - < 1/3	- 8**	L. TUBE	Dense Adhesions - < 1/3	- 4
L. OVARY	Deep Endo - < 1 cm	- 4		TOTAL POINTS	51	L. TUBE	Dense Adhesions - > 2/3	- 16
	Dense Adhesions - < 1/3	- 4				L. OVARY	Deep Endo - 1-3cm	- 16
	TOTAL POINTS	29		*Point assignment changed to 16			Dense Adhesions - > 2/3	- 16
				**Point assignment doubled			TOTAL POINTS	114

Şekil 12- Endometriozisin farklı evrelerde tutulum şekilleri ve skorlama

2.9. Tedavi

Endometriozis tedavisinde hedef, semptoma yönelik ağrının giderilmesi, fertilitenin sağlanması, korunması ve endometriotik odaklardaki tekrarlama ya da ilerlemenin geciktirilmesi veya önlenmesi, normal anatominin restorasyonudur. Bu konuda karar verirken ilk olarak sorgulanması gereken tedavinin gerekli olup olmadığıdır. Tedaviye karar verdikten sonra da hastanın primer şikayetine yönelik tedavi planı çıkarılmalıdır. Bu noktada tedavi, semptomların (medikal tedavi) ve hastalığın definitif tedavisi (cerrahi tedavi) şeklinde iki grupta ele alınmaktadır.

2.9.1. Medikal Tedavi

Medikal tedavinin infertiliteyi düzeltme etkisi tartışılabilir olsa da semptomlara yönelik medikal tedavinin etkili olduğuna dair elde kanıtlar vardır. Endometriotik implantlar, bazı biyokimyasal ve histolojik farklılıklarından dolayı hormon tedavisine uyarılmış endometrium gibi yanıt vermezler. Medikal tedavide uygulanan preparatlar buna rağmen hep endometrial büyümeyi baskılayan ve hastayı çoğunlukla amenoreye sokan ilaçlardır. Ancak hasta medikal tedavi döneminde bu baskılamadan dolayı fayda görse de tedavi bitiminde semptomlarda nüks olmaktadır. Medikal tedavinin tek geçerli endikasyonu geçici olarak ağrının giderilmesidir. Medikal tedavinin infertilite üzerine kanıtlanmış hiçbir etkisi yoktur, sadece pelvik ağrı, dismenore ve disparoni üzerine etkilidir. Geleneksel medikal tedaviler yalancı gebelik veya yalancı menopoz durumu sağlayarak geçici amenore oluşturur.

2.9.1.1. Analjezikler

Endometrioziste pelvik ağrı için medikal tedavide ilk basamak ilaçlardır. Hafif pelvik ağrısı olan kadınlarda non-steroid anti inflamatuvar ilaçlar tedavi seçeneği olarak düşünülebilir. Bu ilaçlar pelvik ağrıyı tetiklediği düşünülen prostaglandinlerin üretimini azaltarak etki göstermektedir.

2.9.1.2. Oral Kontraseptifler

Endometriotik odakların baskılanması için yalancı gebelik durumu oluşturmak üzere yüksek doz oral kontraseptifler ilk kullanılan yöntemlerden birisidir. Östrojenden kaynaklanan yan etkilerden dolayı kullanımı sınırlıdır. Bu nedenle ilk seçenek değildir. Ancak, hafif semptomlu ve korunma yöntemi isteyen hastalarda tercih edilebilir.

2.9.1.3. Androjenik Ajanlar

Danazol, 17 α -etinil testosteron derivativesidir. Testosteron reseptörlerine agonist etki ile anovulatuvar, amenoreik bir ortam sağlar ve yüksek serum androjen ve

normalden düşük serum östrojen konsantrasyonlarının oluşmasını sağlar. Sıklıkla 6 aylık tedavi kullanılır. Dismenorede % 90'a varan iyileşme bildirilse de kronik pelvik ağrıya etkisi azdır (39). Danazol ve gestrinon bu ilaç grubundaki ilaçlardır.

2.9.1.4. Progestinler

Medroksiprogesteron asetat (MPA) bu ilaç grubundaki uzun zamandır kullanılan bir preparattır. En önemli yan etki olarak vajinal kanama belirtilmiştir (40).

2.9.1.5. Gonadotropin Serbestleştirici Hormon Analogları (GnRH)

Bu grup ilaçlar geçici bir menopoz tablosu oluşmasını sağlar. Ön hipofizden gonadotropin sekresyonunu baskılayıp, ovaryan hormon sekresyonunu durdurarak etki gösterdiği için endometriozis tedavisinde kullanılmaktadır. Böylece hipogonadotropik hipogonadizm ortamı oluştururlar. Pelvik ağrı, dismenore ve diğer semptomlarda rahatlama sağladığı için kullanılmaktadır. Leuprolid asetat, goserelin asetat, nafarelin asetat bu ilaç grubundan birkaçıdır (41,42).

Add - Back Tedavi

GnRH analogu tedavisine hormon replasman tedavisi eklenerek menopozal semptomların giderilebileceği ve vertebral kemiklerden demineralizasyon ve osteoporozun önlenilebileceği ve bu sayede endometriozise yönelik verilecek tedavinin uzun süre yapılabileceği fikrinden ortaya çıkmıştır. Burada verilecek hormon replasman tedavisinin endometriozisi baskılayacak kadar düşük ve beklenen yararlı etkileri elde edecek kadar yüksek olması gerekmektedir. Bu amaçla çeşitli preparatlar kullanılmıştır:

- Östradiol ve noretinderon asetat kombinasyonu
- Transdermal 17 β östradiol ve oral Medroksiprogesteron asetat kombinasyonu
- Sadece progesteron
- Tibolon

Klinik çalışmalarda hormon replasman tedavisi eklenmesinin GnRH analogları ile yapılan tedavinin etkinliğini azaltmadığı ve endometriozisin alevlenmesine yol açmadığı gösterilmiştir (43).

2.9.1.7. Antiprogestinler

Mifepriston (RU-486) bir antiprogesteron analogu olup, hem ovulasyonu inhibe eder hem de endometrial bütünlüğü bozar. Bu nedenle endometriozis tedavisinde etkili olabileceği düşünölmüştür (44). Mifepriston, anti-progesteron, anti-glukokortikoid ve antiöstrojenik özellikleri olan steroid bir ajandır. Progesteron reseptörlerine progesterondan daha uzun süreli bağlanır, amenoreye neden olur (45).

2.9.1.8. Aromataz İnhibitörleri

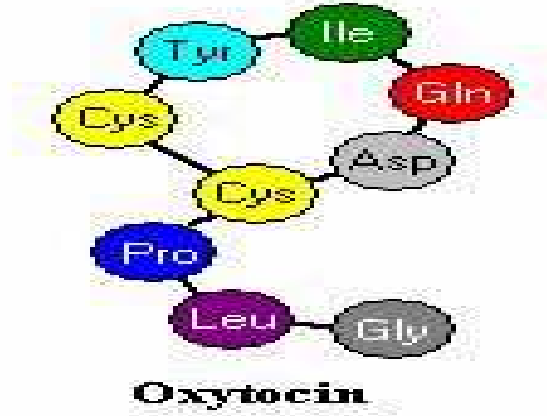
Aromataz, C 19 steroidleri (örn: testosteron ve androstendion) östrojenlere (örn: östradiol ve östron) dönüştürmektedir. Normal endometrium dokusunun bu yeteneği olmasa da, endometriozis implantlarında bu kapasite vardır. Persiste eden lezyonların etyolojisi adrenal androjenlerin östrojenlere çevirilmesi ise tedavi de aromataz inhibitörleri kullanmak mantıklı bir yöntem olacaktır (46).

2.9.2. Cerrahi Tedavi

Günümüzde çoğu durumda hastalığın tanısının konması yanında tedaviye de imkan tanıdığı için endometriozisin cerrahi tedavisi için laparotomiden çok laparoskopi tercih edilmektedir (47). Laparoskopi aynı zamanda morbidite ve estetik sonuçlar ve hasta konforu açısından da laparotomiden üstündür. Endometriozis cerrahisinde genellikle konservatif cerrahi uygulanmaktadır. Bu da reproduktif fonksiyonun devamını normal anatomik ilişkileri tekrar kurarak ve endometriozis odaklarını mümkün olduğu kadar uzaklaştırarak olur. Burada önemli olan implantlara nasıl yaklaşılacağı, nasıl tahrip edileceği veya uzaklaştırılacağıdır. Bu amaçla eksizyon, vaporizasyon, fulgurasyon hem laparoskopi hem de laparotomi ile uygulanabilir (48).

2.10. OKSİTOSİN

Oksitosin primer olarak beyinde nöromodülatör görevi olan peptid yapılı (9 aminoasit içeren) bir hormondur. Yunancada hızlı, keskin doğum anlamına gelir. Oksitosin hipotalamusun supraoptik ve paraventricüler çekirdeklerinde sentezlenerek, sentezlendikleri nöronların aksonları boyunca seyrederek hipofiz arka lobundan pulsatil olarak salınır. Oksitosin travay esnasında uterus kontraksiyonlarını artırarak uterotonik etki yapar. Doğum esnasında serviks ve uterusun gerilmesi ile çok miktarlarda salınır, myometriyumun kasılmasını uyarır ve doğumu kolaylaştırır (49). Doğumdan sonra ise meme başı uyarısı ile sütün salınımını sağlayarak emzirmeye yardımcı olur.



Şekil 13- Oksitosinin aminoasit yapısı

Endometriotik odaklarda artan lokal estrogenin oksitosin mRNA ekspresyonunu ve oksitosin reseptörlerini arttırdığı da gösterilmiştir. Bunun klinik önemi bilinmemektedir. Ancak oksitosinin endometriyal hücre membran reseptörüne bağlandığında hücre içine kalsiyum girişini artırarak ve PGE 2 aktivasyonu yaparak etki gösterdiği bilinmektedir. Ayrıca oksitosinin antiinflamatuvar etkilerinin de olduğu literatürde belirtilmektedir (50).

2.11. ANKA FERD® (BLOOD STOPPER)

Anka- : Mitolojik bir dağ olan Kafdağında yaşadığına inanılan mitolojik bir kuş. Doğu mitolojileri ve efsanelerinde Zümrüdü Anka Kuşu, Batı kültürlerinde ise Phoenix adlarıyla anılır. Adı uzun boynu veya boynundaki beyaz halkadan gelir.



Şekil 14- Anka Kuşu



Şekil 15- Ankaferd ilaç formları

-Ferd: Osmanlıca ; Tek, bir, yekta. Eşi benzeri olmayan Ankaferd BloodStopper® (ABS) folklorik olarak geleneksel Türk hekimliğinde hemostatik ajan olarak kullanılmış bir bitkisel ekstrattır. ABS, Thymus vulgaris, Glycyrrhiza glabra, Vitis vinifera, Alpinia officinarum ve Urtica dioica bitkilerinin standardize karışımından oluşmaktadır. Bu bitkilerin tümü tek başına endotel, kan hücreleri, damar oluşumu (angiogenesis), hücrel üreme, vasküler dinamikler ve mediyatörler üzerinde etkilidir. Kanamanın durdurulması amacıyla kullanılmakta olan ABS ampul, tampon ve sprey formlarında bulunmaktadır.

İçeriğindeki bitkilerle ilgili literatür bilgilerinin desteklediği üzere hayvanlarda hemostatik etkileri gözlenen ABS'nin etki mekanizması in vitro çalışmalarla aydınlatılmaya çalışılmaktadır. Hayvanlarda kullanımının etkinliği gösterilmiştir. Türkiye'de ABS'nin sağlıklı gönüllülerde topikal kullanımının güvenliliğinin araştırıldığı, plasebo ile karşılaştırmalı olarak ve randomize, çift-kör, çapraz-geçişli bir faz I klinik çalışma yapılmış ve Kasım 2008'de sonuçlandırılmıştır (51). Glycyrrhiza glabra köklerinden elde edilen ekstraktın in vitro hücre dizilerinde antianjiogenik aktivite gösterdiği bildirilmiştir. Bu bitki kökünün antiinflamatuvar, antitrombotik, antioksidan ve antiaterosklerotik etkileri çeşitli araştırmalarla gösterilmiştir. *Alpinia officinarum*, lipopolisakkaridle (LPS) aktive edilmiş fare peritoneal makrofajında nitrik oksit (NO) üretimini inhibe eder (52-54). Bunlardan başka ankaferd'in içeriğinde bulunan bitki ekstraktları daha birçok antiinflamatuvar, antifungal, antiviral, immünprotektif etkilere de sahip olabileceği in vitro çalışmalarla kanıtlanmıştır.

Genel bilgiler bölümünde de ayrıntılı bir şekilde anlatıldığı üzere, endometriozis halen etyopatogenezi net aydınlatılmamış multifaktöryel bir hastalıktır. Son yıllarda yapılan hücre kültürü ve moleküler düzeydeki çalışmalar endometrioziste kök hücre kavramını ortaya çıkarmış olup, endometrial kök hücrelerin kemik iliğinden yola çıkıp peritoneal yüzeylere tutunup, eksprese olduğu ve yayıldığı bilgileri son zamanlarda sıkça araştırılmaktadır.

2.12. AMAÇ

Bu araştırmada sıçan endometriozis modelinde Ankaferd ve oksitosinin endometriotik implantlar üzerine olan sitokinerjik ve immünopatolojik etkileri araştırılmıştır.

3. MATERYAL VE METOD

Bu çalışma Ege Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu onayı alındıktan sonra yapılmış olup, araştırmada 42 adet aynı tür dişi Sprague Dawley tipi erişkin sıçanlar kullanılmıştır.



Şekil 16 - Sprague Dawley tipi sıçanlar

Sıçanlar 6 şar adetten oluşan 7 gruba ayrıldı. E.Ü.T.F. Deneysel Cerrahi Hayvan Bakım Merkezi ve Fizyoloji Anabilim Dalı'nda İntraperitoneal Ketamin hidroklorür 40mg/kg ve Xylazine hidroklorür 7mg/kg ile sedasyon ve anestezi sonrası 42 sıçana (180 – 260 gr.) orta hattan longitudinal 5 cm kesi yapılarak batın eksplore edildi. Sonrasında uterus sağ hornu bağlanıp, 0,5 cm lik uç kısımları ayrıldı, uterin horn parçası 5mm X 5mm X 5mm lik boyutta marsupiyalize edilip karın sol yan duvar peritonuna ve mezentera 5.0 vicryl sütür ile implante edildi. İşlem sonrası yara yeri enfeksiyon riskine karşı sıçanlara 1000U/kg intramüsküler penisillin uygulandı. Batın 4.0 vicryl sütür ile kapatılıp 4 hafta peritoneal implant süreci beklendikten sonra tekrar batın eksplore edildi ve endometrial implantların hacimleri ölçüldü. $V(\text{mm}^3) = 0.524 \times \text{uzunluk} \times \text{kalınlık} \times \text{boy}$, batın yıkama sıvıları (sitokin çalışılmak üzere) alındı (55).

Sonrasında sıçanlara 4 hafta süreyle haftada 2 kez kontrol grubu sıçanlara izotonik NaCl (1ml/kg/gün intramüsküler), diğer gruplara 20 Ü/kg oksitosin, 40 Ü/kg oksitosin, 80 Ü/kg oksitosin (intramüsküler), 0.1 ml/kg Ankaferd© ampul , 0.4 ml/kg Ankaferd ampul, 1.5 ml/kg Ankaferd ampul (intraperitoneal) uygulandı.

Daha sonra tekrar batin eksplore edilip endometrial implantların boyutu ölçüldü (histopatoloji için örnekler alındı), batin yıkama sıvıları(1ml saline solüsyonla) (sitokin çalışılmak üzere) alındı. Batin yıkama sıvılarında ve plazmada VEGF, MCP 1, TNF- α 'nın düzeylerine bakıldı. Sıçanlardan plazma örnekleri 1ml'lik enjektörlerle intrakardiyak alınıp heparinli tüplerde saklandı. İmplantlar ise %10'luk formol içeren solüsyonlarda muhafaza edildi. Deney hayvanları daha sonra sakrifiye edildi. Deney hayvanları, E.Ü.T.F. Deneysel Cerrahi Hayvan Bakım Merkezi ve Fizyoloji Anabilim Dalı'nda kendi kafeslerinde 6' lı gruplar halinde 8 hafta süreyle ad libitum koşullarda, 12 saat aydınlık- karanlık, $22 \pm 2 C^0$ sıcaklık düzeninde barındırıldı.

3.1. Biyokimyasal Analiz

Hayvanlardan alınan kan ve periton sıvısı yıkama örnekleri oda sıcaklığında dakikada 3000 devirle 10 dakika santrifüj edildi ve $-20 C^0$ 'de muhafaza edildi. Sitokin seviyeleri ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) yöntemiyle VEGF ve MCP-1(Ray Biotech, Inc, Norcross, Georgia), TNF- α (Invitrogen, Carlsbad, California) için özel kitlerle ölçüldü.

3.2. Histolojik Değerlendirme

Tüm doku örnekleri 5- μ m kalınlıkta olacak şekilde mikrotom cihazı aracılığıyla (Leica RM 2145) kesit alınıp dehidrate edildikten sonra parafin bloklarda incelendi. Parafin bloklardaki örnekler Hematoksilen- Eosine boyasıyla ışık mikroskopunda 1999 yılında Keenan JA ve ark 'nın (56) yaptığı çalışma da örnek alınarak değerlendirildi. İmplantlarda epitel hücrelerinin persistansına göre histopatolojik skorlandı:

- 0; Epitel dokusu yok
- 1; Epitel az miktarda korunmuş (seyrek epitel hücreleri)
- 2; Epitel orta derecede korunmuş ve lökosit infiltrasyonlu epitel
- 3; Epitel bütünlüğü iyi korunmuş

Tüm histolojik incelemeler ve implant çapları ölçümleri aynı histolog tarafından yapıldı.

3.3. İstatiksel Analiz

İstatistiksel açıdan verilerin değerlendirilmesinde SPSS for Windows 15.0 istatistik paket programı kullanıldı. Grupların değişkenlerinin parametrik özelliklerinin karşılaştırmasında tek yönlü ANOVA, grupların parametrik olmayan özelliklerinin karşılaştırmasında ise Mann Whitney U testi uygulandı. $P < 0.05$ anlamlı kabul edildi.

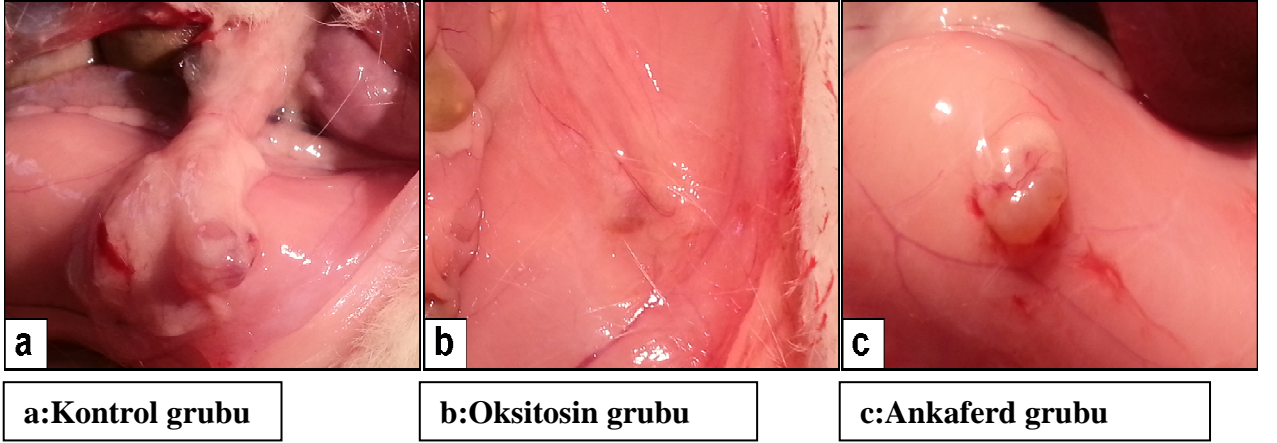
4. BULGULAR

4.1. Makroskopik sonuçlar

Kontrol grubunda ortalama implant hacimlerinde tedavi öncesine göre anlamlı artış olduğu saptandı. (Tedavi öncesi: $28.6 \pm 9.1 \text{ mm}^3$, tedavi sonrası : $43.2 \pm 10.4 \text{ mm}^3$) ($p < 0.001$).

Oksitosin verilen grupta ise implant hacimlerinde , tedavi öncesine göre anlamlı azalma tespit edildi. (Tedavi öncesi: $29.8 \pm 7.2 \text{ mm}^3$, tedavi sonrası: $8.1 \pm 3.3 \text{ mm}^3$) ($p < 0.001$).

Ankaferd verilen grupta, implant hacimlerinde tedavi öncesine göre anlamlı değişiklik saptanmadı. (Tedavi öncesi: $30.7 \pm 6.9 \text{ mm}^3$, tedavi sonrası $24.6 \pm 5.8 \text{ mm}^3$).



Şekil 17- Makroskopi

Tablo 3- Makroskopik olarak endometrial implant hacimleri

	Kontrol Grubu (n=6)	Oksitosin Grubu (n=6)	Ankaferd Grubu (n=6)
Ortalama implant hacmi (mm ³)			
Tedavi Öncesi	28.6 ± 9.1	29.8 ± 7.2	30.7 ± 6.9
Tedavi Sonrası	43.2 ± 10.4 *	8.1 ± 3.3 **	24.6 ± 5.8 #

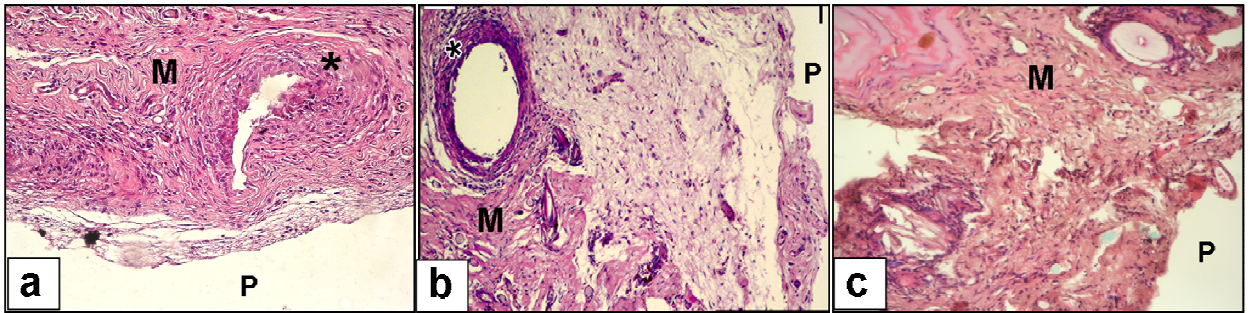
* Kontrol grubu (plasebo) alan grupta implant çapında anlamlı artma mevcut (p <0.01)

** Oksitosin tedavisi alan grupta implant çapında anlamlı azalma mevcut (p<0.001)

Ankaferd tedavisi alan grupta implant çapında anlamlı değişiklik yok

4.2. Histopatolojik sonuçlar ve Epitel skorları

Kontrol grubunda endometriotik odakta endometrium epitel ve bez yapıları orta derecede korunmuş, lökosit infiltrasyonları izlenmekte ve epitel skoru 2.7 ± 0.3 olup oksitosin verilen grupta epitel bütünlüğü bozulmuş, seyrekleşmiş ve epitel skoru 1.1 ± 0.2 (p<0.05) anlamlı olarak azalmış bulunmuştur. Ankaferd grubunda ise epitel bütünlüğü oksitosin grubuna göre daha iyi korunmuş ve daha kompakt olarak izlenmiştir. Epitel skoru ise 1.8 ± 0.5 (p<0.05) anlamlı azalma saptanmıştır.



a:Kontrol grubu

b:Oksitosin grubu

c:Ankaferd grubu

Şekil 18- Mikroskopi

Mikroskopi x 40 büyütme, Hematoksilen & Eosine

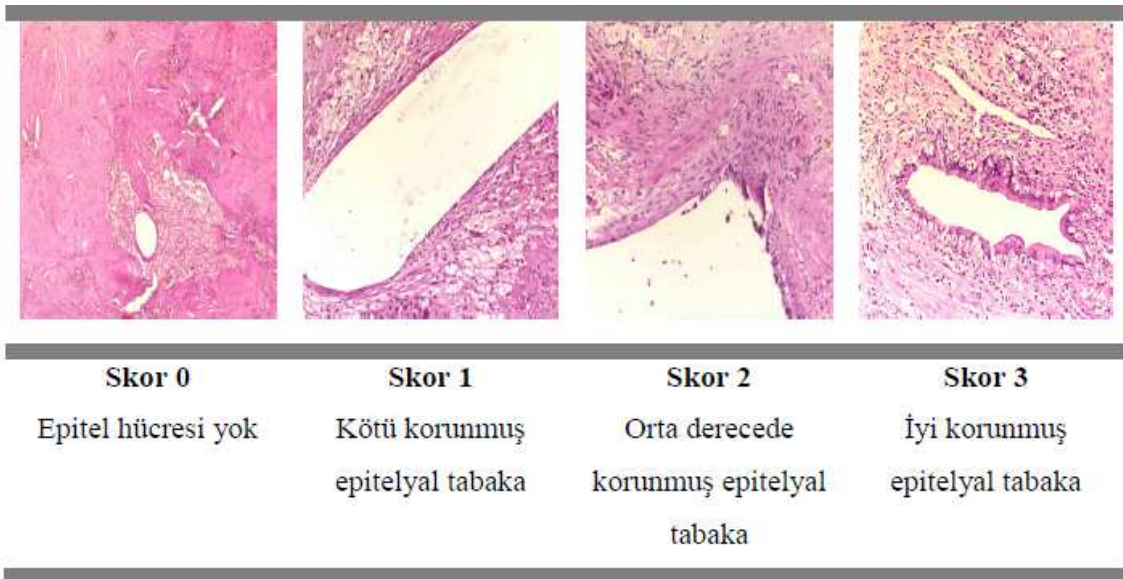
(P: Peritoneum, M: Myometrium, * : Gland)

Tablo 4 - Endometriotik implantların epitel skorları

	Kontrol Grubu (n=6)	Oksitosin Grubu (n=6)	Ankaferd Grubu (n=6)
Histopatolojik Değerlendirme			
Epitel Skoru	2.7 ± 0.3	1.1 ± 0.2#	1.8 ± 0.5 *

Oksitosin alan grupta kontrol grubuna göre epitel skoru anlamlı azalmış (p<0.05)

* Ankaferd alan grupta kontrol grubuna göre epitel skoru anlamlı azalmış (p<0.05)



Şekil 19- Epitel skorlaması ve histopatolojileri

4.3. Plazma ve periton yıkama sıvısı sitokin seviyeleri

VEGF

Kontrol grubunda plazma ve periton yıkama sıvısında sırasıyla VEGF düzeylerinde 175.2 ± 16.5 pg/ml, 49.6 ± 8.2 pg/ml olup, oksitosin grubunda 56.5 ± 6.6 pg/ml, 22.4 ± 5.3 pg/ml, anlamlı azalma tespit edilmiştir (p <0.05). Ankaferd grubunda ise plazma ve periton yıkama sıvılarında sırasıyla VEGF düzeyleri 168.4 ± 21.5 pg/ml, 45.2 ± 9.3 pg/ml, anlamlı değişiklik saptanmamıştır.

MCP 1

Kontrol grubunda plazma ve periton yıkama sıvısında sırasıyla MCP 1 düzeyleri 105.8 ± 7.4 ng/ml, 17.2 ± 3.1 ng/ml iken bu değerler oksitosin grubunda 45.2 ± 7.5 ng/ml ve 8.6 ± 1.2 ng/ml ,anlamli azalma olarak tespit edilmiştir (p<0.05). Ankaferd grubu plazma ve periton sıvısı MCP 1 düzeyleri ise 97.1 ± 7.5 ng/ml , 16.3 ± 4.4 ng/ml olarak ölçüldü ve anlamli değişiklik saptanmamıştır.

TNF- α

Kontrol grubunda plazma ve periton yıkama sıvısında sırasıyla TNF- α düzeyleri 49.6 ± 2.3 pg/ml, 26.5 ± 4.8 pg/ml olup oksitosin alan grupta; 38.1 ± 3.5 pg/ml , 14.3 ± 1.6 pg/ml ,anlamli azalma saptandı (p <0.05). Ankaferd grubunda ise plazma ve periton sıvısı seviyeleri sırasıyla 45.4 ± 1.8 pg/ml, 18.9 ± 6.1 pg/ml , saptanıp anlamli bir değişiklik olmadığı şeklinde yorumlanmıştır.

Tablo 5 - Plazma ve periton yıkama sıvılarında sitokin seviyeleri

	Kontrol Grubu (n=6)	Oksitosin Grubu (n=6)	Ankaferd Grubu (n=6)
VEGF düzeyi (pg/ml)			
Plazma	175.2 ± 16.5	56.5 ± 6.6 *	168.4 ± 21.5 #
Periton Yıkama Sıvısı	49.6 ± 8.2	22.4 ± 5.3 *	45.2 ± 9.3 #
MCP 1 düzeyi (ng/ml)			
Plazma	105.8 ± 7.4	45.2 ± 7.5 *	97.1 ± 7.5 #
Periton Yıkama Sıvısı	17.2 ± 3.1	8.6 ± 1.2 *	16.3 ± 4.4 #
TNF- α düzeyi (pg/ml)			
Plazma	49.6 ± 2.3	38.1 ± 3.5 *	45.4 ± 1.8 #
Periton Yıkama Sıvısı	26.5 ± 4.8	14.3 ± 1.6 *	18.9 ± 6.1 #

* Oksitosin alan grupta kontrol grubuna göre VEGF, MCP 1, TNF- α düzeyi hem plazma hem de periton yıkama sıvısında anlamli olarak azalmış (p<0.05).

Ankaferd alan grupta kontrol grubuna göre VEGF, MCP 1, TNF- α düzeyi hem plazma hem de periton sıvısında anlamli değişiklik yok.

5. TARTIŞMA

Endometriozis hormon bağımlı uterin kavite dışında endometrial bez ve stroma yapısının bulunmasıyla karakterize kronik bir hastalıktır. Günümüzde endometriozis ve ilişkili klinik patolojiler ve onlarla mücadele halen buzdağının görünen kısmı kadardır. Tıpta her geçen gün yeni bir buluş, yeni bir tedavi protokolü geliştirilmiş olmasına rağmen endometriozis, halen tüm dünyada özellikle infertilitede araştırılmaya, yeni tedavi modalitelerine açık bir jinekolojik hastalıktır. Reprodüktif dönemde kadınlarda %10'a kadar popülasyonu etkileyebilir. Etkilenmiş kadın genellikle bir veya daha fazla ağrı semptomlarına ve / veya gebe kalma güçlüğüne sahip olmasına rağmen klinik prezentasyon değişkenlik gösterebilir. İmplantasyon kuramı Sampson tarafından tarif edilen ve günümüze kadar da geçerliliğini kısmen koruyan bir kuramdır (4,13). Endometriozisin etyopatogenezinin halen tam olarak aydınlatılamamış olması, yeni geliştirilen veya araştırma aşamasında olan tedavi modalitelerine ortam hazırlamaktadır.

Bizim çalışmamızda oksitosin verilen grupta plazma ve periton yıkama sıvılarında TNF- α düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı azalma saptanırken, Ankaferd alan grubun plazma ve periton yıkama sıvılarında TNF- α seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı değişiklik saptanmamıştır. Bu farklılık Ankaferd'in belki de daha çok hemostaz üzerinden ve oksitosinin ise daha çok sitokinerjik immünmodülasyon, antiinflamasyon üzerinden etki göstermesine bağlı olabilir.

Bizim çalışmamızda ise yine benzer şekilde deneysel endometriozis modeli olan sıçanlarda oksitosin ve Ankaferd® 'in endometrial implantlarda etkilerine bakılmıştır. Oksitosin alan grupta implantlarda makroskopik olarak regresyon ve plazma ve periton sıvılarında kontrol grubuna göre belirgin inflamatuvar belirteçlerde gerileme saptanmıştır. Ankaferd® alan grupta ise makroskopik olarak implantlarda küçülme saptanmadı, aynı şekilde plazma ve periton sıvısında da inflamatuvar belirteçlerde anlamlı değişiklik saptanmadı. Bu çalışmaya göre, ilerleyen yıllarda endometriozis tedavisinde oksitosin rejimini yeni bir modalite olarak görmek hiç de şaşırtıcı olmayacaktır. Çalışmanın sonuçlarını irdeleyecek olursak, Oksitosinin endometriotik implantı olan periton sıvılarında, sitokin düzeylerini azaltıcı etkilerinin özellikle TNF- α ve VEGF üzerinden olabileceği kanısına varabiliriz. Çünkü kontrol grubuna göre

oksitosin alan gruplarda, periton yıkama sıvılarında özellikle TNF- α ve VEGF seviyelerinde anlamlı derecede düşüş saptanmıştır. Yine aynı şekilde oksitosin ve Ankaferd'in endometriotik implant boyutlarını küçültücü etkileri, TNF- α ve VEGF gibi immüno-sitokinerjik yollardaki regresyon edici etkilerine bağlı olabilir. Oksitosinin endometriotik implantlardaki regresyon edici özelliği VEGF' e karşıt olarak antianjiogenetik mekanizmalarla açıklanabilir. Çünkü implantların tedavi öncesi ve tedavi sonrası histopatolojik incelemelerinde, endometrium epitelinde belirgin vasküler doku azalması, epitel skorlarının indirgenip, endometrial bez yapılarının dejenere, atrofiye olması anjiogenezis inhibisyonuyla mümkün olmaktadır. Çalışmanın sonuçlarından mikroskopi kısmı detaylandırılacak olursa da; Keenan JA ve ark. 'nın (56) yaptığı çalışmadaki gibi endometriotik odaklardaki epitel hücrelerinin tedavi öncesi ve sonrası persistansına göre Oksitosin ve Ankaferd alan gruplarda belirgin epitel skor azalmaları görülmüştür. Bir başka deyişle oksitosin ve Ankaferd endometriotik lezyonlarda bez yapılarını, endometrial epiteli tahrip etmiştir. Bu sonuçlar da çalışmanın başlangıç amaçlarına ve endometriozis tedavisine yeni bir alternatif tedavi modalitesi üretme fikrine destek olmuştur.

Ahmed MA ve ark.'nın (75) yapmış olduğu yine bir deneysel endometriozis modelinde oksitosinin NO salınımını indükleyerek antioksidan kapasiteyi arttırdığı ve oksidatif stresi azalttığı, dolayısıyla endometriotik odaklarda iyileşme sağladığını göstermişlerdir. Cassoni P ve ark.'nın (76, 77) yaptığı çalışmalarda in vitro endometrial kanser hücre kültürlerinde ve endometriotik modellerde, oksitosinin cAMP, protein kinaz A gibi hücre içi proliferasyonda önemli rolleri olan sinyal ileti yollarını baskıladığı saptanmış. Bizim çalışmamızda bu belirteçlere bakılmamış olsa da oksitosinin hücre proliferasyonunda yukarıdaki örnekteki gibi etkilerinin olmuş olabileceğini düşünmekteyiz. Ayrıca oksitosinin endometriotik implantlarda, peritoneal makrofajlarda apoptotik yolları indükleyerek sitokinerjik ve makroskopik regresyonu sağlayabileceğini düşünmekteyiz.

Hastalığın gelişiminde çevresel, immünolojik endokrin ve genetik etmenlerin yer aldığı multifaktöryel bir patolojik süreç vardır. Histolojik olarak endometriozis benign bir hastalık olarak kabul edilmiştir. Ancak gelişme ve diğer dokulara infiltre olma ve adezyon (bağlanma) bakımından malignite prosesiyle benzerlikler göstermektedir (57). Endometriotik bir lezyonun gelişmesi ve hayatta kalması için ektopik yeni doku oluşumunu ve vasküler sistemle bağlantısını sağlaması ve proliferere olması şarttır (58).

Endometriozisin gelişiminde beş önemli basamak söz konusudur. İlk iki basamak; endometrial hücrelerin periton yüzeyine yapışmaları ve bu hücrelerin mezotelyuma invaze olmalarıdır. Bu basamakların gerçekleşmesinde sırasıyla hücre adezyon moleküllerinin ve matris metalloproteinaz enzimlerinin ve inhibitörlerinin rolleri olduğu düşünülmektedir. Daha sonra bu basamakları, inflamatuvar hücrelerin peritona gelişi, yeni oluşan bu implant çevresinde anjiyogenezisin başlaması ve endometrial hücre proliferasyon basamakları izlemektedir. Serbest oksijen radikallerinin, demir (hemosiderin) moleküllerinin de endometriosis patofizyolojisinde kanıtlanmış basamaklarının olduğu gösterilmiştir (59). Lokal hormonal çevre, immün sistem, sitokinler, genetik ve çevresel faktörlerin (özellikle dioksin) hepsinin bu basamaklarda rolü olduğu düşünülmektedir (60). Endometriosis gelişiminde anjiyogenetik mekanizmaların rolü, yapılan birçok çalışmayla kanıtlanmıştır. Bu yönüyle endometriosis kanserde görülen metastazların implantasyonuna benzer bir davranış gösterir. İmplantasyon teorisine göre endometriumun peritoneal implantasyonu için anjiyogenezis gereklidir (61). Bu nedenle anjiyogenezisi inhibe eden çok sayıda faktör üzerinde çalışılmıştır. Endometriosis patogenezi ile bağlantılı olan ve peritoneal sıvıda arttığı gösterilen sitokinlerin birçoğunun anjiyogenik faktörler ile ilgisi gösterilmiştir (62). Endometrioziste peritoneal sıvıda ve endometriotik lezyonlarda VEGF düzeyleri anlamlı olarak yüksek bulunmuş olup bunların peritoneal makrofajlar, mezotelial hücreler ve ektopik endometriotik dokulardan eksprese edildiği anlaşılmıştır (63,64). Geçmişte ilk defa kanser tedavisinde gündeme gelen antianjiyogenik tedavi, günümüzde endometriosis için de büyük umut vaadeden bir alternatif tedavi seçeneği olmuştur. VEGF aşağıda belirtilen nedenlerden ötürü endometriozisin gelişiminde ve progresyonunda hayati bir role sahip olabilir.

a- VEGF , insan uterus epitelial ve stromal hücrelerinde eksprese edilir. Hipoksiyle ve ovaryan steroidlerce (başta östrojen) regüle edilir (65). Özellikle hipoksi, endometrial dokuların peritoneal yüzeylere implante olmasında indükleyici rol oynamaktadır (73).

b- VEGF düzeyleri endometriozisli hastaların peritoneal sıvılarında ve serumlarında yüksektir (66).

c- VEGF endometriotik implantların epitelyumunda özellikle kırmızı lezyonlarda (barut yanığı) lokalizedir (65).

Bu nedenle VEGF düzeyleri endometrioziste diagnostik ve terapötik bir hedef belirteç olarak önerilmektedir (67). VEGF ayrıca , endotelial hücre proliferasyonunu ve migrasyonunu da stimüle etmektedir (72).

Endometriozisin immünolojik sürecine göz atacak olursak; endometriozisli kadınlarda immün sistemde değişiklikler olabilir ve hastalık pelvik kaviteden kaynaklanan canlı endometrial hücrelerin azalmış immünolojik klirensi sonucu gelişebilir (68). Otolog endometrial hücrelere karşı azalmış hücre kaynaklı sitotoksitenin, endometriozisle beraber olduğu rapor edilmiştir. Otolog endometrial hücrelerin, bir kadının immün sistemine doğal bir hedef oluşturduğunu söylemek zordur, çünkü diğer otolog dokuların otolog transplantasyonu genelde başarılıdır . Endometriozisi olan hastaların olmayanlara göre otolog endometrial hücrelere karşı daha düşük NK (Natural Killer) hücre aktivitesine ve sitotoksiteye sahip olduğu gösterilmiştir (69).

Aytan ve arkadaşlarının çalışmasında bir immünmodülatör olan leflunamid' in sıçan endometriozis modelindeki etkileri araştırılmıştır (64). Bu çalışmada da bizim çalışmamıza benzer şekilde deneysel sıçan endometriozis modeli oluşturulmuştur. Leflunamide, başlıca antiinflamatuvar, antipiretik, analjezik aktiviteleri ile romatoid artritte kullanılmakta olan yeni bir immünmodülatör ilaçtır. Aktif metabolitleri IL- 1 ve TNF- α 'yı baskılama etkisine sahiptir. TNF- α aktif makrofajlardan salgınır ve etkili inflamatuvar, sitotoksik ve anjiogenik özelliği vardır. Endometriozisin ilerlemesi ve endometriozise bağlı infertilitede rolü olabilir. TNF- α 'nın endometriozisli olguların periton sıvısında arttığını belirten çalışmalar vardır (69). Bedaiwy ve arkadaşlarına göre periton sıvısındaki TNF- α seviyesi endometriozisli olgularda artmıştır (71). Fakat bazı çalışmalarda ise TNF- α seviyesinin endometriozisli olgularda farklı olmadığı görülmüştür (72).

Yine son zamanlarda birçok alanda olduğu gibi endometriozisin gelişiminde de kök hücrelerin rol oynayabileceği fikri üzerinde durulmaktadır. Kemik iliğinde endometrial kök hücreler tespit edilmiş olup, bunların dolaşım yoluyla vücudun çok farklı yerlerine göç edebildikleri ve kompleks patogenetik mekanizmalarla tutunup, çoğalabildikleri in vitro olarak gösterilmiştir.

Bazı endometriotik lezyonların monoklonitesi ve endometriozisin ovaryan berrak hücreli kanser ve endometrioid karsinoma ile ilişkisi endometriozisin kök hücre orjinli olabileceği fikrini destekler. Endometriozis odaklarının uzun süreli kültür ortamının bırakılması sonucu klonogenik hücreler gösterilmiştir. Endometrial kök / progenitör hücrelerin menstrüasyon sırasında anormal regürjitasyonu, peritoneal kaviteye ulaşması sonucu görünür endometriotik implantlar oluşabilir. Endometrial kök / progenitör hücreden oluşan endometriotik lezyonlar uzun dönemde transit amplifiye (TA) hücrelere dönüşebilir. Uzun süreli endometriotik lezyonlar endometrial kök / progenitör hücrelerden gelişmiş olabilecekken, iyileşen lezyonlar daha matür olan transit amplifiye hücrelerden kaynaklanmış olabilir. Alternatif olarak henüz tanımlanmamış intrinsek sapma gösteren endometrial kök / progenitör hücrelerin implante olmaya ve ektopik koloni oluşturmaya eğilimleri artabilir ya da normal kök / progenitör hücreler anormal periton mezotelyumuna daha kolay implante olabilir.

6. SONUÇ

Sıçanlarda oluşturulan deneysel endometriozis modelinde Ankaferd® (Bloodstopper) ve oksitosinin olası tedavi edici etkilerinin histolojik ve sitokinerjik parametreler ile değerlendirilmesi' çalışmasında öncelikle primer olarak piyasaya sürülüş amacı hemostaz olan Ankaferd® 'in sıçan modelinde endometriozis tedavisinde veya regresyonunda etkili olmadığı, oksitosin 'in ise gerek makroskopik gerekse mikroskopik olarak ve sitokin düzeyinde endometriozisi regrese ettiği gözlemlendi.

Bir uterotonik ajan olan oksitosin'in deneysel olarak oluşturulan endometriozis modellerinde endometriotik implantları küçülttüğü ve endometriozis etyopatogenezinde saptanan bir takım inflamatuvar sitokin seviyelerini azalttığı saptandı. Dolayısıyla oksitosinin, gerek endometriozis gerekse de diğer immünreaktif, immünolojik hastalıklarda da antiinflamatuvar tedavi ajanı olarak kullanılabileceği düşünülmektedir.

Ankaferd® için ise, endometriozis patogenezinde özellikle VEGF mediatörü üzerinden etki etmesi düşünülmüş olup çalışmamızda anlamlı derecede faydalı bulunamamış olması, bize halen endometrioziste mekanizmasını bilmediğimiz buluşlara açık birtakım yeni yolların, mekanizmaların olabileceğini düşündürmektedir.

Günümüzde endometriozis ve ilişkili klinik patolojiler ve onlarla mücadelede halen istenilen aşamaya gelinememiştir. Tıpta her geçen gün yeni bir buluş yeni bir tedavi protokolü geliştirilmiş olmasına rağmen endometriozis, halen tüm dünyada özellikle infertilitede araştırılmaya, yeni tedavi modaliteleri üzerinde durulmaya açık bir patolojidir.

Yıllar boyunca etyopatogenezi ve ona yönelik kesin ve etkin tedavi rejimi geliştirilemeyen bir hastalıklar bütünü olan endometriozis, günümüzde halen bir çok fizyopatolojik mekanizmalara, ilaç araştırma geliştirmelerine, moleküler ve hücresel ileri düzey incelemelere ihtiyaç duymaktadır.

7. ÖZET

Sıçanlarda Oluşturulan Deneysel Endometriozis Modelinde Ankaferd (Bloodstopper) ve Oksitosinin Olası Tedavi Edici Etkilerinin Histolojik ve Sitokinerjik Parametreler ile Değerlendirilmesi

Amaç:

Bu çalışmada amaç; Ankaferd BloodStopper'ın hemostatik etkileri ve oksitosinin antiinflamatuvar etkilerinden yola çıkarak endometrioziste olası regrese edici etkilerini araştırmak, böylelikle düşük maliyetli ve minimal yan etkili tedavi protokollerine destek sağlamaktır.

Materyal ve Metod:

Araştırmada 42 adet aynı tür dişi Sprague Dawley tipi erişkin sıçanlar kullanıldı. Sıçanlar 6 şar adetten oluşan 7 gruba ayrıldı. Deneysel endometriozis modeli oluşturulduktan sonra hayvanlar kontrol grubu, oksitosin grubu ve ankaferd grubu olarak 3 gruba ayrıldı. Sonrasında sıçanlara 4 hafta süreyle haftada 2 kez kontrol grubu sıçanlara izotonik NaCl (1ml/kg/gün intramüsküler), diğer gruplara 20 Ü/kg oksitosin, 40 Ü/kg oksitosin, 80 Ü/kg oksitosin, 0.1 ml/kg Ankaferd ampul , 0.4 ml/kg Ankaferd ampul, 1.5 ml/kg Ankaferd ampul uygulandı. Daha sonra tekrar batın eksplore edilip endometrial implantların boyutu ölçüldü (histopatoloji için örnekler alındı), batın yıkama sıvıları (1ml saline solüsyonla) (sitokin çalışılmak üzere) alındı. Batın yıkama sıvılarında ve plazmada VEGF, MCP 1, TNF- α 'nın düzeylerine bakıldı.

Bulgular:

Kontrol (plasebo) grubunda ortalama implant hacimleri tedavi (izotonik NaCl) öncesi $28.6 \pm 9.1 \text{ mm}^3$ iken tedavi sonrasında $43.2 \pm 10.4 \text{ mm}^3$ olarak ölçüldü.

Oksitosin alan grupta ise tedavi öncesi implant hacimleri $29.8 \pm 7.2 \text{ mm}^3$, tedavi sonrası implant hacimleri $8.1 \pm 3.3 \text{ mm}^3$ olup anlamlı azalma olarak değerlendirildi.

Ankaferd verilen grupta, tedavi öncesi implant hacimleri $30.7 \pm 6.9 \text{ mm}^3$, tedavi sonrası $24.6 \pm 5.8 \text{ mm}^3$ olarak ölçülüp istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı.

Epitel skorları açısından ise;

Kontrol grubunda endometriotik odakta endometrium epitel ve bez yapıları orta derecede korunmuş, lökosit infiltrasyonları izlenmekte ve epitel skoru 2.7 ± 0.3 olup oksitosin verilen grupta epitel bütünlüğü bozulmuş, seyrekleşmiş epitel skoru 1.1 ± 0.2 anlamlı azalma saptandı. Ankaferd grubunda ise epitel bütünlüğü oksitosin grubuna göre daha iyi korunmuş, daha kompakt olarak izlendi, epitel skoru ise 1.8 ± 0.5 anlamlı azalma saptandı.

Sitokinerjik ölçümlerde VEGF için;

Kontrol grubunda plazma ve periton yıkama sıvısında sırasıyla VEGF düzeyleri 175.2 ± 16.5 pg/ml, 49.6 ± 8.2 pg/ml olup oksitosin grubunda 56.5 ± 6.6 pg/ml , 22.4 ± 5.3 pg/ml olup anlamlı azalma tespit edildi. Ankaferd grubunda ise plazma ve periton yıkama sıvılarında sırasıyla VEGF düzeyleri 168.4 ± 21.5 pg/ml, 45.2 ± 9.3 pg/ml saptanmış olup anlamlı değişiklik yok olarak değerlendirildi.

TNF – α için;

Kontrol grubunda plazma ve periton yıkama sıvısında sırasıyla TNF- α düzeyleri 49.6 ± 2.3 pg/ml, 26.5 ± 4.8 pg/ml olup oksitosin alan grupta; 38.1 ± 3.5 pg/ml , 14.3 ± 1.6 pg/ml anlamlı azalma saptandı. Ankaferd grubunda ise plazma ve periton sıvısı seviyeleri sırasıyla 45.4 ± 1.8 pg/ml, 18.9 ± 6.1 pg/ml saptanıp anlamlı değişiklik yok olarak yorumlandı.

MCP 1 için;

Kontrol grubunda plazma ve periton yıkama sıvısında sırasıyla MCP 1 düzeyleri 105.8 ± 7.4 ng/ml, 17.2 ± 3.1 ng/ml iken bu değerler oksitosin grubunda 45.2 ± 7.5 ng/ml ve 8.6 ± 1.2 ng/ml , anlamlı azalma olarak tespit edildi. Ankaferd grubu plazma ve periton sıvısı MCP 1 düzeyleri ise 97.1 ± 7.5 ng/ml , 16.3 ± 4.4 ng/ml olarak ölçüldü ve anlamlı değişiklik saptanmadı.

Sonuç:

Oksitosin'in deneysel olarak oluşturulan endometriozis modellerinde endometriotik implantları kcltdğ ve endometriozis etyopatogenezinde saptanan bir takım inflamatuvar sitokin seviyelerini azalttdđđı saptandı. Dolayısıyla oksitosinin, endometriozis başta olmak üzere bazı otoimmün, immünreaktif hastalıkların tedavisinde etkin olarak kullanılabileceđđi düşünülmektedir. Ankaferd (Bloodstopper)' in ise çalışmada endometriozisi baskılamada elimizdeki verilere göre etkisiz olduğu kanısına varıldı.

Anahtar Kelimeler: Endometriozis, Ankaferd (Bloodstopper), Oksitosin

KAYNAKLAR

1. Kennedy S, Bergqvist A, Chapron C, D'Hooghe T, Dunselman G, Greb R. et al. ESHRE Special Interest Group for Endometriosis and Endometrium Guideline Development. ESHRE guideline for the diagnosis and treatment of endometriosis. *Hum Reprod* 2005;20(10):2698–2704.
2. Adamson GD, Kennedy SH, Hummelshoj L. Creating solutions in endometriosis: global collaboration through the World Endometriosis Research Foundation. *J Endometriosis*. 2010;2(1):3–6.
3. Göker H, Haznedaroğlu IC, Erçetin S, Kirazli S, Akman U, Öztürk Y. et al. Haemostatic Actions of Folkloric Medicinal Plant Extract Ankaferd Blood Stopper. *J Int Med Research* 2008; 36: 163-170.
4. Yeniel AO, Erbas O, Ergenoglu AM, Aktug H, Taskiran D, Yildirim N. et al. Effect of oxytocin treatment on exnplant size, plasma and peritoneal levels of MCP-1, VEGF, TNF- α and histopathological parameters in a rat endometriosis model. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2014 ; 1(3).
5. Vercellini P, Viganò P, Somigliana E, Fedele L. Endometriosis: pathogenesis and treatment. *Nat Rev Endocrinol*. 2013;12 (24).
6. Paul D. Chan, Susan M. Johnson. *Gynecology and Obstetrics. New Treatment Guidelines* 2008 ;11-13.
7. Sun PR, Leng JH, Jia SZ, Lang JH. Postmenopausal endometriosis: a retrospective analysis of 69 patients during a 20-year period. *Chin Med J* 2013;126 (23)
8. Eskenazi B, Warner ML. Epidemiology of endometriosis. *Obstet Gynecol Clin North Am* 1997;24:235-58.
9. Nomelini RS, Ferreira FA, Borges RC, Adad SJ, Murta EF. Frequency of endometriosis and adenomyosis in patients with leiomyomas, gynecologic premalignant, and malignant neoplasias. *Clin Exp Obstet Gynecol*. 2013;40(1):40-4.

10. Donnez J, Nisolle M, Casanas-Roux F, Bassil S, Anaf V. Rectovaginal septum, endometriosis or adenomyosis: laparoscopic management in a series of 231 patients. *Hum Reprod.* 1995;10(3):630-5.
11. Sampson J. Peritoneal endometriosis due to menstrual dissemination of the endometrial tissue into the peritoneal cavity. *Am J Obstet Gynecol* 1927;14:422-69.
12. Liu DT, Hitchcock A. Endometriosis: its association with retrograde menstruation, dysmenorrhoea and tubal pathology. *Br.J Obstet Gynaecol.* 1986;93:859-62.
13. Jenkins S, Olive DL, Haney AF. Endometriosis: pathogenetic implications of the anatomic distribution. *Obstet Gynecol* 1986;67:335-38.
14. Burney RO, Giudice LC. Pathogenesis and pathophysiology of endometriosis. *Fertil Steril.* 2012;98(3):511-9.
15. Van Schil PE, Vercauteren SR, Vermeire PA, Nackaerts YH, Van Marck EA. Catamenial pneumothorax caused by thoracic endometriosis. *Ann.Thorac.Surg* 1996;62:585-86.
16. Schrodt GR, Alcorn MO, Ibanez J. Endometriosis of the male urinary system: a case report. *J Urol.* 1980;124:722-23.
17. Matsuura K, Ohtake H, Katabuchi H, Okamura H. Coelomic metaplasia theory of endometriosis: evidence from in vivo studies and an in vitro experimental model. *Gynecol Obstet Invest* 1999;47 Suppl 1:18-20.
18. Sampson J. Metastatic or embolic endometriosis, due to menstrual dissemination of endometrial tissue into venous circulation. *Am J Pathol* 1927;3:93.
19. Javert CT. The spread of benign and malignant endometrium in the lymphatic system with a note on coexisting vascular involvement. *Am J Obstet Gynecol* 1952;64:780-806.
20. Von Recklinghausen F. Adenomyomas and cystadenomas of the wall of the uterus and tube: their origin as remnants of the wolffian body. *Wien Klin Wochenschr* 1896;8:530.

21. Sasson IE, Taylor HS. Stem cells and pathogenesis of endometriosis. *Ann NY Acad Sci.* 2008;1127:106-115.
22. Lagana AS, Sturlese E, Retto G, Sofo V, Triolo O. Interplay between Misplaced Müllerian-Derived Stem Cells and Peritoneal Immune Dysregulation in the Pathogenesis of Endometriosis . *Obstet Gynecol Int.* 2013;2013:527041. Epub 2013; 13.
23. Montanari G, Di Donato N, Benfenati A, Giovanardi G, Zannoni L, Vicenzi C, ve ark. Women with deep infiltrating endometriosis: sexual satisfaction, desire, orgasm, and pelvic problem interference with sex. *J Sex Med.* 2013;10(6):1559-66.
24. Fedele L, Bianchi S, Portuese A, Borruto F, Dorta M. Transrectal ultrasonography in the assessment of rectovaginal endometriosis. *Obstet Gynecol* 1998;91:444-48.
25. Yin BW, Dnistrian A, Lloyd KO . "Ovarian cancer antigen CA125 is encoded by the MUC16 mucin gene". *Int. J. Cancer* 2002 (4): 737-40.
26. Mol BW, Bayram N, Lijmer JG, Wiegerinck MA, Bongers MY, van der Veen F. et al. The performance of CA-125 measurement in the detection of endometriosis: a meta-analysis. *Fertil. Steril.* 1998;70:1101-08.
27. Bancroft K, Vaughan Williams CA, Elstein M. Pituitary-ovarian function in women with minimal or mild endometriosis and otherwise unexplained infertility. *Clin. Endocrinol. (Oxf)* 1992;36:177-81.
28. Matorras R, Rodriguez F, Perez C, Pijoan JI, Neyro JL, Rodriguez-Escudero FJ. Infertile women with and without endometriosis: a case control study of luteal phase and other infertility conditions. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 1996;75:826-31.
29. Dmowski WP, Steele RN, Baker GF. Deficient cellular immunity in endometriosis. *Am J Obstet Gynecol* . 1981; 141:377-83.
30. Osterlynck D, Cornillie FJ, Waer M, Vandeputte M, Koninckx PR. Women with endometriosis show a defect in natural killer cell activity resulting in a decreased cytotoxicity to autologous endometrium. *Fertil Steril* .1991; 56:45-51.

31. Witkowska AM, Borawska MH. Soluble intercellular adhesion molecule-1: an overview. *Eur Cytokine Netw.* 2004; 15:91-8.
32. Vigano P, Gaffuri B, Somigliana E, Busacca M, Di Blasio AM, Vignali M. Expression of intercellular adhesion molecule mRNA and protein is enhanced in endometriosis versus endometrial stromal cells in culture. *Mol Hum Reprod.* 1998; 4:1150-6.
33. Harada T, Iwabe T, Terakawa N. Role of cytokines in endometriosis. *Fertil Steril* 2001; 76:1-10.
34. Braun DP, Ding J, Dmowski WP. Peritoneal fluid mediated enhancement of eutopic and ectopic endometrial cell proliferation is dependent on tumor necrosis factor alpha in women with endometriosis. *Fertil Steril.* 2002; 78:727-32.
35. Bedaiwy MA, Falcone T, Sharma RK, Goldberg JM, Attaran M, Nelson DR. Prediction of endometriosis with serum and peritoneal fluid markers: a prospective controlled trial. *Hum Reprod.* 2002; 17:426-31.
36. Vincenti V, Cassano C, Rocchi M, et al.: Assignment of the vascular endothelial growth factor gene to human chromosome 6p21.3. *Circulation.* 1996;93:1493-1495.
37. Carr, M. W.; Roth, S. J.; Luther, E.; Rose, S. S.; Springer, T. A. (1994). "Monocyte chemoattractant protein 1 acts as a T-lymphocyte chemoattractant". *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 91 (9): 3652–3656.
38. Revised American Society for Reproductive Medicine classification of endometriosis:1996. *Fertil.Steril.* 1997;67:817-21.
39. Moghissi KS. Medical treatment of endometriosis. *Clin.Obstet Gynecol* 1999;42:620-32.
40. Harrison RF, Barry-Kinsella C. Efficacy of medroxyprogesterone treatment in infertile women with endometriosis: a prospective, randomized, placebo controlled study. *Fertil.Steril.* 2000;74:24-30.

41. Taga M, Minaguchi H. Reduction of bone mineral density by gonadotropin releasing hormone agonist, nafarelin, is not completely reversible at 6 months after the cessation of administration. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 1996;75:162-65.
42. Orwoll ES, Yuzpe AA, Burry KA, Heinrichs L, Buttram VC, Jr, Hornstein MD. Nafarelin therapy in endometriosis: long-term effects on bone mineral density. *Am J Obstet Gynecol* 1994;171:1221-25.
43. Moghissi KS, Schlaff WD, Olive DL, Skinner MA, Yin H. Goserelin acetate (Zoladex) with or without hormone replacement therapy for the treatment of endometriosis. *Fertil.Steril.* 1998;69:1056-62.
44. Kettel LM, Murphy AA, Morales AJ, Ulmann A, Baulieu EE, Yen SS. Treatment of endometriosis with the antiprogestone mifepristone (RU486). *Fertil.Steril.* 1996;65:23-28.
45. Mahutte NG, Arici A. Medical management of endometriosis-associated pain. *Obstet Gynecol Clin North Am.* 2003;30:133-50.
46. Martin DC, Ling FW. Endometriosis and pain. *Clin.Obstet Gynecol.* 1999;42:664-86.
47. Kim AH, Adamson GD. Surgical treatment options for endometriosis. *Clin.Obstet Gynecol.* 1999;42:633-44.
48. Wang M, Yu L, Zhou L, Zhang WY. Laparoscopic conservative surgery plus gonadotropin-releasing hormone agonist in the treatment of endometriosis: a meta-analysis. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi.* 2013 , 22;93(39):3128-30.
49. ACOG practice bulletin. Induction of labor. 1999 (Replaces technical bulletin 217, 1995). *Obstet Gynecol.* 1999;94:5.
50. Simsek Y, Celik O, Karaer A, Gul M, Yilmaz E, Koc O. et al. Therapeutic efficiency of Atosiban, an oxytocin receptor blocking agent in the treatment of experimental endometriosis. *Arch Gynecol Obstet.* 2012;286(3):777-83.
51. Albayrak CU, Caliskan U. Haemostatic actions of the folkloric medicinal plant extract Ankaferd Blood Stopper. *J Int Med Res* 2008; 36: 1447-1449.

52. Lee S-J, Umamo K, Shibamoto T, Lee K-G. Identification of volatile components in basil (*Ocimum basilicum* L.) and thyme leaves (*Thymus vulgaris* L.) and their antioxidant properties. *Food Chem.* 2005;91:131–137.
53. Sheela ML, Ramakrishna MK, Salimath BP. Angiogenic and proliferative effects of the cytokine VEGF in Ehrlich ascites tumor cells is inhibited by *Glycyrrhiza glabra*. *Int Immunopharmacol.* 2006;6:494 – 498.
54. Matsuda H, Ando S, Kato T, Morikawa T, Yoshikawa M. Inhibitors from the rhizomes of *Alpinia officinarum* on production of nitric oxide in lipopolysaccharide-activated macrophages and the structural requirements of diarylheptanoids for the activity. *Bioorganic Med Chem.* 2006;14:138–142.
55. Guney M, Oral B, Karahan N, Mungan T. Regression of endometrial explants in a rat model of endometriosis treated with melatonin. *Fertil Steril* 2008;89: 934–42.
56. Keenan JA, Williams-Boyce PK, Massey PJ, Chen TT, Caudle MR, Bukovsky A. Regression of endometrial explants in a rat model of endometriosis treated with the immune modulators loxoribine and levamisole. *Fertil Steril* 1999;72:135–41.
57. Varma R, Rollason T, Gupta JK, Maher ER. Endometriosis and the neoplastic process. *Reproduction.* 2004;127(3):293-304.
58. Taylor, RN, Lebovic, DI and Mueller, MD. Angiogenic factors in endometriosis. *Ann N Y Acad Sci* 2002; 955: 89-100.
59. Liu F, He L, Liu Y, Shi Y, Du H. The expression and role of oxidative stress markers in the serum and follicular fluid of patients with endometriosis. *Clin Exp Obstet Gynecol.* 2013;40(3):372-6.
60. Porpora MG, Resta S, Fugetta E, Storelli P, Megiorni F, Manganaro L. et al. Role of environmental organochlorinated pollutants in the development of endometriosis. *Clin Exp Obstet Gynecol.* 2013;40(4):565-7.

61. Veeravagu A, Hsu AR, Cai W, Hou LC, Tse VC, Chen X. Vascular endothelial growth factor and vascular endothelial growth factor receptor inhibitors as antiangiogenic agents in cancer therapy. *Recent Patents Anticancer Drug Discov.* 2007;2(1):59-71.
62. Taylor RN, Lebovic DI, Mueller MD. Angiogenic factors in endometriosis. *Ann N Y Acad Sci* 2002;955:89-100.
63. Hull ML, Charnock-Jones DS, Chan CL, Bruner-Tran KL, Osteen KG, Tom BD. et al. Antiangiogenic agents are effective inhibitors of endometriosis. *J Clin Endocrinol Metab.* 2003;88(6):2889-99.
64. Aytan H, Caglar P, Uygur D, Zeteroglu S, Batioglu S. Effect of immunomodulator leflunamide on the induction endometriosis in experimental rat model. *Fertil Steril.* 2007;87:699-702.
65. Mueller MD, Vigne JL, Minchenko A, Lebovic DL, Leitman DC, Taylor RN, Regulation of vascular endothelial growth factor (VEGF) gene transcription by estrogen receptors alpha and beta. *Proc Natl Acad Sci* 2000; 26;97(20):109727.
66. Nagy JA, Vasile E, Feng D, Sundberg C, Brown LF, Detmar MJ. et al. Vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor induces lymphangiogenesis as well as angiogenesis. *J Exp Med.* 2002;196(11):1497-506.
67. Donnez J, Smoes P, Gillerot S, Casanas-Roux F, Nisolle M. Vascular endothelial growth factor (VEGF) in endometriosis. *Hum. Reprod.* 1998;13(6):1686-90.
68. Steele RW, Dmonwski WP, Marmer DJ. Immunologic aspects of endometriosis. *Am J Reprod Immunol* .1984; 6:33-6.
69. Osterlynck D, Cornillie FJ, Waer M, Vandeputte M, Koninckx PR. Women with endometriosis show a defect in natural killer cell activity resulting in a decreased cytotoxicity to autologous endometrium. *Fertil Steril* .1991; 56:45-51.
70. Taylor RN, Ryan IP, Moore ES, Hornung D, Shifren JL, Tseng JF. Angiogenesis and macrophage activation in endometriosis. *Ann N Y Acad Sci.* 1997; 828:194-207.

71. Bedaiwy MA, Falcone T, Sharma RK, Goldberg JM, Attaran M, Nelson DR. Prediction of endometriosis with serum and peritoneal fluid markers: a prospective controlled trial. *Hum Reprod.* 2002; 17:426-31.
72. Overton C, Fernandez-Shaw S, Hicks B, Barlow D, Starkey P. Peritoneal fluid cytokines and the relationship with endometriosis and pain. *Hum Reprod.* 1996; 11(2):380-6.
73. Ceyhan ST, Onguru O, Baser I, Gunhan O. Expression of cyclooxygenase-2 and vascular endothelial growth factor in ovarian endometriotic cysts and their relationship with angiogenesis. *Fertil Steril* 2008;90(4):988–93.
74. Sharkey AM, Day K, McPherson A, et al. Vascular endothelial growth factor expression in human endometrium is regulated by hypoxia. *J Clin Endocrinol Metab* 2000;85:402–9.
75. Ahmed MA, Elosaily GM. Role of oxytocin in deceleration of early atherosclerotic inflammatory processes in adult male rats. *Int J Clin Exp Med* 2011;4:169–78.
76. Cassoni P, Fulcheri E, Carcangiu ML, Stella A, Deaglio S, Bussolati G. Oxytocin receptors in human adenocarcinomas of the endometrium: presence and biological significance. *J Pathol* 2000;190:470–7.
77. Cassoni P, Sapino A, Fortunati N, Stella A, Bussolati G. Presence and significance of oxytocin receptors in human neuroblastomas and glial tumors. *Int J Cancer* 1998;77:695–700.