



**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**



ENDOMYOMETRİAL BİLEŞKE HASARI İLE YENİ BİR DENEYSEL ADENOMYOZİS RAT MODELİ OLUŞTURULMASI

Dr. Koray Görkem SAÇINTI

**KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM ANABİLİM DALI
TIPTA UZMANLIK TEZİ**

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Batuhan ÖZMEN**

**ANKARA
2023**

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

**ENDOMYOMETRİAL BİLEŞKE HASARI İLE YENİ BİR DENEYSEL
ADENOMYOZİS RAT MODELİ OLUŞTURULMASI**

Dr. Koray Görkem SAÇINTI

**KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM ANABİLİM DALI
TIPTA UZMANLIK TEZİ**

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Batuhan ÖZMEN**

**ANKARA
2023**

Ankara Üniversitesi
Tıp Fakóltesi Dekanlığı'na,

Tıpta Uzmanlık Tezi olarak hazırlayıp sunduğum “Endomyometrial bileşke hasarı ile yeni bir deneysel adenomyozis rat modeli oluşturulması” başlıklı tez; bilimsel ahlak ve değere uygun olarak tarafımdan yazılmıştır. Tezimin fikir/hipotezi tümüyle tez danışmanım ve bana aittir. Tezde yer alan araştırma tarafımda yapılmış olup, tüm cümleler, yorumlar bana aittir.

Bu tez çalışmasıyla ilgili tüm süreçler Ankara Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından, 02/11/2022 tarihinde, 2022-19-168 numaralı kararla onaylanmıştır.

Yukarıda belirtilen hususların doğruluğunu beyan ederim.

Öğrencinin Adı Soyadı: Koray Görkem SAÇINTI

Tarih:

İmza:

ÖZGÜNLÜK RAPORU

Turnitin Orijinallik Raporu

İşleme kondu: 12-Oca-2023 18:05 +03

NUMARA: 1991779068

Kelime Sayısı: 8900

Gönderildi: 1

Tez Koray Görkem Saçını tarafından

Benzerlik Endeksi	Kaynağa göre Benzerlik
%3	Internet Sources: %3
	Yayınlar: %1
	Öğrenci Ödevleri: %1



KABUL ONAY SAYFASI

ANKARA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ TEZ SINAVI TUTANAĞI

I. UZMANLIK ÖĞRENCİSİNİN		
Adı, Soyadı	: Dr.Koray Görkem SAÇINTI	Sınav tarihi: 23 /01 / 2023
Anabilim/Bilim Dalı	: Kadın Hastalıkları ve Doğum	
Tez Danışmanı	: Prof.Dr.Batuhan ÖZMEN	

II. TEZ İLE İLGİLİ BİLGİLER	
Tezin Başlığı: Endomyometrial Bileşke Hasarı ile Yeni Bir Deneysel Adenomyozis Rat Modeli Oluşturulması.	
Tezin Niteliği:	☒ Ana Dal Uzmanlık Tezi ☐ Yan Dal Uzmanlık Tezi
Kaçıncı tez sınavı olduğu:	☒ 1 ☐ 2 ☐ 3

III. KARAR	
Yapılan tez sınavı sonucunda yukarıda belirtilen tezin "Tıpta Uzmanlık Tezi" olarak	
☒ Kabulüne	
☐ Reddine	
☐ Düzeltmeler yapıldıktan sonra tekrar değerlendirilmesine	
☒ Oy birliği ☐ Oy çokluğu	ile karar verilmiştir.

IV. AÇIKLAMALAR
Lütfen, tezin reddi veya düzeltme istenmesi durumunda gerekçeli açıklamalarınızı buraya yazınız

Prof.Dr.Batuhan ÖZMEN
Jüri Başkanı
Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi
Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim/Bilim Dalı

Prof.Dr.U.Fırat ORTAÇ
Jüri Üyesi
Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi
Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim/Bilim Dalı

Prof.Dr.Zehra Candan İLTEMİR DUVAN
Jüri Üyesi
Yüksek İhtisas Üniversitesi Tıp Fakültesi
Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı

ÖNSÖZ

Tez sürecimi benim için kolaylaştıran ve yapmak istediklerimi sabırla karşılayan tez hocam Prof. Dr. Batuhan Özmen'e, uzmanlık eğitimim süresince hayal ettiklerimi yapabilmem adına içtenlikle yol gösteren, destekleyen ve hep yolumuzu açan Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Acar Koç'a ve bana akademide kalem tutmayı öğreten, cerrahi pratik ve hekimlik duruşlarını örnek aldığım, bizzat emekle yaptırdıkları ameliyatlarını unutmayacağım değerli hocalarım Prof. Dr. Fırat Ortaç, Prof. Dr. Fulya Dökmeci, Prof. Dr. Ruşen Aytaç, Prof. Dr. Cem Somer Atabekoğlu, Prof. Dr. Bülent Berker, Prof. Dr. Murat Sönmezer, Doç. Dr. Esra Çetinkaya, Doç. Dr. Salih Taşkın, Doç. Dr. M. Murat Seval, Doç. Dr. Yavuz Emre Şükür'e içtenlikle çok teşekkür ederim. Tez araştırmamızda desteklerini esirgemeyen Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı'ndan Prof. Dr. Sevim Aydın'a teşekkür ederim.

Eğitim hayatımızdaki zorlukları yardımlarıyla aştığımız Uzm. Dr. Gülşah Aynaoglu Yıldız ve Uzm. Dr. Bulut Varlı'ya; yoğun çalışma ortamımızı güzel kılan, unutamayacağım birçok anıyı paylaştığımız tüm yol arkadaşım asistan, hemşire ve personellerimize teşekkür ederim.

Bilimsel çalışmalarımızda köşeye sıkıştığım her zaman uzakta da olsa destek veren University of Pisa'dan Dr. Magdalena Montt'a, hayvan deneyi tecrübeme büyük katkı sağlayan University of Bar-Ilan'dan Prof. Jacob Bornstein'a, yaptığımız araştırmalarda bana onca zaman ve emek vermeye devam eden UZLeuven'den değerli hocam Prof. Liesbeth Lewi'ye de çok teşekkür ederim.

Hayattaki en büyük destekçim sevgili eşim Huriye ve çalışarak güzel zamanlarını ıskaladağım için beni effetmesini dilediğim oğlum Agah'a,

Ve hayatımın her döneminde varlıklarına ihtiyaç duyacağım anne ve babama...

Dr. Koray Görkem SAÇINTI

İÇİNDEKİLER

Etik Beyan	ii
Özgünlük Raporu	iii
Kabul Onay Sayfası	iv
Önsöz	v
İçindekiler	vi
Kısaltmalar	viii
Şekiller Dizini	ix
Resimler Dizini	x
Tablolar Dizini	xi
1. ÖZET	1
2. ABSTRACT	2
3. GİRİŞ VE AMAÇ	3
4. GENEL BİLGİLER	6
4.1. Histopatolojik Olarak Adenomyozis	6
4.2. Adenomyozis Etiyopatogenezi	7
4.3. Adenomyozis Patogenezindeki Teorilere Genel Bakış ve İatrojenik Travmanın Potansiyel Yeri	9
4.4. Epitelyal-Mezenkimal Geçiş	10
4.5. Adenomyozis Oluşumunda Risk Faktörleri ve Klinik Prezantasyon	11
4.6. Adenomyozis Hastalarında Tanı Ve Görüntüleme Yöntemleri	12
4.8. Adenomyozisin Tedavi Yönetimi	16
4.7. Adenomyoziste Endomyometrial Bileşkenin Önemi	17
4.9. Deneyisel Adenomyozis Hayvan Modelleri	18
5. GEREÇ VE YÖNTEM	22
5.1. Deneyisel Adenomyozis Rat Modelinin Oluşturulması ve Deney Protokolü	22
5.2. Uterus Dokusunda Adenomyozis Aktivitesinin Histopatolojik Açıdan Değerlendirilmesi	26
5.2.1. Doku Takip Protokolü	26
5.2.2. H&E Boyama Yöntemi	26
5.2.3. Rat Uteruslarının Histopatolojik Değerlendirilmesi	27
5.2.4. Adenomyozis Aktivite Skoru	28

5.3. İstatistiksel Analiz	28
6. BULGULAR	29
6.1. Işık Mikroskopik Bulguları	31
6.1.1. Sham Grubu Uterus Dokusu Histopatolojik Değerlendirmesi	31
6.1.2. Deney Grubu Uterus Dokusu Histopatolojik Değerlendirmesi	32
7. TARTIŞMA	42
8. SONUÇLAR	46
9. KAYNAKLAR	47



KISALTMALAR

COX-2	: Siklooksijenaz-2
GnRH	: Gonadotrophin releasing hormone (gonadotropin salgılatıcı hormon)
FSH	: Folikül stimüle edici hormon
HLA-DR	: Human leukocyte antigen – DR isotype (insan lökosit antijenleri DR izotipi)
TIAR	: Tissue injury and repair (doku yaralanması ve onarımı)
ReTIAR	: Recurrent tissue injury and repair (tekrarlayan doku yaralanması ve onarımı)
HRT	: Hormon replasman tedavisi
TVUS	: Transvaginal ultrasonografi
2D-TVUS	: 2 boyutlu transvajinal ultrasonografi
3D-TVUS	: 3 boyutlu transvajinal ultrasonografi
MRG	: Magnetik rezonans görüntüleme
OKS	: Oral kontraseptif
LNG-RİA	: Levonorgestrel salan rahim içi araç
SPSS	: Statistical Package for Social Sciences
cm	: Santimetre
mm	: Milimetre
mg	: Miligram
kg	: Kilogram
i.m.	: İntramusküler
s.c.	: Subkütan
ml	: Mililitre
H&E	: Hematoksilen-Eozin

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Adenomyozis deney modelinde eksternal ve internal olarak uterusu verilen hasarın illüstrasyonu	24
Şekil 2. Sham ve deney grubu uteruslarında myometrial infiltrasyon derecesi kutu grafiği	41



RESİMLER DİZİNİ

Resim 1.	Abdominal vertikal insizyon sonrası uterusun eksplorasyonu.....	25
Resim 2.	26G steril iğne ucu ile myometriuma hasar verilmesi	25
Resim 3.	21G steril iğne ucu ile endomyometrial bileşmeye hasar verilmesi	25
Resim 4.	Ektopik endometriumun myometrial infiltrasyon dereceleri	29
Resim 5.	Sham grubuna ait üç uterusun makroskopik görüntüsü	30
Resim 6.	Deney grubuna ait ödematöz bulguları görülen altı uterusun makroskopik görüntüsü.....	30
Resim 7.	Sham grubu bir ratın uterus doku kesiti	31
Resim 8.	Sham grubu bir ratın uterus doku kesitinde endometrium ve myometrium.....	32
Resim 9.	Deney grubunda endometrial epitel hücrelerinin dejenerasyonu, silyumların kaybı ve myometriuma doğru invaze bez yapıları	33
Resim 10.	Deney grubunda endometrial epitel hücrelerinin dejenerasyonu ve bez yapıları	33
Resim 11.	Deney grubunda bez yapılarının dejenerasyonu ve lenfositik infiltrasyon.....	34
Resim 12.	Deney grubunda dilate bez yapıları.....	34
Resim 13.	Deney grubunda dilate bez yapıları ve myometrium	35
Resim 14.	Deney grubunda myometrium, endometrium ve dilate bez yapıları.....	35
Resim 15.	Deney grubunda myometrium tabakasında belirgin incelmeye ve bez yapıları	36
Resim 16.	Deney grubunda endometrium tabakasında belirgin kalınlaşma ve myometrium tabakasında incelmeye	36
Resim 17.	Deney grubunda myometrium ve bez yapıları	37
Resim 18.	Deney grubunda bez yapıları, myometrium ve hemorajik alanlar	37
Resim 19.	Deney grubunda endometrium, myometrium ve hemorajik alan.....	38
Resim 20.	Deney grubunda myometrium, bez yapıları ve hemorajik alan	38
Resim 21.	Deney grubunda myometrium ve bez yapıları	39
Resim 22.	Deney grubunda myometrium ve bez yapıları	39
Resim 23.	Deney grubunda myometriuma invaze bez yapıları ve endometrium-myometrium sınırının düzensizliği	40
Resim 24.	Deney grubunda myometrium ortalarına kadar invaze olan bez yapıları	40

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1.	2D-TVUS adenomyozis bulguları.....	14
Tablo 2.	3D-TVUS adenomyozis bulguları.....	14
Tablo 3.	MRG baz alınarak önerilen adenomyozis sınıflandırmaları	15
Tablo 4.	Adenomyozis indüksiyon teknikleri, süresi ve başarı insidansları	21



1. ÖZET

Giriş: Adenomyozis, endometrial gland ve stromanın myometriuma invazyonu ve onu çevreleyen myometriumun hipertrofisi ile seyreden benign jinekolojik bir hastalıktır. Günümüze kadar, hormonal manipülasyon yöntemleri ile deneysel adenomyozis modelleri oluşturulmuştur. Bilinen modellerdeki zorluklar, uzun indüksiyon süreçleri, özel tür ve şartlar gerektirebilmesi, beraberinde getirdiği maliyetler; adenomyozis üzerine ileri araştırmalar yapılmasına engel teşkil etmektedir. Endomyometrial bileşke hasarı ile kolay, hızlı indüklenebilen ve adenomyozis patogenezinine ışık tutabilecek yeni bir deneysel adenomyozis rat modeli oluşturmayı amaçladık.

Gereç ve Yöntem: Deney Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Yetiştirme ve Araştırma Laboratuvarı'nda gerçekleştirildi. Reprodüktif çağda 26 dişi Wistar-Albino virgin rat, random deney (n=20) ve sham (n=6) grubu olarak ikiye ayrıldı. Deney grubu rat uteruslarına 26G steril iğne ucu ile eksternal yüzden myometriuma ve endomyometrial bileşkeye hasar verildi. Takiben her iki uterin horn distalinden 21G steril iğne ucu ile uterin kaviteye girildi ve en proksimale kadar dört duvar kürete edilir gibi çizilerek endomyometrial bileşkeye hasar verildi. Sham grubunda steril teknik kullanılarak vertikal insizyon ile batına girildi, herhangi bir batın içi cerrahi işlem yapılmadan kapatıldı. 14 gün sonra yüksek doz anesteziyle sakrifiye edildi ve Hematoksilen-Eozin ile boyanarak ışık mikroskobu altında histopatolojik inceleme için histerektomi yapıldı.

Bulgular: Sham grubundaki ratların hiçbirinde adenomyotik lezyona rastlanmadı ve myometrial infiltrasyon derecesi hepsinin Derece 0 idi. Deney grubundaki ratların tümü uterusda tanımlanan adenomyotik lezyonlara sahipti (n=20, %100) ve sham grubu ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlıydı (%100 vs. %0, $p<0.001$). Deney grubunda, endometrial bez yapılarının myometriuma doğru invaze olduğu gözlemlendi ve myometrial infiltrasyon derecesi, sham grubu ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksekti (median:1, 25-75 çeyrekler arası aralık:1-2, $p<0.001$).

Sonuç: Endomyometrial bileşkenin cerrahi hasarı ile pratik, kısa sürede oluşturulabilen, az maliyetli ve patogenezindeki doku yaralanması ve onarımı teorisini destekleyen yeni bir adenomyozis modeli oluşturduk.

Anahtar kelimeler: Adenomyozis; Endomyometrial bileşke; Hayvan modelleri; Wistar Albino rat

2. ABSTRACT

Introduction: Adenomyosis, a benign gynecological disease, is characterized by invasion of the endometrial gland and stroma into the myometrium and surrounding myometrial hypertrophy. Therefore, experimental adenomyosis models have been developed through hormonal manipulation. Animal studies in adenomyosis are uncommon due to the complexities of the induction of existing models, the long-term induction, and the need for particular strains and conditions accompanying expenses. To elucidate the pathophysiology of adenomyosis, we aimed to develop a rapid and affordable experimental adenomyosis rat model with endomyometrial junction injury.

Material and Method: We conducted the study at Ankara University Faculty of Medicine Laboratory Animals Breeding and Research Centre. 26 female reproductive-age Wistar-Albino virgin rats were randomly divided into experimental (n=20) and sham (n=6) groups. In the experimental group, uterine tissue was injured from the external surface by intermittent insertion with a 26G needle. A blunted 21G needle was inserted respectively into both uterine horns, and the endomyometrial junction was injured as though the four uterine walls were curetted to the most proximal point. In the sham group, a vertical abdominal incision was performed, and closed without surgical intervention. After 14 days, all rats were sacrificed with a high dose of anesthetic and underwent a hysterectomy for histological examinations under a light microscope.

Results: In the sham group, none of the rats had adenomyotic lesions, and the myometrial infiltration was grade 0 for all of them. All rats in the experimental group had adenomyotic lesions (n=20, 100%), which was statistically significant compared to the sham group (100% vs. 0%, $p < 0.001$). In the histological examination of the experimental group's uterine tissue sections, gland structures were detected to have invaded the myometrium. The grade of myometrial infiltration was statistically significantly greater in the experimental group than in the sham group (median: 1, 25-75p interquartile range:1-2, $p < 0.001$).

Conclusion: We successfully created a novel adenomyosis model with the surgical injury of the endomyometrial junction. Our induction technique is practical, not time-consuming, and sheds light on its pathogenesis by proving the tissue injury and repair theory.

Keywords: Adenomyosis; Endomyometrial junction; Animal models; Wistar Albino rats

3. GİRİŞ VE AMAÇ

Adenomyozis endometrial gland ve stromanın myometriuma invazyonu ve onu çevreleyen myometriumun hipertrofisi ile seyreden benign jinekolojik bir hastalıktır (1). Hastaların %25-60'ında anormal uterin kanama, dismenore ve kronik pelvik ağrı görülmektedir (2). Bunun yanı sıra abortus ve preterm doğum riskinin arttığı ve klinik gebelik oranlarının azaldığı bildirilmiştir (3-5). Paradoksal olarak hem multiparite hem de subfertilite ile ilişkilendirilmiştir. Günümüzde hala hastalığının doğal seyri, risk faktörleri ve tedavisi birçok bilinmeyen barındırmaktadır.

Adenomyozis prevalansı, farklı çalışmalarda %10-57'ye kadar büyük bir varyasyon göstermektedir (6, 7). Adenomyozis tanısı histopatolojik olarak veya görüntüleme teknikleriyle konulmaktadır (8). Ancak, aynı hastanede çalışan patologlar arasında bile neredeyse dokuz kat (%10 vs. %88) fark olduğunu bildiren çalışmalar mevcuttur (9). Çalışmaların çoğu semptom geliştiren veya histerektomi sonrası histopatolojik tanı ile doğrulanan verilere dayanmaktadır (6, 10). Histopatolojik değerlendirme ve vaka tespitindeki metodolojik sorunlar, benimsenen kriter ve myometrial numuneleri elde etme tekniklerindeki farklılıklar, literatürde verilen geniş varyasyonlarda rolü bulunmaktadır (6).

Transvajinal ultrasonografi (TVUS) ve magnetik rezonans görüntülemenin (MRG) klinik kullanıma girinceye kadar, neredeyse 20. yüzyılın başından itibaren, adenomyozis tanısı yalnızca histerektomi sonrası patolojik tanı ile mümkündü. İnsidansın tepe noktası 46-50 yaş olsa da, görüntüleme yöntemlerinin gelişmesiyle adölesan dönemden itibaren dahi görülebildiği literatürde mevcuttur (11, 12). Amerika'da yapılan 300.000'den fazla kadını içeren bir kohort çalışmasında, vakaların %20,7'si 36-40 yaşları arasında olduğu raporlanmıştır. Son yıllarda yapılan TVUS'ye dayalı olduğu bir çalışmada, 8 ila 30 yaşları arasındaki kadınlarda adenomyozis tanısının, genç kadınların %30'undan fazlasında ve benzer şekilde MRG'ye dayanarak ise 42 yaş altı kadınların %59.9'unda adenomyozis olduğu saptanmıştır (13, 14).

Hastalarda önceden uterin cerrahi öyküsünün, endometriozis olma olasılığının, pelvik ağrı ve depresyonun önemli ölçüde daha yüksek olduğu gösterilmiştir (15). Büyük bir kohorta dayalı çalışmada, adenomyotik hasta grubunun endometrium ve tiroid kanseri riskindeki artış raporlanmıştır (16). Bu durum, hastalığın sunduğu düşük yaşam kalitesinin yanısıra, birlikteliğinde artan risklerin getirebileceği morbidite ve mortalite açısından önemlidir.

Multifaktöriyel ve kronik bir hastalık olması nedeniyle sağlık sistemi giderleri, bakım için harcanan zaman, uzun vadeli komplikasyonları ile açığa çıkan maliyet büyük bir ekonomik yük

oluşturmaktadır. Amerika Birleşik Devletleri'nde maliyetin yıllık 2,1 milyar dolar ve Almanya'da ise neredeyse 200 milyon Euro'yu aştığı tahmin edilmektedir (17, 18).

Adenomyozisin patogenezi açıklamaya çalışan yeni teorilere rağmen hala belirsizliğini korumaya devam etmektedir. Patogenezi aydınlatmada önemli bir teori olan doku yaralanması ve onarımı teorisi (tissue injury and repair (TIAR)); iatrojenik lezyonları güçlü bir ilk adım yaralanma olarak nitelendirmektedir. Yaralanmayı takiben mezenkimal doku aktivasyonu, sürecin devamında endomyometrial bileşkede peristaltizme neden olarak mikrotravmaları indüklemektedir. Rejenerasyon sonrası artan lokal estrogen, uterin peristaltik aktiviteye etki eden overe uyararak ikinci basamak yaralanmaya, ardından ototratmatizasyon ile kısır bir döngü başlatabilir (19). Klinik araştırmalarda, uterin cerrahi hikayesinin adenomyoziste bir risk faktörü olduğunun görülmesi bu teoriyi desteklemektedir. (15, 20).

Şüphesiz ki, böyle bir hastalığın teşhis ve tedavisini aydınlatmak son derece önemlidir. Patogenez ve mevcut deneysel çalışmalarda hayvan modellerinin bu noktada önemi tartışmasızdır. Bilinen adenomyozis modellerinin zorlukları, pratik olmaması, uzun indüksiyon süreleri, suşa spesifik modellerin beraberinde getirdiği özel laboratuvar şartları ve maliyetlerinin görece yüksek olması, adenomyozis hayvan çalışmalarından araştırmacıları uzaklaştırmaktadır.

Hormonal manipölasyon yöntemleri ile oluşturulan, literatürde etkinliği gösterilmiş iki yaygın model mevcuttur. Bunlardan ilki, yetişkin SHN ve SLN fare suşlarında renal kapsülün altına veya uterusu hipofiz bezinin ektopik implantasyonu ile hiperprolaktinemi indüklenerek oluşturulmasıdır (21). Bu eski teknik, sadece meme tümörü insidansının yüksek olduğu fare suşlarında oluşabilmesi (diğer türlerde uzun indüksiyon sürelerine rağmen, düşük insidans ile model başarısızlığı yüksektir) ve sadece hipofiz bezini çıkarmak için sakriye etmenin gerekebilmesi gibi dezavantajları bulunmaktadır. Diğer yandan, prolaktin nöronların aktivasyon eşikini düşürdüğü için hiperaljezi ve adenomyozis arasında ilişki kurmak mümkün olmamaktadır.

Daha yakın zamanda oluşturulan ikinci yaygın model olan CD-1 farelerde neonatal dönemde verilen oral selektif östrojen reseptörü modölatörü ile oluşturulan modeldir (22). Yenidoğanın ilk gününden itibaren başlayan, 90 güne kadar uzayan indüksiyon ve getirdiği özel bakım maliyeti araştırmacılar için modeli pratik çalışabilirlikten uzaklaştırmaktadır. Daha önemlisi, model oluşturulurken farmokolojik bir ajana uzun süreli maruziyet, hastalığın etyopatogenezi aydınlatılması ve yeni tedavi ajanlarının etkinliğini araştırmak için yapılan immunolojik ve inflamatuvar değerlendirme süreçlerini etkileyebilmektedir.

Biz çalışmamızda, endomyometrial bileşke hasarı ile mevcut modellerin eksikliklerini giderebileceğine ve patogenezindeki TIAR teorisine de kanıt oluşturabileceğine inandığımız, tek seferlik cerrahi indüksiyon ile pratik ve hızlı oluşturulabilen, az maliyetli yeni bir adenomyozis modeli oluşturmayı hedefledik.



4. GENEL BİLGİLER

Bugün adenomyozis olarak adlandırılan hastalığın tıp dünyasında tanınması 1860 yılına dayanmaktadır. İlk defa Carl Rokitansky'nin endometrial hücre yuvaları içeren bir "uterusun fibröz polipleri" vaka raporunu yayınlaması ile tanımlandı. 1882 yılında von Recklinghausen "adenomyoma uteri" adını önermesiyle bilim insanları tarafından tanımlanmaya ve araştırılmaya başlandı (23). Bu tanımlamaların ardından, 20. yüzyılın başlarında birçok adenomyozis vaka serisi raporlandı ve patogenezi hakkında çeşitli teoriler geliştirilmeye başlandı. Fakat birçoğu lokalize lezyonlara odaklanan tanımlamalardı ve modern tanımlamalarla çelişmektedir. Günümüzde genel kabul gören tanımlama Bird ve ark. tarafından 1972'de yapılan adenomyozis tanımıdır; endometriumun myometriuma invazyonu ve mikroskopik olarak ektopik gland ve stromanın hipertrofik myometrium tarafından çevrelenmesidir (1).

4.1. Histopatolojik Olarak Adenomyozis

Adenomyoziste ortak mikroskopik tanı kriteri konusunda bir fikir birliği yoktur (24). Klasik olarak, myometrium içinde heterotopik endometrial bezlerin ve stromanın varlığı ile tanımlanmaktadır. Myometrium içinde stromal ve glandüler yapıların derinliği ve çevresindeki myometrial hipertrofi varlığı tanısal değer taşır (25). Ancak adenomyozisin karakteristik özellikleri olan düz kas değişikliklerinin objektif bir tanımlaması yoktur. Burada farklı ekoller tarafından, farklı eşik değer belirlenmesi tanı sıklığında farklılıklar yaratmaktadır (1).

Adenomyoziste endomyometrial bileşke düzensizdir (25). Vercellini ve ark. hastalığın endometrial bazal tabaka ile myometrium arasındaki normal bileşkenin bozulmasıyla meydana geldiğini belirtmiştir. Bu bozulma sonrası myometriuma invazyonun başladığı düşünülmektedir (6). Ancak bunun myometrium içerisindeki endometrial bezlerin bileşkeye zarar verdiğini savunan araştırmacılar da mevcuttur (26). Bu açıdan, endomyometrial sınırın titizlikle tanımlanması vaka tespitinin önemli bir parçasıdır.

Ektopik endometrium, endometrium ile myometrium arasındaki bileşkeden en az 2.5 mm uzakta gözlenmelidir, fakat literatürde önerilen eşik değerler, 2 mm ile uterus duvarının 1/3'ü arasında değişkenlik göstermektedir (6, 27). Teşhis eşik değerinde 1 *high-power field*, 1 veya 0.5 *low-power field*, toplam uterus duvarının 1/4'ünden fazla olması, 2.5mm ve üzeri, 3.5mm ve üzeri gibi tanısal referans öneren yaklaşımlar literatürde mevcuttur (25, 28-32). Birçok adenomyozis modelinin myometrial infiltrasyonu değerlendirirken baz aldığı Bird ve ark.'nın

geniş kabul gören tutulum derecesine göre (1);

- Derece I: adenomyozisin bazal endometriumun altındaki bir *low-power field*'da adenomyozisin tanımlanması (ancak daha fazla penetrasyon olmadan)
- Derece II: orta myometriuma adenomyozis penetrasyonu
- Derece III: orta myometriumun ötesine adenomyozis penetrasyonu olarak nitelendirilir.

Adenomyozis histopatolojik olarak diffüz ve fokal olarak iki sınıfta ele alınır.

- Diffüz adenomyozis; uterustaki patoloji yaygın ve eşit derecede büyüme hakimdir. Eşlik eden leiomyomlar olmadığı sürece uterus ağırlığı 80-200 gram arasındadır.
- Fokal adenomyozis; adenomyom olarak da adlandırılır. Makroskobik incelemede bir leiomyom gibi görülebilir. Psödokapsul olmamasından dolayı cerrahi prosedürler sırasında enükleasyona izin vermemesi tipiktir.

Ek olarak, juvenil kistik adenomyozis terimi 30 yaş altı kadınlarda myometrial kistlerin ≥ 1 cm olduğu durumları belirtmek için kullanılmaktadır (33).

4.2. Adenomyozis Etyopatogenezi

Adenomyozisin günümüzde spesifik olarak etyopatogenezi hala tam olarak bilinmese de birkaç teori üzerinde durularak açıklanmaya çalışılmaktadır. Birincisi, endometrium dokusunun myometrial invazyonudur (34). Myometriumu zayıflatarak invajinasyonu kolaylaştırıldığı; ektopik hipofiz izogrefti ile oluşturulan fare modellerinden bilinmektedir (35). Son yıllarda Zou ve ark. tarafından yapılan DNA metiltransferaz-3 alfa'nın aşağı regülasyonu adenomyoziste hücre proliferasyonunu desteklemesi ve ektopik endometrial stromanın invazyonunu kolaylaştırması bunu desteklemektedir (36).

Bilindiği üzere adenomyozis ve endometriozeisin ortak bir patogenezi paylaştığı uzun süredir tartışılmalıdır (37-39). Bu noktada, her ikisinin endometrial hücrelerde invazivliği arttığına dair kanıtları olsa da, ötopik endometriumları arasında farklılıklar olduğu bilinmektedir (40, 41).

Bir diğer teori ise metaplazi teorisidir ve müllerian kalıntılardan *de novo* olarak gelişebileceğine dayanmaktadır (34). Enatsu ve ark. raporladığı Rokitansky-Kuster-Hauser sendromuna olan bir hastada adenomyozisin bulunması, bu süreçte metaplastik değişikliklerin rolü olabileceğini göstermiştir (42). Adenomyotik glandüler epitelin, otolog endometrium ile karşılaştırıldığında granülosit-makrofaj koloni stimüle edici faktör ligandının daha fazla

ekspresyonu bilinmektedir (43). Ek olarak adenomyoziste, temel fibroblast büyüme faktörü reseptörü/ligand sisteminin yukarı regülasyonu ve artan hücresel proliferasyonu, adenomyozis ilişkili anormal uterin kanamanın patogenezinde etkisi olduğu da gösterilmiştir (44).

Endomyometrial bileşkenin adenomyozis patogenezinde önemi büyüktür (45). Yapılan çalışmalar, adenomyozisli kadınlarda endomyometrial bileşkede oksitosin reseptörünün ekspresyon paterni bozulduğu görülmüş ve bunun semptomatoloji açısından önemli olabileceği düşünülmektedir. Ayrıca, iç myometriumdaki miyofiber ve nükleer zar düzensizlikleri, adenomyozisteki ultramikro travmanın kanıtı olarak düşünülebilir (46, 47). Wang ve ark. ise bu hasta grubunda RhoA/Rho-kinaz-1 sinyalinin arttığını ve östrojenin güçlendirici etkisi ile endomyometrial bileşkenin kasılmasının etkilenebileceğini öne sürmüştür (48).

Östrojen ve progesteron da patogeneizde rol oynamaktadır. Steroid tedavilerine verilen tedavi yanıtı bu etkiyi göstermektedir. Adenomyozisli kadınlarda, endometriozisli olanlara kıyasla, menstruasyon kanında yapılan tetkikte daha yüksek östrojen seviyesine sahip olduğu görülmüştür (49). Bu bulgu, uterus içinde lokal olarak daha yüksek konsantrasyonlarda üretildiğini akla getirmektedir. Takahashi ve ark. adenomyozisli hastalarda periferik kandaki estradiol seviyelerinde anlamlı bir fark olmadığını göstermiştir (49). Daha yüksek lokal östrojen üretiminin aromatazın androjen öncüsü üzerindeki etkisi veya estron-3-sülfatı estrona dönüştüren estron sülfatazın etkisi yoluyla olabilir (50). Adenomyozisli kadınlarda, endometriumda 17 β -hidroksisteroid dehidrogenaz tip-2 ekspresyonunun değiştiğine dair kanıtlar vardır ve bu siklusun sekretuar fazı sırasında östradiolün östrona dönüşümünün artmasına neden olmaktadır (51).

Direkt implantlar üzerinde bir çalışma olmasa da gonadotropin salgılatıcı hormon (gonadotrophin releasing hormone (GnRH)) agonisti veya danazol ile tedavi, hastalıklı ötopik endometriumda aromataz sitokrom P450'nin ekspresyonunu azalttığı, bozulmuş endometrium hormonal ekspresyonunu ise normalleştirdiği görülmüştür (52). Green ve ark. neonatal farelere tamoksifen maruziyeti ile uterin tümör geliştirmeden adenomyozis modeli geliştirmesi de bu rolü destekler niteliktedir (22).

Mevcut adenomyozis modellerinde doğrudan uterin etkileri olan prolaktin, folikül stimüle edici hormon (FSH) ve oksitosin gibi hipofiz hormonlarının da patogeneizde rolü olduğu düşünülmektedir (35, 53-56). Fiçicioğlu ve ark. Wistar Albino ratlar üzerindeki çalışmada, fluoksetin ile tedavi edilen grupların, sekonder serum prolaktin düzeylerinin myometrial invazyona neden olduğu ve adenomyozise ilerlediğini öne sürmüştür (57). Yapılan başka bir deneysel çalışmada, prolaktin ve reseptörlerinin adenomyotik sığır uterusunda farklı eksprese edildiğini göstermiştir (55). Ayrıca, normal ve adenomyotik uterustan izole edilen hücrelerde estradiolün, prolaktin ve reseptörlerinin ekspresyonunu etkilediği görülmüştür (55). Uterusta

prolaktin ve estradiol fonksiyonları arasındaki bağlantıyı desteklemekte ve adenomyozis patogenezinde potansiyel faktör olarak düşündürmektedir.

Ota ve ark. yaptıkları birçok araştırma ile adenomyozisin immünolojik temellerini incelemiştir. Adenomyoziste artan sayıda makrofaj; immüoglobülinlerin tamamlayıcı bileşenlerinin birikmesi, adezyon moleküllerinin ekspresyonundaki artış ve otoantikörlerin konsantrasyonlarındaki yükselme gibi birçok immünolojik yolağı aydınlatmıştır (58-63). İmmünohistokimyasal yöntemler ile insan lökosit antijenleri DR izotipinin (HLA-DR) ötopik ve adenomyotik endometriumun glandüler hücrelerinde artan ekspresyonu gösterilmiştir (63). Fakat Chiang ve Hill'in çalışmalarına göre, adenomyozis, endometriozis veya kontrol grubundan alınan ötopik endometrial numunelerde T hücreleri, interferon gamma ve HLA-DR-pozitif hücreler açısından hiçbir fark tespit edilememiştir (64). Kompleman bileşenleri C3 veya C4'ün sırasıyla hastaların %74'ünde ve %89'unda arttığı ve endometriumda E-kadherin ekspresyonunun anlamlı olarak daha yüksek olduğu bulunmuştur (62). Fakat, immünolojik değişikliklerin adenomyozisin bir sonucu mu yoksa nedeni mi olduğu henüz net değildir.

Proliferatif faz sırasında adenomyozis grubundan farklı olarak, endometrioziste ötopik endometriumun glandüler epiteli, kontrollere kıyasla artan sayıda CD45+ ve CD43+ intraepitelyal lökositler olduğu farkedilmiştir. Diğer yandan, CD56+, CD68+, CD4+ ve CD8+ anlamlı farklılık göstermemiştir. CD3+ intraepitelyal lökositler endometriozis ve adenomyoziste; ötopik endometriumun proliferatif fazında, kontrole kıyasla daha yüksek bulunmuştur (65).

4.3. Adenomyozis Patogenezindeki Teorilere Genel Bakış ve İatrojenik Travmanın Potansiyel Yeri

Adenomyozisli hastaların endometriumunda, kontrol grubuna kıyasla anjiojenik aktivitenin daha fazla olduğu farkedilmiştir (66). Endometrial stromanın myometrium ile doğrudan etkileşimi; endometrial invajinasyonu, normal ya da yapısal olarak zayıflamış bir myometriuma invazyonunu kolaylaştırabilir. Rejenerasyon, iyileşme ve yeniden epitelizeasyon dönemleri sırasında endometrium, endomyometrial bileşkeye yönelik travmanın bir sonucu olarak normal ya da yapısal olarak zayıflamış myometriumu istila edebilir (34).

Hastalığın patogenezinde rejenerasyon, iyileşme ve yeniden epitelizeasyon dönemleri sırasında endometriumun travmatize olmuş bir endomyometrial bileşkeye invazyonu öne sürülmüştür. Yukarıda belirtildiği üzere, uterus küretajını takiben ve doğum sonrası artan insidans bu teoriyi destekler niteliktedir. Ek olarak, Ostrzenski ve ark. laparoskopik myomektomi takiben görülen adenomyozis vaka raporlarında dikkate değerdir (67).

Endomyometrial bileşkenin ya da myometrial bütünlüğün bozulmasının rolü olabileceğini düşündürmektedir. Diğer yandan, gebelik olmadan yapılan küretajların adenomyozis riskini artırmadığını gösteren veriler olması, bu konuyu tartışmalı kılmaktadır (20, 31, 68).

Cullen'in adenomyozis patogeneğinde odaklandığı bazal endometriumun myometrium derinliklerine yayılma hipotezi, hastalıkta artan invazivlik ve myometriuma dışardan mekanik kuvvetler nedeniyle söz konusu olabilir. İmmunolojik bir işlev bozukluğu olabilir veya adezyon moleküllerinde, hücre proliferasyonunda ve apoptozda değişiklikler söz konusu olabilir. Sitokinlerde, inflamatuvar mediatörlerde artış olması, oksidatif stres varlığı ve serbest radikal metabolizmasında anormallikler ile uterus reseptivitesi değiştirebilir.

Yukarda bahsedildiği üzere, son yıllarda patogeneze ışık tutan diğer bir yaklaşım TIAR teorisidir (19, 69). TIAR teorisinde iatrojenik lezyonlar, güçlü bir ilk adım yaralanma olarak nitelendirilirler. Bu teoriye göre yaralanmayı takiben mezenkimal dokularda oluşan aktivasyon, estradiol üretimini başlatır. Endomyometrial bileşke, kronik uterin peristaltik aktivite sonucu fundokornual rafe yakınında mikrotravmalar ile indüklenir. Rejenerasyon sürecinde artan lokal östrojen, uterin peristaltik aktivite üzerindeki overe etki ederek hızla ikinci basamak yaralanmaya, ardından ototravmatizasyon ile hastalık sürecinin devamına neden olabilir (19). Bu teoriye göre, vakalarının çoğunluğunda reproduktif dönem başlarında uterin hiperperistaltizme yol açan nedensel bir olay olduğu varsayılmaktadır. Diğer yandan, reproduktif dönem boyunca normoperistalizm dahi aynı ölçüde mikrotravmatizasyon oluşturması da mümkün olabilir.

4.4. Epitelyal-Mezenkimal Geçiş

Epitelyal-mezenkimal etkileşimlerin uterus gelişiminde ve hücre organizasyonunda önemli bir rol oynadığı kabul edilmektedir (70). Epitelyal-mezenkimal geçiş, epitelin bazalisten veya adenomyozis odaklarına doğrudan uzanarak gelişmesidir (71). Endometrial stromal fibroblastlar, epitelyal migrasyonu kolaylaştıran bir fibronektin inhibitörü olan tenascin üretir. Tenascin, hormonal olarak düzenlenen epidermal büyüme faktörleri tarafından uyarılan fibronektine hücre bağlanmasını inhibe eder ve epitelyal-mezenkimal etkileşimlere aracılık eder. Bu etkileşimin uterin adenomyozis veya endometriozis gelişiminde rol oynayıp oynamadığı henüz netlik kazanmamıştır (72). Aynı zamanda gebeliğin erken döneminde trofoblastın myometriuma invazyonu ile de geçiş bozulabilir. Doğum yapmış kadınlarda adenomyozis insidansının daha yüksek olmasının altında yatan nedenlerden biri bu olabilir.

4.5. Adenomyozis Oluşumunda Risk Faktörleri ve Klinik Prezantasyon

Adenomyozisin, endometriozis ve leiomyomlarla birlikteliği hastalığın doğası ve risk faktörleri hakkında karmaşıklığa neden olmaktadır. Öte yandan, histerektomi ile tanı konması, parite konusunda bir biasa yol açmış olabilir. Doğum yapmak, adenomyozis için bir risk faktörüdür; ancak daha yüksek paritenin daha yüksek risk olmadığını belirten veriler mevcuttur (73, 74).

Hastaların risk faktörleri ile ilgili olarak, 152 adenomyozisli kadında yapılan bir araştırmada, diffüz internal adenomyozisi olan hastaların daha yaşlı (38.7'ye karşı 36.9 yıl, $p<0.05$) ve daha sık uterin küretaj öyküsüne sahip olduğu görüldü (%32.2'ye karşı %7.8, $p<0.01$). Eksternal myometriumda lokalize adenomyozisi olanlar genelde hiç gebe kalmamıştı (%35.3'e karşı %57.6, $p<0.05$), endometriozis ile birlikteliği ise %92.3'e karşı %25.4 ile daha yüksekti (75).

Semptomlar hastalara bağlı olarak değişir ve oldukça heterojendir. Menoraji, dismenore ve kronik pelvik ağrı adenomyozisin tipik semptomlarıdır (2). Unutulmamalıdır ki, hastaların yaklaşık üçte biri asemptomatiktir (76). Endometriozisin aksine, disparoni tipik bir semptom değildir. Taran ve ark. yapmış olduğu bir vaka-kontrol çalışmasında, çok değişkenli lojistik regresyon analize, histolojik olarak doğrulanmış adenomyozisli kadınların operasyon öncesi dismenore, depresyon ve pelvik ağrının, leiomyomlu kadınlara kıyasla daha fazla olduğu görülmüştür (15).

Adenomyoziste pelvik ağrının ortaya çıkması hala yeterince aydınlatılamamıştır. Nörojenik maddelerin salgılanmasına yol açan bozulmuş bir immunolojik çevrenin veya immün değişiklikler sonucu myometrium kontraktilesindeki artışın neden olabileceği düşünülmektedir (77-80). Anormal uterin kanamanın patofizyolojisi henüz tam olarak bilinmemesine rağmen, endomyometrial bileşkedeki kalınlaşmaya ya da tekrarlanan doku onarımı ve lokal vasküler sistemin bozulmasına bağlı olabileceği düşünülmektedir (81, 82).

Gebelikte adenomyozisin epidemiyolojisine dair çok az veri vardır. Rutin doğum öncesi görüntüleme yapılan 2138 gebe kadından oluşan bir kohortta, preterm doğumun adenomyozisli gebe kadınlarda istatistiksel olarak anlamlı düzeyde arttığı tespit edilmiştir (3). Son yıllarda yapılan bir meta-analizde, adenomyozisli kadınlarda preterm eylem ve düşük doğum ağırlığı riskinin daha yüksek olduğu ortaya konmuştur (83). Elbette bu verilerin moleküler çalışmalarla temellendirilmeye ihtiyacı vardır.

Adenomyozisli hastalarda abortus oranının daha yüksek olmasının konusunda; hastalığın implantasyonu bozmadığı, ancak endomyometrial bileşkenin işlevini etkilemesinin altta yatan

neden olabileceği hakkında tartışmalar vardır. İmplantasyon kusurlarının artan gebelik kaybına katkıda bulunması veya bu süreçteki aktif mekanizmaların embriyo seçimini etkileyen faktörleri içermesi de mümkündür (84, 85). Hastalardaki implantasyon oranları, bozulmuş endometrial reseptivite ile ilişkili bir hastalık olan endometriozis ile karşılaştırıldığında daha düşük bulunmuştur. Endometriozisle sıklıkla birlikteliğine dair verilerin küçük vaka serilerine dayanması, hastalığın infertilite ile bağlantısını günümüzde hala tartışmalı kılmaktadır (86, 87). Gebe kalmak isteyen hastalarda, adenomyozisi tanımlama veya tedavi etme gerekliliğini destekleyen bir kanıt yoktur. Kunz ve ark. yaptıkları çalışmada, 36 yaş altı endometriozisli kadınların %90'ında adenomyozisin eşlik ettiğini raporlamışlardır (88). Babunlar üzerinde yapılan bir çalışmada; adenomyozis, eşlik eden endometriozis olmasa bile, primer infertiliteyle ilişkili bulunmuştur (89). Gelecekte laparoskopik olarak endometriozis olup olmadığı tespit edilerek tasarlanan yeni çalışmalar bu hipoteze ışık tutacaktır.

Postmenopozal adenomyozise gelince, histerektomi yapılan 1334 kadından oluşan bir kohortta, tüm vakaların 332'sine (%24.9) ve menopoz sonrası kohortun ise 132'sine (%24.3) adenomyozis teşhisi konmuştur (90). 2012'de yapılan Özkan ve ark.'nın çalışmada, fibroidler için histerektomi uygulanan kadınları (n=98), adenomyozis (n=106) olan kadınlarla karşılaştırmıştır. Yaklaşık %40'ının menopoz sonrasıdır ve adenomyozisli kadınlar istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yaşlıdır (91). Hormon replasman tedavisi (HRT) ile tedavi edilen kadınlar dışında, menopoz sonrası vakaların büyük çoğunluğunun sessizleştiği bilinmektedir.

4.6. Adenomyozis Hastalarında Tanı Ve Görüntüleme Yöntemleri

Adenomyozis şüphesi olan hastanın anamnezinde öncelikle obstetrik ve jinekolojik tıbbi geçmiş sorgulanmalıdır. Menoraji ve pelvik ağrı önemli iki mihenk taşıdır; sorgulanırken neden olabilecek ayırıcı tanılar ve farmakolojik ajanlar gözden geçirilmelidir. Bazı hastalarda bimanuel pelvik muayenede büyük ve yumuşak bir uterus (*boggy uterus*) palpe edilebilir. Adenomyom olan olgularda, diffüz büyüme olmadan normal boyutlarda olabilir ve beraberinde uterin hassasiyet eşlik edebilir. Günümüzde adenomyozis tanısını aydınlayabilecek spesifik bir laboratuvar tetkiki yoktur. Klinik yaklaşımda gebeliği dışlamak üzere *beta-human chorionic gonadotropin hormon*, menoraji şikayeti olanlar için hemoglobin düzeyi ve enfeksiyon şüphesi var ise dışlamak üzere tetkikler yapılabilir.

Anormal uterin kanamanın değerlendirilmesinde, ilk olarak TVUS tercih edilmelidir. Sonografik tanılar luteal fazda daha doğru sonuç vermektedir (92). Anormal uterin kanama şikayetiyle gelen, adenomyozis şüphesi olan bir hastada; endometrial polip, endometrial hiperplazi, endometrium kanseri, sarkom, ovulatuar disfonksiyon, servikal polip, gebelik

komplasyonları, ilaç maruziyeti (tamoksifen, antikoagulan, rahim içi araç) gözden geçirilmelidir. Dismenore, dispareni ve gebe kalamama şikayeti ile gelen hastada endometriozis ayırıcı tanılarda yer almalıdır. Dismenore şikayeti pelvik inflamatuvar hastalık, kronik endometriti de akla getirmelidir.

Adenomyozis tanısı, histerektomi sonrası uterusun patolojik değerlendirilmesi ile konulmaktadır. Ancak, patologlar normal olarak kabul ettikleri sapma derecesine ilişkin subjektif değerlendirmelerle tanı koymaya devam etmektedirler ve bir asırdan fazla süredir hastalığın tanısında uygun kesme noktasında bir anlaşmaya varamamışlardır.

Adenomyozisin invaziv olmayan teşhisi için yüksek düzeyde doğruluk gösteren TVUS ve MRG bulguları ile de klinik tanı konulabilir (93). Sonografik bulgulardan bir veya daha fazlası mevcut olduğunda adenomyozis tanısı konulabilir (Tablo 1, 2) (94).

Eğer adenomyozisin diffüz veya fokal olduğu ayırt edilemez ise MRG'ye başvurulabilir (95). İki boyutlu transvaginal ultrasonografinin (2D-TVUS) adenomyozis tanısında spesifite ve sensitivitenin MRG karşılaştırıldığında %75-88 ve histoloji sonuçları ile karşılaştırıldığında ise %67-93 olduğu gösterilmiştir (93, 96-99). Son yıllarda yapılan bir meta-analize göre, rölatif uygun maliyeti ve kolay erişilebilirliği olan TVUS'ye ulaşamadığında ya da değerlendirmenin ileri tetkik gerektirdiği durumlarda MRG tercih edilmelidir. Her ikisi de yüksek doğruluk vermektedir (100). Üç boyutlu transvaginal ultrasonografinin (3D-TVUS), adenomyozisin yeri ve lokalizasyonunun saptanmasında yüksek tanısal doğruluk verir (101). Endometrial ablasyon ve medikal tedavi, endomyometrial bileşke görünümünü değiştirerek, adenomyozis tanısını mümkün kılan 3D-TVUS'nin doğruluğunu azaltabilir.

Myometriumda asimetrik kalınlaşma, kist varlığı, endometriumdan yayılan lineer çizgiler, net endomyometrial sınır görülememesi ve artmış myometrial heterojenite olması MRG ve TVUS'un ikisinde de adenomyozis belirtisi olarak değerlendirilir (99). MRG ile değerlendirilmede, endomyometrial bileşkenin 12 mm ve üzeri olacak şekilde kalınlaşması adenomyozisi akla getirmelidir (99). Hastalığın 2D ve 3D-TVUS'de yakalanılabilecek özellikleri Tablo 1 ve 2'de özetlenmiştir (24, 102).

Tablo 1. 2D-TVUS adenomyozis bulguları

Uterin fundusta genişleme
Leiomyomla kaynaklanmayan asimetric büyümüş uterus
Myometrium içindeki kistik alanlar
Azalmış veya artmış ekojenite ile belirsiz olarak tanımlanan myometrial alanda düzensiz eko
Ekojenik odaklardan veya leiomyomdan kaynaklanmayan yelpaze şeklinde ince akustik gölge
Belirsiz endomyometrial bileşke
Myometrium içinde yaygın minimal vaskülerite

Tablo 2. 3D-TVUS adenomyozis bulguları

Kalınlaşmış endomyometrial bileşke
8mm üzeri endomyometrial bileşke
Endomyometrial bileşkede 4mm üzeri kalınlık farkı olması
Endomyometrial bileşke kalınlığı arasında %50'nin üzerinde fark olması
Endomyometrial bileşkenin düzensiz olması veya kesintiye uğraması
Endomyometrial bileşke kalınlığının hiperekoik endometrial doku ile infiltrasyonu

En az bir sonografik kriter ile adenomyozis tanısını inceleyen üç çalışmayı içeren bir meta-analizde, spesifite ve sensitivite sırasıyla %84'e %64 olarak bildirilmiştir (103). Power Doppler ultrasonografi, myometrial kistleri vasküler yapılardan ayırt etmek için kullanılabilir. 2012, 2017 ve 2018'de MRG baz alınarak önerilen üç adenomyozis sınıflandırması Tablo 3'te özetlenmiştir (24, 98).

Özellikle pelvik endometriozis ve adenomyozis şüphesi olan hastalarda invaziv olmayan görüntüleme ile değerlendirilmesi önemlidir. 3D-TVUS, adenomyozis tanısında 2D-TVUS'den daha doğru sonuç verebilir ve hastalığın erken evrelerini yakalama potansiyeline sahiptir. Bu nedenle, derin endometriozisi olan hastalarda danışmanlık ve tedavi planlamasında 3D-TVUS ile değerlendirilmelidir.

Tablo 3. MRG baz alınarak önerilen adenomyozis sınıflandırmaları*

	Kishi ve ark., 2012	Chapron ve ark., 2017	Bazot ve ark., 2018
İnternal myometrium lezyonu	Subtip 1: intrinsik adenomyozis	İnternal myometriumun diffuz adenomyozisi: Endomyometrial bileşke ≥ 12 mm ve maksimum bileşke/myometrium oranı $> \%40$	İnternal adenomyozis - Fokal adenomyozis - Superfisial adenomyozis - Diffüz adenomyozis
Dış myometrium lezyonu	Subtip 2: Ekstrinsik adenomyozis (internal yapılara ulaşmadan)	Dış myometriumun fokal adenomyozisi: Myometriumun posterior veya anterior duvarını etkileyen, bileşkeden sağlıklı bir myometrium alanı ile ayrılmış, kötü tanımlanmış subserozal kitle	Eksternal adenomyozis - Anterior - Posterior
Myometriumdaki lezyonların non-spesifik lokalizasyonu	Subtip 3: Myometrium ile sınırlı intramural etkilenme		-İntamural solid adenomyom -İntamural kistik adenomyoma -Submukozal adenomyom -Subserozal adenomyom
	Belirsiz (diğer subtiplere karşılık gelmez)		

* Bourdon ve ark.'nın sistematik derlemesinden uyarlanmıştır (24).

4.8. Adenomyozisin Tedavi Yönetimi

TVUS ve MRG ile preoperatif tanının gelişmesi ile bireysel hasta yönetim planları mümkün hale gelmiştir. Hastaların yaklaşık %35'i asemptomatik olduğu düşünüldüğünde, bu hasta grubunda müdahaleye gerek yoktur. Semptomatik adenomyozisli bir hastaya danışmanlık yaparken dikkate alınması gereken bazı önemli faktör vardır. Bunlardan ilki, uterus koruyucu yaklaşım olup olmayacağıdır (104). Gebelik istemi yoksa, histerektomi semptomatik diffüz adenomyozis için standart tedavi olmaya devam etmektedir. Uterusta sınırlı bu hastalıkta overler hastanın durumuna korunabilir. Laparatomik, laparoskopik, vajinal ya da robotik cerrahi ile histerektomi yapılabilir.

Adenomyom varlığında ise hastanın kliniği, gebelik istemine göre değerlendirilerek uterus koruyucu yaklaşım ile çıkartılabilir. Diffüz olmayan, uterusun bir bölümünde sınırlı olan durumlarda, uterus koruyucu bir eksizyon için asıl belirleyici olan boyuttur. Diğer belirleyici husus, endometriozis ve uterin fibroidlerin varlığıdır. Tedavi planları eşlik eden patolojiye göre ayarlanmalıdır. Fokal adenomyoziste, cerrahi plan net olmayabilir; çoğu zaman kolayca eksize edilemez ve keskin diseksiyon gerekebilir. Bu durumun, gebelik sırasında %4 rüptür riskini de beraberinde getirdiği bilinmelidir (105). Fokal adenomyoziste wedge rezeksiyon yapılan bir çalışma, daha yüksek sonografik nüks oranı bildirmiştir (%15.0 vs. %69.2; $p < 0.001$) (106). Osada ve ark. uterin rüptür riskinden korunmak için en az 1 cm myometrial kalınlığın korunmasını tavsiye etmiştir (107).

Gebelik istemi olmayan adenomyozise bağlı menorajisi ve/veya dismenoresi olan hastalarda, histeroskopik endomyometriyal ablasyon yapılabilir. Ancak roller-ball endometrial rezeksiyon, penetrasyon derinliği 2 mm üzerinde olan derin adenomyozisi olan hastalarda kötü sonuçlar verebilir ve sonunda histerektomi gerekebilir (108). Uygun hasta kohortunda semptomları azaltmada başarılı sonuçlar elde edilmiştir (109, 110). Histeroskopik endomyometrial ablasyonun başarısız olmasının en önemli nedenlerden biri derin yerleşimli ektopik endometrial bezlerin varlığını devam ettirmesi ve tekrarlayan menorajiye neden olmasıdır. Başarısız olan hasta grubunda levonorgestrel salan rahim içi araç (LNG-RİA) veya histerektomi düşünülebilir.

Uterin arter embolizasyonu da bir tedavi alternatiftir. Fertilité üzerine olan etkileri tartışmalı olsada, semptomatik hastalar üzerinde başarılı sonuçlar bildirilmiştir (111). Uterin arter embolizasyonu histerektomiye reddeden ve hormonal terapiden fayda görmeyen hastalarda bir seçenek olabilir (112). Diğer yandan, Hai ve ark. çalışmalarında ultrason eşliğinde radyofrekans ablasyonun güvenli ve etkili bir alternatif tedavi olabileceğini göstermiştir (113).

Günümüzde kadınlardaki gebelik yaşının ilerlemesi nedeniyle adenomyozisin konservatif tedavisi daha da önem kazanmıştır. Kadınların histerektomiye reddettiği veya gebelik istemi olan durumlarda elbette bu yaklaşım söz konusu değildir. Farmakolojik ajanlar ile olumlu sonuç elde edilemediğinde invaziv prosedürlere geçilmelidir. Adenomyozis için tıbbi tedaviler arasında GnRH agonistleri, LNG-RİA, sürekli oral kontraseptif (OKS), progestojenler, danazol veya aromataz inhibitörleri yer alır. GnRH agonistlerinin uterus hacmini ve adenomyozis ile ilişkili semptomları azalttığı bilinmektedir (114, 115). Ek olarak, infertil hasta grubunda, tedavi sonrası başarılı gebelikler bildiren araştırmalar vardır (116, 117).

Menoraji ve dismenore şikayetleri LNG-RİA lokal etkileri ile azalttığı için tercih edilebilir (118, 119). Endometrial bezlerde atrofiye neden olur ve endometrium içindeki prostaglandini azaltarak dismenoreyi azaltır (120, 121). Ayrıca, östrojen reseptörlerini aşağı regüle eder ve uterus boyutlarının azalmasına neden olur (122). Shaaban ve ark.'nın yaptığı randomize kontrollü bir çalışma, LNG-RİA adenomyozisli hastalarda menstruasyondaki kan kaybı ve ağrının OKS kontrolüne göre daha etkin olduğunu göstermiştir (123). LNG-RİA'nın etkinliğini, MRG ile kontrol eden bir çalışmada ise altı aylık kullanımın endomyometrial bileşkeyi %24 azalttığı farkedilmiştir (124).

Oral progestinler ise lokal reseptör modülasyonu ile etki ederek dismenoreyi azaltmaktadır (125). Danazol kullanımı hakkında sınırlı sayıda araştırma vardır ve progesteron reseptörleri üzerinden atrofiye neden olmaktadır (52). Androjenik yan etkileri ve over kanseri ile ilişkisi nedeniyle çok tercih edilmemektedir. Etkinliklerine dair sınırlı bilgiler mevcut olsa da, literatürde aromataz inhibitörleri ve valproik asit tedavi ajanları arasında yer almıştır (126, 127). Randomize plasebo kontrollü çok merkezli bir çalışma, dienogest adenomyozisle ilişkili ağrı semptomlarında etkili olduğunu göstermiştir (128). Farmakolojik tedavilerin en önemli sınırlaması sitoredüktif olmaması ve tedavi kesildiğinde semptomların tekrarlamasıdır.

4.7. Adenomyoziste Endomyometrial Bileşkenin Önemi

Endomyometrial bileşke, Müllerian orjinlidir ve dış myometriumdan mezenkimal kökenli olmasından dolayı ayrılır (129). Gelişim sırası kemirgenlerde de benzerdir. Bu, çalışmamızda endomyometrial bileşke hasarını oluşturmada ratları tercih edişimizin de sebeplerindendir. Eksternal myometriumdan farklı olarak over steroidlerinin etkisine ve değişikliklere açıktır. Literatürde bu bileşke; stratum bazale, internal myometrium, myometrial bileşke, endomyometrial arayüz, subendometrial myometrium gibi isimler almıştır. Işık mikroskopunda ayırt edici histolojik özelliklerin bulunmamasına rağmen, görüntüleme yöntemleri ile farkedilen (özellikle T2 MRG) özellikler, bu bölgenin önemini gözler önüne sermiştir.

Endomyometrial bileşkenin kalınlığı 2 ila 8 mm arasında değişebilir (130, 131). Gordts ve ark. 35 yaş ve altındaki kadınlarda klinik yönetimi kolaylaştırmak için, T2 MRG'de bileşke kalınlığının parsiyel veya diffüz ≥ 8 mm ve < 12 mm olmasını endomyometrial bileşke hiperplazisi olarak belirtilmiştir. Bileşkenin 12 mm ve üzeri olduğu durumlar, adenomyozis bulgusu olarak değerlendirilebilir (132). Proliferatif fazın ikinci yarısında, maksimum kalınlık artışı olduğu bilinmelidir (133, 134). Menstruel kasılmaların yanlış pozitiflik olarak değerlendirilmemesi için MRG menstruasyon sonrası yapılması tavsiye edilmektedir (132).

Adenomyoziste düz kas hiperplazisine bağlı olarak endomyometrial bileşke diffüz veya fokal kalınlaşmaya uğrayabilir. MRG'de gömülü ektopik endometrial doku, kistik dilate bezler ve parlak odaklar görülebilir (96, 135). Premenopozal kadınlarda OKS ve GnRH analogları kullanımı endomyometrial bileşkenin kalınlığını azaltırken, HRT kullanımı artırabilir. Menopoz sonrası bazı kadınlarda endomyometrial bileşke saptanamayabilir.

Adenomyoziste ilk olayın endomyometrial bileşkenin bozulması ile gerçekleşmeye başlayabileceği patogeneizde önemli bir teoridir (45, 136). Özkan ve ark. çalışmalarında yaptıkları lojistik regresyon analiz ile endometrial örneklemenin, endomyometrial bileşkeyi bozması nedeniyle hastalığın bir kovaryantı olarak tanımlanmıştır (91).

Endomyometrial bileşkenin, trofoblast invazyonu ile derin yerleşimde ve spiral arterlerin fizyolojik değişiminde önemli bir rolü olduğu bilinmektedir (137). Aynı zamanda bu bileşkeyi; preterm doğum, abortus, preeklampsi ve düşük doğum ağırlığı ile ilişkilendiren çalışmalar olmuştur (136, 138).

4.9. Deneyisel Adenomyozis Hayvan Modelleri

Adenomyozis; Rhesus maymunu, babun, köpek, kedi, tavşan ve laboratuvar kemirgenleri gibi birçok hayvan türünde spontan meydana gelebilmektedir (89, 139-142). Lacassagne ve ark. 1935'te ilk deneyisel hayvan modelini, farelere 6 aydan uzun süre östrojen uygulayarak adenomyozis raporlamışlardır (143). Bu rapor sonrasında, adenomyozise neden olan uzun dönem östrojen maruziyetinin, hayvanlarda yüksek serum prolaktin düzeyleriyle ilişkili olduğu gösterilmiştir (144). Tek başına veya östrojen ile uzun süreli progesteron maruziyetinin, adenomyozis gelişimine neden olduğu gösterilmiştir (145, 146). Patogeneizde sistemikten ziyade lokal hiperöstrojenizm suçlanmıştır.

En yaygın iki yöntem; neonatal tamoksifen maruziyeti ve hiperprolaktinemi indükleyerek elde edilen modelleridir. Greaves ve ark. CD-1 farelerde spontan adenomyozisin altı aydan itibaren yaşa bağlı olarak ortaya çıkabileceğini belirtmiştir (147). Neonatal 1. ve 5. günlerde oral tamoksifen (1 mg/kg) maruziyeti ile CD-1 farelerde adenomyozis oluşumu ve özellikle internal

myometriumun anormal gelişimi ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Başarı oranının %100 olduğunu belirten veriler literatürde mevcuttur (148). Tamoksifen, CD-1 farelerde hücre dışı matrislerin bileşiminde değişiklik yaparak adenomyozis gelişimini destekliyor olabilir (102). Meme tümörü geliştirilen SHN ve SLN fare suşlarında adenomyozis insidansı yüksektir (149). Çünkü, SHN fare modellerinde, artmış matriks metalloproteinaz-14 ve lamininin erken dönem farklılaşması endometrial dokuların invazyonunu kolaylaştırır (150, 151).

Tamoksifen maruziyetini sonrası tüm uteruslarda internal myometrial incelleme, devamlılık eksikliği, düzensizlik ve sirküler kas tabakasında azalma görülmektedir. Ancak, neonatal C57/BL6J farelerine tamoksifen uygulanması myometriumda bozulmalara yol açsada, adenomyozis gelişimi ile sonuçlanmamaktadır (152). Bu çalışma bize göstermiştir ki internal myometriumdaki bozulma, tamoksifen ile ilişkili adenomyozis gelişiminin tek açıklaması olamaz. Adenomyozisin hem myometriumun hem de endometrial stromanın bir hastalığı olduğu hipotezini desteklediği de düşünülebilir.

Myometriumun gelişimi ve farklılaşması, uterin epitelyal ve stromal hücreler tarafından yönlendirilir. Postpartum 1-60. günlerde, BALB/c farelerden alınan uterus ile uterin mezenşimal epitel ile birlikte kültürlendiğinde, daha fazla düz kas üretilebilmiştir. Uterus epitelinin myometrium farklılaşmasında önemli bir etkisi vardır (70, 153).

Uzun süreli indüksiyon nedeniyle, sıklıkla kullanılsa da, östrojen veya progesteron uygulaması gibi hormonal manipülasyon yöntemleri bulunmaktadır (154, 155). Ancak bu yöntemler de suşa özgüdür. CD-1 farelerde tamoksifen maruziyeti ile adenomyozis oluştururken, Dinulescu ve ark. aktif mutant K-ras'ın latent alellerini taşıyan farelerde yalnızca endometriozis geliştirmiştir (156). C57/BL6J farelerinde de tamoksifen uygulamasından sonra adenomyozis oluşmadığı görülmüştür (152). Bu durum etyolojik farklılığa da dikkat çekebilir.

Türün yanı sıra hormonal manipülasyonun zamanında önemli bir belirleyicidir. Neonatal farelerde model oluşturulabilirken, yetişkin olanlarında mümkün olmamıştır (157, 158). Tamoksifen modellerinde veriliş yolu dahi modeli etkilemektedir. Örneğin, subkutan verilerek adenomyozis hiç oluşturulmadığı gibi adenokarsinom oluşumuna neden olunabileceği görülmüştür (159).

Adenomyozis fare modellerinden ikincisi ise SHN ve SLN fare suşlarında hipofiz bezinin uterus hornuna ya da renal kapsülün altına ektopik implantasyonu ile hiperprolaktinemi indüklenerek oluşturulmasıdır (144, 160, 161). Başarı oranının %90 olduğu belirtilmiştir (148). Yalnızca meme tümörü yüksek insidansına sahip farelerde uygulanabilir. Önemli dezavantajlarından birisi; hiperprolaktineminin duyu nöronlarını modüle etmesi ve ağrı bozukluklarına neden olmasıdır. Adenomyozis ve ağrı ilişkisi üzerine yapılabilecek deney modelleri önünde önemli bir engeldir.

Hiperprolaktinemiye indüklemek için serotonin alım inhibitörü olan fluoksetinin kullanıldığı bir çalışmada, adenomyozis ooferektomize olmayan grupta gelişmiştir (57). Bu bize yüksek prolaktin konsantrasyonlarının, over steroidlerinin varlığında myometrial dejenerasyona ve endometrial invazyona neden olabileceğini göstermektedir. Hiperprolaktineminin rolü insanlardaki hastalığın patogenezinde hala tartışmalıdır. Hipofiz greft modelinde en erken uterin değişiklik, endometrial stromal hücrelerin vasküler ve lenfatik ağ boyunca iç myometriuma invazyonudur. Hiperprolaktinemi lokal olarak artmış vaskülariteyi indükleyerek adenomyozisi indüklüyor olabilir (102). Stromal hücreler myometrium içinde internal ve eksternal düz kas tabakaları arasında yer değiştirir ve vasküler yapılara bitişik myometriumda hücre geçirgenliği ve apoptozis artabilir (162).

İnsan uterusundaki kompleks yapının aksine, kemirgen uterusunda internal ve eksternal myometrium doku yapısındaki fark, iç kısım sirküler ve dış kısım longitudinal kas katmanları arasındaki farklı oryantasyonu nedeniyle rahatlıkla gözlenebilir. Farelerde oluşturulan adenomyoziste, myometrium ve mezenşimin düzensizliği belirgindir. İç myometrial tabakada bozulma meydana gelir; endometrial bez, stroma içe doğru büyür ve uterus büyümesi izlenebilir. Myometriumda interstisyel kollajen ile genişleme ve düzensiz kas yapılarında kalınlaşmalar olabilir (22).

Tamoksifen maruziyeti ile indüklenen model hipofiz bezinin renal kapsüle implante edildiği yaklaşık 7 hafta süren modele göre daha kolay olması ve kısa sürmesi nedeniyle daha fazla literatürde tercih edilmiştir. Hipofiz bezinin uygun eksizyonu ve renal kapsüle implantı cerrahi olarak araştırmacıları zorlayabilir. Ancak sadece yaygın olan modelleri deetaylandırsak da, literatürde başka modellerde bulunmaktadır. Adenomyozisin olası patogenezlerinden yola çıkarak oluşturulmuş mevcut bazı modellerin; türleri, indüksiyon yöntemleri ve dozları Tablo 4'te görülmektedir.

Tablo 4. Adenomyozis indüksiyon teknikleri, süresi ve başarı insidansları

Patogenez	Tür	İndüksiyon Tekniği	İndüksiyon Süresi	Başarı oranı*	Referans
Östrojen	Tavşan	5 mg/mL stilbestrol, i.m.	2 yıl	–	(163)
Östrojen	Rhesus maymunu	200 mg estradiol içeren implant, s.c.	16 ay	–	(164)
Tamoksifen	CD-1 fare	Neonatal 2-5. günde oral tamoksifen	42-90 gün	%100	(22)
Dietilstilbestrol	CD-1 fare	Gebeliğin 9-16. günlerinde maruziyet	12-18 ay	1/22	(165)
Prolaktin	SHN ve SLN fare	Ektopik hipofiz implantı	90 gün	%100	(144)
Prolaktin	SHN fare	30-50 gün dopamin antagonisti, s.c.	70-90 gün	%70	(166)
Prolaktin	Wistar rat	2 mg/kg fluoksetin	98 gün	-	(57)
Prolaktin	Wistar rat	Ektopik hipofiz implantı	12 ay	6/8	(35)
Transgenik (β -catenin)	β -catenin fare	β -catenin ekspresyonu	4 ay	%40	(167)
Transgenik (PGD2)	PGD2 sentezi bozulmuş fareler	L-PGDS ve H-PGDS geninin işlevsiz kılınması ile PGD2 üretilemez	6 ay	%35	(168)

* Başarı oranı hakkında literatürde net bir veri olmayan teknikler “–” ile belirtilmiştir.

5. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamız Ankara Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan etik onay almıştır (Etik Kurul Dosya No: 2022-123 Karar No: 2022-19-168). Erişkin dişi Wistar-Albino ratlar, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları ve Araştırma Laboratuvarı'ndan temin edilmiştir. Ratların bakımı ve çalışmaya ilişkin tüm işlemler Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları ve Araştırma Laboratuvarı'nda yürütülmüştür. Tüm prosedürler, 1964 Helsinki Deklarasyonu ve Genova Sözleşmesi'ne göre kabul edilen etik hayvan bakım standartlarına uygun olarak yapılmıştır.

5.1. Deneysel Adenomyozis Rat Modelinin Oluşturulması ve Deney Protokolü

Araştırmamızda adenomyozis modeli oluşturmak için yetişkin dişi, gebe olmayan Wistar-Albino ratlar kullanıldı. Deney günü tüm ratlar 10-14 hafta arasında idi. Cerrahi işlemler gündüz 09.00-15.00 saatleri arasında steril koşullarda gerçekleştirildi. Operasyon sonrasında ratlar tek tek barındırıldı. Her gün 24°C sıcaklıkta ve 12 saat aydınlık/12 saat karanlık döngüsünde iklim kontrollü bir odada tutuldu, standart diyetler verildi. Hipotermiye karşı korumak için deney günü operasyon masasına bir ısıtıcı yerleştirildi. Operasyon süresi, her bir rat için yaklaşık 15 dakika ile sınırlıydı.

Bu çalışmada yeni bir deneysel model sunduğumuz gerçeği göz önüne alındığında, örneklem büyüklüğü tahmini mümkün değildi. Model oluşturulacak rat sayısının 20 olarak belirlenmesi, literatürdeki daha önceki yeni deneysel model çalışmalarına dayanmaktadır (169). Yeni bir deneysel model sunmamız gereğiyle bir kontrol grubu kullanılmadı, yalnızca sham grubu kullanıldı. Adenomyozis grubunda 20 ve sham grubunda 6 rat olmak üzere toplam 26 rat dahil edildi;

- Grup 1: Adenomyozis deney grubu
- Grup 2: Sham grubu

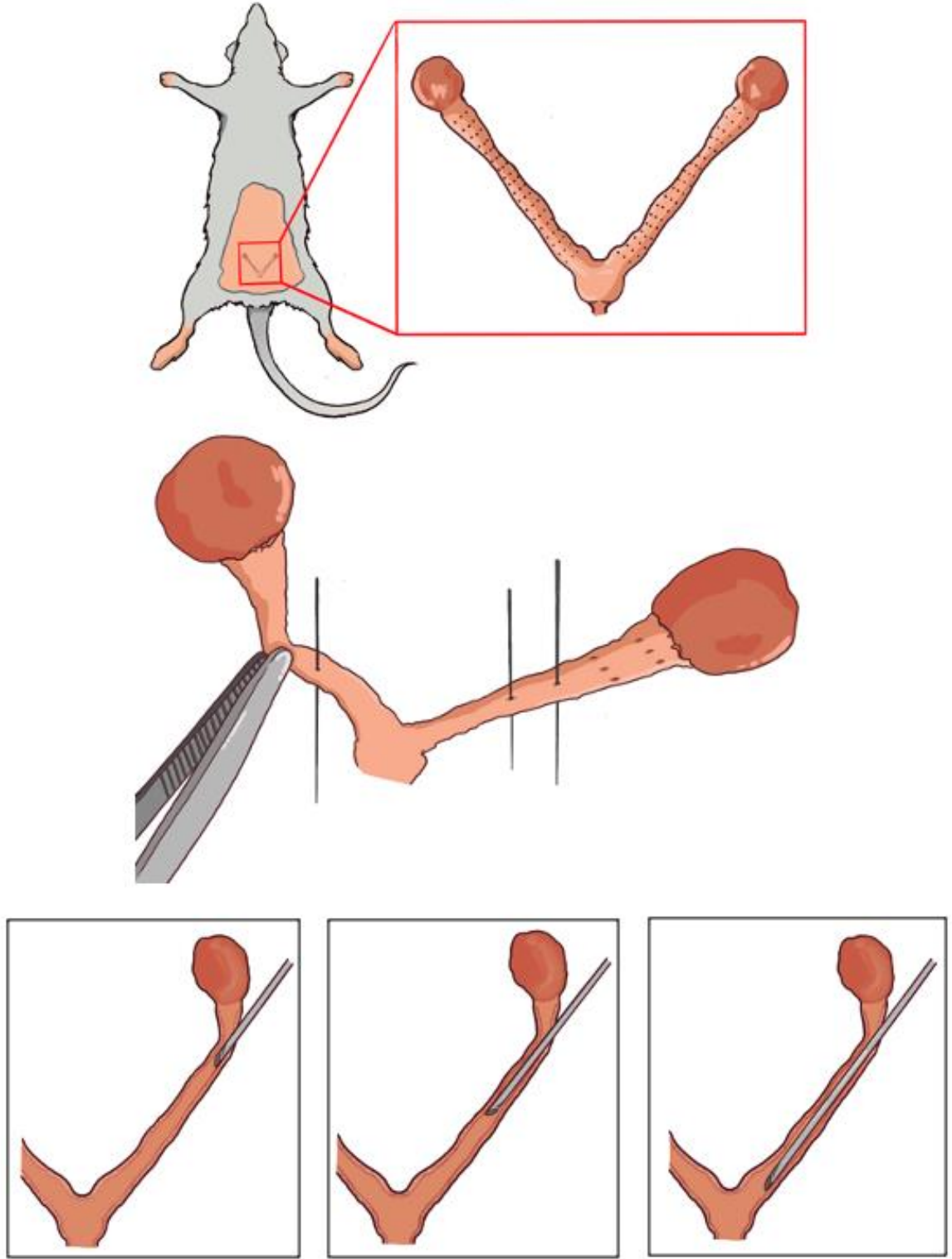
olmak üzere ratlar randomize olarak ikiye ayrıldı.

Deney grubu ratların operasyon öncesi anestezisi intraperitoneal 90mg/kg ketamin ve 10mg/kg ksilazin ile yapıldı. Pençe kısırtma testi ile uyarılara tepkisi olmadığı kontrol edilerek doğrulandı. Ardından abdominal derisi traş edildi ve %10 povidon iyot solüsyonu ile antisepsi sağlandı.

Adenomyozis deney modelimizi oluşturma tekniğimiz şekil 1’de illüstre edilerek anlatılmıştır. İlk olarak, steril teknik ile yaklaşık 5 cm’lik vertikal bir insizyon ile batına girildi ve her iki uterin horn vizualize edildi (Resim 1). Sonrasında, 26G steril iğne ucu ile yaklaşık 3 mm aralıklarla myometrium duvarlarına eksternal yüzden hasar verildi (Resim 2). Takiben her iki uterin horn distalinden sırasıyla 21G steril iğne ucu ile uterin kaviteye girildi ve en proksimale kadar dört duvar kürete edilir gibi çizilerek endomyometrial bileşkeye hasar verildi (Resim 3). Bu işlem sırasında laserasyon riskini azaltmak için iğne ucu keskinliğini azaltacak kadar köreltilmesi kolaylık sağlayabilir. Adezyon oluşumunu ve periton boşluğunun kurumasını sınırlamak için cerrahi alana ve periton boşluğuna 2 ml salin uygulandı. Vertikal periton ve cilt insizyonu usulüne uygun 2-0 Vicryl (Ethicon, Somerville, NJ) sutur ile kapatıldı. Suture hattı %10 povidon iyot solüsyonu ile dezenfekte edildi.

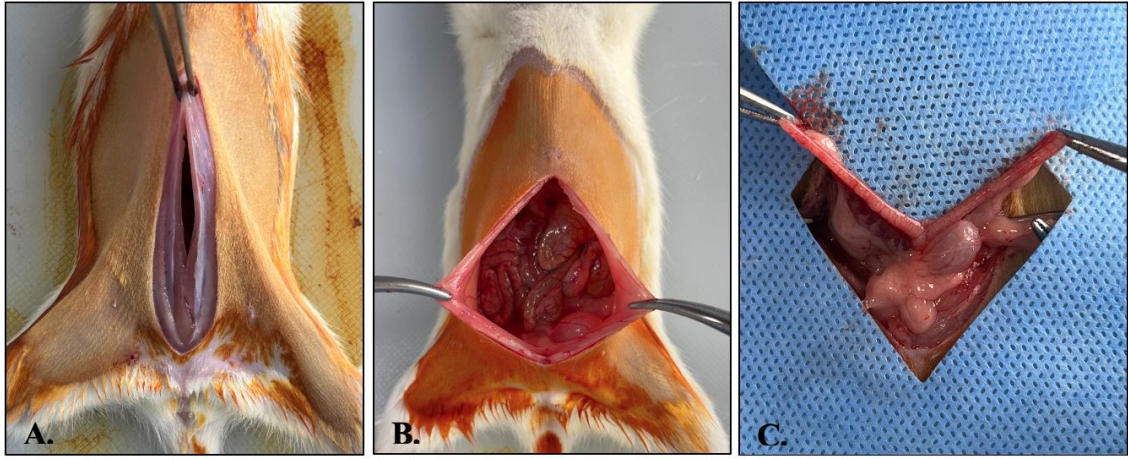
Sham grubuna ise sadece steril teknik kullanılarak yaklaşık 5 cm’lik vertikal bir insizyon ile batına girildi ve periton boşluğuna 2 ml salin uygulanıp herhangi bir batın içi cerrahi işlem yapılmadan, periton ve cilt 2-0 Vicryl (Ethicon, Somerville, NJ) sutur ile usulüne uygun kapatıldı.

Çalışma süresi boyunca, yara enfeksiyonu, dehisens veya perioperatif komplikasyonların belirtileri açısından ratlar her gün gözlemlendi. Her iki grup ratlar, ameliyattan iki hafta sonra yüksek doz anestezi uygulanarak sakrifiye edildi. Takiben adenomyozisin varlığını histopatolojik olarak doğrulamak amacıyla, abdominal vertikal kesi ile tekrar batına girilerek histerektomi yapıldı. Ratları operasyon sonrası ikinci haftada sakrifiye etme kararı, yaptığımız pilot çalışmaya dayanmaktadır. Her bir ratın uterusu %10 nötral formalin içeresinde Ankara Üniversitesi Tıp Fakóltesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarı’na değerlendirilmek üzere gönderildi.



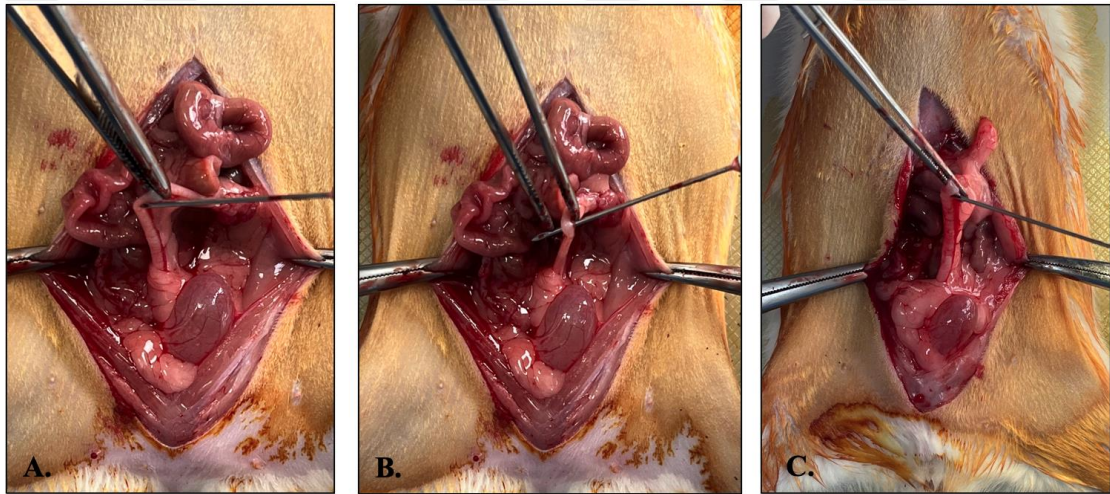
Şekil 1. Adenomyozis deney modelinde eksternal ve internal olarak uterusu verilen hasarın illüstrasyonu

Medikal illüstratör: Begüm Üçgüler



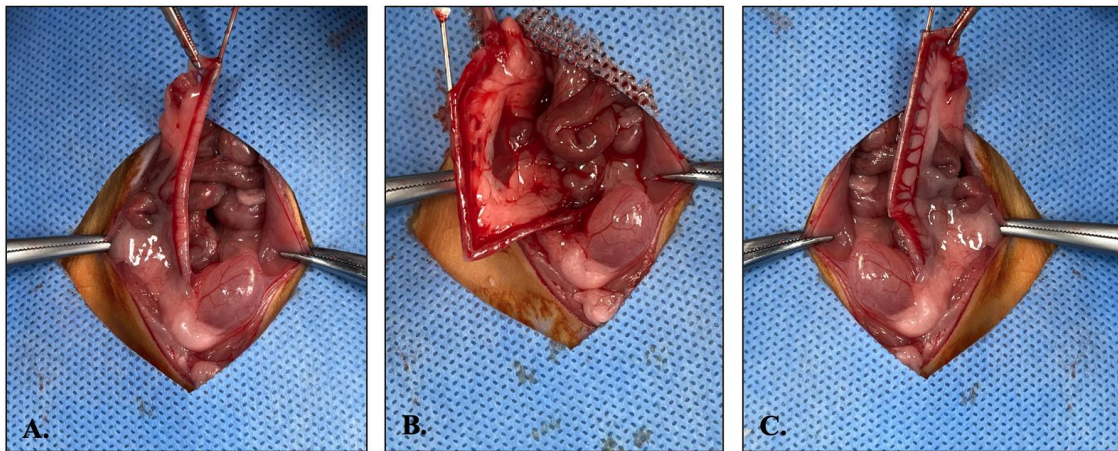
Resim 1. Abdominal vertikal insizyon sonrası uterusun eksplorasyonu

A. Steril teknik ile yaklaşık 5 cm’lik vertikal insizyon B. Batın eksplorasyonu C. Her iki hornun vizualize edildiği uterus



Resim 2. 26G steril iğne ucu ile myometriuma hasar verilışı

A., B., C. Yaklaşık 3 mm aralıklarla myometrium eksternal yüzden tam kat hasarlanıyor



Resim 3. 21G steril iğne ucu ile endomyometrial bileşkeye hasar verilışı

A. Uterin horn distalinden 21G steril iğne ucu ile perfora edilerek kaviteye giriliyor B. ve C. Uterusun en proksimalden en distalde kürete edilir gibi çiziliyor

5.2. Uterus Dokusunda Adenomyozis Aktivitesinin Histopatolojik Açıdan Değerlendirilmesi

Dokuların takibi, kesit alma ve boyama işlemleri Ankara Üniversitesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarı'nda gerçekleştirildi. Deney ve sham gruplarından alınan uterus dokusu örnekleri, ışık mikroskopik inceleme için %10 nötral formalin solüsyonu içerisine konularak 72 saat süre ile fikse edildi.

5.2.1. Doku Takip Protokolü

Dehidratasyon için %70, %80, %90'lık alkollerde ve 2 kez saf alkolden geçirilerek, sonrasında ksilen solüsyonunda şeffaflaştırılarak parafin bloklara gömüldü.

Dokuların takibi:

1. %70 alkol 1 gün
2. %80 alkol 1 gün
3. %90 alkol 1 gün
4. %96 alkol 1 gün
5. %100 alkol 1 gün
6. %100 alkol 1 saat (1 kez)
7. Ksilen 10 dakika (3 kez)
8. Dokular eritilmiş parafin içerisinde 58°C etüvde 1 kez 15 dakika bekletildi ve sonrasında tekrar etüv içerisinde 4 saat bekletildi.
9. Dokular bloklandı.

Bu bloklardan Leica RM 2125 RT marka mikrotom ile 4 mikrometre kalınlığında kesitler alındı. Rutin boyama için normal lam üzerine alınan kesitler deparafinize edildikten sonra genel değerlendirme için Hematoksilen-Eozin (H&E) ile boyandı. Boyanan kesitler Zeiss-Axioscope A1 markalı ışık mikroskobu altında incelendi.

5.2.2. H&E Boyama Yöntemi

1. Deparafinizasyon

- Dokular parafinden arınması için 65°C'lik etüvde 1 gece bekletildi.
- Ertesi sabah 2 saat ksilen solüsyonunda bekletilerek preparatlar temizlendi.

2. Rehidratasyon

- Saf alkolde 1 dakika

- %90 alkolde 1 dakika
- %80 alkolde 1 dakika
- %70 alkolde 1 dakika
- Çeşme suyunda yıkama

3. Boyama

- Hematoksilen 1 dakika

4. Akarsuda bolca yıkandı

5. Boyama

- Eozin 3 dakika

6. Dehidratasyon

- %70 alkolde yıkama
- %80 alkolde yıkama
- %90 alkolde yıkama
- Saf alkolde yıkama

7. Xylene solüsyonunda bekletildi

8. Entellan ile kapatıldı.

5.2.3. Rat Uteruslarının Histopatolojik Değerlendirilmesi

Çalışmada yer alan her iki gruba ait uterus dokularının, H&E ile boyanmış kesitlerin ayrı ayrı ışık mikroskobu altında değerlendirilmesi ve histopatolojik açıdan incelenmesi sonucu elde edilen verileri içermektedir. Her bir rat uterusu için rastgele seçilen en az 4 farklı görsel alan dikkate alındı. Işık mikroskopik inceleme birinci gözlemci tarafından yapıldı ve ikinci gözlemci tarafından doğrulandı ve her ikisi de körleme olarak değerlendirdi.

5.2.4. Adenomyozis Aktivite Skoru

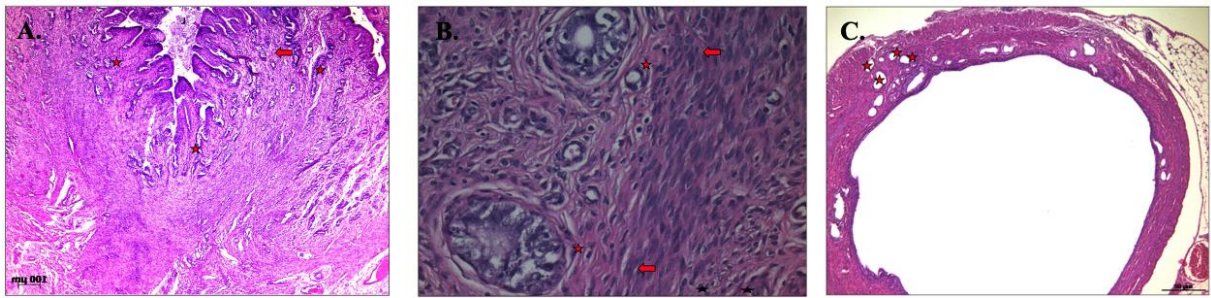
Ektopik endometriumun myometriuma invazyon derecesi; Bird ve ark'nın tanımladığı kriterlere göre değerlendirilmiştir (1). Derece 1; ektopik endometriumun yüzeysel myometriuma penetrasyonu, Derece 2; ektopik endometriumun orta myometriuma kadar olan penetrasyonu, Derece 3; ektopik endometriumun orta myometriumun ötesine penetrasyonu olarak değerlendirilmiştir.

5.3. İstatistiksel Analiz

Araştırmamızda verilerin analizi IBM SPSS Statistics, versiyon 25.0 (IBM Corp., Armonk, NY, USA) programı kullanıldı. Her iki grubun adenomyozis tanı oranı ve myometrial infiltrasyon derecesinin karşılaştırılmasında Mann-Whitney U Testi kullanıldı. 0.05'ten küçük p değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

6. BULGULAR

Tüm deney süresince önemli bir komplikasyon görülmedi ve hiçbir rat öldü. Resim 4'te deneyizdeki histopatolojik örneklerde görüldüğü üzere, ektopik endometriumun myometrial infiltrasyon derecesi, daha önce tanımlanan Bird ve ark. kriterlerine göre I, II ve III olarak derecelendirildi ve myometriumda ektopik endometrium gözlenmediğinde Derece 0 olarak raporlanmıştır (1).



Resim 4. Ektopik endometriumun myometrial infiltrasyon dereceleri

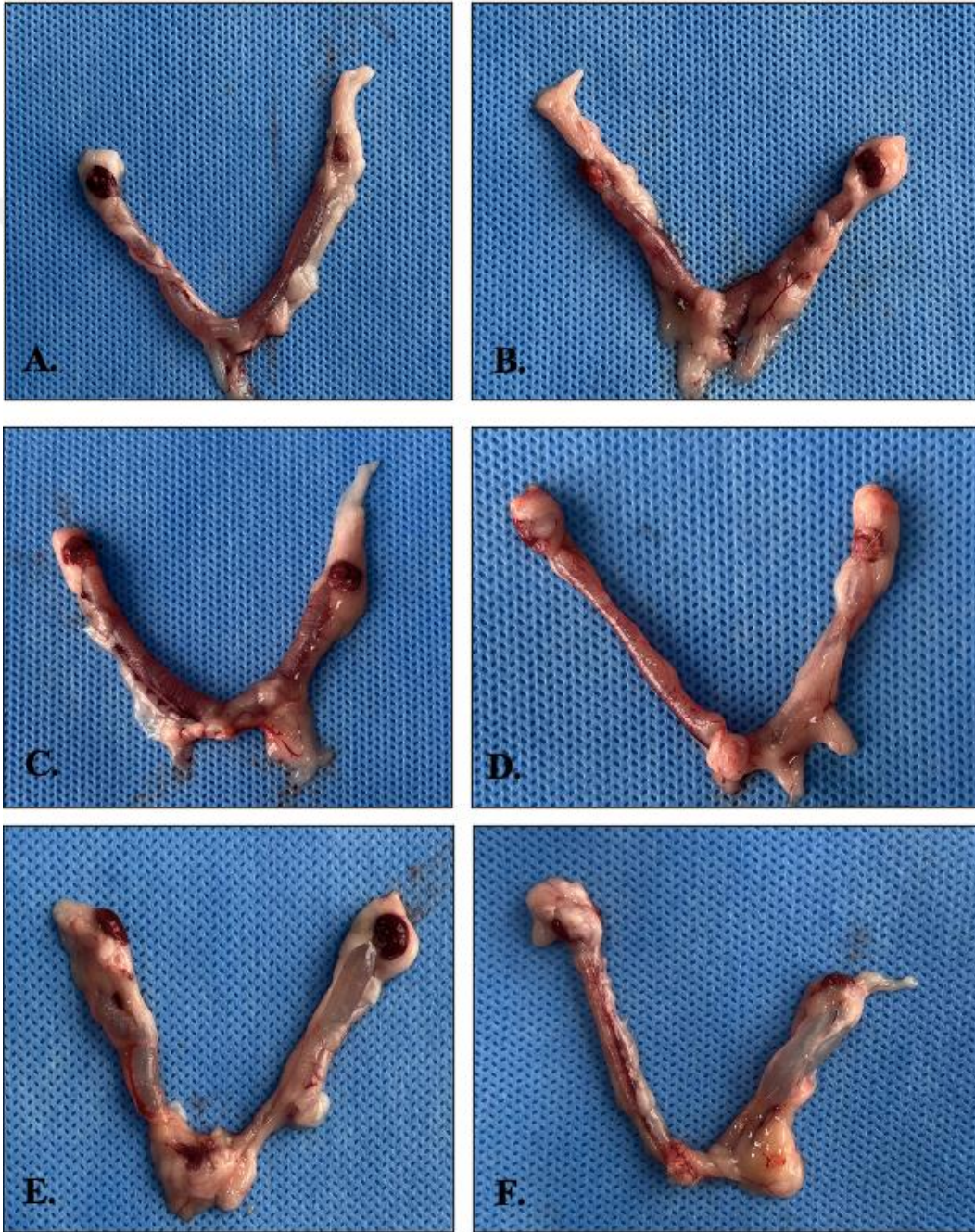
A. Derece 0 B. Derece I C. Derece II

Sham grubuna ait üç uterusun makroskopik görüntüsü Resim 5'te görülmektedir. Sham grubu uteruslarının makroskopik uterus görüntüleri normal sınırlar içerisindeydi. Uterusların histolojik değerlendirilmesinde, hiçbirinde adenomyotik lezyona rastlanmadı (n=6, %0) ve her bir uterusun myometrial infiltrasyonu Derece 0 olarak raporlandı.

Deney grubuna ait altı uterusun makroskopik görüntüsü Resim 6'da gösterilmiştir. Uterusların büyümüş ve ödematöz olduğu makroskopik olarak izlenmiştir. Deney grubundaki rat uteruslarının tamamı adenomyotik lezyonlara sahipti (n=20, %100) ve sham grubu ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlıydı (%100 vs. %0, $p < 0.001$). Deney grubunda infiltrasyonun Derece I (n=13, %65) ve Derece II (n=7, %35) olarak raporlandı. Derece 0 ve Derece III hiçbirinde görülmedi.



Resim 5. Sham grubuna ait üç uterusun makroskopik görüntüsü

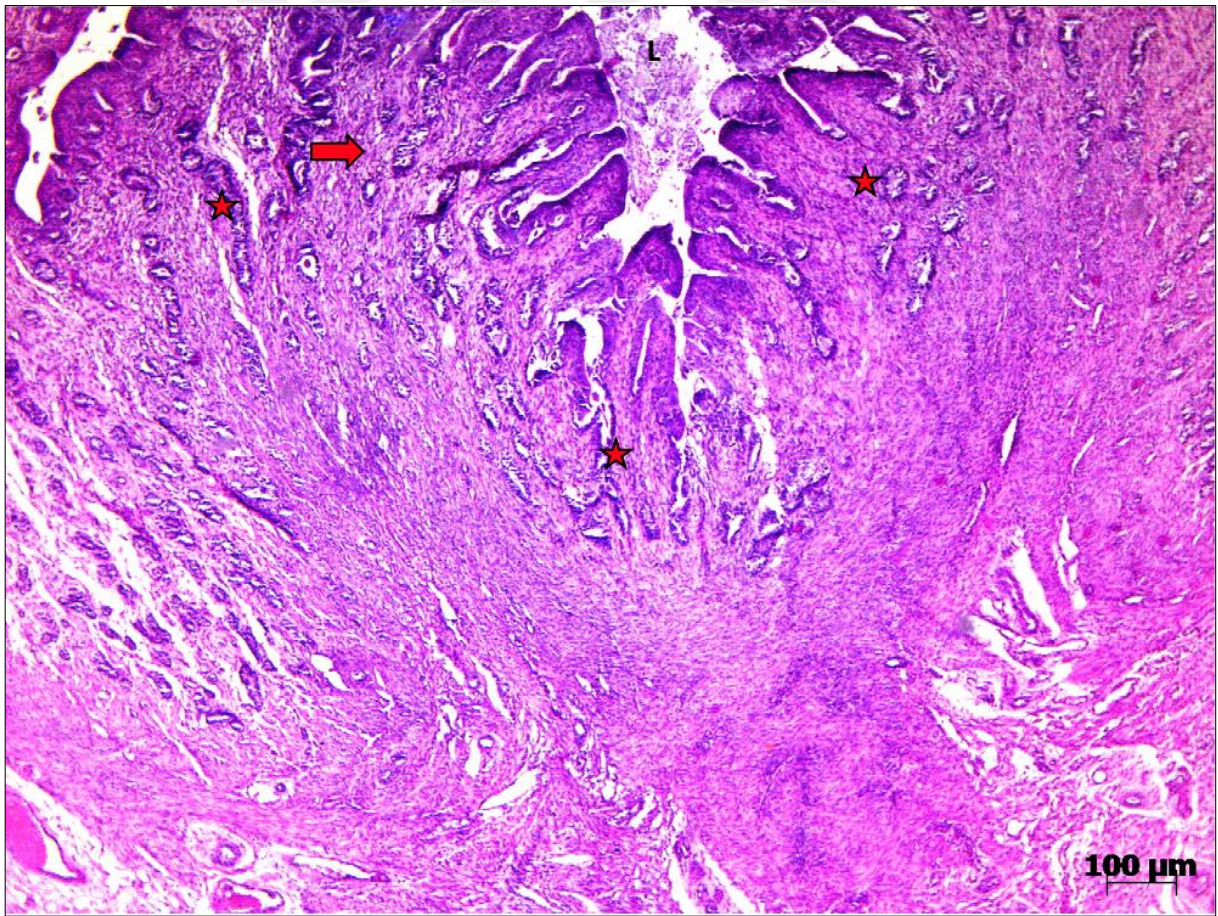


Resim 6. Deney grubuna ait ödematöz bulguları seçilen altı uterusun makroskopik görüntüsü

6.1. Işık Mikroskopik Bulguları

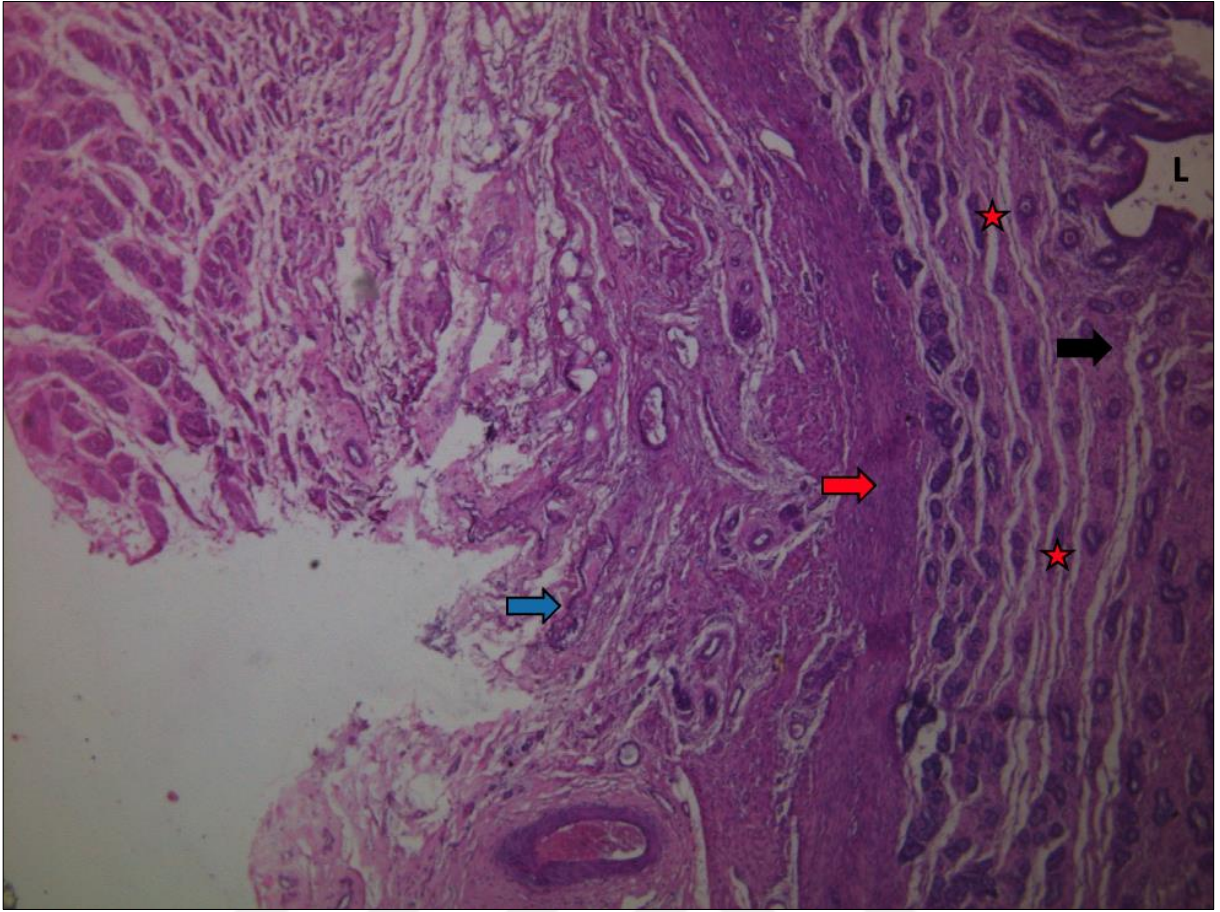
6.1.1. Sham Grubu Uterus Dokusu Histopatolojik Değerlendirmesi

H&E ile boyanan sham grubu uterus dokusunun histolojik inceleme sonucu kesitleri ayrı ayrı ışık mikroskobu altında değerlendirildiğinde, uterusun histolojik yapısının normal bir görünüme sahip olduğu gözlemlendi. Uterusa ait endometrium, myometrium ve perimetrium genel histolojik yapısının normal görünümde olduğu, tek katlı silli silindirik epitel hücrelerinden oluşan endometrium epitelinde devamlılığın korunduğu ve epitel dökülmesinin olmadığı, endometrium bezlerinin normal yapısını koruduğu ve dilatasyonun olmadığı, endometriuma ait gevşek bağ dokusu yapısında bulunan lamina propriyanın normal görünümünü koruduğu izlenmiştir. Bağ dokusu yapısı ile birbirinden ayrılmış düz kas demetlerinden oluşan myometriumda ise kalınlaşmanın olmadığı, kas demetleri arasındaki gevşek bağ dokusu alanlarında yer alan damarlarda sayıca artış olmadığı gözlenmiştir. Mezotel ve altındaki gevşek bağ dokusundan oluşan perimetrium tabakasında kalınlaşmanın olmadığı ve normal yapısını koruduğu izlenmiştir (Resim 7, 8).



Resim 7. Sham grubunda uterus doku kesiti

L: Lümen, Ok işareti: Endometrium, Asteriks: Bez yapıları (H&E X10)



Resim 8. Sham grubunda uterus doku kesitinde endometrium ve myometrium

L: Lümen, Siyah ok işareti: Endometrium, Kırmızı ok işareti: Myometrium, Mavi ok işareti: Perimetrium, Asteriks: Bez yapıları (H&E X40)

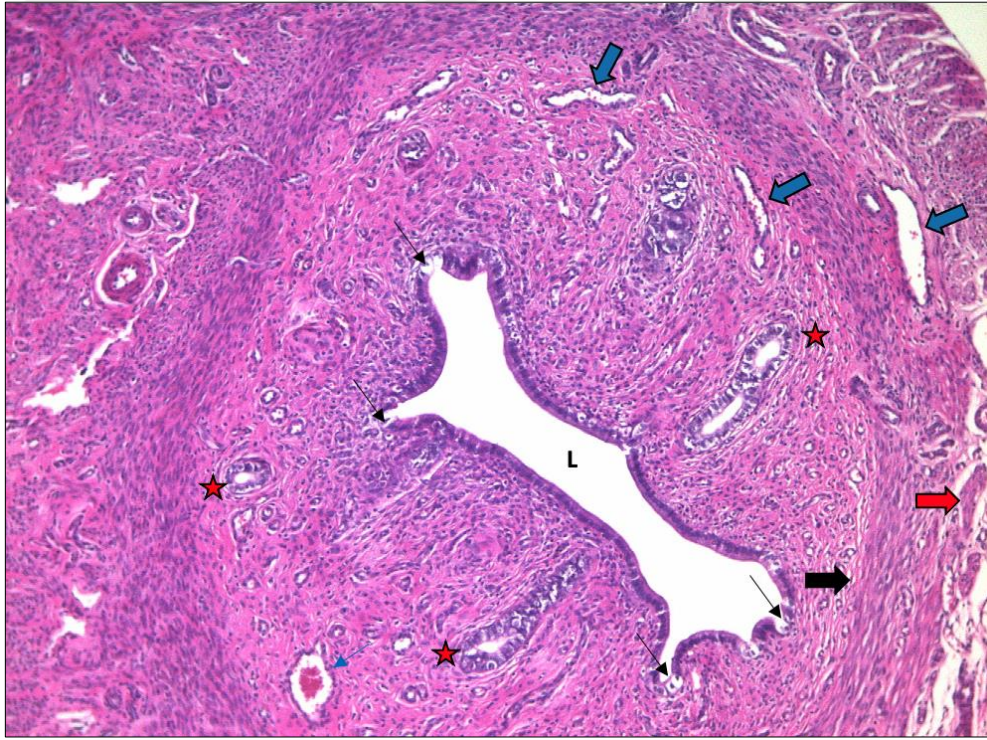
6.1.2. Deney Grubu Uterus Dokusu Histopatolojik Değerlendirmesi

H&E ile boyanan deney grubu uterus dokusunun histolojik incelemesinde; endometriuma ait epitel hücrelerinin dejenere olduğu ve dökülmelerin gerçekleştiği, endometrium tabakasında kalınlaşmanın olduğu, endometrial bez yapılarının ve stromanın myometriuma doğru invaze olarak endometrium-myometrium sınır ayrımının düzensizliğe uğradığı gözlemlendi (Resim 9). Myometrium tabakasında bazı bölgelerde belirgin bir incelmeye olduğu, yapısal bütünlüğün ve devamlılığın korunamadığı, kas demetlerinin düzensiz olduğu, kas demetleri arasında yer alan ve damarları çevreleyen gevşek bağ dokusu alanlarında enflamatuar hücre infiltrasyonlarının ve hemorajik alanların varlığı gözlemlendi. Mezotel ve altındaki gevşek bağ dokusundan oluşan perimetrium tabakasında ise gevşek bağ dokusuyla çevrili damarların sayısında ve enflamatuar hücre sayısında artış gözlemlendi. Deney grubu ratlara ait uterus doku kesitlerindeki histopatolojik özellikler aşağıda gösterilmektedir (Resim 10-24).



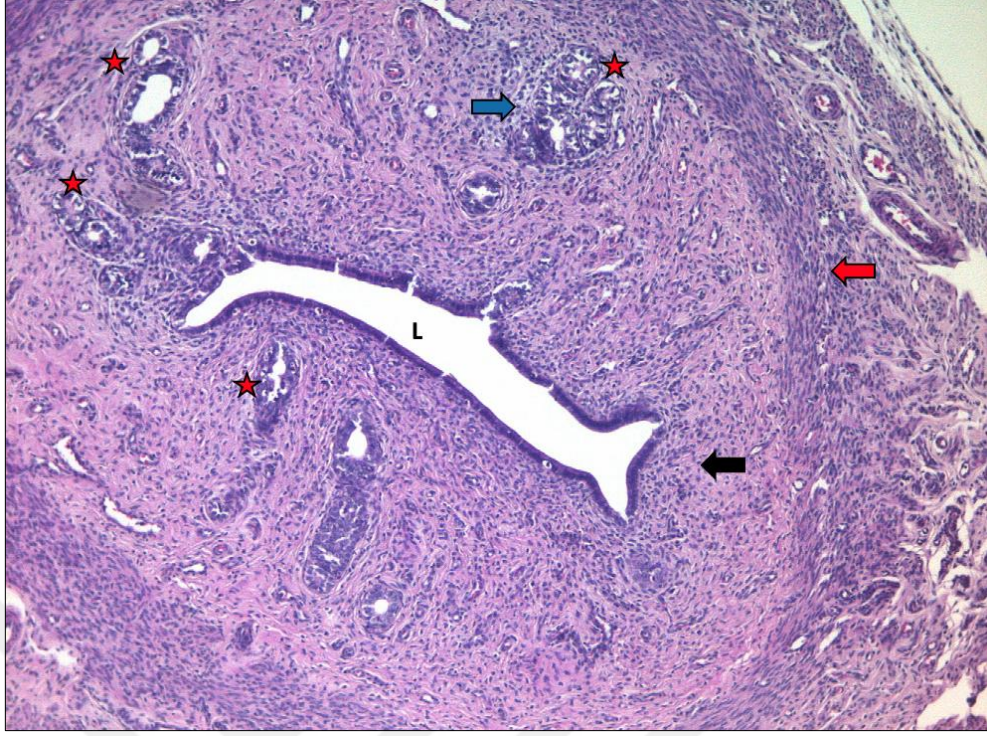
Resim 9. Deney grubunda endometrial epitel hücrelerinin dejenerasyonu, silyumların kaybı ve myometriuma doğru invaze bez yapıları

Siyah ince ok işareti: Endometrial epitel hücrelerinin dejenerasyonu ve silyumların kaybı ve myometriuma doğru invaze bez yapıları L: Lümen, Siyah kalın ok işareti: Endometrium, Kırmızı ok işareti: Myometrium, Mavi ok işareti: Perimetrium (H&E X10)



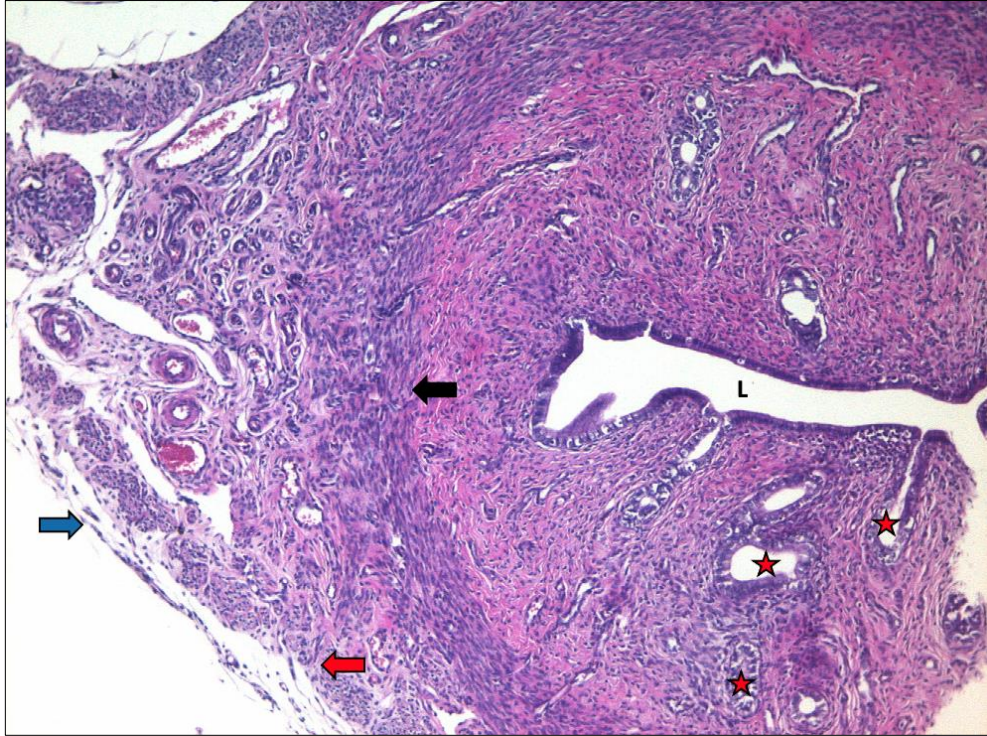
Resim 10. Deney grubunda endometrial epitel hücrelerinin dejenerasyonu ve bez yapıları

İnce siyah ok işareti: Endometrial epitel hücrelerinin dejenerasyonu ve silyaların kaybı; L: Lümen, Siyah kalın ok işareti: Endometrium, Asteriks: Bez yapıları, Kırmızı ok işareti: Myometrium, Mavi ok işareti: Hemorajik alanlar (H&E X10)



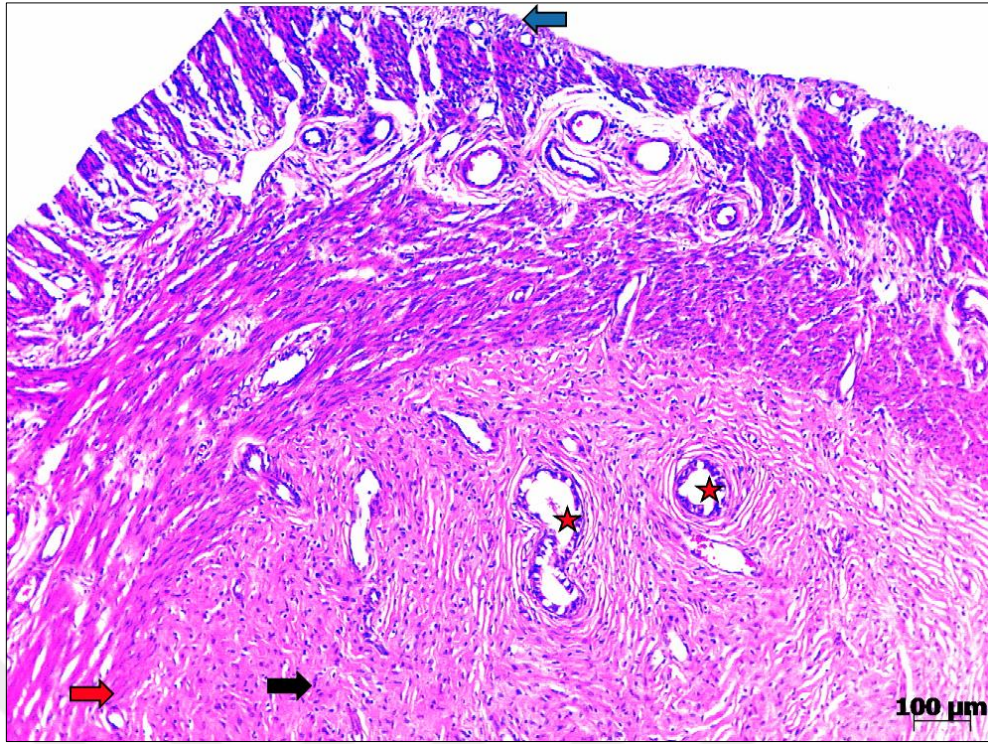
Resim 11. Deney grubunda bez yapılarının dejenerasyonu ve lenfositik infiltrasyon

Mavi ok işareti: Bez yapılarının dejenerasyonu ve lenfositik infiltrasyon; L: Lümen, Siyah ok işareti: Endometrium, Kırmızı ok işareti: Myometrium, Asteriks: Bez yapılarının dejenerasyonu (H&E X40)



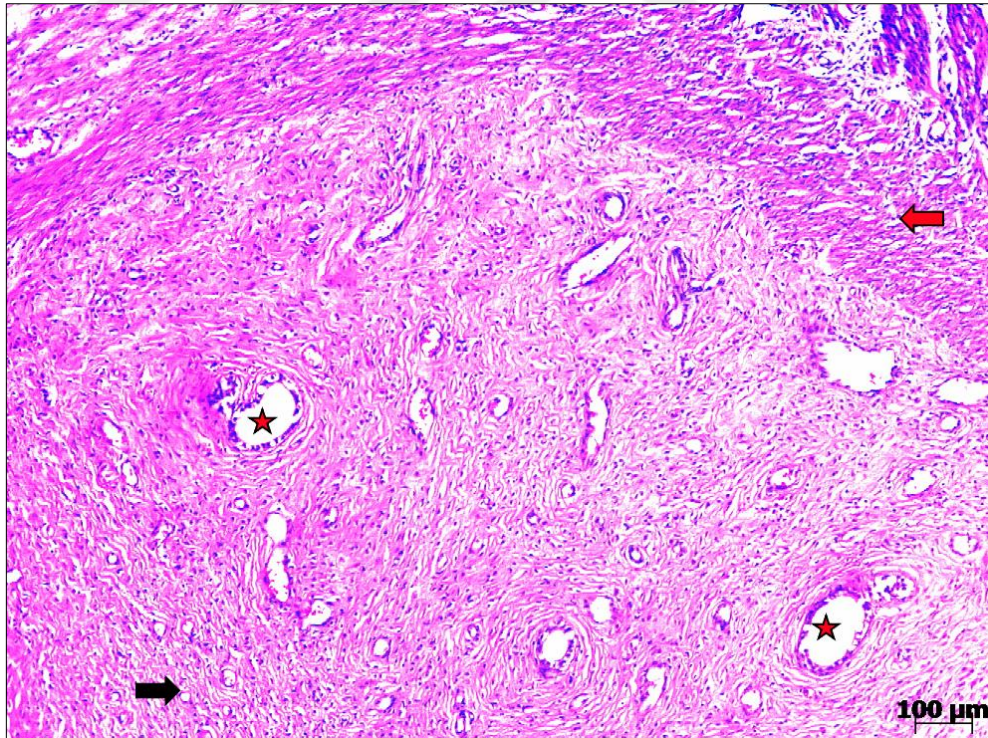
Resim 12. Deney grubunda dilate bez yapıları

Asteriks: Dilate bez yapıları, L: Lümen, Siyah ok işareti: Endometrium, Kırmızı ok işareti: Myometrium, Mavi ok işareti: Perimetrium (H&E X10)



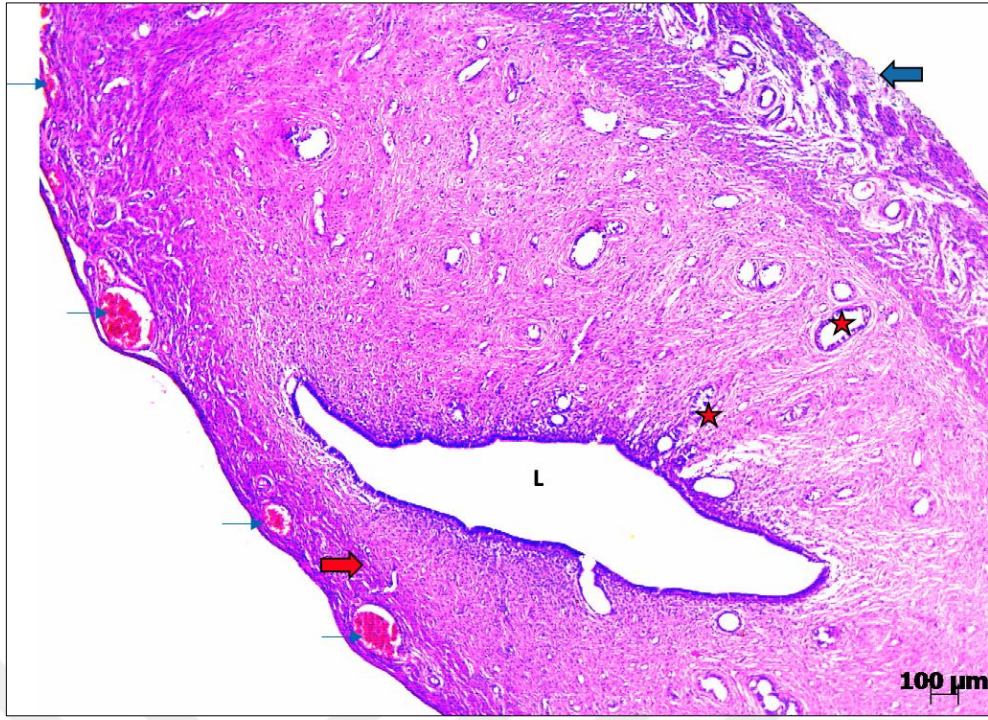
Resim 13. Deney grubunda dilate bez yapıları ve myometrium

Siyah ok işareti: Endometrium, Kırmızı ok işareti: Myometrium, Mavi ok işareti: Perimetrium, Asteriks: Bez yapıları (H&E X10)



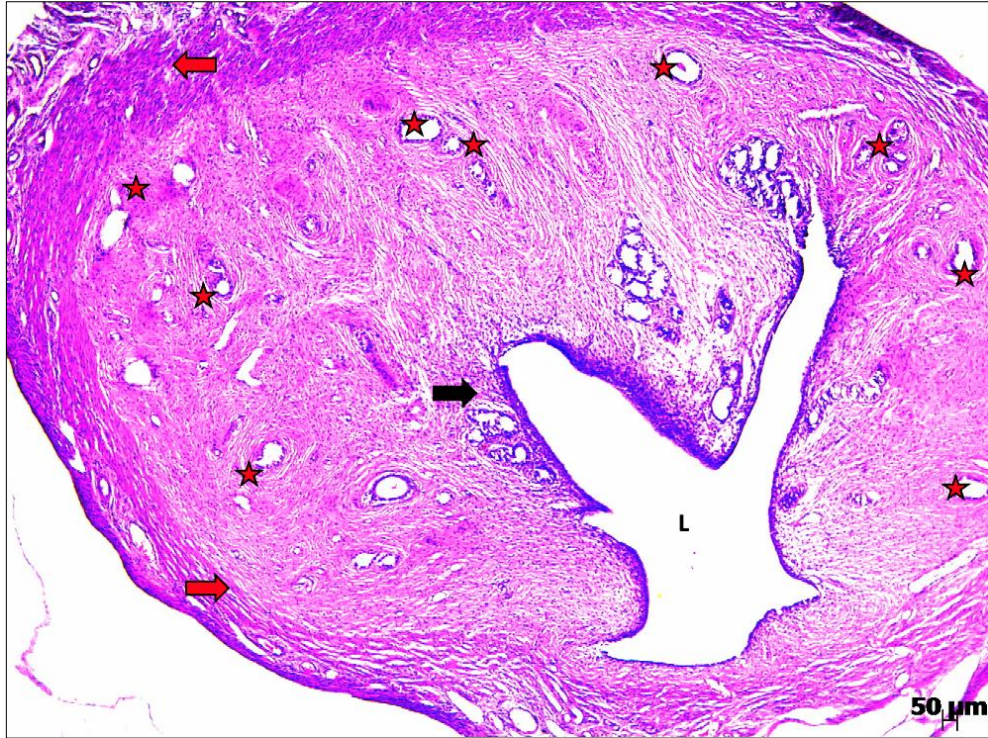
Resim 14. Deney grubunda myometrium, endometrium ve dilate bez yapıları

Siyah ok işareti: Endometrium, Kırmızı ok işareti: Myometrium, Asteriks: Bez yapıları (H&E X10)



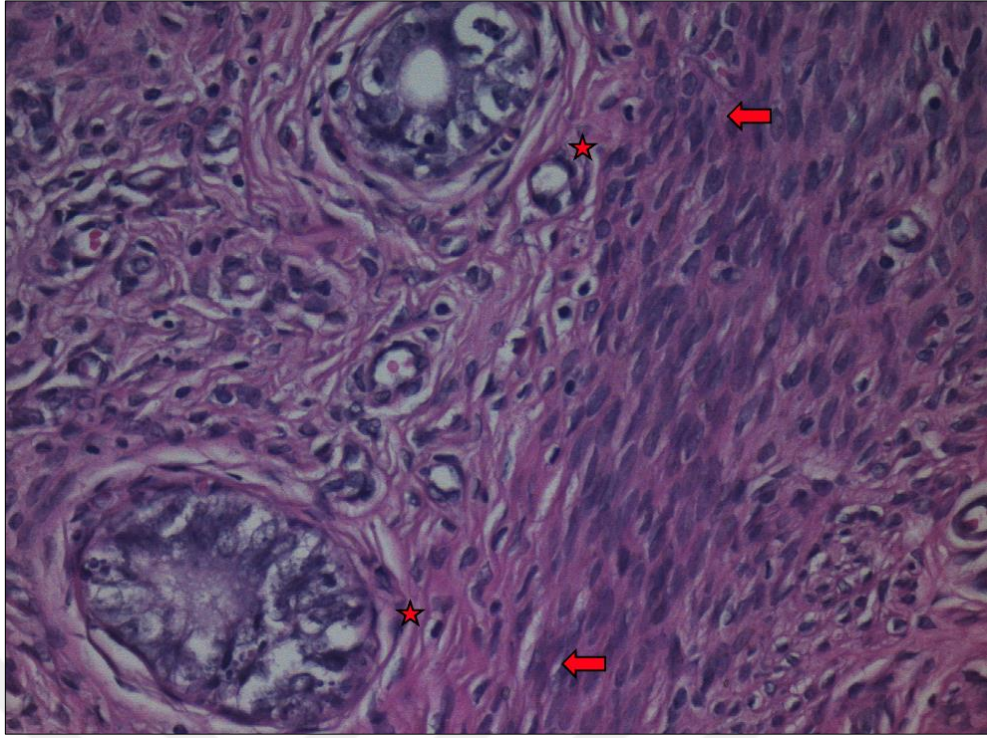
Resim 15. Deney grubunda myometrium tabakasında belirgin incelme ve bez yapıları

L: Lümen, Kırmızı ok işareti: Myometrium, Kalın mavi ok işareti: Perimetrium, Asteriks: Bez yapıları, İnce mavi ok işareti: Hemorajik alanlar (H&E X5)



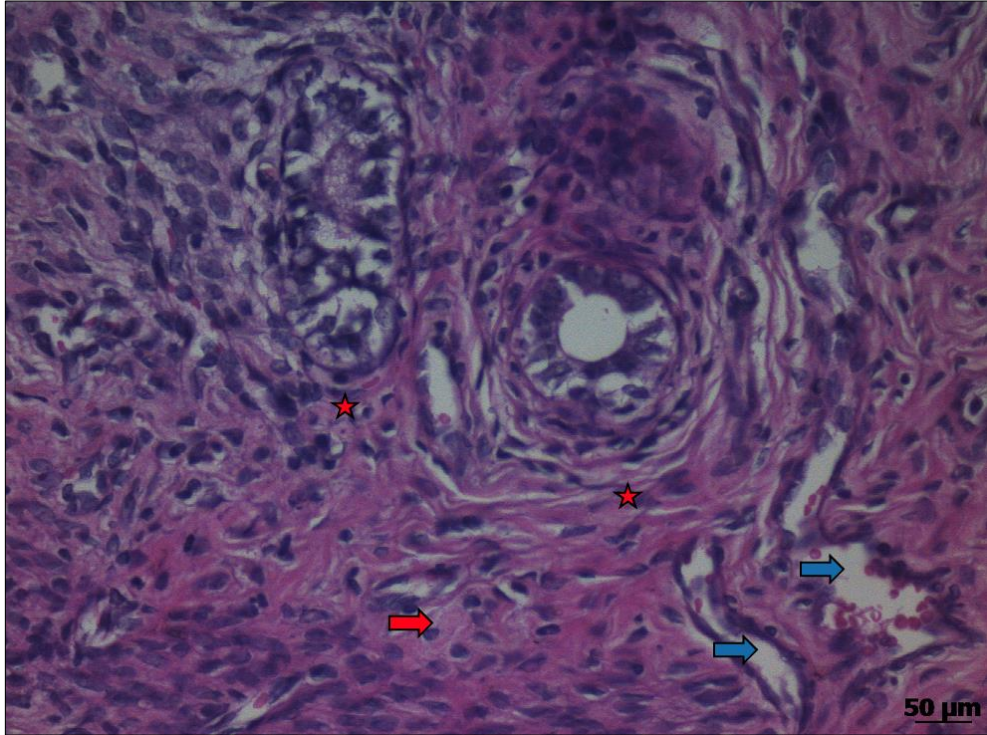
Resim 16. Deney grubunda endometrium tabakasında belirgin kalınlaşma ve myometrium tabakasında incelme

Siyah ok işareti: Endometrium, Asteriks: Bez yapıları, Kırmızı ok işareti: Myometrium (H&E X5)



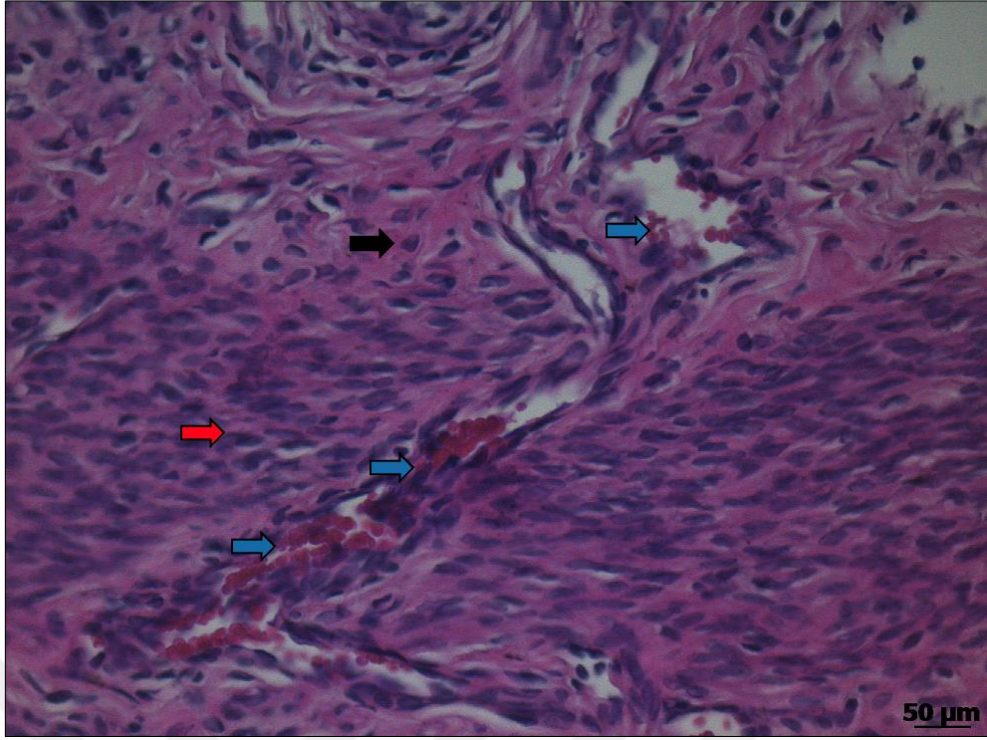
Resim 17. Deney grubunda myometrium ve bez yapıları

Asteriks: Bez yapıları, Kırmızı ok işareti: Myometrium (H&E X40)



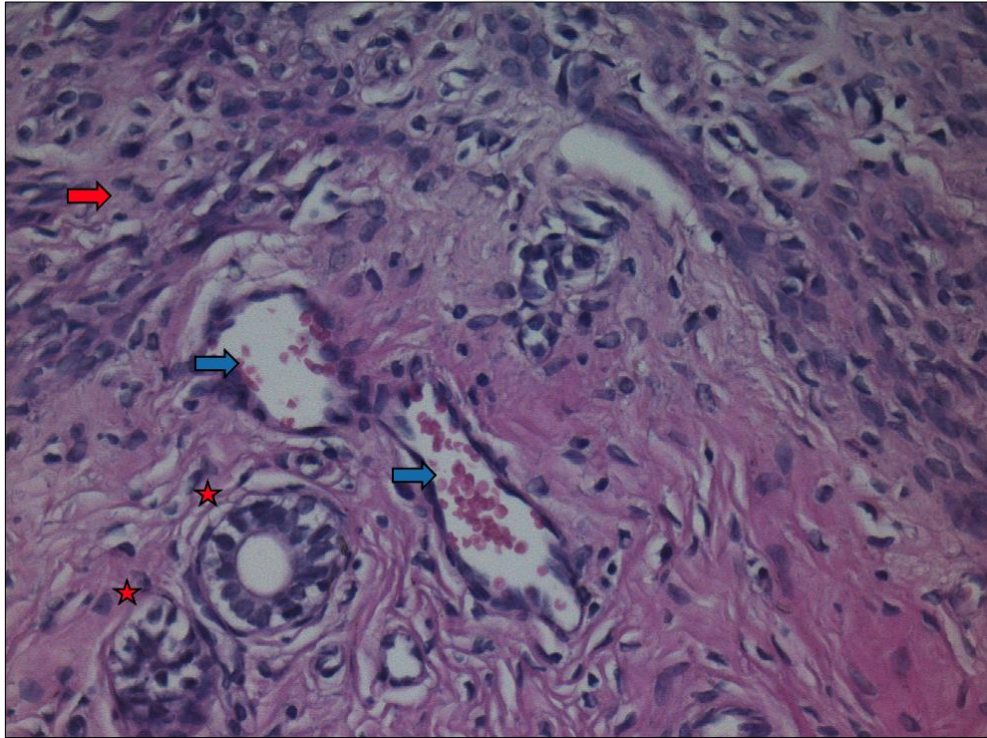
Resim 18. Deney grubunda bez yapıları, myometrium ve hemorajik alanlar

Mavi ok işareti: Hemorajik alan, Asteriks: Bez yapıları, Kırmızı ok işareti: Myometrium (H&E X40)



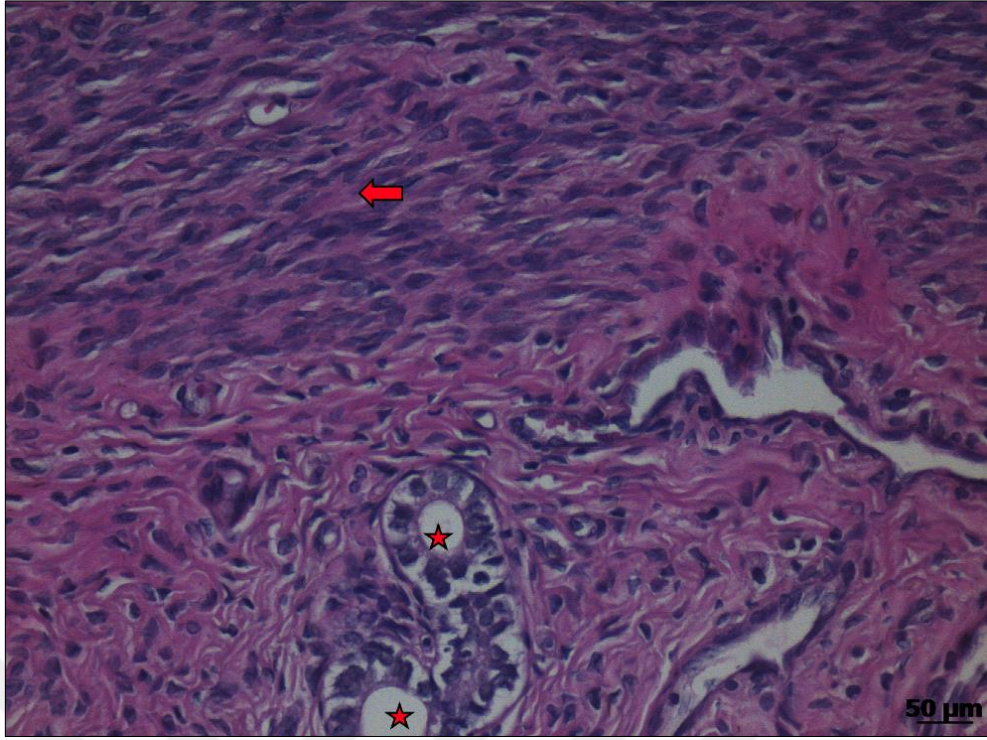
Resim 19. Deney grubunda endometrium, myometrium ve hemorajik alan

Siyah ok işareti: Endometrium, Kırmızı ok işareti: Myometrium, Mavi ok işareti: Hemorajik alan (H&E X40)



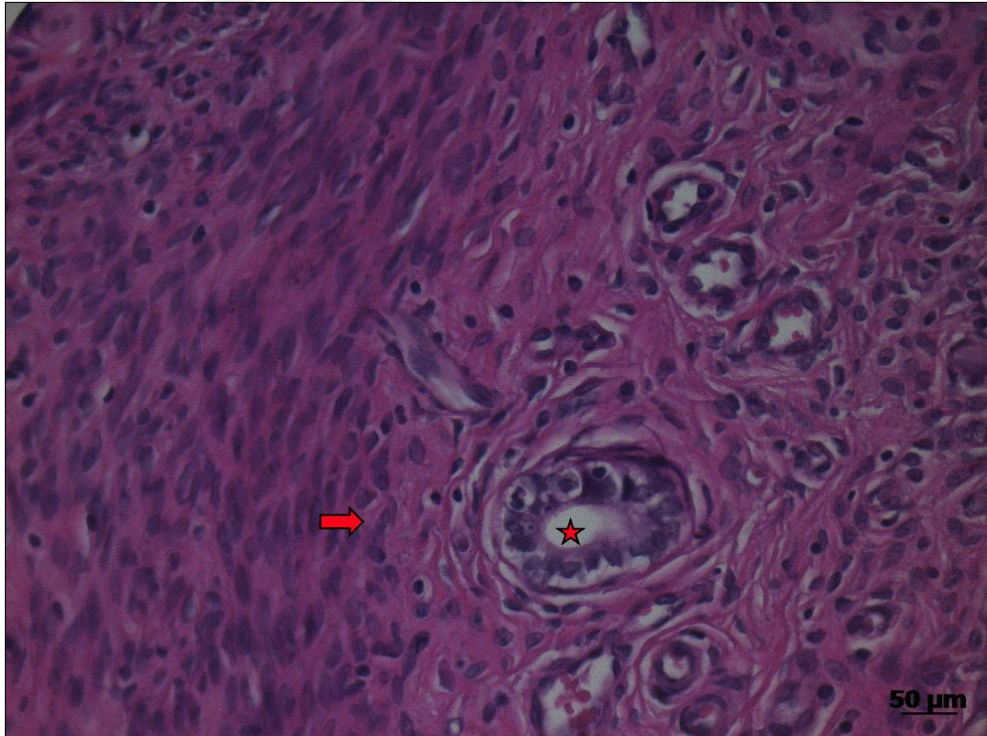
Resim 20. Deney grubunda myometrium, bez yapıları ve hemorajik alan

Mavi ok işareti: Hemorajik alanlar, Asteriks: Bez yapıları, Kırmızı ok işareti: Myometrium (H&E X40)



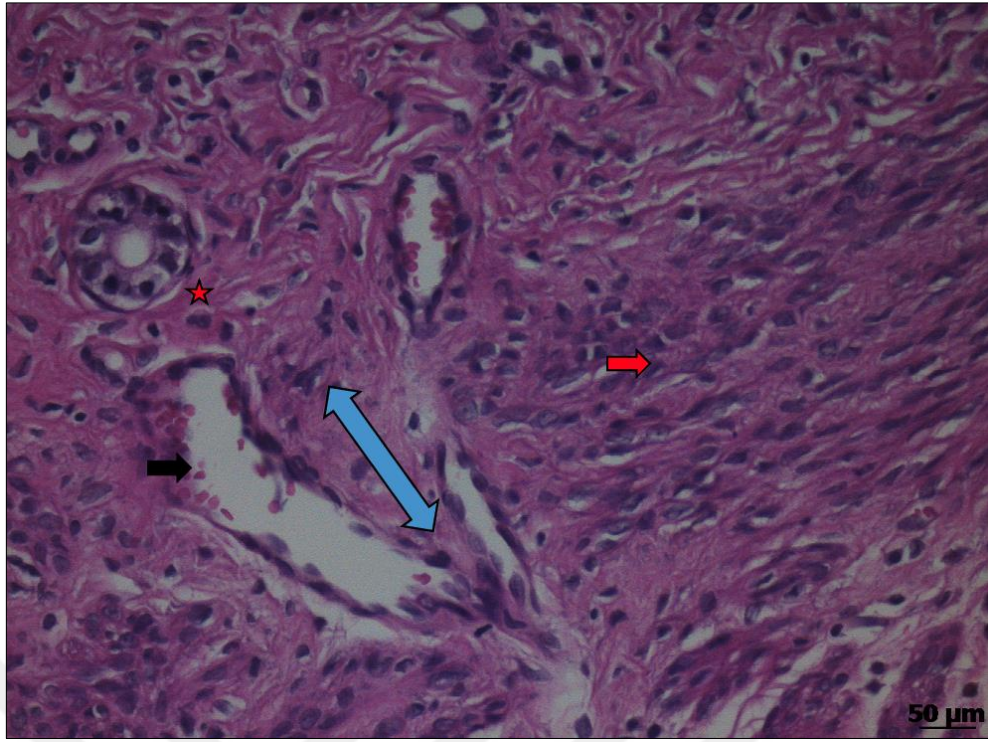
Resim 21. Deney grubunda myometrium ve bez yapıları

Kırmızı ok işareti: Myometrium, Asteriks: Bez yapıları (H&E X40)



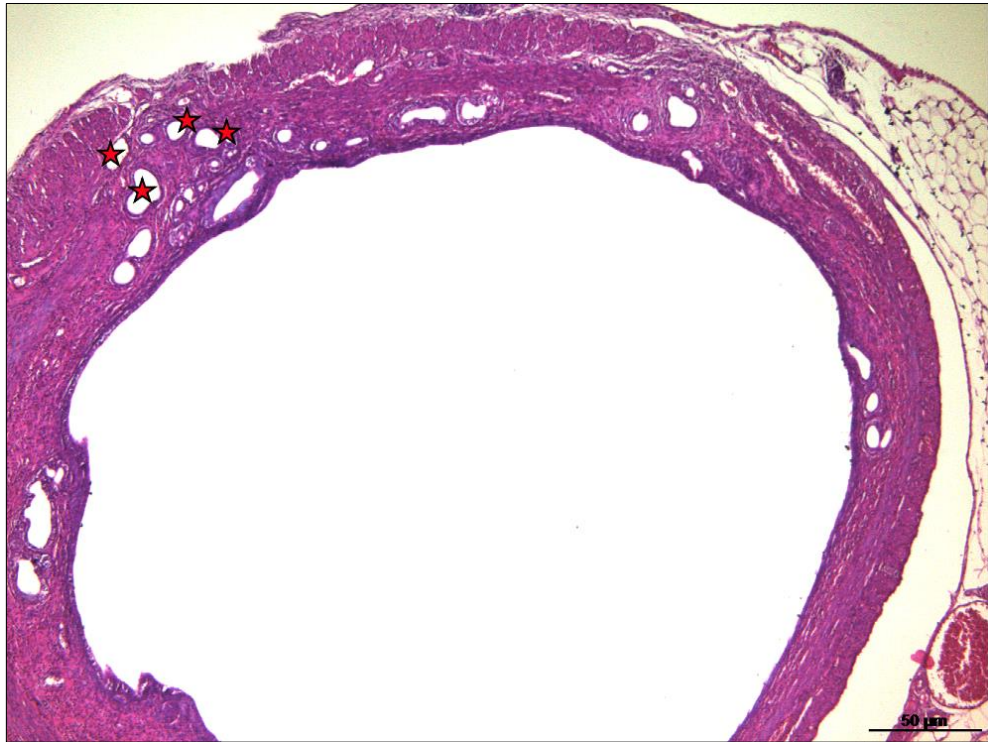
Resim 22. Deney grubunda myometrium ve bez yapıları

Kırmızı ok işareti: Myometrium, Asteriks: Bez yapıları (H&E X40)



Resim 23. Deney grubunda myometriuma invaze bez yapıları ve endometrium-myometrium sınırının düzensizliği

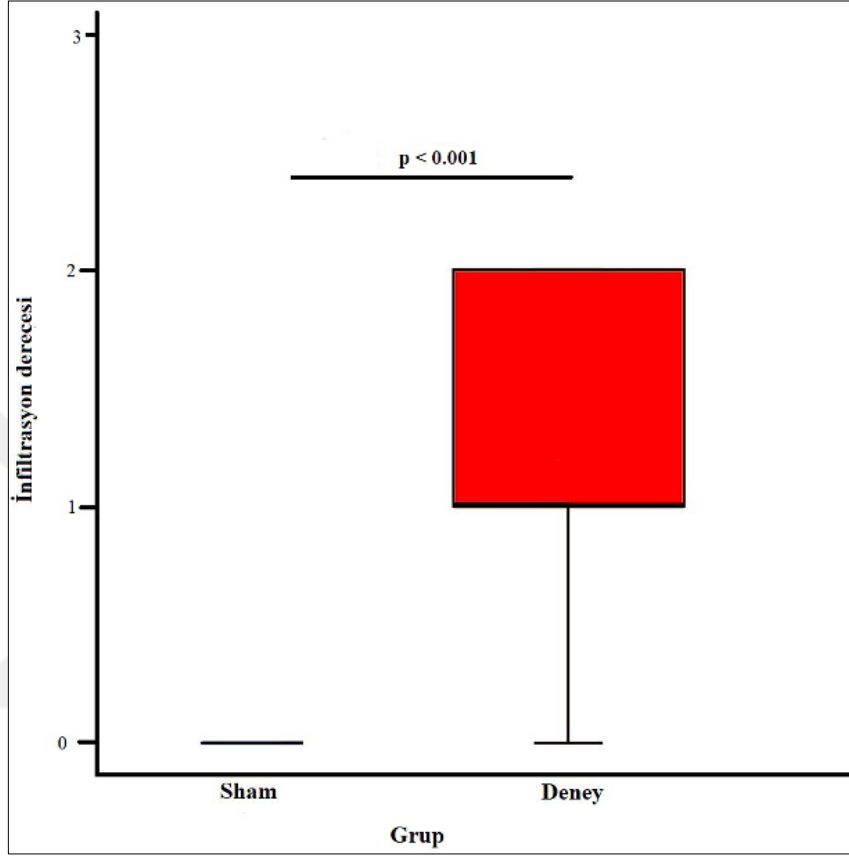
Maki ok işareti: Myometriuma invaze bez yapıları ve endometrium-myometrium sınırının düzensizliği; Kırmızı ok işareti: Myometrium, Asteriks: Bez yapısı, Siyah ok işareti: Hemorajik alanlar (H&E X40)



Resim 24. Deney grubunda myometrium ortalarına kadar invaze olan bez yapıları

Asteriks: Bez yapıları (H&E X40).

Yukarıda bahsedildiği üzere, sham grubunda myometrial infiltrasyon derecesi hepsinde Derece 0'dı (n=6, %100). Deney grubundaki infiltrasyon derecesi median:1 (25-75 çeyrekler arası aralık:1-2) idi ve istatistiksel olarak anlamlı düzeyde sham grubundan yüksekti ($p<0.001$) (Şekil 2).



Şekil 2. Sham ve deney grubu uteruslarında myometrial infiltrasyon derecesi kutu grafiği
Median:1, 25-75. çeyrekler arası aralık:1-2, $p<0.001$

7. TARTIŞMA

Adenomyozis, prevelansının yüksekliğine rağmen etyopatogenezinde önemli belirsizlikler barındırmaya devam etmektedir. Patogenezi yeterince aydınlatılamadığı için etkin ve özgün bir tedavi geliştirelememiştir. Literatürdeki çalışmaların çoğu histerektomi sonrası değerlendirmelere dayanmaktadır. Seçim yanlılığı, körleme olmaması, hastalığın kendisindeki ve sonuç ölçütlerindeki belirsizlikler; çalışmaların ilişkilendirme ve nedensellik bağlamındaki etkisini azaltmaktadır.

Klinik araştırma kayıtlarının bir değerlendirmesinde, aşık klinik ihtiyaca rağmen, çalışmaların ne kadar geride olduğu görülmektedir (170). Over kanseri üzerine yapılan 2368, uterin myomlar üzerine 242 çalışma, endometriozis üzerine 243 çalışmanın yapıldığı yıl, adenomyozis üzerine yalnızca 37 kayıtlı çalışma olduğu, ve bunların yalnızca beşi cerrahi olmayan tedaviler ile ilgilendiği görülmüştür (102). Az sayıdaki mevcut tedavi yeterli düzeyde olmadığı gibi, adenomyozise özgü de değildir. Tedavilerin çoğu, küçük kohortların kısa dönem etkilerini sunan çalışmalar ile değerlendirilmiştir. Diğer kritik nokta ise farmakolojik ajanların uygulandıkları sürece etkili olması ve tedaviden sonra semptomların tekrar ortaya çıkmasıdır. Dolayısı ile daha etkili ve spesifik terapötiklerin geliştirilmesi önemli bir klinik ihtiyaçtır ve hastalığın daha kapsamlı ele alınabilmesi adına iyi bir sınıflandırma sistemine kesinlikle ihtiyaç vardır (171-173).

Bir hastalığın doğasının anlaşılması ve tedavi modalitelerinin geliştirilmesindeki hayvan deneylerinin büyük bir öneme sahiptir. Özellikle uygun hayvan modellerinin oluşturulması, bu noktada kritik rol oynamaktadır (174, 175). Birçok hayvan modelinde olduğu gibi adenomyoziste de, hayvan modelleri ve insanlardaki gerçek hastalık arasındaki uyum tamamı ile aynı değildir; insan fizyolojisinin son derece karmaşık sürecini taklit etme yetenekleri sınırlıdır. Ancak, çok önemli bir *in vivo* bilgi kaynağıdır. Bu bağlamda keşiflerin başarısı mevcut modellerin imkanları ile çoğu zaman sınırlıdır. Faz II/III klinik deneylerine giren ilaçların büyük çoğunluğu, hayvan çalışmalarında bildirilen güvenlik ve etkinlik raporlarından farklıdır ve bu önemli ölçüde zaman ve kaynak kaybına neden olmaktadır (102). Translasyonel verimsizliğin önemli bir nedeni de hayvan çalışmalarındaki metodolojik eksikliklerdir.

Klinik araştırmalar devam etse de sınırlı etyolojik bilgi ve hayvan çalışmalarındaki mevcut modellerin yetersizliği, uzun indüksiyon süreleri, türlere ve metoda özgü değişen başarı oranları ve birçok metodolojik eksiklik, yeni araştırmaların önünde engel oluşturmaktadır. Adenomyozis modeli oluşturmada yaşanan sorunlar, gerekli bilimsel ilerlemenin ivmesini

azaltmaktadır ve literatüre bakıldığında hayvan deneylerindeki araştırma yöntemlerinin eleştirel bir değerlendirmesine ihtiyaç vardır. İndüksiyon yöntemleri, sonuç ölçümleri, çoklu dozların kullanımı gibi metodolojik faktörlerin özenle değerlendirilmesi ve heterojenitenin, tedavi süresinin kontrol edilmesi çalışmaların prediktivitesini artırılabilir. Tür farklılıkları ve getirdiği dezavantajlar ayrı bir konu olarak çalışmaları sınırlamaktadır. Her deney modelinde olduğu gibi burada da; sonuçların istatistiksel, biyolojik ve klinik anlamlılık arasındaki farkı dikkatle ele alınmalıdır (102).

Biz de çalışmamızda, adenomyozisin patogenezindeki Leyendecker ve ark. tarafından öne sürülen, büyük ölçüde TIAR teorisine dayanan, invajinasyon teorisinden ve endometrial küretaj, sezaryen ve myomektomi gibi iatrojenik olarak travma ile sürecin başlayabileceğini gösteren çalışmalardan yola çıkarak; endomyometrial bileşkede doku hasarı oluşturarak yeni bir adenomyozis modeli keşfettik (176). Yukarıda bahsedildiği üzere bu teori; temel olarak hiperperistalizm nedeniyle tekrarlanan ve sürekli gerilmenin, bir travma sonucu fundokornual bölgeden endomyometrial bileşkedeki myosit ve fibroblastların yaralanmasına ile oluşabileceğini varsaymaktadır. (176-178). Bu teoriye göre, mikrotravma ile oluşan doku hasarı, COX-2 ve prostaglandin E2 üretimini indükler. Takiben östrojen üretimi için kritik olan genlerin ekspresyonu ile lokal östrojen üretimi artar. Oksitosin reseptör sinyalinin indüklenmesi ile artan peristaltizm ve anjiyogenez; endometrial invajinasyona ve adenomyotik lezyonların oluşumuna neden olur.

Deney modelimizde yaptığımız iatrojenik travma ile oluşan muhtemel mekanizma şu şekilde olabilir; endometriumdaki hasar endomyometrial bileşkeye kadar uzanarak myositlerde doku hipoksisine yol açan bir travma oluşturur (179). Takiben hipoksi sonucu, hücresel adaptasyonun ana aracısı olan, transkripsiyon faktörü hipoksi ile indüklenen faktör-1 alfa eksprese olur. Bir hipoksi yanıtı olarak, travma bölgesine makrofajlar gelir ve doku onarımını kolaylaştıran hücre göçü ve proliferasyonu için önem taşıyan büyüme faktörleri salgılanır (179). Oluşan vasküler hasar trombositleri aktive eder ve vasküler endotelial büyüme faktörü ile interlökin-8 gibi enflamatuar mediatörlerin ekspresyonuna neden olur (180, 181).

Tek bir teori ile adenomyozisin her alt tipini şu an açıklamak mümkün değildir ve çeşitli cevaplanamayan noktalar bulunmaktadır. TIAR teorisindeki bazı eksiklikler ve benzer nitelik taşıyan endomyometrial bileşke hasarı teorisini gündeme getirmiştir (179). Bu teori, özellikle iatrojenik yaralanmalar ve endomyometrial bileşkeyi bozma potansiyelleri nedeniyle adenomyozis için risk faktörleri arasında yer aldığına dair epidemiyolojik bulgular ile de uyusmaktadır. Diğer yandan, tekrarlanan doku yaralanması ve onarımı (ReTIAR) hipotezi de önerilmiştir (182). Ayrıca Cullen'in adenomyozis patogenezinde odaklandığı bazal

endometriumun myometrium derinliklerine yayılma hipotezi, hastalıkta artan invazivlik ve myometriuma dışardan mekanik kuvvetler nedeniyle söz konusu olabilmeside modelimizi mekanik hasar boyutuyla desteklemektedir.

Günümüze kadarki modellerin eksikliklerinden birisi; dismenore şiddeti, kan kaybı miktarı ve infertilitenin deneylerde temsil edilmemesidir (102). Kemirgenler, dismenore ve menoraji çalışması için tam olarak uygun olmayabilirler. Benzer zorluk kronik pelvik ağrıyı modellemesinde de vardır. Ultrasonografik ses dalgalarının ratlarda kronik ağrı ile ilişkili olduğuna dair yöntemler tartışmalıdır (183, 184). Bu nedenle, adenomyoziste kronik pelvik ağrı çalışmalarına cevap verecek deney modellerine ihtiyaç vardır. Mevcut modelimizin hormonal manipülasyonu olmaması ve dolayısı ile ağrı eşiğine müdahale etmemesi avantajının bu bağlamda ne derece katkı sağlayabileceğini gelecek çalışmalar gösterecektir.

Modelimizin hormonal manipülasyon olmadan yapılması ilaç çalışmalarında da elverişli bir model haline getirebilir. Gelecekteki çalışmalarda, deneylerde sıklıkla yapılan sistematik hatalardan biri olan tedavi süresinin dikkate alınmasını tavsiye ediyoruz. Farelerin ortalama yaşam süreleri insanlardan 37 kat daha azdır ve buradan yapılacak çıkarımla ilaç çalışmalarında 1.4 ila 3 hafta arasında bir başlangıç tedavi süresi ile başlanması gereklidir (102).

Son yıllarda Hao ve ark. yaptığı çalışmada, BALB/c ve C57BL/6 olmak üzere iki fare türünde endomyometrial bileşkeyi elektrokoagülasyon ile termal ve mekanik olarak indükleyerek, indüksiyondan 3 ay sonra C57BL/6 farelerin %83'ünde ve BALB/c farelerin tamamında adenomyozis geliştiği görmüştür. Termal hasar verilen farelerde 10 hafta sonra, yalnızca %30'unda adenomyozis gelişmiştir. Mevcut mekanik hasar tekniğimizle kıyaslandığında, indüksiyondan yalnızca 2 hafta sonra %100 etkinliğini görmemiz yönüyle tekniğimizin daha etkin ve pratik olduğu görülmektedir.

Çalışmamızın zayıf yönlerine değinecek olursak, ilki; immunohistokimyasal analiz ile adenomyozisin kanıtlarının sunulmaması ve epitelyal-mezenkimal geçişin gösterilmemesidir. Ancak histolojik olarak insan adenomyozisini başarıyla taklit eden modelimiz, yeni tedaviler geliştirmek için güvenilir bir araştırma aracı olarak sunulmaktadır. İkinci zayıf yönü; Derece III adenomyotik lezyonun hiçbirinde oluşmamış olmasıdır. İndüklemek için yeterli yaralanmaya neden olunamaması ya da indüksiyon süresinin yeterli olmamasından kaynaklanmış olabilir. Yaralamanın şiddet ve süresi artırılarak yapılan yeni çalışmalar yol gösterici olacaktır. Bununla ilişkili olarak üçüncü zayıf yönü; internal hasar verilirken, standardizasyon ve tekrarlanabilirliğine katkıda bulunabilecek dakika ya da küretaj sayısı gibi kantitatif bir değer sunulabilirdi.

Çalışmamızın güçlü yönleri ise adenomyozis deney grubunun %100'ünde, sadece tek seferlik bir cerrahi müdahale ile histolojik olarak oluşturulabilmesi ve indüksiyon süresinin literatürdeki diğer modellere göre 2 hafta ile çok daha kısa olmasıdır. Modelimizin güvenle deney yapılabilecek kadar oturması için optimum vaktin 2 hafta olduğuna karar vererek protokülümüzü oluştursakta, ön deneyimizde 7. günde lezyonları görmeye başladık. Bu ilk teşhis zamanı, bildiğimize göre literatürdeki en erken süredir. Gelecekteki çalışmalar gösterecek olsa da birçok türün bu protokole cevap vereceğine inanıyoruz.



8. SONUÇLAR

Biz çalışmamızda endomyometrial bileşkeye sadece cerrahi hasar vererek, yeni bir adenomyozis modeli yapmayı başardık. Tek seferlik cerrahi müdahale ile literatürdeki indüksiyon sürelerinin oldukça altında, 2 hafta gibi kısa bir sürede, modelimizi oluşturduk. Hormonal bir manipülasyon yöntemi olmaması nedeni ile, adenomyozis patogenezi ve özellikle farmasötik ajanların etkinliğinin araştırılmasında, mevcut yöntemlerden daha iyi bir zemin oluşturacağına inanıyoruz. Yeni deneysel modelimiz kolaylıkla tekrarlanabilir, az maliyetli ve patogenezindeki doku yaralanması ve onarımı teorisi için de kanıt niteliği taşıyan bir yöntemdir.



9. KAYNAKLAR

1. Bird CC, McElin TW, Manalo-Estrella P. The elusive adenomyosis of the uterus--revisited. *Am J Obstet Gynecol.* 1972;112(5):583-93.
2. McElin TW, Bird CC. Adenomyosis of the uterus. *Obstet Gynecol Annu.* 1974;3(0):425-41.
3. Juang CM, Chou P, Yen MS, Twu NF, Horng HC, Hsu WL. Adenomyosis and risk of preterm delivery. *Bjog.* 2007;114(2):165-9.
4. Horton J, Sterrenburg M, Lane S, Maheshwari A, Li TC, Cheong Y. Reproductive, obstetric, and perinatal outcomes of women with adenomyosis and endometriosis: a systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod Update.* 2019;25(5):592-632.
5. Moawad G, Kheil MH, Ayoubi JM, Klebanoff JS, Rahman S, Sharara FI. Adenomyosis and infertility. *J Assist Reprod Genet.* 2022;39(5):1027-31.
6. Vercellini P, Viganò P, Somigliana E, Daguati R, Abbiati A, Fedele L. Adenomyosis: epidemiological factors. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* 2006;20(4):465-77.
7. Morassutto C, Monasta L, Ricci G, Barbone F, Ronfani L. Incidence and Estimated Prevalence of Endometriosis and Adenomyosis in Northeast Italy: A Data Linkage Study. *PLoS One.* 2016;11(4):e0154227.
8. Azziz R. Adenomyosis: current perspectives. *Obstet Gynecol Clin North Am.* 1989;16(1):221-35.
9. Seidman JD, Kjerulff KH. Pathologic findings from the Maryland Women's Health Study: practice patterns in the diagnosis of adenomyosis. *Int J Gynecol Pathol.* 1996;15(3):217-21.
10. Abbott JA. Adenomyosis and Abnormal Uterine Bleeding (AUB-A)-Pathogenesis, diagnosis, and management. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* 2017;40:68-81.
11. Ryan GL, Stolpen A, Van Voorhis BJ. An unusual cause of adolescent dysmenorrhea. *Obstet Gynecol.* 2006;108(4):1017-22.
12. Vannuccini S, Tosti C, Carmona F, Huang SJ, Chapron C, Guo SW, et al. Pathogenesis of adenomyosis: an update on molecular mechanisms. *Reprod Biomed Online.* 2017;35(5):592-601.

13. Chapron C, Tosti C, Marcellin L, Bourdon M, Lafay-Pillet MC, Millischer AE, et al. Relationship between the magnetic resonance imaging appearance of adenomyosis and endometriosis phenotypes. *Hum Reprod.* 2017;32(7):1393-401.
14. Pinzauti S, Lazzeri L, Tosti C, Centini G, Orlandini C, Luisi S, et al. Transvaginal sonographic features of diffuse adenomyosis in 18-30-year-old nulligravid women without endometriosis: association with symptoms. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2015;46(6):730-6.
15. Taran FA, Weaver AL, Coddington CC, Stewart EA. Understanding adenomyosis: a case control study. *Fertil Steril.* 2010;94(4):1223-8.
16. Yeh CC, Su FH, Tzeng CR, Muo CH, Wang WC. Women with adenomyosis are at higher risks of endometrial and thyroid cancers: A population-based historical cohort study. *PLoS One.* 2018;13(3):e0194011.
17. Cardozo ER, Clark AD, Banks NK, Henne MB, Stegmann BJ, Segars JH. The estimated annual cost of uterine leiomyomata in the United States. *Am J Obstet Gynecol.* 2012;206(3):211.e1-9.
18. Fernandez H, Farrugia M, Jones SE, Mauskopf JA, Oppelt P, Subramanian D. Rate, type, and cost of invasive interventions for uterine myomas in Germany, France, and England. *Journal of minimally invasive gynecology.* 2009;16(1):40-6.
19. Leyendecker G, Wildt L. A new concept of endometriosis and adenomyosis: tissue injury and repair (TIAR). *Horm Mol Biol Clin Investig.* 2011;5(2):125-42.
20. Panganamamula UR, Harmanli OH, Isik-Akbay EF, Grotegut CA, Dandolu V, Gaughan JP. Is prior uterine surgery a risk factor for adenomyosis? *Obstet Gynecol.* 2004;104(5 Pt 1):1034-8.
21. Mori T, Nagasawa H, Takahashi S. The induction of adenomyosis in mice by intrauterine pituitary isografts. *Life Sci.* 1981;29(12):1277-82.
22. Green AR, Styles JA, Parrott EL, Gray D, Edwards RE, Smith AG, et al. Neonatal tamoxifen treatment of mice leads to adenomyosis but not uterine cancer. *Exp Toxicol Pathol.* 2005;56(4-5):255-63.
23. Emge LA. The elusive adenomyosis of the uterus. Its historical past and its present state of recognition. *Am J Obstet Gynecol.* 1962;83:1541-63.

24. Bourdon M, Santulli P, Marcellin L, Maignien C, Maitrot-Mantelet L, Bordonne C, et al. Adenomyosis: An update regarding its diagnosis and clinical features. *J Gynecol Obstet Hum Reprod*. 2021;50(10):102228.
25. Hendrickson MR. Surgical pathology of the uterine corpus. Major problems in pathology. 1980.
26. Uduwela AS, Perera MA, Aiqing L, Fraser IS. Endometrial-myometrial interface: relationship to adenomyosis and changes in pregnancy. *Obstet Gynecol Surv*. 2000;55(6):390-400.
27. Chapron C, Vannuccini S, Santulli P, Abrão MS, Carmona F, Fraser IS, et al. Diagnosing adenomyosis: an integrated clinical and imaging approach. *Hum Reprod Update*. 2020;26(3):392-411.
28. Parazzini F, Vercellini P, Panazza S, Chatenoud L, Oldani S, Crosignani PG. Risk factors for adenomyosis. *Hum Reprod*. 1997;12(6):1275-9.
29. Owolabi TO, Strickler RC. Adenomyosis: a neglected diagnosis. *Obstet Gynecol*. 1977;50(4):424-7.
30. Gompel C, Silverberg S. The Corpus Uteri. Pathology In Gynecology And Obstetrics. 1985.
31. Bergholt T, Eriksen L, Berendt N, Jacobsen M, Hertz J. Prevalence and risk factors of adenomyosis at hysterectomy. *Human reproduction*. 2001;16(11):2418-21.
32. Levgur M, Abadi MA, Tucker A. Adenomyosis: symptoms, histology, and pregnancy terminations. *Obstetrics & Gynecology*. 2000;95(5):688-91.
33. Takeuchi H, Kitade M, Kikuchi I, Kumakiri J, Kuroda K, Jinushi M. Diagnosis, laparoscopic management, and histopathologic findings of juvenile cystic adenomyoma: a review of nine cases. *Fertil Steril*. 2010;94(3):862-8.
34. Ferenczy A. Pathophysiology of adenomyosis. *Hum Reprod Update*. 1998;4(4):312-22.
35. Mori T, Singtripop T, Kawashima S. Animal model of uterine adenomyosis: is prolactin a potent inducer of adenomyosis in mice? *Am J Obstet Gynecol*. 1991;165(1):232-4.
36. Zou Y, Liu FY, Wang LQ, Guo JB, Yang BC, Wan XD, et al. Downregulation of DNA methyltransferase 3 alpha promotes cell proliferation and invasion of ectopic endometrial stromal cells in adenomyosis. *Gene*. 2017;604:41-7.

37. Leyendecker G, Herbertz M, Kunz G, Mall G. Endometriosis results from the dislocation of basal endometrium. *Hum Reprod*. 2002;17(10):2725-36.
38. Leyendecker G, Kunz G, Noe M, Herbertz M, Mall G. Endometriosis: a dysfunction and disease of the archimetra. *Hum Reprod Update*. 1998;4(5):752-62.
39. Leyendecker G, Kunz G, Wildt L, Beil D, Deininger H. Uterine hyperperistalsis and dysperistalsis as dysfunctions of the mechanism of rapid sperm transport in patients with endometriosis and infertility. *Hum Reprod*. 1996;11(7):1542-51.
40. Benagiano G, Brosens I, Habiba M. Structural and molecular features of the endomyometrium in endometriosis and adenomyosis. *Human reproduction update*. 2014;20(3):386-402.
41. Brosens I, Brosens JJ, Benagiano G. The eutopic endometrium in endometriosis: are the changes of clinical significance? *Reproductive BioMedicine Online*. 2012;24(5):496-502.
42. Enatsu A, Harada T, Yoshida S, Iwabe T, Terakawa N. Adenomyosis in a patient with the Rokitansky-Kuster-Hauser syndrome. *Fertil Steril*. 2000;73(4):862-3.
43. Propst AM, Quade BJ, Nowak RA, Stewart EA. Granulocyte macrophage colony-stimulating factor in adenomyosis and autologous endometrium. *J Soc Gynecol Investig*. 2002;9(2):93-7.
44. Propst AM, Quade BJ, Gargiulo AR, Nowak RA, Stewart EA. Adenomyosis demonstrates increased expression of the basic fibroblast growth factor receptor/ligand system compared with autologous endometrium. *Menopause*. 2001;8(5):368-71.
45. Brosens JJ, de Souza NM, Barker FG. Uterine junctional zone: function and disease. *Lancet*. 1995;346(8974):558-60.
46. Ibrahim MG, Chiantera V, Frangini S, Younes S, Köhler C, Taube ET, et al. Ultramicro-trauma in the endometrial-myometrial junctional zone and pale cell migration in adenomyosis. *Fertil Steril*. 2015;104(6):1475-83.e1-3.
47. Zhang Y, Yu P, Sun F, Li TC, Cheng J, Duan H. Expression of oxytocin receptors in the uterine junctional zone in women with adenomyosis. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 2015;94(4):412-8.
48. Wang S, Duan H, Zhang Y, Sun FQ. Abnormal Activation of RhoA/ROCK-I Signaling in Junctional Zone Smooth Muscle Cells of Patients With Adenomyosis. *Reprod Sci*. 2016;23(3):333-41.

49. Takahashi K, Nagata H, Kitao M. Clinical usefulness of determination of estradiol level in the menstrual blood for patients with endometriosis. *Nihon Sanka Fujinka Gakkai Zasshi*. 1989;41(11):1849-50.
50. Ezaki K, Motoyama H, Sasaki H. Immunohistologic localization of estrone sulfatase in uterine endometrium and adenomyosis. *Obstet Gynecol*. 2001;98(5 Pt 1):815-9.
51. Kitawaki J, Kado N, Ishihara H, Koshiba H, Kitaoka Y, Honjo H. Endometriosis: the pathophysiology as an estrogen-dependent disease. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2002;83(1-5):149-55.
52. Ishihara H, Kitawaki J, Kado N, Koshiba H, Fushiki S, Honjo H. Gonadotropin-releasing hormone agonist and danazol normalize aromatase cytochrome P450 expression in eutopic endometrium from women with endometriosis, adenomyosis, or leiomyomas. *Fertil Steril*. 2003;79 Suppl 1:735-42.
53. Nowak RA, Mora S, Diehl T, Rhoades AR, Stewart EA. Prolactin is an autocrine or paracrine growth factor for human myometrial and leiomyoma cells. *Gynecol Obstet Invest*. 1999;48(2):127-32.
54. Danilovich N, Roy I, Sairam MR. Emergence of uterine pathology during accelerated biological aging in FSH receptor-haploinsufficient mice. *Endocrinology*. 2002;143(9):3618-27.
55. Łupicka M, Socha BM, Szczepańska AA, Korzekwa AJ. Prolactin role in the bovine uterus during adenomyosis. *Domest Anim Endocrinol*. 2017;58:1-13.
56. Mechsner S, Grum B, Gericke C, Loddenkemper C, Dudenhausen JW, Ebert AD. Possible roles of oxytocin receptor and vasopressin-1 α receptor in the pathomechanism of dysperistalsis and dysmenorrhea in patients with adenomyosis uteri. *Fertil Steril*. 2010;94(7):2541-6.
57. Fiçicioğlu C, Tekin HI, Arioğlu PF, Okar I. A murine model of adenomyosis: the effects of hyperprolactinemia induced by fluoxetine hydrochloride, a selective serotonin reuptake inhibitor, on adenomyosis induction in Wistar albino rats. *Acta Eur Fertil*. 1995;26(2):75-9.
58. Ota H, Tanaka T. Integrin adhesion molecules in the endometrial glandular epithelium in patients with endometriosis or adenomyosis. *J Obstet Gynaecol Res*. 1997;23(5):485-91.

59. Ota H, Tanaka T. [Eutopic and ectopic endometrium in endometriosis]. *Nihon Rinsho*. 2001;59 Suppl 1:37-43.
60. Ota H, Maki M, Shidara Y, Kodama H, Takahashi H, Hayakawa M, et al. Effects of danazol at the immunologic level in patients with adenomyosis, with special reference to autoantibodies: a multi-center cooperative study. *Am J Obstet Gynecol*. 1992;167(2):481-6.
61. Ota H, Igarashi S, Sasaki M, Tanaka T. Distribution of cyclooxygenase-2 in eutopic and ectopic endometrium in endometriosis and adenomyosis. *Hum Reprod*. 2001;16(3):561-6.
62. Ota H, Igarashi S, Hatazawa J, Tanaka T. Is adenomyosis an immune disease? *Hum Reprod Update*. 1998;4(4):360-7.
63. Ota H, Igarashi S. Expression of major histocompatibility complex class II antigen in endometriotic tissue in patients with endometriosis and adenomyosis. *Fertil Steril*. 1993;60(5):834-8.
64. Chiang CM, Hill JA. Localization of T cells, interferon-gamma and HLA-DR in eutopic and ectopic human endometrium. *Gynecol Obstet Invest*. 1997;43(4):245-50.
65. Bulmer JN, Jones RK, Searle RF. Intraepithelial leukocytes in endometriosis and adenomyosis: comparison of eutopic and ectopic endometrium with normal endometrium. *Hum Reprod*. 1998;13(10):2910-5.
66. Schindl M, Birner P, Obermair A, Kiesel L, Wenzl R. Increased microvessel density in adenomyosis uteri. *Fertil Steril*. 2001;75(1):131-5.
67. Ostrzenski A. Extensive iatrogenic adenomyosis after laparoscopic myomectomy. *Fertility and sterility*. 1998;69(1):143-5.
68. Curtis KM, Hillis SD, Marchbanks PA, Peterson HB. Disruption of the endometrial-myometrial border during pregnancy as a risk factor for adenomyosis. *American journal of obstetrics and gynecology*. 2002;187(3):543-4.
69. Leyendecker G, Wildt L, Mall G. The pathophysiology of endometriosis and adenomyosis: tissue injury and repair. *Archives of gynecology and obstetrics*. 2009;280(4):529-38.
70. Cunha GR, Young P, Brody JR. Role of uterine epithelium in the development of myometrial smooth muscle cells. *Biology of Reproduction*. 1989;40(4):861-71.

71. Chen YJ, Li HY, Huang CH, Twu NF, Yen MS, Wang PH, et al. Oestrogen-induced epithelial-mesenchymal transition of endometrial epithelial cells contributes to the development of adenomyosis. *J Pathol.* 2010;222(3):261-70.
72. Chiquet-Ehrismann R, Kalla P, Pearson CA. Participation of tenascin and transforming growth factor-beta in reciprocal epithelial-mesenchymal interactions of MCF7 cells and fibroblasts. *Cancer Res.* 1989;49(15):4322-5.
73. Templeman C, Marshall SF, Ursin G, Horn-Ross PL, Clarke CA, Allen M, et al. Adenomyosis and endometriosis in the California Teachers Study. *Fertil Steril.* 2008;90(2):415-24.
74. Molitor JJ. Adenomyosis: a clinical and pathological appraisal. *Am J Obstet Gynecol.* 1971;110(2):275-84.
75. Kishi Y, Suginami H, Kuramori R, Yabuta M, Suginami R, Taniguchi F. Four subtypes of adenomyosis assessed by magnetic resonance imaging and their specification. *Am J Obstet Gynecol.* 2012;207(2):114.e1-7.
76. Peric H, Fraser I. The symptomatology of adenomyosis. *Best practice & research Clinical obstetrics & gynaecology.* 2006;20(4):547-55.
77. Orazov M, Radzinsky V, Nosenko E, Khamoshina M, Dukhin A, Lebedeva M. Immune-inflammatory predictors of the pelvic pain syndrome associated with adenomyosis. *Gynecological Endocrinology.* 2017;33(sup1):44-6.
78. Carrarelli P, Yen C-F, Funghi L, Arcuri F, Tosti C, Bifulco G, et al. Expression of inflammatory and neurogenic mediators in adenomyosis: a pathogenetic role. *Reproductive Sciences.* 2017;24(3):369-75.
79. Kunz G, Leyendecker G. Uterine peristaltic activity during the menstrual cycle: characterization, regulation, function and dysfunction. *Reproductive biomedicine online.* 2002;4:5-9.
80. Kissler S, Hamscho N, Zangos S, Wiegatz I, Schlichter S, Menzel C, et al. Uterotubal transport disorder in adenomyosis and endometriosis—a cause for infertility. *BJOG: An International Journal of Obstetrics & Gynaecology.* 2006;113(8):902-8.
81. Liang E, Brown B, Rachinsky M. A clinical audit on the efficacy and safety of uterine artery embolisation for symptomatic adenomyosis: results in 117 women. *Australian and New Zealand Journal of Obstetrics and Gynaecology.* 2018;58(4):454-9.

82. Harmsen MJ, Wong CF, Mijatovic V, Griffioen AW, Groenman F, Hehenkamp WJ, et al. Role of angiogenesis in adenomyosis-associated abnormal uterine bleeding and subfertility: a systematic review. *Human reproduction update*. 2019;25(5):647-71.
83. Bruun MR, Arendt LH, Forman A, Ramlau-Hansen CH. Endometriosis and adenomyosis are associated with increased risk of preterm delivery and a small-for-gestational-age child: a systematic review and meta-analysis. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 2018;97(9):1073-90.
84. Salker MS, Nautiyal J, Steel JH, Webster Z, Sućurović S, Nicou M, et al. Disordered IL-33/ST2 activation in decidualizing stromal cells prolongs uterine receptivity in women with recurrent pregnancy loss. *PLoS One*. 2012;7(12):e52252.
85. Koot YE, Teklenburg G, Salker MS, Brosens JJ, Macklon NS. Molecular aspects of implantation failure. *Biochim Biophys Acta*. 2012;1822(12):1943-50.
86. Maheshwari A, Gurunath S, Fatima F, Bhattacharya S. Adenomyosis and subfertility: a systematic review of prevalence, diagnosis, treatment and fertility outcomes. *Hum Reprod Update*. 2012;18(4):374-92.
87. Tomassetti C, Meuleman C, Timmerman D, D'Hooghe T. Adenomyosis and subfertility: evidence of association and causation. *Semin Reprod Med*. 2013;31(2):101-8.
88. Kunz G, Beil D, Huppert P, Noe M, Kissler S, Leyendecker G. Adenomyosis in endometriosis--prevalence and impact on fertility. Evidence from magnetic resonance imaging. *Hum Reprod*. 2005;20(8):2309-16.
89. Barrier BF, Malinowski MJ, Dick EJ, Jr., Hubbard GB, Bates GW. Adenomyosis in the baboon is associated with primary infertility. *Fertil Steril*. 2004;82 Suppl 3:1091-4.
90. Vercellini P, Parazzini F, Oldani S, Panazza S, Bramante T, Crosignani PG. Adenomyosis at hysterectomy: a study on frequency distribution and patient characteristics. *Hum Reprod*. 1995;10(5):1160-2.
91. Özkan ZS, Kumbak B, Cilgin H, Simsek M, Turk BA. Coexistence of adenomyosis in women operated for benign gynecological diseases. *Gynecol Endocrinol*. 2012;28(3):212-5.
92. Abdel-Gadir A, Oyawoye OO, Chander BP. Luteal phase transvaginal scan examinations have better diagnostic potential for showing focal subendometrial adenomyosis. *Gynecological Surgery*. 2012;9(1):43-6.

93. Champaneria R, Abedin P, Daniels J, Balogun M, Khan KS. Ultrasound scan and magnetic resonance imaging for the diagnosis of adenomyosis: systematic review comparing test accuracy. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 2010;89(11):1374-84.
94. Sun YL, Wang CB, Lee CY, Wun TH, Lin P, Lin YH, et al. Transvaginal sonographic criteria for the diagnosis of adenomyosis based on histopathologic correlation. *Taiwan J Obstet Gynecol*. 2010;49(1):40-4.
95. Byun JY, Kim SE, Choi BG, Ko GY, Jung SE, Choi KH. Diffuse and focal adenomyosis: MR imaging findings. *Radiographics*. 1999;19 Spec No:S161-70.
96. Reinhold C, Tafazoli F, Wang L. Imaging features of adenomyosis. *Hum Reprod Update*. 1998;4(4):337-49.
97. Dueholm M, Lundorf E, Hansen ES, Sørensen JS, Ledertoug S, Olesen F. Magnetic resonance imaging and transvaginal ultrasonography for the diagnosis of adenomyosis. *Fertil Steril*. 2001;76(3):588-94.
98. Bazot M, Daraï E. Role of transvaginal sonography and magnetic resonance imaging in the diagnosis of uterine adenomyosis. *Fertil Steril*. 2018;109(3):389-97.
99. Reinhold C, Tafazoli F, Mehio A, Wang L, Atri M, Siegelman ES, et al. Uterine adenomyosis: endovaginal US and MR imaging features with histopathologic correlation. *Radiographics*. 1999;19 Spec No:S147-60.
100. Liu L, Li W, Leonardi M, Condous G, Da Silva Costa F, Mol BW, et al. Diagnostic Accuracy of Transvaginal Ultrasound and Magnetic Resonance Imaging for Adenomyosis: Systematic Review and Meta-Analysis and Review of Sonographic Diagnostic Criteria. *J Ultrasound Med*. 2021;40(11):2289-306.
101. Luciano DE, Exacoustos C, Albrecht L, LaMonica R, Proffer A, Zupi E, et al. Three-dimensional ultrasound in diagnosis of adenomyosis: histologic correlation with ultrasound targeted biopsies of the uterus. *J Minim Invasive Gynecol*. 2013;20(6):803-10.
102. Habiba M, Benagiano G. *Uterine adenomyosis*: Springer; 2016.
103. Andres MP, Borrelli GM, Ribeiro J, Baracat EC, Abrão MS, Kho RM. Transvaginal Ultrasound for the Diagnosis of Adenomyosis: Systematic Review and Meta-Analysis. *J Minim Invasive Gynecol*. 2018;25(2):257-64.
104. Garcia L, Isaacson K. Adenomyosis: review of the literature. *J Minim Invasive Gynecol*. 2011;18(4):428-37.

105. Osada H. Uterine adenomyosis and adenomyoma: the surgical approach. *Fertil Steril*. 2018;109(3):406-17.
106. Sun AJ, Luo M, Wang W, Chen R, Lang JH. Characteristics and efficacy of modified adenomyomectomy in the treatment of uterine adenomyoma. *Chin Med J (Engl)*. 2011;124(9):1322-6.
107. Osada H, Silber S, Kakinuma T, Nagaishi M, Kato K, Kato O. Surgical procedure to conserve the uterus for future pregnancy in patients suffering from massive adenomyosis. *Reprod Biomed Online*. 2011;22(1):94-9.
108. McCausland AM, McCausland VM. Depth of endometrial penetration in adenomyosis helps determine outcome of rollerball ablation. *Am J Obstet Gynecol*. 1996;174(6):1786-93; 93-4.
109. Wood C. Surgical and medical treatment of adenomyosis. *Hum Reprod Update*. 1998;4(4):323-36.
110. Preutthipan S, Herabutya Y. Hysteroscopic rollerball endometrial ablation as an alternative treatment for adenomyosis with menorrhagia and/or dysmenorrhea. *J Obstet Gynaecol Res*. 2010;36(5):1031-6.
111. Nijenhuis RJ, Smeets AJ, Morpurgo M, Boekkooi PF, Reuwer PJ, Smerk M, et al. Uterine artery embolisation for symptomatic adenomyosis with polyzene F-coated hydrogel microspheres: three-year clinical follow-up using UFS-QoL questionnaire. *Cardiovasc Intervent Radiol*. 2015;38(1):65-71.
112. Kim MD, Kim S, Kim NK, Lee MH, Ahn EH, Kim HJ, et al. Long-term results of uterine artery embolization for symptomatic adenomyosis. *AJR Am J Roentgenol*. 2007;188(1):176-81.
113. Hai N, Hou Q, Ding X, Dong X, Jin M. Ultrasound-guided transcervical radiofrequency ablation for symptomatic uterine adenomyosis. *Br J Radiol*. 2017;90(1069):20160119.
114. Grow DR, Filer RB. Treatment of adenomyosis with long-term GnRH analogues: a case report. *Obstet Gynecol*. 1991;78(3 Pt 2):538-9.
115. Nelson JR, Corson SL. Long-term management of adenomyosis with a gonadotropin-releasing hormone agonist: a case report. *Fertil Steril*. 1993;59(2):441-3.
116. Silva PD, Perkins HE, Schauburger CW. Live birth after treatment of severe adenomyosis with a gonadotropin-releasing hormone agonist. *Fertil Steril*. 1994;61(1):171-2.

117. Ozaki T, Takahashi K, Okada M, Kurioka H, Miyazaki K. Live birth after conservative surgery for severe adenomyosis following magnetic resonance imaging and gonadotropin-releasing hormone agonist therapy. *Int J Fertil Womens Med.* 1999;44(5):260-4.
118. Fong YF, Singh K. Medical treatment of a grossly enlarged adenomyotic uterus with the levonorgestrel-releasing intrauterine system. *Contraception.* 1999;60(3):173-5.
119. Fedele L, Bianchi S, Raffaelli R, Portuese A, Dorta M. Treatment of adenomyosis-associated menorrhagia with a levonorgestrel-releasing intrauterine device. *Fertil Steril.* 1997;68(3):426-9.
120. Cameron IT, Leask R, Kelly RW, Baird DT. The effects of danazol, mefenamic acid, norethisterone and a progesterone-impregnated coil on endometrial prostaglandin concentrations in women with menorrhagia. *Prostaglandins.* 1987;34(1):99-110.
121. Bergholt T, Eriksen L, Berendt N, Jacobsen M, Hertz JB. Prevalence and risk factors of adenomyosis at hysterectomy. *Hum Reprod.* 2001;16(11):2418-21.
122. Critchley HO, Wang H, Kelly RW, Gebbie AE, Glasier AF. Progestin receptor isoforms and prostaglandin dehydrogenase in the endometrium of women using a levonorgestrel-releasing intrauterine system. *Hum Reprod.* 1998;13(5):1210-7.
123. Shaaban OM, Ali MK, Sabra AM, Abd El Aal DE. Levonorgestrel-releasing intrauterine system versus a low-dose combined oral contraceptive for treatment of adenomyotic uteri: a randomized clinical trial. *Contraception.* 2015;92(4):301-7.
124. Bragheto AM, Caserta N, Bahamondes L, Petta CA. Effectiveness of the levonorgestrel-releasing intrauterine system in the treatment of adenomyosis diagnosed and monitored by magnetic resonance imaging. *Contraception.* 2007;76(3):195-9.
125. Muneyyirci-Delale O, Chandrareddy A, Mankame S, Osei-Tutu N, Gizycki H. Norethindrone acetate in the medical management of adenomyosis. *Pharmaceuticals (Basel).* 2012;5(10):1120-7.
126. Badawy AM, Elnashar AM, Mosbah AA. Aromatase inhibitors or gonadotropin-releasing hormone agonists for the management of uterine adenomyosis: a randomized controlled trial. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2012;91(4):489-95.
127. Xishi L, Lei Y, Guo SW. Valproic acid as a therapy for adenomyosis: a comparative case series. *Reprod Sci.* 2010;17(10):904-12.

128. Osuga Y, Fujimoto-Okabe H, Hagino A. Evaluation of the efficacy and safety of dienogest in the treatment of painful symptoms in patients with adenomyosis: a randomized, double-blind, multicenter, placebo-controlled study. *Fertil Steril*. 2017;108(4):673-8.
129. Noe M, Kunz G, Herbertz M, Mall G, Leyendecker G. The cyclic pattern of the immunocytochemical expression of oestrogen and progesterone receptors in human myometrial and endometrial layers: characterization of the endometrial-subendometrial unit. *Hum Reprod*. 1999;14(1):190-7.
130. Lee JK, Gersell DJ, Balfe DM, Worthington JL, Picus D, Gapp G. The uterus: in vitro MR-anatomic correlation of normal and abnormal specimens. *Radiology*. 1985;157(1):175-9.
131. Hauth EA, Jaeger HJ, Libera H, Lange S, Forsting M. MR imaging of the uterus and cervix in healthy women: determination of normal values. *Eur Radiol*. 2007;17(3):734-42.
132. Gordts S, Brosens JJ, Fusi L, Benagiano G, Brosens I. Uterine adenomyosis: a need for uniform terminology and consensus classification. *Reproductive biomedicine online*. 2008;17(2):244-8.
133. Wiczzyk HP, Janus CL, Richards CJ, Graf MJ, Gendal ES, Rabinowitz JG, et al. Comparison of magnetic resonance imaging and ultrasound in evaluating follicular and endometrial development throughout the normal cycle. *Fertil Steril*. 1988;49(6):969-72.
134. Demas BE, Hricak H, Jaffe RB. Uterine MR imaging: effects of hormonal stimulation. *Radiology*. 1986;159(1):123-6.
135. Tamai K, Togashi K, Ito T, Morisawa N, Fujiwara T, Koyama T. MR imaging findings of adenomyosis: correlation with histopathologic features and diagnostic pitfalls. *Radiographics*. 2005;25(1):21-40.
136. Brosens JJ, Barker FG, de Souza NM. Myometrial zonal differentiation and uterine junctional zone hyperplasia in the non-pregnant uterus. *Hum Reprod Update*. 1998;4(5):496-502.
137. Pijnenborg R, Dixon G, Robertson WB, Brosens I. Trophoblastic invasion of human decidua from 8 to 18 weeks of pregnancy. *Placenta*. 1980;1(1):3-19.

138. Khong TY, De Wolf F, Robertson WB, Brosens I. Inadequate maternal vascular response to placentation in pregnancies complicated by pre-eclampsia and by small-for-gestational age infants. *Br J Obstet Gynaecol.* 1986;93(10):1049-59.
139. DiGiacomo RF. Gynecologic pathology in the rhesus monkey (*Macaca mulatta*). II. Findings in laboratory and free-ranging monkeys. *Vet Pathol.* 1977;14(6):539-46.
140. Stöcklin-Gautschi NM, Guscetti F, Reichler IM, Geissbühler U, Braun SA, Arnold S. Identification of focal adenomyosis as a uterine lesion in two dogs. *J Small Anim Pract.* 2001;42(8):413-6.
141. Gelberg HB, McEntee K. Pathology of the canine and feline uterine tube. *Vet Pathol.* 1986;23(6):770-5.
142. Barrier BF, Allison J, Hubbard GB, Dick EJ, Jr., Brasky KM, Schust DJ. Spontaneous adenomyosis in the chimpanzee (*Pan troglodytes*): a first report and review of the primate literature: case report. *Hum Reprod.* 2007;22(6):1714-7.
143. Lacassagne A. Modifications progressives de l'utérus de la souris sous l'action prolongée de l'oestrone. *CR Seances Soc Bioi.* 1935;35:320-2.
144. Mori T, Nagasawa H. Mechanisms of development of prolactin-induced adenomyosis in mice. *Cells Tissues Organs.* 1983;116(1):46-54.
145. Ostrander PL, Mills KT, Bern HA. Long-term responses of the mouse uterus to neonatal diethylstilbestrol treatment and to later sex hormone exposure. *Journal of the National Cancer Institute.* 1985;74(1):121-35.
146. Lipschutz A, Iglesias R, Panasevich VI, Salinas S. Pathological changes induced in the uterus of mice with the prolonged administration of progesterone and 19-nor-contraceptives. *British Journal of Cancer.* 1967;21(1):160.
147. Greaves P, White IN. Experimental adenomyosis. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* 2006;20(4):503-10.
148. Mehaseb MK, Bell SC, Habiba MA. The effects of tamoxifen and estradiol on myometrial differentiation and organization during early uterine development in the CD1 mouse. *Reproduction.* 2009;138(2):341-50.
149. Nagasawa H, Kusakawa S. Relationship between incidence and onset age of mammary tumours and uterine adenomyosis in four strains of mice: comparison with the findings of 40 generations previously. *In Vivo.* 2001;15(4):345-9.

150. Matsuda M, Sasabe H, Adachi Y, Suzuki T, Mori T. Increased invasion activity of endometrial stromal cells and elevated expression of matrix metalloproteinase messenger RNA in the uterine tissues of mice with experimentally induced adenomyosis. *American journal of obstetrics and gynecology*. 2001;185(6):1374-80.
151. Sasaki T, Fässler R, Hohenester E. Laminin: the crux of basement membrane assembly. *The Journal of cell biology*. 2004;164(7):959.
152. Mehaseb MK, Bell SC, Habiba MA. Neonatal administration of tamoxifen causes disruption of myometrial development but not adenomyosis in the C57/BL6J mouse. *Reproduction*. 2010;139(6):1067-75.
153. Kurita T, Cooke PS, Cunha GR. Epithelial–stromal tissue interaction in paramesonephric (Müllerian) epithelial differentiation. *Developmental biology*. 2001;240(1):194-211.
154. Güttner J. Adenomyosis in mice. *Z Versuchstierkd*. 1980;22(4):249-51.
155. Ostrander PL, Mills KT, Bern HA. Long-term responses of the mouse uterus to neonatal diethylstilbestrol treatment and to later sex hormone exposure. *J Natl Cancer Inst*. 1985;74(1):121-35.
156. Dinulescu DM, Ince TA, Quade BJ, Shafer SA, Crowley D, Jacks T. Role of K-ras and Pten in the development of mouse models of endometriosis and endometrioid ovarian cancer. *Nat Med*. 2005;11(1):63-70.
157. Martin EA, Carthew P, White IN, Heydon RT, Gaskell M, Mauthe RJ, et al. Investigation of the formation and accumulation of liver DNA adducts in mice chronically exposed to tamoxifen. *Carcinogenesis*. 1997;18(11):2209-15.
158. Carthew P, Rich KJ, Martin EA, De Matteis F, Lim CK, Manson MM, et al. DNA damage as assessed by ³²P-postlabelling in three rat strains exposed to dietary tamoxifen: the relationship between cell proliferation and liver tumour formation. *Carcinogenesis*. 1995;16(6):1299-304.
159. Newbold RR, Jefferson WN, Padilla-Burgos E, Bullock BC. Uterine carcinoma in mice treated neonatally with tamoxifen. *Carcinogenesis*. 1997;18(12):2293-8.
160. Huseby RA, Thurlow S. Effects of prenatal exposure of mice to "low-dose" diethylstilbestrol and the development of adenomyosis associated with evidence of hyperprolactinemia. *Am J Obstet Gynecol*. 1982;144(8):939-49.

161. Mori T, Kawashima S, Nagasawa H. Induction of uterine adenomyosis by pituitary grafting and retardation of its development by bromocriptine-mesilate (CB-154) in BALB/c mice. *In Vivo*. 1991;5(2):107-9.
162. Yamashita M, Mori T. Disturbed cell arrangement, increased cell membrane permeability and apoptotic cell death occur in adenomyotic uterine tissues in mice. *Zoological science*. 1997;14(4):659-64.
163. Meissner WA, Sommers SC, Sherman G. Endometrial hyperplasia, endometrial carcinoma, and endometriosis produced experimentally by estrogen. *Cancer*. 1957;10(3):500-9.
164. Baskin GB, Smith SM, Marx PA. Endometrial hyperplasia, polyps, and adenomyosis associated with unopposed estrogen in rhesus monkeys (*Macaca mulatta*). *Vet Pathol*. 2002;39(5):572-5.
165. McLachlan JA, Newbold RR, Bullock BC. Long-term effects on the female mouse genital tract associated with prenatal exposure to diethylstilbestrol. *Cancer Res*. 1980;40(11):3988-99.
166. Singtripop T, Mori T, Park MK, Sakamoto S, Kawashima S. Development of uterine adenomyosis after treatment with dopamine antagonists in mice. *Life Sci*. 1991;49(3):201-6.
167. Tanwar PS, Lee HJ, Zhang L, Zukerberg LR, Taketo MM, Rueda BR, et al. Constitutive activation of Beta-catenin in uterine stroma and smooth muscle leads to the development of mesenchymal tumors in mice. *Biol Reprod*. 2009;81(3):545-52.
168. Liu B, Yang J, Luo W, Zhang Y, Li J, Li H, et al. Prostaglandin D(2) is the major cyclooxygenase-1-derived product in prepartum mouse uteri where it mediates an enhanced in vitro myometrial contraction. *Eur J Pharmacol*. 2017;813:140-6.
169. Prodromidou A, Pergialiotis V, Pavlakis K, Korou LM, Fountzas M, Dimitroulis D, et al. A Novel Experimental Model of Colorectal Endometriosis. *J Invest Surg*. 2018;31(4):275-81.
170. Guo SW, Groothuis PG. Is it time for a paradigm shift in drug research and development in endometriosis/adenomyosis? *Hum Reprod Update*. 2018;24(5):577-98.
171. Gordts S, Grimbizis G, Campo R. Symptoms and classification of uterine adenomyosis, including the place of hysteroscopy in diagnosis. *Fertil Steril*. 2018;109(3):380-8.e1.

172. Burla L, Scheiner D, Samartzis EP, Seidel S, Eberhard M, Fink D, et al. The ENZIAN score as a preoperative MRI-based classification instrument for deep infiltrating endometriosis. *Arch Gynecol Obstet*. 2019;300(1):109-16.
173. Johnson NP, Hummelshoj L, Adamson GD, Keckstein J, Taylor HS, Abrao MS, et al. World Endometriosis Society consensus on the classification of endometriosis. *Hum Reprod*. 2017;32(2):315-24.
174. Martić-Kehl MI, Schibli R, Schubiger PA. Can animal data predict human outcome? Problems and pitfalls of translational animal research. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2012;39(9):1492-6.
175. Mak IW, Evaniew N, Ghert M. Lost in translation: animal models and clinical trials in cancer treatment. *Am J Transl Res*. 2014;6(2):114-8.
176. Leyendecker G, Wildt L, Mall G. The pathophysiology of endometriosis and adenomyosis: tissue injury and repair. *Arch Gynecol Obstet*. 2009;280(4):529-38.
177. Leyendecker G, Bilgicyildirim A, Inacker M, Stalf T, Huppert P, Mall G, et al. Adenomyosis and endometriosis. Re-visiting their association and further insights into the mechanisms of auto-traumatisation. An MRI study. *Archives of gynecology and obstetrics*. 2015;291(4):917-32.
178. Leyendecker G, Wildt L. A new concept of endometriosis and adenomyosis: tissue injury and repair (TIAR). *Hormone molecular biology and clinical investigation*. 2011;5(2):125-42.
179. Guo SW. The Pathogenesis of Adenomyosis vis-à-vis Endometriosis. *J Clin Med*. 2020;9(2).
180. Wagner DD, Burger PC. Platelets in inflammation and thrombosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2003;23(12):2131-7.
181. Gear AR, Camerini D. Platelet chemokines and chemokine receptors: linking hemostasis, inflammation, and host defense. *Microcirculation*. 2003;10(3-4):335-50.
182. Guo SW. Fibrogenesis resulting from cyclic bleeding: the Holy Grail of the natural history of ectopic endometrium. *Hum Reprod*. 2018;33(3):353-6.
183. Calvino B, Besson JM, Boehrer A, Depaulis A. Ultrasonic vocalization (22-28 kHz) in a model of chronic pain, the arthritic rat: effects of analgesic drugs. *Neuroreport*. 1996;7(2):581-4.

184. Wallace VC, Norbury TA, Rice AS. Ultrasound vocalisation by rodents does not correlate with behavioural measures of persistent pain. *Eur J Pain*. 2005;9(4):445-52.

